

Promilleafgiftsfonden for landbrug

Potentiale af rapsprotein som fødevarer

Den voksende befolkning og et øget pres på klimaet fordrer den grønne omstilling. For at kunne brødføde verdens befolkning i fremtiden, er det afgørende, at jordens ressourcer bliver brugt effektivt. Dette indbefatter en omlægning til en mere plantebaseret kost, hvor størstedelen af proteiner kommer fra planter fremfor fra dyr. En sådan omlægning kræver, at der dyrkes afgrøder, der er rige på protein, og som har potentiale til at kunne erstatte kød, både ernæringsmæssigt og sensorisk.

Raps er en olieafgrøde, der allerede dyrkes intensivt i Danmark. Traditionelt er rapskagen, altså den fraktion, der bliver tilbage efter olien er udvundet, blevet brugt som foder til husdyr. Rapskage er rig på protein, og har generelt en god aminosyresammensætning, hvilket gør det potentielt interessant til brug i fødevarer. Desuden er rapskage en bæredygtig kilde til protein, idet raps kan dyrkes i Danmark, hvilket reducerer transporten i forhold til importerede proteinafgrøder, og samtidig kan raps give meget høje udbytter pr ha. Det er set, at rapsprotein kan have rigtig gode funktionelle egenskaber i fødevarer, f.eks. til at forbedre teksturen i plantebaserede kødalternativer og mundfylden (mouth feel) i f.eks. supper, saucer og dressinger. Dog har proteiner udvundet af raps ofte en mørk farve, hvilket kan være uønsket i nogle typer af fødevarer, og desuden findes der phenoliske komponenter i raps, der er tæt associeret til proteinet, som kan være problematiske i forhold til smagen af fødevarer, hvori rapsprotein indgår. Phenoliske komponenter i raps kan have en bitter/astringerende smag, som kan virke negativt på den sensoriske kvalitet af rapsproteinet.

I projektet "Optimer udbyttet i dine sædskifteafgrøder", er indholdet af forskellige aminosyrer samt phenoliske komponenter i forskellige sorter af raps blevet undersøgt, for at belyse om nogle sorter egner sig bedre til fødevarer, både sensorisk og ernæringsmæssigt, end andre sorter.

Sorterne Smaragd, Butterfly, V375OL og Auckland blev analyseret for indholdet af aminosyrer. To prøver af Butterfly og V375OL, dyrket på forskellige lokationer blev analyseret som dobbeltbestemmelser, hvorved analyseresultaterne verificeredes.

Sorterne Smaragd, LG Auckland, DK Expansion, LG Aviron, Butterfly og V375OL Blev analyseret for indhold af phenoliske komponenter.

Materialer og metoder

Aminosyrer

Indholdet af aminosyrerne Lysin, Threonin, Isoleucin, Leucin, Histidin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin, Alanin, Arginin, Asparaginsyre, Glytaminsyre, Glycin, Hydroxyprolin, Ornithin, Prolin, Serin Cystein/Cystin og Methionin blev bestemt ved brug af HPLC, ved at følge standardmetode ISO 13903:2005

Indholdet af Tryptophan blev bestemt ved brug af HPLC, ved at følge standardmetoden EU 152/2009 / LC-FLD.

Phenoliske komponenter

Presning af rapsfrø

Ca. 100 g rapsfrø presses igennem en oliepresse (Camry premium), se Figur 1.

10 g af den opsamlede rapskage vaskes 3 gange med 200 ml hexan. Mellem hver vask rystes prøven i rysteinkubator i 30min/200rpm inden hexanfasen dekanteres fra. Rapskagen lufttørres på et filterpapir nat-ten over i stinks-kab.



Figur 1 Olien presses fra rapsfrøene

Ekstraktion af phenoliske komponenter fra rapskage

Ca. 1 g tørret rapskage afvejes til et 50 ml centrifugerør. 8-9 ml 70% methanol tilsættes og udrystes i 30 minutter ved 200 rpm i rysteinkubator. Centrifugeres ved 5000g/10 min, og supernatanten overføres til 25 ml målekolbe. Denne proces udføres i alt 3 gange. Målekolben fyldes til et samlet volumen på 25 ml efter sidste ekstraktion.

Total polyphenol indhold

Indholdet af polyphenoler analyseres spektrofotometrisk efter reaktion med Folin-Ciocalteu. Metoden er baseret på at phenolerne i prøven reducerer Folin-Ciocalteu reagentet og danner et produkt med blå farve, der har absorbans ved 725 nm. Der anvendes gallussyre til standardkurven og total phenol indholdet udtrykkes som gallussyre ækvivalenter (1 ækv. \sim 1 g phenol/l) (Szydłowska-Czerniak et al., 2011).

Standardrække: Til standardrækken fremstilles en gallussyre stamopløsning på ca. 200 μ g/ml. Fra denne stamopløsning udtages 0, 20, 40, 80, 120, 160 og 200 μ l til hver sin engangskuvette. Der fyldes op til samlet 200 μ l med methanol. Derefter tilsættes 40 μ l Folin-Ciocalteu og der whirlmixes i 5 sek. Efter 3 min henstand tilsættes 80 μ l 20% natriumkarbonat og til sidst fyldes til samlet volumen på 4 ml med milli-Q-vand. Standardrækkens koncentration er hermed ca. 0, 4, 8, 16, 24, 32 og 40 μ g gallussyre.

Prøver: 100 μ l af prøveopløsningen afpipetteres til en engangskuvette. 40 μ l Folin-Ciocalteu tilsættes og prøven whirlmixes i 5 sek. Efter 3 min henstand tilsættes 80 μ l 20% natriumkarbonat og der fyldes til et samlet volumen på 4 ml med milli-Q-vand.

Måling af absorbans: Efter præcis 1 times reaktion ved stuetemperatur i mørke måles absorbansen af standardrække og prøver ved bølgelængde 725nm. Prøvens koncentration i μ g gallussyre omregnes til mg gallussyre ækv. per 100g affedt rapskage.

HPLC analyse af individuelle phenoliske komponenter

HPLC kan anvendes til en mere præcis koncentrationsbestemmelse af bestemte stoffer. Modsat den spektrofotometriske bestemmelse af total phenoler, separerer HPLC'en de phenoliske forbindelser i prøven og gør det muligt at få et mere præcist indblik i indholdet af specifikke phenoliske komponenter.

Den anvendte HPLC metoden bygger på metoden af Alonso-Salces et al. (2005) der ekstraherede phenoliske komponenter fra æbler. Der blev brugt HPLC Dionex Ultimate 3000 system med LPG-3400 pump, WPS-3000T SL autosampler, TCC-3000 SD column compartment, DAD-3000 photodiode array detector og ultimate-3000 Fluorescence detector. Kolonnen; Kinetex C-18, 100 cm X 2,1 mm ID, 2,6 micron particle size, Serie nr. 532797-62, part nr. 00D-4462-E0.

Flow; 0.9 mL/min. Injektion volumen; 5 µL. UV-detektoren var indstillet på 280, 254 og 320 nm, samt fluorescence EX 280nm/emission 310nm.

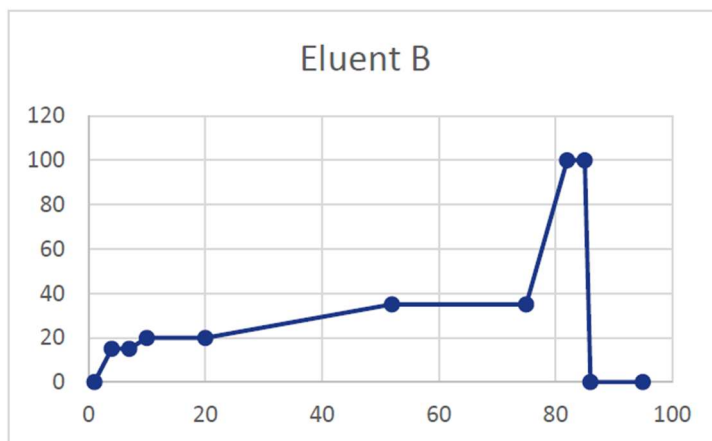
Mobile fase:

A. 0,5 % eddikesyre i MilliQ vand

B. 100 % Methanol chromasolv®

Gradient:

tid min	A eluent	B eluent
1	100	0
4	85	15
7	85	15
10	80	20
20	80	20
52	65	35
75	65	35
82	0	100
85	0	100
86	100	0
95	100	0



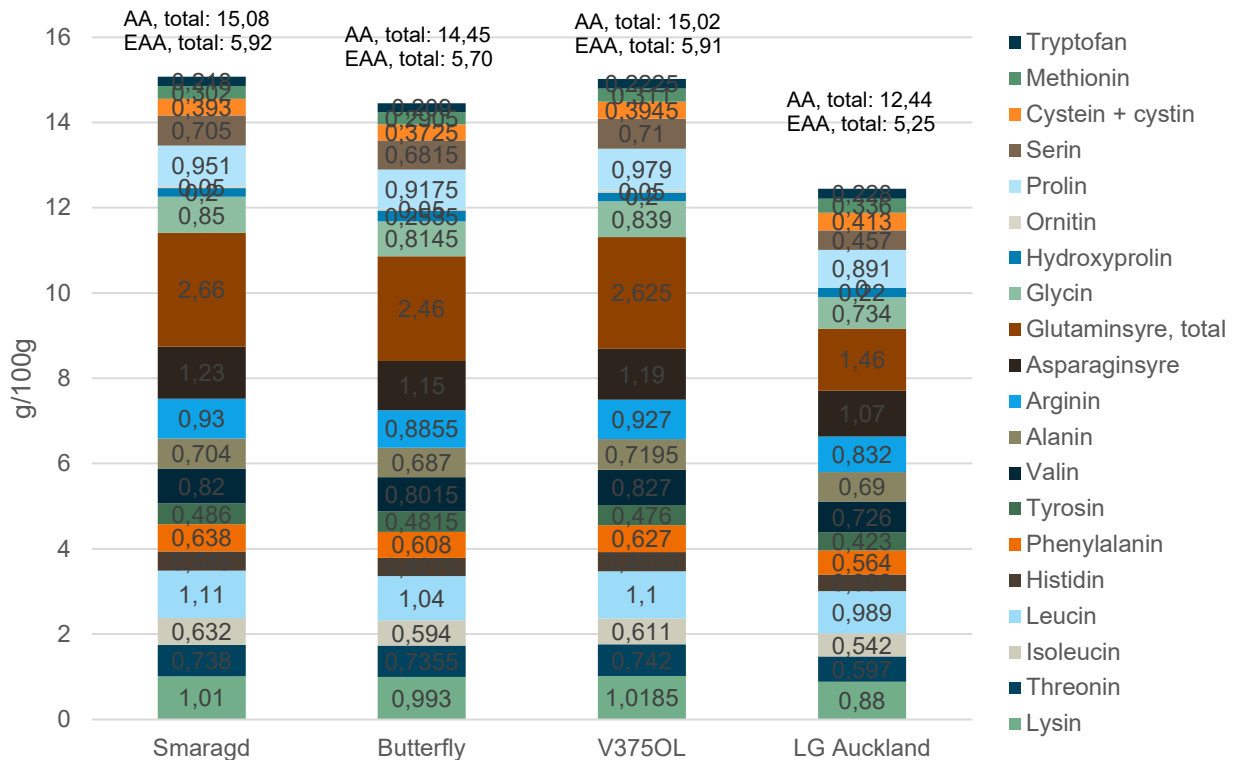
Alle prøver filtreres gennem et 0,45 µm filter før analyse. Til identifikation og kvantificering af de phenoliske komponenter, Quercetin, Phloretin, Procyanidan B1, 5-O-caffeoylquinic acid, 4-O-caffeoylquinic acid og sinapic acid, er der anvendt sammenligning af retentionstider og 4 pkt. standardkurver. Koncentrationen beregnes som mg/g rapskage.

Resultater og diskussion

Aminosyreprofiler

I Figur 2 er aminosyreprofilerne for de fire rapssorter vist. Data for Butterfly og V375OL er gennemsnit af data fra de to lokationer.

Aminosyresammensætning

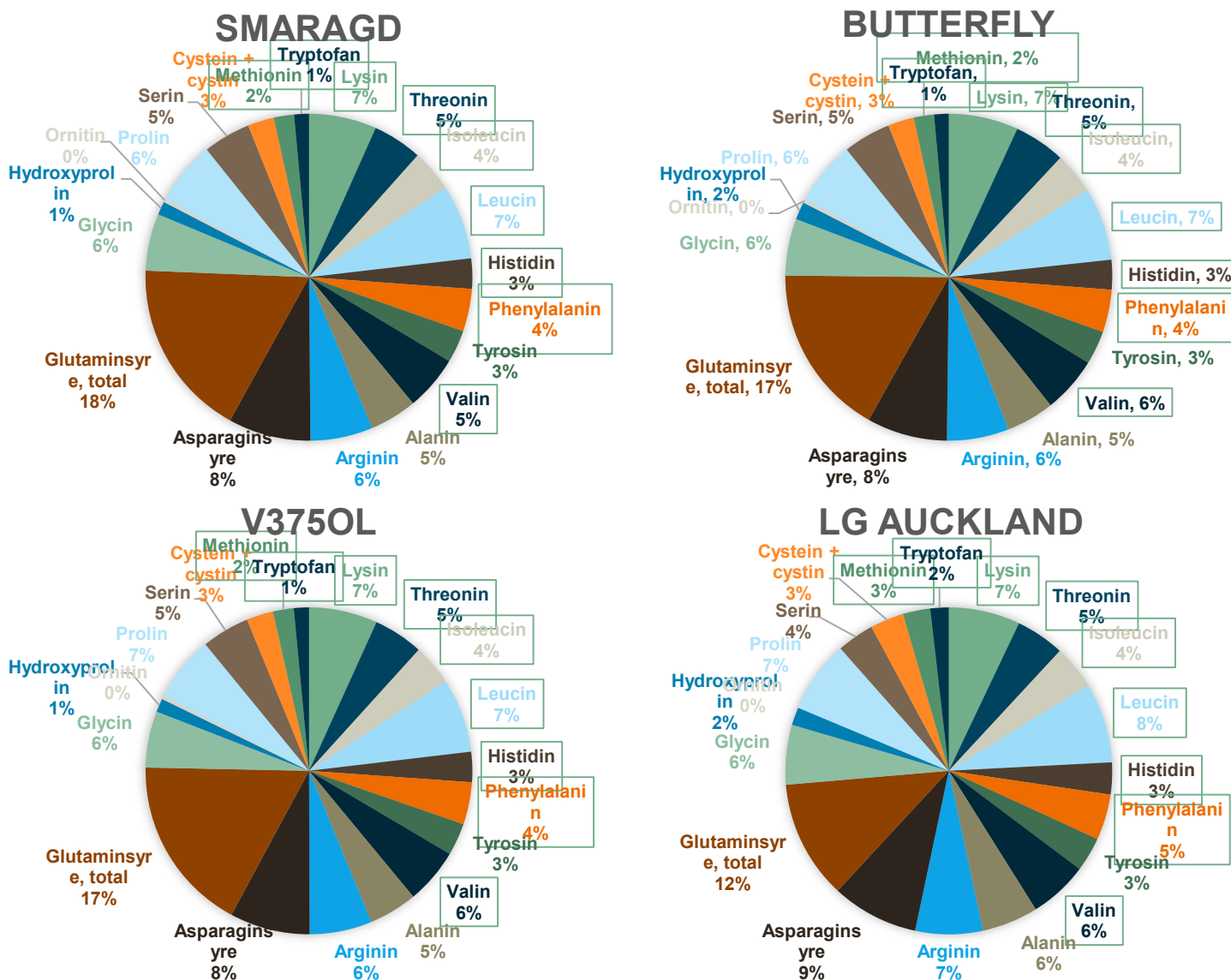


Figur 2 Indholdet af aminosyrer i de fire forskellige sorter. Data for Butterfly og V375OL er gennemsnit af de to lokationer.

Som det fremgår af Figur 2, er der forskel på det samlede indhold af aminosyrer blandt de fire sorter. Smaragd og V375OL indeholder den højeste andel af aminosyrer på hhv. 15,08 og 15,02 g/100 g, mens LG Auckland har det laveste indhold af aminosyrer, på 12,44. Butterfly ligger en anelse lavere end Smaragd og V375OL med et total aminosyreindhold på 14,45 g/100 g.

De essentielle aminosyrer er leucin, isoleucin, lysin, methionin, phenylalanin, threonin, tryptofan, (histidin, essentiel for børn) og valin. De kaldes essentielle, da kroppen ikke er i stand til at syntetisere dem selv, og derfor må tilføres via kosten. Indholdet af essentielle aminosyrer er også lavere i sorten LG Auckland (5,25 g/100 g), mens Smaragd og V375 ligger i top med hhv. 5,92 og 5,91 g/100 g, og Butterfly en smule lavere med 5,70 g/100. Dog udgør de essentielle aminosyrer en procentvis større andel i LG Auckland end i de øvrige sorter. I Auckland udgør de essentielle aminosyrer 42,22%, mens de essentielle aminosyrer udgør hhv. 39,25, 39,43 og 39,35% for Smaragd, Butterfly og V375OL. Således kan det forventes at aminosyreprofilen i et oprenset rapsprotein fra sorten LG Auckland vil have højere ernæringsmæssig værdi pga. den større andel af essentielle aminosyrer.

Ser vi på fordelingen af de forskellige aminosyrer i raps sorterne, er her også noget variation. I Figur 3, er det procentvise indhold af aminosyrer i de fire forskellige sorter vist i form af cirkeldiagrammer:



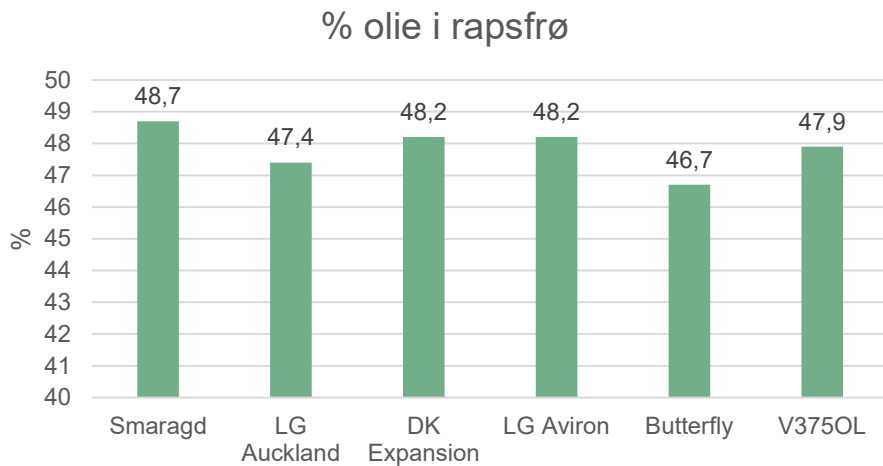
Figur 3 Fordeling af aminosyrer (%) i de fire forskellige sorter. Essentielle aminosyrer er markeret i kasser

LG Auckland adskiller sig fra de andre sorter ved at have et væsentlig lavere indhold af glutaminsyre. Glutaminsyre, er ikke en essentiel aminosyre, og er derfor ikke så vigtig for den ernæringsmæssige kvalitet. Glutaminsyre kan dog have betydning for den sensoriske oplevelse af en fødevarer indeholdende rapsprotein, idet ionformen af glutaminsyre, glutamat, er den komponent, der giver umami-smag. Umami forbindes ofte med smagen af kød, og derfor forventes et højt indhold af glutaminsyre at være ønskværdigt i f.eks. et plantebaseret kødalternativ.

De essentielle aminosyrer er vist i kasser. Her ses det igen, at indholdet af de forskellige essentielle aminosyrer i sorterne Smaragd, Butterfly og V375OL er meget ens, mens LG Auckland indeholder en lidt højere procentmæssig andel af de essentielle aminosyrer, phenylalanin, Leucin, Tryptofan og methionin.

Phenoliske komponenter

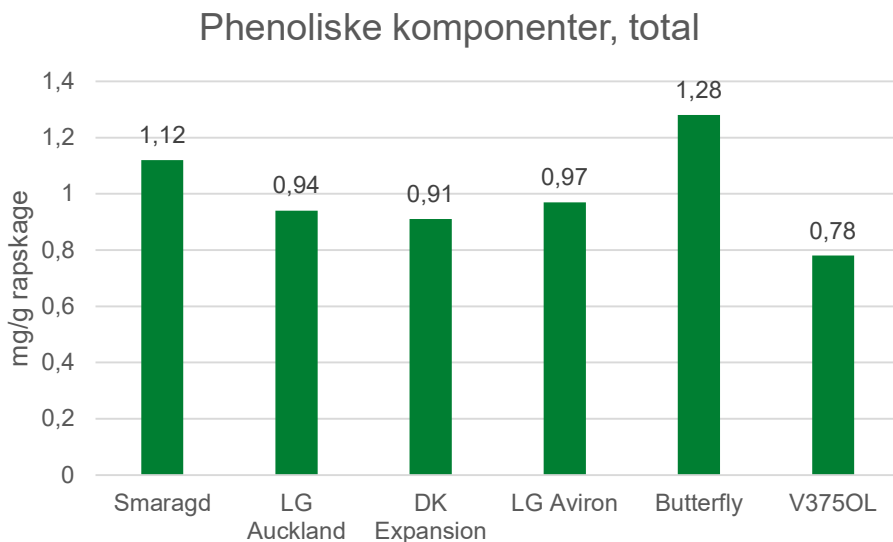
For at kunne ekstrahere de phenoliske komponenter, var det nødvendigt først at presse olien fra rapsfrøene. I Figur 4 er procent olie i rapsfrøene af de forskellige sorter vist:



Figur 4 Procent olie i rapsfrø (Presset + udvasket olie)

Sorten Smaragd gav det største udbytte af olie, mens det laveste udbytte af olie sås i Sorten Butterfly.

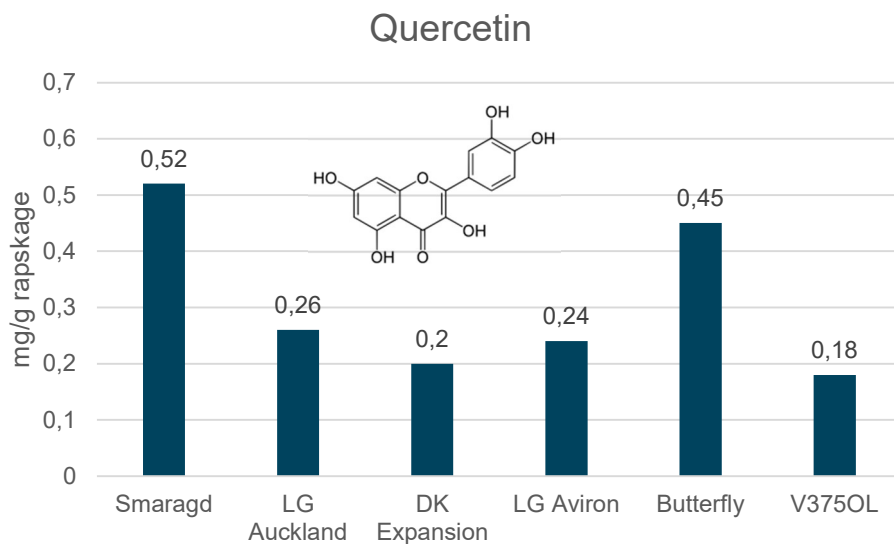
I Figur 5 er den totale mængde af de phenoliske komponenter, Quercetin, Phloretin, Procyandin B1, 5-O-caffeoylquinic acid, 4-O-Caffeoylquinic acid og Sinapic acid, vist.



Figur 5 Total mængde phenoliske komponenter, Quercetin, Phloretin, Procyandin B1, 5-O-caffeoylquinic acid, 4-O-Caffeoylquinic acid og Sinapic acid

Som det fremgår af Figur 5, indeholdt rapssorten Butterfly den største mængde af de målte phenoliske komponenter, efterfulgt af Sorten Smaragd. V375OL indeholdt væsentligt lavere mængder af phenoliske komponenter end de andre fem sorter. Dette indikerer, at V375OL vil have en mindre bitter smag end de andre sorter, og at Butterfly vil være mere bitter. En sensorisk analyse ville kunne bekræfte dette.

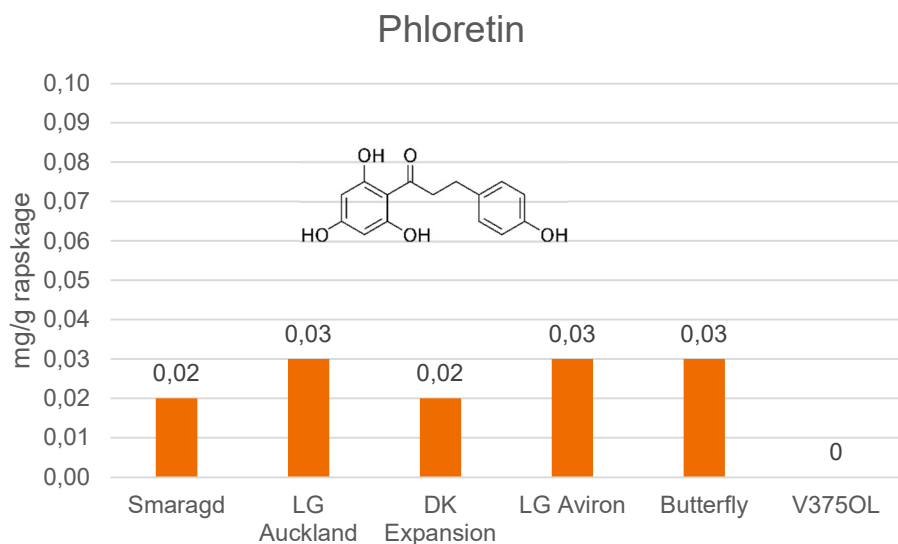
Quercetin er en flavonol (en undergruppe af flavonoider), og bidrager således både med mørk farve og med bitter smag. Det er en af de mest udbredte flavonoider, der findes i naturen, og findes således i mange forskellige typer af frugt, grønt, blade, frø og korn. I Figur 6 er indholdet af quercetin i de seks forskellige sorter vist.



Figur 6 Indhold af quercetin

Som det kan ses af Figur 6, er der stor forskel på, hvor meget quercetin, de individuelle sorter indeholder. Smaragd er den sort, der har det højeste indhold af Quercetin – hele 0,52 mg/g rapskage, mens V375OL ligger lavest med 0,18 mg/g rapskage.

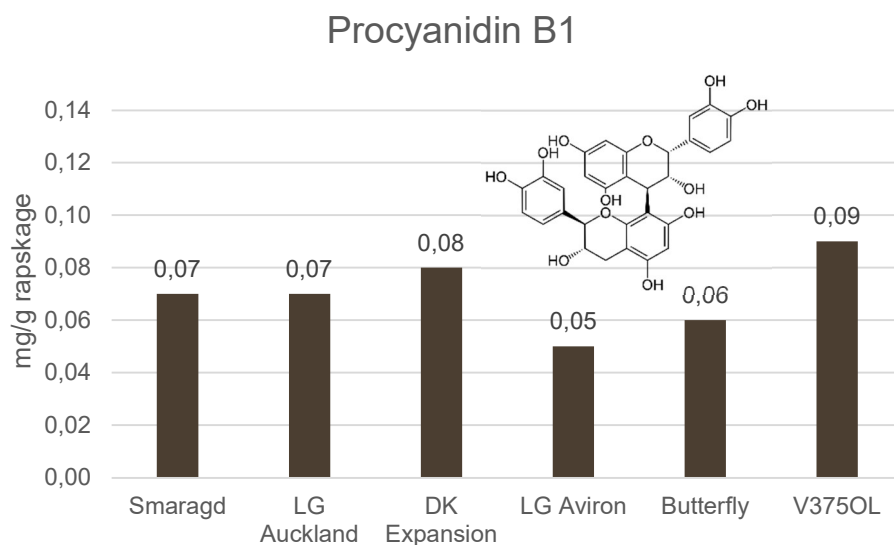
I Figur 7 er indholdet af phloretin i de seks forskellige sorter vist. Phloretin er en dihydrochalcon, som også giver farve, og en let bitter smag.



Figur 7 Indhold af Phloretin

Phloretin var til stede i meget små mængder i fem af de seks sorter, som vist i Figur 7. LG Auckland, LG Aviron og Butterfly viste det højeste indhold af phloretin på 0,03 mg/g rapskage, mens Smaragd og DK Expansion indeholdt lidt mindre, 0,02 mg/g rapskage. I V375OL blev der ikke påvist phloretin.

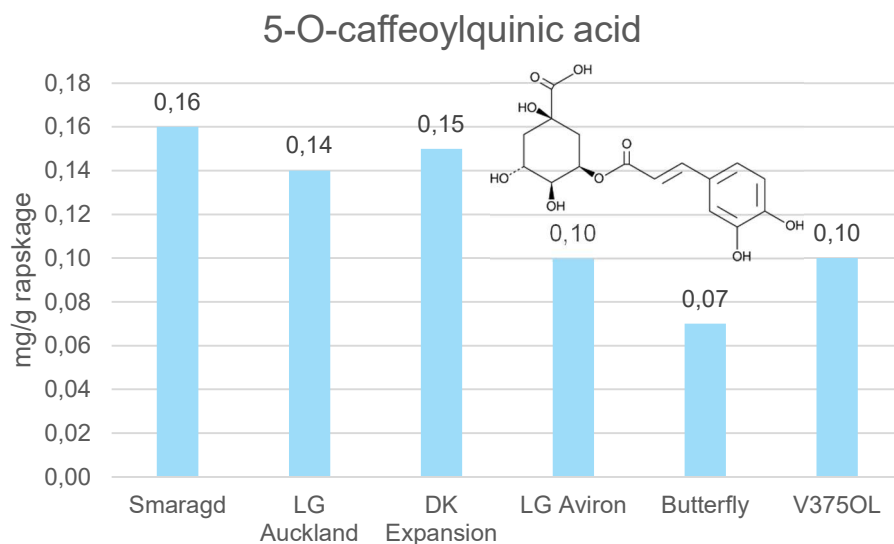
Procyanidin B1 er en procyanidin dimer (en undergruppe af flavonoider).



Figur 8 Indhold af Procyanidin B1

Som det kan ses af Figur 8, var V375OL sorten med det højeste indhold af procyanidin B1, efterfulgt af DK Expansion. Den sort med det laveste indhold af procyanidin B1 var LG Aviron, efterfulgt af Butterfly.

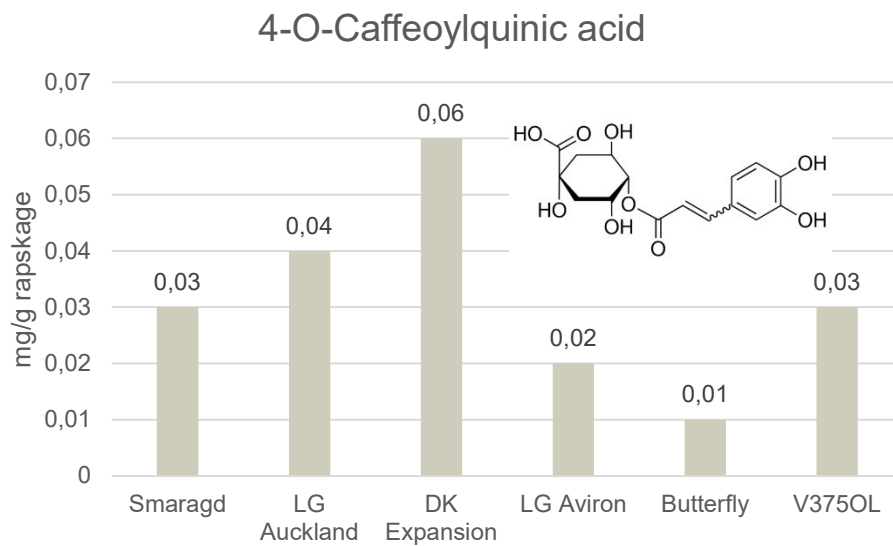
5-O-caffeoylquininsyre er en af de mest almindelige chlorogensyrer, der findes i naturen, inklusiv frugter, grøntsager og urter. I Figur 9 er indholdet af 5-O-caffeoylquininsyre i de seks rapssorter vist.



Figur 9 Indhold af 5-O-caffeoylquininic acid

Det fremgår af Figur 9, at den sort, der indeholdt mest 5-O-caffeoylquininsyre var Smaragd med 0,16 mg/g rapskage, efterfulgt af DK Expansion med 0,15mg/g rapskage. Butterfly indeholdt den mindste mængde, nemlig 0,07mg/g rapskage.

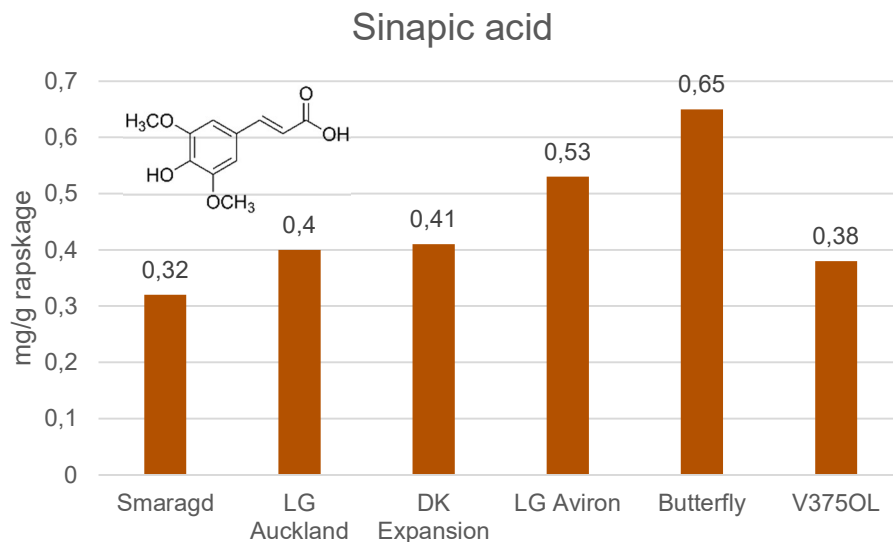
4-O-caffeoylquininsyre er en anden chlorogensyreisomer, ligesom 5-O-caffeoylquininsyre. Indholdet af 4-O-caffeoylquininsyre er vist i Figur 10:



Figur 10 Indhold af 4-O-Caffeoylquinic acid

Her var det DK Expansion, der indeholdt den højeste andel den phenoliske komponent (0,06mg 4-O-caffeoylquininsyre/g rapskage), mens Butterfly igen indeholdt den mindste (0,01mg 4-O-caffeoylquininsyre/g rapskage).

Sinapinsyre er også en phenolisk komponent, som findes overalt i planteriget. Sinapinsyre og derivater heraf, er karakteristiske for planter af korsblomstfamilien, Brassicaceae. Indholdet af sinapinsyre i de seks sorter er vist i Figur 11:

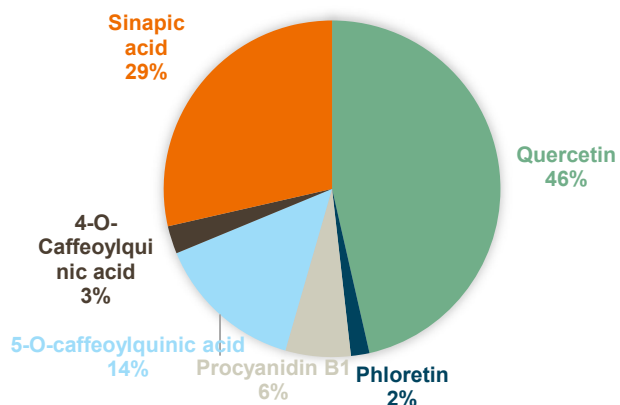


Figur 11 Indhold af Sinapinsyre

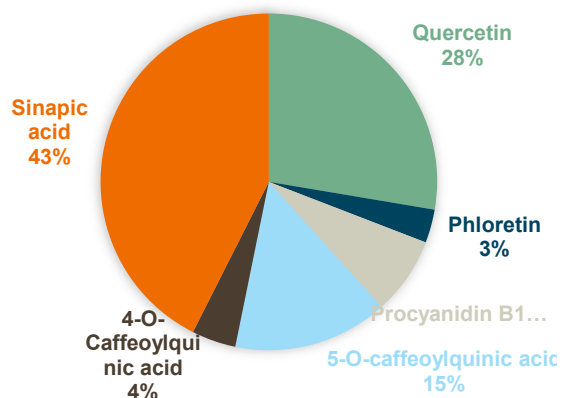
Som det fremgår af Figur 11, havde sorten Butterfly det højeste indhold af sinapinsyre (0,65mg/g rapskage), efterfulgt af LG Aviron med 0,53 mg/g rapskage, mens Smaragd og V375OL viste det laveste indhold på hhv. 0,32 og 0,38 mg/g rapskage).

Der var stor variation i mængderne af de forskellige phenoliske komponenter fra sort til sort. I Figur 12 er den procentvise fordeling af de phenoliske komponenter i de forskellige sorter vist.

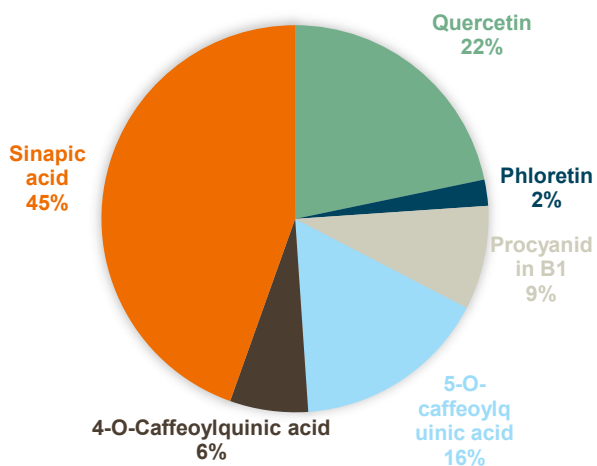
SMARAGD



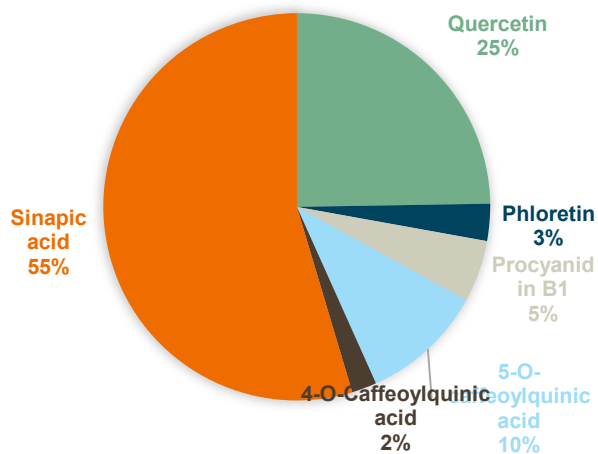
LG AUCKLAND



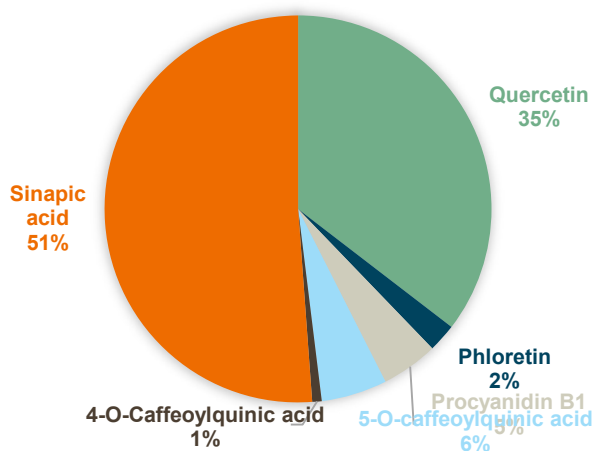
DK EXPANSION



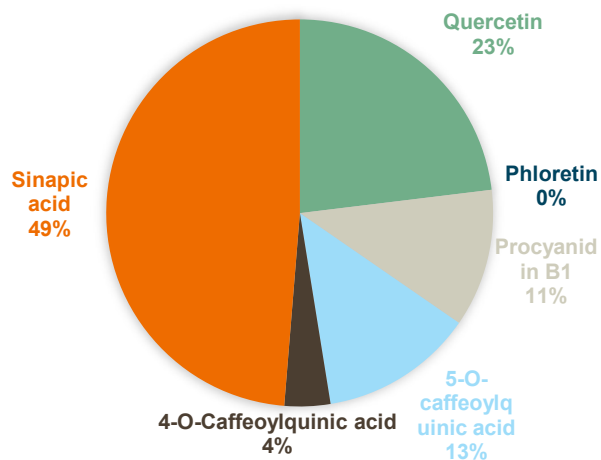
LG AVIRON



BUTTERFLY



V375OL



Figur 12 fordelingen af de forskellige phenoliske komponenter fra sort til sort.

Her er det helt tydeligt at hver sort har sin individuelle profil af phenoliske komponenter, hvilket kan tyde på, at de besidder hver sin unikke smagsprofil ifht. bitterhed/astringens.

Konklusion

Der er en vis variation i forhold til aminosyreprofilerne i de forskellige rapssorter. Af de analyserede rapssorter indeholdt Smaragd og V375OL den største mængde aminosyrer og essentielle aminosyrer totalt, mens LG Auckland indeholdt den største procentvise andel af essentielle aminosyrer. Det vil naturligvis være af interesse at vælge en sort med et højt proteinindhold, men det kan være værd at se på den ernæringsmæssige profil ved udvælgelse af sorter, hvis slutmålet er produkter til special ernæring, såsom produkter til fitnessindustrien eller proteintilskud til syge og svækkede mennesker.

Desuden blev det påvist, at der var meget store variationer i indholdet af phenoliske komponenter i de forskellige sorter. Det ville være af stor interesse at undersøge yderligere, hvad de forskellige komponenter bidrager med i forhold til den sensoriske oplevelse af rapsprotein. Det anbefales, at der foretages et dybdegående litteraturstudie, med formål at undersøge hvad der allerede eksisterer af viden på området, samt en eventuel sensorisk analyse af produkter, der indeholder rapsprotein fra de forskellige sorter. Det er muligt, at nogle phenoliske komponenter f.eks. opfanges mere effektivt af receptorer end andre, og således opfattes som mere bitre, hvorved disse specifikke phenolske komponenter får større betydning for smagen end andre. De phenoliske komponenter er også ofte årsag til en vis mørkfarvning, som kan have betydning for forbrugeraccepten af produkter indeholdende rapsprotein, hvilket også skal tages med i overvejelserne, når man udvælger sorter af raps til brug i fødevarer.