

Zpráva o postupu projektu TA03010189

Efektivní separace Laktoferinu z kravského mléka



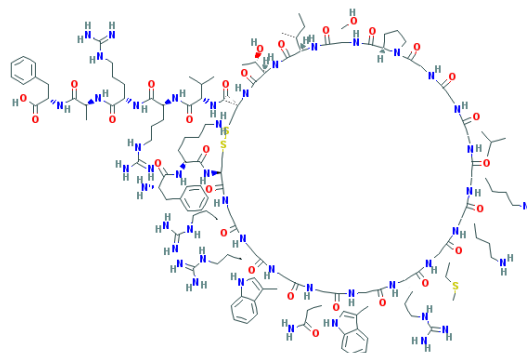
V rámci spolupráce s Regionálním centrem pokročilých technologií a materiálů vyvíjí společnost Ingredia novou unikátní technologii magnetické separace laktoferinu z kravského mléka. Vývoj této technologie je od roku 2013 podporován grantem v rámci projektu Alfa Technologické agentury České republiky. Hlavním cílem této technologie je izolace bovinního proteinu laktoferinu z kravského mléka, aniž by došlo k degradaci tohoto proteinu typickými zpracovatelskými procesy jako pasterizace, která má za následek vysoké znehodnocení účinků tohoto proteinu.

Laktoferin je tzv. syrovátkový protein, který vykazuje antibakteriální, antivirové a dokonce i antimikrobiální vlastnosti. Díky svým vlastnostem a biologickým funkcím je nedílnou součástí lidské obranyschopnosti proti rozličné škále patogenů. V těle je schopen působit také jako antioxidant a byly také prokázány i jeho antikancerogenní účinky. O laktoferinu lze tedy obecně říci, že svými bioaktivními účinky notně podporuje lidskou imunitu. Lze ho nalézt v rozličných doplňcích stravy, nejčastěji si podává na posílení imunity, pro potlačení akné, pro potlačení zánětlivých onemocnění trávicího traktu, pro zdravou funkci močových cest nebo ho lze nalézt v přípravcích podávaných při chudokrevnosti. Lze se s ním také setkat jako se složkou kojeneckých výživ či kosmetických přípravků.

Mechanismus antibakteriálního účinku tohoto proteinu je založen především na jeho schopnosti chytat ionty železa v infikovaných oblastech lidského těla. Např. bakterie bez tohoto iontu velmi záhy umírají. Druhá část jeho účinku spočívá v tom, že je schopen se přichytnout na stěny bakterií a zničit tak jejich schránky (buněčnou stěnu). Bakterie s porušenou stěnou taktéž velmi brzy zanikají. Druhá část účinku tohoto proteinu je značně zesílena pokud se laktoferin přijímá v doplňcích stravy. Pokud totiž tento protein projde trávicím traktem, značná část se ho rozštěpí (zmetabolizuje) na aktivnější formu laktoferinu, na tzv. laktoferricin B. Tento peptid má ještě vyšší účinky proti bakteriím, protože jeho struktura je značně podobná peptidickým antibiotikům a má také značně podobné účinky. Laktoferin přijímaný ve stravě či doplňcích stravy tedy může působit jako přírodní antibiotikum.



Struktura Laktoferinu



Struktura Laktoferricinu B

Separční techniky pro izolaci laktoferinu jsou typicky založeny na kationtově-výměnné chromatografii a jako médium pro separaci se používá syrovátka jako odpadní produkt mlékárenství. Tato technologie má však jednu zásadní nevýhodu. Surovátka již prošla procesem pasterizace, tento proces značně znehodnotí separovaný protein. Navíc, při srážení kaseinu (výroba sýrů, tvarohů) také dochází s velkým ztrátám laktoferinu a jeho koncentrace po tomto procesu může být až osmkrát snížena než v původním mléce. Výsledkem je, že laktoferin je v syrovátce ve velmi malé koncentraci, navíc značně znehodnocen. Pasterizace má taky často za následek, že v mléce, které lze pořídit v obchodech, není laktoferin již vůbec přítomen.

Z výše uvedených důvodů vyvíjíme novou technologii, která by byla založena na separaci laktoferinu před samotnou pasterizací a umožnila tak získat tuto hodnotnou substanci, která je v typických mlékárenských procesech zbytečně znehodnocena. Celý proces je založen na magnetickém sorbentu, který je nejenže schopný vychytávat laktoferin pomocí sulfonových skupin či jiných záporně nabitých skupin, tedy pomocí nespécifické iontové interakce, ale také umožňuje snadnou manipulaci se sorbentem pomocí vnějšího magnetického pole. Další nespornou výhodou nově navržené technologie je i fakt, že díky magnetickým nanočásticím na bázi oxidů železa dosahujeme vysokých výtěžků a čistoty

vyseparovaného proteinu. Tento fakt je založen na schopnosti laktoferinu vycytávat ionty železa a tím se i zdržovat na fázovém rozhraní magnetických částic. Vzhledem k faktu, že se však železité ionty z magnetických částic neuvolňují, neobsahuje vyseparovaný laktoferin větší množství iontů železa ve své struktuře a jeho struktura/saturace železem je tedy naprosto totožná se strukturou obsaženou v čerstvém mléce. Tento typ separace Laktoferinu je patentově chráněn Regionálním centrem pokročilých technologií a materiálů.

Regionální centrum pokročilých technologií a materiálů pro tento specifický způsob separace připravuje magnetické mikročástice na bázi oxidu železa vysokoteplotní redukcí železnatých prekurzorů v pevné fázi, konkrétně mikročástice na bázi oxidu železito-železnatého (Fe_3O_4), který je vysoce biokompatibilní a zdraví neškodný. Tyto částice se následně funkcionalizují na typické kationtově výměnné funkční skupiny jako sulfonová nebo karboxylová skupina. Výsledkem jsou mikročástice s vysokou kapacitou pro Laktoferin. Z následných biochemických testování na vzorcích mléka a syrovátky vyplynulo, že tyto částice jsou schopny vyseparovat až 85 % obsaženého Laktoferinu a získat tak tento protein o čistotě vyšší jak 95 %.



Fotografie vysokoteplotní pece pro solid-state přípravu magnetických mikročástic.

V současné době je uvedená technologie separace Laktoferinu převáděna firmou Ingredia do poloprovozního měřítko. Celý proces separace je koncipován jako vsádková separace v externím polopropustném koši z nerezového materiálu s definovanou velikostí ok, přes

které může protékat mléko, avšak magnetické částice díky své velikosti jsou trvale uzavřeny v koši. Tuto separaci se lze tedy provádět při skladování mléka před jeho samotným zpracováním, aniž by byly jakkoliv ovlivněny další mlékárenské zpracovatelské procesy. Navázání Laktoferinu na magnetický sorbent dochází pouhým mechanickým kontaktem mléka s částicemi. Z magnetického sorbentu se navázaný protein posléze uvolní pomocí solných roztoků, částice se následně vysterilují a celý proces separace se může opakovat. Získaný solný roztok Laktoferinu se zbaví přebytečné soli a šetrně vysuší do práškové podoby. Díky separaci přímo z čerstvého mléka bude po zavedení provozu firma Ingredia získávat Laktoferin té nejvyšší kvality.