



Notat

Klimasmarte kødprodukter med høj dyrevelfærd

Ekstraktion af protein fra lunger, milt og nyre

Kjartan Bjarnov Kaas-Larsen

17-12-2019

2006962-04

Version 1.0

KJLA/MT

Baggrund

Selvom vi i Danmark ligger i toppen når det kommer til klimaeffektiv griseproduktion har grisen stadig et relativt højt CO₂-aftryk sammenlignet med mange ikke-animalske fødevarer. Kun en brøkdel af grisen går til spilde, men blandt de konsumegnede sidestrømme som fx lunger, hjerte, nyrer og milt går en væsentlig del til foder eller biogas. Disse sidestrømme har et højt proteinindhold og kan potentielt anvendes både til proteinberigelse eller som funktionel ingrediens i fødevarer.

Formål

Formålet med dette forsøg er ved en mild ekstraktionsmetode at ekstrahere protein fra griselunger, -milt og -nyrer, for at kunne bevare funktionaliteten af proteinet.

Konklusion

Det er i dette forsøg vist at det er muligt at ekstrahere protein fra griselunger, -milt og -nyrer i en alkalisk opløsning på pH 9,5. Under ekstraktionsstiden på 1 time ved stuetemperatur faldt pH med mellem 0,08 og 0,18, med det største fald for nyrerne og det mindste for lungerne.

Det er blevet vist at det med samme pH, ekstraktionstid og centrifugering for de 3 prøver blev opnået størst udbytte af protein til den vandige fase for nyre og lavest udbytte for lungerne. Det har dog ikke været muligt at kvantificere udbyttet af protein i retentatet særlig præcist, da det vurderes der i membrananlæggets dead-space har været vand som har fortyndet retentatet, og dermed gjort det svært at vurdere den korrekte mængde af retentat.

I ingen af prøvernes retentat blev fundet kollagen, hvormed det kan konkluderes at kollagen er tilbageholdt i den uopløselige fraktion med bindevæv.

Baggrund

Indledning

Selvom vi i Danmark ligger i toppen når det kommer til klimaeffektiv griseproduktion har grisen stadig et relativt højt CO₂-aftryk sammenlignet med mange ikke-animalske fødevarer. Kun en brøkdel af grisen går til spilde, men blandt de konsumegnede sidestrømme som fx lunger, hjerte, nyrer og milt går en væsentlig del til foder eller biogas. Disse sidestrømme har et højt proteinindhold og kan potentielt anvendes både til proteinberigelse eller som funktionel ingrediens i fødevarer.

Formål

Formålet med dette forsøg er ved en mild ekstraktionsmetode at ekstrahere protein fra griselunger, -milt og -nyrer, for at kunne bevare funktionaliteten af proteinet.

Proteinindhold

Det forventede proteinindhold for en række spiselige sidestrømme ses i Tabel 1 [1]. Proteinindholdet i griselunger er dog tidligere bestemt af Teknologisk Institut, DMRI, til 16,4%, altså en anelse højere end tabelværdien vist i Tabel 1.

Tabel 1: Protein, fedt og vandindhold for udvalgte biprodukter fra gris [1].

	Lunge	Milt	Nyre	Hjerte	Lever
Protein [%]	14,08%	17,86%	16,46%	17,27%	21,39%
Fedt [%]	2,72%	2,59%	3,25%	4,36%	3,65%
Vand [%]	79,52%	78,43%	80,06%	76,21%	71,06%

Fremgangsmetode

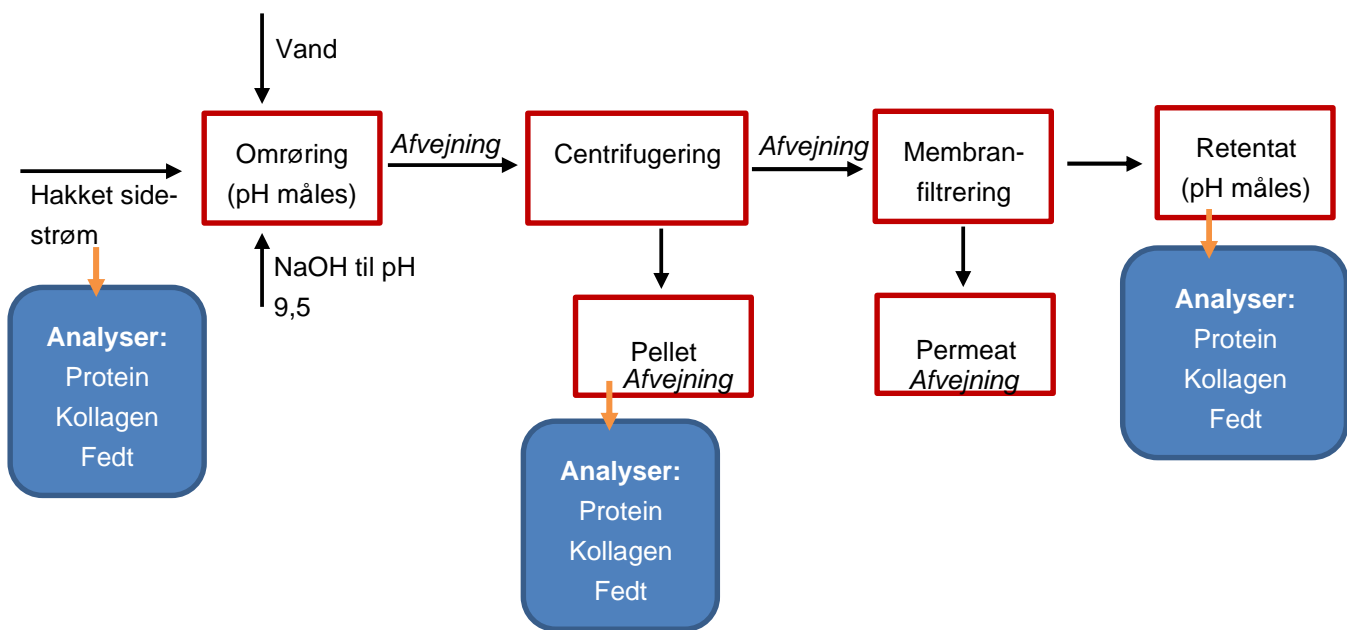
Fremgangsmetode

Samme fremgangsmetode blev benyttet på både lunger, milt og nyre:

- 4x 150g sidestrøm hakkes fint
 - Der tages fra til bestemmelse af proteinindhold, kollagen og fedt.
- Hver del sidestrømmen tilføres 8x vand der er 10-15°C. Der tilsættes NaOH til pH 9,5.
- Ekstraktion foregår under omrøring i en time ved stuetemperatur
 - pH måles under ekstraktion
- Ekstraktet centrifugeres i 700mL beholdere ved 3600rpm i 40 minutter for at separere bundfald (pellet) fra centrifugat.
- Centrifugatet separeres ved dekantering og der afvejes både centrifugat og bundfald
 - 8x 50mL pellet tages fra til analyse for protein, kollagen og fedt.
- Centrifugatet membranfiltreres over 25kDa membraner indtil
 - Der tages 8x50mL retentat fra til bestemmelse af protein, kollagen og fedtindhold
- Der måles pH på retentatet

Forsøgsdesign

På Figur 1 ses flowdiagram over ekstraktionsprocessen, samt hvor de enkelte prøver tages ud.



Figur 1: Flowdiagram over ekstraktionsprocessen

Ekstraktionsudbytte

Fra tidligere forsøg med ekstraktion af protein fra griselunger forventes det at 50% af proteinet vil ekstraheres til den vandige fase, mens den resterende mængde protein vil være i den uopløselige pellet efter centrifugeringen. Det forventes at kunne lukke massebalancen af protein ved de analyser der er taget ud, samt vejninger.

Ekstraktionsudbyttet af protein findes ved:

$$\frac{m_{\text{retentat}} \cdot C_{\text{retentat}}}{m_0 \cdot C_0} \cdot 100\%$$

Hvor m_{retentat} er vægten af retentatet, C_{retentat} er koncentrationen af protein i retentat, m_0 er vægten af sidestrøm der er anvendt og C_0 er mængden af protein i de hakkede sidestrømme.

Mængden af protein i pellet i forhold til den totale mængde protein kan ligeledes findes ved at erstatte mængde og koncentration af retentat med pellet.

Resultater

pH stabilitet under ekstraktion

pH blev målt efter indstilling til pH 9,5 (hvor den havde været stabil i 5 minutter), samt umiddelbart inden centrifugering. Som vist i Tabel 2 faldt pH under en times ekstraktion for alle prøver på trods af at pH var indstillet grundigt ved start af ekstraktionen. Selvom dette fald ikke er stort kan det både påvirke ekstraktionsudbyttet, samt fødevarer sikkerheden. Ydermere er dette fald observeret efter blot en time, hvorfor det må forventes at faldet i pH vil være endnu større efter membranfiltrering/ved opbevaring af retentatet.

Det største fald i pH blev observeret for ekstraktion af nyrerne, mens det mindste fald i pH blev observeret ved ekstraktion fra lungerne.

Tabel 2: pH ændring for hhv. lunge, milt og nyre efter en times ekstraktion

Lunge	Milt	Nyre
-0,08 ±0,01	-0,12 ±0,02	-0,18 ±0,01

Indhold i fraktioner

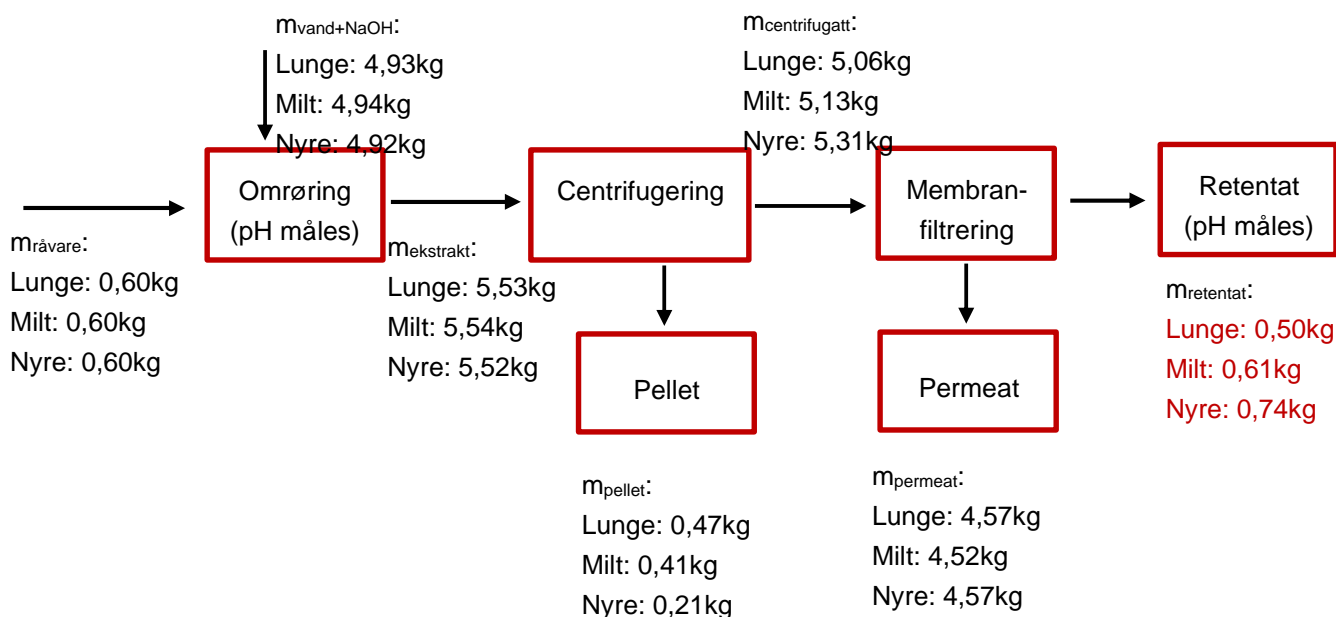
I Tabel 3 ses det målte protein-, kollagen- og fedtindhold af hhv. de hakkede sidestrømme, bundfaldet fra centrifugering samt retentatet. Som det fremgår af resultaterne afviger de lidt fra tabelværdier opgivet af B.A. Anderson [1]. Dette kan skyldes at vi har benyttet sidestrømmene som de bliver leveret fra slagteriet og dermed ikke pudset hver enkelt sidestrøm fint inden hakning. Ændringer i avlsmaterialet kan også have været med til at påvirke protein- og fedtindholdet.

Tabel 3: Protein-, kollagen- og fedtindhold i de forskellige fraktioner under ekstraktion.

	Hakket råvare			Pellet			Retentat		
	Lunge	Milt	Nyrer	Lunge	Milt	Nyrer	Lunge	Milt	Nyrer
Protein	16,4%	18,1%	13,4%	9,0%	6,7%	6,6%	5,0%	7,1%	4,8%
Kollagen	3,0%	0,9%	1,2%	3,4%	1,3%	2,6%	0,0%	0,0%	0,0%
Fedt	4,2%	1,4%	3,0%	1,7%	0,7%	1,1%	0,4%	0,4%	0,6%

Massebalancer

Som vist på Figur 1 afvejes flere steder i processen. På baggrund af de afvejede delmængder er det muligt at opstille en massebalance for de 3 ekstraktioner som vist på Figur 2. Resultaterne ved retentatet er markeret med rød da disse er beregnet ved at lukke massebalancen over membranfiltreringen ved at trække mængden af permeat fra mængden af centrifugat der tilføjes til centrifugen. Dette ser ud til ikke at være en særlig præcis antagelse, da membranlægget har et dead-space på cirka 2L som er yderst svært at tømme ud, hvorfor der højst sandsynligt er blevet tilført en lille mængde vand her. Når det endelige retentat kun er på cirka 0,5kg har det altså ganske stor betydning på resultatet om der er tilført yderligere 0,3L vand fra anlæggets dead-space.



Figur 2: Massebalance under ekstraktion for hver af de 3 sidestrømme

Ekstraktionsudbytte

Som vist i Tabel 4 er mængden af protein tilbageholdt i pellet markant højere for lunge end for milt og nyre, hvormed kan konkluderes at det er sværere at ekstrahere protein fra griselunge til den vandige fase end for de andre to sidestrømme. Dette afspejler sig også ved at det laveste proteinudbytte i retentatet findes for lungerne, mens det er hhv. 14% og 19% højere for milt og nyrer.

Der er dog kun i ringe grad sammenhæng mellem proteinindholdet i retentatet og proteinindholdet i pellet, da dette ved en effektiv membranfiltrering uden tab til permeatet burde give 100%. Dette kunne tyde på at der har været et ganske stort tab af protein til permeatet, om end det ikke virker realistisk da tidligere forsøg med samme membranfiltreringsanlæg på protein ekstraheret fra griselunger med større mængder har vist et tab på 5% af den totale mængde protein til permeatet. Samtidig ville dette have medført rød farve af proteinet i permeatet, hvilket heller ikke blev observeret.

En forklaring på dette kunne være at der i anlæggets dead-space på cirka 2L har været omkring 0,5L vand tilbage fra rengøring. Da mængden af retentat er bestemt som mængden af centrifugat minus det opsamlede permeat vil denne ekstra mængde væske have stor indflydelse da der i sidste ende blot er opsamlet 0,5-0,7kg retentat. Som vist i Tabel 4 er den forventede mængde protein i retentatet for alle 3 prøver cirka det dobbelte af den beregnede, hvorfor det virker realistisk at der er sket en systematisk fejl.

Tabel 4: Mængde af protein i forhold til den totale mængde protein i hhv. pellet og retentatet.

	Pellet	Retentat	Forventet retentat*
Lunge	42,4%	25,1%	57,6%
Milt	25,5%	39,6%	74,5%
Nyrer	17,5%	44,0%	82,5%

*Beregnet som 100% minus protein i pellet

Konklusion

Konklusion

Det er i dette forsøg vist at det er muligt at ekstrahere protein fra griselunger, -milt og -nyrer i en alkalisk opløsning på pH 9,5. Under ekstraktionstiden på 1 time ved stuetemperatur faldt pH med mellem 0,08 og 0,18, med det største fald for nyrerne og det mindste for lungerne.

Det er blevet vist at det med samme pH, ekstraktionstid og centrifugering for de 3 prøver blev opnået størst udbytte af protein til den vandige fase for nyre og lavest udbytte for lungerne. Det har dog ikke været muligt at kvantificere udbyttet af protein i retentatet særlig præcist, da det vurderes der i membranlæggets dead-space har været vand som har fortyndet retentatet, og dermed gjort det svært at vurdere den korrekte mængde af retentat.

I ingen af prøvernes retentat blev fundet kollagen, hvormed det kan konkluderes at kollagen er tilbageholdt i den uopløselige fraktion med bindevæv.

Referencer

- [1] B. A. Anderson, "Composition and Nutritional Value of Edible Meat By-products," in *Edible Meat By-products - Advances in Meat Research Vol. 5*, A. M. Pearson and T. R. Dutson, Eds. Elsevier Applied Science, 1988, pp. 15-45.