

Gewinnung β -Lactoglobulin-freier Molkenerzeugnisse mittels selektiver thermischer Aggregation und Fraktionierung der entstandenen Komponenten

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL), Abt. Technologie Prof. Dr. Ulrich Kulozik/M. Sc. Nicole Haller
Industriegruppen:	VDMA-Fachverband Nahrungsmittel- und Verpackungsmaschinen e. V., Frankfurt Bundesverband der Hersteller von Lebensmitteln für eine besondere Ernährung e.V. – Diätverband, Bonn
	Projektkoordinator: Dr. Hans Besner Unternehmensgruppe Theo Müller GmbH & Co. KG, Freising
Laufzeit:	2014 - 2016
Zuwendungssumme:	€ 298.100,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Molkenproteinkonzentrate (WPC) und zu 90 % demineralisierte Molken sind die wichtigsten Milchrohstoffe zur Herstellung von humanmilchangenäherten Säuglingsnahrungsprodukten und anderen diätischen Molkenprodukten. Grundsätzlich kommt β -Lactoglobulin (β -Lg) in Humanmilch nicht vor, in Kuhmilch stellt es hingegen mit etwa 60 % die größte Molkenproteinfraktion dar. In einigen Studien wurde genau dieses Protein als Hauptallergen bei der sog. Kuhmilchallergie identifiziert. Viele Verfahren wurden bereits entwickelt, die versuchen β -Lg aus Molke abzureichern. Nichtsdestotrotz geht bisher jede dieser Applikationen mit Limitationen einher, die dessen Effizienz oder Wirtschaftlichkeit betreffen.

Die Chromatographie beispielsweise ist ein hoch selektiver Prozess, um einzelne Proteine aus einem komplexen System zu entfernen. Allerdings sind die Anwendungen bisher meist auf den Labormaßstab beschränkt und damit im Durchsatz stark limitiert. Neuere Arbeiten mit Membranadsorbentien zeigen, dass chromatographische Prozesse bevorzugt unter Umständen, welche die Bindungskapazität von Ad-

sorbentien nicht überlasten, industriell Anwendung finden können. Das Erreichen der maximalen Bindungskapazität bereits nach kurzer Standzeit ist bei dem relativ hohen Anteil des in Molke mengenmäßig dominierenden β -Lg aber unvermeidbar.

Ein anderer Weg zur Abtrennung von β -Lg aus Molke und Molkenkonzentraten ist die gezielte thermische Aggregation einer der Molkenproteinfraktionen β -Lg und α -Lactalbumin (α -La). Die entstandenen Aggregate können beispielsweise mittels Membranfiltration im Diafiltrationsmodus abgetrennt werden. Dabei ergeben sich aber einige Limitierungen, so dass eine industrielle Umsetzung bislang nicht erfolgt ist. Die Diafiltration umfasst zehn Schritte, um eine gute Ausbeute der α -La-Fraktion zu erzielen, woraus ein hoher Zeit- und Wasserbedarf resultiert. Zudem können die hohen Kosten für Membranen und teure Reinigungsmittel nicht vernachlässigt werden. Als eine alternative Abtrennmethode würden sich kontinuierlich arbeitende Zentrifugen anbieten.

Dekantierzentrifugen können hohe Mengen an Trockenmassen durchsetzen und verschiedenste rheologische Profile von Sedimenten verar-

beiten. Aktuell gibt es noch keine Informationen über das Sedimentationsverhalten der thermisch erzeugten Aggregate und die Fließeigenschaften der daraus gebildeten Sedimente.

Es besteht Bedarf an einem neuen Fraktionierungsprozess, der wirtschaftlicher ist als existierende Verfahren und der zum Erhalt der nativen Eigenschaften der nicht abgereicherten Proteine in der Lage ist. Dieser Prozess sollte die Stärken der o.g. Trennmethode nutzen, deren Limitationen jedoch eliminieren oder durch einen jeweils methodengerechten Einsatz umgehen. Dies kann durch eine geeignete Kombination von Prozessbedingungen bzw. von sich ergänzenden Trennmethode erreicht werden.

Ziel des Forschungsvorhabens war die Entwicklung eines neuen Kombinationsprozesses zur Herstellung eines β -Lg-freien Molkenprotein-konzentrats bestehend aus den Elementen thermische Aggregation, zentrifugale Abtrennung und Ionenaustauschchromatographie mittels Membranadsorbentien. Es sollte dabei eine innovative, flexibel nutzbare prozesstechnische Plattform entstehen, die grundsätzlich auch für den Einsatz bei anderen Produktgruppen geeignet ist.

Forschungsergebnis:

Generell sollten zwei verschiedene Prozesswege etabliert werden, wobei Prozessweg A die selektive Aggregation des α -La (inkl. der minoreren Molkenproteine) und Prozessweg B die Aggregation des allergenen β -Lg vorsieht. Da die Aggregation des α -La über hydrophobe Wechselwirkungen stattfindet und dadurch reversibel ist, ist eine Rückfaltung in den Ausgangszustand möglich, wodurch am Ende beide Fraktionen vollkommen nativ vorliegen.

Im Prozessweg A wird das α -La durch einen Trinatriumcitrat-Zitronensäurepuffer bei pH 3,4 und einer zweistündigen Erhitzung in einem Rührtank bei 55 °C aufgefaltet und eine vollständige Aggregation erzielt. Die mittlere Partikelgröße von 20 μ m lässt sich durch Variation von Milieu- und Erhitzungsbedingungen nicht beeinflussen. Die zentrifugale Abtrennung mit dem für dieses Projekt angeschafften Labor-Dekanter (Lemitec GmbH, Berlin, Deutschland) ist grundsätzlich möglich, allerdings erwies sich die Förderung des fließfähigen Sediments über den konischen Trocknungsabschnitt aufgrund von dessen Klebrigkeit als schwierig. Eine Leihzentrifuge, der sog. Sedicanter® (Flottweg SE,

Vilsbiburg, Deutschland), welcher auf die Sedimentation und Förderung von kleinen Partikeln, die weiche und fließfähige Sedimente ausbilden, spezialisiert ist, ermöglichte bei einem Durchsatz von 150 L/h und einer Beschleunigung von 6.500 g eine Separationseffizienz von über 99,7 %. Da das Sediment noch eine hohe Restfeuchte aufwies, in welcher sich das native β -Lg befand, wurden zwei Waschschriffe angeschlossenen. Für einen Waschschriff wurde das Sediment in 50 °C warmem, auf pH 3,4 angesäuertem VE-Wasser resuspendiert und nochmals zentrifugiert. Trotz einer leichten Abnahme der Separationseffizienzen über die Waschschriffe konnte das native β -Lg effektiv entfernt werden. Im Anschluss wurden für das gewaschene Sediment verschiedene Renaturierungsbedingungen untersucht. Ein pH-Wert von 9,0 und eine dreifach stöchiometrische Calciumkonzentration zur vorliegenden Anzahl an α -La-Molekülen konnten eine maximale Rückfaltungsquote von 93 % erzielen. Die korrekte Faltung wurde mittels dynamischer Differenzkalorimetrie und einer Sekundärstrukturanalyse mit Hilfe der Infrarot-Spektroskopie nachgewiesen. Durch die beiden Waschschriffe und die Rückfaltung konnte so eine α -La Fraktion mit einer Reinheit von 99,6 % bei einer Ausbeute von über 75 % gewonnen werden.

Für die Erzeugung der β -Lg-Aggregate im Prozessweg B wurde ein Pilot-Gegenstromwärmetauscher verwendet, um die kurzen Aufheiz- und Heißhaltezeiten zu realisieren. Bei einer Temperatur von 85 °C und einer Heißhaltezeit von unter 3 s konnte eine selektive Aggregation des Großteils an β -Lg (>85 %) erreicht werden, die in Partikeln einer Größe von durchschnittlich 150 μ m resultierte. Gleichzeitig wurde der Fokus auf eine maximale Nativerhaltung der α -La-Fraktion (>90 %) gelegt. Die Abtrennung der erzeugten Aggregate war im Labor-Dekanter bereits bei geringen g-Zahlen problemlos möglich. Die strangartig ineinander verworrene Struktur der Aggregate erwies sich zudem als förderlich für den Sedimentaustrag aus der Zentrifuge. Die Trockenmassen der erhaltenen Sedimente beliefen sich ab Beschleunigungen von 3.000 g auf mehr als 50 %, wobei der Überstand zu mehr als 99 % geklärt wurde. Bei der abschließenden chromatographischen Entfernung des löslich verbliebenen β -Lg wurde mit einem Membranadsorbent gearbeitet. Die besten Trennbedingungen konnten mit einem Anionentauscher bei einem pH-Wert von 7,0 und einer Temperatur von 50 °C erreicht werden.

Durch die vorherige Reduktion des Gehalts an β -Lg konnte der Durchsatz um den Faktor 6 erhöht werden. Bei einem unvermeidbaren Verlust von weiteren 10 % des α -La konnte ein Produkt erhalten werden, dass zu über 99 % β -Lg-frei war. In weiteren Versuchen zeigte sich, dass eine Zerkleinerung der β -Lg-Aggregate auf eine Größe von 20 μ m mit Hilfe eines Hochdruckhomogenisators umsetzbar ist, wodurch eine Weiterverwendung des β -Lg-Sediments als Mikropartikulat für fettreduzierte Milchprodukte denkbar ist.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Der weltweite Umsatz an Säuglingsnahrung stieg zwischen 2010 und 2015 von 37 auf 55 Mio. US-Dollar. Prognosen sagen zudem ein weiteres Wachstum von jährlich 9 % für den Zeitraum von 2016 bis 2020 voraus. Der mit Abstand am schnellsten wachsende Markt stellt hierbei China dar, wo sich der Umsatz von 2010 bis 2020 beinahe verdreifacht haben wird. Darüber hinaus wird ein weltweites Bevölkerungswachstum prognostiziert, was zu einer Anzahl von ca. 4,9 Mio. Babys im Jahr 2030 führen wird.

Von diesem wachsenden Markt profitieren in erheblichem Maße auch kleinere Unternehmen der milch- und molkenverarbeitenden Industrie. Auch der Bedarf an reinen Milchproteinfraktionen nimmt global zu; das Marktwachstum weist Steigerungsraten von ca. 20 % p.a. auf.

Das Vorhaben zeigt neue Wege der Molkenbehandlung auf und leistet damit einen Beitrag nicht nur für die Entwicklung innovativer Säuglingsnahrungsprodukte, sondern auch für ähnliche Produktsegmente, wie für Sportlernahrung und die klinische Ernährung, sowie für funktionelle Lebensmittel. Von den Ergebnissen werden zudem nicht nur die Hersteller neuer Molkenpräparate, sondern auch Unternehmen des Maschinen- und Anlagenbaus profitieren.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2017.
2. Haller, N. und Kulozik, U.: Kontinuierliche zentrifugale Separation von aggregiertem α -Lactalbumin. Jahresb. Milchwiss. Forsch. ZIEL 2016, ISBN 978-3-939182-89-4. 83-84 (2017).
3. Haller, N. und Kulozik, U.: Separation von β -Lactoglobulin-Aggregaten in einem Labor-Dekanter. Jahresb. Milchwiss. Forsch. ZIEL 2015, ISBN 978-3-939182-75-7. 81-83 (2016).
4. Haller, N. und Kulozik, U.: Selektive Abreicherung von β -Lactoglobulin aus Molkenproteinisolat: Einfluss der Erhitzungstemperatur auf die strukturellen Eigenschaften der gebildeten Aggregate. Jahresb. Milchwiss. Forsch. ZIEL 2014, ISBN 978-3-939182-63-4, 105-107 (2015).

Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittel-
forschung (ZIEL), Abt. Technologie
Weihenstephaner Berg 1, 85350 Freising
Tel.: +49 8161 71-3535
Fax: +49 8161 71-4384
E-Mail: ulrich.kulozik@tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V.
(FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via

