

# Gewinnung von Peptidmischungen durch enzymatische Hydrolyse proteinhaltiger Abläufe

Jan Süß, Ran Ding, Hans-Jürgen Danneel

## Einleitung:

In vielen Bereichen der Verarbeitung von Lebensmitteln und Agrarprodukten fallen proteinhaltige Nebenfraktionen an, die bestenfalls als Tierfutter verwertet werden können. In dem dargestellten Forschungsprojekt sollen Verfahren etabliert werden, um Proteine aus Nebenfraktionen der Lebensmittel- und Agrarproduktion enzymatisch in kurzkettige Peptide zu spalten, und diese Hydrolyseprozesse sowie ihre Produkte analytisch zu erfassen.

Die erarbeitete Methodik soll später verwendet werden, um spezifische Peptidmischungen zu erzeugen, die chromatographisch fraktioniert werden sollen. Die Fraktionen sollen bei geeigneten biologischen und physiko-chemischen Eigenschaften als funktionelle Zusatzstoffe für Lebensmittel- und Kosmetikanwendungen aufbereitet werden.

## Verwendete Apparaturen:



Als Hydrolysereaktor wurde ein 1000 ml Doppelmantelbehälter mit Bodenablauf und Schliffdeckel verwendet.

Der Reaktor wurde mit einem Blattrührer, einer steuerbaren Wassertemperierung und einer pH-Kontrolle ausgestattet.



Zur Abtrennung der nicht aufschließbaren Biomasse nach erfolgter enzymatischer Hydrolyse wurde eine Druckfiltrationsanlage installiert, die mit verschiedenen Filtereinlagen ausgestattet werden kann, und bis zu 8 bar Überdruck betrieben werden kann.

## Durchführung von Proteinhydrolysen:



Ein Beispiel für eine enzymatische Hydrolyse ist der Abbau von Schlachtabfällen, die mit einem Fleischwolf zerkleinert, und mit Leitungswasser auf Fließkonsistenz eingestellt wurden.

Als erstes Enzym kam ein Papain-Präparat zum Einsatz. Diese Protease stammt aus der Papaya, wo sie in Schale und Kern vorkommt. Das Enzym zeichnet sich durch eine geringe Substratspezifität aus, was dazu führt, dass es breitflächig eingesetzt werden kann.

Reaktionsbedingungen waren:

- Temperatur: 45°C
- pH-Wert: 5,6 - 5,7
- Rührerdrehzahl: 40 rpm
- Enzymkonzentration [% bezogen auf Reaktorvolumen]: 0,3%
- Hydrolysedauer: 180 min



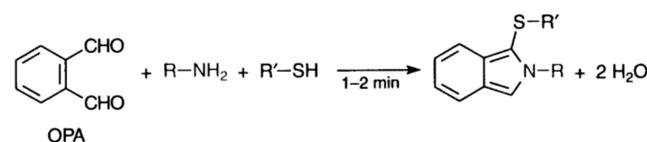
Um ein möglichst reines Hydrolysat zu erhalten, musste das gewonnene Produkt gefiltert werden. Dabei wurden die übrigen Gewebereste abgetrennt.

- Temperatur: 80 °C
- Druck: 4 – 5 bar

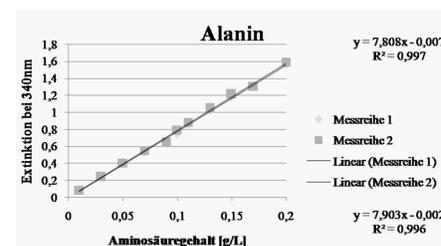
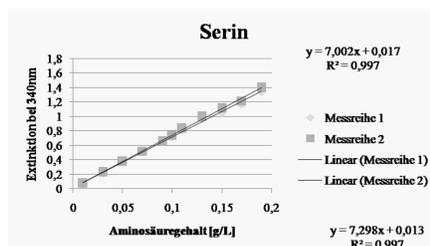
## Analyse des Hydrolysegrades mit Hilfe von o-Phthaldialdehyd (OPA):

Analyseprinzip:

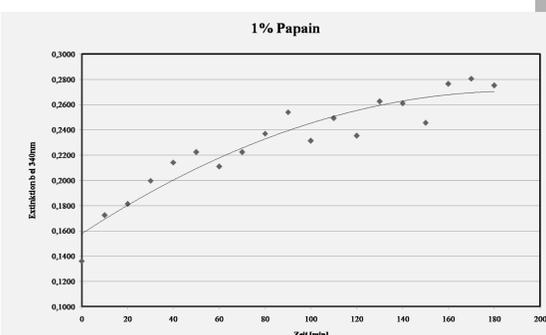
OPA bildet mit primären Aminogruppen einen Komplex, der sich bei 340nm photometrisch messen lässt.



Um die Genauigkeit der Methode zu überprüfen, wurde eine Kalibrierung mit Aminosäurelösungen (Serin und Alanin) mit bekanntem Gehalt durchgeführt. Die Kalibrierkurven zeigen zwischen 0,0 und 0,2 g/l hinreichende Linearität.



## Analytische Bewertung und Bilanzierung des Hydrolyseverlaufes:



Mit 1 % Papainzusatz ist die Hydrolyse nach etwa 150 min abgeschlossen.

Um den Verlust der Eiweißmenge, der durch die Filtration entsteht, bestimmen zu können und damit einen Aussage über Effizienz der Hydrolyse zu treffen, wurde eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl durchgeführt.

Probe	Einwaage [g]	verbrauch HCl 0,1M [mL]	MW [mL]	N-gehalt [mg]	Eiweißgehalt [mg]	Eiweißgehalt bezogen auf ganze Probe [%]
Hydrolysat 1	2,4000	3,11	3,04	3,075	4,3	37,7
Rohmasse 2	1,9540	2,87	2,91	2,890	4,0	35,4

Es wurde festgestellt, dass durch die Filtration etwa 14% des Eiweißgehaltes verloren gehen. Das heißt, dass Hydrolysat enthält ca. 86% der eingesetzten Eiweißmenge.

Eine Quantifizierung der freien Aminogruppen nach Hydrolyse zeigt eine Zunahme um den Faktor zwei im Hydrolyseverlauf. Die Hydrolyse führt zu offensichtlich löslichen Peptiden, die jedoch noch nicht die erwünschten kleinen Kettenlängen von zwei bis zehn Aminosäuren besitzen.

Wir danken den Firmen Extrakt Chemie GmbH, Abenzymes GmbH, und August Töpfer & Co. KG für die Bereitstellung von Proteasemustern.

