

## Mikrowellenunterstützte Vakuum- und Gefriertrocknung zur schnellen Konservierung von sensitiven Biomolekülen in einer Schaummatrix

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle:</b>	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL) Abt. Technologie, Freising Prof. Dr. Ulrich Kulozik/M.Sc. Peter Kubbutat
<b>Industriegruppe(n):</b>	Verband Forschender Arzneimittelhersteller e.V. (VFA), Berlin Arbeitsgemeinschaft Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V. (APV), Mainz Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V., Freising  Projektkoordinator: Dr. Nadja Siegert Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg
<b>Laufzeit:</b>	2015 – 2018
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 262.480,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Viele sensitive Substanzen, wie therapeutisch wirkende Biomoleküle, Mikroorganismen oder bioaktive Nahrungsinhaltsstoffe, müssen bei tiefen Temperaturen gelagert werden, um ihre Stabilität und Aktivität aufrechtzuerhalten. Da Kühltransport und -lagerung sehr kostenintensiv sind, werden diese Produkte zunehmend getrocknet. Trockene Präparate lassen sich v.a. in Ländern mit anspruchsvollen klimatischen Bedingungen logistisch leichter handhaben bzw. ermöglichen erst die Distribution in diese Regionen.

Trockenprodukte sind allgemein von großer Bedeutung. Man findet sie als technische Enzyme, therapeutische Proteine, Probiotika in Formulanahrung, als Vitamine für die klinische Ernährung oder als Sportlernahrung sowie als Nahrungsergänzungsmittel.

Wenn es um eine schonende Verfahrensführung zur Konservierung empfindlicher Inhaltsstoffe geht, wird als Standardverfahren derzeit v.a. die Gefriertrocknung eingesetzt. Dieses Verfahren ist jedoch sehr zeit- und

energieaufwändig und mit hohen Kosten verbunden. In der Biotechnologie werden ca. 60 - 70 % der Produktionskosten der Produktaufarbeitung (Downstream Processing) zugeschrieben, zu der auch die Trocknung der gewonnenen technischen oder pharmazeutischen Wirkstoffe zählt. In der Lebensmittel(bio)technologie sind in ähnlichem Sinn techno- und biofunktionelle Proteine oder Starterkulturen betroffen. Aufgrund der steigenden Ressourcenknappheit und zur Steigerung der Produktivität (Durchsatzkapazität) von Prozessabläufen ist es daher von industriellem Interesse, bestehende Trocknungsverfahren in ihrer Effizienz zu steigern. Es werden neue Trocknungstechniken gesucht, die sich durch eine kurze Trocknungsdauer und gleichzeitig schonende Prozessführung auszeichnen.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, ein neues mikrowellenunterstütztes Vakuum- bzw. Gefriertrocknungsverfahren zur Konservierung sensitiver Biomoleküle zu entwickeln.

### Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Vorhabens wurden stabile Schaumstrukturen mit verschiedenen Formulierungen hergestellt. Dazu wurden Zuckerkonzentrationen nahe der Löslichkeitsgrenze der Zucker (Sorbitol, Saccharose, Maltose und Maltodextrin) verwendet. Als Schaumbildner wurden Tween80, Pluronic F108 oder WPI eingesetzt.

Es zeigte sich kein Unterschied bezüglich der Schaumeigenschaften in Abhängigkeit der Schaumbildnerkonzentration, da der Einfluss der eingesetzten Zucker höher war. Für die Trocknung wurde eine Schaumbildnerkonzentration von 3 % eingesetzt, da, beispielsweise in der Mikrowellenvakuumtrocknung (MWVT), neu entstehende Grenzflächen während des Anlegens des Vakuums mit Schaumbildner besetzt werden müssen. Sehr stabile Schäume wurden durch eine Kombination aus Sorbitol und WPI erreicht. Da dies mit anderen Zuckern nicht erzielt werden konnte, kann die hohe Stabilität der Schäume dem Sorbitol zugeschrieben werden, das bekannt dafür ist, dass es die Interaktionen zwischen Proteinen fördert.

Für die Trocknung wurde  $\beta$ -Galactosidase als Modellenzym verwendet, da es eine niedrige Denaturierungstemperatur besitzt und Probleme in der Temperaturführung, die in der Trocknung auftreten, somit gut zu identifizieren sind. Das verwendete Lysozym besitzt mit über 70 °C eine deutlich höhere Denaturierungstemperatur und zeigte unabhängig von den eingesetzten Trocknungsparametern keine Aktivitätsverluste. Um  $\beta$ -Galactosidase von Glycerin zu reinigen und somit die Effekte der eingesetzten Zucker zu identifizieren, wurde eine Dialyse mit einem 14 kDa Dialyseschlauch in Phosphatpuffer durchgeführt. Dadurch konnte der Glycerin Gehalt in der  $\beta$ -Galactosidaselösung auf unter 0,5 % reduziert werden. Die Trocknung wurde mit den aus der Charakterisierung stabilsten Schäumen durchgeführt. In der Mikrowellengefrier-trocknung (MWGT) wurden zudem Schäume mit moderat auftretender Drainage eingesetzt, da durch das schnelle Einfrieren der Schäume keine Trennung von Flüssigkeit und Blasen im getrockneten Produkt zu erkennen war.

Die Mikrowellenvakuumtrocknung ergab bei Verwendung von WPI als Schaumbildner ein

schaumartiges Produkt, wohingegen bei Verwendung von Tensiden eine hochviskose Flüssigkeit ohne Schaumstruktur entstand. Potentielle Ursachen hierfür können die dielektrischen Eigenschaften der eingesetzten Lösungen oder auch grenzflächenrheologische Effekte der Tenside sein. Die verbleibende Aktivität des Modellenzym betrug bis zu 92 % und liegt damit höher als bei konventioneller Vakuumtrocknung (bis zu 71 %). Die MWGT erzielte mit bis zu 86 % Restaktivität keine signifikant besseren Ergebnisse als konventionelle Verfahren (ca. 82 %), allerdings konnten die Prozesszeiten deutlich verkürzt werden (MWGT: 1,5 h, GT: 48 h; MWVT: 1 h, VT 12 h).

Eine bessere Energiebilanz erreichen die mikrowellenunterstützten Verfahren vor allem bei der Verwendung von voluminösen Produkten. Hierbei ergeben sich durch den volumetrischen Energieeintrag große Vorteile gegenüber der Stellflächenerhitzung. Für Produkte mit hoher Dichte, wie Flüssigkeiten oder Feststoffe, sind konventionelle Verfahren derzeit gut geeignet, da die Wärmeleitung im Produkt im Vergleich zu aufgeschäumten Produkten höher ist. Die Lagerstabilität mikrowellengetrocknete Produkte konnte über eine Lagerzeit von 56 Tagen nachgewiesen werden.

Das direkte Up-Scaling der Versuche an der Mikrowelle mit einem linearen Anstieg der eingebrachten Mikrowellenleistung zu verwendeter Produktmasse konnte nicht erfolgreich durchgeführt werden. Sobald eine kritische Produkthöhe erreicht wurde, fing das Produkt in der MWGT an zu schmelzen. Dadurch kam es zu einem Kollaps der Produktstruktur und einer Schädigung des Modellenzym. Um eine Diffusion von Wasserdampf als limitierenden Faktor auszuschließen, wurde der Schaum vertropft. So war ein Up-Scaling von bis zu 600 g möglich. In der MWVT wurde das Up-Scaling durch die Expansion des Schaums bei Anlegen des Vakuums limitiert. Selbst mit Formulierungen, die einen Overrun von unter 100 % aufwiesen, konnten maximal 70 g Produkt getrocknet werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass das Trocknen in einer Schaummatrix sowohl die Homogenität der Trocknung als auch die Qualität der Produkte in Hinblick auf die Enzymaktivität verbessert. Durch die Kombination der

Mikrowellentechnik mit der Schaumtechnologie konnten Vorteile aus der Vakuum- bzw. Gefriertrocknung mit denen der Mikrowellentrocknung vereint werden.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Eine mikrowellenunterstützte Trocknung im Druckbereich der Vakuum- und der Gefriertrocknung könnte in vielen Bereichen der Lebensmittelproduktion eine Alternative zur klassischen Gefriertrocknung (GT) sein. Die hohe Geschwindigkeit des Wasserentzugs durch die volumetrische Erwärmung und der geringe Energieaufwand zählen zu den wesentlichen Vorteilen dieser Technologie. Das Ausschleusen des verdampften Wassers kann im Verlauf der Trocknung zudem signifikant beschleunigt werden, wenn die Matrix des zu trocknenden Produktes infolge der Druckabsenkung in eine lockere Schaumstruktur überführt wird. Bei der mikrowellenunterstützten Schaumtrocknung ist mit einer dreifach beschleunigten Trocknung zu rechnen, so dass eine Energiebedarfsreduktion auf 0,5 - 1 kWh veranschlagt werden kann. Neben der Energieeinsparung wird auch die Ausbeute an funktionsfähigem Produkt (hohe Aktivität) erhöht und somit eine geringere Dosierung im Endprodukt nötig werden. In Bezug auf Kostenersparnis und Produktqualität eröffnet sich durch die Beschleunigung des Prozesses und die Aufschäumung zudem die Möglichkeit, schwer zu trocknende, pastöse Produkte zu verarbeiten und deren Lagerstabilität zu erhöhen.

Die Forschungsergebnisse können branchenübergreifend in der pharmazeutischen Industrie, der Biotechnologie und in der Lebensmittelindustrie genutzt werden. Die Erkenntnisse sind sowohl für die Hersteller als auch für die Anwender von sensitiven Biomolekülen oder -organismen (z.B. Enzymen) relevant. Im Bereich der Lebensmittelherstellung können verschiedenste (enzymverarbeitende) Segmente von den Ergebnissen profitieren, z.B. die Milch-, Fleischwaren-, Süßwaren- und Backwarenindustrie. Die Ergebnisse sind ebenso relevant für den Maschinen- und Anlagenbau, insbesondere die Hersteller von Trocknungsanlagen.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2018.

2. Kubbutat, P. & Kalinke, I.: Erhöhung der Stabilität von Proteinen durch den Einsatz von Zuckern während und nach der mikrowellenunterstützten Gefriertrocknung. Jahresb. 2018 Milchwiss. Forsch. (ZIEL), ISBN 978-3-947492-16-9, 67-69 (2019).
3. Kubbutat, P.: Vergleich von stufenförmiger und stetiger Temperaturführung während der Messung der dielektrischen Eigenschaften zur Erhitzung von Produkten in der Mikrowelle. Jahresb. 2017 Milchwiss. Forsch. (ZIEL), ISBN 978-3-947492-10-7, 65-67 (2018).
4. Thagian Dinani, S. & Kubbutat, P.: Heating of Potato Spheres using Microwave Semiconductor or Magnetron Devices/ Erhitzung von Kartoffeln mit halbleiter- oder magnetronbasierten Mikrowellen. Jahresb. 2017 Milchwiss. Forsch. (ZIEL), ISBN 978-3-947492-10-7, 77-79 (2018).
5. Kubbutat, P. & Bickel-Haase; T.: Absenken der Oberflächenspannung zur Herstellung von geschäumten Produkten: Ein Vergleich der initialen Grenzflächenbesetzung in Tensid- und Proteinsystemen. Jahresb. 2016 Milchwiss. Forsch. (ZIEL), ISBN 978-3-947492-00-8, 67-69 (2017).
6. Kubbutat, P. & Cummings, T.: Einsatz von Schäumen zur schnellen mikrowellenunterstützten Vakuumtrocknung von sensitiven Biomolekülen: Untersuchung von Blasengrößenverteilung, Overrun und Schaumstabilität bei verschiedenen Zusammensetzungen. Jahresb. 2015 Milchwiss. Forsch. (ZIEL), ISBN 978-3-939182-93-1, 54 (2016).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München  
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL), Abt. Technologie  
Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising  
Tel.: +49 8161 71-3535  
Fax: +49 8161 71-4384  
E-Mail: peter.kubbutat@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



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.