

# Taimsete valkude eraldamine, kontsentreerimine ja omaduste iseloostamine.

Peeter Laurson

Hedi Kaldmäe

Viive Sarv



## Sisukord

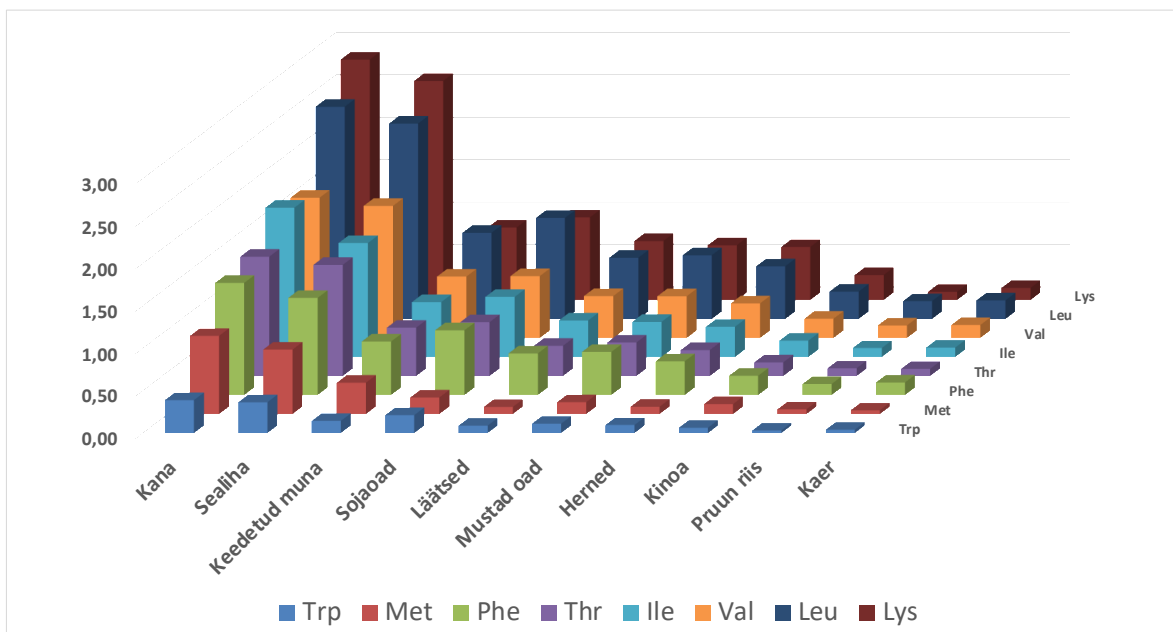
Sissejuhatus.....	2
1. Valkude eraldamiseks sobiliku biomassi valik. ....	5
2. Teraviljad valgu allikana.....	7
2.1 Kaer.....	8
2.2 Hirss.....	12
2.3 Kanep.....	12
3. Kaunviljad valgu allikana.....	13
3.1 Hernes.....	14
3.2 Pölduba.....	15
3.3 Lääts.....	15
4. Teraviljadest ja kaunviljadest valkude eraldamise ja kontsentreerimise meetodid.....	16
4.1 Valkude kuivfraksioneerimine.....	16
4.2 Valkude märgestraktsioon ehk valkude eraldamine kemikaalidega.....	18
5. Märgekstraheerimise ja kuivfraksioneerimise energeetiline võrdlus.....	20
6. Valgu eraldamise efektiivsus.....	23
7. Kuivfraksioneerimise läbiviimine.....	25
7.1 Eeltötlus.....	25
7.2 Jahvatus.....	25
7.3 Tooraines sisalduva õli, tuhasuse ja kiudaine mõju valgu kuivfraksioneerimisele.....	30
8. Kuivfraksioneerimise tulemust parandavad tehnikad.....	31
9. Inhibiitorite degradeerimine.....	32
10. Taimekasvatuse arendamine valgueraldamist silmaspidades.....	33
11. Innovatsioonitegevuse „Põllukultuuride valik ja sobivus valkude eraldamiseks“ käigus tehtud sortide valikud.....	34
12. Innovatsioonitegevuse ”Taimsete valkude eraldamine, kontsentreerimine ja omaduste iseloomustamine“ käigus kaeraga Kusta ja pöldhernega Kirke läbi viidud valgu kuivfraksioneerimise katsed.....	38
13. Kokkuvõte.....	41
14. Kasutatud kirjandus.....	42

## Sissejuhatus

Valgud ehk proteiinid on kõrgmolekulaarsed orgaanilised ained, mille molekul koosneb paljudest peptiidsidemetega pikkadeks ahelateks seotud aminohapetest. Elusaine ehituses asuvad valgud kesksel kohal, olles organismis kudede kasvuks ja säilitamiseks vajalikuks lämmastiku ja asendamatute aminohapete allikas. Taimedes toimub valgusüntees keskkonnas leiduva CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ja NH<sub>3</sub> või NO<sub>3</sub><sup>-</sup> arvel, kuid loomorganismid sarnaselt valke

sünteesida ei suuda ja seetõttu on nad taimedest otseselt või kaudselt sõltuvad. Inimesel kulub väiksem osa toiduvalgust energeetiliseks otstarbeks, suurem osa aga lagundatakse organismis uuesti aminohapeteks ja kasutatakse inimorganismile vajalike valkude sünteesiks või resünteesiks.<sup>1 2</sup> Vastavalt sellele, kas organism suudab vastavat aminohapet ise sünteesida või mitte sünteesida, jaotatakse aminohapped asendatavateks, poolasendatavateks ja asendamatuks. Aminohappeid, mida organism ise ei sünteesi, nimetatakse asendamatuks aminohapeteks ja nende omastamine toidust on möödapääsmatult vajalik. Asendamatuks aminohapeteks on: Valiin, Leutsiin, Isoleutsiin, Treoniin, Metioniin, Fenüülalaniin, Trüptofaan ja Lüsiin. Aminohappeid Arginiin, Histidiin, Tsüstiin, Tsüsteiin ja Türosiin on organism võimeline mingil määral ise sünteesima ning seetõttu peetakse neid poolasendamatuks aminohapeteks. Aminohapped Alaniin, Aspartaat, Glutamaat, Glütsiin, Proliin, Hüdroksüproliin ja Seriin on jaotatud asendatavate aminohapete hulka, sest tervele organismile on nende täielik sünteesimise võime tavapärasel füsioloogilises olukorras iseloomulik.<sup>2</sup>

Erinevates toitides varieeruvad nii valgu sisaldus kui ka valkude aminohappeline koostis.<sup>1,3-5</sup> Loomne toit on kõrge valgusisaldusega ning samuti on loomne toit rohke asendamatuks aminohapete allikas (Joonis 1).<sup>4</sup> Taimses toidu hulgas on suurema valgu sisaldusega liblikõieliste taimede viljad (oad, läätsed, herned) millega võrreldes teraviljade (riis, kaer) valgusisaldus jääb oluliselt madalamaks.



Joonis 1 Asendamatuks aminohapete sisaldus g/100 g loomse- ja taimses toidus<sup>4</sup>

Lühiajaliste lämmastiku tasakaalu uuringute põhjal on kindlaks tehtud, et minimaalse kehalise aktiivsusega terve täiskasvanud inimese soovitatav valgukogus päevas võiks olla 0,8 g valku kg kehamassi kohta päevas. Mõõduka ja intensiivse füüsilise aktiivsusega inimestele soovitatavaks valgu koguseks toiduga peetakse vastavalt 1,3 ja 1,6 g valku kehakaalu kilogrammi kohta päevas.<sup>6</sup>

Maailma rahvastiku kasv ja muutuv sotsiaaldemograafia avaldab maailma toiduressurssidele suuremat survet mitte ainult toodetava toidu koguse suurendamise, vaid ka erinevat tüüpi toidu valigu osas. Eeldatakse, et suurenenud nõudlus loomsete valkude järele avaldab negatiivset keskkonnamõju, tekitades üha suuremaid kasvuhoonegaaside heitkoguseid ning nõudes rohkem vett ja rohkem maad. Olukorraga toime tulemine nõuab olemasolevate valguallikate säästvama tootmise arendamist ja alternatiivsete valguallikate leidmist ning kasutusele võttu otseseks inimtoiduks. Alternatiivsete valguallikate saamise tehnoloogiate väljaarendamisel tuleb samuti suurt tähelepanu pöörata negatiivsete keskkonnamõjude ärahoidmisele.<sup>7</sup>

Taimsete valkude tootmise arendamine ja tootmine toidusektori jaoks on olnud viimasel aastakümnel üheks oluliseks poliitiliste arutelude temaks ELi tasandil. Inimeste poolt tarbitavate taimsete valkude kogused on järjest kasvamas. Liha- ja piimaasendajate turu aastased kasvumäärad on kaugelt üle 10 %. Vajadus taimsete valkude tootmise arendamiseks on suur. Euroopa Parlament võttis 2018. aasta aprillis vastu raporti, milles seatakse eesmärgiks strateegia arendamist Euroopa valgurikaste kultuuride edendamise strateegia arendamine.<sup>8</sup>

Käesolevas raamatus vahendame Eesti Maaülikooli poolt MTÜ Taimsete Valkude Innovatsiooniklastrile läbi viidud innovatsioonitegevuste „Põllukultuuride valik ja sobivus valkude eraldamiseks“ ja „Taimsete valkude eraldamine, kontsentreerimine ja omaduste iseloomustamine“ käigus saadud informatsiooni ja teadmisi.

Innovatsioonitegevuse „Põllukultuuride valik ja sobivus valkude eraldamiseks“ eesmärgiks oli varasematele uuringutele tuginedes teha Eestis kasvatamiseks sobivatest sortidest eelvalik ning viia EMÜ, ETKI ja ettevõtjate koostöös kolmel aastal läbi põldkatsed kanepi, kaera, põldoa ja põldhernega, selgitamaks sordi, kasvuaasta ja kasvatustehnoloogia mõju saagi valgusisaldusele. Samuti oli eesmärk hinnata ära ka vähem viljeldud, kuid valgurikaste ja perspektiivsete kultuuride (hirs ja lääts) sobivust taimse valgu allikana ning

saada teadmisi katses olnud kultuuride toorvalgu saagikusest hektari kohta, valgu aminohappelisest koostisest ja valgu omastamist takistavatest inhibiitoritest.

Innovatsioonitegevuse "Taimsete valkude eraldamine, kontsentreerimine ja omaduste iseloomustamine" eesmärgiks oli saada ülevaade uuritavate taimsete valkude eraldamise, puhastamise ja kontsentreerimise võimalustest.

### 1. Valkude eraldamiseks sobiliku biomassi valik.

Maailmas kasvatatakse arvukalt põllukultuure, mis sisaldavad märkimisväärselt valku. Euroopa regioonis toidu tootmiseks kasvatatavad ühed peamised kõrge valgu sisaldusega taimse valgu allikad on põldhernes ja põlduba. Toodangu mahud Euroopas on viimase viie aasta keskmisena olnud põldhernel 2 038 000 tonni ja põldoal 1 171 000 tonni. Üha kasvavast nõudlusest tingitult oodatakse 2022. aastal mõlema kultuuri toodangu kasvu üle 20%.<sup>9</sup> Kaera tootmine ulatus Euroopa liidus 2021. aastal ligi 8,2 miljoni tonnini<sup>10</sup> ja üha kasvav kanepi tootmine oli Euroopa Komisjoni andmetel tõusnud juba 2019. aastal 152 820 tonnini.<sup>11</sup> Euroopas toodeti 2020. aastal 669 103 tonni hirssi ja 118 796 tonni läätse.<sup>12</sup>

Valgu eraldamise tehnoloogia rakendamiseks, on oluline valida õige biomass. Tavapäraselt on põllukultuuride seemned, küllaltki kuivad ja valgud asetsevad valgu kehaes. Seetõttu võiks olla neid lihtne eraldada ning saavutada suurt tootlust ja puhtusastet. Õli sisaldavatest põllukultuuride seemnetest valgu eraldamisel võib õli olemasolu avaldada ebasoovitavat mõju valgu eraldamise protsessile. Seega on toormaterjalide tundmine valgu fraktsioneerimisprotsesside väljatöötamisel olulise tähtsusega. Vajalik on arvestada biomassi koostist, anatoomiat, tema algset rolli taime jaoks, aga ka komponentide koosmõjusid. Kaun- ja teravilju, õlitaimede seemneid iseloomustavad organellid, kus kogutakse/säilitatakse erinevaid komponente. Erinevates seemnetes leiduvate toitainete organellid on erineva suurusega, näiteks - õlikehad (0.5 – 5 µm), valkkehad (< 3 µm) ja tärklise graanulid (10–100 µm). Selliste toormaterjalide puhul, kus toitainete organellid on erineva suurusega, on võimalik planeerida osakeste kuivfraktsioneerimist ning eraldades need üksteisest vastavalt osakeste suurusele, saavutada rikastatud tooteid.<sup>13</sup>

Sõltuvalt biomassist on oluline tähelepanu pöörata ka toiduks ebasobivatele komponentidele, mis võivad jääda toodetesse vähema töötlemise puhul. Pruunid pigmendid tekivad valguga seotud fenoolide oksüdeerumisel. Selle keemilise protsessi tulemusena tekib iseloomulik värvus, mida tuntakse ensümaatilise pruunistumisena. Fenoolühendid

reageerivad valguga eriti oksüdatiivse stressi tingimustes, juhindudes sageli valgu omaduste, nagu struktuuri, lahustuvuse, seeduvuse ja termilise stabiilsuse muutustest.<sup>14,15</sup> Seda ensümaatilist reaktsiooni on raske ära hoida, kuna fenoolühendite varieeruvus erinevates biomassides muudab keerukaks valgu eraldamise protseduuri valiku. Olenevalt valgu eraldamise protsessist kasutatakse lõpptulemuse kvaliteedi parandamiseks ennetusena antioksidantide nagu askorbiinhappe või sulfitite lisamist või hapniku eemaldamist protsessi käigus. Valgu isolaatide hüdroolüüsumine kontrollitud tingimustes on näidanud positiivseid tulemusi valgu funktsionaalsuse kasvatamise osas. Hüdroolüüsitud valgul on tunduvalt parem lahustuvus ja seetõttu on ta väärtuslikum toidu, meditsiini ja diagnostika rakendustes. Näiteks herne valgu isolaadi kuni 10-protsendiline hüdroolüüsumine võib anda häid tulemusi lahustuvuse, vahustumise ja emulgeerumise parandamiseks.<sup>16</sup> Hüdroolüüsunud valkudel on mitmeid rakendusi eritoitudes, mida vajavad sportlased, väikelapsed või meditsiiniliste näidustustega inimesed. Hüdroolüüsunud valke saab tänu nende emulgeeruvatele omadustele kasutada ka kosmeetika toodetes nagu šampoonid ja kreemid. Valgu hüdroolüüsi kasutatakse ka bioaktiivsete peptiidide tootmiseks valgu isolaatidest ja kontsentratsioonidest. Neid peptiide kasutatakse toidulisanditena ja need on väärtuslikud tänu vererõhku alandavale, antioksidantsele ja -mikroobsele ning tromboosivastasele toimele.

Valgu kvaliteeti hinnatakse aminohapete seeduvuse hinde (ingl.k.the protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) järgi.<sup>17</sup> See meetod põhineb toidu valgu aminohapete profiili võrdlusel referentsväärtusega. Aminohappe hindamisel võetakse arvesse valgu seeduvust. Selliselt on saadud näiteks valkude seeduvuse näitajateks hernele 0,79-0,91, läätsel 0,68-0,95, kaerale 0,51-0,61 ja oale 0,44-0,67.<sup>18,19</sup> Olenemata asjaolust, et erinevas taimekultuuris sisalduva valgu seeduvus on sorditi erinev ning sõltub ka mingil määral kasvutingimusest, on võrreldes läätsel- ja hernevalguga, kaeras ja ubades leiduv valk oluliselt madalama seeduvuse näitajaga. Taimedest eraldatud valku võib muuta paremini bioloogiliselt omastatavaks kui mõjutada nende tehno-funktsionaalseid omadusi. Näiteks on punase läätsel valguisolaatidel saavutatud peaaegu kahekordse suurusega rasva adsorbeeruvus, kui isolaadi saamiseks kasutati ultrafiltratsiooni, võrrelduna isoelektrilise sadestamisega.<sup>20</sup> Üldine trend on, et isolaatidel ja kõrgema puhtusega fraktsioonidel on paremad funktsionaalsed omadused kui vähem puhastatud fraktsioonidel. Sellest hoolimata, on hulgaliselt näiteid sünergilistest mõjudest valkude ja ülejäänud komponentide vahel, mis parandavad valkude olemasolevaid omadusi.<sup>21,22</sup>

Üldjuhul määrab valgu hinna valgu sisaldus: mida kõrgem on valgu sisaldus, seda kõrgem hind. Samuti on oluline teada, et taimse päritoluga materjalides on teatud aminohapete, nagu lüsiini, metioniini, trüptofaani, sisaldus madalam. Mitte vähe olulised pole siiski ka kasutatava valgu maitseomadused ning funktsionaalsed omadused. Näiteks 80%-line vadaku valk ja 90%-line kaseiinvalk on kaks korda nii kõrge hinnaga kui sarnase sisaldusega sojavalk. See on ühelt poolt põhjustatud nende valgutoodete suurepärasest funktsionaalsetest omadustest ja teiselt poolt nende traditsioonilisest kasutusest toidutoodetes. Tehno-funktsionaalsetest omadustest on kõige olulisemal kohal valgu lahustuvus, millele järgneb vahustatavus, emulgeeruvus, ja lõpuks geelistumine.

Valkudest tehtavate uurimistöõde puhul lähtutakse viiest ühisest sambast:

1. Valgulise biomassi allika valik, milles arvestatakse allika ja valgu kättesaadavust, valgu kontsentratsiooni sobivust tööstuslikuks toidu tootmiseks.
2. Valgu tootmiseks meetodite või arenduste valik.
3. Valitud meetodil eraldatud valgu saagis.
4. Valgu fraktsioonide, tehno-funktsionaalsed omadused.
5. Tööstuslikud rakendatavused- kriitilised parameetrid tootmiseks; toodete tootmishind ja jätkusuutlikkus.<sup>18</sup>

## 2. Teraviljad valgu allikana.

Kõigis maailma osades, kus inimtsivilisatsioonid aegade jooksul arenesid, hakati järjest tarbima ka kaunvilju koos teraviljadega ja nende valkude kombinatsioon suutis katta inimeste ja loomade asendamatute aminohapete vajaduse. Teraviljade valgu sisaldus ei ole kõrge, jäädes vaid vahemikku 10-12%. Teraviljad on küll inimeste toitumises olulised valguallikad, kuid nende valgu kvaliteet on madal, kuna neis sisalduvate asendamatute aminohapete hulk on piiratud (Tabel 1).

Enne valgu eraldamist on tarvilik teravili kuivatada, vajadusel koorida, õli eraldada ja jahvatada. Seejärel kontsentreeritakse valk kas kuivfraktsioneerimise või märgestraktsiooni teel. Tööstuslikult kasutatakse teravilju ka tärglise tootmiseks. Veega töödeldes pestakse teraviljast tärglis ja järgi jääb lahustumatu valk, näiteks nisu puhul on selleks gluteen. Teraviljavalgud on rikkad väävlit sisaldavate aminohapete poolest, mis põhjustavad valgu lahustuvust vähendavate disulfiidsete sidemete tekkimist. Märgekstraktsioonil aluste kasutamine lõhub disulfiidseid sidemeid ja lisaks ioniseerib kõik neutraalsed ja happelised

aminohapped suurendades valgu lahustuvust. Enamik teravilja seemneid sisaldab säilitusvalkudena prolamiine, mis on peamised säilitusvalgud enamikes teravilja seemnetes ja on oluliseks valguallikaks ka inimestele ja loomadele, kuid kahjuks prolamiinvalkude, eriti nisus leiduva gliadiini näol, on tegemist ka tugevate allergeenidega.<sup>18</sup>

<b>Asendamatute aminohapete sisaldus g/100g eraldatud valgus</b>				
	<b>Nisu</b>	<b>Oder</b>	<b>Kaer</b>	<b>Riis</b>
<b>Isoleutsiin</b>	3,70	3,70	3,90	3,80
<b>Leutsiin</b>	6,80	7,00	7,40	8,20
<b>Lüsiin</b>	2,80	3,50	4,20	3,70
<b>Metioniin</b>	1,20	1,70	2,50	2,10
<b>Fenüülalaniin</b>	4,70	5,20	5,30	4,80
<b>Treoniin</b>	2,90	3,60	3,30	3,40
<b>Trüptofaan</b>	1,10	1,90		1,30
<b>Valiin</b>	4,40	4,90	5,30	5,80
<b>Histidiin</b>	2,30	2,30	2,20	2,40
<b>Türosiin</b>	1,70	2,90	3,10	2,50
<b>Tsüsteiin</b>	2,30	2,30	1,60	1,60

Tabel 1 Asendamatute aminohapete sisaldus g/100g teraviljast eraldatud valgust.<sup>23</sup>

Teraviljades leiduvad prolamiinid- nisus (gliadiin), rukkis (sekaliin), odras (hordeiin) ja kaeras (aveniin), on tuntud üldnimetuse all gluteen. Nisu, odra ja rukki valgulise koostise moodustavad peamiselt alkoholis lahustuvad prolamiinid, kuid kaeras domineerivad soolade vesilahustes lahustuvad globuliinid.<sup>24,25</sup> Fraktsioonidesse jaotatuna moodustavad globuliinid 70-80%, prolamiinid 4-14%, albumiinid 1-12% ja gluteliinid <10% kaeras sisalduva valgu kogusest.<sup>25</sup> Kaera prolamiinid on monogeense iseloomuga ja nende aminohapete sisaldusest umbes 10% koosneb proliinist, mis on umbes pool nisu, odra ja rukki prolamiini kogusest.<sup>26</sup> Asjaolu, et kaeras on võrreldes nisu, odra ja rukkiga prolamiinivalgu sisaldus kordades madalam, peetakse ka kaeravalgu tarbimisega kaasneda võivat allergia riski väiksemaks. Võrreldes õli sisaldusega nisus (1,92 g/100g), odras (2,3 g/100g) ja riisis (0,66 g/100g) on õli sisaldus kaeraterades (6,9 g/100g) oluliselt kõrgem ja valgu kontsentreerimisel tuleb sellest tingitud problemaatikaga arvestada.<sup>27</sup>

## 2.1 Kaer

Kaer on suurepärase aminohappelise koostisega kõrge kvaliteediga valgu allikas. Seetõttu on kaera valgud heaks täienduseks loomsetele ja taimsetele valguallikatele, eriti ,



kui valgusisaldust kontsentreerimisel tõstetakse. Keskmiselt sisaldab kaeraseemne tuum 16% valku, 7% õli, 10% kiudainet (millest 4,5%  $\beta$ -glükaani) ja 63% tärklist.<sup>28</sup>

Mulla viljakus, genotüüp, geograafiline päritolu ja kliima ning keskkonna faktorid, nagu kõrgus merepinnast, niiskus, temperatuur, päeva pikkus ja juhuslikud kiirgused mõjutavad tugevalt kaera valgu sisaldust. Geograafiline piirkond võib mõjutada valgu sisaldust 3-4%. Väetiste lisamisega saab tõsta valgusisaldust kuni 2%.<sup>29</sup>

Kuna põhjamaades kaer annab üldiselt head kvaliteetset saaki, on kaeral potentsiaali suuremaks kasutusele võtuks taimse valgu allikana, mis omakorda võimaldab välja arendada uudsed kaeral põhinevad toidutooted. Kaera valgud jagunevad: albumiinid (ensüümi sisaldav fraktsioon), globuliinid (peamine säilitusvalgu fraktsioon), prolamiinid (aveniinid ja gluteliinid).<sup>30</sup>

Kaer on unikaalne teiste teraviljade hulgas, sest selles on peamiseks säilitusvalguks globuliini fraktsioon, mida võib olla kuni 80%. Globuliin koosneb kuuest valgu monomeeri ühikust. Iga monomeer sisaldab ühte  $\alpha$  ja ühte  $\beta$  polüpeptiidset ühikut. Globuliini heksameetri molekulmass on ligikaudu 330 kg/mol.<sup>30,31</sup> Kaera globuliinil on hea termiline stabiilsus denatureerimis-temperatuuril 110 °C. Isegi veel kõrgematel temperatuuridel toimub polüpeptiidide ahela dissotsieerumine, mille tagajärjel tekivad algselt lahustuvad agregaadid ja veel raskemates tingimustes – lahustumatud agregaadid, millel on veel parem termiline stabiilsus 100-110 °C juures. Järelikult on kaera globuliine võimalik kasutada kõrget termilist stabiilsust ja kuumutamist vajava toidu koostisosadena.

Aveniin on üldine nimetus alkoholis lahustuvatele kaera prolamiinvalkudele, mis on tänu erinevatele polümorfsetele komponentidele väga heterogeensed looduses.

Kaera lisaväärtuseks toiduna on gluteeni puudumine. Seega saab seda kasutada gluteenivabades toitudes. Samas gluteeni puudumine ei võimalda kaerajahust üksi valmistada leiba, kuna gluteen annab leiva taigale vajaliku elastsuse ja struktuuri, võimaldades kerkimist. Aveniinidel seda võimet ei ole.

Valgu märkeeraldamisel kaerast trüptofaan laguneb hüdrolüüsi käigus. Aspartaam- ja glutamiinhapped sisalduvad kaeras amiidsete ja happeliste vormide summuna (amiidid muudetakse vastavateks hapeteks HCl-ga hüdrolüüsumise etapis). Kaera ekstrakti proovides treoniini, proliini ja metioniini hulk väheneb märkimisväärselt kuumutamise tulemusena, võrreldes nende lahustuvate valkudega. Proliin ja metioniin prevaleerivad prolamiini fraktsioonis, võrreldes teiste valgu fraktsioonidega ja seega on prolamiini fraktsiooni

lahustuvus mõjutatud samuti kuumutamisest. On leitud, et kaeraterade kuumutamine vähendab ligi 50% lahustuvate valkude saamist. Lisaks sellele, albumiini ja prolamiini valgu fraktsioonide lahustuvus on isegi veel rohkem mõjutatud, kui globuliini fraktsioon. Seega, tööstuslik kuumutamine mõjutab kaera valkude lahustuvust ja sellel võib olla selektiivne mõju erinevatele lahustuvate kaera valkude fraktsioonidele. Kuumutamine võib seega mõjutada lahustuvate kaeravalkude funktsionaalsust ja nende tehnilisi ja /või funktsionaalseid omadusi. Näiteks, halvasti lahustuvate globuliini fraktsioonide domeenide suurenemine (hüdrofoobsete aminohappe jääkide hulga suurenemine) kuumutamisega töödeldud kaera puhul, võib olla selgituseks sel baasil saadud emulsioonide halbadele emulgeeruvatele omadustele.<sup>32</sup>

Kuna kaer sisaldab võrreldes teiste teraviljadega (2-3%) märkimisväärses koguses õli (6-8%), on ta mõneti eriline. Samuti on kaeras 35% linoleenhapet ja suur hulk lipiide seedivaid ensüüme. Kaeras sisalduvad fosfoliipidid ja triglütseriidid (TAG) hüdroolüüsuvad lipaasi abil esterifitseerumata rasvhapeteks (NEFA). Kaeral on kõrgem lipaasi aktiivsus, kui teistel teraviljadel. Lipaasi poolt tekitatud NEFA annab ebameeldiva seebi maitse, lisaks sellele NEFA võib reageerida lipoksügenaasiga, mis katalüüsib küllastamata rasvhapete (enamasti linoleenhappe) üleminekut rasvhappe hüdroperoksiidideks. Viimased võivad laguneda lenduvateks rasvhappe laguproduktideks, nagu heksanaal, mis põhjustab rääsunud lõhna. Terves teravilja teras neid reaktsioone ei toimu, sest lipaas ja lipoksügenaas asetsevad lahus. Jahvatamisel ensüümid ja lipiidid saavad kokku ja seetõttu tuleb need enne inaktiveerida. Selleks kasutatakse enne jahvatust termilisi protseduure.<sup>33</sup> Kuid on ka katsetatud ilma eelnevate protseduurideta. Sellisel juhul kõrge õli sisaldus muudab jahvatuse iseloomu: toimub pigem purustamine kui murdumine, mis muudab kuivjahvatuse tekkivate ummistuste tõttu keerukaks. Kaera jahvatamine on erinev ka võrreldes teiste teraviljade jahvatamisega kus õlisisaldus puudub. Kaera kest ei ole seotud endospermiga, tal on suurem õlisisaldus, kui enamikel teistel teraviljadel ja ta sisaldab suurel hulgal lahustuvaid kiudaineid. Kaera kest koosneb peamiselt tselluloosist, hemicelluloosist, ja ligniinist. Kesta sees on tang, mis moodustab 68-72% tuumast. Tavaliselt töödeldakse kaera täisteraliselt, sest tema tang on pehmem, kui teistel teraviljadel nn. nisul ning seega ei ole kergesti eraldatav eri fraktsioonideks. Tangu välimine kiht on oluline valgu, neutraalsete lipiidide,  $\beta$ -glükaani, fenoolide ja niatsiini allikas ja see eraldatakse mõnikord tangust, et toota kliisid. Sisemine endosperm koosneb valkudest, tärklisest ja  $\beta$ -glükaanist, samas, kui idu koosneb peamiselt

lipiididest ja valgust. Need komponendid ja unikaalne füsioloogiline struktuur tingivad seda, et kaera töödeldaks erinevalt võrreldes teiste teraviljadega, samas muudavad need omadused kaera oluliseks ja hinnatud toiduaineks. Soovituslik on, et kaera hoiustatakse vee aktiivsusel  $<0,65$  (umbes 13% niiskust tuumades),  $5-20^{\circ}\text{C}$ . Üldiselt kaera jahvatus disainitakse nii, et saaks eemaldada tundmatud materjalid, isoleerida ja stabiliseerida tangu ja muuta tang kergelt toidu valmistamise olekusse. See hõlmab endast 1.puhastmist, 2.koorimist, 3.ahjus kuumutamist ja seejärel 4.lõikamist, 5a.helveste või 5b jahu valmistamist.<sup>33</sup>

Jahvatamisel kaerajahu läheb klompi oma kõrge ölisalduse tõttu. Seetõttu kasutatakse õhu survet jahu veskist läbilükkamiseks ja ülekuumenemise vältimiseks. Kaerajahu eraldatakse jäme- ja peenfraktsiooniks. Jäme- ja peenfraktsiooni nimetatakse kliideks ja see pärineb kaeratangu aleuroon- ja subaleuroonkihtidest ja sisaldab rohkem kiudaineid, valku, vitamiine ja mineraale ning veidi rohkem õli. Peenfraktsioon sisaldab peamiselt tärklisi. Jäme- ja peenfraktsioon eraldatakse kaerajahu sõelumise teel.<sup>33</sup> Lisaks tera endospermile on ka kaera kliid väärtuslikud valguallikad.<sup>34,35</sup> Kaerast valgu eraldamises õhuga läbi kuivfraktsioneerimise nähakse tööstuslikku potentsiaali juhul kui õli teradest eelnevalt saab eraldatud.

Kaera valgu kontsentratsioonidel, mis on saadud nii märg- kui kuivjahvatusel, on hea aminohappeline koostis, õrn maitse ja kasulikud funktsionaalsed omadused. Neid võib kasutada kangendajatena, et parandada organoleptilisi omadusi neutraalsetel ja happelistel jookidel ja lisanditena nisujahule, et parandada leiva maitset ja toiteväärtust.<sup>36,37</sup>

Geelistumine on globulaarsetele valkudele iseloomulik omadus ja see on ka kõige olulisem funktsionaalne omadus toitudel, mis läbivad töötlemise.<sup>38,39</sup> Kaera globuliinid võivad geelistuda, kui neid kuumutada allpool denatureerimistemperatuuri. Kaera globuliinide geelistumist aluselise pH juures on võimalik kasutada, et asendada piima ja muna valke taimetoitudes.<sup>40</sup> Kaera globuliinidel on hea termiline stabiilsus ja mitmeid eeliseid, kui neid kasutada toidu koostises temperatuuril kuni  $110^{\circ}\text{C}$ . Kaera globuliinvalkude voolavuse omadused on olulised toidutootjatele erinevate toidutoodete valmistamisel, sest need parandavad nii maitse- kui ka tekstuuri kvaliteeti.<sup>40</sup> Kaeravalgude keemilised modifikatsioonid võivad parandada nende lahustuvust<sup>41,42</sup> emulgeerivaid omadusi,<sup>43</sup> vee hüdratsioonivõimet,<sup>40</sup> rasva sidumisvõimet<sup>42</sup> ja vahustumisvõimet ning stabiilsust,<sup>44</sup> ületades nisu gluteeni ja rasva sidumisvõime poolest märkimisväärselt ka nii soja gluteeni kui ka soja valku.<sup>40</sup> Kaeravalke saab kasutada emulsiooni stabiliseerimiseks, söödavateks kateteks ja funktsionaalseteks lisanditeks toidusüsteemides.<sup>45,46</sup>

## 2.2 Hirss

Teraviljana kasvatatavad hirsiliigid kuuluvad järgmistesse taimeperekondadesse: hiidhirss (*Pennisetum L.*); hirss (*Panicum L.*); kukeleib (*Setaria P.Beauv*); lembehein (*Eragrostis Wolf*); paelhirss (*Digitaria*); sõrmhirss (*Eleusine Gaertn*). Olulisemad liigid on Neeгри-hiidhirss, Itaalia kukeleib, Korakaani sõrmhirss, Harilik hirss, Abessiinia lembehein.

Põhilised hirssi eristatavad anatoomilised komponendid on välimine kate- perikarp, tärkliseline osa – endosperm ja õline osa – idu.

Valgu sisalduseks hirsis on saadud 5,6-14,8%.<sup>47</sup> Hirsi valk on rikas asendamatustest aminohapetest, välja arvatud trüptofaan ja lüsiin, mida on üldiselt vähe ka teistes tera- ja kaunviljades. Teisalt on valgud küllaltki rikkad väävlit sisaldavatest aminohapetest nagu tsüsteiin ja metioniin. Hirsiteri iseloomustab madal ölisaldus (1,5-5%), aga nad on rikkad süsivesikute poolest (60-70%) ja sisaldavad 7-12% valku ning 2-7% kiudaineid. Nad on head vitamiiniallikad (eriti B-vitamiin: tiamiin, folatsiin, niatsiin, ja riboflaviin) ning mineraalid, nagu magneesium, raud ja kaltsium. Lisaks sellele sisaldavad nad selliseid asendamatuid rasvhappeid nagu linoleen-, oleiin- ja palmitiinhape.<sup>48</sup>

Sõrmhirsi Ida-Aafrikast pärit sordid omavad erinevas koguses tanniine (270–2000 mg/100 g), samas nii mais kui ka sõrmhirss on rikkad ka fütiinhappe poolest.<sup>49</sup> Sellised mittetoidulised ained moodustavad komplekse mikrotoitainetega nagu raud, kaltsium ja tsink ning vähendavad ka lahustuvust ja bioloogilist omastatavust. Tanniinid on ka kompleks seedetrakti ensüümidest, mis ebasoodsalt mõjutavad valkude ja süsivesikute omastamist. Traditsioonilised tehnoloogiad nagu koorimine, leotamine, idandamine ja teraviljal põhinevate toitude fermenteerimine, vähendavad tanniinide ja fütiinide sisaldust suurendades aminohapete ja mineraalide bioloogilist kättesaadavust ning parandades valgu ja tärklise omastatavust.<sup>49</sup> Koorimine võib vähendada hirsis 40-50% nii fütiini kui ka fosfori sisaldust. Hirss sisaldab tüüpiliselt rohkem asendamatuid aminohappeid ja on suurema õli sisaldusega kui mais, riis ja sorgo. On leitud ka, et hirsil on kõrgem magneesiumi, mangaani ja fosfori sisaldus, kui teistel teraviljadel.<sup>50</sup>

## 2.3 Kanep

Kanep on õlitaim, sisaldades 5% vett, 5% süsivesikuid, 49% õli ja 31% valku. Kõrge valgusisalduse tõttu on kanepiseemnetel ka kõrge potentsiaal inimtoiduna kasutamiseks. Kanepiseemneid iseloomustatakse kui head valguallikat. Kanepivalgu aminohappeprofiil on kõrge asparagiinhappe, glutamiinhappe ja arginiini sisalduse poolest.

Kanepiseemnetes on leitud ka mitmeid toitumist mitte soosivaid faktoreid, milleks on trüpsiini inhibiitor, fütiinhape, tsüanogeensed glükosiidid, kondenseerunud tanniinid ja saponiinid, mis asuvad enamasti idulehtede fraktsioonides.

Valgu eraldamise kanepi seemnetest teeb keerukamaks seemnete kõrge õlisisaldus. Rohke õlisisalduse tõttu sobib kanepist valgu eraldamiseks eelkõige valgu märg eraldamine.<sup>51–53</sup>

### 3. Kaunviljad valgu allikana

Kaunviljade valgusisaldus on 20-30%, mis on poole kõrgem kui teraviljades.<sup>54–56</sup> Suurem osa kaunviljade seemnetes leiduvatest valkudest koosneb soolas lahustuvatest globuliinidest ehk säilitusvalkudest, mis sünteesitakse seemnete arengu käigus, säilitatakse valgukehades ja hüdrolyüsitakse idanemise ajal, et anda arenevale seemikule lämmastiku- ja süsiniku skeletid. Legumiini (11S), vitsiliini (7S) on kaunviljades leiduvatest globuliinidest peamised.<sup>57,58</sup> Ülejäänud kaunviljade seemnetes leiduvatest valkudest on peamiselt vees lahustuvad albumiinid, koosnedes ensümaatilistest valkudest, proteaasi ja amülaasi inhibiitoritest, letsitiinidest.<sup>20</sup> Põldoa valgufraktsioonidest põhiosa moodustavad globuliinid (69,5–78,1%), millele järgnevad gluteliinid (12,0–18,4%), prolamiinid (1,83–3,57%) ja albumiinid (1,41–3,01%).<sup>59</sup> Erinevate kaunviljade seemnevalkudes sisalduv aminohappeline koostis on võrdlemisi sarnane (Tabel 2).

Asendamatute aminohapete sisaldus g/100g eraldatud valgus			
	Hernes	Kikerhernes	Uba
Isoleutsiin	3,9	4,1	5,3
Leutsiin	7,8	7,0	9,0
Lüsiin	6,3	7,7	7,7
Metioniin	1,6	1,6	1,3
Fenüülalaniin	5,2	5,9	6,0
Treoniin	4,5	3,6	4,9
Trüptofaan	0,6	1,1	
Valiin	5,1	3,6	5,9
Histidiin	2,3	3,4	3,2
Türosiin	3,3	3,7	3,4
Arginiin	7,9	10,3	6,9

Tabel 2 Asendamatute aminohapete sisaldus g/100g kaunviljast eraldatud valgust.<sup>20</sup>

Kõikides kaunviljade seemnevalkudes on vävliit sisaldavate aminohapete ja trüptofaani sisaldus suhteliselt madal, kuid lüsiini kogused on palju suuremad kui teraviljades.<sup>60</sup> Võrreldes globuliinidega sisaldavad hernealbumiinid rohkem asendamatutest aminohapetest

trüptofaani, lüsiini, treoniini, tsüsteiini ja metioniini, samas kui globuliinivalgud on rikkad arginiini, fenüülalaniini, leutsiini ja isoleutsiini poolest.<sup>61</sup> Põldoa tasakaalustatud aminohapete profiil on sarnane herne aminohapete profiilile, sisaldades suures koguses lüsiini, leutsiini, isoleutsiini, treoniini, histidiini ja aromaatsaid aminohappeid. Väävlit sisaldavaid aminohappeid (metioniin ja tsüsteiini) ja trüptofaani leidub põldoas väiksemates kogustes. Kaunviljade aminohapete profiil täiendab teraviljade aminohapete profiili lüsiini rohkusega ja vastukaaluks leiab teraviljade aminohapete profiilist suuremas koguses metioniini ja tsüsteiini.<sup>59</sup> Aminohappelise mitmekesisuse saavutamiseks püütakse kasutada kaunviljade ja teraviljade valgufraktsioone erinevates toidutoodetes kombineeritult koos.<sup>54</sup>

Valgu eraldamiseks tuleb ka kaunvilju sarnaselt teraviljadega ettevalmistamise käigus puhastada, kuivatada, sorteerida, vajadusel koorida ja jahvatada, misjärel saab valku kontsentreerida kas kuivfraksioneerimise või märgestraktsiooni teel. Võrreldes teiste valguallikatega on kaunviljadest saadud kõrge valgusisaldusega fraktsioonid küllaltki funktsionaalsed ja nende töötlemist peetakse ökonoomiliselt jätkusuutlikuks. Kuna kaunviljade valkudel olenevalt puhtusest esineb maitsespetsiifilisust, on nende toidulistes rakendustes üheks väljakutseks osutunud ka vastuvõetavate maitseomaduste väljaarendamine.<sup>62</sup>

### 3.1 Hernes

Harilik aedhernes (*Pisum sativum* L.) kuulub kaunviljade (Fabaceae) perekonda. Eristatakse kahte tüüpi hernerest: aedhernes (roheline hernes) ja põldhernes (kuiv hernes), mis mõlemad on olulised taimed tänu oma suurele raua, tärklise ja valgu sisaldusele. Põhilised valgufraktsioonid hernessemetes on albumiinid (rohkem kui 44%) ja globuliinid (ligi 40%), mis on vastavalt vees ja soolas lahustuvad.<sup>63</sup> Tervislikkuse aspektist on hernerid kasulikud oma madala rasvasisalduse, antioksüdantsete ja põletikuvastaste omaduste, karotenoidide, B ja E-vitamiini sisalduse tõttu. Lisaks sellele on hernerid omega-3 ja omega-6 allikad.<sup>64</sup>

Hernerid sisaldavad umbes 25% valku. Üldiselt on herne valgu koostis ja omadused küllalt sarnased soja valgule. Herne valk koosneb peamiselt vees lahustuvatest valkudest, kaasaarvatud globuliin (55-65%) ja albumiin (18-22%). Globuliinid koosnevad kahest põhilisest perekonnast, legumiinist ja vaciliinist, mis kuuluvad vastavalt 11S ja 7S säilitusvalkude hulka. Legumiini molekulmass on 360 kDa ja vaciliinil 150 kDa. Albumiinid on vees lahustuvad valgud. Herne letsitiinid (50 kDa) koosnevad kahest suurest (17 Da) ja kahest

väiksest (5,7 kDa) allüksusest. Hernevalgul on hästi tasakaalustatud aminohapete profiil ja eriti kõrge lüsiini sisaldus.

Hernevalgu tooteid valmistatakse toiduks kas kuivfraksioneerimise või märgekstraheerimise teel hernest eraldatud valgust. Kuivfraksioneerimisel saadakse tärklise ja valgu fraktsioon, millest viimane moodustab 25-30% kogu jahu hulgast, valgu sisaldusega 50-60%. Märgekstraheerimise teel valgu eraldamisel hernestest saadakse kõrgema (85-90%) valgusisaldusega materjali. Kui segada kuivfraksioneeritud herne valgu kontsentraate veega, siis faaside segunemisel selgub, et tekivad biopolümeerid ja anisotroopia.<sup>65</sup> Struktuuri moodustumist hernevalgu puhul on märgatud ka pärast kõrge niiskusega ekstrudeerimist.<sup>66</sup> Need tulemused viitavad võimalusele kasutada kuiv-eraldamisel saadud hernevalku lihaasendajana. Kuivfraksioneerimisel saadud hernevalgul on erilised funktsionaalsed omadused. Valgu sisaldusel üle 30% ja pärast kuumutamist saavutatakse kõrge vee mahutavus materjalis. Seega sobivad hernevalgu kontsentraadid rakendustesse, mis vajavad märkimisväärset vee mahutusvõimet ja tekstuuri parandamist, nagu küpsetatud tooted ja makaronitooted.<sup>67</sup> On leitud ka, et kergelt töödeldud hea lahustuvusega valgukontsentraadid võivad saada munavalgu asendajaks teatud toitudes.<sup>65</sup>

### 3.2 Põlduba

Oad on ühed enamlevinuimad toidus kasutatavad kaunviljad maailmas. Oad sisaldavad 17,9-23,6% valku, 1,3-3,6% õli, 2,9-5% tuhka ja 56,5-61,6% süsivesikuid. Neil on tasakaalustatud aminohappeline koostis, kuigi nad sisaldavad vähe fosforit sisaldavaid aminohappeid (metioniini ja trüptofaani), mida teistes kultuurides võib leida rohkem. Nad sisaldavad vitamiine ja mittetoidulisi faktoreid, nagu proteolüütiliste ensüümide inhibiitoreid, fütiinhapet ja letsitiini, mis vähendavad valgu seeduvust. Oa säilitusvalgud on viciliin ja legumiin.<sup>68</sup> Ubades on määratud vees lahustuvaid albumiine 10-30% ja soolas lahustuvaid globuliine 45-70%.<sup>55</sup>

### 3.3 Lääts

Läätsse valgusisaldus seemnes on 25,9%, õlivabas seemnes on 27,8%, idulehe jahus on 29,1% ja õlivabas idulehe jahus on 31,1%.<sup>69</sup> Albumiinid (16,8%), legumiinid (44,8%), viciliinid (4,2%), gluteliinid (11,2%) ja prolamiinid (3,5%) kogu valkude hulgast<sup>70</sup>.

#### 4. Teraviljadest ja kaunviljadest valkude eraldamise ja kontsentreerimise meetodid.

Valkude eraldamiseks ja kontsentreerimiseks teravilast ja kaunviljadest on välja arendatud kaks põhilist meetodit: kuivmenetlus ehk kuivfraktsioneerimine kus valgufraktsiooni eraldamine toimub peenjahvatatud pulbrist vastavaks otstarbeks sobilike õhkseparaatoritega ja märgestraktsioon ehk valkude eraldamine kemikaalidega.

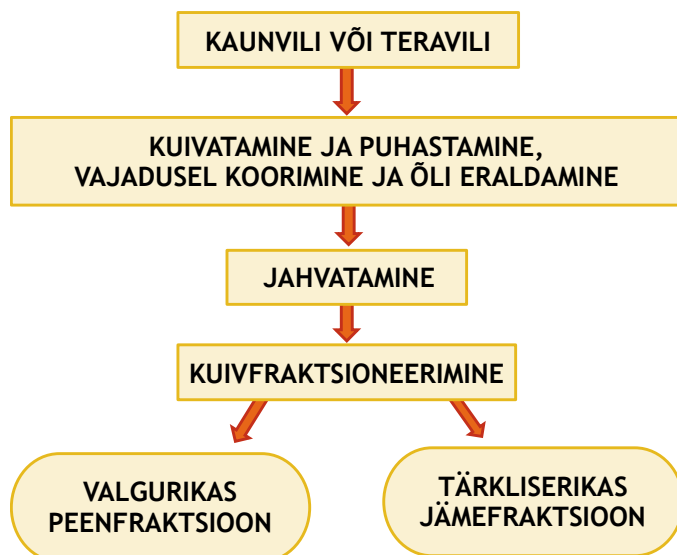
##### 4.1 Valkude kuivfraktsioneerimine

Kuivfraktsioneerimine (õhkfraktsioneerimine ehk tuulfraktsioneerimine) on tehnika, mis võimaldab terad/seemned fraktsioneerida tärglise- ja valgurikkaks jahuks. Protsessi läbiviimiseks kasutatakse kuivatatud, kooritud või koorimata, õli eraldatud või õli eraldamata materjali. Teravili või kaunvili peen-jahvatatakse jahuks, milles on kahe erineva suuruse ja tihedusega osakesed. Kuivfraktsioneerimine kasutab seda nähtust, et eraldada kerge valgurikas peenfraktsioon raskest tärgliserikkast jäme fraktsioonist. Terved või kroovitud seemned jahvatatakse väga peeneks jahuks ja seejärel fraktsioneeritakse jahu spiraalse õhuvooluna, et eraldada tärglis valgust (Joonis 2). Protsessi võib eraldumise tõhususe parandamiseks korrata mitu korda, kuna valgukehad võivad tärglisegraanulite pinnale kleepuda ka pärast esialgset käitamist. Selles alguses tärglisefraktsioonis esinevad aglomeraadid võivad sisaldada ka valgumaatriksisse sisse jäänud tärglisegraanuleid, kuid korduva nõeljahvatamise ja õhuga fraktsioneerimise abil on võimalik saavutada suurem puhtusaste ja valke kontsentreerida. Kuivfraktsioneerimiseks kasutatav jahvatus peab olema suuteline tootma väga peent jahvatust, mis on piisavalt selektiivset rakkude ja rakufragmentide purustamiseks ilma tärglisegraanuleid tõsiselt kahjustamata.

Vaatamata jõupingutustele on mitmed uuringud näidanud, et osa proteiinist ei saa tärglisegraanulitest lahti jahvatada isegi vaatamata korduvale jahvatamisele. Kleepunud valk pärineb koloroplastide membraanidest ja stroomast, milles tärglisegraanulid arenesid. Kuivfraktsioneerimisel saadud jämedate (tärglis) ja peente (valgu) fraktsioonide puhtus on seetõttu sageli madalam kui see on märgestraheerimisel.<sup>20</sup>

Põhilisteks huvi kasvamise põhjusteks kuiv-fraktsioneerimise vastu, on olnud soov luua taimse valgu ekstraktsiooni võimalusi, mis kasutaksid vähem energiat ja ressursse ja võimaldaksid toota funktsionaalseid valgufraktsioone atraktiivse ja tervisliku toidu tootmiseks. Parem jätkusuutlikkus põhineb faktil, et kuivfraktsioneerimine ei vaja vee lisamist ning seega ka energiakulukat dehüdreerimist.<sup>71</sup>





Joonis 2 Valgu kuivfraktsioneerimise protsess<sup>20</sup>

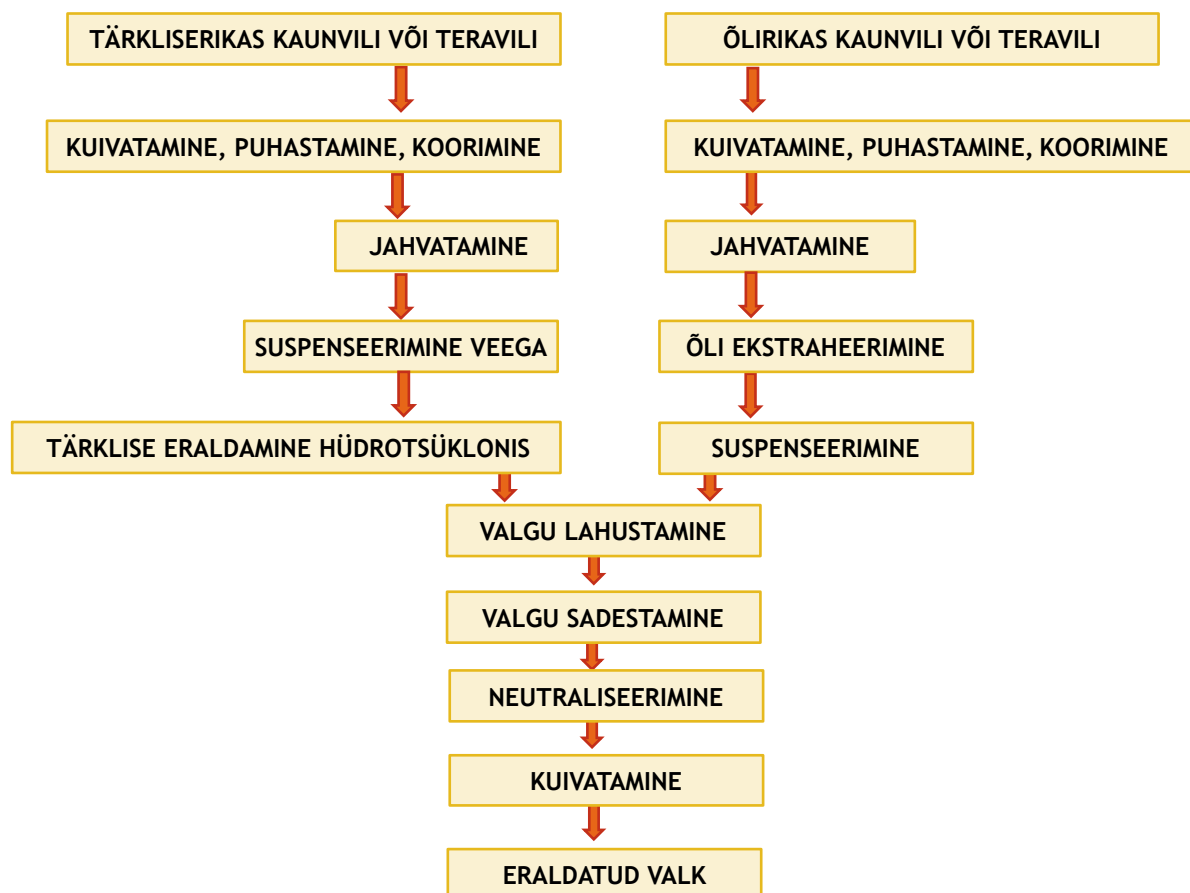
Eeliseks märgfraktsioneerimise ees on ka kemikaalidega mitte kokkupuutumine, mis säilitab algupärase komponentide funktsionaalsuse ja eraldatud valgufraktsiooni energiamahuka kuivatamise etapi puudumine. Sellest tulenevalt on kuivfraktsioneeritud valgud sobilikumad orgaaniliste toitude tootmiseks. Põhiliseks mureks kuivfraktsioneerimisel on valgu kontsentreerimisel saadav küllaltki mõõdukas valgusisaldus, võrreldes märg-ekstraktsioonil saaduga, samas aga on ka leitud, et enamikes rakendustes ei olegi kõrge valguline puhtus vajalik.<sup>21</sup> Üldiselt võib järeldada, et kuivfraktsioneerimisest võib saada uudne lahendus protsessidele, kus soovitakse kasutada ära kogu kaunvili integreeritumal ja efektiivsemal moel, samas pöörates tähelepanu fraktsioonide koostise suuremale varieeruvusele.<sup>71</sup> Valgu kuivfraktsioneerimisel õhuga eraldamise teel kasutatakse ära valgurikaste ja valguvaeste kaunvilja osakeste suuruse ja tiheduse erinevust. Sobilik jahvatus aitab väiksemad valgukehad lahti harutada suuremate tärklisegraanulite ja rakuseina kiudainete küljest. Selleks et suurendada valgu puhtust ja kuiv- eraldatud fraktsioonide kasutusvõimalusi, on vaja paremat arusaamist kuivfraktsioneerimist takistavatest faktoritest.<sup>21,71,72</sup> Jahvatamise meetodikat, mida vajatakse valgukehade ja teiste rakuliste komponentide lahtiharutamiseks, on võimalik paremaks muuta, kui mõista seemne morfoloogiat ja käitumist tema (mikro)purunemisel kokkupõrke või deformatsiooni korral.<sup>73</sup>

Ühel lähenemisviisil tuleks suurendada meie teadmisi kaunviljade sisemuse täpsetest omadustest ja ehitusest ning morfoloogiast nende eri piirkondades, mille tulemusena saaks välja arendada palju täpsem jahvatus, ilma tärklisest vigastamata.

Teised lähenemisviisid on keskendunud eeltöötluste arengule või kasutavad ja arendavad kaunviljade sorte, mis paremini sobituvad kuivfraktsioneerimisega, või kasutavad parandatud kuiveraldamise strateegiaid. Teadmisi kaunviljade morfoloogiast on võimalik laiendada teades rohkem kiudaine, valgu kehade ja tärglisegraanulite kleepumise ja tugevuse kohta. Eesmärgiks oleks kasutada seda infot purunemise käitumise mõjutamiseks, osakeste lahti hargnemise ja seadmete disainimise kriteeriumite parandamiseks. Näiteks, suurendades kiudaine osakeste suurust võrreldes valgurikaste osakestega, võime vähendada kiudaine sisaldust peenfraktsioonis. Lisaks sellele, saab valgu kehade ja tärglise graanulite tugevust kindlaks teha erinevate temperatuuride ja niiskuse sisalduse puhul. Sellise informatsiooni põhjal saab teha olekudiagrammi, mis on tööriistaks jahvatustemperatuuri ja niiskuse sisalduse määramisel, mis võimaldab optimaalset raku komponentide lahtihargnemist.<sup>65,72</sup>

#### 4.2 Valkude märgekstraktsioon ehk valkude eraldamine kemikaalidega

Valkude eraldamisel märgekstraktsiooni teel kasutatakse nelja põhilist valkude eraldamise viisi: aluseline ekstraheerimine, happeline ekstraheerimine, sool-ekstraheerimine ja vesiekstraheerimine (Joonis 3).



Joonis 3 Valkude märgekstraktsioon.<sup>20</sup>

Uurimised on näidanud, et märgestraktsioonil läbi viidud valgu eraldamise protsessid on mõjusamad mitte-toidulistest komponentidest vabanemisel.  $\alpha$ -galaktosiidid ja glükosiidid esinevad isolaatides vaid jälgedena. Trüpsiini inhibiitoritel ja hemaglutiniinidel säilib isolaatides vaid kolmandik jahus olnud aktiivsusest, samas kuivfraktsioneerimisel säilib mittetoidulisi komponente rohkem.

#### 4.2.1 Aluseline ekstraheerimine

Üks sageli kasutatavatest meetoditest kaunviljade või teraviljade valkude ekstraheerimiseks on leeliseline vesiekstraktsioon. See meetod kasutab eraldamiseks ära nende valkude lahustuvust, mille lahustuvus on kõrge aluselise pH juures ning mille lahustuvus on madala pH väärtustel, mis on nende isoelektrilise punkti lähedal (pH 4–5). Selle protsessi läbiviimise toimingud on üsna lihtsad. Kooritud või koorimata kaunviljad/teraviljad jahvatatakse. Jahu dispergeeritakse vees, kasutades jahu:vee vahekorda vahemikus 1:5 kuni 1:20. Segu pH reguleeritakse leeliseliseks (pH 8–11) ja valkude lahustumise maksimeerimiseks lastakse segul seista 30–180 minutit. Selle aja jooksul hoitakse pH soovitud väärtusel ja võimalusel, et veelgi parandada valkude lahustumist ja ekstraheerimist, tõstetakse lahuse temperatuuri kuni 55–65 °C. Seejärel segu filtreeritakse lahustumatu materjali eemaldamiseks ja ekstrakti pH reguleeritakse isoelektrilise punktini (pH 4–5), et kutsuda esile valgu sadestumine, millele järgneb tsentrifuugimine valgu eraldamiseks, pesemine soolade eemaldamiseks, neutraliseerimine ja kuivatamine. Seejärel viiakse läbi isoelektriline sadestamine või ultrafiltratsioon.<sup>20</sup>

Aluselise ekstraheerimise teel on saadud tulemuseks nii 40-50%-lise, kuid isegi ligikaudu 90%-lise valgu sisaldusega hernevalgu, kikerhernevalgu, läätselvalgu ja oavalgu isolaate.<sup>74,75</sup>

Valgu ekstraheerimise tulemusel saadav valgu isolaadi puhtus sõltub paljuski konkreetse materjali jaoks valitud protsessi läbiviimise tingimustest.

#### 4.2.2 Happeline ekstraheerimine

Valkude happelise ekstraheerimise põhimõte on sarnane valkude leeliselise ekstraheerimise põhimõttega, kuid happelise ekstraheerimise puhul viiakse esialgne valgu ekstraheerimine läbi väga happelistes tingimustes. pH < 4. Seejärel segu filtreeritakse lahustumatu materjali eemaldamiseks. Valgu sadestamiseks reguleeritakse ekstrakti pH isoelektrilise punktini (pH 4–5) ning viiakse läbi isoelektriline sadestamine või krüosadestamine või valgu membraaneraldamine, seejärel tsentrifuugimine valgu eraldamiseks, pesemine soolade eemaldamiseks, neutraliseerimine ja kuivatamine.

Uuringud on näidanud, et membraaneraldamine võimaldab saada paremate funktsionaalsete omadustega valgu isolaate. See uudne tehnika võimaldab ka vabaneda mitte-toidulistest komponentidest. Samuti on reeglina membraantehnoloogiatega, nagu ultra- ja diafiltratsiooniga võimalik saada kõrgema valgusisaldusega isolaate.<sup>35</sup>

#### 4.2.3 Veega ekstraheerimine

Kaunviljade valke võib otse ekstraheerida ka veega, ilma järgneva hapestamise etapita. Seemned segatakse veega ning jäetakse kuni ööpäevaks seisma. Ekstraktsiooni protsessi läbiviimiseks kasutatakse 1:3 kuni 1:10 seemne ja vee suhet. Valgufraktsioon eraldatakse tsentrifuugimisega ja kuivatatakse. Saagise suurendamiseks korratakse ekstraheerimist. Tulemuseks on saadud 50-60%-lise valgusisaldusega pulbreid.<sup>76,77</sup>

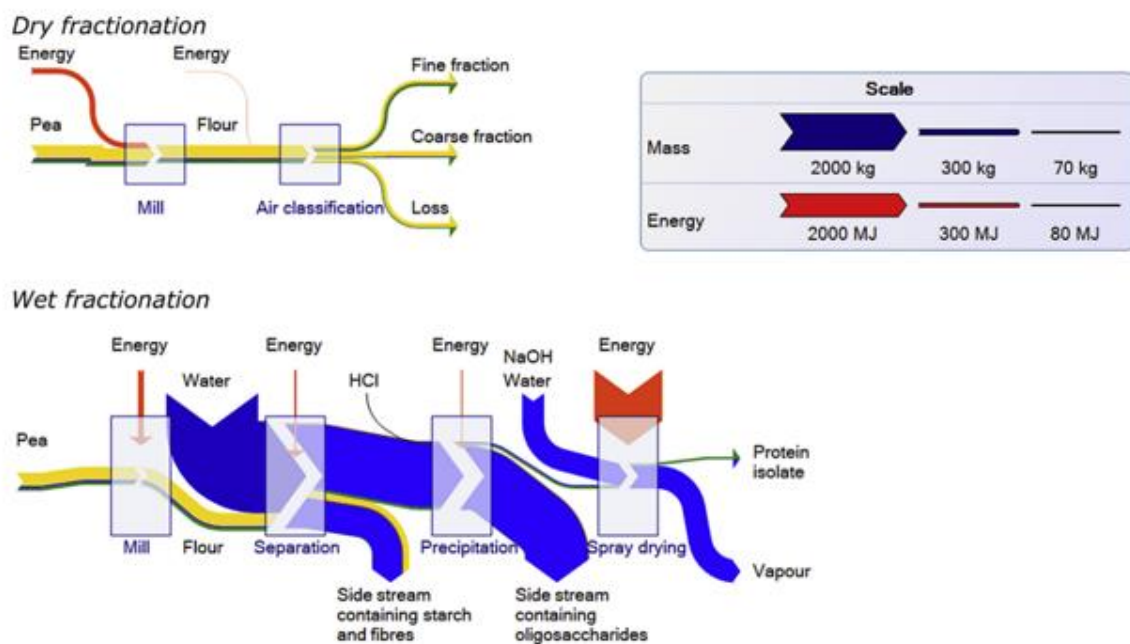
#### 4.2.4 Soolalahustega ekstraheerimine

Soolalahusega ekstraheerimise protsess erineb veidi eelnevalt kirjeldatud protsessidest. Selles protsessis pärast valgu ekstraheerimist sobiva soolalahusega soovitud ioontugevusega lahus lahjendatakse, kutsudes esile valgu sadestumine, mida saab seejärel tsentrifuugimise või filtreerimise ja seejärel kuivatamise teel kokku koguda. Sellisel teel on saadud 75-85%-lisi valgu isolaate.<sup>74,78</sup>

### 5. Märgekstraheerimise ja kuivfraktsioneerimise energeetiline võrdlus

Põhiliseks probleemiks märgekstraheerimise puhul on see, et pH muutuste ja kuivatamise käigus kaotavad valgud oma loodusliku funktsionaalsuse. Samuti jäävad isolaatide tootmise käigus kasutamata lahustumatud valgud, millel on samuti oma eriline funktsionaalsus. Lisaks sellele kasutavad märgekstraktsiooni protseduurid palju kemikaale, vett ja energiat.<sup>21</sup> Tärgliserikastest kaunviljadest valgu märgekstraheerimine algab tüüpiliselt jahu lahustamisega (13 g jahu/100 g lahust). Teine lahustamine toimub enne pihustuskuivatust.<sup>79</sup> Nende kahe lahustamise käigus kulutatakse vett vastavalt 50 kg ühe kilogrammi toodetud valgu kohta. Õlirikaste kaunviljade puhul on vee kuluks leitud isegi 90 kg ühe kilogrammi toodetud valgu kohta Berghout.<sup>80</sup> Kontrastina, kuivfraktsioneerimine ei kuluta üldse vett. Osa lisatud veest märgekstraheerimise käigus eemaldatakse ka pihustuskuivatusega, mis annab põhilise energia kulu erinevuse: kuivfraktsioneerimisel 3.6 MJ/kg toodetud valgu kohta ja märg- eraldamisel 54 MJ/kg toodetud valgu kohta (Joonis 4).<sup>65</sup> Valgu tootmise efektiivsust arvestatakse valgu koguse suhtena tootmisesse investeeritud energiasse. Arvutustest selgub, et loomsed tooted annavad 4-11g valku MJ kohta, samal ajal kui kaunviljad annavad 41-77g

valku MJ kohta.<sup>81</sup> Kui herne valku toota märgestraktsiooni teel, väheneb valgu kogus 14,6 g –ni MJ kohta. Kuivfraktsioneerimisel on tulemuseks 55,8 g valku MJ kohta. Arvutused näitavad, et märgestraktsioonil saadud valgu suhe tootmisesse investeeritud energiasse on peaaegu võrdne loomse toidu vastava suhtega, mis viitab vajadusele eelistada efektiivsemat kuivfraktsioneerimist ja uudsete toitude arendamisel lähtuda kuivfraktsioneerimisel saadud valgufraktsioonidest.<sup>21</sup>



Joonis 4 Sankey diagrammid kuivfraktsioneerimise ja märgestraktsiooni kohta. **Sankey diagrammil** on proportsionaalselt noolte laiusel kujutatud vee (sinine), valgu (roheline), tärklise, kiudaine, õli ja tuha (kollane) hulgid. Lihtsustuseks on massi ja energia vood antud samal diagrammil.<sup>65</sup>

Energiatarbimise hindamiseks suuruse vähendamise protsessides 5mm kuni 10µm on sageli kasutatav Bondi empiirilise mudeli lähenemisviis.<sup>82</sup> See mudel eeldab, et sisendenergia pärineb osakeste purunemisest ja plastsest deformatsioonist jahvatamise ajal. See tähendab, et energiatarve suuruse vähendamiseks ei ole täielikult proportsionaalne pinna suurenemisega, st. see on suurem (Valem 1).<sup>21</sup>

$$E_B = \frac{m_p t}{W} = C_B \left( \frac{1}{\sqrt{d_P}} - \frac{1}{\sqrt{d_F}} \right)$$

Valem 1 Tera vähendamiseks kuluva spetsiifilise energia võrrand.<sup>21</sup>

$E_B$  on spetsiifiline energia (kJ/kg),

$C_B$  on jahvatusindeks (kJ mm<sup>0.5</sup>/kg),

$m_p$  on veski sisemine energia (kW),

$t$  on aeg (s),

$W$  on jahvatatava proovi mass (kg) ja

$d_p$  ja  $d_F$  on vastavalt toote ja teravilja suurused

Spetsiifiline energia määratakse eksperimentaalselt laboris, arvestades veski energia kulu, jahvatuse aega ja toote kiirust. Tavaliselt jahvatuse indeks saadakse sobitades mudelit eksperimentaalsete andmetega, mis varieeruvad vastavalt lähteaine mehaanilistele omadustele ja jahvatustingimustele. Kui soovitakse toota ülipeenid pulbreid, võib energia kulu kasvada ebaproportsionaalselt, kuni 0.1 MJ/kg 10 µm ja 1 MJ/kg 1 µm osakeste kohta.<sup>83</sup> Seetõttu, et protsessi käigus enamik energiast hajutatakse soojusena ja absorbeeritakse pulbri poolt, on võimalik tuvastada temperatuuri tõusu. Osakeste vähenemisel 10 µm võrra ja soojusmahtuvusega 2.5 kJ/kgK, temperatuur tõuseb umbes 40°C. Sellist hajutatava energia kogust võib võrrelda energia kogusega, mis kulub 40g vee aurutamiseks, arvestades, et aurustumissoojus on 2.4 MJ/kg.<sup>21</sup> Tegelik energia kasutus õhk-separaatorite puhul on küllaltki varieeruv ja sõltub palju võimsuse hajutamisest õhuvoolu poolt ja separaatori ratta pöörlemisest.<sup>84</sup> Kui arvestada valgu eraldamise kasuteguriks 80%, pilootse fraksioneerimisseadme sööturi läbilaskevõimeks 200 kg/h, valgu koguseks peale antavas kaunviljas 25% ja tootes 60%, siis tootmisvõimsus oleks 75 kg/h. Seega, energia kulu oleks 0,7-3 kWh/tonni või 2,5-11 kJ/kg toote kohta. Juhul kui tärglise-rikas fraktsioon loetakse ka tooteks, alaneb spetsiifilise energia kulu veelgi. Kui energia kulu on seotud valgukontsentraadi tootmisega (saagikusega 12%), siis erienergia kulu oleks 2 MJ/kg. See energia kogus on 7 korda madalam, kui gluteeni kuivatamiseks vajalik energia<sup>21</sup>

Alternatiiviks tavapärasele osakeste suuruse vähendamisele ümbritsevates tingimustes, on krüogeenne jahvatamine. Väga madalatel temperatuuridel osakesed muutuvad hapramaks ja purunevad kergemini väikesteks osakesteks, mis on kasuks kuivfraksioneerimise puhul. Lisaks, säilivad osakeste funktsionaalsed omadused. On leitud, et kliide jahvatamine krüogeensetes tingimustes võimaldab toota peenemaid osakesi ( $d < 50\mu\text{m}$ ) ja vähendab jahvatusaega 2 korda, võrreldes toatemperatuuril kliide jahvatamisega.<sup>34</sup>

Märg-eraldamisel tekitavad põhilise energia kulu: jahu ja vee segamine ning seejärel gluteeni kuivatamine on. Gluteeni kuivatamiseks kasutatakse kõige rohkem väik-, ringset ja

pihustuskuivatust. Kuivatuseks kulunud energia arvutatakse aurustatud vee kogus jagatud energiaga, mis kulutati aurustamiseks. Energia kulu, mis nii on arvutatud, annab ainult ligikaudse ettekujutuse tegelikust energia kulust. Kuna toodetud fraktsioonide koostisosad on erinevad, on ilmne, et märgestraheerimisel on energia kulu palju suurem kui jahvatuse ja kuivfraktsioneerimise puhul.<sup>21</sup>

## 6. Valgu eraldamise efektiivsus

Kaunviljadel on hästi organiseeritud idulehe kudede struktuurid, mis sarnanevad teraviljade endospermiga. Põhilised koostisosad valgud, lipiidid (ainult sojaubadel) ja tärklis on korralikult pakitud. Kaunviljad sisaldavad umbes 20 µm läbimõõduga tärklise graanuleid, mis on küllaltki ühesuurused. Ühesuuruste tärkliseterade tõttu oletatakse, et kaunviljade jahvatamine võimaldab paremini suuruse järgi eraldamist võrreldes nisujahuga, mis sisaldab mitmes suuruses tärkliseteri. Peale rakukoe ehituse, mängivad siin rolli ka teised tunnused, mis määravad jahvatamise kvaliteedi. On leitud, et kaunviljad, mis sisaldavad suures koguses toorkiudu (mis ühtlasi korreleerub paksu ja jäiga rakuseinaga), ei ole kergesti separeeritavad. Samuti määrab jahvatamise kvaliteedi ka kaunviljade seemnete kõvadus. Ühtedeks selles valdkonnas kõvemateks, on mungoa ja läätseseemned. Siiski oletatakse, et jahvatamine sõltub rohkem kaunviljade erinevatest koe struktuuridest, mis põhjustavad nõrku sidemeid valgu ja tärklise vahel ja tahkete säilitusvalkude vahel.

Toodet, mis saadakse kuivfraktsioneerimisel, iseloomustavad neli parameetrit: valgu kontsentratsioon, saagis, valgu eraldamise efektiivsus ja jahu muudetavus valgufraktsiooniks. Ühe sisend- ja ühe väljundvooga kuiva fraktsioneerimise puhul valgu saagis ( $F_p$ ) defineeritakse massi protsendina algsest jahust, mis muudetakse valgu fraktsiooniks (peenfraktsiooniks). Valgu eraldamise efektiivsuseks (PSE) loetakse kogu jahus leiduvast valgust valgufraktsioonina kogutud valgu protsenti (Valem 2).<sup>85</sup>

$$PSE = \frac{\Phi_p \cdot P_p}{\Phi_{flour} \cdot P_{flour}}$$

Valem 2 Valgu eraldamise efektiivsus.<sup>85</sup>

Valgu fraktsiooniks muudetavuse protsent on võrdne jahus sisalduva valgu valgufraktsiooniks muudetud osa protsendiga (Valem 3):

$$\delta = \frac{1}{P_{flour}} [(P_P - P_{flour}) \cdot \Phi_P]$$

Valem 3 Valgu fraktsiooniks muudetavuse protsent.<sup>85</sup>

Valemites:  $\Phi_P$ ,  $P_{flour}$  ja  $P_P$  on vastavalt valgu fraktsiooni saagis ja valgu protsent jahus ja valgu fraktsioonis.

Kuivfraktsioneerimise protsesside optimeerimine ei põhine ainult ühel parameetril. Kui näiteks protsessi saagis suureneb, siis valgu fraktsiooni valgu puhtus sageli vastavalt väheneb. PSE ja valguks muudetavuse väärtused aitavad hinnata eraldamise efektiivsust. Maksimaalseks valgu kontsentratsiooniks kuivfraktsioneerimisel on tavapäraselt nisul 24%, kaunviljadel 52%, kaera puhul on korduval valgu kontsentreerimisel saadud isegi (2-5%) väga kõrge valgu sisaldusega (83-88%) fraktsiooni. Vajadusel muudetakse jahvatus intensiivsemaks, et suurendada kude eraldumist, mis võib ühtlasi aga ka lõhkuda tärglisegraanuleid ja sellega saagist jälle vähendada.<sup>86</sup> Saagise suurendamiseks ja valgu paremaks kontsentreerimiseks korratakse sageli kaunviljade jahvatust ja kuivfraktsioneerimist viiakse läbi tsükliliselt, et suurendada saagist ja individuaalsete fraktsioonide puhtust. Sellisel juhul saadakse esimesest tsüklist valgurikas ja tärgliserikas fraktsioon. Tärgliserikas fraktsioon jahvatatakse ja uuesti eraldatakse õhuga jälle 2 fraktsiooni. Sellise protsessi efektiivsuse arvutamiseks kasutatakse valemit 4.<sup>21</sup>

$$PSE = \frac{\Phi_{P1} \cdot P_{P1} + \Phi_{P2} \cdot P_{P2}}{\Phi_{flour} \cdot P_{flour}}$$

Valem 4 Valgu eraldamise efektiivsus korduval kuivfraktsioneerimisel.<sup>21</sup>

$\Phi_{flour}$ ,  $\Phi_{P1}$ ,  $\Phi_{P2}$ ,  $P_{flour}$ ,  $P_{P1}$  ja  $P_{P2}$  on vastavalt valgu saagised ja valgu protsendid jahus ja valgu fraktsioonides 1 ja 2. Vastav valguks muudetavuse protsent arvutatakse kasutades valemit 5.

$$\delta = \frac{1}{P_{flour}} [(P_{P1} - P_{flour}) \cdot \Phi_{P1} + (P_{P2} - P_{flour}) \cdot \Phi_{P2}]$$

Valem 5 Valguks muudetavuse protsent korduval kuivfraktsioneerimisel.<sup>21</sup>



## 7. Kuivfraksioneerimise läbiviimine

### 7.1 Eeltötlus

Mitmeid eeltötluse variante on kasutatud ja uuritud, et mõjutada taimsete materjalide jahvatust ja muuta materjalid sobilikuks kuivfraksioneerimiseks. Vähendades kuivatamise abil niiskusesisaldust, saadakse teatavaid eeliseid, nagu näiteks seemnete rakkude koed muutuvad vähem elastsemaks ja plastilisemaks ja seega kasvab nende rabadus.<sup>87</sup> Seega, rakukoed purunevad vähesema energia kuluga ja sageli väiksemateks osakesteks. See tähendab, et kuivatamine hoiab energiat kokku ja muudab jahvatuse ning sellele järgneva õhuga eraldamise ajal valgu separeerimise efektiivsemaks. On kindlaks tehtud, et energia kasutus herneste kiirel jahvatusel kolmekordistub, kui niiskusesisaldus kasvab 9-lt 17%-ni. Samas tuleb kuivatamisel arvestada, et hoidutakse valkude termilistest kahjustustest (>60 °C). Optimaalseks niiskusesisalduseks kaunviljadel on leitud 7-9%. Kahes uuringus rakendati mikrolaine kuumutust, et vähendada niiskusesisaldust enne jahvatust.<sup>88,89</sup> Mõlemas uuringus leiti, et gluteeni funktsionaalsus muutus mikrolainetötluse tulemusel, arvatavasti termilise mõju tõttu. Mõnikord on kõrgem niiskusesisaldus isegi soovitatav. Lisaks krüogeensele jahvatamisele kasutatakse eeltötlusena ka UV-töötlust ja osoneerimist.<sup>90,91</sup> Samuti on kasutatud ka töötlemist kemikaalidega nagu CaCl<sub>2</sub> või ensüümidega.<sup>34</sup>

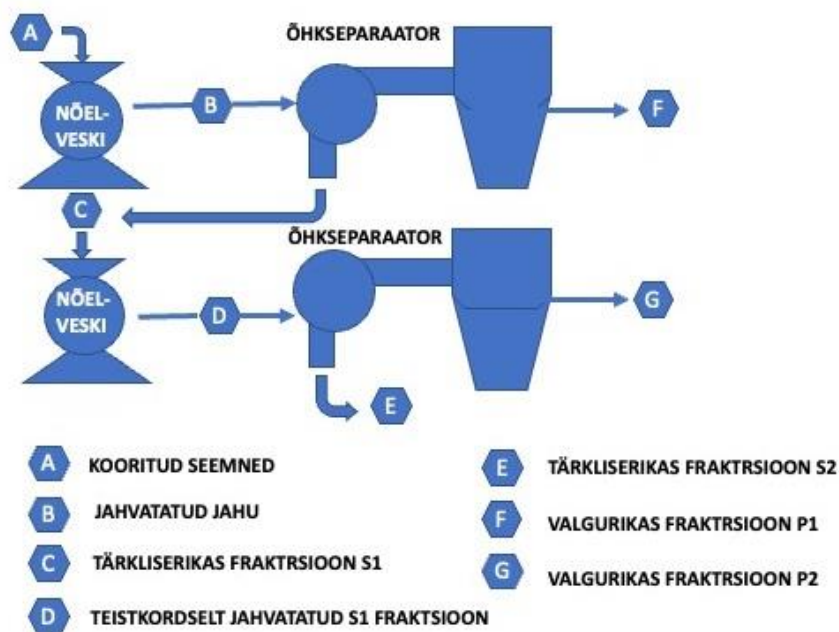
### 7.2 Jahvatus

Valgu kontsentratsioonide tootmiseks kuivfraksioneerimisega on vaja valmistada ülipeeneks jahvatatud jahu. Üldiselt kasutatakse enne õhuga valgu kuivfraksioneerimist peenjahvatuseks nõeljahvatust.<sup>85</sup>



Joonis 5 Nõelveski © 2017 Munson Machinery Co., Inc.

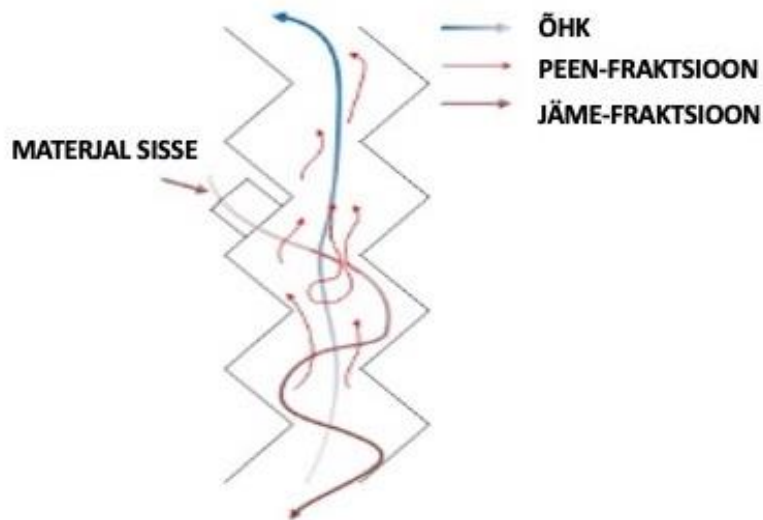
Nõelveski kamber koosneb välimisest staator kettast, mis sisaldab ringikujuliselt paigutatud nõelte ridu, mis asetsevad vaheldumisi sisemise liikuva ketta nõelte ridadega. Teisel juhul kasutab veski kahte vastastikku liikuvat nõelketast (Joonis 5). Nõelveski jahvatab materjali, mis gravitatsiooni abil langeb sadade nõelte vahele tuhandeid kordi. Alternatiivina nõelveskile, kasutatakse jugajahvatust, et saada ultrapeeneid jahvatusi ja jahu rikastamiseks kombineeritakse seda õhuga eraldamisega (Joonis 6). Jugajahvatusel kiirendatakse osakesi suure kiiruselise õhujoaga ja suuruse vähenemine toimub osakeste-vaheliste kokkupõrgete käigus. Jugajahvatuse eelisteks on jahvatuse suurem efektiivsus ja efektiivsem materjali jagunemine jahvatamisel tärgliseks ja valguks.<sup>86</sup> Kuigi kaunviljade peeneks jahuks jahvatamine on olulise tähtsusega, peab see olema piisavalt selektiivne, et mitte purustada tärglisegraanuleid (Joonis 7).<sup>92</sup>



Joonis 6 Nõelveski ja õhk-separaatori töö põhimõtte skemaatiliselt.<sup>68</sup>

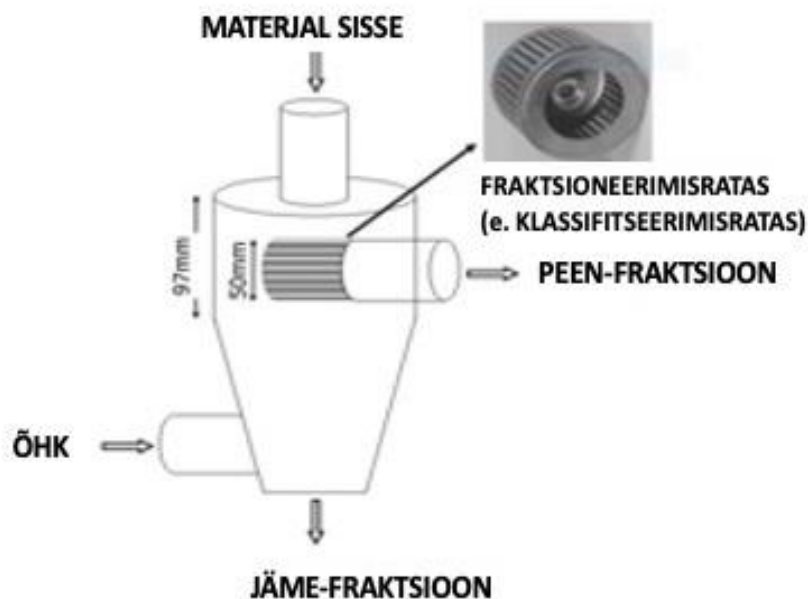
Õhuga separeerimisel kasutatakse spetsiaalses seadmes spiraalset õhujuga, et eraldada tärglis valgust. Õhkseparaator on tööstuslik seade, mis eraldab materjale lähtudes nende erinevast suurusest, kujust ja tihedusest (Joonis 8 ja Joonis 8). Töötades paiskab see seade materjali kambrisse, milles liigub tõusev õhuvool. Erineva suuruse ja kuju tõttu liiguvad osakesed erinevalt õhusambas ning mõjutatuna gravitatsioonist ja õhu üleslükkejõust, jaotuvad vertikaalselt. Kui kasutada nõeljahvatust koos õhkseparaatoriga tärgliserikaste

kaunviljade (oad, herned) puhul, siis võib olla võimalik saada isegi valgukontsentraate, milles valgu sisaldus võiks olla 60-75%.



Joonis 7 Õhkseparaatori töö põhimõte<sup>68</sup>

Üldiselt kasutatakse õhkseparaatorit ja nõeljahvatust kaunviljade fraktsioneerimiseks kergeks ja peeneks valgu kontsentraadi fraktsiooniks ning raskeks ja jämedaks tärklise kontsentraadi fraktsiooniks. Seda meetodit saab kasutada ka, koorimata kaunviljade seemnete puhul, kus seemned samuti nõeljahvatatakse ja seejärel saadud jahu fraktsioneeritakse valgu ja tärklise kontsentraadiks.



Joonis 8 Õhkseparaatori skeem.<sup>72</sup>

Saadav valgufraktsiooni puhtus on, aga küllalt madal (38-65%) ning seetõttu on sageli vajalik edasine töötlemine. Sellise meetodi plussiks säilib protsessis algmaterjalis sisalduvate süsivesikute ja ligniini keemiline terviklikkus.<sup>68</sup>

Paljud uuringud on leidnud, et hoolimata jõupingutustest, teatud osa valgust ei vabane jahvatamise käigus tärglisegraanulitest, isegi korduval jahvatamisel. Kleepunud valk pärineb kloroplastide membraanidest ja stromast, kus tärglisegraanulid välja arenevad. Seetõttu on õhuga eraldamisel saadud tärglise ja valgufraktsioonide puhtus väiksem kui märgestraktsioonil saadav. Suure valgusisaldusega fraktsiooni puhtus võib olla seotud ka õhuga eraldamisele suunatud seemnete niiskuse sisaldusega. Valgu sisaldus õhuga eraldatud herne ja põldoa kõrge valgusisaldusega fraktsioonis varieerub sõltuvalt niiskusesisaldusest.<sup>20</sup> Üldiselt, võrreldes teraviljadest ja kaunviljadest valgu fraktsioneerimist, annab kaunviljade valgu kuivfraktsioneerimine kõrgema saagise, valgu eraldamine on efektiivsem ja valk puhtam.<sup>93</sup> See on tingitud kaunviljade suuremast valgu kontsentratsioonist ja suurematest ning ühtlasema suurusega (25-40 µm) tärglisegraanulitest. Enamikel teraviljadel on, aga tärglisegraanulid väikeste ja keskmise suurusega ja paiknevad materjalis segakogumitena. Tärgliseterade suurus määrab suuresti kuivfraktsioneerimise võimalikkuse ja efektiivsuse valgukehadest. Kuivfraktsioneerimise protsessi saab iseloomustada lõikepunktiga, mis on võrdne osakese läbimõõduga, millel on võrdne võimalus jõuda kas peen- või jäme fraktsiooni. Lõikepunkt on suurus, kus osakesel on 50%-line võimalus liikuda kas peen- või jäme fraktsiooni. Lõikepunkti saab kohandada valides sobilikud õhuga eraldamise tingimused, nagu klassifikaatori ratta kiirus ja õhujõu kontroll. Lõikepunkt määratakse katseliselt peen- ja jäme fraktsiooni ja õhuga eraldajasse suunatud jahu osakeste suurusjaotuse ja saagise alusel. Lõikepunkti hindamiseks on välja töötatud klassifitseerimisratta kiirusest sõltuv Tromp'i kõvera funktsioon (Valem 6) klassifikaatori ratta kiirusest.<sup>94</sup>

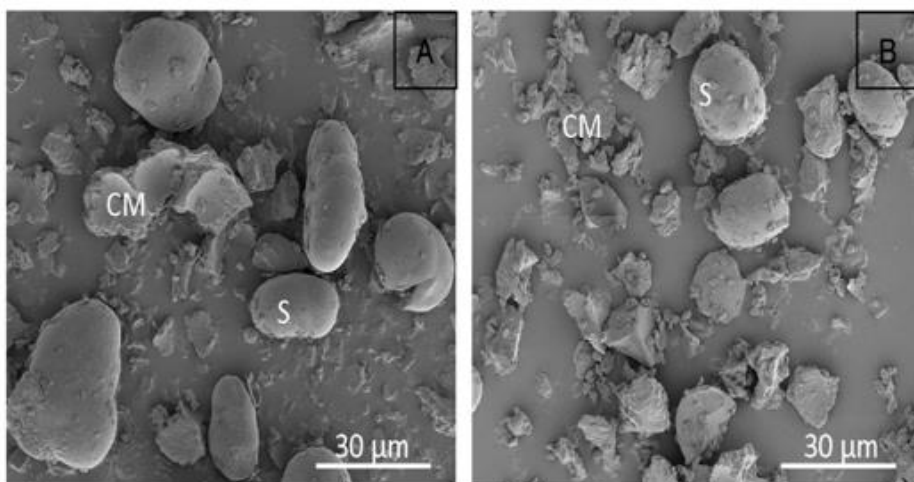
$$T(X) = \frac{g * q_G(X)}{q_A(X)}$$

Valem 6 Tromp'i kõvera funktsioon.<sup>72</sup> Kus X on osakeste suurus, T(X) = 0.5 on lõikepunkt, g on jäme fraktsiooni kaal jagatud jäme- ja peenfraktsiooni kaalude summaga, q<sub>G</sub>(X) on jäme fraktsiooni peale andmise sagedus, ja q<sub>A</sub>(X) on toitematerjali peale andmise sagedus.

Valgu ja tärklise eraldamisel optimaalne lõikesuurus on 10 µm, mis on just alla enamiku tärklisegraanulite suuruse. Teine oluline parameeter, mis määrab õhuga eraldamise toimumise, on pulbrilise segu hajutatavus õhku. Hajutatavus on negatiivselt mõjutatud osakeste aglomeratsioonist.<sup>95</sup> Näiteks, väiksemad valguosakesed võivad liituda suuremate tärklise osakestega, millel on kahjulikud mõjud valgu fraktsiooni saagisele ja tärklise fraktsiooni puhtusele. Parima saagise saamiseks valgu eraldamisel uurib inimkond jätkuvalt erinevat tüüpi õhuga eraldamise võimalusi.<sup>96</sup> Peenete pulbrite õhuga klassifitseerimine valgu eraldamiseks viiakse sageli läbi tsentrifugaalsete õhuga klassifikaatorite abil koos klassifikaatori ratta või rootoriga.<sup>86,96,97</sup> Sellised klassifikaatorite tüübid valgu eraldamiseks õhuga on kasutusel ka mitmete tonnide töötlemisel.

Kui võrrelda juga- ja löökveskiga kuivfraktsioneerimiseks materjali jahvatamist, selgub, et mõlema veski kasutamisel saadud jahust valgu kuivfraktsioneerimisel saagikus väheneb, kui suurendada klassifikaatori ratta kiirust. Klassifikaatori ratta kõige suurema kiiruse puhul saadakse väga peenike pulber, kuna jahu veskis viibimise aeg suureneb. Pindala suurenemine ja järgnevalt tekkivad tugevad van der Waals'i jõud kutsuvad esile pulbri ebaühtlase voolavuse, vähendades seega saagist.<sup>96</sup> Samas, aga suureneb kuivfraktsioneerimisel jahude valgusisaldus klassifikaatori ratta kiiruse suurenedes. Suured klassifikaatori ratta kiirused võimaldavad ainult valkude suurustel osakestel läbida klassifikaatori ratast. Saagis väheneb drastiliselt suurema valgusisalduse korral nii juga- ja löökveski puhul. Siiski löökveskiga on saavutatud suurem valgusisaldus kui jugaveskiga, kasutades sama klassifikaatori ratast ja õhuvoolu seadistust. Uurimustes on täheldatud, et vigastatud tärklise sisaldus on konstantne löökveskil, aga kasvab jugaveski puhul klassifikaatori ratta suurtel kiirustel. See on seletatav erinevate jahvatuse mehhanismidega, mis tingivad erineva purunemise. Arvatavasti on osakeste kokkupõrked jugaveski puhul jõulisemad, põhjustades tärklisegraanulite purustusi, samas kui löökveskiga jahvatades toimub murdumine ainult piki nõrku rakukoe liine, näiteks valgu ja tärklise graanuli kokkupuute piiril. Eriti ilmsiks tulevad löök- ja jugaveski erinevused suurematel klassifikaatori ratta kiirustel.

Jugaveski puhul toimub väiksemate osakeste moodustumine koos tärklise purunemisega. See vähendab nii tärklise enda kvaliteeti, kui ka tärklise osakeste suuremat liikumist peenfraktsiooni, vähendades nii proportsionaalselt ka valgusisaldust valgu fraktsioonis võrreldes sellega, mis on saadud löökveskiga 8000 rpm juures.



Joonis 9 Skanneeriva elektronmikroskoobi (SEM) kujutised herne jahust, mis on jahvatatud löökveskiga (vasakul) ja jugaveskiga (paremal) 4000 rpm juures. Tärglise graanulid (S) ja rakumaterjali klastrid (CM) on eristatavad.<sup>72</sup>

Skaneeriva elektronmikroskoobiga (Pelgrom et al. 2013) saadud pildid (Joonis 9) näitavad visuaalselt hästi, et hernejahu, mis jahvatati 4000 rpm juures koosneb eraldiseisvatest tärglisegraanulitest (S) ja rakumaterjalist (CM) koos valgukehadega ning löökveskiga jahvatatud jahus on tärgliseterasid vähem purustatud <sup>72</sup>

### 7.3 Tooraines sisalduva õli, tuhasuse ja kiudaine mõju valgu kuivfraksioneerimisele.

Oluline faktor, mis mõjutab separeerimise efektiivsust, on tooraines sisalduv õli kogus. Seega, on kuivfraksioneerimise rakendatavus põllukultuuriti erinev. Kuivfraksioneerimist on kasutatud küllaltki edukalt kaunviljalistest läätsedel, hernestel ja ubadel ning mõnedel teraviljadel, nagu näiteks nisu ja odra puhul. Vähem edukalt on see tehnoloogia sobinud riisi puhul. Samuti pole häid tulemusi saadud suurema õlisisaldusega kikerhernest, lupiinist ja sojast valgu kuivfraksioneerimisel ning on leitud, et kuivfraksioneerimine nende kultuuride puhul ei ole otstarbekas.<sup>98</sup> Õli, tuhk ja kiudaine jaotuvad jämeda tärglise ja peene valgufraksiooni vahel. Näiteks, kui hernejahus on õli algsest 1,9 g 100 g kuivaine kohta, siis peenfraksioonis see on suurenenud 3,8 g-ni 100g kohta ja jäme fraksioonis vähenenud 1,3 g- ni 100 g kohta. Kiudaine sisaldusele jahus 26g/100g kuivaine kohta vastas peenfraksioonis 42 g ja jäme fraksioonis 21 g kiudainet/100 g kuivaine kohta. Tuha sisaldusele jahus (5 g/100g kuivaine kohta) vastas 9,6 g peen- ja 2,3 g jäme fraksioonis.<sup>65</sup>

Suurema koguse õli, kiudainete ja mitte-toiduliste komponentide esinemine valgu fraksioonides on tingitud mõõdukast fraksioneerimisest ja kuumutamise puudumisest kuivfraksioneerimisel. Sellel on omakorda mõju valgufraksiooni funktsionaalsetele ja toiteomadustele. Näiteks, ühelt poolt, suuremad kogused õli halvendavad

vahustumisomadusi, aga teiselt poolt, suuremat kogust vett siduvaid kiudaineid parandavad valgufraktsioonide geelistumist. See näitab, et valgufraktsioonide funktsionaalsus ja nende kasutamise iseloom on suuresti seotud nende täpse koostisega ja seetõttu on oluline sellega arvestada lisaks valgusisaldusele. Valgu sisaldus peenfraktsioonis sõltub jahu algsest valgusisaldusest ja hajutavusest jahus. On leitud, et valgu, tärklise ja tuha sisaldus on vähe või olematult sõltuvad kaunviljade jahvatuse iseloomust, samas, kui valgu sisaldus hernes on positiivses korrelatsioonis valgusisaldusega õhk-separeeritud fraktsioonides.<sup>85,99</sup>

## 8. Kuivfraktsioneerimise tulemust parandavad tehnikad.

Alternatiiviks õhuga fraktsioneerimisele on sõelumine. Sõelumine on tavaline meetod selleks, et eraldada osakesi ja see põhineb osakeste suuruse erinevusel. Sõelfraktsioneerimise läbiviimisel kasutatakse väheneva suurusega sõelaavadega sõelte pakki. Kuigi selle tehnikaga on võimalik saada puhtamaid valgufraktsioone, on selle tehnika puuduseks sõelte ummistumine, mida nimetatakse ka sõela pimestamiseks. Kirjandusandmetest võib leida, et sõelumise teel valgu fraktsioneerimist on uuritud herme ja odrajahust.<sup>63</sup>

Kuivfraktsioneerimise tulemuse parandamiseks kasutatakse ka elektrostaatiliselt eraldamist. Seda viiakse läbi kahes etapis: esmalt osakesed laetakse ning seejärel eraldatakse laetud osakesed elektrivälja abil.<sup>34</sup> Samuti on kasutatud hõõrde- ehk tribo-elektrostaatiliselt eraldamist, et fraktsioneerida kaunvilja jahu valgurikkaks ja süsivesikuterikkaks fraktsiooniks.<sup>100,101</sup> Hõõrdeelektor ehk triboelektriline efekt on nähtus, kus teatud kehad omandavad elektrilaengu (hõõrdeelektrilaengu), kui neid teatud muude kehade vastu intensiivselt hõõruda. See, millise laengu keha omandab, oleneb keha materjalist. Elektrostaatiliselt eraldamist rakendades on saadud 15% kõrgema valgusisaldusega fraktsioone, kui tavalise õhk-fraktsioneerimisega.<sup>68</sup> Elektrostaatiliselt eraldamist on edukalt kasutatud ka nisu ja kaerakliide eraldamisel. Elektrostaatiliselt eraldamist on kasutatud ka lupiini jahust rikastatud valgu fraktsiooni saamiseks eraldades valgu kehad kiudainetest.<sup>102</sup>

On uuringud kus on kirjeldatud edukalt kombineeritult kahte tehnikat, et parandada üldist kuivfraktsioneerimise saagist ja puhtust. Enam tuntud näide on kombinatsioon sõelumisest ja õhuga eraldamisest.<sup>103,104</sup> Teine kombinatsioon on õhuga eraldamine ja elektrostaatiline separatsioon. Kuna need eraldamise tehnikad põhinevad erinevatel mõjujõududel, siis võib see kombinatsioon olla väga efektiivne. Selleks, et luua uusi fraktsioneerimise tehnika kombinatsioone, on tähtis optimeerida protsesse arvestades mitmete parameetritega, nagu puhtus, saagis ja soovitud valgu omaduste muutumine.

Peamine väljakutse kuivfraksioneerimise puhul on jahvatuse kvaliteedi optimeerimine. Osakeste ehitus, omavaheline koostoime ja mehaanilised omadused on parameetrid, mis suuresti mõjutavad füüsilist taimekudede lahtihargnemist. Tüüpilised nõuded materjali koostisele teevad selle tehnoloogia sobilikuks eelkõige kaunviljadele ja teraviljadele. Siiski eeldatakse, et uurides jahvatuskvaliteedi sõltuvust materjali koostise parameetritest ja rakendades efektiivseid kuivfraksioneerimise tehnika kombinatsioone (nagu õhkfraksioneerimine ja sõelumine), on võimalik kuivfraksioneerimise kasutusvõimalusi suurendada. Hiljutised arengud eraldamistehnikates, mis kasutavad alternatiivseid jõude (n. elektrostaatiline eraldamine), või kuivfraksioneerimist koos poolkuiva eraldamisega suurendavad võimalusi veelgi.

Jahvatuskvaliteeti on võimalik optimeerida detailselt iseloomustades koe osakeste mehaanilisi omadusi ja modelleerides osakeste käitumist purunemisel jahvatuse käigus.

Teised teed kuivfraksioneerimise parandamiseks võiksid olla sordiaretus või eeltötluse tehnikad. Sordiaretus võiks keskenduda suuremate tärkliisegraanulite või sitkema kiudainega või väiksema tugevusega seemetega sortide aretamisele, mis võiksid soodustada tärkliisegraanulite ja valkkehade kergemat eraldumist. Samuti võib välja arendada eeltötlusi, mis aitaksid saavutada tarvilike muutusi kaunvilja morfoloogias.

## 9. Inhibiitorite degradeerimine

Kaunviljade mittetoidulised faktorid on jaotatud mitmesse gruppi vastavalt nende keemilistele ja füüsikalistele omadustele, nagu näiteks mittevalgulised aminohapped, kinolizidiin alkaloidid, tsüanogeensed glükosiidid, isoflavoonid, tanniinid, oligosahhariidid, saponiinid, fütiinid, lektiinid või proteaasi inhibiitorid.<sup>105</sup> Kuna paljud mittetoidulised faktorid on mürgised, vastumeelsed või mittesöödavad, püütakse neist vabaneda valides vastavaid taime genotüüpe või töödeldes taimi pärast koristust (idandades, keetes, leotades, fermenteerides, ekstraheerides). Üldiselt kaunviljade seemned sisaldavad arvestataval hulgal erinevaid proteaasi inhibiitoreid. Traditsiooniliselt kuuluvad proteaasi inhibiitorid kahte põhilisse klassi, Kunitzi trüpsiini inhibiitor, mis esineb peamiselt sojaubades ja Bowman-Birk'i trüpsiini/kümotrüpsiini inhibiitorid, mida leidub laialdaselt teistes kaunviljades.<sup>68</sup> Üldiselt kasutatakse trüpsiini inhibiitori aktiivsust, et määrata proteaasi inhibiitorit. Viciin ja konvitsiin esinevad peamiselt põldoas ja kuuluvad pürimidiin glükosiidide hulka. Teised kaunviljad, nagu (harilik hernes) sisaldavad neid aineid vaid marginaalses koguses võrreldes põldoaga. Viciin ja konvitsiin vähendavad glutatiooni ja glükoos-6- fosfaati dehüdrogenaasi aktiivsust, mis võib



vererakkude biokeemiliste kõrvalekallete tõttu põhjustada hemolüütilist aneemiat. Lektiinid on samuti fütohemaglutiniinid, glükoproteiinid, mis in vitro kleepivad kokku punaseid vererakke. Lektiine on leitud põldubades, hernestes, sojaubades ja lupiinides. Herneste lektiinidel on suurem aktiivsus kui põldubadel, aga mõlemal on see märkimisväärselt madalam, kui toorestel õlivabadel sojaubadel, samas lupiinid sisaldavad ebaolulisel hulgal lektiine.<sup>68</sup> Ensüümi inhibiitorid, nagu trüpsiin ja kumotrüpsiin võivad mõjutada valgu seeditavust. On määratud in vitro valgu seeditavused: kikerhernel (65,3-79,4%) mungoal (67,2-72,2%) ja hernel (60,4-74,4%).<sup>106</sup> Kaunviljade valgu seeditavust parandab mitmetoidulistest komponentidest vabanemine ja inhibiitorite degradeerimine vastavalt tooraine iseloomule leotamise, keetmise, idandamise või autoklaavimise teel.<sup>107</sup> Samas on leitud, et kuigi keetmine parandab kikerherne ja hariliku aedoa jahu/kontsentraatide seeditavust, siis see ei paranda põldoa ja läätse jahu seeditavust.<sup>20,108</sup> Samuti on teada, et fütiinhape on vastupidav kuumutamisele<sup>109</sup>. Märg- ja kuivfraksioneerimisel saadud valgutooted erinevad maitseomadustelt, sest aktiivsed komponendid märg- fraksioneerimisel osaliselt desaktiveeritakse, aga kuivfraksioneerimisel mitte.<sup>110</sup> Hiljutised uuringud on näidanud, et paljud neist komponentidest on tervistavad, anti-oksüdantsete, ja vähivastaste omadustega.<sup>111</sup> Kuivfraksioneerimisel saadud fraktsioonid sisaldavad tavaliselt lipoksügenaasi, mis annab kaunviljadele oma maitse. Seda ensüümi saab desaktiveerida kuumutamises 60°C juures, ilma kahjuliku mõjuta valkudele.<sup>21,112</sup>

#### 10. Taimekasvatuse arendamine valgueraldamist silmaspidades.

Taimekasvatuse arendamisel valgueraldamist silmas pidades seatakse tulevikus üha rohkem eesmärgiks saavutada selline seemnete koostis ja struktuur, mis oleksid sobilikumad koostisosade mehhaaniliseks lahti harutamiseks lähtudes rakuliste komponentide mõõtmete suuruse erinevusest ja muudest füüsikalistest parameetritest. Seni on olnud fookuses aretada suurema valgusisaldusega kaunvilja sorte. Aretamise peamiseks eesmärgiks on olnud valgu sisalduse suurenemine ning on jälgitud ka loodusliku tärklise graanuli suuruse varieeruvust erinevatel kaunvilja sortidel.<sup>113,114</sup> Suuremate tärklise graanulitega sortide puhul väheneb vajadus ülipeene jahvatuse järgi. Katsed on näidanud, et kuivfraksioneerides läätsi, millel on võrreldes herne, oa ja kikerhernega väiksem seemne kõvadus, saavutati suurem valgusisaldus peenfraksioonis.<sup>102</sup> Samuti on leitud, et mõned kikerherne sordid sisaldavad rohkem kiudainet, mis suurendab rakuliste komponentide kleepuvust, nõudes valgu tärklise

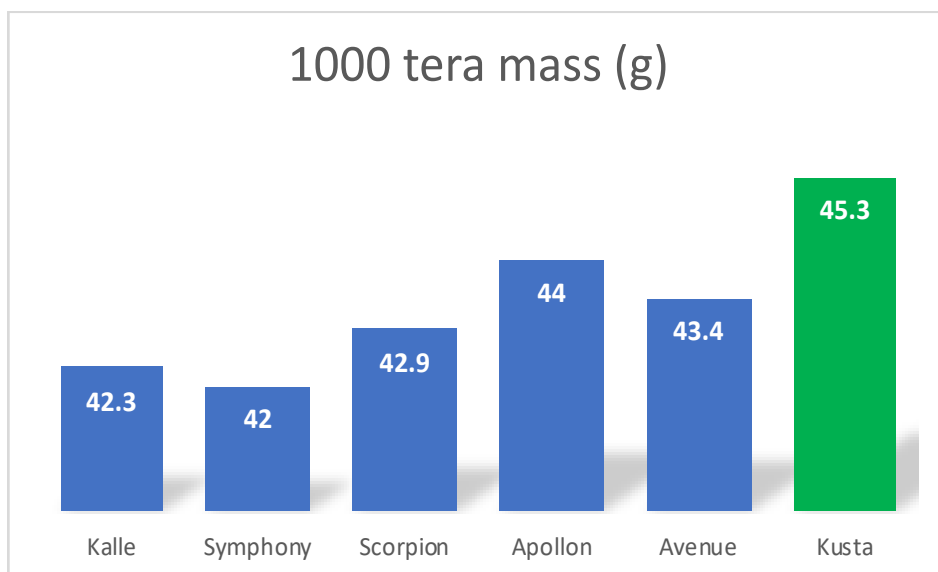
graanulitest eraldamiseks jahvatusel väiksemate valgu osakeste saamist. Sellisel juhul peab kiudained jahvatama liiga peenikeseks ja need sisenevad samuti peenesse fraktsiooni.<sup>115</sup>

Hea valgu kuivfraktsioneerimise tulemuse saavutamiseks tuleb aretada sorte, mis sisaldavad sitkemat kiudainet või lagundada kiudained eelnevalt lisanditega (nagu vääveldioksiid, naatriumhüdroksiid, väävelhape või ensüümid) leotades, kuid sellisel juhul peab arvestama, et kemikaalid ja ensüümid võivad lagundada ka ülejäänud materjali ning seega ohtu seada fraktsioneerimise protsessi jätkusuutlikuse.<sup>21</sup>

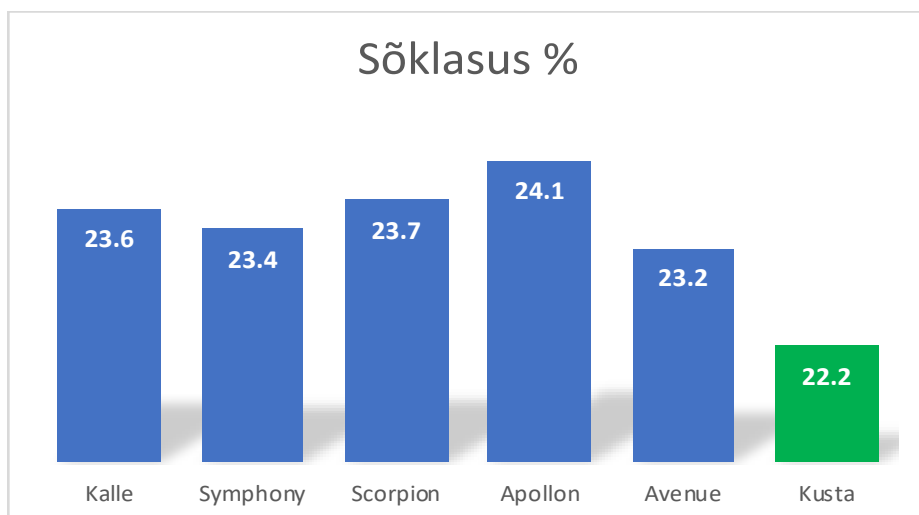
### 11. Innovatsioonitegevuse „Põllukultuuride valik ja sobivus valkude eraldamiseks“ käigus tehtud sortide valikud.

Innovatsioonitegevuse käigus oli eesmärgiks seatud Eestis kasvatamiseks sobivatest kaera-, põldoa- ja põldhernesortidest välja valida neist potentsiaalseim põllukultuur ja sort taimse valgu eraldamiseks. Sordivõrdluse etapis (1. aastal) viidi läbi katsed kaerasortidega: 'Kalle', 'Kusta', 'Symphony', 'Scorpion', 'Apollon', 'Avenue'; põldoasortidega: 'Alexia', 'Bioro', 'Jõgeva', 'Mistral', 'Tiffany'; põldhernesortidega: 'Astronaute', 'Eso', 'Jõgeva kirju', 'Kirke', 'Salamanca'.

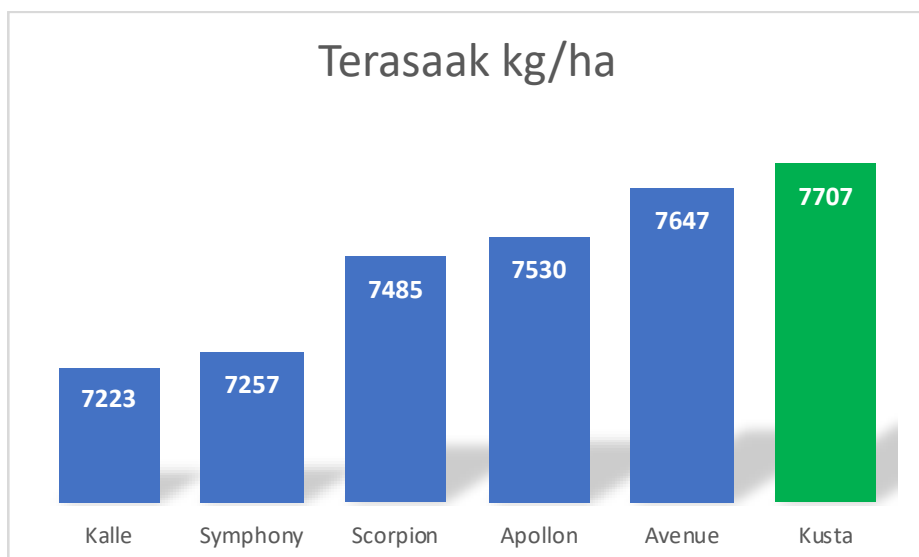
Katsesse valitud kaerasortidest hinnati valgu eraldamise seisukohalt kõige potentsiaalikamaks sort 'Kusta', mille 1000 tera mass oli kõige kõrgem (Joonis 10), mille sõklasus oli kõige madalam (Joonis 11), mille tera saak ha kohta oli kõige kõrgem (Joonis 12), mille toor-proteiini saak ha kohta oli samuti kõrge (Joonis 13) ja jäi alla ainult sordi 'Kalle' omale.



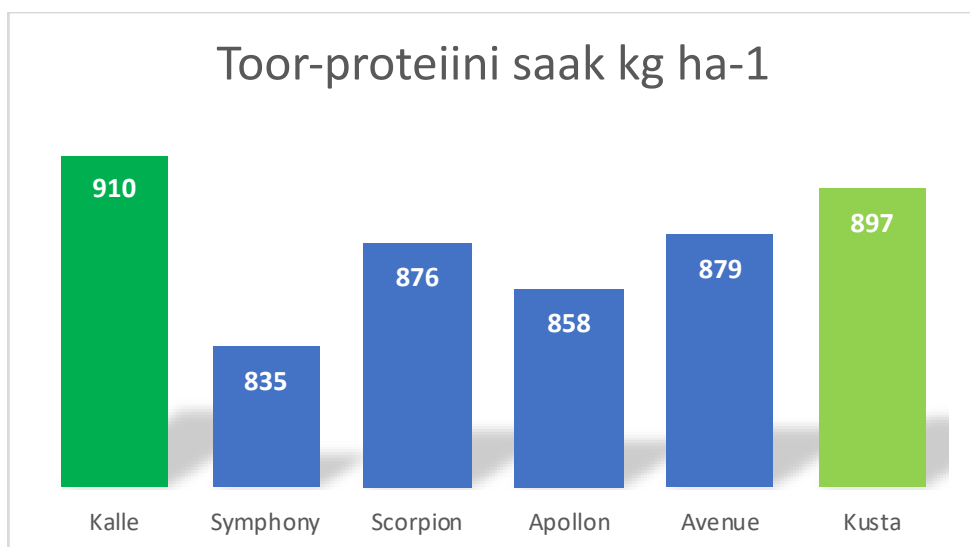
Joonis 10 Kaerasortide teramassid



Joonis 11 Kaerasortide sõklasus



Joonis 12 Kaerasortide terasaak

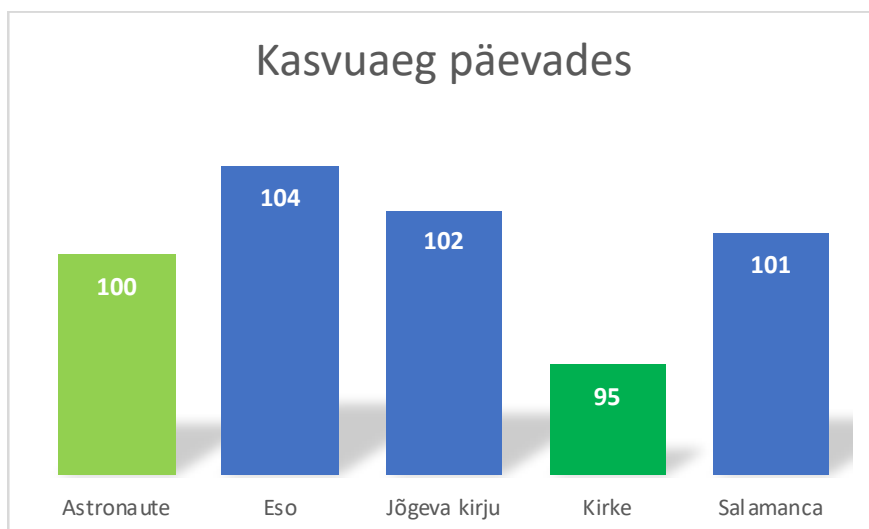


Joonis 13 Kaerasortide toorproteiinisaak

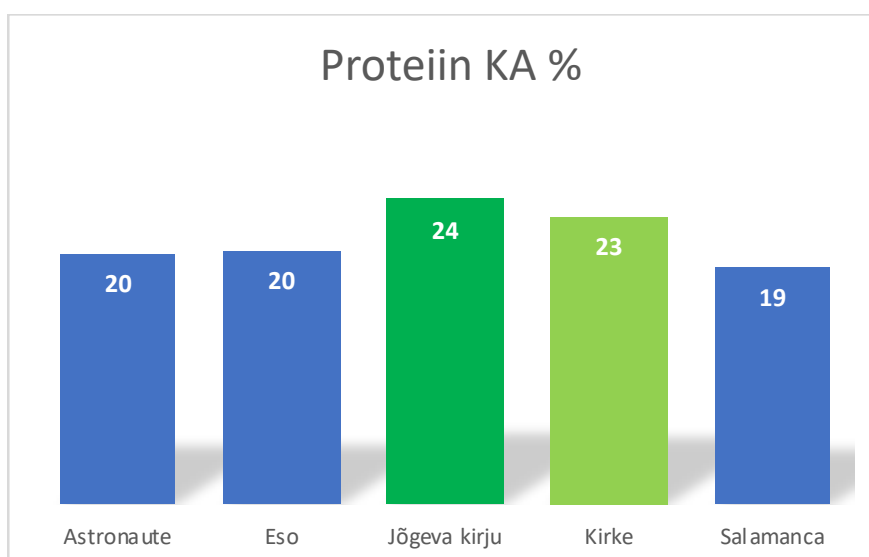
Kaer 'Kusta' on varajase valmimisega, võrdluses olnud sortidest oli tema kasvuaeg kõige lühem, ja omab suurt valgusaagipotentsiaali. Kaera 'Kusta' proteiini sisalduseks määrati 11,6%. Kaerasordi 'Kusta' tera on suur ja hea kooruvusega, samuti annab see sort head saaki nii tavatootmises, kui ka maheviljeluses.

Sordivõrdluses olnud põldhernesortidest valiti valgu eraldamise seisukohast kõige potentsiaalikumaks sort 'Kirke', mille kasvuaeg päevades oli lühim (Joonis 14), proteiini sisaldus ja proteiini saak ha kohta olid kõrged (Joonis 15 ja 16).

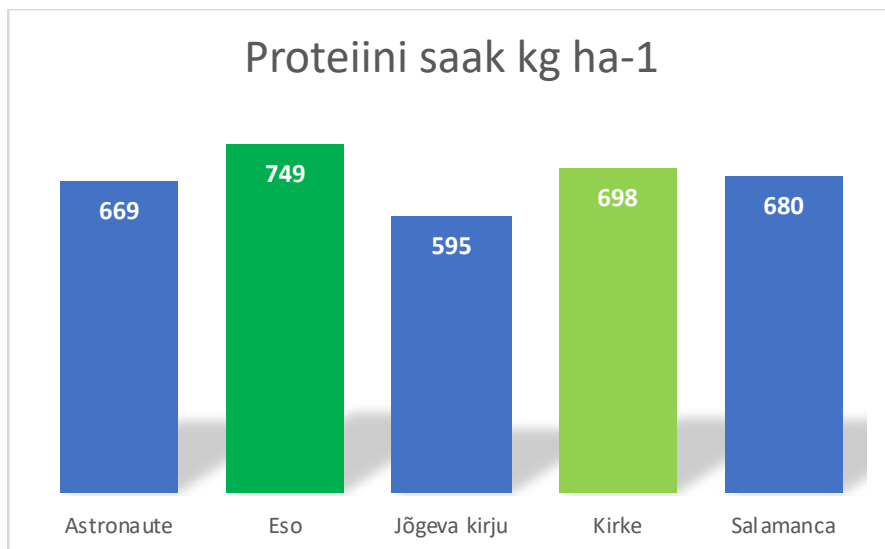
Põldherne 'Kirke' taimel on keskmiselt viis kauna milles asetseb keskmiselt neli tera, mis on mõikliku olekuga, pruuni või rohekashalli värvusega.



Joonis 14 Põldhernesortide kasvuaeg

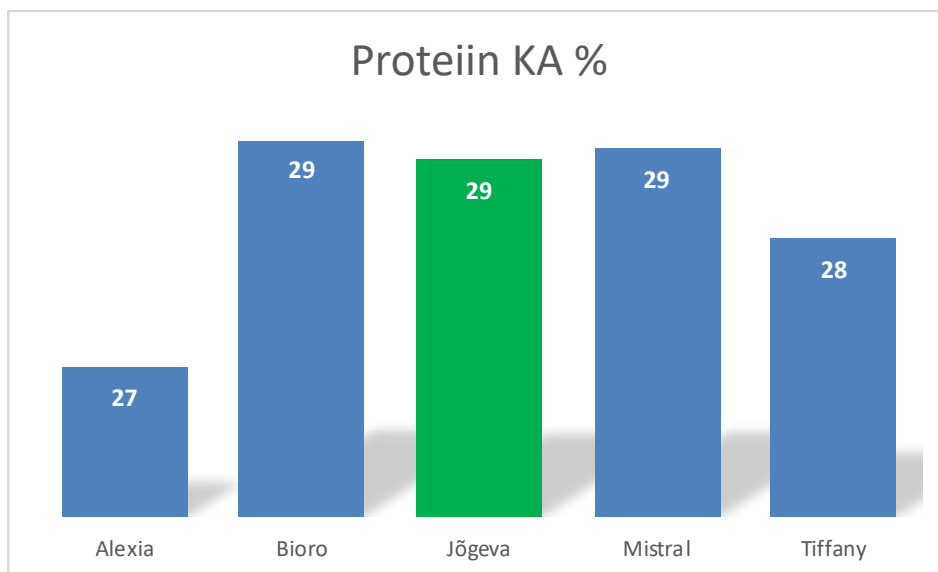


Joonis 15 Põldhernesortide proteiini sisaldus



Joonis 16 Põldhernesortide proteiini saak (kg/ha)

Võrdluskatse põldoasortidest valiti valgu eraldamise seisukohast kõige potentsiaalikamaks sort 'Jõgeva'. Põldoa 'Jõgeva' kaun on keskmise suurusega (6-8 cm), milles seemneid on 3-5, seemned on keskmise suurusega silinderjad kuni lapik-silinderjad ja seemne kest on õhuke. Põlduba 'Jõgeva' on hea kõrge proteiinisaldusega (Joonis 17).

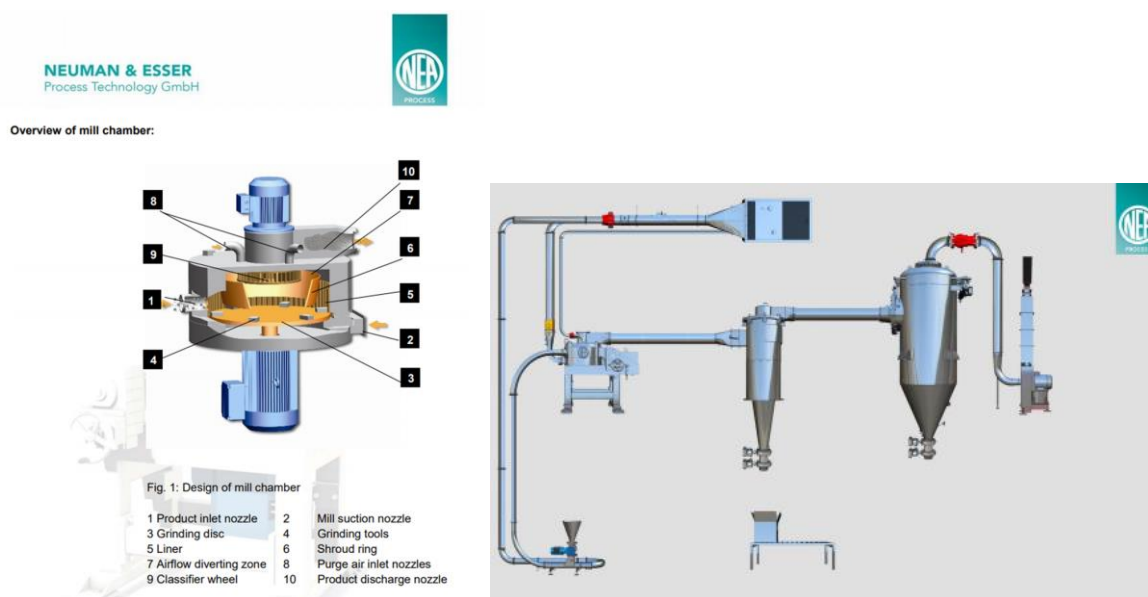


Joonis 17 Põldoasortide proteiinisaldus

Sordivõrdluskatse tulemuste alusel valiti kahel järgneval aastal läbi viidud kasvatustehnoloogia katsesse kaera sordid 'Kalle', 'Kusta', põldoasordid 'Bioro' ja 'Jõgeva', põldherne sordid 'Eso' ja 'Kirke'. Lisaks võeti katsesse ka kaks kõrge proteiinisaldusega Soome päritolu kaerasorti: 'Donna' (proteiin 10-14,2%) ja 'Niklas' (proteiin 13,2%).

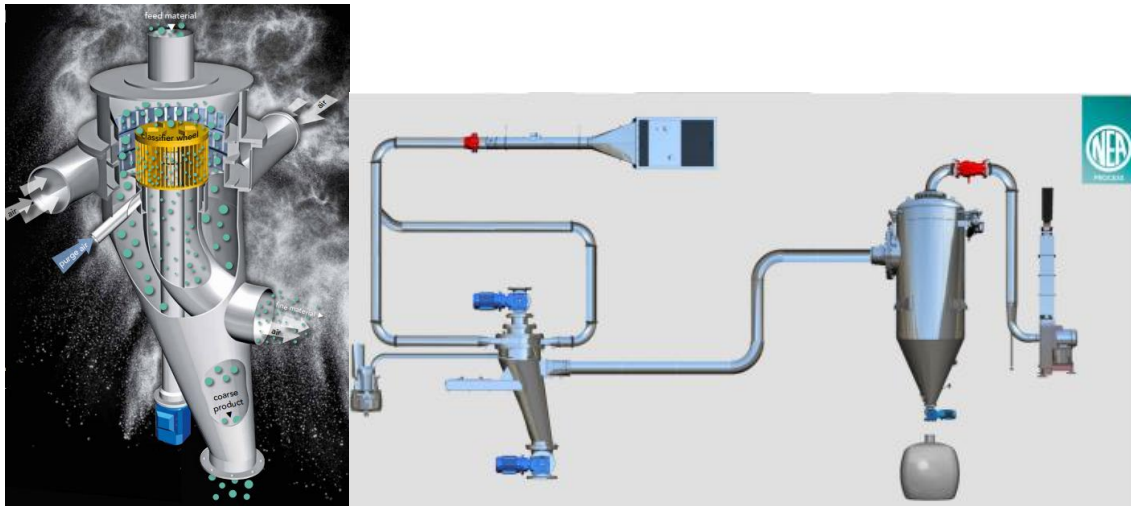
## 12. Innovatsioonitegevuse "Taimsete valkude eraldamine, kontsentreerimine ja omaduste iseloomustamine" käigus kaeraga Kusta ja põldhernega Kirke läbi viidud valgu kuivfraksioneerimise katsed.

Valgu eraldamise katsed viidi läbi 15 kg kooritud kaeraga 'Kusta' ja 15 kg koorimata põldhernega 'Kirke'. Katse läbiviimiseks kaer ja põldhernes peenestati ja jahvatati valguosakesi eraldada võimaldava peensuseni. Jahvatamine viidi läbi NEUMAN & ESSER Process Technology GmbH seadmega ICM328 (1919), eesmärk oli saavutada peensus alla 45 µm.



Joonis 18 ICX seeria jahvatusseade ICM ja jahvatamise tehnoloogiline skeem.

Seade ICM328 (impact classifier mill) kujutab endast jahvatusseadet, kus toimub ka jahvatatud osakeste esmane jaotumine. Osakeste jaotamine toimub kambris tekitatud negatiivse rõhu tingimustes. Kuivfraksioneerimise eesmärgiks oli mõlema kultuuri puhul saavutada üks kõrge valgusisaldusega ja üks madala valgusisaldusega fraktsioon. Seadmega viidi läbi valgu kuivfraksioneerimine. Kuivfraksioneerimine viidi läbi NEUMAN & ESSER Process Technology GmbH seadmega GRC430 (1920).



Joonis 19 Kuivfraksioneerimisseade GRC430 (1920) ja kuivfraksioneerimise tehnoloogiline skeem.

Osakeste suuruse jaotumist /toote peensust mõõdeti laserdifraktsioonil põhineva seadmega (NEA-Malvern Mastersizer 2000, kuival meetodil), mille tulemusena koostati suurusjaotuse tabelid (Joonis 20)

1919 ICM									
nr.	materjal	aeg (min)	läbilaskevõime (kg/h)	jahvatusketas (m/s)	jahvatusketas (kW)	fraksioneerimisratas (m/s)	d50 (µm)	d90 (µm)	d97 (µm)
1	põldhernes	62	14,4	130	6,4	15	18,4	36,1	45,2
2	kaer	85	8,9	130	4,6	15	39,5	187,2	273,5

1920 GRC											
nr.	materjal	aeg (sek)	võime (kg/h)	fraksioneerimisratas (m/s)	fraksioneerimisratas (kW)	kogumine GRC (%)	kogumine filter (%)	fraksioon	d50 (µm)	d97 (µm)	d99 (µm)
1	kaer	330	124	60	1,8	78,95	21,05	peen	8,5	71,3	98,7
								jäme	33,1	240,0	280,8
2	kaer	270	115	40	1,1	82,08	17,92	peen	14,0	120,0	155,5
								jäme	41,6	257,6	301,6
3	põldhernes	212	237	60	1,8	74,29	25,71	peen	9,0	48,2	76,9
								jäme	23,0	52,3	61,2

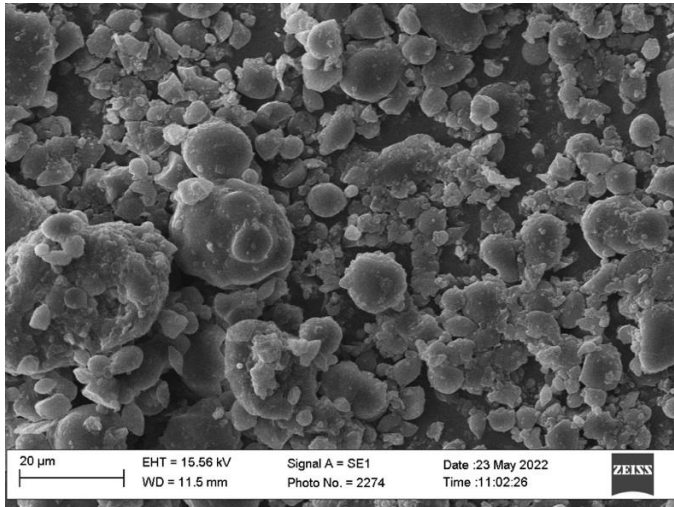
Joonis 20 Kuivfraksioneerimise tulemusena saadud materjalide suurusjaotused.

Osakeste suurusjaotuse tabelist on näha, et kõrge valgusisaldusega fraksioonidesse fraksioneerunud materjalist ligi 50% oli peensusega alla 9 µm. Sellest võib järeldada, et jahvatamisel saavutati kuivfraksioneerimiseks vajalik jahude peensus.

Uuritavast materjalist saadi järgmised fraksioonid vastavate valgu ja tärklise sisaldusega

Kaera jäme fraksiooni saadi kambrist kokku (1920 TEST 2 GRC) ~7,1kg, milles sisaldus valku 9,97±0,30; tärklisi 61,3 (g/100g)

Kaera peenfraktsiooni saadi kambrist kokku (1920 TEST 2 PF)~0,65 kg, milles sisaldus valku 12,42±0,37; tärklist 64,0 ( g/100g)

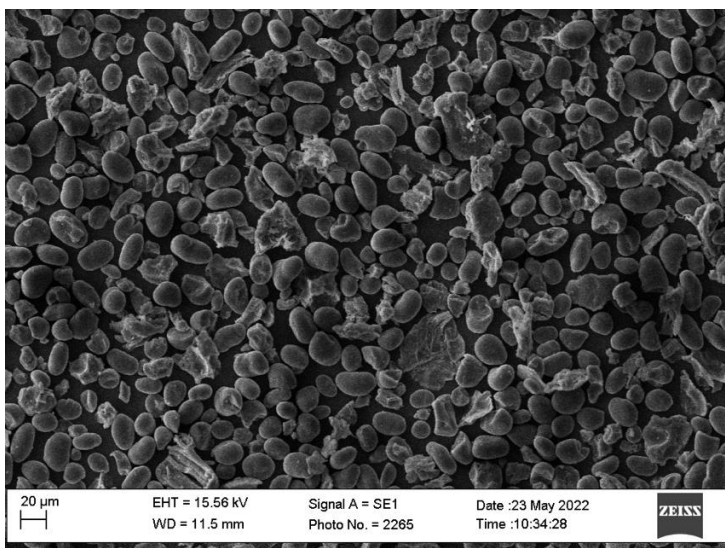


Joonis 21 Kleepunud kaeravalguosakesed

Saadud tulemustest on näha, et kaera kuivfraktsioneerimine ebaõnnestus. Kummagisse fraktsiooni, nii jäme kui peenfraktsiooni, ei kontsentreerunud valku oluliselt rohkem kui selle sisaldus on kaeraterades endis. Protsessi läbiviimist segas kaeraterades sisalduv õlisi, mis ei lasknud valguosakestel kleepumise tõttu üksteisest eralduda (Joonis 21).

Põldherne jäme fraktsiooni saadi kambrist ( 1920 TEST 3 GRC) kokku ~ 10,4 kg, milles sisaldus valku 6,91±0,21; tärklist 36,6 ( g/100g) (Joonis 22).

Põldherne peenfraktsiooni saadi kambrist ja filtrist kokku (1920 TEST 3 PF) ~ 4,6 kg, milles sisaldus valku 59,34±0,99 ( g/100g) ehk 2,73 kg ; tärklis 19,5 ( g/100g)



Joonis 22 Ühtlase struktuuriga jäme fraktsioon põldherne valgueraldamise protsessist.



Saadud tulemustest on näha, et põldherne kuivfraksioneerimisel õnnestus saavutada kõrge 59,34%-ise valgu sisaldusega ühtlase hernevalgufraktsiooni eraldumine. Selliselt läbi viidud kuivfraksioneerimise tulemusena kontsentreeriti valgurikkasse fraktsiooni 79% kogu põldhernes Kirke sisaldunud valgust. Sellist tulemust võib kirjandusandmetest kogutud informatsiooniga võrreldes pidada väga heaks tulemuseks.

### 13. Kokkuvõte

Taimsete valkude eraldamine, kontsentreerimine ja toiduna kasutamiseks ettevalmistamine on inimkonna jaoks oluline teema. On välja arvatud, et energia kulu 4-11g loomse valgu tootmiseks on kokku 1MJ. Taimsest materjalist märgestraktsioonil on võimalik 1 MJ energiakuluga saada kuni 15g valku, taimedest valgu kuivfraksioneerimisel on aga võimalik tänapäevaste teadmistega 1 MJ energiaga toota ligi 55g valku. Taimse valgu eraldamine kuivfraksioneerimise teel on seega oluliselt väiksema energia kuluga ning selliselt eraldatud valgu kasutuselevõtt omab suurt tähtsust inimkonna toiduga varustamise tagamisel.

Valgu eraldamiseks sobivate biomasside ja tehnoloogiate väljatöötamine on pidevas arengus. Läbiviidud uurimistöö näitab, et taimse valgu tootmise planeerimise seisukohalt on väga olulised õige biomassi ja sobiliku tehnoloogia valik. Taimse valgu eraldamise jaoks kuivfraksioneerimise teel hinnati Eestis kasvatatavatest kaera, põldherne ja põldoa sortidest sobivaimateks kaer 'Kusta', põldhernes 'Kirke' ja põlduba 'Jõgeva'. Taimsest materjalist kuivfraksioneerimise teel valgu eraldamisel on oluline valitud biomassi õige ettevalmistamine-millest olulisemad etapid on puhastamine, kuivatamine, koorimine, õli eraldamine. Väga oluline on ka materjali õige peensuseni jahvatamine enne valgu kuivfraksioneerimist. Jahvatamise õige peensus valitakse lähtuvalt kultuurist ja sordist katselisel teel, nii et tärgliseosakesed jääksid võimalikult terveks ja valguosakesed pudeneksid neid hoidnud pesakestest. Valgu eraldamisel taimsest materjalist tuleb silmas pidada, et sama sordi omadused võivad muutuda sõltuvalt kasvu aasta iseloomust. Seetõttu eeldab kuivfraksioneerimise ettevalmistamine parima tulemuse saamiseks alati eelkatseid vahetult fraksioneerimisse mineva materjaliga. Kuivfraksioneerimise õnnestumiseks on olulised ka kasutatava kuivfraksioneerimise seadme projekteeritud võimalused selleks, et osakesi nende erinevatest füüsikalistest omadustest lähtuvalt eraldada.

## 14. Kasutatud kirjandus

1. Tohver, V. *Üldine biokeemia*. (Kirjastus “Valgus,” 1977).
2. Männik, A. *Biokeemia*. (Kirjastus “Valgus,” 1985).
3. Kotb-El-Sayed, M. Amino acids and protein chemistry part 1. doi:10.13140/RG.2.2.23506.38081.
4. Gardner, C. D., Hartle, J. C., Garrett, R. D., Offringa, L. C. & Wasserman, A. S. Maximizing the intersection of human health and the health of the environment with regard to the amount and type of protein produced and consumed in the United States. *Nutrition Reviews* **77**, 197–215 (2019).
5. Górska-Warsewicz, H. *et al.* Food Products as Sources of Protein and Amino Acids-The Case of Poland. (2018) doi:10.3390/nu10121977.
6. Wu, G. Dietary protein intake and human health. *Food & Function* **7**, 1251 (2016).
7. Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M. & Tiwari, B. Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. (2017) doi:10.3390/foods6070053.
8. *Komisjoni Aruanne Nõukogule Ja Euroopa Parlamendile taimsete valkude kasutuse arendamise kohta Euroopa Liidus*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/PDF/?uri=CELEX:52018DC0757&from=EN> (2018).
9. European Commission, Oilseeds and protein crops production Directorate-General for Agriculture and Rural Development. <https://agridata.ec.europa.eu/extensions/DashboardCereals/OilseedProduction.html>.
10. Statista. <https://www.statista.com/statistics/1073550/global-leading-oats-producers/>.
11. European Commission, Hemp production in the EU. [https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/plants-and-plant-products/plant-products/hemp\\_en](https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/plants-and-plant-products/plant-products/hemp_en).
12. Kinoema, World Data Atlas Sources Food And Agriculture Organization. <https://knoema.com/FAOPRDSC2020/production-statistics-crops-crops-processed?country=1002460&item>.
13. Mulder, W. *Proteins In Biomass Streams*. (2010).
14. Ozdal, T., Capanoglu, E. & Altay, F. A review on protein-phenolic interactions and associated changes. *Food Research International* vol. 51 954–970 (2013).
15. Chiesa, S. & Gnansounou, E. Protein extraction from biomass in a bioethanol refinery - Possible dietary applications: Use as animal feed and potential extension to human consumption. *Bioresource Technology* vol. 102 427–436 (2011).
16. Barać, M. B., Pešić, M. B., Stanojević, S. P., Kostić, A. Ž. & Čabrilo, S. B. Techno-functional properties of pea (*Pisum sativum*) protein isolates-a review. *APTEFF* **46**, 1–18 (2015).
17. Hughes, G. J., Ryan, D. J., Mukherjea, R. & Schasteen, C. S. Protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS) for soy protein isolates and concentrate: Criteria for evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**, 12707–12712 (2011).
18. Voudouris, P. *et al.* *An evaluation on the STW Protein programme and an outlook for the future Sustainable Protein Technology*.
19. Hertzler, S. R., Lieblein-Boff, J. C., Weiler, M. & Allgeier, C. Plant proteins: Assessing their nutritional quality and effects on health and physical function. *Nutrients* vol. 12 1–27 (2020).
20. Boye, J., Zare, F. & Pletch, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International* **43**, 414–431 (2010).

21. Schutyser, M. A. I. & van der Goot, A. J. The potential of dry fractionation processes for sustainable plant protein production. *Trends in Food Science and Technology* (2011) doi:10.1016/j.tifs.2010.11.006.
22. Geerts, M., van Veghel, A., Zisopoulos, F. K., van der Padt, A. & Jan van der Goot, A. Exergetic comparison of three different processing routes for yellow pea (*Pisum sativum*): Functionality as a driver in sustainable process design. *Journal of Cleaner Production* **183**, 979–987 (2018).
23. Shewry, P. R. Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science* **46**, 239–250 (2007).
24. Pietzak, M. M. & Fasano, A. Celiac disease: a new paradigm of an immune-mediated disorder due to dietary gluten. *Reviews in food and nutrition toxicity* **3**, 243–265 (2005).
25. Mäkinen, O. E., Sozer, N., Ercili-Cura, D. & Poutanen, K. Protein From Oat: Structure, Processes, Functionality, and Nutrition. in *Sustainable Protein Sources* 105–119 (Elsevier Inc., 2016). doi:10.1016/B978-0-12-802778-3.00006-8.
26. Vilmane, L., Zute, S., Straumite, E. & Galoburda, R. Protein, amino acid and gluten content in oat (*Avena Sativa* L.) grown in Latvia. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences* **69**, 170–177 (2015).
27. Tosh, S. M. & Miller, S. S. Oats. *Encyclopedia of Food and Health* 119–125 (2016) doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00497-9.
28. Asp, N. G., Mattsson, B. & Onning, G. Variation in dietary fibre, beta-glucan, starch, protein, fat and hull content of oats grown in Sweden 1987-1989. *Eur J Clin Nutr* **46**, 31–37 (1992).
29. Girardet, N. & Webster, F. H. Oat Milling: Specifications, Storage, and Processing. in *Oats: Chemistry and Technology: Second Edition* (2011). doi:10.1016/B978-1-891127-64-9.50019-1.
30. Peterson, D. M. Storage proteins. *Oats: chemistry and technology* 123–142 (2011).
31. Zhao, Y., Mine, Y. & Ma, C. Y. Study of Thermal Aggregation of Oat Globulin by Laser Light Scattering. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3089–3096 (2004).
32. Runyon, J. R., Sunilkumar, B. A., Nilsson, L., Rascon, A. & Bergenståhl, B. The effect of heat treatment on the soluble protein content of oats. *Journal of Cereal Science* (2015) doi:10.1016/j.jcs.2015.06.008.
33. Decker, E. A., Rose, D. J. & Stewart, D. Processing of oats and the impact of processing operations on nutrition and health benefits. *British Journal of Nutrition* **112**, S58–S64 (2014).
34. Hemery, Y., Rouau, X., Lullien-Pellerin, V., Barron, C. & Abecassis, J. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science* **46**, 327–347 (2007).
35. Pojić, M., Mišan, A. & Tiwari, B. Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science & Technology* (2018) doi:10.1016/j.tifs.2018.03.010.
36. Peterson, D. M., Youngs, V. L., Schrader, L. E., Smith, D. & Cataldo, D. A. Assimilation and remobilization of nitrogen and carbohydrates in oats, especially as related to groat protein concentration. *Canadian Journal of Plant Science* **55**, 19–28 (1975).
37. Cluskey, J. E., Wu, Y. v, Inglett, G. E. & Wall, J. S. Oat protein concentrates for beverage fortification. *Journal of Food Science* **41**, 799–804 (1976).
38. Ziegler, G. R. & Foegeding, E. A. The gelation of proteins. in *Advances in food and nutrition research* vol. 34 203–298 (Elsevier, 1990).

39. Doi, E. Gels and gelling of globular proteins. *Trends in Food Science & Technology* **4**, 1–5 (1993).
40. Ma, C. Y. Preparation, composition and functional properties of oat protein isolates. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* **16**, 201–205 (1983).
41. Yie, H. Y., Yamaguchi, S., Yeun, S. G., Mori, T. & Matsumura, Y. Effects of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on structure and functional properties of  $\alpha$ -zein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 7094–7100 (2004).
42. Mirmoghtadaie, L., Kadivar, M. & Shahedi, M. Effect of modified oat starch and protein on batter properties and quality of cake. *Cereal Chemistry* **86**, 685–691 (2009).
43. Ponnampalam, R., Goulet, G., Amiot, J., Chamberland, B. & Brisson, G. J. Some functional properties of acetylated and succinylated oat protein concentrates and a blend of succinylated oat protein and whey protein concentrates. *Food Chem* **29**, 109–118 (1988).
44. Mohamed, A., Biresaw, G., Xu, J., Hojilla-Evangelista, M. P. & Rayas-Duarte, P. Oats protein isolate: Thermal, rheological, surface and functional properties. *Food Research International* **42**, 107–114 (2009).
45. Harwalkar, V. R. & Ma, C. Study of thermal properties of oat globulin by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science* **52**, 394–398 (1987).
46. Ma, C. Y. & Harwalkar, V. R. Thermal coagulation of oat globulin. *Cereal Chem* **64**, 212–218 (1987).
47. Mohamed, T. K., Zhu, K., Issoufou, A., Fatmata, T. & Zhou, H. Functionality, in vitro digestibility and physicochemical properties of two varieties of defatted foxtail millet protein concentrates. *International Journal of Molecular Sciences* **10**, 5224–5238 (2009).
48. Karaś, M. *et al.* Different Temperature Treatments of Millet Grains Affect the Biological Activity of Protein Hydrolyzates and Peptide Fractions. *Nutrients* **11**, 550 (2019).
49. Mbithi-Mwikya, S., van Camp, J., Yiru, Y. & Huyghebaert, A. Nutrient and Antinutrient Changes in Finger Millet (*Eleusine coracana*) During Sprouting. *LWT - Food Science and Technology* **33**, 9–14 (2000).
50. S. Balasubramanian. Processing Of Millets-Lead Paper. (2013) doi:10.13140/RG.2.1.4318.7365.
51. Shen, P., Gao, Z., Fang, B., Rao, J. & Chen, B. Ferreting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. *Trends in Food Science & Technology* **112**, 1–15 (2021).
52. Dapčević-Hadnadev, T. *et al.* Emulsifying properties of hemp proteins: Effect of isolation technique. *Food Hydrocoll* **89**, 912–920 (2019).
53. Potin, F., Lubbers, S., Husson, F. & Saurel, R. Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein extraction conditions affect extraction yield and protein quality. *J Food Sci* **84**, 3682–3690 (2019).
54. Hagberg, K. L., Yurgel, S. N., Mulder, M. & Kahn, M. L. Interaction between nitrogen and phosphate stress responses in *Sinorhizobium meliloti*. *Frontiers in Microbiology* **7**, (2016).
55. Sathe, S. K. & Salunkhe, D. K. *Preparation And Utilization Of Protein Concentrates And Isolates For Nutritional And Functional Improvement Of Foods' of the Utah Agricultural Experiment Station and a contri-bution of Western Regional Project W-150. Journal of Food Quality* vol. 4 (2564).
56. Alonso, R., Aguirre, A. & Marzo, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chem* **68**, 159–165 (2000).

57. Ozge Keskin, S. *et al.* Physico-chemical and functional properties of legume protein, starch, and dietary fiber-A review. (2021) doi:10.1002/leg3.117.
58. Wang, T. L., Domoney, C., Hedley, C. L., Casey, R. & Grusak, M. A. Update on Seed Quality Traits Can We Improve the Nutritional Quality of Legume Seeds? (2003) doi:10.1104/pp.102.017665.
59. Martineau-Côté, D., Achouri, A., Karboune, S. & L'Hocine, L. Faba Bean: An Untapped Source of Quality Plant Proteins and Bioactives. *Nutrients* **14**, 1541 (2022).
60. Duranti, M. & Gius, C. Legume seeds: protein content and nutritional value. *Field Crops Research* **53**, 31–45 (1997).
61. Swanson, B. G. Pea and lentil protein extraction and functionality. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **67**, 276–280 (1990).
62. Egbert and Borders. Achieving success with meat analogs. (2006).
63. Maaroufi, C. *et al.* Fractionation of pea flour with pilot scale sieving. I. Physical and chemical characteristics of pea seed fractions. *Animal Feed Science and Technology* **85**, 61–78 (2000).
64. Meisrimler, C.-N., Menckhoff, L., Kukavica, B. M. & Lüthje, S. Pre-fractionation strategies to resolve pea (*Pisum sativum*) sub-proteomes. *Frontiers in Plant Science* (2015) doi:10.3389/fpls.2015.00849.
65. Schutyser, M. A. I., Pelgrom, P. J. M., van der Goot, A. J. & Boom, R. M. Dry fractionation for sustainable production of functional legume protein concentrates. *Trends in Food Science and Technology* **45**, 327–335 (2015).
66. Osen, R., Toelstede, S., Wild, F., Eisner, P. & Schweiggert-Weisz, U. High moisture extrusion cooking of pea protein isolates: Raw material characteristics, extruder responses, and texture properties. *Journal of Food Engineering* **127**, 67–74 (2014).
67. Fredrikson, M., Biot, P., Alminger, M. L., Carlsson, N. G. & Sandberg, A. S. Production process for high-quality pea-protein isolate with low content of Oligosaccharides and phytate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2001) doi:10.1021/jf000708x.
68. Klupšaitė, D. & Juodeikienė, G. Legume: composition, protein extraction and functional properties. A review. *Chemical Technology* **66**, (2015).
69. Gupta, R. & Dhillon, S. Characterization of seed storage proteins of Lentil (*Lens culinaris* M.). *Annals of Biology (India)* (1993).
70. Boye, J., Zare, F. & Pletch, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International* **43**, 414–431 (2010).
71. Abecassis, J., de Vries, H. & Rouau, X. New perspective for biorefining cereals. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* **8**, 462–474 (2014).
72. Pelgrom, P. J. M., Vissers, A. M., Boom, R. M. & Schutyser, M. A. I. Dry fractionation for production of functional pea protein concentrates. *Food Research International* (2013) doi:10.1016/j.foodres.2013.05.004.
73. Topin, V., Radjaï, F., Delenne, J. Y., Sadoudi, A. & Mabilbe, F. Wheat endosperm as a cohesive granular material. *Journal of Cereal Science* **47**, 347–356 (2008).
74. Paredes-Lopez, O., Ordorica-Falomir, C. & Olivares-Vazquez, M. R. Chickpea Protein Isolates: Physicochemical, Functional and Nutritional Characterization. *Journal of Food Science* **56**, 726–729 (1991).
75. McCurdy, S. M. & Knipfel, J. E. Investigation of Faba Bean Protein Recovery and Application to Pilot Scale Processing. *Journal of Food Science* **55**, 1093–1094 (1990).
76. Cai, R., Klamczynska, B. & Baik, B. K. Preparation of bean curds from protein fractions of six legumes. *J Agric Food Chem* **49**, 3068–3073 (2001).

77. Martin-Cabrejas, M. A. *et al.* Hard-to-cook phenomenon in beans: Changes in antinutrient factors and nitrogenous compounds during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **69**, 429–435 (1995).
78. Lanfer Marquez, U. M., Barros, R. M. C. & Lajolo, F. M. Chemically determined total and available methionine in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated protein fractions. *Food Chemistry* **55**, 179–184 (1996).
79. US8124162B2 - Pea protein composition - Google Patents. <https://patents.google.com/patent/US8124162/en29>.
80. Berghout, J. A. M., Boom, R. M. & van der Goot, A. J. The potential of aqueous fractionation of lupin seeds for high-protein foods. *Food Chemistry* (2014) doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.166.
81. González, A. D., Frostell, B. & Carlsson-Kanyama, A. Protein efficiency per unit energy and per unit greenhouse gas emissions: Potential contribution of diet choices to climate change mitigation. *Food Policy* **36**, 562–570 (2011).
82. Sokółowski, M. Energy consumed in grinding—a new idea of a general law of comminution—new tests stands and testing results. *Récents Progress en Génie Procédés* **10**, 221–226 (1996).
83. Wang, Y. & Forsberg, E. Enhancement of energy efficiency for mechanical production of fine and ultra-fine particles in comminution. *China Particuology* vol. 5 193–201 (2007).
84. Eswarajah, C., Narayanan, S. S. & Jayanti, S. A reduced efficiency approach-based process model for a circulating air classifier. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* **47**, 1887–1900 (2008).
85. Tyler, R., Youngs, C. & Sosulski, F. Air classification of legumes. I. Separation Efficiency, Yield, and Composition of the Starch and Protein Fractions. *Cereal Chemistry* **58**, 144–148 (1981).
86. Létang, C., Samson, M. F., Lasserre, T. M., Chaurand, M. & Abécassis, J. Production of starch with very low protein content from soft and hard wheat flours by jet milling and air classification. *Cereal Chemistry* **79**, 535–543 (2002).
87. Laskowski, J. & Lysiak, G. Use of compression behaviour of legume seeds in view of impact grinding prediction. in *Powder Technology* vol. 105 83–88 (Elsevier Sequoia SA, 1999).
88. Walde, S. G., Balaswamy, K., Velu, V. & Rao, D. G. Microwave drying and grinding characteristics of wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Food Engineering* **55**, 271–276 (2002).
89. Velu, V., Nagender, A., Prabhakara Rao, P. G. & Rao, D. G. Dry milling characteristics of microwave dried maize grains (*Zea mays* L.). *Journal of Food Engineering* **74**, 30–36 (2006).
90. Peyron, S. *et al.* Evaluation of tissue dissociation of durum wheat grain (*Triticum durum* Desf.) generated by the milling process. *Journal of Cereal Science* **36**, 199–208 (2002).
91. Desvignes, C. *et al.* Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment. *Journal of Cereal Science* **47**, 245–251 (2008).
92. Jones, R. W., Taylor, N. W. & Senti, F. R. Electrophoresis and fractionation of wheat gluten. *Arch Biochem Biophys* **84**, 363–376 (1959).
93. Stone, A. K., Karalash, A., Tyler, R. T., Warkentin, T. D. & Nickerson, M. T. Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International* (2015) doi:10.1016/j.foodres.2014.11.017.

94. Leschonski, K. Representation and evaluation of particle size analysis data. *Particle & Particle Systems Characterization* **1**, 89–95 (1984).
95. Dijkink, B. H., Speranza, L., Paltsidis, D. & Vereijken, J. M. Air dispersion of starch-protein mixtures: A predictive tool for air classification performance. *Powder Technology* **172**, 113–119 (2007).
96. Shapiro, M. & Galperin, V. Air classification of solid particles: A review. in *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* vol. 44 279–285 (2005).
97. Wu, Y. V. & Nichols, N. N. Fine grinding and air classification of field pea. *Cereal Chemistry* **82**, 341–344 (2005).
98. Elkowicz, K. & Sosulski, F. W. Antinutritive factors in eleven legumes and their air-classified protein and starch fractions. *Journal of Food Science* **47**, 1301–1304 (1982).
99. Reichert, R. D. & MacKenzie, S. L. Composition of peas (*Pisum sativum*) varying widely in protein content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **30**, 312–317 (1982).
100. Tabtabaei, S., Vitelli, M., Rajabzadeh, A. R. & Legge, R. L. Analysis of protein enrichment during single- and multi-stage tribo-electrostatic bioseparation processes for dry fractionation of legume flour. *Separation and Purification Technology* **176**, 48–58 (2017).
101. Wang, J., Zhao, J., de Wit, M., Boom, R. M. & Schutyser, M. A. I. Lupine protein enrichment by milling and electrostatic separation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **33**, 596–602 (2016).
102. Pelgrom, P. J. M., Wang, J., Boom, R. M. & Schutyser, M. A. I. Pre- and post-treatment enhance the protein enrichment from milling and air classification of legumes. *Journal of Food Engineering* **155**, 53–61 (2015).
103. Kim, E. J., Parsons, C. M., Srinivasan, R. & Singh, V. Nutritional composition, nitrogen-corrected true metabolizable energy, and amino acid digestibilities of new corn distillers dried grains with solubles produced by new fractionation processes. *Poultry Science* **89**, 44–51 (2010).
104. R. Srinivasan *et al.* Fractionation of Barley Flour Using Elusieve Processing: A Combination of Sieving and Air Classification. *Trans ASABE* **53**, 503–508 (2013).
105. Enneking, D. & Wink, M. Towards the elimination of anti-nutritional factors in grain legumes. in *Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st century* 671–683 (Springer, 2000).
106. Chitra, U., Vimala, V., Singh, U. & Geervani, P. Variability in phytic acid content and protein digestibility of grain legumes. *Plant Foods for Human Nutrition* **47**, 163–172 (1995).
107. Jood, S., Chauhan, B. M. & Kapoor, A. C. Protein digestibility (in vitro) of chickpea and blackgram seeds as affected by domestic processing and cooking. *Plant Foods for Human Nutrition* **39**, 149–154 (1989).
108. Carbonaro, M., Cappelloni, M., Nicoli, S., Lucarini, M. & Carnovale, E. Solubility-Digestibility Relationship of Legume Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 3387–3394 (1997).
109. Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R. M. & Grases, F. Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular Nutrition and Food Research* vol. 53 330–375 (2009).
110. Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R. M. & Grases, F. Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular Nutrition and Food Research* vol. 53 330–375 (2009).

111. García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A. & Martínez, J. A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research* vol. 58 537–552 (2009).
112. Asgar, M. A., Fazilah, A., Huda, N., Bhat, R. & Karim, A. A. Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **9**, 513–529 (2010).
113. Day, L. Proteins from land plants - Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science and Technology* vol. 32 25–42 (2013).
114. Hoover, R. & Ratnayake, W. S. Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food Chemistry* **78**, 489–498 (2002).
115. Wood, J. A., Knights, E. J., Campbell, G. M. & Choct, M. Differences between easy- and difficult-to-mill chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Part I: Broad chemical composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **94**, 1437–1445 (2014).