



Napredni okoljski projekti kot dejavnik uspeha in prilagajanja podnebnim spremembam

LIFE for Acid Whey

Ponovna uporaba odpadne kisle sirotke za ekstrakcijo bioaktivnih proteinov z visoko dodatno vrednostjo

(MAJA ZUPANČIČ JUSTIN, Arhel d.o.o.)

Partner:  EKOSKLAD
SLOVENSKI OKOLJSKI JAVNI SKLAD



Sponzorji:



CINKARNA



ELES



1945
FRUCAL
v zadolženju z ljubom

Mali sponzor:



Organizator:



VSEBINA PREDAVANJA

- Sirotka: problem mlekarske industrije
- Sirotka: vir visoko vrednih hranil in energije
- Bioaktivne in funkcionalne lastnosti sirotkinih proteinov
- Laktoferin – sirotkin protein posebnega pomena
- Sirotka: osnova raznovrstnih biotehnoloških pretvorb in produktov
- Poznamo več vrst sirotk
- Izzivi mlekarske industrije pri izrabi sirotke
- Izzivi novih procesnih rešitev izrabe sirotke
- Okvir projekta LIFE for Acid Whey in projekta LAKTIKA
- Najpomembnejši dosežki obeh projektov (novi produkti, okoljska trajnost)
- Koordiniramo aktivnosti na sedmih lokacijah
- Izzivi za prihodnost



LIFE FOR ACID WHEY
<http://lifeforacidwhey.arhel.si>



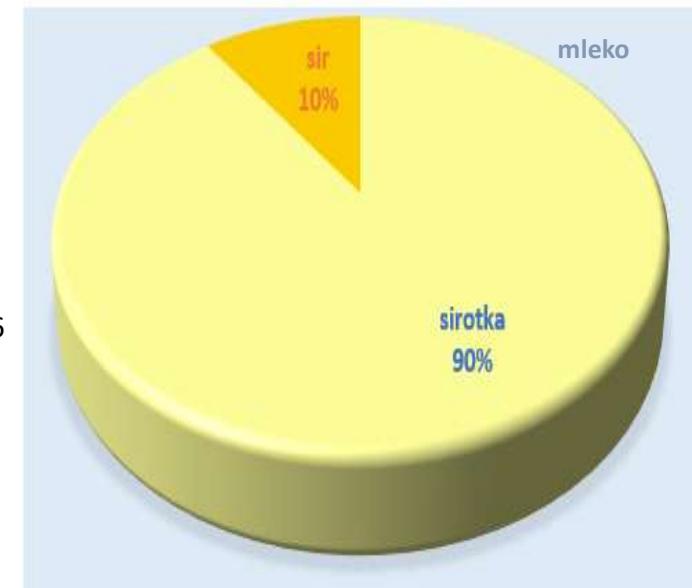
<http://laktika.arhel.si/>

SIROTKA: PROBLEM MLEKARSKE INDUSTRIJE



Letne količine sirotke so ogromne!

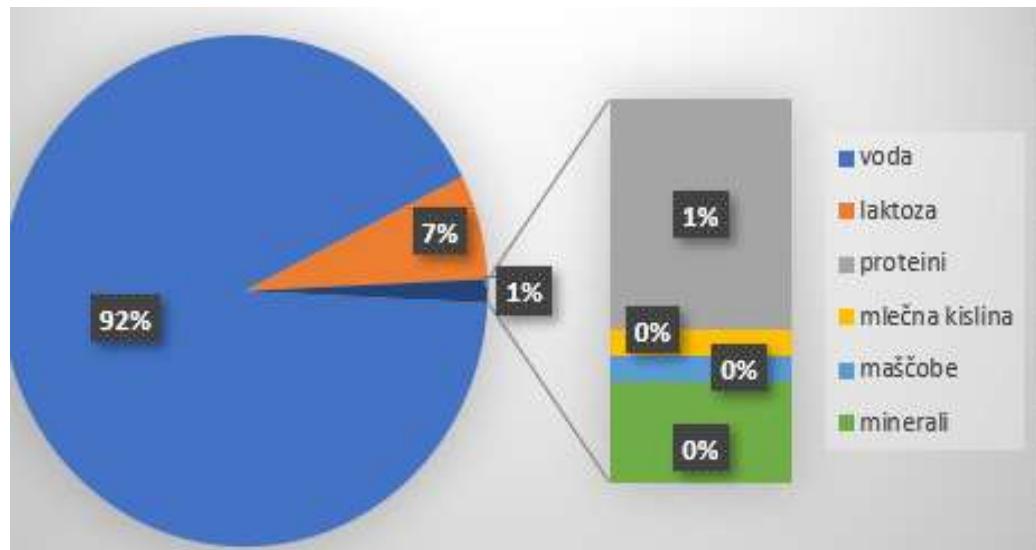
- Sirotka predstavlja 85 – 95% mlekarskih odpadnih voda¹
 - Globalna proizvodnja sirotke ocenjena na 10^8 ton/letno²
 - Celotna proizvodnja sirotke v EU ocenjena na 40×10^6 ton/letno¹
 - Viški sirotke v EU ocenjeni na 13×10^6 ton/leto¹
1. Zotta et al, Valorization of cheese whey using microbial fermentation, App Microb. And Biot., 2020
 2. Carvalho et al., Cheese whey wastewater: characterization and treatmen, Sci. Tot Env.2013



Pri proizvodnji 1 kg sira nastane ca 9 L sirotke!

SIROTKA: PROBLEM MLEKARSKE INDUSTRIJE (nad.)

Pretežni del sirotke predstavlja voda!



Primer sestave sladke sirotke	%
voda	92
laktoza	6,6
protein	0,9
mlečna kislina	0,1
maščobe	0,1
minerali (kalcij, fosfor, kalij, natrij, kloridi)	0,4
Vitamini skupine B	

Sirotka ima zelo visoko biološko obremenitev!

- KPK 50 – **70 gO₂/L**
- BPK₅ 27 – **60 gO₂/L** (dnevna obremenitev 1 osebe (**1 PE** = populacijski ekvivalent) je **60 g BPK₅**)

SIROTKA: VIR VISOKOVREDNIH HRANIL IN ENERGIJE

- V sirotki še vedno ostaja 55% hraničnih snovi iz mleka
- 20% proteinov mleka so sirotkini proteini
- Posamezne komponente (proteini) imajo pomembne bioaktivne in funkcionalne lastnosti

Kravje mleko	g/L	Bioaktivne in funkcionalne lastnosti
Kazeini	26,0	
Sirotkini proteini	6,3	
β-laktoglobulin	3,2	
α-laktalbumin	1,2	
Immunoglobulini	0,7	
Lactoferrin	0,1	
Goveji serumski protein	0,4	
Laktoperoxidaza	0,03	
Lizocim	0,0004	
Osteopontin	V sledovih	
Glikomakropeptid (GMP)*	1,5	



FUNKCIONALNE IN BIOAKTIVNE LASTNOSTI SIROTKINIH PROTEINOV

SIROTKINI PROTEINI	
Bioaktivna vloga (fiziološki učinki) v organizmu	Funkcionalne lastnosti v živilih
Protimikrobnno delovanje (protibakterijsko, protimikotično, protivirusno) Antioksidativno delovanje Imunomodulatorno Proti tumorsko Prebiotična vloga Antihipertenzivno delovaje Protivnetno Antikoagulantna lastnost Zniževanje apetita Opioidni agonisti in antagonisti	Želiranje Vezava vode Emulzifikacija Penjenje Vir aminokislin (Polimeri)
RABA	
Nova zdravila, prehranska dopolnila, specialna dietna prehrana, otroške formule, kozmetika	Športna prehrana, živila z manj maščob, s proteini obogatena živila, naravni aditivi živilom (biorazgradljiva embalaža)

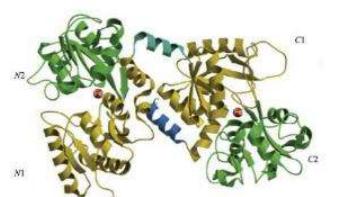
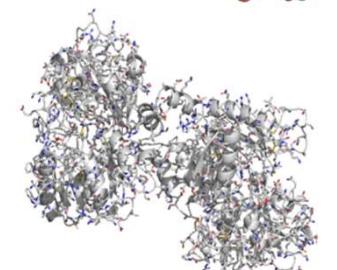
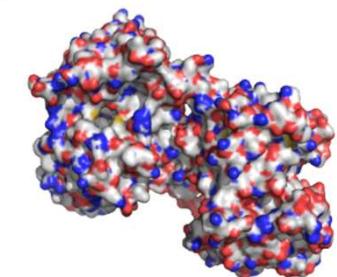
Separacija posameznih sirotkinih komponent možna le z naprednimi tehnološkimi postopki!



Laktoferin – rdeča frakcija mleka
Globularni glikoprotein s kapaciteto vezave železa, 80 kDa

VSESTRANSKI KORISTNI UČINKI ZA ZDRAVJE

- Bakteriostatična, baktericidna, protiglivna, protivirusna aktivnost
- Stimulacija razvoja intestinalnega epitelija
- Antioksidativna aktivnost
- Imunoregulatorno delovanje in regulacija vnetnega odziva
- Preprečevanje anemije povezane s pomanjkanjem železa
- Prenašalec različnih hranil
- Protitumorska aktivnost (zaviralec angiogeneze)
- Zdravje kosti
- Uravnavanje telesne teže in ravni sladkorja
-



PDB ID: 1blf, vizualizacija s Pymol

LAKTFERIN – SIROTKIN PROTEIN POSEBNEGA POMENA (nad.)

Kako ohraniti bioaktivnost?

Kako se soočiti z nizkimi koncentracijami v sirotki?

Kaj z ostalim preostankom sirotke?

LAKTOFERIN – SESTAVINA RAZLIČNIH IZDELKOV

- Mlečne formule
- Humana veterinarska zdravila
- Kozmetika
- Medicinski pripomočki (ustna higiena)
- Prehranski dodatki
- Funkcionalna živila
- Konzervans za živila

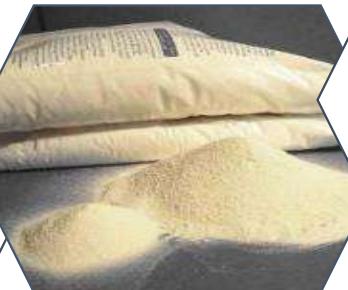


Mleko / proteini	Kravje (g/l)	Humano (g/l)
Kazeini	26,0	2,7
Imunoglobulini	0,7	1,3
Laktoferin	0,1 – 0,2	1,5 (5,5 kolostrum)
Laktoperoksidaza	0,03	1,5
Lizocim	0,0004	0,1

SIROTKA: OSNOVA ŠTEVILNIH BIOTEHNOLOŠKIH PRODUKTOV

Fizikalno – kemijski postopki predelave

Izolacija posameznih proteinov: **LF, LPO, IgG, α -lactalbumin, β -laktoglobulin,)**



Ekstrakcija drugih sirotkinih komponent:
laktoza, minerali, mlečna kislina, sirotkin proteinski koncentrat, ...



Pridobivanje mlekarskih starterskih kultur, probiotikov in njihovih metabolitov (**vitamini, encimi, bakteriocini...), kvasovk ...**)

Pridobivanje, prebiotikov, sladil, organskih kislin, sekundarnih alkoholov, polimerov itd. iz laktoze



Pridobivanje vitaminov, karotenoidov, biopolimerov, kvasnega proteina, itd.

Pridobivanje **biogoriv (bioetanol, biodizel, vodik, bioplín).**

.....

Rastlinska gnojila



Biotehnološki postopki predelave

POZNA MO VEČ VRST SIROTK

Način predelave mleka vpliva na sestavo sirotke

- Sladka (sirilo)
- Kisla (mlečnokislinske bakterije, kisline)
- Slana (dodatek soli)
- Sekundarna sirotka (zakisanje in dodatna toplotna obdelava)
-

Prednosti in omejitve kisle sirotke

- Visoka koncentracija mlečnokislinskih bakterij
- Nizek pH (<5,6)
- Višja vrednost mineralov (višja vrednost pepela v prašku)
- Višja vrednost mlečne kisline (higroskopnost)
- Drugačna sestava sirotkih proteinov

	Laktoza	Mlečna kislina	Minerali	Proteini	Laktoferin
g/L sirotke					
Sladka sirotka	46 - 52	1,5	2,5 – 4,7	6 - 10	0,05
Kisla sirotka	44 - 46	5,5	4,3 - 7,2	6 - 8	0,1 – 0,2



IZZIVI MLEKARSKE INDUSTRIJE PRI IZRABI SIROTKE

Ravnanje s sirotko je še posebej težavno za male mlekarne!

IZZIV	OMEJITEV
Izpst v kanalizacijo in komunalne čistilne naprave ni dovoljen	STROŠEK ČIŠČENJA, ODVOZA
Za mnoge bioplinarne lahko predstavlja preveliko hidravlično obremenitev	STROŠEK ODDAJE
Sirotke se glede na tehnološki postopek predelave mleka zelo razlikujejo (sladka, kisla, slana, sekundarna s. po izdelavi albuminske skute)	NESTANDARDIZIRAN STRANSKI PRODUKT
Izraba posameznih sirotkinih sestavin zahteva tehnološko opremo, ki je klasična (mala) mlekarna običajno nima (bioreaktor, kromatografija, membranska filtracija, sušenje z razprševanje; liofilizacija)	VOSOKA INVESTICIJA, NOV PROCESNE LINIJE, NOVI TRGI

IZZIVI MLEKARSKE INDUSTRIJE PRI IZRABI SIROTKE (nad.)

- Cilj – iskanje in pridobivanje produktov z višjo dodano vrednostjo.
- Pridobivanje posameznih sirotkih komponent v prahu je večinoma rentabilno pri obravnavi velikih količin sirotke.

VRSTA	Cena na trgu (€/ton) ¹
Tekoča sladka sirotka	25 – 30
Sirotkin koncentrat (CW)	1000-1200
Laktoza (food-grade)	1600 – 1700
Sirotkin permeat (WP)	700 – 800
Sirotkin koncentrat 35 (WPC 35)	3200
Sirotkin koncentrat 60 (WPC 60)	4900 - 5200
Sirotkin koncentrat 80 (WPC 80)	8500 - 12000
Demineralizirana sirotka v prahu 150 (DEMI 150)	1500 – 1700
Demineralizirana sirotka v prahu 170 (DEMI170)	1800 – 1900
Demineralizirana sirotka v prahu 190 (DEMI 190)	2300 – 2600
LAKTOFERIN²	2.000 – 4.000 EUR/kg

¹<https://www.clal.it/en/index.php> (ogled vira 2020)

² <https://www.fortunebusinessinsights.com/thoughtleadership/bovine-lactoferrin-market-9165>

IZZIVI NOVIH PROCESNIH REŠITEV IZRABE SIROTKE

Izzivi uporabe **kromatografske separacije sirotkinih proteinov** kot nove procesne rešitve izrabe sirotke z višjo dodano vrednostjo:

- Doseganje visoke čistosti produkta
- Ohranjanje (bio)aktivnosti proteinskega produkta
- Doseganje visokega izplena produkta (recovery)
- Doseganje visoke kapacitete postopka
- Obvladovanje vplivov na okolje (raba procesnih surovin)
- Sklopljenost procesa z drugimi postopki za polno izrabo sirotke



OKVIR PROJEKTA LIFE for Acid Whey

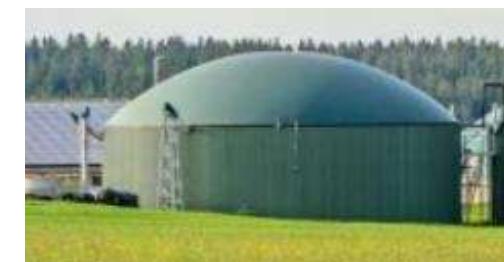


KISLA
SIROTKA

IZOLACIJA
LAKTOFERINA

MLEČNO-
KISLINSKE
BAKTERIJE

BIOPLIN



Poiskati rešitev za kislo sirotko, ki zaradi mlečne kisline manj primerna za nadaljnjo izrabo.

Postaviti metodo za separacijo laktoferina. Izvesti postopek na demonstrativnem nivoju.

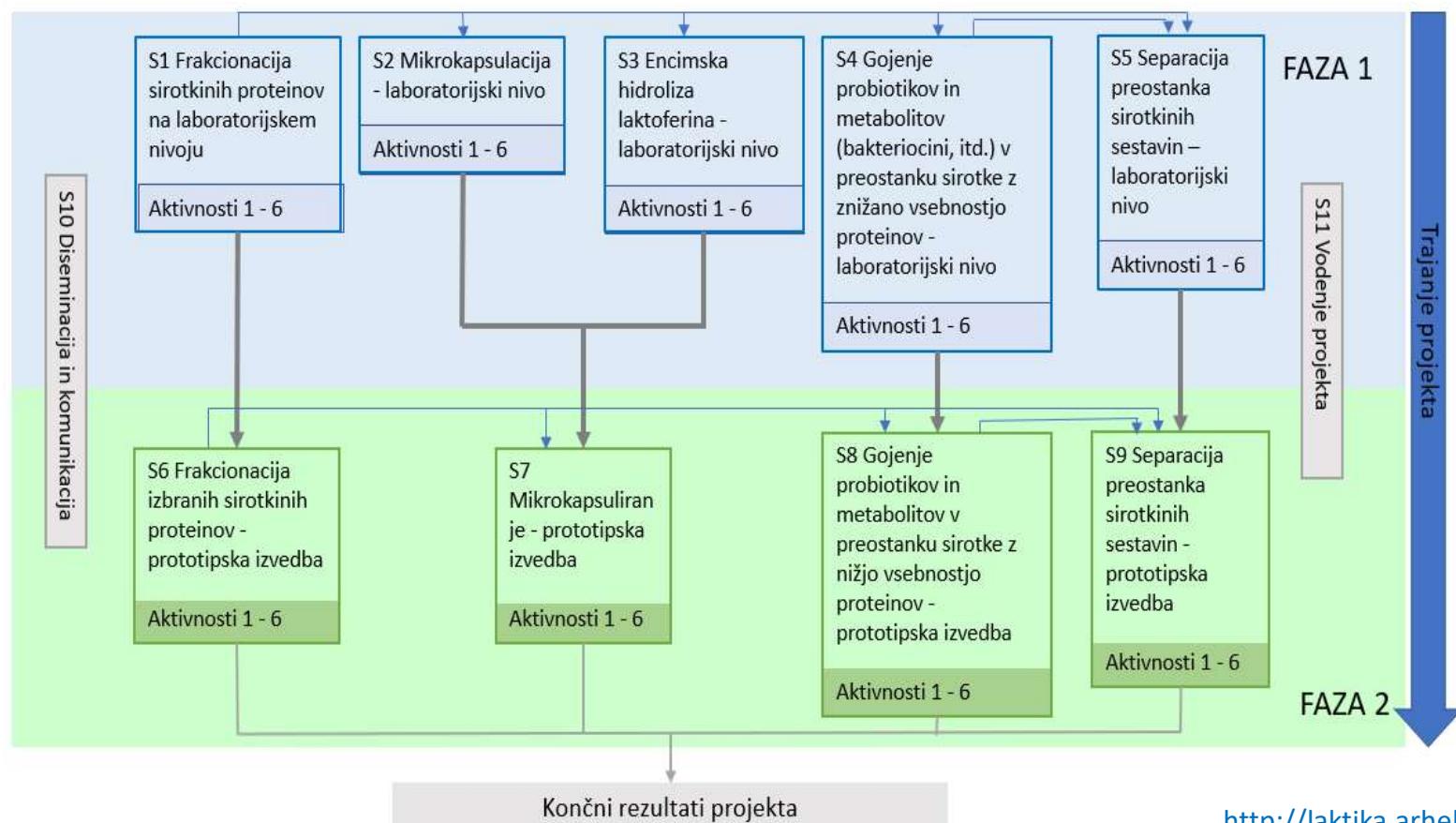
Testirati uporabnost preostanka sirotke kot gojišča za mlekarske starterske kulture in probiotike.

Odvesti preostanek sirotke v bioplinsarno za pridobivanje bioplina.

OKVIR PROJEKTA LAKTIKA



LAKTIKA



NAJPOMEMBNEJŠI DOSEŽKI OBEH PROJEKTOV



Gojili laktokoke in pridobili nizin, probiotike, MKB s proizvodnjo vitamina B12, kefirna zrna z izolacijo kefirana

Selektivno precipitirali α -LA; stabilizirali sirotkin izolat s prevlado β -LG in višjim deležem LF

Razvili kozmetična produkta iz posameznih frakcij sirotke (šampon, čistilni tonik za obraz)

Ekstrakcija visoko čiste in bioaktivne oblike lakoferina

Hidrolizirali lakoferin za ojačitev protimikrobnega dejstva

Razvoj analitike in metod ekstrakcije posameznih s. proteinov (LPO, IgG, α -LA, β -LG, GMP) in metabolitov

Gelska elektroforeza Lakoferina:

Razvita formulacija prehranskega dopolnila z lakoferinom z gastrorezistentno oblogo

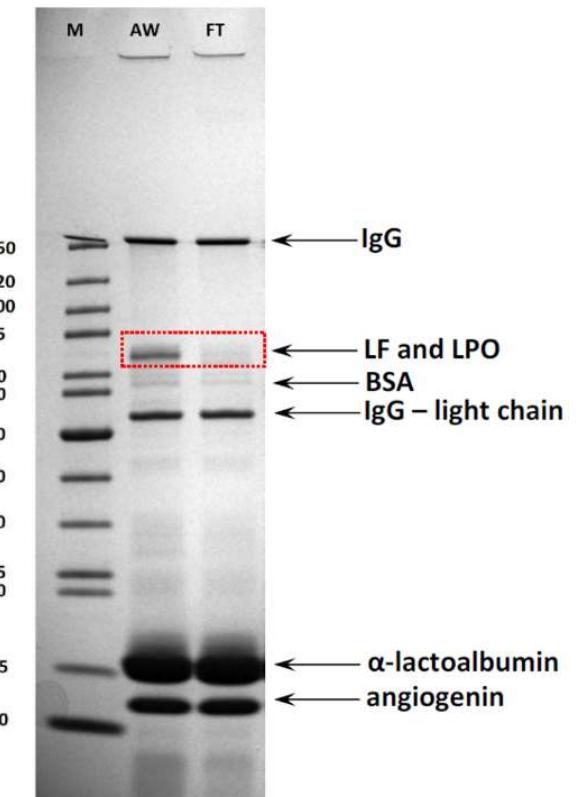
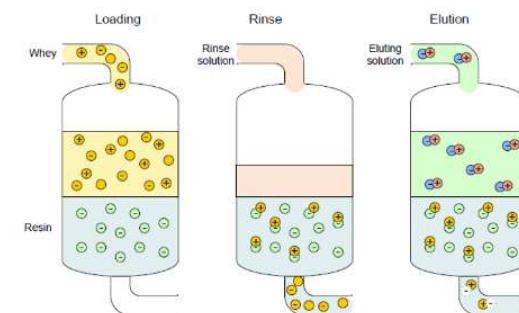
Zgostili sirotkine frakcije s postopkom osmoze

Predelava sirotke v produkte z višjo dodano vrednostjo.

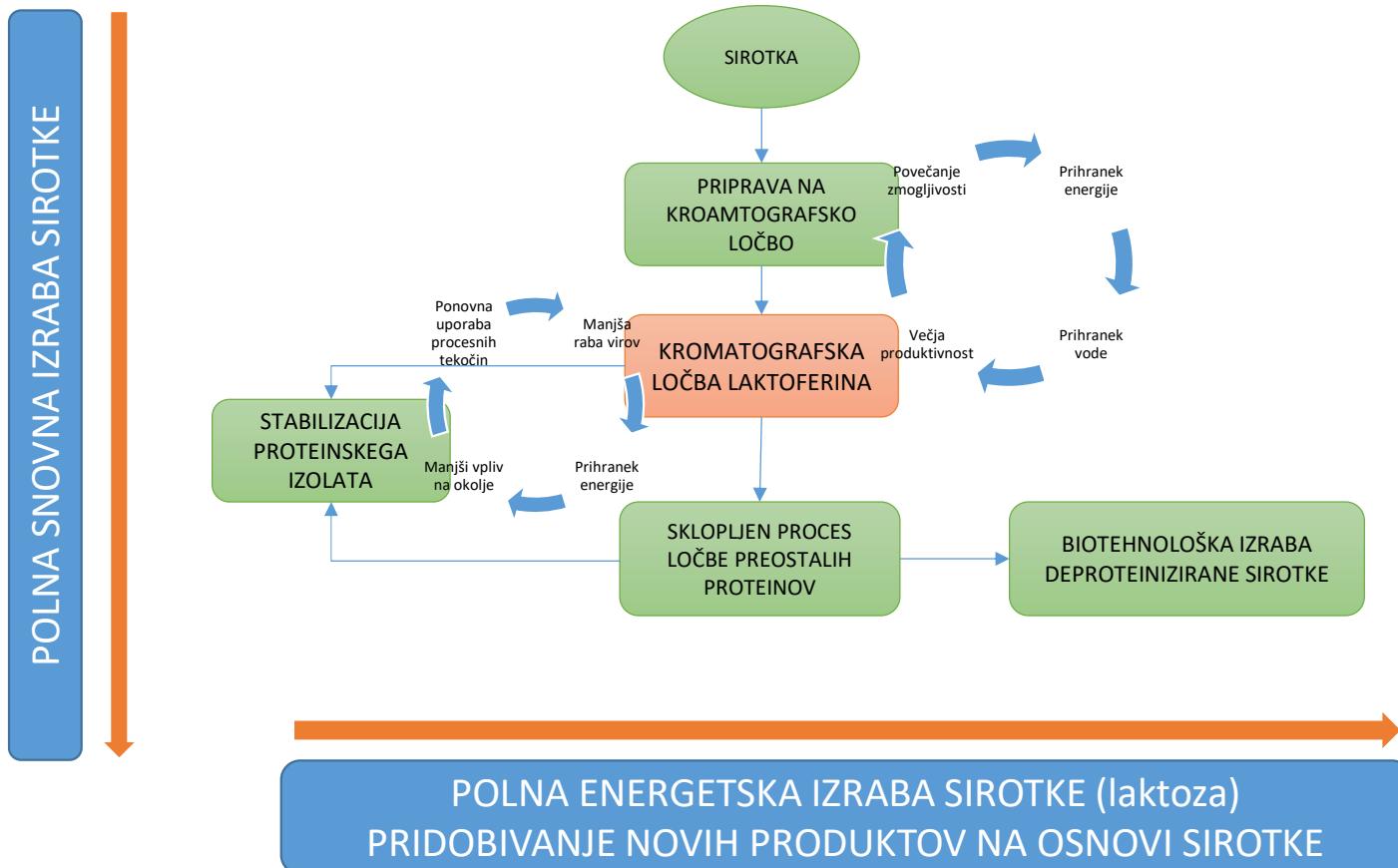
IZHODNA PERMEAT KONCENTRAT

1165 g
3.6.2020 KEFIRAN

KROMATOGRAFSKA LOČBA PROTEINOV



NAJPOMEMBNEJŠI DOSEŽKI Z VIDKA OKOLJSKE TRAJNOSTI





KOORDINIRAMO DELO NA SEDMIH LOKACIJAH





IZZIVI ZA PRIHODNOST

- Prehod na industrijski nivo proizvodnje in optimizacija
- Oblikovanje končnih produktov iz pridobljenih surovin
- Iskanje in utrditev prodajnih kanalov
- Utrditi povezave z mlekarsko industrijo na področju dobave sirotk kot surovine ali prenosa novo-razvitih tehnologij



ZAHVALA SOFINANCERJEM PROJEKTOV



LIFE for Acid Whey:

**Reuse of waste acid whey for the extraction
of bioactive proteins with high added value**

LIFE16 ENV/SI/000335

July 2017 – June 2021

Program LIFE Okolje

Evropska komisija

<http://lifeforacidwhey.arhel.si/en>



EVROPSKA UNIJA
EVROPSKI SKLAD ZA
REGIONALNI RAZVOJ
NALOŽBA V VAŠO PRIHODNOST

LAKTIKA

operacije št. C3330-18-952002

**Frakcioniranje in implementacija sirotkinih proteinov ter
izraba preostanka za oblikovanje novih funkcionalnih
živil in prehranskih dopolnil**

Operativnega programa za izvajanje Evropske kohezijske
politike v obdobju 2014-2020



HVALA ZA POZORNOST

Sodelavci na razvojnih projektih:

Maja ZUPANČIČ JUSTIN, Marko KETE, Mateja FRANČEŠKIN KRAPEŽ, Dejan SUBAN, Maja ČIČ, Tinkara ROZINA, Tjaša PREVC, Polona ZABUKOVEC, Tinkara VARDJAN, David FARČNIK, Matevž KORŠIČ, Špela PALČAR, Alja KISILAK, Blaž LOKAR, Rihard MURN, Neža FINŽGAR, Dragan MARTINOVIC, Marko GERL Bojana BOGOVIČ MATIJAŠIĆ, Diana PAVELJŠEK, Jernej OBERČKAL, Petra MOHAR LORBEG, Nina SKALE, ¹Borut KOLENC, Mojca POTOČNIK, Špela GRUDEN, Nataša POKLAR ULRIH, Robert ROŠKAR, Albin KRISTL, Jurij TRONTELJ, Timeja PLANINŠEK PARFANT, Nika OSEL, Mirjana GAŠPERLIN, Blaž GRILC, Maja BJELOŠEVIĆ Hermina BUKŠEK, Irena PETRINIĆ, Marjana SIMONIČ

Kontakt:

Arhel d.o.o., Pustovrhova 15, 1000 Ljubljana;
Maja Zupančič Justin; maja.justin@arhel.si, info@arhel.si

Koordinator projektov:



Partnerji projektov:



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta



INSTITUT ZA MLEKARSTVO IN PROBIOTIKE
INSTITUTE OF DAIRY SCIENCE & PROBIOTICS



Univerza v Ljubljani
Fakulteta za farmacijo



Univerza v Mariboru

Fakulteta za kemijo
in kemijsko tehnologijo