

Dansk Procesteknologi

Rapport til Kartoffelafgiftsfonden

**Optimering af produktionsmetode for udvinding af denatureret
kartoffelprotein.**

December 2004

**Dansk Procesteknologi I/S
Koldsmindevej 21 9240 Nibe
Telefon: 98 35 24 42 Telefax: 98 35 24 77**

RESUME

Denne rapport er udarbejdet for Kartoffelafgiftsfonden, Grindstedvej 55, 7184 Vandel.

Rapporten omfatter en undersøgelse over mulige løsningsmetoder for optimering af produktionsmetode for udvinding af denatureret kartoffelprotein baseret på kartoffelrugtsaft fra produktion af kartoffelmel. Principper beskrevet i rapporten vil endvidere kunne anvendes af industrier med tilsvarende udledning.

Rapporten er udarbejdet for Kartoffelafgiftsfonden af Dansk Procesteknologi I/S Herningvej 36, 7330 Brande.

| INDHOLD | SIDE |
|--|-------------|
| 1. INDLEDNING | 4 |
| 2. BAGGRUND OG FORMÅL | 6 |
| 3. KARTOFFELSTIVELSESPRODUKTION | 8 |
| 4. GENNEMGANG AF LITTERATUR | 11 |
| 5. BESKRIVELSE AF MULIGE PROCESFORBEDRINGER | 12 |
| 6. INDLEDENDE LABORATORIEUNDERSØGELSER | 23 |
| 7. VURDERING AF PRODUKTER | 29 |
| 8. SAMMENFATNING OG KONKLUSION | 33 |

Bilag 1: Litteraturliste

Bilag 2: Udvalgte referencer vedr. godkendelse af kartoffelprotein til fødevarer mv.

1. INDLEDNING

Denne rapport er udarbejdet for Kartoffelafgiftsfonden, Vandel.

Formålet med nævnte projekt har været at udarbejde en oversigt over mulige løsningsmetoder for optimering af kvaliteten af denatureret kartoffelprotein (i det efterfølgende benævnt K-protein). K-protein produceres i dag på kartoffelmelfabrikkerne i Brande og Langholt og anvendes fortrinsvis til dyrefoder eller som gæringssubstrat for fermenteringsindustrien. Udfra resultaterne fra projektarbejdet er det forventningen, at f.eks. kartoffelmelfabrikkerne vil kunne udarbejde forslag til metodebeskrivelser mv. for den fremtidig behandling/håndtering af K-protein.

Undersøgelsen er primært baseret på undersøgelser af litteratur på området bl.a. omfattende K-protein i Danmark sammenlignet med K-protein produceret i udlandet, hvor der de sidste år er set en kvalitetsforbedring af det producerede protein f.eks. produceret i Holland i forhold til det danske protein. I projektet er desuden foretaget kontakter til forskningsinstitutioner og kartoffelmelfabrikker mv. vedr. afklaring af emnet.

Den omtalte kvalitetsforbedring omfatter bl.a. en reduktion af indholdet af glycoalkaloider (GA) og en lysere farve, der gør det muligt at kunne sælge proteinet til en bredere kundekreds, herunder til anvendelse i fødevareapplikationer.

Det overordnede formål med projektet var derfor, at kunne gennemføre en forundersøgelse, der som overordnet resultat vil kunne bidrage til at de danske fabrikker på sigt vil være i stand til at producere et protein med en kvalitet, der mindst er på højde med det udenlandske og konkurrerende K-protein.

Som læsevejledning kan det oplyses at rapporten er bygget op med følgende temaer:

Baggrund for arbejdet – forudsætninger.

Gennemgang af litteratur om produktion af denatureret kartoffelprotein og optimering af proteinkvaliteten.

Beskrivelse af mulige procesforbedringer

Indledende laboratorieforsøg for eftervisning af muligheder

Vurdering af produkter

Projektperioden for projektet har været fra 1. januar 2004 til 31. december 2004.

Udarbejdelsen af projektet er støttet økonomisk af Kartoffelafgiftsfonden.

Projektet er udarbejdet af Dansk Procesteknologi I/S, Koldsmindevej 21, 9240
Nibe.

2. BAGGRUND OG FORMÅL

Det kan oplyses, at udenlandske kartoffelmelfabrikkerne har været i stand til at gennemføre forbedringer af K-proteinets kvalitet igennem de seneste år. Denne forbedring er primært sket på vigtige forbrugerkrav som hydrolysegrad, indhold af glycoalkaloider(GA) som solanin og chaconine samt proteinets farve.

Desuden er det sket en øget interesse for anvendelse af K-protein til andre højværdige formål f.eks. indenfor den medicinske anvendelse og anvendelse til helsekost mv. på grund af proteinets gode egenskaber(ernæring).

Det kan oplyses, at glycoalkaloider er et naturligt forekommende giftstof i kartofler, som kan opfattes som et forsvarsstof hvis kartoflerne stødes eller belyses. Det er oplyst fra tidligere undersøgelser, at stoffet i større doser kan medføre mavesmerter og at der derfor må forventes et krav til max. indhold i proteinet (ca. 150 ppm eller mg/kg), hvis det skal f.eks. skal bruges til levnedsmidler. Der er ikke formelle krav ved anvendelse af K-protein til dyrefoder og som næringssubstrat. Der er dog uformelle krav baseret på egne undersøgelser og vurderinger fra kundesiden og disse krav er blevet skærpet indenfor de sidste år – deraf endvidere problemstillinger ved kvalitet.

Ved en reduktion af glycoalkaloider vil der kunne opnås en fordel vedr. salgssituationen, idet det er vurderingen at anvendelsesmulighederne vil blive væsentlig forbedret; idet proteinet vil kunne anvendes til specialfoder(kalvefoder) og til levnedsmidler. Denne anvendelse er i dag begrænset af det høje indhold af glycoalkaloider, som i dag normalt forefindes i dansk K-protein. Vedr. indholdet af glycoalkaloider vil ovenstående kræve et væsentlig reduceret indhold af glycoalkaloider(fra ca. 1200 ppm til 150ppm eller mindre).

Til orientering kan det endvidere oplyses, at farven i K-protein normalt skyldes de såkaldte polyphenoler(melaniner) som er naturligt forekommer i kartofler. Disse forbindelser kan ofte medføre farvereaktioner ved tilførsel af ilt(polyphenoloxidase – som når man skæres et æble igennem og overfladen bliver brun efter en kort periode). Mange kunder ønsker et ensartet og lyst protein uden farvereaktion, således at deres slutprodukter ikke farves momentant og over tid.

Vedr. hydrolysegraden kan det oplyses, at der de sidste år er sket en udvikling i industrien omfattende produktion af enzymer som stiller øgede krav til f.eks. forbedret hydrolyse(eller nedbrydning af K-protein) i nyudviklede fermenteringsprocesser. Dette er bl.a. sket ved Novozymes, hvor en stor del af det

danske K-protein anvendes som næringssubstrat for produktion af enzymer til vaskepulver. Det danske K-protein har, som tidligere omtalt, i perioder haft svært ved at leve op til de skærpede krav til proteinets anvendelse som næringssubstrat på grund af farve mv.

For at imødekomme den øgede konkurrence på K-protein, er det derfor vigtigt at der indenfor den nærmeste fremtid sker en kvalitetsforbedring af det danske K-protein.

3. KARTOFFELSTIVELSESPRODUKTION

Til forståelse af hvordan restprodukter, herunder primært kartoffeljuice (kartoffelfrugtsaft – K-protein) fra produktion af kartoffelstivelse opstår, er i det efterfølgende på meget overordnet form beskrevet processerne for produktion af kartoffelstivelse fra indtag af kartofler til de færdige produkter og restprodukter, som fremkommer ved produktionen. Udfra det efterfølgende fremgår det bl.a. at K-protein primært er indeholdende (ca. 95%) i frugtsaften

I det efterfølgende er processen beskrevet med udgangspunkt i en produktion baseret på anvendelse af separatorer i stivelsesafdelingen. Desuden omtales muligheder for anvendelse af hydrocycloner.

Indvejning mv.

Ved kartoflernes ankomst til fabrikken indvejes disse, og der tages en stikprøve for bestemmelse af smudsindhold og stivelsesindhold.

Aflæsning.

Kartoflerne aflæsses i en faststøbt kartoffelgrube, der kan rumme ca. 100 tons kartofler.

Tørrensning.

Fra kartoffelgruben transporteres kartoflerne med båndtransportør til en roterende tørrenser. I tørrenseren sorteres sand, jord og planterester fra kartoflerne.

Kartoffellager.

Fra tørrenseren transporteres kartoflerne med båndtransportør til kartoffellager før vaskeprocessen.

Vaskekælder.

Fra kartoffellageret bliver kartoflerne skyllet ud i render over stenfang og ført til roterende vasketromler. I denne proces vaskes kartoflerne rene for jord, fint sand og lerpartikler mv.

Rivning.

Efter vaskeprocessen bliver kartoflerne ført til en riverstationen, der består af roterende rivetromler med påsatte riverklinger ("savklinger").

I riverstationen rives/findeles kartoflerne til en "grød", således at stivelseskornene bliver frigjort fra stivelsescellerne og herefter i en samlet strøm ført til et separationsanlæg.

Produktion af kartoffelstivelse.

Produktion af kartoffelstivelse er en såkaldt kold proces. Temperaturen vil normalt ligge på ca. 26-28 graders celsius og pH værdien i anlægget er neutral til ca. 6,5. I

processen anvendes kun få kemikalier (skumdæmper og natriumbisulfit i mindre mængder).

Frugtsaftekstraktion og K-protein.

Rivslen føres fra riverstationen til separering (decantercentrifuger, hydrocycloner), således at rivslen deles i 2 fraktioner, som er en frugtsaftsfraktion og en stivelses- og fiberfraktion.

Frugtsaftsmængden vil under normale forhold være lidt opspædet med procesvand fra stivelseprocessen, og denne strøm kan ledes til opbevaring i store laguner eller føres til procesanlæg for udvinding af kartoffelprotein – K-protein. Udvingen af K-protein foregår i dag i Danmark ved anvendelse af en syre-varmekogulering, hvor der anvendes svovlsyre ved en pH på ca. 5 og en fældningstemperatur på ca. 112°C. Proteinet tørres og restvandet udledes på marker eller til laguner.

Pulpekstraktion.

I anlægget fortyndes stivelse- og fiberfraktionen fra frugtsaftekstraktionen og separeres efterfølgende i yderligere to fraktioner, som er råmælk (råstivelse) og kartoffelfiber/pulp. Behandlingen sker i en flere-trins ekstraktionssianlæg (centrifugalsi). Fiber mængden bliver afvandet over endnu en centrifugalsi. Denne mængde føres med et tørstofindhold på ca. 5 % til afvanding over pulpdekantere eller centrifugalsier, hvor den afvandes til et tørstofindhold på ca. 14 - 17,5 %.

Væsken fra dekanteringen kan som genbrugsvand eller udledes som procesvand/overløbsvand. Efter afvandingen føres pulpen via båndtransportør til lagring på pulplads.

Råmælken føres til en mellemtank/buffertank før videre behandling i raffineringsafsnittet.

Raffinering via separatorer eller hydrocycloner og tørring.

Fra råmælkstanken føres den rå stivelse til afskumning og til modstrøms vaskning i et såkaldt 2 eller 3-fase-separatoranlæg eller hydrocycloner.

Den raffinerede stivelse føres med et tørstofindhold på ca. 20% til opsamlingskar.

Fra opsamlingskaret ledes stivelsen ("renmælk") efter en fortynding med rent boringsvand til vakuumtromletørrere, der er roterende tromletørrere med en filterdug med lille maskevidde, således at stivelsen kan separeres fra vandet. I vakuumtromletørreanlægget gennemføres den sidste udvaskning af stivelsen, idet opblandingen ledes til anlægget og vandet suges igennem filteret ved vakuum. Fra anlægget produceres en stivelse med et vandindhold på ca. 37 %, der efterfølgende ledes til tørring i et stigrør-/flashtørreanlæg, hvor yderligere 17 % vand afdampes i stigrøret.

Vandet fra vakuumtromletørreanlægget (næsten rent boringsvand) ledes til separatorafsnittet til modstrøms renvaskning af stivelsen.

Slutprodukterne kan ud fra råvaren kartofler være følgende:

- Kartoffelstivelse.
- Kartoffelprotein – K-protein.
- Kartoffelpulp.
- Procesvand(lavt indhold af protein mv.)
- Kartoffelfrugtsaft-reduceret for protein.

I nærværende projekt, er det proteinfraktionen i kartoflerne og efterfølgende i kartoffelfrugtsaften som er beskrevet.

Det fremgår af ovenstående procesbeskrivelse, at der er mange muligheder for stød af kartofler, som kan give anledning til kvalitetsforringelse. Det fremgår også at der vil være muligheder for indgreb f.eks. for tilsætning af kemikalier for reduktion af enzymreaktioner, farve o.l. tidligt i processen, samt en optimeret separation af frugtsaften omfattende temperaturregulering mv.

4. GENNEMGANG AF LITTERATUR OM PRODUKTION AF DENATURERET KARTOFFELPROTEIN OG OPTIMERING AF PROTEINKVALITETEN

Formålet med denne opgave var at indsamle og koordinere eksisterende litteratur som artikler og rapporter mv. omfattende undersøgelser om denatureret kartoffelprotein og herunder specielt ny viden som omfatter forsøg på optimering af proteinkvaliteten herunder bl.a. reduktion af glycoalkaloider og reduktion af farve(lysere produkt).

I forbindelse med delopgaven er blevet foretaget dokumentationssøgninger på forskningsbiblioteker, gennemført søgning på patentdatabaser. Desuden er der blevet taget kontakt til kartoffelmelfabrikkerne, forskningsinstitutter og til leverandører af procesudstyr med specialviden indenfor området. Udover ovennævnte er der blevet gennemført en søgning på Internettet for afklaring af emneområderne.

I bilag 1 ses en oversigt over udvalgt litteratur fra litteratursøgningen, hvor der primært er blevet lagt vægt på kartoffelprotein, glycoalkaloider og brunfarvning. Desuden er der blevet gennemført en søgning på patentdatabaser for undersøgelse af mulige patenter omfattede emnet. Dette for afklaring af evt. begrænsninger og samtidig som oplæg til udvikling af nye tekniske metoder for optimering af K-protein.

Indledningsvis vil i det efterfølgende blive beskrevet generelt vedr. 2 hovedproblemstillinger som er indholdet af glycoalkaloider og farvereaktioner.

Glykolalkaloider (GA) eller alkaloider ses i flere grøntsager og frugter (inklusive i sukkerroer, æbler, kirsebær og klokkepeber), men hovedsageligt i planterne tilhørende natskyggefamilien, især kartoffelen, som er en hverdagsspise for mange mennesker i mere end 2000 år. α -solanine og α -chaconine tegner sig for 95% af de GA'er, der forefindes i *Solanum tuberosum* og består af en ikke-polær, fedtbindende steroidkærne, som er udvidet af to sammensmeltede nitrogenindeholdende heterocykliske ringe i den ene ende og bundet til en polær vandopløselig trisaccharid i den anden ende. Flere forskningsundersøgelser har vist giftigheden af steroid alkaloider, som ikke kun skal defineres ved deres koncentration, men også ved deres beskaffenhed og mængde af suktermolekyler (kulhydratdelen er knyttet til 3-OH aglycone gruppen), såvel som ved deres stereokemiske retning. α -formen er mere giftig end β -formen, hvilken til gengæld er mere giftig end γ -formen.

GA'er er tiltænkt at beskytte afgrøden mod bestemte plager og sygdomme forårsaget af insekter og svampe. Flere faktorer er forbundet med vækst, høst og senhøst behandling, som vil kunne føre til en tilvækst i GA-indhold til højt og giftigt niveau i kartoffelrodknolde, især under skrællen. Vigtige faktorer, som forårsager denne tilvækst er genetiske forandringer, vækst- og opbevaringsbetingelser, inklusive lyspåvirkning og rodknoldbeskadigelse. I artikler er omtalt at frie sulfhydryl grupper i nogle svovlkomponenter indvirker direkte på naturlige kartoffeltoksiner og reducerer deres giftighed betydeligt.

Fra patentundersøgelsen vil udvalgte patenter blive omtalt som omfatter udvaskning af glycoalkaloide ved brug af uorganiske og organiske syre i udvalgte pH-intervaller og temperaturområder. De omtalte patenter er fremsendt af de franske firma Roquette Freres i 1974 og det hollandske firma Avebe i 1996(se litteraturlisten). Der er vurderingen, at patenterne ikke pålægger fabrikkerne nogen begrænsninger i anvendelse af metoder og teknikker som udgangspunkt for udvikling af nye processer, da f.eks. det franske patent er forældet og det hollandske patent vurderes at tage udgangspunkt i litteratur, der i store træk har været offentliggjort i andre videnskabelige artikler før anmeldelsesdagen og i øvrigt i bredt omfang tager udgangspunkt i det franske patent fra Roquette, da dette patent er baseret på et omfattende forskningsarbejde omfattende kemiske og fysiske metoder for udvinding og optimering af K-protein.

Desuden er gennemført en søgning på Internettet vedr. problematikken omfattende en produktion og optimering af K-protein, samt anvendelse af denatureret kartoffelprotein f.eks. i fødevareapplikationer. Via dette søgningsarbejde er det bl.a. konstateret, at det hollandske firma Avebe har fået en principiel godkendelse fra EU vedr. salg/anvendelse af denatureret kartoffelprotein til fødevarer. Det samme ses at være gældende for de amerikanske markeder. Denne godkendelse fra EU har endvidere været taget op i Folketinget uden bemærkninger. På bilag 2 ses en oversigt over godkendelse af denatureret kartoffelprotein fra EU og behandlingen i Folketinget. I bilaget ses endvidere krav til proteinet, som skal være overholdt for anvendelse og salg til fødevarer.

5. BESKRIVELSE AF MULIGE PROCESFORBEDRINGER

Med udgangspunkt i forannævnte delopgaver er blevet gennemført en vurdering af delopgavernes resultater. I det efterfølgende er opstillet forslag til optimering af proteinkvaliteten med udgangspunkt i patentet fra Roquette vedr. tekniske forslag forsøgsresultater mv., som er kommenteret ud fra øvrige erafringer hentet fra litteraturen. De opstillede resultater er således blevet vurderet ud fra såvel kemisk,

fysiske som tekniske betragtninger. I dette arbejde er endvidere taget kontakt til leverandører af procesudstyr for en samlet vurdering af de tekniske muligheder. I arbejdet er omtalt metoder, som forventes at kunne forberede proteinkvaliteten. Disse metode er bl.a. blevet drøftet med specialister i kemi og teknikere med specialviden på området.

For en forståelse af problemstillingerne er i det efterfølgende beskrevet i detaljer vedr. proteinudvinding fra produktion af kartoffelstivelse og herunder forslag til optimering af kvaliteten. Det kan oplyses, at proteiner i kartofler udgør den væsentligst bestanddel i frugtsaft, der er et restprodukt fra kartoffelmels- eller stivelsesfabrikker, der behandler kartofler med henblik på at ekstrahere stivelse(primær produkt).

Vand er den væsentligste bestanddel i kartofler (ca. 75%). Det udgør det mellemrumsmiljø, der omgiver alle de celler, der udgør kartofflen. Det er disse celler, der navnlig indeholder stivelse og næringsstoffer, proteiner, mineralstoffer og sukkerstoffer, der har medvirket til deres udvikling.

Stivelsen udgør, alt efter den foreliggende kartoffelart, ca. 13 til 30%, cellulosen eller pulpen 0,6 til 3,5% og proteiner 0,7 til 4,6% af kartofflens sammensætning. Kartofflen indeholder ligeledes lipider, vitaminer, enzymer, såsom tyrosinase, phenol-oxidase og catalase, farvningsmidler, organiske syrer, heraf navnlig citronsyre, og phenoliske forbindelser. Det er de phenoliske forbindelser, der genfindes i frugtsaften og hvis oxidation under indvirkning af enzymer ligger til grund for den brunfarvning, som saften antager, når den bringes i kontakt med atmosfærisk luft og som kan have afgørende indvirkning på K-proteinets farve.

For at udvinde stivelsen og pulpen foretager man i stivelsesfabrikkerne først, efter rensning af knoldene, en findeling, således at de celler rives/knuses, hvorefter man fra rivselsmassen skiller stivelsen og pulpen og frugtsaft. Frugtsaften, der er tilbage, indeholder i opløsningen størstedelen af de øvrige ovennævnte bestanddele og navnlig proteinerne.

Volumenet af frugtsaften, efter udvindingen af stivelsen og pulpen, varierer fra ca. 0,4 til 1 m³ pr. ton kartofler alt efter anvendte teknik. Anvendte teknikker kan være to modsatte principper, nemlig fjernelse af frugtsaft ved behandlingens begyndelse eller fjernelse ved behandlingens afslutning, som kan være vigtigt i forbindelse med udvinding og optimering af K-proteinet.

K-protein kan produceres ved en adskillelse fra frugtsaften i form af f.eks. flokkulater (proteinflokk) udvundet under indvirkning af et fysisk middel (f.eks. varme) eller kemisk middel (for eksempel en syre) sammen med f.eks. natriumbisulfit/SO₂ i egenskab af reduktionsmiddel, der kan reducere oxidationen af phenoliske forbindelser. Disse flokkulater vil som tørret produkt normalt foreligge i form af et groft pulver – med et tilbagehold på sigte på 74 mikron på ca. 60% og på sigte på 315 mikron på ca. 15% - med grågrøn til lysbrun farve, et gennemsnitligt proteinindhold (N x 6,25) på 75 – 80 %, et højt indhold af sulfitindhold/SO₂, ofte højere end 500 mg/kg, og et indhold af solanin i nærheden på ca. 1000 - 1400 mg/kg.

Disse proteiner er delvis denaturerede, hvilket ligesom deres dårlige granulometriske egenskaber, kan være ugunstigt for deres anvendelse til levnedsmidler.

Deres grågrønne til grålige til brunlig farve skyldes tilstedeværelse af uopløselige polymere af melamintypen, der stammer fra polymerisationen, efter passage gennem et quinonstadium (brunfarvning af frugtsaften), af phenoliske forbindelser (tyrosin, diphenoler, såsom navnlig dihydroxyphenyl-alanin, caffeinsyre og chlorogensyre) under indvirkning af enzymer, der er til stede i frugtsaften.

Proteinerne foreslås udvundet ved anvendelse af en fremgangsmåde, hvor proteinet foreligger i form af et mere eller mindre klart, gult til lyst pulver med meget fin granulometri (tilbagehold på sigte på 74 mikron: 10% og på sigt på 200 mikron: intet), et SO₂-indhold lavere end 100 - 150 mg/kg og et proteinindhold på ca. 80%.

Dette er begrundet i at proteiner anvendes i forskellige industrier, navnlig næringsmiddelindustrien, dels til mennesker og dels til dyr, samt i papirindustrien, krydsfinérindustrien og andre industrier.

Der er erfaringerne, at kartofler bør renses meget grundigt for at fjerne jord og grus før behandling i rørsystemer, der som tidligere omtalt i det væsentlige omfatter en roterbar cylinder, der på den ydre overflade har tandlameller/"savklinger" beliggende parallelt med akse med en tilførselstragt for kartofler. I rørsystemet gennemføres knusningen af de celler, fortrinsvis i nærværelse af en vis mængde kemisk reduktionsmiddel – typisk en sulfittype, i almindelighed af bisulfit. Andre reduktionsmidler af denne type udgøres af hydrosulfit, sulfitter som f.eks. sulfittud er tilstrækkelig til at blokere oxidationen, og der kan

produceres en tyk grød – rivslen. Det er vigtigt, at sulfiten tilføres meget tidligt i processen, da det er erfaringerne, at brunfarvningen sker momentant.

Når reduktionsmidlet bisulfit anvendes, foreligger det i almindelighed i form af teknisk natriumbisulfit og tilsættes i en mængde på 0,5 til 5 ‰, fortrinsvis 1 til 1,5 ‰ i forhold til vægten af kartofler. Teknisk natriumbisulfit foreligger i form af en vandig opløsning med en koncentration på ca. 50%. Foruden natriumbisulfit kan der anvendes alle andre alkaliske bisulfitter. Ved bisulfitmængder lavere end 1 ‰ vil protein-slutproduktet få en gul farve, der nærmer sig stadigt mere til grøn, hvilket er tegn på en vis polymerisation og en vis oxidation af phenoliske forbindelser. Ved doser højere end 3 ‰ er proteinfarven stadigt mere gul.

Det er vigtigt, at pH-værdien af frugtsaften meget tidligt reguleres til en værdi på ca. 4,6 til 5,2 og fortrinsvis fra 4,8 til 5,0. I nogle tilfælde er det pH-værdien af frugtsaften, der kontinuert bringes til nævnte værdi, efterhånden som denne væske fraskilles, og i andre situationer kan det være pH-værdien af rivselsmassen, der bringes til nævnte værdi uden at afvente fraskillelsen af frugtsaften.

For således at regulere pH-værdien kan der benyttes en tilstrækkelig mængde af en mineralsyre eller en organisk syre f.eks. fra gruppen omfattende HCl, H₂SO₄, H₃PO₄, eddikesyre, citronsyre og adipinsyre.

Syrens indvirkning på reduktionsmidlet af sulfittype fører til dannelsen af SO₂, der vil være til stede i frugtsaften. Samtidigt med reduktionsmidlet, navnlig natriumbisulfit tilsat på tidspunktet før rivningen, kan med fordel tilsættes en lille mængde af et eller flere antioxidantmidler for opnåelse af optimal effekt.

Mængden af antioxidantmiddel bør med fordel være beliggende fra 0,5 til 10 ‰ og fortrinsvis fra 1 til 3 ‰ i forhold til mængden af udgangsmaterialet - kartofler, idet det eller de anvendte midler kan være valgt fra gruppen omfattende butylhydroxytoluen, butylhydroxyanisol, propylgallat, octylgallat, dodecylgallat, ascorbin- eller isoascorbinsyrer, thiodipropionsyre, dilaurylthiodipropionat, ascorbylpalmitat, tocopheroler o.l.

Frugtsaften indeholder i almindelighed fra 50 til 60 g/l tørstof omfattende:

48 til 52% proteiner (N x 6,25)

18 til 22% aske og

28 til 32% organiske syrer.

Frugtsaften, med ovennævnte pH-værdi, kan i nærværelse af SO₂, ikke-dekomponeret bisulfit og eventuelt antioxidantmiddel bringes til en temperatur, der er tilstrækkelig, beliggende mellem 95 og 105° C, for at fremkalde flokkulationen af proteinerne. En temperaturen på 95-105° C bør opretholdes i et tilstrækkeligt tidsrum til at fuldende flokkulationen, dvs. aflufte flokkulatet og befri det for den væske, i hvilken det er suspenderet. Temperatur opretholdes i almindelighed i ca. i nogle minutter – ofte ses anvendt ca. 3 minutter ved holdeceller eller reaktionstanke.

Hvis flokkulationstemperaturen er lavere end 95° C vil det vundne flokkulat blive meget let og fraskilles ikke let fra væsken, mens flokkulatet, hvis flokkulationstemperaturen er højere end 105° C, kan ødelægges ved det termiske chok, hvilket kan medføre en dårlig fraskillelse og et nedsat udbytte. Det kan oplyses, at der ofte ses anvendt en temperatur på ca. 105 - 112° C ved udvinding af K-protein på de danske fabrikker.

Flokkulatet indeholder ca. 50 til 55% af de proteiner, der er tilstede i frugtsaften, dvs. ca. 25% af det totale tørstof i frugtsaften.

Den til flokkulationen nødvendige temperatur kan opnås ved at injicere damp direkte til frugtsaften. Der ses ofte benyttet en damp leveret ved et tryk på 6 til 11 bar. Den ovennævnte temperatur på 95-105° C medfører en afspænding ved udløbet fra røret, hvilket bringer trykket til en værdi lavere end 1 bar. Ved udløbet fra procesrøret indføres flokkulatet i det indre af en holdecelle, i hvilken der bør holdes en temperaturen min. 95-105° C i det ovenfor definerede tidsrum. Ved denne opvarmningsmetode vil frugtsaften indeholdende 55 g tørstof pr. liter blive fortyndet til ca. 47 g/l som følge af vanddampinjektionen. Indirekte flokkulation/fældning, på for eksempel en varmeveksler, er ligeledes muligt, men vurderes at stille store krav til vekslersystemet – ofte ses anvendt rørvarmevekslere ved anvendelse af indirekte opvarmning til temperaturer op til ca. 100° C.

På grund af de ovenfor beskrevne proces-karakteristika ved fremgangsmåden viser det udvundne flokkulat egenskaber, der gør det let at fraskille uden forkoncentrering, for eksempel ved andelse af en dekanteringscentrifuge, navnlig med gevind o.l. for optimering af tørstofindholdet, og som roterer ved hastigheder fra 2500 til 5000 omdrejninger pr. minut.

Fraskillelsen af proteinet fra frugtsaften på dekanteringscentrifuge giver dels et flokkulat med et tørstofindhold på 35 til 50%, navnlig ca. 40%, og en væske eller et overløb indeholdende ca. 33 g tørstof pr. liter. Sammensætningen af overløbet, der hovedsageligt består af de opløselige stoffer, udtrykt som tørstof, er følgende:

| | |
|----------------------|-----|
| Proteiner (N x 6,25) | 35% |
| Aske | 30% |
| Organiske syrer | 35% |

Ovennævnte flokkulat tørres herefter i en flashtørre eller ringtørre, hvor der bør undgås recirkulation af proteinet og beskyttelse mod en for langvarig termisk påvirkning.

Overløbet kan koncentreret i en inddamper (ses ofte i Tyskland og Holland) til et tørstofindhold på ca. 50-55% og kan for eksempel anvendes til fordring af dyr eller som næringssubstrat ved gæringsprocesser (forgæring). Koncentratet kan endvidere opblandes med proteinfraktionen med henblik på at tørre det hele, enten ved tørring på en spraytørre eller flashtørre. I sidstnævnte tilfælde er det ofte interessant at inkorporere en bærer, såsom stivelse, stivelsesmel, majsstivelse eller korn gluten.

På grund af kvaliteterne ved det flokkulat, der udvindes ved anvendelse af fremgangsmåden, kan fraskillelsen af flokkulatet ligeledes foregå ved filtrering, idet der kan benyttes et hvilket som helst filter, såsom trådfilter, båndfilter, filter med filterhjælpelag eller andet filter.

I almindelighed er det konstateret, at der kan udvindes 0,9 til 1,3 kg proteiner pr. 100 kg kartofler og 1,8 til 2,6 kg opløselige stoffer beregnet som tørstof pr. 100 kg kartofler.

Der er endvidere erfaringerne, at der med fordel kan anvendes ultrafiltrering til forkoncentrering af frugtsaften (proteinet) til en værdi valgt som funktion af det foreliggende udstyr. Koncentratet kan i praksis have en tørstofkoncentration beliggende mellem 50 og 200 g/l. Højere koncentrationer er klart mulige, men viskositeten sætter en øvre grænse i nærheden af 200 g/l. Det kan bemærkes, at ultrafiltreringen er fordelagtig for nedsættelse af de væskevolumen, der skal behandles, da de flokkulerbare proteiner i koncentratet udgør en stor del af tørstoffet (ca. 50%). Det skal dog pointeres at anvendelse af ultrafiltrering stiller

store krav til frugtsaften; idet indholdet af suspenderet stof bør være meget lavt og mindre end ca. 1000 - 1500 mg/l og endvidere at frugtsaften er afluftet.

Det tørrede flokkulat fra en termisk/kemisk udfældning vil typisk have følgende sammensætning – se tabel 1:

Tabel 1: Sammensætning af tørret K-proteinpulver.

| | |
|--------------------------|---------------------|
| vand | 8% |
| proteiner (N x 6,25) | 75% til 80% |
| calcineringsrest | 1% til 3% |
| vandig ekstrakt | 3% til 5% |
| Svovlether-ekstrakt | 4% til 6% |
| SO ₂ -indhold | 100 mg/kg |
| solanin | 1000 til 1500 mg/kg |

Svovlether-ekstrakten består for størstedelen af fede syrer. Det understreges, at disse fede syrer ikke genfindes i de allerede i handlen værende proteiner.

Mængden af nogle af disse fede syrer er følgende:

| | |
|--------------|------|
| laurinsyre | 1% |
| myristinsyre | 1% |
| palmitinsyre | 27% |
| stearinsyre | 7% |
| oliesyre | spor |
| linolsyre | 60% |

Mængderne af de forskellige aminosyrer indeholdt i flokkulatet er følgende:

| syre | % af aminonitrogen |
|---------------|--------------------|
| asparaginsyre | 12,6 |
| glutaminsyre | 10,2 |
| alanin | 4,6 |
| arginin | 4,8 |
| cystin | 1,5 |
| glycin | 4,8 |
| histidin | 1,8 |
| isoleucin | 5,9 |
| leucin | 10,0 |
| lysin | 7,5 |
| metionin | 2,1 |
| phenyl-alanin | 6,2 |

| | |
|----------|-----|
| prolin | 4,8 |
| serin | 5,3 |
| threonin | 5,7 |
| tyrosin | 5,2 |
| valin | 7,0 |

K-proteinet kan befries yderligere for glycoalkaloide(solanin mv.). Til dette formål er det først og fremmest muligt at drage nytte af solanins opløselighed i eddikesyre og citronsyre. Der kan benyttes den ene eller anden af disse syrer dels til at indstille pH-værdien af frugtsaften med henblik på at frigøre SO₂, dels til at bringe flokkulatet eller det tørrede protein i suspension i den ene og/eller den anden af disse syrer. Det andet alternativ er at foretrække ud fra en økonomisk vurdering af fremgangsmåden på grund af den høje pris på disse syrer. Når man til trods for disse økonomiske betragtninger benytter det første alternativ, dvs. anvendelse af nævnte syrer til at indstille pH-værdien, foreskrives en kontakttid mellem flokkulatet og suspensionsmediet, der er tilstrækkelig til ekstraktion af solaninet. I almindelighed er en kontakttid på ca. 30 minutter tilstrækkelig til at sænke solaninindholdet i flokkulatet til 10% af det oprindelige indhold. Når flokkulatet er det allerede tørrede protein kan dette bringes i suspension i den ene og/eller den anden af nævnte syrer i en vandig opløsning indeholdende fra 0,05 til 5%, idet den anvendte opløsningsmængde er tilstrækkelig til at føre til en suspension på ca. 10% tørstof, der holdes ved en temperatur på fra 30 til 120° C. I almindelighed vil en temperatur på ca. 100° C kunne anvendes i et tidsrum på fra 15 minutter til 8 timer. Den nøjagtige varighed er en funktion af den valgte syre, dens koncentration og det endelige indhold af solanin, der ønskes nået. For at nå et indhold på 150 mg/kg er det i almindelighed tilstrækkeligt med et tidsrum på fra 30 til 60 minutter. Længere tidsperioder gør det muligt at nå ned til indhold lavere end 20 mg/kg.

Det er endvidere muligt at ekstrahere solaninet fra flokkulatet eller det tørrede protein ved anvendelse af organiske opløsningsmidler. Der kan vælges indenfor gruppen omfattende methanol, n-butylalkohol og isopropylalkohol. Også her opereres med en suspension med et tørstofindhold på ca. 10% af flokkulatet i det anvendte organiske medium, idet temperaturen fortrinsvis er tilbagesvalingstemperaturen for det anvendte opløsningsmiddel. Temperaturen bør opretholdes fra 30 minutter til 8 timer. Den nøjagtige varighed er en funktion af det valgte opløsningsmiddel og af det endelige indhold af solanin. For at nå ned til et indhold på 150 mg/kg, kan anvendes en tidsperiode af størrelsesordenen fra 2 til 3

timer. Anvendelse af længere tidsperioder gør det muligt at nå ned til indhold på 20 mg/kg.

Den vandige ekstraktion med citronsyre eller eddikesyre ligesom ekstraktionen med organisk opløsningsmiddel kan gennemføres kontinuerligt eller diskontinuerligt. I tilfælde af ekstraktion med organisk opløsningsmiddel bliver effektiviteten ofte forstærket ved en let syring, for eksempel ved hjælp af citronsyre eller eddikesyre.

Proteinet kan afslutningsvis udvindes ved anvendelse af dekantercentrifuger eller ved filtrering på almindeligt filter. Denne filtrering kan ligeledes foregå på roterbart filter eller båndfilter, i vakuum.

De udvundne kartoffelproteiner, ud fra ovennævnte fremgangsmåder, vil foreligge i form af et mere eller mindre klart, gult til lyst pulver med meget fin granulometri (tilbagehold på sigte på 74 mikron: 10% og på sigte på 200 mikron: intet), et SO₂-indhold lavere end 150 mg/kg og et proteinindhold på ca. 80% og kan anvendes indefor mange industriområder som er beskrevet i det efterfølgende:

- Dyrefoder (navnlig ved oparbejdning af kunstige mælkeprodukter, navnlig til kalve og griseunger, og i sammensat foder til kvæg, svin, fjerkræ og andre),
- Næringsmidler til mennesker (navnlig fabrikation af teksturerede proteiner – dvs. proteiner vundet ved strengtrækning, en operation der har til formål at tilvejebringe tekturen af animalske proteiner, der gør det muligt at anvende proteinerne ved fremstilling af kulinariske produkter på basis af kød-, gendannet kartoffelpuré, ekspanderede produkter af ”snack”-type,
- Lim- og klæbemiddel-industrien,
- Konstruktionsmaterialeindustrien, hvor proteinet anvendes i egenskab af element til forstærkning af modstanden over for vand (navnlig ved fabrikation af krydsfinér, agglomerater og plader af partikler eventuelt i kombination med harpikser af typen urinstof-formaldehyd, melamin-formaldehyd, phenol-formaldehyd).
- Papirindustrien (navnlig ved gauskning og overfladebehandling).

I det efterfølgende vil blive omtalt en anden fremgangsmåde for isolering af glycoalkaoider(GA). Formålet med denne beskrivelse er at vise at der kan være flere fremgangsmåder for reduktion af indholdet af GA i K-protein og at nogle af disse metoder formår at reducere GA ned til ca. 2% - se efterfølgende beskrivelse:

Solanidine er som omtalt i det foranstående et steroid aglycon af kartoffel (*Solanum tuberosum* L.) glykolalkaloider og er en meget vigtig forløber for hormonsynteserne og nogle farmakologisk aktive forbindelser. Glykolalkaloider er hydrologerede ved hjælp af uorganisk syre, som er frigørende for solanidine. Det kan oplyses, at artikler bl.a. omfatter kinetikkerne i hydrolytiske solanidine udvinding i forskellige fast-flydende-flydende systemer. F.eks. er tørrede og knuste kartoffelplanter (*S-tuberosum* L.) blev anvendt som en kilde af glykolalkaloider og som den faste fase. Opløsningerne af saltsyre i 2 og 10% (vægt/volumen?) vandig eddikesyre, i 50% (volumen) vandig metanol og i 50% (volumen) vandig ethanol var første flydende fase, og mediet for glykolalkaloide udvindingen af kartoffelplanter og deres hydrolyse til solanidine. Kloroformen, trichlorethylenen eller carbontetrachlorid var den anden, organiske flydende fase og mediet for solanidine udvinding. Denne procedure kombinerer tre forskellige processer: Udvinding af glykolalkaloider fra kartoffelplanter, deres hydrolyse til solanidine og udvindingen af solanidine på én gang/ i et enkelt trin. Fagudtrykket hydrolytisk udvinding af solanidine blev anvendt for disse processer.

Formålet med omtalte undersøgelse var at vælge et optimalt fast-flydende-flydende system for solanidine udvinding og at definere proceduren for dets isolering fra den organiske flydende fase. Den bedste grad af solanidine hydrolytisk udvinding var 98% og blev opnået når 10% (vægt/volumen) saltsyre i 50% (volumen) metanol var den første flydende fase og kloroform var den anden flydende fase, efter 90 minutters forløb. Udbyttet af solanidine under disse forhold blev kalkuleret til at udgøre 0,24 g/100 g fra kartoffelplanter. Ca. 78% af det maksimalt mulige udbytte af solanidine blev isoleret fra en kloroform flydende fase. Isoleret solanidine blev registreret ved brug af IR og MS.

For forståelse af nogle af de processer som sker i forbindelse med brunfarvningen af K-protein mv. er i det efterfølgende detaljeret beskrevet udvalgte mulige årsager og forslag til reduktion af farvepåvirkninger. I kartofler har aminosyren tyrosin størst betydning for enzymatisk brunfarvning, idet den katalyseres af enzymet tyrosinase (polyphenoloxidase). Disse brunfarvede forbindelser kaldes melaniner.

Denne proces har som resultatet en brunfarvning og kaldes i daglig tale for enzymatisk brunfarvning, som ofte ses på friske kartofler. Polyphenolerne reagerer med bivalent jern ved tilstedeværelsen af ilt til en farveløs forbindelse. Oxidationen af denne forbindelse med atmosfærisk ilt danner en trivalent jern som er nødvendig for den egentlige brunfarvning. Derfor vil kartofler med et højt indhold af polyphenoler være mere sårbare overfor enzymatisk brunfarvning. Enzymatisk

brunfarvning kan hæmmes med ascorbinsyre eller citronsyre chlorogensyre og coffeinsyre er aktive i den afsluttende fase af transpirationen i kartofler. Desuden er koffeinsyre en vækstinhibitor, som kan spille en dominerende rolle i dvalesituationer for kartofler.

Den største mængde af phenolforbindelser findes i skindet og i det ydre lag og tæt herpå, som svarer til ca. 10 gange så meget som i selve kartoffelkødet. Nogle forbindelser findes dog kun i selve skindet. Kun tyrosinindholdet er højest inde i selve kartoffelen og lavest i det ydre lag.

Den største fraktion af polyphenolerne er substrat for polyphenoloxidaseenzymer (PPO). Det ses i litteraturen, at PPO fundet i kartofler ligger som 2 forbindelser med en molvægt på henholdsvis 60.000 Kda og 69.0000 Kda. Tyrosine, chlorogensyre, coffeinsyre, og andre polyphenoler bliver oxideret ved tilstedeværelse af atmosfærisk luft (ilt) via en proces over få mellemtrin til uopløselige brunfarvede molekyler/pigmenter med en høj molvægt.

I kartofler har aminosyren tyrosin størst betydning for enzymatisk brunfarvning, idet den katalyseres af enzymet tyrosinase (polyphenoloxidase). Disse brunfarvede forbindelser kaldes melaniner. Denne proces har som resultatet en brunfarvning og kaldes i daglig tale for enzymatisk brunfarvning, som ofte ses på friske kartofler. Polyphenolerne reagerer med bivalent jern ved tilstedeværelsen af ilt til en farveløs forbindelse. Oxidationen af denne forbindelse med atmosfærisk ilt danner en trivalent jern som er nødvendig for den egentlige brunfarvning. Derfor vil kartofler med et højt indhold af polyphenoler være mere sårbare overfor enzymatisk brunfarvning.

Polyphenoler kan volde problemer dels på grund af brunfarvning af proteinet, og dels fordi de reagerer med proteinet i dobbeltbindinger og elektrostatiske forbindelser mv. I det efterfølgende er oversigtsmæssigt anført muligheder for reduktion/inhibering af farvereaktioner forårsaget af polyphenoloxidasen:

- Opvarmning til 100° C i min. 3 minutter.
- Køling via reduktion af temperaturen vil medføre en langsommere reaktion da processen er en funktion af temperaturen(Q10)
- Frysning til under 18 ° C vurderes at have en inhiberende virkning på processen
- Saltkoncentration via en høj saltkoncentration vurderes at have en negativt effekt på processen.
- Afvanding ved høj koncentration af tørstof eller lavt vandindhold vurderes at have en positiv effekt på processen idet der undgås reaktioner mellem proteiner.

- Stråling kan have en negativ effekt på farvedannelsen.
- Tryk over ca. 5 bar kan have en negativt effekt på farvedannelse, men kan også have en negativ effekt på proteinet idet dette kan denaturerer behandling af proteinet.
- "Superkritisk kuldioxid" kan have en negativ effekt på farvedannelse
- Anvendelse af ultrafiltrering kan anvendes for reduktion af anvendelse af kemikalier som anvendes for reduktion af farvedannelse og evt. også for reduktion af indholdet af chlorosyrer.
- Ultrasonisk behandling sammen med varme kan have en negativ effekt på farvedannelse; idet der sker en inhibering af enzymreaktioner.
- Desuden kan en behandling af substrat for farvedannelse påvirkes; idet der kan anvendes kemikalier for hæmning af substratet eller der kan anvendes iltfrie atmosfære(f.eks. kvælstof) for hæmning.
- Desuden kan anvendes cyclodextriner; idet dette nævnes at reagere sammen med polyphenoler og dermed påvirke farvedannelser.
- Endvidere kan anvendes ascorbinsyre som vil reagere sammen med mellemprodukter fra processen og i stedet danne farveløse slutprodukter.

Der ses således at være flere muligheder for reduktion af farveproblemerne. Det foreslås dog, at der i det fremtidige arbejde gennemføres detaljerede forsøg for udvikling af den optimale proces for reduktion af farven. Denne proces kan være en sammensat proces bestående af een eller muligheder fra de ovennævnte forslag i kombination.

Sammenfattende er i det for foranstående beskrevet muligheder for reduktion af indholdet af GA samt reduktion af farve. Der ses at være flere muligheder for opnåelse af en god kvalitet af K-proteinet; men det fremgår endvidere, at problemstillingen kan være meget kompleks og vil kræve et omfattende forsøgsarbejde. Det er dog vurderingen, at der med udgangspunkt i det foranstående og udvalgte referencer og litteratur på området generelt vil være muligt at udarbejde en procesmæssig strategi, evt. sammen med forskningsinstitutioner for opnåelse af den ønskede kvalitet af K-protein.

6. INDLEDENDE LABORATORIEUNDERSØGELSER FOR EFTERVISNING AF MULIGHEDER

Dette afsnit omfatte en beskrivelse af laboratorieundersøgelser som bl.a. er beskrevet i litteraturen mv. Dette arbejde er primært gennemført udfra allerede gennemførte undersøgelser og med udgangspunkt i artikler, patenter mv. beskrevet i tidligere beskrevne afsnit. I det efterfølgende er beskrevet analyseresultater fra

relevante undersøgelser og forsøg omfattende anvendelse af bisulfit, pH-reguleringer mv. for opnåelse af optimal kvalitet af K-protein.

I det efterfølgende vil blive beskrevet forsøg gennemført for optimering af proteinkvaliteten:

Natriumbisulfid/ SO₂ - I de efterfølgende beskrivelser benævnt som eksempel 1:

Forbedring er opnået ved anvendelse af natriumbisulfit i stedet for luftformig SO₂ eller i vand opløst SO₂.

På 1000 kg kartofler blev der, forud for rivningen, i et første forsøg forstøvet 2 kg bisulfit i vandig 50%'s opløsning og i et andet forsøg 3 kg SO₂ i form af en vandig opløsning.

I begge tilfælde blev rivelsesmassen ekstraheret på dekanteringscentrifuge.

Pr. 1000 kg kartofler blev der ekstraheret ca. 500 liter frugtsaft med et indhold på 55 g tørstof pr. liter, hvilket repræsenterede et ekstraktionsudbytte på ca. 70%. Efter indstilling af pH-værdien på 5,0 med teknisk HC1 blev frugtsaften flokkuleret på et rør ved injektion af vanddamp på 10 bar, ved en temperatur på 100° C. Flokkulatet blev fraskilt på en dekanteringscentrifuge.

Strukturen af flokkulatet, vundet med SO₂ i vandig opløsning var meget klæbende, og vandet fraskiltes vanskeligt. Tørstoffet var på 20% og farven grønlig til grålig.

Derimod var det med bisulfit vundne flokkulat mere luftigt og klæbende ikke, hvilket skyldes et tørstof på 35%. Dets farve var gullig.

Indvirkning af pH-værdien:

Ved at benytte samme fremgangsmåde som beskrevet i det foranstående indførtes 1,2 kg teknisk bisulfit på tidspunktet for raspningen af kartoflerne, og i overløbet fra det indledende dekanteringsapparat, dvs. på frugtsaften, blev pH-værdien indstillet på forskellige værdier. På den flokkulerede væske, ved udløbet fra røret, målt som funktion af tiden voluminet af dekanteret flokkulat ved anvendelse af udtagne prøver på 100 ml flokkuleret opløsning indført i prøveglas.

De registrerede resultater er anført i nedenstående tabel 2 vedrørende anvendelse af saltsyre og eddikesyre til indstilling af pH-værdien.

Tabel 2: Indvirkning ved brug af saltsyre og eddikesyre.

| pH | HC1 | | | CH ₃ -COOH | | |
|-------|---|---------|---------|-------------------------|---------|---------|
| | Volumen flokkulat efter | | | Volumen flokkulat efter | | |
| | 5 min. | 15 min. | 60 min. | 5 min. | 15 min. | 60 min. |
| 4,0 | 90 ml | 85 ml | 65 ml | 100 ml | 90 ml | 75 ml |
| 4,5 | 60 ml | 35 ml | 35 ml | 65 ml | 35 ml | 35 ml |
| 5,0 | 20 ml | 20 ml | 20 ml | 30 ml | 30 ml | 30 ml |
| > 5,0 | Flokkulation ikke homogen. En lettere del af flokkulatet fraskiltes fra den del, der dekanterede. | | | | | |

I tabellen repræsenterer voluminerne den del, der optages af det afsatte materiale. Det fremgår, at jo lavere pH-værdien er, desto større er det volumen, der optages af bundfaldet, hvilket tilkendegiver en meget let struktur. Ved pH 5 er derimod flokkulatet meget tungt og dekanterer meget hurtigt. Disse iagttagelser bekræftes på dekanteringsapparatet. Ved pH beliggende mellem 4,8 og 5,0, opnås en optimal fraskillelse. Hvis pH-værdien er lavere end 4,8 eller højere end 5,0, medfører den enten for lette eller ikke-homogene struktur af flokkulatet tab ved overløb fra apparatet.

Betydning af tidspunktet for indføring af bisulfit:

Der blev benyttet samme fremgangsmåde som i eksempel 1, idet der anvendtes 1,2 kg bisulfit, der i et første forsøg blev indført i kartoflerne forud for raspningen, og i et andet forsøg blev indført i frugtsaften efter ekstraktion.

Det blev konstateret, at det flokkulat, der vandtes ved indføring af bisulfit i frugtsaften, er mere grønligt, end det der vandtes ved indføring af bisulfit forud for raspning. Det kunne konkluderes, at blokeringen af oxidationen bør foregå lige fra frigøringen af kartoffelcellerne.

Betydning af tilstedeværelse af antioxidantmiddel:

Der anvendtes samme fremgangsmåde som i eksempel 1, idet 1,3 kg bisulfitopløsning blev forstøvet på kartoflerne forud for raspning, hvorhos pH-værdien blev indstillet mellem 4,8 og 5,0 på frugtsaften ved hjælp af saltsyre. Der blev yderligere tilsat 20 g butylhydroxy-toluen i methanolopløsning med en

koncentration på 10%. Denne tilsætning foregik i et første forsøg i kartoflerne forud for raspning og i et andet forsøg i frugtsaften. I begge tilfælde blev der konstateret en gulfarvning af frugtsaften, og der blev udvundet ved rørets udløb et meget luftigt flokkulat, der fraskiltes meget let. Indholdet af tørstoffet i det vundne flokkulat var på 41,4 %.

Betingelser for ekstraktion af solanin:

I efterfølgende beskrivelser er anvendt samme fremgangsmåde som beskrevet i foranstående procesbeskrivelse, idet der anvendtes successivt saltsyre, eddikesyre og derefter citronsyre til at indstille pH-værdien, mens alle betingelserne i øvrigt var de samme vedr. temperatur og holdetider mv.

1. I det første tilfælde blev det konstateret, at proteinslutproduktet havde et indhold af solanin på 1200 mg/kg, og i de to andre tilfælde (eddikesyre og derefter citronsyre) et indhold af solanin på 500 mg/kg
2. Der anvendtes samme fremgangsmåde som i eksempel 1, idet der anvendtes successivt eddikesyre og citronsyre til indstilling af pH-værdien, mens alle betingelserne i øvrigt var de samme, men den flokkulerede væske holdtes ved 100° C i en time, førend den passerede til dekantering.
Det blev konstateret, at proteinslutproduktet havde et indhold af solanin på 150 mg/kg.
3. Der anvendtes samme fremgangsmåde som beskrevet i eksempel 1 (idet pH-værdien blev indstillet med HC1), men der foregik i et første forsøg en tilsætning af 5% eddikesyre og i et andet forsøg af 5% citronsyre lige efter flokkulationen, dvs. ved udløbet fra røret, hvorhos reaktionsmediet holdtes ved 100° C i 1 time. Det blev konstateret, at indholdet af solanin i proteinslutproduktet var 200 mg/kg.
Der blev opnået et analogt resultat ved at erstatte eddikesyren med citronsyre.
4. Flokkulatet, der vandtes ved udløbet fra dekanteringsapparatet ved fremgangsmåden beskrevet i eksempel 1, blev bragt i suspension i en mængde vand, der var tilstrækkeligt til at tilvejebringe et proteinkoncentrat med et tørstofindhold på 10%.
Til prøver af denne blanding blev der sat forskellige mængder eddikesyre eller citronsyre, og prøverne holdtes ved 50 eller 100° C i 90 eller 120 minutter i tilfælde af eddikesyre og i 30 eller 60 minutter i tilfælde af citronsyre.
Ved afslutningen af disse forsøg bestemtes det endelige indhold af solanin i det udvundne protein.

I nedenstående tabel 3 er samlet data vedrørende forsøgsbetingelserne og indholdet af solanin i proteinslutproduktet (forudsætningen for alle forsøg var, at indholdet af solanin i proteinet var på 1200 mg/kg).

Tabel 3: Forsøgsresultater fra forsøg på reduktion af solanin ved anvendelse af syrer.

| Anvendt syre | Syremængde sat til proteinet (i %) | Temperatur i °C | Tidsrum for opretholdelse af foranstående temperatur (i timer) | Slutindhold af solanin i mg/kg |
|--------------|------------------------------------|-----------------|--|--------------------------------|
| Eddikesyre | 0,1 | 50 | 2 | 960 |
| | 1 | 50 | 2 | 744 |
| | 5 | 50 | 2 | 120 |
| | 0,1 | 100 | 2 | 864 |
| | 1 | 100 | 2 | 540 |
| | 5 | 100 | 1,5 | 150 |
| | 5 | 100 | 2 | 60 |
| Citronsyre | 0,1 | 50 | 0,5 | 804 |
| | 1 | 50 | 0,5 | 660 |
| | 5 | 50 | 0,5 | 480 |
| | 0,1 | 100 | 0,5 | 804 |
| | 1 | 100 | 0,5 | 480 |
| | 5 | 100 | 0,5 | 240 |
| | 5 | 100 | 1 | 150 |

Det fremgår af denne tabel 3, at der med et syreindhold af størrelsesordenen 5% skal temperaturen holdes ved 100° C i 2 timer, for så vidt angår eddikesyre, og i 1 time for så vidt angår citronsyre, for at nå ned på et solaninindhold på 150 mg/kg protein.

For at ekstrahere solanin ved hjælp af et organisk opløsningsmiddel bragtes portioner på 100 kg protein i suspension i henholdsvis 1000 liter methanol, isopropanol og n-butanol. Suspensionen blev under omrøring bragt til tilbagesvalingstemperaturen for systemet i 4 timer. Efter filtrering blev proteinet tørret, og derefter bestemtes dets solaninindhold.

Resultaterne er samlet i følgende tabel 4:

Tabel 4: Opsamling af resultater fra anvendelse af opløsningsmiddel.

| Opløsningsmiddel | Temperatur (i °C) | Resterende solaninindhold (i mg/kg) |
|------------------|-------------------|-------------------------------------|
| methanol | 70 | 240 |
| isopropanol | 80 | 48 |
| n-butanol | 105 | 360 |

Det skal bemærkes, at det udvundne protein var hvidt, idet den alkoholiske ekstraktion havde fjernet pigmenterne. Et sådant protein er navnlig egnet til anvendelse i næringsmidler, hvor det kan tjene til fremstilling af teksturerede næringsmidler.

Udover nævnte analyseresultater kan fremhæves svenske undersøgelser tilbage fra 1990 hvor der blev gennemført forsøg med udvaskning af GA ved anvendelse af organiske syrer. Resultater fra denne undersøgelse viste at det var muligt at reducerer indholdet af GA til et niveau på ca. 150 mg/kg ved anvendelse af ascorbinsyre.

I forbindelse med analysearbejde generelt med ekstraktion af GA, kan der anvendes forskellige metoder. I det efterfølgende er beskrevet anvendelse af en fremgangsmåde baseret på HPLC for adskillelse og analyse af de to vigtigste glykolalkaloider, der forefindes i kartofler, α -chaconine og α -solanine. For at kunne forbedre værdien af anvendelse af HPLC-metoder er der i undersøgelsen blevet gennemført undersøgelse under påvirkning af flere fremtrædende parametre i analysen af de to kartoffel glykolalkaloider. F.eks. blev virkninger på retentionstider (eluering, adskillelse) undersøgt ved:

- a) sammensætning og pH af de mobile faser (acetonitril og fosfat buffer)
- b) koncentration af fosfat buffer
- c) kapacitetsværdier af søjle emballering af fire kommercielle HPLC-aminosøjler
- d) søjletemperatur

Undtagen for pH havde alle variablerne betydelig indflydelse på retentionstiderne. Resultaterne gør det muligt at udvælge analysebetingelser, som frembringer veladskilte såvel som symmetriske maksimalværdier af de to glykolalkaloider. Anvendelse af HPLC-metoden (påvisningsgrænse ~ 150 ng) blev evalueret med udtræk fra en kartoffelvariant (May Queen) dyrket i Japan og det frysetørrede skræl og kartoffelkød fra otte kulturvarianter dyrket i USA: Atlantic, Dark Red Norland,

Ranger Russet, Red Lasoda, Russet Burbank, Russet Norkota, Shepody og Snowden. Derudover blev de samme prøver analyseret af GC-MS for tilstedeværelsen af to vand-opløselige nortropane alkaloider, calystegine A₃ og calystegine B₂, omtalt som værende stærke glycosidase hæmningsstoffer. Totale glykolalkaloid og calystegine niveauer for de otte varianter blev observeret på følgende områder: tørret kartoffelkød, 5–592 og 6–316 mg/kg; tørret skræl, 84–2226 og 218–2581 mg/kg; tørrede, hele kartofler, 40–883 og 34–326 mg/kg; vådt kartoffelkød, 1–148 og 1–68 mg/kg; vådt skræl, 12–429 og 35–467 mg/kg; våde, hele kartofler, 7–187 og 5–68 mg/kg.

Der ses således at være stor variationer i indholdet af GA i kartofflen afhængig af hvor på kartofflen der analyseres. Desuden udviser analysen stor variation af indholdet af GA afhængig af valgte sorter.

7. VURDERING AF PRODUKTER

I det efterfølgende er beskrevet mulige anvendelsesmuligheder for K-protein til animalsk foder(laks, mink, smågrise og kalve) og for anvendelse i fødevareapplikationer samt industrien generelt.

Tidligere undersøgelser af standard kartoffel protein koncentrat(K-protein) i salmonid(laksefoder) diætkost resulterede i alvorlig appetitløshed. Dette har tidligere været tilskrevet solanidine glykolalkaloider (GA) i koncentratet, hvoraf α -solanine og α -chaconine er de bedst kendte. Gennemførte undersøgelse har udforsket den næringsmæssige værdi af et koncentrat med reduceret GA indhold (GA<100 μ g) som et delvist fiskemåltids (FM) surrogat i diætkost for atlantisk laks. FM og hvede blev i den omtalte undersøgelse erstattet af lav-GA koncentrat i tilvækst, producerende fire uddrevne diætkostvarianter indeholdende 0%, 7%, 14% og 21% koncentrat. Hver diætkostvariant blev givet til tre ens grupper af 82 g laks holdt i havvand, 8-13° C . Forsøget varede 84 dage, delt op i tre perioder. Appetit, fødeomdannelse og retention af N og energi var ikke påvirket af diætbehandling. Alle grupper af fisk voksede til endelig individuel vægt varierende fra 249– 256 g. Der var tilsyneladende ingen nævneværdig forskelle i makronæringsstof eller aminosyre fordøjelsesevne blandt grupperne, som var fodret med forskellige diætkostvarianter. Som konklusion fra denne undersøgelse, er et lav-GA koncentrat velegnet for delvist FM surrogat i diætkost for laks.

I senere år er set en stigende anvendelse af K-protein til minkfoder. Det er blevet oplyst at anvendelsen af K-protein til minkfoder bl.a. er baseret på anvendelsen af Protastar og Protamyl fra det hollandske firma Avebe. Tendensen er at der

anvendes Protamyl som er et lyst K-protein med et meget højt indhold af protein ca. 80% og lavt askeindhold og lavt indhold af GA. Desuden er omsætningen meget stor baseret på kvælstofindtag. Ved valg af K-protein lægges der stor vægt på valg af det rigtige protein (lavt indhold af GA) for opnåelse af en så god en skindkvalitet som muligt; idet Danmark i dag leverer nogle af de bedste og fineste minkskind i verden.

Vedr. anvendelse af K-protein til smågrise kan refereres til en undersøgelse fra 1990 fra Landudvalget for svin meddelelse 179, hvor der blev gennemført fodringsforsøg med K-protein. 2 foderblandinger iblandet 6,5 pct.

kartoffelproteinkoncentrat, hvor indholdet af solanin i fuldfoderblandingerne var 101 ppm henholdsvis 193 ppm blev sammenlignet med en kontrolblanding uden kartoffelproteinkoncentrat. Afprøvningen blev gennemført i 2 besætninger med smågrise i alderen 4 til 9 uger. Begge besætninger anvendte holddrift og der indgik 5-6 hold pr. besætning, omfattende i alt ca. 560 grise pr. gruppe.

Kontrolgruppen opnåede signifikant 19 g henholdsvis 26 g højere daglig tilvækst end grupperne med 101 ppm henholdsvis 193 ppm solanin. Kontrolgruppen havde samtidig en signifikant højere daglig foderoptagelse på 0,03 FEs henholdsvis 0,04 FEs end grupperne med 101 ppm henholdsvis 193 ppm solanin. Mellem grupperne med 101 ppm henholdsvis 193 ppm solanin var der ikke forskel i produktionsresultaterne. Mellem de 3 grupper var der ikke forskel i foderudnyttelse, dødelighed og antal behandlinger for diarré. De to niveauer af solanin i blandingerne påvirkede ikke antallet af behandlinger for diarré. Kartoffelproteinkoncentrat kan ernæringsmæssigt erstatte skummetmælkspulver og/eller fiskemel i blandinger til smågrise. Derimod har kartoffelproteinkoncentrat en negativ indflydelse på grisenes daglige foderoptagelse og dermed også negativ effekt på den daglige tilvækst. Det kan ikke anbefales at anvende mere end 5 pct. kartoffelproteinkoncentrat i blandinger til smågrise.

Desuden kan det oplyses at flere foderfirmaer i dag er begyndt at anvende K-protein til kalvefoder i stedet for eller sammen med anvendelse af sojaprotein. I det efterfølgende er beskrevet en recept fra litteraturen for fabrikation af kunstig mælkefoder for fedekalve:

Forslag til blanding:

40 kg mager dehydreret mælk

10 kg mælkeserum

20 kg fedtstof sammensat af

15 kg tælle

- 5 kg kokosnøddeolie
- 16 kg udvalgt stivelseskompleks
- 10 kg proteiner K-protein
- 2 kg suspensionsmiddel (carboxymethylstivelse)
- 2 kg af vitaminiseret mineralkrydderi

Det kan oplyses at denne blanding, fortyndet i lunkent vand til en gennemsnitlig koncentration på 180 g/liter, blev inddelt til 2 måltider pr. dag efter en nøje fastlagt rationsplan. De opnåede resultater var de samme som med kontrolkalve, der i deres ration kun modtog animalsk protein.

Vedr. anvendelse af K-protein til fødevarer ses at K-protein foreslås anvendt i diverse fødevarerapplikationer som pølser o.l. Desuden ses i det efterfølgende forslag til anvendelse i snacks :

Forslag til blanding:

- 60 kg voksagtig majsstivelse
- 20 kg proteiner vundet ifølge eksempel 1
- 20 kg vand
- 2 kg salt
- 1 kg pulveriseret peber
- 2 kg majsolie

Denne blanding foreslås indført i et koge-ekstrudertingsapparat opvarmet med vanddamp til 160° C. Passagetiden var på ca. 30 sekunder. Produktet, der ekspanderede ved udløbet fra dyserne, blev skåret i små stykker og afkølet i en strøm af frisk luft.

I det efterfølgende er endvidere refereret anvendelsesmuligheder i krydsfiner,

Forslag til blanding:

- 100 dele melamin-formaldehyd-harpiks
- 10 dele hærtningsmiddel
- 10 dele kartoffelproteiner vundet ifølge eksempel 1
- 10 dele kaolin
- 5 dele vand

Der er foreslået en blanding i 15 minutter. Der kunne produceres en klæbende, viskos blanding, der sendtes til det limningsapparat, som modtog de krydsfinérlag, der skulle limes. De således limede plader blev forpresset i kold tilstand i 10

minutter og derefter indført i en varmpresse til endelig limning med tilfredsstillende resultat.

Det fremgår således af det ovenstående, at der er mange anvendelsesmuligheder for K-protein såvel til specialfoder for den animalske produktion, til fødevareapplikationer og til industriel anvendelse generelt. Ved anvendelse til fødevareapplikationer og til specialfoder foreslås det dog, at indholdet af GA bør ligge på et så lavt niveau som muligt og højst på 150mg pr kg K-protein.

8. SAMMENFATNING OG KONKLUSION

I nærværende projekt er gennemført en forundersøgelse af mulige tekniske løsningsmetoder for optimering af produktionsmetode for udvinding af denatureret kartoffelprotein på de danske kartoffelmelfabrikker.

Undersøgelsen er primært baseret på undersøgelser af litteraturen og patenter på området bl.a. omfattende K-protein, glycoalkaloide(GA), brunfarvning mv. Desuden er foretaget kontakter til forskningsinstitutioner og kartoffelmelfabrikker mv. vedr. afklaring af emnet.

Undersøgelserne har bl.a. omfattet undersøgelse af muligheder for reduceret indhold af glycoalkaloide(GA, solanin m.fl.) og en lysere farve, således at anvendelsen af K-protein ved en passende optimering vil kunne anvendes til fødevarerapplikationer og specialfoderapplikationer indenfor den animalske produktion og til industriformål generelt og dermed komme op på samme kvalitetsniveau som udenlandsk kartoffelprotein primært fra Holland.

Det kan oplyses, at der i dag foreligger en godkendelse af EU om anvendelse og produktion af denatureret kartoffelprotein til fødevarer under forudsætninger vedr. overholdelse af krav til indhold af sulfit, glycoalkaloide og lysionoalanine.

Ud fra det gennemførte arbejde er det vurderingen, at de danske fabrikker med få tilpasninger og udvidelse af eksisterende procesanlæg såvel i stivelsesforarbejdningen som udvinding af kartoffelprotein vil være i stand til produktion af et K-protein, som vil kunne overholde eksisterende krav til proteinet. Det er endvidere vurderingen at proteinet vil kunne optimeres yderligere, således at det vil være tilpasset specielle krav fra levnedsmiddelvirksomheder vedr. farve, smag og funktionelle egenskaber mv.

Dette vurderes at kunne gennemføres ved en målrettet indsats på fabrikkerne med fokus på reduktion af farve så tidligt i stivelsesforarbejdningen og ved anvendelse af passende reduktionsmidler evt. indførelse af vakuumsystemer for inhibering af farvereaktioner. Desuden er det vurderingen at valg af pH og syrevalg i processen såvel i stivelsesforarbejdningen som i selve udfældningsprocessen er meget vigtigt for produktets kvalitet herunder indhold af glycoalkaloide og for udbyttet af protein. Desuden er det vurderingen at etablering af processtyr for udvinding af glycoalkaloide omfattende ekstra dekantere eller centrifuger samt holdeceller/reaktionstanke vil være nødvendigt for udvaskning af glycoalkaloide.

Vedr. det videre forløb er det vurderingen, at der i dag foreligger megen litteratur ved artikler, beskrivelse af større undersøgelser og patenter som beskriver metoder for optimering af proteinet og som derfor kan anvendes som idegrundlag for den videre optimering på de danske fabrikker.

Det foreslås, at der vedr. det fremtidige optimeringsarbejde etableres en kontakt til forbrugerne af proteinet for i fællesskab at afklare specifikke krav til proteinet og udfra disse krav at iværksætte opfølgende applikationsforsøg for udvælgelse af økonomisk interessante applikationer og at dette arbejde gennemføres i samarbejde med leverandører af udstyr samt forskningsinstitutioner med specialviden på området.

Bilag 1.**Litteraturliste:**

Potato glycoalkaloids: Some unanswered questions

David B. Smith, James

Trends in Foods Science & Technology April 1996(vol. 7)

Glycoalkaloids and Calyptegine Contents in Eighth Potato Cultivars

Mendel Friedman

Journal Agricultural Food and Chemistry 2003, 51

Isolations of solasodine and other steroidal alkaloids etc.

Martin Weissenberg

Phytochemistry 58(2001)

Solaidine Hydrolytic and separation from the potato etc.

Nada C. Nikolic

Journal Agricultural Food and Chemistry 2003, 51

Potato protein concentrate with low content of solanidine glycoalkaloids in diets for Atlantic Salmon.

Ståle Refstie

Aquaculture 216(2003)

Potato glycoalkaloids: True safety or false sense of security?

Yaroslav I. Korpan

Trends in Foods Science & Technology March 2004(vol. 22)

Effect of Heat-Induced Aggregation on IgE Binding of Patatin – Dominated by Other Potato Proteins

Steff Koppelman

Journal Agricultural Food and Chemistry 2002, 50

Glycoalkaloider, Vid isolering av Potatisprotein

Karl – Erik Hellenæs og Arne Nyman

Statens Livsmedelsverk

Rapport 1989-08-31

Patent af 4. januar 1974 Frankrig no. 74 00310. Vedr. fremgangsmåde til udvinding af proteiner fra kartofler og anvendelse af disse protein

Roquette Freres

Patent WO 97/03571, PCT/NL96/00290. Concerning Purified heat-coagulated Potato Protein for use in animal feed.

AVEBE

Bilag 2

Udvalgte referencer vedr. godkendelse af kartoffelprotein til fødevarer mv.

