

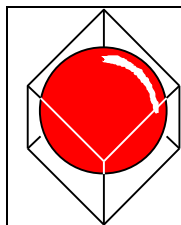


Rapport nr. Å0311

Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk

**Bruk av transglutaminaser til å løse spaltingsproblemer for
saltfisk/klippfisk og makrellfilet hos Nils Sperre as**

Ann Helen Hellevik og Iren Stoknes (Møreforskning Ålesund)
Hilde Almås (SINTEF Fiskeri og havbruk AS)
Ålesund, juni 2003



MØREFORSKING Ålesund

Møreforsking Ålesund
Postboks 5075
6021 ÅLESUND
Telefon: 70 16 13 50
Telefaks: 70 13 89 78

NO 971 371 153

RAPPORT

Tittel:	ISSN 0804-5380
Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i sakltfisk/klippfisk Bruk av trasglutaminaser til å løse spaltingsproblemer for saltfisk/klippfisk og makrellfilet hos Nils Sperre as	Rapport nr.: Å0311
	Prosjekt nr.: 54230
Oppdragsgiver (navn og adr.): Nils Sperre as 6057 Ellingsøy	Dato: 26. juni 2003
	Antall sider: 51 (+ vedlegg)
	Referanse oppdragsgiver: Harald Sperre
Tlf./Fax.: 70 11 54 00 / 70 11 54 01	
Forfattere: Ann Helen Hellevik, Iren Stoknes (Møreforsking) Hilde Almås (SINTEF Fiskeri og havbruk as)	Signatur:
Rapport godkjent av: Iren Stoknes	Signatur:

Sammendrag:

Prosjektets hovedmål var å innføre en ny prosess for salting av fisk med injeksjon av proteinhydrolysater. Det var et underliggende mål å finne optimale prosessforhold for injisering i fisk slik at kvaliteten på saltfisk, klippfisk og utvannet klippfisk beholdes samt at det oppnås en utbyttegevinst.

Gjennom prosjektarbeidet har en utviklet en metode for produksjon av proteinhydrolysat av avskjær/biprodukter fra flekkelinje (utført ved Novozymes AS). En har også utviklet og optimalisert en prosess for injisering av lake med proteinhydrolysater fra biprodukter, og påfølgende produksjon av saltfisk og klippfisk. Når det gjelder målinger, analyser og vurderinger kan følgende oppsummeres:

Farge: Saltfisk og klippfisk injisert med proteinhydrolysat fikk en gulere og mørkere farge enn "normal" produksjon.

Utbytte: Injisering med proteinhydrolysat ga maks 4 % bedre utbytte for saltmoden fisk og maks 6 % bedre utbytte for klippfisk – i forhold til ordinær produksjon. Det var imidlertid vanskeligere (tok lengre tid) å få tørket injisert fisk fram til klippfisk. Resultatene bør verifiseres med forsøk i større skala.

Utvannet fisk: Det ble oppnådd maks 5 % høyere vektøkning for fisk injisert med proteinhydrolysat i forhold til ordinær produksjon. Det var også høyere vannbindingsevne og mindre koketap for fisk injisert med proteinhydrolysat.

Det er gjennomført forsøk med "liming" av spalter i saltfisk/klippfisk ved bruk av transglutaminase – enzymer. Resultatene viser at på grunn av grov og seig struktur i kjøttet, er dette vanskelig å få til. For makrellfilet, derimot, viste metoden seg å fungere godt.

Emneord: Proteinhydrolysat, saltfisk, klippfisk, transglutaminase.

Distribusjon/Tilgang: Åpen

FORORD

Prosjektet ”Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk” er et bedriftsstyrt FoU-prosjekt som kom i gang våren 2001. Prosjektet har hatt delfinansiering fra Norges forskningsråd og SND. De involverte bedriftene, og særlig Nils Sperre AS, har selv stått for en vesentlig del av finansieringen for å få gjennomført prosjektet.

Prosjektet har vært basert på et samarbeid mellom følgende aktører: Nils Sperre AS, Novozymes AS, SINTEF Fiskeri og Havbruk AS og Møreforskning.

I denne rapporten presenteres resultater fra arbeidet som Møreforskning har vært involvert i når det gjelder forsøk med injisering av proteinhydrolysater. SINTEF Fiskeri og havbruk AS presenterer resultater fra arbeidet med ”liming” ved hjelp av transglutaminaser.

Fra Nils Sperre AS har særlig Harald Sperre, Hilde Sperre, Palmar Sperre, Oddbjørn Sperre og Marie Hellevik vært involvert i prosjektet. Marie Hellevik har vært hovedkontaktperson for det praktiske arbeidet med forsøkene.

Fra Novozymes har bent Pål Pedersen og Per Munk Nielsen vært involvert og bidratt med produksjon av hydrolysater og råd for injisering. Fra Møreforskning har Hege Willemsen, Ann Helen Hellevik, Andreas Wammer, Jannicke Martinussen og Wenche Emblem deltatt i prosjektarbeidet. Willemsen hadde det operative prosjektlederansvaret inntil hun sluttet i Møreforskning i oktober 2002. Da overtok Hellevik prosjektledelsen, og har gjort det meste av arbeidet med systematisering av data og rapportering. Wammer og Emblem har deltatt i praktisk gjennomføring på anlegg og på laboratoriet. Iren Stoknes har hatt det formelle prosjektlederansvaret og har deltatt i planlegging, diskusjon og rapportering.

Fra SINTEF har Hilde Almås og Ulf Erikson deltatt i felles prosjektmøter. Almås har hatt ansvar for gjennomføring og rapportering av arbeid med ”liming” ved hjelp av transglutaminaser.

Det rettes også en takk til Olga Godø AS, ved Ståle Godø, som var velvillig med utlån av Fomaco injiseringsmaskin.

Takk til alle for god innsats i arbeidet.

Ålesund, juni 2003

Iren Skjåstad Stoknes
(prosjektleder Møreforskning)

SAMMENDRAG

Prosjektets hovedmål var å innføre en ny prosess for salting av fisk med injeksjon av proteinhydrolysater. Det var et underliggende mål å finne optimale prosessforhold for injisering i fisk slik at kvaliteten på saltfisk, klippfisk og utvannet klippfisk beholdes samt at det oppnås en utbyttegevinst. Det var også et mål å finne ut hvilke biprodukter som egner seg som råstoff for produksjon av proteinhydrolysater til dette formålet.

Viktige resultater:

Gjennom prosjektarbeidet har en utviklet en metode for produksjon av proteinhydrolysat av avskjær/biprodukter fra flekkelinje (utført ved Novozymes AS). En har også utviklet og optimalisert en prosess for injisering av lake med proteinhydrolysater fra biprodukter, og påfølgende produksjon av saltfisk og klippfisk.

Når det gjelder målinger, analyser og vurderinger kan følgende oppsummeres:

Farge:

Saltfisk og klippfisk injisert med proteinhydrolysat fikk en gulere og mørkere farge enn ”normal” produksjon.

Utbytte:

Injisering med proteinhydrolysat ga maks 4 % bedre utbytte for saltmoden fisk og maks 6 % bedre utbytte for klippfisk – i forhold til ordinær produksjon. Det var imidlertid vanskeligere (tok lengre tid) å få tørket injisert fisk fram til klippfisk. Resultatene bør verifiseres med forsøk i større skala.

Utvannet fisk:

Det ble oppnådd maks 5 % høyere vektøkning for fisk injisert med proteinhydrolysat i forhold til ordinær produksjon. Det var også høyere vannbindingsevne og mindre koketap for fisk injisert med proteinhydrolysat.

KONKLUSJON

Ut i fra det FoU-arbeidet som er gjennomført, kan det konkluderes med at det er teknisk mulig å produsere proteinhydrolysat fra avskjær/biprodukter fra flekkelinje, injisere en lake av proteinhydrolysat i flekket fisk og produsere saltfisk og klippfisk.

Det kan også konkluderes med at injisering av proteinhydrolysat benyttet i disse forsøkene, gir noe mørkere og gulere farge på saltfisk og klippfisk fra frosset/tint torsk enn ved ordinær produksjon. Det kan også konkluderes med at det er mulig å oppnå en utbyttegevinst i størrelsen 4-6 % for saltfisk og klippfisk i forhold til ordinær produksjon. Sistnevnte konklusjon anbefales for øvrig verifisert gjennom forsøk i større skala.

Det er gjennomført forsøk med ”liming” av spalter i saltfisk/klippfisk ved bruk av transglutaminase – enzymer. Resultatene viser at på grunn av grov og seig struktur i kjøttet, er dette vanskelig å få til. For makrellfilet, derimot, viste metoden seg å fungere godt.

INNHOOLD

1. INNLEDNING	9
1.1 Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk	9
1.1.1 Bakgrunn for arbeidet	9
1.1.2 Målsetning	10
1.1.3 Nytteverdi	10
1.2 Bruk av transglutaminase til å løse spaltningsproblematikk hos Nils Sperre AS.....	11
1.2.1 Enzymet transglutaminase	11
1.2.2 Bruk av transglutaminase i produksjon av klippfisk/saltfisk og makrellfilet ...	12
2. MATERIALER OG METODER	15
2.1 Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk	15
2.1.1 Råstoff.....	15
2.1.2 Injiseringsvæske / proteinhydrolysat	15
2.1.3 Produksjonsutstyr.....	15
2.1.4 Gjennomføring av injiseringsforsøkene.....	16
2.1.5 Målinger og analyser.....	17
2.2 Bruk av transglutaminase til å løse spaltningsproblematikk hos Nils Sperre AS.....	20
2.2.1 Fremgangsmåte for feltforsøkene med transglutaminase ved Nils Sperre AS ..	20
3. RESULTATER OG DISKUSJON	23
3.1 Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk	23
3.1.1 Fargemålinger	23
3.1.2 Vanninnhold.....	26
3.1.3 Vektendring / utbytte	28
3.1.4 Utbytte, vannbindingsevne og koketap for utvannet fisk	29
3.1.5 Kvalitetsvurdering.....	31
3.2 Bruk av transglutaminase til å løse spaltningsproblematikk hos Nils Sperre AS.....	35
3.2.1 Resultater og diskusjon for forsøkene med transglutaminase.....	35
3.2.2 Forsøk utført med saltfisk	35
3.2.3 Forsøk utført med klippfisk	37
3.2.4 Forsøk utført med flekket fisk før salting	37
3.2.5 Forsøk utført med makrellfilet.....	40
4. VIDERE ARBEID	45
5. OPPSUMMERING OG KONKLUSJON	45
6. REFERANSER	49
7. VEDLEGG	51

1. INNLEDNING

1.1 Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk

1.1.1 Bakgrunn for arbeidet

Bakgrunnen for dette prosjektet var en idé og et nytt konsept fra Novozymes AS for å lage proteinhydrolysater fra marine biprodukter, og anvende disse i blant annet saltfisk/klippfisk industrien. Hypotesen var at proteinhydrolysaterne kunne forbedre utbytte og kvalitet på produktene.

Det er mange biprodukter fra fisk som kan være gode proteinkilder. Ved hjelp av protolytiske enzymer kan det lages proteinkonsentrat fra biprodukter (Gildberg, 1993; Gildberg 1992; Shahidi og Synowiecki, 1996; Kim *et. al.*, 1997; Gartzia og Perez-Viallarreal, 2000). Kristinsson og Rasco (2000) har skrevet en oversiktsartikkel som omhandler proteinhydrolysater fra fisk; produksjon, biokjemi og funksjonelle egenskaper. Liaset *et. al.* (2000) har undersøkt kjemisk sammensetning og ernæringskvalitet på hydrolyserte biprodukter fra filetindustrien.

Produksjon av proteinhydrolysater

Proteinholdig råstoff kan hydrolyseres (proteiner spaltes) ved hjelp av enzymer (proteaser). Den vanlige framgangsmåten er at råstoffet varmes opp til en "passelig" temperatur for å få god effekt på enzymaktiviteten og enzympreparat tilsettes. Etter en viss hydrolysetid (ca. 1 time) inaktiveres enzymene ved å heve temperaturen til 80-90°C. Avhengig av hydrolysetiden vil proteinråstoffet gå mer eller mindre i oppløsning.

Den danske enzymprodusenten Novozymes AS har utviklet et konsept som går ut på å lage proteinhydrolysat av biprodukter (hovedsakelig fra rygger og avskjær) ved hjelp av et enzympreparat som firmaet leverer. Det proteolytiske enzymet spalter proteiner og separerer råstoffet i tre fraksjoner; oljefase, proteinfase og bunnfall (beinrester m.m.). Det er proteinfasen som kalles proteinhydrolysat. Det kan oppkonsentreres ved for eksempel inndamping og benyttes som et fiskeproteinkonsentrat. En mulig anvendelse er til injeksjon i fiskefileter. Det kan også spraytørkes til pulver.

Injeksjon av proteinhydrolysater i fisk

I forbindelse med salting og marinering av hvitfisk og laksefisk blir det i dag i stor grad benyttet *injeksjon*, hvor laken/marinaden sprøytes inn i fiskekjøttet gjennom nåler som stikkes inn i fiskekjøttet. I saltfiskbransjen benyttes "stikksalting" i stor grad ved produksjon av saltfilet. For saltfisk benyttes for det meste tradisjonell salting i kar. Osmosen som fører til at salt går inn i fisken og vann ut, kommer raskere i gang ved stikksalting enn ved tradisjonell salting. Det hevdes også at en slik innsaltingsmetode gir bedre utbytte.

På samme måte som når saltlake/marinade injiseres, kan også løste proteiner i væske (evt. saltlake) injiseres i fiskeråstoffet. Verdifulle proteiner som finnes i biprodukter kan på denne måten "resirkuleres" – sprøytes inn i hovedproduktene. Det kan gi fordeler i form av økt vekt og bedre smak, og ikke minst en høyverdig utnyttelse av proteiner fra biprodukter. I kjøttbransjen er denne metoden i bruk. Der benyttes beinrester, avkapp osv. som råstoff for å lage proteinhydrolysater. Dette blir blant annet gjort i Tyskland og Irland.

I teorien skal injiserte proteinhydrolysater kunne bidra til bedre vannbinding inne i fiskekjøttet. Shahidi og Synowiecki (1996) viste at proteinhydrolysat fra selkjøtt kunne brukes som alternativ til polyfosfat i kjøttprodukter for å øke vannbindingsevne.

Tidligere f&u og kompetanse på feltet

Når det gjelder forskning på saltfisk er det gjort mye arbeid innen ”Saltfiskforum” (nå ”Baccalaoforum”) de siste årene. Det har vært arbeidet med behandling av råstoff, utvikling av nye salteprosesser og konsumentferdige produkter. Fiskeriforskning og Møreforskning har vært sentrale institutter i disse prosjektene. I tillegg har en rekke bedrifter deltatt i f&u-arbeidet. SINTEF Fiskeri og Havbruk er involvert i et Nordisk Industrifond prosjekt mht. fremstilling av Bacalao med frossen fisk som råstoff. NMR (kjernemagnetisk resonans) er blitt benyttet både i vann- og saltstudier og det er sett på endringer under prosessering (Erikson *et. al.*, 2000).

Når det gjelder proteinhydrolysater har det ved flere institutter vært arbeidet med grunnleggende biokjemi relatert til proteolyse. Mye arbeid er selvfølgelig også gjort i utlandet og det finnes mye publisert faglig litteratur om temaet. Eksempelvis arbeider Fiskeridirektoratets Ernæringsinstitutt på ernæringsvidenskapen i forhold til proteinhydrolysater. Møreforskning har dr.grads kompetanse på proteolytiske enzymer i fiskeråstoff. SINTEF Fiskeri og Havbruk vil, gjennom et strategisk instituttprogram innen biprodukter samt et nystartet EU-prosjekt, sette opp et pilotskala anlegg for produksjon av hydrolysater og oljer.

1.1.2 Målsetning

Prosjektets hovedmål var å innføre ny prosess for salting av fisk med injeksjon av proteinhydrolysater fra biprodukter, med følgende delmål:

- Finne optimale prosessforhold for injisering i fisk slik at kvaliteten på saltfisk, klippfisk og utvannet saltfisk beholdes samt at det oppnås en utbyttegevinst.
- Finne ut hvilke biprodukter som egner seg som råstoff for produksjon av proteinhydrolysater til dette formålet.

1.1.3 Nytteverdi

For prosjektet vil det være av stor verdi om Nils Sperre AS kunne oppnå bedre produktkvalitet, økt utbytte og dermed også økt fortjeneste ved å ta i bruk det nye konseptet. Samtidig kunne en benytte biprodukter fra egen produksjon, slik som fiskerygger som skjæres ut under flekking og evt. avkapp fra filetproduksjon. Utskjærte fiskerygger utgjør ca. 9% av fiskens totalvekt (Willemsen, 2000). Hvis produksjon av proteinkonsentrat kan foregå i bedriften vil dette bli miljømessig gunstig med hensyn til transport.

Det er i utgangspunktet få begrensninger i hvilke biprodukter som kan brukes i produksjonen av proteinekstrakt. Produksjonsutstyret vil kunne separere ut olje, bein og proteinfasen, slik at fettholdige biprodukter også kan nyttes. Olje- og beinfase vil kunne anvendes inn mot næringsmidler/helsekostprodukter.

I dag blir avskjær og rygger fra hvitfiskindustrien ofte malt opp og brukt som dyrefôr i pelsdyroppdrett. Det pågår en nasjonal satsing på å få til en økt og bedre utnyttelse av marine biprodukter.

Saltfisk/klippfisk vil antakelig bli enda mer næringsrikt med et proteintilskudd i form av injiserte proteiner. Proteinekstrakt fra biprodukter vil kunne supplere essensielle aminosyrer til fiskekjøttet og sannsynligvis øke vannbindingsevnen slik at kjøttet får bedre tekstur.

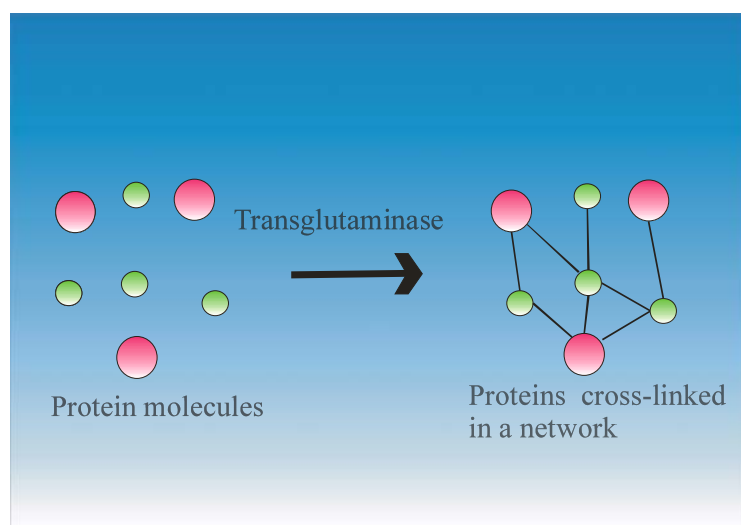
Det har vært gjort en del undersøkelser der proteinhydrolysat fra marine biprodukter har vist en antioksidativ effekt (Hatate *et. al.*, 1990; Amarowicz *et. al.*, 1999). Dette kan muligens utnyttes ved å sprøyte proteinekstrakt i fete matvarer som for eksempel laks.

En forutsetning for at det nye konseptet med injeksjon av proteinhydrolysat i saltfiskproduksjon skal lykkes, er at kvalitet og utbytte blir forbedret i forhold til ”normal” produksjon. Dette skulle undersøkes i prosjektet.

1.2 Bruk av transglutaminase til å løse spaltningsproblematikk hos Nils Sperre AS

1.2.1 Enzymet transglutaminase

Transglutaminase (EC 2.3.2.13) er et av få kommersielle enzymer som kan brukes til å kryssbinde proteiner i næringsmidler, og det eneste av disse som er kommersielt tilgjengelig. Enzymet er en type transferase som katalyserer en acyloverføringsreaksjon mellom proteiner, og som følge av dette oppstår det broer mellom proteinene i næringsmidlet. En illustrasjon av hvordan enzymet binder sammen proteinmolekylene og danner et nettverk som vist i figur 1.



Figur 1: En illustrasjon på hvordan transglutaminase (TG) kryssbinder proteinmolekyler.

Mange ulike parametre er med på å avgjøre effektiviteten av enzymet, og noen av de viktigste faktorene er temperatur, pH, saltinnhold, enzymkonsentrasjon, fiskeslag, reaksjonstid, fettinnhold og om råstoffet er ferskt eller frosset. Kilden til enzym vil også være avgjørende, da enzymet finnes som både Ca^{2+} -avhengig, og som Ca^{2+} -uavhengig. Transglutaminase finnes naturlig tilstede i fisk, noe som trolig bidrar til en lettere forbrukeraksept i markedet for denne typen produkter. Enzymet som er til stede i fisk er avhengig av Ca^{2+} for å katalysere en kryssbinding, mens i dette prosjektet ble det tilsatt kommersiell mikrobiell transglutaminase uten avhengighet av Ca^{2+} (Dickinson, 1997, Nielsen, 1995 og Zhu, 1995). Enzymet finnes i flere

utgaver, men her ble produktet Activa-WM som er produsert av det japanske firmaet Ajinomoto benyttet. Activa-WM inneholder kun 1% ren transglutaminase, mens resten av produktet består av maltodextrin (Ajinomoto, 2003).

I fiskeprodukter har enzymet mange anvendelsesområder, da det virker effektivt inn på bla. myofibrillproteinene. Enzymet kan anvendes til å "lime" sammen biter av fiskemuskel, der en løsning av enzymet påføres som "lim". Resultatet blir en rekonstruert filetbit, som er sterk nok til å tåle videre prosessering og håndtering. Denne applikasjonen kan utnyttes til å lage helt nye typer fiskeprodukter, der man f.eks. restrukturerer sammen biter av torsk og laks. I tillegg kan metoden anvendes til å oppgradere produkter som allerede er på markedet, ved å sørge for å gi bedre konsistens og tekstur, samt å minske graden av spaltning i fileten.

Enzymet gir ingen negativ innvirkning i form av smak, farge eller lukt på sluttproduktet, og enzymet virker dessuten innenfor et svært vidt område både i pH, saltkonsentrasjon og temperatur. Fordi bindingene som dannes er varmestabile vil det ferdige restrukturerte produktet også henge sammen etter steking og koking.

1.2.2 Bruk av transglutaminase i produksjon av klippfisk/saltfisk og makrellfilet

Som et ledd i prosjektet ble det foreslått og se på anvendelsen av transglutaminase på klippfisk og saltfisk i forbindelse med at man prøvde ut injisering av proteinhydrolysater i de samme produktene. Målet med dette var å redusere spaltningsgraden og dermed forbedre kvaliteten til klippfisken og saltfisken. I tillegg ble det i samråd med bedriften Nils Sperre AS besluttet å gjennomføre en forsøksserie på makrellfilet, der det også oppstår problemer med mye spaltning i enkelte perioder.

Mangel på tilgjengelig injiseringsutstyr gjorde at enzymløsningen ble påført med hånd, og ikke med det utstyret som vil være naturlig å benytte seg av ved en industriell prosess. Ved en industriell produksjon tenker man seg en bruk av dyser for påføringen av enzymet, eventuelt en injisering som kan sammenfalle med injiseringen av selve proteinhydrolysatene.

Det er imidlertid viktig å påpeke at enzymløsningen kan skape problemer med tetting av rør og dyser fordi den kan øke i viskositet etter utblanding i vann eller proteinløsning. Graden av dette problemet vil avhenge av hvilken enzymtype som brukes, hva slags prosessutstyr og påføringsteknikk som benyttes, samt konsentrasjonen av protein i løsningen som skal injiseres.

Forsøk gjennomført med klippfisk/saltfisk

I de utprøvingene som ble gjort med klippfisk og saltfisk ønsket man å få svar på følgende spørsmål:

- Hvordan blir effekten av enzymet om det tilsettes før salting rett etter flekking av fisken?
- Hvordan blir effekten av enzymet ved tilsats etter saltmodning?
- Er det mulig å få noen effekt ved å bruke enzymet på ferdig klippfisk?
- Vil det oppstå problemer med å få presset flatene som skal limes godt nok sammen, slik at man får tilstrekkelig med kontakt mellom de muskelbitene som enzymet skal binde sammen under virkningstiden? Dette vurderes på grunnlag av den prosessen som kjøres hos Nils Sperre AS i dag, og med de begrensningene som dette gir.

Forsøk utført med makrell

I forsøkene som ble gjennomført med makrellfileter la man vekt på følgende problemstillinger:

- Hvordan fungerer det å "lime sammen" spalter i makrellfileten?
- Er det nødvendig å tine råstoffet helt før dette gjennomføres, eller kan produktene tas rett av linja og påføres enzymet ved en kjernetemperatur i fisken på ca. $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$?
- Vil den fysiske belastningen som filetene blir utsatt for etter limingen før frysingen ødelegge kontakten mellom de flatene som skal limes sammen? Dette inkluderer en transportetappe på bånd, samt et fall av filetene over til et nytt transportbånd før de overføres til en båndfryser for hurtigfrysing. Her blir filetene snudd slik at kjøttsiden ligger ned, mens skinnsiden ligger opp.
- Vil det være noen synlig skilnad mellom limte og ikke limte makrellfileter når produktet kommer ut av hurtigfryseren?
- Vil det være noen synlig skilnad mellom limte og ikke limte makrellfileter etter tining?

2. MATERIALER OG METODER

2.1 Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk

2.1.1 Råstoff

Det ble benyttet linefanget alaskatorsk i alle forsøkene med unntak av forsøk 3, her ble det benyttet trålfanget torsk. Det viste seg at flekkemaskinen ikke var optimalt innstilt for dette råstoffet, og dermed ble det en del flekkefeil på det meste av fisken benyttet i forsøkene. Det ble imidlertid sett bort ifra flekkefeil under kvalitetsvurderinger. I forsøk 4 og 5 ble det benyttet henholdsvis 700 og 800 kg fisk, slik at en fikk lagt press på injisert fisk i produksjonen under salting og modning. For forsøk 1 og 2 ble fisken lagt lagvis sammen med annen fisk til salting i kar (ca. 800 kg). For forsøk 3 ble fisken lagt i egne kar til salting og ikke blandet sammen med annen fisk.

2.1.2 Injiseringvæske / proteinhydrolysat

I det første forsøket ble fisken injisert med sjøvann. I forsøk 2 ble det benyttet proteinhydrolysat fra år 2000 som inneholdt 10 % protein (proteinhydrolysatet var produsert av Novozymes av hvitfiskavskjær/filetkutt). I de øvrige forsøkene (3, 4 og 5) ble det benyttet et proteinhydrolysat produsert av Novozymes fra rygger fra Nils Sperre's egen saltfiskproduksjon. Proteinhydrolysatet inneholdt ca. 30 % (32 %) protein og 6 % salt. Dette proteinhydrolysatet ble fortynnet med vann til aktuell proteinkonsentrasjon. Fortynningene ble utregnet ved hjelp av fortynningsformelen:

$$V_1 \times c_1 = V_2 \times c_2$$

V_1 = volum før fortynning

V_2 = volum etter fortynning

c_1 = konsentrasjon før fortynning

c_2 = konsentrasjon etter fortynning

Eksempel: 70 liter injiseringvæske inneholdende 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt.

Liter proteinhydrolysat:

$$X \times 30 \% = 70 \times 17 \%$$

$$X = 39,66 \Rightarrow \underline{40 \text{ liter}}$$

Mengde salt:

$$\begin{array}{l} 70 \text{ liter m/10 \% salt} = 7,0 \text{ kg} \\ \text{salt i prot.hydr.} \quad 40 \text{ liter m/6 \% salt} = \underline{2,4 \text{ kg}} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \underline{4,6 \text{ kg}} \end{array}$$

40 liter proteinhydrolysat og 4,6 kg salt fortynnes til 70 liter med fersk vann.

2.1.3 Produksjonsutstyr

Til nålinjeksjonen ble det i de to første forsøkene benyttet en Traust injiseringsmaskin ved Nils Sperre AS. Ved de andre forsøkene (3, 4 og 5) ble det benyttet en nyere Fomaco injiseringsmaskin ved Olga Godø AS (se bildene 1, 2 og 3 side 33).

2.1.4 Gjennomføring av injiseringsforsøkene

5 forskjellige injiseringsforsøk ble utført (se tabell 1). Det ble gjennomført 2 innledende forsøk for å finne optimalt trykk ved injisering av saltlake/saltvann og proteinhydrolysat. I forsøk 3 og 4 ble det injisert med forskjellige fortynninger av proteinhydrolysat og salt for å finne den mest optimale sammensetningen av salt og proteinhydrolysat. I forsøk 5 ble det tilsatt kalk (kalsium) i injiseringsvæsken for å undersøke om evt. det kunne forbedre utbytte og hvithet i fiskekjøttet. Det ble etter hvert injiseringsforsøk gjort forbedringer i metoden (trykk, % proteinhydrolysat i lake etc.) i forhold til resultatene en oppnådde i forsøkene.

Tabell. 1 Oversikt over forsøk som er utført.

Forsøk	Dato	Hensikt	Serie
1	13.09.01	Hvilke trykk på injiseringsvæske bør benyttes, (injisering av saltvann)	1. 2 bar 2. 2,5 bar 3. 3 bar
2	27.09.01	Hvilke trykk på injiseringsvæske bør benyttes, (injisering av proteinhydrolysat, 10 % proteinhydrolysat og 10 % salt)	1. 2 bar 2. 2,5 bar 3. 3,1 bar
3	08.01.02	Injisering av proteinhydrolysat og saltlake ved standard injiseringsprogram (1,3 bar 40 slag/min)	1. injisering av fullmettet saltlake 2. injisering av proteinhydrolysat (fortynnet til 17% prot. og 10% salt)
4	11.06.02	Hvilke salt- og proteinkonsentrasjon i injiseringsvæsken ved standard injiseringsprogram (1,3 bar 40 slag/min)	1. ikke injiser, saltes dir. i kar 2. 10% protein og 20% salt 3. 17% protein og 10% salt 4. 17% protein og 15% salt 5. 17% protein og 20% salt 6. 25% protein og 15% salt
5	06.11.02	Evt. effekt av kalsium i injiseringsvæsken ved standard injiseringsprogram (1,3 bar 40 slag/min)	1. ikke injisert, saltes dir. i kar 2. 0,05% kalsium og 10% salt 3. 17% protein og 10% salt 4. 17% protein, 10% salt og 0,05% kalsium

I de første to forsøkene ble det undersøkt hvilke trykk som skulle benyttes for å få det mest optimale resultatet. Det viste seg at høyere trykk under injisering ikke ga høyere vektøkning. Den lave vektøkningen oppnådd ved høyt trykk kan kanskje skyldes at fiskekjøttet sprenges og mister evnen til å absorbere proteinløsningen. En annen medvirkende årsak kan være at serier kjørt ved høyt trykk ble utført sist i forsøkene og at det da var kommet mye luft i injiseringsvæsken. Ved disse forsøkene ble det benyttet en Trust injiseringsmaskin av eldre årgang som Nils Sperre hadde skaffet til veie.

Etter de to første forsøkene kom en frem til at denne maskinen ikke kunne benyttes. Nålene tettet seg og trykket ble dermed ujevnt, samtidig kom det mye luft inn i systemet. En ny injiseringsmaskin var nødvendig. I de andre forsøkene ble det benyttet en maskin ved Olga Godø

AS på Godøya. Dette var en nyere Fomaco maskin. Det ble kjørt et mindre forsøk (3) for å prøve ut maskinen. En serie ble injisert med fullmettet saltlake og en serie med 17 % protein og 10 % salt. Ved dette og de andre forsøkene (4 og 5) ble injiseringsvæske injisert ved 1,3 bar trykk og 40 slag i minuttet (standard program som blir benyttet ved injisering av mettet saltlake).

I forsøk 4 ble det prøvd ut 5 serier med forskjellig innhold av proteinhydrolysat og salt, i forskjellige kombinasjoner, og en ikke injisert serie som ble saltet rett i kar. I forsøk 5 ble det etter bedriftens ønske tilsatt kalk (kalsium) for å se om dette kunne ha noe å si på utbytte og hvithet på fisken. I forsøk 4 ble fisken ført gjennom injiseringsmaskinen 2 ganger, dette ble ikke gjort i forsøk 5.

Fisken i alle forsøkene ble etter injisering sluttsaltet i kar og lagt om på paller etter ca. 2 uker. Pallene med fisk ble deretter lagret på kjølerom for saltmodning i ca. 2 mnd. Saltmoden fisk ble tørket til klippfisk i tørke i fra 2 til 4 døgn til 7/8-dels tørr.

2.1.5 Målinger og analyser

Det ble utført forskjellige målinger og analyser i de ulike forsøkene (se tabell 2).

Tabell 2. Oversikt over utførte undersøkelser og analyser av fisken i de ulike forsøkene.

Forsøk	Behandlings-grad	Utbytte	Farge	Vanninnhold	Askeinnhold	Saltinnhold	Proteininnhold	Vannbindingsevne	Koketap	Kvalitetsvurdering	Sensorisk
1	flekt	X									
	injisert saltmoden klippfisk utvannet	X									
2	flekt	X									
	injisert saltmoden klippfisk utvannet	X									
3	flekt		X								
	injisert	X		X	X	X	X				
	saltmoden	X	X	X	X	X	X			X	
	klippfisk	X	X							X	
	utvannet klippfisk	X	X	X				X	X		X
utvannet saltmoden	X	X	X				X	X		X	
4	flekt		X								
	injisert	X	X								
	saltmoden	X	X	X	X		X	X	X	X	
	klippfisk	X	X	X	X					X	
	utvannet klippfisk										X
5	flekt		X	X	X						
	injisert	X	X								
	saltmoden	X	X	X	X					X	
	klippfisk	X	X	X	X					X	
	utvannet saltmoden	X									X

Uttak av prøver til kjemiske analyser

For hver serie ble det tatt ut 3 fisker, der ca. 100 gram muskelbit av tykkfisken ble tatt ut og homogenisert i kjøkkenmaskin med roterende kniver. Prøver ble tatt ut fra homogenisatet.

Vanninnhold

Vannprosenten ble beregnet ut fra vekttap etter tørking ved 105°C over natten. Det ble innveid 5 gram homogenisert prøve. Vanninnholdet ble utregnet fra gjennomsnittet av 3 paralleller.

Askeinnhold

Askeprosenten ble beregnet ut fra vekttap etter forasking i ca. 4 timer (4,5 timer om prøvene ble satt inn i kald ovn). Prøvene fra vannanalysen ble benyttet. Askeinnholdet ble utregnet fra gjennomsnittet av 3 paralleller.

Saltinnhold

Kloridinnholdet ble bestemt etter Mohr`s metode som angitt i Sentrallaboratoriets metode nr. 49. En benyttet de samme prøvene som for vanninnhold/askeinnhold. Salt innholdet ble utregnet fra gjennomsnittet for 3 paralleller.

Proteininnhold

Prøver for analyse av proteininnhold ble analysert ved laboratoriet til Næringsmiddeltilsynet i Ålesund.

Vannbindingsevne

Vannbindingsevne ble bestemt som beskrevet av *Børresen (1980)*, men prøvene ble sentrifugert ved ca. 4100rcf. Prøvene ble sentrifugert i 15 minutt og resultatet viser gjennomsnittet av 4 paralleller.

Koketap

Blir beregnet ut fra væsketap ved varmebehandling og sentrifugering som beskrevet av *Børresen (1980)*. Prøvene ble sentrifugert i 15 minutter ved 4100rcf. Resultatene viser gjennomsnittet av 4 paralleller.

Utbyttmålinger

25 fisk i hver serie ble merket og veid etter flekking, injisering, sluttsalting og tørking, % -vis vekt endring ble beregnet.

Fargemålinger

Det ble utført fargemålinger ved hjelp av Minolta Chromameter CR 20. Det ble foretatt 5 målinger på filetsiden til 5 fisker (gjennomsnittet av 25 målinger blir gjengitt i rapporten). De samme fiskene ble målt hver gang (merka fisk).

Sensorisk analyse

Utvannet klippfisk ble kokt/trekt i vann eller i ovn (ca. 15 min). Et smakspanel med representanter fra Nils Sperre og forskningsinstituttene vurderte smak, konsistens, lukt, og farge (se vedlegg 6 "Smakstest - Beskrivelse")

Kvalitetsvurdering

Fisken ble vurdert etter hvert trinn i produksjons prosessen, av personer fra N. Sperre og Møreforsking, der det ble lagt vekt på fasthet (konsistens) og farge på fisken.

Utvanning

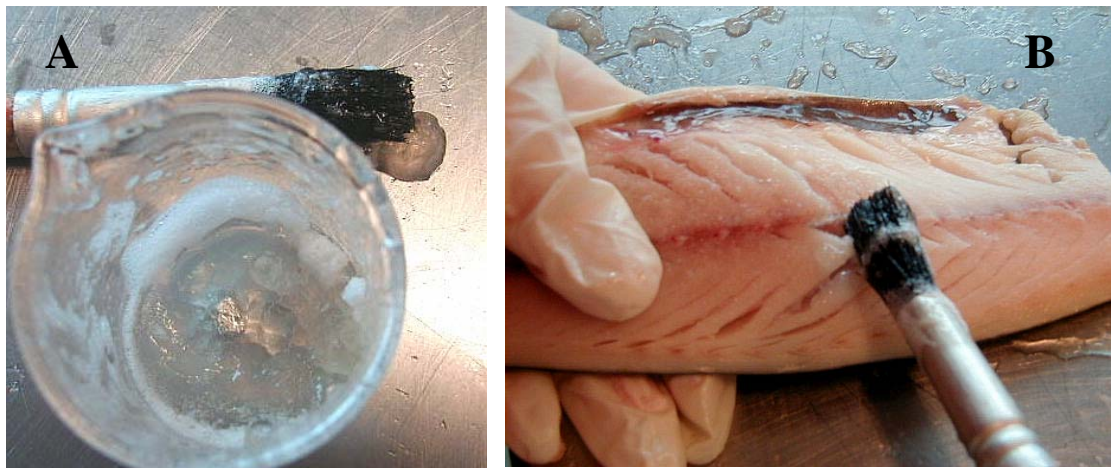
Fisk til sensorisk analyse ble utvannet i stykker på ca. 300 gram. Stykkene ble skåret fra midtpartiet (med både tykkfisk og buk) til saltfisk og klippfisk. Fisken ble utvannet i 2 døgn med 1 vannskift, i forsøk 4 (klippfisk) og forsøk 5 (saltfisk). I forsøk 3 ble biter til utvanning vannet ut i 2 døgn med 4 vannskift. Utvanning av fisk til utbyttmåling og kjemiske analyser ble utvannet hele i kar i 3 døgn med 2 vannskift.

2.2 Bruk av transglutaminase til å løse spaltningsproblematikk hos Nils Sperre AS

2.2.1 Fremgangsmåte for feltforsøkene med transglutaminase ved Nils Sperre AS

Forsøkene ble gjennomført i produksjonslokaler og prøverom hos Nils Sperre AS der romtemperaturen lå på omlag 8-10 °C i den perioden da prosjektet ble kjørt. Råstoffet for den ferskproduserte saltfisken var torsk (*Gadus morhua*), og var fra årets fangst (2003) nordpå (Troms/Nordland). Den fisken som ble tilsatt enzym rett etter flekking var derimot av typen alaskatorsk (*Gadus macrocephalus*). Makrellen (*Scomber scombrus*) som ble benyttet i forsøkene var fisket på Nordsjøen i oktober 2002, og fryselagret ved -25 °C frem til gjennomføringen av prosjektet i begynnelsen av april 2003.

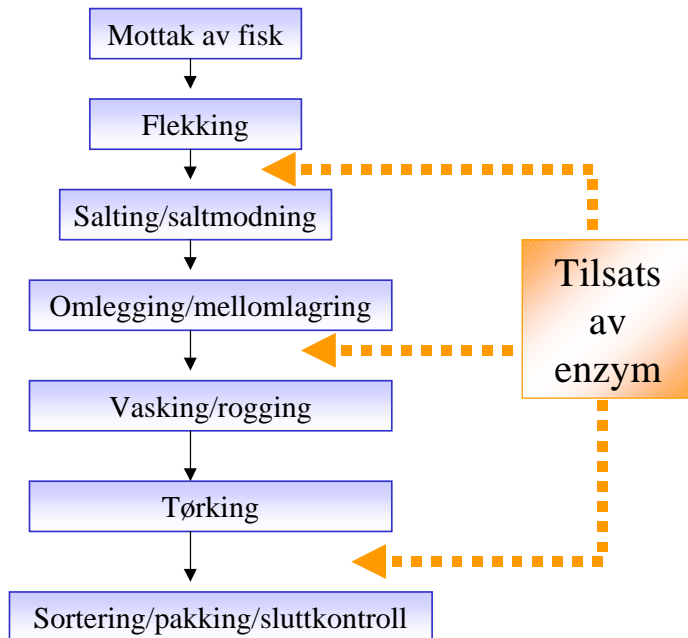
I samtlige av forsøkene som ble gjennomført i dette prosjektet ble enzymet kun oppløst i vann og ikke i løsninger med proteinhydrolysater, og det ble benyttet en framgangsmåte som i tidligere prosjekter (ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS) til å lage en optimalisert enzymblending kalt Activa-WM-optimal (SINTEF Fiskeri og havbruk AS, 2002). Denne løsningen hadde en enzymkonsentrasjonen som lå på omlag 0,085 g Activa-WM per ml H₂O. Enzymløsningen stivnet raskt ved romtemperatur, som vist i figur 2A. Enzymløsningen ble påført med pensel fordi dette ikke krevde noe spesielt kostbart utstyr i første omgang, dette er illustrert i figur 2B.



Bilde 4: A) Bildet illustrerer hvordan enzymløsningen Activa-WM-optimal klumpet seg og ble tykk etter 10 minutters oppbevaring i en romtemperatur på 8,5 °C. B) Enzymløsningen påføres ved hjelp av en pensel mellom spaltningene i muskelfibrene hos makrellfileten, i god tid før enzymløsningen har klumpet seg.

Forsøk gjennomført på klippfisk og saltfisk

Det ble gjort forsøk på å tilsette enzymet på ulike stadier i klippfisk/saltfisk-prosessen ved Nils Sperre AS. En oversikt over prosessen og de ulike punktene i prosedyren der enzymet kunne tilsettes er vist i figur 3.



Figur 3: Skjemaet illustrerer klippfisk- og saltfiske prosessen ved Nils Sperre AS, og de tre punktene der enzymet kunne tilsettes.

Fisken som ble limt rett etter flekking ble tatt direkte fra linja i fabrikken, og enzymet ble tilsatt i spaltene på fisken ved hjelp av pensel på et siderom i produksjonslokalene. Deretter ble fisken merket og returnert inn i den ordinære prosessen, og lagt midt i en pall med et saltlag på oversiden og undersiden. På den måten fikk filetene det presset de vanligvis vil ha ved en normal produksjon. Fisken ble så sendt til saltmodning etter de faste rutinene som eksisterer ved bedriften i dag.

Den fisken som ble tilsatt enzym etter salting var av typen 4.sortering, det vil si at den inneholdt ulike feil som f.eks. dårlig bløgging, mye spaltning, eller at fisken var blitt klemt slik at den fikk en form som avvirket fra normalen. Det ble tatt fisk fra toppen av pallen, og enzymet ble tilsatt ved hjelp av en pensel. Deretter ble fisken satt på et kjølelager hos bedriften.

Det ble også vurdert å tilsette enzymet til ferdig klippfisk etter tørking, men dette ble ikke utført. Grunnen til dette var at fisken ble ansett som før tørr til at prosjektet kunne gjennomføres (Dette er utdypet nærmere i avsnittet som omhandler resultatene).

Forsøk utført på makrell

Råstoffet til dette forsøket ble tatt ut fra den ordinære makrell-linja etter filetering av fisken. Etter dette er det et punkt i prosessen der vrakfisk utsorteres, og fisk med høy spaltningsgrad fra dette punktet på linja ble benyttet til forsøkene. På dette stadiet var fisken fortsatt noe frossen, med en kjernetemperatur på mellom 0 °C og -2 °C.

Det ble kjørt to batcher med makrell, en der fisken ble fullstendig tint før enzymet ble tilsatt. Tiningen ble gjort ved at makrellen fikk ligge på et bord ved 8,5 °C inntil den var helt tint. I tillegg til dette ble det gjennomført en prøverunde med makrell som ble tilsatt enzymet uten mellomlagring, der kjernen i fisken fortsatt var litt frossen.

Etter påføringen av transglutaminase-løsningen ble spaltene mellom muskelfibrene klemt sammen for hånd. Det tok omlag 15 minutter fra fisken ble limt til den ble sluppet tilbake på samlebandet som gikk inn til båndfryseren. Hurtigfryseren tok 20 minutter, men de prøvene som var blitt mere tint er det som er vanlig var ikke 100 % frosne da de kom ut av frysebandet. Denne "batch'en" ble derfor fryselagret ytterligere noe minutter på et fryserom slik at de ble gjennomfrosne. Etter frysing ble utseendet til makrellfiletene vurdert, og deretter ble de lagt til tining til neste dag i en romtemperatur på 9 °C.

3. RESULTATER OG DISKUSJON

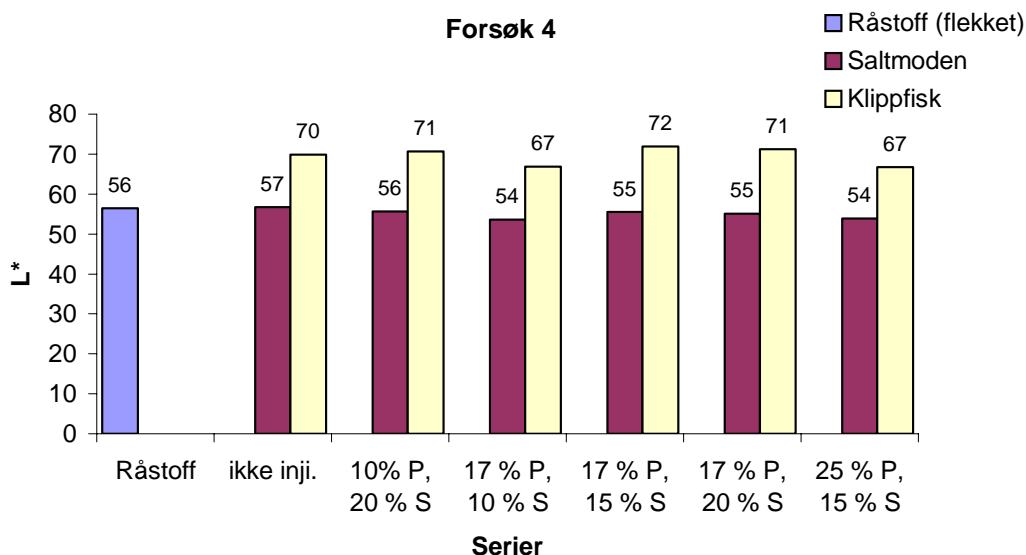
2.1 Proteinhydrolysater fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk

I dette kapitlet er i hovedsak kun de viktigste resultatene fra forsøk 4 og 5 tatt med for at det ikke skal bli for uoversiktlig. I vedlegg finnes korte delrapporter som beskriver resultater fra alle forsøkene.

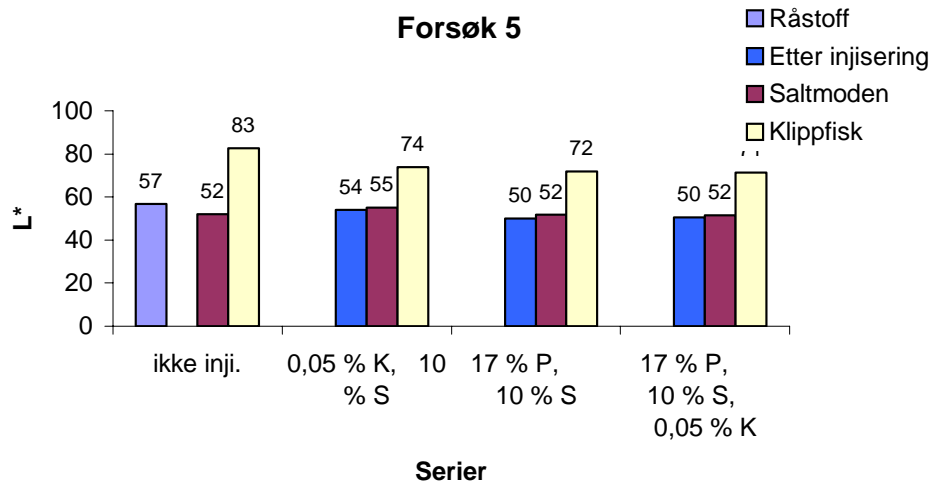
3.1.1 Fargemålinger

Det ble utført instrumentelle fargemålinger av fisk etter hvert prosesstrinn, flekket fisk, saltmoden fisk og klippfisk. I forsøk 5 ble det også målt farge rett etter injisering. L* angir fargeforholdet mellom svart (0) og hvit (100), og b* forholdet mellom blå (-60) og gul (60). Resultatene fra forsøk 4 og 5 er gitt i figur 1, 2, 3 og 4.

Lyshet



Figur 4: L*-målinger på flekket (råstoff) ikke-injisert fisk og fisk injisert med lake av forskjellige konsentrasjoner av proteinhydrolysat og salt. Målinger på råstoff, saltmoden fisk og klippfisk. (P = proteinhydrolysat, S = salt)



Figur 5: L*-målinger på ikke-injisert fisk og fisk injisert med laker av forskjellige konsentrasjoner av proteinhydrolysat, salt og kalsium. Målinger på råstoff, rett etter injisering, saltmoden fisk og klippfisk. (P = proteinhydrolysat, S = salt, K = kalsium)

Forsøk 4 (se figur 4)

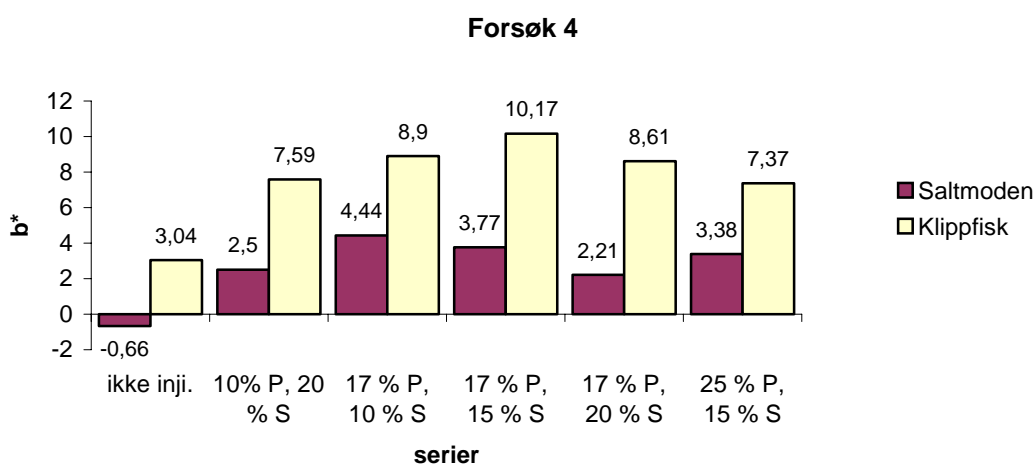
Målingene viser at ikke injisert saltmoden fisk er noe lysere enn de andre seriene som er injisert med forskjellig "styrke" proteinhydrolysat og salt. For klippfisk viser målingene at serie injisert med 17 % proteinhydrolysat og 15 % salt er den serien med lyseste farge. Målingene viser også at fisk injisert med 25 % proteinhydrolysat (høyeste innhold av proteinhydrolysat i dette forsøket) og 15 % salt gir den mørkeste klippfisken, sammen med fisk injisert med 17 % P og 10 % S. Det er imidlertid små forskjeller, og antageligvis er ikke forskjellen signifikant.

Forsøke 5 (se figur 5)

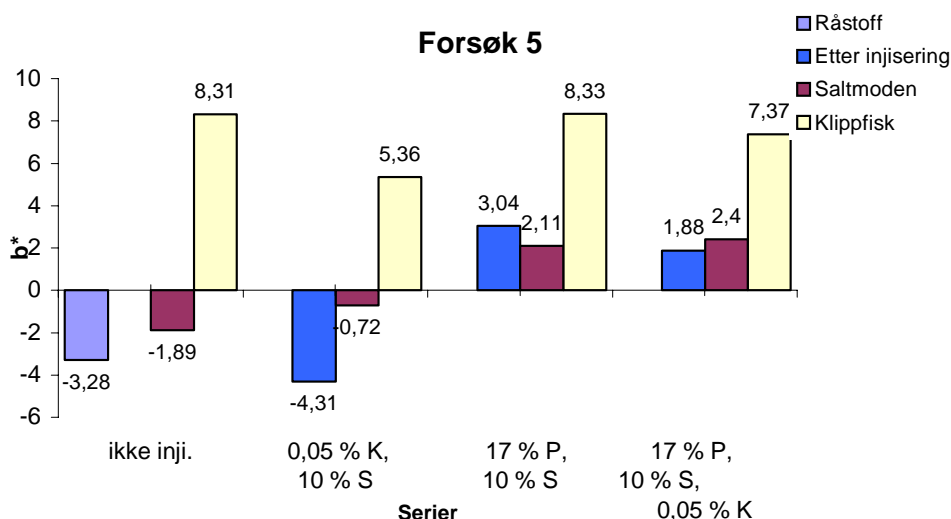
I dette forsøket skulle en vurdere om injeksjon av kalsium ville ha effekt på fargen til fisken. Det ble målt farge på fisken rett etter injisering, som saltmoden fisk og som klippfisk. Disse målingene viser at det er noe forskjell mellom fisk injisert med salt og kalsium (0,05 % K og 10 % S) og serier injisert med proteinhydrolysat i tillegg (17 % P og 10 % S, 17 % P, 10 % S og 0,05 % K). For saltmoden fisk viser målingene at det er fisk injisert med salt og kalsium (0,05 % K, 10 % S) som gir den lyseste fisken, og det samme gjelder for klippfisk som er injisert. Det er likevel målingene for den ikke-injiserte fisken (ikke inji.) som gir den lyseste fargen på klippfisk. Dette kan imidlertid skyldes at denne fisken ble for tørr under tørkingen til klippfisk, noe som kvalitetsvurderingen viste. Dersom fisken ikke er skikkelig tørr vil dette også gi utslag i mørkere farge på klippfisken. Det ser ikke ut til at kalsium har hatt effekt på lyshet når fisken samtidig ble injisert med proteinhydrolysat.

Generelt ble fisk injisert med proteinhydrolysat mørkere enn fisk ved "normal" produksjon. Fisken lysnet imidlertid under produksjon fra nylig injisert til saltmoden til klippfisk. Dette er naturlig i klippfiskproduksjon. Fisk som var injisert med proteinhydrolysat ble under kvalitetsvurdering vurdert som mørkere i farge enn ønskelig for eksport (se kvalitetsvurdering).

Blå – gul farge



Figur 6: b*-målinger på ikke injisert fisk og fisk injisert med lake av forskjellige konsentrasjoner av proteinhydrolysat og salt. Målinger på saltmoden fisk og klippfisk. (P = proteinhydrolysat, S = salt).



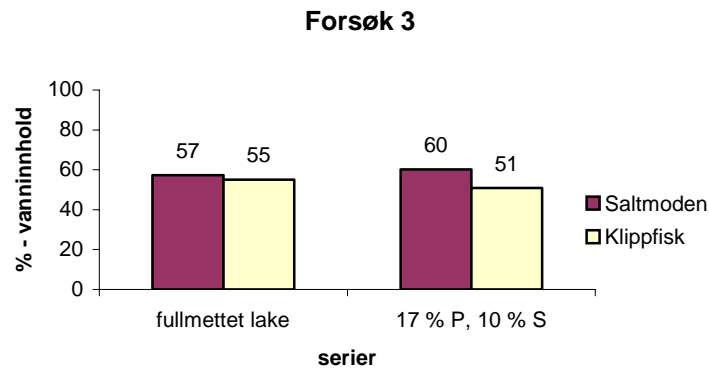
Figur 7: b*-målinger på ikke injisert fisk og fisk injisert med lake av forskjellige konsentrasjoner av proteinhydrolysat, salt og kalsium. Målinger rett etter injisering, saltmoden fisk og klippfisk. (P = proteinhydrolysat, S = salt, K = kalsium)

Figur 6 viser at ikke injisert fisk som saltmoden har blålig fargetone (-0,66) i forhold til injisert fisk, som har gulere farge. Fisk injisert med 17 % P og 10 % S er mest gul. For klippfisk er det fisk injisert med 17 % P og 15 % S som har den guleste fargen (10,17). All fisk som har blitt tørket til klippfisk får en gulere fargetone.

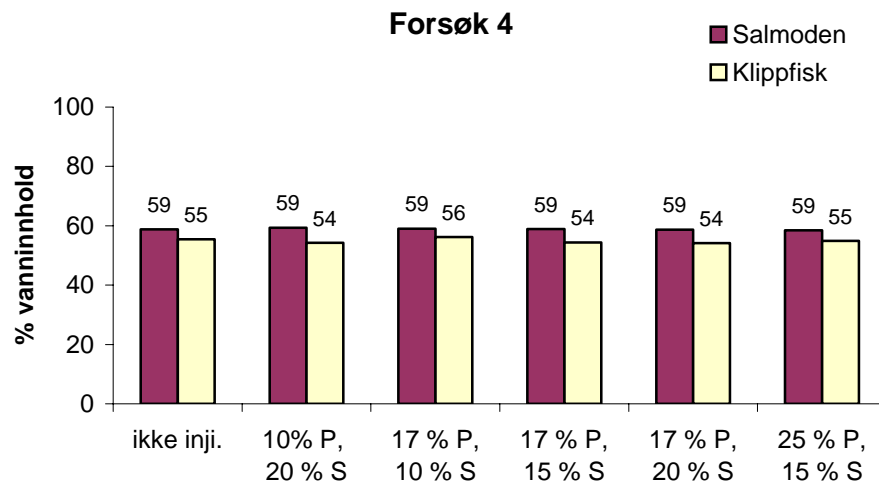
Figur 7 viser også fargemålinger foretatt like etter injisering. Disse målingene viser at fisk injisert med proteinhydrolysat (17% P, 10% S og 17% P, 10% S, 0,05% K) har en gulere farge enn de øvrige seriene. Dette gjelder også for saltmoden fisk. For klippfisk får alle seriene gulere fargetone.

3.1.2 Vanninnhold

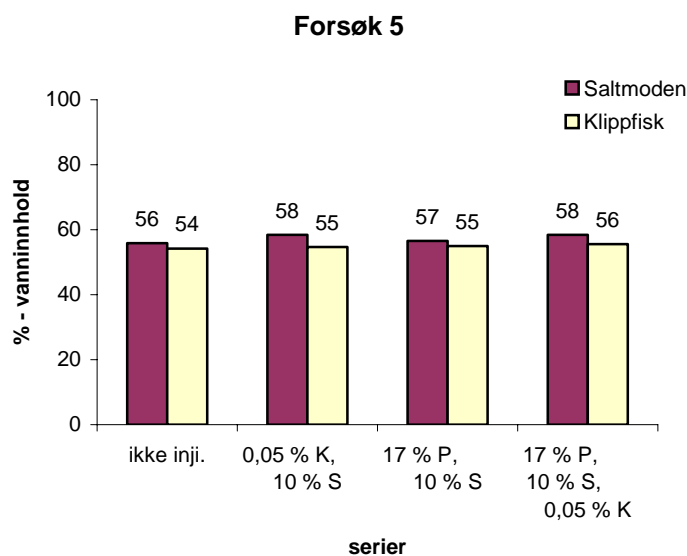
Figur 8, 9 og 10 viser analyseresultater for vanninnhold i saltmoden fisk og klippfisk for henholdsvis forsøk 3, 4 og 5.



Figur 8: Vanninnhold i saltmoden fisk og klippfisk injisert med fullmettet saltlake og 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt (P = proteinhydrolysat, S = salt).



Figur 9: Vanninnhold i saltmoden fisk og klippfisk ikke injisert og injisert med forskjellig innhold av proteinhydrolysat og salt (P = proteinhydrolysat, S = salt).



Figur 10: Vanninnhold i saltmoden fisk og klippfisk ikke injisert og injisert med forskjellig innhold av proteinhydrolysat, salt og kalsium (P = proteinhydrolysat, S = salt, K = kalsium).

Forsøk 3 (se figur 8)

Resultatene viser at serie 17 % P, 10 % S har høyere innhold av vann som saltfisk, og gir fra seg mer vann ved tørking til klippfisk enn serie injisert med mettet saltlake. Mens serie 17 % P, 10 % S taper 9 % vann, taper serie injisert med mettet saltlake 2 % vann under tørking til klippfisk.

Forsøk 4 (se figur 9)

Resultatene viser at alle seriene har samme vanninnhold som saltmoden fisk, og det skiller fra 3 til 5 % som klippfisk. Serie 17 % P, 10 % S, har tapt minst vann (3 %) under tørking til klippfisk.

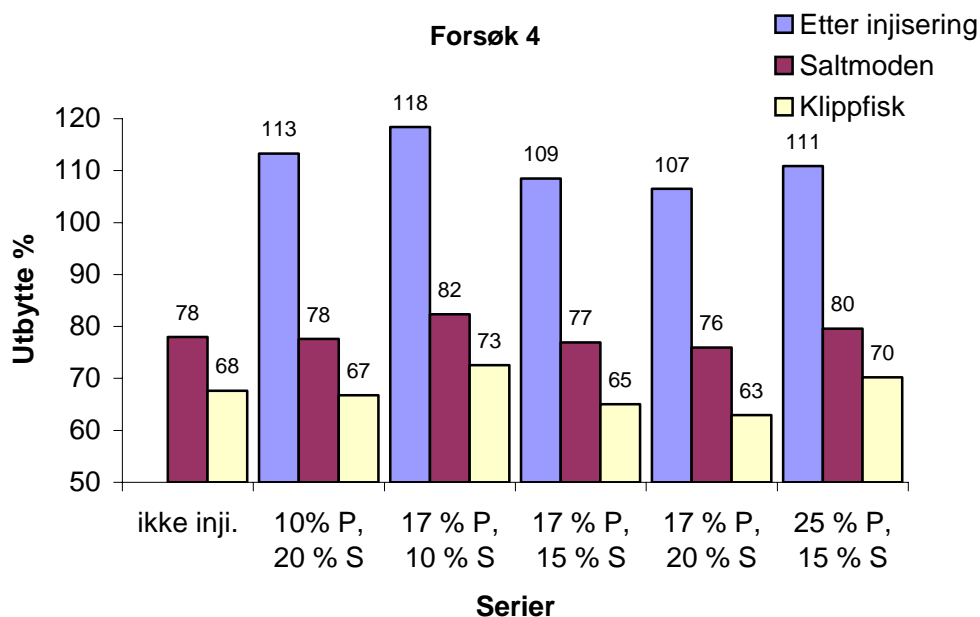
Forsøk 5 (se figur 10)

Resultatene viser at vanninnholdet i saltmoden fisk skiller seg fra 1 til 2 % mellom seriene. For klippfisk skiller det også fra 1 til 2 % mellom seriene. Serie injisert med 0,05 kalsium og 10 % salt er den eneste serien som har tapt 3 % vann etter tørking til klippfisk. De andre seriene har tapt 2 %.

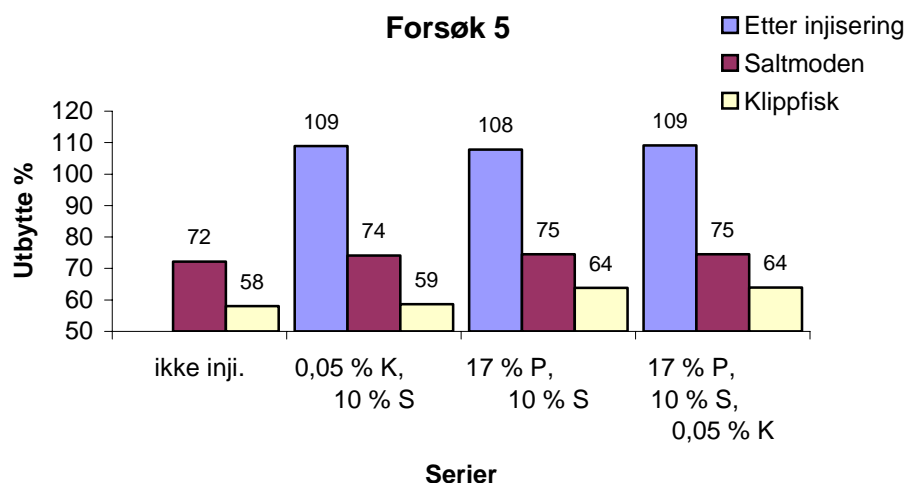
Generelt ser ikke vanninnholdet til å påvirkes vesentlig ved injisering av proteinhydrolysat.

3.1.3 Vektendring / utbytte

Figur 11 og 12 viser vektendring / utbytte for seriene i forsøk 4 og 5. Det er tatt utgangspunkt i flekket råstoff som 100 % vekt.



Figur 11: Vektendring ikke injisert fisk, fisk rett etter injisering, saltmoden fisk og klippfisk (P = proteinhydrolysat, S = salt).



Figur 12: Vektendring ikke injisert fisk, fisk rett etter injisering, saltmoden fisk og klippfisk (P = proteinhydrolysat, S = salt, K = kalsium).

Forsøk 4 (se figur 11)

Resultatene viser en vektøkning like etter injisering fra 7 til 18 % for de ulike seriene. Høyeste utbytte (18 %) var for fisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt. Laveste utbytte (7%) for fisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 20 % salt. Målingene viser høyest utbytte for saltmoden fisk og for klippfisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt. Sammenligner en det beste resultatet for saltmoden fisk (17 % P, 10 % S) med ikke injisert fisk,

ble det oppnådd maks 4 % bedre utbytte ved injisering. For klippfisk er det 5 % bedre utbytte for fisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt enn ikke injisert fisk.

Forsøk 5 (se figur 12)

Målingene viser at vektøkning etter injisering ligger på mellom 8 og 9 % for fisk som er blitt injisert. Utbyttet til saltmoden fisk ligger mellom 72 til 75 %, og for klippfisk ligger utbyttet på mellom 58 og 64 %. At ikke injisert fisk ligger så lavt i utbytte på klippfisk, skyldes nok at fisken ble tørket ekstra lenge, dette for at injisert fisk skulle bli tørr. Dermed ble ikke-injisert fisk ekstra tørr. Det ble oppnådd generelt høyere vektøkning for fisk injisert med proteinhydrolysat enn ikke injisert fisk for både saltmoden og klippfisk. 6 % bedre utbytte på klippfisk for fisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt i forhold til ikke injisert fisk (tradisjonelt produsert).

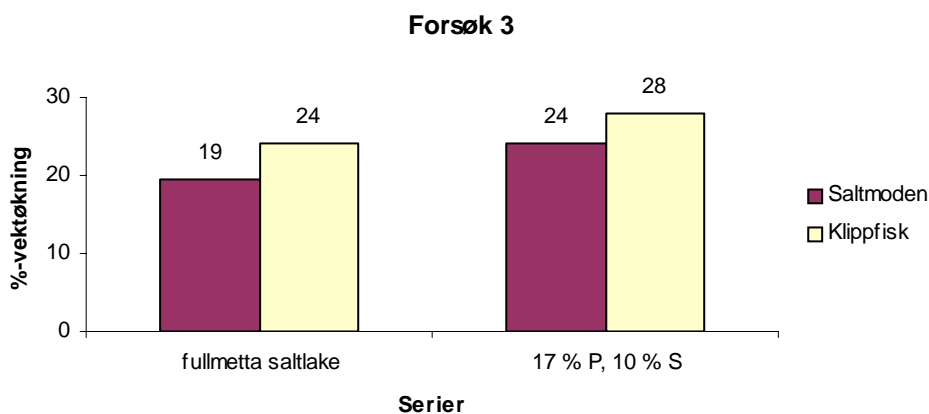
Kommentarer til forsøkene (forsøk 4 og 5)

Forsøk 5 viser lavere utbytte for alle serier og produksjonstrinnene (etter injisering, saltmoden og klippfisk) enn forsøk 4. En av grunnene til dette kan være at denne fisken ble ført 1 gang gjennom injiseringsmaskinen, mens fisken i forsøk 4 ble ført gjennom injiseringsmaskinen 2 ganger. Fisk fra forsøk 5 ble injisert 1 gang fordi dette er mer i samsvar med normal produksjon og fisken ble vurdert til å ha fått injisert tilstrekkelig mengde injiseringsvæske.

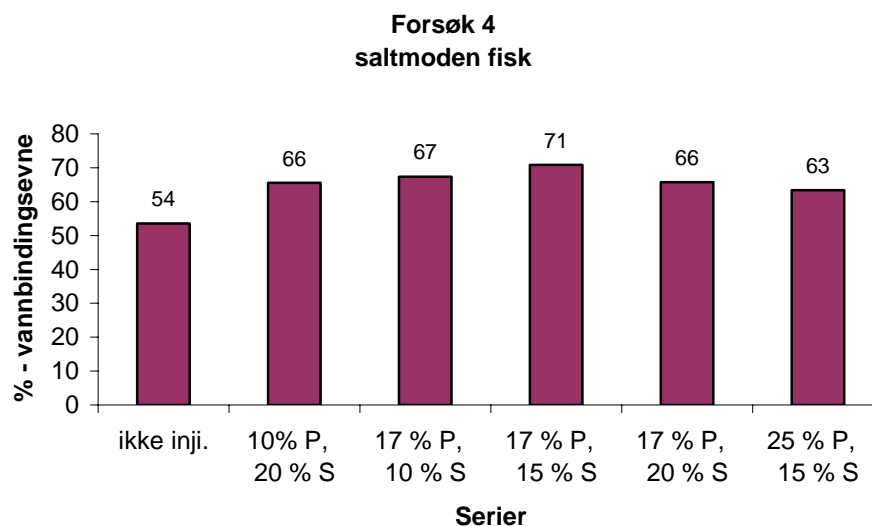
Forsøkene indikerer at fisk injisert med proteinhydrolysat kan få ca. 4 % bedre utbytte som saltfisk enn ikke injisert fisk, og for klippfisk kan det gi ca. 6 % bedre utbytte. Det gjøres imidlertid oppmerksom på at det må gjøres forsøk i større skala for å dokumentere mulig utbyttegevinst.

3.1.4 Utbytte, vannbindingsevne og koketap for utvannet fisk

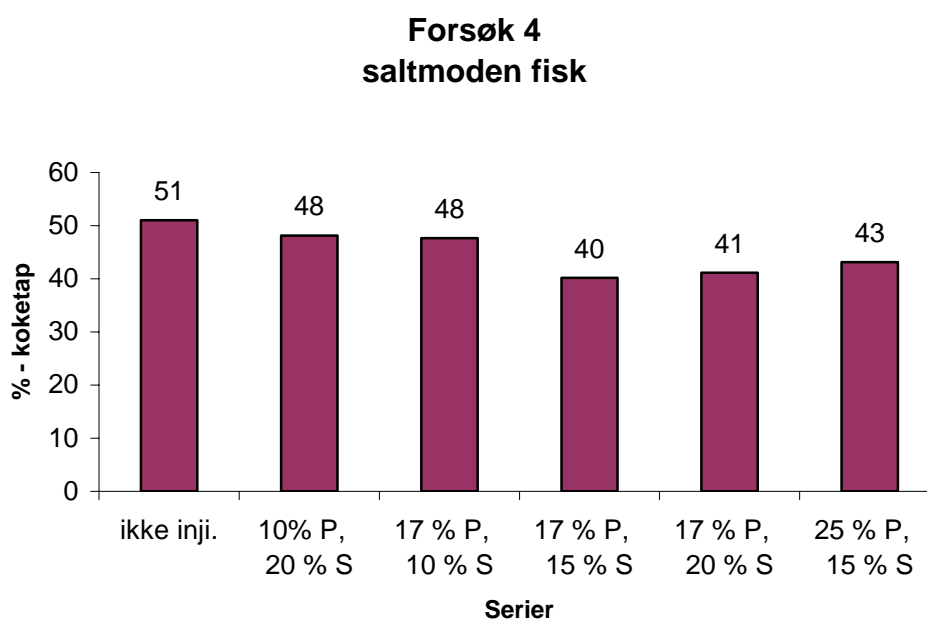
Figur 13, 14 og 15 viser resultater fra målinger av henholdsvis utbytte, vannbindingsevne og koketap for utvannet saltfisk og klippfisk.



Figur 13: Vektøkning for utvannet saltmoden fisk og klippfisk injisert med fullmetta saltlake og fisk injisert med proteinhydrolysat og salt (P = proteinhydrolysat, S = salt). Vektøkning i % i forhold til vekt av fisken før utvanning.



Figur 14: Vannbindingsevne for utvannet saltmoden fisk, ikke injisert og injisert med forskjellig innhold av proteinhydrolysat og salt (P = proteinhydrolysat, S = salt). Verdiene angir grad av vannbindingsevne, uttrykt som prosent gjenværende vann etter sentrifugering i forhold til opprinnelig vanninnhold i prøven.



Figur 15: Koketap for utvannet saltmoden fisk, ikke injisert og injisert med forskjellig innhold av proteinhydrolysat og salt (P = proteinhydrolysat, S = salt). Vektreduksjon i % i forhold til vekt av utvannet fisk før koking.

Forsøk 3 (se figur 13)

Ut fra målingene ser en at serie 17 % P, 10 % S har økt mer i vekt ved utvanning enn fisk som er injisert med saltlake, for både utvannet saltmoden fisk og for utvannet klippfisk. Utvannet saltmoden fisk fra serie injisert med saltlake har økt med 19 %, og tilsvarende har serien med proteinhydrolysat økt med 24 %. Klippfisk har økt med 24 % for fisk injisert med saltlake og 28

% for serien med proteinhydrolysat. Målingene viser ca. 5% bedre utbytte på utvannet fisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 10 % salt.

Forsøk 4 (se figur 14)

Målingene er utført på saltmoden fisk. Høyest vannbindingsevne har en i serie 4 (fisk injisert med 17 % proteinhydrolysat og 15 % salt) og denne serien har også det laveste koketapet. Som forventet viser resultatene at lav vannbindingsevne gir høyt koketap. Analysene viser at den ikke injiserte fisken (seire 1) har den laveste vannbindingsevnen og da også det høyeste koketapet.

Forsøk 4 (se figur 15)

Målingene er utført på saltmoden fisk og viser at fisk som har høy vannbindingsevne mister mindre vekt under koking. Saltmoden fisk fra serie 1 mister mest under koking, og det er også den som har lavest vannbindingsevne. Koketapet gjenspeiles i vannbindingsevnen, lavere vannbindingsevne gir høyere koketap.

Resultatene indikerer at fisk injisert med proteinhydrolysat øker ca. 5% mer i vekt under utvanning enn ikke injisert fisk. En har også høyere vannbindingsevne og lavere koketap for injisert fisk.

3.1.5 Kvalitetsvurdering

Forsøk 1 og 2

Det var en del feilflekking av råstoffet samtidig som det var av dårlig kvalitet, en del spalting og blod i nakkene. Dette var innledende forsøk for å justere injiserings-prosedyren. Det ble ikke foretatt kvalitetsvurdering av produktene.

Forsøk 3

I dette forsøket ble det benyttet trålfanget torsk (i alle de andre forsøkene ble det benyttet alaskatorsk). Fisken var av dårlig kvalitet, spaltet og med gule nakker. Det ble også flekke feil på råstoffet. Fisk som ble injisert med proteinhydrolysat fikk en gul-brun farge rett etter injisering (se bilde 5 side 33).

Saltmoden fisk som var injisert med proteinhydrolysat fikk en gul-grå farge i forhold til fisken som var injisert med fullmetta saltlake. Dette var også tendensen for klippfisk, men her var forskjellen mindre. Saltmoden fisk ble også vurdert som lite saltmoden noe som blant annet trolig skyldes at fisken ikke fikk nødvendig press under saltmodning.

Forsøk 4

Råstoffet i dette forsøket var av god kvalitet. Saltmoden fisk som var injisert med proteinhydrolysat fikk mer eller mindre synlige porer i fisken (svampaktig) (se bilde 6 side 34) og med avvikende lukt (kalk, basisk). Fargen på fisk injisert med proteinhydrolysat var gråere eller gulere enn fisk som var tradisjonelt produsert (se bilde 7 side 34). Serien med tradisjonelt produsert fisk var fast og fin og slik saltfisk skal være.

Klippfisken i dette forsøket var fin for ikke injisert (tradisjonelt produsert), mens fisk injisert med proteinhydrolysat ikke ble så godt tørket. Fargeforskjellene som ble registrert for saltmoden fisk var mindre fremtredende etter at fisken var tørket frem til klippfisk. Denne fisken ble også vurdert utvannet og trekt/kokt. Smakspanelet vurderte fisk injisert med proteinhydrolysat for ikke egnet til salgsformål på grunn av fargen. Smaksmessig var det ingen forskjell på injisert og

ikke injisert fisk, men fisk som var injisert med proteinhydrolysat skivet seg dårlig og hadde en mykere konsistens (mindre tyggemotstand). 2 av 7 personer i smakspanelet registrerte også en avvik i lukt for fisk som var injisert med proteinhydrolysat.

Forsøk 5

Råstoffet var av varierende kvalitet. For saltmoden fisk var normalt produsert fisk og fisk injisert med kalsium og salt ganske like i farge og konsistens. Det var heller ikke noe avvik i lukt. Serie 4 (injisert med proteinhydrolysat, salt og kalsium) skilte seg mest ut fra alle 4 seriene, den var mørkest, mest porøs i fiskekjøttet og ikke så godt saltmoden som de andre seriene (kan komme av for lite trykk under saltmodningen). Serie 3 (injisert med proteinhydrolysat og salt) kom mellom de to første seriene (1 og 2) og serie 4 i farge og porøsitet (se bilde 8 side 34).

Som klippfisk ble det ganske store forskjeller mellom seriene i dette forsøket når det gjelder tørking. Fisken var ujevnt tørka, dårligst tørka var fisk fra serie 4 (injisert med proteinhydrolysat, salt og kalsium), samtidig som normalt produsert fisk var for tørr. I farge var forskjellen mellom seriene mindre enn for saltmoden fisk, serie 3 og 4 var fortsatt mørkest.

Saltmoden fisk fra dette forsøket ble utvannet og prøvesmakt. Smakspanelet kom frem til at normalt produsert fisk var den beste og at fisk injisert med proteinhydrolysat hadde for mørk farge. Det ble også kommentert at fisk injisert med kalsium og proteinhydrolysat ikke skivet seg så godt som fisk produsert på tradisjonell måte. Det ble også registrert at fisk injisert med proteinhydrolysat hadde en mer avvikende lukt (metallisk).



Bilde 1: Traust injiseringsmaskin ved N. Sperre



Bilde 2: Fomaco injiseringsmaskin ved Olga Godø



Bilde 3: Nåle-broen på Fomaco maskinen ved Olga Godø. Injisering av proteinhydrolysat i forsøk 3.



Bilde 5: Fisk rett etter injisering av proteinhydrolysat forsøk 3



Bilde 6: Porer i injisert saltfisk... forsøk 4



Bilde 7: Saltfisk fra forsøk 4: fisk merket nr.65 fra serie 4 (injisert med 17 % proteinhydrolysat og 15 % salt), fisk merket nr 145 fra serie 1 (tradisjonelt produsert).



Bilde 8: Saltmoden fisk fra forsøk 5. Nr. på ark viser hvilke serier fisken kommer fra.

3.2 Bruk av transglutaminase til å løse spaltningsproblematikk hos Nils Sperre AS

3.2.1 Resultater og diskusjon for forsøkene med transglutaminase

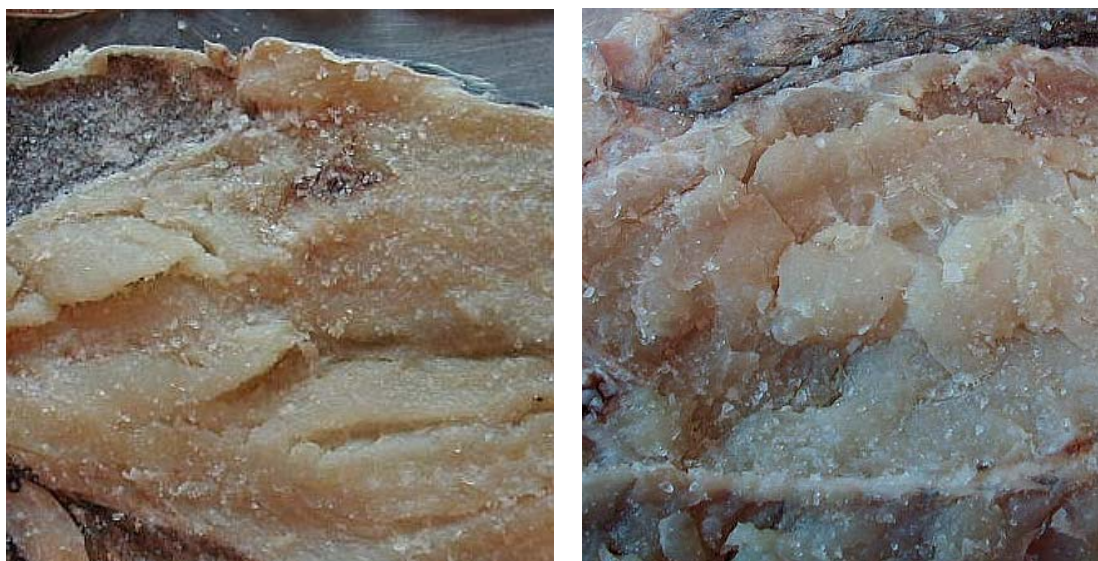
Av praktiske årsaker ble forsøkene med ferdig saltet fisk utført først. Deretter så man på mulighetene for å lime sammen fisken før salting, samt metoder for å reparere spaltninger etter ferdig produksjon av klippfisk. Til slutt ble det gjennomført en forsøksserie på makrellfileter etter ønske fra bedriften Nils Sperre AS.

Gjennom forsøkene på de ulike råstoffene fikk man kartlagt en del faktorer og problemstillinger som vil være viktige ved en eventuell videre utvikling av en industriell prosess. Dette gjaldt parametere som råstoffkvalitet, praktiske problemer med enzymløsningen, og andre ytre faktorer som virket inn på resultatet. I avsnittene under vil dette bli behandlet for de ulike typene råstoff.

3.2.2 Forsøk utført med saltfisk

Fisken som ble benyttet til forsøkene var vrakfisk fra 4.sortering, noe som hadde en ganske stor innvirkning på de resultatene som fremkom. Mye av fisken var direkte ødelagt, og spaltningsgraden var mye større enn ved normal fisk.

Den viktigste avgjørende faktoren for å få en vellykket sammenliming av spaltene var faktisk hvilken form glippene mellom muskelfibrene hadde. Enkelte av fiskene hadde store partier der det ganske enkelt manglet muskel, sannsynligvis fordi denne var skåret eller revet av underveis i prosessen ved et uhell. Eksempler på denne typen spalter er vist under i bilde 9. Disse partiene var svært vanskelig å restrukturere ved hjelp av enzymet transglutaminase. Årsaken til dette var at det ikke gikk an å presse de to flatene som skulle limes sammen mot hverandre slik at de var i kontakt mens enzymet virket. Dette var så og si fysisk umulig, og kan omtrent sammenlignes med å prøve å sette sammen to puslespillbiter som mangler en bit i midten.



Bilde 9: Bildene viser spalter i torskens som var vanskelige og restrukturere på grunn av at det ”manglet” hele biter med muskel.

En annen type spaltninger som ble utprøvd var den mere smale, lange og sammen-hengende typen som er vist i bilde 10. Denne typen spaltninger er også vanlig i den typen fisk som er av høyere sorteringsgrad (ikke bare hos vrakfisk av 4.sortering), og stikker ofte svært dypt ned i fiskemuskelens langs hele partiet. Restruktureringen av denne typen spaltninger innebar adskillig færre problemer, da enzymet var lett å påføre i den dype spaltningen og flatene enkle å klemme sammen i etterkant. Etter påføringen ble fisken lagt på pall på ordinær måte, noe som gjorde at fisken fikk et vist trykk slik at flatene som skulle limes sammen ble presset sammen.



Bilde 10: Bildene viser dype, smale og langsgående spalter i torskens som var forholdsvis enkle og restrukturere ved hjelp av det tilførte enzymet.

En annen faktor som var svært avgjørende for kvaliteten til det limte produktet var hvor i pallen fisken hadde ligget under saltmodningen. Fisken helt på toppen av pallen var veldig tørr og grov i kjøttet, og den svært inntørkede overflaten ga et dårlig grunnlag når limet skulle tilsettes. Flatene ble vanskeligere å klemme sammen fordi muskelkjøttet var seigt og stivt, noe som skapte problemer mens enzymet skulle binde muskelfibrene sammen. I tillegg var fisken såpass dehydrert at den trakk til seg enzymløsningen som en svamp, noe som gjorde at det gikk med svært mye løsning. Dette vil føre til at enzymkostnadene per kg fisk vil forhøyes, og vil således måtte tas i betraktning når man vurderer den økonomiske lønnsomheten i prosessen.

Den fisken som lå helt på bunnen av pallen var svært våt, og dersom fisken blir alt for fuktig kan dette også skape et problem. For at enzymet skal kunne virke optimalt må det komme i god kontakt med proteinene på overflaten av fisken, og dersom overflaten er full av vann kan dette bli vanskelig. Er fisken dryppende våt kan dessuten noe av den tilførte enzymløsningen renne ut av spaltene der den blir påført.

Etter et døgn på pall ble den limte fisken, samt referanseprøver som ikke var behandlet, analysert og vurdert med hensyn til spaltningsgraden. Resultatet var ikke spesielt positivt, da det ikke var mulig å se noen stor forskjell mellom de som hadde fått enzymbehandling og de som ikke hadde det. Ut fra dette kan man konkludere med at å tilsette enzym til ferdig saltet fisk innebærer for mange barrierer til at metoden vil egne seg. Problemene med det grove kjøttet gjør det umulig å få nok press mellom flatene som skal limes, slik at enzym- og arbeidskostnadene aldri vil kunne forsvares med en stor kvalitetsforbedring av råstoffet.

3.2.3 Forsøk utført med klippfisk

På forhånd var det ytret et ønske om å forsøke å tilsette enzymet til ferdig klippfisk. Resultatene som fremkom under arbeidet med ferdig saltet fisk viste at det oppstod store problemer når fisken var for tørr i overflaten. Da den ferdige klippfisken var adskillig tørrere og grovere i kjøttet enn den saltfisken som hadde ligget på toppen av pallen (som beskrevet i forrige avsnitt), ble det i samråd med bedriften Nils Sperre AS besluttet å droppe denne delen av prosjektet. Det ble sett på som en umulig oppgave å klare å klemme sammen sideflatene mellom spaltningene etter påføringen av enzymet, da fisken var veldig grov og seig i kjøttet etter tørkingen. Ut fra dette kunne man konkludere med at dersom transglutaminase skal brukes til å løse spaltningproblematikk i klippfiskproduksjon må enzymet tilsettes på et tidligere stadium, før tørkeprosessen er fullført og spaltningene er fysisk vanskelig å lime.

3.2.4 Forsøk utført med flekket fisk før salting

Den siste runden i prosjektet med salt- og klippfisk ble gjennomført med tilsetning av enzymet rett etter flekking. Her var det ingen problemstillinger knyttet opp mot at overflaten var inntørket og at muskelmassen var seig og grov, slik i forsøkene med ferdig saltet eller tørket fisk viste. Det ble lagt vekt på å integrere forsøkene så mye som mulig inn i den ordinære prosessen som kjøres i dag ved bedriften. Fisken ble flekket på vanlig måte, og fisk med høy spaltningsgrad ble fraktet inn på et siderom i produksjonslokalene for tilføring av enzymet. Det var betydelig lettere å klemme sammen spaltene i fisken på begynnelsen av prosessen før den var saltet eller tørket, og dette gjorde arbeidet med å påføre enzymet noe lettere rent fysisk.

En viktig faktor ved tilsatsen av enzymet var at løsningen stivnet forholdsvis raskt, noe som gjorde at man måtte være ganske effektiv under påføringen. Dersom løsningen var for stivnet når den ble lagt på fisken var den så klumpete av den ikke gå noe godt resultat. Forsøkene viste klart at temperaturen på fisken var en avgjørende faktor her. Dersom fisken var kald stivnet enzymet mye raskere enn om fisken var litt varmere etter et lengre opphold i romtemperatur. Ved et videre arbeid med denne prosessen er det derfor viktig å merke seg at denne faktoren kan være med på å virke inn på resultatet i stor grad.

Etter påføringen ble fisken lagt lagvis på en pall med salt i mellom, som vist på bilde 11. Dette ga et godt press mellom filetene etter at enzymet ble tilsatt, og hjalp trolig til for at enzymet kom i kontakt med begge de to flatene som skulle bindes sammen. Samtidig var dette noen som ikke avvek fra den ordinære fremgangsmåten ved produksjonen, og det presset som fisken fikk under forsøksrunden var eksakt lik det trykket som fisken får normalt.



Bilde 11: Bildet viser ferdig "limt" fisk som legges lagvis med salt i kar. Lagene skaper press mellom filetene slik at enzymet får bedre kontakt mellom flatene som skal sammenføres.

Etter at fisken var lagt til salting i kar, ble den kjørt videre gjennom den ordinære prosessen hos Nils Sperre AS. Etter ferdig salting ble fisken lagt om av kvalitetssjef Marie Hellevik, og spaltningensgraden ble vurdert og sammenlignet med fisk som ikke var utsatt for enzymbehandling. Resultatet for fisken med og uten enzym er vist på bilde 12A og figur 12B.

Bildene 12A og B var svært representative for hele partiet av fisk som ble brukt til forsøkene, og viste ingen klar skilnad mellom de to gruppene med prøver. Det var ikke mindre spaltninger i den torsk som var tilsatt enzymet, til tross for at enzymet ble tilsatt rett etter flekking.

Mesteparten av årsaken til dette bunner nok i at flatene som skulle sammenføres ikke kom i tilstrekkelig kontakt med hverandre under virkningstiden til enzymet. Tidligere forsøk som har vært gjennomført med enzymet på torsk har gitt svært gode resultater, men da har flatene som ble limt sammen ligget helt kant i kant mens limeprosessen pågikk. Man kan følgelig konkludere med at metoden egner seg dårlig også for nylig flekket fisk, i alle fall om man skal legge til grunne dagens produksjonsprosess ved Nils Sperre AS. Dersom enzymet transglutaminase skal benyttes til å fjerne spalter i klippfisk og tørrfisk krever dette en omlegging av selve prosessen, noe som ville innebære svært alvorlige økonomiske konsekvenser.



Bilde 12: Figuren viser fisk som er ferdig saltmoden ved bedriften Nils Sperre AS. A) illustrer fisk som er behandlet med enzymet transglutaminase, mens B) viser prøver som ikke er enzymbehandlet.

3.2.5 Forsøk utført med makrellfilet

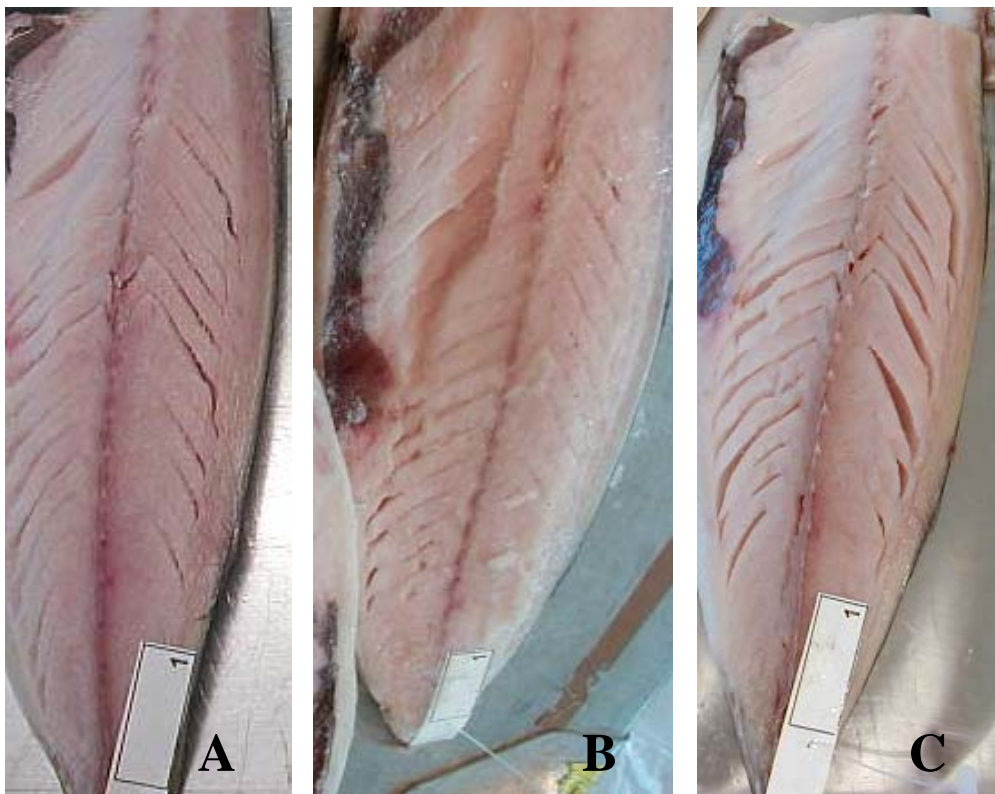
I motsetning til forsøkene som ble gjennomført med salt- og klippfisk, hadde man her ingen problemer med tørkede overflater og grov kjøttkvalitet. Også her ble det i samarbeid med kvalitetssjef Marie Hellevik ved Nils Sperre AS, lagt stor vekt på å tilpasse forsøkene etter slik prosessen går under normal filetproduksjon ved bedriften i dag.

I tillegg til fisk som ble tilsatt enzymet ble det kjørt referanseprøver som viste hvordan fisken var normalt sett uten enzymtilførsel. Det ble lagt vekt på at de to gruppene hadde fileter med lik spaltningsgrad, og man hadde i overkant av 20 fisk i hver gruppe. Ved en videre utvikling av en industriell prosess for liming ser man for seg tilførselen av enzymet som et prosesstrinn etter filetering og før frysing. Ved dette punktet var makrellen noe frosset i kjernen av muskelen, og det var uvisst om dette ville bli et problem for prosessen. På grunnlag av dette, ble det kjørt to runder med prøver, en der makrellen var fullstendig tint ved påføringen, og en der filetene bare ble tatt rett ut av linja og limt. En oversikt over prøvene er gitt i tabell 3.

Tabell 3: En oversikt over de 44 makrellfiletene som ble benyttet i prosjektet, og hvilken behandling de ble utsatt for under forsøkene.

Fiskenummer	Tilsatt enzym	Ytterligere tining etter fjerning fra produksjonslinja
1-10	Nei	Ja
11-24	Ja	Ja
25-35	Ja	Nei
36-44	Nei	Nei

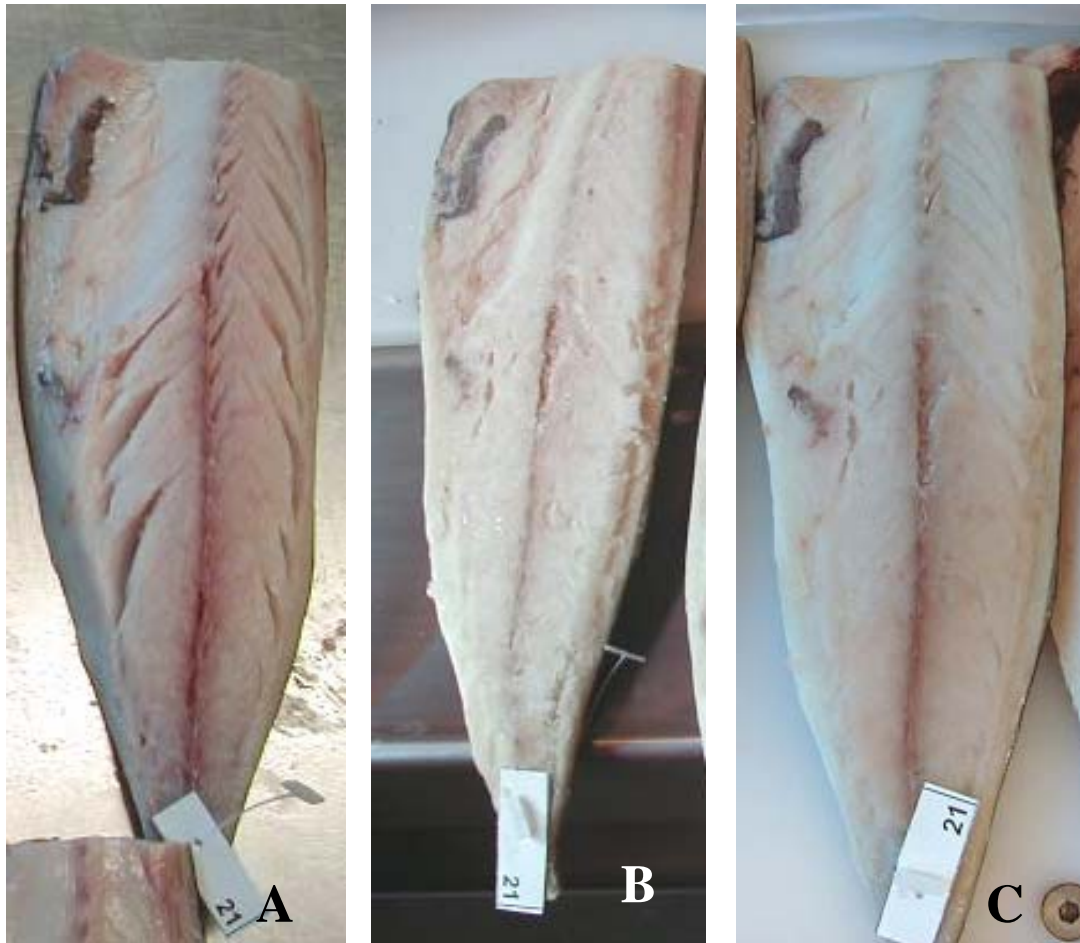
For å studere forskjellen mellom den fisken som ble limt og den fisken som ikke ble utsatt for noen spesiell behandling har man her valgt å bruke bilder av fisk 1 og 21 som eksempel. Begge filetene ble utsatt for ytterligere tining etter fjerning fra produksjonslinja, så rent bortsett fra enzymtilsatsen ble de to filetene behandlet helt likt. Bildet av filet nummer 1 som ikke ble limt er vist i bilde 13. Fileten er vist etter fjerning fra linja, etter frysing, samt etter frysing og påfølgende tining.



Bilde 13: Figuren illustrerer fileten merket som nummer 1, som ikke ble tilsatt enzymet for å restrukturere spaltningene i muskelkjøttet. A) viser fileten uten tilsatt av enzym etter den er tatt ut fra filetlinja B) er et bilde i frossen tilstand etter gjennomkjøring i platefryseren. C) viser fileten den samme fileten etter både frysing og påfølgende tining over natten.

Figur 13A viser en filet som har enkelte spaltninger i tint tilstand, men spaltningsgraden er forholdsvis beskjeden. Etter frysing kan man i figur 13B fortsatt se at enkelte av spaltene er mere tydelige, selv om de aller fleste ikke synes fordi fileten er frosset sammen. Ved tint tilstand ser man på bildet 13C at spaltene er enda tydeligere enn før frysing. Denne fileten illustrerte godt hvordan utseendet var til de filetene som ikke ble tilført enzym. Samtlige av filetene hadde få men synlige spaltninger som stakk dypt ned i fileten i frossen tilstand, og etter tining hadde alle store spaltninger. Her er det viktig å nevne at det fra bedriften sin side ble påpekt av fisken som ble kjørt gjennom linjene den dagen forsøkene ble gjennomført hadde en forholdsvis lav spaltningsgrad i forhold til man det normalt sett opererte med. Det er derfor grunn til å tro at de registrerte spaltene ville ha vært betydelig tydeligere dersom forsøket ble gjennomført ved et annet tidspunkt når spaltningene forekom oftere.

For å sammenligne med en limt filet kan man på bilde 14 se hvordan filet nummer 21 endret utseende ved den samme behandlingen som filet nummer 1, men med den ene forskjellen at enzymet her ble tilført.



Bilde 14: Figuren illustrerer fileten merket som nummer 21, som ble tilsatt enzymet for å restrukturere spaltningene i muskelkjøttet. A) viser før påføringen av enzymet. B) er et bilde i frossen tilstand etter liming og gjennomkjøring i platefryseren. C) viser fileten etter både liming, frysing og tining.

Makrellfilet nummer 21 ble betegnet av prosjektteamet som en typisk ”worst case”, det vil si at den hadde svært høy spaltningsgrad. Dersom man sammenligner bilde 13A og 14A ser man lett at utgangspunktet før prosessering faktisk var mye dårligere for filet nummer 21 som ble limt. Bilde 14B viser et godt eksempel på hvordan filetene så ut etter liming og frysing. Kun en av fem fileter viste små dype spaltninger slik den ubehandlede fileten gjorde, men overflaten var også noe endret på grunn av enzymtilsatsen. Mens den ulimte makrellen hadde en ru overflate med en del spaltninger, ga den limte makrellen et inntrykk at av overflaten var nærmest glasert. Det oppstod ingen fargeendringer som følge av enzymtilsatsen, men makrellen som inneholdt enzymet hadde i enkelte tilfeller et slags krateraktig mønster på overflaten. Utseendemessig så dette ut som små runde flekker som ikke var glasert. Dette mønsteret stakk imidlertid ikke dypt ned i fisken på samme måte som spaltningene gjorde. Det er mulig at dette kan ha noe med mengden eller måten enzymet ble tilført på. Dersom enzymmengden hadde blitt redusert, eller dersom enzymet hadde blitt jevnere påført ved f.eks. en dyse kunne trolig mye av denne effekten ha vært unngått.

Ved en sammenligning av bildene 13C og 14C ser man den virkningen enzymet hadde på makrellfiletene etter opptining. Mens bildet 13C viser store spalter, ser fileten på bilde 14C svært fin ut i forhold. Dette er til tross for at utgangspunktet i bilde 14 var mye dårligere enn i bilde 13.

Dette var en klar trend for alle de 44 filetene i tabell 1, og resultatet må derfor ses på som positivt.

En annen positiv registrering var at det ikke var noen synlig forskjell mellom filetene som var limt rett fra samlebandet, og de som var tint ekstra før sammenliming. Dette har nok sin årsak i at enzymet kun virker på overflaten av spaltene, og at så lenge fisken var tint i overflaten var dette tilstrekkelig til at enzymet kunne binde proteinene sammen. Dette letter en eventuell videreutvikling av en industriell prosess, fordi det ikke kreves at filetene må ha et opphold på linja mellom filetering og frysing. I tillegg ville frysetiden måtte forlenges noe dersom fileten hadde en høyere inngangstemperatur inn i båndfryseren. Det så heller ikke ut til at filetene tok skade av transportetappen på samlebandet rett etter limingen, til tross for at dette inkluderte en stort fall og en snuoperasjon av filetene før de ble kjørt inn på frysing.

4. VIDERE ARBEID

Gjennom prosjektarbeidet har en bygget opp vesentlig erfaring og kompetanse når det gjelder å benytte proteinhydrolysater under produksjon av saltfisk og klippfisk. Gjennom optimaliseringsforsøk i liten skala, har en kommet fram til en god sammensetning av injiseringsvæsken og produksjonsmåte for øvrig.

Farge:

Til injiseringsforsøkene ble det benyttet proteinhydrolysater produsert av rygger og avskjær fra flekkelinja til Nils Sperre AS. Dette biprodukt-materialet er forholdsvis blodfylt pga. blodranden som følger fiskeryggene, og gir en forholdsvis mørk farge på proteinhydrolysatet. Dette har antagelig også resultert i den noe mørke og lite tilfredsstillende farge særlig på saltfisk. I løpet av prosjektperioden ble det dessverre ikke anledning til å prøve annet proteinhydrolysat. En mulig forbedring av farge i sluttproduktene (saltfisk, klippfisk) kan oppnås ved å bruke et lysere proteinhydrolysat, evt. om en klarer å fjerne misfarge fra hydrolysatene. Ideelt sett bør injiseringsvæsken være klar (uten farge). Det er en forskningsoppgave å løse dette.

Utbytte:

Forsøkene i dette prosjektet ble utført i en skala mellom ca. 15 og 30 kg råstoff for hver serie. I forsøk 4 og 5 ble det benyttet serier med ca 30 kg råstoff, i forsøk 1, 2 og 3 varierte råstoff mengden for hver serie mellom ca. 15 og 30 kg. Resultatene tyder på at en kan oppnå forbedret utbytte på ca. 4% for saltfisk og ca. 6% for klippfisk i forhold til en "normal" produksjon. Dette bør verifiseres gjennom prøveproduksjon i større skala. Det bør også gjøres nøyere registreringer av tørkeprosessen. Småskalaforsøkene indikerer at den injiserte fisken trenger lenger tørketid. Prøvefisk som ble tørket sammen med "normal" produksjon var for "rå" etter uttak av tørke. Merkostnader ved lenger tørketid bør også dokumenteres.

Råstoff:

Forsøkene er gjort med frosset/tint torsk som råstoff. Det kan også være aktuelt å finne ut om effekten av bruk av proteinhydrolysater blir annerledes ved bruk av andre fiskearter og ved både ferskt og frosset/tint råstoff.

5. OPPSUMMERING OG KONKLUSJON

Gjennom prosjektarbeidet har en utviklet en metode for produksjon av proteinhydrolysat av avskjær/biprodukter fra flekkelinje (utført ved Novozymes AS). En har også utviklet og optimalisert en prosess for injisering av lake med proteinhydrolysater fra biprodukter, og påfølgende produksjon av saltfisk og klippfisk.

Når det gjelder målinger, analyser og vurderinger kan følgende oppsummeres:

Farge:

Saltfisk og klippfisk injisert med proteinhydrolysat fra fiskerygger fikk en gulere og mørkere farge enn "normal" produksjon.

Utbytte:

Injisering med proteinhydrolysat ga maks 4 % bedre utbytte for saltmoden fisk og maks 6 % bedre utbytte for klippfisk – i forhold til ordinær produksjon. Det var imidlertid vanskeligere (tok lengre tid) å få tørket injisert fisk fram til klippfisk. Resultatene bør verifiseres med forsøk i større skala.

Utvannet fisk:

Det ble oppnådd maks 5 % høyere vektøkning for fisk injisert med proteinhydrolysat i forhold til ordinær produksjon. Det var også høyere vannbindingsevne og mindre koketap for fisk injisert med proteinhydrolysat.

KONKLUSJON

Proteinhydrolysat fra marine biprodukter – anvendelse i saltfisk/klippfisk

Ut i fra det FoU-arbeidet som er gjennomført, kan det konkluderes med at det er teknisk mulig å produsere proteinhydrolysat fra avskjær/biprodukter fra flekkelinje, injisere en lake av proteinhydrolysat i flekket fisk og produsere saltfisk og klippfisk.

Det kan også konkluderes med at injisering av proteinhydrolysat benyttet i disse forsøkene, gir noe mørkere og gulere farge på saltfisk og klippfisk fra frosset/tint torsk enn ved ordinær produksjon. Det kan også konkluderes med at det er mulig å oppnå en utbyttegevinst i størrelsen 4-6 % for saltfisk og klippfisk i forhold til ordinær produksjon. Sistnevnte konklusjon anbefales for øvrig verifisert gjennom forsøk i større skala.

Det er gjennomført forsøk med ”liming” av spalter i saltfisk/klippfisk ved bruk av transglutaminase – enzymer. Resultatene viser at på grunn av grov og seig struktur i kjøttet, er dette vanskelig å få til. For makrellfilet, derimot, viste metoden seg å fungere godt.

Bruk av transglutaminase til å løse spaltingsproblematikk hos Sperre AS

Ut fra forsøkene som ble gjennomført med klippfisk og saltfisk kan man konkludere med at en bruk av transglutaminase til å sammenføre spaltene byr på nokså mange utfordringer. Først og fremst skyldes dette praktiske problemer som bunner i at fiskekjøttet er veldig grovt og seigt, og at det derfor er fysisk vanskelig å lime sammen muskelfibrene. Til tross for at man også gjorde utprøvinger rett etter flekking var det likevel store problemer knyttet opp mot dette dersom man la til grunn dagens prosess.

Dersom man skal jobbe videre mot en limeteknologi med klippfisk eller saltfisk som råstoff skal man sørge for at filetene ikke bare settes under et press på toppen, men fra flere sider slik at spaltningene ble presses sammen. Videre må man sørge for en rask påføring slik at enzymløsningen ikke klumper seg på den kalde fisken. Det er foreløpig ingen grunn til å tro at den høye saltkonsentrasjonen i fisken har noen negativ innvirkning på enzymet. Tidligere forsøk har vist at enzymet katalyseres av NaCl, men dette er det vanskelig å ha noen vurdering om ut fra disse forsøkene i og med at resultatene var så dårlige i utgangspunktet.

Forsøkene gjennomført med makrell viste at metoden egnet seg svært godt, da man så stor forskjell mellom de filetene som var behandlet med enzymet og de som ikke var det. Dette gjaldt spesielt etter at filetene var tint. Tidligere studier (SINTEF Fiskeri og havbruk AS, 2002) har vist

at enzymet er svært avhengig av fettinnholdet i råstoffet. Bindingsegenskapene påvirkes negativt av høyt fettinnhold, og dessuten virker enzymet bedre på fersk fisk enn frossen på grunn av at proteinene i muskeloverflaten denatureres ved fryselagring. Til tross for at fisken var både fryselagret og fet så metoden ut til å fungere utmerket i dette prosjektet.

Gunstig var det også at enzymet kunne påføres direkte på linja mellom filetering og frysing, uten en unødvendig mellomagring for tining. Resultatene ble også gode til tross for at filetene ble utsatt for en transportetappe i etterkant av påføringen, noe som kunne ha forstyrret under virkningstiden til enzymet. Dersom metoden skal forbedres ytterligere må påføringsteknikken forbedres, slik at man får en jevnere applisering av enzymløsningen som sikrer en pen og jevn overflate på det ferdige produktet. En industrielt utviklet påføringsmekanisme ville også trolig ha redusert enzymkostnadene betraktelig. Det er følgelig all grunn til å tro at denne limeteknologien kan ha en betydelig nytteverdi i makrellproduksjonen hos Nils Sperre AS, kanskje spesielt i høstsesongen da spaltningsgraden er mye høyere enn da forsøkene ble gjennomført i april.

6. REFERANSER

- Ajinomoto; hjemmeside www.ajinomoto.com mars 2003, samt personlig meddelelse fra Sales Manager Uwe Weiler ved Ajinomoto Europe Sales GMBH (Hamburg) i april 2003.
- Amarowicz, R, Karamac, M. og Shahidi, F., 1999. Synergistic activity of capelin protein hydrolysates with synthetic antioxidants in a model system. *Journal of food lipids*, **6** (4), 271-275.
- Børresen, T. 1980. Nyutviklede metoder for bestemmelse av vannbindingsevne, saltvannsbindingsevne og koketap i fiskemuskel. FTFI-rapport 663,1-7-2 1980, Tromsø. |
- Dickinson E. (1997) Enzymic crosslinking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization. *Trends in Food Science & Technology*, **8**.
- Erikson, U., Singstad, T.E., Veliyulin, E. Og Aurand, M., 2000. The use of ²³Na- and ¹H-NMR to monitor changes in fillet salt and water contents during the salting process of cod. Foredrag holdt på 30. WEFTA møte på Færøyene 19-22 juni 2000.
- Gartzia, I. og Peres-Villarreal, B., 2000. Protein hydrolysates from under-utilised fish species (*Scomber scombus*) as a functional food ingredient. Foredrag holdt på 30. WEFTA møte på Færøyene 19-22 juni 2000.
- Gildberg, A., 1992. Recovery of Proteinases and Protein Hydrolysates from Fish Viscera. *Bioresource Technology*, **39**, 271-276.
- Gildberg, A., 1993. Enzymic Processing of Marine Raw Materials. *Process Biochemistry*, **28**, 1-15.
- Hatate, H., Numata, Y. og Kochi, M., 1990. Synergistic Effect of Sardine Myofibril Protein Hydrolyzates with Antioxidants. *Nippon Susian Gakkaishi*, **56** (6), 1011.
- Kristinsson, H.G. og Rasco, B.A., 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Food Science and Nutrition*, **40** (1), 43-81.
- Liaset, B., Lied, E. og Espe, M., 2000. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation. *J Sci Food Agric*, **80**, 581-589.
- Nielsen, P. M. (1995) Reaction and potensial industrial applications of transglutaminase- review of litterature and patents. *Food biotechnology*, **9**.
- Shahidi, F. og Synowiecki, J., 1996. Alkali-assisted extraction of proteins from meat and bone residues of harp seal (*Phoca groenlandica*). *Food Chemistry*, **57** (2), 317-321.
- Shahidi, F. og Synowiecke, J., 1997. Protein hydrolyzates from seal meat as phosphate alternatives in food processing applications. *Food Chemistry*, **60** (1), 29-32.
- SINTEF Fiskeri og havbruk AS (2002) Rapport fra prosjekt nr. 850062.00: *Liming av spaltet filet fra laks og hvitfisk*, oppdrag utført for Fiskeri og havbruksnæringens landsforening.
- Willemsen, H.M., 2000. Resultat fra forsøk hos saltfiskprodusent. Upubliserte data. (Ansatt Møreforsking)
- Zhu, Y., Rinzema, A., Tramper, J. og Bol, J. (1995) Microbial transglutaminase- a review of its production and application in food processing. *Appl Microbiol Biotechnol*, **44**.

7. VEDLEGG

Vedlegg 1: Forsøk 1: Innkjøringsforsøk 13. september 2001

Vedlegg 2: Forsøk 2: Innkjøringsforsøk med proteinhydrolysat 27. september 2001

Vedlegg 3: Forsøk 3: Innkjøringsforsøk 8. januar 2002, Olga Godø AS

Vedlegg 4: Forsøk 4: Optimaliseringsforsøk 11.06.02, Godøya

Vedlegg 5: Forsøk 5: Injiseringforsøk m/kalk 06.11.02

Vedlegg 6: Skjema for ”smakstest - beskrivelse