

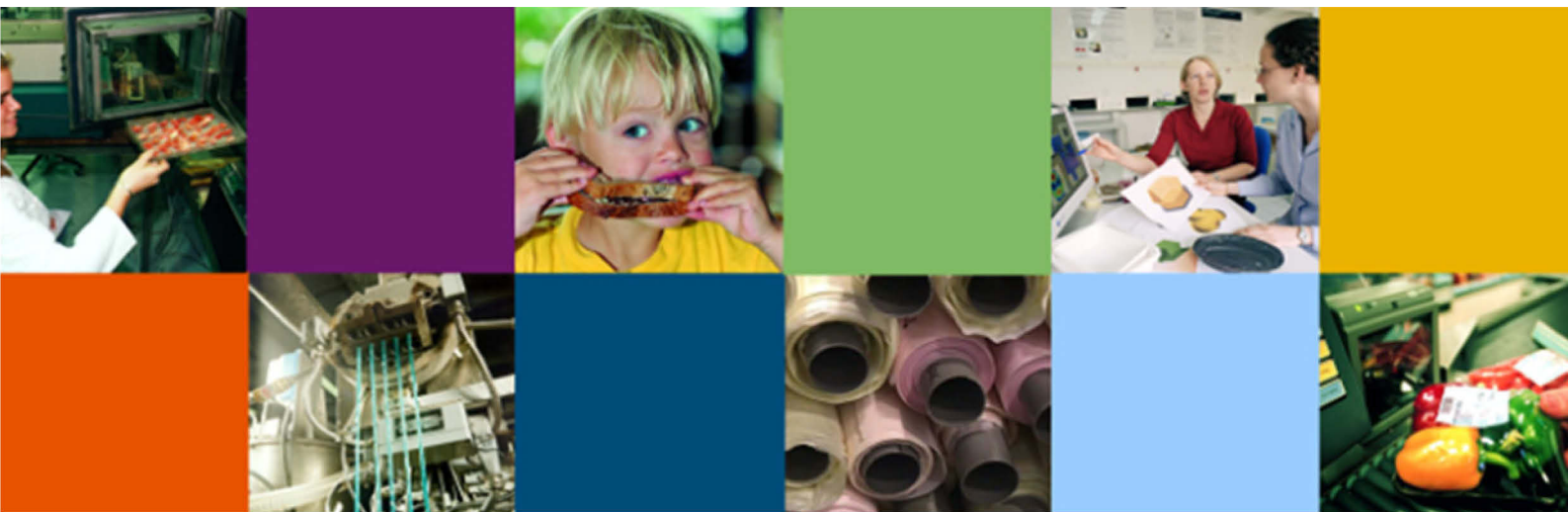


# Biobased Economy: de Potentie van Eiwitten voor Technische Toepassingen

Wim Mulder  
Ben van den Broek  
Johan Sanders  
Marieke Bruins  
Elinor Scott

Maart 2013

1311



## Colofon

Titel	Biobased economy: de Potentie van Eiwitten voor Technische Toepassingen
Auteur(s)	Wim Mulder, Ben van de Broek, Johan Sanders, Marieke Bruins, Elinor Scott
Nummer	1311
ISBN-nummer	
Publicatiedatum	Maart 2013
Vertrouwelijk	Nee
OPD-code	
Goedgekeurd door	Harriëtte Bos

Wageningen UR Food & Biobased Research  
P.O. Box 17  
NL-6700 AA Wageningen  
Tel: +31 (0)317 480 084  
E-mail: [info.fbr@wur.nl](mailto:info.fbr@wur.nl)  
Internet: [www.wur.nl](http://www.wur.nl)

© Wageningen UR Food & Biobased Research, instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, hetzij mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever. De uitgever aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele fouten of onvolkomenheden.

*All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system of any nature, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publisher. The publisher does not accept any liability for inaccuracies in this report.*

# Inhoudsopgave

<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Visie op de potentie van eiwitten in technische toepassingen</b>	<b>6</b>
2.1	Huidig gebruik eiwitten in voeding en technische toepassingen	6
2.2	Is er voldoende eiwit?	7
2.3	Nieuwe eiwitbronnen	9
2.4	Zuivering en isolatie van eiwitten (scheidingstechnologie)	13
2.5	Chemische modificaties	14
2.6	Toekomstige industriële toepassingen en onderzoek	15
2.7	“Netwerk” technische toepassingen eiwitten	17
2.8	Marktpotentie	18
2.9	Conclusies	19
2.10	Aanbevelingen	19
<b>3</b>	<b>Eiwitbronnen</b>	<b>20</b>
3.1	Traditionele markten	20
3.1.1	Gluten en tarwe-eiwitten	20
3.1.2	Soja-eiwitten	21
3.1.3	Aardappeleiwit	21
3.1.4	Melkeiwitten	22
3.1.5	Erwteneiwitten (peulvruchten)	22
3.1.6	Collageen en gelatine	23
3.1.7	Keratine	23
3.1.8	Maiseiwitten	24
3.1.9	Overige eiwitten	24
3.2	Opkomende markten	25
3.2.1	Micro-algeneiwitten	25
3.2.2	Zeeieren- of macro-algeneiwitten	25
3.2.3	Eiwitten uit planten en bladeren	25
3.2.4	Eendenkroos	26
3.2.5	Insecten eiwit	26
3.2.6	Eiwitten in residuen van de bio-brandstoffen industrie	26
3.2.7	Overige reststromen	26
<b>4</b>	<b>Isolatie en extractie van eiwitten en aminozuren uit reststromen</b>	<b>27</b>
4.1	Eiwitextractie	27
4.1.1	Eiwitten in oliehoudende zaden	28
4.1.2	Eiwitten uit bladeren	29
4.1.3	Algeneiwit	29
4.1.4	Eiwitten uit bioethanolproductie	29

4.2	Eiwithydrolyse	29
4.3	Isolatie van gewenste aminozuren	30
4.3.1	Selectieve precipitatie van aminozuren	31
4.3.2	Chromatografie	31
4.3.3	Electrodialyse	32
4.3.4	Reactieve extractie	32
4.4	Specifieke oplossingen: procesvoorbeelden	32
4.4.1	Microbiologische coproductie van cyanophicine en ethanol uit biomassa	32
4.4.2	GMO (voor bijvoorbeeld polylysine, methionine)	33
4.4.3	Toekomstperspectief	33
<b>5</b>	<b>Aminozuren</b>	<b>35</b>
5.1	De productie van chemische stoffen afgeleid van aminozuren	35
5.2	De impact van het benutten van aminozuren als chemische feedstock	35
5.3	Productieprocessen	37
5.4	Chemische omzettingen van aminozuren	40
5.5	Perspectieven voor de productie van chemische stoffen uit aminozuren	45
<b>6</b>	<b>Technische toepassingen en chemische modificaties van eiwitten</b>	<b>47</b>
6.1	Toepassingen	47
6.2	Chemische modificaties	49
<b>7</b>	<b>Interviews met Rijksuniversiteit Groningen, NIZO en VION</b>	<b>51</b>

# 1 Inleiding

Eiwitten worden met name gebruikt in humane voeding en diervoeding. Echter een relatief klein deel van de geproduceerde eiwitten worden gebruikt in zogenaamde technische toepassingen zoals lijmen, shampoos en coatings. Naast het onderscheid tussen toepassingen in food of non-food domeinen moet ook rekening gehouden met de integrale verwaardiging of het duurzaam toepassen van biomassa grondstoffen<sup>1</sup>. In deze deskstudie worden de potentie en de mogelijkheden van eiwitten in de biobased economy in de technische sector uiteengezet. Er wordt onder andere ingegaan op de vraag of er voldoende eiwit beschikbaar is voor toepassingen naast die voor humane voeding en diervoeding. Verder is bekeken welke eiwitten, maar ook aminozuren (hoofdstuk 5), in technische toepassingen gebruikt kunnen worden (hoofdstuk 6). Er is een inventarisatie gemaakt van de huidige beschikbare eiwitbronnen, maar ook van nieuwe opkomende eiwitbronnen (hoofdstuk 3). Naast de gewenste functionele eigenschappen van eiwitten speelt ook de prijs van eiwitten een belangrijke rol voor deze toepassingen. Door de opkomst van nieuwe eiwitrijke stromen die significante hoeveelheden eiwitten bevatten komen wellicht in de toekomst eiwitten beschikbaar die goedkoper zijn dan de huidig geproduceerde eiwitten. Cruciaal hierbij zal zijn of er geschikte en rendabele scheidingstechnologie beschikbaar zal komen (hoofdstuk 4). In hoofdstuk 2 wordt de visie aangegeven wat de mogelijkheden zijn voor het gebruik van eiwitten in technische toepassingen en hoe men dit verder kan stimuleren. Deze visie is tot stand gekomen door gebruik te maken van de expertise en ervaring die bij Wageningen UR aanwezig is, en hierin is eveneens de visie van de Rijksuniversiteit Groningen, en het NIZO opgenomen evenals van het VION (hoofdstuk 7), een zeer grote industriële speler op het gebied van de vleesverwerking, die mogelijkheden bestudeert van het opwaarderen van de diverse reststromen, die met name olie en eiwit bevatten.

<sup>1</sup>(<http://www.wageningenur.nl/nl/show/Kansen-voor-biomassa-Verbinden-van-Food-en-NonFood-1.htm>).

## 2 Visie op de potentie van eiwitten in technische toepassingen

### 2.1 Huidig gebruik eiwitten in voeding en technische toepassingen

Momenteel staan eiwitten sterk in de belangstelling. Er zijn de afgelopen tijd verschillende (desk) studies uitgevoerd naar de beschikbaarheid van diverse eiwitbronnen en hun toepasbaarheid in voeding voor mens en dier. Een van de belangrijke vraagstukken die behandeld wordt binnen de voedingssector is hoe dierlijke eiwitten kunnen worden vervangen door plantaardige eiwitten. Eiwitten hebben in voeding en veevoeder met name nutritionele waarde (essentiële aminozuren), maar in voeding worden geïsoleerde eiwitten ook toegevoegd vanwege functionele eigenschappen zoals emulgeerbaarheid of de capaciteit om een schuim te vormen. Wereldwijd worden de hoeveelheden zuivere eiwitten in voeding gebruikt zoals weergegeven in tabel 1.

**Tabel 1.** Wereldwijd gebruik van zuivere eiwitten in voeding

Type eiwit	Hoeveelheid [kton]
Ei albuminen	50
Wei-eiwitten (WPI/WPC) <sup>1</sup>	80
Soja-eiwit	210
Soja concentraat	360
Caseïne (caseïnaat)	250
Gelatine	110
Tarwegluten	430

<sup>1</sup> Wei-eiwit isolaat (WPI) en wei-eiwit concentraat (WPC)

Met name vanwege de functionele eigenschappen die eiwitten bezitten, zijn ze eveneens een interessante grondstof om ingezet te worden als biopolymeer in tal van industriële toepassingen zoals bioplastics, als binder in coatingsystemen, als lijm of als oppervlakte actieve stof (surfactant). In veel van die genoemde industriële toepassingen worden nu aardolie-gebaseerde polymeren gebruikt. Vanuit de visie dat producten op een duurzamere manier moeten worden geproduceerd, waarbij het gebruik van natuurlijke grondstoffen een belangrijke rol speelt, is de vraag in de onderhavige studie wat de kansen en mogelijkheden zijn van eiwitten in de biobased economy voor technische toepassingen. In het verleden is reeds onderzoek gedaan naar de mogelijkheden om industrieel geproduceerde eiwitten in te zetten in technische toepassingen. Hierbij werd over het algemeen uitgegaan van zuivere eiwitten, zoals tarwegluten, soja-eiwit, caseïne en gelatine. In een aantal gevallen worden eiwitten daadwerkelijk in technische toepassingen gebruikt. Het is lastig om een goed beeld te krijgen van de daadwerkelijk gebruikte hoeveelheden eiwitten in technische toepassingen. In tabel 2 is een schatting gemaakt van een aantal eindtoepassingen die eiwitten bevatten op basis van gegevens uit de Eurostat database of op basis van marktgegevens verkregen via internet of uit bilaterale projecten. De gegevens in tabel 2 zijn zeker niet compleet. Onder andere het gebruik van soja in lijmen en surfactants is niet

opgenomen door ontbrekende gegevens. De tabel laat echter duidelijk zien dat het aandeel van eiwitten in technische toepassingen nog beperkt is, hetgeen voor een deel veroorzaakt wordt door de relatief hoge kosten van eiwitten.

**Tabel 2.** *Geschatte hoeveelheden eiwitten in niet-voedsel toepassingen (gedeeltelijk volgens Eurostat).*

<b>Product</b>	<b>Opmerking</b>	<b>Hoeveelheid [kton]</b>
Tarwegluten	Circa 10% van hoeveelheid tarwegluten in o.a farmaceutische pillen, lijmen en surfactants	45
Peptonen en derivaten, andere eiwitsubstanties en derivaten, huidpoeder, keratine		34
Caseïnelijmen		40
Gelatine		40
Beenderlijm	Uitgezonderd caseïnelijm	15

## 2.2 Is er voldoende eiwit?

De vraag die in deze studie wordt gesteld is wat de potentie en mogelijkheden zijn van eiwitten in technische toepassingen. Eiwitten zijn hierbij in te delen naar de verschillende toepassingen waarin ze worden gebruikt:

- Nutrionele waarde in voeding;
- Functionele waarde in voeding (emulgeerder, schuimvormer);
- Diervoeding (verder op te splitsen voor rund en varken);
- Technische toepassing (verder op te splitsen voor o.a. cosmetica, lijmen etc.).

Een belangrijk aandachtspunt bij de vraag of er voldoende eiwit is voor humane voeding en voor diervoeder, is om te beseffen over welke toepassing het gaat en van welk type eiwit er eventueel een tekort is. Dit aspect wordt in deze studie niet in detail uitgewerkt en dient voor vervolgstudies. In tabel 3 is de situatie voor Europa weergegeven, waarbij de belangrijkste

eiwithoudende gewassen staan vermeld. Gras, een belangrijke bron die veel eiwit bevat en waarvan veel beschikbaar is, is hier niet in opgenomen.

**Tabel 3.** *Productie van eiwitrijke gewassen in Europa en wereldwijd (FAO STAT 2009)*

<b>Gewas</b>	<b>Europa [Mton]</b>	<b>Wereld [Mton]</b>	<b>Eiwit (wereld) [Mton]</b>
Mais	84	819	82
Tarwe	228	686	69
Aardappel	124	330	33
Sojaboon	3,4	223	75
Gerst	96	152	15
Koolzaad	25	32	7
Zonnebloemzaad	21	62	12
Erwten	1,2	16	5

Uitgaande van 50 g eiwit per dag die een mens nodig heeft (norm opgesteld door Voedingscentrum: 0,8 g eiwit/dag.kg lichaamsgewicht), betekent dit dat bij een wereldbevolking van 7 miljard mensen wereldwijd 122 miljoen ton eiwit per jaar nodig is. Indien de hoeveelheden eiwit in tabel 3 worden gesommeerd, wordt circa 300 miljoen ton verkregen. Er kan echter berekend worden dat wereldwijd zo'n 500-700 miljoen eiwit daadwerkelijk geproduceerd wordt. Dat zou betekenen dat er ruimschoots voldoende eiwit is. Echter, bij deze berekening is de consumptie van vlees buiten beschouwing gelaten. Voor de productie van 1 gram vleeseiwit is ongeveer 5 gram plantaardig eiwit nodig. Indien de mens alleen eiwit zou consumeren via vlees zou de wereldproductie voor 7 miljard mensen dus net voldoende kunnen zijn. Echter, bij de verwachte wereldbevolking van 9,3 miljard in 2050, zou dit zeker niet meer genoeg zijn. Aangezien eiwitconsumptie zeker niet volledig is gebaseerd op vleesconsumptie, kan op basis van deze getallen geconcludeerd worden dat er op zich voldoende eiwit wereldwijd beschikbaar is voor humane voeding en diervoeding. Echter, ondanks dat we in de wereld veel meer eiwit door middel van de landbouw produceren dan minimaal noodzakelijk is voor de humane consumptie, spreken we vaak over aanzienlijke tekorten in de eiwitvoorziening ten behoeve van de humane voeding. De oorzaken van tekorten zijn:

1. Eiwitten blijven achter op het veld (voorbeeld bietenloof, suikerrietloof, sojastengels) en verliezen daardoor hun economische waarde en hebben vaak nauwelijks stikstofbestedingswaarde;
2. Eiwithoudende grondstoffen worden in toepassingen gebruikt waarbij eiwit verloren gaat. Bijvoorbeeld de productie van biogas op basis van mais en elektriciteit op basis van tarwegries. Het gaat hierbij vaak om eiwitten met een lage (varkens)voederwaarde;
3. Categorie I slachtafval bevat doorgaans hoogwaardig eiwit, maar vanwege hygiënische redenen mag deze categorie niet worden benut als diervoeder;



4. Inefficiënt gebruik van eiwitten in rundveehouderij. Graseiwit wordt in grote overmaat ingezet als rundveevoer. Daardoor komt veel van de aangeboden eiwitten als ammoniak in de mest terecht. Daarnaast zou door bioraffinage de eiwitten in gras geïsoleerd kunnen worden en geschikt gemaakt worden voor consumptie door varkens;
5. Inefficiënt gebruik van eiwitten in goedkope agroreststromen zoals zonnebloemschroot, raapschroot en in zekere mate sojaschroot en tegenwoordig ook “dried distillers grain with solubles” (DDGS) uit de bioethanol industrie. Het meeste schroot wordt gebruikt als diervoeding. Een belangrijk deel zou vervangen kunnen worden door dieren de essentiële aminozuren te geven. Dus door betere benutting van de eiwitten in deze agroreststromen kan meer eiwit beschikbaar komen voor andere toepassingen;
6. Eiwitten worden vaak niet op de goede manier gebruikt. Soms worden dure eiwithoudende materialen ingezet in bijvoorbeeld diervoeding waar goedkopere bronnen volstaan. De afstemming van het gebruik van eiwitten in relatie tot hun toepassing is beperkt waardoor eiwitten te weinig waarde toegekend krijgen;
7. Voedselverliezen. Circa 30 % van het eten dat beschikbaar is wordt niet geconsumeerd.

Met inachtneming van bovenstaande punten zal de komende decennia zeker de efficiëntie van het gebruik van eiwitten verbeterd moeten gaan worden. Als bijvoorbeeld, in plaats van sojaproducten in diervoeder te stoppen, op een slimmere wijze veevoeder wordt samengesteld, kunnen enorme arealen aan landbouwgrond vrijkomen. Dit betekent dat op zich voldoende eiwit in de wereld beschikbaar zou moeten zijn om naast het gebruik in humane voeding en diervoeding, de toepassing van eiwitten, als duurzame functionele grondstof, in technische toepassingen uit te breiden.

### 2.3 Nieuwe eiwitbronnen

Ondanks het feit dat er, uitgaande van de traditionele eiwithoudende gewassen, voldoende eiwit voor mens en dier beschikbaar zou moeten zijn, is men op zoek naar allerlei nieuwe eiwitbronnen of om agrostromen te verwaarden door deze ook als eiwitbron in te zetten. De belangrijkste eiwitbronnen, die prima geschikt zouden zijn als grondstof voor veevoeder zijn:

- Algen
- Zeewier
- Eendenkroos
- Gras
- Insecten

Algen staan met name in de aandacht vanwege de mogelijkheden om er olie uit te halen. Algen zijn ook interessant omdat ze grote hoeveelheden CO<sub>2</sub> opnemen en ze zijn een interessante bron voor eiwitten. Het gebruik van eendenkroos is in een pilot bekeken, maar met name de droging, de productie en de kwaliteit moet nog verder bestudeerd worden. Zeewier groeit van de stoffen die in zee aanwezig zijn en heeft een gunstige aminozuurpatroon (voeding). Gras is (zeker in

Nederland) ruimschoots voorradig en door het uitpersen en inzetten van de eiwitten zou beduidend minder soja te hoeven worden geïmporteerd. Insecten bevatten een hoog gehalte aan eiwit.

Naast bovengenoemde eiwitbronnen worden ook eiwithoudende biomassa's ingezet bij de productie van olie, biodiesel en bioethanol (tabel 4). De belangrijkste reststromen die hierbij vrijkomen zijn:

- Perskoeken van soja, koolzaad en zonnebloem;
- DDGS (reststroom van ethanolproductie vanuit tarwe of mais).

**Tabel 4.** Productie van perskoeken

Gewas	Wereldproductie [Mton]	EU productie [Mton]
Soja	15,9	11,5
Zonnebloem	12,3	2,6
Koolzaad	27,8	9,9

De perskoeken van oliezaden zijn op zich geen nieuwe eiwitbronnen. Echter, het eiwit kan, zoals eerder is aangegeven, wel veel beter benut en ingezet worden. Door zuivering en isolatie kan de waarde van het eiwit aanzienlijk toenemen. Door, vanuit het oogpunt van bioraffinage, naar deze eiwithoudende stromen te kijken, krijgen deze bronnen “nieuwe” perspectieven.

Als derde kunnen (complexe) mengsels genoemd worden waarin een belangrijke hoeveelheid eiwit aanwezig is dat op dit moment nauwelijks wordt benut :

- GFT
- Tarwegries
- Bermgras
- Reststromen in de vleesverwerkende industrie

Met name de vleesverwerkende industrie produceert grote stromen waarin veel eiwit zit. De mogelijkheden om deze te benutten worden grotendeels bepaald door de categorie (zie ook hoofdstuk 9) van de reststroom. Categorie I bevat materiaal waarin prionen (Creutzfeldt-Jacob ziekte) kunnen zitten. De eiwitten uit categorie I reststromen zijn derhalve interessant om te bekijken wat hun waarde in de technische sector kan zijn. Categorie II en III reststromen kunnen in principe voor diervoeding worden gebruikt. De eiwitten uit categorie III+ kunnen echter ook voor voeding worden ingezet.

Zoals reeds eerder is aangegeven, is er ruimte voor technische toepassingen uitgaande van traditionele eiwitbronnen zoals tarwe, soja en melkeiwitten. Aangezien de prijs van deze grondstoffen over het algemeen te hoog is om in technische toepassingen te kunnen gebruiken,

ligt er een grotere kans voor het toepassen van eiwit uit de nieuwe eiwitbronnen en de reststromen van de olie-, biodiesel- en ethanolproductie zoals hierboven genoemd. Voor een overzicht van de prijzen van commercieel verkrijgbare eiwitpreparaten en eiwithoudende materialen, zie respectievelijk tabel 5 en 6. Een sterke motivatie voor het bestuderen van de mogelijkheden van technische toepassingen op basis van de “nieuwe” eiwitbronnen is dat de eiwitten die in deze producten zitten op dit moment niet in voeding gebruikt mogen worden. Vaak wordt aangegeven dat bijvoorbeeld eiwitten uit microalgen een goed perspectief hebben in humane voeding. Op dit moment laat de wetgeving dit echter niet toe. Mogelijkerwijs gaat dat in de toekomst veranderen, maar dat zal veel geld en tijd gaan kosten. Om, zoals in het geval van microalgen, de productie van olie rendabel te krijgen, zal ook de belangrijkste component naast olie, het eiwit, benut moeten worden. Het bestuderen van de mogelijkheden van eiwitten in technische toepassingen is derhalve een interessante optie.

**Tabel 5.** *Prijzen van commercieel verkrijgbare eiwit(preparaten) in 2011*

<b>Eiwit</b>	<b>Prijs [€/kg]</b>
Sojameel (40% eiwit)	0,8
Sojaconcentraat (70% eiwit)	2
Soja-isolaat (>90% eiwit)	3
Erwtenconcentraat	2
Erwtenisolaat	3
Lupine concentraat droog (55% eiwit)	2
Lupine concentraat nat <sup>1</sup> (55% eiwit)	4
Eiwitpoeder	6 - 8
Eigeelpoeder	4,5 - 6
Gelatine (lage kwaliteit)	2
Gelatine (hoge kwaliteit)	4 - 6
Collageen	4 - 6
Plasmapoeder	3,5 - 4,5
Hemoglobinepoeder	0,7 - 1
Melkpoeder	2,2
Wei-eiwit concentraat (30% eiwit)	1,6
Wei-eiwit concentraat (35% eiwit)	2,0
Wei-eiwit concentraat (80% eiwit)	5,5
Caseïne	6,3
Caseïnaat (oplosbaar)	6,5
Aardappeleiwit (veevoeder)	0,8
Aardappeleiwit (voedsel)	>> 3 <sup>2</sup>
Tarwegluten	1,2
Maisglutenvoer	0,12
Zeïne	25

<sup>1</sup> Concentraat verkregen door oplosmiddelextractie, eiwit met goede functionele eigenschappen.

<sup>2</sup> De prijs van aardappeleiwit voor humane voeding werd aangegeven als veel hoger dan de prijs voor soja-isolaat.

**Tabel 6.** Prijzen van eiwithoudende materialen in 2011.

Eiwit	Prijs [€/kg]
Sojaboon	0,41
Soja perskoek	0,30
Koolzaad	0,30
Koolzaad perskoek	0,15
Mais	0,12
Maisgluten (dier)	0,12
Zonnebloem	0,33
Zonnebloem perskoek	0,14
Brood tarwe	0,10
Durum tarwe	0,14
Gerst	0,09
Luzerne	0,12
Bietenpulp	0,09
Tarwestro	0,04
DDG (tarwe)	0,15
Vismeel	0,14

#### **2.4 Zuivering en isolatie van eiwitten (scheidingstechnologie)**

Om de waarde van eiwitten in (complexe) mengsels te verhogen, is het noodzakelijk om de eiwitten te zuiveren. Dit is het cruciale aspect van de verwaarding en bioraffinage van biomassastromen. De extractie en isolatie van de traditioneel geproduceerde industriële eiwitten is relatief eenvoudig. Doorgaans gebeurt dit door middel van een extractie in alkalisch/zuur water, gevolgd door precipitatie en droging van het product. Tot op heden heeft onderzoek naar de isolatie van eiwitten uit de nieuwe eiwitbronnen laten zien dat een dergelijke isolatieroute vaak niet of onvoldoende werkt. Dit kan de volgende redenen hebben:

- Het eiwit is sterk geassocieerd met andere componenten zoals fenolen of vezels;
- Het eiwit is sterk gedenameerd waardoor het moeilijk in oplossing te krijgen is;
- De celwanden van bijvoorbeeld microalgen of zeewieren zijn lastig te behandelen om het mogelijk te maken om het eiwit vrij te isoleren;
- De gebruikte isolatietechnieken zijn slechts geschikt voor traditionele gewassen en analytische toepassingen.

Met name op het gebied van ontsluiting, extractie- en isolatiemethoden moet nieuwe technologie ontwikkeld worden. In dit kader is het van belang om het bioraffinageprincipe te volgen, waarbij de meest belangrijke componenten die in een gewas aanwezig zijn worden benut. De productie van olie uit zaden, zoals zonnebloem, soja en koolzaad, is na de tweede wereldoorlog volledig

geoptimaliseerd naar olieopbrengsten. Dat daarbij methoden worden gebruikt die de functionaliteit van het eiwit voor een groot deel vernietigen was niet van belang. Op dit moment wordt onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheden om olie uit microalgen te winnen. Het is daarom verstandig om naar isolatiemethoden te kijken die eveneens geschikt zijn om het eiwit te isoleren met behoud van functionaliteit. Momenteel wordt gewerkt aan verschillende methoden om eiwitten te isoleren. Echter, op dit moment wordt nog geen enkele van de nieuwe methoden op commerciële schaal toegepast. De zoektocht naar geschikte isolatietechnieken dient hand in hand te gaan met fundamenteel onderzoek naar de onderlinge interacties tussen de verschillende componenten in biomassa. In voedselsystemen zijn interacties redelijk goed beschreven, maar voor biomassa zelf is dit nog nauwelijks bestudeerd. Indien inzicht wordt verkregen in die verschillende interacties, kan dit gebruikt worden om geschikte isolatiemethoden te definiëren. Het genereren van meerwaarde van de aanwezige eiwitten in de biomassastromen door met name de isolatiemogelijkheden sterk te verbeteren, is niet alleen van belang voor technische toepassingen, maar ook voor toepassingen in de diervoeding en humane voeding.

## 2.5 Chemische modificaties

De eigenschappen van eiwitten zijn afhankelijk van zowel de eiwitbron (dit is de aminozuursamenstelling) alsmede de structurele parameters (globulair etc). De eigenschappen van eiwitten kunnen worden aangepast door middel van enzymatische en chemische modificaties. Door de grote verscheidenheid van reactieve groepen in eiwitten, dit in tegenstelling tot bijvoorbeeld zetmeel, zijn er vele mogelijkheden en handvatten voor chemische reacties. Voorbeelden hiervan zijn:

- Hydrofielering: inbouwen van polaire groepen (zoals  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{PO}_2^{2-}$ ,  $-\text{SO}_3^{2-}$ );
- Hydrofobering: inbouwen van apolaire groepen (zoals alkyl of aromatische groepen);
- Crosslinking: covalente koppeling tussen eiwitmoleculen.

Voor een aantal eindtoepassingen is het gebruik van chemische modificaties belangrijk. Bijvoorbeeld de ontwikkeling van surfactants op basis van peptiden, behelst over het algemeen de covalente koppeling van vetzuureenheden aan de peptideketen. Eveneens kunnen ook meer hydrofiele eenheden zoals suikereenheden aan een eiwit worden gekoppeld.

In algemene zin kan worden geconcludeerd dat chemische modificaties voor eiwitten een goede methode is om de eigenschappen aan te passen. Door het beschikbaar komen van goedkopere eiwitbronnen zullen er ook meer vrijheidsgraden komen om dit op een economisch en commercieel interessante manier uit te voeren.

## 2.6 Toekomstige industriële toepassingen en onderzoek

In het verleden is met name onderzoek verricht aan dure industrieel geproduceerde eiwitten. Hierbij werden de mogelijkheden van de eiwitten als *biopolymeer* bestudeerd. Het betrof toepassingen als:

- Bioplastic
- Lijm
- Coating
- Surfactant

Het gebruik van eiwitten als *biopolymeer* is nog steeds mogelijk. Hierbij kan de vergelijking met bioplastics op basis van zetmeel worden gemaakt. Die plastics worden al jarenlang in bepaalde niche markten gebruikt. Waarschijnlijk zal die markt er ook wel blijven en wellicht nog verder kunnen uitbreiden. Echter, om vervanging van hoogwaardige, op aardolie-gebaseerde polymeren mogelijk te maken, ligt het meer voor de hand om uit te gaan van biobased monomeren (voorbeeld: melkzuur voor PLA). Door het opbouwen van een polymeer uit een monomeer kunnen de polymere eigenschappen, zoals treksterkte, beter worden ingesteld. Door uit te gaan van het biopolymeer (zetmeel of eiwitpolymeer) ben je afhankelijk van de intrinsieke eigenschappen. Bijvoorbeeld, de watergevoeligheid van eiwitten beperkt de inzetbaarheid van eiwitten als plastic of coating. Sturing naar eigenschappen toe is beperkt mogelijk door middel van fysische (additieven) en chemische en enzymatische modificaties. Verder heeft het isolatieproces een duidelijk effect op de intrinsieke (functionele) eigenschappen omdat bijvoorbeeld denaturatie van het eiwit is opgetreden. Bij de bestudering van de mogelijkheden van reststromen, die eiwit bevatten en reeds een processing hebben ondergaan, is dit een belangrijk aspect.

Een andere mogelijkheid om eiwitten in te zetten in technische toepassingen is niet zozeer door gebruik te maken van de polymere eigenschappen van het “intacte” eiwit, maar door het gebruik van (gedeeltelijk) afgebroken eiwitstructuren. Bij het volledig afbreken van eiwitten ontstaan aminozuren, de chemische bouwstenen van een eiwit. Bij het gedeeltelijk afbreken ontstaan zowel aminozuren als peptidestructuren (keten met meerdere aminozuren). Bij het gebruik van aminozuren en peptiden is het minder van belang onder welke omstandigheden een isolatie heeft plaatsgevonden. Daarom is het meer voor de hand liggend dat een groei verwacht kan worden in technische toepassingen waarbij niet zo zeer de polymere eigenschappen van een eiwit worden aangesproken, maar de eigenschappen van de basiseenheden van eiwitten. Aminozuren kunnen omgezet worden in tal van chemicaliën en gedeeltelijk gehydrolyseerde eiwitten, peptiden, bezitten specifieke oppervlakte actieve eigenschappen (amphipatisch: zowel hydrofiele als hydrofobe delen) en zijn daarom geschikt als bijvoorbeeld surfactant.

Aminozuren zijn interessante bouwstenen voor de chemische industrie. Verreweg het merendeel van de huidige chemicaliën is afgeleid van eenvoudige structuren (zoals etheen en propaan) uit

het kraken van olie. Dat betekent dat voor gefunctionaliseerde chemicaliën bijvoorbeeld stikstof en zuurstofatomen moeten worden ingebouwd. Amino-zuren bevatten vaak al deze atomen die bovendien al op de goede plaats zitten. Aangezien twee-derde van de energie in het conversieproces zit, is het daarom meer voor de hand liggend om gefunctionaliseerde chemicaliën te maken vanuit amino-zuren. Berekeningen laten zien dat in veel gevallen dit een aanzienlijke energiewinst oplevert en een enorme besparing op kapitaalkosten. Op laboratoriumschaal is reeds aangetoond dat verschillende chemische structuren gemaakt kunnen worden vanuit amino-zuren en dat de processen goed scoren betreffende techno-economische analyses en LCA (Life cycle Analysis). De productie van een veelgebruikt oplosmiddel, N-methylpyrrolidon (NMP), is een veelbelovende route. Echter, voor industrieel succes van de routes vanuit amino-zuren, is het noodzakelijk dat amino-zuren op efficiënte wijze met voldoende zuiverheid uit biomassa geïsoleerd kunnen worden. Verder zijn ontwikkelingen op het gebied van (heterogene) katalyse noodzakelijk om de benodigde chemische omzettingen prijsconcurrerend mogelijk te maken. In de toekomst zullen waarschijnlijk nieuwe allianties worden opgezet tussen enerzijds bedrijven die werken met eiwitrijke biomassa en anderzijds de chemische bedrijven voor de productie van chemicaliën.

Peptiden en ook amino-zuren zijn interessante stoffen voor de bereiding van surfactants. De surfactantmarkt is zeer groot en zeer divers. In veel (polymere) systemen worden oppervlakte actieve stoffen gebruikt om emulsies te kunnen maken of om de hechting van bijvoorbeeld een verf op een ondergrond te verbeteren. Surfactants op basis van eiwitstructuren worden reeds toegepast in cosmetische producten zoals crèmes en shampoos. Producten op basis van bijvoorbeeld gelatinehydrolysaten die gemodificeerd zijn met vetzuren worden op commerciële schaal vervaardigd. Verder bieden surfactants op basis van peptiden en/of amino-zuren bijvoorbeeld mogelijkheden om ingezet te worden als hulpmiddel bij het beschermen van allerlei gewassen (adjuvants) of als bio-flocculant.

In de coatingindustrie wordt een grote hoeveelheid polymeren, met name als bindmiddel, gebruikt. Er wordt onderzoek gedaan naar de mogelijkheden van het gebruik van diverse hernieuwbare grondstoffen. Onder andere binnen het Dutch Polymer Institute (DPI) wordt hieraan aandacht besteed. Eiwitfragmenten bezitten veel functionele groepen die gebruikt kunnen worden voor tal van chemische reacties. Daardoor zijn er kansen voor het gebruik van eiwitten in deze sector, al dan niet in combinatie met traditionele bindmiddelen zoals alkydharsen of polyurethanen.

“Nieuwe” eiwitbronnen, zoals aquatische biomassastromen, gras en perskoeken, bieden perspectief voor het gebruik in technische toepassingen. Veel van deze reststromen (gras en perskoeken) worden ingezet als diervoeding. De toegevoegde waarde van deze eiwitten kan worden verhoogd door de eiwitten in deze stromen te isoleren en voldoende te zuiveren voor technische toepassingen. Als voorbeeld kan genoemd worden de bioraffinage van de aquatische



biomassa zeewier en micro-algen. Op dit moment wordt in het geval van micro-algen met name onderzoek gedaan naar de productie en winning van olie. Om dit proces rendabel te maken, zal het nodig zijn het eiwit te benutten. Het is daarom van belang om vanuit een bioraffinage oogpunt te kijken naar de winning van de diverse aanwezige componenten. In het geval van “groene” bioraffinage (gras, micro-algen, bladmateriaal) is het van belang om specifiek naar de mogelijkheden van Rubisco te kijken. Dit is het meest voorkomend eiwit in deze grondstoffen aanwezig.

In bijna alle gevallen van de bioraffinage van eiwithoudende grondstoffen zal de isolatie-, scheidings- en zuiveringsaspecten een belangrijke rol spelen. Zoals reeds eerder aangegeven wordt er aan verschillende technieken onderzoek gedaan. Er zijn echter nog hordes te nemen om technieken te ontwikkelen die op commerciële en economische haalbare schaal uit te voeren zijn. Om dit onderzoek te ondersteunen is er meer fundamenteel begrip nodig van de diverse interacties die in (complexe) eiwithoudende materialen optreden. Belangrijke interacties in dit kader zijn de onderlinge interacties tussen bijvoorbeeld cellulose (vezels), zetmeel, eiwit, olie en polyfenolen.

## **2.7 “Netwerk” technische toepassingen eiwitten**

Op verschillende plekken in Nederland wordt gewerkt aan (nieuwe) eiwittoepassingen voor de toekomst, zowel voeding, diervoeding als technische toepassingen. Een van de activiteiten waaraan in dit kader wordt gewerkt is het opzetten van een eiwitcentrum (PROTIN of Protein Competence Centre, PCC). Een van de doelen is om eiwitonderzoek te bundelen en af te stemmen, en nieuwe technologieën te ontwikkelen gerelateerd aan specifieke onderzoeksvragen die in het bedrijfsleven spelen. Momenteel zijn er reeds zo’n 70 LOI’s met bedrijven die geïnteresseerd zijn in eiwitonderzoek. Het vertalen van de vragen uit het bedrijfsleven naar onderzoekstrajecten wordt gedaan aan de hand van intensieve discussies binnen het bedrijfsleven (technology pull). Een vergelijkbare aanpak is in het verleden gehanteerd voor het Carbohydrate Competence Centre (CCC). De verschillende spelers, met name bedrijven die hieraan geld kunnen verdienen moeten nog specifiek in kaart worden gebracht. Het eiwitplatform loopt in algemene zin nog duidelijk achter bij het suikerplatform.

Om de ideeën van andere onderzoeksinstituten, universiteiten en bedrijfsleven mee te nemen in de onderhavige studie zijn interviews gehouden met de Rijksuniversiteit Groningen (RUG), voedingscentrum NIZO en het grote vleesverwerkende bedrijf VION (hoofdstuk 7).

Uit de discussies kwam onder andere naar voren dat in de toekomst het accent van het eiwitonderzoek zal blijven liggen op hun toepassingen in voedselsystemen. Er zullen, echter, zeker mogelijkheden zijn voor eiwitten in technische toepassingen. Met name voor eiwitrijke reststromen liggen er kansen. Momenteel worden die met name ingezet in diervoeding, maar het toekomstige eiwitonderzoek zou zich onder andere moeten richten op het verhogen van de

toegevoegde waarde. Technische toepassingen zijn dan een interessante optie. Een belangrijk aspect bij de opwaardering van eiwithoudende biomassastromen is de extractie en isolatie van eiwit uit dergelijke, vaak complexe matrices. Echter, interacties in complexe systemen, zoals biomassa, zijn niet of nauwelijks bestudeerd. Op dit vlak is nog veel fundamentele kennis noodzakelijk en cruciaal voor het ontwikkelen van nieuwe (milde) ontsluitingstechnologieën. Verder is het belangrijk om strategieën te definiëren voor het benutten van eiwitten uit biomassastromen. In het geval van intacte eiwitten zijn andere toepassingen mogelijk dan in het geval een eiwit onder zware procesomstandigheden heeft gestaan en veel van zijn oorspronkelijke functionaliteit heeft verloren. Door de processing kunnen echter ook nieuwe verbindingen zijn ontstaan waarvan de (technische) waarde niet bekend is. Het ontwikkelen van geavanceerde biorefinery schema's voor eiwithoudende stromen, en hieraan gekoppeld het toepassen van eiwitten in technische toepassingen, vereist een goede afstemming tussen enerzijds geïnteresseerde bedrijven en anderzijds de kennisinstellingen.

## 2.8 Marktpotentie

In tabel 2 is een schatting gemaakt van de hoeveelheid eiwitten die nu in technische toepassingen worden gebruikt, circa 175 kton. De gegevens in de tabel zijn niet compleet, dus de totale hoeveelheid zal hoger zijn. Duidelijk is echter dat het om een beperkte hoeveelheid gaat en dat er goede mogelijkheden zijn voor uitbreiding van eiwitgebruik in deze technische sector. Zoals aangegeven in paragraaf 2.6 is de meeste groei te verwachten in de chemische sector en de surfactantmarkt.

Een van de mogelijkheden is het gebruik van eiwitstructuren in polyurethanen. Van polyurethanen worden flexibele of juist starre schuimen gemaakt, maar worden ook ingezet in onder andere lijmen, coatings en elastomeren. In 2002 was de totale markt van polyurethanen ruim 9 miljoen ton. Polyurethanen worden gemaakt uit polyolen en isocyanaten en momenteel is er veel aandacht voor om groene polyurethaansystemen te ontwikkelen.

Naast de chemische markt is ook de surfactantmarkt een sector waarin een goede potentie voor eiwitten is. In de industrie is men steeds meer op zoek naar mildere stoffen. Alleen al in de Verenigde Staten van Amerika is de totale markt voor surfactants al zo'n 5 miljard ton. De groeimogelijkheden voor aminozuur en eiwitgebaseerde surfactants is derhalve zeer groot

Een aantal bedrijven kunnen genoemd worden waar reeds een samenwerking mee is en die mogelijk geïnteresseerd zijn in eiwitonderzoek voor technische toepassingen:

- AVEBE
- VION
- FrieslandCampina
- Cosun
- DSM Resins

- Phillips (Drachten)
- Heiploeg
- Deutsche gelatine
- Koopmans
- Van Wijhe verven
- Ten Cate
- Teijin

Bedrijven die genoemd kunnen worden vanuit de chemiekant die in de toekomst geld kunnen verdienen aan chemicaliën op basis van eiwitstructuren/aminozuren zijn o.a.:

- Huntsman
- Sabic
- DOW
- DSM
- DuPont
- AKZO

## 2.9 Conclusies

- Er wordt voldoende eiwit geproduceerd voor technische toepassingen op basis van de wereldwijde productie van eiwitten en/of aminozuren.
- De industrie is leidend voor het formuleren van onderzoeksvragen en te ontwikkelen technologieën om het aandeel eiwitten in technische toepassingen te verhogen. Dit zal in een vervolgtraject uitgewerkt moeten worden. PROTIN speelt hierin een belangrijke rol.
- Om de waarde van eiwitten in veel mengsels te verhogen staat scheidingstechnologie centraal. Nieuwe, economisch haalbare processen dienen ontwikkeld te worden.
- Met name voor eiwitten en eiwithoudende mengsels die niet in voeding gebruikt mogen worden (zoals algeneiwit) liggen er duidelijke kansen in de technische sector.
- “Groene” chemicaliën en polymere structuren op basis van eiwitfragmenten en aminozuren hebben duidelijk perspectief voor de toekomst. Het ontwikkelen van economisch rendabele modificatiereactie en chemische omzettingen is hier noodzakelijk.

## 2.10 Aanbevelingen

Om fundamenteel en strategisch eiwitonderzoeksprogramma op te stellen is het van belang vragen vanuit de industrie helder te krijgen. In dit kader wordt het onderhavige plan ingebed in het actieplan voor het eiwitcentrum. Het vaststellen van de vragen en wensen in relatie tot vraagsturing vanuit de industrie kan geformuleerd worden door het organiseren van bijeenkomsten met bedrijven (naar voorbeeld van zgn. ‘Wientjens’ bijeenkomsten Carbohydrate Competence Center).

### 3 Eiwitbronnen

De meeste eiwitten worden al eeuwen gebruikt voor voeding en veevoeding. Eiwitten kunnen echter ook gebruikt worden in non-food toepassingen. In dit hoofdstuk wordt kort weergegeven welke eiwitbronnen er zijn en wat de belangrijkste eiwitten hierin aanwezig zijn. Er is een onderverdeling gemaakt tussen traditionele markten en opkomende markten. Het onderscheid is dat in de traditionele markten de eiwitten al geruime tijd toegepast worden in voeding, veevoeding en technologische toepassingen. De opkomende markten bevatten eiwitbronnen die in de nabije toekomst in grote hoeveelheden op de markt zullen komen. Te denken valt aan aquatische biomassa zoals eiwit uit algen en zeewier, maar ook aan eiwitten uit grassen, bladeren en insecten.

#### 3.1 Traditionele markten

##### 3.1.1 *Gluten en tarwe-eiwitten*

Tarwe is een belangrijk graangewas dat veelvuldig gebruikt wordt in bakkerijproducten en andere levensmiddelen. Gebaseerd op het uitvoeren van achtereenvolgende extracties van tarwebloem verdeelde Osborne tarwe-eiwitten in vier categorieën op basis van oplosbaarheid. De eerste fractie zijn de oplosbare eiwitten in water die voornamelijk albumines (3-5 %) bevatten. De volgende fractie, genaamd globulines (6-10 %), wordt verkregen door de overgebleven onoplosbare fractie met een verdunde zoutoplossing te wassen. Vervolgens krijgt men gliadines (40-50 %) die verkregen worden door te extraheren met ethanol. Glutenines (30-40 %) zijn de eiwitten die overblijven in de onoplosbare fractie.

Gluten is het belangrijkste opslageiwit in tarwe en wordt gedefinieerd als het onoplosbare materiaal wat overblijft na het wassen van tarwedeg om zetmeel en water oplosbare deeltjes kwijt te raken. In principe is gluten een reststroom van de zetmeelindustrie. Gluten bevat gliadines (45 %) en glutenines (55 %) en is een samenhangend geheel met elasticiteit en rekbaarheid als belangrijkste fysische eigenschappen. Deze combinatie van eigenschappen is uniek voor eiwitten en is daardoor grotendeels verantwoordelijk dat gluten in allerlei bakkerijproducten wordt gebruikt.

Glutenines bestaan uit verschillende sub-eenheden die door middel van disulfide-bridgen met elkaar gekoppeld zijn. Deze sub-eenheden kunnen onderverdeeld worden in twee hoofdgroepen, namelijk de hoog en laag moleculaire gewicht sub-eenheden. De glutenines zijn 'netwerk' eiwitten van de gluten en zorgen vooral voor de elasticiteit. De gliadines zijn aan de glutenines gehecht en zijn verantwoordelijk voor de viscositeit van het deeg.

Films gemaakt van tarwegluten zijn niet water oplosbaar en worden gebruikt voor het inkapselen van allerlei moleculen. Hierdoor kan de kwaliteit van graanproducten worden verbeterd om additieven zoals antioxidanten op oppervlakten van levensmiddelenproducten vast te houden. Vergeleken met andere eiwitten heeft gluten zeer slechte gas doorlaatbaarheidseigenschappen, vooral voor zuurstof en koolstofdioxide. Verder kan tarwegluten gebruikt worden in non-food toepassingen zoals hechtmateriaal, coatings en in cosmetica.

### 3.1.2 *Soja-eiwitten*

Sojabonen hebben een hoog eiwitgehalte van ongeveer 40 % op droge stof basis. Het gehalte van koolhydraten is 30 %, olie 20 %, vezel 5 % en het as gehalte is 5 %. Verschillende eiwitproducten worden in de levensmiddelenindustrie gemaakt op basis van sojabonen. Soja-eiwitten worden echter ook gebruikt in non-food toepassingen. Commercieel zijn soja-eiwitten verkrijgbaar als sojameel, sojaconcentraat en soja-isolaat en het verschil is de hoeveelheid eiwit die in deze producten aanwezig is. Sojaeiwitten kunnen in verschillende klassen worden onderverdeeld. Gebaseerd op oplosbaarheid worden soja-eiwitten onderverdeeld in albumines (water oplosbaar) en globulines (oplosbaar in zoutoplossingen). De grootste groep vormt de globulines (90%).

Het processen van soja-eiwitten zoals drogen, kraken, ontvellen voor het maken van schilfers (vlokken) beïnvloedt hun oplosbaarheid en biologische activiteit. De natieve eiwitten zijn in principe oplosbaar in water. Het extraheren van olie en vervolgens het geven van een hittebehandeling zorgt ervoor dat niet alle soja-eiwitten meer oplosbaar zijn in water. De mate van denaturatie en inactivatie van het eiwit en de oplosbaarheid is dus afhankelijk van de hittebehandeling. Sojaschilfers worden gemalen voor het verkrijgen van sojameel dat nog vet bevat. Hexaan wordt gebruikt om de schilfers te ontvetten en dit vindt plaats met stoom of met behulp van toasters of met een flash systeem wat hexaan kan verdampen. Het toosten van sojameel resulteert in Maillard reacties wat een donkere kleur geeft aan het product. Ontvette sojameel bevat 45-50 % eiwit en door de suikers en mineralen te verwijderen kan men een soja concentraat of soja-isolaat verkrijgen met een eiwitgehalte op droge stof basis van respectievelijk 70 en 90 %. Soja concentraat wordt meestal verkregen door waterige alcohol extractie en soja-isolaat wordt verkregen door eerst de eiwitten op te lossen en daarna neer te slaan bij hun isoelectrisch punt. Soja eiwitten worden in een hele range van toepassingen gebruikt zoals papier, coating, hechtingsmaterialen, micro-inkapseling van insecticiden, levensmiddelen ingrediënten en in de farmaceutica.

### 3.1.3 *Aardappeleiwit*

Aardappelen zijn een van de meest verbouwde landbouwgewassen in de wereld. De knol wordt gebruikt als voedingsmiddel maar ook voor de productie van zetmeel. Afhankelijk voor welke toepassing ze gebruikt worden bevatten aardappelen ongeveer 1-1,5 % (w/w) eiwit op basis van droge stof. Industriële aardappelen, die verantwoordelijk zijn voor ongeveer 1/3 deel van de totale aardappelproductie, worden gewassen en fijngemaakt en het onoplosbaar materiaal wordt met behulp van zeven of hydrocyclonen verwijderd. Het overgebleven aardappelvruchtsap bevat het meeste eiwit en die kunnen worden geïsoleerd door een zuur/hittebehandeling. Deze behandeling resulteert in het irreversibel neerslaan van eiwitten, die hierdoor hun belangrijkste eigenschap zoals wateroplosbaarheid kwijt raken. Door het toepassen van deze behandeling wordt het meeste aardappeleiwit alleen gebruikt voor diervoeding.

Aardappeleiwitten kunnen in drie groepen verdeeld worden. Namelijk patatine ( $\pm 40\%$ ), proteaseremmers ( $\pm 50\%$ ) en andere eiwitten ( $\pm 10\%$ ).

#### 3.1.4 *Melkeiwitten*

Melk wordt voornamelijk gebruikt als melkdrank en in zuivelproducten. Gemiddeld bestaat melk uit eiwit 3,5 %, mineralen 1 %, vet 4,5 %, lactose 5% en water 86 %. Melkeiwitten bestaan uit een complex mengsel en de twee meeste voorkomende eiwitten zijn caseïne (80 %) en wei-eiwitten (20 %).

Caseïne komt voor als grote aggregaten in melk die kunnen neerslaan bij pH 4.6 (20 °C). Vier verschillende vormen zijn beschreven  $\alpha$ s1-,  $\alpha$ s2-,  $\beta$ -, and  $\kappa$ -caseine. Alpha en beta-caseine zijn fosfo-eiwitten die verscheidende gefosforyleerde serine aminozuren bevat, waarvan sommige geclusterd zijn. Caseïnes zijn onstabiel maar ze spelen een zeer belangrijke rol in de structuur, textuur en smaak van zuivelproducten. De eiwitten bezitten een open random-coil structuur en zijn daarom makkelijk te verwerken. Door zuur-geprecipiteerde caseïne met alkalische oplossingen te behandelen kan men caseïnaten krijgen. Caseïnaten (zouten van caseine) spelen een belangrijke rol in toepassingen buiten de zuivelindustrie. Caseïne en caseïnaten vormen zonder enige behandeling transparante en flexibele films uit waterige oplossingen en dit komt door hun random-coil structuur en de vele waterstofbruggen die onderling gevormd worden. Het is daarom ook niet verwonderlijk dat caseïne gebruikt wordt voor inkapselingsdoeleinden in voedingsmiddelen en hydroculturen. Al tientallen jaren wordt een lijm gebruikt, die gebaseerd is op caseïne, om flessen te labelen. Het gebruik van caseïne maakte het mogelijk om deze lijm toe te passen bij hoge verwerkingstijden.

Wei-eiwitten zijn voornamelijk globulaire eiwitten en het zijn restproducten van de kaasbereiding. Wei-eiwitten worden gekarakteriseerd door hun wateroplosbaarheid bij pH 4.6. Het meest voorkomende wei-eiwit is  $\beta$ -lactoglobulin. Commerciële wei-eiwitpreparaten zijn weiconcentraat (WPC) en isolaat (WPI) en worden vooral gebruikt om hun nutritionele waarde. Het wei-eiwitconcentraat heeft een eiwitgehalte tussen 75-80 % en het isolaat tussen de 90 en 95 %. WPCs worden geproduceerd door gedeeltelijk lactose (melksuiker) en mineralen uit de wei te verwijderen. Het gedeeltelijke lactosevrije wei wordt verder gezuiverd door middel van dialyse en filtratie. Wei-eiwitten worden in de gehele wereld op grote schaal geproduceerd. Door hun globulaire structuur moeten de bestaand disulfide-bindingen verbroken worden door een hitte behandeling om films te kunnen maken. Door deze behandeling worden nieuwe disulfide-bindingen maar ook hydrofobe bindingen gevormd. Wei-eiwitten worden ook gebruikt als inkapselmateriaal. Echter door de hoge prijs worden wei-eiwitten nauwelijks gebruikt in andere technische toepassingen.

#### 3.1.5 *Erwteneiwitten (peulvruchten)*

Erwten worden al sinds eeuwen verbouwd en zijn een belangrijk landbouwgewas in Europa. Het eiwitgehalte van erwten is ongeveer 20-25 % op droge stof gehalte waarvan 65-70% van de erwteneiwitten zoals globulines, vicilines en conviciline met behulp van zout kunnen worden geëxtraheerd. De eigenschappen en samenstelling van erwteneiwitten komen grotendeels overeen met de hierboven beschreven soja-eiwitten. Globulines (65-85% van de water oplosbare eiwitten) kunnen onderverdeeld worden in twee hoofdgroepen namelijk de legumines en (con)vicilines.

Naast globulines komen ook water oplosbare albumines voor in erwten (18-22 % van de water oplosbare eiwitten). Een andere klasse van erwteneiwitten zijn de erwtenelectines.

Erwteneiwitten hebben een goede aminozuursamenstelling en hebben een hoog gehalte aan lysine wat een van de essentiële aminozuren is. Erwten worden voornamelijk in de veevoeding gebruikt door hun hoog gehalte aan eiwit en zetmeel. Twee soorten erwtenproducten zijn er op de markt en dit zijn erwtencentraat en erwtensolaat. Om erwtencentraat te krijgen worden de erwten in een droog proces met lucht behandeld wat uiteindelijk resulteert in een fractie die 50-60 % eiwit bevat en ongeveer 20 % zetmeel. Een nat proces wordt gebruikt om erwtensolaat te krijgen. Hierbij wordt erwteneiwit in water gesuspenderd en de eiwitten worden oplosbaar gemaakt bij pH 7-9. Na centrifugeren worden de opgeloste eiwitten neergeslagen bij hun iso-electrisch punt of gezuiverd met behulp van ultrafiltratie. De verkregen isolaten bestaan uit 85-90 % eiwit en hieruit is het zetmeel verwijderd. Vergeleken met soja-eiwitten en tarwegluten is de productie van erwteneiwit laag.

### 3.1.6 *Collageen en gelatine*

Collageen is een eiwit dat een vezelachtige structuur heeft wat voorkomt in dierlijk weefsel waar het verantwoordelijk is voor de structuur zoals huid, botten en spierpezen. Collageen maakt voor meer dan 90% deel uit van de organisch massa van deze weefsels en kan hieruit gemakkelijk worden geïsoleerd. Het eiwit bestaat uit repeterende eenheden van glycine, proline en hydroxyproline. Collageen is een flexibel polymeer wat lang uitgestrekt is. De basis structuur is een triple helix bestaande uit drie eiwitketens. Door deze vorm is collageen nauwelijks oplosbaar en moeilijk te verwerken. Er is veel onderzoek uitgevoerd aan collageenachtig materiaal om in biomedische toepassingen te kunnen gebruiken.

Collageen is het uitgangsmateriaal voor gelatine wat als ingrediënt wordt gebruikt in levensmiddelen. Gelatine wordt gemaakt door collageen een gecombineerde chemische- en hittebehandeling te geven. Meestal wordt gelatine uit varkenshuid of koeienbotten gemaakt. Gelatine bestaat uit twee types en type A wordt gemaakt uit collageen door middel van zure hydrolyse. Type B wordt verkregen door collageen met loog te behandelen. Beide behandelingen zorgen ervoor dat de sterke helix structuur van collageen wordt verbroken. Op deze manier ontstaan er water oplosbare fragmenten die gelen, films of schuimen kunnen vormen. Gelatine lost op in heet water en na afkoelen ontstaat een gel. Deze unieke eigenschap heeft er voor gezorgd dat gelatine vooral gebruikt wordt in biomedische en farmaceutische toepassingen mede het feit dat ze biocompatibel zijn. Bijvoorbeeld gelatine capsules zwellen in het maag-darm stelsel waarbij het actieve farmaceutische ingrediënt wordt afgegeven.

### 3.1.7 *Keratine*

Keratine bevindt zich in verschillende soorten weefsels van gewervelden. Bijvoorbeeld huid, haren, veren, nagels, klauwen en hoeven. Omdat de meeste weefsels in reststromen voorkomen kan men keratine uit een goedkope bron isoleren. Veren zijn een afvalproduct van gevogelte in de vleesindustrie die zorgen voor vervuiling van de omgeving. Hele veren kunnen gebruikt worden in kleding of als isolatiemateriaal. Verenmeel kan gebruikt worden als diervoeding al is

het moeilijk verteerbaar. Voor gebruik moeten de eiwitten van veren eerst gehydrolyseerd worden. De veren worden gewassen met water en vervolgens onder druk en continu roeren gekookt. Na drogen verkrijgt men verenmeel.

Keratine bevat hoge hoeveelheden cysteine en deze kunnen onderling disulfide-bruggen vormen wat ervoor zorgt dat keratine in hoge mate aan elkaar gekoppeld is. Hierdoor is keratine ook in hoge mate onoplosbaar in water en daardoor moeilijk te verwerken. Om keratine te isoleren moeten de disulfidebruggen verbroken worden. Reductie en oxidatie maar ook alkalische oplossingen zijn gebruikt om keratine te extraheren en op te lossen. Deze methoden worden echter niet gezien als mogelijkheden voor een commercieel proces. Keratine bevat hoge hoeveelheden proline, serine en glycine als aminozuren en kleine hoeveelheden van lysine, histidine, methionine en tryptofaan.

### *3.1.8 Maiseiwitten*

Mais is een belangrijke bron voor de industriële zetmeelproductie en eiwitten worden hierbij als bijproduct geïsoleerd. Doordat het isoleren van zetmeel door middel van het nat malenproces plaatsvindt blijven de eiwitten intact. De hoeveelheid eiwit in mais is ongeveer 10 % waarvan 80 % zich in het endosperm bevindt en de andere 20% in de zaadkiemen en zemelen. De maiseiwitten kunnen ook geclassificeerd worden op basis van oplosbaarheid volgens Osborne, namelijk albumines (oplosbaar in water), globulines (oplosbaar in zoutoplossingen), zeïne (oplosbaar in waterige alcohol) en glutelines (oplosbaar in waterige loogoplossingen). Maiseiwit wordt vooral gewonnen uit eiwitrijke fracties zoals kiemen, perskoek, glutenmeel en wordt meestal gebruikt voor veevoer. Het meest voorkomende eiwit in de maiskorrel is zeïne wat in zogenaamde eiwitlichamen voorkomt. Zeïne bevat veel polaire aminozuren waardoor het niet water oplosbaar is. Door de afwezigheid van essentiële aminozuren heeft zeïne geen waarde als diervoeding. In technische toepassingen kan men transparante films maken van zeïne, verder is het eiwit relatief hydrofoob en wordt het ook gebruikt als b.v. coating materiaal voor farmaceutisch tabletten.

### *3.1.9 Overige eiwitten*

In slachthuizen wordt dierlijk bloed van runderen en varkens verkregen en de bloedeiwitten hieruit kunnen in verschillende toepassingen gebruikt worden. De functionaliteit van bloedeiwitten kan in drie categorieën onderverdeeld worden. De eerste is de farmaceutische industrie waar porfyrienen (heem) gebruikt worden als ruw uitgangsmateriaal. De tweede categorie is de levensmiddelenindustrie waar functionele eiwitten worden gebruikt als waterbinder, in vetemulsies en als binder voor vers vlees. De derde categorie is de veevoeder industrie waar bioactieve eiwitten gebruikt worden in diëten voor biggen. De meest voorkomende eiwitten in bloed worden ook als eiwitbron gebruikt voor huisdieren. In veevoer, visvoer en voer voor huisdieren wordt hemoglobine gebruikt als eiwitbron omdat de aminozuurcompositie overeenkomt met de nutritionele behoefte. In de levensmiddelenindustrie wordt hemoglobinepoeder gebruikt als kleurstof.



## 3.2 Opkomende markten

Een aantal eiwitbronnen zal in de toekomst toenemen omdat bepaalde gewassen veelbelovende eigenschappen hebben voor voeding, veevoer en energie. Daarnaast, zullen bepaalde reststromen verwaard worden waarbij toepassing van de eiwitten ook een grote rol speelt. Hierbij kun je denken aan aquatisch biomassa zoals algen en zeewieren. Verder zal door middel van biorefinery ook eiwit uit grassen, planten en bladeren op de markt komen. Vleesafval, perskoeken van b.v. raapzaad en zonnebloemen, maar ook distiller dield grain solubles (DDGS) wat ontstaat bij de ethanolproductie maar ook eiwitten uit schaaldieren en insecten zullen in de toekomst als eiwitbron gebruikt kunnen worden.

### 3.2.1 *Micro-algeneiwitten*

Algen staan momenteel met name in de belangstelling vanwege de olie. Naast olie bevatten algen een belangrijke hoeveelheid eiwit, circa 30-60 %. Algen produceren geen afzonderlijke opslageiwitten zoals het geval is bij bijvoorbeeld soja, mais en peulvruchten. De meeste eiwitten zijn enzymen die aanwezig zijn in algen voor fotosynthese en voor essentiële zaken zoals groei en overleven. Rubisco is het meest voorkomende eiwit dat onder andere een rol speelt in de fotosynthese. Algeneiwit wordt nauwelijks gebruikt in humane voeding alhoewel het uitstekende nutritionele eigenschappen heeft. De groene kleur en de visgeur maken algeneiwitten minder aantrekkelijk en ook het proces om algeneiwit toe te laten als voeding is erg kostbaar wat de toepassing van algeneiwit verhindert in voeding. Algen worden wel verkocht als voedingssupplement. In de veevoeding worden algen wel gebruikt b.v. in de pluimvee- en de aquatische industrie. Voor technische toepassingen wordt algeneiwit vooral gebruikt als substraat voor anaerobe vergistingen, voor de productie van b.v. methaan.

### 3.2.2 *Zeewieren- of macro-algeneiwitten*

Zeewieren bevatten afhankelijk van de soort 3-24 % (w/w) ruw eiwit op droge stof basis voor de bruine zeewieren en 10-47 % voor de rode en groene zeewieren. De hoeveelheid eiwit is afhankelijk van het seizoen waarin de zeewieren worden geoogst. Gezien de aminozuurcompositie van de eiwitten en de hoge concentratie aan essentiële aminozuren lijkt vooral de rode zeewier een potentiële kandidaat voor toepassingen in humane voeding. Rubisco maakt voor meer dan 50 % deel uit van de oplosbare eiwitten.

### 3.2.3 *Eiwitten uit planten en bladeren*

Onder groene biomassa vallen onder andere klaver, alfalfa, luzerne, ontkiemende granen maar ook grassen (raaigras) en bladeren. Door middel van natte fractionering ontstaat na het persen een vezelrijke perskoek en een groen sap. Dit groen sap is rijk aan eiwitten en de meest voorkomende eiwitten hierin zijn Rubisco en enkele eiwitten die een rol spelen in de fotosynthese. In het groen sap komen ook proteases voor die de hoog moleculaire eiwitten kunnen afbreken naar peptiden en aminozuren. De eiwitten worden geïsoleerd door middel van hitte precipitatie of door ultrafiltratie. De eiwitten kunnen gebruik worden in veevoeding maar ook in technische toepassingen zoals in de cosmetische industrie.

### 3.2.4 *Eendenkroos*

Eendenkroos bestaat uit een veertigtal soorten die wereldwijd voorkomen. Ruw eiwit komt voor tussen de 7-40% op droge stof basis afhankelijk van de soort en het medium waarop het gekweekt wordt. Het essentiële aminozuur profiel komt overeen met dierlijke eiwitten, alleen is er een verschil in methionine. Eendenkroos kan gebruikt worden als voedsel voor pluimvee, runderen en visvoer, maar ook voor het zuiveren van water.

### 3.2.5 *Insecten eiwit*

Insecten bestaan voor zo'n 30-80 % uit eiwit en zijn daarom een interessante bron om eiwitten te vervangen in diervoeders. Ook het gebruik van insecten-eiwit in humane voeding wordt bestudeerd. De mogelijkheden voor technische toepassingen zijn op dit moment onduidelijk.

### 3.2.6 *Eiwitten in residuen van de bio-brandstoffen industrie*

De winning van olie uit oliehoudende gewassen bestaat doorgaans uit een persstap gevolgd door een extractie met een organisch oplosmiddel zoals hexaan. Koolzaad is in Europa het meest geteeld gevolgd door zonnebloem. Verder wordt er ook nog een hoeveelheid soja geteeld en is met name in Zuid Europa de olijf een belangrijk bron voor olie. Nadat de olie is verwijderd uit deze gewassen blijft er een perskoek over die in het geval van koolzaad en zonnebloem nog zo'n 40-50 % eiwit bevat. Over het algemeen worden deze perskoeken ingezet als diervoeding. Om de waarde van de aanwezige eiwitten te verhogen lijkt het zinvol om de mogelijkheden van deze eiwitten te bestuderen in technische toepassingen.

Naast de winning van olie ten behoeve van de biodieselindustrie, worden verschillende gewassen, waarvan mais en tarwe de belangrijkste zijn, omgezet in bio-ethanol. Het zetmeel wordt bij dit fermentatieproces omgezet in ethanol. De reststromen, die naast het gebruikte gist, nog significante hoeveelheden mais- en tarwe-eiwit bevatten, wordt met name voor diervoeding gebruikt. Ook in dit geval zijn er derhalve mogelijkheden voor technische toepassingen.

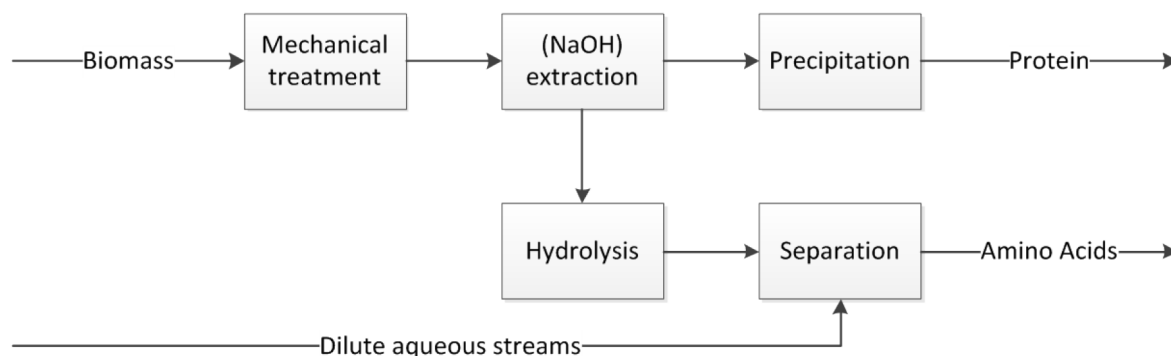
### 3.2.7 *Overige reststromen*

In verschillende industrietakken komen reststromen vrij die aanzienlijke hoeveelheden eiwit kunnen bevatten en die momenteel niet benut worden. Met name dit soort, soms complexe, mengsels bieden interessante mogelijkheden om ingezet te worden bij technische toepassingen. De belangrijkste zijn:

- reststromen in de vleesverwerkende industrie
- reststromen bij de verwerking van garnalen en andere schaaldieren
- GFT
- Bermgras.

## 4 Isolatie en extractie van eiwitten en aminozuren uit reststromen

Voor de isolatie van eiwitten of aminozuren uit afvalstromen wordt eerst het algemene proces beschreven, en vervolgens wordt ingegaan op verschillende onderdelen van het proces. Een algemeen schema voor eiwit- en aminozuurisolatie uit biomassa is weergegeven in figuur 1. Aanvullend op deze generieke aanpak worden enkele specifieke gevallen beschreven.



**Figuur 1.** Algemeen schema voor de productie van aminozuren of eiwitten uit biomassa.

Eiwitten kunnen worden geïsoleerd uit allerlei eiwitrijke biomassastromen zoals beschreven in hoofdstuk 3. Deze eiwitten worden vaak gebruikt in diervoeders, maar kunnen ook worden gebruikt voor de productie van aminozuren. Directe isolatie van aminozuren uit bijproducten van de landbouw- of biobrandstoffenproductie is een andere optie. Deze aminozuren zijn vaak aanwezig in verdunde waterige systemen. Voorbeelden van deze bijproducten zijn protamylase in stromen van de zetmeelverwerkende industrie uit aardappelen en vinasse in stromen geproduceerd door de suikerindustrie.

### 4.1 Eiwitextractie

Over het algemeen moeten eiwitten eerst worden geïsoleerd en vervolgens gehydrolyseerd voordat de aminozuren gebruikt kunnen worden als grondstof voor gefunctionaliseerde chemicaliën. Verscheidene technieken zijn ontwikkeld voor de isolatie van eiwit uit biomassaresiduen, hoofdzakelijk gebaseerd op waterige extractie met behulp van zuur, alkali of ethanol, al dan niet gecombineerd met enzymbehandelingen (protease en/of cellulases).

Een veelbelovende technologie voor eiwitextractie is gebaseerd op ammonia vezelexpansie (AFEX), een voorbehandelingstechniek die gebruikt wordt bij het ontsluiten van biomassa. Bij AFEX wordt biomassa geïncubeerd in een ammoniakoplossing (0.65–3.5 MPa, 70–150 °C, 5–15 min), waarbij het ammoniakgas kan doordringen in de vezelstructuren en oplosbaar eiwit

vrijmaakt. Bij een snelle daling van de druk worden de cellulosestructuren, zoals celwanden verstoord, wat resulteert in het vrijmaken van verschillende biomassacomponenten. Met behulp van deze technologie wordt eiwit geëxtraheerd en tegelijkertijd wordt cellulose meer toegankelijk gemaakt voor cellulases waardoor meer fermenteerbare suikers ontstaan. In een twee taps AFEX behandeling kan ongeveer 80% eiwit worden geëxtraheerd.

#### 4.1.1 *Eiwitten in oliehoudende zaden*

De olie uit oliehoudende zaden, zoals zonnebloem- of koolzaad, wordt over het algemeen gewonnen door middel van een persstap waarbij de meeste olie vrijkomt, gevolgd door een hexaanbehandeling om het restant aan olie te extraheren. De hexaan wordt tenslotte terugwonnen. Een alternatief voor hexaan, hetgeen een toxische stof is, is superkritische koolstofdioxide. Echter, momenteel wordt dit door onder andere de hoge kosten nog niet toegepast. Naast superkritische koolstofdioxide is ook onderzoek gedaan aan olie-extractie in waterig milieu, meestal in combinatie met thermische behandeling of het gebruik van enzymen.

Het proces van de olieproductie heeft invloed op de kwaliteit van het eiwit in de perskoek. De perskoek wordt momenteel in grote hoeveelheden gebruikt als diervoeding vanwege de aanwezige eiwitten. Perskoeken kunnen ook worden gebruikt als organische meststof of als grondstof voor de productie van aminozuren. Eiwit extractie uit perskoeken kan gedaan worden onder zure of basische omstandigheden, eventueel met behulp van proteases. Dit gebeurt normaal na olie-extractie en levert meestal eiwitten (na zuur of alkalische extractie) of een mengsel van voornamelijk peptiden en aminozuren (na enzym toevoeging). Eiwitten kunnen ook worden geëxtraheerd voorafgaand aan de oliewinning als een voorbehandeling of gelijktijdig met de oliewinning. Het uitvoeren van een eiwitextractie voorafgaand aan de oliewinning kan nuttig zijn indien van belang is om intacte en niet-gedenatureerde eiwitten te verkrijgen. De laatste twee methoden worden echter nog niet commercieel toegepast.

Soja-eiwit extractie is een goed ontwikkeld proces dat gebruikt kan worden als voorbeeld. De verwerking van soja-eiwitten beïnvloedt hun oplosbaarheid en biologische activiteit. De natieve eiwitten zijn in principe alle water-oplosbaar. Na het proces van oliewinning en de daaropvolgende hittestap om hexaan terug te winnen, verliezen sommige van de eiwitten hun oplosbaarheid in water. De mate van denaturatie, inactivering en reductie van de oplosbaarheid is gerelateerd aan de intensiteit van de warmtebehandeling. De verwerking van sojabonen omvat drogen, kraken, dehulling en flaking. De vlokken worden gemalen wat volvette sojameel oplevert of wordt geëxtraheerd met hexaan om de olie te verwijderen. Hexaan wordt verwijderd met stoom, via een desolventiser of in een flash desolventiser systeem. Geëxtraheerde sojavlokken worden verwerkt in standaard diervoeding of in speciale eiwitproducten. Eiwitniveaus zijn over het algemeen tussen 45-50 %. Om materiaal te verkrijgen met eiwitgehalte hoger dan 50 %, is het noodzakelijk om een aantal componenten zoals suikers en mineralen te verwijderen. Soja-isolaten worden verkregen door het oplossen van het eiwit, gevolgd door iso-elektrische precipitatie. Deze isolaten kunnen worden gehydrolyseerd om aminozuren produceren.

#### 4.1.2 *Eiwitten uit bladeren*

Bladeiwit is in potentie een goedkope en ruimschoots beschikbare eiwitbron en is om die reden onderzocht als een bron voor zowel humane voeding als diervoeder. Door het hoge vezelgehalte en andere anti-nutritionele factoren, zoals calciumfytaat, cyanide en tannines, is bladeiwit niet geschikt voor humane voeding, maar vanwege een gunstig aminozuursamenstelling wordt het wel gebruikt in diervoeders. Bladeiwitconcentraat (LPC) dat rijk is aan eiwitten kan dienen als grondstof voor eiwithydrolyse. De eerste stap bij het verkrijgen van LPC is over het algemeen het mechanisch persen van de bladeren (of gras), hetgeen een perskoek oplevert die rijk is aan vezels en een groen sap dat rijk is aan eiwitten. Het sap kan vervolgens worden geconcentreerd door verdamping, waarna eiwit door warmte of een zuurbehandeling wordt gecoaguleerd en daardoor van de vloeistof worden gescheiden. LPC kunnen het uitgangspunt zijn voor verdere verwerking tot aminozuren.

#### 4.1.3 *Algeneiwit*

Een grote verscheidenheid van aquatische biomassa is geïdentificeerd als mogelijke bron voor fractionering en omzetting in biobrandstoffen. Microalgen zijn geïdentificeerd als een toekomstige bron voor vervoerbrandstoffen, met name vanwege hun aangegeven potentieel om tot 10 keer meer olie per hectare te produceren dan traditionele productie van biobrandstoffen. Er is echter een brede kloof tussen de bestaande technologieën en een biofuelproces op industriële schaal gebaseerd op microalgen, voornamelijk door de beperkingen in downstream processing. Momenteel ontbreekt nog de karakterisering van de algeneiwitten en hun gedrag tijdens de processing. Efficiënte extractieprocedures moeten nog worden ontwikkeld.

#### 4.1.4 *Eiwitten uit bioethanolproductie*

Het zoeken naar alternatieven voor fossiele brandstoffen heeft geleid tot een toename van het aantal fabrieken die bio-ethanol produceren. Deze snelle groei van bio-ethanolproductie draagt bij aan een hoog aantal waardevolle bijproducten die beschikbaar komen. Een van deze bijproducten is DDGS, die hoge hoeveelheden eiwit bevat. Tarwe DDGS bevat bijvoorbeeld 40 % ruw eiwit. De isolatie en het produceren van aminozuren uit tarwe DDGS kan de economische waarde van het bijproduct van bio-ethanol verbeteren en zal daardoor de economische levensvatbaarheid van de hele bio-ethanol productie laten toenemen. Op dit moment wordt DDGS gebruikt in diervoeder, maar dankzij zijn hoog eiwitgehalte zou het ook kunnen dienen als grondstof voor de productie van aminozuren. De belangrijkste eiwitfractie in DDGS is gluten. Dit eiwit is rijk aan glutaminezuur hetgeen een uitstekende grondstof is voor de synthese van bulkchemicaliën via  $\gamma$ -aminoboterzuur (GABA). De eiwitextractie uit DDGS wordt nog niet op commerciële schaal uitgevoerd.

## 4.2 **Eiwithydrolyse**

Na de extractie van eiwitten moeten ze worden gehydrolyseerd om aminozuren te verkrijgen. In de voedingsindustrie wordt hydrolyse van plantaardige eiwitten uitgevoerd in 6 M zoutzuur bij

verhoogde temperatuur. Een groot nadeel van deze methode is dat een aanzienlijke hoeveelheid base nodig is om het hydrolysaat te neutraliseren. Dit leidt tot ongewenst hoge concentraties van anorganische zouten in het hydrolysaat. Deze anorganische zouten moeten worden verwijderd uit het mengsel van aminozuren aangezien ze de downstream processing kunnen storen. Daarnaast wordt een aantal aminozuren vernietigd tijdens het hydrolyseproces. Eiwitextractie onder mildere omstandigheden is momenteel in ontwikkeling en deze technologie is reeds in staat om meer dan 80 % van de beschikbare eiwitten te isoleren.

Een alternatieve methode om eiwitten te hydrolyseren, zonder het gebruik van hoge concentraties zout en hoge temperaturen, is gebaseerd op het gebruik van proteasen. Met behulp van mengsels van proteasen, kunnen hydrolysegraden van maximaal 90 % worden bereikt. Het grote nadeel bij de toepassing van proteasen zijn de hoge enzymkosten. In dit opzicht, is het hergebruik van proteasen door middel van immobilisatie van enzymen een veelbelovende route. Een interessante immobilisatiemethode is de vorming van gekoppelde enzymaggregaten, ook bekend als CLEAs. Op die manier zou protease niet alleen worden geïmmobiliseerd op een economisch haalbare manier, maar zou het ook worden beschermd tegen autolyse.

Een meer recente ontwikkeling is de toepassing van superkritisch water bij de gelijktijdige extractie en hydrolyse van eiwitten uit biomassa-residuen. Onder superkritische omstandigheden ( $T > 374.2\text{ °C}$ ,  $P > 22.05\text{ MPa}$ ) vertoont water een lagere dielektrische constante en een ionproduct dat ongeveer 1000 keer de waarde heeft van water onder normale temperatuur en druk. Dit resulteert in een hogere  $\text{H}_3\text{O}^+$  en  $\text{OH}^-$  ionconcentratie in superkritisch water, wat betekent dat zowel zure als base gekatalyseerde reacties kunnen worden uitgevoerd zonder werkelijke toevoeging van zuur of base. Echter, rapportages over hydrolyseopbrengsten zijn beperkt en toevoeging van lage concentraties van zuur of base blijkt nog steeds nodig. De toepassing van superkritisch water bij de hydrolyse van eiwitten kan worden gezien als een mogelijkheid om het gebruik van minerale zuur en base en de daarmee samenhangende problemen te beperken. Een nadeel van superkritische water is haar corrosiviteit en de hoge input van energie die nodig is om superkritisch water maken.

### **4.3 Isolatie van gewenste aminozuren**

De hydrolyse van eiwitten resulteert in een mengsel van 20 aminozuren. Sommige van deze hebben het potentieel om te worden omgezet in chemische stoffen, terwijl anderen, zoals methionine, nuttiger kunnen zijn als toepassing in diervoeding. Om eiwitten, of aminozuurreststromen, optimaal te benutten is het nodig om ze te scheiden en geschikt te maken voor hun verschillende toepassingen. In het geval van eenvoudige mengsels van aminozuren die verschillen met betrekking tot hun elektrisch punt en polariteit, kan iso-electrische precipitatie of precipitatie door toevoeging van een organisch oplosmiddel een mogelijkheid zijn. Ook combinaties, eventueel met een koelstap is mogelijk. Een andere optie is electro-dialyse. Beide methoden kunnen worden gecombineerd met reactieve extractie.

Eiwithydrolysaten zijn vaak complexe mengsels en derhalve zijn meer geavanceerde scheidingstechnieken, zoals chromatografie, noodzakelijk. Ionenwisselingschromatografie is effectief in de scheiding van complexe mengsels van aminozuren, echter, voor grootschalige toepassingen worden hoge kosten verwacht door lange elutietijden en de noodzaak van regeneratie. Algemeen kan gesteld worden dat er geen technieken op grote schaal voor de scheiding van aminozuren in complexe mengsels bestaan. Dit zal moeten worden ontwikkeld.

#### 4.3.1 *Selectieve precipitatie van aminozuren*

Specifieke precipitatie kan worden bereikt door toevoeging van een specifieke reagens of een oplosmiddel. Een reagens kan worden toegevoegd aan een eiwithydrolysaat die een neerslag van één of een kleine groep van aminozuren veroorzaakt door de vorming van een onoplosbare zout of moleculair complex. Het gebruik van precipitatie middelen voor de bestudering van de aminozuursamenstelling van eiwithydrolysaten heeft een lange geschiedenis. Ten behoeve van analytische doeleinden zijn aromatische sulfonzuuren, verschillende zouten zoals zilverzouten en andere chemicaliën gebruikt voor selectieve neerslag. Door de hoge kosten van deze chemische stoffen, en de beperkte ontwikkeling van recycling, kunnen deze methoden alleen gebruikt worden voor analysedoeleinden.

Selectieve neerslag kan ook worden bereikt door het aanpassen van de pH of door toevoeging van een organisch oplosmiddel. Scheiding is dan gebaseerd op het isoelektrisch punt van het eiwit en/of polariteit of hydrofobiciteit. Deze technieken zijn minder duur dan de techniek waarbij een specifiek reagens wordt toegevoegd, maar ook minder specifiek, en kunnen daarom niet worden gebruikt in complexe mengsels.

#### 4.3.2 *Chromatografie*

Scheiding van eiwitten wordt reeds uitgevoerd op industriële schaal bij de bioraffinage van biomassa. De recente ontwikkelingen op aardappeleiwit in Solanics (onderdeel van AVEBE) tonen aan dat scheiding van groepen eiwitten tot hoogwaardige toepassingen kan leiden. In de toekomst kunnen ook andere processen worden ontwikkeld, waarbij na milde alkalisch extractie, geëxtraheerde eiwitten verder worden gescheiden door chromatografische technieken terwijl co-geëxtraheerde kalium ( $K^+$ ) wordt verwijderd of gerecycled. Dit kan gebeuren als kleinschalige voorbehandeling en voorkomt de noodzaak van indikken ten behoeve van vervoer.

Scheiding van aminozuren via chromatografie is echter tot op heden alleen gebruikt ten behoeve van analytische metingen. Zeer zuivere aminozuren kunnen effectief worden geproduceerd door kation- of anionwisselaars. Huidig onderzoek op dit gebied is bijvoorbeeld uitgevoerd in het GRASSA project, waar chromatografische processen voor verdunde afvalstromen worden ontwikkeld.

#### 4.3.3 *Electrodialyse*

Een veelbelovende technologie om aminozuren te scheiden is elektrodialyse. Hierbij worden ionen uit een verdunde oplossing via ionenwisselaarmembranen verwijderd en toegevoegd aan een ander concentraat door een elektrische potentieel als de drijvende kracht aan te leggen. In principe kan het hydrolysaat gescheiden worden in zure, basische en neutrale aminozuurstromen. Echter, een verdere scheiding door middel van elektrodialyse binnen deze stromen is uitdagend doordat hun elektrische ladingen vergelijkbaar zijn.

#### 4.3.4 *Reactieve extractie*

In het geval van aminozuren met vergelijkbare isoelektrisch punten, kan de lading van deze moleculen specifiek worden gewijzigd. Dit helpt bij scheidingsmethoden die zijn gebaseerd op lading, zoals selectieve neerslag en elektrodialyse. Aminozuurmodificatie kan worden bereikt door het verwijderen van groepen zoals de carbonzuurgroep. Niet alleen chemische, maar beter nog, enzymatische routes kunnen hierbij worden beschouwd. Als een dergelijke modificatie direct tot een eindproduct leidt, kan de productie van een chemische stof worden gekoppeld aan het scheidingsproces. Daarmee kan een duurzame, chemische productie en scheiding worden bereikt.

Een voorbeeld hiervan zijn de twee basische aminozuren arginine en lysine (IP pH 10,8 en pH 9,7, respectievelijk). Zij kunnen worden verkregen via een eerste scheiding op basis van precipitatie met een oplosmiddel, of via elektrodialyse. Beiden zijn interessante voor diervoeding en het zou daarom zinvol als zij (of producten daarvan) van elkaar kunnen worden gescheiden. Lysine decarboxylase kan worden gebruikt om specifiek lysine te converteren naar 1,5-pentanediamine (PDA) in aanwezigheid van arginine om producten te produceren met verschillende lading waardoor isolatie van producten kan plaatsvinden bijvoorbeeld door elektrodialyse. Naast enzymatische routes, kan het aminozuur ook chemisch worden gemodificeerd. Via de pH van de oplossing en dus de staat van protonering, kan worden ingesteld welke aminozuur reageert met het extractiemiddel, bijvoorbeeld di-(2-ethylhexyl) fosforzuur.

### 4.4 **Specifieke oplossingen: procesvoorbeelden**

#### 4.4.1 *Microbiologische coproductie van cyanophycine en ethanol uit biomassa*

Aminozuren kunnen worden geproduceerd door fermentatie. Dit leidt tot een toename van de opbrengsten en mogelijk een eenvoudigere scheiding. Een speciaal geval is de productie van cyanophycin. Microbiologische coproductie van cyanophycin en ethanol uit biomassa werd als een studie uitgevoerd door een samenwerking van Wageningen Universiteit en Energie Centrum Nederland, ECN, Westfälische Wilhelms-Universität Münster en Easten House Business Solutions. Het doel van dit onderzoek was een technologie te ontwikkelen voor de gecombineerde productie van stikstof bevattende chemicaliën en ethanol uit protamylase, plant sappen en soortgelijke biomassafracties. Beide eindproducten zijn groene alternatieven ter



vervanging van petrochemische stikstofhoudende verbindingen en derivaten daarvan. Ethanol wordt ook in grote hoeveelheden gebruikt als een hernieuwbare transportbrandstof.

Giststammen werden ontwikkeld die in staat zijn om van stikstof uit hun omgeving cyanophycin op te bouwen, een polymeer van de aminozuren arginine en aspartaat tot een cyanophycin hoeveelheid van 15 %.

Een technisch- economische analyse van co-productie van bio-ethanol met stikstofhoudende chemicaliën en elektriciteit heeft duidelijk gemaakt dat het ontwikkelde proces (met een cyanophycine inhoud van micro-organismen van 50 % en conversie-efficiëntie van 90 %) een duidelijk economisch potentieel heeft en dat economische levensvatbaarheid het hoogst is als het proces wordt toegepast op een bestaande ethanolinstallatie. Een vervolgproject is voorgesteld dat is gericht op de ontwikkeling van een proeffabriek waar de economische haalbaarheid van de productie van cyanophycin op industriële schaal van 25-50 kton per jaar kan worden getest. De processen die zullen worden ontwikkeld betekenen een wijziging van de productie van de eerste generatie ethanol uit maïs of tarwe. Slechts beperkte investeringen zijn vereist. Met een geschatte investering van 15 M€, gekoppeld aan een bestaande eerste of tweede generatie ethanolafabriek, kan ongeveer 25-50 kton cyanophycine worden geproduceerd voor een kostprijs van 90-280 €/ton. Gezuiverde asparaginezuur en arginine kunnen beschikbaar komen beneden de 500 €/ton.

#### 4.4.2 *GMO (voor bijvoorbeeld polylysine, methionine)*

Technisch gezien zijn veel gewassen zeer geschikt voor genetische verbetering met behulp van moderne GMO-technologie. Genetica kan worden gebruikt voor agronomische aspecten zoals weerstand tegen pest of herbiciden, maar het kan ook worden gebruikt om mogelijkheden in te bouwen om specifieke chemische stoffen te produceren. In droge zaden, kunnen bij voorkeur onoplosbare polymeren worden opgeslagen zoals cyanophycin zoals hierboven besproken. Polymeren van lysine en methionine kunnen ook worden opgeslagen in de biomassa en worden toegepast in bijvoorbeeld diervoeding. Andere polypeptiden kunnen worden gebruikt als bouwstenen voor de chemische industrie. Verschillende ontwikkelingen zijn gepubliceerd op de accumulatie van nieuwe polymeren zoals polyhydroxybutyrate (PHB). Daarnaast, kunnen genetische verbeteringen gebruikt worden om procesverbeteringen door te voeren.

#### 4.4.3 *Toekomstperspectief*

Voor de valorisatie van aminozuren en eiwitten uit biomassa zijn verschillende specifieke technologische oplossingen nodig. Milde ontsluitingstechnieken van eiwitten zijn van vitaal belang wanneer eiwitten moeten worden gebruikt voor toepassingen waarin functionaliteit belangrijk is. Het is een technologie die aandacht krijgt, maar nog niet kan worden uitgevoerd tegen lage kosten. Om bioraffinage rendabel te krijgen zijn de kosten van de verschillende processen van cruciaal belang.

De ontwikkeling van specifieke technologieën voor het isoleren van aminozuren ontbreekt grotendeels, maar is van fundamenteel belang voor de ontwikkeling van volledige bioraffinage

van biomassa en de residuen daarvan. Meer onderzoek naar economisch rendabele isolatieprocessen van aminozuren uit complexe mengsels is nodig. Een belangrijk aspect hierbij is dat aminozuren in voldoende hoeveelheden kunnen worden geproduceerd voor de daarop volgende conversie naar bulkchemicaliën.

In het algemeen, kunnen eiwitten en aminozuren belangrijke bijproducten zijn in vele bioraffinageprocessen die nu gericht zijn op het produceren van andere componenten zoals olie en suiker/ethanol. Additioneel kunnen andere componenten worden geïsoleerd om extra waarde creëren voor de totale keten. Hun isolatie kan en moet worden gecombineerd met eiwit isolatie. Voorbeelden van dergelijke onderdelen zijn: vezels, (hemi) cellulose, fosfaat, kalium ( $K^+$ ), organische zuren, vitaminen en lignine.

## 5 Amino-zuren

### 5.1 De productie van chemische stoffen afgeleid van amino-zuren

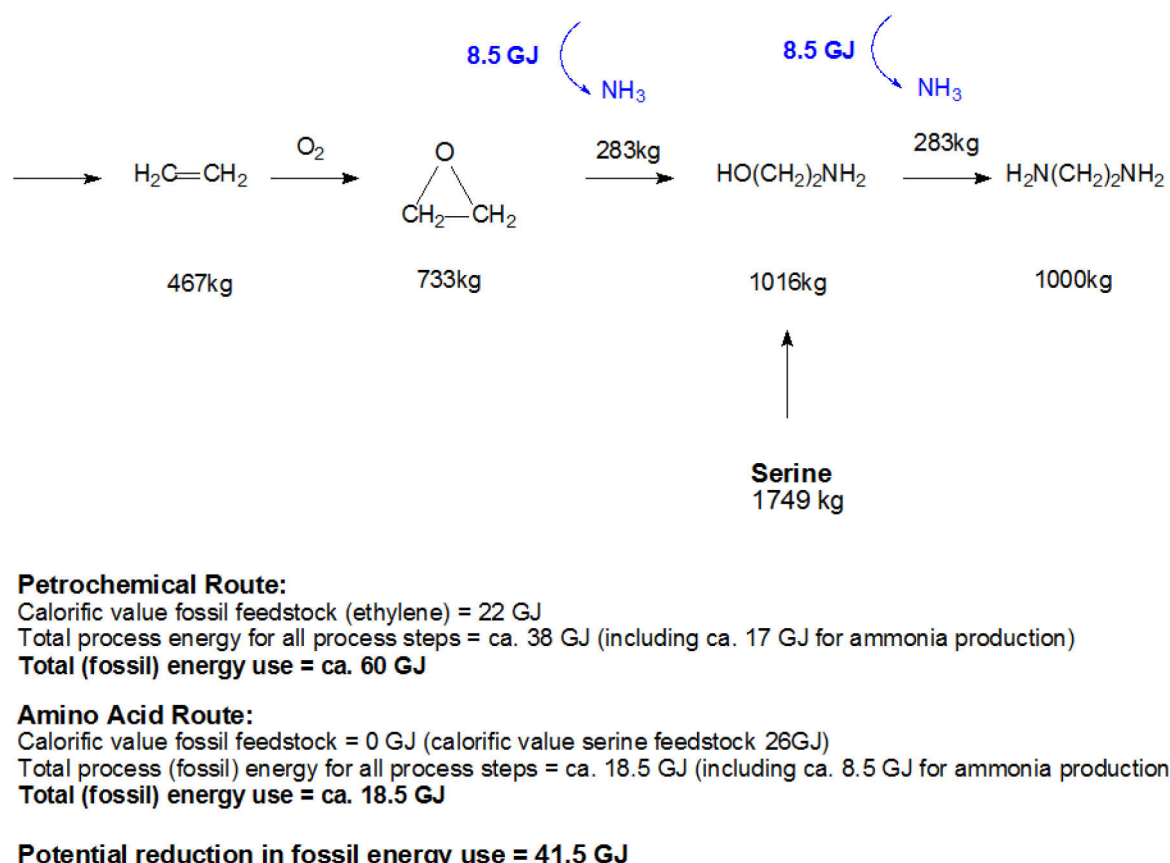
De petrochemische industrie maakt gebruik van eenvoudige koolwaterstoffen zoals ethyleen om (chemische) producten en materialen te synthetiseren. Hierbij vinden diverse stappen plaats en worden co-reagentia, katalysatoren en andere proceschemicaliën gebruikt om de eenvoudige structuren te converteren naar meer gefunctionaliseerde materialen. De productie van ethyleen en andere koolwaterstoffen, zoals propyleen, uit biomassa is bekend. Dit behelst meestal vergisting van een alcohol en verdere omzetting tot de gewenste koolwaterstofverbindingen. Gebruik makend van deze aanpak zouden bio-gebaseerde alternatieven voor fossiele gebaseerde chemische stoffen kunnen worden gegenereerd. Echter, deze route vereist nog steeds het gebruik van de reagentia, processtappen, energie en dus fossiele bronnen om meer gefunctionaliseerde producten te maken. Het is bekend dat bij de productie van niet-gefunctionaliseerde chemicaliën, in vergelijking met meer gefunctionaliseerde verbindingen, goedkopere grondstoffen gebruikt worden en dat de kapitaalinvesteringskosten lager zijn. Op basis hiervan is het voor de hand liggend om meer efficiënt de functionaliteit in biomassa te benutten bij de synthese van gefunctionaliseerde chemicaliën. In het bijzonder zijn amino-zuren van belang die een vergelijkbare functionaliteit bezitten als tal van gebruikte olie-gebaseerde chemicaliën. Het gebruik en synthese van verschillende reagentia kunnen veelal geëlimineerd worden en bovendien worden verschillende processtappen omzeild. De structuur van de bio-grondstof wordt hierdoor beter benut dan slechts het gebruik van de calorische waarde bij de productie van brandstoffen of elektriciteit.

De literatuur met betrekking tot het toepassen van, en de reactiviteit van amino-zuren richt zich doorgaans op het gebruik van amino-zuren in voeding, medicijnen of hun fysiologische functie. Meest van de (bio)chemische informatie is gericht op de decarboxylering en deamidering van carbonzuur- en aminofunctionaliteit met behulp van chemische methoden en meer traditioneel via biochemische routes. Echter, recentelijk wordt meer aandacht besteed aan chemische omzettingen van amino-zuren in andere toepassingsgebieden. Een gedetailleerde beschrijving van de omzettingmogelijkheden van amino-zuren is weergegeven in paragraaf 5.4

### 5.2 De impact van het benutten van amino-zuren als chemische feedstock

Een eiwit bestaat maximaal uit 20 verschillende amino-zuren. De volledige hydrolyse van 1 kg eiwit levert derhalve maximaal 50 g van elk aminozuur op. Belangrijk hierbij is dat de amino-zuren van elkaar kunnen worden gescheiden. In werkelijkheid zullen sommige amino-zuren meer aanwezig zijn dan anderen. Bijvoorbeeld glutaminezuur is in veel grotere hoeveelheden aanwezig in reststromen zoals DDGS dan bijvoorbeeld tryptofaan.

Zoals eerder beschreven wordt bij het gebruik van gefunctionaliseerde aminozuren niet alleen fossiele koolstof bespaard, maar kunnen mogelijk ook verschillende processtappen worden vermeden, en daardoor energie worden bespaard. Als voorbeeld hiervan is de productie van 1 ton 1,2-ethaandiamine hieronder weergegeven



**Figuur 2.** Productie van 1,2-ethaandiamine (petrochemische versus biobased route).

In deze aanpak wordt niet alleen het gebruik van etheen vermeden maar ook de omzetting in ethyleenoxide en wordt minder ammonia gebruikt waardoor energie wordt uitgespaard. In werkelijkheid zal de energiebesparing minder zijn omdat de productie/isolatie van serine niet is meegenomen. Het is de verwachting dat bij de conversie van serine in ethanolamine een beperkte hoeveelheid energie nodig zal zijn indien enzymatische technologie wordt toegepast in plaats van een chemisch proces. Als serine alleen wordt gebruikt voor de productie van warmte, zou alleen de calorische waarde van 20-30 GJ/ton benut worden.

Dergelijke concepten kunnen ook toegepast worden op het gebruik van andere aminozuren om gefunctionaliseerde chemicaliën te produceren. Ondanks dat het lastig is om één waarde voor energiebesparing te geven voor alle chemicaliën die gemaakt kunnen worden vanuit aminozuren, blijft het feit dat grote hoeveelheden aardolie-gebaseerde chemicaliën, die betrokken zijn bij de synthese, vervangen kunnen worden door een dergelijke aanpak. De exacte hoeveelheid totale fossiele energie die bespaard kan worden zal mede afhankelijk zijn van de vooruitgang in geschikte conversietechnologieën.

### 5.3 Productieprocessen

In veel gevallen is er niet veel energie nodig voor de conversie van aminozuren en kan voordeel gehaald worden uit het werken met enzymen (voor tenminste een deel van de procesroute). Hierdoor zijn in fabrieken minder warmtewisselaars en apparatuur dat bestand is tegen hoge druk nodig met als gevolg minder kapitaalinvesteringen en kleinere schaalgrootte. Op plaatsen waar eiwitten en aminozuren kunnen worden verkregen, zoals de Haven van Rotterdam, zou dit tot nieuwe allianties kunnen leiden tussen bedrijven die dergelijke stromen genereren, zoals ethanol en diervoederproducenten, en de chemische industrie. Deze allianties zullen extra voordelen brengen. Als we de productie van 500 miljoen liter ethanol onder de loep nemen, zal dit circa 360 kton DDGS genereren (Figuur 3). DDGS wordt momenteel als diervoeding gebruikt (geschatte waarde van circa 130 €/ton; totaal 46 miljoen €). In DDGS zit ongeveer 10 % van het niet essentiële aminozuur glutaminezuur. Als glutaminezuur zou kunnen worden geïsoleerd dan zou circa 36 kton gebruikt kunnen worden voor de productie van 23000 ton *N*-methylpyrrolidon (NMP). Een gedetailleerde beschrijving van deze omzetting is weergegeven in figuur 3. De huidige waarde van NMP is ongeveer 1800 €/ton; totaal 26 miljoen €. Het restant van de DDGS (circa 300 kton), na verwijdering van glutaminezuur, kalium en fosfaat, kan nog steeds gebruikt worden voor diervoeding met een hogere waarde dan de oorspronkelijk DDGS.



**Figuur 3.** Toegevoegde waarde DDGS

Tabel 7 laat een schatting zien van de mogelijke productie (rekening houdend met intrinsieke massaverliezen en –winsten gebaseerd op moleculaire omzettingen en een aangenomen omzettingsgraad van 95 %) en percentage vervanging in de markt gebaseerd op circa 50000 ton aminozuur (afgeleid van 1 miljoen ton eiwit). De productieroute schat hoeveel enzymatische en chemische stappen nodig zijn op basis van de huidige kennis. Indien meerdere producten mogelijk zijn bij een aminozuur, is elk product gebaseerd op een beschikbaarheid van 50000 ton aminozuur.

Het is duidelijk dat een hoog percentage van omzettingen mogelijk is voor producten die circa op 10000 ton schaal geproduceerd worden. Voor bulkchemicaliën is het potentieel dat vervangen kan worden lager. Gerealiseerd dient te worden dat voor elke 50000 ton aminozuur (1 miljoen ton eiwit) 5 % van de wereldproductie van chemicaliën kan worden vervangen.

**Tabel 7.** Productie en schatting vervanging chemicaliën vanuit aminozuren.

<i>Aminozuur</i>	<i>Chemische stof</i>	<i>Mogelijke productie (ca. ton)</i>	<i>Route</i>	<i>Berekende vervanging (%)</i>
<i>Alanine</i>	<i>Ethylamine</i>	40 000	1xC	Hoog
<i>Arginine</i>	<i>1,4-Butaandiamine</i>	25 000	2xE	100 NL
<i>Asparagine</i>	<i>Fumaarzuur</i>	45 000	1xC	100 NL
	<i>Maleïnezuur</i>	45 000	2xC	Hoog
	<i>Acrylamide</i>	25 000	1xE 3xC	5 WW
	<i>Acrylonitril</i>	20 000	1xE 1xC	2 WW
<i>Glutamine</i>	<i>Pyrrolidon</i>	30 000	1xE 1xC	100 WW
	<i>1,4-Butaandiamine</i>	30 000	4xC	100 NL
	<i>N-methylpyrrolidon</i>	35 000	1xE 1xC	100 WW
	<i>N-vinylpyrrolidon</i>	35 000	1xE 2xC	100 WW
	<i>Acrylonitril</i>	20 000	2xC	2 WW
<i>Glycine</i>	<i>Oxaalzuur</i>	60 000	1xC	Hoog
<i>Leucine/ isoleucine</i>	<i>C5 vertakte aminen</i>	30 000	1xE or 1xC	Hoog WW
<i>Lysine</i>	<i>Caprolactam</i>	40 000	2xC	5 NL
<i>Phenylalanine</i>	<i>Styreen</i>	35 000	1xE 1xC	5 NL
<i>Proline</i>	<i>Pyrolidine</i>	30 000	1xC	100 WW
<i>Serine</i>	<i>Ethanolamine</i>	30 000	1xE	Middelmatig
<i>Threonine</i>	<i>Alhylamine</i>	25 000	2xC	100 WW
	<i>Isopropanolamine</i>	30 000	1xC	100 WW
	<i>Propaanzuur</i>	30 000	2xE	5 WW
<i>Tryptophaan</i>	<i>Catachol</i>	25 000	1xC	100 WW
	<i>Aniline</i>	20 000	1xE 3xC	1 WW
<i>Tyrosine</i>	<i>Hydroxystyreen</i>	35 000	1xE 1xC	100 WW
<i>Valine</i>	<i>Isobutryaldehyde</i>	30 000	1xC	5 WW

E: enzymatische omzetting; C: chemische omzetting; WW: wereld wijd; NL: Nederland

## 5.4 Chemische omzettingen van aminozuren

In deze paragraaf worden verschillende routes beschreven voor de omzetting van aminozuren in chemicaliën.

### *Alanine naar ethylamine*

De thermische en enzymatische decarboxylering van alanine tot ethylamine is in de literatuur beschreven. Echter, verdere uitwerking van deze reactie naar preparatieve schaal is niet gerapporteerd. Ethylamine wordt op grote schaal geproduceerd met een marktwaarde van 1000 €/ton met name voor gebruik in kleurstof producerende industrie.

### *Arginine naar 1,4-butaandiamine*

Arginine kan hydrolyse ondergaan waardoor omithine en ureum kan worden gevormd gebruik makend van het enzym arginase. De immobilisatie en stabilisatie van het enzym is mogelijk waardoor goede conversie wordt bereikt. Aansluitend kan een decarboxylatie worden uitgevoerd met behulp van omithine decarbylase waarbij 1,4-butaandiamine wordt gevormd. 1,4-butaandiamine wordt gebruikt als monomeer bij de productie van nylon-4,6.

### *Asparagine en asparaginezuur naar acrylamide en acrylonitril*

De vorming van acrylamide uit asparagine en asparaginezuur is door veel auteurs beschreven. Deze routes zijn echter alleen bestudeerd van uit het perspectief dat acrylamide schadelijk is voor de gezondheid en kan vrijkomen tijdens het koken. Studies om acrylamide op grote schaal te bereiden zijn niet bestudeerd. Meer recent is de conversie van asparaginezuur naar  $\beta$ -alanine beschreven met behulp van L-aspartaat  $\alpha$ -decarboxylase. Hier werd voorgesteld dat asparaginezuur kan worden afgeleid uit cyanophycin dat geproduceerd kan worden uit agroreststromen. Routes naar zowel acrylamide en acrylonitril werden voorgesteld. Acrylamide wordt industrieel geproduceerd vanuit acrylonitril met behulp van het enzym nitril hydratase. Acrylonitril wordt geproduceerd uit de ammoxidation van propyleen.

### *Asparagine en asparaginezuur naar fumaarzuur en maleïnezuur*

In tegenstelling tot de meeste  $\alpha$ -aminozuren die  $\alpha$ -decarboxylering ondergaan onder thermische omstandigheden, prefereert asparaginezuur een  $\alpha$ -deamidatie. Het is aangetoond dat fumaarzuur isomerisatie kan ondergaan en dat maleïnezuur wordt gevormd.

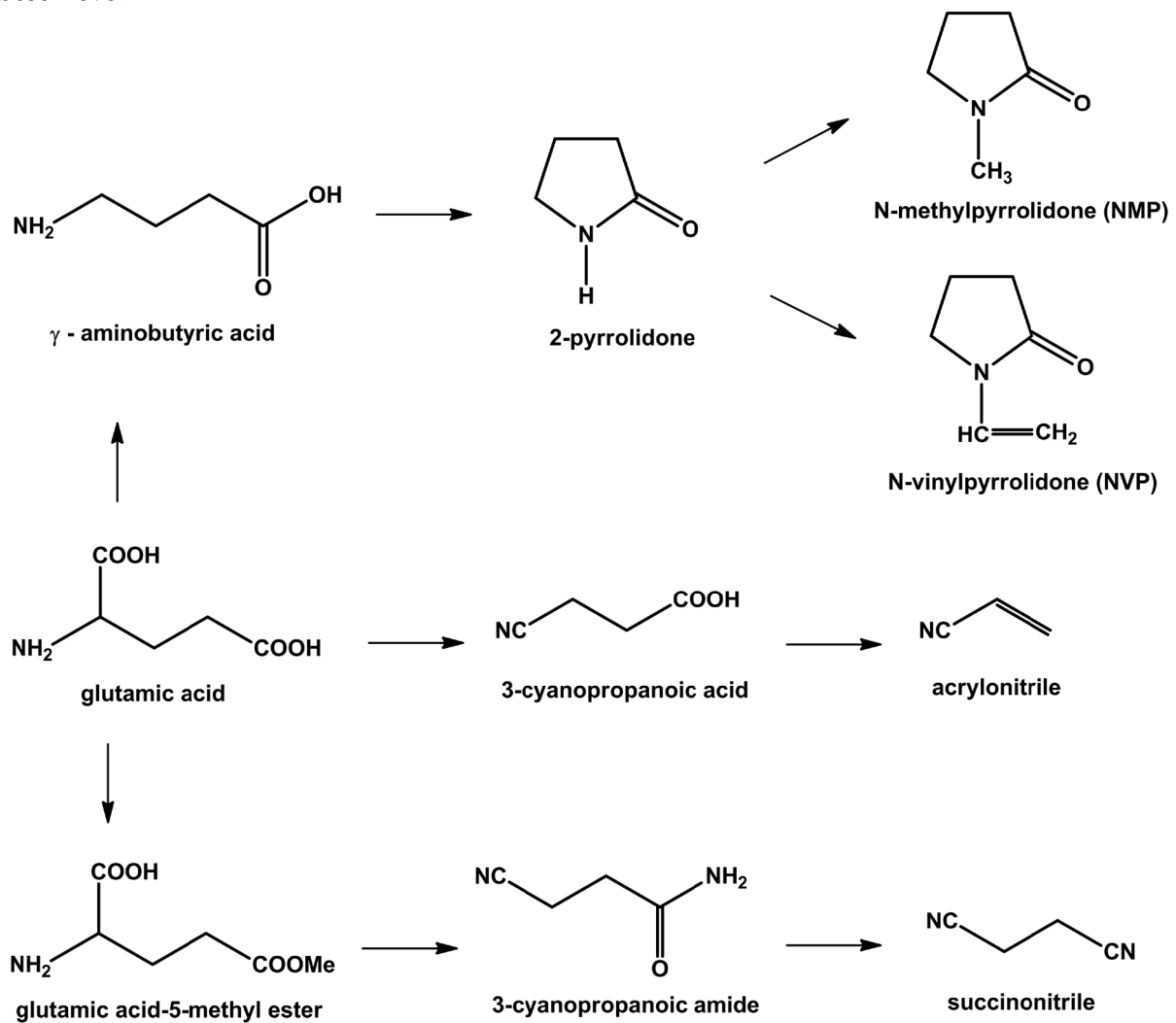
Fumaarzuur heeft momenteel een relatief laag productievolume en wordt hetzij geproduceerd via vergisting of door de katalytische isomerisatie van maleïnezuur. Het wordt voornamelijk gebruikt in de voedingsindustrie als levensmiddelenadditief (zuurregelaar), maar ook enkele toepassingen zijn bekend bij de productie van onverzadigde polyesterharsen en als grondstof voor de productie van polyolen. Maleïnezuur wordt gevormd door de oxidatie van butaan. Een aangepast



oxidatieproces resulteert in de vorming van maleïnezuuranhydride. Maleïnezuur wordt voornamelijk gebruikt bij de productie van fumaarzuur (door isomerisatie) en wijnsteenzuur.

#### *Glutamine en glutaminezuur naar GABA*

De hydrolyse van de amidefunctionaliteit van glutamine resulteert in de vorming van glutaminezuur. Glutaminezuur kan een platform zijn voor de productie van verschillende chemicaliën (figuur 4). Glutaminezuur kan decarboxylering ondergaan wat resulteert in de vorming van  $\gamma$ -aminoboterzuur (GABA). GABA kan worden gevonden in planten en dierlijke weefsels en wordt gevormd bij de metabolisme van L-glutaminezuur. GABA gebaseerd producten worden gebruikt als sedativa en spierverslappers. Verder wordt het gebruik van glutaminezuur gerapporteerd, dat verkregen is door fermentatie, als bouwsteen voor een aantal commerciële chemische producten zoals 5-amino-1-butanol en glutaarzuur. Het gebruik van glutaminezuur en GABA als een platform voor een aantal chemicaliën is in de recente literatuur beschreven.



**Figuur 4.** *Glutaminezuur als platform voor de productie van verschillende chemicaliën.*

### *Glutamine en glutaminezuur naar N-methylpyrrolidon, 2-pyrrolidon en N-vinylpyrrolidon*

Een techno-economisch haalbaar batchproces met behulp van glutaminezuur en geïmmobiliseerde glutaminezuur  $\alpha$ -decarboxylase is beschreven in de literatuur. Het geproduceerde GABA kan vervolgens ringsluiting ondergaan en methylering met methanol, in aanwezigheid van een katalytische hoeveelheid van een metaalhalogenidezout bij hoge temperatuur tot de vorming van N-methylpyrrolidon (NMP). Momenteel wordt NMP (een industrieel oplosmiddel) geproduceerd via de aminomethylation van  $\gamma$ -butyrolacton met methylamine. 2-Pyrrolidon kan ook gemakkelijk gevormd worden door de cyclisatie van GABA (in de afwezigheid van methanol en katalysator). 2-Pyrrolidon wordt momenteel geproduceerd vanuit acrylonitril of  $\gamma$ -butyrolacton en wordt gebruikt als grondstof voor de productie van N-vinylpyrrolidon. De omzetting van 2-pyrrolidon met behulp van acetyleen is een proces dat momenteel wordt geëxploiteerd door BASF. Poly(vinylpyrrolidone) is een speciality polymeer met toepassingen als bindmiddel en bloedplasmavervanger in de cosmetische en medische sectoren en heeft een prijs van circa 15 € per ton.

### *Glutamine en glutaminezuur naar acrylonitril*

Acrylonitril kan gemaakt worden door de oxidatieve decarboxylering van glutaminezuur naar cyanopropaanzuur, gevolgd door een decarboxylerings eliminatiereactie. De eerste reactie kan met goede efficiëntie worden uitgevoerd. Het gebruik van NaOCl, echter, had een negatief effect op de techno-economische en LCA evaluatie. Daarom worden er inspanningen verricht om een meer geschikt en milder katalytisch oxidatief systeem te vinden.

### *Glycine naar oxaalzuur*

Elektrolyse van glycine in salpeterzuur resulteert in de vorming van oxaalzuur. Oxaalzuur wordt gebruikt in de textiel- en pulp industrie, alsmede voor de behandeling van afvalwater. De efficiëntie van dit proces blijft echter onduidelijk waardoor deze route niet verder is onderzocht.

### *Glycine naar ionische vloeistoffen*

Sommige planten hebben een mechanisme om zure omstandigheden te kunnen tolereren. Dit wordt gedeeltelijk toegeschreven aan de aanwezigheid van glycine die een ionische vloeistof vormt met betaïne (trimethyl glycine). Betaïne kan eenvoudig geïsoleerd worden uit suikerbieten en kan samen met glycine biobased ionische vloeistoffen vormen.

### *Leucine en isoleucine conversies*

Theoretisch is het mogelijk om een methode te ontwikkelen, gebaseerd op stofwisselingsroutes, om isopreen via dimethylallyl pyrofosfaat te maken met behulp van het enzym isopreen synthase. Er zijn echter geen aanwijzingen dat dit daadwerkelijk uitgevoerd wordt. Leucine en isoleucine kunnen worden gedecarboxyleerd voor de productie van de vertakte C5 aminen (isobutylamine en 2-methylbutylamine respectievelijk). Er wordt gesuggereerd dat deze aminen commerciële

mogelijkheden kunnen hebben in voedsel- en geurtoepassingen. Productiehoeveelheden zijn echter onbekend.

#### *Lysine naar 1,5 pentaandiamine*

Het gebruik van lysine kan worden overwogen om een aantal monomeren te produceren voor de synthese van nylon. Het gebruik van lysine decarboxylase voor het maken van 1,5-pentaandiamine is aangetoond in verschillende artikelen. De meeste polyamiden worden echter gemaakt vanuit C4 of C6 diamines in combinatie met dizuren, zoals adipinezuur. Die polyamiden bezitten goede waterstofbindingen tussen de polymere ketens teneinde goede chemische, thermische en mechanische eigenschappen te bereiken. C5 met diamines zijn, voor zover we weten, minder interessant voor de synthese van het huidige commerciële nylon materiaal. Ontwikkelingen op het gebied van nieuwe polyamiden kunnen echter leiden tot meer mogelijkheden voor 1,5-pentanediamine.

#### *Lysine naar $\epsilon$ -caprolactam*

In tegenstelling tot de conversie naar 1,5-pentaandiamine, is meer aandacht besteed aan de conversie van lysine (geproduceerd via vergisting) naar  $\epsilon$ -caprolactam, dat gebruikt wordt bij productie van nylon-6. Gezien de problemen van de huidige petrochemische productie, waarbij grote hoeveelheden sulfaat tijdens de productie worden gegenereerd, is het discutabel of deze route een duurzaam alternatief biedt. Ook andere routes worden onderzocht, hoewel (bio)chemische omzettingen niet-triviaal blijven.

#### *Phenylalanine naar styreen*

De conversie van phenylalanine naar kaneelzuur is uitvoerig beschreven met behulp van phenylammonia lyase evenals de decarboxylering van kaneelzuur tot styreen.

Het gebruik van *Cryptococcus elinovii* en *Camellia sinensis* gegroeid op kaneelzuur resulteerde in (gedeeltelijke) conversie naar styreen.

Recente ontwikkelingen in cross metathese (ethenolysis) hebben geleid tot nieuwe productieroutes voor styreen. Eneoc zuren zoals kaneelzuur kunnen hier een metathese-reactie ondergaan met ethyleen voor de simultane productie van styreen en acrylzuur. Deze route biedt het voordeel van het gebruik van bio-ethyleen voor de productie van acrylzuur (esters). Styreenproductie op industriële schaal gaat uit van ethylbenzeen en wordt geproduceerd voor de productie van bijvoorbeeld (poly)styreen en onverzadigde polyesterharsen.

#### *Proline naar $\gamma$ -butyrolactam (pyrrolidon) en pyrrolidine*

Proline kan omgezet worden in  $\gamma$ -butyrolactam (pyrrolidone) door oxidatieve decarboxylering in de aanwezigheid van iodobenzeen. Eveneens mogelijk is een conversie van proline naar

pyrrolidine. Decarboxylering van proline leidt tot de vorming van pyrrolidine. Industriële synthese van pyrrolidine wordt uitgevoerd voor de pharma.

#### *Serine naar ethanolamine*

$\alpha$ -Decarboxylering van serine resulteert in de vorming van ethanolamine. Ethanolamine is een industrieel product gebruikt als tussenproduct voor herbicide, textiel, metaal, wasmiddel, kunststoffen en personal care producten met productievolumes van enkele honderden kton per jaar.

#### *Threonine naar isopropylamine*

Studies hebben gekeken naar de oxidatieve decarboxylering met zuur en thermische decarboxylering in aanwezigheid van ketonen wat resulteert in de vorming van 1-amino-2-hydroxypropan (isopropanolamine). Isopropanolamine wordt momenteel geproduceerd door de reactie van propyleenoxide en ammoniak en wordt gebruikt onder andere bij de productie van oppervlakte actieve stoffen, pigmenten, smeermiddelen en schuimproducten.

#### *Threonine naar allyl amine*

Isopropanolamine kan ook omgezet worden in allylamine dehydrogenering in de gasfase met behulp van een oxide katalysator. Allylamine, gemaakt door reactie van allylchloride met ammoniak, wordt gebruikt in antischimmel preparaten.

#### *Threonine naar propionzuur*

Conversie van threonine en 2-oxobutyrate door *Fusobacterium* leidt tot de vorming van 2-hydroxybutyraat en propionaat. Propionzuur is commercieel beschikbaar voor toepassing in anti-schimmel preparaten, als tussenproduct in pesticiden en farmaceutische producten en wordt bereid door de lucht oxidatie van propanal. Echter, het is onwaarschijnlijk dat de productie van propionzuur vanuit aminozuren concurrerend is met de verder ontwikkelde gisttechnologie.

#### *Tryptofaan naar catechol*

De oxidatie van tryptofaan kan verscheidene producten opleveren, zoals de vorming van catechol dat verder kan worden geoxideerd tot muconic zuur. Muconic zuur is een potentieel substraat voor de productie van adipinezuur dat wordt gebruikt bij in de synthese van nylon-6, 6. Het is ook waargenomen dat accumulatie van catechol (en 2,3-dihydroxybenzoic zuur) optreedt in de culturen van *Aspergillus niger* in aanwezigheid van L-tryptofaan. Wanneer L-tryptofaan werd gebruikt bij de groei van *Bacillus megaterium* ontstond catechol als tussenproduct.

#### *Tryptofaan naar aniline*

Minder goed gedocumenteerd is de conversie naar aniline. Een combinatie van enzymatische omzettingen, fotolysis en chemische omzetting zou kunnen leiden tot aniline met opmerkelijke selectiviteit en conversie.

### *Tyrosine naar hydroxystyreen*

Vergelijkbaar met de conversie van fenylalanine, zijn reacties beschreven om uitgaande van tyrosine hydroxystyreen te produceren. Hydroxystyreen is een specialty chemical en wordt toegepast in de elektronica.

## **5.5 Perspectieven voor de productie van chemische stoffen uit aminozuren**

Zoals weergegeven in hoofdstuk 4 is het essentieel dat aminozuren geïsoleerd kunnen worden met voldoende efficiëntie en zuiverheid om omgezet te kunnen worden naar diverse chemicaliën. Belangrijke vooruitgang is geboekt op het ontwikkelen van nieuwe routes, echter voor grootschalige productie is waarschijnlijk de ontwikkeling van actieve en stabiele enzymen, alsmede nieuwe heterogene katalysatoren zeer belangrijk. Bovendien is de ontwikkeling van technieken voor biorefinery en scheiding van verschillende componenten cruciaal. Binnen Nederland zijn er diverse initiatieven ter ondersteuning van het onderzoek op het gebied van biobased chemicaliën, biotechnologie, chemie en hernieuwbare grondstoffen. Hoewel veel trajecten zich richten op het gebied van koolhydraten, zijn technologie en (bio) chemische transformaties van aminozuren ook betrokken bij deze programma's. Dergelijke ontwikkelingen zullen een belangrijke rol hebben voor een succesvolle implementatie. Het is ook belangrijk dat de Topsector-Chemie en de Regiegroep Chemie het gebied van biotechnologie, (bio) katalyse en efficiënte processen blijft steunen.

Van het gebruik van 1 miljoen ton eiwit kunnen 20 verschillende aminozuren beschikbaar worden gemaakt op een schaal van elk 50000 ton. Zoals eerder is beschreven, kunnen ongeveer 18 aminozuren worden gebruikt als grondstoffen voor chemische stoffen. Uit elk aminozuur kan circa 30000 ton product worden geproduceerd. In totaal vertegenwoordigt dit de vervanging van 540000 ton van fossiele grondstoffen afgeleide chemicaliën. Het wordt aangenomen dat de huidige fossiel gebaseerde productie van gefunctionaliseerde chemische stoffen in de orde is van 60-80 GJ/ton. Voor 540000 ton chemicaliën is het totale energieverbruik dan 32-43 PJ. Ongeveer 1/3 van deze energie wordt toegeschreven aan de fossiele koolstof inhoud aanwezig in het molecuul en 2/3 wordt toegeschreven aan energie die nodig is voor de verwerking. Het gebruik van aminozuren zou de inhoud van fossiele koolstof verminderen in het molecuul resulterend in fossiele energiebesparingen van 10-15 PJ. Als de functionaliteit van aminozuren gecombineerd wordt met het gebruik van nieuwe technologieën zou dit tot verdere energiebesparing kunnen leiden.

Het onderzoek van aminozuren als een grondstof voor de productie van chemische stoffen staat nog in de kinderschoenen. Uit recente LCA en techno-economische studies blijkt echter het potentieel. Een goed voorbeeld is NMP, een industriële oplosmiddel, maar ook de productie van ethanolamine, butaandiamine en producten uit asparaginezuur heeft potentie. De studies laten

ook zien welke technologieën/transformaties verbeterd moeten worden. Onderzoek richt zich nu op deze gebieden

Om grootschalige productie van biobased chemische stoffen mogelijk te maken, zullen nieuwe allianties worden gecreëerd. Op locaties waar eiwitten/amino zuren kunnen worden geïmporteerd of gegenereerd kan dit leiden tot nieuwe fabrieken. Bijvoorbeeld in de haven van Rotterdam worden verschillende perskoeken geïmporteerd en er is een uitgebreide chemische industrie die aminozuren kan benutten gebruik makend van bioraffinage. Bedrijven die eiwit stromen genereren, zoals bij de ethanolproductie in de vorm van DDGS, kijken naar de mogelijkheid om toegevoegde waarde te creëren door samen te werken met bioraffinage en chemische ondernemingen. Vergelijkbaar aan deze aanpak, zullen agrobédrijven die eiwit met afval genereren, als gevolg van plantaardige productie, verder onderzoeken hoe toegevoegde waarde van de huidige keten kan worden verkregen. Bijvoorbeeld, onderzoekt de industrie suikerbieten de suikerbieten bladeren als eiwitbronnen voor verdere toepassing.

## 6 Technische toepassingen en chemische modificaties van eiwitten

### 6.1 Toepassingen

Technische toepassingen omvatten een zeer heterogene markt variërend van bijvoorbeeld coatings en lijmen tot kunststoffen en oppervlakte-actieve stoffen. Vaak, worden synthetische materialen gebruikt in deze toepassingen. Bij de ontwikkeling van technische toepassingen moeten eiwitten ook concurreren met andere biopolymeren, zoals zetmeel. Echter, vanwege specifieke functionele eigenschappen, kunnen eiwitten beter geschikt zijn voor bepaalde toepassingen. Bijvoorbeeld, eiwitten hebben een hoge kleefkracht en kunnen daardoor als lijm worden gebruikt. Eiwitten zoals caseïne stabiliseren emulsies hetgeen de basis is voor hun gebruik in verven. Industriële eiwitten kunnen worden gedefinieerd als eiwitten die geproduceerd worden op een voldoende grote schaal voor hun gebruik in technische toepassingen. In voedselsystemen worden eiwitten, naast hun voedingswaarde, vaak gebruikt om hun specifieke fysische eigenschappen, zoals water-oplosbaarheid, emulgeer- en schuimcapaciteit. Relevante eigenschappen van industriële eiwitten voor technische toepassingen omvatten onder andere:

- Processing, zowel in waterig milieu als in de smelt;
- Filmvormende eigenschappen;
- Hechting op tal van substraten;
- Goede barrière eigenschappen voor zuurstof en koolstofdioxide;
- Bescherming tegen UV straling;
- Resistentie tegen verschillende chemische oplosmiddelen.

Voor de vervanging van synthetische materialen door hernieuwbare grondstoffen, zoals eiwitten, moet eveneens voldaan worden aan een aantal industriële eisen, zoals:

- Materialen moeten verwerkbaar zijn op de apparatuur gebruikt voor synthetische polymeren (zoals extrusie- en spuitgietapparatuur);
- Gelijke goede prestaties als de momenteel gebruikte materialen, met name in termen van mechanische/barrière eigenschappen en water gevoeligheid;
- Economische haalbaarheid.

In het verleden werden eiwitten reeds in technische toepassingen gebruikt. In de papierindustrie zijn eiwitten gebruikt als bindmiddelen in coatings en als lijmen. Lijm op basis van collageen was het eerste materiaal dat werd gebruikt voor het lijmen van papier. Aan het eind van de 19e eeuw, toen de vraag naar gecoat papier toenam, verving caseïne collageen in verschillende lijmsystemen. Soja-eiwit, een eiwit met vergelijkbare eigenschappen als caseïne, is ook gebruikt als een binder in gecoate papieren. Ook werden triplex lijmen op basis van soja-eiwit ontwikkeld. Gelatine werd meer dan honderd jaar gebruikt als een binder in fotografische producten. In het begin van de 20-ste eeuw heeft onderzoek aangetoond dat industriële toepassingen mogelijk zijn op basis van soja-eiwit in zowel kunststoffen en lijmen. Henry Ford was een belangrijke pionier in dit gebied en gebruikte soja-eiwit in diverse auto-onderdelen. Geregenereerde eiwitvezels zijn commercieel

gemaakt sinds de jaren 30. Verscheidene zijn gebaseerd op caseïne en soja-eiwit. De laatste decennia zijn hydrolysaten van keratine, gelatine en tarwe gluten gebruikt in cosmetica bijvoorbeeld als oppervlakte-actieve stoffen in shampoos. Als gevolg van de opkomst van petrochemische producten in de jaren zestig, werden eiwitten vervangen door synthetische polymeren in de non-food-sector. Een belangrijke reden voor deze vervanging is de lagere prijs van petrochemische stoffen, maar ook verschillen in prestaties zijn in dit opzicht van belang. Echter, de afgelopen tien jaar is er een toenemende vraag van consumenten en industrieën om synthetische polymeren te vervangen door milieuvriendelijke polymeren uit hernieuwbare bronnen. Bovendien is door de stijgende olieprijs ook de prijzen van aardolie-gebaseerde polymeren toegenomen. Hiernaast hebben eiwitten potentieel in technische toepassingen in verband met specifieke functionele eigenschappen zoals een goede barrière voor gassen, amphipaticiteit en hoge plakkracht tack.

In algemene zin kan worden gezegd dat het gebruik van eiwitten in technische toepassingen (tot op heden) in de volgende hoofdproducten kan worden ingedeeld:

- Lijmen;
- Coatings;
- Surfactants;
- Bioplastics.

In tabel 8 zijn voorbeelden weergegeven van eiwitten in verschillende toepassingen en welke eigenschappen van belang zijn.

**Tabel 8.** *Technische toepassingen van industriële eiwitten*

<b>Product</b>	<b>Eiwit</b>	<b>Voorbeeld</b>	<b>Eigenschap</b>
lijm	caseïne, tarwegluten, soja- eiwit, gelatine	Water-gebaseerde smelt	processing tack bindingssterkte
coating	soja-eiwit, caseïne, zeïne	verf inkt papiercoating	filmvorming sterkte waterresistentie
surfactans	keratine, tarwegluten	emulgeerder detergent wettingsmiddel	oppervlaktetensioning stabilisatie van grensvlak
plastic	soja-eiwit	verpakking	sterkte smelt treksterkte waterresistentie

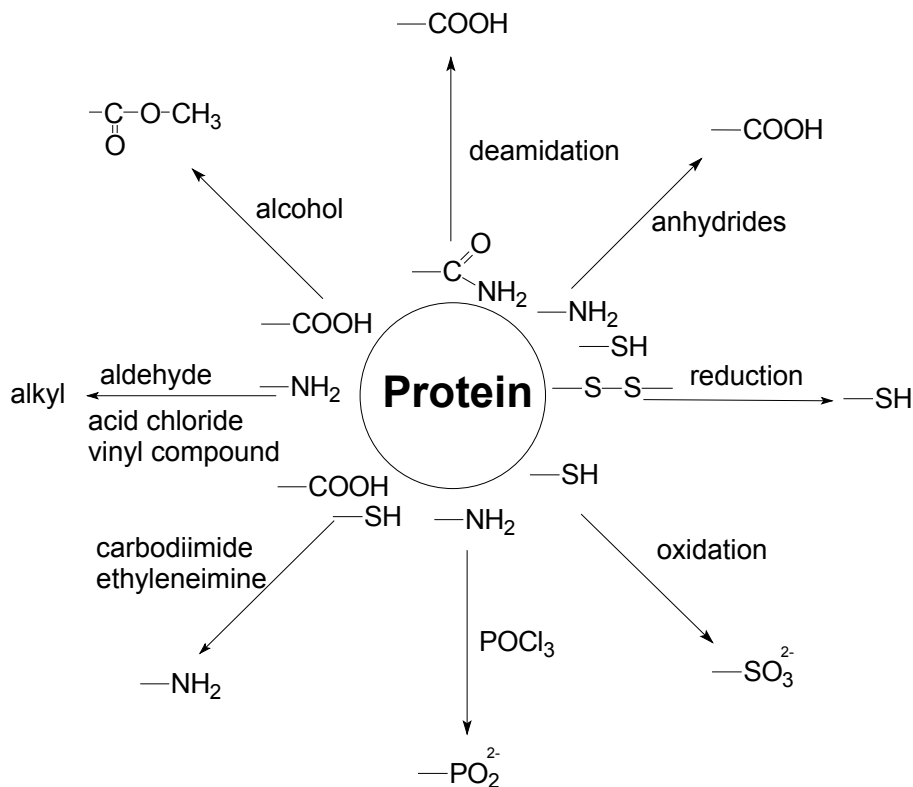


Het onderzoek naar de technische toepassingen van industriële eiwitten is tot nu toe echter relatief beperkt geweest. Een van de redenen is de relatief hoge prijs van de eiwitten. De meeste toepassingen van eiwitten waren dan ook producten met een hoge toegevoegde waarde. Naar verwachting zullen er echter in de toekomst eiwitbronnen beschikbaar komen met een lagere prijs dan de traditioneel geproduceerde eiwitten voor de voedingsindustrie. In hoofdstuk 3 zijn de verschillende eiwitten beschreven die op grote schaal geproduceerd worden. Hierbij is een onderverdeling gemaakt naar eiwitten die al jarenlang op de markt zijn, de traditionele eiwitten, en nieuwe eiwitbronnen of eiwitbronnen die op zich niet nieuw zijn, maar wel vanuit een nieuw perspectief kunnen worden benaderd, zoals perskoeken van oliehoudende zaden. Met name voor de opkomende, nieuwe eiwitbronnen liggen er kansen voor gebruik in technische toepassingen. Deze eiwitten mogen in verband met regelgeving niet geïsoleerd worden en in voeding worden gebruikt. Wellicht dat in de toekomst dit zal veranderen, maar om een nieuw eiwit op de voedingsmarkt te brengen is een dure aangelegenheid. Op het gebied van algen wordt momenteel veel onderzoek verricht, wat zich grotendeels richt op de kweek en isolatie van de algen ten behoeve van hun olie. Berekeningen laten echter zien dat alleen de benutting van de olie geen rendabel proces zal opleveren. Naast de olie is het eiwit de grootste fractie en verwaarding hiervan is derhalve cruciaal.

Zoals in hoofdstuk 2 is aangegeven liggen de meeste perspectieven van eiwitten in technische toepassingen in de chemische sector. Een niche markt voor het gebruik van intacte, functionele eiwitten als bioplastic, lijm of binder in coatingformuleringen zal kunnen blijven bestaan.

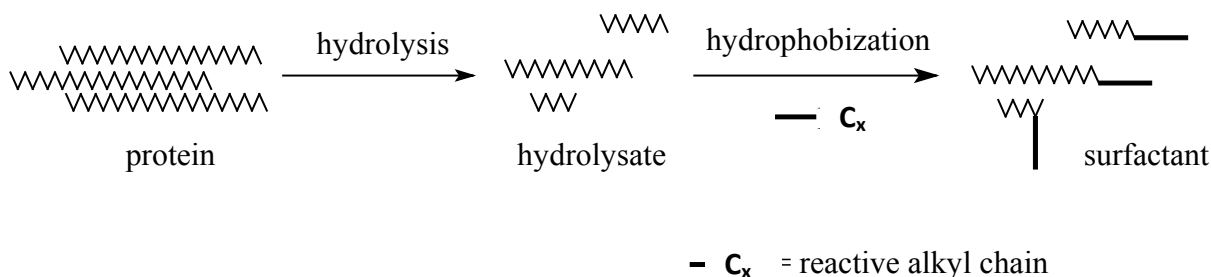
## **6.2 Chemische modificaties**

Voor de ontwikkeling van technische toepassingen op basis van eiwitten is het veelal noodzakelijk om de fysische en chemische eigenschappen aan te passen. In tegenstelling tot veel andere biopolymeren, zoals zetmeel, bezitten eiwitten veel verschillende functionele groepen die chemisch omgezet kunnen worden. Zoals eerder opgemerkt zijn eiwitten voor veel toepassingen te watergevoelig. Om de watergevoeligheid van eiwitten te verbeteren kunnen eiwitten hydrofober gemaakt worden door bijvoorbeeld vetzuren te koppelen aan de eiwit back bone. Een andere manier om een eiwit minder watergevoelig te maken is door middel van cross-linking. Hierbij worden ketens aan elkaar gekoppeld en ontstaat een onoplosbaar netwerk. Aan de andere kant kan een eiwit beter oplosbaar in water worden gemaakt door het aanbrengen van hydrofiële groepen. Dit kan bijvoorbeeld door middel van een deamidatiereactie waarbij respectievelijk asparagine en glutamine worden omgezet in asparaginezuur en glutaminezuur. In figuur 5 is weergegeven welke mogelijkheden er zijn om eiwitten chemisch te modificeren.



**Figuur 5.** Mogelijkheden voor chemische modificatie van eiwitten.

Naast het modifieren van eiwitten teneinde de fysische eigenschappen van min of meer intacte eiwitten aan te passen, kunnen de aanwezige functionele groepen ook gebruikt worden om chemische bouwstenen te maken. Momenteel wordt veel onderzoek gedaan aan het omzetten van aminozuren in chemische verbindingen (hoofdstuk 5). Aanvullend hieraan kunnen ook peptiden (gehydrolyseerde eiwitten met een laag molecuulgewicht) omgezet worden tot chemische bouwstenen of oppervlakte actieve stoffen. De algemene bereidingswijze van een oppervlakte actieve stof is weergegeven in figuur 6.



**Figuur 6.** Schematische weergave van de productie een oppervlakte actieve stof vanuit een eiwit

## 7 Interviews met Rijksuniversiteit Groningen, NIZO en VION

De visie op de potentie van eiwitten voor technische toepassingen, zoals opgesteld door Wageningen UR, is via een drietal interviews aangevuld door de Rijksuniversiteit Groningen, het onderzoeksinstituut NIZO en het bedrijf VION. De input werd geleverd aan de hand van een aantal discussiepunten:

- Wat is de visie op het toekomstig eiwitonderzoek?
- Wat zijn de kansen voor eiwitten in technische toepassingen?
- Welke technologieën moeten ontwikkeld worden voor succes?
- Welke markten en bedrijven zijn geïnteresseerd in eiwitten met technische toepassingen en kunnen daaraan geld verdienen?

Voor een deel is het eiwitonderzoek in Nederland tot stand gekomen op basis van een eiwitagenda, lopende tot 2020, die met name is opgesteld door Bridge2Food. Die eiwitagenda bevat:

- Eiwitrijke voedingsmiddelen (o.a. duurzaamheid en vleesvervangers);
- Innovatieve eiwitten (o.a. bioactieve peptiden, insecten eiwit, eiwitten uit algen en koolzaad, nieuwe processingmethoden voor bestaande eiwitten);
- Eiwitten uit biorefinery (o.a. eiwitten uit reststromen van de biobrandstofproductie en eiwitten uit algen).

In de toekomst zal het accent van het eiwitonderzoek liggen op hun toepassingen in voedselsystemen. Echter, er zullen zeker mogelijkheden zijn voor eiwitten in technische toepassingen, met name ook voor nieuwe eiwitten die op de markt komen en die op basis van de Novel Food wetgeving niet in voedsel mogen worden verwerkt. Deze mogelijkheden dienen in kaart gebracht te worden met behulp van input uit het bedrijfsleven. Onderzoek naar de mogelijkheden van eiwitten in de technische sector is nog nauwelijks georganiseerd. Daarom zal via een stapsgewijze aanpak, waarbij een selectie van bedrijven wordt gemaakt, de industrie benaderd moeten worden.

Eiwitten uit biomassa kunnen op verschillende wijzen benut worden. Indien de eiwitten redelijk intact zijn gebleven kunnen binders voor coating- en lijmsystemen worden gemaakt, of thermoplastisch verwerkt worden. Als voorbeeld wordt genoemd de thermoplastische verwerking van keratine tot een bioplastic door Keratec, een Nieuw-Zeelands bedrijf dat nieuwe materialen maakt op basis van natuurlijke bronnen en innovatieve technologieën. Voor het benutten van eiwitten uit nieuwe biomassa's is het van belang om een strategie te bepalen in welke hoedanigheid de eiwitten gebruikt kunnen worden. Bijvoorbeeld, de eiwitten die aanwezig zijn in perskoeken oliehoudende zaden hebben over het algemeen voor eiwitten onder "zware omstandigheden" gestaan. Tijdens het verwijderen van de oliefractie wordt meestal hexaan

gebruikt dat bij hoge temperatuur weer wordt verwijderd. Dit heeft tot gevolg dat de aanwezige eiwitten gedenatureerd/gemodificeerd zijn en grotendeels hun functionaliteit hebben verloren wat vereist is voor bijvoorbeeld toepassing in voedingsmiddelen. In dat geval is het waarschijnlijk niet zinvol om naar de eigenschappen van het polymeer te kijken die relatie houdt met de eiwitconformatie, maar de specifieke eigenschappen van peptiden en/of aminozuren te bestuderen. In dat laatste geval speelt het geen rol dat eiwitten gedenatureerd zijn, dit kan zelfs een voordeel zijn.

Een belangrijk aspect bij de opwaardering van eiwithoudende biomassastromen is de mogelijkheid om eiwit(fracties) uit een dergelijke matrix te kunnen benutten. Nieuwe eiwitbronnen die op de markt gaan komen zijn over het algemeen ingewikkelde mengsels. Om (fracties) eiwitten hieruit te isoleren speelt de ontsluiting een cruciale rol. Momenteel wordt met name onder zure of basische omstandigheden, al dan niet met hulp van enzymen, ontsluiting en isolatie uitgevoerd. Ontsluiting van biomassa met een complexe samenstelling is ingewikkeld onder andere omdat veel interacties tussen verschillende componenten plaats vinden. Op dit vlak is meer fundamentele kennis nodig. Die kennis kan namelijk benut worden bij het ontwikkelen van nieuwe technologieën om een goede ontsluiting mogelijk te maken. Randvoorwaarde bij het vinden van alternatieve ontsluitingstechnieken is dat de extra kosten en energie die een dergelijke techniek met zich meebrengt in relatie tot de prijs die voor voedsel-eiwitten wordt betaald rendabel is.

Verskillende soorten bedrijven zouden geïnteresseerd kunnen zijn in eiwitten voor technische toepassing:

- Producenten van grondstoffen
- Reststroomverwerkers
- Technologiebedrijven/eindgebruikers

Een bedrijf als VION is reeds bekend met de verwaarding van de oliën en vetten, bijvoorbeeld voor gebruik in de oleochemie. De schone stroom Food Grade bevat hoogwaardige gelatine en bloedeiwit. VION is reeds bezig met onderzoek op dit gebied. Echter, voor de meest onzuivere stroom, die veel eiwit en vet bevat, zoekt VION mogelijkheden buiten het verbranden (vooralsnog beperkt door regelgeving). Deze stroom zou bijvoorbeeld gebruikt kunnen worden om te hydrolyseren waarbij eiwitfragmenten worden omgezet in aminozuren. Die aminozuren zouden vervolgens via chemische processen kunnen worden omgezet in bouwstenen voor de chemische industrie.