

Fraktioneret beta-kasein forbliver virksomt

Industriell fremstilling af β -kasein går ikke ud over dets funktionelle eller biologiske egenskaber



Af Seniorforsker Jan Trige Rasmussen, Institut for Molekylærbiologi og Genetik, Aarhus Universitet (AU), professor Lotte Bach Larsen, lektor Jette Feveile Young, postdoc Bjørn Petrat-Melin og postdoc Thao Thi Thu Le, Institut for Fødevarer, AU.

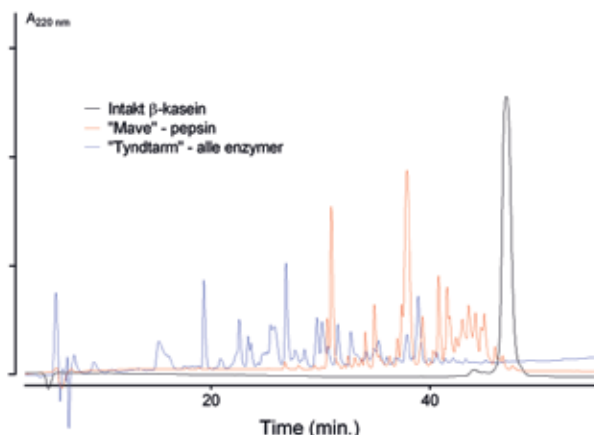
logiske aktiviteter. Især β -kasein er en rig kilde til bioaktive peptider. Det store ønske fra mejeriindustrien er at få bovint β -kasein til rådighed som ingrediens til fremstilling af modermælkserstatninger med god fordøjelighed og større lighed til modermælk.

Gennem tiden har der været anvendt forskellige analytiske og/eller laboratoriebaserede metoder til oprensning af β -kasein fra mælk. Arla Foods Ingredients (AFI) har sammen med Aarhus Universitet arbejdet på at udvikle en optimeret metode til industriel isolering af rent, food-grade β -kasein. Der forelå ved projektstart to metoder til isolering af β -kasein fra komælk. Den mest lovende metode tager udgangspunkt i en regulering af kaseinmicellens stabilitet, som kan isolere β -kasein i en renhedsgrad på ca. 75%. Det er interessant rent kommercielt.

Komælks fire kaseiner udgør ca. 80 % af proteinet, hvorimod kasein kun repræsenterer 20-40 % af det humane mælkeprotein. Forholdet mellem de enkelte kaseiner varierer altså en del imellem arterne. Væsentligt er det, at β -kasein

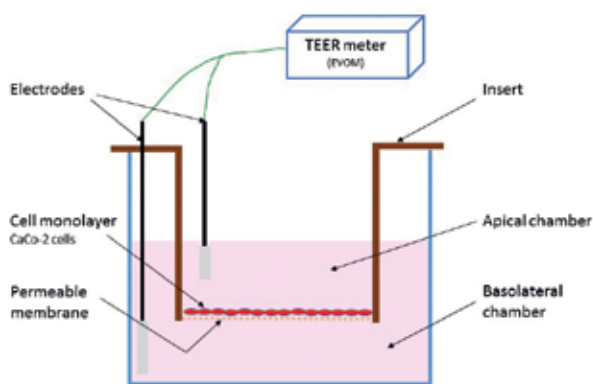
udgør så meget som $\frac{3}{4}$ -dele af totalkaseinet i human mælk, mens det kun står for ca. $\frac{1}{3}$ -del i komælk. Udover at være en basal næringskilde menes kasein også at være et vigtigt udgangsmateriale for en række peptider med betydelige bio-

Enzymatisk nedbrydning af β -kasein



Figur 1. Den gradvise nedbrydning af rent β -kasein vist ved brug af omvendt fase kromatografi. Intakt β -kasein giver én stor top. Mavelignende fordøjelse med pepsin og enzymatiske betingelser fra begyndelsen af tyndtarmen resulterer i dannelse af mindre og mindre fragmenter. De mindste fragmenter (peptider) kommer først (i venstre side).

Transcellulær elektrisk modstand (TEER)



Figur 2. Måling af den transcellulære elektriske modstand (TEER). Et lag af tarmceller etableres på overfladen af en permeabel membran. Der placeres en elektrode på hver sin side af cellelaget. Når cellerne vokser sammen, og der er god barrierefunktion, så er modstanden stor.

Formål

Projektet mål var at videreudvikle den eksisterende metode til oprensning af β -kasein for at forbedre renheden og samtidigt bibeholde funktionaliteten af produktet. Endvidere blev det undersøgt, om forarbejdningsprocessen havde indflydelse på produktets kvalitet og bioaktivitet. Det blev bl.a. gjort ved at undersøge fordøjeligheden af β -kasein, se på den efterfølgende transport over et lag af tarmceller samt studere fraktionernes evne til at påvirke tarmcellernes modningshastighed/regenerative evne.

Højere renhed

I alt blev der fremstillet fem forskellige, industrielle β -kasein-holdige fraktioner/blandinger (70-95 % renhed), og dertil kom laboratoriemateriale til sammenlignende undersøgelser. Vi fik indblik i, hvordan højere renhed kan nås og dens betydning for biologiske/sundhedsrelaterede effekter.

Nedbrydelighed som mål for skånsom behandling

Fordøjeligheden er et vigtigt parameter, når biotilgængeligheden skal vurderes. Vi har udviklet fordøjelsesprocedurer, der simulerer *in vivo*-betingelser hos hhv. spædbørn og voksne, og muliggør sammenligning med standardprøver. Disse undersøgelser viste væsentlige forskelle i fordøjelsen i maven hos spædbørn og voksne, også for et letfordøjeligt protein som β -kasein. Det forventes, at den fysiologiske påvirkning af de opståede fragmenter er afgørende forskellige. Figur 1 viser den gradvise nedbrydning af rent β -kasein ved brug af omvendt-fase kromatografi. Analyser blev gennemført på β -kasein fra AFI, fra et konkurrerende firma samt på protein oprenset i laboratoriet fra både human mælk og ubehandlet komælk. Samlet viste analyserne ingen eller kun meget små forskelle i fordøjeligheden af prøverne fra AFI og laboratoriet, hvorimod det konkurrerende produkt resulterede i et helt andet nedbrydningsmønster. En database-baseret peptidanalyse viste, at der i modelstudiet, under både "voksen" og "spædbørns"-betingelser,

Projektinfo

Titel: Kvalitet og aktivitet af industrielt fraktioneret kasein

Projektleder: Seniorforsker Jan Trige Rasmussen, Institut for Molekylærbiologi og Genetik, Aarhus Universitet.

Projektperiode: 2014 – 2016

Hovedformål: At frembringe ny viden om eksisterende og nye β -kasein fraktioneringsmetoder, samt at forstå funktionaliteten af nye, afledte proteinprodukter.

Finansiering: Mejeribrugets ForskningsFond, Arla Foods Ingredients og Aarhus Universitet.

Slutrapport kan fås ved henvendelse til Mejeribrugets ForskningsFond, e-mail: gmo@lf.dk

Resumé:

Forskningsprojektet viser, hvordan relativt rene β -kasein kan fremstilles industrielt, og at den benyttede fremstillingsproces ikke er ødelæggende for proteinets integritet og funktionalitet. Vi ved, hvilke former for analyse, der giver information om produktets biologiske aktivitet. Der ses ingen negative bioaktiviteter af intakt eller fordøjet β -kasein. Mejeriindustrien skal nu vurdere fraktioneringsmetodernes rentabilitet og de markedsmæssige muligheder.

blev dannet grupper af peptider med kendte bioaktive egenskaber.

Måling af biologisk aktivitet

Projektet har undersøgt β -kaseins bioaktivitet vha. tre forskellige modeller. A) Målinger baseret på regulatoriske tarmcellers frigivelse og stabilitet af signalstoffer (primært GLP-1), som har indflydelse på mæthed og på kroppens velbefindende. B) Et celle-baseret system, der vurderer produkternes indflydelse på modning og dannelse af et tæt beskyttende tarmcellelag (figur 2). C) Et system til inspektion af mælkekomponenters indflydelse på centrale gens udtryk i tarmceller.

Industrielt fremstillet β -kasein har god kvalitet

Alle industrielle prøver med β -kasein var i stand til at fremme frigivelse af GLP-1 fra specielle tarmceller. Der var endvidere tegn på en svag, stimulerende effekt af fordøjet og intakt β -kasein på cellelags modning/tæthed. Modsat havde hverken intakt eller fordøjet β -kasein negative effekter på dannelsen af et godt og beskyttende tarmcellelag, hvilket eksempelvis kunne ses for æggealbumin. Det

var desværre ikke muligt at udlede klare konklusioner fra genekspressionsanalyserne, men samlet vurderes studierne at støtte hypotesen om, at fordøjet kasein har en unik regulerende effekt på mavetarmsystemets omsætning og evne til at opretholde en god barriere imod omverdenen. Der var ikke tegn på reduceret aktivitet eller funktionalitet af de testede AFI-fraktioner i forhold til skånsomt fremstillede laboratoriefractioner.

Resultaternes betydning

Vi har brugt etablerede teknikker, som kan validere kvaliteten af industrielt fremstillet β -kasein. Vi ved nu, hvordan højere renhed kan opnås, og hvad renhedsgraden betyder for eventuelle biologiske effekter. Alle prøver med β -kasein fra AFI var i stand til at fremme frigivelsen af GLP-1 fra signalerende celler. Det ligger endnu ikke fast, om de øvrige testmetoder kan benyttes til at dokumentere biologiske effekter af β -kasein.

Teknologisk og videnskabeligt set er der altså grønt lys for industriel fremstilling af en hel eller delvis ren β -kaseinfraktion. Det er nu op til mejeriindustrien at vurdere de afsætningsmæssige muligheder. ■