



Miljø- og
Fødevareministeriet
Miljøstyrelsen

Miljøbevidst proteinoprensning - en konkurrencedygtig oprensningsteknik **Et MUDP projekt**

Miljøprojekt nr. 2098

August 2019

Udgiver: Miljøstyrelsen

Redaktion:

Karin Loft Eybye

Maria Barmar Larsen

Kenneth W. Harlow

Michael Pålsson

Fotos:

UpFront Chromatography A/S

Teknologisk Institut

ISBN: 978-87-7038-096-6

Miljøstyrelsen offentliggør rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, som er finansieret af Miljøstyrelsen. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse.

Indhold

Forord	4
Konklusion og sammenfatning	5
1. Introduktion	6
1.1 Baggrund	6
1.1.1 Global proteinefterspørgsel	6
1.1.2 Traditionel proteinoprensning	6
1.1.3 Traditionel oprensning af mælkeproteinfraktioner	6
1.1.4 Planteproteiner	7
1.2 Formål	7
1.3 Forventet miljømæssig og økonomisk effekt	7
2. Optimering og opskalering af EBA-teknologi til oprensning af højværdi mælkeproteiner	8
2.1 Baggrund for EBA-teknologi	8
2.2 Anvendelse af EBA-teknologi til mælkeproteiner	9
2.3 Opskalering af EBA-kolonne	10
2.4 Konstruktion og ibrugtagning af fuldskala-EBA-anlæg	11
2.4.1 Forbedrede procesparametre af opskaleret kolonne på Skånemejerierne	13
3. Mælkeproteiner	14
3.1 Baggrund	14
3.2 Oversigt over mælkeproteiner	14
3.3 Mælkeproteinmarked	14
3.4 Kaseiner	15
3.5 Anvendelse af kasein	16
3.5.1 Kasein i nonfood	16
3.5.2 Kasein i fødevarer	16
3.6 Valleproteiner	17
3.6.1 β -laktoglobulin	19
3.6.2 α -laktalbumin	19
3.6.3 Laktoferrin	19
3.6.4 Laktoperoxidase	20
4. Kvalitet og funktionalitet af oprensede mælkeproteiner	22
4.1 Renhed af mælkeproteinerne	22
4.1.1 Renheden af de oprensede mælkeproteiner i pilotskala	23
4.2 Farve af mælkeproteinerne	23
4.3 Geleringsegenskaber af laktoferrin	23
4.4 Geleringsegenskaber af laktoferrin	24
4.5 Skumstabilitet af laktoferrin	25
4.6 Emulgeringsegenskaber af laktoferrin	26
4.7 Opsummering på proteiners kvalitet og funktionalitet	27
5. Referencer	28

Forord

Projektet "Miljøbevidst Proteinoprensning – en konkurrencedygtig oprensningsteknik" er finansieret under Miljøstyrelsens program "Miljøeffektiv Teknologi" og er forløbet i perioden januar 2016 til juni 2018.

Denne rapport beskriver, hvordan miljøbevidst proteinoprensning kan foretages med Expanded Bed Adsorption teknologi og beskriver projektresultaterne bag optimering af teknologien samt opskalering af denne til pilotskala og vejen dertil. Derudover beskrives projektresultaterne omkring de oprensede proteiner og deres renhed og funktionalitet samt potentiel anvendelse som højværdiingrediens indenfor bl.a. funktionelle fødevarer, modermælkserstatning, sportsernæring, lægemidler, veterinærspécial foder og personlig hygiejne. Formålet med projektet er at oprense højværdiproteiner fra mælk og genanvende mælkeserummet igennem en symbiose, der oprindeligt var tiltænkt at være med oprensning af planteprotein. Igennem projektet viste der sig en logistisk udfordring i at udbrede denne symbiose og den økonomiske værdi og mulighed for udbredelse viste sig betydeligt større ved at indgå en symbiose mellem oprensning af højværdi mælkeproteiner og osteproduktion, da mælkeserumresten derved ikke opstår. Denne symbiose er demonstreret i industriel skala på Skånemejerierne i Sverige.

Projektet er udført som et samarbejde mellem UpFront Chromatography A/S og Teknologisk Institut ledet af seniorspecialist Maria Barmar Larsen med signifikant bidrag fra seniorkonsulent Karin Loft Eybye. Fra UpFont Chromatography A/S har CEO Michael Pålsson og CSO/CTO Kenneth W. Harlow været de drivende kræfter. DHI har været underleverandør på modelleringsdelen i forbindelse med design af pilotskalakolonnen.

Konklusion og sammenfatning

Projektet omhandler, hvordan fremstilling af højværdiproteiner til fødevarer eller medicinske formål kan opnås med miljørigtige løsninger, hvor alle dele af produktet udnyttes, og der ikke efterlades en restfraktion. Dette er interessant både fra et økonomisk, miljømæssigt og ressourcemæssigt perspektiv. Dette gøres i praksis ved at lade oprensningen af højværdi mælkeprotein indgå i en symbiose med en anden industriel proces, hvor indeværende projekt viste, at en symbiose med traditionel osteproduktion er mest favorabelt fremfor symbiose med oprensning af højværdiplanteprotein, som var den oprindelig løsningsmodel.

I dette projekt er der udført proteinfældning samt anvendt oprensningsteknologien *Expanded Bed Adsorption*, hvilket er en teknologi, hvor væske køres igennem en sølje indeholdende højdensitetsadsorbenter, der designes, så forskellige proteiner kan bindes til disse og oprenses til en høj renhedsgrad med bevaret funktionalitet og bioaktive egenskaber, da denne kromatografiske metode er meget skånsom. I projektet er der udviklet metoder til at kunne teste funktionalitet og bioaktive egenskaber. Fordelen ved anvendelse af *Expanded Bed Adsorption* kromatografi er opskaleringsmulighederne med denne teknik.

På baggrund af projektet er det lykkedes at demonstrere, at det er muligt at lave en symbiose mellem oprensning af funktionelle, bioaktive højværdi mælkeproteinfraktioner og traditionel osteproduktion. Ved at indgå i denne symbiose undgås fremstilling af restfraktionen mælkeseum, som ellers ikke ville kunne anvendes, og der fremkommer kun det traditionelle restprodukt, som kommer fra osteproduktionen. Samtidig viste det sig muligt at opskalere en *Expanded Bed Adsorption* kolonne fra en 10 cm laboratorie kolonne til en 80 cm pilotskala kolonne, samt at demonstrere funktionen af denne i en industriel symbiose med traditionel osteproduktion.

1. Introduktion

1.1 Baggrund

1.1.1 Global proteinefterspørgsel

Den globale efterspørgsel efter proteiner er stigende, og derfor må alle proteinkilder udnyttes optimalt, heriblandt også proteiner fra mælk og planter, hvor kun nogle proteiner i dag udvindes. Endvidere går en del af proteinindholdet ofte til spilde igennem bearbejdning af disse fødevarer. Endelig, for en givne kilde er der en interesse i at øge værdien, man kan få fra de forskellige kilder til det højeste mulige niveau. For eksempel har mælk solgt som konsummælk en værdi på omkring 2-4 kr. per kilo for et mejeri, mens fremstilling af ost øger værdien af mejeriets mælk. Hvis man kan udvinde yderligere proteiner, fx laktoferrin fra mælk, inden den laves til ost uden at forringe kvaliteten af osten, kan man yderligere øge mælkenes værdi: Laktoferrin kan nemlig sælges til en kilopris på 900-2000 €/kg afhængig af dets kvalitet.

1.1.2 Traditionel proteinoprensning

Indenfor fødevarerindustrien er der to omstændigheder, der har domineret metodologien omkring proteinoprensning fra diverse kilder. For det første har proteiner oprenset fra fødevarer typisk været komplekse blandinger, hvor renheden og til dels tilstanden (nativ struktur og bioaktivitet) af de enkelte proteiner har været mindre betydningsfulde. For denne type blandinger har oprensningsteknologi været baseret på membranfiltrering, der kan levere den nødvendige kapacitet, men har en fortrinsvis lav resolution (dvs. evnen til at adskille enkelte proteiner fra komplekse blandinger). Den anden mindre hyppige omstændighed er, hvor det har været nødvendigt at oprense et protein til en høj renhedsgrad med bevarelsen af bioaktivitet. Her har der traditionelt været brugt kromatografiske teknikker enten i form af "packed bed" søjlekromatografi eller bulk kromatografiske metoder som "stirred bed" eller statisk batch kromatografi. Disse metoder har en høj resolution, men en forholdsvis lav kapacitet.

I kraft af fødevarerindustriens ønsker om at valorisere både foderstrømme samt affalds- og restproduktstrømme ved at ekstrahere højværdi og rene proteiner fra disse strømme har det været nødvendigt at opfinde en teknologi, som har både høj kapacitet (at håndtere de store volumener, som findes i fødevarerindustrien) og høj resolution (til at producere rene produkter). Anden generations expanded bed adsorption (EBA) kromatografi, som Upfront Chromatography A/S har udviklet, er sådan en teknologi, og den anvendes i dag indenfor forskellige sektorer til at oprense proteiner.

1.1.3 Traditionel oprensning af mælkeproteinfraktioner

Traditionelle udvindingsprocesser af specifikke valleproteiner sker typisk fra vallen efter osteproduktion, da vallen traditionelt set har været et restprodukt anvendt til dyrefoder eller gødning, når den ikke var smidt væk. Traditionel valorisering af vallen gennem ekstrahering af valleproteiner kræver flere varmebehandlinger (pasteuriseringer) for at slå mikrobiel vækst ned. Det er derfor både en energikrævende proces og en proces, som indebærer beskadigelse af de valleproteiner, som skal udvindes pga. de nødvendige varmebehandlinger. Derfor vil det være en fordel, hvis man kunne udvinde valleproteiner på en måde, som var både mindre energikrævende samt mere skånsom overfor valleproteinerne, så de bevarer egenskaber, de ellers vil miste under varmebehandling.

EBA-kromatografi af mælk og forskellige mælkestrømme (valle, permeat, mf.) kan selektivt fange og oprense forskellige proteiner fra disse strømme og levere højt raffinerede og værdifulde produkter. Denne forbedrede proces kan være med til at øge mejeriernes

indtjening samtidig med, at processen er mere miljøvenlig i kraft af processens mindre energibrug sammenlignet med traditionelle metoder.

1.1.4 Planteproteiner

Ved bearbejdning af afgrøder og plantematerialer er der typisk store restproduktstrømme, som indeholder potentielt værdifulde proteiner. Behandling af disse strømme med traditionelle oprensningemetoder har været vanskelige på grund af indhold af forurenende faste stoffer, som er vanskelige at håndtere med traditionelle metoder som membranfiltrering og packed bed søjlekromatografi. EBA søjlekromatografi har vist sig velegnet til håndtering af disse delvis beskidte strømme fra afgrødebearbejdning.

1.2 Formål

Formålet med projektet var at udvikle en proces, der kan øge produktionen af fødevarerproteiner og forbedre rentabiliteten af proteinproduktionen gennem industriel symbiose. Når mælkeproteiner oprenses, fremkommer der mælkeserum, som ønskes genanvendt. Det oprindelige mål var at anvende mælkeserummet direkte til oprensning af planteproteiner, som er en meget vandkrævende proces, men det viste sig mere effektivt at genanvende mælkeserummet i traditionel osteproduktion. Dette skyldes, at effektiviteten i at bruge mælkeserum til udvinding af planteproteiner kræver, at fabrikken for planteproteinproduktion ligger i nærheden af mejeriet for, at genanvendelsen af mælkeserum er rentabelt. Dette er sjældent tilfældet.

Ved brug/genbrug af mælkeserummet hos mejeriet indenfor traditionel osteproduktion kan der på denne måde fremstilles proteiner af høj funktionel kvalitet til fødevarer ingrediensmarkedet og samtidig reduceres miljøpåvirkningen.

1.3 Forventet miljømæssig og økonomisk effekt

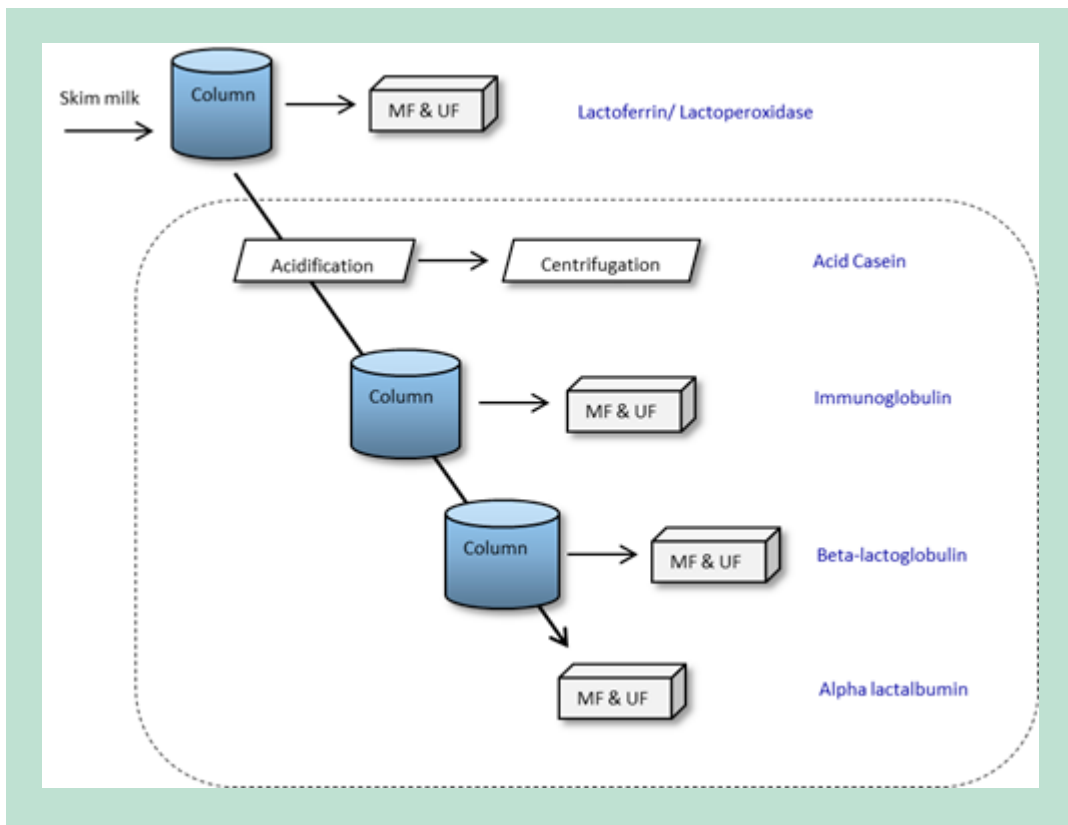
En miljømæssigt gavnlig effekt hos producenterne af proteiner opnås ved implementering af EBA-kromatografi, hvor proteinerne oprenses ved lavt energiforbrug uden brug af organiske opløsningsmidler med både høj produktrenhed og højt udbytte. Projektet ønsker at optimere og opskalere EBA-teknologien og overordnet kombinere to industrielle processer i én proces. Optimering af EBA-teknologien til oprensning af mælkeproteiner med meget høj renhedsgrad øger danske virksomheders forretningsmuligheder på markedet for proteinfremstilling betydeligt og stiller Danmark stærkt på det voksende verdensmarked for funktionelle proteiner som fødevarer ingrediens.

2. Optimering og opskalering af EBA-teknologi til oprensning af højværdi mælkeproteiner

2.1 Baggrund for EBA-teknologi

I dette projekt anvendes proteinoprensningsprocessen expanded bed adsorption kromatografi (EBA), som har en høj selektivitet overfor specifikke proteiner ud fra en grov væskestrøm. I projektet er der i første omgang fokuseret på en strøm af ikke pasteuriseret skummetmælk, som er udgangspunkt for en bearbejdning af mælken, og som resulterer i en totalfraktionering af mælken som vist i FIGUR 1. I opskaleringsdelen af projektet er der endeligt kun fokuseret på det første kromatografiske trin, som resulterer i adskillelsen af laktoferrin og laktoperoxidase fra mælken. Den resterende mælk, som er behandlet i dette trin, returneres til mejeriets produktionslinje og bruges i traditionel osteproduktion.

EBA-teknologien er udviklet og patenteret af Upfront Chromatography A/S. Teknologien er baseret på anvendelse af skræddersyede kugleformede kolonnematerialer af meget høj densitet i åbne, trykløse, separationskolonner. Kolonnematerialet består af små kugler af agarose (fremstillet fra tang), som er derivatiseret med forskellige ligander afhængig af applikationen. Kuglerne kan derved binde målrettet proteiner specifikt, samtidig med at andre stoffer uhindret passerer igennem kolonnen. Teknologien er specielt velegnet til oprensning af relativt grove væskestrømme i meget stor skala, idet den ekspanderende kolonne tillader partikler og luftbobler at passere uden, at denne stopper til under drift.



FIGUR 1. Skitse af fraktioneringstrinnene for oprensning af højværdimælkefraktioner.

2.2 Anvendelse af EBA-teknologi til mælkeproteiner

Mange af de vigtige funktionelle egenskaber for mælkeproteiner som opløselighed, viskositet, vandbinding, gelering osv. afhænger af proteinernes sammensætninger og strukturer. Hovedparten af de mælkeproteiner, der findes på markedet, er oprenset fra valle, som er et biprodukt efter oste eller kaseinproduktionen. Vallen er dannet ved at koagulere mælken, og denne koagulering kan ændre proteinernes struktur. Endvidere for at kontrollere mikrobiel vækst, bliver valle gentagende gange pasteuriseret under produktionsprocessen. Denne behandling er energikrævende og ikke gavnlig for valleproteiners strukturer og funktionalitet. Valleproteinerne er globulære proteiner med et højt indhold af aminosyren cystein, som bevirker, at der ved kraftig varmepåvirkning dannes svovlbroer. De globulære proteiner er kun marginalt stabile og kan ved påvirkning skifte fra nativ til intermedieære stadie til et denatureret stadie. Denatureringen kan fx initieres ved pH-, mineral-, tryk- eller temperaturændringer i processen. Valleproteinernes struktur kan derfor påvirkes negativt under traditionelle fremstillingsprocesser.

De to proteiner, som udvindes i det første trin i FIGUR 1, udviser interessante funktionelle og fysiologiske egenskaber.

Laktoferrin er et multifunktionelt protein, som har antimikrobielle, antiinflammatoriske og gavnlige ernæringsmæssige egenskaber. Det anvendes i stigende mængder i produktionen af modermælkserstatning. Der er stor efterspørgsel på ikke denaturerede (nativt) laktoferrin, fordi dets biologiske funktioner er afhængige af, at proteinets naturlige tredimensionelle struktur bevares. For eksempel har nativt laktoferrin en inhiberende effekt overfor HIV-1 virus og herpesvirus modsat den denaturerede form af proteinet (Hermsen et al., 1995).

Laktoperoxidase, som er et enzym, har en bredspektret antimikrobiel aktivitet, som er afhængig af sin enzymatiske aktivitet. For at bevare proteinets enzymatiske aktivitet skal proteinets struktur bevares under oprensning. Da laktoperoxidase er følsom over for

varmdenaturering, er produktionsmetoder, som indebærer pasteurisering, ikke en farbar vej at producere dette protein.

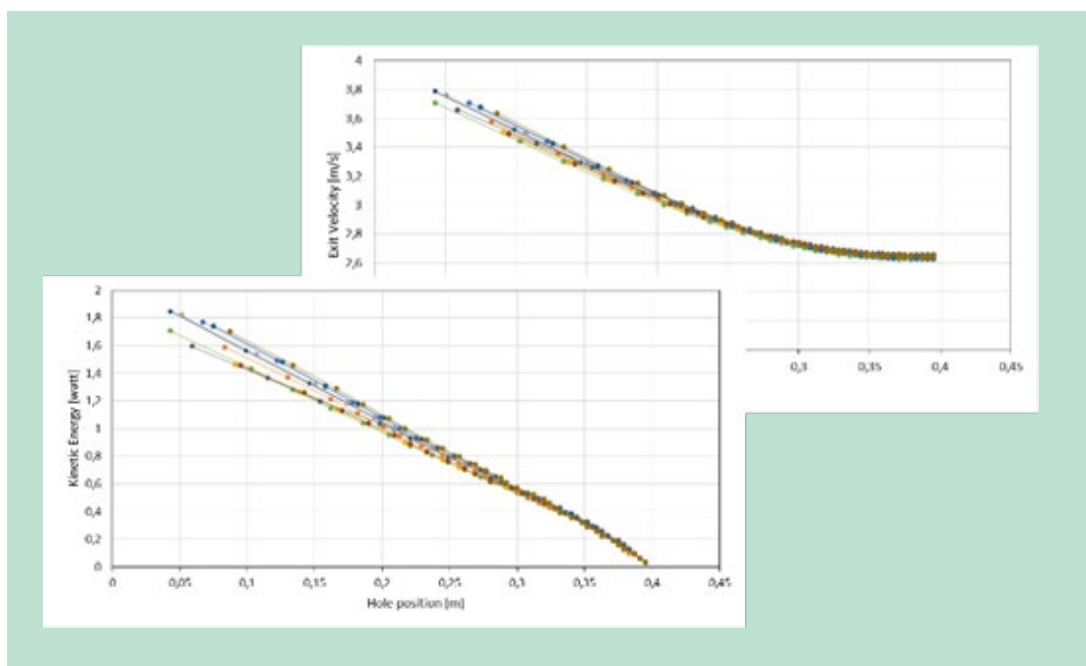
For at udvikle en optimal produktionsproces for disse to proteiner skal man have adgang til ikke pasteuriseret skummetmælk. For at få adgang til denne strøm, skal det kromatografiske udstyr placeres imellem mejeriets fedtseparator og dens pasteuriseringsenhed. Integrering af en kromatografisk proces i mejeriets produktionslinje kræver, at processen kan håndtere de mælkemængder, der flyder igennem denne produktionslinje samtidig med, at processen fungerer optimalt. Det betyder, at det kromatografiske udstyr skal designes for en optimalt hydrodynamisk effektivitet. Samtidig skal processen udvikles og optimeres med et fokus på effektivitet i materiale- og tidsforbrug.

2.3 Opskalering af EBA-kolonne

Projektets fokus er på de teknologiske udfordringer, der ligger i at udvikle en storskalakolonne samt at udvikle og optimere oprensingsforholdene til at udvinde de ønskede proteinprodukter. EBA-kolonnen er udviklet i pilotskala, men det er nødvendigt at udvikle og demonstrere en storskalakolonne, der kan anvendes til produktion. Dette sikres i projektet gennem modellering og opskalering.

Den hydrauliske modellering samt stoftransporten er udarbejdet og simuleret i samarbejde med DHI i forbindelse med designet af EBA-kolonnen. Modelleringen dannede efterfølgende udgangspunkt for produktionen af kolonnens dimensioner samt væskedistribution.

Diagrammerne i FIGUR 2 viser nogle uddrag af de simuleringer som er foretaget i forbindelse med skaleringen af EBA-processen. Disse simuleringer havde til formål at afdekke et tilstrækkeligt design af kolonnens indgang ved de nødvendige flowhastigheder således at væskedistributionen i kolonnen var optimalt med hensyn til binding af proteiner til agarosekuglerne samtidig med at flowet skader hverken kuglerne eller proteinerne.



FIGUR 2. Uddrag af simuleringer foretaget i forbindelse med skalering af EBA-processen.

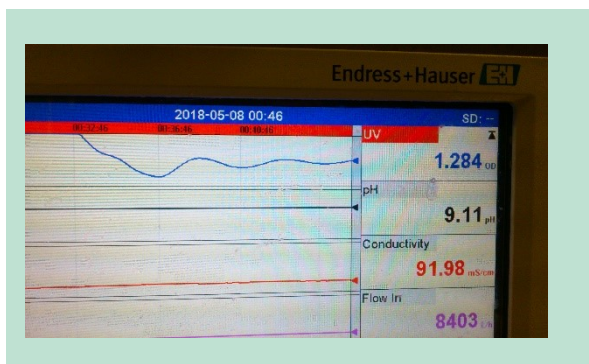
Med etableringen af den endelige løsning blev det muligt at udføre sporstoftest på de tiltænkte feedmaterialer/strømme (mælk og buffere) hvortil kolonnen er designet. I samarbejde med SkåneMejerierne har der været kørt forsøg fra januar til maj 2018, hvor transporten igennem kolonnen er blevet monitoreret.

2.4 Konstruktion og ibrugtagning af fuldskala-EBA-anlæg

Konstruktionen af kolonnen blev færdig således at installationen af kolonnen og de tilhørende udstyr kunne foretages i perioden september til december 2017. Billederne nedenfor illustrerer den nyudviklede installation, som vi formoder repræsenterer den kromatografiske løsning, som har verdens største kapacitet direkte på mælk.



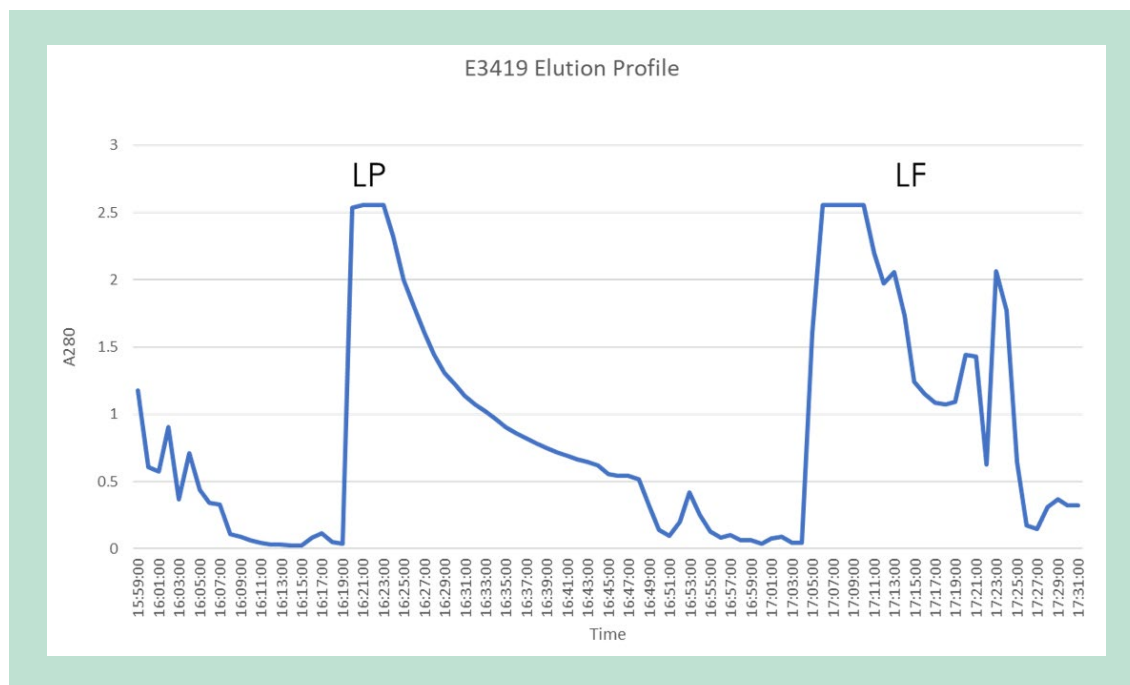
FIGUR 3. På billedet er kolonnen indrammet med gult og udgør en mindre men væsentlig del af selve installationen. I designet af denne løsning findes den adsorbent, som Up-front afsluttede udviklingen af i 2016, og som er "hjertet" i løsningen.



FIGUR 4. En af mange observationer foretaget i forbindelse med kolonnens drift og effektivitet.

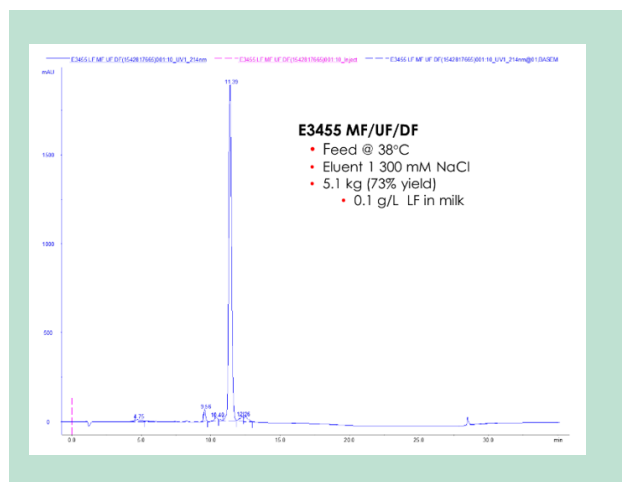
FIGUR 4 illustrerer en af de mange observationer, der er foretaget i forbindelse med kolonnens drift og effektivitet. Med den funktionelle skalering har det været muligt at teste en række driftsmuligheder.

Som vist i FIGUR 5 kan den opskalerede kolonne fint adskille laktoperoxidase (LP) fra laktoferrin (LF). Det er vores umiddelbare opfattelse, at der kan opnås væsentlige gevinster i form af reduceret driftsareal samt lavere energi-, kemikalie- og vandforbrug, som netop har været en del af formålet i projektet. Men som det kan ses i figuren, er en evt. forfinelse af kolonnens nuværende design ønskeligt, da toppenes form er lidt asymmetriske. Asymmetrien kan indikere hydrodynamisk turbulens i kolonnen, som fører til, at toppene bliver bredere end normalt.



FIGUR 5. Eksempel på elueringsprofil af laktoferrin og laktoperoxidase.

Selvom kolonnens design evt. skulle forfines, kan det nuværende design bruges til at producere høj kvalitets laktoferrin og laktoperoxidase. FIGUR 6 viser en reversfase HPLC-analyse af et LF-præparat fra en kørsel på Skånemejerierne. Analysen giver en renhedsprocent på 93 % med et udbytte på over 70 %. Renhedsprocenter på >96 % forventes at opnås, når det endelig forfinede system tages i brug. Denne specifikation er et af de vigtige parametre for at opnå myndighedscertificeringer i flere lande.



FIGUR 6. Reversfase-HPLC-analyse af et LF-præparat fra en kørsel på Skånemejeriet.

Interessant er det, at denne miljø- og forretningsgevinst er opnået i et samspil, som ikke behøver en sammenkædning mellem så forskellige industrier som plante- og mejeriproduktionen. Derimod kan gevinsten opnås alene indenfor mejeridriften, hvilket samtidigt betyder, at gevinsten ved genanvendelse af mælkeserum kan opnås uden koncentrings- og transportomkostningerne.

2.4.1 Forbedrede procesparametre af opskaleret kolonne på Skånemejerierne

Udover at bekræfte at den opskalerede kolonne fungerer lige så godt som laboratorie- og pilotskalakolonner, var projektets formål at finde miljømæssige effektiviseringer for den udviklede industriproces. Den industrisymbiose er demonstreret på Skånemejerierne. Her har der været foretaget en række forsøg med genanvendelse af en række strømme og reagensvæsker i forskellige sammenhænge. For eksempel er elueringsvæsker genanvendt op til tre gange for at spare på vand og materialer samt for at øge indholdet af laktoferrin eller laktoperoxidase i en given mængde af væsken. Denne fremgangsmåde giver store besparelser på vand og salt og forbedrer den efterfølgende processering af laktoferrin og laktoperoxidase. Testene har således vist en god mulighed for genanvendelse af materialer i kromatografien uden, at produkternes kvaliteter forringes.

Det er derfor rimeligt at antage at denne type genanvendelse også er mulig, hvis den bruges i et fremtidigt samarbejde mellem planteprotein/bio brændsel produktion enten med mælkeserum eller med en mere velegnet og nærliggende biproduktstrøm, som ikke indebærer transport mellem et mejeri og en anden fabrik.

3. Mælkeproteiner

3.1 Baggrund

Mælk og mælkens forskellige bestanddele har været en meget vigtig bestanddel af kosten igennem århundreder. Det ældste bevis for anvendelse af mælk fra husdyr til konsum er dateret helt tilbage til 4000 f.Kr. (Schmid, 2003). Komælk er den vigtigste type mælk til konsum. Mælk fra geder, får og heste bruges også i fødevarerindustrien, men spiller en mindre kommerciel rolle (Belitz et al., 1999). Sammensætningen af mælk er ikke helt konstant. Der er variationer i forhold til laktationsperioder, malkningstidspunkter, genetisk variation, sundhedstilstand, fodersammensætning, klima og årstid (Heck et al., 2009). Mælkens sammensætning består af ca. 87 % vand, 2,5-3,7 % protein, 4,4 % fedt, 4,5 % laktose og 0,7 % mineraler. pH i mælk er ca. 6,5 til 6,75.

3.2 Oversigt over mælkeproteiner

Mere end 200 typer af proteiner er blevet identificeret i mælk. De store grupper af proteiner er caseiner, som repræsenterer 80 % af proteinet i mælk, og valleproteiner repræsenterer 20 % af mælkeprotein. Mere end 60 forskellige enzymer findes i mælk, men udgør mindre end 1 % af det samlede proteinindhold i mælk (Farrell Jr. et al., 2004).

TABEL 1. Proteiner i komælk (modificeret efter Lee et al, 1999).

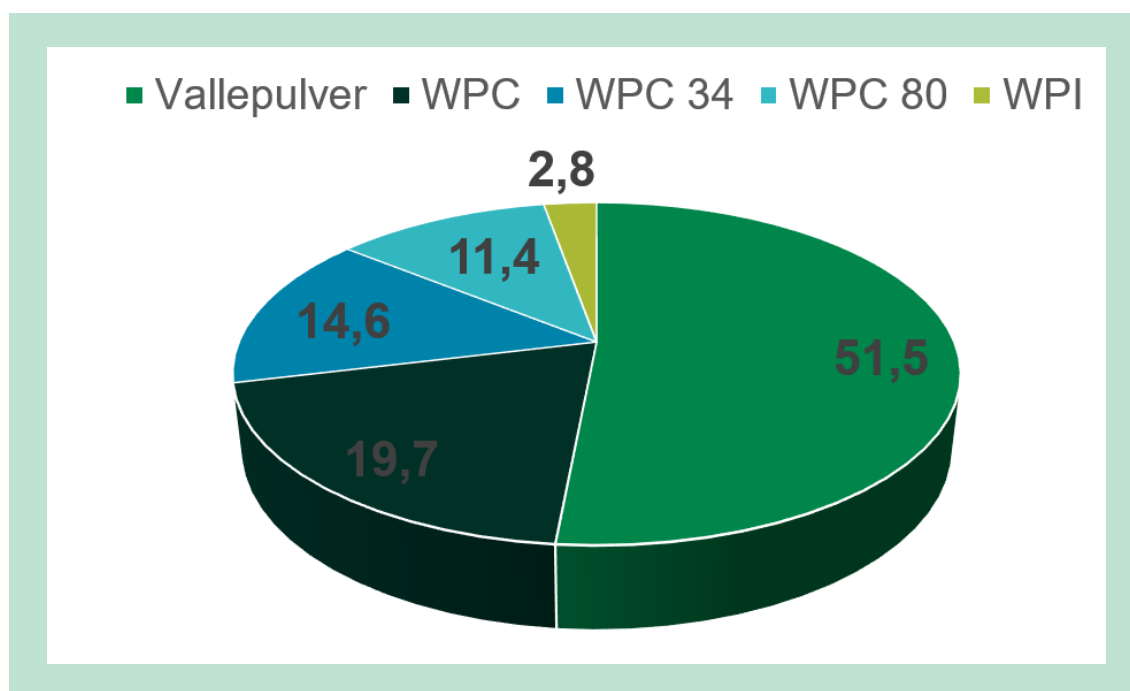
Protein fraktion	Indhold i mælk	Fordeling i %
Kaseinprotein	2,7 %	80 %
β-CN	1,1 %	41 %
αS1-CN	1,0 %	37 %
αS2-CN	0,3 %	11 %
κ-CN	0,3 %	11 %
Valleprotein	0,70 %	20 %
β-Lactoglobulin	0,40 %	57 %
α-Lactalbumin	0,15 %	21 %
Immunoglobulins	0,10 %	14 %
Bovine serum albumin	0,05 %	7 %
Glycomacropeptide		
Mindre betydende proteiner		
Lactoferrin	≤0,01	
Enzymer		
Laktoperoxidase	<0,01	

3.3 Mælkeproteinmarked

Mælk og mælkens proteiner har en stor værdi og anvendes i mange industrier. Mælkeprotein kommer traditionelt fra valle - et biprodukt fra osteproduktion. Den globale produktion af valleprotein var 4,1 millioner tons i 2017 og forventer at stige i Europa med 7,5 % årlig frem til 2023. Værdien af valleprotein europæiske marked var 2,2 milliarder dollars in 2017 (Mordor Intelligence).

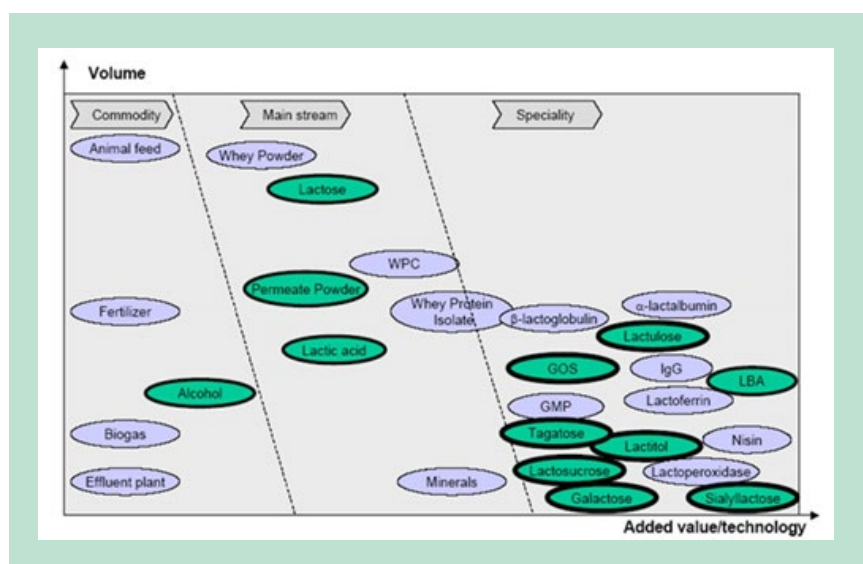
Valleproteinerne sælges i fleres forskellige proteinkoncentrationer. Typisk findes 35 %, 75-80 % koncenterer (WPC) samt 90 % protein som isolater (WPI). Over 50 % af det

globale marked for mælkeproteiner blev afsat som vallepulver (MCP-1233, 2012) FIGUR 7.



FIGUR 7. Globalt valleproteinmarked (2012) fordelt på markedsandel i % for segmenterne – vallepulver og de forskellige proteinkoncentrationsprodukter (Global Industry Analysts, MCP-1233).

Mælkeproteinpriserne falder ved større volumen og afhængigt af længden på afsætningskontrakterne, som køberne er villige til at indgå. Priserne på proteinkoncentrater ligger højere end tørret valleproteinpulver, og de specielle proteinderivater og enzymer kan afsættes til højere priser (FIGUR 8).



FIGUR 8. Værdikæden for valle- og laktoseproduktion. Kilde 3A Business Consulting.

3.4 Kaseiner

Ud af mælkens proteinindhold er 80 % kaseiner. Udfældning af mælkeproteinerne giver op til fire forskellige kasein kompositioner. Kaseiner er phosphoryleret og graden af

denne phosphorylering varierer mellem de forskellige kaseiner og afgør kaserinernes funktionelle egenskaber.

Natrium- og Calciumkasein laves som en neutralisering af Syrekasein. Disse kaseiner har forskellige sammensætning og funktionelle egenskaber. Natrium- og Calciumkasein er spraytørret og har derved et lavere vandindhold. Syre-kasein og løbekasein er vand-uopløselige, og langt de fleste applikationsmuligheder kræver, at de skal opløses først. Ved behandling med en base vil pH i syrekasein stige til 6,5 eller højere, hvorved den bliver vandopløselig (Southward).

3.5 Anvendelse af kasein

3.5.1 Kasein i nonfood

Siden midten af det 19. århundrede har kasein været brugt som teknisk hjælpestof til nonfood segmentet. De væsentlige anvendelser af kasein indtil 1960'erne var i tekniske, nonfood applikationer som trælim, i papirbelægning, færdigbehandling af læder og i syntetiske fibre samt plast til knapper, spænder etc.

TABEL 2. Kasein i nonfood (Southward).

Syrekasein	Løbekasein
Lim til træ, f.eks. krydsfiner Klæbemiddel til folielaminater og papir	Plast i form af knapper og spænder
Overfladebehandling til papir og pap	Efterligning skildpaddeskal (kamme og hårspænder)
Jordforbedring	Imiteret elfenben (knivskafter og klavertangenter)
Fugemasse	Fyldepen
Garvning af læder	Skohorn
Maling	Dominobrikker
Kødkraft (bouillon)	
Syntetiske fibre	
Tekstil forbehandling	

3.5.2 Kasein i fødevarer

Kasein udgør ca. 80 % af det protein, der er i mælk, og er kilde til mange funktionelle peptider med forskellige egenskaber. Kasein anvendes ofte som en ingrediens i fødevarer. Kasein har mange egenskaber, der gør det meget anvendeligt i flere forskellige typer fødevarer. Kasein kan f.eks. binde store mængder vand, hvilket kan udnyttes til blandt andet at stabilisere strukturen af dej og bagte produkter. Kasein har desuden gode ernæringsmæssige fordele i form af essentielle aminosyrer. Både kasein og kaseinat er bredt anvendt i både fødevarer- og nonfood-industrien, hvor de bidrager med funktionelle egenskaber som emulgering, vandbindende, viskositet og varme stabilitet. Kasein finder anvendelse i en bred vifte af fødevarer, drikkevarer, kosmetik og lægemidler (TABEL 3).

TABEL 3. Funktion og niveau for brug af kasein i fødevarer (Southward).

Fødevarekategori	Kaseintype	Niveau ¹	Funktion
Bagværk	Kasein, kaseinater	1 – 25 %	Ernæring, vandbinding
Osteprodukter	Løbekasein, syrekasein, kaseinater	2 – 25 %	Fedt- og vandbinding, struktur, matrix dannelser
Kaffefløde	Natriumkaseinater	1 – 10 %	Fedtemulgering
Konfekturer	Kaseinater (hele og hydrolyseret)	1 – 25 %	Struktur
Fermenterede mælkeprodukter	Natriumkaseinater	2 – 3 %	Fedtemulgering, stabilisering
Pulver med højt fedtindhold	Natriumkaseinater	<10 %	Fedtemulgering
Flødeis	Natriumkaseinater	1 – 5 %	Struktur, stabilisering
Babyprodukter	Hel eller hydrolyseret kasein ²	1 – 25 %	Ernæring
Instant morgenmad og drikkevarer	Natriumkaseinater	2 – 30 %	Ernæring
Kødprodukter	Natriumkaseinater	3 – 20 %	Ernæring, fedtemulgering, vandbinding, struktur
Proteinbarer	Kasein, kaseinater	10 – 20 %	Ernæring, struktur
Pasta og snacks	Kasein, kaseinater	5 – 20 %	Ernæring, struktur
Lægemidler	Kasein, kaseinater, hydrolyseret kasein	5 – 95 %	Ernæring
Suppe og sovs	Natriumkaseinater	5 – 20 %	Ernæring, fortykker
Sportsdrik	Natriumkaseinater	2 – 10 %	Ernæring
Pisket topping	Natriumkaseinater	5 – 10 %	Filmdanner, fedtemulgering, stabilisering, fortykningsmiddel

Efterspørgslen på kasein har været faldende, da det er blevet erstattet af andre mælkeproteiner eller vegetabiliske proteiner. Den faldende efterspørgsel er imidlertid stagneret, og nye muligheder for anvendelse har vist sig i blandt andet anvendelse af kasein som råmateriale i funktionel food og i kosttilskud.

3.6 Valleproteiner

Af valleproteinerne er den del af mælkeproteinerne, der er opløselig ved pH 4,6 og udgør primært proteinerne β -laktoglobulin og α -laktalbumin. Sammen med laktoferrin og Laktoperoxidase, er det de mest interessante og kommercielt tilgængelige valleproteiner. Valleproteinerne finder anvendelse i mange applikationer både i nonfood og fødevarer. De er smagsneutrale og har gode funktionelle og bioaktive egenskaber, der udnyttes. Anvendelse i nonfood applikationer er blandt andet kosmetik, farma og foder (TABEL 4).

¹ Typiske eller estimeret værdier

² Hydrolyseret Kasein dannes ved proteolyse af kasein, der spalter peptidbindingerne. Hydrolysater anvendes generelt i farmaceutiske eller medicinske produkter, hvor hele proteinet ikke let fordøjeligt.

TABEL 4. Anvendelse af valle proteiner i forskellige nonfood applikationer.

Kategori	Valleprotein type	Funktion	Reference
Kosmetik	β -Lactoglobulin, α -Lactalbumin	Fugtgivende, anti-rynke	Audic et al., 2003
Kosmetik	Laktoferrin	Antioxidant Fugtgivende	Audic et al., 2003 Wakabayashi et al., 2006
Kosmetik	Valleprotein	Vaskeaktive stoffer	Audic et al., 2003
Mundhygiejne	Laktoferrin	Hygiejne	Wakabayashi et al., 2006
Fødevarerfilm og coating	Laktoperoxidase system	Antimikrobielle egenskaber	Carmen et al., 2011
Foder	Laktoferrin	Antimikrobielle egenskaber	Wakabayashi et al., 2006

Valleproteiner finder anvendelse i mange forskellige fødevarerapplikationer. Moder-mælksersatning, drikbare produkter er det helt store markedsegment. Markedssegmenterne for valle protein har fordelingen fra 2008 til juli 2018 været med 24 % til bagerisektoren, 18 % til konfekturer, 11 % til sportsernæring og henholdsvis 7 % til både småbørn ernæring og drikbare mælkeprodukter og de sidste 26 % til andre fødevarersegmenter som f.eks. kød og snack produkter (Innova Market In-sight).

Blandt de anvendte fysiske og funktionelle egenskaber ved valleprotein er: opløselighed, viskositetsregulerende, emulgerende effekter, geldannelse mv. (TABEL 5).

TABEL 5. Valleproteiner i fødevarerapplikationer.

Fødevarerkategori	Valleprotein type	Funktion	Reference
Kødprodukter	β -lactoglobulin	Gode geleringssevne	Smithers et al, 1996
Fiskeprodukter	β -lactoglobulin	Gode geleringssevne	Smithers et al, 1996
Drikkevarer	β -lactoglobulin	Proteinberigelse	Smithers et al, 1996
Babymad	α -lactalbumin	Proteinberigelse	Smithers et al, 1996 Lønnerdal et al., 2003
Kød- og fiskeprodukter	Laktoperoxidase system	Antibakterielle egenskaber mod <i>Salmonella</i> Enteritidis	Seifu et al., 2005 Carmen et al. 2011
Bageriprodukter	Valleprotein	Smag, tekstur, konsistens og holdbarhed	Mathur & Shahani, 1979
Yoghurt, skummetmælk	Laktoferrin	Antimikrobielle egenskaber, forbedring af mave-tarm flora	Wakabayashi et al. 2006
Konfekturer	Valleprotein	Smag, fugtstyrende, piskning egenskaber	Mathur & Shahani, 1979
Frosne desserter	Valleprotein	Smag og holdbarhed	Mathur & Shahani, 1979
Babymad	Laktoferrin	Forbedring af mave-tarm flora	Wakabayashi et al. 2006
Tørvare	Valleprotein	Blødgøre, farve, bærrer af fedtstoffer, olier	Mathur & Shahani, 1979
Suppepulver, pulversovs	Valleprotein	Smag og konsistens	Mathur & Shahani, 1979

3.6.1 β -laktoglobulin

Over halvdelen af valleprotein er β -laktoglobulin. Dette protein har en molekylvægt på 18,3 kDa, og den primære struktur består af 162 aminosyrer. β -laktoglobulin har typisk rigtig gode geling, vandbinding, skum og emulgeringsegenskaber. β -laktoglobulin anvendes primært som ingrediens inden for sportsernæring (Innova market Insights).

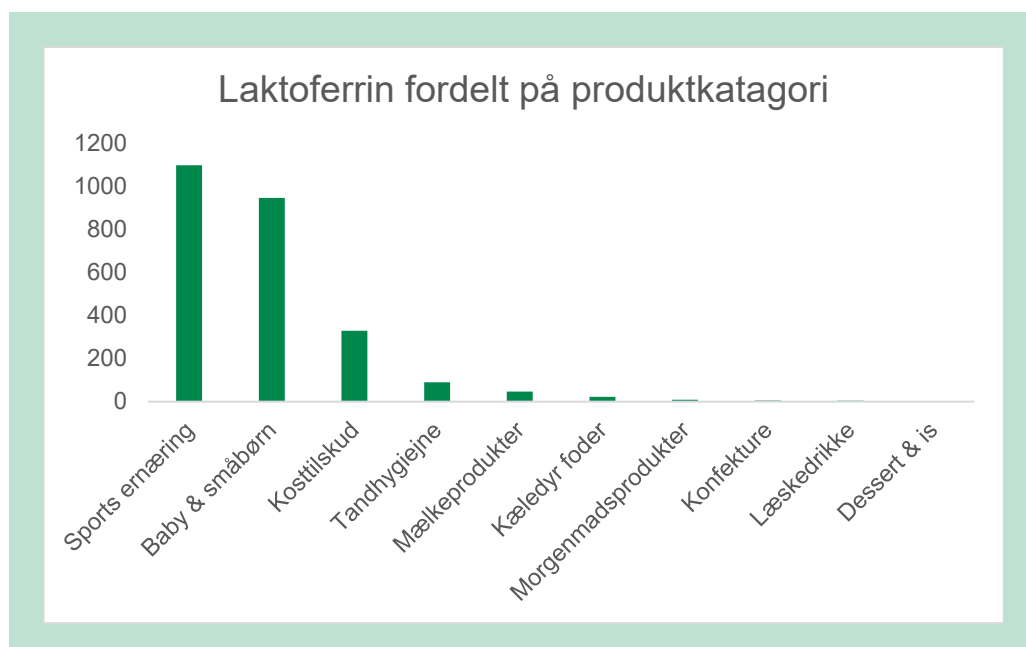
3.6.2 α -laktalbumin

20 % af totalt valleprotein og 3,5 % af mælken protein er α -laktalbumin. Dette protein med molekylvægten 14 kDa har 123 aminosyrer i den primære struktur. α -laktalbumin er et metallo protein og kan binde calcium. Dette er vigtigt for stabiliteten af proteinet under opvarmning. α -laktalbumin er brugt til at forbedre aminosyresammensætningen i mælkeerstatninger til at ligne mere human mælk. Proteinets har et højt indhold af den vigtige essentielle aminosyre tryptophan. Proteinets anvendes også indenfor sportsernæring, der sammen med mælkeerstatningsmarkedet er klart de største globalt set (Innova market Insights).

α -laktalbumin har typisk gode emulgeringsegenskaber men mindre gode gelingsegenskaber sammenlignet med β -laktoglobulin (Pearce og Kinsella, 1978).

3.6.3 Laktoferrin

Der skal 10.000 l mælk til at fremstille bare 1 kg laktoferrin. Mælkeproteinets laktoferrin er bioaktiv med antioxidative, -kræft-, -virus og -bakterielle egenskaber (Wakabayashi et al. 2006). Laktoferrin (LF) er et globulært, basisk og glykosyleret protein af transferrin familien, med en molekylvægt på omkring 80 kDa (McCarthy et al., 2014). Proteinets har gode evner til at binde jern. I 2012 godkendte EU-kommissionen laktoferrin til fødevarer og modermælkserstatninger. Baseret på de mange fysiske, biologiske og funktionelle egenskaber er der mange interessante applikationer med laktoferrin. Laktoferrin finder anvendelse indenfor sportsernæring, modermælkserstatning og kosttilskud (FIGUR 9, TABEL 6). Laktoferrin er et højværdi ingrediens kaldt "pink-guld", der afsættes op til 2.000 US dollars/kg.



FIGUR 9. Laktoferrin ingrediens fordelt på produktkategorier. Kilde: Innova Market Insights.

TABEL 6. Funktionalitet og applikationsområde for laktoferrin.

Funktionalitet	Fødevare	Moder-mælks-erstatning	Sportsernæring/funktionel fødevare	Lægemidler	Veterinærspécialfoder	Personlig hygiejne	Reference
Jernabsorption		*	*	*	*		UBIC, 2015
Antiinflammatorisk				*	*	*	UBIC, 2015, Wakabayashi et al. 2006
Tarmflora-beskyttelse	*	*	*	*	*		UBIC, 2015 Wakabayashi et al. 2006
Antioxidant			*	*		*	UBIC, 2015, Wakabayashi et al. 2006
Immun celle stimulerende		*	*	*	*		UBIC, 2015
Mundhygiejne						*	Lee, 1999 Wakabayashi et al. 2006

Laktoferrins funktionelle egenskaber forventes udnyttet yderligere i forskellige fødevarer-produkter fremadrettet. Laktoferrins egenskaber som ikke-allergen og fordøjelsesstimulerende forventer at have en positiv påvirkning på salget på det globale marked. Berigelse i modermælkserstatning samt betydning for knogle- og muskelvækstfremmere i sportsernæring er applikationssegmenter med stigende interesse for laktoferrin.

3.6.4 Laktoperoxidase

Laktoperoxidase er et enzym-protein med specifik fysiologisk funktion med molekylvægten 78,4 kDa. Enzymet har et bredt spektrum af antivirus-, -bakteriel, -skimmelsvampe effekt. Komælk indeholder ca. 20 gange højere niveau end human mælk (Seifu et al, 2005).

Laktoperoxidase har en bred aktivitet og har primært fundet anvendelse inden for primært sportsernæring og tandpastaprodukter (Innova Market Insights). Laktoperoxidase anvendes også industrielt til holdbarhedsforlængende i mælk, fisk, kød, frugt, grønsager og blomster (Seifu et al, 2005, TABEL 7). Varmebehandling af mælk denaturerer og dermed inaktiverer enzymet. Dette sker i temperaturområdet fra 70-77 grader, eksempelvis er 61 % inaktiveret ved 75 grader i 5 minutter, total inaktivering ses ved 78 grader i 15 sekunder (Dumitrasşcu et al., 2012).

TABEL 7. Applikationsområde for Laktoperoxidase.

Funktionalitet	Fødevarer	Moder-mælks-erstatning	Sportsernæring/funktionel fødevarer	Lægemidler	Veterinær specialfoder	Personlig hygiejne	Referencen
Antibakteriel	*			*	*	*	UBIC, 2015, Al-Baarri et al. (2011)
Antiinflammatorisk				*	*		UBIC, 2015
Tarmflora beskyttelse	*	*	*		*		UBIC, 2015
Holdbarhedsforlængende	*						Barrett, Grandison and Lewis, 1999

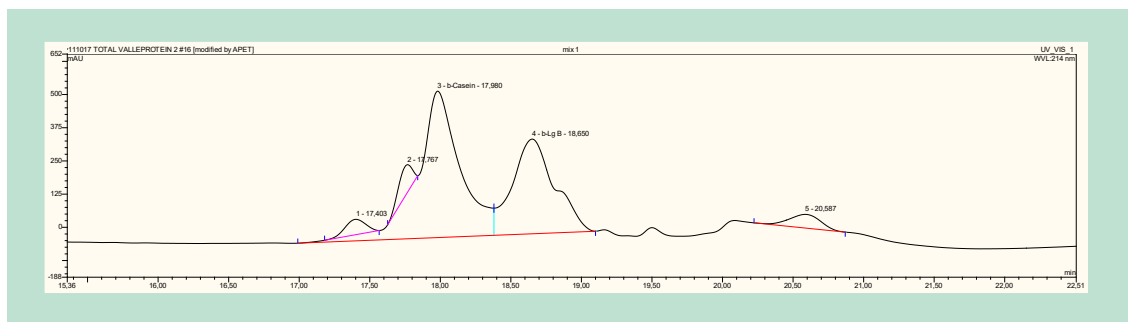
4. Kvalitet og funktionalitet af oprensede mælkeproteiner

En af de vigtigste kvalitetsparametre af mælkeproteiner er renheden. Dertil kommer farven og funktionelle egenskaber som antioxidant og antimikrobiel effekt eller fysiske egenskaber som geleringssevne, emulsionsevne og skumstabilitet, hvoraf de sidstnævnte afhænger af, hvordan proteinerne er foldet. Disse egenskaber kan modificeres og optimeres igennem oprensningen ved at påvirke parametre som pH, temperatur, saltindhold og ionstyrke. Bevaring af det native protein vil give andre egenskaber, end der fås fra koagulerede proteiner. I nedenstående er der vist et udsnit af de kvalitetsparametre og funktionelle egenskaber, der er blevet bestemt på de oprensede proteiner.

4.1 Renhed af mælkeproteinerne

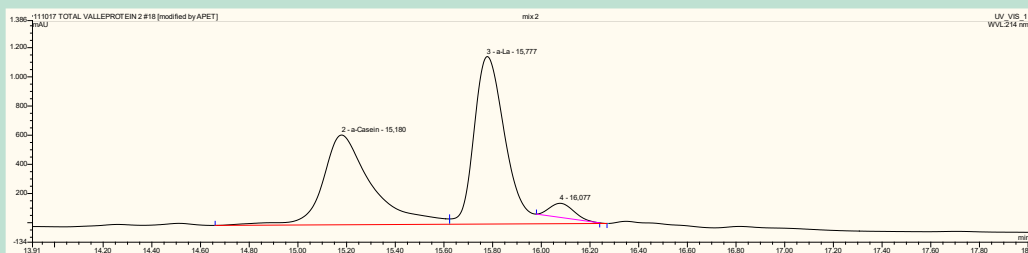
Ved fremstilling af højværdiproteiner er renheden af proteinerne en væsentlig parameter, da denne er med til at afgøre funktionaliteten af proteinet, hvilket fastsætter prisniveauet af proteinet. I projektet blev renheden af proteinerne bestemt ved anvendelse af HPLC (High-performance liquid chromatography), hvor der blev udviklet en metode til at skille proteinerne ad. Dette er vist på de to kromatogrammer henholdsvis i FIGUR 10 og FIGUR 11. Det ses på kromatogrammerne, at det er muligt at skille de enkelte proteiner i mælken ad, så de fremkommer med forskellige toppe.

FIGUR 10 viser et standardmix med 0,1 mg/ml af en β -laktoglobulin og β -kasein blanding.



FIGUR 10. Standardmix 1 af β -laktoglobulin og β -kasein.

FIGUR 11 viser et standardmix med 0,1 mg/ml af en α -laktalbumin, α -kasein og κ -asein blanding.



FIGUR 11. Standardmix 2 af α -laktalbumin, α -kasein og β -kasein.

4.1.1 Renheden af de oprensede mælkeproteiner i pilotskala

Baseret på den udviklede HPLC-metode kan renheden af de oprensede mælkeproteiner ses i TABEL 8, hvor det kan ses, at renheden af de oprensede mælkeproteinfraktioner varierer fra 68 % for α -laktalbumin til 100 % for laktoferrin.

Kaseinfraktionen indeholdt α - og β -kasein i forholdet 62 % og 18 %.

TABEL 8. Renhedsprocenter for de oprensede mælkeproteinfraktioner.

Standarder	Renhed
Laktoferrin	100 %
Laktoperoxidase	96 %
Kasein	80 %
β -laktoglobulin	90 %
β -laktoglobulin	80 %
α -laktalbumin	68 %

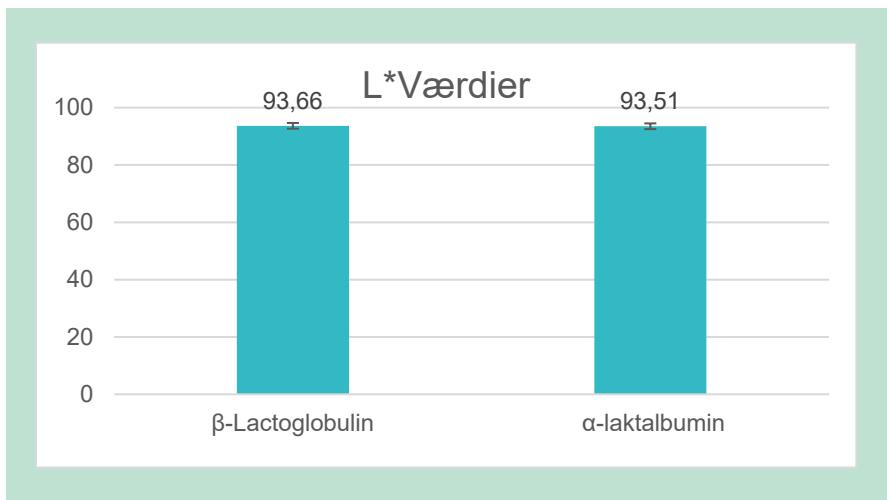
4.2 Farve af mælkeproteinerne

Farven af proteinpulvere er ofte afgørende for, hvilke applikationer disse kan indgå i. Der efterspørges så lyse pulvere som muligt, da dette giver flest mulige anvendelsesmuligheder. Til bestemmelse af farve anvendes ofte $L^*a^*b^*$ værdier, hvor pulverets lyshed er den vigtigste. Lysheden angives ved L^* værdien, der går fra 0-100, hvor 100 er helt lyst. L^* værdien af mælkeproteinerne er derfor vigtig i forbindelse med salg og prissætning af proteinerne. Det ses på FIGUR 12, at L^* værdierne for oprenset β -laktoglobulin og α -laktalbumin begge ligger på ca. 93,5.

4.3 Geleringsegenskaber af laktoferrin

Gelering af proteiner er dannelsen af en tredimensionel netværksstruktur, der formes af intermolekylære kræfter under opvarmning efterfulgt af nedkøling. Geleringen påvirkes ud over temperaturen af proteinkoncentrationen, tilstedeværelsen af salte samt pH. Strukturen af gelen, fx stivheden og elasticiteten, kan bestemmes ved anvendelse af et reometer. Geleringsevnen er vigtig specielt i fødevarer, hvor en række fødevarer er fremstillet ved hjælp af denne evne, fx yoghurt.

Gelstyrken for laktoferrin er angivet som G' værdien ved 1 Hz efter opvarmning til 95 °C og efterfølgende nedkøling til 25 °C af 10 % (w/vol.) opløsning. Det ses af FIGUR 12, at gelstyrken er størst ved pH 6,0 med en styrke på knap 2000 Pa. Ved pH 4,5, samt 7,0 og 8,0 er den fra 80-500 Pa.

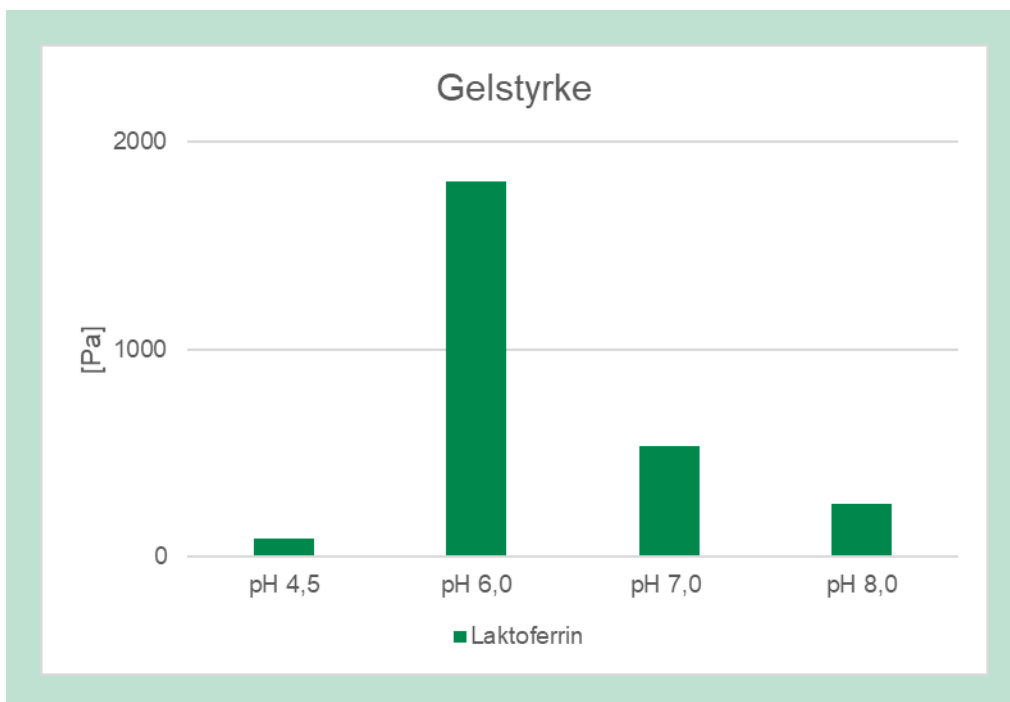


FIGUR 12. L*-værdier for oprenset β -lactoglobulin og α -laktalbumin.

4.4 Gelingsegenskaber af laktoferrin

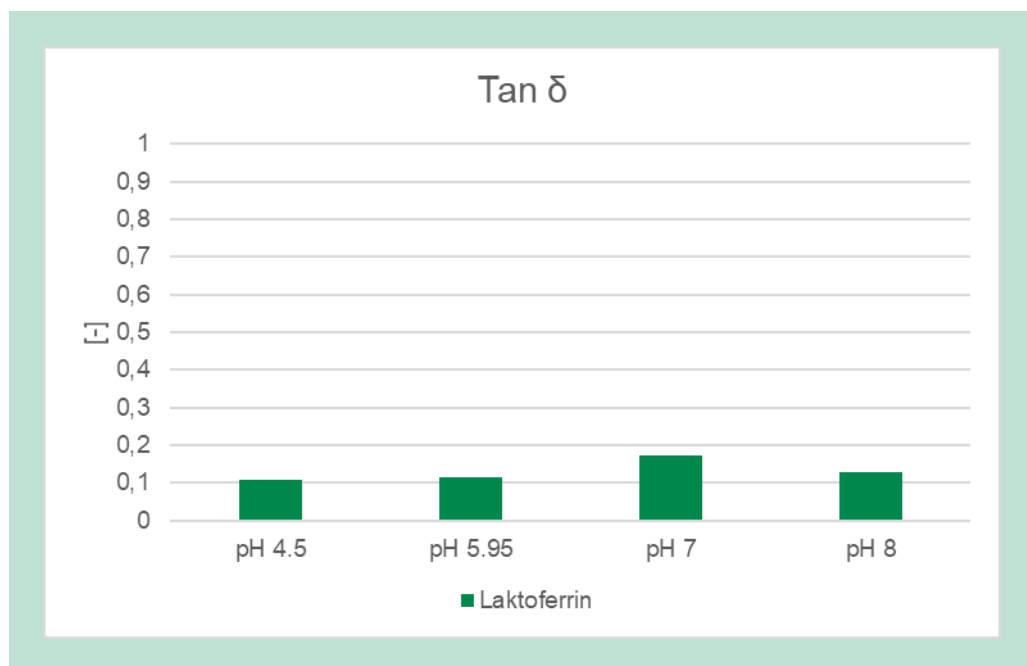
Gelering af proteiner er dannelsen af en tredimensionel netværksstruktur, der formes af intermolekylære kræfter under opvarmning efterfulgt af nedkøling. Gelingen påvirkes ud over temperaturen af proteinkoncentrationen, tilstedeværelsen af salte samt pH. Strukturen af gelen fx stivheden og elasticiteten kan bestemmes ved anvendelse af et reometer. Gelingsevnen er vigtig specielt i fødevarer, hvor en række fødevarer er fremstillet ved hjælp af denne evne fx yoghurt.

Gelstyrken for laktoferrin er angivet som G' værdien ved 1 Hz efter opvarmning til 95 °C og efterfølgende nedkøling til 25 °C af 10 % (w/vol.) opløsning. Det ses af FIGUR 13, at gelstyrken er størst ved pH 6,0 med en styrke på knap 2000 Pa. Ved pH 4,5, samt 7,0 og 8,0 er den ca. ligger den fra ca. 80-500 Pa.



FIGUR 13. Gelstyrke af laktoferrin ved forskellige pH-værdier.

Tan δ for laktoferrin ved forskellige pH værdier er angivet i FIGUR 14, hvor det ses, at værdien ligger mellem 0,1-0,2 ved alle pH værdier, hvilket indikerer, at den dannede gel er meget fast, da tan δ er forholdet mellem det viskøse og det elastiske modul.



FIGUR 14. Tan δ af ved forskellige pH-værdier.

4.5 Skumstabilitet af laktoferring

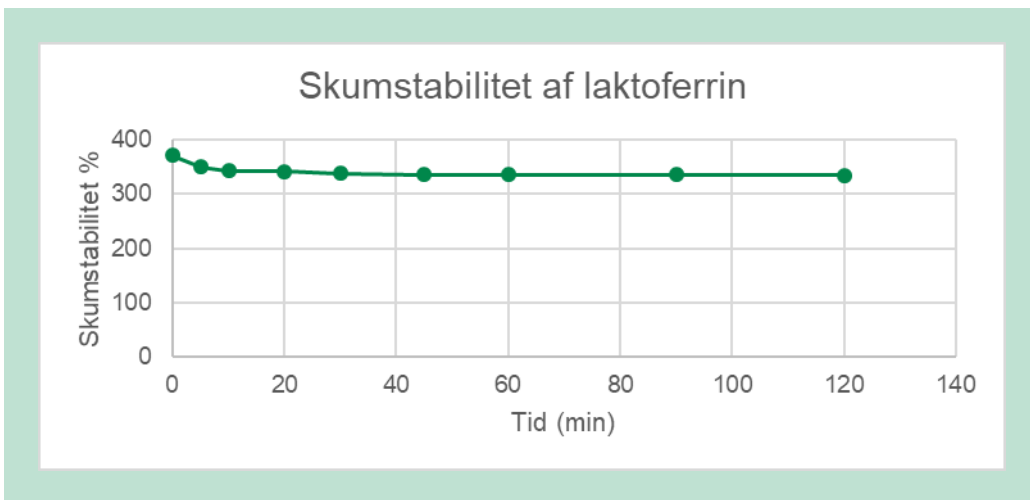
Skumkapacitet og -stabilitet er et proteins evne til at inkorporere luft og danne et to-fase system af luft og væske. Et proteins evne til at danne skum afgøres af proteinets overfladeladning og dermed også af, hvordan proteinet er foldet og fordelingen af hydrofile og hydrofobe sidegrupper på aminosyrerne. Størrelsesfordelingen af luftboblerne i skummet afgør skummets udseende, hvilket kan være en vigtig parameter for nogle produktgrupper, mens det for andre er skummets evne til at forblive et stabilt skum over tid og ikke kollapse.

Skumkapaciteten af en 3 % laktoferrin opløsning er vist på FIGUR 15. Opløsning homogeniseres ved høj hastighed i 5 min., hvorefter skumkapaciteten kan bestemmes.



FIGUR 15. Skumkapacitet af laktoferrin.

Skumstabiliteten som funktion af tid er vist på FIGUR 16, hvor det ses, at den efter et lille fald er meget stabil over de 120 min, hvor den er målt.



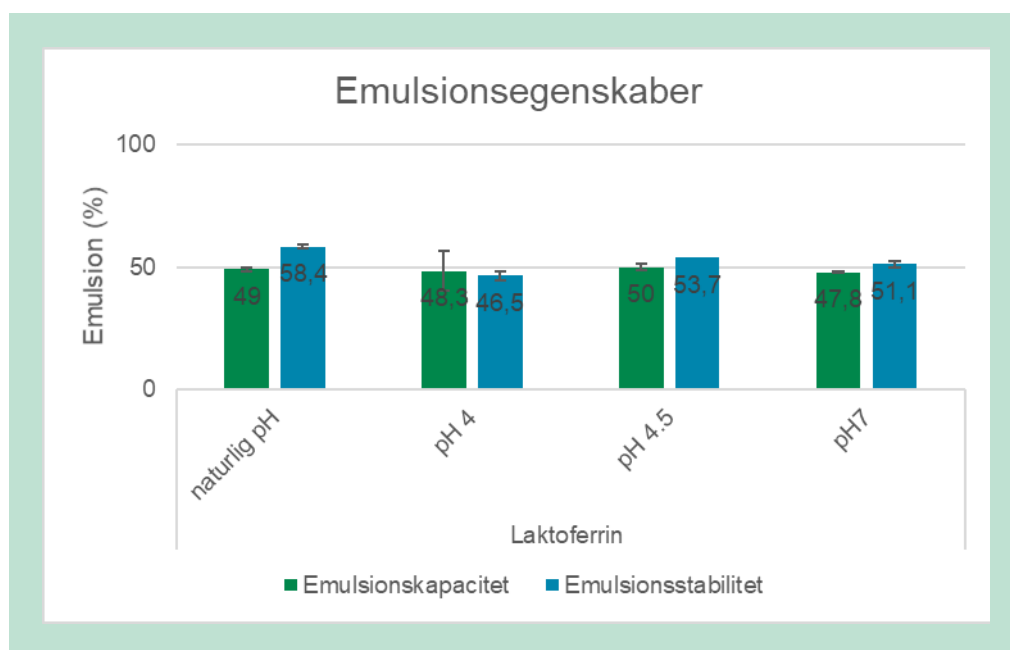
FIGUR 16. Skumstabilitet som funktion af tid for laktoferrin.

4.6 Emulgeringsegenskaber af laktoferrin

Evnen for et protein til at emulgere og fastholde en emulsion er vigtig i en lang række produkter, både når der fokuseres på fødevarer, farma eller kosmetiske produkter, da ønsket om at blande olie og vandholdige faser er stort. Et proteins evne til at fungere som emulgator afhænger bl.a. af proteinets ladning, der er afhængig af pH. Desuden er proteinet hydrofile og hydrofobe sidegrupper af aminosyrerne også med til at afgøre et proteins emulsionskapacitet og stabilitet.

Emulsionskapacitet og –stabilitet af laktoferrin bestemt i en 10 ml 10 % (w/vol.) opløsning, hvori der tilsættes 10 ml olie og emulgeres og efterfølgende centrifugeres for at få kapaciteten og stabiliteten ved at opvarme emulsionen i 80 °C varmt vand efterfulgt af

centrifugering. Emulsionskapaciteten og stabiliteten er vist i FIGUR 17, hvor både kapaciteten og stabiliteten ligger på omkring 50 % uafhængig af de valgte pH-værdier.



FIGUR 17. Emulsionsegenskaber af laktoferrin ved forskellige pH-værdier.

4.7 Opsummering på proteiners kvalitet og funktionalitet

De enkelte kvalitetsparametre er med til at indikere den forventede indtjening af de oprensede proteiner, og de funktionelle test kan indikere i hvilke applikationer, de arter sig godt i. Igennem projektet er der foretaget iterative justeringer på oprensningsprocessen, som alle påvirker de ovenfor beskrevne egenskaber. Evaluering af relevante egenskaber er derfor vigtige at foretage, så snart der ændres på procesparametre, der påvirker proteinerne foldning eller ladning.

5. Referencer

- ADPI. 2012. Dairy products utilization and production trends. American Dairy Products Inst., Elmhurst, Illinois. 88 p.
- Al-Baarri et al. (2011). Effects of Mono- and Disaccharides on the Antimicrobial Activity of Bovine Lactoperoxidase System. *Journal of Food Protection*, volume 74 (1), pp. 134-139.
- Barrett, N. E. Grandison, A. S. Lewis, M. J. (1999). Contribution of the lactoperoxidase system to the keeping quality of pasteurized milk. *Journal of Dairy Research*, volume 66, pp. 73-80.
- Jean-Luc Audic, Bernard Chaufer, Georges Daufin. Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review. 2003 *Le Lait* 86 (6) pp.417-438
- Carmen A. Campos, Lía N. Gerschenson, Silvia K. Flores. Development of Eitable Films and Coat-ings with Antimicrobial Activity. 2011, *Food Bioprocess Technol* 4:849-875
- Damodaran, S., Parkin, K. L., Fennema, O. R. (2008) *Fennema's Food Chemistry*, 4th ed., CRC Press, Taylor and Francis Gp, Boca Raton, FL.
- Dumitrașcu L., Stănciuc N., Stanciu S., Râpeanu G. Thermal inactivation of lactoperoxidase in goat, sheep and bovine milk – A comparative kinetic and thermodynamic study. *Journal of Food Engineering* 113 (2012) 47–52.
- Schmid, R.F. (2003). *The untold story of milk: green pastures, contented cows and raw dairy foods* (New Trends Pub.).
- Belitz, H.D., Grosch, W., and Schieberle, P. (1999). *Food Chemistry* (Springer).
- Farrell Jr., H.M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., and Swaisgood, H.E. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *J. Dairy Sci.* 87, 1641–1674.
- Global Industry Analysts, Protein Ingredients, A global strategic Business Rapport, MCP-1233. Oc-tober 2012.
- McCarthy, Noel A. et al. (2014). Sensitivity of emulsions stabilised by bovine β -casein and lactofer-rin to heat and CaCl₂. *Food Hydrocolloids*. volume 35, pp. 420-428.
- Mathur & Shahani, Use of Total Whey Constituents for Human Food, *J. Dairy Sci.*, vol 62, is 1, p 99-105,1979.
- Martin C. Harmsen, Pieter J. Swart, Marie-Pierre de Béthune, Rudi Pauwels, Erik De Clercq, T. Hauw The and Dirk K. F. Meijer. Antiviral Effects of Plasma and Milk Proteins: Lactoferrin Shows Potent Activity against Both Human Immunodeficiency Virus and Human Cytomegalovirus Repli-cation in vitro. *The Journal of Infectious Diseases*, Vol. 172, No. 2 (Aug, 1995), pp. 380-388.

- Heck, J.M.L., van Valenberg, H.J.F., Dijkstra, J., and van Hooijdonk, A.C.M. (2009). Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *J. Dairy Sci.* 92, 4745–4755.
- Lee M. Huffmand, W. James Harper. Maximizing the Value of Milk Through Separation Technologies. 1999 *Journal Dairy Science* 82:2238-2244
- Nanna S. Villumsen, Jesper Malling Schmidt, Steffen Nyegaard. *Kasein i Mælk*. Aarhus Universitet 2013.
- Lönnerdal, B., Eric L. Lien. Nutritional and Physiologic Significance of α -Lactalbumin in Infants. 2003 *Nutrition Reviews* 61:295-305.
- 3A Business Consulting. http://lactose.ru/present/1Tage_Affertsholt-Allen.pdf
- Pearce, K. N., Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 716-723.
- Seifu, E., Elna m. Buys, E.F. Donkin. Significance of the lactoperoxidase in the dairy industry and its potential applications: a review. 2005 *Trends in Food Science & Technology* 16: 137-154
- Southward, C. R., Casein Products. Dairy Research Institute
- Smithers, Geoffrey W. et.al. New Opportunities from the Isolation and Utilization of Whey Proteins. 1996 *Journal Dairy Science* 79: 1454-1459
- Wakabayashi, H., Koji Yamauchi, Mitsunori Takase. Lactoferrin research, technology and applications. 2006 *International Dairy Journal* 16: 1241-1251
- UBIC consulting 2015, <http://ubic-consulting.com/wp-content/uploads/2015/08/world-lactoferrin-lactoperoxidase-market.pdf>

Miljøbevidst proteinoprensning – en konkurrencedygtig oprensningsteknik - Et MUDP projekt

Projektet undersøger muligheden for at fremstille højværdiproteiner, hvor alle dele af produktet udnyttes.

Rapporten beskriver, hvordan et fuldskalaprojekt for oprensning af protein fra mælk via Expanded Bed Adsorption teknologi er foregået og hvilke resultater, der er fremkommet.

Formålet med projektet er at oprense højværdiproteiner fra mælk og genanvende mælkeserummet igennem en symbiose, der oprindeligt var tiltænkt at oprense planteprotein. Projektet viste, at en symbiose mellem oprensning af højværdi mælkeproteiner og osteproduktion var mere fordelagtigt.

I projektet er der udført proteinfældning samt anvendt Expanded Bed Adsorption, hvilket er en teknologi, hvor væske går gennem en søjle indeholdende højdensitetsadsorbenter, der designes, så forskellige proteiner kan bindes til disse og oprenses til en høj renhed under skånsomme forhold. Metoden er også fordelagtig til opskalering. Projektet har vist, at det er muligt at lave en symbiose mellem oprensning af funktionelle, bioaktive højværdi mælkeproteinfraktioner og traditionel osteproduktion. Ved at indgå i denne symbiose undgås fremstilling af restfraktionen mælkeserum, som ellers ikke ville kunne anvendes.

Det viste sig muligt at opskalere Expanded Bed Adsorption laboratorie kolonne fra 10 cm til en 80 cm pilotskala.

Symbiosen er demonstreret i industriel skala hos Skånemejerierne i Sverige.



Miljøstyrelsen
Tolderlundsvej 5
5000 Odense C

www.mst.dk