



Linnéuniversitetet

Kalmar Växjö

Examensarbete

Avfettning av havreproteinisolat

Är ultraljud en möjlig metod och hur påverkar det lipasaktiviteten?



Författare: Anton Johansson

Extern handledare: Christian Malmberg

Intern handledare: Maria Bergström

Examinator: Cornelia Witthöft

Lärosäte: Linnéuniversitetet

Termin: VT2022

Ämne: Kemi

Nivå: Grundnivå



Abstrakt

Havre har de senaste åren uppmärksammats för sina många positiva hälsoeffekter och Lantmännen har därför tagit fram en ny havresort med högre halt β -glukaner och protein än vanlig svensk havre. Havreprotein kan extraheras med en alkalisk metod genom att proteinerna görs lösliga vid pH 9 och sedan fälls ut vid pH 5. Syftet med detta arbete var att undersöka om det är möjligt att avfetta havreproteinisolat med hjälp av ultraljud samt undersöka hur lipasaktiviteten påverkas. En ultraljudsprob (diameter 1,4 cm, amplitud 99 μ m, frekvens 24 kHz) behandlade prover antingen vid pH 9 eller pH 5 i extraktionen med antingen 80 J/g havre eller 800 J/g havre. Resultatet visar att fetthalten i proteinisolatet och andelen fett som extraheras från havremjölet inte påverkas av ultraljudsbehandlingen. Fetthalten var 11-17 % av TS i proteinisolatet och utbytet av fett 32-44 %. Proteinhalten i isolatet påverkades ej men proteinutbytet minskade lite vid ultraljudsbehandling vid pH 5, från 65-80 % till 50-60 %. Lipaser inaktiveras av proteinextraktionen och kunde inte detekteras i proteinisolatet. Tidigare studier har visat att ultraljud kan förkorta extraktionstiden i en fettextraktion, men inte ersätta lösningsmedel. Vidare studier skulle kunna undersöka om etanolextraktion av fett i havre kan effektiviseras av ultraljudsbehandling.



Abstract

In recent years, oats have received attention for their many positive health benefits, and therefore Lantmännen has developed a new oat variety with higher content of β -glucans and protein than ordinary Swedish oats. Oat protein can be extracted by an alkaline method, first solubilized at pH 9 and then precipitated at pH 5. The aim of this work was to investigate whether it is possible to defat oat protein isolates using ultrasound and to investigate how lipase activity is affected. With an ultrasound probe (diameter 1.4 cm, amplitude 99 μ m, frequency 24 kHz) samples were treated at either pH 9 or pH 5 in the extraction with either 80 J/g oats or 800 J/g oats. The results show that the fat content in the protein isolate and the fraction of fat that is extracted from the oat meal is not affected by the ultrasound treatment. The fat content was 11-17% of dry matter in the protein isolate and the yield of fat 32-44%. The protein concentration in the protein isolate was not affected, but the protein yield decreased slightly by ultrasonic treatment at pH 5, from 65-80% to 50-60%. Lipases were found to be inactivated by protein extraction and could not be detected in the protein isolate. Previous studies have shown that ultrasound can shorten the extraction time in a fat extraction, while not replace solvents. Further studies could investigate whether ethanol extraction of oats can be made more efficient by ultrasound treatment.

Nyckelord

Havre, proteinextraktion, ultraljud, sonikering, lipasaktivitet

Icke-konfidentiell version

I överenskommelse med Lantmännen är detta arbete och dess resultat inte konfidentiellt men som grund för arbetet har två konfidentiella rapporter framtagna av Lantmännen använts. Data från dessa har i denna version behövt strykas och ersatts med XX.



Tack

På rim jag nu tänker skriva
Här jag hålla mig från det objektiva
För nu ska jag visa mig tacksam
Och tacka det ska man göra till lamm

Mot Christian på Lantmännen ska jag börja rikta min tacksamhet
Han kom med idén, lånade utrustning och havre han gav i paket
Även om resultatet ej blivit som vi hoppats
Så har projektet ej stoppats
Mycket jag lärt mig under resans gång
Om havre, ultraljud och proteiners omfång
Men ock behovet av att planera,
ett försöksupplägg och svårigheten att enkelprov hantera

Min medlaborant Siri också ett tack ska ha
För med laborationer hjälp har varit att föredra
Tillsammans vi gjort många försök
Utan att ställa till med för mycket stök
Labbservice kanske ej håller med
Men nu är det städad till och med

Så tack även till Adam som bjudit på glass
Och Louise som varit en del av vår klass

Tack även till Maria för trots att hon farit fram som ett Jehu
Hon med detta arbete har tagit itu

Även fler är det som till hjälp varit
Men att nämna er alla skulle göra detta tradit´
Efter att arbetat med detta oförtrutet
har jag nu kommit till slutet



Innehållsförteckning

Abstract	3
1 Inledning	1
1.1 Havrens näringsinnehåll	1
1.2 Protein	1
1.3 Proteiner i havre	2
1.4 Alkalisk extraktion av havreprotein	3
1.5 Ultraljudsbehandling	3
1.6 Ultraljud för livsmedelsbehandling	4
1.7 Lipaser	5
1.8 Havresorten Active.....	5
1.9 Syfte.....	5
2 Metod och material	5
2.1 Alkalisk extraktion av havreprotein	6
2.2 Ultraljudsbehandling	7
2.3 Torrsubstansbestämning	7
2.4 Fetthaltbestämning	8
2.5 Proteinhaltbestämning	8
2.6 Lipasaktivitet	9
2.7 Statistisk analys	10
3 Resultat	11
3.1 Havremjöl.....	11
3.2 Proteinisolat.....	11
3.3 Ultraljudsbehandling	11
3.4 Lipasaktivitet	12
3.5 Andra intressanta resultat	13
4 Diskussion	14
4.1 Ultraljud och protein	14
4.2 Fett.....	15
4.3 Lipasaktivitet	16
5 Slutsatser	17
6 Referenslista	18



1 Inledning

Havre (*Avena sativa*) är en gräsväxt och ett sädeslag som odlas som både livsmedel och djurfoder. Det odlas i Europa och Nordamerika (1) och är det tredje mest odlade sädeslaget i Sverige men bara en mindre del av det som odlas i Sverige blir livsmedel, resten går till djurfoder (2). Havre var en av de första grödorna som människan började odla (3) och har länge varit en basråvara som har ansetts nyttig, vilket bekräftats av senare forskning. Framförallt är det havrens höga innehåll av lösliga fibrer som tillskrivs dess hälsofrämjande egenskaper (1).

De vanligaste livsmedel som tillverkas av havre är havregryn som används till gröt, i bakning och tillsätts i müsli eller granola. Havre har också börjat användas för att tillverka mjölksubstitut som havredrycker och havregurt (4).

1.1 Havrens näringsinnehåll

Näringsinnehållet i havre utmärker sig på flera sätt jämfört med andra cerealier. Fetthalten är högre än i andra cerealier (5 - 9 % i havre jämfört med 2 - 3 % i vete, råg och korn) och dessutom utgörs fettets största del av de omättade fettsyror oljesyra och linolsyra samt den mättade palmitinsyra (2,5). Havre är också en viktig källa till fullkorn, kolhydrater, proteiner, fenolföreningar, vitaminer och mineraler (3).

Det som främst bidrar till havrens positiva hälsoeffekter är β -glukaner vilket är en löslig kostfiber uppbyggd av β -D-glukos. I studier har de visats ha en förebyggande effekt mot hjärt- och kärlsjukdomar, hudsjukdomar, inflammation och typ 2-diabetes genom att β -glukaner fördröjer upptaget av glukos ur tarmen och därmed sänker blodsockret (3). Dessutom kan havre ha ytterligare skyddande effekter mot övervikt, cancer, stärka immunförsvaret och maghälsan men det krävs fler och bättre studier för att kunna visa detta (3). I havre varierar halten β -glukaner mellan 1,8-7 % och variationen beror bland annat på sort och växtplats (3). Havre innehåller också högre halter av antioxidanter än andra cerealier (2) men deras effekter på hälsan är ännu inte tillräckligt utforskade (3).

1.2 Protein

Proteiner är tillsammans med kolhydrater, fett och vatten de största komponenterna i ett livsmedel. Proteiner är uppbyggda av 20 olika aminosyror i en linjär primärstruktur ihopsatta med peptidbindningar. De veckas sedan i en sekundär och tertiär struktur för att få en tredimensionell struktur som hålls ihop av olika svaga interaktioner som vätebindningar och hydrofoba interaktioner. Ibland har de även en kvartenär struktur som utgörs av flera peptidkedjor. Eftersom proteiner kan sättas ihop av vilken kombination av aminosyror som helst och alla aminosyror har olika egenskaper blir alla proteiner olika och får skilda egenskaper (6).



Proteiner har många olika funktioner, de bygger upp celler, ben, naglar, hår etc. i levande organismer. De kan vara enzymer som katalyserar kemiska reaktioner där varje enzym har en mycket specifik reaktion som det katalyserar. De kan också utgöras av lagringsproteiner som till exempel behövs i ett frö eller ett ägg (6).

Protein är en nödvändig del av människans föda och de vanligaste proteinkällorna är mjölk, kött, ägg, cerealier, baljväxter och oljeväxter (6). Av de 20 aminosyror är 8 essentiella vilket innebär att människokroppen inte kan syntetisera dem själv utan måste få i sig tillräckligt av dem via födan. Proteinkvalitet är ett begrepp som beskriver hur mycket det finns av de essentiella aminosyror i förhållande till människans behov (7).

När proteiner denatureras förlorar de sin tredimensionella struktur och därmed sin fysiologiska funktion. Enzym tappas då sin katalyserande förmåga och normalt ändras löslighet och funktionella egenskaper (7). Mildare denaturering kan öka den skumbildande och emulgerande förmågan hos ett protein. Denaturering förändrar dock inte proteinets kemiska sammansättning. Ett protein denatureras när något i den omgivande miljön förändras så att proteinets nativa tillstånd inte är det mest energimässigt fördelaktiga eller genom att energi tillförs som tas upp av proteinet (6).

Värme orsakar denaturering och får proteiner att aggregera med varandra och bilda större komplex. Mekaniska krafter som knådning, skakning och vispning kan också denaturera proteiner genom att luftbubblor arbetas in vilket skapar ett gränsskikt där energi frigörs, kavitation kan på detta sätt också orsaka denaturering av proteiner (6).

De flesta proteiner är vid neutralt pH i sin nativa form men om pH förändras ändras laddningarna på proteinerna vilket kan orsaka denaturering. Även organiska lösningsmedel orsakar denaturering genom att de är opolära och tvingar då ut hydrofoba grupper som varit vända inåt i proteinet (6). Denaturering är ofta reversibel vilket innebär att om förhållandena återgår till de ursprungliga så kommer proteinet att återfå sin naturliga form, men vid exempelvis värmedenaturering tillförs så mycket energi att proteiner aggregerar och inte kan återfå sin form (6).

1.3 Proteiner i havre

Havre har en högre halt protein (15-20 %) än andra cerealier (8). Proteinerna i havre består av globuliner (70–80 %), albuminer (1–12 %), prolaminer (4–15 %) och gluteniner (<10%) (9). Globulinen 12S är det främsta lagringsproteinet och består av en 320 kDa hexamer som utgörs av enheter om 54 kDa vardera som byggs upp av en basisk peptidkedja (22 kDa) och en sur peptidkedja (32 kDa) som hålls ihop av en disulfidbrygga (10). Jämfört med andra cerealier är globulinerna det vanligaste lagringsproteinet (9). Albuminerna är främst olika enzymer, prolaminerna kallas även aveniner i havre och består av fyra subenheter α , β , γ och ω -aveniner och är lagringsproteiner som liknar gliadinerna i vete (9).



Aminosyrasammansättningen i havre är bättre jämfört med andra cerealier på grund av ett högre innehåll av lysin (11) men jämfört med innehållet i ärtväxter (t ex soja) har havre en sämre aminosyrasammansättning (8). Lysin är i likhet med andra cerealier den begränsande aminosyran i havre i termer av proteinkvalitet (12), till skillnad från ärtväxter där svavelinnehållande aminosyror är begränsande. Därför kan produkter med havre i kombination med exempelvis soja eller ärt ge en optimal aminosyrasammansättning (8).

1.4 Alkalisk extraktion av havreprotein

På uppdrag av Lantmännen har Nofima tagit fram en metod för att extrahera protein ur havre. Metoden bygger på en alkalisk extraktion av havremjöl där proteinerna extraheras med 15 mM NaOH (ca pH 9–10) och då kan separeras från stärkelsen som faller ut. Därefter justeras pH med saltsyra till cirka pH 5 vilket får proteinerna att falla ut (för ett flödesschema se figur 1). Enligt Nofimas analys ger denna metod ett proteinutbyte på cirka XX % och ett fettutbyte på cirka XX %. Av torrsubstansen i proteinisolatet var XX % protein och XX % fett (13). Nofimas hypotes XXXXX men inget stöd presenteras för hypotesen. Enligt en annan studie (11) är den största delen av fett i havre i form av triglycerider (ca 50 %) och en mindre del (ca 20 %) som fosfolipider och glykolipider. Mängden fett bundet som lipoproteiner undersöktes inte i den studien men övriga fetter redovisas som omkring 20 %. En review-artikel (8) över extraktionsmetoder för havreprotein bekräftar att en alkalisk extraktion som Nofimas är den mest effektiva metoden men att ett avfettningsssteg kan öka proteinhalten i proteinisolatet med samma totala proteinutbyte.

Enligt Nofimas (13) analys av aminosyrasammansättningen, REDOVISAS EJ HÄR.

1.5 Ultraljudsbehandling

Ultraljud är ljudvågor med en frekvens som är högre än det mänskliga örat kan uppfatta (från ca 16–20 kHz och uppåt) och det kan användas både för analytiska ändamål och för att förändra ett materials egenskaper. Ultraljud kan delas in i tre kategorier, diagnostiska ultraljud med frekvenser mellan 1 – 10 MHz, högfrekvent ultraljud med låg intensitet (100 kHz - 1 MHz och 0,1 – 1 W/cm²) och lågfrekvent ultraljud med hög intensitet (20 kHz - 100 kHz och 10 – 1000 W/cm²). Diagnostiskt och högfrekvent ultraljud används främst för analytiska ändamål medan lågfrekvent ultraljud används för olika slags processning (14).

När lågfrekvent ultraljud med hög intensitet används för att förändra en produkt är den dominerande effekten ett fenomen som kallas kavitation som uppstår när ultraljudsvågor passerar genom ett flytande medium. När undertrycket lokalt blir lägre än vätskans ångtryck bildas lokalt en gasbubbla, en så kallad kavitationsbubbla. I dessa bubblor samlas lättflyktiga ämnen och vätska som tvingas övergå i gasfas. Dessa bubblor kan antingen direkt kollapsa när trycket lokalt återigen stiger eller pulserar med vågrörelserna



under ett antal cykler innan de kollapsar. När kavitationsbubblorna kollapsar sker det under våldsamma former som frigör mycket energi och lokalt kan temperaturen stiga till 5000 K och trycket till 1000 atm vilket lokalt ger upphov till stora krafter och turbulens (14). Det finns två olika teorier för att förklara de kemiska förändringar som sker vid ultraljudsbehandling. Hot-spot teorin menar att de extrema förhållanden som uppstår i kavitationsbubblorna (upp till 5000 K och 1000 atm) ger upphov till syreradikaler som är mycket reaktiva och som i sin tur orsakar olika oxidations-, hydroxyl- och pyrolytiska reaktioner. Enligt den elektriska teorin uppstår däremot elektriska laddningar på kavitationsbubblorna vilket skapar starka elektriska fält över bubblorna som i sin tur ger kemiska reaktioner. Graden av kavitation som uppstår beror på mängden tillförd energi, intensiteten, mediets viskositet, mediets ytspänning, ångtrycket, lösta gaser, temperatur, tryck och förekomst av fasta partiklar (14).

Vid låga frekvenser (20 – 100 kHz), som är det som oftast används vid processning, är den dominerande effekten på provet den mekaniska effekten som uppstår när kavitationsbubblorna kollapsar. Vid frekvenser mellan 200-500 kHz är de kemiska effekterna istället dominerande eftersom det bildas färre kavitationsbubblor och de som bildas kollapsar mindre våldsamt (15).

1.6 Ultraljud för livsmedelsbehandling

Ultraljud (även kallat sonikering) är en ny teknik inom livsmedelsbehandling och har utvecklats för att vara ett mindre energikrävande och mer skonsamt alternativ till uppvärmning/pastörisering. Konventionell uppvärmning är ofta ineffektivt och kan förstöra känsliga komponenter som enzymer, vitaminer och aromämnen som tål ultraljudsbehandling bättre (14). Men ultraljud kan även användas för att effektivisera eller påskynda andra processer i livsmedelsindustrin som kristallisering, förstöra skum, extraktion av aromer, filtrering, torkning, infrysning, blandning, homogenisering, mörning av kött och inaktivering av enzymer. Att ultraljud blivit en möjlighet till skonsammare pastörisering är på grund av dess antibakteriella effekt genom att behandlingen förstöra bakteriers cellmembran (15).

För att påskynda extraktioner av aromer, polyfenoler, organiska föreningar och mineraler ur växtmaterial kan ultraljud användas. Här dominerar de mekaniska effekterna som uppstår av kavitationen vilka får cellmembran att gå sönder och släppa ut sitt innehåll i lösningen där det sedan lättare kan extraheras (15). Ultraljud kan också användas som emulgeringsmetod genom att surfaktanter som finns i lösningen och som normalt vänds runt hydrofoba partiklar, istället vänds mot kavitationsbubblorna och tvingar ut partiklarna i vattenfasen (15) samt att kavitationsbubblor som kollapsar kan få omgivande droppar att gå sönder och emulgeras (16).

För livsmedelsbehandling är ultraljud ingen standardmetod utan för varje tillämpning måste rätt inställningar för metoden prövas ut (15).



1.7 Lipaser

Lipaser är enzymer som hydrolyserar triacylglyceroler till fria fettsyror (FFA) och glycerol vilket kan vara första steget i härskningsprocessen. De fria fettsyrorna kan därefter oxideras kemiskt eller enzymatiskt till smak- och doftfria hydroperoxider som i sin tur kan bilda ämnen som kan ge upphov till önskad doft och smak (17). Lipaser finns endogent i havre men så länge kärnan är hel är lipaserna inte i kontakt med fett i havrekärnan men om kärnan förstörs börjar omedelbart hydrolyseringsprocessen (17), och på grund av ett högre fettinnehåll (5-9 % fett) är därmed havre känsligt för att härskna (2).

Ultraljud har i flera studier visats kunna öka enzymaktiviteten, exempelvis vid produktion av biodiesel (18) där lipaser kan användas som katalysator. Under denna reaktion med en ultraljudsbehandling på 40 W vid 20 kHz med en 3,5 cm probe minskade tiden för reaktionen från 24 timmar till 90 minuter. I detta fall orsakar kavitationen mikroströmmar och mikroturbulens som i sin tur ökar massutbytet mellan fettfasen och vattenfasen. Det ökade massutbyte gör att enzymet lättare får tillgång till substratet och reaktionen går fortare (18). En annan studie visade liknande resultat där ett ultraljudsbad använts för att öka lipasaktiviteten vid hydrolysering av sojaolja (19). Men ultraljudbehandling under en längre tid (4 timmar) har också visats kunna inaktivera enzymer i ultraljudsbad (i detta fall invertas) (20). Även en annan studie som undersökt hur lipaser kan användas för att hydrolysera fett har funnit att ultraljud har en emulgerande effekt som kan öka lipasaktiviteten. Om däremot effekten är för hög eller tiden för lång så har det en inaktiverande effekt (21).

1.8 Havresorten Active

Active är en ny havresort som tagits fram av Lantmännen med syfte att få en högre halt protein och β -glukaner jämfört med de vanliga sorterna. I genomsnitt har Active omkring 20 % protein och 6,5 % β -glukaner jämfört med den vanligaste svenska havresorten Galant som har en proteinhalt mellan 13-14 % och 3,8 % β -glukaner. Till skillnad från vanlig växtförädling har Lantmännen enbart fokuserat på dessa två egenskaper och dessutom har en ny metod med genomisk selektion använts för att med analys av genmarkörer i arvsmassan kunna selektera för den bästa havren (22).

1.9 Syfte

Syftet med detta examensarbete var att undersöka om det är möjligt att med hjälp av ultraljud avfetta ett havreproteinisolat samt att se om ultraljudsbehandlingen påverkar lipasaktiviteten.

2 Metod och material

Hel skalad havre av sorten Active från 2021 års skörd erhöles från Lantmännen. Havren maldes i en kvarn (Cyclotec 1093 sample mill) till ett



fullkornsmjöl som förvarades i plastpåse i kyl tills det skulle användas, som längst tre veckor.

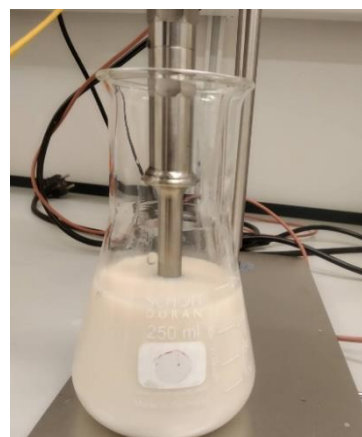
2.1 Alkalisk extraktion av havreprotein

Havreprotein extraherades ur havresorten Active enligt en metod framtagen av Nofima på uppdrag av Lantmännen (13). I metoden blandas XX g havremjöl med XX mL 15 mM NaOH och inkuberas i ett skakvattenbad (XX tid, XX temperatur). Därefter centrifugeras (centrifuge 5804 R, Eppendorf) provet vid XX g (XX tid, XX temperatur). Supernatanten dekanteras av och pH-justeras till pH 5 med 1 M HCl för att fälla ut proteinerna från vätskefasen (se figur 4 för proteinutfällningen). Provet får sedan stå i XX tid för att därefter centrifugeras igen vid XXg (XX tid, XX temperatur). Den våta pelleten sparas som proteinisolat medan supernatanten dekanteras av, metoden visas i figur 1. Det våta proteinisolatet frystes direkt och förvarades i frys fram tills analys.

Tre olika alkaliska extraktioner utan ultraljud gjordes enligt beskrivningen ovan, och de analyserades för TS, fett och protein enligt tabell 1. Material till dessa analyser har till viss del delats med ett annat projekt och därför har inte alla analyser kunnat genomföras. Fett och protein analyserades på blöta prover i extraktion 1 men i extraktion 3 gjordes proteinanalysen på torkade prover för en noggrannare mätning.

Figur 1 Flödesschema för alkalisk extraktion av havreprotein med ultraljudsbehandlingen (sonikering) utsatt.

Bilden är här borttagen av konfidentialitetsskäl, men liknande metoder finns även beskrivna i vetenskaplig litteratur, se till exempel ref 8.



Figur 2 Sonotroden nedsänkt i proteinlösningen redo för ultraljudsbehandling.

Tabell 1 Analysschema för de icke-ultraljudsbehandlade proverna

Extraktion	Torrsubstans	Protein	Fett
1	Dubbelprov	Dubbelprov Blött prov	Dubbelprov Blött prov
2	Dubbelprov	Ej analyserat	Ej analyserat
3	Dubbelprov	Enkelprov Torkat prov	Ej analyserat

2.2 Ultraljudsbehandling

Till ultraljudsbehandlingen användes en Hielscher UP400St med en sonotrod (S24d14D, figur 3) med diametern 14 mm (area 2,2 cm²), maximala amplituden 99 µm (100% av amplituden) och frekvensen 24 kHz. Sonotroden sänktes ned cirka 1 cm under vätskeytan (se figur 2) och ultraljudsbehandlingen genomfördes först under 5 sekunder för att se att allt fungerade. Därefter i 60 sekundersintervall tills önskad mängd energi hade levererats till provet. Mätningen av energi gjordes av ultraljudsutrustningen. Även temperaturen mättes för att säkerställa att den inte steg över 50 °C. Behandlingarna skedde med antingen 50 eller 100 % av amplituden. Ultraljudsförsöken genomfördes alltid som en del av den alkaliska extraktionen, antingen vid pH 9 eller vid pH 5 enligt figur 1.

Först gjordes försök med ultraljudsutrustningen för att ta fram metoden, av detta redovisas två försök vid pH 5 (se figur 1) med energimängden 850 J/g havre respektive 1000 J/g havre. Därefter gjordes behandlingar vid pH 9 och vid pH 5 och vid varje pH gjordes två försök med olika energimängder, 80 J/g havre (cirka 20 sekunder) och 800 J/g havre (cirka 200 sekunder). Totalt gjordes alltså fyra försök (enkelprover), dessa analyserades sedan för torrsubstans, proteinhalt och fetthalt, i tabell 3 är genomförda analyser redovisade.



Figur 4 Ultraljudsproben som användes vid försöken

2.3 Torrsubstansbestämning

Torrsubstansen mättes enligt NMKL nr 23, 1991 (23) genom att ett prov (ca 2–3 g) vägdes in exakt i en tarerad och förtorkad aluminiumform. Provet torkades i värmeugn vid 103 °C i minst 18 timmar, därefter fick provet svalna i exsickator.

Torrsubstansen beräknas som den mängd prov som finns kvar i aluminiumformen efter torkningen delat på mängden invägt prov.



Figur 5 Proteinet före (t.v.) och efter (t.h.) pH justerats till pH 5.



2.4 Fetthaltbestämning

Fetthalten bestämdes med Soxtecmetoden där fett extraheras med petroleumeter enligt metoden NMKL 160 (24). Provet (ca 2–3 g) vägdes in exakt på filterpapper och fördes ned en förtorkad extraktionshylsa i papper med cirka 3 g celite. Extraktionshylsan med provet torkades i värmeskåp (1 timme, 103 °C) och monterades sedan i soxtecutrustningen (Soxtec system HT 2, 1045 Extraction unit med serviceenhet Soxtec system HT, 1046 service unit). En förtorkad extraktionskopp med några kokstenar fylldes med 60 ml petroleumeter (kokpunkt 40–60 °C) som monterades under extraktionshylsan i soxtecutrustningen. Därefter sänktes extraktionshylsan ned i petroleumeter för att återloppskokas i 25 minuter. Sedan höjdes extraktionshylsan upp vilket medför att petroleumeter kommer skölja genom provet och rinna ner med fett i extraktionskoppen. Efter ytterligare 30 minuter stängs ventilen från återloppskylaren för att samla petroleumeter i kylaren. Extraktionskoppen torkades därefter i värmeskåp (30 minuter vid 103 °C). Fetthalten i provet beräknas som kvoten mellan mängden extraherat fett i extraktionskoppen och provmängden.

2.5 Proteinhaltbestämning

Eftersom det är svårt att direkt mäta proteinhalt används ofta indirekta metoder som Kjeldahl-metoden. Proteinhalten bestäms då genom att mäta mängden kväve och eftersom andelen kväve i proteiner är känd kan proteinhalten beräknas. Först vätförbränns provet i svavelsyra och kväve blir till ammoniumjoner, därefter neutraliseras provet med natriumhydroxid och samtidigt destilleras den frigjorda ammoniak över till en syralösning. Syralösningen titreras sedan för att få kvävehalten (25).

Proverna vägdes in (ca 0,1 - 0,2 g) med 2 stycken kjeltabs (3,5 g K₂SO₄ + 3,5 g Se) och kokades med 12,5 ml koncentrerad svavelsyra i särskilda kjeldahlrör vid 380 °C i 50 minuter. Proverna fick svalna och sedan tillsattes 50 ml avjonat vatten. Kjeldahlröret placerades därefter i destillationsutrustningen (Kjeltec system 1026 distilling unit, tecator) som tillsätter 50 ml 40% NaOH och ånga som får ammoniak att förångas och sedan destilleras ned i en E-kolv med 25 ml borsyra och pH-indikator (bromkresolgrönt och metylrött, SBV indikator). Blankprov bereddes med 1 ml avjonat vatten och kontroll gjordes med cirka 0,1 g glycin.

Destillatet titreras med 0,100 M HCl tills en nyans av rött kunde anas. Halten kväve beräknas med formel (1).

$$\%kväve = \frac{100 * 14,01 * c * (V - V_{blank})}{m} \quad (1)$$

Där



- 100 är omvandlingsfaktor till %
- 14,01 g/mol är molmassan för kväve
- c är saltsyrens koncentration i mol/dm³
- V är den titrerade volymen saltsyra i dm³
- V_{blank} är den titrerade volymen saltsyra för blankprovet i dm³
- m är provmängden i gram

Halten kväve multipliceras med den specifika faktorn 5,7 för havre för att få proteinhalten i provet (13).

Proteinutbytet beräknades som massan extraherat protein delat med massan protein i havremjålet enligt formel 2.

$$\text{protein utbyte} = \frac{m_{bl.pi} * TS_{pi} * c_{pi}}{m_{havre} * TS_{havre} * c_{havre}} \quad 2$$

Där

- $m_{bl.pi}$ är massan blött proteinisolat i gram
- TS_{pi} är torrsbstanshalten i proteinisolatet
- c_{pi} är halten protein av TS i proteinisolatet
- m_{havre} är massan havre (ej torkad) i gram
- TS_{havre} är torrsbstanshalten i havren
- c_{havre} är halten protein av TS i havren

2.6 Lipasaktivitet

Lipasaktiviteten mättes spektrofotometriskt med en assay där *p*-nitrofenylbutyrat (pNPB) användes som substrat för lipaserna. Lipaser hydrolyserar pNPB till dess basiska form som absorberar ljus vid 400 nm, därmed är ökningen av absorbans vid 400 nm proportionerlig mot lipasaktiviteten i provet.

Havremjöl vägdes in exakt i ett eppendorfrör (0,1 – 0,2 g) med 1 ml fosfatbuffert (100 mM, pH 7,25) och blandades med en vortex-mixer i 10 sekunder för att sedan centrifugeras (3000g, 1 minut, rumstemperatur). Från supernatanten togs 100 µl (kallad enzymlösning) till en kyvett och 890 µl fosfatbuffert (100 mM, pH 7,25) tillsattes. Precis före mätningen tillsattes 10 µl pNPB (50 mM i 2-propanol, förvarades på is). Kyvettens öppning täcktes med aluminiumfolie och blandades genom att vändas 5 gånger. Eftersom lipaser är som mest aktiva omkring 37 °C fick kyvetten stå i vattenbad (36–37 °C) mellan mätningarna. Efter att pNPB hade tillsatts så ställdes kyvetten i vattenbad i cirka 40 sekunder för att värma den. Därefter mättes absorbansen vid 400 nm ($t=0$) och sedan en gång i minuten i 5 minuter. Referensprov bereddes på samma sätt men pNPB ersattes med 10 µl MilliQ-vatten och det fick stå kvar i den bakre kyvetthållaren under hela



mätperioden utan att värmas i vattenbad. Lipasaktiviteten i proteinisolat bestämdes med samma metod.

Enzymaktiviteten beräknades genom att en linjär funktion på formen $y=kx+m$ anpassades till mätpunkterna med absorbansen som en funktion av tiden. Utifrån linjens lutning (k-värdet) beräknades koncentrationen lipas med Lambert-Beers lag enligt formel 3.

$$\text{Units/g havre} = \frac{k * 1,01 * 1000}{14775 * 1 * 0,1 * m} \mu\text{mol} * \text{min}^{-1} * \text{g}^{-1} \quad (3)$$

Där

- k är absorptionsförändringen per minut (abs/min)
- 1,01 ml är volymen på provet i fosfatbuffert
- 1000 är en konstant för att omvandla enheter ($10^6/10^3$, mol \rightarrow $\mu\text{mol}/\text{dm}^3 \rightarrow \text{ml}$)
- $14\,775 \text{ M}^{-1} * \text{cm}^{-1}$ är extinktionskoeffecienten (ϵ) för *p*-nitrophenol
- 1 cm är kyvettens bredd
- 0,1 ml är mängden prov som sätts till kyvetten
- m är mängden prov i gram

Lipasaktiviteten i obehandlat havremjöl bestämdes i två prover som analyserades i triplikat (totalt 6 mätningar). Lipasaktiviteten i proteinisolat framtaget med alkalisk extraktion enligt figur 1 (ej ultraljudsbehandlat) bestämdes i två prover i triplikat (varav ett förstördes = 5 mätningar, kallade proteinisolat 1 och 2), därefter gjordes ett försök med 300 μl enzymlösning istället för 100 μl (3x koncentration enzym) i duplikat (totalt 2 mätningar, kallat proteinisolat 3). Sedan gjordes ytterligare en mätning på ett annat havreproteinisolat som extraherats vid ett annat tillfälle och därefter förvarats i frysen fram till analys (2 mätningar, kallat proteinisolat 4).

2.7 Statistisk analys

Alla värden som inte är enkelprover presenteras som medelvärde med standardavvikelse (s =standardavvikelse, n =antal prov), standardavvikelsen har beräknats med LibreOffice Calc 7.0.3.1.



3 Resultat

3.1 Havremjöl

Havremjölet hade en TS-halt på 90,8 % (s=0,18, n=2), proteinhalten mätt enligt Kjeldahl med faktorn 5,7 blev 17 % av blötvikten och 18,7 % av TS (s=0,65, n=4) och fetthalten 6,1 % av blötvikten och 6,7 % av TS (s=0,12, n=2).

3.2 Proteinisolat

Alla resultat (medelvärde och standardavvikelse) presenteras i tabell 2. Värt att notera är att proteinhalten i proteinisolatet mättes två gånger med olika resultat, i det första proteinisolatet blev proteinhalten 96 % av TS (s=7,0, n=2) och i det andra 67 % av TS (n=1), se tabell 2. Proteinutbytet vid den första extraktionen blev 90 % (nr 1), vid den andra finns inte data för att beräkna utbytet men det uppskattats till omkring 65-70 % (nr 3). Eftersom extraktion 3 ej vägdes efteråt går det ej att beräkna utbytet. Rimligheten i värdena diskuteras i diskussionen. För samtliga proteinhaltbestämningar har faktorn 5,7 använts.

Fetthalten i proteinisolatet (extraktion 1) var 4,4 % av blötvikten (s=1,5, n=2) vilket motsvarar 13 % av TS.

Tabell 2 Torrsubstans, fett och proteinhalt i extraherat proteinisolat, med faktorn 5,7 för att omvandla %N till protein, värden markerade med "--" har ej analyserats

Extraktion	TS-halt	Proteinhalt av blötvikt	Proteinhalt av TS	Fetthalt av blötvikt	Fetthalt av TS
1	33 % (s=0,2, n=2)	32 %	96 %* (s=7,0, n=2)	4,4 % (s=1,5, n=2)	13 %*
2	35 % (s=2, n=2)	--	--	--	--
3	33 % (n=1)	22 %*	67 %	--	--

*Beräknade värden; i extraktion 1 analyserades protein i blöta prover och i extraktion 3 i torkade prover

3.3 Ultraljudsbehandling

Ultraljudsbehandlingen av havremjöl gav en TS-halt på proteinisolatet mellan 21-43 % där de som ultraljudsbehandlats vid pH 9 hade en lägre TS-halt (21-29 %) än de som behandlats vid pH 5 (33-43%). Proteinhalten i proteinisolatet skilde inte mellan behandling vid pH 5 och 9 och var 60-67 % av TS. Medelvärdet på samtliga ultraljudsbehandlade prov fick proteinhalten 65,9 % av TS (s=1,2%, n=7). Proteinutbytet var högre i det som ultraljudsbehandlats vid pH 9 jämfört med pH 5 (66-79 % jämfört med 53-61 %), se tabell 3 för alla data. För att omvandla %N till proteinhalt har faktorn 5,7 använts.



Fetthalten i proteinisolat som ultraljudbehandlades vid pH 9 var 11–13 % av TS och vid pH 5 var fetthalten 14–18 %, se tabell 3. Fettutbytet beräknas som den andel av fett som finns i proteinisolatet jämfört med totala mängden fett i utgångsmaterialet (havremjölet). Ultraljudsbehandling verkar inte påverka fettutbytet utan det varierar mellan 32–44 %.

Tabell 3 Proteinhalt och utbyte samt fetthalt och utbyte redovisade. För det andra proteinisolatet är utbytet uppskatta, faktorn 5,7 har använts för att omvandla %N till protein, värden markerade med ”—” är ej analyserade

Extraktion	TS %	Proteinhalt (% av TS)	Utbyte (%)	Fetthalt av TS (%)	Fettutbyte (%)
Havremjöl	90,8 % (s=0,18, n=2)	18,7 (s=0,65, n=4)	---	6,7 % (s=0,12, n=2)	
Proteinisolat	33 % (s=0,2, n=2)	96 (s=7, n=2)	90*	13 % (s=4,5, n=2)	35 %
Proteinisolat	33 % (n=1)	67	60–70%?		
Ultraljuds-behandlade:					
pH 5, 80 J/g	33 % (s=0,5, n=2)	60	---	(6,7 %) trol. avvikande	---
pH 5, 1000 J/g	39 % (s=1,3, n=2)	75	61	17 %	44 %
pH 5, 800 J/g	37 % (s=1,4, n=2)	64	53	14 %	32 %
pH 5, 850 J/g	43 % (s=2,9, n=2)	67 (s=2,1; n=2)	58	18 %	40 %
pH 9, 80 J/g	29 % (s=0,06, n=2)	66	66	13 %	38 %
pH 9, 800 J/g	21 % (s=1,8, n=2)	66	79	11 %	37 %
pH 9, 800 J/g	23 % (s=0,6, n=2)	---	---	---	---

*Avvikande värde som sannolikt beror på inhomogent prov vid proteinanalys

3.4 Lipasaktivitet

Lipasaktiviteten i obehandlat havremjöl uppmättes till $0,73 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (s=0,013, n=5), på grund av avvikelse i temperaturen ströks ett värde.

Lipasaktiviteten i proteinisolatet var låg med värden mellan $0,01\text{--}0,10 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ med det sammanslagna medelvärdet $0,051 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (s = 0,032, n = 9), se tabell 4. Eftersom enzymaktiviteten i proteinisolatet var låg så gjordes ett försök där 300 μl enzymlösning tillsattes istället för 100 μl , och buffertvolymen minskades i motsvarande grad (proteinisolatanalys 3). Aktiviteten i kyvetten vid detta försök var samma som de andra proteinisolatanalyserna, trots att tre gånger högre enzymmängd användes, vilket antyder att reaktionen huvudsakligen beror på att substratet sönderfaller spontant. I tabell 4 redovisas den beräknade aktiviteten med

hänsyn taget till att 300 µl prov har använts, och därför verkar halten lägre i detta prov.

Tabell 4 Lipasaktivitet i havremjöl och proteinisolat

Prov	Antal försök	Lipasaktivitet ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) (standardavvikelse)
Havremjöl 1	2	0,74 (0,0009)
Havremjöl 2	3	0,73 (0,020)
Havremjöl sammanslaget	5	0,73 (0,013)
Proteinisolat 1	2	0,049 (0,0087)*
Proteinisolat 2	3	0,10 (0,0033)*
Proteinisolat 3	2	0,017 (0,0005)*
Proteinisolat 4	2	0,039 (0,025)*
Proteinisolat sammanslaget	9	0,051 (0,032)*

* Sannolikt bakgrundsaktivitet på grund av sönderfall av substratet

3.5 Andra intressanta resultat

Under arbetets gång har även några andra intressanta iakttagelser gjorts som skulle kunna undersökas vidare.

Ultraljudsbehandling vid pH 5 med 800 J/g fick proteinet att synligt aggregera och bilda ett stabilt skum, se figur 5. Detta skum bakades sedan i ugn (103 °C) likt kikärtsmaränger och blev en fast men mycket porös struktur. Tyvärr har jag inte smakat det och jag är tveksam till att det smakar som maräng.



Figur 6 En bild på det skum som bildats efter sonikering vid pH 5 med 800 J/g.

I den första pelleten som slängs bildas några olika skikt. Det översta av dessa skikt har en slemmig konsistens mycket lik snor, proteinhalten i detta ”slem” uppmättes till 47 % av TS och torrsubstansen till 30 %, vad de resterande 53 % utgör är inte undersökt se figur 6.

Efter ultraljudsbehandling vid pH 9 ökade vattenhalten så att efter att provet tinats var det flytande och efter att det torkats (för att mäta torrsubstans) hade det en sprödhet och form likt chips (tänk proteinchips på havre).



Figur 7 En fas i extraktionen som har stora likheter med snor, bilden är tagen ur en film.



4 Diskussion

Proteinhalten i proteinisolatet utan ultraljudsbehandling är osäker, två extraktioner gjordes med olika resultat (96 % respektive 67 % av TS). Resultatet kan jämföras med Nofima (13) som fått XX % vilket talar för det andra försöket är riktigt. Det kan också jämföras med de ultraljudsbehandlade proverna som alla har en proteinhalt mellan 64–66 % av TS och en sammanställning (8) som gjorts av proteinextraktion av havre som visar att denna metod ger en proteinhalt omkring 72 % av TS. Sammantaget är en proteinhalt omkring 67 % av TS mer trolig än 96 % och resterande diskussion kommer utgå från detta värde. En möjlig förklaring till den avvikande proteinhalten kan vara att provet torkat mellan mätningen av torrsubstans och proteinhalt och då fått högre TS-halt, alternativt att det inte togs ett representativt prov från det blöta proteinisolatet.

Det saknas tillförlitliga data på proteinutbytet i den alkaliska extraktionen utan ultraljudbehandling i denna rapport på grund av olika misstag och det fanns inte material eller tid att upprepa försöken. Nofima (13) har tidigare rapporterat ett proteinutbyte på XX % och publicerade data (8) redovisar ett utbyte på 68-88 %.

4.1 Ultraljud och protein

Proteinhalten efter ultraljudsbehandling var 60 – 67 % av TS och inget samband syntes mellan energimängd eller pH och proteinhalt, och resultatet skiljer sig inte från obehandlat proteinisolat. Proteinutbytet var lägre när ultraljudbehandling utfördes vid pH 5 (53–61 %) jämfört med pH 9 (66–79 %). Detta skulle kunna förklaras av att ultraljudsbehandling har en emulgerande effekt vilket gör att det finns mer protein i vätskefasen efter centrifugeringen, och därmed blev utbytet blir lägre.

I en studie (10) har faktorer som påverkat lösligheten hos havreprotein undersökts efter en ultraljudsbehandling. Studien visade att ultraljudsbehandling kan påverka partikelstorleken hos ultraljudsbehandlat havreprotein men att vid pH 5 är lösligheten låg trots ultraljudsbehandling. En annan effekt av ultraljudbehandling i denna studie var att proteinerna påverkades så att andra grupper vändes ut mot lösningen vilket gjorde att proteinerna inte aggregerade utan lättare stannade i vätskefasen. Även denna effekt var lägst vid pH 5 (10). Ultraljudsbehandling kan göras på många olika sätt och det är svårt att jämföra med andra försök, men det verkar finnas stöd för att anta att resultaten i föreliggande studie är korrekta, vilket gör ultraljudbehandling vid pH 5 olämpligt.

Till framtida försök skulle proteinhalten i vätskefasen kunna mätas för att bekräfta om mer protein verkligen samlas där och om ultraljudbehandling verkligen ger en ökad löslighet.



Det högsta proteinutbytet (79%) erhöles vid ultraljudsbehandlingen med 800 J/g vid pH 9. Det möjligt att ultraljudsbehandling under det alkaliska steget, som syftar till att lösa upp proteinerna, kan ha en positiv effekt på utbytet, men fler försök behöver utföras för att bekräfta detta.

Ultraljudsbehandling vid pH 9 minskar TS-halten och sambandet verkar vara att ju mer energi som tillförs desto lägre TS-halt. Den minskade TS-halten påverkade inte proteinutbytet utan kompenseras av den totala att volymen blir blött prov större. Dessa prov var även synbart blötare efter att de varit i frysen. Denna effekt kunde inte ses vid ultraljudsbehandling vid pH 5.

4.2 Fett

Fetthalten i proteinisolatet uppmättes till 13 % av TS i ett dubbelprov med stor standardavvikelse ($s=4,5$, $n=2$) vilket ska jämföras med fetthalten i ultraljudsbehandlat material som var 11–18 % av TS. Detta kan jämföras med Nofima (13) som uppmätte fetthalten XX % av TS. De har dock gjort sin analys på endosperm mjöl från en annan havresort, medan fullkornsmjöl från havretypen Active har använts i vår studie. Nofima har använt samma metod för fetthaltbestämning som gjorts i denna studie, men det framgår ej om de gjort en syrahydrolys först som kan frigöra fett som är hårt bundet.

Vid ultraljudsbehandlat vid pH 9 erhöles 11-13 % fett i proteinisolatet och vid pH 5 14-18 % fett. Dessa resultat antyder att fetthalten är opåverkad av ultraljudsbehandling vid pH 9 men något högre med ultraljudsbehandling vid pH 5. Utbytet av fett varierar mellan 32-44 % i proteinisolatet och det verkar inte finnas något tydligt samband mellan typ av behandling och fettutbyte. Därmed verkar fett vara opåverkat av ultraljudet oavsett behandling och slutsatsen blir att ultraljudsbehandling inte är en användbar metod för att sänka fetthalten i proteinisolat. Ultraljud kan användas för att effektivisera extraktion av fett ur olika växter men alltid i närvaro av något extraktionsmedel. En studie har effektiviserat extraktion av olja ur rapsfrön i en vatten/hexan lösning och minskat tiden från ett dygn till 1,5 timme (26). Ett annat exempel är en extraktion av ämnen ur ekollon och vindruvskärnor i vatten/metanol/hexan där tiden kunde minskas från 24 timmar till 30 minuter med hjälp av ultraljud. Den förkortade tiden förklaras dels med att det fasta provet emulgeras i extraktionsmedlet vilket ökar massutbytet samt de lokalt höga temperatur och tryck som uppnås och hjälper till att förstöra cellstrukturer och frigöra ämnena från den fasta fasen (16).

Inom ramen för detta arbete gjordes några försök med ultraljudsbehandling av havremjöl i etanol för att se om avfettningen fungerade (data ej redovisat). Även RISE XXXXX. Alltså skulle etanol kunna användas för att avfetta havre och eventuellt skulle ultraljud kunna användas för att effektivisera den processen, men detta behöver undersökas ytterligare (27).

En genomgående svaghet i resultaten i föreliggande studie är att det främst är enkelprover som analyserats (utom vid pH 5 och ca 800 J/g), men när det



gäller frågan om ultraljudbehandling kan användas för att avfetta proteinisolat så är ändå resultatet entydigt.

4.3 Lipasaktivitet

I en studie (17) har lipasaktiviteten i 4 olika havresorter undersökts och funnits vara $0,41 - 0,77 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ där den nyaste skörden i studien hade den högsta lipasaktiviteten på $0,72 (s=0,05) \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ och sedan sjunkande aktivitet ju längre havren legat. Deras resultat är jämförbart med det resultat som erhållits för Active på $0,73 (s=0,013) \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. I samma studie (17) konstaterades att det finns en viss skillnad i lipasaktivitet mellan olika havresorter men att dessa skillnader är mindre än den minskning som sker mellan åren (17). Hur lipasaktiviteten i Active förhåller sig till andra sorters havre går inte att säga från denna undersökning.

Ingen lipasaktivitet kunde uppmätas i proteinisolatet, den aktivitet som uppmättes ökade inte med ökad enzymkoncentration (proteinisolat 3, med 3x enzymkoncentration, alltså lipaskoncentration). Eftersom pNPB är ljuskänslig så förekommer ett visst spontant sönderfall som antagligen är den aktivitet som uppmätts. Inget blankprov gjordes för att mäta den spontana aktiviteten hos pNPB.

Formeln för att beräkna lipasaktiviteten innehåller en faktor 1,01 som motsvarar volymen vätska som lipaserna löses upp i. Om denna faktor ska vara 1,01 eller bara 1 är oklart. Den skulle vara 1 för att 1 ml fosfatbuffert tillsätts men 1,01 för att även havren har ett vatteninnehåll på cirka 0,01 ml. Men ska vattenmängden i provet tas hänsyn till behöver detta också göras för proteinisolatet och då är faktorn 1,06 för dessa prov mer rimlig. Oavsett val av faktor, så länge samma faktor används påverkar det inte jämförelserna mellan proverna och i jämförelser med litteratur finns antagligen större felkällor både i metod och i provmaterial,

Lipasaktiviteten undersöktes inte i något ultraljudsbehandlat eller avfettat proteinisolat eftersom lipasaktiviteten var obefintlig i obehandlat proteinisolat. Antagligen är den alkaliska extraktionen av proteinet tillräcklig för att inaktivera lipaserna.



5 Slutsatser

- Ultraljudsbehandling påverkar inte fett- eller proteinhalten i havreproteinisolat.
- Ultraljudsbehandling i har i tidigare studier visats kunna minska tiden för en fettextraktion med lösningsmedel och detta skulle kunna undersökas vidare för havre, exempelvis om en etanolextraktion av fett kan effektiviseras med hjälp av ultraljud.
- Ultraljudsbehandling vid pH 5 verkar minska proteinutbytet från 66-79 % till 53-61 % av TS, men detta behöver konfirmeras med fler försök.
- Ultraljudsbehandling vid pH 9 i den alkaliska extraktionen minskar TS-halten i proteinisolatet, från omkring 35 % till mellan 21–29 %, och det verkar finnas ett samband med att ökad energimängd och minskad TS-halten.
- Efter en alkalisk extraktion av havreprotein inaktiveras lipaserna vilket skulle kunna innebära att proteinisolatet inte härsknar lika fort som havremjöl.



6 Referenslista

1. Daou C, Zhang H. Oat Beta-Glucan: Its Role in Health Promotion and Prevention of Diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2012;11(4):355–65.
2. Nylander A, Jonsson L, Marklinder I, Nydahl M. *Livsmedelsvetenskap*. Lund: Studentlitteratur; 2014.
3. Paudel D, Dhungana B, Caffè M, Krishnan P. A Review of Health-Beneficial Properties of Oats. *Foods*. 26 oktober 2021;10(11):2591.
4. Oat. I: Wikipedia [Internet]. 2022 [citerad 13 maj 2022]. Tillgänglig vid: <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Oat&oldid=1086425469>
5. Livsmedelsverkets livsmedelsdatabas, version 2021-05-03.
6. Fennema OR, Damodaran S, Parkin KL, redaktörer. *Fennema's food chemistry*. Fifth edition. Boca Raton London New York: CRC Press; 2017. 1107 s.
7. Coultate TP. *Food: the chemistry of its components*. Sixth edition. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry; 2016. 599 s.
8. Spaen J. Oat proteins: Review of extraction methods and techno-functionality for liquid and semi-solid applications. 2021;8.
9. Boukid F. Oat proteins as emerging ingredients for food formulation: where we stand? *Eur Food Res Technol*. 01 mars 2021;247(3):535–44.
10. Li R, Xiong YL. Ultrasound-induced structural modification and thermal properties of oat protein. *LWT*. september 2021;149:111861.
11. Lásztity R. Oat grain—a wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. *Food Reviews International*. februari 1998;14(1):99–119.
12. Sterna V, Zute S, Brunava L. Oat Grain Composition and its Nutrition Benefice. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2016;8:252–6.
13. Ballance S, Knutsen SH, Zobel H. Protein isolates from oat flour. NOFIMA; 2022 jan. Report No.: K-13/2022. Konfidentiell rapport
14. Jambrak AR, Herceg Z. Application of Ultrasonics in Food Preservation and Processing. I: Bhattacharya S, redaktör. *Conventional and Advanced Food Processing Technologies* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2014 [citerad 03 mars 2022]. s. 515–36. Tillgänglig vid: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118406281.ch21>



15. Gallo M, Ferrara L, Naviglio D. Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods*. 04 oktober 2018;7(10):E164.
16. Pérez-Serradilla JA, Priego-Capote F, Luque de Castro MD. Simultaneous Ultrasound-Assisted Emulsification–Extraction of Polar and Nonpolar Compounds from Solid Plant Samples. *Anal Chem*. 01 september 2007;79(17):6767–74.
17. Yang Z, Piironen V, Lampi AM. Lipid-modifying enzymes in oat and faba bean. *Food Research International*. 01 oktober 2017;100:335–43.
18. Bhangu SK, Gupta S, Ashokkumar M. Ultrasonic enhancement of lipase-catalysed transesterification for biodiesel synthesis. *Ultrasonics Sonochemistry*. 01 januari 2017;34:305–9.
19. The effect of ultrasound on lipase-catalyzed hydrolysis of soy oil in solvent-free system. *Ultrasonics Sonochemistry*. 01 april 2008;15(4):402–7.
20. Sakakibara M, Wang D, Takahashi, R, Takahashi K, Mori S. Influence of ultrasound irradiation on hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase. *Enzyme and Microbial Technology*. 1996;18:444–8.
21. Awadallak JA, Voll F, Ribas MC, da Silva C, Filho LC, da Silva EA. Enzymatic catalyzed palm oil hydrolysis under ultrasound irradiation: Diacylglycerol synthesis. *Ultrasonics Sonochemistry*. 01 juli 2013;20(4):1002–7.
22. Active, en ny havresort med högre proteinhalt. *Cerealier* [Internet]. 2022(1). Tillgänglig vid: <https://www.lantmannen.se/siteassets/documents/01-om-lantmannen/press-och-nyheter/publikationer/tidningen-c/cerealier-nr1-2022---tema-fullkorn-i-varlden.pdf>
23. NMKL. 1991;(23).
24. Fat. Determination in foods. NMKL. 1998;(160).
25. Nielsen SS, redaktör. *Food analysis*. 4th ed. New York ; Dordrecht: Springer; 2010. (Food science text series).
26. Sicaire AG, Vian MA, Fine F, Carré P, Tostain S, Chemat F. Ultrasound induced green solvent extraction of oil from oleaginous seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*. juli 2016;31:319–29.
27. Tönnerfors E, Westermark, Andreas, Stenemyr, Anna. Extraction of oat in lab scale. RISE; 2017 mar s. 22. Report No.: 17REP116 v2.0. Konfidentiell rapport

