

Indhold

Indledning	2
Hvad er grøn bioraffinering?.....	2
Præsentation af videnskabsartikel 1 - Kan hvidkløver være et alternativ proteinkilder for enmavede dyr?.....	4
Intro	4
Formål - Hvad blev der undersøgt?.....	4
Metode - Hvordan blev det undersøgt?	4
Resultatet - Hvad fandt man ud af?.....	5
Hvad kan der konkluderes på disse resultaterne?	7
Perspektivering til grøn bioraffinering / landbruget	7
Andre relevante spørgsmål til studiet.....	8
Præsentation af videnskabsartikel 2 - Hvordan analyser man hurtig for aminosyrer?	9
Intro	9
Formål - Hvad blev der undersøgt?.....	9
Resultat - Hvad fandt man ud af?.....	9
Hvad kan der konkluderes på disse resultaterne?	10
Perspektivering til grøn bioraffinering / landbruget	10

Sammenhæng mellem dansk landbrug, grøn bioraffinering og videnskabelige studier - Eksemplificeret med cases fra videnskabelige studier

Indledning

Der er fra landbrugets side et ønske om at finde et alternativt proteinfoder i stedet for soja. Derudover er der en øget efterspørgsel på økologiske fødevarer, hvilket medfører, at der vil være et øget behov økologisk foder.

Der er samtidigt et ønske om et bæredygtigt proteinfoder produceret lokalt.

Sideløbende stilles landbruget over for kravene om målrettet regulering, hvilket kan resultere i at større landbrugsområder eventuel skal omlægges til græs. Græs har et relativt højt indhold af protein sammen med et højt udbytte, hvorfor de er interessante i relation til et alternativ til soja.

SEGES deltager i en række forskellige forskningsprojekter, der har til formål at finde dansk produceret planteprotein. Proteinet skal kunne erstatte soja som proteinkilde til enmavede dyr, særligt svin, og derfor er der også fokus på at producere protein fra planter, der normalt ikke egner sig til foder til enmavede dyr. Denne proces betegnes grøn bioraffinering

Hvad er grøn bioraffinering?

Helt overordnet indsamler/høster man en given biomasse med højt proteinindhold, hvorfra man udvinder proteinet.

Grøn bioraffinering af protein fra græs er fortsat i sit tidlige stadie, og der er endnu ikke et velafprøvet fuldskala koncept. Der er dog allerede udført meget forskning og afprøvning på forsøgsanlæg. Senest er der givet støtte til etablering af et større demonstrationsanlæg til Aarhus Universitet placeret i Foulum.

Via følgende link præsenteres demonstrationsanlægget i Tv Midtvest

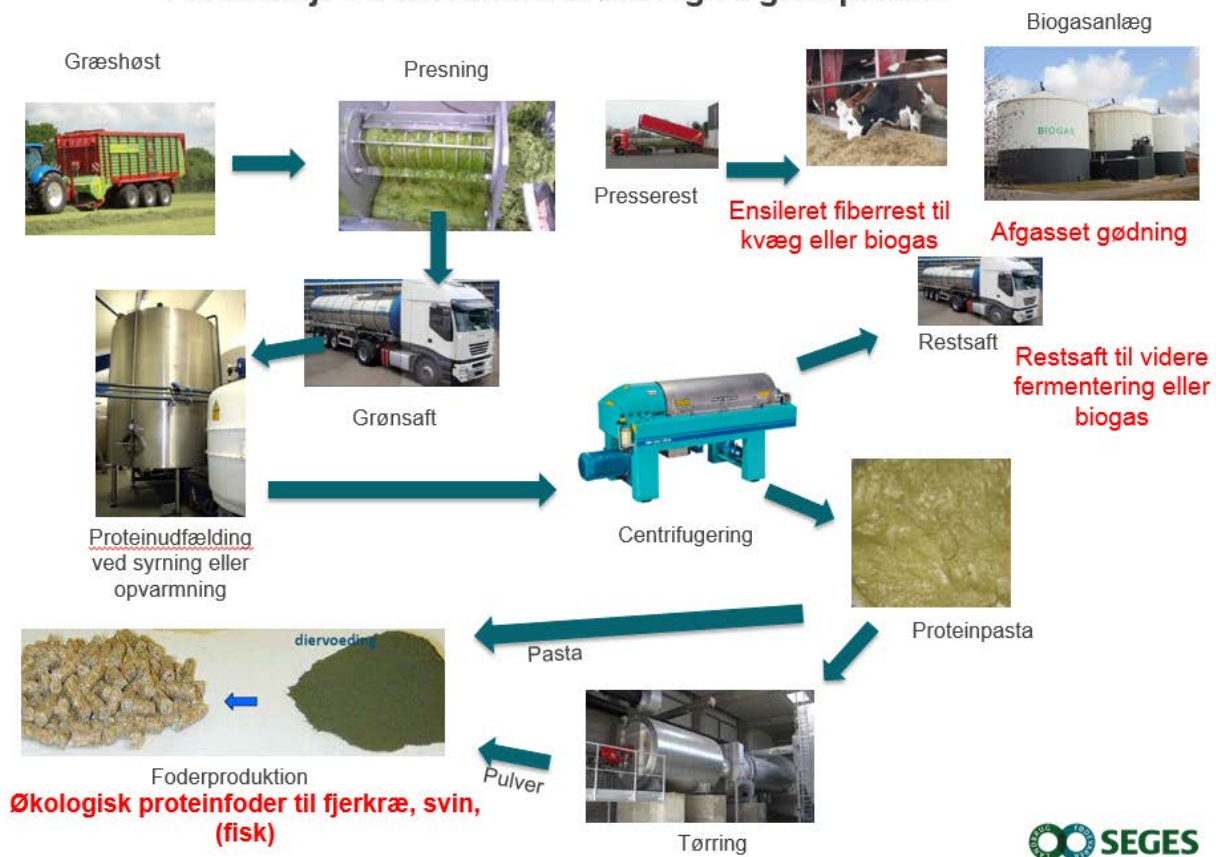
Link: <https://www.tvmidtvest.dk/artikel/graes-kan-blive-guld-vaerd>

Samt en oversigt over Foulums aktiviteter indenfor bioraffinering:

Link: <https://www.tvmidtvest.dk/artikel/graes-kan-blive-guld-vaerd>

På Figur 1 vises den overordnede proces.

Proceslinje for bioraffineret økologisk græsprotein



Figur 1: Skitse af grøn bioraffinering.

Kort forklaret:

- Afgrøder med høj proteinindhold eksempelvis kløver, etableres på egnede landbrugsarealer.
- Afgrøderne høstes og fragtes straks til produktionsanlægget for at undgå nedbrydning af proteiner (max 8 timers transport fra høst til behandling).
- Afgrøderne forarbejdes, således at de deles i en proteinfraktion, fiberfraktion og væskefraktion (brunsaft). Forskningsmæssig arbejdes der meget på at gøres det via 2 trin:
 - Trin 1: Fysisk separation, hvor afgrøderne eksempelvis presses via en skruepresse. Resultatet er en pressekage, som kan anvendes til foder eller eventuelt biogas samt en flydende fraktion, der anvendes i trin 2.
 - Trin 2: Udfældning af proteiner vha. eksempelvis syring eller opvarmning efterfulgt af centrifugering. De udfældede proteiner udgør proteinpastaen, som kan anvendes direkte eller tørres til dyrefoder og måske på sigt indgå direkte i fødevareproduktion.

Denne artikel har til formål at formidle en del af den forskning, som pågår for at opnå større kendskab og optimere processen vist i Figur 1 for grøn bioraffinering.

Artiklen er samtidigt en del af projektet BioValue, hvor SEGES deltager med det formål at deltage i BioValue er at sikre, at der skabes nye markeder og produkter for landbruget gennem bioraffinering.

Præsentation af videnskabsartikel 1 - Kan hvidkløver være et alternativ proteinkilder for enmavede dyr?

Intro

Det korte svar er ja. Der er studier, der indikere, at enmavede dyr som eksempelvis grise kan spise og fordøje hvidkløver.

Dette bygger på et stort stykke arbejde, som Institut for Husdyrvidenskab - Molekylær ernæring og forplantning under Aarhus Universitet har udført og som har resulteret i den videnskabelige artikel *Hvidkløver fraktioner som proteinkilde for enmavede dyr: Fordøjelighed af tørstof og protein – korrigeret aminosyre score*.

Reference:

White clover fractions as protein source for monogastrics - Dry matter digestibility and Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores. / Stødkilde, Lene; Damborg, Vinni K; Jørgensen, Henry; Laerke, Helle N; Jensen, Søren K.

I: Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018.

Formål - Hvad blev der undersøgt?

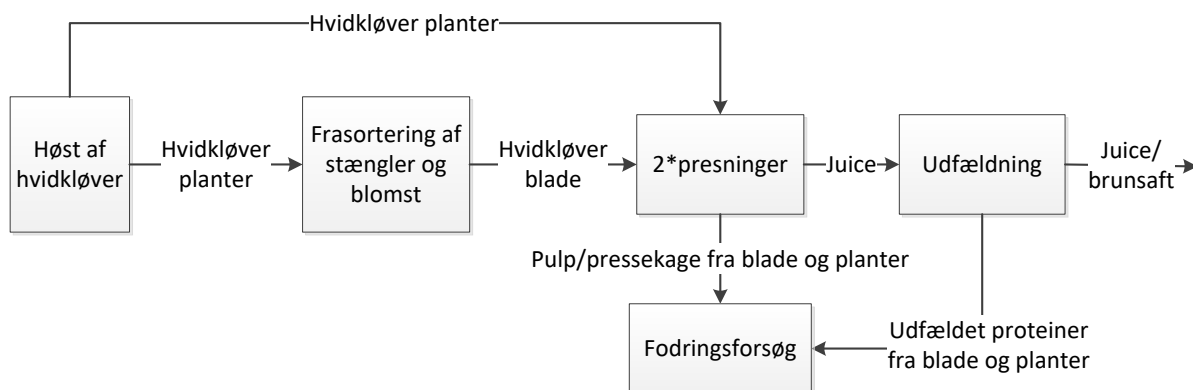
Formålet med studiet var at vurdere hvidkløver som en alternativ proteinkilder for enmavede dyr.

Metode - Hvordan blev det undersøgt?

Hele hvidkløver planter blev forarbejdet i en skruepresse af to omgange. Dette resulterede i en fast fraktion og juice. Fra juicen blev der udfældet proteiner vha. syring med svovlsyre.

Efter forbehandlingen af hvidkløveren blev der udført fodringsforsøg med rotter med følgende hvidkløverfraktioner (se Figur 2):

- Hele planten inkl. stængel, blomst og blade.
- Pulp fra presningen af planten (presskage)
- Protein fra presning af planten (udfældet fra juicen).
- Blade
- Pulp fra presningen af blade (presskage).
- Protein fra presning af blade (udfældet fra juicen).



Figur 2: Illustration af, hvor fraktioner anvendt til forsøget kommer fra. Sortering af kløver i stængler og blomster foregik manuelt.

Grunden til man også vælger at se på bladene separat skyldes, at der er færre fibre i bladene, hvilket kan påvirke fordøjeligheden mv.

Fodringsforsøgene blev udført med rotter, hvor der blev målt på fordøjelighed af tørstof og protein.

Resultatet - Hvad fandt man ud af?

Via analyser fandt man ud af protein koncentrationen havde et indhold af råprotein på 541 g/kg tørstof fra planten og 530 g/kg tørstof for bladene.

Sammenlignet med eksempelvis toasted soja, der har 411 g rå protein/kg tørstof ligger hvidkløver lidt over.

Dog har den rene hvidkløver kun 15-20% tørstof mod toasted sojabønner, der har et tørstof på 90%. Data fra toasted sojabønner er hentet fra SEGES fodermiddeltabel (revideret 17-10-2017).

Grunden til at kløvergræs stadig er interessant selvom det har lavere tørstof skyldes blandt andet at der i Danmark endnu ikke er muligt at opnå gode stabile udbytter af Soja (Kilde: Dansk proteinfoder til økologiske, enmavede husdyr, DCA rapport nr. 114, februar 2018).

Aminosyrer sammensætningen for de forskellige fraktioner varierede fra:

- 4,72 til 6,49 g/100g rå protein for lysin
- 1,82-2,6 g/100g rå protein for methionine og cystein
- 3,66-5,24 g/100g rå protein for threonine

Nedenfor er listet, hvorfor netop disse er ekstra interessante.

- Lysin, methionin og threonine: Ud af de 20 aminosyrer, der findes, er de 8 af dem essentielle, hvilket gør sig gældende for disse 3.
Med essentielle menes, at det er nødvendigt for dyr at få dem tilført via foderet, da dyrene ikke selv kan danne dem.
- Cystein: Indeholder svovl, hvorfor det er muligt at danne svovlbroer. Disse broer er vigtige for proteinernes struktur. Samtidig er cystein essentielt, såfremt der er mangel på methionin.

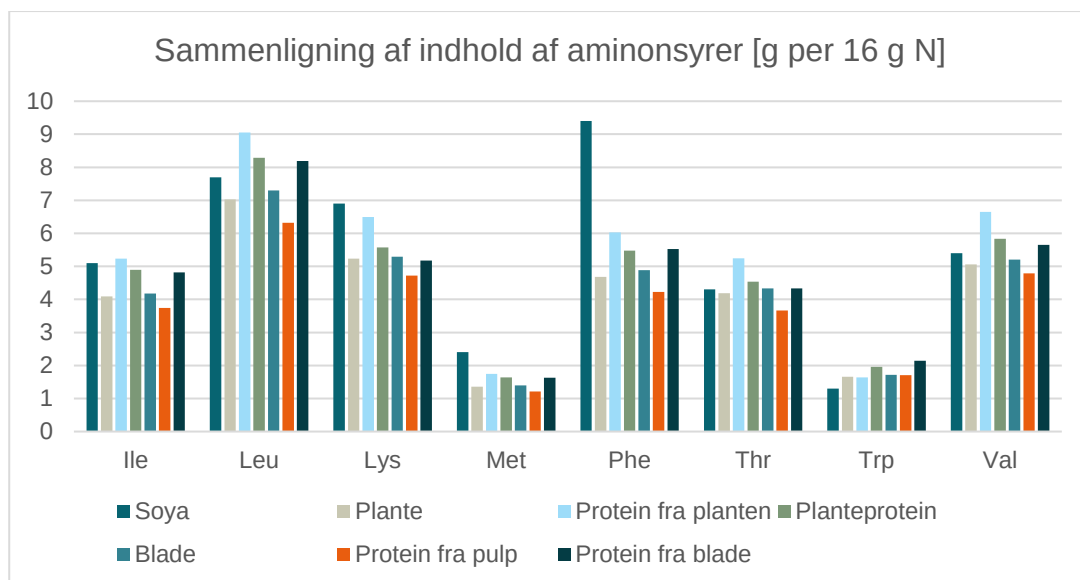
Der kan læses mere om aminosyrer til svin i artikel Næringsstoffer:

http://svineproduktion.dk/Viden/I-stalden/Foder/Indhold_foder/Naeringsstoffer

I Figur 3 er indholdet af forskellige aminosyrer i hvidkløver sammenlignet med indholdet i soja. Det ses, at aminosyrerne fra hvidkløver ligger på niveau med sojaen. Sammensætningen af aminosyrerne i bladene og hele planten er ens. Baseret på alle fraktionerne indikerer det, at skruepressen ikke får lavet en komplet separation af opløselige og ikke-opløselige proteiner.

Fakta: Af de 20 aminosyrer er 8 af dem vandopløselige (Alanin, Valin, Isoleucin, Leucin, Methionin, Phenylalanin, Tyrosin og Tryptophan).

Der kan læses yderlig om aminosyrerne på denne side: http://www.biotechacademy.dk/undervisningsprojekter/gymnasiale-projekter/antimikrobielle-peptider#teori_proteinstruktur



Figur 3: Sammenligning af aminosyrerne Ile (Isoleucin), Leu (Leucin), Lys (Lysin), Met (Methionin), Phe (Fenylalanin), Thr (Threonin), Trp (Tryptofan) og Val (Valin) for de forskellige fraktioner og soja. Tabellen er baseret på data fra artiklen *White clover fractions as protein source for monogastrics - Dry matter digestibility and Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores*.

Fordøjeligheden af protein varierede fra 81- 88 %, mens nedbrydningen af tørstof varierede i området 72-80 % for de forskellige fraktioner, hvilket er tilstrækkeligt for de fleste unge dyr i vækst.

Til sammenligning med protein fra soja ligger fordøjeligheden på ca. 88 %.

Forsøgene viste, at rotterne havde mindst lyst til at indtage proteinpulpen.

Fordøjelse af protein i relation til PDCAAS-scoren viste af methonin og cystein vil være de begrænsende aminosyrer, hvis der alene blev fodret med hvidkløver. Overordnet havde plante pulpen en bedre score end plante protein, mens det modsatte gjorde sig gældende ved bladene, hvor blad protein havde en bedre score end blad pulpen.

Fakta: Hvad er PDCAAS

PDCAAS er betegnelsen for en metode til at evaluere kvaliteten af protein. Metoden omfatter at man vurderer:

- Aminosyrer sammensætningen for planten
- Proteinfordøjelighed
- Plantematerialets evne til at levere essentielle aminosyrer til den reference, der anvendes.

Hvad kan der konkluderes på disse resultaterne?

I studierne blev der set en høj nedbrydning/omsætning af hvidkløver proteinet fundet i alle fraktionerne.

Fraktionerne havde alle en afbalanceret aminosyresammensætning, hvilket gør hvid kløver til en lovende protein kilde for enmavede dyr.

Perspektivering til grøn bioraffinering / landbruget

Forsøgene viste, at protein fra kløver kunne være en mulig proteinkilde til enmavede dyr og herunder grise. Der er derfor på baggrund af dette og andre studier igangsat fodringsforsøg med grise for at teste fodret i større skala.

Andre relevante spørgsmål til studiet

Fakta: Hvorfor udvinde proteinet og ikke give de enmavede dyr det direkte?

Grunden til at der behov for at udvinde proteinet fra hvid kløver er at kløverne også indeholder fibre, pigment, bitterstoffer og andre stoffer der ikke er gode for fordøjelsen og smag/duft.

Fakta: Hvorfor er det vigtig med protein og aminosyrer?

Proteiner indgår som en vigtig del af de en-mavededyrers foder. Proteinerne udgøres af aminosyrer, hvor nogle af disse er eksistentielle for dyrenes vækst.

Fakta – Hvad er det for en enhed, der anvendes?

Aminosyrerne er opgjort i g per 16 g N (kvælstof), hvilket svarer til g/100g rå protein.

Fakta: Hvorfor testede man ikke på grise i første omgang?

Der anvendes ofte rotter til de indledende forsøg pga. at mængden af foder produceret i første omgang ikke af en mængde at det kan anvendes til storskala. Samtidigt vurderes det forsøgene med rotter kan relateres til andre en mavede dyr. Der må derudover formodes at forsøgene er billigere at udfører med rotter end eksempelvis grise.

Præsentation af videnskabsartikel 2 - Hvordan analyser man hurtig for aminosyrer?

Intro

Aminosyreprofilen er en vigtig parameter til vurdering af vækstpotentialet, ressourceforbrug effektivitet (ressource-use efficiency) og/eller kvaliteten som mad eller foder.

Screeningstudier kan involvere et stort antal prøver, men den klassiske aminosyreanalyse er begrænset ved at den er tidskrævende med et kromatografisk gennemløb på 70 min eller mere.

Reference:

High-throughput method for amino acid analysis of green biomass by single quadrupole MS detection. / Dahl-Lassen, Rasmus; van Hecke, Jan Julien Josef; Jørgensen, Henning; Schjørring, Jan Kofod.

Proceedings Book: XVIII International Plant Nutrition Colloquium with Boron and Manganese Satellite Meetings. ed. / Andreas Carstensen; Kristian Holst Laursen; Jan Kofod Schjørring. University of Copenhagen, 2017. p. 833-834.

Formål - Hvad blev der undersøgt?

Der blev undersøgt, hvorvidt det var muligt at udvikle en hurtig metode til at analysere for aminosyrer i plantemateriale. Metoden skulle gerne have et analyseresultat af samme kvalitet som den nuværende/ældre metode.

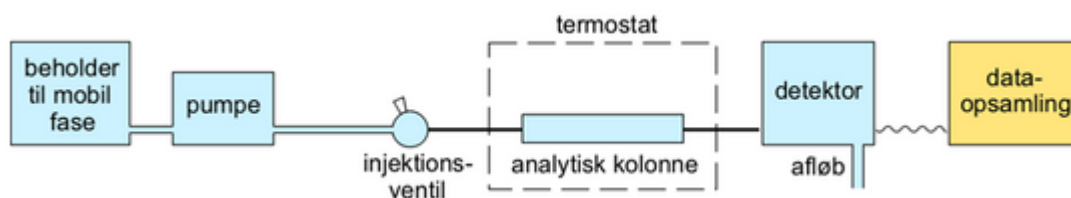
Resultat - Hvad fandt man ud af?

Der blev udviklet en analysemetode, der var hurtigere end nuværende/eksisterende analysemetode til analyse af aminosyrer profiler i plantemateriale.

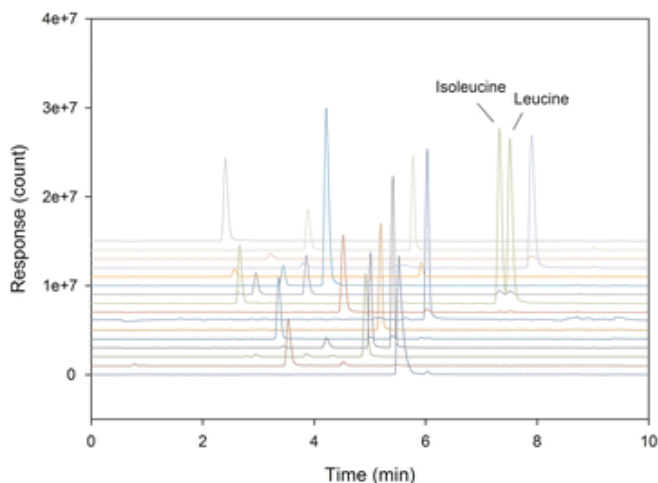
Dette blev gjort ved at kombinere den klassiske forberedelse metode med kromografi af typen UPLC (Ultra-Performance Liquid Chromatography – væske kromografi ved højt tryk). Ved hjælp af den klassiske metode blev prøverne opløst, således at det var muligt at analysere dem vha. kromografi.

Ved UPLC kromografien bliver prøven påført en kolvone (lang hul spiral), hvor de alt efter indhold kommer ud i forskellig rækkefølge. For enden af kolonnen blev de forskellige fraktioner analyseret.

Gennemløbstiden for hele prøven var ca. 10 min ved UPLC. Til sammenligning tager den klassiske kromografi med ionbytter mindst 70 minutter per prøve.



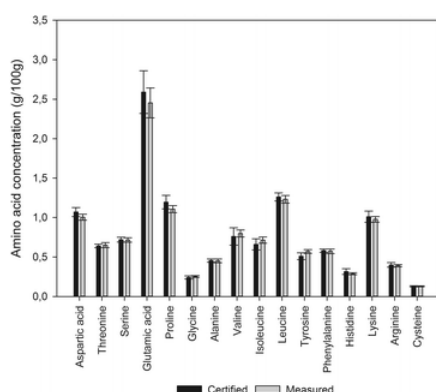
Figur 4: Illustration af kromografi med detektor(masse spektrometri). Kilde: http://denstoredanske.dk/It,_teknik_og_naturvidenskab/Kemi/Analytisk_kemi/kromatografi



Figur 5: Illustration af resultat fra kromografen med standarder, der gør det muligt at identificer de forskellige aminosyrer.

Test/validering af analysen

Nøjagtigheden blev testet med en certificeret standard (Figur 5) samt ved at samme prøve blev testet på et andet laboratorium. Begge dele viste en meget god nøjagtighed 91-112% for den certificeret standard og tæt på 100% på det eksterne laboratorium. Præcisionen blev testet ved analyser forskellige prøver 10 gange, hvilket viste en gennemsnitlig standardafvigelse på 5,3%. Endvidere blev der undersøgt, hvor der kunne være usikkerheder ved analyser, hvilket viste sig at være ved udførslen af derivatization.



Figur 6: Resultater fra test af analysens nøjagtighed vha. certificeret standard.

Hvad kan der konkluderes på disse resultaterne?

Det var muligt at udvikle en hurtigere analysemetode for indholdet af aminosyrer i plantemateriale vha. UHPLC kromatografi og massespektrometri.

Perspektivering til grøn bioraffinering / landbruget

Med metoden kan forskerne hurtigere analysere for aminosyrer. Dette medfører en reduktion i udgifterne til analysearbejdet og gør samtidigt at man indenfor samme tid kan få analyseret flere prøver.

Der er fortsat meget forskningsarbejde forud, hvorfor en hver optimering af analysearbejdet er værdsat.