

KASEINKONZENTRIERUNG MIT MIKROFILTRATION – TECHNOLOGISCHE EINFLÜSSE

Technisch-wissenschaftliche Informationen



Inhalt

1. Einleitung	3
2. Aufbau der Experimente	4
3. Methoden und Berechnungen	5
4. Resultate und Diskussion	8
5. Zusammenfassung und Folgerungen	18
6. Ausblick	19
7. Literatur	19

ALP science
(vormals FAM Info)

Titelbild

MF-Konzentrate als willkommenes Rohmaterial
für neue Milchprodukte

Erstveröffentlichung

Autoren

Andreas Thomet und Ueli Bütikofer

Herausgeber

Agroscope Liebefeld-Posieux
Eidg. Forschungsanstalt
für Nutztiere und Milchwirtschaft (ALP)
Schwarzenburgstrasse 161
CH-3003 Bern
Telefon +41 (0)31 323 84 18
Fax +41 (0)31 323 82 27
http: www.alp.admin.ch
e-mail: science@alp.admin.ch

Kontakt Rückfragen

Andreas Thomet
e-mail andreas.thomet@alp.admin.ch
Telefon +41 (0)31 323 26 52
Fax +41 (0)31 322 86 16

Gestaltung

Helena Hemmi (Konzept), Müge Yildirim (Layout)

Erscheinung

Mehrmals jährlich in unregelmässiger Folge

ISBN 3-905667-20-7
ISSN 1660-7856 (online)

KASEINKONZENTRIERUNG MIT MIKROFILTRATION – TECHNOLOGISCHE EINFLÜSSE

Die Proteinfractionierung mittels Membrantrennverfahren stellt eine Grundlage für neue, innovative Verfahren und Produkte dar. In der Schweiz gibt es bereits vereinzelt erfolgreiche Anwendungen mit dieser Technologie. Die Resultate beschreiben die technischen und technologischen Möglichkeiten der Proteinfractionierung mittels Mikrofiltration umfassend. Sie dienen als Information für die weitere Entwicklung und Umsetzung der Technologie in der Praxis.

1. Einleitung

Die Proteinfractionierung mit Mikrofiltration (MF) gewinnt in der Milchwirtschaft mehr und mehr an Bedeutung. Dabei werden die Kaseine aufkonzentriert, während die Hauptfraktionen der Molkenproteine (MP) β -Lactoglobulin und α -Lactalbumin die Membran passieren können. Dazu sind in der Regel Mikrofilter mit Porengrössen im Bereich 0.05 – 0.2 μm im Einsatz.

Das Retentat von Magermilch (MM) nach der Filtrationsanlage ist ein Kaseinkonzentrat mit einem geringen Anteil (nur noch 5 bis 10%) an Molkenproteinen. Es kann zu den verschiedensten Produkten weiterverarbeitet werden (Bachmann et al., 2003). Bei der MF-Konzentrierung (C_V 4.0 bis 8.0) gehen die meisten Molkenproteine ins Permeat über. Die gewonnenen Milchfraktionen (Kasein-, Molkenprotein-, Lactosekonzentrate 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 (Abb. 1) mit guten funktionellen Eigenschaften verarbeiten. In dieser Arbeit wurden im Pilotmassstab die technologischen Einflüsse auf die MF-Fractionierung untersucht. Die Ergebnisse stehen nun der Praxis in Form von Basisinformationen zur Verfügung und sind für interessierte Betriebe hilfreich bei der Anwendung der Proteinfraction mit der MF-Technologie.



Abb. 1: MF-Konzentrat als
«Startmaterial» für die Käseherstellung
(Prototyp «Cheesemaker»)

Literatur

In der Literatur gibt es viele Arbeiten über die Herstellung von Proteinfractionen mittels Membrantrennverfahren. Eine gute Übersichtsarbeit über die Proteinfractionierung mittels Membrantrennverfahren hat Kersten (2001) im Rahmen seiner Dissertation an der TU München verfasst. Der Einfluss der Prozessparameter bei der Filtration (Temperatur, Wandschubspannung, Transmembrandruck) und der Milchinhaltsstoffe (Casein, Molkenproteindenaturierung, Fett) wurden in dieser Arbeit gründlich untersucht. Der Einfluss der thermischen Behandlung der Magermilch vor der Mikrofiltration wurden von Jost und Jelen (1997) und Pierre et al. (1992) untersucht. Diese Arbeiten konzentrieren sich spezifisch auf Pasteurisationsbedingungen (Denaturierung der MP unter 2%) oder Hochpasteurisation mit einer MP-Denaturierung von über 90%. Über den gesamten Bereich der Molkenproteindenaturierung als Vorbehandlungsschritt der Proteinfractionierung gibt es wenig Arbeiten. Das Prozessverhalten bei der Filtration von gesäuerter Milch (pH-Senkung) wurde von Attia et al. (1991) untersucht.

2. Aufbau der Experimente

Mit den durchgeführten Experimenten von ALP wurden folgende Grundlagenerkenntnisse zur Proteinfractionierung mit einem 0.1 µm MF-Filter für die Praxis erarbeitet:

- Veränderung des Casein-Molkenproteinverhältnisses (CMV)
- Spezifischer Molkenproteinübergang im Konzentrationsbereich $C_V = 1.0$ bis 5.0
- Einfluss der thermischen Vorbehandlung der MM (70 bis 90°C) vor der Filtration
- Mikrofiltration von Magermilch im pH-Bereich von 6.0 bis 8.0

Jeder Versuchslauf «Run» (Tab. 1 und 2) wurde nach dem gleichen Prinzip bezüglich Prozesseinstellung und Konzentration durchgeführt. Bei den meisten Runs konnte die MM (Ausgangsmilch mit ~10% TS) mit der Pilotanlage von Tetra nur bis $C_V = 4.0$ konzentriert werden. Die Filtrationsleistung (Flux) und Druckeinstellungen (Retentat- und Permeatseite) wurden möglichst konstant gehalten, um die sich bildende Deckschicht über der Membran unter Kontrolle zu halten. Der Kaseinanteil in der Deckschicht (Kersten, 2001) ist entscheidend für die Trenneigenschaften und dadurch für den MP-Durchgang des Filtermoduls.

Tab. 1: Darstellung Experimentaufbau der Filtrationsvarianten «Thermische Behandlung»

Run	Thermische Behandlung	pH MM
1	keine	6.67
2	65°C, 15 sec	6.67
3	72°C, 15 sec	6.67
4	80°C, 15 sec	6.67
5	80°C, 120 sec	6.67
6	90°C, 15 sec	6.67
7	90°C, 120 sec	6.67

Tab. 2: Darstellung Experimentaufbau der Filtrationsvarianten «Einfluss pH»

Run	Thermische Behandlung	pH MM
1	keine	6.67
8	keine	6.3
9	keine	6.0
10	keine	7.0
11	keine	7.5
12	keine	8.0

3. Methoden und Berechnungen

Methode zur Konzentrierung von Magermilch

Die Mikrofiltration ist als Verfahren zur Proteinfractionierung besonders interessant, da bei dieser Methode im Unterschied zur Ultrafiltration (Filterporen nur 5 bis 80 nm) das nativ in der Milch vorkommende Molkenprotein nicht aufkonzentriert wird. Dies ermöglicht eine bedeutend kostengünstigere Aufkonzentrierung (mehr Fluxleistung, weniger Filterfläche) bei gleichzeitiger Abtrennung (Fraktionierung) von Molkenproteinen über den Permeatweg. Mit Diafiltration und bei Bedarf kombiniert mit einer thermischen Vorbehandlung der Magermilch (MM) kann der Molkenproteinanteil, aber auch die Konzentration an gelösten Stoffen (Kersten, 2001) in den MF-Konzentraten eingestellt werden.

Die Pilotanlage vom Typ Alcross M der Firma Tetra Pak (Abb. 2) ist für Konzentrierungs- und Fraktionierungsaufgaben im MF- und UF-Bereich ausgerüstet. Zur Verzögerung der Deckschichtbildung bei den Fraktionierungsschritten arbeitet die Anlage mit dem Crossflow-Prinzip und ist zusätzlich mit einem UTP-System (Thomet und Gallmann, 2003) ausgerüstet. Bei der Mikrofiltration spielt die Wahl des Porendurchmessers (Cut-off-Wert) für die Partikelzusammensetzung im Konzentrat (Retentat) und Permeat eine entscheidende Rolle.

Nachstehend sind die Daten über die Rohmaterialien und die Pilotanlage sowie deren Einstellparameter aufgeführt:



Abb. 2: MF-Pilotanlage (ALP) vom Typ Alcross M der Firma Tetra Pak.

Rohstoffe	Frische Magermilch (MM) aus Uettigen (pH 6.67), thermische Behandlung gemäss Angaben Versuchsaufbau	
Erhitzung MM	Plattenwärmetauscher mit standardisierter Heisshaltezeit	
pH-Senkung MM	Zugabe Milchsäure (90%)	
pH-Erhöhung MM	Zugabe Calciumhydroxid und Phosphatpuffer	
Filtrationsanlage	Herstellfirma	<i>Tetra Pak (Schweiz) AG</i>
	Bezeichnung, Typ	<i>Alcross M, Typ 7</i>
Filtrationssystem	Filtrationsprinzip	<i>Querstromfiltration</i>
	Deckschichtkontrolle	<i>UTP-System</i>
Filterelement	Herstellfirma	<i>SCT, France</i>
	Bezeichnung, Typ	<i>Membralox, P19-40</i>
	Material	<i>Keramik (Al₂O₃)</i>
	Porengrösse	<i>0.1 µm (100 nm)</i>
	Filterfläche total	<i>1.68 m²</i>
	Filterlänge	<i>1020 mm</i>
	φ- Filterkanäle	<i>4.0 mm</i>
Parameter Experiment	Temperatur Filtration	<i>55°C</i>
	ΔP-Membran (R zu P) im UTP-Modus	<i>0.2 - 0.3 bar</i>
	Retentatvordruck	<i>3.0 - 4.0 bar</i>
	Fluxleistung	<i>20 - 60 kg / m²/h</i>
Konzentrationsstufen	C _v = 1.0 (0 min.)	<i>Nach dem Einfahren der Anlage ist Experimentbeginn bei C_v = 1.0 (0 min.) und erst nach 30 min. beginnt die Konzentrierung.</i>
	C _v = 1.0 (15 min.)	
	C _v = 1.0 (30 min.)	
	C _v = 2.0	
	C _v = 3.0	
	C _v = 4.0	
	C _v = 5.0	

Berechnungen

Transmembrandruck (TMP):

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

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

$p_R \text{ in [kPa]}$ = Druck Retentat EIN

$p_R \text{ out [kPa]}$ = Druck Retentat AUS

$p_P \text{ in [kPa]}$ = Druck Permeat EIN

$p_P \text{ out [kPa]}$ = Druck Permeat AUS

Konzentrationsfaktor (C_V):

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

Die Berechnungsformel für C_V lautet:

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

$m_A \text{ [kg]}$ = Anfangsmenge (Feed)

$m_R \text{ [kg]}$ = Retentatmenge

$m_P \text{ [kg]}$ = Permeatmenge

Konzentrierungsgrad (i):

Der Konzentrierungsgrad lässt sich über das Verhältnis der Caseinkonzentration im Retentat zur Konzentration in der Ausgangsmilch (MM) bestimmen (Kersten, 2001). Er entspricht der effektiven Caseinkonzentrierung eines Filtrationsprozesses.

Die Berechnungsformel für i lautet:

$$i [-] = C_c \text{ Retentat} / C_c \text{ Ausgangsmilch}$$

$C_c \text{ [g/kg]}$ = Caseinkonzentration

Proteinberechnungen aus Stickstoffwerten (N-Analytik):

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

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

$$\text{Casein [g/kg]} = (\text{TN} - \text{NCN}) * 6.38 \text{ bei nicht oder schwach denaturierten Proben}$$

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

TN [g/kg] = Total-Stickstoff

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

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

Sind die MP jedoch denaturiert und an die Kaseinmicellen angelagert, so werden diese bei der klassischen N-Analytik nach Rowland und Kjeldahl der Kaseinfraktion zugeschlagen (Artefakt).

Casein-Molkenprotein-Verhältnis (CMV):

Das Verhältnis von Casein zu den MP 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.

$$\text{CMV [-]} = (\text{Caseingehalt} / \text{MP-Gehalt})$$

CMV [-] = Casein-Molkenprotein-Verhältnis

$$\text{CMV}^* [-] = (\text{Caseingehalt} + \text{denaturierte Molkenproteine} / \text{MP-Gehalt})$$

$$\text{CMV}^* [-] = \text{Casein Molkenprotein-Verhältnis}$$

Anteil Casein / True Protein (Cas/TP):

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

$$\text{Cas/Prot [-]} = (\text{Caseingehalt} / \text{True Protein})$$

$$\text{Cas/Prot [-]} = \text{Anteil Casein} / \text{TP}$$

NPN-Ermittlung

In der Literatur wird der NPN für Milch und Milchprodukte vielfach als konstanter Fixwert im Bereich 0.26 bis 0.42 g/kg angegeben. In dieser Arbeit haben wir uns vorerst auf einen fixen NPN-Wert von 0.31 g/kg (Schlimme et al, 1995, Kersten, 2001) abgestützt. Die NPN-Messungen von den Konzentraten C_v 1.0 und C_v 4.0 von der zweiten Versuchsserie zeigten jedoch, dass die NPN-Werte in den MF-Konzentraten nicht immer konstant bleiben. Insbesondere nehmen mit steigender thermischer Behandlung der Ausgangsmilch die NPN-Werte im Konzentrat zu. Diese Tendenz zeigte sich auch in den Arbeiten «Einbau von Molkenprotein in Raclettekäse» aus MF-Konzentraten (Thomet, 2004). Im Gegensatz zu den MF-Konzentraten bleiben die NPN-Werte im MF-Permeat konstanter und liegen im Bereich von 0.25 bis 0.35 g/kg. Anhand der Resultate aus den Versuchsläufen 5 bis 8 konnten die NPN-Werte für das Retentat und Permeat für die erste und dritte Versuchsserie approximativ abgeschätzt werden.



4. Resultate und Diskussion

Konzentrierung von Magermilch (roh)

Im ersten «Run» wurde rohe Magermilch mikrofiltriert, wie es auch in der Praxis häufig Anwendung findet. Die erhaltenen Ergebnisse (Tab. 3) dienen somit als Vergleichsdaten zu den übrigen Experimenten. Des Weiteren sind konstante Filtrationsbedingungen Voraussetzung, um die Ergebnisse aller Versuchsvarianten miteinander zu vergleichen und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten.

Startvorbereitung vor der Filtration mit MM:

Vor der eigentlichen Mikrofiltration ist die Pilotanlage auf der Retentat- und Permeatseite mit Wasser gefüllt, damit beim Filtrationsprozess keine störenden Lufteingüsse im System

verbleiben. Zu Beginn der Versuche gilt es nun zuerst das Wasser mit nachströmender MM aus der Anlage zu schieben. Durch diesen Startprozess wird die MM (TS um 9.0%) bis im Retentatkreis der Anlage bereits leicht auf ca. 10% TS aufkonzentriert. Dies entspricht einer Vorkonzentrierung (C_v) der MM je nach Run um 1.35 bis 1.60. Der Startpunkt der Konzentrierung ist deshalb bei jedem Run gemäss den Tabellen 1 und 2 der Filtrationsschritt $C_v = 1.0$ (0 Min.). Die Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung zwischen der rohen MM aus Ausgangsrohstoff und der vorkonzentrierten MM nach dem Einfahren vom Startschritt $C_v = 1.0$ (0 Min.) sowie der Konzentrierungsgrad (i) von roher MM sind in Tab. 3 aufgeführt.

Tab. 3: Analyse der Ausgangsmilch und der Proteinfractionen (Retentat und Permeat) von roher MM unbehandelt (Run 1)

Faktoren			Prüfmerkmale								
			True Protein [g/kg]	Casein [g/kg]	MP [g/kg]	TS [g/kg]	Calcium [g/kg]	Ratio Cas/Pro	CMV	i	NPN [g/kg]
			<i>TN-NPN *6.38</i>	<i>TN-NCN *6.38</i>	<i>NCN-NPN *6.38</i>	---	---	<i>Casein/ TP</i>	<i>Casein/ MP</i>	<i>C_c Ret./ C_c MM</i>	
MM unbehandelt (Run 1)	MM roh	1.0	30.6	25.1	5.5	88	1221	0.82	4.58	---	0.28
	Konzentrat (Retentat)	1.0 (0 Min.)	41.1	34.6	6.5	99	1667	0.84	5.33	1.38	0.28
		1.0 (15 Min.)	42.0	35.7	6.2	n.b.	n.b.	0.85	5.74	1.42	0.28
		1.0 (30 Min.)	42.6	36.5	6.1	n.b.	n.b.	0.86	5.96	1.45	0.28
		2.0	71.3	62.8	8.6	130	n.b.	0.88	7.31	2.50	0.31
		3.0	105.1	94.9	10.2	165	n.b.	0.90	9.30	3.78	0.33
		4.0	141.1	128.0	13.1	202	n.b.	0.91	9.81	5.10	0.35
		5.0	163.3	148.8	14.5	225	4990	0.91	10.26	5.93	0.37
	Permeat	1.0 (0 Min.)	3.4	0.2	3.1	50	299	0.07	---	---	0.25
		1.0 (15 Min.)	4.5	0.3	4.2	n.b.	n.b.	0.07	---	---	0.26
		1.0 (30 Min.)	4.5	0.2	4.3	n.b.	n.b.	0.05	---	---	0.26
		2.0	4.8	0.4	4.4	61	n.b.	0.09	---	---	0.26
		3.0	4.7	0.2	4.4	62	n.b.	0.05	---	---	0.26
		4.0	4.0	0.4	3.5	61	n.b.	0.11	---	---	0.26
		5.0	3.4	0.6	2.8	60	272	0.17	---	---	0.26

n.b. = nicht bestimmt

Filtrationsverhalten

Bei allen 12 Runs galt es die Filtrationsparameter (Temperatur, Konzentrationsfaktoren, Druckverhältnisse Retentat- und Permeatseite, TMP, Überströmgeschwindigkeit) konstant einzustellen. Die Einstellungen der Filterparameter sind für alle 12 Varianten ähnlich den Ergebnissen von Run 8 (Tab. 4) mit pH 6.3 als Beispiel. Alle Ergebnisse aus den Versuchen sind somit reproduzierbar und gut vergleichbar.

Im Konzentrationsbereich ab C_v 2.50 bis 3.0 wurde bei allen Filtrationen das UTP-System ausgeschaltet, da die Fluxleistung mit steigender Konzentration und Viskosität der Konzentrate unter $40 \text{ l/h} \cdot \text{m}^2$ abfiel. Mit dem UTP-System kann der Transmembrandruck (TMP) sehr konstant im Bereich zwischen 20 bis 30 kPa eingestellt werden. Dadurch ist die Deckschichtbildung über der Membran gut kontrollierbar. Sobald die UTP-Regelung weggeschaltet ist, steigt der TMP sofort gegen 350 kPa an.

Tab. 4: Einstellung der Filtrationsparameter und Fluxverhalten (Beispiele von Run 8)

Temp.	Konz.	Retentat	Permeat	pR in	pR out	pP in	pP out	TMP	Flux	Bemerkungen
°C	C_v	kg	kg	kPa	kPa	kPa	kPa	kPa	$\text{l}/(\text{h} \cdot \text{m}^2)$	
58.0	1.00	200	0	425	250	392	245	19	47.6	MM pH 6.3
55.0	1.00	200	0	430	250	402	235	22	47.6	
55.0	1.25	160	40	430	250	402	235	22	47.6	
55.0	1.67	120	80	430	250	402	235	22	47.6	
55.0	2.00	100	100	435	250	402	240	22	47.6	
53.0	2.50	80	120	435	250	402	240	22	47.6	
55.0	3.00	67	133	440	250	400	200	45	47.6	
55.0	3.08	65	135	440	245	0	0	343	47.6	Ende UTP
53.0	4.00	50	150	445	250	0	0	348	29.8	

Legende

pR in = Druck Retentat EIN (bar)

pR out = Druck Retentat AUS (bar)

pP in = Druck Permeat EIN (bar)

pP out = Druck Permeat AUS (bar)

Fraktionierung der Inhaltsstoffe

Mit der Mikrofiltration wird die rohe Magermilch (MM) in zwei Stoffphasen (Abb. 3) von unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung zerlegt. Im Retentat ist hauptsächlich das Rohprotein (True Protein) in konzentrierter Form dominierend. Die Lactose wird nicht und von den Mineralstoffen nur das kaseingebundene Calcium aufkonzentriert. Mit steigender TS- und Proteinkonzentration nimmt der Lactosegehalt im Konzentrat sogar leicht ab. Fett ist im MF-Konzentrat wenig vorhanden (2 bis 4 g/kg), obwohl das Fett der MM vollständig aufkonzentriert wird. Das Restfett im MM-Konzentrat kann somit auch aus dem Fettgehalt MM multipliziert mit dem Konzentrationsfaktor (C_v) berechnet werden.

Der TS-Gehalt von MF-Permeat pendelt unabhängig vom C_v konstant um 6% (60 g/kg) und ist grösstenteils um den Kaseingehalt in der Magermilch reduziert (Abb. 4). Die Lactose ist mit rund 85% TS-Anteil der Hauptbestandteil von MF-Permeat. Die restliche Trockenmasse besteht im Wesentlichen aus Protein (Molkenprotein) und den gelösten Mineralstoffen. Die chemische Zusammensetzung ist derjenigen von Molke sehr ähnlich. MF-Permeat wird in der Literatur häufig als «ideale Molke» (Maubois, 2001) für die Weiterverarbeitung bezeichnet.

Abb. 3: Prinzip der Proteinfractionierung mit der MF-Methode.

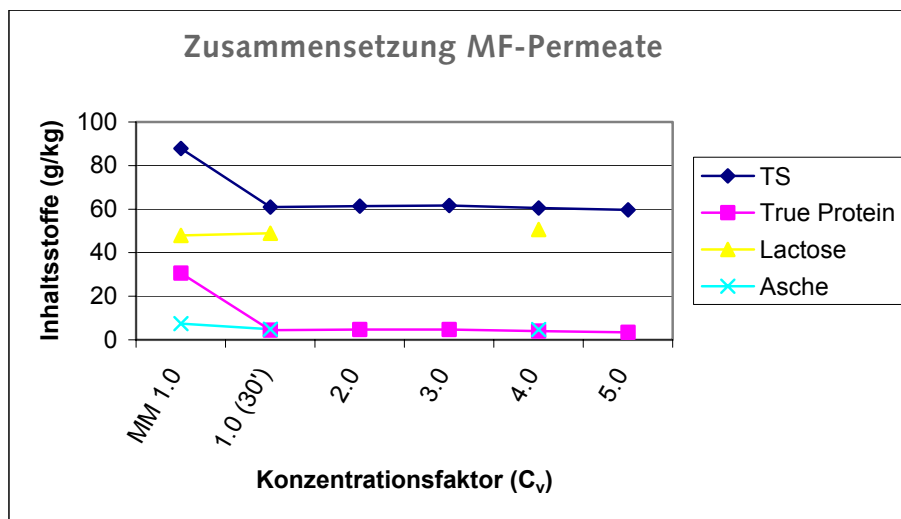
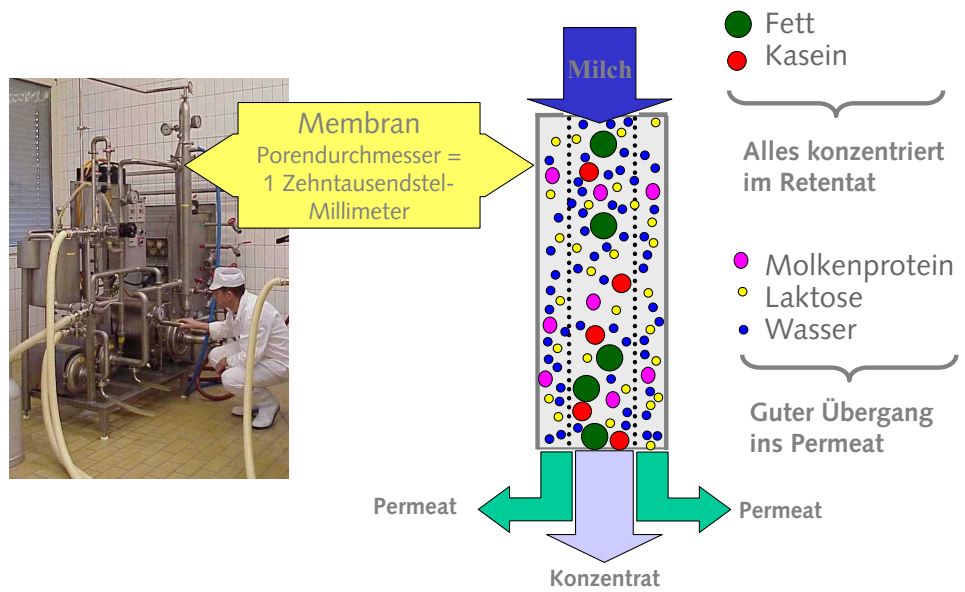


Abb. 4: Chemische Zusammensetzung von MF-Permeat hergestellt aus roher MM

Proteinfraktionierung

Ziel der Mikrofiltration mit einer 100 nm (0.1 µm) Membran ist eine möglichst gute Anreicherung der Caseine im MF-Konzentrat. Dagegen sollten die MP möglichst gut und rein ins Permeat übergehen. Abbildung 5 zeigt eindrücklich die zunehmende Anreicherung der Caseine im Konzentrat mit steigender Konzentration. Die MP (Serumalbumin und Immunglobuline) werden wenig aufkonzentriert. Das Verhältnis zwischen der Casein- und MP-Konzentration wird dadurch immer grösser. Mit einer zusätzlichen Diafiltration (DF) mit UF-Permeat lässt sich die Reinheit des Caseinkonzentrates noch deutlich verbessern.

Interessant ist der Verlauf des MP-Übergangs ins Permeat mit steigender Konzentration, wie Abbildung 6 aufzeigt. Bis C_v 3.0 steigt der MP-Übergang immer noch leicht an. Folgedessen ist der spezifische MP-Übergang beim Konzentrationsfaktor 3.0 am höchsten und ist identisch mit den Erkenntnissen aus der Arbeit von Kersten (2001). Erst ab C_v 3.0 werden die MP wegen verstärkter Deckschichtbildung vermehrt im Retentat zurückgehalten, darum sinkt die MP-Konzentration im Permeat. Die Caseinreste liegen unter 0.5 g pro kg Permeat. Erst bei C_v 5.0 steigt der Caseingehalt im Permeat leicht auf 0.6 g/kg an.

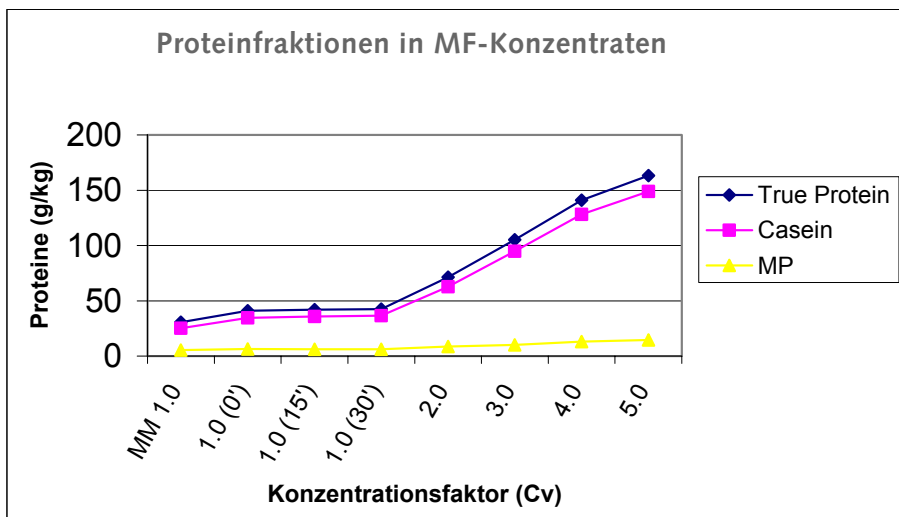


Abb. 5: Analyse der Proteinfraktionen von MF-Konzentraten hergestellt aus roher MM

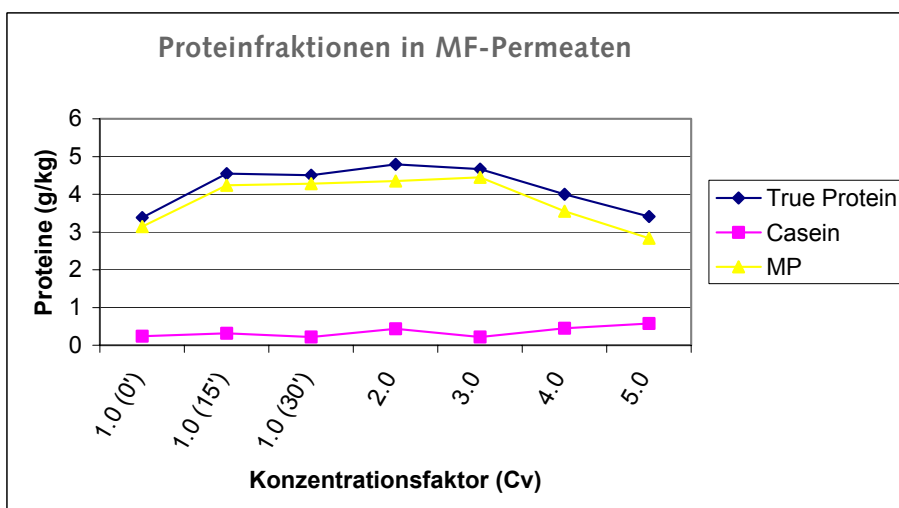


Abb. 6: Analyse der Proteinfraktionen von MF-Permeaten hergestellt aus roher MM

Calciumverteilung bei pH-Senkung

Das Calcium der MM liegt mehrheitlich in Casein-gebundener Form vor und wird im Retentat zu 60 bis 70% (Tab. 4) aufkonzentriert. Durch die pH-Senkung nimmt der Anteil an gelöstem Calcium im Permeat leicht zu. Der Konzentrierungsgrad (C_{Ca}) vom gebundenen Calcium verändert sich im pH-Bereich 6.00 bis 6.30 nicht. Weniger stark ist die Ca-Konzentration bei der MM mit unverändertem pH 6.67. Möglichweise bleiben mit steigender Konzentration vermehrt Ca-Ionen in der Deckschicht (Kersten, 2001) gebunden.

Tab. 5: Calciumgehalte in MM, Retentat und Permeat bei unterschiedlichen Konzentrationen und pH-Werten

Konzentrationsfaktor (Cv)	Calcium bei pH 6.67 [g /kg]		Calcium bei pH 6.30 [g /kg]		Calcium bei pH 6.00 [g /kg]	
MM 1.0	1221		1185		1228	
	Retentat	Permeat	Retentat	Permeat	Retentat	Permeat
1.0 (0 min.)	1667	299	1566	399	1551	470
4.0	n.b.	n.b.	4621	406	4510	435
5.0	4990	272	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
C_{Ca}	2.99		2.95 ¹⁾		2.90 ¹⁾	
Ca im Konzentrat [%]	59.88		73.79		72.7	

¹⁾ C_{Ca} berechnet bei Cv 4.0

Thermische Vorbehandlung der Magermilch

Einige Betriebe unterziehen ihre Ausgangsmilch aus Gründen der Hygienesicherheit und Lagerdauer vorerst einem thermischen Behandlungsschritt. Dabei werden in der Regel minimale Thermisations- oder Pasteurisationsbedingungen gewählt. In dieser Arbeit wurden die Auswirkungen der thermischen Vorbehandlung der Ausgangsmilch auf die Filtrationseigenschaften und die Zusammensetzung der MF-Fractionen über den gesamten Denaturierungsbereich der MP (65 bis 90°C) verfolgt. Die Filtrationsbedingungen

(Flux, Deckschichtbildung, Konzentration) sind unabhängig von der Art der thermischen Vorbehandlung recht konstant (Vergleiche auch Tabelle 3). Es ist somit auch möglich MM mit einem hohen Denaturierungsgrad der MP (> 90%) mittels Mikrofiltration zu konzentrieren.

Der Einfluss der thermischen Behandlung der Ausgangsmilch auf die verschiedenen MF-Fractionen wurde mittels Stickstoffanalyse und damit der Proteinzusammensetzung und dem CMV untersucht.

Analyse der N-Werte im Permeat und Retentat

Durch die MF-Konzentrierung steigen die TN-Gehalte mit dem Konzentrationsfaktor (C_V) beinahe proportional an (Abb. 7, Retentat). Ab einer thermischen Behandlung der MM von über 80°C nehmen die TN-Gehalte im Retentat überproportional zum Konzentrationsgrad zu. Ein deutliches Zeichen, dass durch die thermisch bedingte zunehmende Denaturierung und Aggregatbildung (Wong, 1996) weniger MP die MF-Membran passieren können und somit mehr Totalstickstoff (TN) im Retentat aufkonzentriert wird.

Eine geringe thermische Vorbehandlung (Thermisation oder Pasteurisation) der MM vor der Mikrofiltration beeinflusst den Proteinübergang (TN-Werte) ins Permeat noch nicht entscheidend (Abb. 7, Permeat). Mit zunehmender thermischer

Belastung (Hochpasteurisation) der MM nimmt der Proteinübergang ins Permeat stetig ab. Bei den beiden Varianten 80°C ist der Proteinübergang ins MF-Permeat erst ab C_V 3.0 rückläufig. Anders entwickeln sich die TN-Werte der Varianten 90°C, denn da nimmt der Denaturierungsgrad der MP deutlich zu. Dies bewirkt bereits ab Start der MF-Konzentrierung eine deutliche Abnahme beim Proteinübergang ins Permeat. Bei der Variante 90°C, 180 s betragen die Proteingehalte (TN) im Permeat nur noch 50 bis 60% im Vergleich zur Variante ohne thermische Vorbehandlung der MM.

Die TN-Gehalte im Permeat unterscheiden sich wenig von den NCN-Gehalten im Permeat (Abb. 8, Permeat), da der Restcaseingehalt im Permeat gering ist (Vergleiche Abb. 6).

Abb. 7: Total-Stickstoff (TN in g/kg) im Retentat und Permeat bei thermischer Behandlung der MM vor der Mikrofiltration

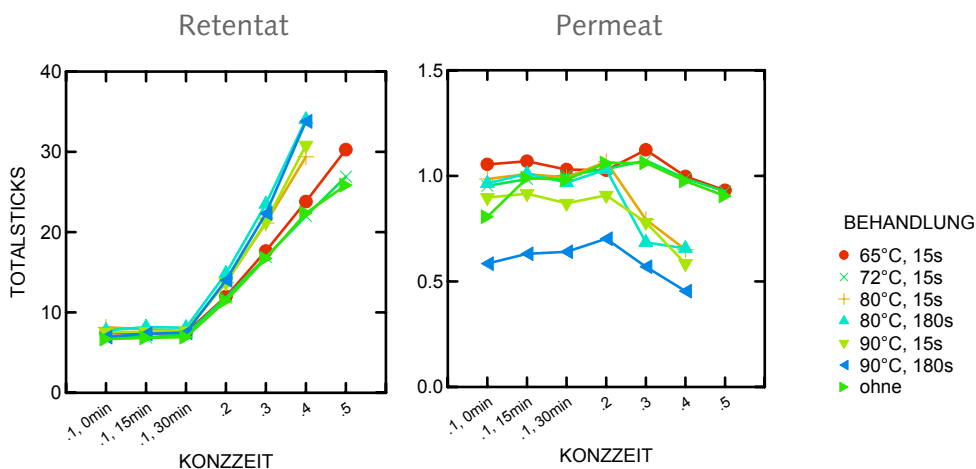
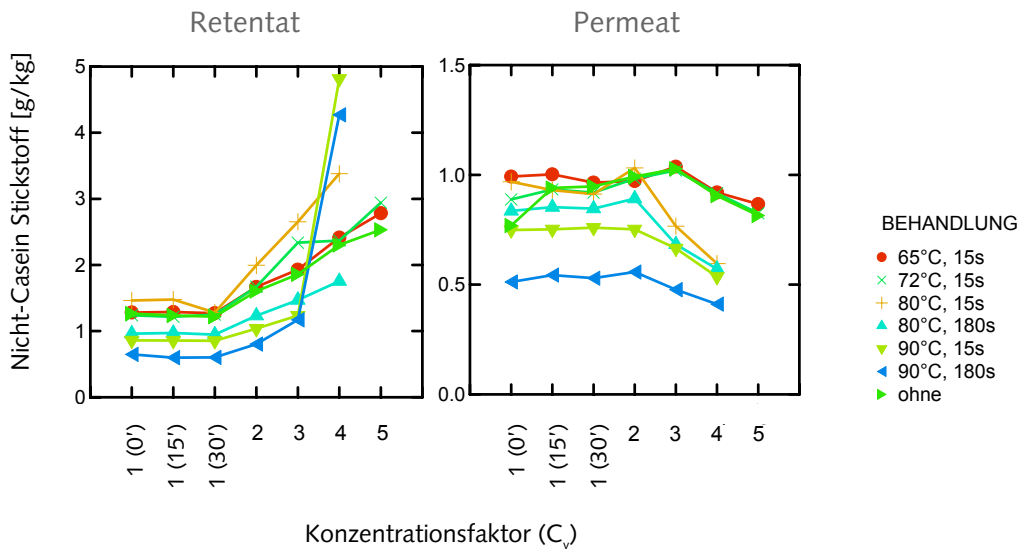


Abb. 8: Nicht-Casein-Stickstoff (NCN in g/kg) im Retentat und Permeat bei thermischer Behandlung der MM vor der Mikrofiltration



Die Interpretation der NCN-Werte gibt wertvolle Hinweise über die Proteindenaturierung und den MP-Übergang, welcher gemäss dem Gesetz der dynamischen Proteindenaturierung in drei Phasen (Thomet, 2004) vor sich geht:

Phase 1

Die MP-Denaturierung beträgt weniger als 1.5% (Berechnung nach Danneberg, 1986) bei einer maximalen thermischen Belastung von 72°C, 15 s. Die Kurven der NCN-Konzentrierung folgen relativ ähnlich der Kurve von MM ohne thermische Behandlung.

Phase 2

Die MP-Denaturierung nimmt zu. Es bilden sich grössere Aggregate (Di-, Tri- und Polymere) aus MP, welche die Membran nicht mehr passieren können. Die NCN-Werte sind deshalb bei der MF-Konzentrierung in diesem Bereich (Kurve 80°C, 15 s) erhöht. Die thermische Belastung ist jedoch noch zu gering, dass sich bereits denaturierte MP an die Kaseinmicellen anlagern können.

Phase 3

Die thermische Belastung der MM nimmt zu. Erste denaturierte MP lagern sich an die Kaseinmicellen an und passieren die Membran ebenfalls nicht mehr. Angelagerte MP werden bekanntlich bei der Stickstoffanalytik nicht mehr als NCN erfasst und werden deshalb der Caseinfracht (TN-NCN) zugeschlagen (Badertscher et al., 2002), welche dadurch scheinbar erhöht ist (Artefakt). Mit steigender thermischer Belastung (> 80°C) nimmt die MP-Denaturierung und -Anlagerung zu. Die NCN-Kurven vom MF-Retentat verlaufen dadurch zunehmend auf tieferen Konzentrationswerten.

MP-Übergang

MP ins Permeat abhängig vom Denaturierungsgrad

Mit Hilfe der Formel $(NCN-NPN) \cdot 6.38$ lassen sich die MP-Gehalte im Permeat berechnen. Bei geringer Denaturierung der MP gehen auch bei einer hohen Konzentration zwischen 4 bis 5 g/kg MP ins Permeat über (Abb. 9). Im Vergleich mit dem mittleren MP-Gehalt der MM von 5.8 g/kg ist der MP-Übergang hoch. Am besten passieren die MP nach einer kurzen thermischen Vorbehandlung der MM zwischen 65 bis 72°C. Mit steigender thermischer Belastung und MP-Denaturierung können die MP bei höheren MF-Konzentrationen die Membran bereits weniger gut passieren (Kurve 80°C, 15 s).

Der Übergang von MP ins Permeat nimmt mit zunehmendem Denaturierungsgrad ab. Bis C_v 2.0 passieren jedoch die nativen MP die Membran noch gut. Erst ab C_v 3.0 wird der Übergang an nativen MP durch die verstärkte Deckschichtbildung (Kaseinmicellen, Aggregate von denaturierten MP) auf der Membran verzögert (Kersten, 2001). Steigt der MP-Denaturierungsgrad auf über 80% beträgt die MP-Konzentration im MF-Konzentrat nur noch einen Drittel im Vergleich zu roher MM.

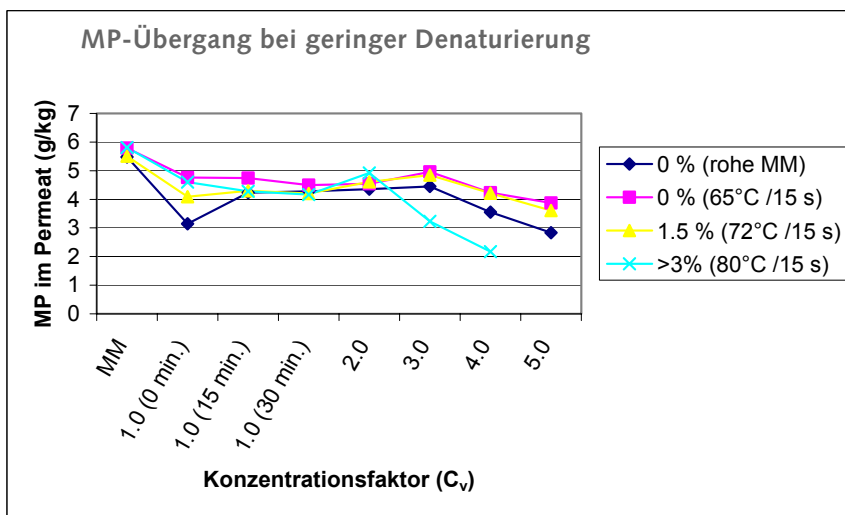


Abb. 9: MP-Übergang ins MF-Permeat bei geringer Denaturierung (Danneberg, 1986)

Einfluss

der thermischen Behandlung auf das CMV in MF-Konzentrat

Bei allen vier Varianten mit geringer thermischer Belastung konnte mit der MF-Pilotanlage von ALP ein CMV zwischen 8.5 bis 11.4 erreicht werden. Eine Thermisation (65°C, 15 s) der MM wirkt sich positiv auf das CMV aus. Dies entspricht vergleichbaren Proteinfractionierungswerten in anderen Arbeiten (Kersten, 2001). Durch die thermische Belastung der MM denaturieren (ab 72°C, 15 s) bereits wenige MP zu Aggregaten (Di-, Tri- und Polymere), welche vermehrt im MF-Retentat aufkonzentriert sind und somit den MP-Anteil im MF-Konzentrat minimal erhöhen, was das CMV leicht reduziert (Abb. 10).

Das CMV von MM roh oder mit geringer MP-Denaturierung (max. 3%) liegt im Bereich 4.4 bis 4.7. Kersten (2001) ermittelte in pasteurisierter (74°C, 20 s) MM ein CMV von 5.31 ± 0.76 . Mit zunehmender Denaturierung der MP lagern sich diese vermehrt den Kaseinmicellen an (Danneberg, 1986) und werden mit der Stickstoffanalytik als scheinbares Kasein erfasst. Die Konzentration an nativem MP nimmt mit zunehmender thermischer Belastung der MM ab. Deshalb liegt das CMV* von MM mit 20 bis 30% MP-Denaturierung bei 7.5 bis 8.0 und ist deutlich höher als von roher MM. Bei der Variante 90°C, 120 s (> 80% Denaturierung) beträgt das CMV* der Ausgangsmilch bereits 15.95. Denaturierte MP werden bei der Mikrofiltration mit den Kaseinmicellen aufkonzentriert und als «scheinbares» Casein bestimmt. Deshalb liegen die CMV*-Kurven bei starker Denaturierung der MP deutlich höher als bei der Konzentrierung von roher MM.

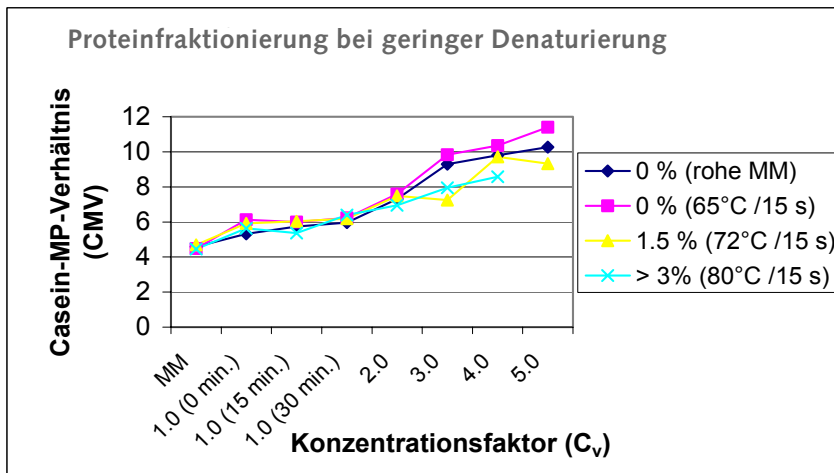


Abb. 10: Entwicklung CMV von MF-Konzentrationen bei geringer MP-Denaturierung

Magermilch mit unterschiedlichen pH-Werten

Der pH-Wert von frischer Magermilch (MM) beträgt 6.6 bis 6.7. Wird der pH-Wert gegen unten oder oben leicht verschoben, hat dies bereits Auswirkungen auf die Ladungsverhältnisse der Milchproteine und auf das Gleichgewicht der Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen, welche in gelöster oder Casein-gebundener Form in der MM vorliegen. Sowohl das Ladungsgleichgewicht zwischen Filtermembran und den Proteinen als auch die Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen beeinflussen die Deckschichtbildung und somit das Permeieren der Moleküle bei der Mikrofiltration (Kersten, 2001). In der Praxis wird häufig durch Zugabe von lebensmitteltauglichen Substanzen der pH-Wert der Ausgangsmilch verändert, um damit gezielt die Deckschichtbildung zu verzögern, die Fluxleistungen zu verbessern und die Prozesszeiten zu verlängern.

Im Rahmen der vorliegenden ALP-Arbeiten wurde ebenfalls der Einfluss auf die Filtrationsmerkmale und die Proteinfraktionierung im pH-Bereich 6.0 bis 8.0 mittels der Stickstoffanalyse und damit der Proteinzusammensetzung und dem CMV untersucht.

Übergang der MP ins Permeat abhängig vom pH-Wert

Mit Hilfe der Formel $(\text{TN} - \text{NCN}) \cdot 6.38$ lassen sich die MP-Gehalte im Permeat berechnen. Die MP-Kurven (Abb. 11) ergeben ein ähnliches Bild wie die NCN-Kurven. Die MP-Konzentration der MM mit pH 6.3 bzw. 6.0 liegt höher als bei der Kontrollmilch mit pH 6.67. Dies ist der Hauptgrund für den besseren MP-Übergang im sauren Bereich. Im pH-Bereich 6.3 gehen bis C_v 3.0 noch zusätzliche MP ins Permeat über. Ab C_v 3.0 nimmt die Fraktionierungsleistung der MF-Anlage markant ab. Eine Diafiltration zur Erhöhung der Caseinreinheit im Konzentrat wäre im Konzentrationsbereich C_v 2.0 bis 3.0 am Effektivsten.

Im pH-Bereich 7.0 passieren die MP auch bei höheren Konzentrationsfaktoren die MF-Membran relativ gut. Der MP-Übergang ist vergleichbar wie bei normaler MM mit pH 6.67. Bei pH 7.5 ist die MP-Passage bis C_v 2.0 noch gut, wird aber mit zunehmender Konzentration immer schlechter. Ungenügend ist der Übergang der MP bei der Kurve pH 8.0.

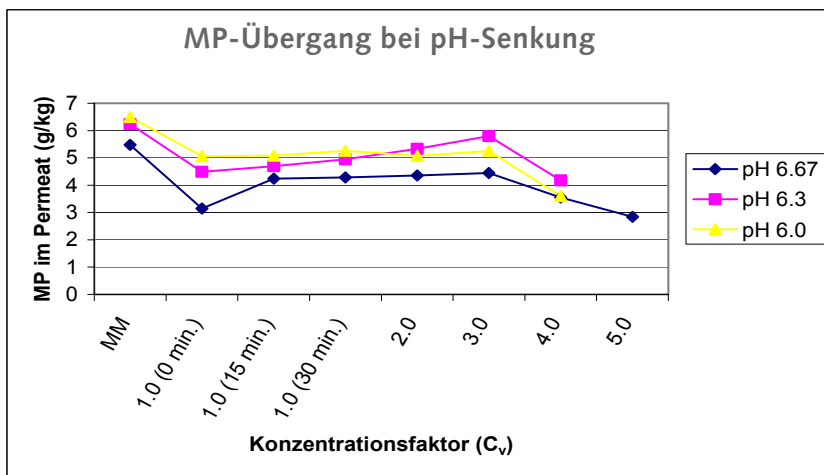


Abb. 11: MP-Übergang in das MF-Permeat bei pH-Senkung

Einfluss der pH-Veränderung auf das CMV in MF-Konzentrat

Die pH-Senkung zeigt sehr positive Effekte auf das CMV. Mit pH 6.0 konnte bei Konzentrationsfaktor 4.0 ein CMV von 12.62 (Abb. 12) erreicht werden. Das ergibt einen Caseinanteil von über 92.5% am Rohprotein im MF-Konzentrat. Eine leichte pH-Senkung durch Zugabe von lebensmittelkonformen Säuren oder CO_2 vor oder während dem MF-Prozess

könnte durchaus gewisse Vorteile (Caseinreinheit, MP-Übergang, Fluxleistung etc.) bringen.

Mit zunehmendem pH-Wert (pH 7.0 bis 8.0) im MF-Prozess nimmt das CMV ab. Für die praktische Anwendung ist eine pH-Erhöhung daher eher nicht zu empfehlen.

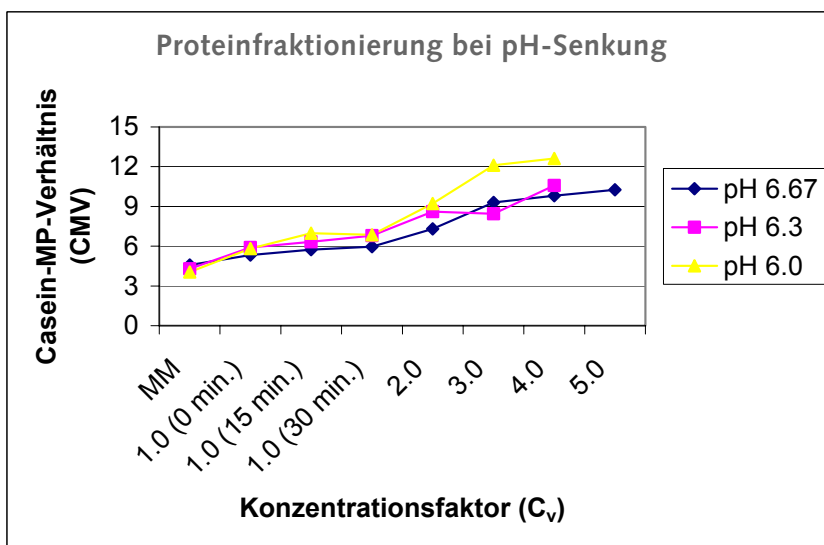


Abb. 12: Entwicklung CMV von MF-Konzentrat bei pH-Senkung

5. Zusammenfassung und Folgerungen

Die Proteinfractionierung mittels Membrantrennverfahren stellt eine Grundlage für neue, innovative Verfahren und Produkte dar. In der Schweiz gibt es bereits erfolgreiche Anwendungen mit dieser Technologie. Durch den Einsatz einer Keramikmembran mit 100 nm ist es möglich die Milchproteine in Casein und Molkenprotein aufzutrennen (Kersten, 2001, Maubois, 2001 sowie Thomet und Bachmann, 2003).

In dieser Arbeit wurden primär die Einflüsse unterschiedlicher Behandlungsschritte von Magermilch auf die Fraktionierung und Konzentrierung mit Hilfe der Mikrofiltration untersucht und mit MF-Konzentraten aus roher MM verglichen.

Die wichtigsten Erkenntnisse und Folgerungen aus der vorliegenden Arbeit sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tab. 6: Zusammenfassung der wichtigsten Erkenntnisse aus den an ALP durchgeführten Untersuchungen

Technologie und Trenneffekte:

- MM (TS ~10%) roh oder thermisch behandelt wurde auf einen C_v von 5.0 konzentriert. Dies entspricht einem effektiven Konzentrierungsgrad (i) der Caseine aus MM (< 3% denaturierte MP) um Faktor 6.0 bis 6.75.
- Ab C_v 2.5 bis 3.0 ($i = 3.0$ bis 3.5) wurde bei allen Experimenten das UTP-System weggeschaltet, da die Fluxleistung mit steigender Konzentration und Viskosität des Retentats markant abnahm.
- Die Caseinfraktion bleibt nahezu vollständig im Retentat und hat ohne Diafiltration einen Anteil (Reinheit) von 90 bis 92% am Rohprotein (True Protein).
- Solange die Deckschicht kontrolliert ist (mit UTP-Schaltung), passieren die MP den MF-Filter relativ gut. Die beste MP-Permeation liegt im Bereich C_v 2.0 bis 3.0.
- 60 bis 70% vom originären Calcium der MM verbleibt Casein gebunden im MF-Konzentrat.
- Das MF-Permeat ist in seiner Zusammensetzung vergleichbar mit Molke und gilt als idealer Rohstoff für die Weiterverarbeitung («ideale Molke»).

Thermische Behandlung der MM:

- Bei geringer thermischer Belastung der MM und einer MP-Denaturierung < 3% ist eine gute Proteinfractionierung möglich. Die nativen MP passieren den Filter gut.
- Mit steigender Konzentrierung und thermischer Belastung der MM (ab 80°C, 15 s) nimmt der MP-Übergang ins Permeat ab.
- Eine Thermisation oder Pasteurisation der MM ist für die Proteinfractionierung förderlich.
- Bei stärkerer thermischer Belastung sinkt die Konzentration an nativem MP im Konzentrat und Permeat. Es werden mehr und mehr denaturierte MP an die Caseinmicellen angelagert und in dieser Form aufkonzentriert.

MF im Bereich pH 6.0 – 8.0:

- pH 6.0 bis 7.0 ist der ideale Bereich zur Proteinfractionierung.
- Eine leichte pH-Absenkung bei der MF verbessert den Transfer von MP ins Permeat und erhöht das CMV.
- Ab pH 7.5 verschlechtern sich der MP-Übergang und die Fraktionierleistung.

6. Ausblick

Die Resultate beschreiben die technischen und technologischen Möglichkeiten der Proteinfraktionierung mittels Mikrofiltration umfassend. Sie können als Information für die weitere Entwicklung und Umsetzung der Technologie in der Praxis dienen. Massgeschneiderte MF-Konzentrate können in der Milchverarbeitung als idealer Rohstoff für die verschiedensten Produkte (Weichkäse, Frischkäse, Saucen, Dips, Einarbeitung in Lebensmittel) eingesetzt werden (Bachmann et al., 2003). In weiteren Versuchen werden an ALP die Möglichkeiten der Diafiltration betrachtet. Des Weiteren sind Arbeiten zur Messung der Textureigenschaften und zur thermischen Behandlung der Konzentrate laufend.

Es ist durchaus denkbar, dass in der «Molkerei der Zukunft» die Mikrofiltration zum gängigen Behandlungsschritt der Milch avanciert, wie es bereits die Separation darstellt. Folgedessen würde die Milchvorbehandlung eine Fett- und Proteinstandardisation sowie einen thermischen Behandlungsschritt beinhalten.

7. Literatur

Attia H., Bennasar M., De la Fuente B.T.: Study of fouling of inorganic membranes by acidified milks using scanning electronic microscopy and electrophoresis. *Journal of Dairy research* **58** (1), 39–50, 1992.

Badertscher R., Bütikofer U., Luginbühl W., Meyer J. Rehberger B.: Wie viel Molkenprotein und Kasein? *Schweizerische Milchzeitung* **128** (49), 7, 2002.

Bachmann H.-P., Thomet A., Schaefroth K.: Neues, innovatives Verfahren für die Herstellung von Käse. *Agrarforschung* **10** (10), 406–410, 2003.

Danneberg F.: Zur Reaktionskinetik der Molkenproteindenaturierung und deren technologischen Bedeutung, *Dissertation TU München*, 1986.

Jost R., Jelen P.: Cross-flow microfiltration – an extension of membrane processing of milk and whey. In: Implications of microfiltration of hygiene and identity of dairy products. *Bulletin of IDF* **320** (19), 9–15, 1997.

Kersten M.: Proteinfraktionierung mittels Membrantrennverfahren. *Fortschritt-Berichte VDI Reihe 3* (709), 1–153, 2001.

Kulozik U., Spiegel T., Huss M., Strohmaier W.: Funktional properties of micro-particulated whey proteins in product applications. *Proceeding of the 3rd International Whey Conference (Behr's Verlag)*, 2001.

Maubois, J.-L.: Milk microfiltrate, a convenient starting material for fractionation of whey proteins and derivatives. *Proceedings of the 3rd International Whey Conference (Behr's Verlag)*, 59–72, 2001.

Pierre A., Fauquant J., Le Graet Y., Piot M., Maubois J.L.: Préparation de phosphocaseinate natif par microfiltration sur membrane. *Le Lait* **72**, 461–474, 1992.

Schlimme E. und Buchheim W.: Milch und ihre Inhaltsstoffe. *Verlag Th. Mann*, Gelsenkirchen, 1995.

Thomet, A., Bachmann, H.P.: Standardisierung der Kessimilch mittels Mikrofiltration. *FAM-Information* **462**, 2003.

Thomet, A., Gallmann, P.U.: Neue Milchprodukte dank Membrantechnik. *FAM-Information* **453**, 2003.

Thomet, A.: Einbau von Molkenprotein in Raclettekäse mittels Mikrofiltration. *ALP science* **465**, 2004.

Wong D.W.S.: Structures and Functionalities of Milk Proteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **36** (8), 807–844, 1996.

Keywords

microfiltration, retentat, permeat, milk proteins, fractionation, standardization, concentration, heat treatment, pH, ideal whey, casein, whey protein, denaturation