

Využití membránových procesů při zpracování syrovátky

Jiří Štětina



VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE

Ústav mléka, tuků a kosmetiky

- ❑ Charakterizace syrovátky
- ❑ přehled membránových procesů pro zpracování syrovátky
- ❑ Reverzní osmosa - zahušťování syrovátky
- ❑ Ultrafiltrace - koncentráty syrovátkových bílkovin
- ❑ využití mikrofiltrace
- ❑ izolace frakcí bílkovin

Syrovátka

- vedlejší produkt výroby sýrů
100 l mléka => 1 kg sýru (cca 90 l syrovátky)

- Sladká syrovátka - Kyselá syrovátka

Složka (%)	Sladká syrovátka	Kyselá syrovátka
Čisté bílkoviny	0,5 – 0,8	0,4 – 0,6
Nebílkovinný dusík	0,18	0,18
Laktosa	4,5 – 5,0	3,8 – 4,3
Tuk	0,05 – 0,2	0,05 – 0,2
Kyselina mléčná	stopy	do 0,8
Popeloviny	0,5	0,8
Sušina celkem	6,0 – 6,5	5,0 – 6,0



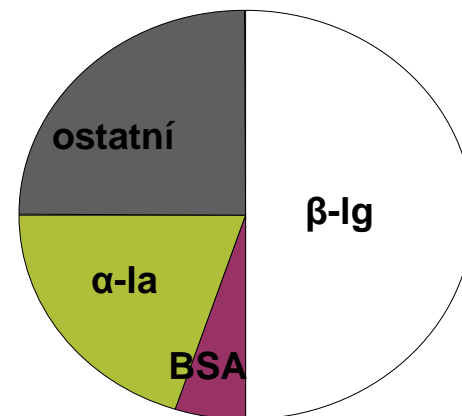
- funkčních složka potravin, kosmetiky
 - ❑ mlékárenské výrobky
 - ❑ masný průmysl, pekárenské výrobky, cukrovinky
 - ❑ kosmetika, farmacie



Syrovátkové bílkoviny

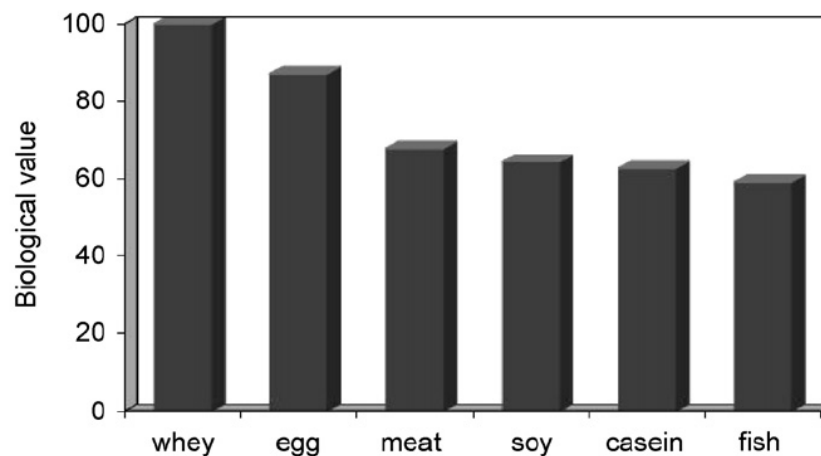
■ hlavní frakce:

- ❑ β -laktoglobulin (β -lg)
- ❑ α -laktalbumin (α -la)
- ❑ sérový albumin (BSA)
- ❑ imunoglobuliny (Ig-G, Ig-A, Ig-M)
- ❑ kaseinomakropeptid - **ve sladké syrovátce**
- ❑ proteaso-peptonová frakce (PP-3, PP-5, PP-8-fast/slow)
- ❑ **minoritní proteiny** (laktoferin, laktoperoxidasa, lysozym ...)



■ nejcennější složka syrovátky

- ❑ vysoká nutriční hodnota
- ❑ zdravotní účinky
- ❑ většinou termolabilní
- ❑ funkční vlastnosti
 - emulgační a pěnotvorné vlastnosti
 - tvorba gelu
 - vazba vody, viskozita





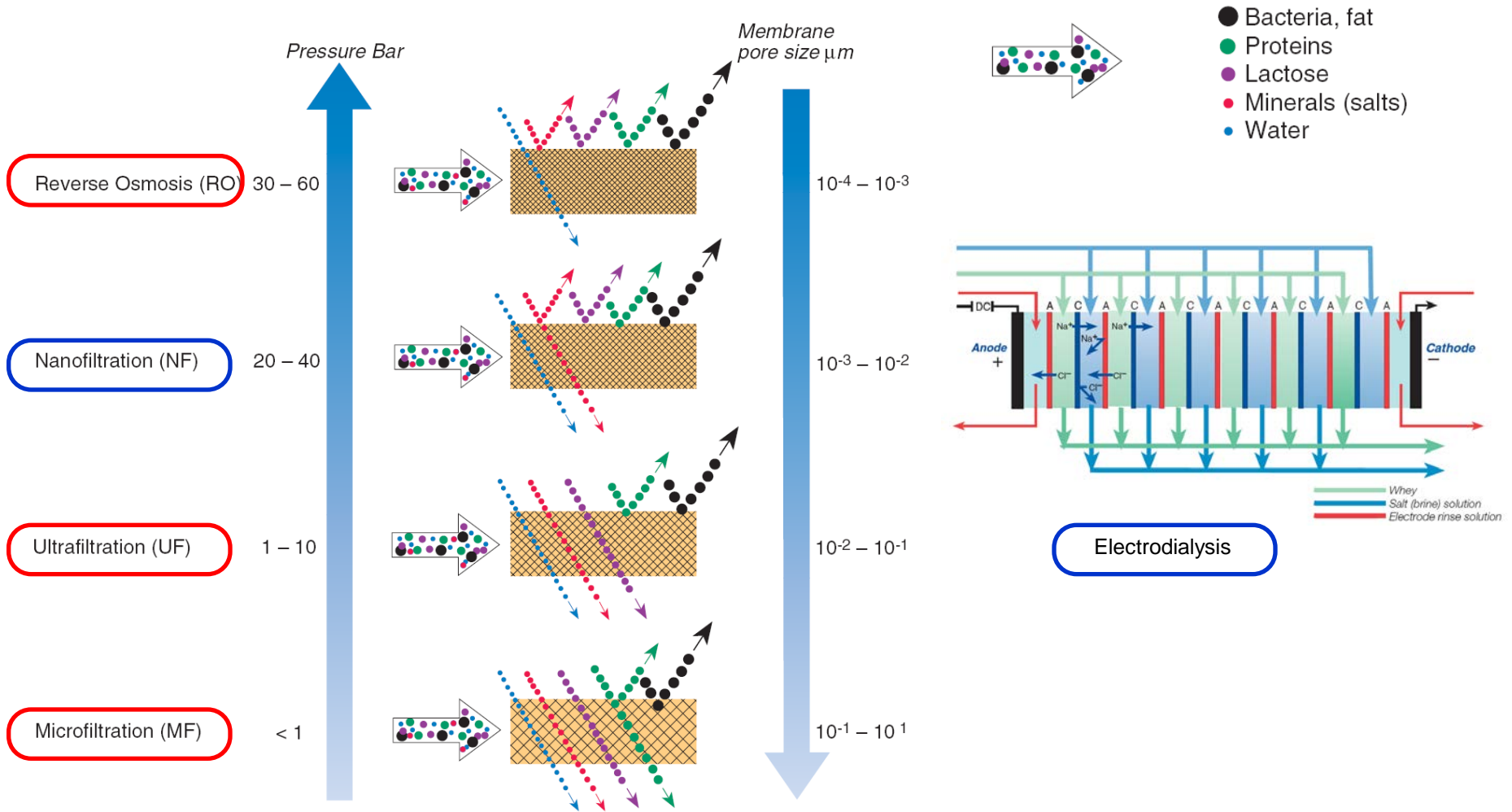
Variabilita složení syrovátky

- způsob srážení
 - obsah solí
 - frakce bílkovin (kaseinomakropetid)
 - kyselost
 - sacharidy
- tepelné ošetření
 - obsah a frakce bílkovin
- druh sýra
 - obsah sušiny
 - rozsah fermentace

g/l	Kyselá syrovátka (pH 4,6-4,8)	Sladká syrovátka (pH 5,9-6,4)
Vápník	1,2-1,6	0,04-0,06
Hořčík	0,11	0,08
Fosfát	2,0-4,5	1,0-3,0
Citrát	0,2-1,0	1,2-1,7
Laktát	6,0	2,0
Sodík	0,4-0,5	0,4-0,5
Draslík	1,4-1,6	1,4-1,6
Chlorid	1,0-1,2	1,0-1,2

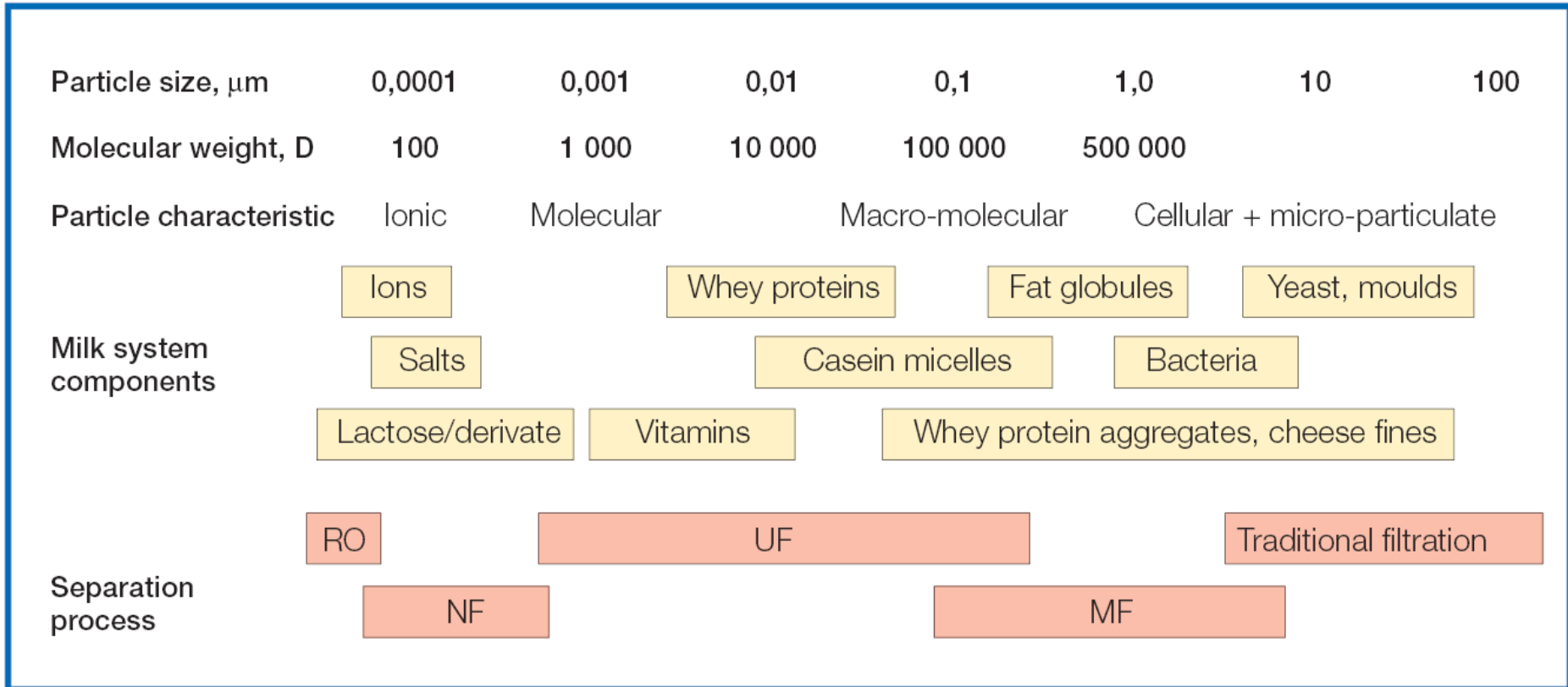


Membránové procesy pro zpracování syrovátky





Spektrum aplikací





Reverzní osmóza

- částečné zahuštění syrovátky
 - koncentrační faktor cca 3 (sušina 18 – 20 %)

- spirálně vinuté membrány
 - polyethersulfonové, polyamidy
 - tlak 3 – 10 MPa
 - optimální pH 6,0

- spotřeba energie cca 80 kJ/kg odstr. vody (odpařování cca 200 kJ/kg)

- využití
 - surovina pro další zpracování
 - zakoncentrování pro dopravu



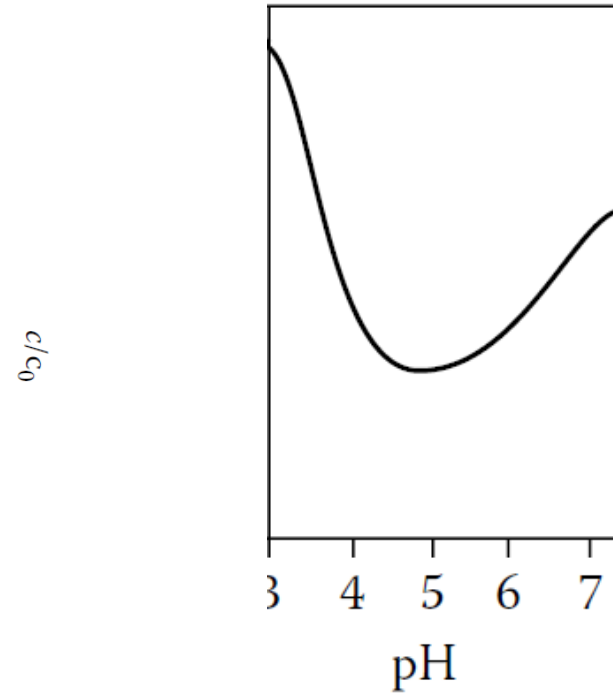
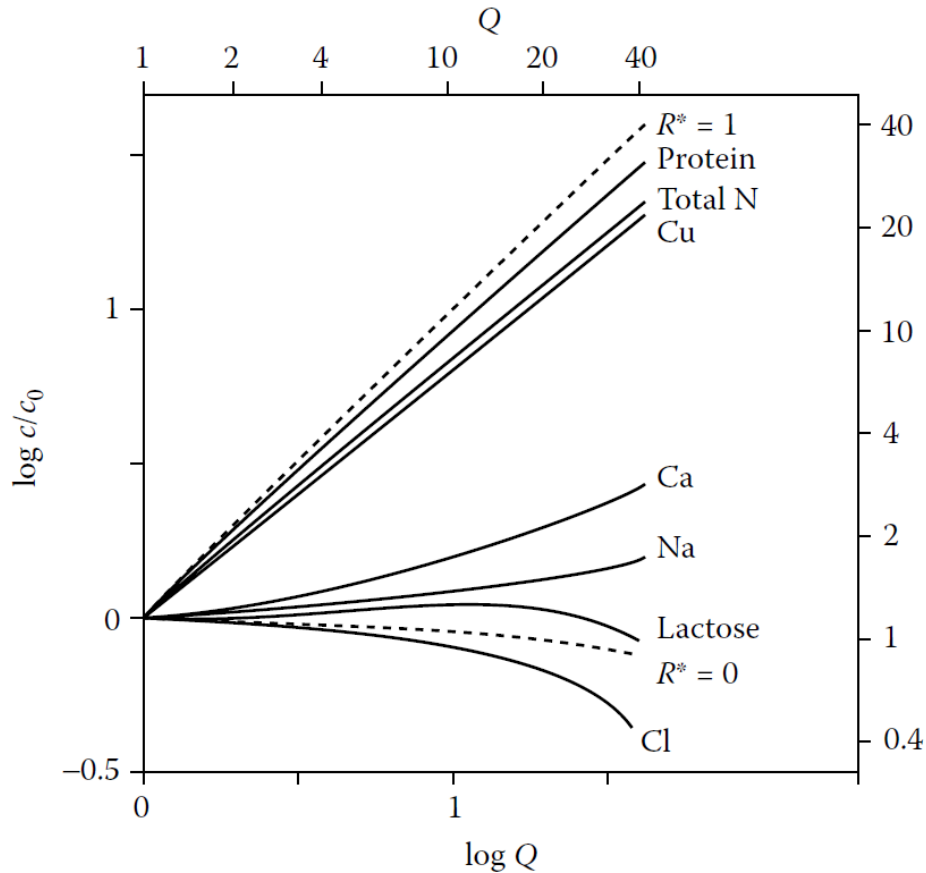
Koncentráty syrovátkových bílkovin (WPC)

- ultrafiltrace syrovátky
 - koncentrační faktor 6 – 30 (max. sušina cca 25 %)
- polyethersulfonové membrány (PES), 55 °C, 0,1 – 0,5 MPa

	1	2	3	4
% bílk. v sušině	35	50	65	80
voda	4,6	4,3	4,2	4,0
hrubé bílkoviny	36,2	52,1	63,0	81,0
čisté bílkoviny	29,7	40,9	59,4	75,0
laktosa	46,5	30,9	21,1	3,5
tuk	2,1	3,7	5,6	7,2
popeloviny	7,8	6,4	3,9	3,1
kys. mléčná	2,8	2,6	2,2	1,2



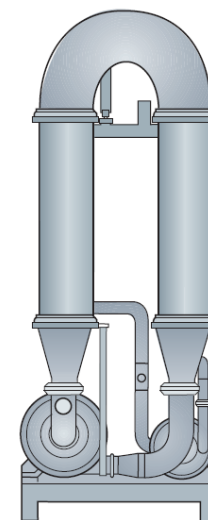
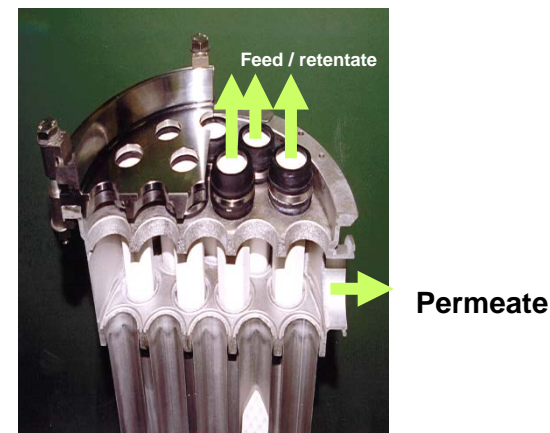
Účinnost ultrafiltrace





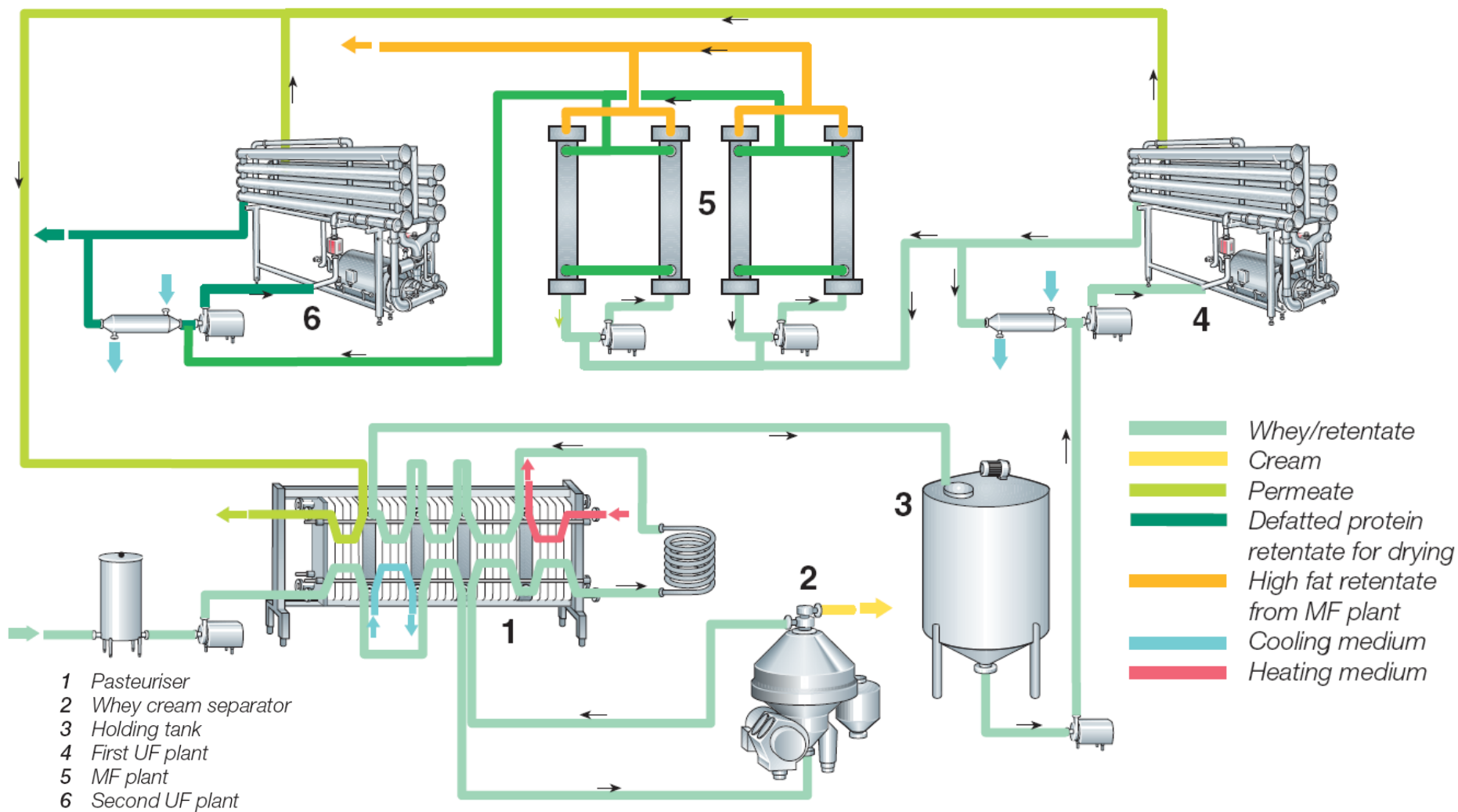
Využití mikrofiltrace

- membrány nad 100 nm, tlak 0,1 MPa
- syntetické nebo keramické membrány
- předčištění syrovátky před UF
 - odstranění tuku, mikroorganismů
- **izolace vysrážených bílkovin**
- **termokalciová precipitace**
 - přidavek CaCl_2 , pH 7,5, 50 °C 10 min
 - odstranění fosfolipoproteinů membrán tukových kuliček
 - zlepšení ultrafiltrace





Technologie odtučněného WPC





Využití permeátu

- **standardizace suroviny**
- **minerální látky**

vysrážení z UF permeátu při pH > 7:

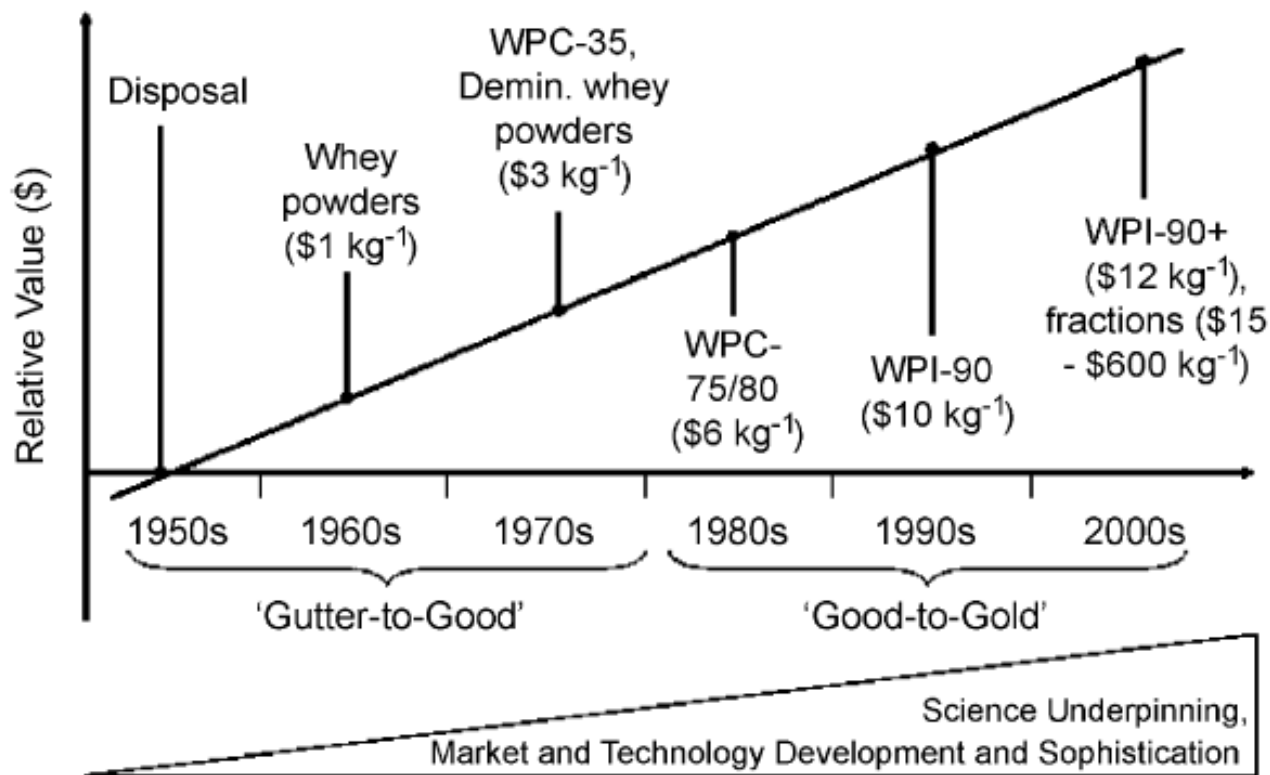
□ minerální látky	80,2
□ Ca	24,0
□ P	13,5
□ Mg	1,5
□ Fe	0,1
□ laktosa	10,0
□ bílkoviny	5,0 (hydr. kaseinu)
□ tuk	0,5
□ voda	4,0

- **laktosa – krystalizace, transformace**



Izoláty syrovátkových bílkovin (WPI)

- obsah bílkovin nad 90 %
- ultrafiltrace + diafiltrace, resp. ionexová chromatografie





β -laktoglobulin

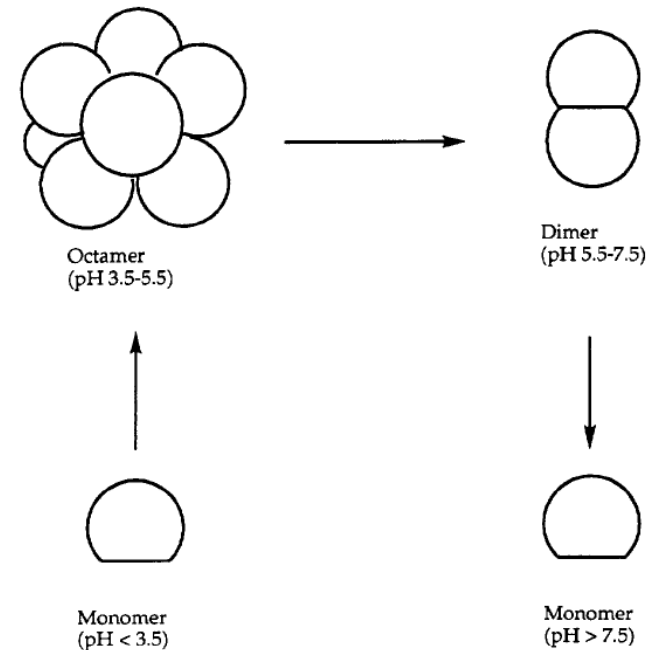
- 2 – 4 g/l (50 %)
- 18 kDa, 162 aminokyselin
- isoelektrický bod pI = 5,35 - 5,41
- konformace závisí na pH (rozdílné vlastnosti)
- Denaturace při teplotách nad 72 °C

- zdroj cysteinu pro syntézu glutathionu v játrech

- Obsah bioaktivních peptidů
 - snížení hypertenze (inhibice angiotensin konvertujícího enzymu)
 - antibakteriální aktivita
 - vliv na snížení cholesterolu

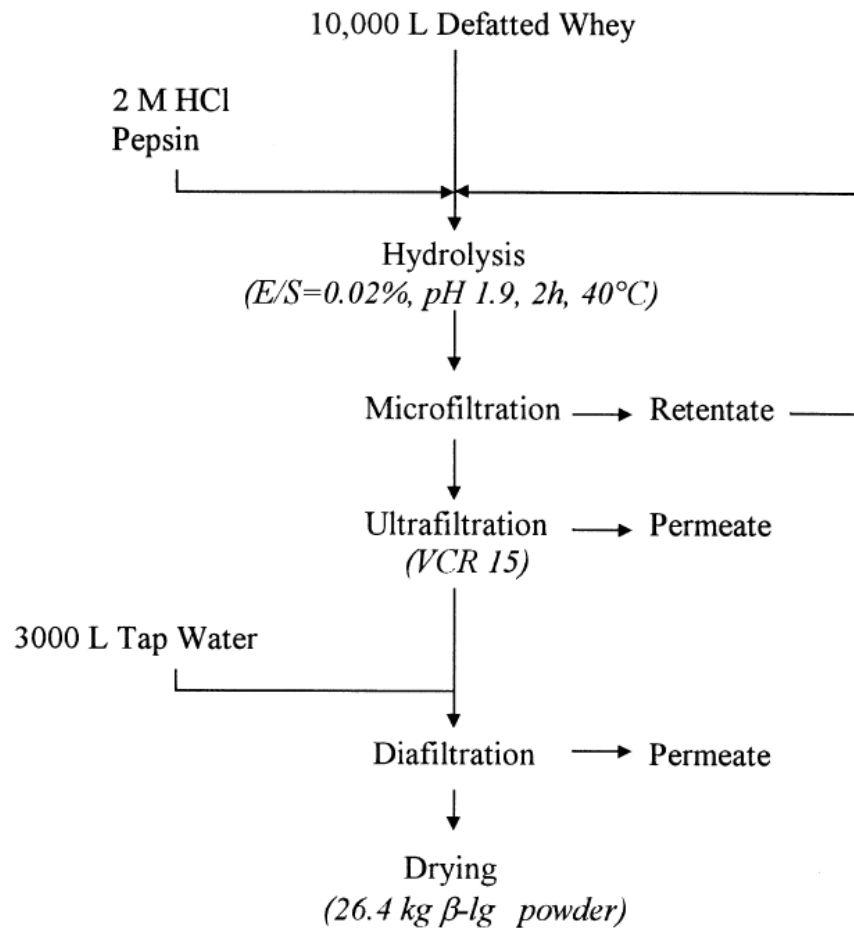
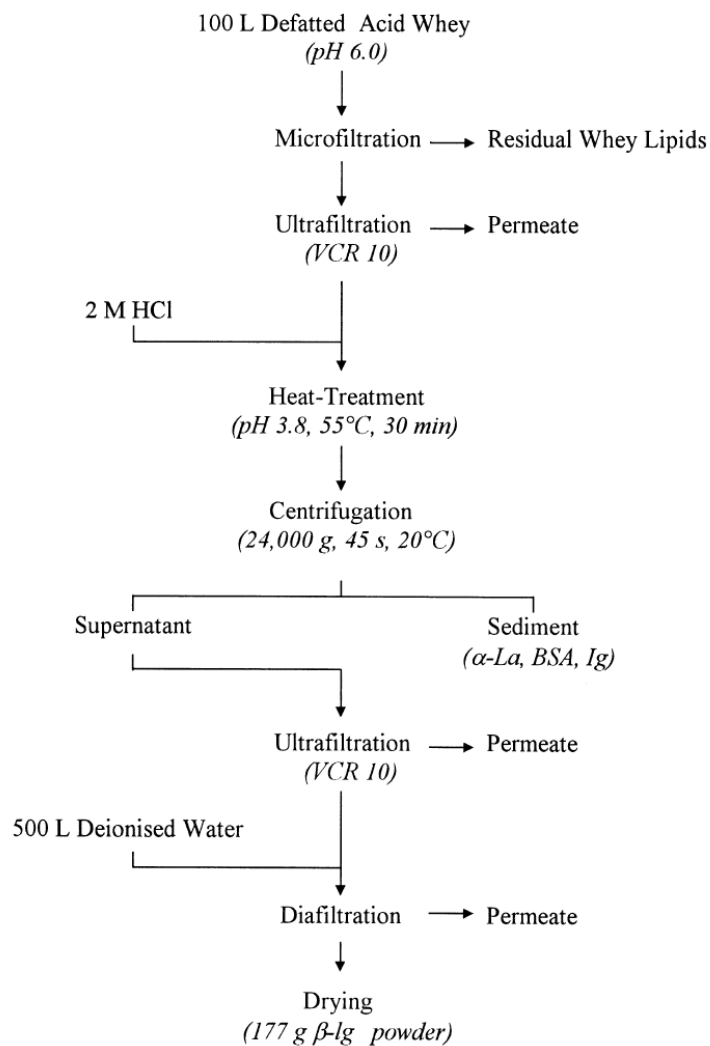
- Antikarcinogenní účinky

- alergen
 - 7 IgE epitopů a 6 IgG vazebných míst





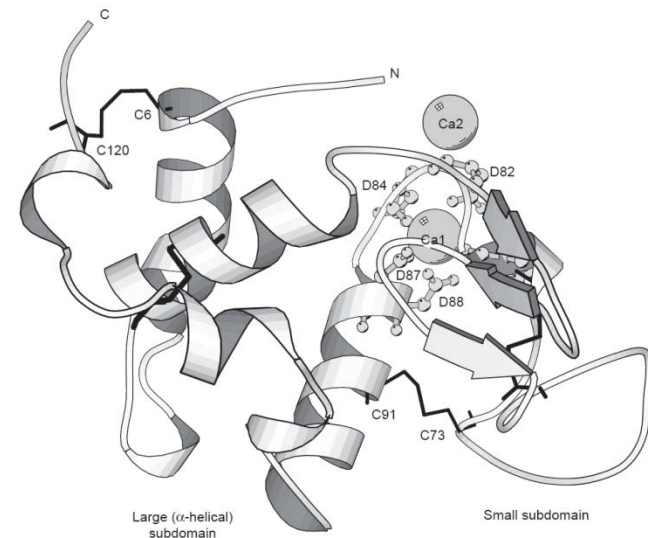
Izolace β -laktoglobulinu







α -laktalbumin

- 1 – 1,5 g/l (20 %)
- 14 kDa, pI = 4,2 - 4,5
 - Asp; Cys; Trp
- molekula váže Ca^{2+} (stabilizace sekundární struktury při pH nad 4)
- biologická funkce:
 - koenzym pro syntézu laktosy v mléčné žláze
- zvyšuje imunitu, snižuje riziko některých druhů rakoviny
- **hlavní bílkovina mateřského mléka** -> mléčná kojenecká výživa
 - 72% shoda s lidským α -la
- zdroj rozvětvených aminokyselin
 - **doplňky stravy pro sportovce** – růst svalové hmoty
- Obsah bioaktivních peptidů
 - snížení hypertenze (inhibice angiotensin konvertujícího enzymu)
 - Antibakteriální aktivita
- Potlačení stressu - tryptofan – prekursor serotoninu
- alergenní epitopy na hydrofóbních částech molekuly
 - (přístupné po denaturaci)





Izolace α -laktalbuminu

- Odtučněná sladká syrovátka (pH 6,75)
- Ultrafiltrace
150 kDa, 45°C, 0,2 MPa  retentát
Q 5 – 20
- Permeát
- hydrolýza trypsinem
pH 7,7; 42 °C; DH 9-10 %
pH 6 a záhřev na 65°C
- Ultrafiltrace
10 kDa; pH 6,25; 53°C  permeát
Q 5
- Diafiltrace (5*15 L)
- Pasterace (72 °C, 15 s)
- Sprejové sušení



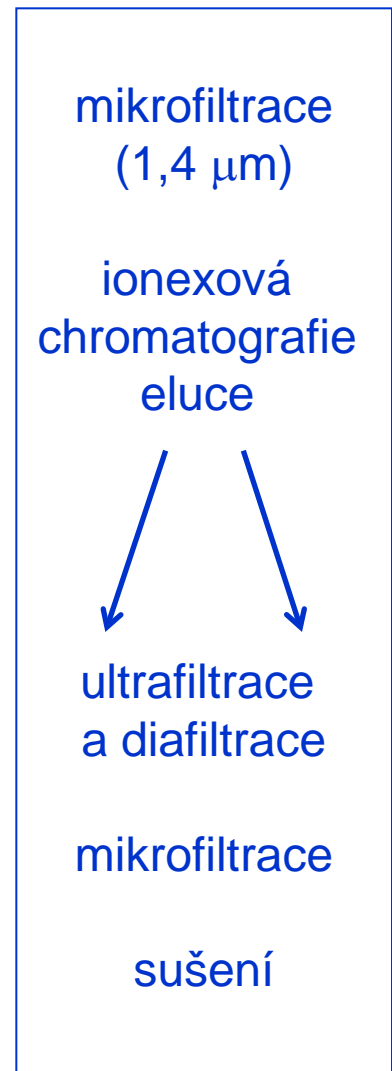
Laktoferin

- 100 mg/kg
- 75 kDa; 600-700 aminokyselin
- váže a transportuje železité ionty
- účinky
 - antibakteriální, protizánětlivé, imunomodulační,
 - antioxidační, vazba toxinů, podpora růstu buněk,
 - stimulace příznivých střevních bakterií

Laktoperoxidasa

- Součást antibakteriálního systému mléka
 - antimikrobiální účinky
- omezuje kazivost zubů

pI 9 - 9,5



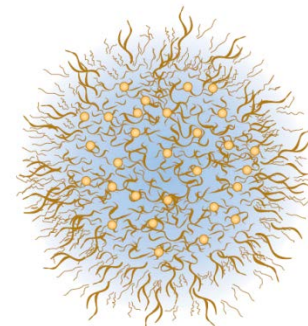


Kaseinomakropeptid (CMP)

- hydrofilní část κ -kaseinu
 - sladké srážení mléka – proteolýza chymosinem – destabilizace kaseinových micel

- 20 – 25 % všech bílkovin sladké syrovátky
 - obsah v syrovátce 1,2 – 1,5 g/l,
 - v koncentrátech syrovátkových bílkovin 12 – 28 %

- 64 aminokyselin; 7,5 – 9,6 kDa
 - různé stupně fosforylace a glykosylace, genetické varianty (A a B)
 - kys. sialová, galaktosa, N-acetylgalaktosamin
 - glykosylované formy cca 50 % - glykomakropeptid
 - neobsahuje aromatické aminokyseliny (Phe, Trp, Tyr) nebo Cys
 - do výrobků pro osoby trpící fenylketonurií
 - pI (aCMP) = 4 – 5, pI (gCMP) = 3,1 – 3,6
 - vysoká rozpustnost, tepelná stabilita





Význam CMP

- biologické účinky
 - Závislé na obsahu kys. sialové
 - omezuje adhezi bakterií a virů
 - Ochrana před infekcí
 - Ochrana před zubním kazem
 - vliv na funkci buněčných membrán
 - modulovat odezvu imunitního systému
 - podpora růstu bifidobakterií
 - potlačuje žaludeční sekreci
 - Proteolýzou tvorba bioaktivních peptidů
 - antitrombotické účinky
 - snížení hypertenze (inhibice angiotensin koncertujícího enzymu)
 - Vhodný pro
 - pro osoby trpící fenyلكetonurií
 - pacienty s onemocněním jater



Izolace kaseinomakropetidu ze syrovátky

- vliv pH na zdánlivou molekulovou hmotnost
 - pH 3,5 10 – 30 kDa
 - pH 7 20 – 50 kDa
 - UF a diafiltrace na membráně 10 – 50 kDa při pH nad a pod 4
 - výtěžnost 63 %, čistota 81 %

- termostabilita CMP
 - okyselení (pH 3,5)
a vysrážení termolabilních bílkovin (90°C)
 - UF a diafiltrace na membráně 10 kDa
 - výtěžek 71 %, čistota 75 – 90 %



Izolace kaseinomakropetidu ze syrovátky

- Užitný vzor 18716 (2008)
 - syrovátka po výrobě ricotty (tepelně vysrážena většina bílkovin)
 - mikrofiltrace 800 nm
 - ultrafiltrace a diafiltrace permeátu (5 kDa)
 - 74 % bílkovin (58 % CMP)





Závěr

- Membránové procesy
- postupně jeden za základních technologických nástrojů pro ekonomické zpracování syrovátky
- izolaci nativních syrovátkových bílkovin
- v kombinaci s dalšími technikami pro izolaci minoritních složek syrovátky

- Vývoj nových technik
 - Membránové reaktory
 - Elektro membránové jednotky

Děkuji za pozornost

