

Afsluttende rapport

Fødevarer ingredienser fra grøn bioraffinering

Projektperiode: 01.02.2019 – 31.10.2020



midt
regionmidtjylland

DEN EUROPEISKE UNION
Den Europæiske Fond
for Regionaludvikling

Vi investerer i din fremtid

 **AGRO
BUSINESS
PARK**

Indholdsfortegnelse

Indledning	2
Produktion af grøn materiale i marken	3
Ekstraktion af protein.....	3
Effekt af antioxidanter.....	5
Filtrering	5
Tørring.....	6
Biokemisk evaluering og fordøjeligheder.....	6
Aminosyresammensætning.....	6
Proteinkarakterisering.....	8
Fedtsyresammensætning og antioxidativ status.....	9
In vitro fordøjelighed.....	10
In vivo fordøjelighed.....	10
Ekstrudering	12
Karakterisering af funktionalitet og formulering af fødevarer	12
Karakterisering af funktionalitet	12
Formulering af fødevarer	13
Sensorik og forbrugerundersøgelse	14
Konklusioner.....	16
Referencer.....	16

Indledning

Grundet en stigende verdensbefolkning og et øget indtag af animalske proteinkilder, er der en stigende efterspørgsel efter protein på verdensplan. Derfor er der et behov for at finde nye alternative og bæredygtige kilder til protein. En af disse kilder til protein kan være protein fra grøn biomasse i form af bladgrønt såsom kløver, græs og lucerne. Disse planter indeholder forholdsvis store mængder protein og kan producere et højt proteinudbytte per areal sammenlignet med andre konventionelle proteinafgrøder såsom majs, korn eller soja. Desuden vil marker med kløver, græs eller lucerne være mere bæredygtige i forhold til konventionelle afgrøder, da de ofte er flerårige og derfor kan udnytte solens lys en større del af året. Ydermere vil de ligeledes give en lavere udvaskning af næringsstoffer. I dette projekt blev lucerne brugt som plantemateriale, da man tidligere har vist at proteinet fra lucerne har gode egenskaber ift. fødevarer. Hvor udviklingen af protein til foder er længere fremme og er blevet testet i demonstrationskala, er der stadig et behov for at udvikle brugen af protein fra grøn bioraffinering til fødevarer. Det overordnede formål med dette projekt var derfor at udvikle på de forskellige trin involveret i produktionen af protein fra grøn bioraffinering med henblik på at få testet proteinet i forskellige fødevarer. Projektet inkluderede arbejdsplaner der fokuserede på både ekstraktion, tørring, karakterisering og test af lucerneprotein i forskellige fødevarerprodukter.

For at proteinet i lucerne kan anvendes til fødevarer skal proteinet ekstraheres fra plantematerialet. Dette kan gøres ved en såkaldt våd-fraktionering hvor en juice-fraktion indeholdende vand og dermed en stor del af de vandopløselige proteiner bliver separeret fra fiberdelen der ender i pressepulpen. Forskellige typer udstyr kan bruges til at få separeret juice fra plantematerialet, men i nyere anlæg til produktion af protein fra grøn biomasse anvendes der hovedsagligt dobbeltskruepressere. Et formål i dette projekt var undersøge om en ny type juicer med indbygget filtrering kunne bruges til at effektivisere produktionen af proteinkoncentrat og mindske indholdet af fiber i proteinkoncentratet. Derudover blev det testet hvordan genpresning af pressepulv ville påvirke udbytte og kvalitet af proteinet ift. til brug i fødevarer.

Til tørring af proteinet kan forskellige metoder anvendes. I laboratorieskala kan frysetørring anvendes og er den mest skånsomme metode, men i større skala anvendes der oftere metoder som "spinflash" tørring, spraytørring eller vakuamtørring til at tørre protein-koncentratet. I dette projekt blev en nyudviklet vakuum-tørrer testet ift. om tørring af proteinet kunne effektiviseres.

Med henblik på at øge kvaliteten af protein ekstraheret fra lucerne blev forskellige antioxidanter tilføjet under presningen af lucerneplanter, og effekten af antioxidanter blev vurderet ved analyser på både juice og det producerede protein.

I sidste ende var det overordnede formål at få vurderet anvendeligheden af lucerneprotein i forskellige fødevarer. Derfor blev funktionalitet af proteinet testet i modelsystemer og proteinet blev desuden testet i forskellige fødevarerprodukter og ultimativt testet i forbrugerpanel, for at få information om hvordan forbrugere kan forventes at tage imod fødevarerprodukter indeholdende protein fra grøn bioraffinering.

Produktion af grøn materiale i marken (WP1)

AU-ANIS stod for høst og leverancer af biomasse i form af lucerne til DTU, AU-FOOD og Sciencebrew. Lucerne blev høstet på forsøgsmarken i Foulum. Der blev høstet lucerne i maj og august 2019, hvor planterne havde et udviklingstrin anset for optimalt for proteinudvinding. Planterne er høstet med en Maksigrass høstmaskine, som høster planterne med én snitflade og straks samler den høstede biomasse op. Man undgår derved en stor del af den kontaminering med jord, som tidligere har givet store udfordringer. Lucernen blev enten processeret direkte eller frosset til senere forsøg.

Ekstraktion af protein (WP2-3)

AU-ANIS/AU-FOOD: I maj 2019 (uge 21) blev der lavet et forforsøg, hvor effekten af tilsætning af forskellige antioxidanter blev undersøgt. Opløsningerne blev tilsat til juicen eller til juicen kombineret med en forvask af lucernen inden processering.

Tabel 1: Ekstraktion maj 2019

Prøve nr	Behandling under processering
1	Kontrol- ingen behandling
2	Sulfit tilsætning
3	Ascorbat tilsætning
4	Kontrol- planter vaskes i vand inden processering
5	Sulfit tilsætning- planter vasket inden processering
6	Ascorbat tilsætning-- planter vasket inden processering
7	Kontrol
8	Sulfit tilsætning
9	Citronsyre
10	Citronsyre- planter vasket inden processering

I august 2019 (uge 33/34) blev der produceret lucerneprotein til firmaer samt til rotte- og funktionalitetsforsøg. Forskellige antioxidanter i forskellige koncentrationer blev undersøgt (se tabel 2). Der blev processeret 214 kg lucerne i laboratoriet, som gav 154 l juice, som herefter blev fældet til 31 kg våd pasta med et tørstofindhold på omkring 15%. Ud over dette, blev der leveret 500 kg lucerne til Sciencebrews processering, som blev udført i Foulum. Prøverne blev enten tørret ved brug af frysetørring eller ved at bruge DryingMates vakuomtørringsudstyr, hvor en afsluttende frysetørring var nødvendig for at fjerne det sidste vand.

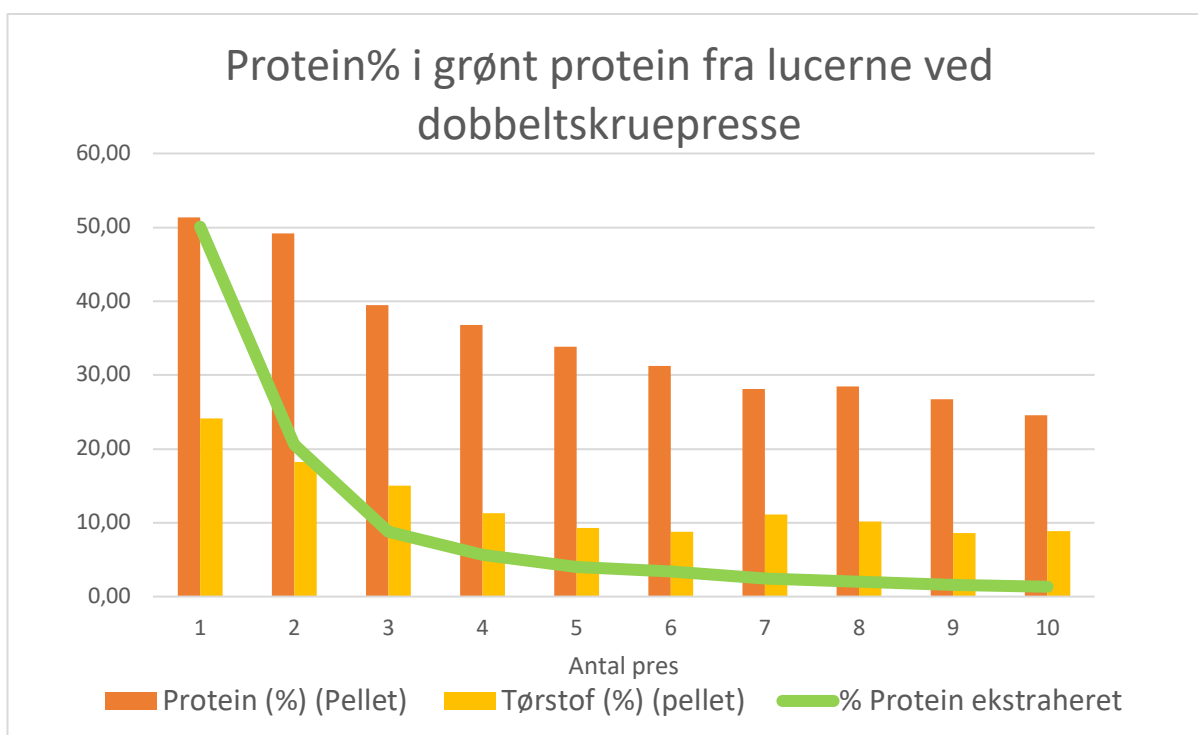
Tabel 2: Ekstraktion til rotte-studier august 2019

Prøve nr	Behandling under processering	Tørringsmetode
1	Kontrol- ingen behandling	½ Frysetørring + ½ tørring i

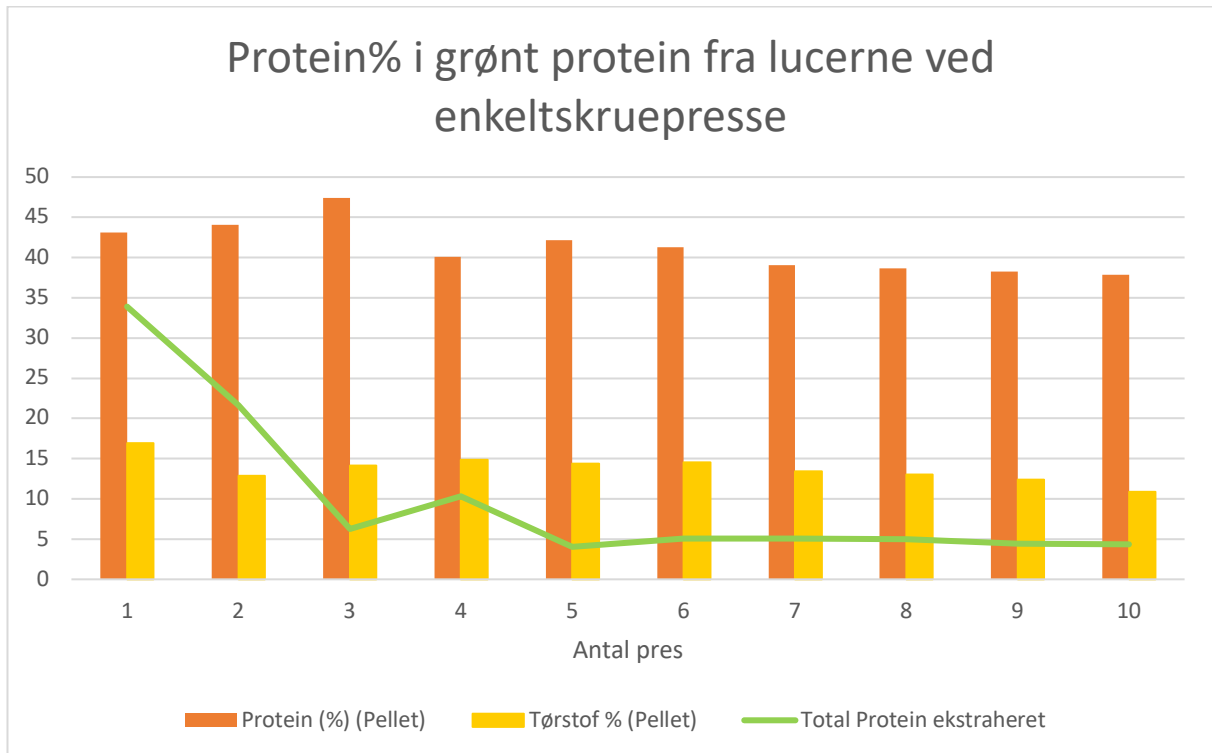
		vacuumtørrer fra Dryingmate
2	Lav sulfit	Frysetørring
3	Høj sulfit	½ Frysetørring + ½ tørring i vacuumtørrer fra Dryingmate
4	Høj askorbat	Frysetørring

DTU Food har under projektet afsøgt forskellige måder at ekstrahere proteinet fra lucerne. Disse har alle været med udgangspunkt fra en grøn juice produceret med enten enkelt eller dobbeltskruepresse. De efterfølgende trin har inkluderet mekanisk, kemisk og termisk fældning af proteinet. Målet med disse fældninger har været at maksimere total udbyttet af protein og samtidig bevare en så høj funktionalitet som muligt. For at minimere oxidation og maksimere funktionalitet i proteinet anbefales det at presse lucernen under kølede forhold. Den grønne juice bør derefter justeres til pH 3,5-4,0, afhængigt af batch, og efterfølgende centrifugeres ved ~2500 G i 10 min ved lave temperaturer. Den resulterende pellet bør dernæst frysetørres for at sikre en lang holdbarhed og høj fordøjelighed.

For at imødekomme sæsoner med lavt høstudbytte har DTU Food undersøgt udnyttelsesgraden af at genvæde lucernepulpen fra skruepresset og genpresse denne. Forsøgene har indikeret at man med fordel kan genpresse pulpen 2 gange ved produktion med dobbeltskruepresse og 3 gange ved enkeltskruepresse.



Figur 1 Pres ved dobbeltskruepresse



Figur 2 Pres ved enkeltskruepresse

Effekt af antioxidanter (AU-FOOD)

I maj blev det testet om forskellige antioxidanter kunne være med til at forøge proteinkvalitet og mindske brunfarvning og oxidative modifikationer og desuden om vask af lucerneplante i antioxidantopløsning inden presning ville have en bedre effekt end at tilsætte antioxidant efter presning af lucernepresning. Aminosyreanalyse af proteinprøver produceret i tilstedeværelse af forskellige antioxidanter viste en mindre effekt af antioxidanter end hvad tidligere er fundet for både lucerne og rødkløver. Der blev udført målinger af aktivitet af redoxzymer, samt opløselighed af frysetørret protein. Målingerne viste at den oxidative aktivitet var lav sammenlignet med aktiviteten i fx rødkløver.

Ligeledes blev der i efter produktionen af protein i august målt på redox-enzymaktivitet og indhold af polyfenoler i prøver med og uden antioxidantbehandling. Desuden blev effekten af antioxidanter analyseret i rotteforsøg og proteinet blev analyseret med SDS-PAGE gel elektroforese (resultater vises senere i rapporten).

Filtrering (WP4)

Science Brew modtog prøver af det grønne materiale, og udførte initiale prøvefiltreringer med sit patenterede filterpresseudstyr på egne faciliteter med det formål at kalibrere og optimere udstyr og processer, så det passede bedst muligt til materialet.

Efterfølgende transportererede Science Brew det nødvendige udstyr i form af maskiner og neddelere til Foulum, for at kunne deltage direkte i de til projektet benyttede faciliteter. Under disse forhold udførte Science Brew forskellige filtreringer og neddelinger af det grønne materiale med det formål at søge at isolere så meget af proteinindholdet som muligt.

Det resulterende filtrerede materiale blev nedpakket og overleveret til AU-FOOD til videre analyser.

Tørring (WP5)

DryingMate: Den oprindelige plan var at de 31 kg proteinkoncentrat produceret hos AU-ANIS/AU-FOOD i august 2019 skulle tørres i den nyudviklede vakuum-tørrer hos DryingMate. Der blev i flere omgange forsøgt tørring af proteinkoncentratet, men grundet mekaniske problemer på vakuum-tørreren, måtte planen ændres og proteinkoncentratet blev i stedet tørret i frysetørrer hos AU-FOOD, for at proteinet kunne leveres til fødevarevirksomhederne i projektet og bruges til funktionalitetsstudier hos AU-FOOD.

Det lykkes dog at tørre mindre mængder proteinkoncentrat både med og uden sulfitbehandling i vakuum-tørreren og derudover blev protein udvundet med Science Brews filterpresse og varmfædlet også tørret i vakuum-tørreren. Erfaringen herfra var at proteinkoncentratet under tørring klistrede til indersiden af vakuum-tørreren (muligvis pga. indholdet af fedt og sukkerstoffer i proteinkoncentratet) og skraber der skulle løsne produkt fra indersiden var ikke i stand til at løsne proteinet i tilstrækkelig grad fra indersiden af tørreren. Desuden blev en del af proteinet "fanget" på bagsiden af skraber, hvor det ikke blev tørret i samme grad som resten af proteinet. Derfor måtte proteinet tørret i vakuum-tørreren tørres yderligere i frysetørrer inden proteinet kunne bruges i rottestudier.

Vurderingen fra DryingMate er at vakuum-tørreren kunne bruges til at tørre lucerneprotein, men at udstyret skal videreudvikles inden det kan bruges optimalt til at tørre proteinet.

Biokemisk evaluering og fordøjeligheder (WP6-8)

Aminosyresammensætning (DTU og AU-ANIS)

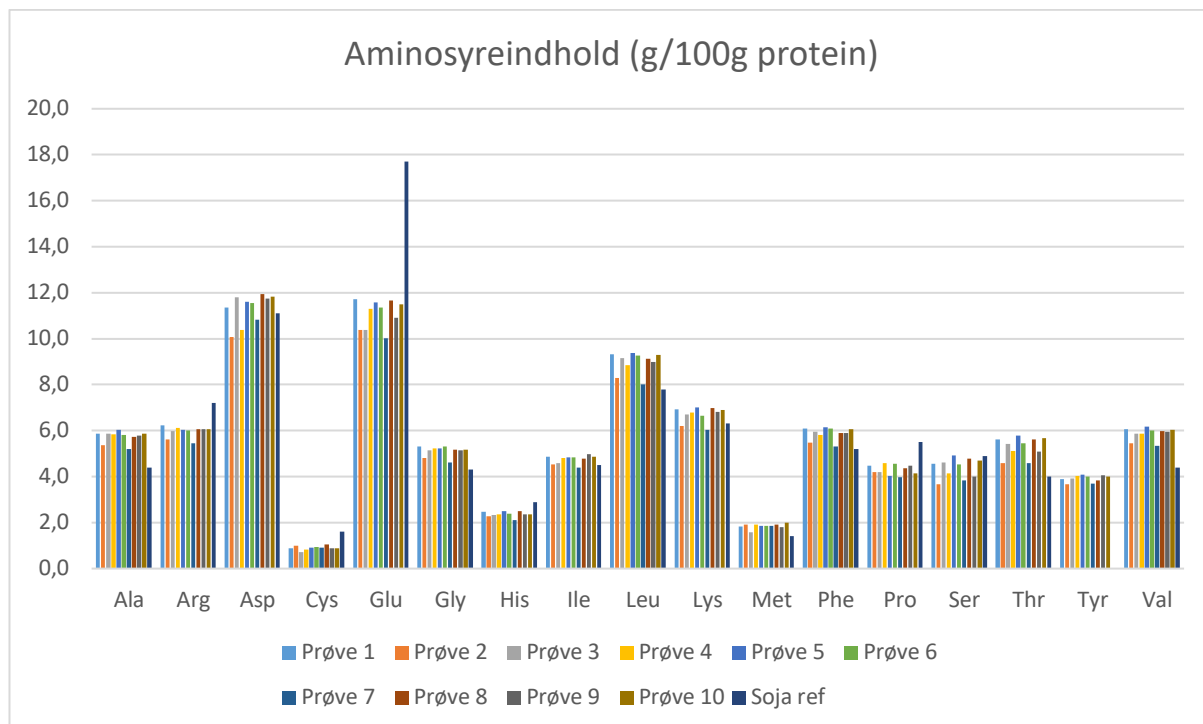
Tabel 3: AU-ANIS/AU-FOOD har analyseret proteinindhold og aminosyresammensætningen i de lucerneprøver, som blev produceret i maj.

Prøve nr.	Behandling under processering	Proteinindhold (% of prøve)
1	Kontrol- ingen behandling (dag 1)	44,8
2	Sulfit tilsætning	45,5
3	Ascorbat tilsætning	44,5
4	Kontrol- planter vaskes i vand inden processering	46,0
5	Sulfit tilsætning- planter vasket inden processering	46,6
6	Ascorbat tilsætning-- planter vasket inden processering	45,0
7	Kontrol- ingen behandling (dag 2)	50,9
8	Sulfit tilsætning	51,0
9	Citronsyre	49,1
10	Citronsyre- planter vasket inden processering	49,3

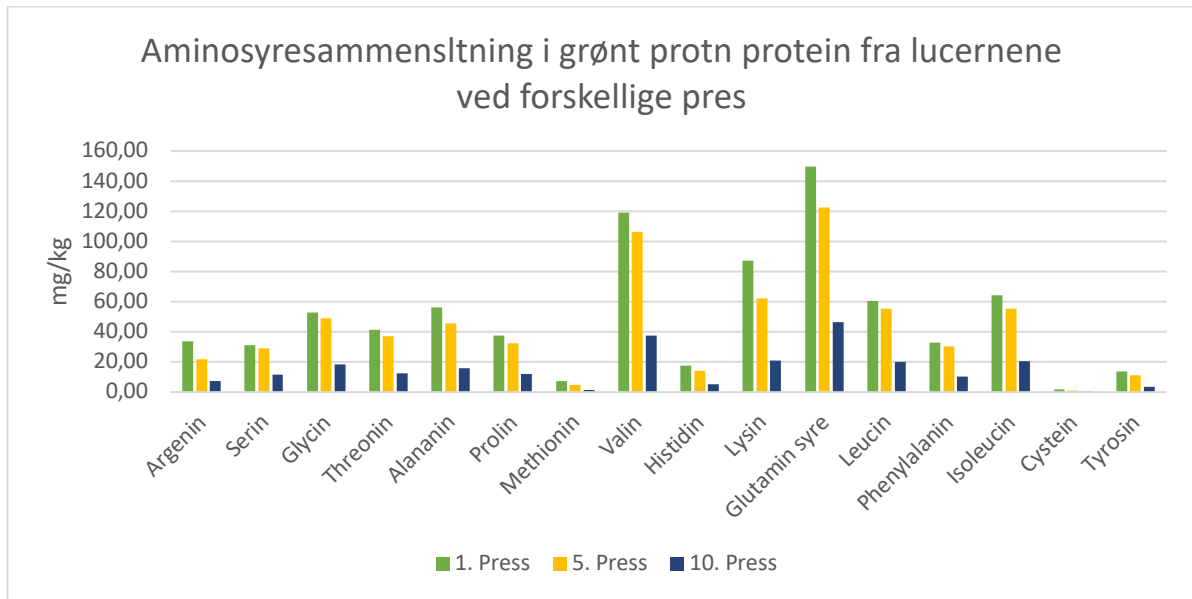
Data viser at der er en stor dagsvariation mellem de to kontroller, trods planterne er høstet på samme markareal. Forskelle i vandindhold i planterne vil påvirke ekstraherbarheden og er

sandsynligvis årsag til forskellene. Der kan derfor ikke differenceres mellem om små forskelle i proteinindhold mellem prøverne skyldes behandling eller naturlig variation mellem dagene.

Aminosyresammensætningen i prøverne viser sammenlignelige niveauer i alle prøver med enkelte variationer. Sojaskrå er taget med som reference (National Research Council, 2012). Indholdet af flere af de essentielle aminosyrer er højere i det ekstraherede lucerneprotein, end hvad der findes i soja. Dette gælder blandt andet methionin og lysin. Som tidligere set har lucerneproteinet et lavt indhold af den anden svovlholdige aminosyre cystein.



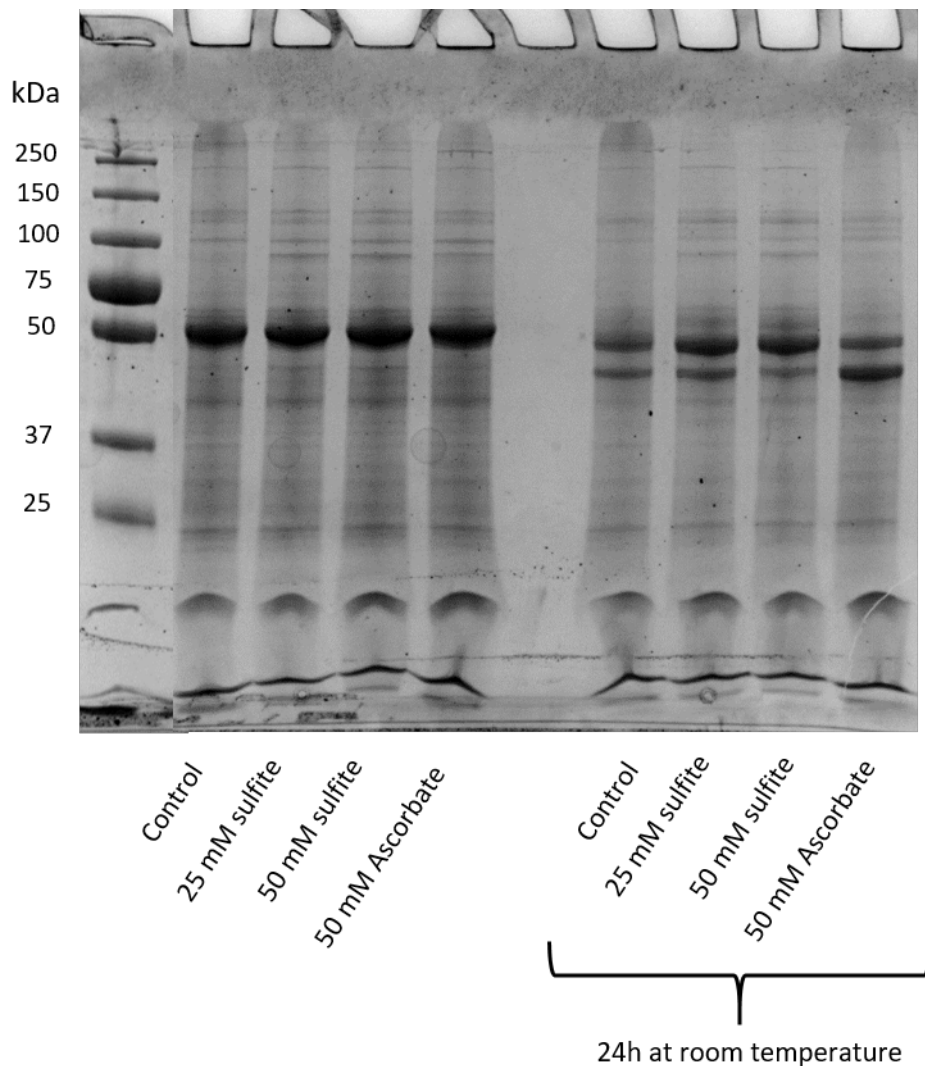
I forlængelse med forsøgene relateret til genpresning af lucernen har DTU også analyseret for sammensætning af aminosyrer i hhv. pres 1, 5 og 10 for at se om kvaliteten af proteinet ændres ved at genpresse lucernen. Det er fundet at den relative aminosyrefordeling er ens, og at genpresning af pulpen dermed ikke foringer næringsværdien af proteinet. Det skal dog bemærkes at den totale koncentration af protein falder ved genpresning som illustreret i Figur 1 og Figur 2.



Figur 3 Aminosyresammensætning af grønt protein fra lucerne

Proteinkarakterisering (AU-FOOD)

Proteinet i juicen produceret ved tilsætning af forskellige antioxidanter blev analyseret ved SDS-PAGE (Figur 5). Det ses på SDS-PAGE gelen at det dominerende protein i lucernejuice og dermed proteinkoncentratet er proteinet ribulose-1,5-biphosphat carboxylase/oxygenase (rubisco) (markant bånd ved 50 kDa). Det var også forventet ift. tidligere rapporter på lucerneprotein. Desuden viste analysen, at antioxidanter ikke havde en stor effekt på mængden af rubisco-protein både uden opbevaring og efter opbevaring i 24 timer ved stuetemperatur.



Figur 4 – Effekten af antioxidantbehandling på mængden af protein

Fedtsyresammensætning og antioxidativ status (AU-ANIS)

Fedt i planten opkoncentreres i proteinpastaen. Størstedelen af fedt i planterne er den umættede omega-3 fedtsyre alfa-linolensyre. Umættet fedt er modtagelige overfor oxidation i bioraffineringsprocesserne, og produkterne vil derfor have større risiko for at harske end ved mere mættet fedt. Derfor er indholdet af fedt (% af prøven) blevet analyseret. Ved et højt oxidativt pres i processerne forbruges antioxidant vitamin E til at neutralisere de frie radikaler, som dannes i oxidationsprocessen. Et højt indhold af vitamin E vil derfor kunne nedsætte de skadelige effekter, som indholdet af umættet fedt i det ekstraherede protein giver.

Fedt-indholdet i prøverne, som er brugt til rotteforsøg, ligger på samme niveau som tidligere forsøg. Fedtindholdet er her uafhængig af proteinindhold. Et højt indhold af protein fører dermed ikke til et lavere indhold af fedt. Desuden indikerer data, at fedtindholdet ikke påvirkes af produktionsmetode eller af tilsat antioxidant.

Tabel 4: Fedt% og vitamin E indhold

Prøve nr	Behandling og tørring	Fedt%	Vitamin E ($\mu\text{g/g}$ prøve)
1	Kontrol (frysetørret)	8,94	390

2	Kontrol (Tørret ved Dryingmate)	11,97	105
3	Lav sulfittilsætning under processering (frysetørret)	9,65	460
4	Høj sulfittilsætning under processering (frysetørret)	8,45	433
5	Høj sulfittilsætning under processering (Tørret ved Dryingmate)	7,06	411
6	Høj askorbattilsætning under processering (frysetørret)	9,43	432
7	Protein fra Sciencebrew.	10,43	329

Indholdet af vitamin E er brugt til at definere antioxidantstatus i de prøver, som er brugt til *in vivo* rotteforsøg. Data viser generelt et højt indhold af vitamin E i forhold til tidligere studier, bortset fra lucerneprotein, som er produceret som kontrol (uden antioxidanttilsætning) og tørret ved vakuumbtørring. Det høje niveau skyldes sandsynligvis en mere optimeret proces, hvor kvaliteten af produkterne fastholdes. Det lavere indhold af E vitamin i prøverne 2 og 7 indikerer et større oxidativt pres i vakuumbtørreren samt i filetering + varmfældning. Dette kan få betydning for holdbarheden af prøverne, som vil have større tendens til harskning. Det høje vitamin E indhold i prøve 3, 4, og 6 indikerer at både sulfit- og askorbattilsætning nedsætter forbruget af vitamin E i lucerne proteinekstraktet.

In vitro fordøjelighed (DTU)

DTU Food har gennemprøvet forskellige enzymatiske metoder for teste *in vitro* fordøjeligheden af grønt protein fra lucerne. Den bedste metode for at teste dette er fundet til at være INFOGEST-metoden. Disse forsøg fortsættes efter projektet afslutning dog med en lille ændring til metoden. Det er fundet at enzymet amylase ikke behøver at være ekstraheret fra menneske men derimod sagtens kan erstattes med enzym ekstraheret fra svin og stadig levere samme resultat ved brug af INFOGEST-metoden.

In vivo fordøjelighed (AU-ANIS)

Fordøjeligheden af udvalgte prøver fra ekstraktionen fra maj 2019 blev undersøgt vha. pH-stat-metoden, som er en *in vitro* metode, der efterligner mave/tyndtarmsfordøjeligheden hos enmavede. Metoden bruges til at rangere fordøjeligheden af en række prøver, og benyttes derfor ikke til at give en eksakt fordøjelighed. Resultaterne viser, at der ikke er forskel in vitro fordøjeligheden mellem de undersøgte prøver.

Resultaterne fra forforsøget i maj gav ikke et konklusivt resultat, som kunne bidrage til udvælgelse af prøver til *in vivo* rotteforsøg.

Tabel 5: AU-ANIS/AU-FOOD har analyseret proteinindhold i prøver produceret i august 2019

Prøve nr	Behandling og tørring	Tørstofindhold %	Kvælstof %	Protein %
1	Kontrol (frysetørret)	98,87	8,23	51,4
2	Kontrol (Tørret ved Dryingmate)	98,80	8,35	52,2

3	Lav sulfittilsætning under processing (frysetørret)	98,82	8,14	50,9
4	Høj sulfittilsætning under processing (frysetørret)	98,81	7,85	49,1
5	Høj sulfittilsætning under processing (Tørret ved Dryingmate)	99,00	7,84	49
6	Høj askorbattilsætning under processing (frysetørret)	98,36	7,31	45,7
7	Protein fra Sciencebrew.	98,85	8,55	53,4

In vivo fordøjelighed af protein og tørstof blev undersøgt vha. velkendt rottemodel, hvor rottens proteinindtag samt output i fæces og urin analyseres. Resultaterne viser ingen forskel i vægtstigning eller i foderindtag mellem grupperne.

Tabel 6: Vægt og foderindtag

	Daily gain	Feed residues	DM intake per day
Control (freeze dried)	1.18	2.04	8.9
Control (vacuum)	1.39	1.55	9.3
Low sulphite (freeze dried)	1.65	1.46	9.4
High sulphite (freeze dried)	1.83	1.34	9.5
High sulphite (vacuum)	1.66	1.18	9.7
High ascorbate (freeze dried)	1.22	1.97	8.9
ScienceBrew ²	0.98	0.18	10.7
<i>P</i> -value	0.16	0.24	0.24
SEM ³	0.25	0.54	0.52

¹ All diets are added 0.54 % DL-Met and 0.19% L-Cys in order to ensure balanced supply of S-containing amino acids

² One observation removed due to faecal "contamination" by feed residues, otherwise *n* = 5

³ The largest SEM reported

Tabel 7: Fordøjelighed

	DMD ²	ADN	TDN
Control (freeze dried)	84.1 ^a	83.3 ^a	89.1 ^a
Control (vacuum)	77.9 ^b	79.4 ^b	85.5 ^b
Low sulphite (freeze dried)	82.2 ^{ab}	83.8 ^a	89.6 ^a
High sulphite (freeze dried)	83.1 ^{ab}	84.5 ^a	90.2 ^a
High sulphite (vacuum)	77.5 ^b	79.9 ^b	86.3 ^b
High ascorbate (freeze dried)	79.2 ^{ab}	80.4 ^b	86.1 ^b
ScienceBrew ³	69.6 ^c	72.0 ^c	78.0 ^c
<i>P</i> -value	0.001	<0.0001	<0.0001
SEM ⁴	2.21	0.87	0.87

¹ All diets are added 0.54 % DL-Met and 0.19% L-Cys in order to ensure balanced supply of S-containing amino acids

² DMD: protein dry matter digestibility

ADN: Apparent digestibility of N

TDN: True digestibility of N

³ One observation removed due to faecal "contamination" by feed residues, otherwise $n = 5$

⁴ The largest SEM reported

Resultaterne viser høje fordøjeligheder for både tørstof og protein sammenlignet med tidligere forsøg. Fordøjeligheden af tørstof (DMD) påvirkes af behandlingen, hvor de opnås signifikant højere fordøjeligheder i frysetørrede prøver sammenlignet med prøver, som er tørret med DryingMates vakuumbørster. Prøven, som blev fremstillet med Science Brew pressemetoden og varmefældet ligger signifikant lavest.

Samme mønster ses ved både den tilsyneladende fordøjelighed (ADN) og den sande fordøjelighed (hvor endogent tab af N er fratrukket). De højeste proteinfordøjeligheder ses i prøverne, som er blevet frysetørret. Dog giver forbehandling med askorbat en lavere fordøjelighed, selvom prøven frysetørres.

Ekstrudering (WP9)

DTU Food har forsøgt at ekstrudere det grønne protein på enkeltskrue ekstruder. Allerede ved koncentrationer på omkring 5 % protein var dette vanskeligt. Derfor har DTU Food investeret i en dobbeltskrueekstruder. Forsøg med ekstrudering af grønt protein på denne vil fortsætte efter projektets afslutning. Det forventes at der med denne ekstruder vil kunne generes fødevarer med proteinkoncentration på op mod 30 %.

Karakterisering af funktionalitet og formulering af fødevarer (WP10-13)

Karakterisering af funktionalitet

AU-FOOD har undersøgt proteinfunktionaliteten af lucerneprotein i forhold til opløselighed, zeta potentiale, skumdannelse og gelstyrke i bufferopløsninger samt alkalibehandlet ved forskellig pH (2- >3, 3, 5 og 7). For 2->3 blev opløsningen først sænket til pH 2 hvorefter der opjusteres til pH 3. Alkalibehandling af proteinet kan være med til at ændre på strukturelle formationer og dermed øge forskellige funktionaliteter. Dog kan det også resultere i racemisering og krydsbindinger af aminosyrerne. Derfor blev dette undersøgt, hvor pH 11 blev valgt grundet øgning af opløselighed men med lavere indhold af krydsbindinger sammenlignet med pH 12.

Opløseligheden blev undersøgt ved 2 mg/mL og 10 mg/mL, hvor højest opløselighed for begge var 70-80% ved pH 7 med alkalibehandling og omkring 50% for pH 7 i buffer. For 2 mg/mL var der højere opløselighed ved pH 2 til 3 med alkalibehandling, som resulterede i omkring 60%, hvorimod opløseligheden for denne var 20% ved 10 mg/mL. For pH 3 og 5 lå opløselighederne omkring 20-40 %. Effekten af salt blev også undersøgt, hvilket sænkede eller resulterede i samme opløselighed for de fleste pH-værdier men med en lille stigning for pH 5. Dog var der højere opløselighed, hvis salt blev tilsat efter alkalibehandling sammenlignet med tilsætning før alkalibehandling.

Zeta potentialet blev fundet højest for pH 7 (-25 mV) og passede generelt i forhold til det isoelektriske punkt ved pH 4,5 med positive ladninger for pH 2->3 og 3 samt negative ladninger for pH 5 og 7. Potentialerne var dog generelt lave i forhold til en stabil opløsning, hvor tilsætningen af salt resulterede i potentialer omkring nulpunktet grundet interferens.

Skumdannelse af lucerneproteinextraktet blev undersøgt ved skum overrun og stabilitet for de forskellige opløsninger. Højeste overrun blev fundet ved pH 2->3 i buffer samt med alkalibehandling uden tilsætningen af salt efterfulgt af pH 7 med alkalibehandling og tilsætning af salt. Tilsætningen af salt øgede skum overrun for pH 5 og 7, hvorimod det sænkede niveauet for pH 2->3 og 3. Højeste stabilitet blev observeret for pH 7 med alkalibehandling uden tilsætning af salt, hvor over 60% skum var til stede efter en time.

De forskellige opløsninger blev også undersøgt i forhold til gelering med 3,6 og 7,2% protein. For bufferopløsningerne blev største gelstyrke (G') fundet ved pH 5, hvorimod for alkalibehandling var G' højest ved pH 7. Ved øget proteinkoncentration resulterede gelerne i højere G' , hvor alkalibehandlingen for pH 7 med 7,2% protein gav det højeste resultat (2584 Pa). Både for pH 2->3 og 3 resulterede opløsningerne i meget lave niveauer omkring 5-20 Pa.

Formulering af fødevarer (DTU, AU-FOOD, LinusPro og GreenField)

DTU Food har i samarbejde med Sciencebrew Foodhub formuleret og testet det grønne protein i forskellige fødevarer. Som drikkevarer blev der ikke fundet tilfredsstillende muligheder men det anbefales at man i fremtiden kigger på at lave fermenterede drikke da dette område ikke blev undersøgt. Af faste fødevarer blev både bagværk og fermenterede produkter undersøgt. Det blev her fundet at justering af pH var essentiel for en høj opløselighed af protein i gær baseret bagværker. For at analysere selve smagen af det grønne protein i videre sensorisk forsøg blev der produceret en kiks med primær stivelse fra kogte ris for at undgå protein fra f.eks. hvedemel. Disse kiks blev lavet med hhv. 0, 5 og 10 % grønt protein for derefter at blive analyseret i WP14.

AU-FOOD har undersøgt alkalibehandlet proteinopløsning (2%) af lucerne justeret til pH 7 i forskellige fødevarer. Denne opløsning blev undersøgt, idet den udviste bedst funktionelle egenskaber. Opløsningen blev testet i mayonnaise, kokosmakroner, pandekager, falafler, knækbrød og drikke. Fælles for de fem førstnævnte var at lucerneprotein erstattede æg, hvor det også blev testet muligt ved pandekagen at erstatte både æg og mælk. Ved dette forsøg blev der ikke arbejdet med smagen af fødevarerne, da fokus var på funktionaliteten.



Figur 6 Forskellige fødevarer testet med brug af alkalibehandlet lucerne ekstrakt

LinusPro har testet lucerneproteinextraktet i forskellige fødevarer som smoothie, juice, raw bars, is og forskellige drikke. Overordnet var det et fint proteinpulver med god kvalitet, men duften var meget koncentreret som stald/græs. Der er derfor arbejdet på at skærme denne duft i forskellige produkter nævnt herunder.

Smoothie: Farvemæssigt så det lækkert og sundt ud, men det var svært at skærme smagen.

Greenjuice: Tilsætning af andre ingredienser, hvilket resulterede i at smagen blev mere skærmet men konsistensen var meget grynet.

Raw bars: Tilsætning af dadel og forskellige nødder, hvilket gav den bedste afskærmning af smag.

Is: Testet sammen med mørk chokolade med 80% kakao, hvor isen skilte ved første forsøg, men med tilsætning af mere fløde hang isen sammen. Dette resulterede i knapt så meget duft med en grynet konsistens, som om at proteinpulveret ikke blev optaget. Et andet forsøg var med valleprotein med vanilje smag og lucerneprotein, hvor lucernes duft var meget gennemtrængende.

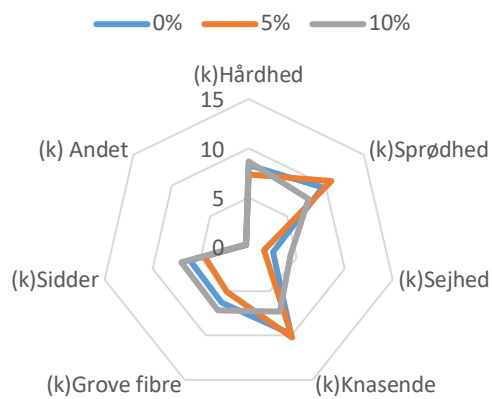
Drik: Blanding af hydrolyseret protein og lucerneprotein, hvor der blev anvendt citron/appelsin smag til at skærme, hvilket ikke var nogen succes, idet lucerneproteinet ikke blev opløst og lå øverst.

Ergo, der skal mere forarbejdning til af pulveret. Som det er nu, kan det skærmes i nogle produkter, hvor det evt. kunne anvendes bedre i kød. Dog kan det ikke sælges som rent pulver, hvor folk selv bruger det, som det er lige nu.

Sensorik og forbrugerundersøgelse (WP14)

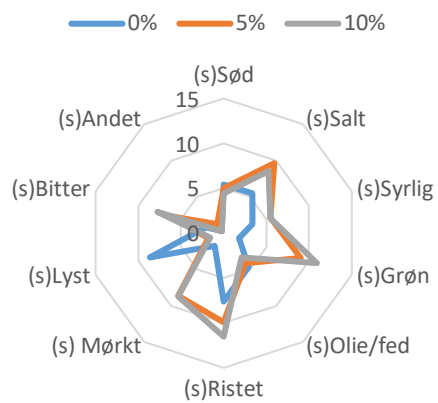
DTU Sensorik har haft et panel af udannede smagsdommere til at analysere de kiks der blev produceret i WP 11. Den bedste smag at sammenligne med var tørrede brændenælder og denne blev brugt som reference smag til at beskrive den "grønne" smag. Grundet den grønne farve fra proteinet blev alle kiks sensorisk analyseret i "gråt" lys for eliminere påvirkningen fra farven. I forhold til konsistensen var den mest markante forskel "sejheden" i kixsen ved øget mængde af protein som kan ses Figur . I forhold til smag af grønt var der kun lille forskel ved kiks indeholdende 5 % og 10 % grønt protein, og ligeledes for lugten sås også her kun en lille forskel, illustreret i Figur og Figur . Efter den sensoriske analyse debatterede panelet deres oplevelser og fandt frem til at de alle brød sig om den "grønne" smag. De fandt det dog vigtigt at man ikke fjerner den grønne farve fra proteinet, hvis man ønsker at bevare den grønne smag.

Konsistens af kiks med grønt protein i forskellige koncentrationer



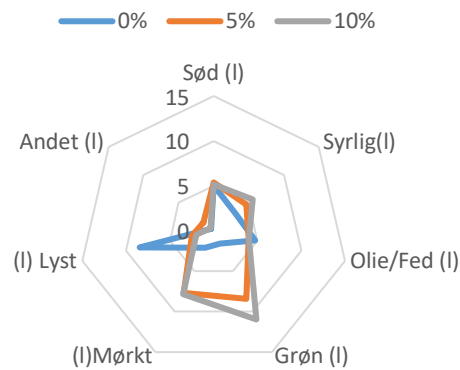
Figur 7 Konsistens i kiks med grønt protein

Smag af kiks med grønt protein i forskellige koncentrationer



Figur 8 Smag af kiks med grønt protein

Lugt af kiks med grønt protein i forskellige koncentrationer



Figur 9 Lugt af kiks med grønt protein

Konklusioner

I projektet blev en lang række aspekter vedrørende produktion og anvendelsen af lucerneprotein i fødevarer undersøgt. Overordnet set kan det konkluderes, at det er muligt at producere lucerneprotein til anvendelse i fødevarer, og proteinet kan inkluderes i fødevarer, men også at proteinet har en kraftig farve, smag og duft, der skal tages højde for når lucerneproteinet anvendes i fødevarer.

Som delkonklusioner kan det konkluderes, at antioxidanter ikke har en stor effekt på proteinkvalitet, men derimod at fældningsmetode og tørringsmetode har høj indvirkning på proteinkvalitet målt på fordøjelighed. Ligeledes konkluderes det, at proteinudbytte kan øges ved anvendelse af genpresning af pressepulv og at en filterpresse kan anvendes til at presse lucerneplantemateriale. Desuden kunne proteinet tørres i en nyudviklet vakuump-tørrer, men udstyret skal optimeres for at kunne tørre lucerneproteinet tilfredsstillende. Lucerneproteinet blev testet i en række forskellige fødevarer og lucerneproteinet kan bruges som erstatning for andre proteinkilder. Dog er man nødt til at tage højde for en kraftig grøn farve, smag og duft fra lucerneproteinet og det kan blive nødvendigt at yderligere oprense lucerneproteinet for at komme af med farve, smag og duft inden at brugen af lucerneprotein kan vinde indpas hos fødevarerindustrien.

Referencer

