

# Herstellung von funktionellen Caseinkonzentraten mit Mikrofiltration

*Andreas Thomet, Ueli Bütikofer und Brita Rehberger,  
Forschungsanstalt für Nutztiere und Milchwirtschaft,  
Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP), Liebefeld, Bern*

*Reine Caseinkonzentrate oder Pulver davon sind als funktionelle Zutat oder Ergänzung zu den verschiedensten Lebensmitteln von Interesse. Es ist durchaus denkbar, dass in der „Molkerei der Zukunft“ die Mikrofiltration zu einem gängigen Behandlungsschritt der Milch avanciert.*

Durch den Einsatz einer Keramikmembran mit einer Porengröße von 100 nm ist es möglich, das Milchprotein in Casein und Molkenprotein aufzutrennen. Kombiniert mit zusätzlichen Dialysesritten kann die Reinheit der Caseinfraction im Konzentrat deutlich verbessert werden. Für die Auslegung der Prozesse ist eine Vorkonzentration der Mikrofiltrationskonzentrate auf einen Konzentrationsfaktor ( $C_v$ ) von 3.0 und eine nachfolgende Diafiltration zu empfehlen. Die gesamte Mikrofiltrationsanlage kann dadurch optimal und kostengünstig betrieben werden.

Die Proteinfractionierung mit Mikrofiltration (MF) gewinnt in der Milchwirtschaft mehr und mehr an Bedeutung. Dabei werden die Caseine aufkonzentriert, während die Hauptfraktionen der Molkenproteine  $\beta$ -Lactoglobulin ( $\beta$ -LG) und  $\alpha$ -Lactalbumin ( $\alpha$ -LA) die Membran passieren. Dazu sind in der Regel Mikrofilter mit Porengrößen im Bereich 0.05 – 0.2  $\mu$ m im Einsatz.

Das Retentat von Magermilch nach einer Mikrofiltration mit einer Porengröße von 100 nm ist ein Caseinkonzentrat mit einem geringen Anteil an Molkenprotein. Bei der MF-Konzentrierung gehen die meisten Molkenproteine ins Permeat über. Es handelt sich beim Permeat also um eine sogenannte „ideale Molke“. Da die Mikroorganismen im Retentat verbleiben, ist sie mikrobiologisch praktisch steril und pH-stabil und enthält keine



Foto: LVBM

Milchsäure, keine Glycomakropeptide (GMP), keine Restmengen von Labenzymen und Starterkulturen. Die Proteinfractionen liegen mehrheitlich noch in nativem Zustand vor (Thomet, 2001). Es ist durchaus denkbar, dass in der „Molkerei der Zukunft“ die Mikrofiltration zu einem gängigen Behandlungsschritt, vergleichbar mit der Fettstandardisation der Milch, avanciert. Folgedessen würde die Milchvorbehandlung eine Fett- und Proteinstandardisierung sowie einen thermischen Behandlungsschritt beinhalten. Die gewonnenen Milchraktionen (Casein- und Molkenproteinkonzentrate, Lactose, etc.) liegen in der Regel noch in nativem Zustand vor und lassen sich beinahe beliebig einsetzen (Maubois, 2001 und Kulozik et al., 2001) und zu innovativen Produkten (Bachmann et al., 2003) mit guten funktionellen Eigenschaften verarbeiten. An ALP wurden zunächst die technologischen Einflüsse bei der

Caseinkonzentrierung mit Hilfe der Mikrofiltration (Thomet und Bütikofer, 2004) untersucht.

In dieser Arbeit geht es nun darum, die Reinheit der Caseinfractionen mit Diafiltration zu verbessern und dadurch auch die Funktionalität sowie die thermische Stabilität der MF-Konzentrate zu erhöhen.

## Versuchsaufbau

Abbildung 1 zeigt das Design der durchgeführten Versuche. Auf drei Konzentrationsstufen ( $C_v = 1.0, 2.0$  und 3.0) wurden jeweils drei verschiedene Dialysefaktoren ( $DF = 1.0, 2.0$  und 3.0) geprüft.

Als Ausgangsstoff (Feed) diente frische Magermilch aus der Käserei von ALP in Uettiligen (Bern). Die Zusammensetzung des Leitungswassers, welches als Dialysewasser für die Versuche Verwendung fand, ist in Tabelle 1 aufgeführt.

C <sub>v</sub> = 1.0			C <sub>v</sub> = 2.0			C <sub>v</sub> = 3.0		
DF=1.0	DF=2.0	DF=3.0	DF=1.0	DF=2.0	DF=3.0	DF=1.0	DF=2.0	DF=3.0

Abb. 1: Versuchsaufbau der Filtrationsvarianten „Konzentration und Diafiltration“

	Konzentration [mg/L]
Trockensubstanz (geschätzt)	414
Kationen (K, Na, Ca, Mg)	100
Anionen	300
Nitrat	14

Tab. 1: Zusammensetzung von Berner Trinkwasser (Tabula 2/2001)

## Methoden und Berechnungen

### Methode zur Konzentrierung von Magermilch

Im Unterschied zur Ultrafiltration (Filterporen nur 5 bis 80 nm) wird das nativ in Rohmilch vorkommende Molkenprotein in der Mikrofiltration nicht aufkonzentriert. Dies ermöglicht eine bedeutend kostengünstigere Aufkonzentrierung (mehr Fluxleistung, weniger Filterfläche) bei einer gleichzeitigen Abtrennung (Fraktionierung) von Molkenproteinen über den Permeatweg (Abb. 2). Mit Diafiltration kann der Molkenproteinanteil, aber auch die Konzentration an gelösten Stoffen (Kersten, 2001) in den MF-Konzentraten eingestellt werden. Die Reinheit und somit auch die Hitzestabilität der Caseinfraktion wird dadurch erhöht.

Die Pilotanlage vom Typ Alcross M der Firma Tetra Pak ist für Konzentrierungs- und Fraktionierungsaufgaben im MF- und Ultrafiltrations (UF)-Bereich ausgerüstet. Zur Verzögerung der Deckschichtbildung bei den Fraktionierungsschritten arbeitet die Maschine mit dem Crossflow-Prinzip und verfügt zudem über ein UTP-System (Thomet und Gallmann, 2003).

Bei der Mikrofiltration spielt die Wahl des Porendurchmessers (Cut-off-Wert) für die Partikelzusammensetzung im Konzentrat (Retentat) und Permeat eine entscheidende Rolle.

### Begriffe und Berechnungen

#### Transmembrandruck (TMP):

Der TMP ist der mittlere Druckunterschied der Retentat- zur Permeatseite und spielt bei der Mikrofiltration eine wichtige Rolle. Idealerweise soll der TMP für die MF-Konzentrierung von Magermilch im Bereich zwischen 20 bis 40 kPa (Kersten, 2001) liegen.

Die Berechnungsformel für den TMP lautet:

$$TMP [kPa] = ((pR \text{ in} + pR \text{ out}) - (pP \text{ in} + pP \text{ out})) / 2$$

pR in [kPa] = Druck Retentat EIN  
pR out [kPa] = Druck Retentat AUS

pP in [kPa] = Druck Permeat EIN  
pP out [kPa] = Druck Permeat AUS

#### Konzentrationsfaktor (C<sub>v</sub>):

Der genaue Konzentrationsfaktor (C<sub>v</sub>) eines Filtrationsprozesses kann über die Stoffmengen (Feed, Retentat und Permeat) berechnet werden. Die Berechnung vom C<sub>v</sub> ist dadurch ohne Analysen möglich und ist auch unabhängig von den Trenneigenschaften.

Die Berechnungsformel für C<sub>v</sub> lautet:

$$C_v [-] = m_A / m_R = m_A / (m_A - m_P)$$

m<sub>A</sub> [kg] = Anfangsmenge (Feed)

m<sub>R</sub> [kg] = Retentatmenge

m<sub>P</sub> [kg] = Permeatmenge

#### Proteinberechnungen aus Stickstoffwerten (N-Analytik):

Anhand der N-Analysen und dem Umrechnungsfaktor 6.38 werden die verschiedenen Proteinarten der Milch nach folgenden Formeln berechnet:

$$\text{True Protein [g/kg]} = (TN - NPN) \cdot 6.38$$

$$\text{Molkenproteine nativ [g/kg]} = (NCN - NPN) \cdot 6.38$$

TN [g/kg] = Total-Stickstoff

NCN [g/kg] = Nicht-Casein-Stickstoff

NPN [g/kg] = Nicht-Protein-Stickstoff

Sind die Molkenproteine jedoch denaturiert und an die Caseinmicellen angelagert, so werden diese bei der klassischen N-Analytik nach Rowland und Kjeldahl der Caseinfraktion zugeschlagen.

#### Casein-Molkenprotein-Verhältnis (CMV):

Das Verhältnis von Casein zu den Molkenproteinen in den MF-Konzentraten gibt Hinweise über die Fraktionierungsleistung eines Mikrofiltrationsprozesses. Ohne Diafiltration sind mit Keramikmodulen CMV-Werte gegen 15 erreichbar. Nach mehreren Diafiltrationsschritten mit UF-Permeat stellte Kersten (2001) bei seinen Forschungsarbeiten Caseinkonzentrate mit einer Reinheit von über 99,8 % (CMV um 400) her.

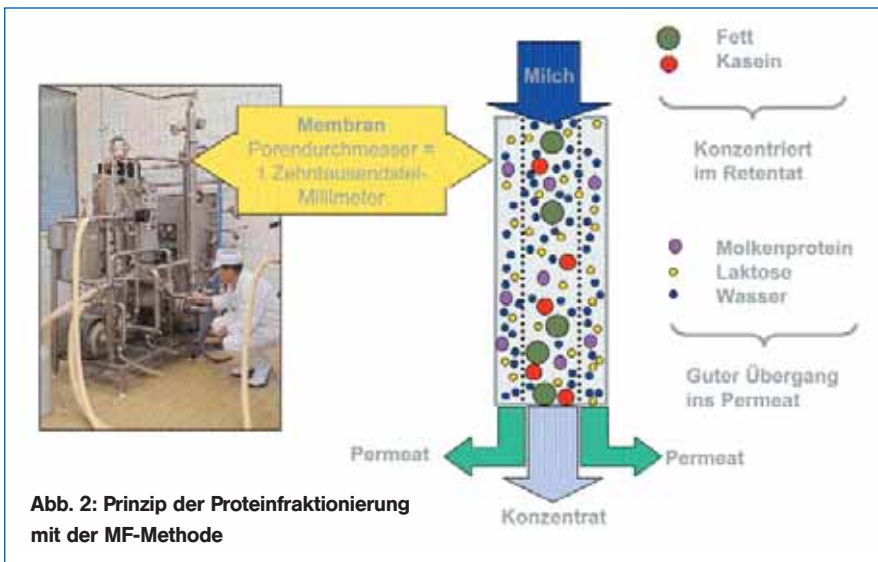


Abb. 2: Prinzip der Proteinfraktionierung mit der MF-Methode

CMV [-] = Caseingehalt / MP-Gehalt  
 CMV [-] = Casein-Molkenprotein-Verhältnis

**Anteil Casein am True Protein (Cas/TP):**

Der Anteil an Casein am TP im Retentat und Permeat wird mit dem Verhältnis Casein / True Protein (Cas/TP) angegeben. Dieses Verhältnis gibt Auskunft über den Caseinanteil im Protein der MF-Fractionen. Der komplementäre Anteil (bis 1.0) vom True Protein ist der MP-Anteil.

Cas/Prot [-] =

Caseingehalt / True Protein

Cas/Prot [-] = Anteil Casein / TP

**Diafiltrationsfaktor (DF):**

Der Diafiltrationsfaktor (DF) eines Filtrationsprozesses ist das mathematische Verhältnis der dem Prozess zugegebenen Menge an Dialysemedium (Wasser oder Permeat) zu der verfügbaren Menge an Ausgangslösung.

Die Berechnungsformel für DF lautet:

$$DF [-] = m_{DF} / m_A$$

$m_{DF}$  [kg] = Menge Dialysemedium

$m_A$  [kg] = Anfangsmenge (Feed)

**Massenbilanz (MB):**

Mit Hilfe der Massenbilanz wird der totale Stoffübergang von der Ausgangslösung ins Permeat bzw. ins Retentat berechnet.

Die Berechnungsformel für MB lautet:

$$m_A \cdot x_{CA} = m_P \cdot x_{CP} + m_R \cdot x_{CR}$$

$m_A$  [kg] = Anfangsmenge (Feed)

$m_R$  [kg] = Retentatmenge

$m_P$  [kg] = Permeatmenge

$C_A$  [g/kg] = Konzentration des Stoffes x in der Ausgangslösung

$C_R$  [g/kg] = Konzentration des Stoffes x im Retentat

$C_P$  [g/kg] = Konzentration des Stoffes x im Permeat

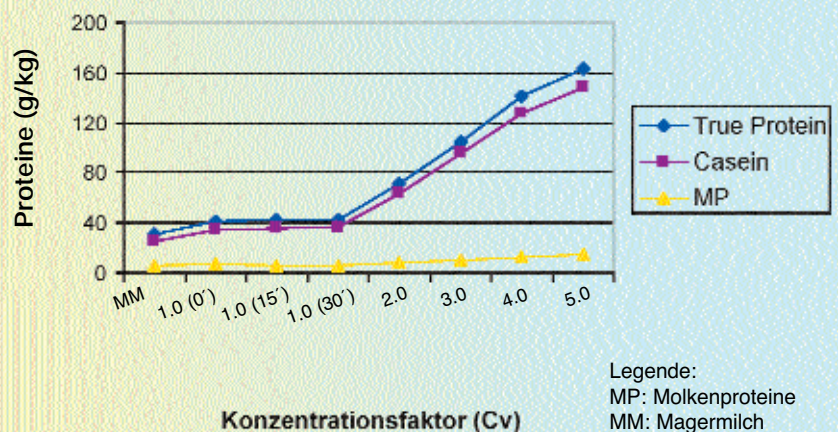
**Resultate und Diskussion**

Bei den Versuchen wurde rohe Magermilch auf den gewünschten Konzentrationsfaktor mikrofiltriert und anschließend diafiltriert. Dies wird in der

**Daten zur Pilotanlage (ALP) und Einstellparameter:**

Filtrationsanlage:	Herstellfirma	Tetra Pak (Schweiz) AG
	Bezeichnung, Typ	Alcross M, Typ 7
Filtrationssystem:	Filtrationsprinzip	Querstromfiltration
	Deckschichtkontrolle	UTP-System
Filterelement:	Herstellfirma	SCT, France
	Bezeichnung, Typ	Membralox, P19-40
	Material	Keramik (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )
	Porengröße	0.1 μm (100 nm)
	Filterfläche total	1.68 m <sup>2</sup>
	Filterlänge	1020 mm
	φ-Filterkanäle	4.0 mm
Parameter Versuch:	Temperatur Filtration	55°C
	Δp-Membran (Retentat zu Permeat) im UTP-Modus	0.2 – 0.3 bar
	Retentatvordruck	3.0 – 4.0 bar
	Fluxleistung	20 – 60 kg / m <sup>2</sup> /h

**Proteinfractionen in MF-Konzentraten (Retentat)**



**Abb. 3: Analyse der Proteinfractionen von MF-Konzentraten, hergestellt aus roher Magermilch**

Praxis häufig bei der Proteinfractionierung mit Mikrofiltration angewendet. Die erhaltenen Ergebnisse dienen somit auch der Basisinformation und stellen Vergleichsdaten für die Praxis dar.

**Konzentrierung der Inhaltsstoffe**

Mit der Mikrofiltration wird die rohe Magermilch in zwei Stoffphasen von unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung aufgetrennt. Im Retentat dominiert das Casein in konzentrierter Form. Die Lactose wird

nicht und von den Mineralstoffen wird nur das caseingebundene Calcium aufkonzentriert. Mit steigender Trockensubstanz (TS) und Proteinkonzentration nimmt der Lactosegehalt im Konzentrat sogar leicht ab (Thomet und Bütikofer, 2004). Fett ist im MF-Konzentrat wenig vorhanden (2 bis 4 g/kg), das Fett der Magermilch wird vollständig aufkonzentriert. Das Restfett im Magermilch-Konzentrat kann somit auch aus dem Magermilchfettgehalt multipliziert mit dem Konzentrationsfaktor (C<sub>v</sub>) berechnet werden.

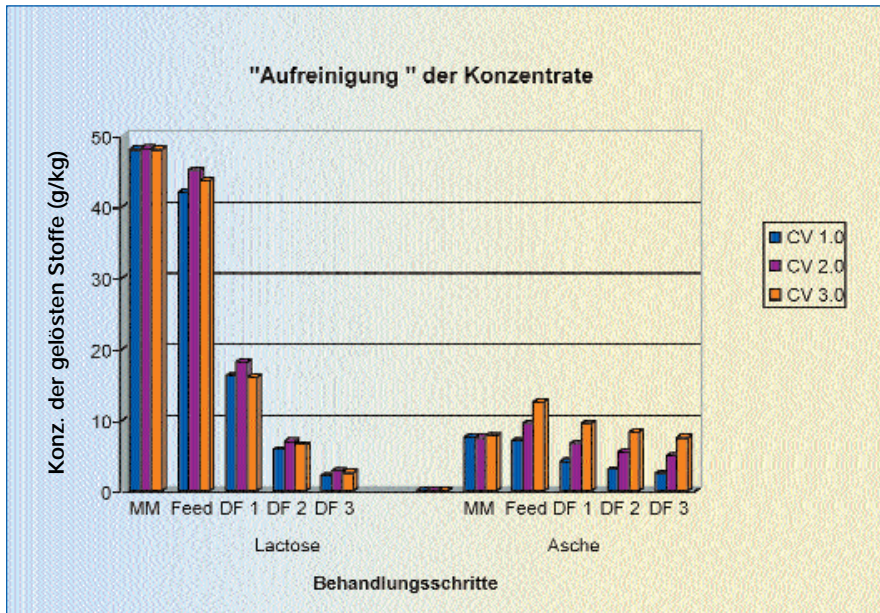


Abb. 4: Reduktion der gelösten Stoffe durch die Diafiltration von MF-Konzentraten

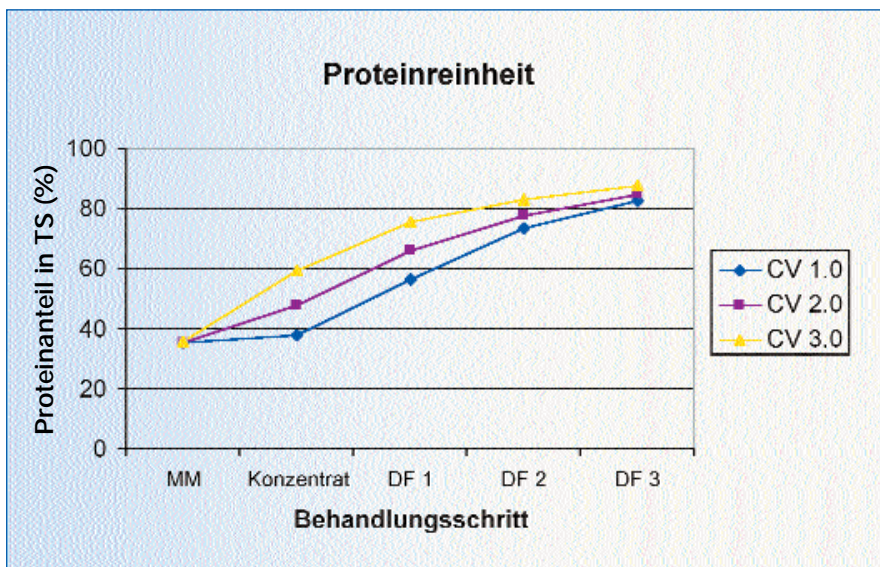


Abb. 5: Analyse der Proteinreinheit bei der MF-Konzentrierung kombiniert mit Diafiltration

### Proteinfractionierung

Ziel der Mikrofiltration mit einer 100 nm (0.1 µm) Membran ist eine möglichst reine Anreicherung der Caseine im MF-Konzentrat. Die Molkenproteine sollten dabei möglichst quantitativ ins Permeat übergehen. Abbildung 3 zeigt die zunehmende Anreicherung der Caseine im Retentat mit steigenden Konzentrationsstufen (Thomet und Bütikofer, 2004). Die Molkenproteine werden wenig konzentriert. Die Schere zwischen der Casein- und Molkenprotein-Konzentration wird dadurch immer größer. Mit einer zusätz-

lichen Diafiltration mit UF-Permeat lässt sich die Reinheit des Caseinkonzentrates noch deutlich verbessern.

### Aufreinigung der Caseinfraktionen mit Diafiltration

Mit Hilfe der Diafiltration auf drei Konzentrationsstufen ( $C_v = 1.0, 2.0$  und  $3.0$ ) mit je drei Dialysefaktoren ( $DF = 1.0, 2.0$  und  $3.0$ ) wurde versucht, die Reinheit der Caseinfraktionen in den MF-Konzentraten zu erhöhen. Dieser Vorgang kann auch als „Caseinaufreinigung“ bezeichnet wer-

den. Abbildung 4 zeigt die Reduktion („Auswaschen“) der diafiltrierten Konzentrate ( $DF 1.0$  bis  $3.0$ ). Die Lactose lässt sich unabhängig von der Konzentrationsstufe relativ gut auswaschen. Infolgedessen ist eine Diafiltration im Prozess auf einer höheren Konzentrationsstufe (ab  $C_v = 3.0$ ) zu empfehlen. Dadurch kann der Anlagebetreiber eine große Menge an Filterfläche und Dialysewasser sparen. Die Mineralstoffe werden bei der MF-Konzentrierung teilweise mitkonzentriert. Zudem ist der Reduktionsverlauf der Mineralstoffe bei der Diafiltration flacher.

Von besonderem Interesse bei der Fraktionierung von roher Magermilch mit Hilfe der Mikrofiltration sind die Resultate aus den spezifischen Proteinanalysen. Dabei sollten im Retentat möglichst reine Casein- und im Permeat möglichst reine Molkenprotein-Fractionen vorliegen. Dies ist bei allen drei Konzentrationsstufen gelungen: Die Reinheit der Caseinfraktionen konnte von 79 bis 83% in roher Magermilch auf 90 bis 93 % gesteigert werden. Dabei wurde der Wert vom CMV von 4.8 auf 13 bis 14 erhöht.

Abbildung 5 stellt die Kurven mit den zunehmenden Anteilen von Protein an der Gesamttrockenmasse dar. Auf der Stufe  $DF = 3.0$  ist unabhängig vom Konzentrationsfaktor  $C_v = 1.0, 2.0$  oder  $3.0$  praktisch die gleiche Proteinreinheit zu erwarten. Der Effekt der Diafiltration ist bei der Mikrofiltration mit Keramikelementen sehr wirkungsvoll. Die Caseinreinheit kann dadurch deutlich verbessert werden.

### Massenbilanz von den Inhaltsstoffen der Stoffströme

Die Berechnung und Bilanzierung der absoluten Mengen (Massenbilanz) an Inhaltsstoffen, welche die verschiedenen Stoffe vor und nach der Filtration aufweisen, ergeben Klarheit über die genaue Stofftrennung. Die Massenbilanz liefert wertvolle Informationen, die bei der Auslegung von neuen Filtrationsanlagen und -prozessen hilfreich sind. Die Konzentrierung und Fraktionierung

der Molkenproteine bei den verschiedenen Konzentrations- und Dialysestufen ist graphisch in der Abbildung 6 dargestellt. Auch auf der höchsten Konzentrationsstufe  $C_v = 3.0$  mit einer größeren Anfangsmenge (350 g) konnte der Molkenproteingehalt im Retentat auf 42 g verringert werden. In der Praxis scheint deshalb bei der Auftrennung (Fraktionierung) von Casein und Molkenprotein eine Diafiltration ab Konzentrationsstufe  $C_v = 3.0$  ideal zu sein.

### Zusammenfassung und Folgerungen

Die Proteinfraktionierung mittels Membrantrennverfahren stellt eine Grundlage für neue, innovative Verfahren und Produkte dar. Kombiniert mit zusätzlichen Dialysesritten kann die Reinheit der Caseinfraktion im Konzentrat deutlich verbessert werden. In dieser Arbeit wurden primär die Einflüsse unterschiedlicher Konzentrierungs- und Dialysesritte bei der Fraktionierung von Magermilch mit Hilfe der Mikrofiltration untersucht. Die wichtigsten Erkenntnisse und Folgerungen aus der vorliegenden Arbeit sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

### Anwendungen

Die Resultate beschreiben die technischen und technologischen Möglichkeiten der Proteinfraktionierung mittels Mikrofiltration umfassend. Sie dienen als Information für die weitere Entwicklung und Umsetzung der Technologie in der Praxis. Maßgeschneiderte MF-Konzentrate können in der Milchverarbeitung als idealer Rohstoff für die verschiedensten Produkte wie beispielsweise Weichkäse, Frischkäse, Saucen, Dips oder zur Einarbeitung in Lebensmittel eingesetzt werden (Bachmann et al., 2003). Reine Caseinkonzentrate oder Pulver davon sind als funktionelle Zutat oder Ergänzung zu den verschiedensten Lebensmitteln von Interesse. Sie dienen auch als Ausgangsstoff zur Herstellung von bioaktiven Peptiden durch Hydrolyse. Es ist durchaus denkbar, dass in der „Molkerei der Zukunft“ die Mikrofiltration

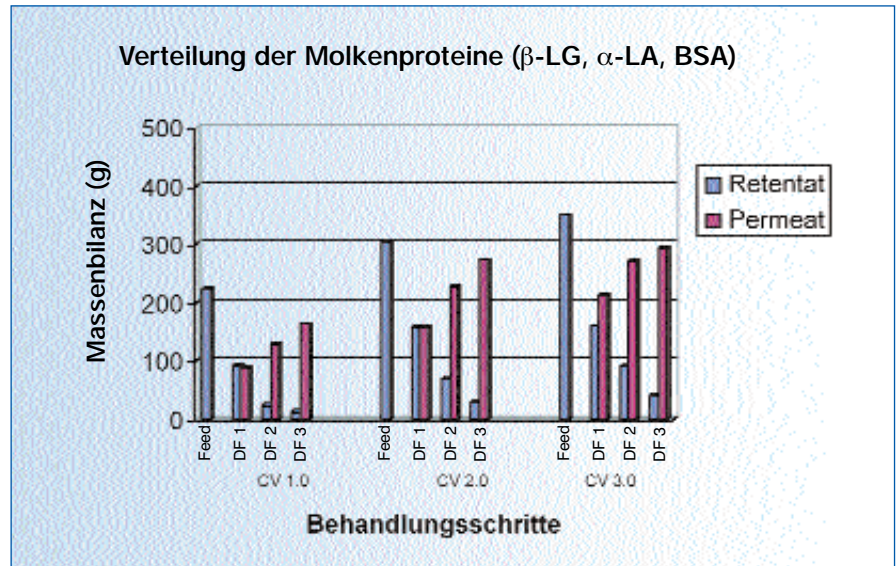


Abb. 6: Analyse der Molkenprotein-Verteilung von mit Mikro- und Diafiltration behandelter roher Magermilch

### Technologie und Trenneffekte:

- Rohe Magermilch (TS ca. 9 %) konnte mit einer MF-Behandlung kombiniert mit Diafiltration in relativ reine Casein- bzw. Molkenprotein-Fractionen aufgetrennt werden. Das CMV von normaler roher Magermilch (ca. 4.8) konnte im MF-Konzentrat auf rund 13-14 erhöht werden. Der Caseinanteil am Gesamtprotein liegt bei diesen Konzentraten über 93%.
- Die Caseinfraktion bleibt nahezu vollständig im Retentat: Die Verluste an Casein ins Permeat sind auch mit der Diafiltration sehr gering.
- Solange die Deckschicht kontrolliert ist (mit UTP-Schaltung) und die Membran korrekt gereinigt ist, passieren die Molkenproteine den MF-Filter relativ gut. Über 90% der in roher Magermilch nativ vorhandenen β-LG- und α-LA-Fractionen können mit dem vorgestellten Verfahren ins Permeat überführt werden.
- 60 bis 70 % vom originären Calcium der Magermilch verbleiben an das Casein gebunden im MF-Konzentrat.
- Das MF-Permeat ist in seiner Zusammensetzung vergleichbar mit Molke und gilt als idealer Rohstoff („ideale Molke“) für die Weiterverarbeitung.

### Auslegung der Prozesse mit Diafiltration:

- Durch die MF-Konzentrierung kombiniert mit unterschiedlichen Dialysestufen konnten bei allen Versuchsvarianten die Hauptfraktionen der Milchproteine (Casein und Molkenprotein) sehr gut aufgetrennt (fraktioniert) werden. Die nativen Molkenproteine passieren den Filter gut.
- Die gelösten Hauptinhaltsstoffe der Magermilch, Lactose und Mineralsalze werden mit Hilfe der Dialyse praktisch vollständig aus den Konzentraten „ausgewaschen“. Der Proteinanteil an der TS betrug in den MF-Konzentraten bei der besten Variante über 87%.
- Die an die Caseinmicellen gebundenen Calciumphosphate verbleiben in den Konzentraten.

Tab. 2: Zusammenfassung der wichtigsten Erkenntnisse aus den an ALP durchgeführten Untersuchungen

zu einem gängigen Behandlungsschritt der Milch avanciert. Infolgedessen würde die Milchvorbehandlung eine Fett- und Proteinstandardi-

sation sowie einen thermischen Behandlungsschritt beinhalten.

Das Literaturverzeichnis kann beim Verlag angefordert werden.