

Einsatzmöglichkeiten der Membranfiltration:

Gewinnung physiologisch aktiver Peptide – Isolierung von Wachstumsfaktoren aus Kolostralmilch

An der FAM wurde ein Verfahren zur Gewinnung von Wachstumsfaktoren aus Kolostralmilch entwickelt. Die Wachstumsfaktoren IGF-1 und IGF-2 (Insulin like growth-factors 1 und 2) sind Minorbestandteile und liegen somit nur in geringer Konzentration in Kolostrum vor.

Durch das an der FAM entwickelte Verfahren lassen sich IGF-1 und IGF-2 aus dem Erstgemelk möglichst rein und konzentriert isolieren. Der Gehalt an IGF-1 im Erstgemelk beträgt im Mittel 400 µg/l. Die Konzentration an Wachstumsfaktoren in Kolostralmilch lässt sich somit in etwa mit der Konzentration eines Stücks Würfelzucker aufgelöst in einem Schwimmbecken mit einem Wasservolumen von 10 000 l vergleichen.

Kolostrum ist eine reiche Quelle an wachstumsfördernden, muskelbildenden Substanzen. Diese Substanzen sind physiologisch aktive Peptide, die selbst in geringer Menge in menschlichen und tierischen Organismen wichtige Reaktionen beeinflussen können.

Wachstumsfaktoren sind in der Ernährung, Tieraufzucht und Medizin von grossem Interesse.

Diese Wachstumsfaktoren koordinieren die Aktivität verschiedener Zelltypen untereinander. Sie wirken auf Vorgänge wie die Wundheilung, den Zellzyklus, die Zelldifferenzierung oder das Zellwachstum. Erste Versuche zeigen, dass in der Aufzucht von Kälbern die Gesundheit, das Wachstum und die Gewichtszunahme von Jungtieren positiv beeinflusst werden kann – als Ersatz von Antibiotika.

Wachstumsfaktoren, deren Wirkung nachgewiesen ist, deren Struktur jedoch bisher nur teilweise aufgeklärt werden konnte, sind Substanzen, die in der Ernährung, Tieraufzucht und Medizin von grossem Interesse sind.

Wachstumsfaktoren sind Minorbestandteile, die aus Milch, Molke oder Kolostrum gewonnen werden können. Der Gehalt an hochwirksamen Substanzen ist in Kolostralmilch im Vergleich zu Milch und Molke höher. Das Erstgemelk enthält gegenüber der Milch die Wachstumsfaktoren in fünf- bis zehnfacher Konzentration und weist einen hohen Proteingehalt auf. Ein Grossteil der Kolostrumproteine sind Immunoglobuline. Starke Einschränkungen in Bezug auf die technologische Verwendung der Kolostralmilch ergeben sich aufgrund ihrer Zusammensetzung. Kolostralmilch wird praktisch ausschliesslich in der Tierfütterung verwendet und liegt somit im Überschuss vor.

Konzentrate von Wachstumsfaktoren, die zur Tierfütterung vorgesehen sind,

Brita Rehberger

ist Leiterin des Projektes «Technologisch funktionelle Milchhaltsstoffe» an der Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft. Nach einem Studium der Lebensmittelchemie an der Universität Stuttgart und einem praktischen Jahr am Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart, zur Erlangung der Anerkennung als staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin, war sie in privaten Dienstleistungslaboratorien (GSDL) der Schweiz tätig. An der FAM gefällt ihr die Verknüpfung von Theorie und Praxis sowie die fachübergreifende Zusammenarbeit mit den Kolleginnen. Privat hält sie sich gerne in den Bergen auf – im Winter zum Skifahren und im Sommer zum Wandern.



sollten von möglichst hoher Ausbeute und Reinheit sein. Störende Immunoglobuline, Kaseine und Molkenproteine müssen daher nach Möglichkeit vollständig von den Wachstumsfaktoren abgetrennt werden. Beim Gewinnungsprozess gilt es einerseits die Wachstumsfaktoren aufzukonzentrieren und andererseits störende Proteine zu entfernen.

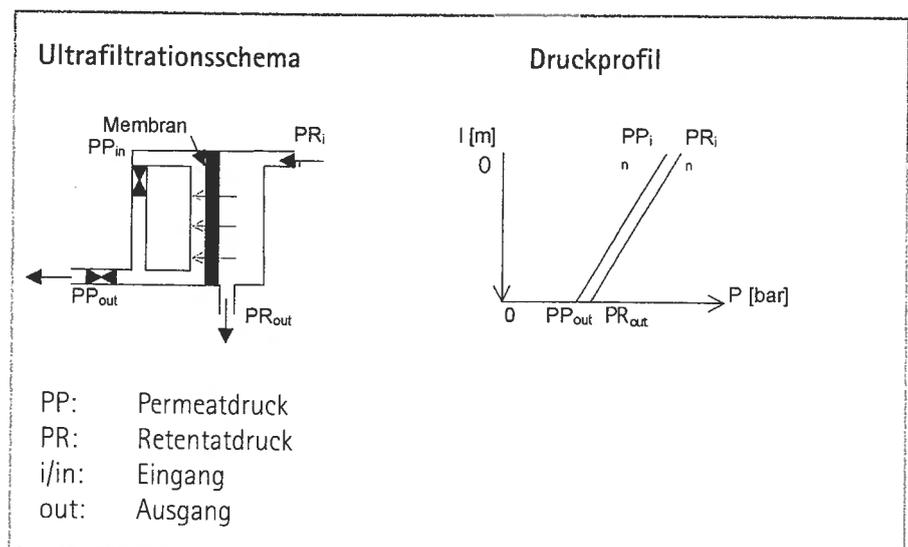


Abb. 1: Schema einer Ultrafiltration mit gleichförmigem Transmembrandruck (UTP)

Die Isolierung erfolgt mittels UTP-Ultrafiltration (uniform transmembrane pressure). Der UTP-Filtrationsprozess erzeugt ein gleichmässiges Druckgefälle über die gesamte Membran (Abb. 1).

Durch einen exakt druck- und temperaturgesteuerten Trennprozess lässt sich die Deckschichtbildung entscheidend verringern und verzögern.

Bei dem Membrantrennverfahren beruht die Trennwirkung in erster Linie auf einem physikalischen Trenn- und Konzentrationsprozess. Dadurch wird eine Kontamination der Wachstumsfaktoren durch eine mögliche Zugabe von Salzen oder anderen Zusatzstoffen vermieden.

Aufgrund der sehr hohen Proteinkonzentration lässt sich Kolostrum allerdings nicht direkt mittels Querstromfiltration (Abb. 2) auftrennen.

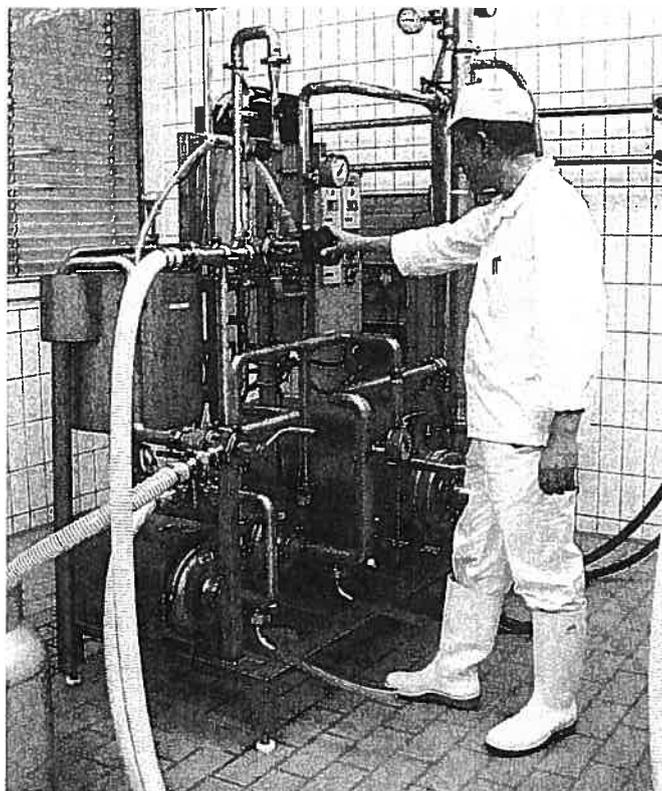


Abb. 3: Tetra-Ultrafiltrationsanlage

Cross flow filtration

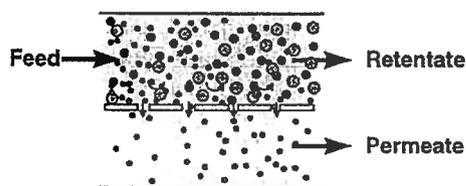


Abb. 2: Schema einer Querstromfiltration

Für die Querstromfiltration wird die hohe Trockensubstanz des Erstgemelkes zunächst mit Wasser verdünnt. Anschliessend wird die Kolostralmilch einer Vorbehandlung unterzogen:

Dafür werden Fettkügelchen, ausgefallte Proteine und Verunreinigungen zunächst vollständig mittels Zentrifugation entfernt. Zur Vermeidung mikrobiologischer Kontaminationen wird die Kolostralmilch anschliessend einer thermischen Behandlung unterzogen. Zwei im Hinblick auf die Verarbeitung von Milch günstige Eigenschaften sind die Säure- und Hitzestabilität der Wachstumsfaktoren.

Da die Wachstumsfaktoren IGF-1 und IGF-2 an grössere Trägerproteine gebun-

den sind, wird durch eine Säuerung (pH 6,0; > 12 h) diese Bindung reversibel getrennt und die Wachstumsfaktoren werden dadurch freigesetzt.

Die Abtrennung von kolloidalen und hochmolekularen Substanzen wie Kaseinmicellen und Immunproteinen erfolgt über eine Membran mit einer Porengrösse von 0,1 µm (Abb. 3). Auch einige Molkenproteine verbleiben im Retentat 1.

Die restlichen Molkenproteine, Wachstumsfaktoren sowie Mineralstoffe und Lactose passieren die Membran und befinden sich im Permeat 1.

In einem anschliessenden Schritt werden die im Permeat 1 anfallenden Molkenproteine mit einer 20 kD Membran fast vollständig abgetrennt. Im Permeat 2 der

zweiten Filtration verbleiben nun neben Wasser die Wachstumsfaktoren sowie Mineralstoffe und Lactose.

Mittels Diafiltration lassen sich Verluste an Wachstumsfaktoren in den Retentaten 1 und 2 reduzieren.

Im Permeat 2 vorhandene Wachstumsfaktoren werden in einem dritten Ultrafiltrationsschritt mittels 3 kD Membran (Abb. 4) im Retentat 3 aufkonzentriert. Niedermolekulare Komponenten wie Lactose, Mineralstoffe und Wasser passieren die Membran.

Die 3 kD Membran ist, wie bisherige Versuche zeigten, für die Wachstumsfaktoren undurchlässig.

Das von der FAM vorgestellte Filtrationsverfahren ermöglicht das Isolieren von Wachstumsfaktoren IGF-1 und IGF-2 aus Kolostralmilch. Die Wachstumsfaktoren IGF-1 und IGF-2 können als wertvolle Substanzen in der Ernährung, Tieraufzucht und Medizin Verwendung finden.

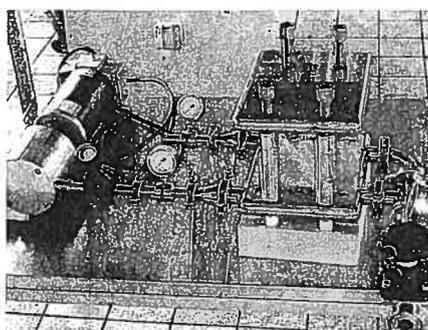


Abb. 4: PALL - Ultrafiltrationsanlage

Abb. 5:
Preis für
1mg reines
IGF-1:
\$ 600.-



Quelle:

www.researchd.com/cytokines/rdi111.htm