

OC2017 A-020 - Åpen

Rapport

Råstoffbehandling og kvalitet for marin ingrediensindustri - hovedprosjekt

Forfatter(e)

Ana Carvajal

Tom Ståle Nordtvedt, Erlend Indergård og Halvor Nygaard



Foto: TYD

Rapport

Råstoffbehandling og kvalitet for marin ingrediensindustri - hovedprosjekt

Sluttrapport

EMNEORD:Restråstoff
Kjemisk konservering
Råstoffbehandling
Kvalitet
Termisk konservering
Kjøling
Oksidasjon
Mikrobiologi**VERSJON**

2

FORFATTER(E)Ana Karina Carvajal
Tom Ståle Nordtvedt, Erlend Indergård og Halvor Nygaard**OPPDRAGSGIVER(E)**

Fiskeri og havbruksnæringens forskningsfond - FHF

PROSJEKTNR

FHF 901054/ SFH 6021661

DATO

2017-01-13

OPPDRAGSGIVERS REF.

Lars Lovund

ANTALL SIDER OG VEDLEGG:

28

SAMMENDRAG

I 2015 ble 889 500 tonn restråstoff generert fra norsk sjømatnæring, hvorav 76 % av råstoffet ble utnyttet. Marin ingrediensindustri har uttrykt behov og ønsker om å kunne øke andelen produksjon av produkter til human anvendelse, øke og sikre kvaliteten på restråstoffet til førproduksjon, samt utvide tilgang til råstoff både når det kommer til geografi og spekter. For å oppnå dette er det behov for et betydelig kunnskapsløft innen restråstoffbehandling og hvordan råstoffkvaliteten skal ivaretas på en optimal måte under lagring og transport fram til videre prosessering.

I prosjektet har man 1) Fastsatt referanseverdier på hva som er mulig å oppnå av kvalitet på restråstoff fra laks (innmat eller hoder og rygger), makrell og sild (nordsjøild og norsk vårgytende sild), 2) Kartlagt verdikjeden for laks og pelagisk fisk med hensyn på temperatur under lagring og transport, 3) Studert bruk av kjemiske konserveringsmidler for å bevare kvaliteten på restråstoffet under ulike lagringsbetingelser (temperatur og tid), samt studert hvordan de ulike konserveringsmidlene kan påvirke produksjonsprosessen og kvalitet av produserte ingredienser, 4) Testet kjøling av restråstoff fra makrell, og 5) Gjennomført konserveringsforsøk i pilot- og industriellskala hos Biomega

Resultatene fra prosjektet har bidratt til økt kunnskap innen råstoffhåndtering og er allerede blitt tatt i bruk av næringen. Flere industrielle forsøk er gjennomført og planlagt i framtiden for å få implementert resultatene fra prosjektet.

UTARBEIDET AV

Ana Carvajal

KONTROLLERT AV

for Bendik Toldnes

GODKJENT AV

Marit Aursand

SIGNATUR



SIGNATUR



SIGNATUR

**RAPPORTNR**

OC2017 A-020

ISBN

978-82-7174-270-6

GRADERING

Åpen

GRADERING DENNE SIDE

Åpen

Historikk

VERSJON	DATO	VERSJONSBEKRIVELSE
2	2017-01-13	Endelig versjon
1	2017-01-04	Til gjennomlesing hos styringsgruppen

Innholdsfortegnelse

1	Abstract	4
2	Innledning.....	5
3	Problemstilling og formål.....	6
4	Prosjektgjennomføring	7
4.1	Analysemetoder.....	7
4.2	Referanseverdier for kvalitet og dagens logistikkønsninger.....	8
4.3	Kjemisk konservering og kjøling.....	9
5	Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon	9
5.1	Referanseverdier for restråstoff fra laks, sild og makrell	9
5.2	Kjemisk konservering av restråstoff.....	12
5.2.1	Laks	12
5.2.2	Makrell.....	13
5.2.3	Sild	16
5.3	Kjøleteknologi	17
5.3.1	Hurtig nedkjøling av restråstoff fra makrell	17
5.3.2	Forsøk med restråstoff fra frosset og tint makrell	18
5.4	CASE: Optimal kjølekjede og behandling av restråstoff fra laks.....	21
5.4.1	Case I: Konservering av hoder og rygger fra laks.....	21
5.4.2	Case II: Konservering av innmat fra laks	24
5.5	Case pelagisk.....	25
5.6	Videreføring av resultater fra prosjektet	25
5.7	Resultatenes nytteverdi.....	26
6	Leveranser	27
7	Referanser.....	28

BILAG/VEDLEGG

[Skriv inn ønsket bilag/vedlegg]

1 Abstract

In 2015, 889 500 tons of rest raw materials was generated in Norway and 76 % of the raw material was utilized. The marine ingredients industry have expressed a need for increasing the amount of rest raw materials used for production of ingredients for human consumption and increase the quality of the raw material intended for feed production. In addition, there is a need for a broader access to rest raw materials, both in term of geography and raw material type.

In order to realize the potential of the rest raw materials, there is need for a significant increase in knowledge within raw material handling and quality during storage and transportation.

The project has worked with the following activities and challenges:

- 1) Setting reference data for optimal quality of rest raw materials from salmon (viscera or heads and backbones), mackerel, and herring (North Sea herring and Norwegian spring-spawning herring)
- 2) Mapping of the salmon and pelagic value chains with emphasis on temperature monitoring during storage and transportation of the rest raw material
- 3) Studying the use of chemical preservatives in order to maintain the quality of the rest raw material during different storage conditions (temperature and time), and the effect of the preservatives on the production process and quality of produced ingredients from the raw material
- 4) Studying thermal preservation of rest raw material from mackerel, and
- 5) Carrying out industrial preservation tests on salmon rest raw material.

The results have contributed to increase knowledge on what happens with the raw material during storage and handling, and how it can be handled and preserved in order to maintain the quality. The industry has already started to run additional tests and to use the results as a basis for further implementation.

2 Innledning

I 2015 ble det generert 889 500 tonn restråstoff fra norsk sjømatnæring, noe som er et **stort verdiskapingspotensial for næringen**. Pelagisk- og havbrukssektoren utnytter i dag tilnærmet 100 % av tilgjengelig restråstoff, mens hvitfisksektoren utnytter omlag 48 %. Sjømatnæringen ønsker å øke restråstoffets bidrag til økt lønnsomhet for næringen gjennom:

- utvidet anvendelse og markedsmulighetene for restråstoff de besitter
- egenproduksjon av nye produkt fra eget restråstoff

Restråstoff fra sjømatnæringen går i dag hovedsakelig til norsk *marin ingrediensindustri* for produksjon av proteinprodukter og oljer. Om lag 9 % av restråstoffet selges som konsum- og sjømatprodukter (Richardson et al. 2016). Marin ingrediensindustri er mangfoldig og omfatter industri som anvender marine råstoffer til produksjon av marine ingredienser til fôr, næringsmidler, helsekost, farmasi eller kosmetikk. De omsetter for ca. 8 mrd. NOK årlig, og om lag 1/3 av råstoffet ingrediensindustrien baserer seg på kommer fra restråstoff fra sjømatnæringen (Richardson et al. 2016).

Marin ingrediensindustri har uttrykt behov og ønsker om:

- økt andel produksjon av produkter til human anvendelse
- økt og sikrere kvalitet av restråstoff til fôrproduksjon
- utvidet tilgang til råstoff, både geografisk og kvantumsmessig
- utvidet spekter av råstofftype

Dette hovedprosjektet bygger på kunnskap fremkommet i forprosjektet "Råstoffbehandling og kvalitet for marin ingrediensindustri (FHF prosjekt # 900949)" hvor forsknings- og utviklingsbehovet innen råstoffhåndtering og kvalitet ble pekt på. Det er behov for et betydelig kunnskapsløft innen restråstoffbehandling og hvordan råstoffkvaliteten skal ivaretas på en optimal måte under lagring og transport fram til videre prosessering.

Med bakgrunn i forprosjektet ble det bestemt at hovedprosjektet skulle se på restråstoff fra to ulike verdikjeder: 1) laks fra prosesseringsbedrifter/slakteri og 2) pelagisk fisk fra prosesseringsanlegg. Fokuset skulle være på optimal kjøling og behandling av restråstoffet gjennom alle ledd i kjeden fra fangst til videre prosessering. Kompetanse utviklet på konservering og behandling restråstoff fra fileteringsanlegg på land kan gi grunnlaget for utvikling av metoder for håndtering av restråstoff ombord den havgående hvitfiskflåten.

Prosjektet hadde følgende organisering:

Prosjektgruppen

Ana Carvajal (prosjektleder), SINTEF Fiskeri og havbruk (SFH)
Tom Ståle Nordtvedt, SFH
Erlend Indergård, SFH
Halvor Nygaard, Nofima
Birgitte Moen, Nofima
Rasa Slizyte, SFH
Jannicke Remme, SFH
Bendik Toldnes (kvalitetssikrer), SFH

Styringsgruppen

Ola Flesland (leder), Vedde
Jan Arne Vevatne, Biomega
Jon Vestengen, Pelagia
Kjartan Sandnes, Alkymar
Stein Ove Østvik (Observatør, fra des 2014 – des 2015), FHF
Lars Lovund (Observatør, 2016), FHF

3 Problemstilling og formål

Prosjektet hadde følgende hovedmål og delmål:

Hovedmål:

Sikre riktig kvalitet på restråstoff fra laks og pelagisk fisk til et nivå som gir anledning til bruk i næringsmiddelproduksjon og/eller fôrproduksjon.

Delmål:

- Utvikle optimal kjøleteknologi for alle ledd i råstoffets kuldekjede som vil:
 - muliggjøre produksjon av større andel produkt til human anvendelse
 - sikre økt og forutsigbar kvalitet av restråstoff til fôrproduksjon
 - gi utvidet tilgang til restråstoff, både geografisk og kvantumsmessig
 - gi muligheten for salg og utnyttelse av et større spekter restråstoffprodukter
- Bygge ny og utvidet kompetanse innen kvalitet, konservering og behandling av restråstoff
- Identifisere verdiskapingspotensial av økt restråstoffkvalitet for sjømatnæringen og marin ingrediensindustri

Resultatene fra prosjektet forventes å gi grunnlag for:

- Definerte styringsparametere og nye teknologikonsept for håndtering og distribusjon av høykvalitet kjølt, fryst eller konserverte restråstoff.
- Økt basiskunnskap om kvalitetspåvirkning på restråstoff under og etter ulike prosess- og kjøleregimer.
- Utvikling av modellverktøy for å bestemme optimale kjøleregimer, herunder både produkt- og kjøletekniske analyser

4 Prosjektgjennomføring

Prosjektet er strukturert i fire faglige arbeidspakker og aktivitetene er basert på forslaget til FoU-innsats presentert i sluttrapporten til forprosjektet *Råstoffbehandling og kvalitet for marin ingrediensindustri (FHF prosjekt # 900949)*. Arbeidspakker: AP1 Referanseverdier for kvalitet og dagens logistikk-løsninger, AP2 Råstoffhåndtering og kjemisk konservering, AP3 Kjøleteknologi og AP4 Case studies: Optimal kjølekjede og behandling for restråstoff fra laks og pelagisk. Arbeidspakkeleder for AP2 var Nofima, mens resterende arbeidspakker ble ledet av SINTEF Fiskeri og havbruk. Prosjektet ble ledet av Ana Carvajal ved SINTEF Fiskeri og havbruk.

4.1 Analysemetoder

Analysemetodene som er benyttet i forsøkene gjennomført i AP1 og AP2 er gitt under:

Mikrobiologi:

Anaerobe sulfittreduerende bakterier dyrket ved 37 °C og kimtall ved 30 °C er standardmetoder for kvantifisering av hhv anaerob og aerobe bakterier i næringsmidler.

Kimtall på Jern-agar er en metode utviklet spesielt for deteksjon av aerobe bakterier og spesifikke bedervingsbakterier i kjølt og aerobt lagret fisk, f.eks. *Shewanella* spp.

Kimtall på Long & Hammer agar ved 15 °C brukes til bestemmelse av aerobe bakterier i fisk og inkluderer kuldetolerante og varmfølsomme bakterier, spesielt *Photobacterium phosphoreum* som er CO₂ resistent og ofte dominerende i kjølt, CO₂ pakket fisk.

MiSeq er en DNA sekvensieringsteknologi som anvendes på bakterie-DNA ekstrahert fra komplekse prøver som f.eks. næringsmidler. MiSeq skiller ikke mellom levende og døde bakterier eller mellom dyrkbare og ikke-dyrkbare bakterier.

Total flyktig nitrogen (TVN), trimetylamin (TMA) og trimetylaminoksid (TMAO):

TVN, TMA, TMAO er målt etter Conway's mikrodifusjonsmetode (Intern metode ved Nofima)

Biogene aminer:

Putrecin, cadavarin og histamin er analysert på LC-MS ved bruk av en intern metode ved Nofima basert på IFOMA.

Frie fettsyrer (FFA):

FFA er målt enten ved bruk av AOCS-metoden Ca 5A-40 eller mikrometoden til Bernardéz et al (Bernardéz et al. 2005).

Oksidasjonsstatus:

Oksidasjonsstatus til restråstoffet og oljene er analysert ved metodene perooksidverdi (AOCS Cd 8b-90 (AOCS 1994)) og anisidinverdi (AOCS Cd 18-90 (AOCS 1994)). Total oksidasjon (TOTOX) er beregnet ved bruk av formelen $TOTOX = 2PV + AV$.

Hydrolysegrad:

Hydrolysegrad ble analysert ved formoltitrering etter metoden til Taylor et al. (Taylor 1957).

Molekylvektfordeling:

Molekylvektfordeling ble analysert etter metoden beskrevet av Wang-Andersen og Haugsgjerd (Wang-Andersen and Haugsgjerd 2011).

4.2 Referanseverdier for kvalitet og dagens logistikk løsninger

Riktig kvalitet av restråstoff vil tilsvare en kvalitet som er god nok til at restråstoffet kan anvendes i næringsmidler (human anvendelse) og/eller til fôr. Grunnleggende (minimums) kvalitetskriterier for restråstoff er definert på bakgrunn av kvalitetsregelverk, hygieneregelverk og forskrifter for tilsetningsstoffer til næringsmidler. Disse kvalitetskriteriene er beskrevet i forprosjektrapporten¹.

Det er ønskelig å utvikle konserveringsmetoder som gir lavest mulig hastighet på kvalitetsdegraderende prosesser. Fastsetting av referanseverdier for kvalitet er derfor nødvendig og setter standarden for kvaliteten som er mulig å få på ingredienser produsert fra restråstoff.

Prøver av restråstoffet for måling av referanseverdiene ble i de fleste tilfeller malt opp ved slakteriene eller foredlingsanlegget, vakuumpakket på stedet og frosset inn på tørris. Prøver som kunne bringes til Nofimas laboratorium i Bergen innen 2 timer etter uttak ble fraktet på is og malt opp, vakuumpakket og frosset inn på laboratoriet.

Referanseverdier for innmat fra laks baserer seg på seks råstoffuttak fra Sekkingstad (februar – mai 2015) og Bremnes (mai 2015 og oktober 2016). Referanseverdier for hode og rygger baseres på to uttak, et fra Sekkingstad (februar 2015) og et fra Bremnes (mai 2015).

Kjemisk sammensetning (tørrstoff, aske, protein og lipid), TVN, TMA, TMAO, biogene aminer (putrecin, cadaverin og histamin) og kintall ble bestemt på råstoffet. Frie fettsyrer (FFA), peroksidverdi og anisidverdi ble analysert på olje produsert ved varmebehandling av råstoffet.

Referanseverdier for makrell er fra et råstoffuttak gjennomført hos Pelagia Austevoll i august 2015. Her ble prøver både fra hel makrell og en blanding av hoder, rygger og innvoller analysert. Prøver fra samfengt nordsjøsild ble tatt ut hos Pelagia Austevoll i juni 2016, mens referanseverdiene for samfengt avskjær fra norsk vårgytende sild er tatt fra tidligere studier på produksjon av olje fra helt fersk restråstoff (Carvajal et al. 2014, Carvajal et al. 2015). Samme analyser som på laks ble gjennomført på pelagisk.

Kartlegging av verdikjeden for laks og pelagisk fisk ble gjennomført under arbeidsmøtene hos Biomega (18.02.15) og Vedde (21.04.15), samt under gjennomkjøring av pilotforsøkene. Under arbeidsmøtene ble fabrikken gjennomgått, rutiner rundt transport og håndtering av restråstoffet ble kartlagt og aktiviteter i de ulike arbeidspakkene ble konkretisert.

¹ FHF prosjekt (nr 900949) *Råstoffbehandling og –kvalitet for marin ingediensindustri: Forprosjekt*

4.3 Kjemisk konservering og kjøling

Råstoffet endrer seg over tid avhengig av utgangspunktet og behandlingsmåten. Autolyseprosessen er avhengig av enzyminnholdet i råstoffet (endogene enzymer), samt faktorer som pH, temperatur og fysisk behandling. Bakteriell bederving er påvirket av de samme faktorene, samt av konserveringsmidler, atmosfære, o.a. Flere virkemidler kan benyttes for å hemme degraderingsprosessen som bruk av kjemiske konserveringsmidler og antioksidanter.

En rekke lagringsforsøk ble gjennomført på restråstoff fra laks, makrell og sild for å teste følgende: 1) effekt av lagringsbetingelser (tid og temperatur) på råstoffkvalitet og kvalitet på ingredienser fra restråstoff, 2) effekt av ulike konserveringsmidler (type, konsentrasjon, blanding) på råstoffkvalitet og kvalitet på ingredienser fra restråstoff, 3) effekt av fysisk behandling på råstoffkvalitet, 4) effekt av frysing/tining på kvaliteten av restråstoffet og respektive ingredienser.

Følgende konserveringsmidler/antioksidanter og kombinasjoner har blitt testet ut:

- Eddiksyre
- Natriumsulfitt
- Blanding av eddiksyre og natriumsulfitt
- Vitalox
- Rosmarinekstrakt
- Naturox (blanding av rosmarinestrakt)

5 Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

Oppnådde resultater i prosjektet er beskrevet og diskutert i rapportene fra de ulike arbeidspakkene:

- Rapport Referanseverdier og kjemisk konservering (AP1 & AP2) (Carvajal and Nygaard 2017)
- Case Optimal kuldekjede og behandling av restråstoff fra laks (AP3 & AP4) (Indergård et al. 2017)
- Case Optimal kuldekjede og behandling av restråstoff fra pelagisk (AP3 & AP4) (Indergård et al. 2017)

5.1 Referanseverdier for restråstoff fra laks, sild og makrell

Referanseverdiene til restråstoff fra laks, sild og makrell er gitt i Tabell 1 og Tabell 2. Analysene viser sammensetning og kvalitet av ferskt restråstoff rett fra slakteri for oppdrettsfisk og foredlingsanlegg for villfanget fisk. Verdiene gjenspeiler råstoffets beste kvalitet.

Tabell 1: Referanseverdier for restråstoff fra laks

		Innmat Sekkingstad 16.02.2015	Innmat Sekkingstad 19.03.2015	Innmat Sekkingstad 14.04.2015	Innmat Sekkingstad 06.05.2015	Innmat Bremnes 23.05.2015	Innmat Bremnes 06.10.2016	Hode/rygg Sekkingstad 16.02.2015	Hode/rygg Bremnes 23.05.2015
Totalt tørrstoff	%	52,2	49,1	52,9	57,4	53,0		36,5	39,2
Protein Kjeldahl (N*6,25)	%	10,4	9,4	9,9	8,0	10,9		15,8	14,5
Fett Bligh & Dyer	%	35,8	36,7	41,0	44,4	39,9		17,8	22,7
Aske	%	0,9	0,8	0,8	0,9	0,9		4,9	4,4
TVN	mg N/100 g	6,7	13,0	16,0	7,7	17,0	7,0	6,9	6,0
TMA	mg N/100 g	<1	<1			<1	<1	3,5	<1
TMAO	mg N/100 g	<1	<1			<1	<1	<1	<1
Putrecin	mg/kg						15,8		
Cadaverin	mg/kg						<2		
Histamin	mg/kg						<2		
Hypoxanthin	mg/kg	88				267		226	251
IMP	mg/kg	<10				<10		292	225
Inosin	mg/kg	156				362		355	301
AMP	mg/kg	<10				<10		<10	<10
ADP	mg/kg	<10				77		62	55
ATP	mg/kg	<10				<10		<10	<10
Nukleotider K-verdi		95				95		75	79
Hydrolysegrad (OPA)	%	35,3				35,8		11,8	11,4
Vannløselig råprotein	%	3,6				4,3		3,2	2,8
FFA i utsentrifugert olje	%		1,3		1,1	2,1	1,1		0,4
PV i utsentrifugert olje	meq/kg		<1		0,7	<1	<1		<1
AV i utsentrifugert olje			<1		0,1	<1	1,8		<1
Kimtall (Long & Hammer)	KDE/g	650	-	-	7200	-	-	9100	-
Kimtall (Jern-agar)	KDE/g	230	-	-	5000	-	-	7700	-
Kimtall (3M Petrifilm)	KDE/g	-	-	-		5000	-	-	72000
Melkesyrebakterier (MRS)		-	-	-	<10	-	-	-	-

Tabell 2: Referanseverdier for restråstoff fra makrell, nordsjøsilde og norsk vårgytende sild

		Makrell Hel	Makrell (hoder/rygger/innmat)	Nordsjøsilde samfengt	NVG silde samfengt	
		Pelagia Austevoll, 26.08.15	Pelagia Austevoll, 26.08.15	Pelagia Austevoll, 07.06.2016	Grøntvedt Pelagic November/Desember 2010 (Carvajal et al. 2015)	Grøntvedt Pelagic Januar 2013 (Carvajal et al. 2014)
Totalt tørrstoff	%	36,1	31,9	32,7	29,3 ± 0,9	30,0 ± 0,4
Protein (N*6,25)	%	17,3	15,1	14,0	13,5 ± 0,6	15,1 ± 0,6
Fett	%	16,2	12,8	15,0	12,3 ± 0,3	12,2 ± 0,4
Aske	%	2,3	3,5	4,1	3,3 ± 0,2	2,5 ± 0,2
TVN	mg N/100 g	12	13	9		
TMA	mg N/100 g	<1	<1	<1		
TMAO	mg N/100 g	10	10	16		
Putrecin	mg/kg	5	8	18		
Cadaverin	mg/kg	4	11	31		
Histamin	mg/kg	3	5	11		
Hypoxanthin	mg/kg	401	514			
IMP	mg/kg	1209	490			
Inosin	mg/kg	498	418			
AMP	mg/kg	33	40			
ADP	mg/kg	110	77			
ATP	mg/kg	<10	<10			
Nukleotider K-verdi		56	76			
Hydrolysegrad (OPA)	%	17,5	17,0	20,8		
Vannløselig råprotein	%	3,2	3,8	29,4		
FFA	%	0,4		1,3	0,23 ± 0,03	0,23 ± 0,01
PV	meq/kg	<1		3,7	2,5 ± 0,4	2,6 ± 0,3
AV		<1		1,7	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Kimtall (Long & Hammer)	KDE/g	4300000	6000000	-		
Kimtall (Jern-agar)	KDE/g	270000	760000	-		
Kimtall (3M Petrifilm)	KDE/g	-	-	-		
Melkesyrebakterier (MRS)		200	1500	-		

*Oljen er produsert fra helt fersk restråstoff i pilot skala ved bruk av SINTEFs mobile produksjonsanlegg

5.2 Kjemisk konservering av restråstoff

5.2.1 Laks

Fire lagrings- og konserveringsforsøk med innmat fra laks som råstoff har blitt gjennomført for å se på effekt av konserveringsmidler og hvordan bruk av konserveringsmidler påvirker produksjonsprosessen og kvaliteten på ferdige produkt. Eddiksyre, natriumsulfitt og Vitalox (antioksidant) ble benyttet i testene. Nærmere beskrivelse av forsøksoppsett, resultater og diskusjon er gitt i rapporten *Kjemisk konservering av restråstoff fra laks og pelagisk* (Carvajal and Nygaard 2017). Et sammendrag av forsøkene er gitt under.

Total flyktig nitrogen (TVN) og mikrobiologi

Bruk av eddiksyre (0,3 %) hindret vekst av bakterier og hadde en positiv konserverende effekt på innmat lagret både i 96 og 120 timer ved 4, 8 og 12 °C. Hemming av bakterievekst ble også oppnådd ved bruk av 0,2 eller 0,1 % natriumsulfitt, samt en kombinasjon av eddiksyre (0,3 %) og natriumsulfitt (0,1 %).

TVN utvikling i fisk skyldes hovedsakelig bakterievekst og både bruk av eddiksyre (0,3 %) og sulfitt (0,1 eller 0,2 %) alene eller i kombinasjon hadde en positiv effekt på TVN under lagring av råstoffet.

Frie fettsyrer (FFA)

Eddiksyre (0,3 %) hadde ingen effekt på dannelsen av FFA når innmat ble lagret i 120 timer ved 4, 8 og 12 °C før prosessering (mars 2015). Natriumsulfitt (0,1 og 0,2 %) alene hadde en moderat hemmende effekt på dannelsen av FFA, mens sammen med eddiksyre førte til mer enn en halvering av FFA utviklingen.

Oksidasjonsstatus

Eddiksyre (0,3 %) har en betydelig negativ effekt på oksidasjonsstatusen i oljer produsert fra lagret innmat. Årsaken til dette er at hemoglobin og jern som er pro-oksidantene til stede i råstoffet er mer effektive ved lavere pH og dermed fører til økt oksidasjonshastighet. Natriumsulfitt (0,1 og 0,2 %) fungerer som en antioksidant og har en positiv effekt på oksidasjonsstatusen. Det samme er tilfellet når natriumsulfitt (0,1 %) blir benyttet sammen med eddiksyre (0,3 %). Vitalox er en syntetisk antioksidant som benyttes i pet-food industrien og hemmer oksidasjon ved å reagere med frie lipidradikaler. Vitalox (1000 ppm) ble testet sammen med eddiksyre (0,3 %) og hadde en negativ effekt på oksidasjonsstatusen sammenlignet med ukonservert restråstoff. Årsaken kan være at Vitalox ikke er en kraftig nok antioksidant til å hemme den negative effekten som tilsetning av eddiksyre har på oksidasjon.

Farge

Lagring av innmaten førte til misfarging på oljen som produseres fra restråstoffet. Økt lagringstid og temperatur førte til økt bruning av oljen. Årsaken til dette er mest sannsynlig en reaksjon mellom oksidasjonsprodukter og proteiner. Bruk av eddiksyre som konserveringsmiddel førte til økt misfarging. I laks kan misfargingen være forårsaket av en nedbrytning av astaxanthin, samt en reaksjon mellom oksidasjonsprodukter. Natriumsulfitt hemmer misfargingen både alene og sammen med eddiksyre. Vitalox hadde ingen effekt.

Hydrolysegrad

Hydrolysegraden (% frie aminogrupeer) til limvann produsert fra innmat lagret i 24 timer ble studert for å se på hvordan bruk av konserveringsmidler påvirker hydrolysegraden (juni 2015). Limvann produsert fra innmat kvernet før lagring hadde høyest hydrolysegrad (33,8 %), mens limvann produsert fra innmat konservert med natriumsulfitt hadde lavest hydrolysegrad (27,6 %). Det ser ut som sulfitt bidrar til å redusere aktiviteten til de endogene enzymene da sulfitt kan bryte disulfid-bindinger i proteiner. Dette kan dermed

også påvirke aktiviteten til kommersielle enzymer og bør studeres nærmere og tas hensyn til hvis enzymatisk hydrolyse skal benyttes som prosesseringsmetode.

Viskositet

Erfaringer fra industrien har vist at inndamping av limvann produsert fra dagsfersk (< 24 timer) restråstoff kan være vanskelig på grunn av høy viskositet. Limvann produsert fra lagret intakt innmat i 24 timer hadde høyest viskositet, noe som er i samsvar med erfaringer fra industrien. Prosessering av blodfersk innmat (under 1 time etter produksjon) eller tilsetning av 0,02 % enzym (Protamex) til limvannet ga lavere viskositet sammenlignet med limvann fra intakt lagret innmat. Lavere viskositet ble også funnet i limvann produsert fra lagret kvernet råstoff med og uten tilsatt sulfitt. Dette kan være mulige løsninger for å hindre at innmaten må lagres før videre prosessering.

5.2.2 Makrell

Tre lagring- og konserveringsforsøk er gjennomført på makrell for å studere effekt av lagringsbetingelser (tid og temperatur) på kvalitet av olje og limvann fra makrellrestråstoff, samt bruk av konserveringsmidler for å bevare kvaliteten under lagring. Nærmere beskrivelse av forsøkene, samt resultater og diskusjon er gitt i rapporten *Kjemisk konservering av restråstoff fra laks og pelagisk*. Et sammendrag av forsøkene er gitt under.

Total flyktige nitrogen (TVN) og mikrobiologi

TVN og mikrobiologi ble analysert i konservert og ukonservert makrell lagret i 144 timer ved 4 og 8 °C. Resultatene viste at eddiksyre (0,1 og 0,2 %) hadde en god konserveringseffekt på ved 4 og 8 °C og hindret økning i bakterietallet. Natriumsulfitt (0,1 %) alene hadde liten effekt på bakterietallene etter 144 dager. Sulfitt kombinert med eddiksyre hadde imidlertid en hemmende effekt på bakteriefloraen og på utvikling av TVN.

Biogene aminer

Eddiksyre (0,2 %), natriumsulfitt (0,1 %) og en blanding av eddiksyre (0,2 %) og natriumsulfitt (0,1 %) hadde en positiv effekt på dannelsen av biogene aminer. Bruk av eddiksyre alene (0,2 %) og eddiksyre sammen med sulfitt hemmet dannelsen av putrecin, cadaverin og histidin under lagring av makrell ved både 4 og 8 °C. Sulfitt alene ga en hemmet dannelse av putrecin og histidin både ved 4 og 8 °C, men hadde kun hemmende effekt på dannelsen av cadaverin ved 4 °C. Kombinasjon av eddiksyre (0,2 %) og natriumsulfitt (0,1 %) ga best konserverende effekt.

Frie fettsyrer (FFA)

Et lagringsforsøk på ferskt restråstoff fra makrell (etter manuell filetering) ble gjennomført for å studere effekt av lagringstid (0 – 120 timer) og lagringstemperatur (4 og 10 °C) på kvaliteten til olje produsert fra lagret restråstoff (september 2015). Olje produsert fra ferskt restråstoff hadde en FFA på 0,5 %. En raskere dannelse av FFA ved 10 °C sammenlignet med 4 °C ble observert. Dette er i overenstemmelse med at aktiviteten til de endogene enzymene påvirkes av temperatur og er høyere ved høyere temperatur. Lagring av restråstoffet i 120 timer ved 4 °C resulterte i en økning i FFA fra 0,5 til 2,3 %, mens lagring ved 10 °C resulterte i en FFA økning fra 0,5 til 7,2 %. Imidlertid var det ingen signifikante forskjeller i % FFA i oljer produsert fra restråstoff lagret i 24 timer ved 4 eller 10 °C (begge 1,2 %).

Resultater fra to ulike konserveringsforsøk på makrell viste at ingen av de uttestede konserveringsmidlene (eddiksyre, natriumsulfitt, blanding av eddiksyre og natriumsulfitt, rosmarinekstrakt og Vitalox) hadde en effekt på dannelsen av frie fettsyrer. Kontroll på temperatur under lagring og transport er viktig for å bevare kvaliteten på råstoffet og hindre økt dannelsen av FFA.

Oksidasjonsstatus

Olje produsert fra ferskt restråstoff (manuell filetering) hadde en peroksidverdi (PV) på $5,3 \pm 0,4$ meq peroksid/kg og en AV på $1,0 \pm 0,2$, noe som tilsvarer en total oksidasjon (TOTOX) på $11,6 \pm 0,4$ meq. Oksidasjonsstatusen til oljen påvirkes av kvaliteten på restråstoffet og øker med økt tid og temperatur. En rask økning i PV ble observert både ved 4 og 10 °C. Høyest verdier ble funnet i oljer produsert fra restråstoff lagret i 48 timer ved 4 °C og i 72 timer ved 10 °C, etterfulgt av en reduksjon i PV forårsaket av nedbrytning av primære oksidasjonsprodukter og dannelse av sekundære oksidasjonsprodukter. Årsaken til en raskere økning i PV ved 4 enn 10 °C kan være på grunn av økt løselighet av oksygen ved lavere temperaturer. Dette gjenspeilet seg i raskere økning i total oksidasjon ved 4 °C enn 10 °C.

Råolje som skal benyttes til humant konsum bør ha så lave som mulig oksidasjonsverdier og helst er det ønskelig at PV ligger under 10 meq/kg og AV under 20. Basert på dette bør ukonservert makrellrestråstoff produseres innen 24 timer for å hindre høye peroksidverdier.

I konserveringsforsøket gjennomført på makrell ble det benyttet frossen hel makrell som ble tint og filetert manuelt. Oljen ekstrahert ved varmebehandling før lagring hadde en PV på 6,1 meq peroksid/kg og en AV på 9,4. Restråstoffet ble lagret ved 4 og 12 °C og følgende konserveringsmidler/antioksidanter ble testet: eddiksyre (0,2 %), natriumsulfitt (0,1 %), blanding av eddiksyre og natriumsulfitt, rosmarinekstrakt og Naturox (rosmarinekstrakt og tocoferol). Bruk av eddiksyre alene førte til økt oksidasjon og en olje med høyere oksidasjonsstatus sammenlignet med olje produsert fra ukonservert restråstoff. Årsaken til dette er at pro-oksideranter til stede i restråstoffet (hemoglobin og jern) er mer effektive ved lavere pH og dermed forårsaker økt oksidasjonshastighet (Mozuraityte et al. 2006, Carvajal et al. 2009). Bruk av sulfitt alene, en blanding av eddiksyre og sulfitt, rosmarinekstrakt eller Naturox resulterte i lavere oksidasjonsstatus. Trenden var den samme ved 4 og 12 °C. Imidlertid er oksidasjonshastigheten som forventet høyere ved 12 °C enn 4 °C.

Kvalitetsendringer i makrellrestråstoff skjer raskt og allerede før 48 timers lagring var PV verdiene høyere enn 10 meq peroksid/kg råstoff og AV høyere enn 20 for restråstoff lagret ved 12 °C. Kun oljen fra restråstoff konservert med sulfitt hadde en PV < 10 meq/kg peroksid og kun olje fra restråstoff konservert med sulfitt og eddiksyre hadde en AV < 20.

Farge

Fargen på makrelloljen påvirkes av både lagringstemperatur, lagringstid og bruk av konserveringsmiddel. Natriumsulfitt bidrar til å hemme misfargingen, mens eddiksyre gir raskere misfarging. Tidligere studier har vist at høyt innhold av primære og sekundære oksidasjonsprodukter i oljen fører til en misfarging og mørk farge på oljen (Tambunan et al. 2013). Dette er spesielt tilfellet i råoljer hvor proteinrester forekommer. Misfarging av lipidene i en olje med proteinrester skjer ved at 1) dannelsen av lipidperoksider, 2) dannelsen av komponenter som enten er fargeløse eller svakt fargede ved at peroksider reagerer med proteiner og 3) dannelsen av fargeløse eller svakt fargede komponenter som er forløpere til brune pigmenter (Azhar and Nisa 2006). Det har blitt vist at oksidasjonsprodukter fra lipider i nærvær av trimetylamin kan gi opphav til rødfargede komponenter (Tsuchiya 1961). Samtidig er det sett at oksidasjonsprodukter (alkanaler, alkenaler og dialdehyder) kan reagere med aminosyrene lysin og arginin i proteiner, nukleinsyrer og fosfolipider og resultere i dannelsen av fargede produkter som gir en brunfarge i oljen (Zamora and Hidalgo 2005).



Figur 1: Oljer produsert ved varmebehandling fra ukonservert og konservert makrellrestråstoff. Øverst fra venstre: 1) Oljer produsert fra ukonservert restråstoff før lagring, fra ukonservert restråstoff lagret ved 4 °C i 48 timer og fra konservert råstoff lagret ved 4 °C i 48 timer, 2) Oljer produsert fra ukonservert restråstoff før lagring, fra ukonservert restråstoff lagret ved 12 °C i 48 timer og fra konservert råstoff lagret ved 12 °C i 48 timer, 3) Oljer produsert fra ukonservert restråstoff før lagring, fra ukonservert restråstoff lagret ved 12 °C i 48 timer og fra konservert råstoff lagret ved 12 °C i 48 timer og 4) Oljer produsert fra ukonservert restråstoff før lagring, fra ukonservert restråstoff lagret ved 12 °C i 120 timer og fra konservert råstoff lagret ved 12 °C i 120 timer.

Hydrolysegrad og molekylvektsfordeling

Hydrolysegraden økte fra $17,7 \pm 0,1$ % til $27,8 \pm 0,4$ % for limvann produsert fra restråstoff lagret ved 4 °C og fra $17,7 \pm 0,1$ % til $36,6 \pm 0,4$ % for limvann fra restråstoff lagret ved 10 °C. Raskere nedbrytning av proteinkjeder (høyere aktivitet på endogene proteaser) ved 10 °C enn 4 °C gjenspeiles i raskere økning i hydrolysegrad ved 10 °C.

Molekylvektsfordelingen ble analysert for limvannet produsert fra ukonservert og konservert restråstoff lagret i 120 timer ved 12 °C. Resultatene samsvarer med resultatene fra lagringsforsøket (hydrolysegrad) om at det skjer en raskere nedbrytning i ukonservert restråstoff. Konservering med eddiksyre og sulfitt bidrar til å hemme nedbrytning av proteinene under lagring.

5.2.3 Sild

To forsøk med norsk vårgytende (NVG) sild og ett forsøk med nordsjøsild som råstoff er gjennomført for å se på effekt av konserveringsmidler og hvordan bruk av konserveringsmidler påvirker produksjonsprosessen og kvaliteten på ferdige produkt. Eddiksyre og natriumsulfitt ble benyttet som konserveringsmidler. Nærmere beskrivelse av forsøksoppsett, resultater og diskusjon er gitt i rapporten *Kjemisk konservering av restråstoff fra laks og pelagisk*. Et sammendrag av forsøkene er gitt under.

Total flyktig nitrogen (TVN) og biogene aminer

Analyse av TVN og de biogene aminene putrecin, cadavarin og histamin i lagret samfengt restråstoff fra nordsjøsild (72 timer ved 5, 10 og 14 °C) viser at tilsetning av eddiksyre (0,2 %) og natriumsulfitt (0,1 %) bidrar til å hindre bederving i råstoffet. Effekten er klart bedre i oppmalt råstoff enn i helt råstoff på grunn av bedre innblanding. Etter 72 timer lagring holdt restråstoffet kravene til TVN og histamin (> 200 mg/kg) ved alle lagringstemperaturene, mens oppmalt ukonservert råstoff overstiger kravene ved alle temperaturene.

Frie fettsyrer

Konservering med eddiksyre (0,2 %) og natriumsulfitt (0,1 %) hadde en konserverende effekt på dannelsen av FFA. Imidlertid var effekten klart bedre i råstoff som hadde blitt oppmalt før innblanding av konserveringsmidler. Dette gjaldt både forsøkene med samfengt avskjær fra NVG-sild og samfengt avskjær fra nordsjøsild.

Oksidasjonsstatus

Bruk av eddiksyre (0,2 %) til konservering av NVG-sild førte til økt oksidasjonsstatus på oljen produsert fra lagret konservert restråstoff. Konservering med sulfitt alene ga en lavere oksidasjonsstatus, mens en blanding av eddiksyre og sulfitt førte til økt oksidasjon.

Hydrolysegrad

Hydrolysegraden ble målt på limvann produsert fra lagret ukonservert og konservert restråstoff fra NVG-sild ved 4 og 12 °C i 96 og 144 timer.

Økt lagringstid fører til økt hydrolysegrad, noe som var tilfellet for alle kombinasjonene både ved 4 og 12 °C. Hydrolysegraden var også høyere for kombinasjonene lagret ved 12 °C sammenlignet med 4 °C. Av kombinasjonene sulfitt, eddiksyre og blanding av begge var det bruk av sulfitt som resulterte i lavest hydrolysegrad. En teori kan være at sulfitt påvirker aktiviteten til de endogene enzymene da natriumsulfitt bryter sulfid-bindinger i proteiner. Tilsetning av konserveringsmiddel til intakt eller kvernet råstoff hadde ingen påvirkning på hydrolysegraden.

5.3 Kjøleteknologi

Impingement fryserer er beltefryserer hvor kjøleluften har svært lav temperatur, og svært høy lufthastighet over produktet som skal fryses. Dette gir en meget kort oppholdstid for produktet. For makrellrestråstoff er ikke hensikten å fryse produktet, men å superkjøle dette. Superkjøling innebærer at kun 10-20 % av vannet fryses ut, noe som gir en meget rask temperaturreduksjon i hele produktmassen. Samtidig vil denne mengden is fungere som en buffer mot temperaturøkning under transport.

Industrielt vil restråstoffet etter filetering gå videre på bånd gjennom impingement fryseren for så å lagres i kar (evt kvernes og lagres på tank) og transporteres til videre prosessering.

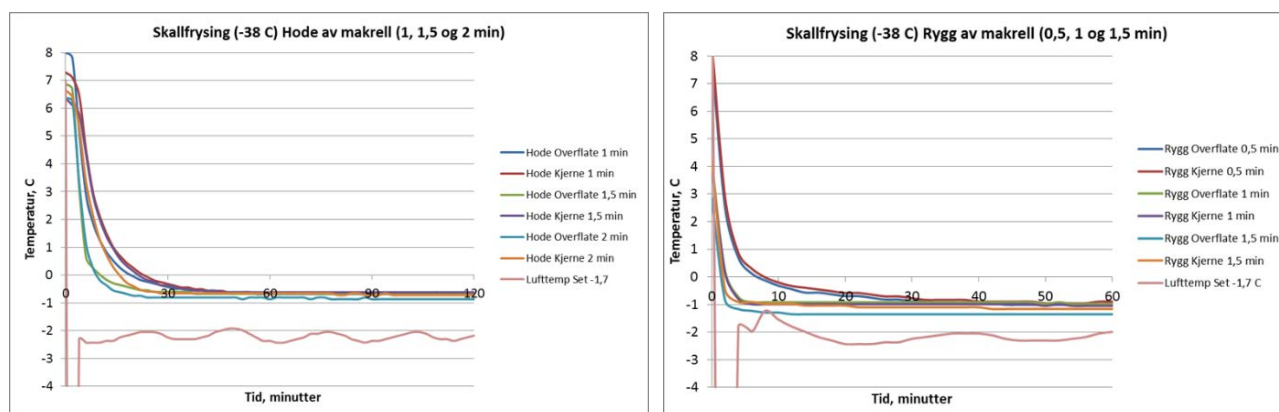
5.3.1 Hurtig nedkjøling av restråstoff fra makrell

Hode og innmat fra makrell ble superkjølt med bruk av impingement fryseren ved SINTEF Energi juli 2015. Lufttemperatur var satt til $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$. Etter skall-frysing ble produktene satt i klimaskap ved hhv. $-1,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, noe som erfaringsvis tilsvarer omkring 5-20 % is i produktet.

Produkttemperaturen lå før start på rundt $7\text{ }^{\circ}\text{C}$, og tid i impingement fryseren ble variert mellom 1-2 min.

Hurtig nedkjøling av hode og rygg fra makrell

Temperatur i hode og rygg ble målt under og etter impingement fryseren.



Figur 2: Temperaturforløp i makrell hoder (t.v.) og rygg (t.h.) ved superkjøling

Ved skallfrysing av hoder i 2 min oppnås en utjevningstemperatur på initielt frysepunkt ($-0,8\text{ }^{\circ}\text{C}$) etter 20 min. Man ser at temperatursenkningen er rask, men man oppnår ikke temperaturer under initielt frysepunkt. Det indikerer at man har omkring 0-5 % is i produktet etter utjevning. Det ville derfor vært en fordel å øke oppholdstiden i impingement fryseren noe, kanskje 30 sek.

For ryggene ser man at temperaturen i produktet etter utjevning er under initielt frysepunkt, spesielt etter 1,5 min i impingement fryseren. Det virker som dette kan være en fornuftig oppholdstid, og man har erfaringsvis 10-20 % is etter utjevning.

5.3.2 Forsøk med restråstoff fra frosset og tint makrell

Det ble gjennomført oksidasjon- og temperaturmålinger på tre 1000-liters kar med ulike varianter av konservering. Karene var fylt med 250-300 kg restråstoff.

- 1) Restråstoff med eddiksyre, sulfitt og kjøling
- 2) Restråstoff med kjøling
- 3) Restråstoff uten kjøling

Kar 1): Restråstoff med eddiksyre, sulfitt og kjøling:

Industrielt sett vil det være et alternativ å tilføre is til produktet for å kjøle dette ned under fylling på tank eller brønnbåt. Å gjennomføre forsøk hvor produktet kommer fra frosset vare, gir derfor en utfordring ved at produktet ikke har høy nok temperatur ved starten av forsøket.

Is som kjøling av restråstoff

De termiske egenskapene til restråstoff fra makrell er ikke kjent. Det er antatt at disse ikke er så ulike fra sild, og med dette som bakgrunn ble det beregnet at det vil være nødvendig å tilføre 10,1 kg is pr tonn pr grad kjøling. Ved å kjøle 10 tonn fra 12 til 0 °C, kreves derfor 1,212 tonn is. Denne isen vil smelte, og man får tilsvarende mer væske blandet med restråstoffet før videre prosessering.

En av råstoffleverandørene prosesserer fra frossen vare, der makrellen tines i vann med omrøring til en temperatur på -2 til -3 °C før filetering. Ved denne temperaturen er det fortsatt noe is igjen i produktet, og tilsats av is for kjøling er derfor ikke nødvendig.

For å få en tilsvarende blanding (vann-restråstoff) i forsøket som det ville blitt under et industrielt forsøk der tilsatt is hadde smeltet, ble 27 liter kaldt vann tilsatt (til 272 kg restråstoff i karet) sammen med konserveringsmidlene. Dette var samtidig nødvendig for å få fordelt konserveringsmidlene i hele karet, noe som ville vært vanskelig uten tilsatt vann.

Etter tilsats av vann og konserveringsmidler ble alt innhold i karet tømt over i et nytt tomt kar 3 ganger for å sikre god blanding. I forhold til de andre karene fikk produktet med konservering raskt en noe gråere farge. Karet ble satt på kjølerom i 2 døgn, dekket med plastfolie.

Kar 2): Restråstoff med kjøling

Som nevnt var produktmengden i karene 250-300 kg. Det ble i dette karet ikke tilsatt noe kjemisk konserveringsmiddel, kun kjøling ved at karet ble satt på kjølerom i 2 døgn og dekket med plastfolie.

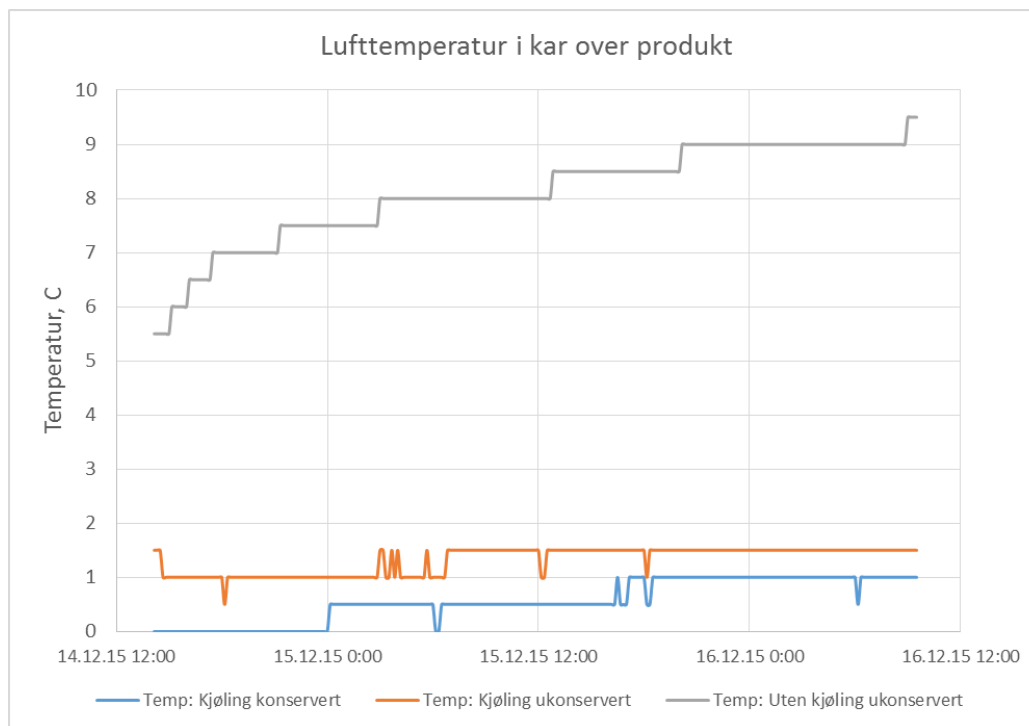
Kar 3): Restråstoff uten kjøling

Det ble heller ikke her tilsatt kjemisk konserveringsmiddel. I og med at produktet hadde noe intern is, ble det antatt at det kunne bli utfordringer med rask nok temperering av restråstoffet. Mengde produkt i karet ble derfor redusert til omkring 60-90 kg, noe som tilsvarte en mengde på ca. 15 cm i karet, nok til å måle temperatur inne i produktet.

Dette karet ble dekket med plastfolie og satt på det varmeste området som var praktisk mulig å få til, i en gang med temperatur på rundt 10 °C.

Temperaturregistrering

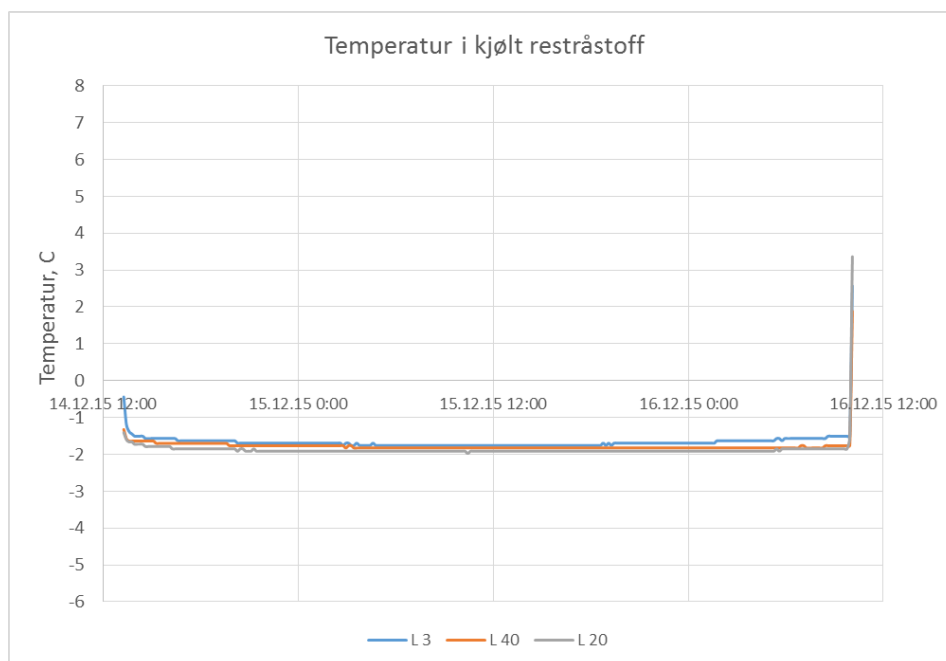
Lufttemperatur rundt karene ble målt ved å legge temperaturloggere over plastfolien på karene, og Figur 2 viser temperaturen rundt de tre karene under lagringsforsøket.



Figur 3: Temperatur rundt de tre karene med ulik konservering under lagringsforsøk

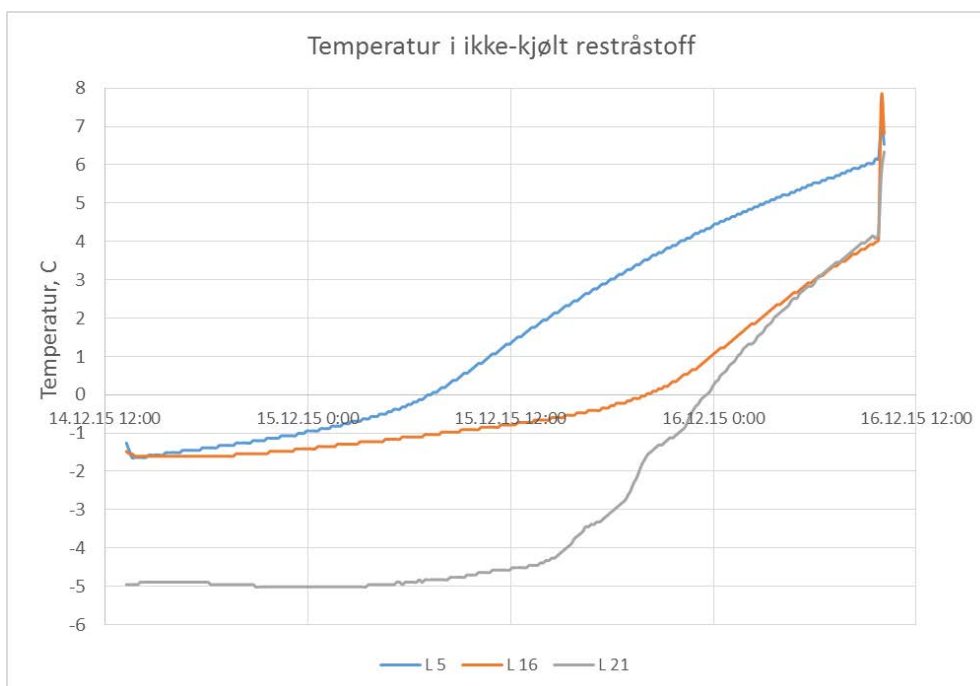
Man ser fra Figur 2 at temperaturen i kjølelager lå rundt 0,5-1,5 °C, noe som er en god kjøleteperatur. For karet som ble plassert i gangen med temperatur rundt 10 C, ser man imidlertid at det tar tid før den registrerte temperaturen stiger. Dette skyldes sannsynligvis at temperaturføleren lå oppå plastfolien over karet som hang et stykke ned i karet. Ettersom karet var fylt med kaldt produkt, ble det åpne i karet en kulde-grop. Etter hvert som produkttemperaturen økte, gikk samtidig lufttemperaturen i karet opp.

I tillegg til lufttemperaturen ble 3 loggere plassert midt inne i produktet i hver av karene ved hhv. med og uten kjøling for å logge produkttemperaturen gjennom lagringsforsøket. Dette er vist i Figur 3 og Figur 4.



Figur 4: Temperatur i restråstoff i kar satt på kjøling ved 1 °C

Produkttemperaturen i karet med kjemisk konservering og kjøling viser at denne under hele lagringsforsøket lå rundt -1,8 °C, selv om lufttemperaturen lå rundt +1 °C. -1,8 °C er sannsynligvis initielt frysepunkt for produktet, og så lenge det fortsatt er noe is igjen i produktet, vil ikke temperaturen gå over denne. Dette betyr at det etter 2 døgn fortsatt er noe is igjen inne i produktet.



Figur 5: Temperatur i restråstoff i kar satt uten kjøling ved 10 °C

Fra Figur 4 ser man en større spredning i produkttemperaturen i produktet under lagring. Det var i karene soner med ansamlinger av de ulike restråstoffproduktene som hode, rygg og innmat. Selv om produktet ble forsøkt blandet, kan det tyde på at det var ulik temperatur i de ulike delene av restråstoffet. Dette medfører også ulik is-mengde i fraksjonene. Ulike is-mengder fører til at det tar varierende tid å få opp temperaturen i produktet.

Selv om produktmengden i karet ble redusert, tok det for lang tid å få opp temperaturen i forhold til det som var ønskelig. Det var ønskelig å få dårligere lagringsforhold enn det som ble oppnådd, helst 12 °C i 2 døgn. Dette gir utslag på at oksidasjonsmålingene ikke blir vesentlig endret.

5.4 CASE: Optimal kjølekjede og behandling av restråstoff fra laks

Fabrikken til Biomega AS er godkjent for produksjon av næringsmidler, men det er fortsatt forbedringspotensialer for produktene. Bevaring av kvaliteten på restråstoffet under transport og lagring ved brukt av kjøling og kjemisk konservering kan bidra til økt kvalitet og kontinuitet i produktkvaliteten. Biomega AS mottar i dag innmat fra laks via tankbil som samler opp råstoffet fra ulike leverandører. Avskjær fra filetproduksjon (hoder og rygger) blir samlet opp i egne kar og transportert til anlegget med bil. Innledende forsøk med kjøling av restråstoff er utført hos Biomega i forprosjektet (FHF prosjekt # 900949) hvor ulike løsninger for kjøling ble vurdert.

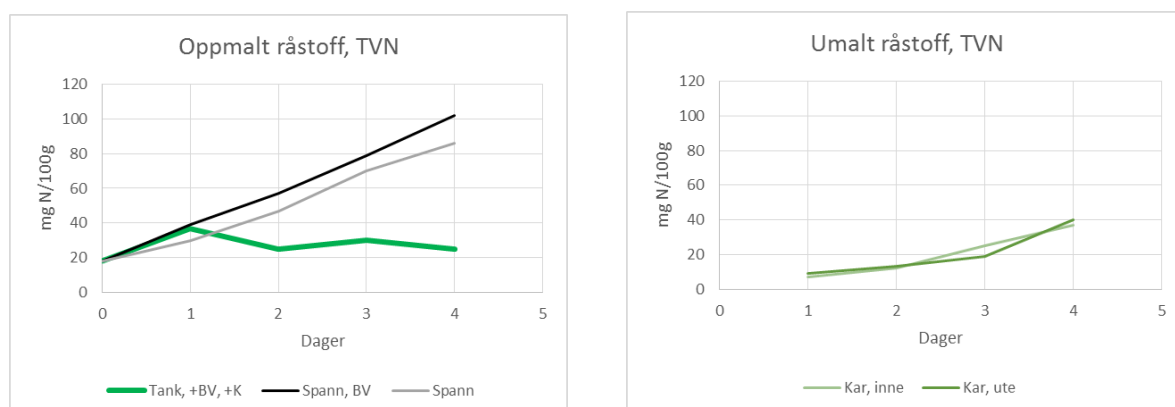
To pilot/industrielle forsøk ble gjennomført hos Biomega AS hvor målet var å se på konservering av restråstoff med eddiksyre og sulfitt, samt effekt av lagringstemperatur. Forsøket gjennomført i juni ble utført på hode og rygger (Case I laks), mens innmat ble brukt som råstoff under forsøket i oktober (Case II laks). Nærmere beskrivelse av forsøket, samt resultater og diskusjon er beskrevet i *Rapport AP3 og AP4 Case Optimal kuldekjede og behandling av restråstoff fra laks* (Indergård et al. 2017). Et sammendrag av forsøkene og de viktigste resultatene er gitt under.

5.4.1 Case I: Konservering av hoder og rygger fra laks

Hode, rygg og annet avskjær samt 10 % helfisk ble benyttet som råstoff til konserveringsforsøket. Fisken ble slaktet dagen før forsøket og råstoffet ble transportert i spesiallagde 400 L kar med bil til Biomega. Hos Biomega ble råstoffet kvernet, tilsatt blodvann (2,6 %) og konserveringsmidler til en sluttkonsentrasjon på ca 0,23 % eddiksyre og 0,13 % natriumsulfitt. Det konserverte råstoffet ble lagret på tank i 4 dager hvorav prøver for analyser ble tatt ut daglig. Samtidig ble det lagret ukonservert intakt råstoff i kar ute og inne, samt kvernet råstoff med og uten blodvann. Sistnevnte for å kunne studere hvilken innvirkning blodvann har på holdbarheten til råstoffet.

Prøver av konservert og ukonservert restråstoff fra laks ble tatt ut etter 0, 1, 2, 3 og 4 døgns lagring og analysert for TVN, TMA og biogene aminer. Olje ble utsentrifugert fra oppvarmet konservert eller ukonservert råstoff og analysert for andel frie fettsyrer (% FFA), peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV).

Analysene viser at TVN i grovmalt ukonservert råstoff stiger jevnt under lagring ved 10 °C fra et startnivå på 18 mg N/100 g. TVN-nivåene er noe høyere i råstoffet med blodvann. Tilsats av eddik og sulfitt ga svært god konserveringseffekt. Etter en liten TVN økning første døgn holdt nivået seg stabilt gjennom resten av lagringstiden. (Figur 6a).



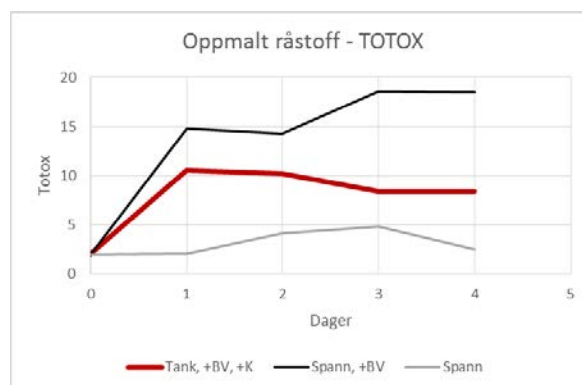
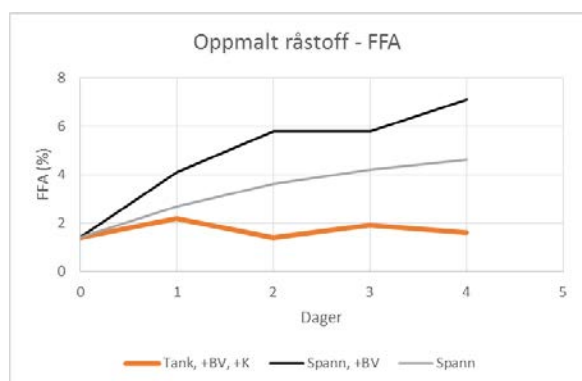
Figur 6 a og b: Utvikling av TVN under lagring av restråstoff fra laks (BV = blodvann, K = konservert med eddik/sulfitt)

Helt (umalt) ukonservert råstoff lagret i kar inne (9-13 °C) og ute (8-15 °C) hadde lavere utgangs-temperatur og lavere initial TVN enn oppmalt råstoff og TVN utvikling under lagring var her noe langsommere (Figur 6b).

Utviklingen av biogene aminer (putrecin, cadaverin, histamin) ved de ulike behandlingene viste samme mønster som TVN. Konservering med eddiksyrer og sulfitt hadde en god effekt og førte til en langsommere dannelse av biogene aminer. Oppmalt konservert råstoff lagret i 4 dager hadde verdier av putrecin og histamin < 50 mg/kg, mens cadaverin var < 175 mg/kg.

Grenseverdien for TVN i laks til marine ingredienser er 35 mg N/100g. For biogene aminer finnes bare krav til histamin i visse fiskeslag (ikke laks) som skal være under 200 mg/kg. Putrecin og cadaverin er mindre toksisk enn histamin, men lukter svært dårlig og kan gjøre fisken uegnet til mat eller fôr.

Konservering med eddiksyrer og sulfitt har også en positiv effekt på dannelsen av frie fettsyrer (FFA) (Figur 7a). Tilsetning av blodvann hadde en negativ effekt og førte til raskere dannelse av FFA. Konserveringseffekt på FFA-dannelsen var mer effektiv i dette forsøket sammenlignet med tidligere forsøk med nordsjøsild og makrell. Årsaken kan være at avskjæret fra laks inneholder lite fordøyelseslipaser både på grunn av fôringsstopp før slaktning og lite innmat (fra helfisken) som medfører at bakterielle lipaser spiller en relativt sett større rolle. Siden konserveringsmidlene hindrer bakterievekst så hindres også FFA utviklingen.



Figur 7a og b: Utvikling av FFA og TOTOX (total oksidasjon, 2PV + AV) under lagring av restråstoff fra laks (BV = blodvann, K = konserverert med eddiksyre og sulfitt)

Blodvann hadde en negativ effekt på oksidasjonen og førte til økt oksidasjonshastighet. Årsaken til dette er at hemoglobin er en veldig effektiv pro-oksidant (Carvajal et al. 2009). Konservering med eddiksyre og natriumsulfitt hemmet oksidasjonen og reduserte den negative effekten av blodvann. Imidlertid var oksidasjonsforløpet lavest i råstoff lagret uten blodvann.

Kvalitet på ferdigvare

Oljekvaliteten ble evaluert ved måling av andel frie fettsyrer (% FFA), peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV), mens limvannet ble evaluert ved måling av hydrolysegrad (% frie aminogrupeer). Resultater for olje og limvann fra konserverert og ukonserverert råstoff er gitt i Tabell 3 og 4.

Tabell 3: Andel frie fettsyrer (%FFA), peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV) i oljer produsert fra konserverert og ukonserverert restråstoff fra laks

	Dato	% FFA	PV (meq peroksid/kg)	AV	TOTOX
Olje fra konserverert råstoff	25.juni	1,80 ± 0,01	6,6 ± 1,2	2,0 ± 0,1	15,2
Olje fra ukonserverert råstoff	22.august	1,05 ± 0,02	8,8 ± 0,3	2,5 ± 0,1	20,1

Oljen produsert fra konserverert restråstoff hadde lavere oksidasjonsstatus sammenlignet med olje fra ukonserverert råstoff, mens andel frie fettsyrer var lavere i oljen fra ukonserverert råstoff. Da de to oljene ikke er produsert fra restråstoff fra samme batch (juni vs august) er det vanskelig å si om høyere %FFA skyldes høyere andel % FFA i det opprinnelige råstoffet (før lagring) eller er forårsaket av konserveringsmiddelet. I laboratorieforsøkene ble det ikke sett noen negativ effekt av konserveringsmidlene på FFA, så dette kan tyde på at råstoffet hadde høyere startverdier av FFA i batchen som ble brukt i august.

Tabell 4: Hydrolysegraden til limvann produsert fra konserverert og ukonserverert restråstoff fra laks

	Hydrolysegrad (% frie aminogrupeer)
Limvann fra konserverert råstoff	32,9 ± 0,2
Limvann fra ukonserverert råstoff	20,7 ± 0,4

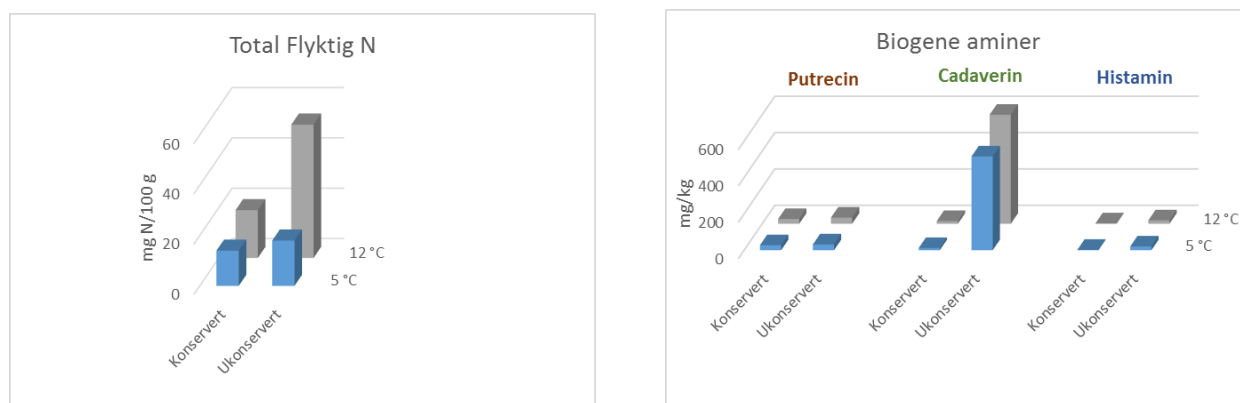
Hydrolysegraden på limvann fra konserverert råstoff var høyere sammenlignet med limvann fra ukonserverert råstoff. Dette kan være på grunn av ulik lagringstid før prosessering eller forårsaket av tilsetning av eddiksyre, reduksjon i pH og dermed høyere enzymaktivitet.

5.4.2 Case II: Konservering av innmat fra laks

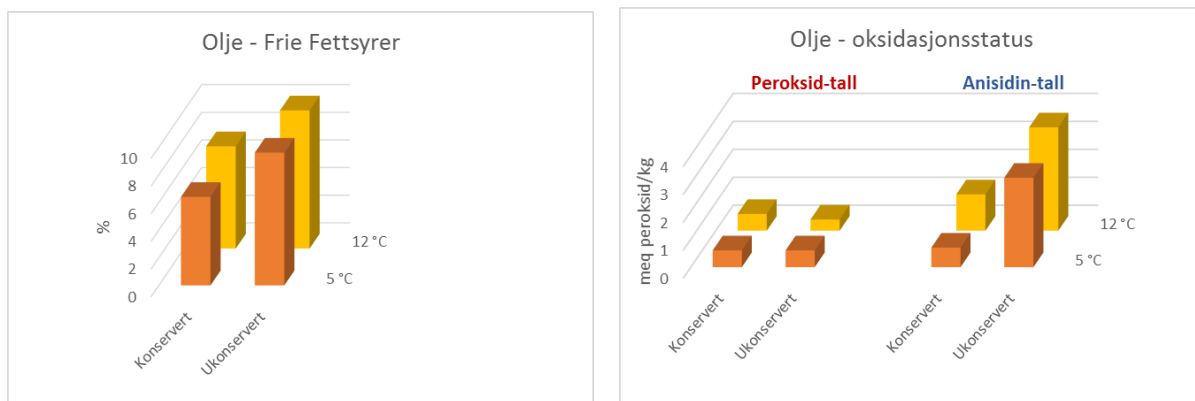
Forsøket ble gjennomført som før ved å følge restråstoffet fra Bremnes, via tankbil til BioMega-anlegget på Sotra. På Bremnes ble produktet tilsatt konserveringsmiddel før dette ble pumpet over på tankbil. Prøver ble tatt ut før og etter transport for kjemiske analyser. Det var i utgangspunktet tenkt å følge kvaliteten på produktet også etter transport, helt frem til ferdig hydrolysert produkt. På grunn av utfordringer med strømleveransen til BioMega i dagene før forsøket, var alle lagertanker fulle. Dette førte til at produktet ble stående på tankbil over natt, samtidig som det ble nødvendig å blande dette restråstoffet med produkt allerede på lagertanker. Dette gjorde at det ikke var mulig å få analyser av ferdigvarene. Forsøket ble gjennomført 6. – 8. oktober 2016.

Sluttkonsentrasjon av konserveringsmidler i råstoffet var 0,32 % eddiksyre og 0,15 % natriumsulfitt. På grunn av utfordringer med forsøkskjøringen hos Biomega ble det tatt ut prøver av konserverte og ukonserverte råstoff og lagret videre ved laboratoriet til Nofima. Prøvene ble lagret ved 5 og 12 °C.

Råstoffet ble analysert etter total 4 dagers lagring og olje ble ekstrahert ut ved bruk av varmebehandling etterfulgt av sentrifugering. TVN og biogene aminer ble målt i råstoffet, mens FFA, peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV) ble analysert på oljen ekstrahert fra lagret innmat. Resultatene er vist i Figur 8a og b og Figur 9a og b.



Figur 8 a og b: Ferskhet målt som TVN og biogene aminer i innmat fra laks lagret i totalt 4 døgn hvorav de to siste ved hhv 5 og 12 °C. Det konserverte råstoffet var tilsatt 0,32% eddiksyre og 0,15% Na-matabisulfitt.



Figur 9 a og b: Kvalitet målt som frie FFA og PV/AV i produsert fra innmat laks lagret i totalt 4 døgn hvorav de to siste ved hhv 5 og 12 °C. Det konserverte råstoffet var tilsatt 0,32% eddiksyre og 0,15% Na-matabisulfitt.

Resultatene viste akseptable TVN verdier på ukonservert og konservert innmat lagret ved 5 °C. Ukonservert råstoff lagret ved 12 °C hadde spesielt høye TVN-verdier. Lave verdier av putrecin, histamin og cadaverin i både konservert og ukonservert innmat lagret ved 5 °C. Imidlertid var verdiene av cadaverin høye i ukonservert råstoff lagret ved 12 °C.

Konservering med eddiksyre og sulfitt reduserte både utviklingen av FFA i oljen og oksidasjonshastigheten. Samtidig bidro det til å hemme fargeutvikling i oljen.

Når det kommer til den praktiske gjennomføring av forsøket ble det konkludert med at gjennomføringen var enkel og krevde lite merarbeid sammenlignet med normalproduksjon. Imidlertid har gjennomføringen et forbedringspotensial spesielt med tanke på stabiliteten på sulfittløsninger. Sistnevnte kan bidra til å forenkle forarbeidet og dermed gjøre det enklere for industrien.

5.5 Case pelagisk

Et pilot/industrielt forsøk på pelagisk var planlagt i løpet av høsten 2016. Basert på tidligere erfaringer og forsøkene gjennomført på kjemisk konservering er god kjøling avgjørende for å bevare kvaliteten på restråstoff fra pelagisk, spesielt restråstoff fra makrell.

På styringsgruppemøte i august ble det bestemt at testing av kjøleren utviklet av utstyrsleverandøren Hedinn (Island) skulle benyttes som case-studie innen pelagisk. Resterende midler skulle benyttes til ytterligere laboratorieforsøk på kjemisk konservering av makrell.

Planen var å benytte denne kjøleren til å kjøle restråstoff fra sild fra 10 °C til 0 °C. Dessverre fungerte ikke kjøleren når forsøkene skulle gjennomføres og det ble ikke mulig å få til et Case-forsøk på pelagisk.

5.6 Videreføring av resultater fra prosjektet

Prosjektet har bidratt til økt kunnskap innen råstoffhåndtering gjennom å studere hvordan lagringsbetingelser og fysisk behandling av råstoff påvirker kvaliteten på ingrediensene som produseres fra restråstoff. Gjennom ulike konserveringsforsøk har det kommet fram kunnskap om hvordan kvaliteten kan bevares og hvordan bruk av konserveringsmidler påvirker sluttproduktene. Resultater fra laboratorieforsøk har blitt benyttet til å gjennomføre pilot og industrielle forsøk under realistiske betingelser. Industrien har vært aktivt med under gjennomføring av prosjektet og har også kjørt egne forsøk hvor dem har testet bruk av eddiksyre og natriumsulfitt som konserveringsmidler.

Biomega planlegger ytterligere forsøk med eddiksyre og natriumsulfitt hvor målet er å få studert egenskapene til sluttproduktene da dette ikke var mulig under forsøket i høst. Vedde ønsker å gjennomføre en case-studie på konservering av NVG-sild fra råstoffprodusent til ferdigprodukt og vil benytte resultater og forsøksbetingelser fra prosjektet.

5.7 Resultatenes nytteverdi

Hensikten med gjennomføringen av prosjektet er å øke kunnskapen om hva som skjer med restråstoff under lagring og transport slik at det er mulig å finne løsninger på hvordan kvaliteten skal bevares og økes. Økt kvalitet på restråstoffet vil bidra til økt verdiskapning for norsk marin ingrediensindustri og råstoffleverandører. Resultatene som er oppnådd i prosjektet gir kunnskap om

- hvor høy kvalitet det er mulig å oppnå på ingredienser produsert fra helt ferskt restråstoff
- hvordan kvaliteten på restråstoff fra laks (innmat), makrell og sild påvirkes av lagringstemperatur, lagringstid og mekanisk påvirkning
- hvordan lagring av restråstoffet påvirker kvaliteten og egenskapene til olje og limvann produsert fra lagret restråstoff
- hvordan konserveringsmidler påvirker bakterievekst, dannelsen av biogene aminer og frie fettsyrer, samt oksidasjonsstatus
- hvor effektiv ulike konserveringsmidler er ved ulike lagringsbetingelser
- erfaring fra gjennomføring av konserveringsforsøk i pilot og industriell skala.

6 Leveranser

Følgende leveranser er levert av prosjektet:

- Presentasjon av prosjektet på bransjemøte 2014 (Fagdag restråstoff 2014 i regi av FHF)
- Referat styringsgruppemøte 1 – 2015
- Referat styringsgruppemøte 2 – 2015
- Referat styringsgruppemøte 3 – 2015
- Referat styringsgruppemøte 1 – 2016
- Referat styringsgruppemøte 2 – 2016
- Referat styringsgruppemøte 3 – 2016
- Samlet prosjektrapport for arbeidspakke 1 Referanseverdier og arbeidspakke 2 Kjemisk konservering
- Samlet prosjektrapport for arbeidspakke 3 Kjøleteknologi og Case laks
- Prosjektrapport Case pelagisk
- Faglig sluttrapport i tråd med FHF's retningslinjer
- Faktaark
- Administrativ sluttrapport i tråd med FHF's retningslinjer

7 Referanser

- AOCS (1994). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, IL, AOCS.
- Azhar, K. F. and K. Nisa (2006). "Lipids and their oxidation in seafood." Journal of the Chemical Society of Pakistan **28**(3): 298-305.
- Bernardéz, M., L. Pastoriza, G. Sampedro, J. J. R. Herrera and M. L. Cabo (2005). "Modified Method for the Analysis of Free Fatty Acids in Fish." Journal of Agricultural and Food Chemistry **53**: 1903-1906.
- Carvajal, A. and H. Nygaard. Kjemisk konservering av restråstoff fra laks og pelagisk fisk. SINTEF Ocean, 2017, OC2017 A-017
- Carvajal, A., R. Slizyte, I. Storrø and M. Aursand (2015). "Production of high quality fish oil by thermal treatment and enzymatic protein hydrolysis from fresh norwegian spring spawning herring by-products." Journal of Aquatic Food Product Technology **24**(8): 807-823.
- Carvajal, A. K., R. Mozuraityte, I. B. Standal, I. Storrø and M. Aursand (2014). "Antioxidants in fish oil production for improved quality." JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society **91**(9): 1611-1621.
- Carvajal, A. K., T. Rustad, R. Mozuraityte and I. Storrø (2009). "Kinetic Studies of Lipid Oxidation Induced by Hemoglobin Measured by Consumption of Dissolved Oxygen in a Liposome Model System." Journal of Agricultural and Food Chemistry **57**(17): 7826-7833.
- Indergård, E., T. Nordtvedt, A. K. Carvajal and H. Nygaard. Optimal kjølekjede og behandling for restråstoff fra laks. SINTEF Ocean, 2017, OC2017 F-018
- Indergård, E., T. Nordtvedt, A. K. Carvajal and H. Nygaard. Optimal kjølekjede og behandling for restråstoff fra makrell. SINTEF Ocean, 2017, OC2017 F-019
- Mozuraityte, R., T. Rustad and I. Storrø (2006). "Pro-oxidant activity of Fe²⁺ in oxidation of cod phospholipids in liposomes." European Journal of Lipid Science and Technology **108**(3): 218-226.
- Richardsen, R., R. Nystøyl and G. Strandheim. Analyse marint restråstoff, 2015. SINTEF 2016, A27704
- Tambunan, J. E., S. H. Suseno and B. Ibrahim (2013). "Improved quality of sardines oil (*Sardinella* sp.) using centrifugation." Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences **2**(4): 196-202.
- Taylor, W. H. (1957). "Formol titration: An evaluation of its various modifications." The Analyst **82**.
- Tsuchiya, T. (1961). CHAPTER 7 - Biochemistry of Fish Oils A2 - BORGSTROM, GEORG. Fish As Food, Academic Press: 211-258.
- Wang-Andersen, J. and B. O. Haugsgjerd. Forbedret analysemetodikk for peptidstørrelsesfordeling i marine proteinhydrolysater. Nofima, 2011, 43/2011
- Zamora, R. and F. J. Hidalgo (2005). "Coordinate contribution of lipid oxidation and Maillard reaction to the nonenzymatic food browning." Critical Reviews in Food Science and Nutrition **45**(1): 49-59.



Teknologi for et bedre samfunn

www.sintef.no