

Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke: Oppfølgingsprosjekt

Henning Egede-Nissen, Øistein Høstmark, Bjørn Ole Haugsgjerd, Gjermund Vogt og Åge Oterhals





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 470 ansatte. Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra, Averøy og Tromsø.

Hovedkontor Tromsø
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: nofima@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Rapport

 ISBN: 978-82-7251-991-8 (trykt)
 ISBN: 978-82-7251-992-5 (pdf)

 Rapportnr.:
 21/2012

 Tilgjengelighet:
Åpen

<i>Tittel:</i> Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke: Oppfølgingsprosjekt Fagrapport 1	<i>Dato:</i> 18. mai 2012
<i>Forfatter(e):</i> Henning Egede-Nissen, Øistein Høstmark, Bjørn Ole Haugsgjerd, Gjermund Vogt og Åge Oterhals	<i>Antall sider og bilag:</i> 19
<i>Oppdragsgiver:</i> FHF – Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond	<i>Prosjektnr.:</i> 21103
<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF#900547	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF#900547
<i>Tre stikkord:</i> Sildemelke, lagringsstabilitet, sildemelkepulver	
<i>Sammendrag: (maks 200 ord)</i> <p>Innledende kartlegging av gonadeutvikling i NVG-sild gjennom fangstsesongen gir indikasjoner på at melke har en raskere våtvektutvikling enn rogn.</p> <p>Fryselagring av sildemelke over 9 måneder har vist at råstoffet holder seg stabilt og kan lagres fra en fangstsesong til den neste. Resultatene viser noe effekt av vakuumpakking, mens lagring ved minus 20 eller 30 °C ser ut til å ha mindre betydning.</p> <p>Ut fra tørkemetoder som ble testet i labskala (frysetørking og vakuamtørking) var det ikke mulig å oppnå et pulverprodukt med akseptabel lukt og smak etter vannfjerning. Under den lange tørketiden som kreves i disse tørkene utsettes produktet for lipidoksidasjon og dannelse av trimetylammin (TMA). Uten kontinuerlig omblending eller fluidisering av tørkegodset er det ikke mulig å oppnå effektiv tørking. Bruk av indirekte damp tørke i pilotskala fungerte også dårlig grunnet dannelse av belegg på heteflatene.</p> <p>Basert på nyutviklet teknologi ved Nofima har det lyktes å fremstille et tørket produkt av hel melke fra NVG-sild med god smak og lukt uten forutgående separering av lipidfraksjonen. Et tilfredsstillende resultat forutsetter god kontroll med prosessbetingelser for å unngå lipidoksidasjon og dannelse av TMA. Det gjenstår arbeid for å se på produktets lagringsstabilitet over tid, med eller uten tilsetning av antioksidanter.</p> <p>Alternative metoder for måling av lipidoksidasjon i marine lipider har vært prøvd ut på sildemelkepulver. Oxipres har klare begrensninger, mens indirekte måling av flyktige komponenter med headspace GC-MS ser ut til å gi bra samsvar med sensoriske egenskaper.</p>	

Forord

Prosjektet «Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke» er i sin helhet finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF), og er et ledd i fondets satsing for å bedre utnyttelsen av restråstoffet i pelagisk sektor. Ferdigstillelse er forskjøvet til 31.12.12, grunnet behov for mer tid til gjennomføring av lagringsstudier på tørket sildemelke. Prosjektet har vært inndelt i flere arbeidspakker, hvorav en på metoder for sortering av rogn og melke utført av SINTEF Fiskeri og havbruk (Østvik, 2011). Dette er første fagrapport, en ny fagrapport for siste del av prosjektet kommer mot slutten av 2012 i tillegg til sluttrapporteringen.

Restråstoff fra sild har vært skaffet til veie fra Norway Pelagic, i stor grad fra fileteringsanlegget i Kalvåg. Bedriften har velvillig bidratt til at uttaket av ferskt restråstoff har gått kvalitetsmessig optimalt og smidig for seg.

Innhold

1	Innledning	1
2	Materialer og metoder	2
2.1	Råstoff.....	2
2.2	Tørkeforsøk.....	2
2.3	Akselererte oksidasjonstester	3
2.4	Kjemiske analyser	3
2.5	Fryselagringsforsøk.....	3
3	Resultater og diskusjon.....	4
3.1	Kartlegging av årstidsvariasjoner	4
3.2	Sikring av høykvalitets råstoff	6
3.3	Metoder for å følge lipidoksidasjon	7
3.3.1	Måling av oksidativ stabilitet med Oxipres.....	7
3.3.2	Flyktige organiske forbindelser målt med headspace GC-MS	9
3.4	Fryselagring av sildemelke.....	10
3.5	Tørking av sildemelke	13
3.5.1	Tørkeforsøk i laboratorieskala	14
3.5.2	Tørking i pilotskala.....	15
4	Konklusjoner	17
5	Referanser.....	18

1 Innledning

Andelen fisk som fileteres i Norge er økende, og med det også mengde avskjær eller restråstoff. Dette restråstoffet har tradisjonelt vært ansett som lavverdig og gitt liten fortjeneste. Ut fra RUBINs varestrømsanalyse for 2010 ble det registrert 278 000 tonn restråstoff fra torsk (hvorav 178 000 tonn dumpet), 360 000 tonn fra pelagisk (sild), og 261 000 tonn fra oppdrett (i hovedsak laks). I stor grad har samfengt restråstoff blitt anvendt til fremstilling av fiskemel og fiskeolje, alternativt syrekonservert og bearbeidet til ensilasjekonsentrat. Framstilling av marine lipider fra restråstoff har lenge vært i fokus, men i økende grad også interesse for å utvikle marine proteiner/peptider og bioaktive komponenter med et forventet stort markedspotensiale.

Mengde restråstoff fra filetering av sild utgjør ca. 50-60 % av rund fisk. For å maksimere verdien av restråstoffet kan det være ønskelig å vurdere enkeltfraksjoner (eksempelvis hode, rygg, innvoller, buklister, gonader) hver for seg. På sildegonader har det vært gjort mye på rogn. I Alaska går så å si all hunnsild, med unntak av gyteferdig sild, til rognproduksjon (Sathivel, 2003). Sildemelke har imidlertid hatt liten utnyttelse, selv om det er kjent at produktet har høy ernæringsmessig verdi (Huynh, 2007). En liten andel har gått i begrenset bearbeidet form til konsum i land som England, Russland, Ukraina og noen Øst-asiatiske land.

Prosjektet «Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke» har hatt som mål å utvikle et tørket produkt av sildemelke med akseptabel lukt og smak etter to års lagring. Sildemelke har i likhet med silderogn et betydelig innhold av flerumettede fettsyrer (PUFA), og dette gjør råstoffet utsatt for lipidoksidasjon. I tillegg er innholdet av trimetylaminoksid (TMAO) høyt. Den komplekse sammensetningen kan være en årsak til at det er lite tilgjengelig litteratur på tørking av sildemelke.

Vannaktiviteten i et marint pulverprodukt har vesentlig innvirkning på lipidoksidasjonen ved siden av faktorer som innhold av flerumettede fettsyrer, eksponering for oksygen og lys, samt tilstedeværelse av naturlige pro- og antioksidanter. Både høy og lav vannaktivitet gir raskere lipidoksidasjon enn midlere vannaktivitetsnivåer (Nelson, 1992). Labuza (1972) rapporterer hvorfor lipidoksidasjonen akselererer når vannaktiviteten kommer under det optimale nivået.

Trimetylaminoksid (TMAO) kan omdannes enzymatisk til dimetylamin (DMA) og formaldehyd (FA) ved fryselagring av fisk (Sotelo, 1995). TMAO vil reduseres til trimetylamin (TMA) ved bakteriell enzymaktivitet (Miller, 1973). TMA kan også dannes ikke-enzymatisk. Tokunaga (1975) har undersøkt ikke-enzymatisk omdanning av TMAO i flere marine organismer, og funnet at termisk nedbrytning til TMA og DMA/FA skjer ved temperaturer helt ned i 55-60 °C. Hemoprotein akselererer effektivt denne nedbrytningen i favør av TMA-dannelse.

2 Materialer og metoder

2.1 Råstoff

Håndtering av sildemelkeråstoff. Fersk sildemelke fra NVG-sild (*Clupea harengus*) ble manuelt plukket ut fra samfengt restråstoff direkte på fileteringslinjen ved Norway Pelagic, Kalvåg. Sildemelken ble lagt på is uten forutgående skylning, og vakuumpakket i små enheter (ca. 0,5 og 1 kg) så snart det var praktisk mulig. Melken ble så frosset raskt inn i frysetunnel (singelfryst) før overføring til fabrikkens fryselager ved minus 20 til minus 25 °C. Ved ankomst Nofima ble sildemelken overført til fryser ved minus 33 °C, mens initiale prøver (0-prøver) ble lagret ved minus 80 °C. Sildemelke til pilotskalaforsøk ble levert fra Norway Pelagic Kalvåg etter innfrysing i platefryser (20 kg blokker pakket i oksygenpermeabel plast).

Kartlegging av sesongvariasjoner. Hel sild i et antall av 10-20 ble innhentet fra Norway Pelagic i månedene november, desember, januar og februar. Sildegonader (rogn og melke) ble tatt ut og veid på våtvektbasis, og gjennomsnittlig vekt ble beregnet for hel sild og gonader. Deretter ble gonadeindeksen regnet ut som våtvekt gonade pr våtvekt sild x 100 %.

2.2 Tørkeforsøk

Forsøk i laboratorieskala. Vakuumpakkede sildemelkeprøver på ca. 0,5 eller ca. 1 kg ble tint over natt i inkubatorskap ved +2 °C. Alle sildemelkeprøver, unntatt en prøve som gikk direkte til frysetørking, ble varmebehandlet ved 75-80 °C i kasserolle uten fortykning, og under kontinuerlig manuell omrøring i 10-15 minutter. Før videre bearbeiding ble temperaturen justert ned til 30-40 °C (maksimum) ved avkjøling i vannbad. Varmebehandlet sildemelke ble tørket videre på to måter:

(1) Frysetørking. Etter innfrysing til minus 23 °C i 2-3 timer, ble prøven overført til en Leybold-Heraeus GT 316 frysetørke. Platetemperaturen ble stilt inn på 24 °C ved et trykk på 1 mbar i kammeret, økende til 26 °C siste 20 timer ved trykk ned mot 0,5 mbar. Temperaturen på kondensplaten ble satt til minus 50 °C. Tørketid 72 eller 96 timer. Ved overføring i pose ble produktet blåst med nitrogen, og siden formalt på en Retsch-mølle.

(2) Vakuamtørking. Varmebehandlet sildemelke ble overført i et tynt skikt i en aluminiums prøvebakke, og satt på en hylle i vakuamtørke type Binder VDL 53. Tørkeforsøk ble gjennomført med platetemperatur 50, 60 og 80 °C og trykk i området 5-20 mbar.. Tørkeforløpet ble fulgt gjennom kontinuerlig registrert tap av vekt. Tørkesyklusen ble avbrutt og vakuumet opphevet 1-2 ganger for å bryte opp det stasjonære og kompakte tørkeskiktet. Ferdig tørket produkt ble formalt på en Retsch-mølle. Alternativ forbehandling ble gjennomført med autoklaving av frossen melke i vakuumposen: En prøve uten tilsats, og en med tilsats av melkesyre (1 % w/v). Prøvene ble tørket i vakuamtørkeovn ved 50 °C og behandlet som beskrevet ovenfor.

Forsøk i pilotskala. 100 kg sildemelke i frosne plater, à ca 20 kg, ble tint ved romtemperatur over natt. Sildemelken ble tilsatt ca. 10 % vann, og varmebehandlet ved sirkulasjon over en

varmeveksler ved 80-85 °C i 5-10 minutter. Varmebehandlet sildemelke ble tørket ved bruk av indirekte damp tørke (Rotadisc, Stord Bartz)) og varmluftstørke

2.3 Akselererte oksidasjonstester

Oksidasjonsstabilitet i tørket sildemelkepulver ble testet ut i en ML Oxipres apparatur (Mikrolab Aarhus A/S) ved oksygentrykk 5 bar og prøvemengde 50 g (tilsvarer ca. 5 g fett). Forløpet for reduksjon av oksygentrykk over tid ble registrert ved tre ulike temperaturer: 40, 60 og 80 °C. Helningskoeffisienten for hver temperatur ble beregnet og brukt som mål på oksidasjonshastighet under akselererte betingelser.

Parallelt med screeningen basert på Oxipres-metoden ble det benyttet en modifisert Schaal-oven test med basis i AOCS metode Cd 8-53. En pulverprøve ble overført til en erlenmeyerkolbe og inkubert ved 60 °C. Flyktige oksidasjonsprodukter i headspace ble adsorbent i en karbonfilterampulle og målt etter desorpsjon ved hjelp av gasskromatografi-massespektrometri (GC-MS) (Olsen, 2005). Metoden gir et mer detaljert bilde av hvilke kjemiske komponenter som dannes under oksidasjon i prøven med innvirkning på lukt og smak.

2.4 Kjemiske analyser

Totalt fett (Bl&D fett) ble analysert etter Bligh & Dyer (1959). Fettsyrefordelingen ble analysert etter AOCS Ce 1b-89, og lipidklassifisering med HPLC etter en metode beskrevet av Moreau (2006). Totalt flyktig nitrogen (TVN), trimetylaminoksid (TMAO) og trimetylamin (TMA) ble bestemt med Conway og Byrnes mikrodiffusjonsmetode (1933).

Oksidasjonsnivå ble fulgt ved analyse av peroksidtall (PV; AOCS Cd 8b-90) for primære oksidasjonsforbindelser, og thiobarbitursyre reaktive komponenter (TBARS) for påvisning av sekundære oksidasjonsforbindelser (Tarladgis, 1960; Crackel, 1988).

2.5 Fryselagringsforsøk

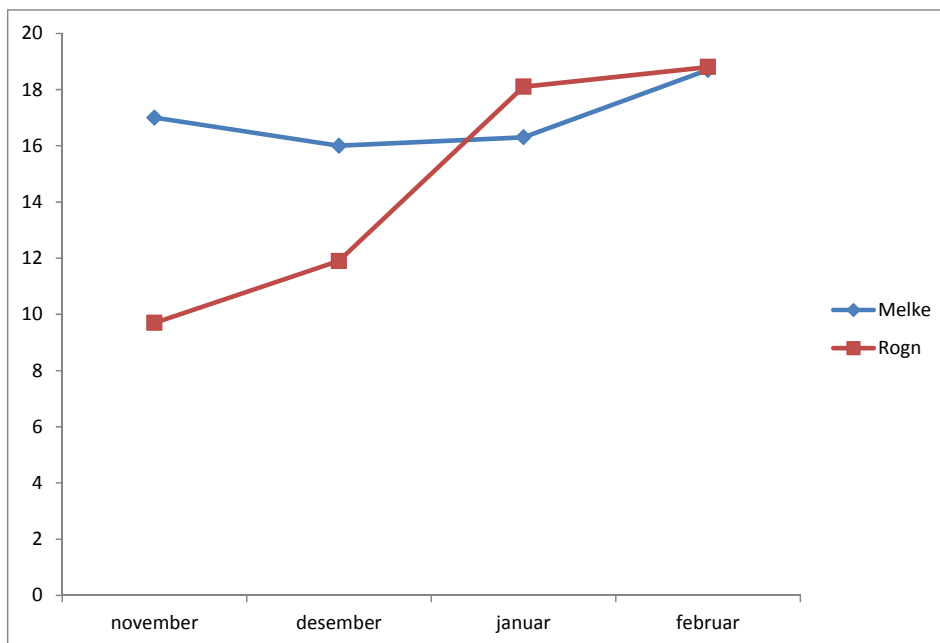
Forsøksdesign. Vakuumpakket sildemelke ble etter kort tids opphold i fryser (minus 80 °C) fordelt i 0,5 kg pakninger. Et 3-faktorielt lagringsforsøk ble brukt for å studere effekten av temperatur (minus 20 °C og minus 30 °C), emballering (åpent (dvs. pakket i matpapir) vs. vakuumpakket), og lagringstid (0, 3, 6, 9 måneder) på endringer i oksidasjonsnivå (PV og TBARS) og flyktige N-forbindelser (TVN, TMAO og TMA). Prøvene ble satt opp i stativ med god lufting mellom prøvene.

Statistikk. Forsøksresultatene ble behandlet ved bruk av faktoriell ANOVA modulen i Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., USA) og Tukey HSD post-hoc test.

3 Resultater og diskusjon

3.1 Kartlegging av årstidsvariasjoner

Utviklingen av gonadeindeksen for fire sildemelkeuttak spredd over fangstsesongen for NVG-sild framgår av fig. 1.



Figur 1 *Endringer i gonadeindeks for rogn og melke fra NVG-sild (N = 10-20) sesongen 2010/2011. Indeksen fremkommer som våtvekt gonade dividert med totalvekt sild x 100.*

Uttakene i januar og februar ble foretatt med ca. 10 dagers mellomrom. Resultatene viser at rogn- og melke-indeksen for NVG-sild utvikler seg forskjellig. Melkesekken oppnår raskt full størrelse, mens rognsekken utvikles gradvis og får full vekt først tett opp til modningen i februar. Melken har tilnærmet samme konsistens og farge gjennom hele sesongen, mens rognen blir betydelig lysere. Resultatene bekrefter dermed at det er mulig å få en jevn tilgang på sildemelkeråstoff i hele fangstperioden.

Sildemelke blir hevdet å ha en svært gunstig ernæringsmessig sammensetning med potensielle helsemessige effekter. Tilgjengelig kjemisk dokumentasjon er imidlertid begrenset og det er derfor her foretatt en del analyser som belyser endringen av interessante komponenter gjennom sesongen (Tabell 1). Resultatene er basert på få stikkprøver fra forskjellige fangstområder og bør følges opp med nye målinger for bedre å kartlegge variasjoner i kjemisk sammensetning.

Tabell 1 Endringer i kjemisk sammensetning i melke fra NVG-sild gjennom fangstsesongen 2010/11. Aminosyrer inkluderer ikke tryptofan og cystein.

Analyser/prøvemerkning	Nov. 2010	Des. 2010	Jan. 2011	Feb. 2011
Tørrstoffinnhold, %	23,0	24,2	25,9	25,3
Råprotein (Nx6,25), g/100 g	21,7	22,3	24,5	24,0
Aminosyrer, g/100g	12,5	-	-	13,8
Aske, %	2,2	2,2	2,5	3,0
Fett totalt (Bl&D), %	4,2	4,3	4,3	5,0
Fettsyreprofil: - EPA, g/100 g fett	7,9	-	-	8,0
- DHA, g/100 g fett	23,2	-	-	22,5
- Sum PUFA	35,0	-	-	33,3
- Sum MUFA	10,3	-	-	9,2
- Sum SFA	15,0	-	-	14,1
Total flyktig N, mg/100 g	10,5	11,7	12,9	12,6
Trimetylamin-N, mg/100 g	<1	<1	<1	<1
Trimetylaminoksid-N, mg/100 g	85,7	69,4	92,9	101,7

Av tabellen framgår det at det er en stigning i innholdet av de vanlige ernæringskomponentene protein, fett og mineraler (aske) gjennom sesongen, og det bekreftes også av en økning i tørrstoffinnholdet. Aminosyresammensetningen (AA) gir et bilde av innholdet av rent protein. Analysen viser at aminosyrer (tryptofan og cystein ikke analysert) utgjør kun ca 60 % av råproteinmengden (Nx6,25). Den store differansen har to forklaringer: Sildemelke er uvanlig rik på aminosyren arginin, som har en høy prosent nitrogen (4 N-atomer i molekylet; Magnusson, 1952). Melke har et høyt innhold av DNA med nitrogenholdige nukleinsyrer. Oliva (1991) gir en beskrivelse av hvordan DNA er assosiert med basiske proteiner i fiskemelke.

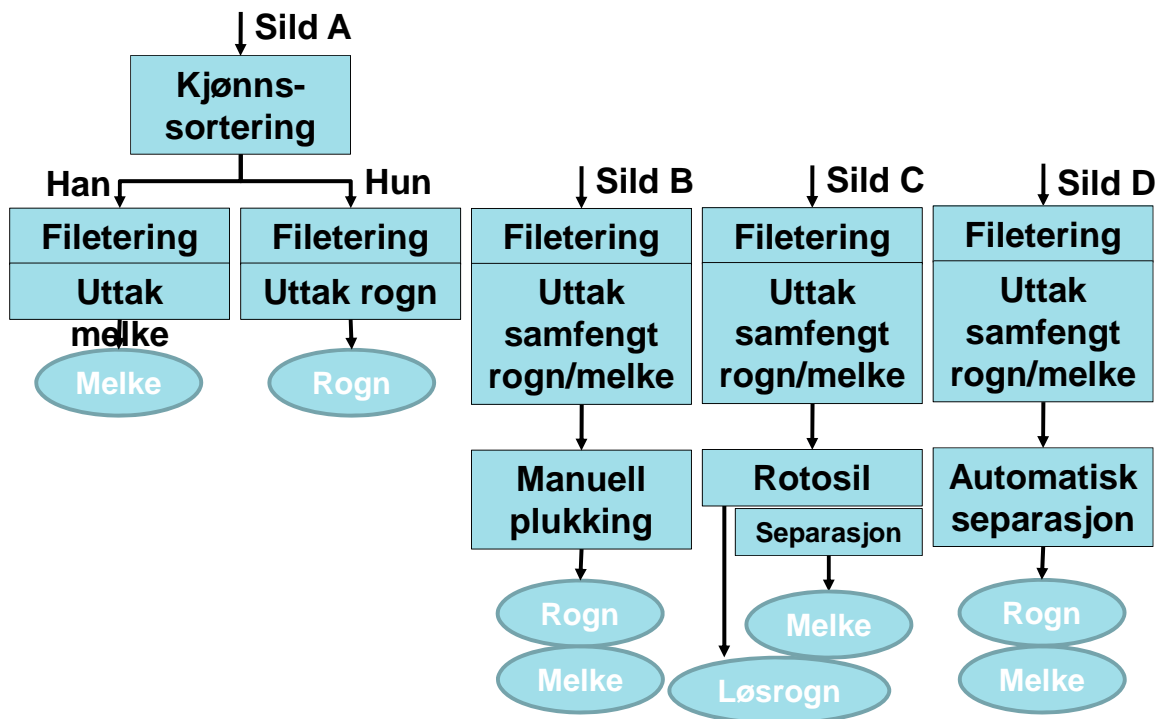
Totalt fettinnhold øker noe gjennom sesongen og er høyest i moden melke. Fettsyreprofil i prøver fra november og februar viser små endringer gjennom sesongen, og analysene bekrefter en svært gunstig ernæringsmessig fettsyresammensetning. Det høye innholdet av EPA og DHA (Tabell 1) reflekterer en mobilisering av depotfettet gjennom gytevandringen med omfordeling av omega-3 fettsyrer til gonadene (Huynh, 2007). Sildemelke inneholder også et meget høyt nivå DHA relativt til EPA.

Sildemelke har et høyt innhold av osmoregulanten trimetylaminoksid (TMAO). Omdanning av TMAO til den flyktige komponenten trimetylamin (TMA) er et tegn på begynnende nedbrytning av fiskeråstoffet og kjennetegnes ved en ubehagelig lukt. Trimetylamin kunne ikke påvises i sildemelkeprøvene som har vært tatt ut. Dette bekrefter en meget høy kvalitet på råstoffet.

3.2 Sikring av høykvalitets råstoff

Dersom videreforedling av sildemelke skal gi gode produkter må det sikres et godt utgangspunkt, med andre ord at råstoffet håndteres slik at det ikke forringes i fileteringsprosessen. Vasking av melken ble innledningsvis forsøkt for å fjerne blodrester, rognkorn, etc. som kan følge med, men dette ble gått vekk i fra ettersom melkesekkene er meget ømfintlige for mekanisk bearbeiding og tok lett skade av vaskingen. Vi prioriterte istedenfor umiddelbar overføring på is, rask vakuumpakking, og deretter innfrysing til < minus 25 °C.

I et delprosjekt i regi av Sintef Fiskeri og Havbruk (Østvik, 2011) ble det kartlagt status for teknologiske løsninger når det gjelder sortering av restråstoff fra sildefileteringen. Utgangspunktet her må være hygienisk gode løsninger. Metodene for uttak/separering av gonader er oppsummert i Figur 2.



Figur 2 Oversikt over alternativer for uttak av melke og rogn fra sild (Østvik, 2011).

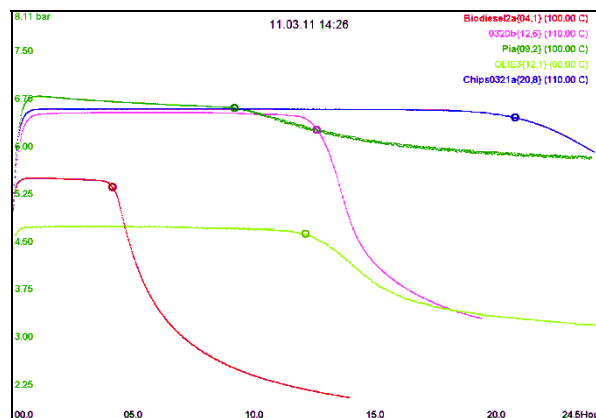
Alternativ A undersøkes i et pågående prosjekt (FHF #900387). Alternativ C gir god løsrogn, men river opp melkesekkene på en måte som antas å gjøre melken uegnet for videreforedling. Lav utnyttelsesgrad av melke har gjort alternativ D lite aktuell fram til nå.

3.3 Metoder for å følge lipidoksidasjon

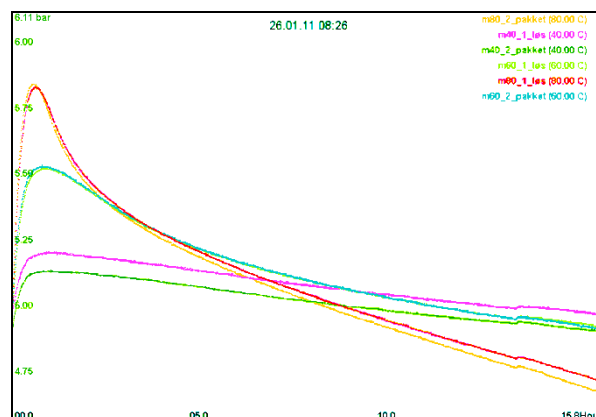
Sildemelke har en forholdsvis lav lipidandel (4-5 %), men med en fettsammensetning (Tabell 1) som gjør råstoffet sterkt utsatt for oksidasjon. Høyt innhold av fosfolipider (56 %) og flerumettede omega-3 fettsyrer gjør det påkrevet med gode teknikker for å følge oksidasjonsforløpet under bearbeiding av melken. For effektivt å kunne simulere lange lagringsforløp på pulver av sildemelke ble det tatt i bruk akselererte oksidasjonstester som har vist seg velfungerende på mikroinnkapslet fiskeolje (Shen, 2010; Jonsdottir, 2005).

3.3.1 Måling av oksidativ stabilitet med Oxipres

Initielt ble målinger av oksidativ stabilitet utført med et Oxipres apparat, der oksidasjon av lipider registreres gjennom oksygenforbruket (reduksjon i trykk over prøven). For normale prøvematrikser vil oksygentrykket være relativt stabilt over en tid for så å falle raskt ved induksjonspunktet (Figur 3).



Figur 3 Oxipres – instrumentrespons på ulike faste og flytende prøvetyper (Mikrolab Arhus) **Oljer: Solsikkeolje (OLIE3) - Biodiesel. Tørre komplekse prøver: Petfood (Pia) – Chips – Cookie (0320b)**

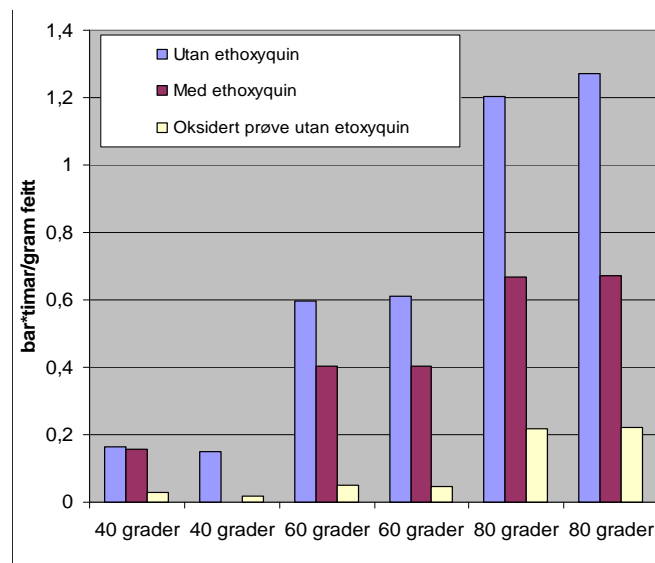


Figur 4 Oxipres – instrumentrespons på sildemelke ved ulike temperaturer og med/uten «pakking»: **80°C (pakket), 80°C (løs), 60°C (pakket), 60°C (løs), 40°C (pakket), 40°C (løs)**

Frysetørket sildemelke ble testet ut i Oxipres ved tre ulike temperaturer: 40, 60 og 80 °C (Figur 4). Det var ikke ønskelig å gå høyere fordi resultatene kan påvirkes av andre termiske reaksjoner. Kurvene viser et atypisk forløp med manglende terskel etterfulgt av et knekkpunkt. Det var dermed ikke mulig å bruke kurveforløpet til å bestemme en induksjonstid for lipidoksidasjon i denne type prøvematriks. Uttesting av løst og tett pakket pulver ga kun marginale forskjeller i kurveforløpet

Med god kjennskap til et prøvemateriale som ikke gir knekkpunkt kan det være alternative måter å tolke resultatene på. Bragadottir (2007) har studert bruk av Oxipres på tørket fiskemuskel fra sei og angitt induksjonstiden som tid frem til kurven begynner å falle. Disse forsøkene er imidlertid foretatt ved en høy temperatur (90 °C). Andre alternativer for tolking av kurveforløpet kan være å bruke tid for et definert trykkfall fra kurvens toppunkt, integrert oksygenforbruk over et definert tidsrom, eller største negative stigningstall. Ingen av disse metodene er imidlertid enkle å anvende på de relativt flate kurvene for sildemelke ved 40 og 60 °C (Figur 4).

Ved standardisering av råstoff og tørkebetingelser kan Oxipres tenkes brukt for å teste effekten av ulike typer antioksidanter. Frysetørket sildemelke med og uten antioksidant (etoxyquin) er sammenlignet med en oksidert prøve uten etoxyquin. I figur 5 er resultatene vist i form av spesifikt integrert oksygenforbruk over 12 timer.



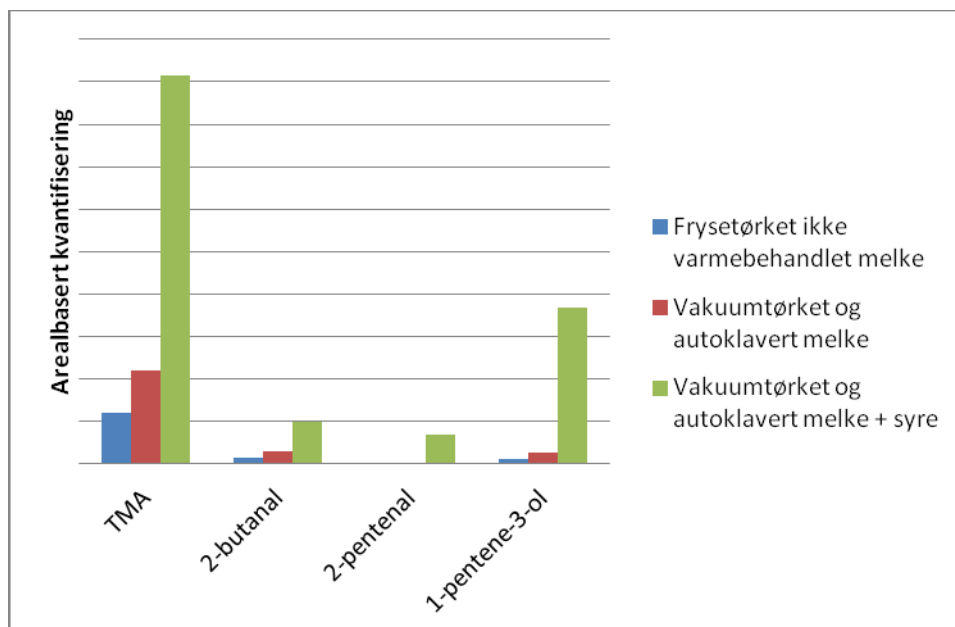
Figur 5 Oxipres-resultat ved sammenligning av nyprodusert frysetørket sildemelke med og uten etoxyquin og et oksidert sildemelkepulver ved tre ulike temperaturer. Integrert oksygenforbruk (trykk x tid) er målt spesifikt i forhold til fettinnholdet.

Ved 60 og 80 °C synes det å være en effekt av å tilsette antioksidanten etoxyquin, mens effekten ved 40 °C er marginal. Resultatene viser også viktigheten av å kjenne til historikken for prøvene. En allerede oksidert prøve uten antioksidant vil basert på denne måleteknikken fremstå som meget stabil, dvs. ha et lavt oksygenforbruk sammenlignet med en nyprodusert og ikke-oksidert prøve. Figur 5 indikerer at resultatene er repeterbare, men tolkningen av

resultatene er vanskelige spesielt relatert til sensorisk kvalitet på produktet. Mer inngående uttesting av denne metodikken for uttesting av oksidasjonsstabilitet på tørket sildemelke må gjennomføres før det kan trekkes noen sikker konklusjon på om Oxipres kan anvendes eller ikke. Det har ikke vært rom for dette innenfor prosjektets rammer.

3.3.2 Flyktige organiske forbindelser målt med headspace GC-MS

Innledende undersøkelser er også gjennomført ved bruk av headspace GC-MS teknikk for måling av oksidasjonsstabilitet i sildemelkepulver. Figur 6 viser resultater fra pulver tørket i lab skala med frysetørke og i vakuomtørkeovn. Forbehandling med autoklaving, og spesielt i kombinasjon med syretilsats, ga ikke gode resultater. Tokunaga (1975) rapporterer at trimetylaminoxid (TMAO) destabiliseres av lav pH så vel som av høy temperatur. Dette er i overensstemmelse med det som er funnet i dette prosjektet.

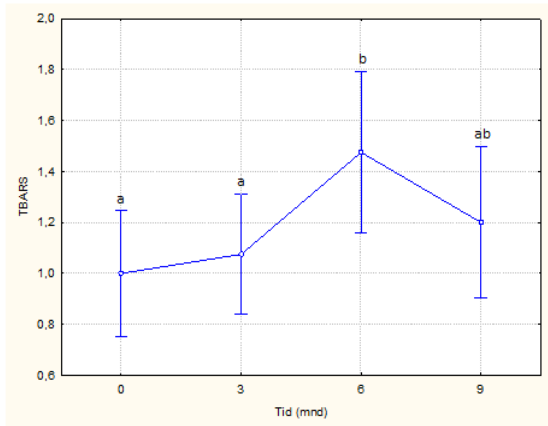


Figur 6 Flyktige forbindelser i headspace fra sildemelkepulver målt med GC-MS og på pulver fremstilt med tre ulike tørkemetoder. Komponentene er målt mot intern standard, men ikke kvantifisert.

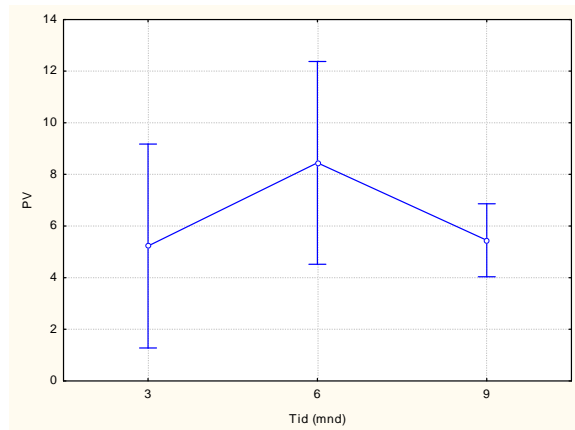
Kvantifisering av forbindelsene i headspace over prøven er her kun basert på areal under topper i diagrammet. Trimetylamin (TMA) ble identifisert som en dominerende komponent med et stort areal. Flere andre forbindelser typisk for oksidasjon av marine lipider ble også påvist: 1-penten-3-ol, 2-penten-1-ol og en rekke alkanaler (heptanal, 2-pentenal osv.) var de mest fremtredende oksidasjonsproduktene. Headspace-analysene bekreftet at de testede prøvene var betydelig oksidert etter tørkeprosessen og at det har skjedd en nedbrytning av TMAO til TMA i produktet. Dette kunne også tydelig kjennes basert på generell luktprofil.

3.4 Fryselagring av sildemelke

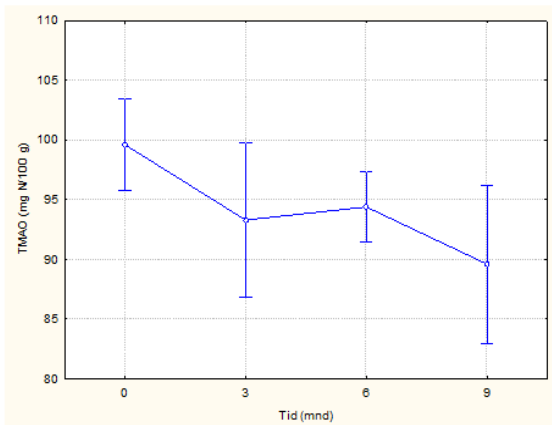
Målet med dette delprosjektet var å undersøke effekt av temperatur (minus 20 og 30 °C) kombinert med vakuumpakking på oksidasjonsstabilitet av sildemelke under langtidslagring (9 måneder). I figurenedenfor er resultater med statistisk usikkerhet gjengitt for hvordan nivå lipidoksidasjon (PV og TBARS), TMAO og dannelse av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) varierer over tid (Figur 7), ved to ulike fryselagringstemperaturer (Figur 8), og for pakking med og uten vakuumpakking (Figur 9).



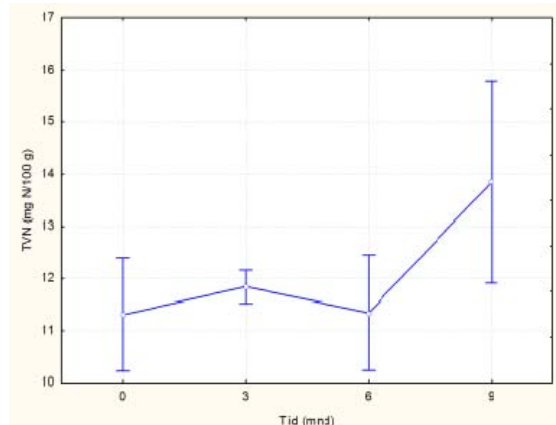
7.1



7.2



7.3



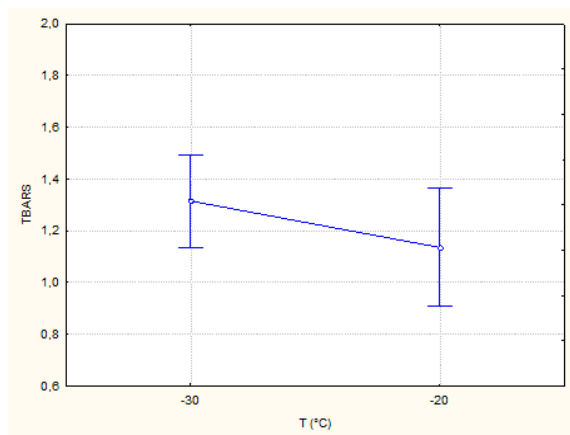
7.4

Figur 7 Utvikling av lipidoksidasjon basert på TBARS (7.1) og PV (7.2) og endring i TMAO (7.3) og TVN (7.4) som funksjon av fryselagringstid. Vertikale stolper angir 95 % konfidensintervall. Forskjellige bokstaver angir signifikante forskjeller mellom prøver ($p < 0.05$).

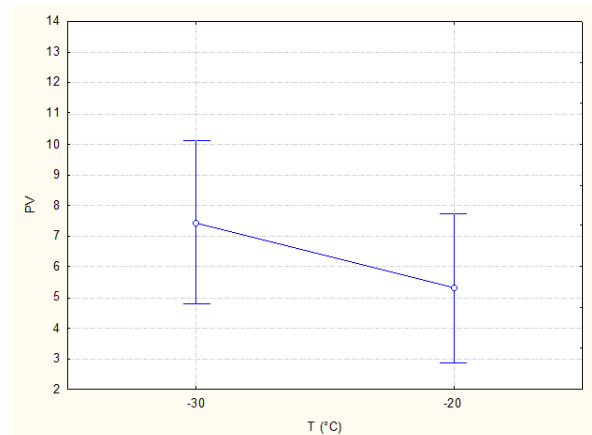
Det ble funnet en signifikant økning i nivå TBARS etter 6 måneder lagring (Figur 7). Etter 9 måneder er imidlertid nivået redusert og ikke signifikant forskjellig fra nivå observert etter 0 og 3 måneder. Nivå PV følger samme trend som TBARS, men her er det ikke påvist signifikante forskjeller. PV-nivå i null-prøven var 1.9 meq. O/kg og ikke vist i figuren. Dette skyldes at det ved en misforståelse kun ble målt nivå i en prøve og dermed ikke grunnlag for å inkludere dette i den statistiske analysen. Nedgangen i TMAO samsvarer med økende

tendens for TVN (Figur 7.3 og 7.4). Nivå TVN er signifikant økt etter 9 måneder. Det ble ikke påvist dannelse av TMA i sildemelken gjennom lagringsforsøket. Økningen i TVN kan derfor trolig forklares med en nedbrytning av TMAO til dimetylamin (DMA) og formaldehyd (FA) som beskrevet av Spinelli (1979).

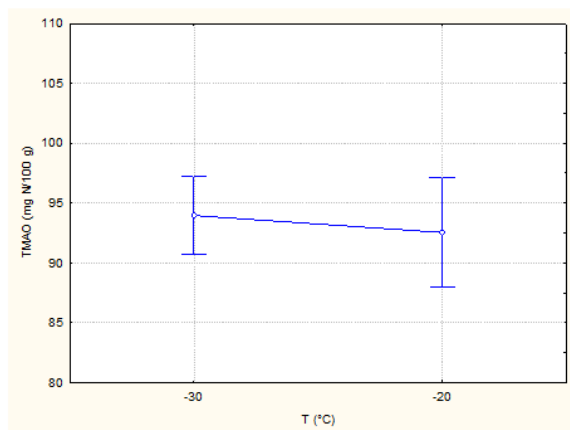
Generelt vurderes effekt av lagringstid som små og at sildemelke kan oppbevares på frys fra en fangstsesong til den neste. På prøvene uten vakuumpakking ble det observert en klar forandring i fargen på overflaten og en tendens til sterkere lukt etter 6 og 9 måneders lagringstid. Denne fargeforandringen skyldes trolig at prøvene har tørket noe ut i overflaten. Dersom melken pakkes i plast eller vakuumpakkes vil dette ikke være en problemstilling.



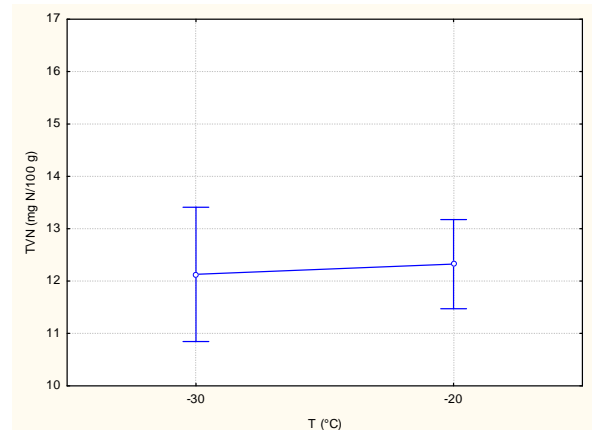
8.1



8.2



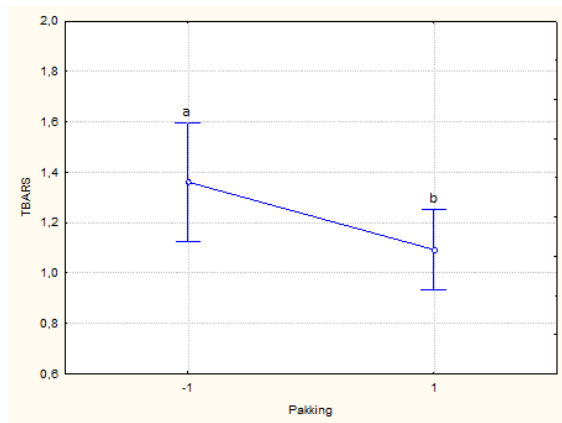
8.3



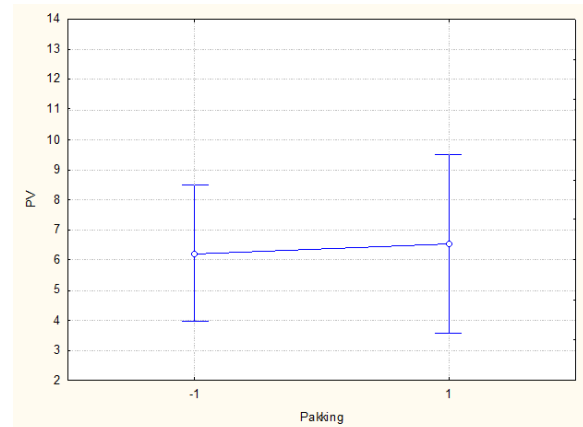
8.4

Figur 8 Utvikling av lipidoksidasjon (TBARS – thiobarbituric acid og PV - peroksidtall) og endring i TMAO (trimetylaminoksid) og TVN (totalt flyktig nitrogen) som funksjon av to ulike fryselagringsstemperaturer. Vertikale stolper angir 95 % konfidensintervall. Forskjellige bokstaver angir signifikante forskjeller mellom prøver ($p < 0.05$).

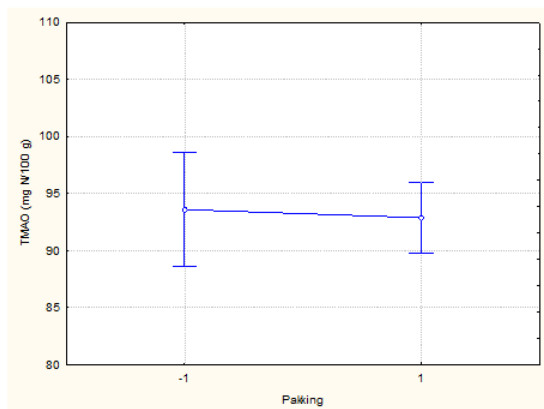
Figur 8 viser et lavere nivå for begge oksidasjonsparameterne ved minus 20 °C sammenlignet med minus 30 °C. Forskjellen er imidlertid meget liten og ikke signifikant. Tilsvarende er det kun observert små forskjeller i nivå TMAO og TVN ved de to lagringstemperaturene. Resultatene viser at det ikke kan påvises noen effekt av å lagre sildemelke ved minus 30 °C sammenlignet med minus 20 °C over den testede perioden på 9 måneder.



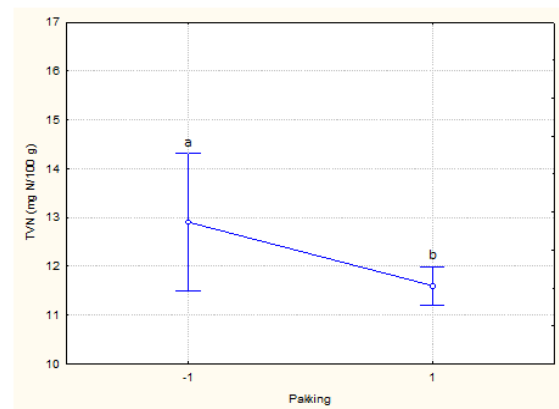
9.1



9.2



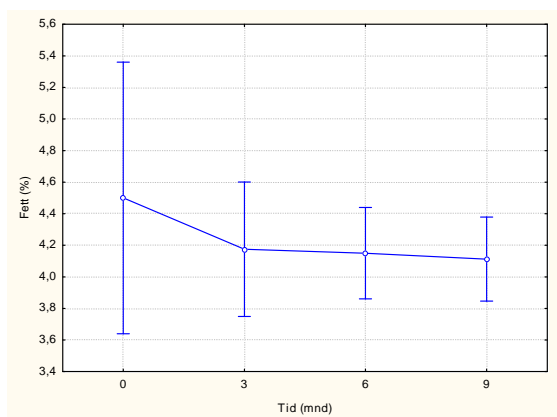
9.3



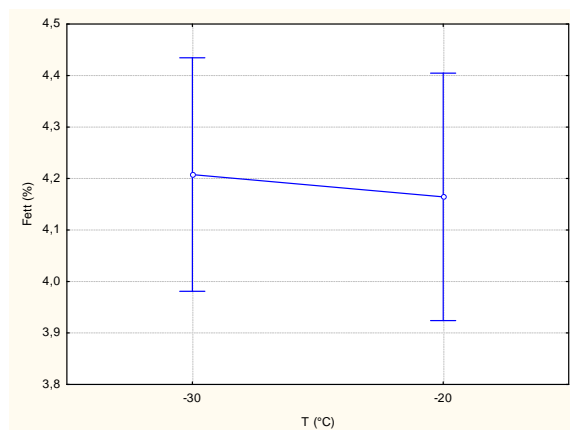
9.4

Figur 9 *Utvikling av lipidoksidasjon (TBARS – thiobarbituric acid og PV - peroksidtall) og endring i TMAO (trimetylaminoxid) og TVN (totalt flyktig nitrogen) som funksjon av pakkemåte: Med vakuum (1) og uten vakuum (-1). Vertikale stolper angir 95 % konfidensintervall. Forskjellige bokstaver angir signifikante forskjeller mellom prøver ($p < 0.05$).*

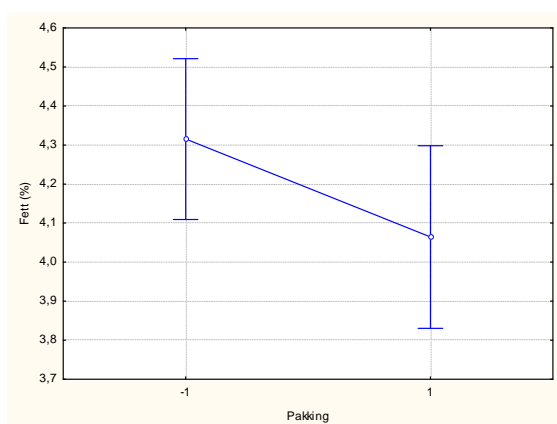
Effekten av pakkemåte (vakuumpakket vs. åpent) på oksidasjonsstatus er også relativt liten (Figur 9). For TBARS (Figur 9.1) er det likevel påvist en nær signifikant effekt ($p=0,08$) av vakuumpakking. PV- nivåene er tilnærmet like (Figur 9.2). TMAO endrer seg ikke (Figur 9.3), mens TVN (Figur 9.4) er signifikant lavere i vakuumpakket melke. Resultatene bekrefter at pakking i vakuum gir en viss hemming av oksidasjon og utvikling av flyktige nitrogenforbindelser.



10.1



10.2



10.3

Figur 10 Variasjon av fettinnholdet som funksjon av lagringstid, lagringstemperatur og pakkemåte.

Fettinnholdet i lagringsprøvene viste stor variasjon (3,2-4,9 %) til tross for homogenisering av prøvene. Nivået gikk svakt ned over tid, men ikke signifikant (Figur 10.1). Det ble ikke funnet noen signifikante effekter. Temperatur viste tilnærmet like nivå (Figur 10.2). Pakkemetode viste et noe høyere, men ikke signifikant, nivå for prøver i åpen pakking (Figur 10.3). En mulig forklaring på dette kan være en uttørking av disse prøvene over tid med resulterende økning i fettinnholdet.

3.5 Tørking av sildemelke

Fiskemelke fra torsk har inngått i kapsulerte helsekostprodukter (Holen, 2012). Det er imidlertid ikke kjent fra litteraturen at det finnes gode metoder for å lage et tørket pulverprodukt av sildemelke. Egenskapene til sildemelke gjør det til et utfordrende råstoff å tørke sammenlignet med for eksempel silderogn.

3.5.1 Tørkeforsøk i laboratorieskala

Sildemelke inneholder bakterier og enzymer som kan bidra både til lipidoksidasjon og nedbrytning av TMAO. Et varmebehandlingstrinn ble derfor vurdert som nødvendig for å drepe bakterier og inaktivere enzymer før tørkeprosessen. To tørketeknikker som ekskluderer luft ble testet ut.

Frysetørking.

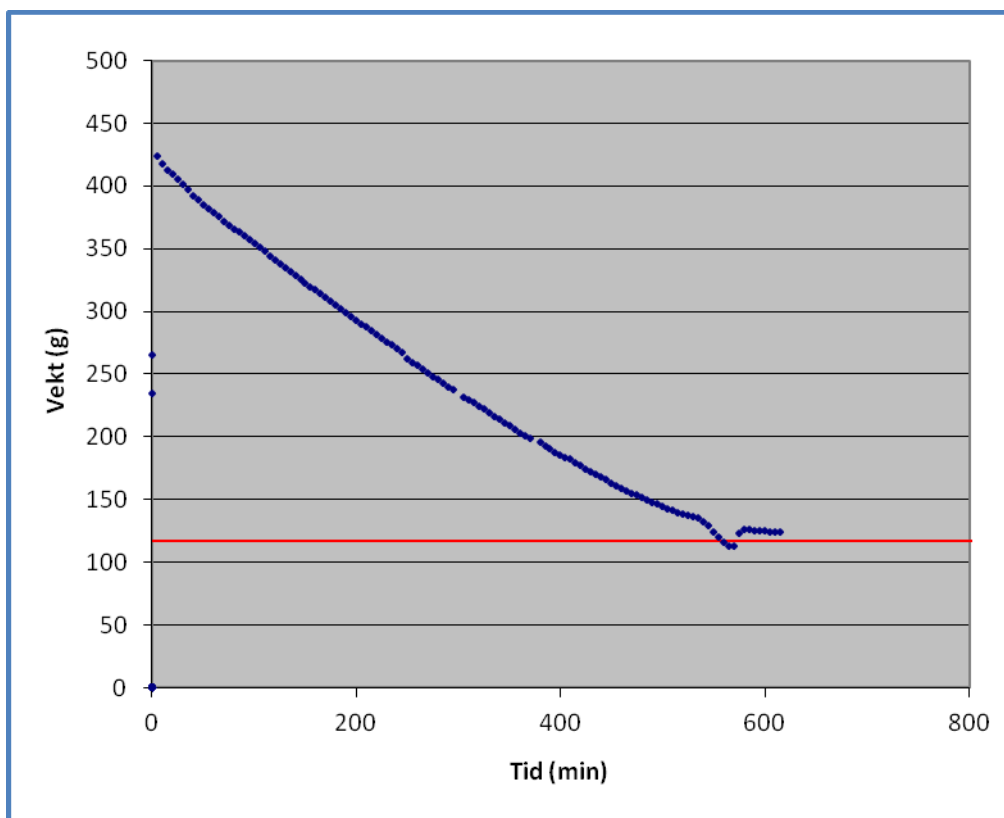
Første forsøk ble gjort med direkte frysetørking av frosset sildemelke. Tørketid 3-4 døgn ved 25 °C platetemperatur ga et lyst produkt, men med ubehagelig smak og lukt (tydelig oksidert). Det ble derfor ikke gjort videre analyser av produktet.

I neste forsøk ble sildemelken varmebehandlet før frysetørking for å sikre et stabilt utgangspunkt uten bakteriell eller enzymatisk aktivitet. Heller ikke dette produktet hadde smak eller lukt som gjorde det verdt å analysere videre

Frysetørking regnes for å være den mest skånsomme teknikken for fjerning av vann i biologisk materiale. Kombinasjonen lav temperatur og vakuum skal normalt kunne forhindre kjemiske reaksjoner. Erfaringer fra disse forsøkene viser imidlertid at teknikken ikke greier å forhindre oksidasjon av lipider i sildemelke. Vi har tidligere også registrert tilsvarende effekter ved tørking av oppmalt sild. Årsak og mekanisme bak denne effekten er ikke kjent, men viser tydelig at egenskaper til sildemelke gir betydelige utfordringer med hensyn på å forhindre lipidoksidasjon under tørkeprosessen.

Tørking i vakuumsørkeovn.

I en vakuumsørkeovn kan tørketemperaturen heves langt over temperaturene som benyttes ved frysetørking. Total tørketid kan dermed kortes ned til under ½ døgn. Ved varmebehandling av sildemelke og tørking i vakuumsørke ble det funnet at en platetemperatur på ca. 50 °C ga maksimal avdamping uten at massen begynte å koke. Figur 6 viser typisk tørkekurve for tørking av varmebehandlet sildemelke i vakuumsørkeovn.



Figur 11 Tørkekurve for sildemelke avvannet i vakuomtørkeovn. Tap av vann er registrert på vekt, utgangspunkt 75 % vann i råstoffet. Rød strek indikerer restfuktighet på 7,5 % i produktet.

Tørking i vakuomtørkeovn med en stasjonær tørkemasse var krevende fordi det ikke ga den samme porøse strukturen som når vannet sublimerer i frysetørken. Det kompakte tørkeskiktet måtte løses opp og blandes om 1-2 ganger under tørkingen slik at vakuomet (og dermed prosessen) ble avbrutt. Sluttvekten ble stilt inn for å gi en restfukt på 7,5%. Også ved disse tørke betingelsene hadde produktet en sensorisk karakter (tydelig oksidert) som gjorde det lite interessant å gå videre med optimalisering av tørkebetingelser.

3.5.2 Tørking i pilotskala

Det er i prosjektet gjennomført tørkeforsøk med en pilotskala indirekte damptørke (Rotadisc). Denne tørketypen er mye brukt industrielt som fortørke i kombinasjon med varmluftstørke eller som hovedtørkemetode. Forsøkene viste at sildemelke ga et belegg på hetefflaten (tallerkenflatene) etter kort tid, med resulterende redusert varmeoverføring og lav tørkekapasitet. Kontakttørke av denne type ser derfor ut til å være et avvanningsprinsipp som ikke fungerer tilfredsstillende på sildemelke. Det ble ikke brukt ytterligere ressurser i prosjektet på å optimalisere betingelser eller uttesting av tørket produkt basert på denne teknologien.

Pulver av sildemelke ble også fremstilt med en tørketeknologi som har vært utviklet tidligere ved Nofima. Tørketeknikken er under vurdering for patentering og det kan derfor ikke frigis detaljer i denne rapporten. Med riktig konsistens på tilført tørkegods har tørkemethoden vist

seg å være lovende for industriell anvendelse. Etter avvanning hadde produktet en lys farge og tiltalende lukt. Smak på rent pulver var noe kraftig, men fortynnet i varmt vann fremsto produktet mildt og med god fiskesmak tilsvarende torskepulver.

4 Konklusjoner

- Sildemelke oppnår en høy våtvekt tidlig i sesongen.
- Fryselagring av sildemelke over 9 måneder har gitt ubetydelige kvalitetsendringer på råstoffet.
- Tradisjonelt gode tørketeknikker som frysetørking og vakuomtørking gir ikke tilfredsstillende resultat med hensyn på å unngå lipidoksidasjon og nedbrytning av TMA.
- Nyutviklet tørketeknologi viser at det er mulig å få til et pulver av hel melke med god smak og lukt. Lagringsstabilitet over tid er så langt ikke undersøkt.
- Alternative metoder for å måle oksidasjon i marine lipider har vært prøvd ut. Indirekte måling av flyktige komponenter med headspace GC-MS har gitt best resultat.

5 Referanser

- Bligh E.G., Dyer W.J.A. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37:911-917
- Bragadóttir M., Reynisson E., Þórarinsdóttir K.A., Arason S. 2007. Stability of Fish Powder Made from Saithe (*Pollachius virens*) as Measured by Lipid Oxidation and Functional Properties. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 16(1):115-135
- Conway E.J., Byrnes A.J. 1933. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. I. The micro-determination of ammonia. *The biochemical Journal*, 27:419-429
- Crackel R.J., Gray J.I., Pearson A.M., Booren A.M., Buckley D.J. 1988. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. *Food Chemistry*, 28(3):187-196
- Holen E. 2012. Dokumentasjon av fiskemelke med hensyn til aktuelle helsemarkører. NIFES prosjekt 4655, RUBIN rapportnr. 215
- Huynh M.D, Kitts D.D., Hu C., Trites A.W. 2007. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 146:504–511
- Jónsdóttir R., Bragadóttir M., Arnarsson G.Ö. 2005. Oxidatively derived volatile compounds in microencapsulated fish oil monitored by solid-phase microextraction (SPME). *Journal of Food Science*, 70(7):433-440
- Labuza T.P., McNally L., Gallagher D., Hawkes J., Hurtado F. 1972. Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid oxidation. *Journal of Food Science*, 37:154-159
- Magnusson H.W., Whitaker R.K. 1952. Proximate Composition of the Classified Trimmings from Pink Salmon. Technical note no. 18 - *Commercial Fisheries Review*, 14(3):23-26
- Miller A., Scanlan R.A., Lee J.S., Libbey L.M. 1973. Volatile compounds produced in sterile fish muscle (*Sebastes melanops*) by *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, and an *Achromobacter* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 6:18-21
- Moreau R.A. 2006. The Analysis of Lipids via HPLC with a Charged Aerosol Detector. *Lipids*, 41(7)
- Nelson K.A., Labuza T.P. 1992. Relationship between water and lipid oxidation rates - water activity and glass-transition theory. *ACS Symposium Series*, 500:93-103
- Oliva R., Dixon G.H. 1991. Vertebrate protamine genes and the histone-to-protamine replacement reaction. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, Volume 40, pages 25-94

- Olsen E., Vogt G., Ekeberg D., Sandbakk M., Pettersen J., Nilsson A. 2005. Analysis of the early stages of the lipid oxidation of in freeze-stored pork back fat and mechanically recovered poultry meat. *J. Agric. Food Chem.*, 53(2):338-348
- Rahman M.S., Kasapis S., Guizani N., Al-Amri O.S. 2009. State diagram of tuna meat: freezing curve and glass transition. *Journal of Food Engineering*, 57:321–326
- RUBIN 2011. Varestrømsanalyse for 2010
- Sathivel S., Bechtel P.J., Babbitt J., Smiley S., Crapo C., Reppond K.D., Prinyawiwatkul W. 2003. Biochemical and Functional Properties of Herring (*Clupea harengus*) Byproduct Hydrolysates. *Journal of Food Science*, 68 (7):2196-2200
- Shen Z., Augustin M.A., Sanguansri L., Cheng L.J. 2010. Oxidative Stability of Microencapsulated Fish Oil Powders Stabilized by Blends of Chitosan, Modified Starch, and Glucose. *J. Agric. Food Chem.* 58:4487–4493
- Sotelo C.G., Pineiro C., Perez-Martin R.I. 1995. Denaturation of fish proteins during frozen storage: Role of formaldehyde. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 200:14-23
- Spinelli J., Koury B. 1979. Nonenzymic Formation of Dimethylamine in Dried Fishery Products. *J. Agric. Food Chem.*, 27(5):1004-1108
- Tarladgis B.G., Watts B.M., Younathan M.T., Dugan L. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *JAOCS*, 37(1): 44-48
- Tokunaga T. 1975. On the Thermal Decomposition of Trimethylamine Oxide in Muscles of Some Marine Animals. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 41(5):535-546
- Wataru S., Rippel S., Hisanori N. 2011. Effects of storage under gaseous oxygen on degradation of trimethylamine-N-oxide in the muscle of *Pacific saury*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 77(4):665-673
- Østvik S.O., Toldnes B. 2011. Uttak av melke fra filetering av sild. Delrapport i FHF-prosjekt 900547, 21 sider



ISBN 978-82-7251-991-8 (trykt)
ISBN 978-82-7251-992-5 (pdf)
ISSN 1890-579X