

Optimierung der Ultrafiltrationsleistung sowie Verbesserung der mikrobiologischen Qualität bei der Herstellung von Molkekonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration (MF)

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Technische Universität München Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Abt. Technologie Prof. Dr. U. Kulozik /Dipl.-Ing. T. Steinhauer
Industriegruppen:	Milchindustrie-Verband e.V. (MIV), Berlin VDMA Fachverband Nahrungsmittel- und Verpackungsmaschinen e.V., Frankfurt
	Projektkoordinator: Dr. A. Wolfschoon, Kraft Foods R & D Inc., München
Laufzeit:	2010 - 2012
Zuwendungssumme:	€ 299.950,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Süß- bzw. Sauermolken, die bei der Herstellung von Käse oder Quark sowie der Kaseinproduktion anfallen, werden häufig zu flüssigem Whey-Protein-Konzentraten (WPC) und Molkenpulver weiterverarbeitet. Da manche Süß-, besonders aber Sauermolken schlecht filtrierbar sind, müssen zu deren Konzentrierung mittels Ultrafiltration (UF) große Membranflächen eingesetzt werden und/oder eine prozesstechnisch aufwändige Vorbehandlung erfolgen, was die Wirtschaftlichkeit dieses Verfahrens stark beeinträchtigt. Ein Erhitzungsschritt zur Keiminaktivierung wird aufgrund des resultierenden zusätzlichen Fluxabfalls vermieden, was bei der Weiterverarbeitung der WPC zu hygienischen Problemen führt.

Limitierend für eine in der industriellen Praxis einfach integrierbare Vorbehandlung zur Fluxsteigerung bei der UF von Süß- und Sauermolke ist bislang das mangelnde Verständnis der Foulingmechanismen. Weder für Süß- noch für Sauermolke existieren Untersuchungen, die ursächliche und mechanistische Rückschlüsse auf den Foulingverlauf und die entstehende Deckschichtstruktur erlauben. Bisherige Untersuchungen beschränken sich meist auf einzelne Substanzen, ohne deren Interaktionen mit- und untereinander zu berücksichtigen. Es gibt Hin-

weise, dass es Proteinaggregate sind, die sich auf der Membran ablagern und durch die Exposition von reaktiven Gruppen das weitere Membranfouling katalysieren.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, die foulingrelevanten Stoffe bzw. Stoffgruppen in Süß-/Sauermolke zu identifizieren und diese vor der UF gezielt abzutrennen, um weitere Foulingsschritte zu verhindern. Gerade reaktive Proteinaggregate könnten durch eine Vorfiltration mittels Mikrofiltration (MF) gezielt abgetrennt werden und somit zu einer Steigerung des UF-Flux sowie einer Keimreduktion ähnlich wie bei der Herstellung von ESL-Milch beitragen. Bislang existieren nur wenige widersprüchliche Untersuchungen zum Einfluss von Membrancharakteristika (Porengröße), Prozessparametern (Temperatur, Trans-Membrane-Pressure (TMP) etc.) oder Produkteigenschaften (Zusammensetzung der Molken) bei der MF von Molke auf die Selektivität und Effizienz der Abtrennung von Mikroorganismen einerseits sowie Proteinaggregaten andererseits.

Forschungsziel:

Molken sind komplexe Gemische aus einer Vielzahl verschiedener Stoffklassen. Daher wurden

in einem ersten Schritt Mikro- und Ultrafiltrationsversuche im Labormaßstab mit Molkenproteineinzelfractionen durchgeführt, um deren molekularen Foulingmechanismus in isolierter Form beschreiben zu können.

Es wurde festgestellt, dass thermisch induzierte β -Lactoglobulinaggregate die Foulingreaktion bei Mikro- und Ultrafiltrationen katalysieren. Nach der Ablagerung auf der Membran durchlaufen die Aggregate eine Grenzflächendenaturierung und exponieren dabei reaktive Thiolgruppen, die dann für Thiodisulfidreaktionen zur Verfügung stehen. Bei der industriellen Herstellung von Molke entstehen solche Molkenproteinaggregate bei der Erhitzung des Käsebruches (Brennen). Es kann daher angenommen werden, dass diese Aggregate bei der Ultrafiltration von Molken in der Praxis zu einer Beschleunigung des Membranfouling führen. In diesem Zusammenhang konnte weiterhin gezeigt werden, dass an der Foulingreaktion während Mikro- und Ultrafiltrationen von β -Lactoglobulinlösungen Thiodisulfidreaktionen beteiligt sind. Grundsätzlich konnte für die untersuchten Molkenproteine (β -Lactoglobulin, α -Lactalbumin, bovines Serumalbumin, aCMP und gCMP) gezeigt werden, dass mit zunehmendem ζ -Potential (oder abnehmender Ionenstärke) die elektrostatische Abstoßung zunimmt und der Foulingwiderstand abnimmt. Bei Molkenproteinen mit freier Thiolgruppe (β -Lactoglobulin und bovines Serumalbumin) wurde im basischen pH-Bereich die elektrostatische Abstoßung von Thiodisulfidreaktionen überlagert. Sauermolke hat im Vergleich zu Süßmolke eine hohe Ionenstärke und mit pH 4,4 - 4,6 einen pH, bei dem Molkenproteinen eine geringe elektrostatische Repulsion erfahren (IEP: pH \sim 5,2). Das Fouling ist daher grundsätzlich erleichtert. Bei Süßmolke mit pH 6,4 sind freie Thiolgruppen reaktiv und können demnach die Foulingreaktion beschleunigen.

Aufbauend auf den Untersuchungen von Einzelsubstanzen wurde in einem zweiten Schritt das Foulingverhalten von Mischungen der majoreren Molkenproteine bei verschiedenen Milieu- und Prozessbedingungen zunächst in Dead-End-Ultrafiltrationen untersucht, um den molekularen Foulingmechanismus einzelner Molkenproteine auf den komplexeren Molkenproteinmischungen und Molke festzustellen.

Molkenproteinmischungen mit einem nativen Anteil von β -Lactoglobulin zeigten ein Foulingverhalten das vergleichbar mit dem von β -Lactoglobulin als Einzelsubstanz war. Je geringer der Anteil von β -Lactoglobulin im Verhältnis zu α -Lactalbumin und/oder BSA wurde, desto

mehr dominierten elektrostatische Wechselwirkungen den Foulingprozess und Thiodisulfidreaktionen spielten eine untergeordnete Rolle. Das Foulingverhalten der Mischung entsprach dann dem eines Modellproteins. Um zu überprüfen, ob Molken ein vergleichbares Foulingverhalten zu β -Lactoglobulin aufweisen, wurden Süß- und Sauermolke auf verschiedene pH-Werte eingestellt und filtriert. Die Untersuchungen zeigten, dass der komplexe Foulingmechanismus, der für Molkenproteinmischungen mit nativer Molkenproteinkomposition ermittelt wurde, auch auf Molken zutrifft. Für Süßmolke führen primär Thiodisulfidreaktionen zwischen der Deckschicht und nativen Molkenproteinen und Molkenproteinaggregaten zum Membranfouling. Bei Sauermolke (pH 4,4 - 4,6) führen unlösliche Molkenproteinaggregate zur Deckschichtbildung, Thiodisulfidreaktionen sind im sauren pH-Bereich ($<$ IEP) aufgrund der Protonierung freier Thiolgruppen nicht möglich. Für die praktische Anwendung bedeutet das, dass eine Entfernung der Molkenproteinaggregate zu einer Foulingreduktion führen kann.

Um die foulingaktiven, thermisch induzierten Molkenproteinaggregate aus der Molke abzutrennen und damit deren Einfluss auf den UF-Flux untersuchen zu können, wurden Mikrofiltrationsmembranen unterschiedlicher Trenngrenze unter Variation der Prozessbedingungen hinsichtlich der Maximierung des spezifischen Molkenproteinmassenstromes untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass der höchste spezifische Massenstrom von nativen Molkenproteinen für Süß- und Sauermolke bei der Membran mit der größten nominalen Trenngrenze von $0,8 \mu\text{m}$ erreicht wurde. Die untersuchte keramische $0,5 \mu\text{m}$ -Rohrmembran zeigte, wie die keramische $0,8 \mu\text{m}$ -Rohrmembran, eine vollständige Permeation nativer Molkenproteine, während Molkenproteinaggregate vollständig zurückgehalten wurden. Die Membran mit der kleinsten nominalen Trenngrenze von $0,1 \mu\text{m}$ war nicht zur Vorfiltration geeignet, da sie zu einer deutlichen Retention von Molkenproteinen (60 - 70 %) führte.

Neben einer Abtrennung deckschichtbildender Molkenproteinaggregate führt die Vorschaltung einer MF auch zu einer Keimabreicherung. Die höchste Reduktion mit 3-log-Einheiten bei vollständiger Permeation nativer Molkenproteine konnte mit der $0,5 \mu\text{m}$ -Membran erreicht werden. Diese Membran vereint damit zwei von drei Schlüsseleigenschaften; einer vollständigen Molkenproteinpermeation bei gleichzeitig hoher Keimabreicherung. Die dritte Eigenschaft ist die Steigerung des Flux bei der nachgelagerten Ultrafiltration. Dabei konnte der UF-Flux bei

Süßmolke um ca. 400 % und bei Sauermolke um rund 250 % mit der 0,5 μm -Membran im Vergleich zu 40 % mit einer 0,8 μm -Membran gesteigert werden. Das Kernziel des Forschungsvorhabens wurde damit erreicht.

In der Praxis finden aufgrund ihrer geringen Anschaffungskosten häufig Spiralwickelmembranen als Ultrafiltrationsmembranen Einsatz. Da auch ein Einsatz einer Spiralwickelmembran mit einer nominalen Porengröße von 0,45 μm als Vorfiltrationsmembran denkbar ist, wurde diese hinsichtlich ihrer Eignung zur Vorfiltration untersucht. Starkes Membranfouling führte zu einer starken Retention nativer Molkenproteine (> 70 %), weshalb diese Membran im Sinne des Forschungsvorhabens als Vorfiltrationsmembran ungeeignet war. Es wurde deshalb untersucht, ob durch die Vorfiltration mit der keramischen 0,5 μm -Rohrmembran eine Steigerung des UF-Flux bei Einsatz von 10 kDa-Spiralwickelmembranen (PES) und 10kDa-Flachmodulen (PES) erreicht werden kann. Die Fluxsteigerung betrug im Mittel 25 % und war damit deutlich geringer als bei der Ultrafiltration mit keramischen Rohrmodulen. Dies konnte auf die Strömungsgeometrie dieser Membranen zurückgeführt werden, die per se eine stärkere Deckenschichtbildung durch die Ausbildung von Strömungsschatten bedingt.

Durch die Vorschaltung einer Mikrofiltrationsstufe werden Molkenproteinaggregate aus den WPC entfernt. Es wurde daher überprüft, inwiefern sich die Verschäumungs- und Emulgierereigenschaften der neuartigen MF-WPCs im Vergleich zu Standard-WPCs ändern.

Die Entfernung großer Molkenproteinaggregate mittels MF führte sowohl bei Sauer- als auch bei Süßmolkenkonzentraten zu einer deutlichen Verbesserung der Schaumstabilität. Auch in der Literatur wurde bereits beschrieben, dass große Molkenproteinaggregate (> 100 nm) zu einer Schaumdestabilisierung führen, während native Molkenproteine und kleine Aggregate über Thiol-disulfidreaktionen miteinander in Wechselwirkung treten und viskoelastische Grenzflächenfilme bilden. Aufgrund der Ladung dieser Filme sind die Schäume zudem elektrostatisch stabilisiert. Die elektrostatische Stabilität der Schäume und damit auch die Schaumstabilität nahmen zum isoelektrischen Punkt von Molkenproteinen (pH 5,2) und dem denaturierten Molkenproteine (pH 4,6) hin ab. Die Schaumkapazität wurde durch die Vorfiltration nur geringfügig beeinflusst. Als zweiter Parameter wurden die Emulgierereigenschaften experimentell überprüft. Süßmolken-WPC wiesen bessere Emulgierereig-

enschaften auf als Sauermolken-WPC, da sie aufgrund ihres pH-Wertes elektrostatisch besser stabilisiert sind. Bei Süßmolkenkonzentraten konnte weder Koaleszenz noch Flokkulierung beobachtet werden. Die Entfernung von Molkenproteinaggregaten durch eine Vorfiltration führte hinsichtlich der Emulgierereigenschaften zu einer deutlichen Reduktion der Flokkulierung bei Sauermolkenkonzentraten. Für den industriellen Einsatz sind die neuartigen aggregatfreien Molkenproteinkonzentrate sehr gut geeignet, da sie zu einer verbesserten Grenzflächenstabilisierung beitragen und daher auch in geringerer Konzentration eingesetzt werden können.

Wird das Konzept der Vorschaltung einer Mikrofiltration vor der Ultrafiltration von Molke angewendet, entsteht neben dem Filtrat der MF auch ein Konzentrat das die separierten Molkenproteinaggregate enthält. Daraus resultiert die Frage, wie dieses MF-Konzentrat prozesstechnisch weiterverarbeitet werden kann und inwiefern die Wirtschaftlichkeit des neuen Verfahrens reduziert ist, wenn wertgebendes Molkenprotein aus dem Molkenstrom abgetrennt wird. Bei der Mikrofiltration von Molke werden ca. 0,05 % Molkenprotein in Form von Molkenproteinaggregaten durch die Membran zurückgehalten. Es entsteht demnach ein Konzentrat von Molkenproteinaggregaten, das nur ca. 5 % des filtrierten Gesamtvolumens ausmacht und daher nur einen Bruchteil des Gesamtmolkenproteins enthält. Aus ökonomischer Sicht ist das MF-Konzentrat daher nicht als Verluststrom zu betrachten. Aufgrund seiner thermischen Belastung kann es jedoch gezielt Molkenströmen zugesetzt werden, die zur Molkenproteinmikropartikulierung bestimmt sind. Dabei können die bereits vorhandenen Molkenproteinaggregate als Initiatoren für die Partikulierungsreaktion dienen. Wird eine Partikulierung nicht angestrebt, kann das MF-Konzentrat pasteurisiert, getrennt von der MF-Molke konzentriert und dann ggf. mit nativem Molkenproteinkonzentrat rückverschnitten werden. Zusammenfassend kann damit festgestellt werden, dass die Stoffströme auch bei dem Einsatz einer Mikrofiltration vor einer Ultrafiltration geschlossen sind und kein Verluststrom entsteht.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Die Forschungsergebnisse können in der gesamten Lebensmittelindustrie, besonders aber in der Milchwirtschaft, und dem damit verbundenen Anlagenbau sowie bei der Membranherstellung umgesetzt werden. Da das Projekt grundlegende Erkenntnisse bezüglich des Foulingverhaltens

proteinhaltiger Lösung liefert, ist zu erwarten, dass auch andere Branchen (Biotechnologie- und Pharmazieindustrie) daraus Nutzen ziehen können. Die im Rahmen des Projektes ermittelten Erkenntnisse können dazu beitragen, das Fouling und somit die benötigte Membranfläche bei der Ultrafiltration von Molke sowie die damit verbundenen Investitions-, Prozess- und Reinigungskosten deutlich zu senken. Die Erkenntnisse über die Foulingvorgänge ermöglichen es Anwendern, Membranherstellern und den Anlagenbau, dem Membranfouling durch die Entwicklung neuer Membranen und auf prozess-technischem Wege gezielt entgegenzuwirken. Auf Basis dieses Kenntnisszugewinns können neue Anlagen- und Prozesskonzepte entwickelt werden, auf die besonders kleinere Unternehmen wegen mangelnder Infrastruktur und Detailkenntnis angewiesen sind.

Des Weiteren lassen sich durch die Vorfiltration mittels Mikrofiltration die aus der unbefriedigenden mikrobiologischen Qualität erwachsenden Probleme in den der Ultrafiltration nachgelagerten Prozess- und Lagerungsschritten minimieren. Die aus der neuen Verfahrensvariante resultierenden Whey-Protein-Konzentrate können folglich voraussichtlich auch in Produkten eingesetzt werden, in denen sie bis jetzt aus mikrobiologischen Gründen keine Verwendung fanden. Eine mikrobiologische Stabilisierung zusammen mit einer fluxsteigernden Vorbehandlung der Molke in einem Prozessschritt zu realisieren, erhöht zudem die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2012.
2. Steinhauer T. und Kulozik U.: Optimierung der Ultrafiltrationsleistung bei der Herstellung von Molkenkonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration. Jahresbericht z. Milchwiss. Forsch. ZIEL Weihenstephan 2011, 108-109 ISBN 978-3-939182-43-6 (2012).

3. Steinhauer T. und Kulozik U.: Colloidal interaction-model for membrane fouling during micro- and ultrafiltrations of whey and whey proteins. Proc. 14th Aach. Membr. Kolloq., ISBN 978-3-00-039967-1 (2012).
4. Steinhauer T. und Kulozik U.: Membranfouling während Mikro- und Ultrafiltrationen von Molkenproteinen: Erfassung eines Reaktionsmechanismus für β -Lactoglobulin. Jahresbericht z. Milchwiss. Forsch. ZIEL Weihenstephan 2010, 110-113, ISBN 978-3-939182-34-4 (2011).
5. Steinhauer T. und Kulozik U.: Membrane fouling during micro- and ultrafiltrations of whey proteins: Assessment of a reaction mechanism for β -Lactoglobulin. Proc. 11th Wrl. Filtr. Congr., ISBN 978-3-941655-05-8 (2011).

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- und
Lebensmittelforschung
Abt. Technologie
Weihenstephaner Berg 1, 85350 Freising
Tel.: +49 8161 71-3535
Fax: +49 8161 71-4384
E-Mail: ulrich.kulozik@wzw.tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 372031
Fax: +49 228 376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Technologie



ALLIANZ
INDUSTRIE
FORSCHUNG



FORSCHUNGSKREIS
DER ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.