



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2020 30 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Undersøkelse av tørrfraksjonering av åkerbønner dyrket i Norge

Research of dry fractionation of faba beans grown
in Norway

Ingeborg Lea Ertesvåg

Matvitenskap – Produksjon og produktutvikling

Forord

Denne masteroppgaven ble skrevet ved Nofima og Fakultetet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (KBM) ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU). Oppgaven utgjør 30 studiepoeng og var avslutningen på en mastergrad innen matvitenskap, med fordypelse i produksjon og produktutvikling. Denne oppgaven ble skrevet som en del av prosjektet FoodProFuture, og jeg ønsker å benytte sjansen til å takke for at jeg fikk mulighet til å delta i dette prosjektet.

Jeg vil rette en stor takk til min hovedveileder, Professor Anne Kjersti Uhlen for støtte, engasjement og god oppfølging under arbeidet med oppgaven. Videre vil jeg si tusen takk til mine tre biveiledere; forsker Tove Devold ved KBM, seniorforsker Stefan Sahlstrøm og seniorforsker Svein Halvor Knutsen ved Nofima. Deres veiledning og oppfølging har vært til stor hjelp.

En stor takk til alle som har hjulpet meg med arbeidet på laboratoriet på Nofima. Jeg setter pris på all hjelp, gode råd og at jeg fikk delta i deres hyggelige arbeidsmiljø. Jeg ønsker spesielt å takke senioringeniør Hanne Zobel for all hjelpen jeg har fått gjennom hele min tid på Nofima.

Til slutt vil jeg takke mine venner og familie for all støtte underveis i arbeidet med oppgaven.

Ås, 2020

Ingeborg Lea Ertesvåg

Sammendrag

I en verden med økende befolkning, er det nødvendig å øke matproduksjonen for å sikre nok mat. I Norge har bruk av belgvekster til mat økt de siste årene. Prosjektet FoodProFuture jobber med å utvikle kunnskap om produksjon, og utnytting av proteinrike belgvekster i Norge. FoodProFuture har hatt fokus på dyrking av erter og åkerbønner, da dette er miljømessig bærekraftige proteinkilder som trolig vil få en større rolle i det norske landbruket i årene som kommer. Ny teknologi har gjort det mulig å fremstille proteinrike fraksjoner fra erter og åkerbønner til bruk i nye matvarer. Et eksempel på en ny prosesseringsmetode som er utviklet, er tørrfraksjonering. Tørrfraksjonering er en prosess som kan fremstille en proteinrik fraksjon (fin fraksjon) og en stivelsesrik fraksjon (grov fraksjon) fra plantebaserte produkter med høyt proteininnhold. Den fine fraksjonen kan brukes som ingrediens i ulike matvarer som eksempelvis snaks, proteinbarer og melblandinger.

I denne oppgaven var målet å teste om fire sorter åkerbønner var egnet for tørrfraksjonering. Ulike fraksjoneringsbetingelser har blitt undersøkt, hvor særlig proteininnholdet i de fine fraksjonene har blitt målt opp mot mengdeutbytte i de fine fraksjonene for å studere effekten av økende fraksjoneringshastigheter. For å karakterisere de ulike egenskapene til sortene, ble det utført følgende analyser; proteininnhold, innhold av stivelse, vanninnhold, partikkelstørrelse, vannbindingsevne, oljebindingsevne og lavmolekylære karbohydrater.

Resultatene viste at proteininnholdet i fin fraksjon økte med økende fraksjoneringshastighet, samtidig som mengdeutbytte av denne fraksjonen ble redusert. Det var liten økning i proteininnhold ved å øke fraksjoneringshastigheten utover 10 000 rpm. Den optimale hastigheten ble derfor funnet ved 10 000 rpm, hvor de fine fraksjonene i gjennomsnitt hadde proteininnhold på 69,4 %, stivelsesinnhold på 5,5 %, og mengdeutbytte på 28,2 %. Forsøket inkluderte sorter dyrket i to sesonger, hvor de i hovedsak responderte likt på behandlingen. Ved 10 000 rpm ble det målt et signifikant høyere proteininnhold i sorten Sampo sammenlignet med de tre andre sortene. Fin fraksjon hadde lavere vannbindingsevne enn råmateriale og det ble også funnet at fin fraksjon hadde høyere innhold av α – galaktosider (raffinose, stachyose og verbascose) sammenlignet med råmateriale.

Denne oppgaven har vist at de fire sortene åkerbønner har tilfredsstillende kvalitet for tørrfraksjonering og at de responderte likt på prosessen. Alle sortene fikk et forhøyet proteininnhold i de fine fraksjonene og resultatene fra forsøket indikerer at alle sortene kan være aktuelle for dyrking i Norge.

Abstract

In a world with a growing population, it is necessary to increase the food production to ensure enough food to the entire population. The production of legumes in Norway has increased over the last few years. The project FoodProFuture are currently working on developing knowledge about production and utilization of protein rich legumes in Norway. FoodProFuture has focused on production of field peas and faba beans, due to their environmentally sustainable protein source, that will most probably have a bigger role in the Norwegian agricultural field in years to come. New technology such as dry fractionation has made it possible to make protein rich fractions from field peas and faba beans. Dry fractionation is a process that can make a protein rich fraction (fine fraction) and a starch rich fraction (course fraction) from plant-based products that are high in proteins. The fine fraction can be used as an ingredient in snacks, protein bars and different types of flour.

The aim of this thesis was to find out if four different types of faba beans were suitable for dry fractionation. Different dry fractionation conditions were studied. The protein content was compared with the distribution of the mass yield to optimize the conditions. The following analyses were measured to decide different characterisation of the four types of faba bean and their fractions; protein content, starch content, water content, particle size, water-holding capacity, fat-binding capacity and low molecular weight carbohydrates.

The results showed that the protein content in the fine fraction was enhanced with an increasing dry fractionation speed, simultaneously as the mass yield of the fine fraction was lowered. By increasing the speed higher than 10.000 rpm, there was an increase in proteins, but the loss of mass yield was high. The optimal speed was therefore set to 10.000 rpm. At his speed the average results for the fine fractions were; protein content 69,4 %, starch content 5,5 % and mass yield 28,2 %. This study included faba beans grown in two seasons, and the different types responded corresponding to the process. The fine fraction of the type Sampo, had a significant higher protein content compared to the other types after dry fractionation at 10.000 rpm. The fine fraction had both a lower water-holding capacity and a higher content of α -galactosides (raffinose, stachyose and verbascose) compared to the raw material.

This thesis has shown that the four types of faba beans have a quality that is satisfactory for dry fractionation. The four types responded equally to the dry fractionation treatment. All four types of faba beans had an enriched content of proteins in the fine fraction and the result of the trial indicate that all the types of faba beans can be grown in Norway.

Forkortelse	Beskrivelse
AUC	Area under the curve
FF	Fin fraksjon
GF	Grov fraksjon
LMV-Karb	Lavmolekylære karbohydrater
OBE	Oljebindingsevne
RPM	Runder per minutt
VBE	Vannbindingsevne

INNHALDSFORTEGNELSE

1	Innledning	1
1.1	Verden i endring – økt behov for protein	1
1.2	Belgvekster	2
1.2.1	Åkerbønner	3
1.3	Tørrfraksjoneringsprosessen	6
1.3.1	Maling.....	7
1.3.2	Tørrfraksjonering	8
1.3.3	Melets vanninnhold	10
1.3.4	Proteininnhold.....	10
1.4	Funksjonelle egenskaper.....	11
1.4.1	Vannbindingsevne.....	11
1.4.2	Oljebindingsevne.....	11
1.5	Lavmolekylære karbohydrater	12
1.6	Resultat fra tidligere tørrfraksjoneringsforsøk.....	13
1.7	Hensikten med oppgaven.....	14
2	Materialer og metoder.....	15
2.1	Materialer.....	15
2.1.1	Dyrking.....	15
2.2	Metoder.....	16
2.2.1	Rensing	17
2.2.2	Maling med hammermølle.....	17
2.2.3	Maling med pin-mølle	17
2.2.4	Tørrfraksjonering	17
2.2.5	Vanninnhold i fraksjonene.....	19
2.2.6	Proteininnhold.....	20
2.2.7	Stivelse.....	20

2.2.8	Partikkelstørrelse.....	20
2.2.9	Vannbindingsevne.....	21
2.2.10	Oljebindingsevne.....	21
2.2.11	Varmebehandling av Kontu (FF) ved bruk av Rapid Visco Analyse (RVA).....	22
2.2.12	Lavmolekylære karbohydrater	23
2.2.13	Statistikk	24
3	Resultat.....	25
3.1	Forforsøk.....	25
3.2	Vanninnhold i fraksjonene.....	27
3.3	Mengdeutbytte, proteininnhold og innhold av stivelse	28
3.4	Total proteinmengde og proteinutbytte i FF	32
3.5	Tap under fraksjoneringsprosessen	34
3.6	Partikkelstørrelsefordeling for fin fraksjon.....	35
3.7	Funksjonelle egenskaper.....	36
3.7.1	Vannbindingsevne	36
3.7.2	Oljebindingsevne.....	37
3.8	Lavmolekylære karbohydrater	38
4	Diskusjon.....	43
4.1	Tørrfraksjonering	43
4.1.1	Vanninnhold.....	44
4.1.2	Mengdeutbytte	44
4.1.3	Proteininnhold og innhold av stivelse	45
4.1.4	Total proteinmengde og proteinutbytte	47
4.1.5	Tap under fraksjoneringsprosessen	47
4.1.6	Partikkelstørrelsefordeling for FF	48
4.2	Funksjonelle egenskaper.....	48
4.3	Lavmolekylære Karbohydrater	49

4.4	Åkerbønner og kikerter.....	50
4.5	Oppsummering.....	51
5	Konklusjon	52
6	Referanser.....	53
7	Vedlegg	60
	Vedlegg 1 – Mengdeutbytte, protein, totalt proteininnhold og proteinutbytte.....	60
	Vedlegg 2 – Tap under fraksjonering	62
	Vedlegg 3 - Vannbindingsevne	63
	Vedlegg 4 - Partikkelstørrelsefordeling	64
	Vedlegg 5 – Lavmolekylære karbohydrater	65
	Vedlegg 6 – Standardkurve for LMV-Karb	66

1 INNLEDNING

1.1 VERDEN I ENDRING – ØKT BEHOV FOR PROTEIN

Befolkningsveksten på jorden fører til et økt behov for matproduksjon (Schutyser & van der Goot, 2011). Beregninger viser at i 2050 vil verdens befolkning nå 9,1 milliarder mennesker (Aiking, 2011). For å sørge for matsikkerhet og dermed nok mat til verdens økende befolkning, må produksjonen av mat øke med 70 % de neste tiårene (Bruinsma, 2014) Det store norske leksikon beskriver matvaresikkerhet med følgende ord; «når alle mennesker til enhver tid har fysisk, sosial og økonomisk tilgang til tilstrekkelig trygg og næringsrik mat» (Almås, 2012).

Selv om produksjonen av mat må økes, er det ønskelig å gjøre det på en bærekraftig måte, med minst mulig miljøbelastning. En måte å gjøre det på er å finne en alternativ kilde til protein. Kjøtt er en viktig proteinkilde, og i dag er produksjonen av kjøtt en stor miljøbelastning. I 2005 var den globale produksjonen av kjøtt 249 millioner tonn, og dette vil trolig øke til 461 millioner tonn i 2050 (Bruinsma, 2014). Ingredienser fra planter kan være med på å erstatte protein fra dyr og kan potensielt føre til mer effektiv produksjon og kunne bidra til en mer bærekraftig fremtid (Aiking, 2011).

Fra et miljømessig synspunkt er det tydelig at mennesker må senke konsumet av animalske produkter, og øke inntaket av plantebasert mat (Heusala et al., 2020). Dette er i samsvar med helseanbefalinger om å spise mindre rødt kjøtt (World Cancer Research Fund, 2017), og mer plantebasert mat (The Eat-Lancet Commission, 2019). Belgvekster er, og har i mange århundre, vært en viktig kilde til protein for både mennesker og dyr. Biprodukter fra produksjon går til ingredienser i dyrefôr. Belgvekster blir i hovedsak dyrket for deres innhold av protein og er en god kilde til essensielle aminosyrer. I tillegg har de en andel karbohydrater som er en optimal kilde til energi (Knudsen et al., 1991).

Det krever mindre landareal for å produsere ett kilo protein fra belgvekster sammenlignet med animalske produkter. De største forskjellene er målt mellom belgvekster og storfe. Målinger viser at storfe krever syv ganger mer landareal enn belgvekster for å produsere en kilo protein (Heusala et al., 2020); (Nijdam et al., 2012). Målinger utført i Norge, viser at tallene er noe lavere for norsk kjøttproduksjon, sammenlignet med andre land (Svanes, 2019). Produksjon av animalsk protein har større påvirkning på miljøet enn planteprotein, da dyr blant annet krever

inntak av planteprotein i form av fôr (Heusala et al., 2020). Sammenlignet med animalske produkter, krever belgvekster mindre landareal, vann og energi (Aiking, 2011).

1.2 BELGVEKSTER

Omtrent 60 % av proteinene mennesker konsumerer kommer fra planter (Henchion et al., 2017), hvor belgvekster som blant annet erter, bønner, linser, åkerbønner og kikerter, spiller en viktig rolle. Belgvekster tilhører erteblomstfamilien, *Fabaceae*, og regnes som den viktigste familien av kulturplanter etter gressfamilien, *Poaceae* (Smýkal et al., 2015). I dag står belgvekster for 27 % av verdens avlinger basert på volum og gir 33 % av proteinene konsumert av mennesker (Smýkal et al., 2015). Belgvekster er viktig i dyrkingssystemet for å kunne produsere bærekraftig avlinger, da de kan fikse atmosfærisk nitrogen via rhizobial symbiose (Foyer et al., 2016). På grunn av symbiose med nitrogen-fikserende bakterier, vil avlinger kreve mindre eller ingen tilført nitrogen gjødsel (Rochester et al., 1998).

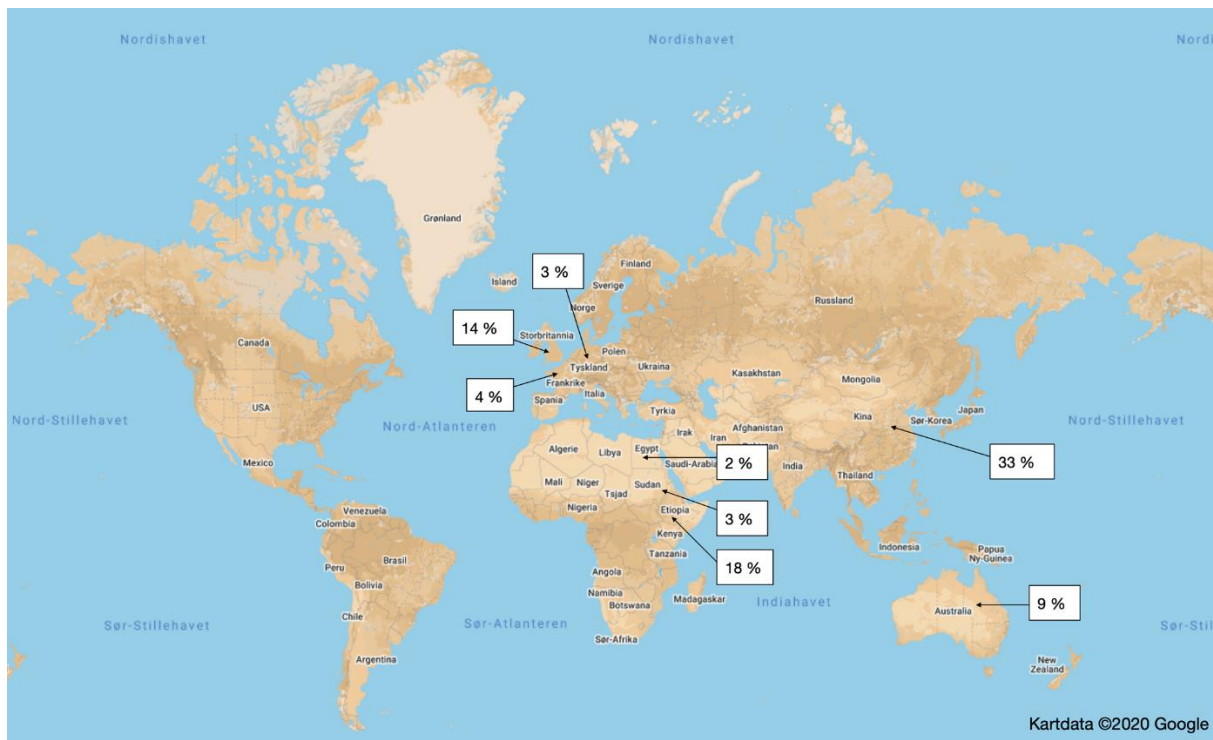
Belgvekster inneholder ulike næringsstoffer som protein, karbohydrat, lipider, mineraler og vitaminer (Boye et al., 2010). I tillegg til å ha høyt innhold av viktige næringsstoffer, har belgvekster et naturlig innhold av antinæringsstoffer. Antinæringsstoffer er substanser som er tilstede i planter og som er viktige for at planten skal kunne ha en normal metabolisme. De kan også være medvirkende til at planter kan beskytte seg selv mot angrep fra skadegjørende vekster og insekter (Khokhar & Apenten, 2016). Belgvekster inneholder en rekke antinæringsstoffer eksempelvis protease inhibitorer, lectin, fytinsyre, vicine og convicine (Helsper et al., 1993): (Jezierny et al., 2010). Det finnes ulike metoder for å redusere innholdet av antinæringsstoffer, eksempel ved koking, bløtlegging, enzym prosessering og fermentering (Khokhar & Apenten, 2016); (Coda et al., 2015).

Et eksempel på belgvekster som benyttes i stor grad er kikerter (*Cicer arietinum* L.). Kikerter er en god kilde til protein (13 – 31 %) og karbohydrater (54 – 71 %) (Xing et al., 2020). På bakgrunn av næringsinnholdet i kikerter, kan de brukes på mange alternative måter. De kan konsumeres tradisjonelt i matlaging, eller de kan bearbeides og brukes som kjøttanaloger, eller tilsettes som mel i gjærbakst (Coda et al., 2015). I dag er de mest brukte planteproteinene til mat; soya, hvete, ris og solsikke (Nehete et al., 2013). I dagligvarebutikker finnes mange nye produkter som er basert på importerte erter, bønner eller soya. Forbrukere ønsker lokale matvarer og norskproduserte råvarer (Abrahamsen et al., 2017), og det er derfor ønskelig å finne nye proteinkilder. I prosjektet FoodProFuture er målet å utvikle kunnskap om produksjon og utnyttelse av proteinrike belgvekster, som er tilpasset norske forhold (Abrahamsen et al., 2017).

FoodProFuture har utført ulike sortsforsøk, hvor det blant annet har blitt dyrket erter og åkerbønner over to sesonger, i 2017 og 2018. Denne oppgaven er basert på prøver av åkerbønner fra de to sortsforsøkene.

1.2.1 Åkerbønner

Åkerbønner (*Vicia faba* L.) blir også omtalt som fababønner, bondebønner eller hestebønner (Tanno & Willcox, 2006). De er en ettårig belgvekst og har tradisjonelt blitt konsumert i Middelhavsområdet, Syria, Pakistan og nordøst i India (Crépon et al., 2010). Gjennom dyrking og utvalg av de beste plantene, har åkerbønner blitt tilpasset ulike klimasoner, og i dag dyrkes de årlig i Europa, Afrika og Asia (Heusala et al., 2020). Åkerbønner dyrkes i nesten 70 land og det produseres omtrent 4 millioner tonn hvert år (Warsame et al., 2018). Figur 1 viser en oversikt over hvilke land som produserer mest åkerbønner på verdensbasis. De største produsentene er Kina (33 %), Etiopia (18 %), Storbritannia (14 %), Australia (9 %), Frankrike (4 %), Tyskland (3 %), Sudan (3 %) og Egypt (2 %) (Warsame et al., 2018). Grunnen til at bønnene kan dyrkes over hele verden, er at de er tilpasningsdyktige og er passende for varierende bruk og handel over hele verden (Warsame et al., 2018).



Figur 1 Kart over de største produsentene av åkerbønner på verdensbasis. Kart er modifisert fra Kartdata © 2020 Google. Data om produsentene er hentet fra (Warsame et al., 2018).

Åkerbønner har blitt dyrket i Norge i mange år, og det meste som produseres blir brukt som kraftfôr (Abrahamsen et al., 2017). I Norge har det vært en årlig produksjon av åkerbønner på rundt 10 000 dekar (Øverland & Viken, 2020a). Åkerbønner er en god kilde til protein og stivelse, i tillegg til en rekke andre næringsstoffer, eksempelvis fiber, vitaminer og mineraler (Coda et al., 2015). Det er mange faktorer som påvirker næringsinnholdet i åkerbønner, de viktigste faktorene er plantenes genetikk (sort), dyrkingsbetingelser og klima. Frøstørrelse og jevnhet i frøstørrelse er også av betydning når det kommer til næringsinnholdet i åkerbønner (Abrahamsen et al., 2017). Figur 2 viser et bilde av åkerbønner (*Vicia faba* L. var. *Vertigo*).



Figur 2 Åkerbønner (*Vicia faba* L. var. *Vertigo*). Fotograf: Ingeborg Lea Ertesvåg.

De viktigste næringsstoffene i åkerbønner er stivelse og protein, som blir syntetisert under frøenes utvikling og blir akkumulert i ulike strukturer. Stivelse akkumuleres i stivelseskorn, som i åkerbønner har en størrelse på mellom 20 og 30 μm (Bramsnaes & Olsen, 1979); (Schutyser & van der Goot, 2011). Protein finnes i proteinpartikler (på engelsk «proteinbodies»), som er isolerte strukturer med rent protein. Størrelsen på proteinpartikler i åkerbønner, er mellom 1 og 5 μm (Pernollet, 1978).

Avhengig av sort, inneholder åkerbønner 20 – 41 % protein (Vidal-Valverde et al., 1998). De inneholder i hovedsak to typer protein, globuliner (78 %) og albuminer 22 (%) (Multari et al., 2015). Albuminer er vannløselige protein som er rike på svovel og lysin (Bessada et al., 2019). Globuliner består av to typer protein med høy molekylær vekt; legumin og vicilin (Multari et al., 2015). De to proteinene har omtrent lik aminosyresammensetning, som er rik på glutaminsyre og asparaginsyre, og har et lavt innhold av cystein, metionin og tryptofan (Multari et al., 2015). Åkerbønner inneholder 51,0 – 68,0 % karbohydrater. Dette inkluderer stivelse (41,0 – 53,0 %), fiber og løselige sukker (Vidal-Valverde et al., 1998). Noen av de løselige sukkerne som er å finne i åkerbønner er sukrose, raffinose, stachyose og verbascose (Landry et al., 2016). De tre sistnevnte sukkerne; raffinose, stachyose og verbascose er en del av FODMAP gruppen, og nærmere blir de kategorisert som α – galaktosider, som er definert som antinæringsstoffer.

Åkerbønner inneholder ulike typer antinæringsstoffer som protease inhibitorer, α – galaktosider, lectin, fytinsyre, vicine og convicine (Helsper et al., 1993). Vicine og convicine er glykosider av pyrimidin som er med på å bekjempe patogener som angriper plantene (Griffiths & Ramsay, 1996). I tillegg til de nevnte antinæringsstoffene, inneholder åkerbønner tanniner (Helsper et al., 1993). Tanniner er antinæringsstoffer som reduserer fordøyelsen av protein i åkerbønner (Vilariño et al., 2009), og er koblet til fargen på blomsten.

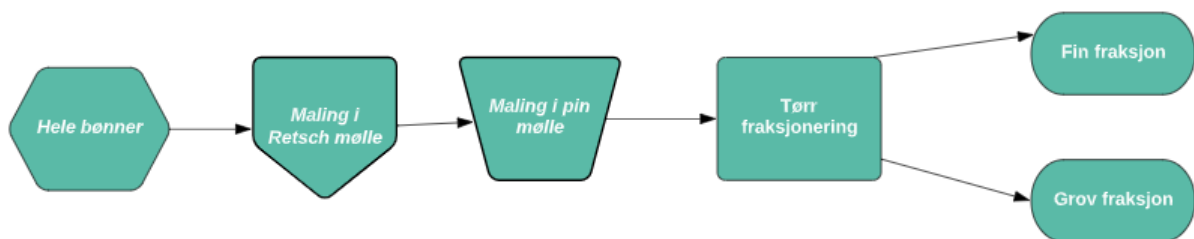
Belgvekster rike på oligosakkarider, og blir derfor beregnet som en del av FODMAP gruppen (Gibson & Shepherd, 2010). FODMAP er et samlebegrep for fermenterbare Oligosakkarider, Disakkarider, Monosakkarider og Polyoler. Felles for FODMAP karbohydratene er at de ikke blir brutt ned og absorbert i tynntarmen (duodenum, jejunum og ileum), på grunn av mangel på enzymer som kan bryte ned forbindelsene (Guillon & Champ, 2002). De går derfor videre til tykktarmen (colon) og fermenteres der. For enkelte mennesker kan dette føre til ulike symptomer som eksempelvis oppblåsthet, forstoppelse og magesmerter (Czuber-Dochan et al., 2020). Belgvekter inneholder ulike typer oligosakkarider og det er flere grunner til at oligosakkarider er uønsket, blant annet at deres tilstedeværelse kan begrense opptak av protein og karbohydrater i kroppen (Wang et al., 2008).

Åkerbønneplantene er utsatt for ulike typer sykdommer. De sykdommene som har størst negativt utfall på bønnenes kvalitet er sjokoladeflekk (*Botrytis fabae*) og bønnebladflekk (*Ascochyta fabae*). De to sykdommene angriper både blader og stengler. Skimmel (*Peronospora viciae*) kan også forekomme i fuktige år (Øverland & Viken, 2020).

1.3 TØRRFRAKSJONERINGSPROSESSEN

Åkerbønner kan brukes som tradisjonelle bønner, eller de kan bearbeides og brukes som en ingrediens. En av måtene åkerbønner kan bearbeides på, er ved bruk av tørrfraksjonering. Tørrfraksjonering er energieffektivt og kan bidra med mer bærekraftige alternativer for å prosessere protein berikede fraksjoner med ønskede funksjonaliteter (Schutyser et al., 2015). Tørrfraksjonering er en luftsorteringsprosess som kan separere bønnemel i en proteinrik og en stivelsesrik fraksjon. Fraksjonen som er rik på protein kalles fin fraksjon (FF), og fraksjonen som er rik på stivelse kalles grov fraksjon (GF). FF har et høyt proteininnhold, og kan brukes som en ingrediens i eksempel gjærbakst, müslibarer og snacks.

Ved maling av hele åkerbønner, knuses bønnene til melpartikler. Åkerbønnemel består av partikler med ulik størrelse og tetthet som eksempelvis stivelseskorn og proteinpartikler (Schutyser et al., 2015), og de ulike komponentene kan separeres fra hverandre ved luftsortering. Ved finmaling av melet, vil partiklene inneholde intakte stivelseskorn som ender i GF og mindre partikler som er oppstått fra proteinpartikler. Stivelseskorn og proteinpartikler har ulik form, størrelse, tetthet og vekt. Disse forskjellene gjør at proteinpartikler kan separeres fra stivelseskornene, da proteinpartiklene er mindre og har en annen tetthet enn stivelseskornene. Figur 3 viser et flytskjema over fremstillingen fra hele åkerbønner til FF og GF.



Figur 3 Flytskjema over prosessen fra hele åkerbønner til fremstilling av fin fraksjon (FF) og grov fraksjon (GF) ved bruk av tørrfraksjonering.

1.3.1 Maling

For å kunne tørrfraksjonere åkerbønner, må de hele åkerbønnene først males i en mølle. En mølle kan mekanisk male hele bønner til mel. For at partiklene i åkerbønnemelet skal bli små nok til å kunne tørrfraksjoneres, må melet gjennom to ulike typer møller. Først må åkerbønnene grovmales ved bruk av en hammermølle, deretter kan melet finmales gjennom en pin-mølle. En hammermølle knuser hele åkerbønner om til mel, og et bilde av en hammermølle er vist i Figur 4A. En pin-mølle har to disker med pinner plassert mot hverandre, og et bilde av en pin-mølle er vist i Figur 4B. Melet blir tilsatt i materen og vil bevege seg gjennom diskene, samtidig som en av diskene roterer ved høy hastighet, den andre disken (i døren) står stille. Partiklene blir slått inn i en hard overflate og delt opp i flere mindre partikler. Etter at melet har blitt sendt gjennom pin-møllen, har omtrent 90 % av åkerbønnemelet en partikkelstørrelse på $<100 \mu\text{m}$ i diameter (Gunawardena et al., 2010). Dette gjør det mulig å separere proteinpartiklene og stivlese Kornene fra hverandre ved tørrfraksjonering. Åkerbønnemelet blir heretter referert til som råmateriale.



Figur 4 Til venstre er et bilde av en hammermølle av type Retsch (A). Til høyre er et bilde av en pin-mølle (B). Bildet viser disken som roterer i maskinene, den andre disken som er i døren er ikke vist. Begge bildene er tatt ved Nofima, Ås. Fotograf: Ingeborg Lea Ertesvåg

1.3.2 Tørrfraksjonering

Tørrfraksjonering er en prosess som benyttes for å fremstille FF og GF. Prosedyren går ut på å separere partikler basert på størrelse, tetthet, eller begge via luftstrømmen i apparatet (Schutyser et al., 2015). Hovedprinsippet i denne prosedyren er at de små proteinrike fragmentene separeres fra de større og tyngre stivelse- og fiberrike fragmentene (Schutyser et al., 2015). Råmateriale blir tilsatt i materen, samtidig som en mengde luft strømmer gjennom systemet. Luften kommer nedenfra og beveger seg opp gjennom systemet.

Etter at råmateriale går gjennom materen, går det videre inn i en «conical vessel» med et roterende klassifiseringshjul med blader på toppen. Det roterende klassifiseringshjulet kan ha ulike hastigheter, alt etter innstillingene på maskinen. Heretter blir rotasjonshastigheten på klassifiseringshjulet referert til som rpm. Bladene skaper en sentrifugal, motstrøm separerings sone. Her vil de store og små partiklene separeres fra hverandre, både størrelse og tettheten på partiklene, vil ha innvirkning på separeringen. Trekkraften som blir skapt av luftgjennomstrømningen og sentrifugalkraften som blir skapt av klassifiseringshjulet, bestemmer størrelsen på partiklene som ender opp i FF (Schutyser et al., 2015). Partikler som klarer å passere trekkraften og sentrifugalkraften kan passere forbi åpningen i hjulet og ender opp i FF. Partiklene som er for store, går videre ut gjennom bunnen og ender i GF (Pelgrom et al., 2013).

Størrelsen på partiklene som kan passere åpningen synker med økende fraksjoneringshastighet (Pelgrom et al., 2013). Ved å endre innstillingene på maskinen, blir det avgjort hvor mange partikler som ender opp i FF og GF. Ved økende fraksjoneringshastighet ender færre partikler i FF, og flere partikler i GF. Dersom det er ønskelig å lage en FF med høyt innhold av protein, må fraksjoneringen foregå med en høy hastighet, eksempelvis 15 000 rpm. Dette vil gå på bekostning av antall partikler som ender i FF, og en må lage et kompromiss mellom proteininnhold og mengde FF. En tidligere studie har vist at ved høy hastighet (15 000 rpm) er mengdeutbytte i FF på 24,9 % og i GF på 73,2 % (Saldanha do Carmo et al., 2020).

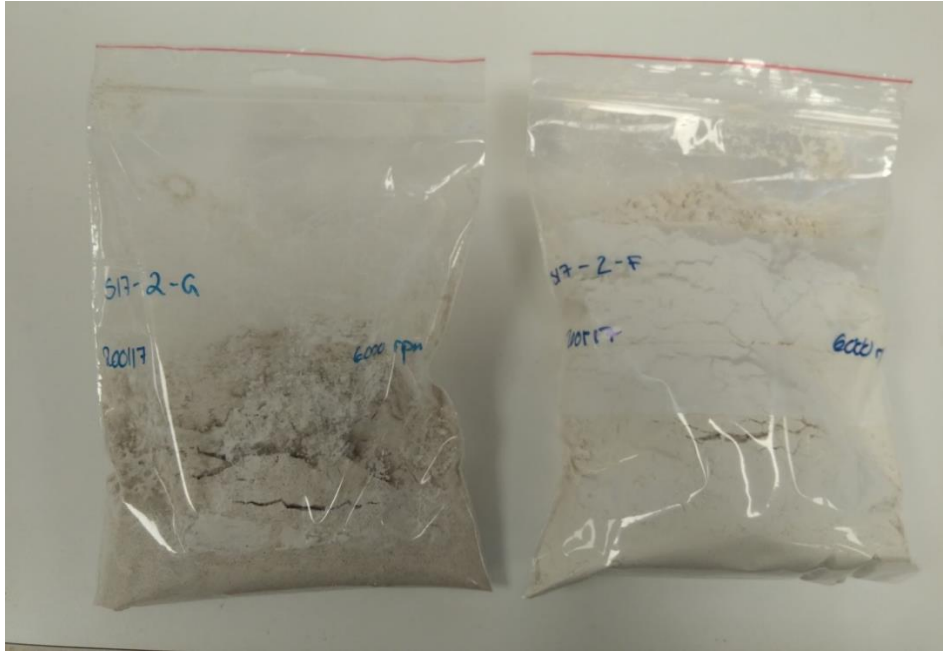
Det er mange faktorer som avgjør resultatene for fraksjonering. Proteininnholdet i FF er avhengig av proteininnholdet i råmateriale, fordeling av melet og «cut point» (Dijkink et al., 2007). «Cut point» er den innstillingen hvor det er 50 % sjans for at partiklene ender i FF eller GF (Dijkink et al., 2007). Etter at melet er separert i FF og GF, kan er rekke egenskaper måles. Figur 5 viser et bilde av tørrfraksjoneringsmaskinen på Nofima.



Figur 5 Tørrfraksjoneringsmaskinen benyttet i dette forsøket. Tallet 1 viser hvor råmateriale blir tilsatt i starten av prosessen (materen). Tallet 2 viser hvor GF blir samlet opp. Tallet 3 viser hvor FF blir samlet opp. Bildet er tatt på Nofima, Ås. Fotograf: Ingeborg Lea Ertesvåg.

Etter at fraksjoneringen er utført, er det nødvendig å analysere FF og GF, for å kunne karakterisere likheter og ulikheter mellom fraksjonene. Dette gjøres for å bekrefte om fraksjoneringen har vært vellykket, og om betingelsene har vært optimale. I dette forsøket, er hovedfokus på proteininnholdet i fraksjonene. Proteininnholdet er nødvendig å måle, da det er viktig å se på hvordan det endrer seg fra råmateriale og til FF og GF. Dette skal gjøres, for å se om teorien stemmer, at ved økende fraksjoneringshastighet øker proteininnholdet i FF, og andelen stivelse synker.

I tillegg til å måle proteininnholdet, er det nødvendig å se på mengdeutbytte til FF. Mengdeutbytte er andelen FF og GF av totalt utbytte. Det er forventet at mengdeutbytte til FF synker med økende hastighet, da færre partikler vil kunne komme over i FF, og flere partikler vil ende opp i GF. Figur 6 viser et bilde av de ferdige produktene etter fraksjonering av sorten Sampo (2017, tørrfraksjoneringshastighet 4 000 rpm).



Figur 6 Ferdig produkt etter tørrfraksjonering av Sampo 2017, fraksjonert ved 6 000 rpm. Til venstre er GF og til høyre er FF. Fotograf: Ingeborg Lea Ertesvåg.

1.3.3 Melets vanninnhold

Vanninnholdet i råmateriale og fraksjonene er nødvendig å måle for å kunne beregne riktig tørrstoffinnhold i de påfølgende analysene. Vanninnholdet i råmateriale er en svært viktig faktor for å kunne utføre en vellykket fraksjonering. For høyt vanninnhold i råmateriale vil føre til tetting i maskinen, og vanskeligheter med å separere de ulike partiklene i melet fra hverandre. I en tidligere studie av tørrfraksjonering av åkerbønner målte Coda et al., (2015) et vanninnhold i åkerbønnemel på 9,5 %, og FF og GF hadde henholdsvis 7,7 % og 8,5 %. Tilsvarende verdier ble rapportert av Gunawardena (2010) hvor FF og GF av åkerbønnemel hadde et vanninnhold på henholdsvis 6,4 % og 7,5 %.

1.3.4 Proteininnhold

Mengde protein kan bestemmes indirekte via nitrogeninnholdet som kvantifiseres med en forbrenningsanalyse. Metoden går ut på å omdanne all nitrogen i prøven om til nitrogenoksider og videre reduksjon til Nitrogen (N_2). Dette blir gjort gjennom en forbrenning på høye temperaturer (800 – 1 000°C), reduksjon av disse til nitrogengass (N_2), og deretter en kvantifisering ved bruk av en termisk konduktivitetsdetektor (Jung et al., 2003). Målingen blir utført med en egnet standard med kjent N-innhold (Dugstad, 2010). Denne teknikken betegnes ofte som Dumas metode og er et alternativ til en annen mye benyttet våtkjemisk metode som betegnes som Kjeldahl.

Å måle proteininnholdet i FF og GF er viktig for å kunne optimalisere fraksjoneringen. Ved å endre fraksjoneringsbetingelsene til høyere rpm, kan proteininnholdet i FF øke. Selv om proteininnholdet økes, medfører dette normalt et lavere mengdeutbytte. I tidligere fraksjoneringsstudier av åkerbønner, har det blitt rapportert om FF med proteininnhold mellom 51,5 % og 69,9 % (Coda et al., 2015); (Saldanha do Carmo et al., 2020); (Sosulski & Youngs, 1979); (Gunawardena et al., 2010); (Schutyser et al., 2015).

1.4 FUNKSJONELLE EGENSKAPER

1.4.1 Vannbindingsevne

Vannbindingsevne (VBE) defineres som den mengden vann som kan absorberes pr gram tørrstoff (Boye et al., 2010). Vannbinding er avhengig av strukturen til de ulike komponentene i melet. Etter fraksjonering har FF et høyt innhold av protein, og GF et høyt innhold av stivelse og fiber. For at vann skal kunne binde seg til melet, er det avhengig av tilgjengeligheten av polare grupper (Osen et al., 2014). VBE er derfor avhengig av aminosyresammensetning, proteinstruktur og hvordan de hydrofobe og hydrofile molekylene er plassert (Suresh Kumar et al., 2014).

VBE er derfor trolig større for råmateriale sammenlignet med FF. Dette kommer av at råmateriale inneholder mer fiber enn FF, og fiber har en større evne til å binde seg til vann, sammenlignet med protein. VBE til råmateriale og FF er viktig å måle for å kunne forutsi funksjonelle egenskaper ved den etterfølgende prosesseringen, eller ved bruk som ingredienser i ulike resepter. VBE har blitt målt i fraksjoneringsforsøk med åkerbønner tidligere, hvor VBE varierer, men generelt er VBE lavere for FF sammenlignet med råmateriale (Sosulski & Youngs, 1979).

1.4.2 Oljebindingsevne

Oljebindingsevne (OBE) blir beregnet som den mengden olje som kan absorberes pr gram tørrstoff (Boye et al., 2010). Olje er hydrofob, og for at oljen skal kunne binde seg godt til melet, er den avhengig av en rekke hydrofobe molekyler. I likhet med VBE, er OBE til melet avhengig av aminosyresammensetning, konformasjonen til proteinene og hvordan de hydrofobe og hydrofile molekylene er plassert (Suresh Kumar et al., 2014). Tidligere forsøk har vist at OBE er høyere for FF enn for GF (Sosulski & Youngs, 1979); (Saldanha do Carmo et al., 2020). Dette kan forklares ved at proteinene i FF, globuliner er naturlig hydrofobe (Kiosseoglou & Paraskevopoulou, 2011).

1.5 LAVMOLEKYLÆRE KARBOHYDRATER

Ved bruk av HPLC-systemer og detektorer, kan sammensetningen av lavmolekylære karbohydrater i biologisk materiale analyseres. Metodene krever at materiale analyseres i løsning etter en ekstraksjon i vann eller alkoholblandinger. HPLC med et detektorsystem spesielt for karbohydrater er mye brukt for å analysere innhold av mono- di og oligosakkarider. Metoden er basert på ionebytterprinsipp hvor karbohydratene i en sterk luteluent (pH 14) får avprotonert OH gruppen (Basumallick & Rohrer, 2020). Dette gjør at de blir negativt ladet og interagerer med kolonnemateriale. Detektoren er gullelektrode som regenereres med elektriske impulser (Basumallick & Rohrer, 2020). Normalt betegnes systemet som HPAE-PAD (High Performance Anion Exchange Chromotography with Pulsed Ampoerometric Detection).

Metoden analyserer innholdet av lavmolekylære karbohydrater (LMV-Karb); glukose, fruktose, sukrose, raffinose, stachyose og verbasose i en prøve. De viktigste resultatene i denne analysen, er finne ut andelen av de oligosakkaridene som i ulike sammenhenger regnes som antinæringsstoffene α – galaktosider, som omfatter raffinose, stachyose og verbasose.

Tabell 1 viser resultat for tidligere LMV-Karb analyser av åkerbønnemel og FF. Tabellen viser noe variasjon i innhold, og at verbasose er det mest dominerende oligosakkaridet i åkerbønner. Innholdet av α – galaktosider (raffinose, stachyose og verbasose) synes å øke i FF, hvor særlig verbasose øker fra åkerbønnemel til FF (Bhatty & Christison, 1984); (Coda et al., 2015).

Tabell 1 Studier gjort på LMV-Karb for åkerbønner og FF. Tabellen presenterer kilde, materiale, innhold (%) av følgende; raffinose, stachyose, verbasose, α – galaktosider og totalt innhold LMV-Karb. Alle resultat er presentert på tørrstoffbasis.

Kilde	Materiale	Raffinose (%)	Stachyose (%)	Verbasose (%)	α – galaktosider (%)	LMV-Karb (%)*
(Rupérez, 1998)	Åkerbønner	-	0	3,32	-	8,92
(Bhatty & Christison, 1984)	Åkerbønner	0,31	0,92	1,80	3,03	5,18
(Bhatty & Christison, 1984)	FF	0,40	1,49	3,17	5,06	7,12
(Landry et al., 2016)	Åkerbønner	0,45	1,87	2,40	4,72	-
(Vidal-Valverde et al., 1998)	Åkerbønner	0,28	1,10	2,29	3,67	-

*LMV-Karb = glukose, fruktose, sukrose, raffinose, stachyose og verbasose bestemt ved enzymatisk kit.

1.6 RESULTAT FRA TIDLIGERE TØRRFRAKSJONERINGSFORSØK

Tørrfraksjonering av åkerbønner har blitt utført tidligere, og i Tabell 2 er noen utvalgte studier presentert. Tabellen viser innhold av protein og stivelse i råmateriale, FF og GF. Proteininnholdet i råmateriale varierer mellom 29,8 % og 35,7 %, og innholdet av stivelse varierer mellom 38,2 % og 47,2 %. Proteininnholdet i FF varierer fra 50 % til 66 %. Tabellen viser at proteininnholdet øker fra råmateriale til FF, og at proteininnholdet synker fra råmateriale til GF.

Tabell 2 Informasjon om ulike forsøk utført på åkerbønner. De ulike kolonnene viser kilde, måling (protein eller stivelse), sort og rpm, råmateriale (%), FF (%) og GF (%). Alle resultatene er presentert på tørrstoffbasis.

Kilde	Måling	Sort og rpm	Råmateriale (%)	FF (%)	GF (%)
(Coda et al., 2015)	Protein	Kontu 15 000 rpm	35,7 ± 0,4	51,5 ± 0,2	16,7 ± 0,0
(Coda et al., 2015)	Stivelse	Kontu 15000 rpm	42,2 ± 0,8	23,4 ± 0,2	65,8 ± 0,5
(Saldanha do Carmo et al., 2020)	Protein	Kontu 15 000 rpm*	31,1 ± 0,4	60,0 ± 1,7	21,5 ± 0,8
(Saldanha do Carmo et al., 2020)	Stivelse	Kontu 15 000 rpm*	38,2 ± 0,9	7,9 ± 0,5	50,9 ± 2,0
(Sosulski & Youngs, 1979)	Protein	Åkerbønner	29,8	66,6	14,4
(Sosulski & Youngs, 1979)	Stivelse	Åkerbønner	42,4	1,4	57,5
(Gunawardena et al., 2010)	Protein	Snowbird 11 000 rpm	-	57,9	16,6
(Gunawardena et al., 2010)	Stivelse	Snowbird 11 000 rpm	-	1,3	46,1
(Vidal-Valverde et al., 1998)	Stivelse	Åkerbønner	47,2 ± 1,2	-	-

*Kontu er fra FoodProFuture. Åkerbønnene er derfor de samme som brukes i dette forsøket.

1.7 HENSIKTEN MED OPPGAVEN

I prosjektet FoodProFuture har ulike sorter av åkerbønner blitt prøvd ut for dyrking i Norge. Hensikten med denne oppgaven er å teste om fire sorter åkerbønner er egnet for tørrfraksjonering, og undersøke effektene av ulike tørrfraksjoneringshastigheter på fraksjonenes proteininnhold, mengdeutbytte og funksjonelle egenskaper. Hensikten er også å analysere hvordan oligosakkaridene raffinose, stachyose og verbascose, som en del av FODMAP, varierer i råmaterialene og utvalgte fraksjoner etter tørrfraksjonering. Det er nødvendig å teste de nevnte egenskapene, da åkerbønnemel og proteinrike fraksjoner fremstilt ved tørrfraksjonering kan brukes som en ingrediens i norske matprodukter.

2 MATERIALER OG METODER

2.1 MATERIALER

Åkerbønner (*Vicia faba* L. var. Vertigo, Sampo og Kontu) ble dyrket og høstet på Vollebekk, Forsøksgård, NMBU, Ås, Norge i 2017 og 2018; Åkerbønner (*Vicia faba* L. var. Tiffany) ble dyrket og høstet for norsk institutt for bioøkonomi (NIBIO), Halden, Viken, Norge i 2019; Vann fra MilliQ (Millipore) vannrensesystem; Solsikkeolje (Produsert i EU for Rema 1000); Sulfanilamid; Melibiose standard (1mg/ml); RAFFINOSE/SUCROSE/-D-GLUCOSE – KIT ble brukt som en positiv kontroll for å kontrollere ekstraksjonen og HPLC systemet (Megazyme, LOT 51101a. Glc = 0.39, Sucr = 16.9, RSO = 9.5); dH₂O

2.1.1 Dyrking

Åkerbønnene ble dyrket i feltforsøk i sesongene 2017 og 2018. Feltplanen var blokkforsøk med tre gjentak. Dyrking betingelser: såmengde: 45 frø m², åkerbønnene ble sådd på ugjødslet jord, ble ikke gjødslet og ikke smittet med Rhizobium. Åkerbønnene ble sprøytet mot sopp i 2017, men ikke sprøytet i 2018 da dette var en tørkesommer. Feltet ble vannet jevnlig og åkerbønnene ble høstet med skurtresker. Sommeren 2017 var varm og høsten var fuktig, med mye regn og sommeren 2018 var en tørkesommer. Sortene Sampo og Kontu ble høstet samtidig, og Vertigo ble høstet noen uker senere.

Sortene Vertigo, Sampo, Tiffany og Kontu ble valgt ut til å bli med i forsøket, da de hadde ønskede egenskaper. Vertigo og Sampo ble med fra både 2017 og 2018, for å kunne se på forskjeller mellom sesonger. Tiffany ble valgt ut fordi den er kjent for å ha et lavt innhold av vicin og convicin og Kontu har blitt prøvd ut tidligere, og det var ønskelig å prøve den igjen.

Tabell 3 viser en oversikt over de fire sortene åkerbønner som ble valgt ut til dette forsøket. Tabellen oppgir informasjon om hvor sortene kommer fra, dyrkingsbetingelser, og noen kjemiske og fysiske egenskaper. Proteininnholdet vist i tabellen ble målt av FoodProFuture i 2017 og 2018. Proteininnholdet viste noen variasjoner mellom sortene og sesongene. Det var også tydelig forskjeller i frøstørrelse mellom de ulike sortene.

Tabell 3 Informasjon om de fire ulike sortene åkerbønner valgt ut i dette forsøket. Tabellen oppgir navnet på sortene, opprinnelse, sådato, høstedata, 1000-kornvekt, proteininnhold (%) målt av FoodProFuture i 2017 og/eller 2018, vanninnhold ved innhøsting, Farge på blomster, om sortene er tidlig eller sen og litt diverse egenskaper ved de ulike sortene.

Åkerbønner	Vertigo 2017	Vertigo 2018	Sampo 2017	Sampo 2018	Tiffany	Kontu
Opprinnelse	Tyskland	Tyskland	Finland	Finland	Canada	Finland
Sådato	09.05.2017	23.05.2018	09.05.2017	23.05.2018	12.04.19	09.05.2017
Høstedata	09.10.2017	28.08.2018	24.09.2017	13.08.2018	17.09.19	24.09.2017
1000-korn- vekt	606,0	290,1	294	570,3	502,0	357,0
Protein- innhold (%)	28,2	35,3	26,1	37,0	-	27
Vann (%) innhøsting	40,9	-	26,5	-	-	25,3
Plantehøyde (cm)	99,0	-	68,0	-	121,0	72,0
Blomstrer	Farget	Farget	Farget	Farget	Farget	Farget
Tidlig/sen	Sen sort	Sen sort	Tidlig sort	Tidlig sort	Sen sort	Tidlig sort
Egenskaper	Sterk mot sjokoladeflekker	Sterk mot sjokoladeflekker	Kan sammenlignes med Kontu	Kan sammenlignes med Kontu	Lavt innhold av vicin og convicin	Svak mot sjokoladeflekker

2.2 METODER

I dette forsøket ble følgende metoder utført for å bestemme ulike egenskaper til råmateriale og utvalgte fraksjoner; rensing av åkerbønnene, maling med hammermølle, maling med pin-mølle, tørrfraksjonering, vanninnhold, proteininnhold, innhold av stivelse, vannbindingsevne, oljebindingsevne, partikkelstørrelse, Rapid Visco Analyse (kun for FF av Kontu) og lavmolekylære karbohydrater.

2.2.1 Rensing

Åkerbønnene ble rensset ved bruk av Grain cleaner 5110 (Pertin instruments, Huddinge, Sweden). Til Sampo ble det brukt sold av størrelse 600, og Vertigo størrelse 800. Kontu ble rensset i 2017. Tiffany ble rensset av NIBIO. Åkerbønner som var ødelagt eller lignende ble tatt bort manuelt dersom de gikk gjennom soldet.

2.2.2 Maling med hammermølle

Åkerbønnene ble malt med hammermølle i forkant av maling med pin-mølle og tørrfraksjonering. Hammermøllen var av type Retsch ZM200 (Retsch GmbH, Haan, Tyskland). Systemet opererte med en hastighet på 14 000 rpm, med en sikt på 2x2 mm med automatisk innmating. Mølle med tilhørende sikt ble rengjort mellom hver prøve og det ble malt opp 4,0 kg mel av alle sortene.

2.2.3 Maling med pin-mølle

For å finmale melet fra hammermøllen, ble melet sendt gjennom en pin mølle. Pin-møllen var av type Hosokawa Alpine 100 UPZ pin disk mølle med operatørsystem Simens Simatic HMI (Sveits). Betingelsene var satt til en luftgjennomstrømning på 80m³/h og hastighet på 20 000 rpm (Hosokawa-Alpine, Augsburg, Tyskland). Hele prøven ble malt i pin-møllen på en gang, og maskinen ble rengjort mellom hver prøve.

2.2.4 Tørrfraksjonering

Det ble veid inn 500 g råmateriale (Vertigo 2017) i en vekt (Radwag Wagi Elektroniczne, Polen). Råmateriale ble så tørrfraksjonert i en Hosokawa-Alpine (Augsburg, Tyskland), med systemet Simens Simatic HMI (Sveits). Sorten Vertigo 2017 ble brukt som et forforsøk for å teste tørrfraksjoneringsprosessen på åkerbønner og studere effekten av økende fraksjoneringshastigheter. Det ble testet 6 hastigheter (4 000, 6 000, 8 000, 10 000, 12 500 og 15 000 rpm) med en nitrogengjennomstrømning på 65 m³/h. Systemet er basert på N₂ gass for å oppfylle HMS krav og redusere risiko for støveksplasjon. Den automatiske materen hadde en roterings hastighet på 42 rpm og det ble brukt en hammer til å banke ned mel som ikke hadde tilgang til materen.

Råmateriale ble fraksjonert til to fraksjoner, fin fraksjon (FF) og grov fraksjon (GF). Etter at tørrfraksjoneringsprosessen var gjennomført en gang, ble GF tørrfraksjonert en andre gang med de samme betingelsene for å separere proteinfraksjoner og stivelseskorn fra hverandre. Etter at tørrfraksjoneringsprosessen var utført, ble FF og GF samlet opp i to ulike beholdere for videre analyser. Det ble målt mengdeutbytte; hvor mye av det totale utbytte som kom i FF og GF. Det

ble også målt proteininnhold i alle fraksjonene for å kunne bekrefte om tørrfraksjoneringen hadde vært suksessfull.

Etter en vurdering av resultatene fra fraksjonering av Vertigo 2017 ble det valgt ut fire hastigheter for fraksjonering av de resterende råmaterialene; 4 000, 6 000, 10 000 og 15 000 rpm. Det ble brukt samme luftgjennomstrømning (65 m³/h) og roterings hastighet (42 rpm) i materen. Det ble brukt batcher på 500 g av hver prøve. Det ble registrert mekanisk tap etter fraksjonering, hvor dette er materiale som ble sittende igjen i rørsystemet og materen, og det ikke var mulig å få ut før rengjøring av maskinen. Etter at fraksjoneringen var fullført, ble mengde FF og GF registret i gram. Tap ble registret etter Formel 1. Totalt utbytte ble beregnet ved bruk av Formel 2. Mengdeutbytte ble beregnet ved bruk av Formel 3. For å beregne tap (%), ble Formel 4 benyttet.

Formel 1 Beregning at tap i prosessen.

$$\text{Tap i gram} = 500 \text{ g} - \text{FF (g)} - \text{GF (g)}$$

Formel 2 Beregning av utbytte i (%).

$$\text{Totalt utbytte (\%)} = \frac{\text{mengdeutbytte FF (g)} + \text{mengdeutbytte GF (g)}}{500} * 100$$

Formel 3 Beregning av mengdeutbytte i tørrstoff (%).

$$\text{Mengdeutbytte i tørrstoff (\%)} = \frac{\text{mengde tørrstoff i fraksjon}}{\text{vekt av råmateriale}} * 100$$

Formel 4 Beregning av tap i prosessen.

$$\text{Tap (\%)} = 100 - \text{totalt utbytte (\%)}$$

For å validere data, ble det utført teknisk gjentak for Vertigo 2018, Sampo 2017, Sampo 2018, Tiffany og Kontu ved 10 000 rpm. Denne hastigheten ble valgt på grunn av høyt proteininnhold og tilstrekkelig mengdeutbytte. Det ble ikke utført teknisk gjentak ved 10 000 rpm for Vertigo 2017, da den var fraksjonert ved to ekstra hastigheter (8 000 og 12 500 rpm) i forforsøket. Tabell 4 viser navnet til alle fraksjonene fra forforsøket og Tabell 5 viser navnet til alle

fraksjonene i hovedforsøket. For resten av oppgaven vil resultatene fra forforsøket være plassert sammen med hovedforsøket, ved unntak av presentasjon av resultat fra forforsøket. Fraksjonene vil bli referert til etter navnet på sorten, hastighet de var behandlet med og om det er FF eller GF.

Tabell 4 Navn til de fine og grove fraksjonene i forforsøket.

Navn på fraksjoner	4 000 rpm	6 000 rpm	8 000 rpm	10 000 rpm	12 500 rpm	15 000 rpm
Vertigo 2017 GF	V17 – 1 – G	V17 – 2 – G	V17 – 3 – G	V17 – 4 – G	V17 – 5 – G	V17 – 6 – G
Vertigo 2017 FF	V17 – 1 – F	V17 – 2 – F	V17 – 3 – F	V17 – 4 – F	V17 – 5 – F	V17 – 5 – F

Tabell 5 Navn på alle fraksjoner for hovedforsøket; Vertigo 2018, Sampo 2017, Sampo 2018, Tiffany og Kontu.

Navn på fraksjoner	4 000 rpm	6 000 rpm	10 000 rpm	10 000 rpm	15 000 rpm
Vertigo 2018 GF	V18 – 1 – G	V18 – 2 – G	V18 – 3A – G	V18 – 3B – G	V18 – 4 – G
Vertigo 2018 FF	V18 – 1 – F	V18 – 2 – F	V18 – 3A – F	V18 – 3B – F	V18 – 4 – F
Sampo 2017 GF	S17 – 1 – G	S17 – 2 – G	S17 – 3A – G	S17 – 3B – G	S17 – 4 – G
Sampo 2017 FF	S17 – 1 – F	S17 – 2 – F	S17 – 3A – F	S17 – 3B – F	S17 – 4 – F
Sampo 2018 GF	S18 – 1 – G	S18 – 2 – G	S18 – 3A – G	S18 – 3B – G	S18 – 4 – G
Sampo 2018 FF	S18 – 1 – F	S18 – 2 – F	S18 – 3A – F	S18 – 3B – F	S18 – 4 – F
Tiffany GF	T – 1 – G	T – 2 – G	T – 3A – G	T – 3B – G	T – 4 – G
Tiffany FF	T – 1 – F	T – 2 – F	T – 3A – F	T – 3B – F	T – 4 – F
Kontu GF	K – 1 – G	K – 2 – G	K – 3A – G	K – 3B – G	K – 4 – G
Kontu FF	K – 1 – F	K – 2 – F	K – 3A – F	K – 3B – F	K – 4 – F

2.2.5 Vanninnhold i fraksjonene

For å beregne mengde tørrstoff i fraksjonene, ble det målt vanninnhold i prøvene (Sartorius Thermo Control, GMBH Göttingen, Tyskland). 1 g prøve ble målt opp og vanninnhold (%) i fraksjonene ble bestemt. Mengde tørrstoff i prøvene bestemt, ved bruk av Formel 5.

Formel 5 Beregning av tørrstoff i en prøve.

$$\text{Tørrstoff i prøve} = \text{vekt fraksjon} * \frac{100 - \text{vanninnhold (\%)}}{100}$$

2.2.6 Proteininnhold

Nitrogeninnholdet i råmateriale og alle fraksjonene ble målt ved bruk av Dumas Metode Elementar CHNS – DUMAS/total-nitrogen (Elementar. Model vario EL cube, Tyskland). 5 mg prøve ble veid inn i tinnbåter (4 x 4 x 11 mm, tynn, Elementar Analysesystem GmbH, Tyskland) ved bruk av vekten Mettler MT5 (Bergman, Greifensee, Sveits). Alle målinger ble utført i duplikater. Prøvene ble så analysert og mengde protein i prøvene ble beregnet ved en omregningsfaktor (N x 6,25). Sulfanilamid ble brukt som standard. Proteininnhold i tørrstoff (%) ble beregnet ved bruk av Formel 6. For å beregne totalt proteinmengde (g) i en prøve ble Formel 7 benyttet. Beregning av proteinutbytte (%) er vist i Formel 8.

Formel 6 Proteininnhold (%) i fraksjon i tørrstoff.

$$\text{Proteininnhold (\%)} \text{ i fraksjon i tørrstoff} = \frac{\text{protein (\%)}}{100 - \text{vanninnhold (\%)}} * 100$$

Formel 7 Total proteinmengde i en fraksjon (g).

$$\text{Totalt proteinmengde (g)} = \frac{\text{proteininnhold (\%)} * \text{fraksjon (g)} * \text{tørrstoff i fraksjon}}{100}$$

Formel 8 Beregning av proteinutbytte i %.

$$\text{Proteinutbytte (\%)} = \frac{\text{total proteinmengde (g)}}{\text{Proteininnhold i råmateriale (batch) i tørrstoff}} * 100$$

2.2.7 Stivelse

Stivelse analyser ble utført av LabTek (NMBU, Ås, Norge) ifølge metoden Total Starch Assay Procedure (Megazyme Amyloglucosidase/ α -Amylase Method) (AACC, 1995). Det ble målt innhold av stivelse de seks råmaterialene og FF fraksjonert ved 10 000 rpm.

2.2.8 Partikkelstørrelse

Partikkelstørrelse ble bestemt ved laser, ved bruk av en HELOS/KR tilkoblet en RODOS (SYMPATIC GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Tyskland). Det ble målt partikkelstørrelse til FF fraksjonert ved 10 000 rpm for alle sortene. Alle sortene ble målt i triplikater.

2.2.9 Vannbindingsevne

VBE til fraksjonene ble analysert i henhold til AACC metode 56-20.01 (AACC, 1968) med noen modifikasjoner. Analysen ble utført i triplikater, og det ble beregnet mengde vann absorbert pr gram tørrstoff. Det ble målt VBE i alle FF ved 10 000 rpm. I tillegg ble det analysert VBE i Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu fraksjonert ved 15000 rpm, siden disse fraksjonene hadde særlig høyt proteininnhold.

5,0 g av prøvemateriale ble veid inn i et 50 mL rør og tilsatt 25 mL dH₂O. For å fordele vannet inn i melet ble prøven ristet for hånd og vortexet i 10 sekunder (Vortex Genie 2, Scientific Industry INC, USA). Prøven ble stående vertikalt i 10 min, før den ble vortexet enda en gang i 10 sekunder. Prøven ble stående i 10 min til på benken før den ble sentrifugert i 15 min (romtemperatur og 2 000 g) (Multifuge 4 KR, Tyskland). Etter sentrifugeringen ble vannet dekantert ut og tuben snudd 180 grader. Tuben ble stående i 30 min opp ned. Lokket ble skrudd av og vannet nederst i tuben tørket bort med et papir. Røret ble så veid på nytt og VBE (%) ble beregnet ved bruk av Formel 9. På bakgrunn av variable resultat, ble VBE analysene utført enda en gang, hvor også VBE til råmaterialene ble analysert. Målingene fra det andre forsøket er de gjeldende resultatene i denne oppgaven.

Formel 9 Beregning av VBE.

$$VBE (\%) = \frac{\text{vanninnhold i prøven} (\%)}{\text{tørrvekt} (\%)}$$

2.2.10 Oljebindingsevne

OBE til fraksjonene ble bestemt i henhold til Nidhina og Muthukumar (2015), med noen modifikasjoner. Analysen ble utført i triplikater. Det ble beregnet mengde olje absorbert pr gram tørrstoff. OBE ble målt i alle FF ved 10 000 rpm. I tillegg ble det målt OBE for Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu fraksjonert ved 15 000 rpm, da disse fraksjonene hadde særlig høyt proteininnhold.

1,0 g av prøvemateriale ble veiet inn i et 50 mL rør og 10 mL solsikkeolje ble tilsatt. For å fordele oljen inn i melet ble prøven ristet og vortexet i 10 sekunder (Vortex Genie 2, Scientific Industry INC, USA). Prøven ble stående vertikalt i 10 min, før den ble vortexet 10 nye sekunder. Prøven ble stående i 10 min og ble deretter sentrifugert i 15 min (romtemperatur, 2 000 g) (Multifuge 4 KR, Tyskland). Etter sentrifugeringen ble oljen dekantert ut og tuben snudd 180

grader. Tuben ble stående 30 min. Lokket ble fjernet og oljen nederst i røret ble tørket bort. Tuben ble veiet på nytt og OBE ble beregnet etter Formel 10.

Formel 10 Beregning av OBE.

$$OBE (\%) = \frac{\text{oljeinnhold i prøven} (\%)}{\text{tørrvekt} (\%)}$$

2.2.11 Varmebehandling av Kontu (FF) ved bruk av Rapid Visco Analyse (RVA)

FF av Kontu 10 000 rpm ble varmebehandlet under kontrollerte forhold i en Rapid Visco Analyse (RVA-4, NEWPORT SCIENTIFIC, Australia), ifølge metoden AACC 76-21 STD 1 (AACC, 2009). Dette er en enkel varmebehandling som rører prøven til en grøt hvor stivelsen blir svellet og gelanisert. 4,0 g av Kontu ble veiet inn, tilsatt 25 mL dH₂O og rørt sammen. Prøven ble så varmebehandlet ved ulike temperaturer og hastigheter (Tabell 6). RVA - behandlingene ble utført i triplikat og prøvene ble overført i en plastboks. Prøven ble så frosset i 24 h og frysetørket i 48 h (alpha 1-2 LDplus, CHRIST, Osterode am Hartz, Tyskland). Prøven ble malt i en morter for videre analyse.

Tabell 6 RVA behandling av Kontu. Tabellen oppgir faser, temperaturer/hastigheter og tid. Tabellen er basert på tabellen til AACC 76-21 STD 1 (AACC, 2009).

Fase	Temperatur/ Hastighet	Tid (hh:mm:ss)
1	50°C	00:00:00
2	960 rpm	00:00:00
3	160 rpm	00:00:10
4	50°C	00:01:00
5	95°C	00:04:42
6	95°C	00:07:12
7	50°C	00:11:00
Slutt		00:13:00

2.2.12 Lavmolekylære karbohydrater

LMV-Karb ble målt for RVA prøven, alle råmaterialene og alle FF og GF fraksjonert ved 10 000 rpm. LMV-Karb ble bestemt ved bruk av HPAE-PAD systemet; Dionex ICS-5000+ system tilkoblet en CarboPac PA-1 kolonne med tilhørende forkolonne (CarboPac PA-1 guard column) (Termo Fisher Scientific, Sunnyvale, USA). Melibiose ble brukt som intern standard. Det ble brukt en kontroll prøve av RAFFINOSE/SUCROSE/-D-GLUCOSE – KIT (Megazyme) for å kontrollere ekstraksjon og kromatografisk metodikk. RVA-prøven og alle råmaterialene ble målt i triplikater. Alle FF og GF ble analysert i duplikater, og for begge de tekniske gjentakene ved 10 000 rpm.

50 mg prøve ble veid ut og tilsatt 9 mL etanol (60 % av 96 %) og 1 mL Melibiose standard 1 mg/mL. Blandingsforhold = 1:10. Da disse målingene viste lave toppe i kromatogrammet, ble blandingsforholdet endret til 1:20 for de resterende prøvene. Prøvene ble inkubert ved 50°C ved ristehastighet 250 rpm i New Brunswick™ (Edison, New Jersey, USA) i 60 min. Etter endt inkubering ble prøvene stående vertikalt i 15 min før de ble sentrifugert i 15 min (romtemperatur, hastighet 4200 rpm) (Multifuge 4 KR, Tyskland). En ytterligere fortyning ble utført ved å tilsette 950 µl MQvann (18,2 Ω) i et eppendorfrør sammen med 50 µL ekstrakt. Prøven ble filtrert (0,22 µm) over til et HPLC glass og analysert med Dionex IC5000+SP. Det var satt 6 kalibrering standarder (glukose, fruktose, sukrose, raffinose, stachyose og verbasose). Eluent: 90 mM NaOH, 1mL/min, 50 min, 100 mM NAOH og 500 mM Na-acetat, 1 mL/min, 5 min. Arealene som representerer internstandard og de ulike karbohydratmålingene ble integrert manuelt. For å beregne innholdet av de ulike karbohydratene pr tørrstoff prøve, ble Formel 11 brukt.

Formel 11 Beregning av karbohydratinnhold (%).

$$\text{Karbohydratinnhold i prøven (\%)} = \frac{((\text{innhold av karbohydratet} * 10) * 20) / 1000}{\text{tørrstoff i prøven}} * 100$$

2.2.13 Statistikk

Statistikk ble utført i programmet minitab. Enveis ANOVA ble brukt for å teste om det var forskjeller innen eller mellom sortene, og signifikansnivået ble satt til $p < 0,05$. Tukey-s test ble brukt til å teste hvilke sorter som var forskjellige. Det ble utført enveis ANOVA for alle resultater i forsøket der det foreligger fulle gjentak, dvs. for fraksjoner fraksjonert ved 10 000 rpm. Alle analyser er utført med to tekniske gjentak (paralleller), og det er beregnet gjennomsnitt av disse.

3 RESULTAT

3.1 FORFORSØK

I den etterfølgende teksten og diskusjonen betyr *proteininnholdet* i de ulike fraksjonene vektprosenten av protein beregnet som innhold av N multiplisert med 6,25. Videre betyr *mengdeutbyttet* vekten av de ulike fraksjonene i % av totalt utbytte for FF + GF. *Proteinutbyttet* er prosentandelen protein som originalt var å finne i råmateriale, som ble funnet igjen i fraksjonene. *Total proteinmengde* er proteininnhold i en fraksjon multiplisert med antall gram fraksjon, og forteller derfor hvor mange gram protein fraksjonen inneholder.

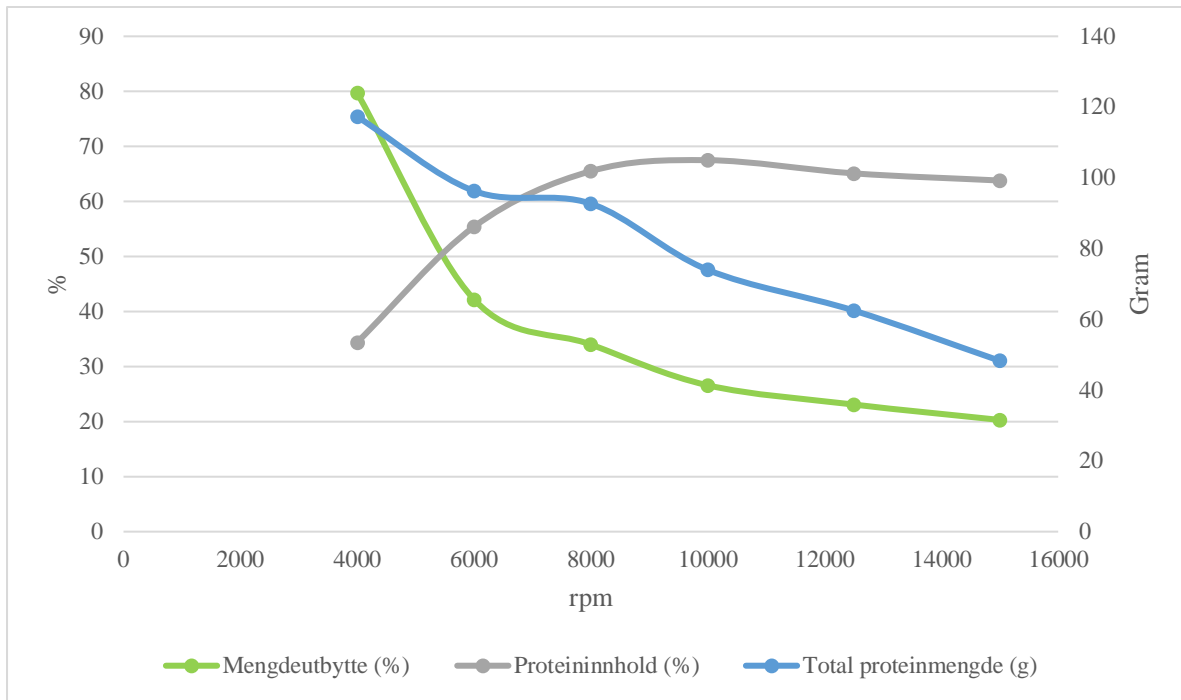
I forforsøket ble sorten Vertigo 2017 tørrfraksjonert ved 6 ulike innstillinger: 4 000, 6 000, 8 000, 10 000, 12 500 og 15 000 rpm. Resultatene fra forforsøket er vist i Tabell 7 og Figur 7, hvor all data er korrigert for tørrstoffinnhold. Proteininnholdet i råmateriale var 31,9 %, og etter fraksjonering ved 4 000 rpm, økte dette til 34,9 %. Med økende hastighet ved fraksjoneringen ble det målt et proteininnhold på 67,5 % ved 10 000 rpm. Økende hastighet utover dette ga ingen økning i proteininnholdet.

Ved lav hastighet (4 000 rpm) var proteinutbytte på 80,8 %. Dette tilsier at 80,8 % av proteinene fra råmateriale ble funnet igjen i FF. Når fraksjoneringshastigheten økte, sank proteinutbyttet i FF, samtidig som proteininnholdet (%) økte. Ved en fraksjoneringshastighet på 10 000 rpm var mengdeutbytte til FF 26,6 %, og proteinutbyttet var 51,0 %. Dette tilsier at 51,0 % av proteinene som var i råmateriale, var å finne igjen i FF.

Tabell 7 Effekt av ulik hastighet ved fraksjonering av Vertigo 2017 på proteininnhold (%) og proteinutbytte (%) for FF og GF, samt tap av materiale i fraksjoneringsprosessen (%). Data er fra forforsøket med fraksjoneringshastigheter 4 000 rpm, 6 000 rpm, 8 000 rpm, 10 000 rpm 12 500 rpm og 15 000 rpm.

Hastighet (rpm)	Proteininnhold (%) FF	Proteinutbytte (%) FF	Proteininnhold (%) GF	Proteinutbytte (%) GF	Tap (%)
4 000	34,4	80,8	13,3	8,1	6,7
6 000	55,4	66,4	13,0	21,6	10,9
8 000	65,5	63,9	15,9	29,7	11,6
10 000	67,5	51,0	17,7	30,3	11,1
12 500	65,1	43,1	19,9	43,8	10,6
15 000	63,8	33,3	22,7	46,5	20,2

Figur 7 viser sammenhengen mellom mengdeutbytte, proteininnhold og total proteinmengde i FF. Det kommer tydelig frem at mengdeutbytte synker særlig raskt fra 4 000 til 6 000 rpm. En lav hastighet (4 000 rpm) gir et høyt mengdeutbytte av FF: 79,7 % og tilsvarende lav andel GF: 20,3 %. Ved en høy hastighet (10 000 rpm) er utbytte FF 26,6 % og GF 73,4 %. Dette indikerer at når hastigheten øker, synker andelen FF og motsatt, øker andelen GF.



Figur 7 Variablene er: mengdeutbytte (%), proteininnhold (%) og total proteinmengde (g) i FF ved økende fraksjoneringshastigheter (rpm).

Total proteinmengde er det beregnede innholdet av protein i FF, basert på proteininnhold i FF og mengde FF. Ved 4 000 rpm ble det målt en total proteinmengde på 117,0 g i FF. Figur 7 viser at den totale proteinmengden for FF, synker når hastigheten øker. Samtidig som den totale proteinmengden synker øker proteininnholdet (%) i FF.

Økende hastighet ved fraksjonering av *Vertigo* har som forventet gitt synkende mengde av FF og synkende proteinutbytte, mens proteininnholdet har økt betydelig opp til 10 000 rpm. Deretter er det ingen økning i proteininnholdet i FF. Dette tyder på at fraksjoneringen har fungert som forventet, da proteininnholdet i FF øker med økende hastighet. Resultatene indikerer også at det ikke er hensiktsmessig å øke hastigheten utover 10 000 rpm.

Noe materiale ble tap i fraksjoneringsprosessen. Et eksempel på tap er Vertigo 2017 fraksjonert ved 6 000 rpm. FF bestod av 188,3 g og GF av 257,4 g. Dette tilsvarer et tap på 54,3 g (10,9 %). Det meste av tapet var mekanisk tap i selve fraksjoneringsystemet og noe ble liggende igjen i materen. Det er to hastigheter som skiller seg ut, den laveste og høyeste. Den laveste hastigheten har et lite tap, bare 6,7 % sammenlignet med de andre som har rundt 11 %. Den høyeste hastigheten har et tap på 20.2 %, som er det dobbelte av de andre tapene. Dette vil bli vist i Figur 12 og forklart i diskusjonen. Utfra resultatene fra forforsøket, ble følgende hastigheter valgt for fraksjonering i hovedforsøket: 4 000, 6 000, 10 000 og 15 000 rpm.

3.2 VANNINHOLD I FRAKSJONENE

Vanninnholdet i de seks råmaterialene og alle FF og GF er vist i Tabell 8. Vanninnholdet i råmateriale var omtrent likt for alle prøver unntatt Tiffany. Resultatene viser at vanninnholdet synker med økende fraksjoneringshastighetet. Alle etterfølgende resultat er korrigert for vanninnhold, og presentert på tørrstoffbasis.

Tabell 8 Oversikt over vanninnhold (%) i råmateriale og alle FF og GF fraksjonert ved ulike hastigheter.

Hastighet (rpm)	Vertigo 2017 (%)	Vertigo 2018 (%)	Sampo 2017 (%)	Sampo 2018 (%)	Tiffany (%)	Kontu (%)
Råmateriale	9,0	9,9	9,9	9,9	11,2	9,0
FF						
4 000	8,4	8,6	8,5	8,6	9,8	8,7
6 000	7,6	7,8	8,4	7,8	8,6	7,8
10 000	7,2	7,6	7,0	7,3	7,9	6,7
15 000	6,2	7,1	7,0	7,0	7,0	7,1
GF						
4 000	6,8	7,2	8,0	7,4	8,0	7,4
6 000	6,3	7,4	7,3	6,8	8,4	7,1
10 000	6,6	7,5	6,9	7,2	7,7	7,1
15 000	6,7	6,7	6,2	7,0	7,5	7,4

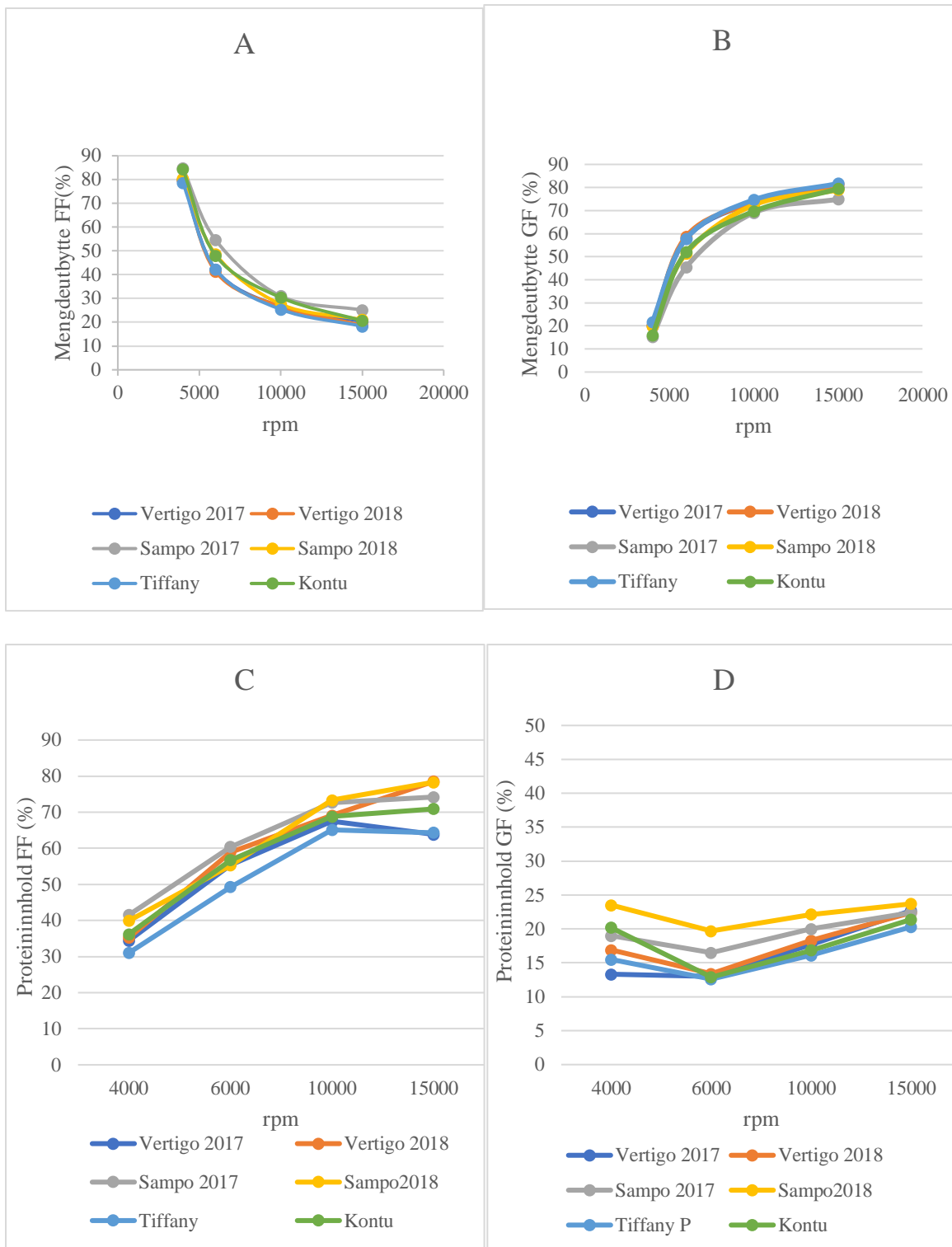
3.3 MENGDEUTBYTTE, PROTEININNHOLD OG INNHOLD AV STIVELSE

Mengdeutbytte til FF er vist i Figur 8A. I likhet med forforsøket, ble mengdeutbyttet redusert med økende hastighet for alle prøvene. Resultatene viser at nedgangen i mengdeutbytte var størst fra 4 000 til 6 000 rpm, deretter var reduksjonen i mengdeutbytte gradvis avtakende. Det var størst forskjell mellom sortene ved 6 000 rpm. Vertigo 2017 hadde et mengdeutbytte på 41,3 % og Sampo 2018 hadde 54,6 %. Sorten Vertigo hadde samme mengdeutbytte uavhengig av hvilken sesong den var dyrket (2017 eller 2018). Sampo varierte fra 2017 til 2018, da 2017 hadde et høyere mengdeutbytte FF ved alle hastigheter.

I Figur 8B er mengdeutbytte av GF vist, og det kan observeres det motsatte av Figur 8A. I GF var det størst økning i mengdeutbytte fra 4 000 til 6 000, og etter dette var mengdeutbyttet gradvis økende. Figur 8A og 8B viser motsatte sammenhenger med hensyn på mengdeutbytte av FF og GF ved økende fraksjoneringshastighet. Dette er forventet da mengdeutbytte $FF + GF = 100\%$ av totalt mengdeutbytte, etter at det er korrigert for tap.

Proteininnholdet i alle FF er vist i Figur 8C. Tiffany var sorten med lavest innhold av protein, både i råmateriale og alle FF. Tiffany hadde et proteininnhold på 28,1 % i råmateriale og etter fraksjonering ble det målt 65,4% i FF, 10 000 rpm. Etter fraksjonering ved 10 000 rpm hadde alle sortene et proteininnhold på 65,1 % eller høyere. Ved 15 000 hadde FF til fire av sortene (Vertigo 2018, Sampo 2017, Sampo 2018 og Kontu) et proteininnhold på over 70 %. Den høyeste målingen i dette forsøket ble målt av Vertigo 2018 (15 000 rpm), med hele 78,5 % protein.

Figur 8D viser proteininnhold i GF med økende fraksjoneringshastighet. Ved lav fraksjoneringshastighet sank innholdet av protein. Figuren viser at ved økende fraksjoneringshastighet økte proteininnholdet. Det høyeste proteininnholdet i GF ble målt ved 15 000 rpm, med proteininnhold 22,1 % i gjennomsnitt for alle sortene.



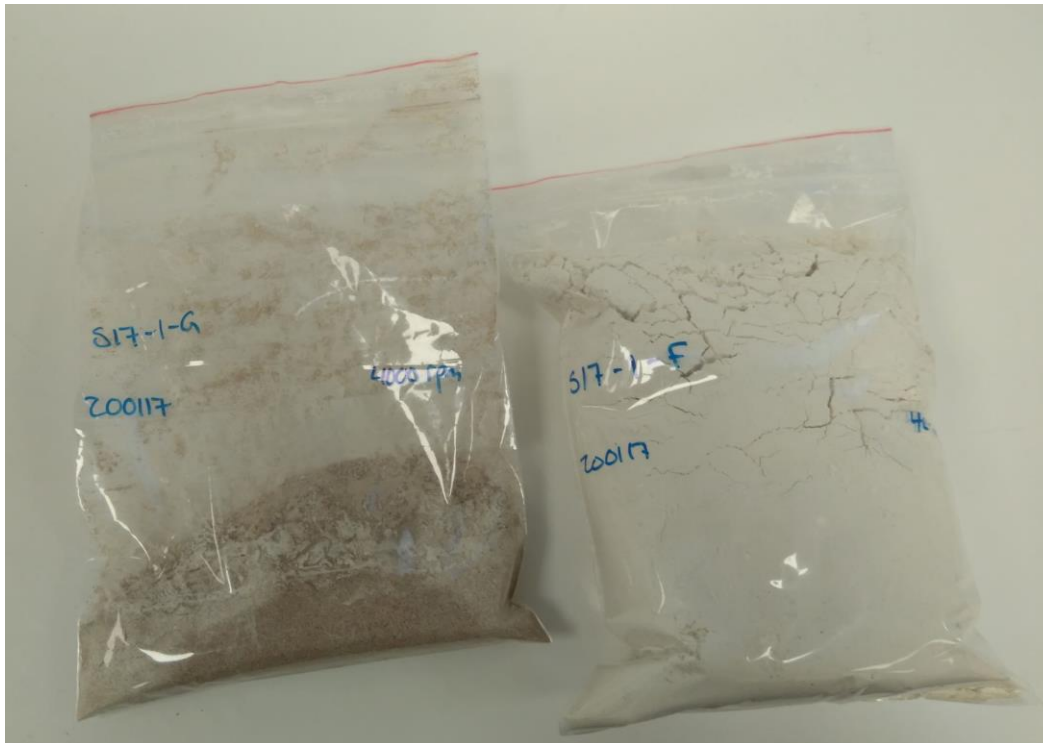
Figur 8 Effekt av fraksjoneringshastighet på mengdeutbytte av FF (A) og GF (B), samt proteininnhold i FF (C) og GF (D) for sorter av åkerbønner i dette forsøket.

Fraksjonering ved 10 000 rpm ble gjennomført med gjentak for alle prøvene. I Tabell 9 er middeltall (gjentak for fraksjonering ved 10 000 rpm) og statistisk analyse for mengdeutbytte og proteininnhold i FF og GF presentert. Tabellen viser at i alle de fire testene ble det funnet signifikante forskjeller mellom de ulike sortene, ved bruk av enveis ANOVA. Tukey-s test viste at sorten Sampo skilte seg fra de andre sortene. Sampo (2017 og 2018) hadde et signifikant høyere proteininnhold sammenlignet med de andre sortene. Det ble også vist at Sampo 2017 hadde et signifikant høyere mengdeutbytte i FF, og at Sampo (2017 og 2018) hadde et signifikant høyere proteininnhold i GF sammenlignet med de andre sortene.

Tabell 9 Middeltall over gjentak for fraksjonering ved 10 000 rpm for alle sortene i forsøket, Resultat fra Tukey-s test er presentert som bokstaver. De som har bokstaver som er ulike fra hverandre, er signifikant forskjellige. P – verdien er beregnet via enveis ANOVA, og en lav P – verdi, mindre enn 0,005, gir signifikant forskjell mellom sortene.

10 000 rpm	Vertigo 2017	Vertigo 2018	Sampo 2017	Sampo 2018	Tiffany	Kontu
Mengdeutbytte FF (%)	26,6 ^{BC}	26,6 ^C	31,0 ^A	27,6 ^{BC}	25,4 ^C	30,4 ^{AB}
P-verdi		0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
Mengdeutbytte GF (%)	73,4 ^{AB}	73,4 ^A	69,2 ^C	72,4 ^{AB}	74,6 ^A	69,6 ^{BC}
P - verdi		0,0004	0,0004	0,0004	0,0004	0,0004
Proteininnhold FF (%)	67,5 ^{BC}	69,1 ^B	72,7 ^A	73,4 ^A	65,1 ^C	68,8 ^B
P - verdi		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Proteininnhold GF (%)	17,7 ^{CD}	18,4 ^C	20 ^B	22,2 ^A	16,1 ^E	16,8 ^D
P - verdi		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Figur 9 viser hva som er ment med mengdeutbytte. Figuren viser resultatene etter tørrfraksjonering av Sampo 2017 ved fraksjoneringshastighet 4 000 rpm. Til venstre er GF og til høyre er FF. I dette tilfellet er mengdeutbytte til GF 15,3 % og FF 84,7 %.



Figur 9 Produkt etter tørrfraksjonering av Vertigo 2017 tørrfraksjonert ved 4 000 rpm. Til venstre er GF og til høyre er FF. Fotograf: Ingeborg Lea Ertesvåg.

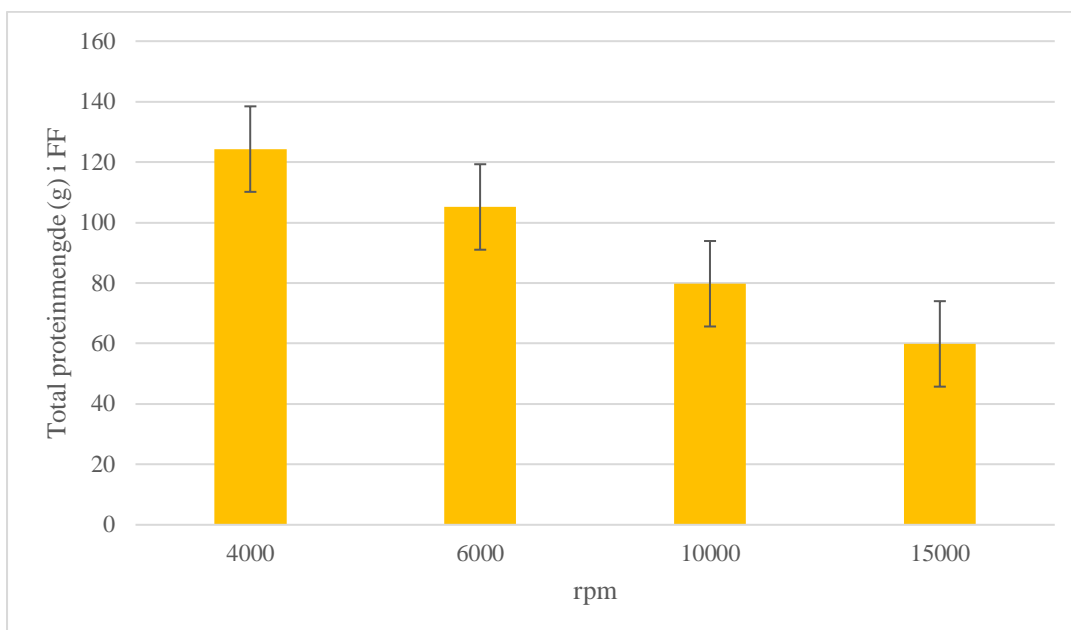
Som observert i Figur 8C, var proteininnholdet høyt i alle FF ved 10 000 rpm. Tabell 10 viser en oversikt over innholdet av stivelse i råmateriale og i FF ved 10 000 rpm. Råmateriale hadde i gjennomsnitt et innhold av stivelse på 43,8 % for alle sortene. Det laveste innholdet ble målt i Sampo 2017, med 41,7 % stivelse og Tiffany hadde det høyeste innholdet med 46,4 %. I FF var innholdet av stivelse i gjennomsnitt 5,5 %. Lavest verdi ble målt i Vertigo 2017, Sampo 2017 og Kontu, alle med 4,7 %. I Tiffany ble den høyeste verdien målt med 6,7 %. Resultatene viser at en fraksjoneringshastighet på 10 000 rpm gir fraksjoner med høyt innhold av protein og lite stivelse.

Tabell 10 Innhold av stivelse (%) i råmateriale og i FF etter fraksjonering ved 10 000 rpm.

Hastighet (rpm)	Vertigo 2017 (%)	Vertigo 2018 (%)	Sampo 2017 (%)	Sampo 2018 (%)	Tiffany (%)	Kontu (%)
Råmateriale	43,2	46,1	41,7	42,8	46,4	43,0
10 000	4,7	6,5	4,7	5,8	6,7	4,7

3.4 TOTAL PROTEINMENGDE OG PROTEINUTBYTTE I FF

Den totale proteinmengden i FF ble beregnet ut ifra proteininnhold i FF multiplisert med antall gram FF. Sortene hadde lik respons og viste den samme tendensen, hvor total proteinmengde synker når hastigheten øker. Dette henger sammen med at mengdeutbytte i FF synker, samtidig som proteininnholdet øker. Av de seks råmaterialene hadde Sampo 2018 høyest total proteinmengde, med 164,9 g, og Tiffany hadde det laveste med 124,9 g av totalt 500 g råmateriale. Figur 10 viser en oversikt over total proteinmengde i FF i gjennomsnitt for alle sorter med ulike fraksjoneringshastigheter.



Figur 10 Total proteinmengde (g) som gjennomsnittsverdi med angitt standardavvik for alle sortene (FF) ved de ulike fraksjoneringshastighetene (rpm).

Proteinutbytte er andelen protein fra råmateriale, som er funnet igjen i FF. Figur 11 viser proteinutbytte til alle FF ved de ulike fraksjoneringshastighetene. Det var en tydelig sammenheng mellom økning av fraksjoneringshastighet og tap av protein. Proteinutbyttet var i gjennomsnitt 40,1 % for alle sortene ved 15 000 rpm. Tabellen må sees sammen med Figur 8, for å få en sammenheng med mengdeutbytte og proteininnhold. Det er forventet at proteinutbytte synker, og at det i dette forsøket er lavest ved den høyeste fraksjoneringshastigheten.



Figur 11 Proteinutbytte (%) i FF for alle sorter ved alle fraksjoneringshastigheter (rpm).

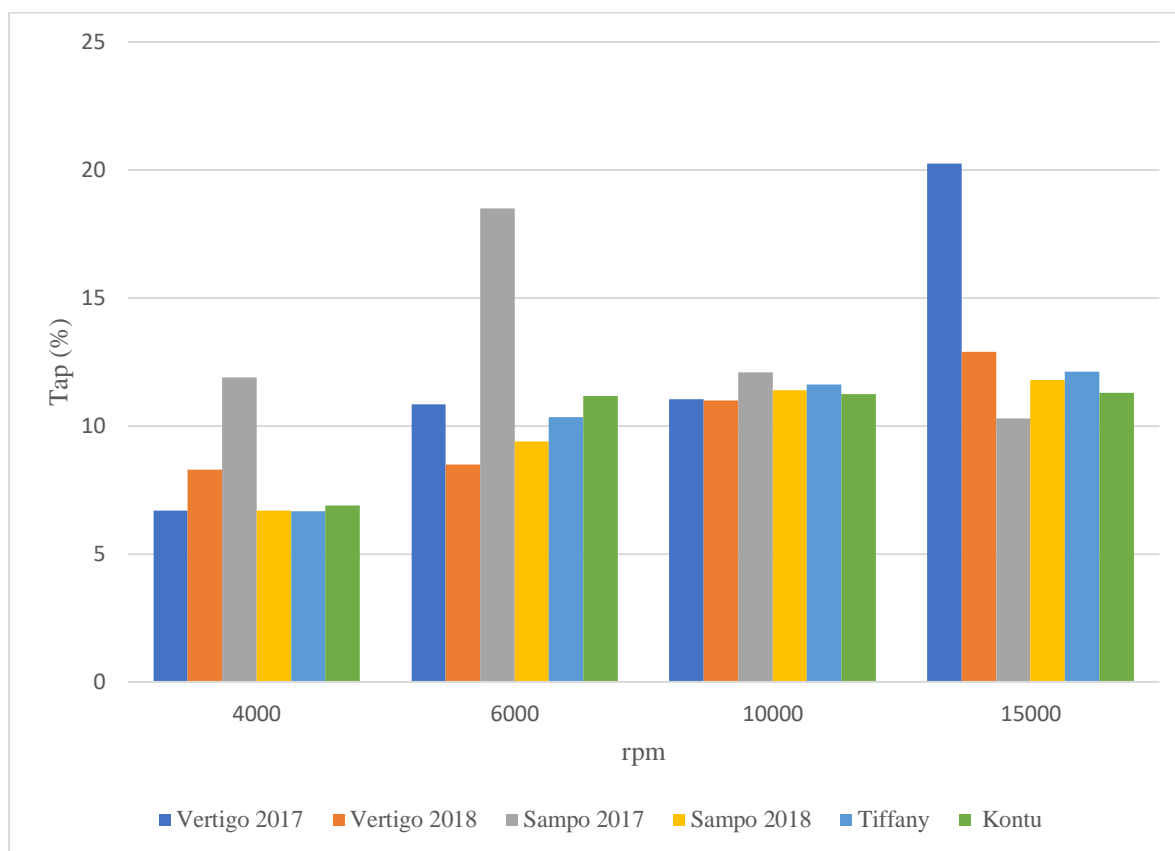
Tabell 11 viser statistisk data for total proteinmengde og proteinutbytte i FF. Det ble målt signifikante forskjeller mellom sortene ved bruk av enveis ANOVA Tukey-s test viste at sorten Sampo hadde et signifikant høyere total proteinmengde sammenlignet med Vertigo 2017, Vertigo 2018 og Tiffany. For proteinutbytte ble det ikke funnet signifikante forskjeller.

Tabell 11 Middeltall over gjentak for fraksjonering ved 10 000 rpm for hver av sortene i forsøket, hvor total proteinmengde i FF (g) og proteinutbytte i FF (%) er presentert. Resultat fra Tukey-s test er presentert som bokstaver. De som har bokstaver som er ulike fra hverandre, er signifikant forskjellige. P – verdien er beregnet via enveis ANOVA, og en lav P – verdi, mindre enn 0,005, gir signifikant forskjell mellom sortene.

	Vertigo 2017	Vertigo 2018	Sampo 2017	Sampo 2018	Tiffany	Kontu
Total proteinmengde i FF (g)	67,5 ^C	75,8 ^{BC}	92,1 ^A	83,2 ^{AB}	67,4 ^C	86,1 ^{AB}
P- verdi		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Proteinutbytte i FF (%)	51,0 ^{AB}	52,6 ^{AB}	56,9 ^{AB}	50,5 ^B	54 ^{AB}	57,6 ^A
P- verdi		0,038	0,038	0,038	0,038	0,038

3.5 TAP UNDER FRAKSJONERINGSPROSESSEN

For hver omgang med fraksjonering ble det veid inn 500 g råmateriale og plassert i materen. Totalt utbytte (FF + GF) varierte fra 79,8 % til 93,3 %. Dette tilsvarer et mekanisk tap av materiale på 6,7 % til 20,2 % i fraksjoneringsprosessen. Figur 12 viser at alle sortene responderte likt, med unntak av to målinger; Sampo 2017 (6 000 rpm) hadde et tap på 18,5 % og Vertigo 2017 (15 000 rpm) hadde et tap på 20,2 %. Det ser ut som tapet økte svakt med økende fraksjoneringshastighet, men størst økning fra 4 000 rpm til 6 000 rpm.

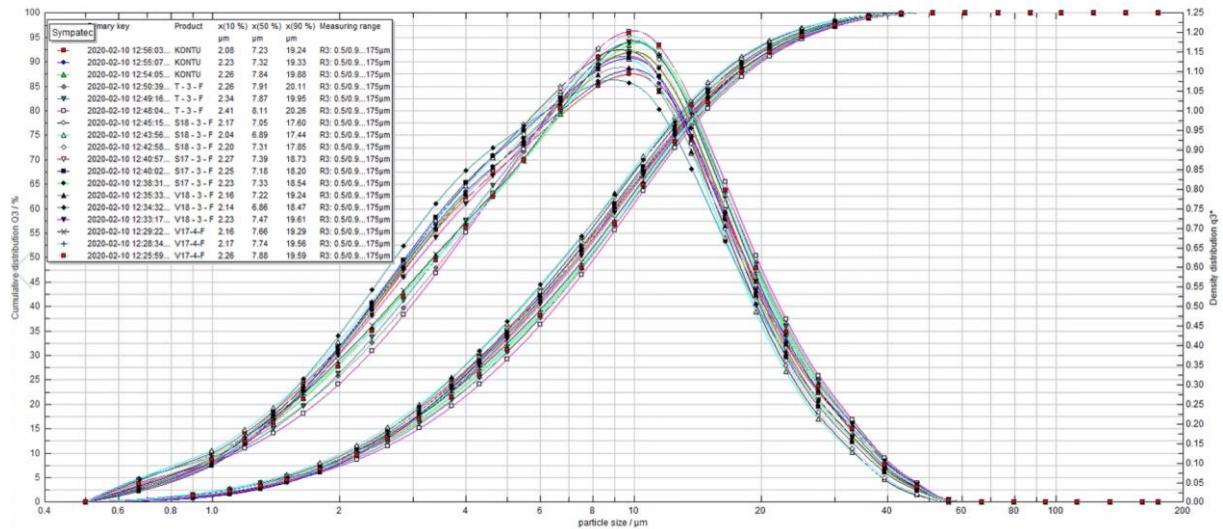


Figur 12 Oversikt over tap (%) for alle FF ved alle fraksjoneringshastigheter (rpm).

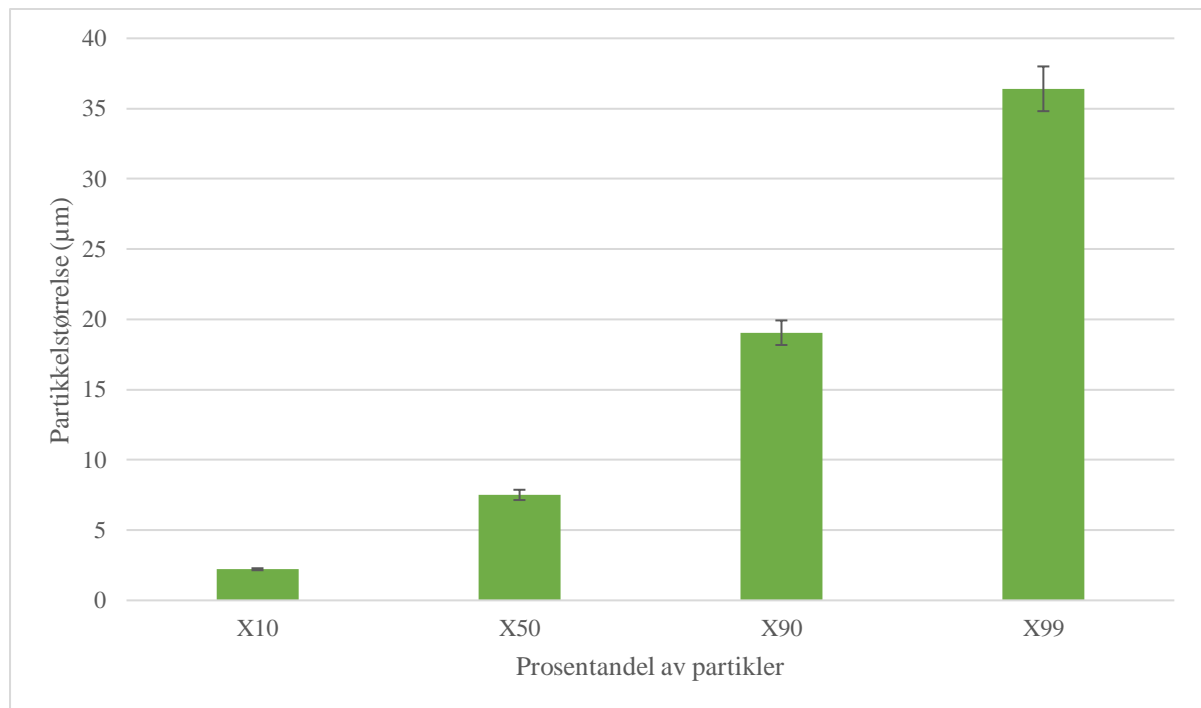
I gjennomsnitt hadde alle batchene et utbytte på 89,0 %. Dette tilsvarer et tap på 11,0 % eller 55,0 g. For å teste effekten av produksjonsskala, ble det kjørt en batch med 1 000 g (Sampo 2017, 15 000 rpm). Resultatet ble tilsvarende som batcher på 500 g med et tap på 11,8 %.

3.6 PARTIKKELSTØRRELSEFORDELING FOR FIN FRAKSJON

Partikkelstørrelsefordelingen for FF fraksjonert ved 10 000 rpm var svært lik for alle sortene. Figur 13 viser en kumulativ og en relativ fordeling av partikkelstørrelse i FF. Ut ifra denne figuren ble det bearbejdet en forenklet figur, Figur 14, som viser partikkelstørrelse for 99, 90, 50 og 10 % av alle partikler. Den viser gjennomsnitt med standardavvik for alle sortene. De to figurene viser at 90 % av partiklene hadde en diameter på 19 μm eller mindre.



Figur 13 viser en kumulativ og en relativ fordeling av partikkelstørrelse for alle FF fraksjonert ved 10 000 rpm

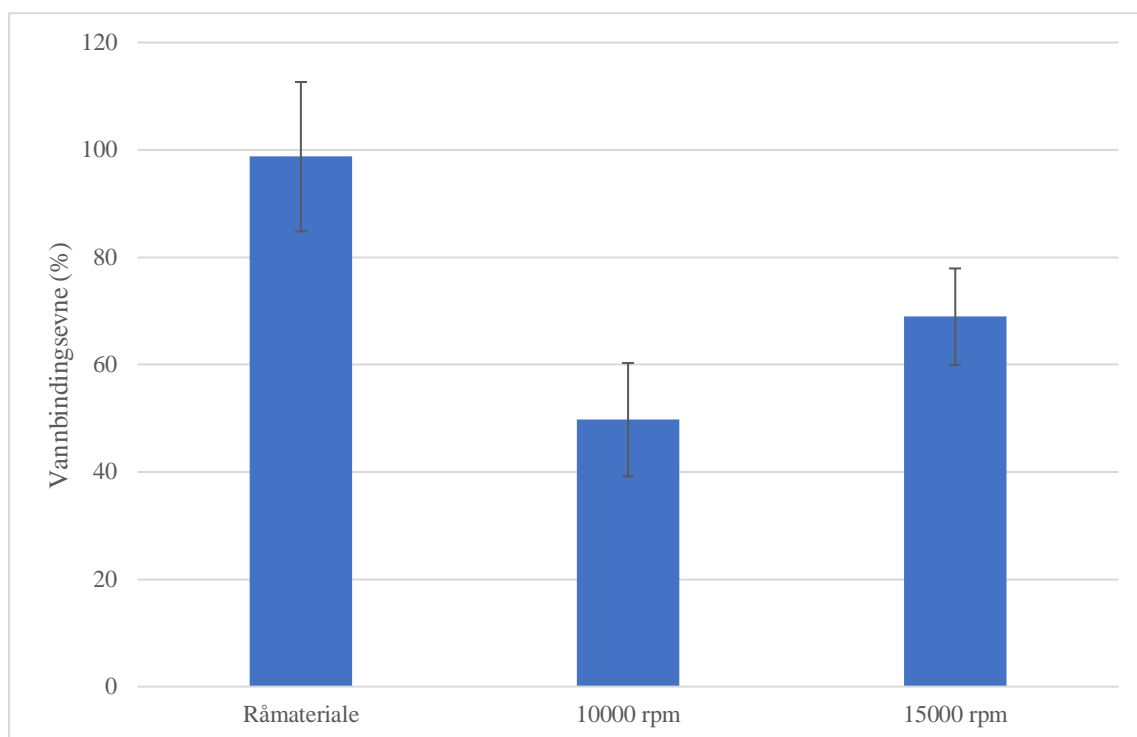


Figur 14 Partikkelstørrelse til alle FF ved 10 000 rpm, uttrykt som %. Figuren viser middelverdien og standardavvik til fraksjonene. Data er gjennomsnitt for alle prøvene.

3.7 FUNKSJONELLE EGENSKAPER

3.7.1 Vannbindingsevne

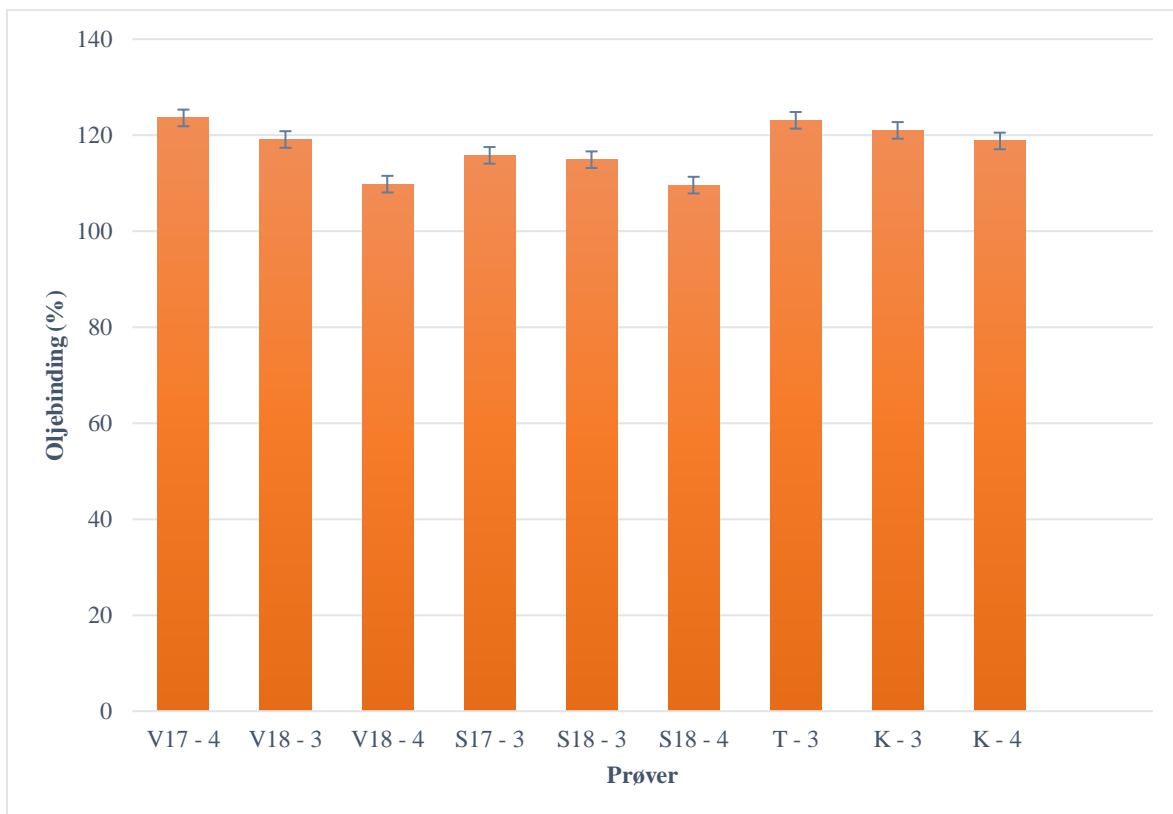
Figur 15 viser gjennomsnitt fra VBE målingene med standardavvik av alle sortene for råmateriale og 10 000 rpm. Resultatene viser også gjennomsnitt av Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu fraksjonert ved 15 000 rpm. VBE er beregnet mengde vann absorbert pr gram tørrstoff, og verdier over 100 % kan derfor forekomme. Figuren viser at VBE var lavest for FF fraksjonert ved 10 000 rpm, og det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom de ulike sortene.



Figur 15 VBE (%) til råmateriale og FF fraksjonert ved 10 000 rpm og FF fraksjonert ved 15 000 rpm (Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu).

3.7.2 Oljebindingsevne

OBE er beregnet mengde olje absorbert i et gram tørrstoff. Resultatene kan derfor i likhet med resultatene for VBE overstige 100 %. OBE til alle FF fraksjonert ved 10 000 rpm er vist i Figur 16, og resultatene viser gjennomsnitt med standardavvik. Resultatene viser også gjennomsnitt med standardavvik for målinger av Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu fraksjonert ved 15 000 rpm. Det ble målt lite variasjon mellom fraksjonene behandlet med 10 000 og 15 000 rpm. Alle sortene ligger mellom 109,6 % og 123,6 %. FF av Vertigo 2017 og Tiffany hadde den høyeste evnen til å binde seg til olje, med henholdsvis 123,1 % og 123,6 % olje i forhold til innveid fraksjon.

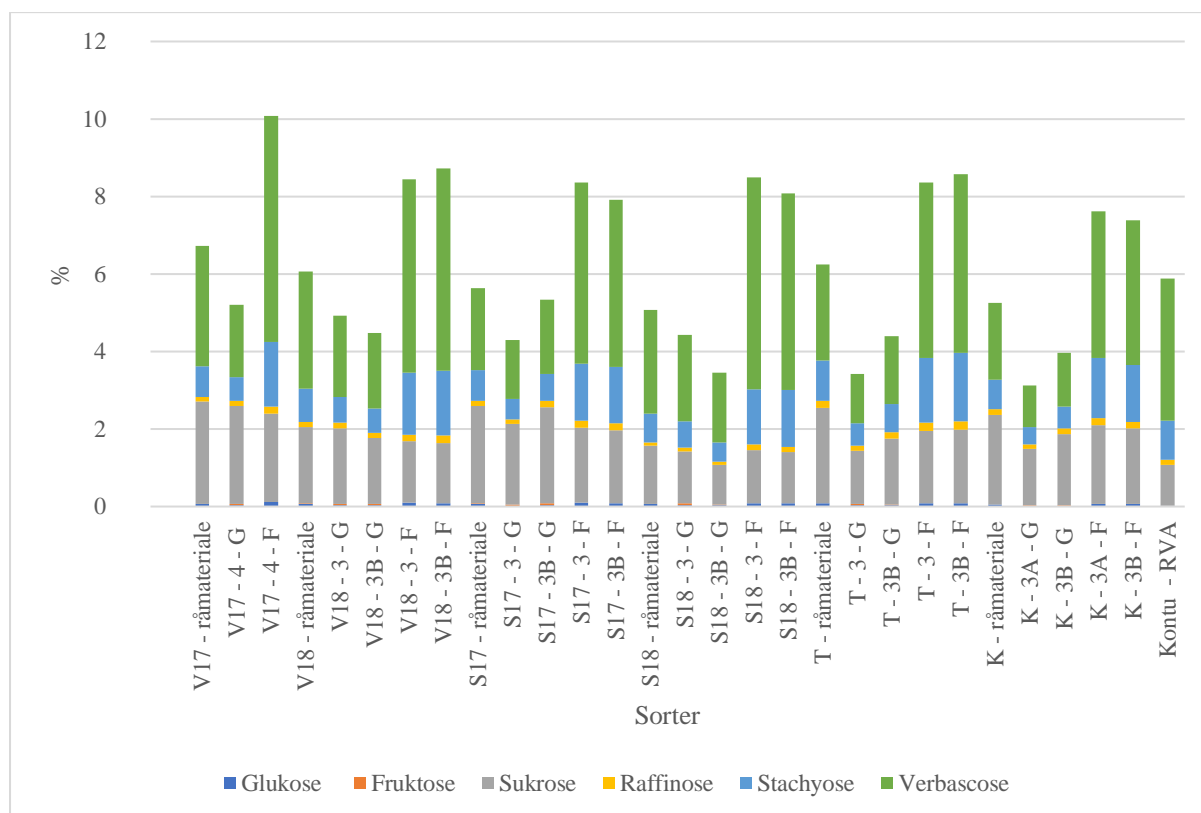


Figur 16 OBE for alle FF fraksjonert ved 10 000 rpm. OBE for Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu fraksjonert ved 15 000 rpm.

3.8 LAVMOLEKYLÆRE KARBOHYDRATER

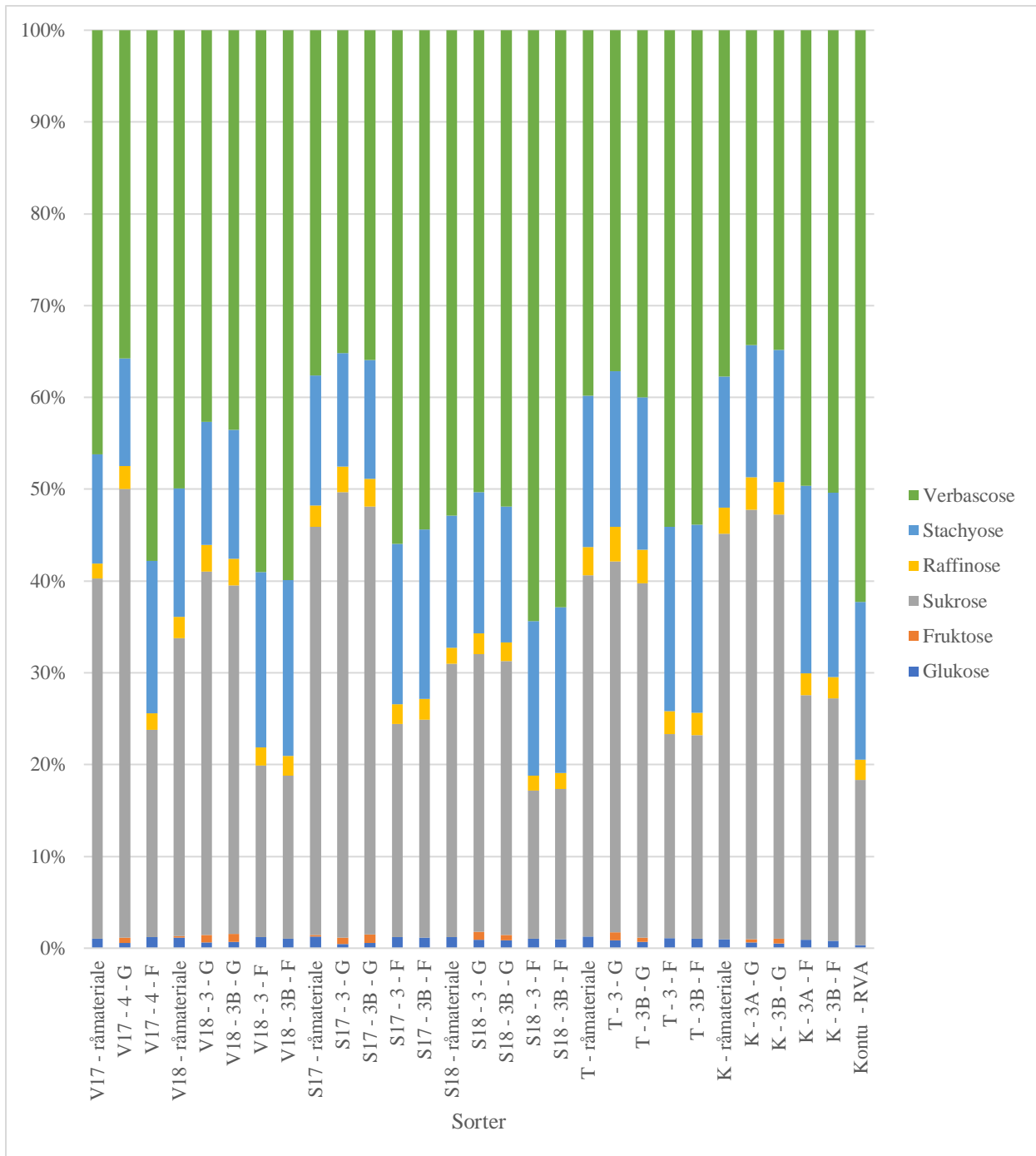
Resultatene fra LMV-Karb målingene er presentert i Figur 17. Resultatene viser at FF hadde et høyere totalt innhold av LMV-Karb sammenlignet med råmateriale og GF. Figuren viser at råmateriale inneholdt lite glukose og fruktose, og at innholdet av sukrose var 1 – 3 % av det totale tørrstoffet. I gjennomsnitt ble det målt et innhold på 3,5 % α – galaktosider, hvor verbasose var mest dominant med 2,5 %.

FF inneholdt lite glukose, ingen fruktose og 1,5 – 2,0 % sukrose, som var i samsvar med målingene av råmateriale. Innholdet av α – galaktosider var høyere i FF sammenlignet med råmateriale. Mengde raffinose var lav, og i snitt var innholdet av stachyose 1,5 % og verbasose 4,75 %. Innholdet av verbasose var betraktelig høyere i FF sammenlignet med råmateriale. Kontuprøven som var varmebehandlet (RVA), hadde et lavere innhold av sukrose enn Kontu som ikke var varmebehandlet. GF hadde i likhet med råmateriale og FF, lavt innhold av glukose og fruktose. GF hadde i gjennomsnitt 1,8 % sukrose. GF hadde et lavt innhold av α – galaktosider. GF inneholdt i gjennomsnitt 1,4 % verbasose, som var lavere enn både råmateriale og FF.



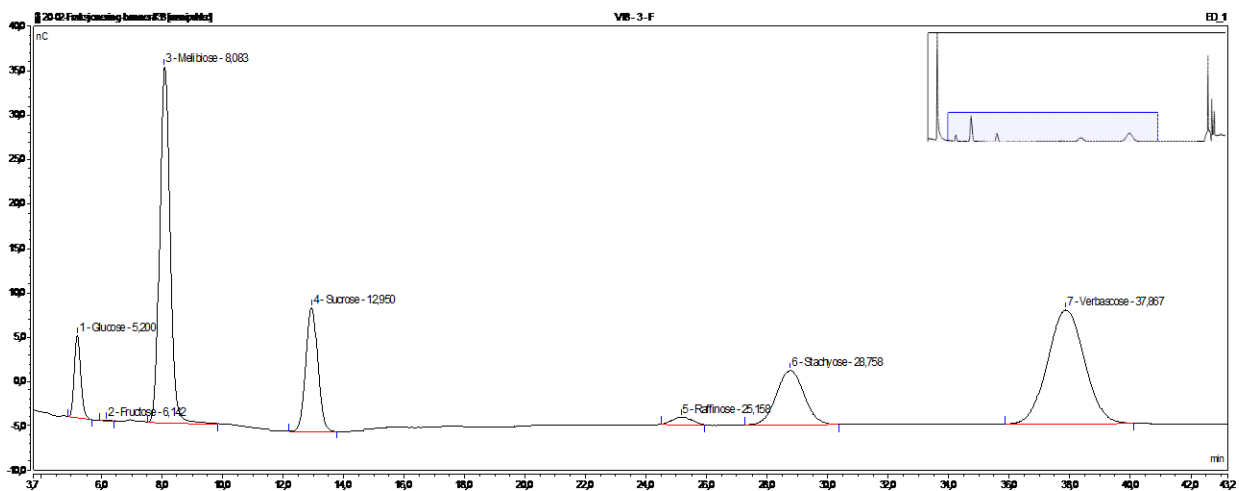
Figur 17 Viser resultatene fra LMV-Karb målingene. Alle resultatene er oppgitt i %. Stolpene representerer totalinnholdet av LMV-Karb, for alle råmaterialer og alle FF og GF fraksjonert ved 10 000 rpm. Kontu - RVA = RVA prøven av Kontu.

For å kunne sammenligne den interne fordelingen av LMV-Karb i de ulike prøvene og samtidig eliminere forskjeller introdusert av små veifeil og unøyaktigheter i tørrstoffinnholdet, er den relative fordelingen av de ulike karbohydratforbindelsene fremstilt i Figur 18.

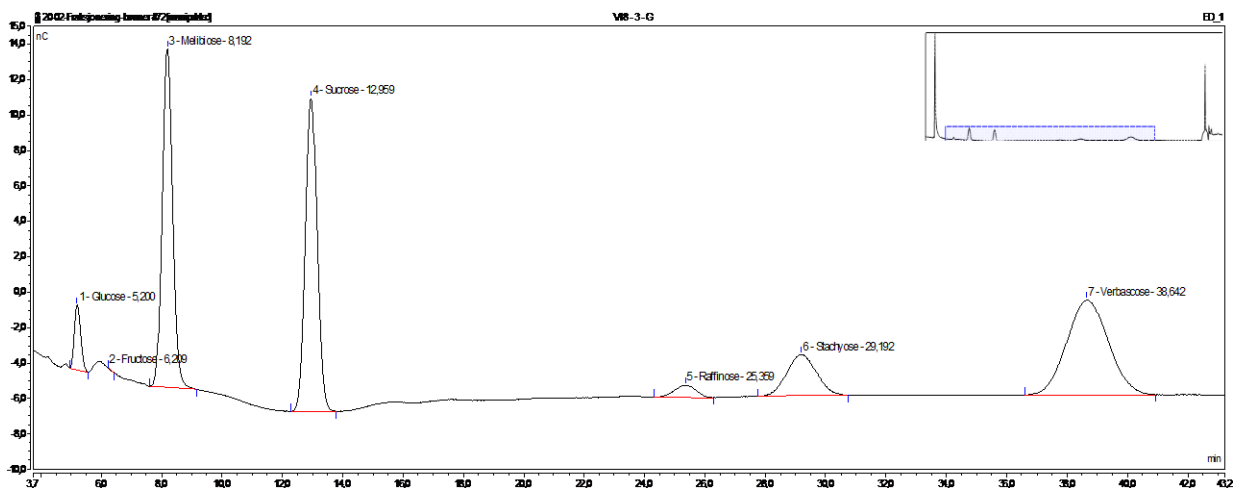


Figur 18 Den interne fordelingen av karbohydrater i de ulike prøvene. Alle resultatene er oppgitt i %, og stolpen utgjør til sammen 100 % av LMV-Karb. Målingene er tatt av alle råmaterialer og alle FF og GF fraksjonert ved 10 000 rpm.

Resultatene fra LMV-Karb målingene av råmaterialene, FF og GF, viste at alle sortene fulgte samme trend og at det var lite variasjoner mellom sortene. For å vise et eksempel, er kromatogrammet av Vertigo 2018 (10 000 rpm) FF vist i Figur 19 og Vertigo 2018 (10 000 rpm) GF vist i Figur 20. Figurene viser innholdet av LMV-Karb i prøvene, og hvordan de ulike karbohydratene er fordelt i forhold til hverandre. Det er de samme verdiene som er vist i Figur 17 og Figur 18, men i kromatogrammet kan man se hvordan kurvene med de ulike sukkerne differensierer fra hverandre.

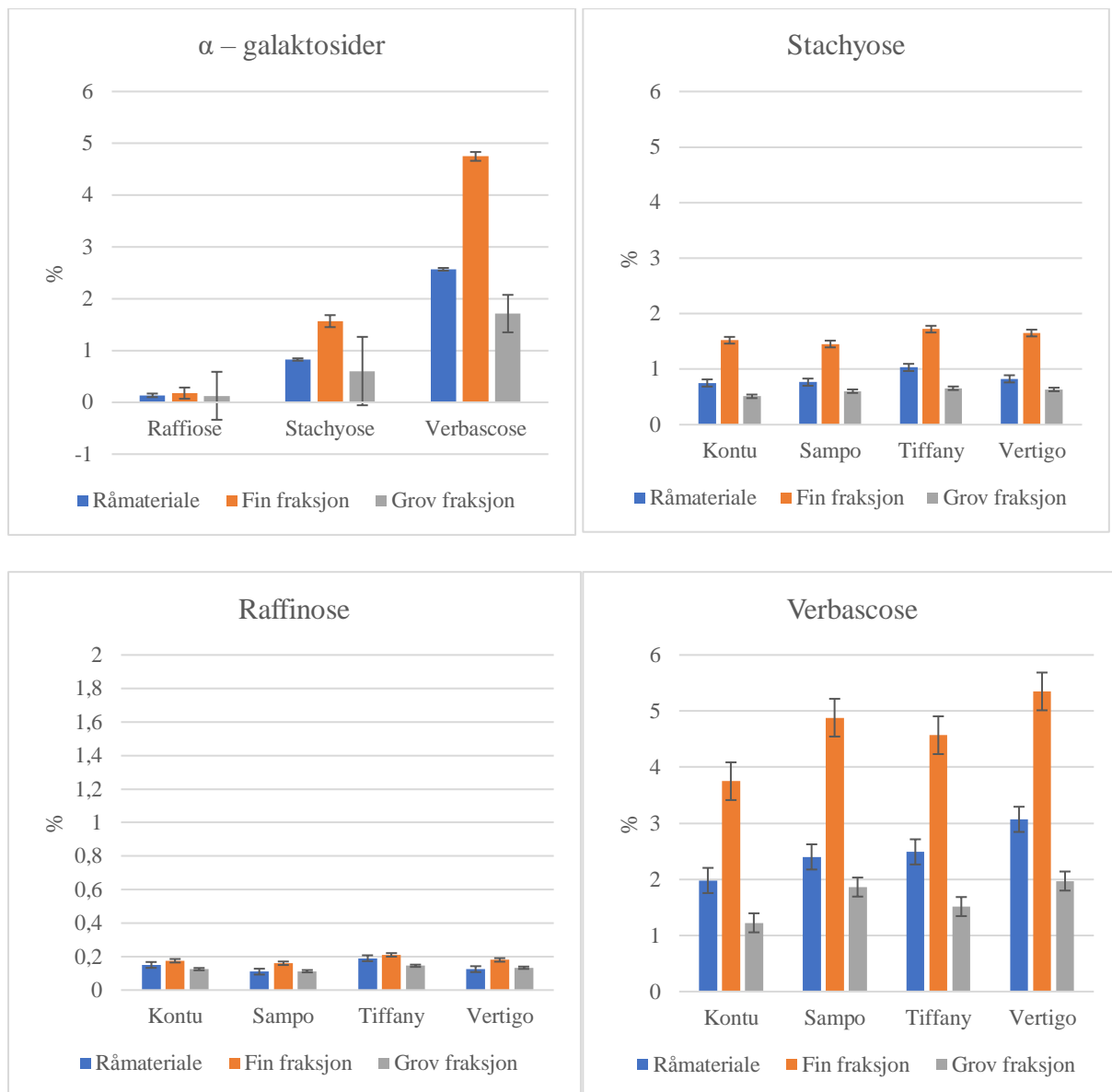


Figur 19 Kromatogram av Vertigo 2018 FF, 10 000 rpm. Kurvene viser innhold av glukose, fruktose, melibiose standard, sukrose, raffinose, stachyose og verbascose. Den røde linjen viser at de ble integrert manuelt, og beregninger for AUC (area under the curve) ble beregnet av dataprogrammet.



Figur 20 Kromatogram av Vertigo 2018 GF, 10 000 rpm. Kurvene viser innhold av glukose, fruktose, melibiose standard, sukrose, raffinose, stachyose og verbascose. Den røde linjen viser at de ble integrert manuelt, og beregninger for AUC (area under the curve) ble beregnet av dataprogrammet.

Figur 21 viser innhold av α – galaktosider (raffinose, stachyose og verbasose) fordelt i råmateriale, FF og GF. Det er tydelig at mengden stachyose og verbasose anrikes i FF. Kontu er sorten med lavest innhold av verbasose og Vertigo er sorten med høyest innhold av verbasose.



Figur 21 Innhold (%) av α – galaktosider; stachyose, raffinose og verbasose i råmateriale, FF og GF. Stolpene presenterer gjennomsnittene av alle de seks råmaterialene og FF og GF fraksjonert ved 10 000 rpm. Alle verdier er presentert i prosent pr 100 g tørrstoff.

Tabell 12 viser innhold av α – galaktosider i råmateriale og FF. I råmateriale hadde Tiffany signifikant høyere innhold av raffinose enn Vertigo 2017, Vertigo 2018 og Sampo 2018. Det ble ikke målt forskjeller i stachyose, og Vertigo (2017 og 2018) hadde et signifikant høyere innhold av verbasose sammenlignet med Kontu. Tabellen viser at det ble funnet signifikante forskjeller mellom sortene i FF. I likhet med resultatene for råmateriale, hadde Tiffany et signifikant høyere innhold av raffinose enn Sampo 2018 og Kontu. Tiffany hadde et signifikant høyere innhold av stachyose sammenlignet med Sampo 2017, Sampo 2018 og Kontu. For verbasose var det Vertigo 2017 som skilte seg ut. Vertigo 2017 hadde signifikant større innhold av verbasose sammenlignet med Kontu. I GF ble det ikke funnet signifikante forskjeller mellom sortene.

Tabell 12 Innhold av raffinose, stachyose, verbasose og totalt innhold av α – galaktosider (raffinose, stachyose og verbasose) i prosent i råmateriale og FF. Råmateriale er gjennomsnitt av tre målinger og FF er snitt av fire målinger (to målinger fra hver av de to tekniske gjentakene utført ved 10 000 rpm. Resultat fra Tukey-s test er presentert som bokstaver. De som har bokstaver som er ulike fra hverandre, er signifikant forskjellige. P – verdien er beregnet via enveis ANOVA, og en lav P – verdi, mindre enn 0,005, gir signifikant forskjell mellom sortene.

	Vertigo 2017	Vertigo 2018	Sampo 2017	Sampo 2018	Tiffany	Kontu
Råmateriale						
Raffinose	0,11 ^{B,C}	0,13 ^{A,B,C}	0,13 ^{B,C}	0,09 ^C	0,18 ^A	0,15 ^{A,B}
P-verdi	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Stachyose	0,80 ^A	0,85 ^A	0,80 ^A	0,73 ^A	1,03 ^A	0,75 ^A
P-verdi	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
Verbasose	3,11 ^A	3,03 ^A	2,12 ^{A,B}	2,68 ^{A,B}	2,49 ^{A,B}	1,75 ^B
P-verdi	0,026	0,026	0,026	0,026	0,026	0,026
α – galaktosider	4,0 ^A	4,0 ^A	3,1 ^{A,B}	3,5 ^{A,B}	3,7 ^{A,B}	2,9 ^B
P-verdi	0,032	0,035	0,035	0,035	0,035	0,035
FF						
Raffinose	0,18 ^{A,B,C}	0,18 ^{A,B}	0,18 ^{A,B}	0,14 ^C	0,21 ^A	0,17 ^{B,C}
P-verdi	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Stachyose	1,67 ^{A,B,C}	1,64 ^{A,B}	1,46 ^{B,C}	1,45 ^C	1,72 ^A	1,52 ^{B,C}
P-verdi	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
Verbasose	5,83 ^A	5,11 ^{A,B}	4,49 ^{B,C}	5,27 ^{A,B}	4,57 ^{B,C}	3,75 ^C
P-verdi	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
α – galaktosider	7,7 ^A	6,9 ^{A,B}	6,1 ^{B,C}	6,9 ^{A,B}	6,5 ^B	5,5 ^C
P-verdi	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002

4 DISKUSJON

Åkerbønner er aktuelle for dyrking i Norge. I dette forsøket ble fire sorter åkerbønner fra prosjektet FoodProFuture, tørrfraksjonert ved fire ulike hastigheter. Sortene Vertigo og Sampo ble valgt ut fra to vekstsesonger, fordi sesongene 2017 og 2018 var ulike fra hverandre. Målet var å teste om sortene reagerte likt på prosesseringen, og undersøke hvordan proteininnhold og mengdeutbytte varierte med økende fraksjoneringshastighet. Etter tørrfraksjoneringen ble det utført følgende analyser for å bestemme ulike egenskaper til råmaterialene og utvalgte fraksjoner; proteininnhold, innhold av stivelse, vanninnhold, partikkelstørrelse, vannbindingsevne, oljebindingsevne og lavmolekylære karbohydrater.

4.1 TØRRFRAKSJONERING

I tørrfraksjoneringsprosessen blir proteinpartikler og stivelseskorn separert fra hverandre basert på tetthet, form, størrelse og vekt (Schutyser et al., 2015), og fordelt i en proteinrik fraksjon (FF), og en stivelsesrik fraksjon (GF). Økende fraksjoneringshastighet vil gi høyere proteininnhold i FF, mens mengdeutbytte av denne vil bli redusert. Ved optimalisering vil målet være å finne en balanse mellom høyt proteininnhold i FF og så høyt mengdeutbytte som mulig. Kravet til proteininnhold vil variere i forhold til hva fraksjonene skal brukes til.

Sorten Vertigo 2017 ble brukt til å teste tørrfraksjoneringsprosessen og studere effekten av økende fraksjoneringshastighet. Dette ble gjort ved å teste 6 fraksjoneringshastigheter fra 4 000 til 15 000 rpm. Resultatene ble som forventet, at proteininnholdet økte ved økende fraksjoneringshastighet, hvor en øking av hastighet opp til 10 000 rpm ga økende proteininnhold. Å øke hastigheten ytterligere ga ikke høyere proteininnhold for sorten Vertigo 2017. På bakgrunn av resultatene fra forforsøket, ble de fem andre sortene i hovedforsøket fraksjonert ved følgende hastigheter: 4 000, 6 000, 10 000 og 15 000 rpm. De nevnte hastighetene ble valgt for å se om alle sortene responderte likt med hensyn på fraksjoneringshastighet, og om noen av sortene var bedre egnet til tørrfraksjonering enn andre.

4.1.1 Vanninnhold

Vanninnholdet i råmateriale for Vertigo, Sampo og Kontu var mellom 9 – 9,9 %. Disse prøvene var lagret i samme rom på Vollebekk forsøksgård over lengre tid, og vanninnholdet hadde justert seg i forhold til RH i rommet. Tiffany hadde noe høyere vanninnhold (11,2 %), og dette kan skyldes lagringsbetingelsene, da bønnene var lagret hos NIBIO før de ble brakt til Nofima. Vanninnholdet ble ikke justert før maling og videre fraksjonering. Maling og fraksjonering gir uttørking, og høyere fraksjoneringshastighet synes å gi mer uttørking. Det ble ikke undersøkt effekt av vanninnhold på tørrfraksjonering i dette prosjektet, men det kan være aktuelt å undersøke nærmere, da det kan finnes en sammenheng mellom vanninnhold i råmateriale og proteininnhold i FF.

I dette forsøket var vanninnholdet i gjennomsnitt for FF og GF henholdsvis 6,9 % og 6,9 % ved 15 000 rpm. Gunawardena et al., (2010) har tidligere beskrevet lignende resultat; FF 6,4 % og GF 7,5 %. En annen studie målte følgende vanninnhold i råmateriale, FF og GF; 14,9 %, 7,7 % og 8,5 %. (Saldanha do Carmo et al., 2020). Vanninnholdet i råmateriale var relativt høyt i studien til Saldanha do Carbo et al., (2020) og dette kan være grunnen til at vanninnholdet i FF og GF var litt høyere sammenlignet med denne oppgaven.

4.1.2 Mengdeutbytte

Mengdeutbytte er andelen FF og GF av det totale utbytte. Resultatene viste at mengdeutbytte i FF og GF for alle sorter i stor grad fulgte den samme trenden. Lav fraksjoneringshastighet ga som forventet høyt mengdeutbytte i FF, og lavt mengdeutbytte i GF. Med økende fraksjoneringshastighet, sank andelen FF og andelen GF økte. Ved 10 000 rpm ble det målt signifikante forskjeller mellom sortene i FF. Sortene Sampo 2017 og Kontu hadde et signifikant høyere mengdeutbytte enn sortene Vertigo 2018 og Tiffany.

Som forventet, ble det laveste mengdeutbyttet av FF målt ved den høyeste fraksjoneringshastigheten (15 000 rpm). Dette kommer av at teorien tilsier at økende fraksjoneringshastighet gir synkende mengdeutbytte av FF. Ved 15 000 rpm hadde FF og GF i snitt for alle sortene et mengdeutbytte på henholdsvis 20,7 % og 79,3 %. Disse målingene er tilsvarende det Saldanha do Carmo et al., (2020) har målt tidligere med den samme fraksjoneringshastigheten, hvor mengdeutbytte til FF og GF var henholdsvis 24,9 % og 73,2 %. Resultatene fra dette forsøket stemmer derfor overens med teorien, om at ved økende fraksjoneringshastighet synker andelen FF og andelen GF øker.

4.1.3 Proteininnhold og innhold av stivelse

I råmaterialene ble det målt et proteininnhold fra 28,1 % til 36,6 %, hvor Tiffany hadde det laveste proteininnholdet og Sampo 2018 hadde det høyeste proteininnholdet. Dette stemmer med tidligere studier, hvor proteininnholdet i åkerbønner kan variere mellom 20 % og 41 %, avhengig av sort (Vidal-Valverde et al., 1998). Etter å ha analysert proteininnholdet i alle FF, var det tydelig at proteininnholdet i FF, økte ved økende fraksjoneringshastighet. Analysene viste at for fire av sortene var proteininnholdet høyest i FF behandlet med 15 000 rpm.

For FF var den største økningen av proteininnhold i økningen fra 4 000 til 6 000 rpm, hvor proteininnholdet i gjennomsnitt økte med 21 prosentpoeng, opp til 58,9 %. Da hastigheten ble økt fra 6 000 til 10 000 rpm, økte proteininnholdet i gjennomsnitt 12 prosentpoeng. Ved denne hastigheten hadde Sampo signifikant høyere proteininnhold i begge prøver (2017 og 2018) sammenlignet med de tre andre sortene. Å øke hastigheten til 15 000 rpm ga ikke et høyere proteininnhold for Vertigo 2017 eller Tiffany. For de fire andre økte proteininnholdet enda litt til, og de høyeste proteinmålingene ble målt i Vertigo 2018 (78,5 %) og Sampo 2018 (78,3 %). Resultatene viste at det ble oppnådd høyt proteininnhold i FF ved 10 000 rpm, og at det er lite å hente på å gå høyere enn dette, siden det blir tapt mengdeutbytte. Proteininnholdet som ble målt ved 10 000 rpm var høye, og høye nok for mange aktuelle anvendelse f.eks. for videre tørr og våt ekstrudering, og det er en interessant ingrediens for proteinberiking i mange typer matprodukter.

Proteininnholdet i FF er i overenstemmelse med tidligere studier. I dette forsøket var proteininnholdet i gjennomsnitt 69,4 % og 71,7 % ved henholdsvis 10 000 og 15 000 rpm. Andre studier har målt proteininnhold i FF av åkerbønner fra 51,49 % til 69,9 % ved fraksjoneringshastigheter fra 11 000 til 15 000 rpm (Coda et al., 2015); (Sosulski & Youngs, 1979); (Gunawardena et al., 2010); (Schutyser et al., 2015). Resultatene viste at åkerbønner dyrket i Norge, og tilpasset et norsk klima er egnet for tørrfraksjonering, og at det er mulig å oppnå like resultat for proteininnhold som det er rapportert fra utlandet.

Resultatene fra proteininnholdet i FF ved 15 000 varierte mye mellom de ulike sortene. Vertigo 2017 hadde et proteininnhold på 63,8 % og Vertigo 2018 hadde et proteininnhold på 78,5 %. Dette er store forskjeller innen samme sort, og det kan være mange grunner til at proteininnholdet var så ulikt innen den samme sorten. En av grunnene til dette kan være tørrstoffinnholdet. Fraksjonene kan ha trukket til seg fukt etter at vanninnholdet ble analysert og dette kan ha påvirket proteininnholdet. En annen mulighet er at FF ikke var homogen fordelt,

og at proteinmålingen for Vertigo 2018 ble utført i en veldig proteinrik del, sammenlignet med Vertigo 2017, hvor det ble målt proteininnhold i en mindre proteinrik del av FF.

I proteinmålingene utført av FoodProFuture (Tabell 3) ga den tørre varme vekstsesongen 2018 et tydelig høyere proteininnhold sammenlignet med 2017. Analyser av proteininnhold i råmateriale for dette forsøket viste imidlertid ikke en tydelig forskjell mellom 2017 og 2018. Målinger av proteininnhold i råmaterialene i dette forsøket ga noe lavere verdier sammenlignet med målingene utført av FoodProFuture. Det var ikke forventet å finne så store variasjoner i det samme råmateriale. Et eksempel er at proteininnholdet i råmateriale av Vertigo 2018, ble i dette forsøket målt til 32 %. Dette er noe lavere enn det som ble målt av FoodProFuture på Vollebekk i 2017 (35,3 %). Det kan være flere grunner til at målingene ble ulike. En mulig årsak er at en mindre mengde prøvemateriale ble tatt ut, og at dette prøvemateriale ble sortert med sold for å få en mer homogen frøstørrelse. Dette medførte fjerning av frø av mindre størrelse, som kan være rike på protein.

Som forventet, sank proteininnholdet i GF ved økende fraksjoneringshastighet. Ved den høyeste fraksjoneringshastigheten ble det målt en liten økning i proteininnholdet. Ved fraksjoneringshastighet 10 000 rpm, hadde sortene i gjennomsnitt et proteininnhold i GF på 18,5 %. Sorten Sampo (2017 og 2018) hadde et signifikant høyere proteininnhold i GF sammenlignet med de andre sortene. Proteininnholdet i GF er i samsvar med en rekke tidligere studier av GF av åkerbønner. Det har tidligere blitt målt verdier mellom 14,4 % og 16,7 % for GF (Sosulski & Youngs, 1979); (Gunawardena et al., 2010); (Coda et al., 2015).

Tidligere studier av åkerbønner har vist at innholdet av stivelse i råmateriale varierer fra 28,2 % til 53,0 % (Coda et al., 2015); (Saldanha do Carmo et al., 2020); (Sosulski & Youngs, 1979); (Vidal-Valverde et al., 1998). Tilsvarende verdier ble målt i dette forsøket, hvor gjennomsnittet var 43,8 % stivelse i råmaterialene. Det ble målt innhold av stivelse i FF fraksjonert ved 10 000 rpm. I gjennomsnitt var innholdet av stivelse 5,5 %, som er i samsvar med en tidligere måling av FF av åkerbønner (15 000 rpm), hvor det ble målt 7,9 % stivelse (Saldanha do Carmo et al., 2020). I gjennomsnitt sank andelen stivelse med 38,3 prosentpoeng fra råmateriale til FF fraksjonert ved 10 000 rpm. Sampo 2017 var sorten med lavest innhold av stivelse i råmateriale og en av de med høyest innhold av protein. I FF hadde Sampo 2017 et proteininnhold på 72,7 % og stivelseinnhold på 4,7 %. Tiffany hadde høyest innhold av stivelse og lavest proteininnhold både i målinger av råmateriale og i FF. Resultatene viste at i FF var det et forhøyet proteininnhold og et redusert innhold av stivelse i alle sortene.

4.1.4 Total proteinmengde og proteinutbytte

Total proteinmengde er det totale innholdet av protein i FF, beregnet ut ifra proteininnhold i FF, mengdeutbytte og tørrstoffinnholdet i FF. I råmateriale var hele proteinmengden tilstede, og etter fraksjonering var proteinene fordelt i FF og GF. Det var tydelig at sortene responderte likt på fraksjoneringen. Resultatene viste at når hastigheten økte, sank den totale mengden protein i FF. Dette kommer av at proteininnholdet øker, samtidig som total proteinmengde synker. Sampo 2017 hadde et signifikant høyere total proteinmengde enn Vertigo 2017, Vertigo 2018 og Tiffany.

Proteinutbytte er prosentandelen protein fra råmateriale som ble funnet igjen i FF. Det tekniske gjentakert utført ved 10 000 rpm førte ikke til signifikante forskjeller innen, eller mellom sortene i proteinutbytte. I råmateriale var 100 % av protein tilstede, og ved økende fraksjoneringshastighet, sank andelen protein. For FF hadde sortene i gjennomsnitt et proteinutbytte på 53,8 % (10 000 rpm) og 40,1 % (15 000 rpm). Lignende resultat for åkerbønner (FF, 15 000 rpm) har blitt beskrevet før; 67,0 % (Coda et al., 2015) og 49,0 % (Saldanha do Carmo et al., 2020). Resultatene fra dette forsøket viste at proteinutbytte var noe lavere enn de resultatene som har blitt beskrevet i de to nevnte kildene. Dette kan komme av ulike grunner, eksempelvis små variasjoner i beregning av resultatene.

4.1.5 Tap under fraksjoneringsprosessen

I dette forsøket var tapet lavest ved den lavest fraksjoneringshastigheten (4 000 rpm) og økte med økende fraksjoneringshastighet. I gjennomsnitt hadde batchene et tap på 55 g eller 11,0 %. Det var to målinger som skilte seg ut, da de var høyere enn alle andre; Sampo 2017 (6 000 rpm) og Vertigo 2017 (15 000 rpm). Selv om tapet var stort i de to målingene, ble det ikke observert effekt av dette på proteininnhold eller mengdeutbytte i FF eller GF, og det blir antatt at det skyldes tilfeldigheter.

Det meste av tapet under tørrfraksjoneringen var mekanisk tap i selve fraksjoneringsystemet, det vil si at mel ble liggende igjen i utstyret. Noe av råmateriale ble også liggende igjen i materen, da det ikke var mulig å få alt ut av materen og gjennom systemet. Det ble brukt batcher på 500 g gjennom hele forsøket. For å teste effekten av produksjonsskala på tap, ble det kjørt en batch på 1 000 g (Sampo 2017, 15 000 rpm). Dette var for å finne ut om resultatene ble annerledes dersom batchen var på 1 000 g istedenfor på 500 g. Sampo 2017 (15 000 rpm) hadde et tap på 11,8 %, som var tilsvarende tapet for batcher på 500 g. Det ble derfor ikke påvist effekt av mengde råmateriale.

4.1.6 Partikkelstørrelsefordeling for FF

Partikkelstørrelsefordeling for FF (10 000 rpm) ble målt for å bekrefte om fordelingen av partikler var lik mellom de ulike sortene åkerbønner. Proteinpartikler i åkerbønner har en størrelse mellom 1 og 5 μm (Pernollet, 1978) og stivelseskorn har en størrelse mellom 20 og 30 μm (Bramsnaes & Olsen, 1979); (Schutyser & van der Goot, 2011). Resultatene i dette forsøket var tilsvarende mellom de ulike sortene, og i gjennomsnitt hadde 90 % av partiklene en diameter på 19 μm eller mindre. Dette tyder på at separasjonen av partikler har vært optimal, da 19 μm er mindre enn størrelsen til stivelseskorn og det tyder på at FF inneholder mest proteinpartikler og lite stivelse.

Partikkelstørrelsefordelingen var lik for alle de fire sortene. Dette var forventet, da alle sortene var behandlet med samme innstillinger under maling og tørrfraksjonering. Resultatene forteller at tørrfraksjoneringen har fungert, da det har blitt separert partikler som har lik størrelse, og dette indikerer at klassifiseringshjulet har klart å separere ut proteinpartikler fremfor stivelseskorn under tørrfraksjoneringsprosessen. Pelgrom et al., (2013) beskrev lignende resultat ved fraksjonering av åkerbønner, hvor andelen partikler med størrelse 17 – 26 μm sank kraftig ved fraksjonering ved 8 000 rpm. En annen studie, utført av Coda et al., (2015), målte at 75 % av partiklene var 18,8 μm eller mindre i diameter for FF fraksjonert ved 15 000 rpm.

4.2 FUNKSJONELLE EGENSKAPER

Analysen av VBE viste at råmateriale hadde større evne til å binde seg til vann, i gjennomsnitt 98,7 %, sammenlignet med FF. VBE til FF 10 000 rpm og 15 000 rpm var i gjennomsnitt 49,7 % og 68,9 %. Det ble ikke påvist signifikant forskjell mellom sortene. En av grunnene til at råmateriale hadde en større evne å binde seg til vann sammenlignet med FF, kan være at råmateriale inneholder mer fiber enn FF, og fiber har evnen til å binde seg til vann (Singh et al., 2017). Siden VBE var høyere for 15 000 rpm enn 10 000 rpm, kan det tyde på at noe som følger FF har evne til å binde seg til vann. Fraksjoner med høyt proteininnhold inneholder små partikler, og små stivelse fragmenter, som begge kan bidra til høyere VBE (Pelgrom et al., 2013).

Andre kilder beskrevet varierende resultat for VBE til åkerbønner og FF. Sosulski & Youngs (1979), målte 86,0 % VBE i råmateriale og 33,0 % i FF. Saldanha do Carmo et al., (2020) rapporterte om 58,0 % VBE i FF. Resultatene i dette forsøket og VBE fra de to nevnte kildene, viser store variasjoner, og dette kan indikere at VBE til FF ikke er helt forstått og at det burde

undersøkes mer. Variasjonen i disse resultatene kan komme av ulike grunner som eksempel variasjon i fraksjoneringsbetingelser og bruk av ulike sorter åkerbønner.

OBE ble målt i FF 10 000 rpm og 15 000 rpm, ved å måle mengde olje absorbert pr gram tørrstoff. Resultatene viste liten variasjon mellom prøvene. For FF fraksjonert ved 10 000 rpm og 15 000 ble OBE i gjennomsnitt målt til henholdsvis 119,6 % og 118,8 %. Resultatene stemmer med tidligere studier av FF av åkerbønner, hvor OBE ble målt til henholdsvis 94,0 % og 115,0 % (Sosulski & Youngs, 1979) og (Saldanha do Carmo et al., 2020). Det er nødvendig å vite OBE og VBE til de ulike fraksjonene, da dette er egenskaper som kan påvirke prosesseringen dersom fraksjonene skal brukes videre i produksjon av matvarer.

4.3 LAVMOLEKYLÆRE KARBOHYDRATER

I denne oppgaven var det spesielt interessant å studere innholdet av α – galaktosider (raffinose, stachyose og verbascose), da de betraktes som antinæringsstoffer, og det er komponenter en ønsker lavt innhold av. Målinger av LMV-Karb viste at de ulike sukkerne ble separert fra hverandre. På bakgrunn av en vellykket separasjon, var det mulig å måle AUC ved bruk av integrasjon og videre beregninger gjorde det mulig å bestemme innhold av alle sukkerne i de ulike prøvene.

I dette forsøket hadde råmaterialene et gjennomsnitt på 5,8 % totalt innhold av LMV-Karb. Dette er i samsvar med tidligere studier, hvor innholdet i åkerbønner har blitt målt fra 5,2 % til 8,9 % (Bhatty & Christison, 1984); (Rupérez, 1998). Totalt innhold av LMV-Karb ble målt i FF, hvor resultatene viste 7,4 % i gjennomsnitt, som stemmer med et tidligere studie, hvor det ble målt 7,1 % LMV-Karb i FF (Bhatty & Christison, 1984). Det totale innholdet av LMV-Karb var signifikant høyere for FF sammenlignet med råmateriale. Det ble også funnet at det totale innholdet av LMV-Karb var signifikant lavere for GF sammenlignet med råmateriale.

Studier har vist at i åkerbønnemel er det totale innholdet av α – galaktosider 3,0 – 4,7 % (Bhatty & Christison, 1984); (Landry et al., 2016); (Vidal-Valverde et al., 1998). I dette forsøket hadde sortene i gjennomsnitt 3,5 % i råmateriale. Av de tre α – galaktosidene var det verbascose som hadde høyest innhold, med 2,6 % i gjennomsnitt. Dette er tilsvarende verdier funnet for verbascose i åkerbønner, hvor innholdet var 1,8 – 3,3 % (Bhatty & Christison, 1984); (Landry et al., 2016); (Vidal-Valverde et al., 1998); (Rupérez, 1998).

I FF var det totale innholdet av α – galaktosider 6,6 % i gjennomsnitt, hvor verbascose var mest dominant. I Vertigo 2017 ble det målt et signifikant høyere innhold av verbascose sammenlignet

med Kontu. Målingene av verbasose indikerer at antinæringsstoffene følger FF. Resultatene viser at verbasose følger proteinene, og for en forhøyet konsentrasjon i FF, slik det har blitt målt tidligere studier (Coda et al., 2015); (Bhatty & Christison, 1984). Dette er uønsket, og det er nødvendig å forske videre på hvorfor antinæringsstoffene følger FF og eventuelle måter å redusere dem på. Den varmebehandlet prøven (RVA) av Kontu, hadde tilsvarende resultat som FF. Den eneste differansen mellom FF og RVA prøven, var at RVA prøvene hadde noe lavere innhold av sukrose. Dette tyder på at varmebehandling av FF, i dette tilfellet utført med RVA behandling, ikke fører til redusert innhold av α – galaktosider.

4.4 ÅKERBØNNER OG KIKERTER

Tørrfraksjonering har blitt utført på andre typer belgvekster, eksempelvis kikerter (Schutyser et al., 2015). Åkerbønner og kikerter har flere likheter både i næringsinnhold og fraksjoneringssegenskaper. Resultatene i denne oppgaven, har gitt flere av de samme verdiene som er målt for tørrfraksjonering av kikerter. Tilsvarende funnene i denne oppgaven, viser forskning at antinæringsstoffene i kikertmel følger FF, hvor særlig α -galaktosidene raffinose, stachyose og verbasose ser ut til å berikes i FF (Hall et al., 2017). I et tidligere tørrfraksjoneringsforsøk av kikerter, ble VBE målt til 52,0 % (FF fraksjonert ved 10 000 rpm) (Xing et al., 2020). Dette er tilsvarende verdiene målt i dette forsøket, hvor VBE til FF i gjennomsnitt var 49,7 % ved samme hastighet. Egenskapene målt i dette forsøket er nødvendige å studere, dersom FF skal benyttes som ingredienser i ulike matvarer. Vannbindingsevne (VBE) og oljebindingsevne (OBE) er viktige funksjonelle egenskaper, og er av stor betydning dersom FF skal brukes som en ingrediens i ulike matvarer, siden de påvirker munnfølelse, struktur og smak i matvarene de blir tilsatt i.

4.5 OPPSUMMERING

Det er viktig å optimalisere fraksjoneringen i forhold til egenskapene som ønskes. En må lage et kompromiss mellom proteininnhold i FF og et synkende mengdeutbytte for å finne en optimal balanse mellom vinn og tap. Fraksjonering ved stigende hastigheter ga som forventet et økt proteininnhold i FF. Den optimale fraksjoneringshastigheten for sortene i dette forsøket ser ut til å være 10 000 rpm. Ved denne hastigheten hadde FF i gjennomsnitt et proteininnhold på 69,0 %, proteinutbytte på 53,8 %, og mengdeutbytte på 28,0 %.

Det er mange faktorer som kan påvirke tørrfraksjoneringsprosessen av åkerbønner og derfor kan det være av interesse å utforske flere aspekter ved denne prosessen. Det er aktuelt å undersøke flere typer åkerbønner dyrket i Norge over flere sesonger. Det kan være interessant å studere hvordan vanninnholdet i hele åkerbønner påvirker fraksjoneringsprosessen og i andre fremtidige prosjekter kan det også være aktuelt å studere proteinløselighet i fraksjonene for å kunne forstå VBE i en større grad.

5 KONKLUSJON

Denne oppgaven har fremskaffet mer kunnskap om tørrfraksjonering av åkerbønner. Det har vært fokus på sammenhengen mellom proteininnhold og mengdeutbytte av FF, og hvordan dette varierer i ulike sorter dyrket under ulike vekstbetingelser i Norge. Resultatene viste noen variasjoner mellom sortene, men de responderte likevel ganske likt på tørrfraksjoneringen. Alle sortene fikk et forhøyet proteininnhold i FF, og et lavere mengdeutbytte i FF ved økende fraksjoneringshastighet. Sorten Sampo hadde signifikant høyere proteininnhold i FF sammenlignet med de andre sortene etter fraksjonering ved 10 000 rpm. Resultatene viste at sortene Sampo og Vertigo som dyrkes i Norge, er godt egnet for tørrfraksjonering.

Analysemetoden LMV-Karb har gitt nødvendig informasjon om at α – galaktosidene ser ut til å følge FF. At disse ser ut til å konsentreres i FF kan gi noen utfordringer koblet til FODMAP. Dette gjør at det er nødvendig å fortsette forskningen på LMV-Karb innholdet i FF, og finne eventuelle muligheter for reduksjon av enkelte av disse komponentene.

Videre er det nødvendig å utføre tørrfraksjonering av flere sorter åkerbønner fra flere ulike dyrkingssesonger. Selv om materiale med hensyn på sorter og dyrkingssesonger har vært begrenset i denne oppgaven, har oppgaven gitt viktig informasjon som tyder på at åkerbønner dyrket i Norge er godt egnet for tørrfraksjonering.

6 REFERANSER

- AACC. (1968). *Hydration Capacity of Pregelatinized Cereal Products - 56-20.01. 1*, 1953.
- AACC. (1995). Total Starch Assay Procedure (Megazyme Amyloglucosidase/ α -Amylase Method). *AACC International Approved Methods*, 0(reagent 7), 1–6.
- AACC. (2009). General Pasting Method for Wheat or Rye Flour of Starch Using the Rapid Visco Analyser. *AACC International Approved Methods*, 2–5.
<https://doi.org/10.1094/aaccintmethod-76-21.01>
- Abrahamsen, U., Waalen, W. M., & Uhlen, A. K. (2017). Sortsforsøk i erter og åkerbønne. *NIBIO BOK*, 4(1), 159–166.
- Aiking, H. (2011). Future protein supply. *Trends in Food Science and Technology*, 22(2–3), 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.005>
- Almås, R. (2012). *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon.
<https://snl.no/matvaresikkerhet>
- Basumallick, L., & Rohrer, J. S. (2020). Determination of Carbohydrates in Acid Hydrolysates of Wood. *ThermoFisher Application Update*, 1089.
<https://www.thermofisher.com/content/dam/tfs/ATG/CMD/CMD Documents/Application & Technical Notes/Chromatography/Ion Chromatography/AN-1089-Carbohydrates-Acid-Hydrolysates-Wood-AN70941-EN.pdf>
- Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2019). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 93(228), 53–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.022>
- Bhatty, R. S., & Christison, G. I. (1984). Composition and nutritional quality of pea (*Pisum sativum* L.), faba bean (*Vicia faba* L. spp. minor) and lentil (*Lens culinaris* Medik.) meals, protein concentrates and isolates. *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*, 34(1), 41–51. <https://doi.org/10.1007/BF01095071>
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. In *Food Research International* (Vol. 43, Issue 2, pp. 414–431). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Bramsnaes, F., & Olsen, H. S. (1979). Development of field pea and faba bean proteins.

Journal of the American Oil Chemists' Society, 56(3), 450–454.

<https://doi.org/10.1007/BF02671537>

Bruinsma, J. (2014). The resource outlook to 2050. By how much do land, water and crop yields need to increase by 2050? *Dictionary Geotechnical Engineering/Wörterbuch GeoTechnik*, June, 1075–1075. https://doi.org/10.1007/978-3-642-41714-6_180309

Coda, R., Melama, L., Rizzello, C. G., Curiel, J. A., Sibakov, J., Holopainen, U., Pulkkinen, M., & Sozer, N. (2015). Effect of air classification and fermentation by *Lactobacillus plantarum* VTT E-133328 on faba bean (*Vicia faba* L.) flour nutritional properties. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.012>

Crépon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P., & Duc, G. (2010). Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. In *Field Crops Research*. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.09.016>

Czuber-Dochan, W., Morgan, M., Hughes, L. D., Lomer, M. C. E., Lindsay, J. O., & Whelan, K. (2020). Perceptions and psychosocial impact of food, nutrition, eating and drinking in people with inflammatory bowel disease: a qualitative investigation of food-related quality of life. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 33(1), 115–127. <https://doi.org/10.1111/jhn.12668>

Dijkink, B. H., Speranza, L., Paltsidis, D., & Vereijken, J. M. (2007). Air dispersion of starch-protein mixtures: A predictive tool for air classification performance. *Powder Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2006.10.039>

Dugstad, A. (2010). Korrosjon av karbonstål i olje / gassblandinger med CO₂ og H₂S. *Technology*, november, 1–2.

Foyer, C. H., Lam, H. M., Nguyen, H. T., Siddique, K. H. M., Varshney, R. K., Colmer, T. D., Cowling, W., Bramley, H., Mori, T. A., Hodgson, J. M., Cooper, J. W., Miller, A. J., Kunert, K., Vorster, J., Cullis, C., Ozga, J. A., Wahlqvist, M. L., Liang, Y., Shou, H., ... Considine, M. J. (2016). Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. *Nature Plants*, 2(8). <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2016.112>

Gibson, P. R., & Shepherd, S. J. (2010). Evidence-based dietary management of functional gastrointestinal symptoms: The FODMAP approach. *Journal of Gastroenterology and*

- Hepatology (Australia)*, 25(2), 252–258. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.06149.x>
- Griffiths, D. W., & Ramsay, G. (1996). The distribution of pyrimidinone glucosides in developing seedlings of *Vicia faba* and *Vicia narbonensis*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(4), 469–475. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199612\)72:4<469::AID-JSFA681>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199612)72:4<469::AID-JSFA681>3.0.CO;2-P)
- Guillon, F., & Champ, M. M.-J. (2002). Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *British Journal of Nutrition*, 88(S3), 293–306. <https://doi.org/10.1079/bjn2002720>
- Gunawardena, C. K., Zijlstra, R. T., & Beltranena, E. (2010). Characterization of the nutritional value of air-classified protein and starch fractions of field pea and zero-tannin faba bean in grower pigs. *Journal of Animal Science*, 88(2), 660–670. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-1980>
- Hall, C., Hillen, C., & Robinson, J. G. (2017). Composition, nutritional value, and health benefits of pulses. *Cereal Chemistry*, 94(1), 11–31. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0069-FI>
- Helsper, J. P. F. G., Hoogendijk, J. M., van Norel, A., & Burger-Meyer, K. (1993). Antinutritional Factors in Faba Beans (*Vicia faba* L.) As Affected by Breeding toward the Absence of Condensed Tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(7), 1058–1061. <https://doi.org/10.1021/jf00031a008>
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A., Fenelon, M., & Tiwari, B. (2017). Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. *Foods*, 6(7), 53. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>
- Heusala, H., Sinkko, T., Sözer, N., Hytönen, E., Mogensen, L., & Knudsen, M. T. (2020). Carbon footprint and land use of oat and faba bean protein concentrates using a life cycle assessment approach. *Journal of Cleaner Production*, 242, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118376>
- I. J. Rochester, M. B. Peoples, G. A. and R. R. G. (1998). Faba beans and other legumes add nitrogen to irrigated cotton cropping systems Faba beans and other legumes add nitrogen to irrigated cotton cropping systems. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 38, 253–260.

- Jezierny, D., Mosenthin, R., & Bauer, E. (2010). The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: A review. In *Animal Feed Science and Technology* (pp. 111–128). <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.001>
- Jung, S., Rickert, D. A., Deak, N. A., Aldin, E. D., Recknor, J., Johnson, L. A., & Murphy, P. A. (2003). Comparison of Kjeldahl and Dumas Methods for Determining Protein Contents of Soybean Products. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(12), 1169–1173. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0837-3>
- Khokhar, S., & Apenten, R. K. O. (2016). Antinutritional factors in food legumes and effects of processing. *The Role of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries in Human Nutrition*, 4(May), 82–116.
- Kiosseoglou, V., & Paraskevopoulou, A. (2011). Functional and Physicochemical Properties of Pulse Proteins. In *Pulse Foods* (pp. 57–90). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382018-1.00003-4>
- Knudsen, K. E. B., Li, B. W., & Knudsen, K. E. B. (1991). Determination of oligosaccharides in protein-rich feedstuffs by gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(4), 689–694. <https://doi.org/10.1021/jf00004a013>
- Landry, E. J., Fuchs, S. J., & Hu, J. (2016). Carbohydrate composition of mature and immature faba bean seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 50, 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.05.010>
- Multari, S., Stewart, D., & Russell, W. R. (2015). Potential of Fava Bean as Future Protein Supply to Partially Replace Meat Intake in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 511–522. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12146>
- Nehete, J., Bhambar, R., Narkhede, M., & Gawali, S. (2013). Natural proteins: Sources, isolation, characterization and applications. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), 107–116. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.120508>
- Nidhina, N., & Muthukumar, S. P. (2015). Antinutritional factors and functionality of protein-rich fractions of industrial guar meal as affected by heat processing. *Food Chemistry*, 173, 920–926. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.071>

- Nijdam, D., Rood, T., & Westhoek, H. (2012). The price of protein: Review of land use and carbon footprints from life cycle assessments of animal food products and their substitutes. *Food Policy*. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.08.002>
- Osen, R., Toelstede, S., Wild, F., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2014). High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: Raw material characteristics, extruder responses, and texture properties. *Journal of Food Engineering*, *127*, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.023>
- Øverland, J. I., & Viken, N. L. R. (2020a). Dyrkingsveiledning-åkerbønner. *Norsk Landbruksrådgiving*, 1–11.
- Øverland, J. I., & Viken, N. L. R. (2020b). Dyrkingsveiledning for åkerbønner. *Norsk Landbruksrådgiving*, 1–13.
- Pelgrom, P. J. M., Vissers, A. M., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. I. (2013). Dry fractionation for production of functional pea protein concentrates. *Food Research International*, *53*(1), 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.05.004>
- Pernollet, J.-C. (1978). Protein bodies of seeds: ultrastructure, biochemistry, biosynthesis and degradation. *Phytochemistry*, *17*, 1473–1480.
- Rupérez, P. (1998). Oligosaccharides in raw and processed legumes. *European Food Research and Technology*, *206*(2), 130–133. <https://doi.org/10.1007/s002170050228>
- Saldanha do Carmo, C., Silventoinen, P., Nordgård, C. T., Poudroux, C., Dessev, T., Zobel, H., Holtekjølen, A. K., Draget, K. I., Holopainen-Mantila, U., Knutsen, S. H., & Sahlstrøm, S. (2020). Is dehulling of peas and faba beans necessary prior to dry fractionation for the production of protein- and starch-rich fractions? Impact on physical properties, chemical composition and techno-functional properties. *Journal of Food Engineering*, *278*. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.109937>
- Schutyser, M. A. I., Pelgrom, P. J. M., van der Goot, A. J., & Boom, R. M. (2015). Dry fractionation for sustainable production of functional legume protein concentrates. *Trends in Food Science and Technology*, *45*(2), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.013>
- Schutyser, M. A. I., & van der Goot, A. J. (2011). The potential of dry fractionation processes for sustainable plant protein production. In *Trends in Food Science and Technology*.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.006>

Singh, A., Sharma, S., & Singh, B. (2017). Effect of germination time and temperature on the functionality and protein solubility of sorghum flour. *Journal of Cereal Science*.

<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.003>

Smýkal, P., Coyne, C. J., Ambrose, M. J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M. W., Berger, J., Greene, S. L., Nelson, M. N., Besharat, N., Vymyslický, T., Toker, C., Saxena, R. K., Roorkiwal, M., Pandey, M. K., Hu, J., Li, Y. H., Wang, L. X., Guo, Y., ... Varshney, R. K. (2015). Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for Science and Breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 43–104.

<https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897904>

Sosulski, F., & Youngs, C. G. (1979). Yield and functional properties of air-classified protein and starch fractions from eight legume flours. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56(3), 292–295. <https://doi.org/10.1007/BF02671477>

Suresh Kumar, K., Ganesan, K., Selvaraj, K., & Subba Rao, P. V. (2014). Studies on the functional properties of protein concentrate of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - An edible seaweed. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.058>

Svanes, E. (2019). *Life Cycle Assessment of the existing protein consumption in Norway*.

Tanno, K. I., & Willcox, G. (2006). The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: Early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium B.P. *Vegetation History and Archaeobotany*, 15(3), 197–204. <https://doi.org/10.1007/s00334-005-0027-5>

The Eat-Lancet Commission. (2019). Healthy Diets From Planet; Food Planet Health. In *Lancet*.

Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sotomayor, C., Diaz-Pollan, C., Fernandez, M., & Urbano, G. (1998). Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing. *European Food Research and Technology*, 207(2), 140–145.

<https://doi.org/10.1007/s002170050308>

Vilariño, M., Métayer, J. P., Crépon, K., & Duc, G. (2009). Effects of varying vicine, convicine and tannin contents of faba bean seeds (*Vicia faba* L.) on nutritional values for broiler chicken. *Animal Feed Science and Technology*.

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.08.001>

Wang, N., Hatcher, D. W., & Gawalko, E. J. (2008). Effect of variety and processing on nutrients and certain anti-nutrients in field peas (*Pisum sativum*). *Food Chemistry*, *111*(1), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.047>

Warsame, A. O., O’Sullivan, D. M., & Tosi, P. (2018). Seed Storage Proteins of Faba Bean (*Vicia faba* L): Current Status and Prospects for Genetic Improvement [Review-article]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(48), 12617–12626. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04992>

World Cancer Research Fund, A. I. for C. R. (2017). *Diet, nutrition, physical activity and colorectal cancer: Continuous Update Project 2017*. 111. <http://www.aicr.org/continuous-update-project/reports/colorectal-cancer-2017-report.pdf>

Xing, Q., Dekker, S., Kyriakopoulou, K., Boom, R. M., Smid, E. J., & Schutyser, M. A. I. (2020). Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solid state fermentation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *59*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102269>

7 VEDLEGG

VEDLEGG 1 – MENGDEUTBYTTE, PROTEIN, TOTALT PROTEININNHOLD OG PROTEINUTBYTTE

Tabell 13 Mengdeutbytte FF (%), mengdeutbytte GF (%), protein (N*6,25 %) råmateriale og FF, protein (N*6,25 %) råmateriale og GF, total proteinmengde (g) i FF og proteinutbytte (%) i FF. Hastighet 10 000 rpm er gjennomsnitt av de to tekniske gjentakene. Tabellen presenterer Tukey-s test og P-verdi, ved 10 000 rpm.

	Hastighet (rpm)	Vertigo 2017	Vertigo 2018	Sampo 2017	Sampo 2018	Tiffany	Kontu
Mengdeutbytte FF (%)	4 000	79,7	79,9	84,7	80,3	78,5	84,2
	6 000	42,2	41,3	54,6	48,6	42,6	48,1
	10 000	26,6	26,6 ±0,2	31,0 ±1,1	27,6 ±0,7	25,4 ±0,5	30,4 ±1,0
	15 000	20,3	18,8	25,1	21,1	18,3	20,6
	Tukey-s test	B, C	C	A	B, C	C	A, B
	P-verdi	-	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
Mengdeutbytte GF (%)	4 000	20,3	20,0	15,3	19,7	21,5	15,8
	6 000	57,8	58,7	45,4	51,4	57,8	51,9
	10 000	73,4	73,4 ±0,2	69,2 ±1,1	72,4 ±0,7	74,6 ±0,5	69,6 ±1,0
	15 000	79,7	81,3	74,9	78,9	81,7	79,4
	Tukey-s test	A, B	A	C	A, B	A	B, C
	P-verdi	-	0,0004	0,0004	0,0004	0,0004	0,0004
Protein (N*6,25 %) FF	Råmateriale	31,9	32,0	35,9	36,6	28,1	33,3
	4 000	34,4	35,2	41,5	39,9	31	36,2
	6 000	55,4	58,9	60,4	55,3	49,3	56,7
	10 000	67,5	69,1 ±0,4	72,7 ±1,2	73,4 ±0,6	65,1 ±0,5	68,8 ±0,5
	15 000	63,8	78,5	74,2	78,3	64,3	70,9
	Tukey-s test	B, C	B	A	A	C	B
	P-verdi	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Protein (N*6,25 %) GF	Råmateriale	31,9	32,0	35,9	36,6	28,1	33,3
	4 000	13,3	16,9	19,0	23,5	15,5	20,2
	6 000	13	13,4	16,5	19,7	12,6	12,9
	10 000	17,7	18,4 ±0,6	20,0 ±0,3	22,2 ±0,2	16,1 ±0,1	16,8 ±0,0
	15 000	22,7	22,4	22,4	23,7	20,3	21,4
	Tukey-s test	C, D	C	B	A	E	D, E

	P-verdi	-	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Total proteinmengde (g) i FF	Råmateriale	145,1	144,2	162,0	164,9	124,9	149,5
	4 000	117,3	118	141,7	136,6	102,5	129,7
	6 000	96,3	102,6	123,1	112,3	85,2	111,4
	10 000	67,5	75,8 ±1,1	92,1 ±4,4	83,2 ±1,4	67,4 ±2,2	86,1 ±0,0
	15 000	63,8	56,8	77,6	67,9	48,2	60,3
	Tukey-s test	C	B, C	A	A, B	C	A, B
	P-verdi	-	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Proteinutbytte FF (%)	Råmateriale	100	100	100	100	100	100
	4 000	80,8	81,8	87,5	82,8	82,1	86,8
	6 000	66,4	71,2	76,0	68,1	68,2	74,5
	10 000	51	52,6 ±0,8	56,9 ±2,7	50,5 ±0,9	54 ±1,8	57,6 ±1,3
	15 000	33,3	39,4	47,9	41,2	38,6	40,3
	Tukey-s test	A, B	A, B	A, B	B	A, B	A
	P-verdi	-	0,038	0,038	0,038	0,038	0,038

VEDLEGG 2 – TAP UNDER FRAKSJONERING

Tabell 14 Totalt tap (%) for alle sorter ved alle fraksjoneringshastigheter.

Hastighet (rpm)	Vertigo 2017 (%)	Vertigo 2018 (%)	Sampo 2017 (%)	Sampo 2018 (%)	Tiffany (%)	Kontu (%)
4 000	6,7	8,3	11,9	6,7	6,7	6,9
6 000	10,0	8,5	18,5	9,4	10,4	11,2
10 000	11,1	10,8	11,9	11,4	11,4	10,6
10 000	-	11,2	12,3	11,5	11,9	11,9
15 000	20,2	12,9	10,3	11,8	12,1	11,3
8 000	11,6	-	-	-	-	-
12 500	10,8	-	-	-	-	-

VEDLEGG 3 - VANNBINDINGSEVNE

Tabell 15 VBE til råmateriale og FF (10 000 rpm) for alle sorter. VBE til FF (15 000 rpm) ble målt i Vertigo 2018, Sampo 2018 og Kontu. Resultatene er gjennomsnitt av tre målinger og begge de tekniske gjentakene er vist i tabellen. Kun 2.gang er presentert i resultat.

Navn	2. gang	1. gang
V17 - råmateriale	122,3 ± 0,7	
V17 - 4	48,2 ± 0,3	69,6 ± 3,1
V18 – råmateriale	92,0 ± 1,2	
V18 - 3	38,8 ± 8,6	69,3 ± 17,7
V18 – 4	59,3 ± 7,3	91,6 ± 7,1
S17 – råmateriale	112,2 ± 3,3	
S17 - 3 -1	48,1 ± 3,2	52,1 ± 6,4
S18 - råmateriale	85,1 ± 1,2	
S18 – 3	38,7 ± 6,3	71,6 ± 7,7
S18 - 4	66,6 ± 3,9	53,3 ± 9,2
T – råmateriale	85,2 ± 1,2	
T - 3	69,6 ± 2,2	58,2 ± 13,6
K - råmateriale	94,7 ± 0,9	
K - 3	55,0 ± 4,2	44,9 ± 7,2
K - 4	80,9 ± 5,6	64,4 ± 8,5

VEDLEGG 4 - PARTIKKELSTØRRELSEFORDELING

Tabell 16 Partikkelstørrelse (μm) for FF (10 000 rpm) for alle sorter. Resultatene er gjennomsnitt av tre målinger. Eksempel Kontu: X10 = 10 % av partiklene er mindre enn 2,19 μm diameter. X50 = 50 % av alle partiklene er mindre enn 7,8 μm i diameter.

Sort	X10	X50	X90	X99
Vertigo 2017	2,2 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	19,5 \pm 0,2	36,2 \pm 0,4
Vertigo 2018	2,2 \pm 0	7,2 \pm 0,3	19,1 \pm 0,6	37,3 \pm 0,8
Sampo 2017	2,6 \pm 0	7,3 \pm 0,1	18,5 \pm 0,3	35,4 \pm 0,3
Sampo 2018	2,1 \pm 0,1	7,1 \pm 0,2	17,6 \pm 0,2	33,8 \pm 0,3
Tiffany	2,3 \pm 0,1	7,9 \pm 0,1	20,1 \pm 0,2	37,9 \pm 0,2
Kontu	2,2 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	19,5 \pm 0,2	37,8 \pm 0,4

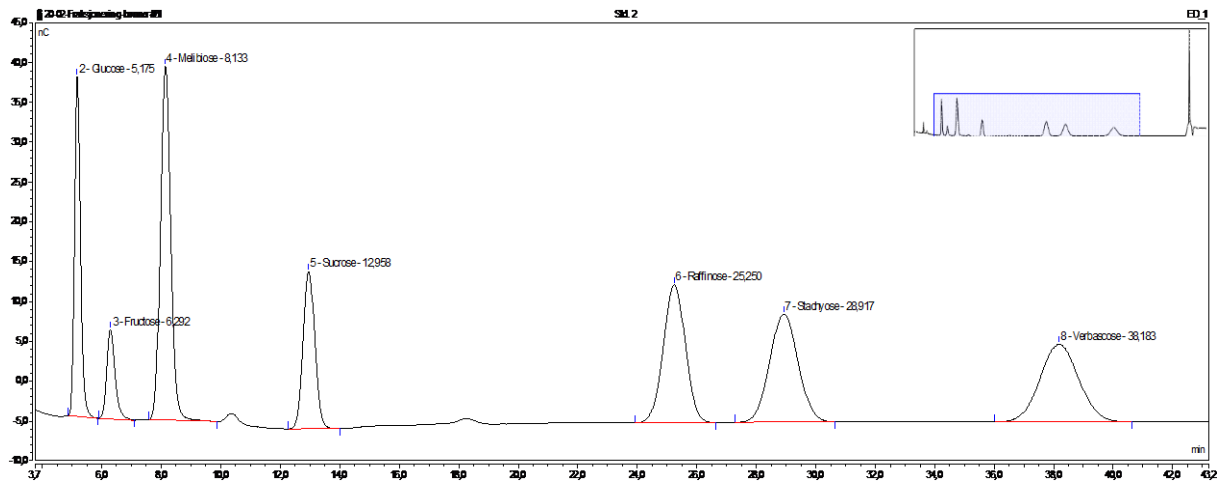
VEDLEGG 5 – LAVMOLEKYLÆRE KARBOHYDRATER

Tabell 17 Tabell fra LMV-Karb. Alle verdier er presentert i prosenter. Alle råmaterialer er gjennomsnitt av tre målinger, og alle FF og GF er gjennomsnitt av to målinger. Kolonnen til høyre viser det totale innholdet av LMV-Karb.

Prøver	Glukose	Fruktose	Sukrose	Raffinose	Stachyose	Verbascose	Totalt*
V17 - råmateriale	0,07 ± 0	0 ± 0,01	2,64 ± 0,08	0,11 ± 0,01	0,8 ± 0,04	3,11 ± 0,06	6,73
V17 - 4 - G	0,03 ± 0	0,03 ± 0,01	2,54 ± 0,25	0,13 ± 0,01	0,61 ± 0,04	1,86 ± 0,30	5,2
V17 - 4 - F	0,12 ± 0,01	0 ± 0	2,28 ± 0,04	0,18 ± 0	1,67 ± 0,04	5,83 ± 0,23	10,08
V18 - råmateriale	0,07 ± 0	0,01 ± 0	1,97 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,85 ± 0,04	3,03 ± 0,02	6,07
V18 - 3 - G	0,03 ± 0	0,04 ± 0,01	1,95 ± 0,04	0,14 ± 0	0,66 ± 0,02	2,1 ± 0,04	4,92
V18 - 3B - G	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	1,7 ± 0,14	0,13 ± 0,01	0,63 ± 0,03	1,95 ± 0,18	4,48
V18 - 3 - F	0,1 ± 0,01	0 ± 0	1,58 ± 0,01	0,17 ± 0,01	1,61 ± 0,05	4,99 ± 0,41	8,45
V18 - 3B - F	0,09 ± 0	0 ± 0	1,55 ± 0,01	0,19 ± 0,02	1,67 ± 0,01	5,23 ± 0,29	8,73
S17 - råmateriale	0,07 ± 0,02	0,01 ± 0,01	2,51 ± 0,61	0,13 ± 0,03	0,8 ± 0,23	2,12 ± 0,68	5,64
S17 - 3 - G	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	2,08 ± 0,80	0,12 ± 0,05	0,53 ± 0,23	1,51 ± 0,70	4,29
S17 - 3B - G	0,03 ± 0	0,05 ± 0,01	2,49 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,69 ± 0,01	1,92 ± 0,11	5,34
S17 - 3 - F	0,1 ± 0,01	0 ± 0	1,94 ± 0,05	0,18 ± 0	1,46 ± 0,03	4,68 ± 0,23	8,36
S17 - 3B - F	0,09 ± 0,01	0 ± 0	1,88 ± 0,04	0,18 ± 0	1,46 ± 0,05	4,3 ± 0,05	7,91
S18 - råmateriale	0,06 ± 0,2	0 ± 0,01	1,51 ± 0,36	0,09 ± 0,02	0,73 ± 0,21	2,68 ± 0,77	5,07
S18 - 3 - G	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	1,34 ± 0,04	0,1 ± 0	0,68 ± 0,01	2,23 ± 0,17	4,43
S18 - 3B - G	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	1,03 ± 0,35	0,07 ± 0,02	0,51 ± 0,21	1,79 ± 0,59	3,45
S18 - 3 - F	0,09 ± 0,01	0 ± 0	1,37 ± 0,03	0,14 ± 0,01	1,43 ± 0,01	5,47 ± 0,40	8,5
S18 - 3B - F	0,08 ± 0,01	0 ± 0	1,32 ± 0,01	0,14 ± 0,01	1,46 ± 0,06	5,08 ± 0,52	8,08
T - råmateriale	0,08 ± 0,01	0 ± 0,01	2,46 ± 0,04	0,19 ± 0,01	1,03 ± 0,07	2,49 ± 0,38	6,25
T - 3 - G	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	1,38 ± 0,49	0,13 ± 0,04	0,58 ± 0,24	1,27 ± 0,51	3,42
T - 3B - G	0,03 ± 0	0,02 ± 0,01	1,7 ± 0,03	0,16 ± 0	0,73 ± 0,01	1,76 ± 0,04	4,4
T - 3 - F	0,09 ± 0,01	0 ± 0	1,86 ± 0,06	0,21 ± 0,01	1,68 ± 0,07	4,52 ± 0,42	8,36
T - 3B - F	0,09 ± 0,01	0 ± 0	1,9 ± 0,03	0,21 ± 0,01	1,76 ± 0,05	4,62 ± 0,14	8,58
K - råmateriale	0,05 ± 0,01	0 ± 0,01	2,32 ± 0,44	0,15 ± 0,03	0,75 ± 0,16	1,98 ± 0,29	5,25
K - 3A - G	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	1,46 ± 0,55	0,11 ± 0,05	0,45 ± 0,20	1,07 ± 0,49	3,12
K - 3B - G	0,02 ± 0	0,02 ± 0,01	1,83 ± 0,04	0,14 ± 0	0,57 ± 0,01	1,38 ± 0,03	3,96
K - 3A - F	0,07 ± 0,01	0 ± 0	2,03 ± 0,11	0,18 ± 0,01	1,56 ± 0,06	3,78 ± 0,42	7,62
K - 3B - F	0,06 ± 0,01	0 ± 0	1,95 ± 0,05	0,17 ± 0,01	1,48 ± 0,06	3,72 ± 0,03	7,38
Kontu - RVA	0,02 ± 0	0 ± 0	1,06 ± 0,01	0,13 ± 0	1,01 ± 0,02	3,67 ± 0,01	5,89

*Totalt innhold av LMV-Karb: glukose, fruktose, sukrose, raffinose, stachyose og verbascose.

VEDLEGG 6 – STANDARDKURVE FOR LMV-KARB



Figur 22 Standardkurve for LMV-Karb målingene utført i dette forsøket. Alle kurver er integrert manuelt. Figuren viser innhold av glukose, fruktose, melibiose, sukrose, raffinose, stachyose og verbasose.



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway