

Oude techniek, nieuwe toepassing

Affiniteitschromatografie voor eiwitisolatie

Als scheidingstechniek is affiniteitschromatografie niet nieuw. Gebruik ervan in de voedingsmiddelenindustrie is dat wel. Tamara Besselink onderzocht de mogelijkheden voor het isoleren van waardevolle eiwitten uit reststromen. De resultaten zijn veelbelovend, maar vooral de capaciteit moet nog flink omhoog voor toepassing rendabel wordt.

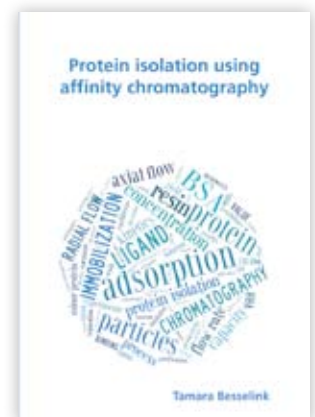
Voordat affiniteitschromatografie op grote schaal wordt toegepast in de foodsector voor het isoleren van speciale eiwitten zijn we wel een jaar of tien verder, verwacht Tamara Besselink. Zij verdiepte zich in haar promotieonderzoek aan Wageningen University in de toepassingsmogelijkheden van de techniek. "Deze technologie op zich bestaat al lang, maar hij wordt vooral in het lab en in de farmaceutische industrie gebruikt", vertelt Besselink, inmiddels werkzaam als process engineer bij Iv-Industrie in Arnhem. Vanwege de grote belangstelling voor gezondheidsbevorderende stoffen, en de in haar onderzoek gevonden voordelen van affiniteitschromatografie ziet Besselink toekomst voor de techniek in de voedingsmiddelenindustrie. "Grote voordelen zijn de selectiviteit, de zuiverheid van het eindproduct en het feit dat je heel hoog kunt concentreren." Ze slaagde er bijvoorbeeld in uit melkwei met 0,1 mg/ml van het model eiwit runderalbumine een concentratie te halen van 7,7 mg/ml. "Dat is bijna tachtig keer zoveel. Je krijgt dit met veel andere technieken niet op een selectieve manier voor elkaar", aldus Besselink.

Vooral voor het isoleren van laaggeconcentreerde eiwitten uit reststromen is het interessant. Runderalbumine diende als model eiwit in het onderzoek omdat het goedkoop en vrij zuiver te verkrijgen is. In de praktijk zal het straks gaan om bijvoorbeeld gezondheidsbevorderende eiwitten voor medische voeding, of eiwitten met een bepaalde fysiologische werking voor sportvoeding. Maar ook het verwijderen van enzymen die de productkwaliteit verslechteren of andere eiwitten die allergische reacties veroorzaken, is mogelijk. Industriële partners in het project waren FrieslandCampina, DSM Biotechnology Center en BAC.

Goedkope, specifieke liganden

Voor affiniteitschromatografie worden zogeheten liganden vastgezet (geïmmobiliseerd) op vaste, poreuze deeltjes in een kolom, de stationaire fase. Daaroverheen wordt een vloeistofstroom met het te isoleren eiwit geleid. De liganden binden het eiwit (adsorptie). Na de adsorptie wordt de kolom gewassen met een wasbuffer om alle niet-gebonden stoffen te verwijderen. Vervolgens wordt de

binding tussen ligand en eiwit weer verbroken door er een desorptiebuffer overheen te leiden. Besselink gebruikte als stationaire fase poreuze harsdeeltjes, omdat die een groot actief oppervlak hebben waar ligand aan kan binden. Andere mogelijke stationaire fases zijn monolieten en membranen. Een van de redenen voor een onderzoek naar affiniteitschromatografie was het beschikbaar komen van zeer selectieve liganden die op grote schaal kunnen worden geproduceerd. Dit gebeurt bij BAC in Naarden. BAC maakt het zogenoemde VHH ligand. Deze liganden



Tamara Besselink, Protein isolation using affinity chromatography, Wageningen University, 2012, ISBN 978-94-6173-426-6, Tamara.Besselink@gmail.com, promotor prof. dr. ir. R.M. Boom, copromotor dr. ir. A.E.M. Janssen

Tamara Besselink:
“Grote voordelen van
affiniteitschromatografie
zijn de selectiviteit, de
zuiverheid van het
eindproduct en het feit
dat je heel hoog kunt
concentreren.”



Foto: Bart de Gouw

zijn stabiele en compacte antilichaamfragmenten gebaseerd op zogeheten *single domain* antilichamen origineel gevonden in de species *Camelidae* (lama). Die fragmenten kunnen heel selectief bepaalde eiwitten binden. Door hun lagere molecuulgewicht dan complete antilichamen (ca. factor 10 lager) zijn ze efficiënter in het gebruik in affiniteitschromatografie. Deze antilichaamfragmenten kunnen ook op industriële schaal worden gemaakt door recombinant gistcellen (*Saccharomyces cerevisiae*). Elk VHH ligand is specifiek voor één bepaald eiwit en moet speciaal daarvoor worden ontwikkeld. Besselink gebruikte een VHH ligand voor runderalbumine.

Affiniteitschromatografie mag dan diverse voordelen hebben, het is ook een duur en tijdrovend batchproces waarbij grote hoeveelheden bufferoplossingen worden gebruikt en dure componenten nodig zijn, zoals de harsen en liganden. Voordat grootschalige toepassing in de foodsector haalbaar wordt, moeten nog diverse procesonderdelen worden verbeterd, stelde Besselink vast.

Trage diffusie

De snelheidbeperkende factor is de diffusie van het runderalbumine in het poreuze harsdeeltje, en dus niet de adsorptie zelf of het transport naar het harsdeeltje toe. “Door de trage diffusie verloopt de verzadiging van de kolom met het te binden eiwit dus heel geleidelijk”, aldus Besselink, en is het proces minder efficiënt. Hier ziet Besselink wel mogelijke

verbeteringen. “Het is denkbaar dat je de poriënstructuur in de poreuze deeltjes kunt optimaliseren op basis van het eiwit dat je wilt isoleren. Een groot eiwit zal bijvoorbeeld grotere poriën nodig hebben dan een klein. Daarbij moet je rekening houden met het feit dat het geïmmobiliseerde ligand de poriën weer kleiner maakt. Het is een ingewikkeld geheel.” Het gebruik van niet-poreuze deeltjes of membranen is geen oplossing, omdat hun actieve oppervlak en daarmee hun bindingscapaciteit te klein is.

‘Een radiaal bed kun je in de hoogte opschalen’

Opschaling

Om de vloeistofstroom van boven naar beneden over de affiniteitskolom te leiden, is een bepaalde druk nodig. Die beperkt de opschaal mogelijkheden. Besselink: “Afhankelijk van het soort harsdeeltje kun je maar een bepaalde bedhoogte realiseren. Daarna loopt de druk te hoog op en werkt het niet meer. Je kunt de kolom breder maken, maar dat worden gigantische pannenkoeken, de vloeistof-distributie over je bed wordt problematisch en ook het pakken van de kolom met deeltjes is lastig. Een radiaal bed kan daarvoor uitkomst bieden.”

Bij een radiaal bed wordt de vloeistof horizontaal van buiten naar binnen geleid (of van binnen naar buiten). “Daarbij kun je wel de hoogte in gaan bij opschalen, in plaats van de breedte, zonder de drukval te verhogen”, legt Besselink uit.

Het belangrijkste probleem blijkt echter de lage bindingscapaciteit. Besselink: “We ontdekten dat een groot deel van het ligand niet doet wat het moet doen, namelijk eiwit binden. Je kunt een massabalans maken: zoveel ligand heb ik erin gestopt en dan verwacht ik daar zoveel eiwit mee te binden. In werkelijkheid bleek veel minder eiwit te worden gebonden. De precieze oorzaak hebben we met onze methodes niet kunnen bepalen. Het kan zijn dat er liganden ondersteboven zitten, of dat liganden zelf op te veel plekken gebonden zitten en daardoor het eiwit niet meer kunnen binden. Misschien kan het runderalbumine er niet of slecht bij”, speculeert Besselink. In elk geval ziet ze hier nog grote verbetermogelijkheden.

Een grotere bindingscapaciteit van de liganden is cruciaal voor de economische haalbaarheid van het proces, verwacht Besselink. “Als je een grotere capaciteit kunt halen, heb je ook minder hars nodig, je buffervolumes worden minder groot en je apparatuur wordt kleiner. Het heeft dus veel impact.”

• ANJA JANSSEN •

Ir. A. Janssen is freelance journaliste



professionalsinfood

werving • selectie • interim-management • detachering

Professionals in Food heeft, met een ruim bestand levensmiddelentechnologen op HBO- en WO-niveau, het vermogen om snel en doeltreffend te voorzien in de vaste of flexibele behoefte van opdrachtgevers.

Ruime ervaring in de levensmiddelensector en kennis van het kwaliteits- en productontwikkelingsproces. Dit typeert Professionals in Food!

Met een landelijke dekkinggraad zorgen we er voor dat organisaties in de levensmiddelensector een partner hebben in flexibele inzet en vaste bemiddeling van kwaliteitsmanagers en productontwikkelaars.

“ Vooral in drukke periodes, bijvoorbeeld voor een audit of bij het wegvallen van een functionaris merken we dat onze inzet toegevoegde waarde oplevert. Onze professionals zijn snel inzetbaar en kunnen worden ingezet om zo tijdelijk ondersteuning te bieden aan een afdeling kwaliteit- of productontwikkeling. Zo kunnen we onze klanten precies die inzet bieden die ze nodig hebben. ”

Maxime Quax, senior consultant

Onze opdrachtgever, Bureau voor Kwaliteitszorg, is gespecialiseerd in het beheersen van kwaliteit en voedselveiligheid in de levensmiddelenindustrie. Met een team van ervaren levensmiddelentechnologen en vestigingen in Bodegraven, Zwolle en St. Michielsgestel, zijn zij uitermate succesvol in het uitvoeren van projecten, trainingen, microbiologisch onderzoek, audits en inspecties.

Voor de volgende regio's is Bureau voor Kwaliteitszorg op zoek naar uitbreiding:

- West Nederland
- Midden Nederland
- Oost Nederland (regio Zwolle)

ERVAREN KWALITEITSMANAGERS (24-40 UUR)

Je functie en verantwoordelijkheden

- Je bent dagelijks op pad naar verschillende klanten in jouw regio en implementeert, onderhoudt, verbetert en structureert daar projectmatig bedrijfsprocessen
- Dit doe je op basis van procesbeheerssystemen zoals BRC, HACCP, IFS en ISO 22000
- Samen met de klant bepaal je kwaliteits- en voedselveiligheidsdoelstellingen en brengt deze (zelf en/of samen met de klant) ten uitvoer
- Je treedt op als projectmanager bij specifieke uitdagende projecten en opdrachten op het gebied van kwaliteit en voedselveiligheid

Je profiel

- Afgeronde HBO-/WO-opleiding op het gebied van levensmiddelentechnologie
- Minimaal 5 jaar werkervaring met het opzetten en implementeren van kwaliteitssystemen binnen de levensmiddelenindustrie
- Je bent in staat theorie om te zetten naar de praktijk en je kunt dit duidelijk overbrengen op andere mensen
- Je bent accuraat, doortastend, zelfverzekerd en representatief
- Je kunt goed zelfstandig en resultaatgericht werken
- Uiteraard beschik je over goede mondelinge en schriftelijke communicatieve vaardigheden

WWW.PROFESSIONALSINFOOD.NL

FLEXIBELE QA INZET EN BEMIDDELING

Door onze ruime kennis van de sector en het vakgebied vindt de professional snel aansluiting bij de uitdagingen van een afdeling. Zeker nu kwaliteitseisen voortdurend worden aangescherpt, is het flexibel inzetten van onze professionals een kostenefficiënte investering. Deze flexibele inzet is al vanaf 8 uur per week beschikbaar!

We willen met opdrachtgevers en kandidaten een langdurige relatie opbouwen. Niet voor niets is het bureau preferred supplier voor diverse toonaangevende bedrijven in de levensmiddelensector. Door zo laagdrempelig mogelijk te zijn, kennen we de uitdagingen voor bedrijven en kandidaten. Hierdoor zijn we in staat om samen met klanten tot passende oplossingen te komen.



professionalsinfood

werving • selectie • interim-management • detachering

SOLLICITEREN

Heb je interesse in deze functie?

Stuur dan je motivatie en CV naar Maxime Quax

m.quax@professionalsinfood.nl

of bel voor meer informatie

073 - 553 06 77

Professionals in Food is de partner in het bieden van flexibele inzet en bemiddeling van kwaliteitsmanagers en productontwikkelaars in de levensmiddelenindustrie.

