



Sensorisk bedømmelse af lungeprotein

Procesoptimeret udvinding af protein fra griselunger

Aktivitet 2 – Oprensning af funktionelt protein

Louise Hofer

24. august 2022
Projekt nr. 2009655
Version 1
Init. LHHR/mt

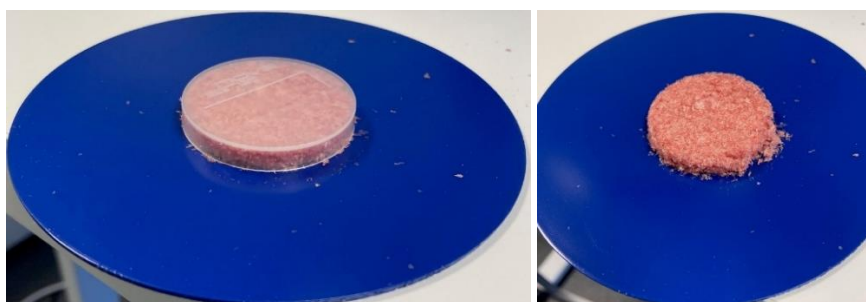
<i>Baggrund</i>	I projektet "Procesoptimeret udvinding af protein fra griselunger" skal det undersøges, hvordan forskellige procesoprensningstrin påvirker det ekstraherede lungeprotein sensorisk.
<i>Formål</i>	Formålet med dette forsøg er at undersøge, hvordan vask forud for ekstraktion påvirker det ekstraherede proteins farve og sensoriske bedømmelse samt undersøge, hvordan opkoncentrering ved membranfiltrering påvirker det ekstraherede proteins farve og sensoriske bedømmelse.
<i>Råvarer</i>	Fremgangsmåde Til forsøget blev der anvendt lungevæv fra lunger udtaget i Horsens. Lungerne blev modtaget i uge 16, 2022, hvor nogle lunger blev vasket og andre ikke. Alle lunger blev findelt på hurtighakkeren og efterfølgende vakuumpakket i poser af 5 kg. Lungevævet blev opbevaret ved -40°C frem til forsøg. Til forsøget blev der anvendt 20 kg ikke-vaskede lunger (reference) samt 20 kg vaskede. De 20 kg lungeblade blev vasket i en mikser med 2*5 kg i 2*5,33 minutter. Der blev først vasket med 5 kg vand i 5,33 min, hvorefter vandet blev drænet fra, og 5 kg rent vand blev tilført, før endnu en vask blev gennemført i 5,33 min.
<i>Ekstraktion</i>	Ekstraktionen blev udført ved 10°C i forholdet 1:5 ved pH 9,5. Ekstraktionsbetingelserne blev opnået ved 96 kg vand (vandhanevand), 4 kg 1,5% NaOH og 20 kg hakket lungevæv. Der blev ekstraheret i 60 minutter under omrøring.
<i>Centrifugering</i>	Ekstraktionsblandingen blev centrifugeret ad 2 omgange. Første centrifugering blev gennemført ved en flowhastighed på ca. 300 L/h med en skudtid på 3 min (180 sek.). Anden centrifugering blev gennemført ved en flowhastighed på ca. 300 L/h med en skudtid på 15 min (900 sek.).
<i>Membranfiltrering</i>	Centrifugatet blev opkoncentreret på 12 stk. GR80PP membraner (10 kDa cut-off). Membranfiltreringen blev afsluttet ved et indgangstryk på 8 bar.
<i>Frysetørring</i>	Centrifugat fra anden centrifugering og retentat blev frysetørret i 16 timer ved 0,52 mbar og 10 timer ved 0,011 mbar og en hydretemperatur på 20°C.

Udbytte Udbytte under ekstraktion blev beregnet på baggrund af proteinindhold i råvarer og ekstrakt.

$$Udbytte\% = \frac{\%protein\ i\ ekstrakt * M_{ekstrakt}}{\%protein\ i\ råvare * M_{råvare}} * 100\%$$

Jernindhold Jernindholdet i proteinekstrakterne blev bestemt af Eurofins ved ISP-MS efter ISO-standard 17294m:2016.

Videometer Der blev foretaget CIE-lab videometermålinger på frysetørrede og spraytørrede produkter. De frysetørrede/spraytørrede produkter blev presset i form i et låg til et a_w -bæger. Herefter blev den pressede prøve vendt ud på den blå plade, og billedet blev taget, se figur 1.



Figur 1. Tv.: presset prøve i a_w -bæger. Th.: prøve uden a_w -bæger, klar til måling.

Sensorisk bedømmelse Der blev bedømt 5 forskellige brødrecepter, hvoraf de 4 indeholdt lungeprotein, mens den sidste var en reference, som indeholdt rismel i stedet for lungeprotein. Der blev tilsat 2% lungeprotein til recepter med lungeprotein.

Forud for bedømmelsen blev der gennemført to træningssessioner på de forventede yderpunkter (-R, +C samt referencen). Under træningssessionerne blev det ordsat fastlagt, som prøver blev bedømt på baggrund af.

De sensoriske data blev analyseret ved PCA i PanelCheck.

Opmærkning af prøver Prøverne blev opmærket efter oversigten i tabel 1.

Tabel 1. Oversigt over opmærkningskoder.

Kode	Forbehandling	Procestrin
-C	Ingen	2. centrifugat
+C	Vasket	2. centrifugat
-R	Ingen	Retentat
+R	Vasket	Retentat

Resultater

Ekstraktionsforhold Temperatur og pH blev målt under ekstraktionen. De gennemsnitlige værdier af forholdene fremgår af tabel 2.

Tabel 2. Ekstraktionsforhold

Forbehandling	Temperatur	pH
Ingen	15,3	9,4
Vasket	12,9	9,7

Udbytte

Udbyttet for ekstraktionerne blev beregnet dels på baggrund af proteinindholdet i råvaren, dels på baggrund af proteinindholdet i referenceråvaren, dvs. den råvare der ikke var blevet forbehandlet. Udbyttet for ekstraktionerne blev generelt fundet lavt, jf. tabel 3. Tidligere har udbyttet under ekstraktionerne været op til 60%. Ved vask af lungevævet forud for ekstraktionen ses en betydelig reduktion i udbyttet beregnet i forhold til en ikke-forbehandlet råvare. Dette var forventet, idet forbehandlingen også reducerede proteinindholdet i lungevævet, hvilket primært formodes at skyldes reduktion af særligt blodindholdet.

Tabel 3. Udbytte for ekstraktionerne.

Forbehandling	I forhold til råvare	I forhold til referenceråvare
Vasket	48,4%	41,0%
Ingen	49,4%	49,4%

Proteinkoncentration i retentat

Proteinkoncentrationen i fraktionerne centrifugat, retentat og permeat fremgår af tabel 4. Proteinkoncentrationen i permeatet var generelt lav (<1%). Opkoncentreringen af protein under membranfiltreringen var generelt god. Særligt for ekstraktionen af de ikke-vaskede lunger blev der opnået en høj proteinkoncentration ved filtrering. At det var muligt at opnå en koncentration på over 10% formodes at skyldes den dobbelte centrifugering, som reducerede mængden af partikler i centrifugatet. At retentatets proteinkoncentration ikke blev tilsvarende høj for de vaskede lungeblade skyldes tidsmangel.

Tabel 4. Proteinkoncentration.

Forbehandling	Centrifugat	Retentat	Permeat
Vasket	1,36	7,41	0,07*
Ingen	1,56	10,81	0,07*

*Resultatet er forbundet med stor usikkerhed grundet detektionsgrænsen.

Tabet af protein under filtreringen var ca. 4% for begge opkoncentreringer.

Jernindhold

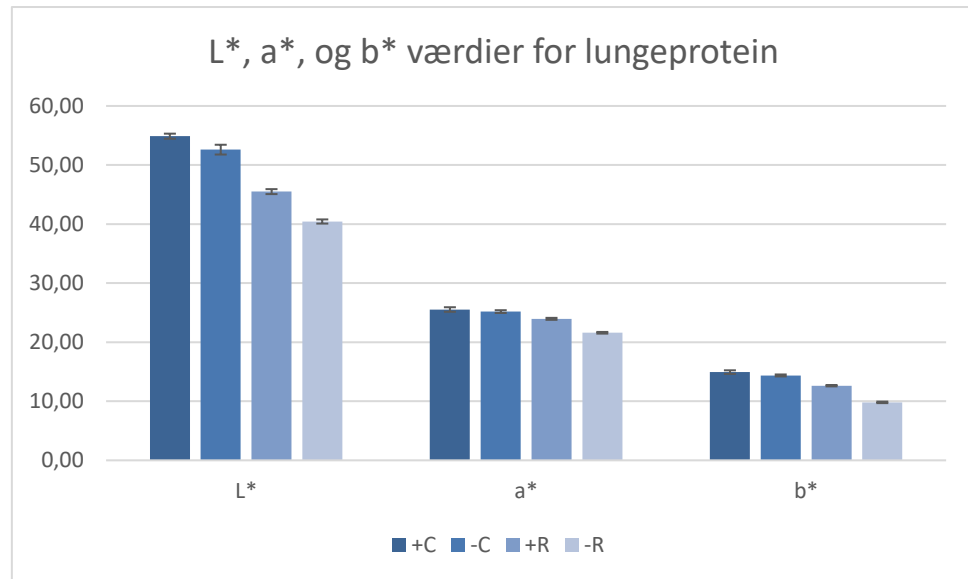
Jernindholdet blev fundet lavere i centrifugatet end i retentatet. Opkoncentreringen i jern svarer cirka til opkoncentreringen i proteinindholdet, jf. tabel 5. Dvs. jernindholdet påvirkes ikke af membranfiltreringen. Forbehandling ved vask blev derimod fundet at reducere jernindholdet. Dette resultat støtter op om forventningen til vaskeprocessen.

Tabel 5. Jernindhold.

Kode	Jern [mg/kg]	Jern [mg/g protein]
-C	18	1,15
+C	12	0,88
-R	140	1,29
+R	82	1,11

Videometer

Det oprensede proteins farve blev vurderet på baggrund af L^* , a^* og b^* værdier beregnet på baggrund af spektrofotometrisk måling med videometer, se figur 2. Prøvernes lyshed blev reduceret ved vask (L^* -værdien stiger), særligt efter opkoncentrering ses en effekt. Resultaterne viser samtidig, at prøvernes farve mørknes under opkoncentrering. Prøvernes a^* -værdi, som beskriver farven på en akse fra grøn til rød, blev kun svagt påvirket; prøverne er lidt rødere før opkoncentrering end efter. Af prøvernes b^* -værdi, som beskriver farven på en akse fra blå til gul, fremgår det, at de opkoncentrerede prøver var mere blålige end før opkoncentrering.



Figur 2. L^* , a^* og b^* værdier for prøverne opnået ved videometer.

Sensorik

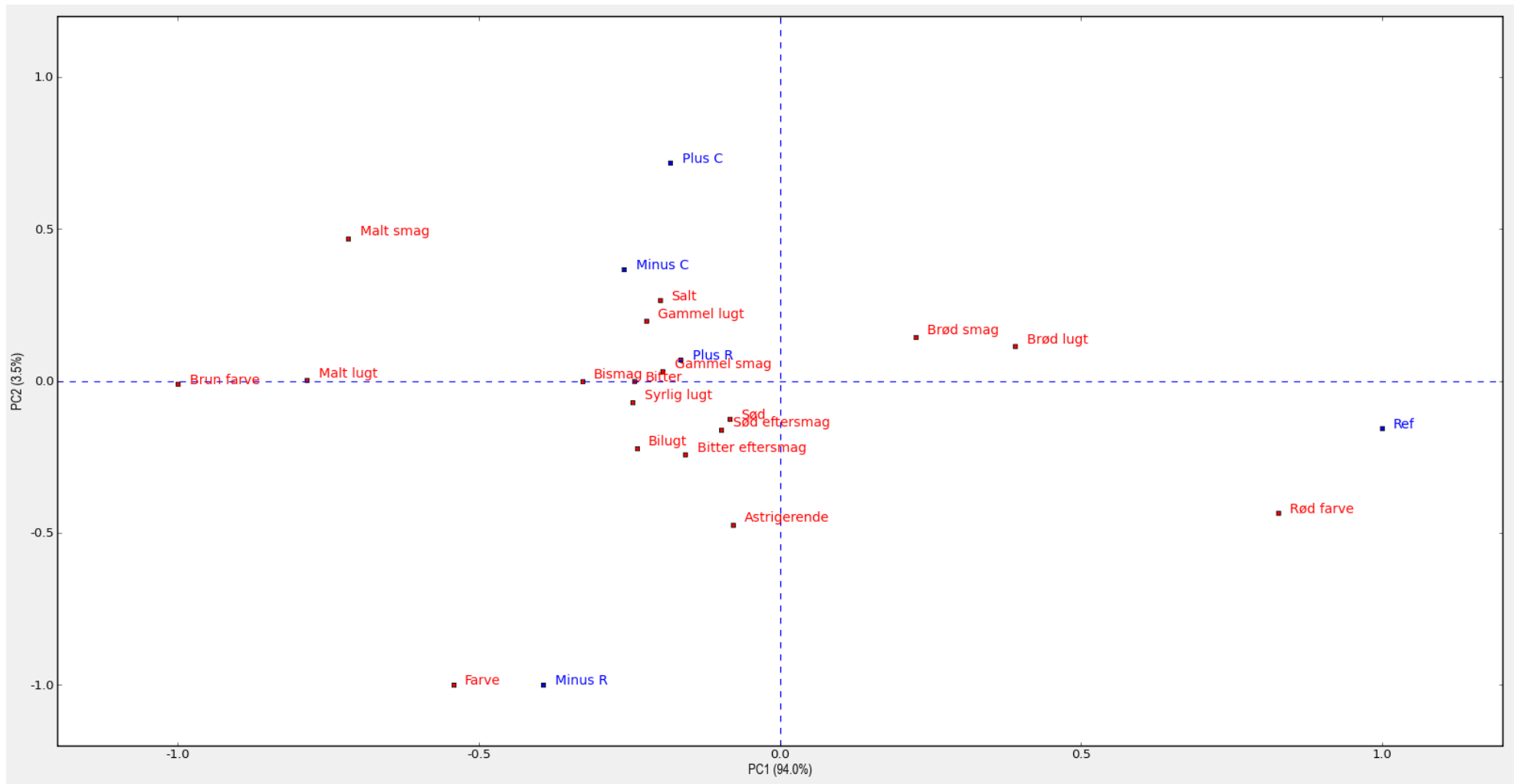
Under træningssessionerne blev der fastlagt et ordsæt til at beskrive prøvernes udseende, duft, smag og konsistens, jf. tabel 6. Dommerne havde intet kendskab til prøverne, og hvilken forskel der var. Dommerne fandt ikke, at prøverne indeholdt smagsnuancer som umami, jern, metallisk eller indmad, som ellers kan være forbundet med animalske sidestrømme.

Tabel 6. Ordsæt fastlagt under de sensoriske træningssessioner.

Attributter				
Udseende	Lugt	Smag	Tekstur	Eftersmag
Antal klumper	Brød	Brød	Fasthed ved tygning	Sød
Farve	Malt	Malt	Astringerende	Bitter
Rød farve	Gammel	Gammel	Klistrer i munden	
Brun farve	Syrlig	Sød	Klistrer til fingrene	
	Bilugt	Salt	Tid, til prøven er synkeklar	
		Bitter	Fasthed ved tryk	
		Bismag		

Prøverne blev fundet til ikke at variere signifikant for størstedelen af attributterne. Nogle attributter blev ikke fundet relevante for PCA-analysen af den sensoriske bedømmelse, hvorfor de blev udeladt. Det drejer sig om "Antal klumper", "Fasthed ved tygning", "Fasthed ved tryk", "Klistrer i munden", "Klistrer til fingrene" samt "Tid, til prøven er synkeklar", som er egenskaber, der primært refererer til bageprocessen.

Ved PCA-analysen blev det fundet, at 94% af variationen imellem prøverne kan beskrives ved PC1, samt at 3,5% af variationen imellem prøverne kan beskrives ved PC2, jf. figur 3. Af analysens biplot fremgår det, at prøvernes farve (mørkhed), brune farve samt maltsmag og -lugt er de parametre, der primært beskriver prøverne med lungeprotein, mens referenceprøven primært beskrives ved brødlugt og -smag samt rødlig farve.



Figur 3. Bi-plot af resultatet fra den sensoriske analyse.

Det blev fundet, at farven af prøverne var signifikant ($P < 0.05$) mørkere, når lungevævet ikke var forbehandlet ved vask. Dette gjorde sig gældende både for det opkoncentrerede retentat og centrifugatet. Samtidig blev der fundet en tendens (kun signifikant forskel for de ikke-vaskede prøver) til, at opkoncentreringen resulterede i en mørkere farve. Resultaterne er i overensstemmelse med de resultater, der blev fundet ved videometermålingerne, og viser, at forbehandling ved vask har reduceret farven i en grad, der afspejles ved anvendelse i en fødevarematrice. Af figur 4 fremgår en serveringsprøve for 4 brød med forskelligt forbehandlet lungeprotein, hvor farveforskellen også kan ses.



Figur 4. Brød med lungeprotein, fra venstre mod højre er det +R, -R, +C, -C.

Attributten "brun farve" viser samme tendens som "farve", men forskellene er ikke signifikante.

Maltsmagen blev ikke fundet til at variere mellem prøverne, mens maltlugten blev fundet til at blive reduceret ved vask. Resultatet var kun signifikant for de opkoncentrerede prøver.

Den sensoriske bedømmelse viste, at lungeprotein bidrager med noget bismag ($P < 0.01$) og bitterhed ($P < 0.05$). Der var ingen forskel imellem prøverne tilsat lungeprotein, kun mellem prøverne med lungeprotein og referenceprøven.

I relation til bismagen havde dommerne mulighed for at sætte ord på ved at notere dem på et ark under bedømmelsen. Her blev beskrivelserne "kemisk" og "syre/juice" blandt andet nævnt i relation til bismag. Det var dog et fåtal af dommerne, der brugte ordene, og der var ikke sammenhæng mellem behandlinger eller gentag i forbindelse med ordene.

Konklusion

Forbehandling af lungevæv med vask forud for ekstraktion reducerer farven af det ekstraherede lungeprotein i en grad, der afspejles ved anvendelse i en fødevarematrice med et koncentrationsniveau på 2%. Forbehandlingen reducerer ydermere jernindholdet samt proteinudbyttet.

Ved sensorisk bedømmelse blev det fundet, at lungeproteinet, uanset forbehandling og koncentration, ikke bidrager med umamismag eller indmadsrelaterede smage som jern, metallisk eller lever.

Opkoncentrering af lungeproteinet ved membranfiltrering har også betydning for farven, men ikke smagen.