

Høyverdiskaping fra hvitfisk restråstoff

Jan Arne Arnesen, Birthe Vang, Sissel Albrektsen og Ragnhild Whitaker





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

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1433 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølsengvegen 22
NO-6600 Sunndalsøra

Alta:

Kunnskapsparken, Markedsgata 3
NO-9510 Alta

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA

Rapport

<i>Tittel:</i> Høyverdiskaping fra hvitfisk restråstoff	ISBN: 978-82-8296-523-1 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Title:</i> High value products from whitefish heads and backs	<i>Rapportnr.:</i> 25/2017
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Jan Arne Arnesen, Birthe Vang, Sissel Albrektsen og Ragnhild Whitaker	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Avdeling:</i> Marin bioteknologi	<i>Dato:</i> 31. desember 2017
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 20
<i>Stikkord:</i> Restråstoff, Bioøkonomi, Bærekraft, torskeyegg, torskehoder	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF 901348
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> Torskehoder og torskeyegger fra hvitfisk filetering på Myre havbruk ble hydrolysert og vannfasen ble tørket og analysert. Prosjektet ble gjort for å vurdere bruk av prosessert restråstoff til humant konsum. Torskeyegger ble behandlet i en et-steps prosess der fokus ble lagt på å produsere et proteinpulver med nøytral smak. For å øke kollagen utbyttet i proteinpulver fra torskehoder ble flere ulike enzymatiske to-steps strategier vurdert i henhold til kollageninnhold og smak/tekstur. Ryggene resulterte i et velsmakende produkt i en kostnadseffektiv prosess, som oppfattes å møte markedets ønsker i ulike markeder. Hodene ble hydrolysert med to ulike enzym der et av dem økte kollagenutbyttet med opptil 50 %. En markeds og kostnadsvurdering bør gjøres før man bestemmer hva slags enzymstrategi som skal benyttes. Utbytte og kvalitetsforskjeller på fersk og frosset materiale ble også vurdert. Videre utvikling og etablering av prosess i større skala anbefales, men resultater indikerer at det er gode muligheter for utnyttelse av torskehoder og rygger til humant konsum. Etter at proteindelen er tatt ut fra ryggene, kan man videre øke verdi ved å hente ut verdier fra de resterende beinfragmentene etter hydrolyse. Nofima har oppsummert resultat fra flere prosjekter der det er utviklet prosesser for frigjøring av mineraler og andre næringsstoffer i fiskebein. Den teknologiske prosessen som er utviklet kan enkelt tilpasses ulike typer beinråstoff, Prosessen som er utviklet frigjør over 85 % av fosfor i beinråstoff, og det er dokumentert høy verdi av mineralrike ingrediensene både som en alternativ fosforkilde i fôr til laks, og som et førtilskudd som gir økt vekst og pigmentering.	<i>Prosjektnr.:</i> 11998
<i>English summary/recommendation:</i> Hydrolytic processing of cod heads and backs from cod slaughtering was performed. The products were evaluated for human consumption, and frozen and fresh material was compared. Cod backs and heads were processed using different enzymes. About 50 % increase in collagen recovery from heads was obtained by using a proline specific enzyme. Markets and scaling costs must be further evaluated, however, the results indicate good possibilities for consumption of processed heads and backs from cod slaughter. The resulting product was evaluated as well tasting and with acceptable marketable properties. Upon hydrolysis, the remaining bone fractions can be used for increased value creation. In this project, Nofima has summarized the results from several ongoing projects related to development of technological processes for solubilization of minerals and other nutrients in fish bones. The technology can easily be adapted to different types of raw materials, including bone from blue whiting, herring, salmon and cod. The process releases > 85% of phosphorus in fish bones, and the mineral rich ingredient produced is demonstrated to be effective as an alternative phosphor source in salmon feed, and as a feed supplement that provides better growth and pigmentation in Atlantic salmon.	

Forord

Prosjektet omhandler undersøkelser av muligheter for å hydrolysere hoder og rygger fra torskefisk fra Myre havbruk til proteinpulver til humankonsum. Det er også inkludert en oppsummering av muligheter for utnyttelse av mineraler i bein basert på resultat fra andre Nofima prosjekt. Prosjektet var finansiert av FHF, samt med egenfinans fra Myre havbruk og Nofima og ble utført januar - desember 2017.

Innhold

1	Sammendrag (både på norsk og engelsk).....	1
2	Innledning.....	3
3	Problemstilling og formål	6
4	Prosjektgjennomføring.....	7
5	Oppnådde resultater	10
6	Patentrettigheter - IPR	17
7	Referanser	18
8	Leveranser	19

1 Sammendrag (både på norsk og engelsk)

I forbindelse med etablering av et nytt mottaksanlegg for hvitfisk på Myre i Vesterålen, har Myre havbruk og Nofima med finansiering fra FHF sett på muligheter for bruk av restråstoff fra slaktelinja inn mot humant konsum. Myre Havbruk ønsker å motta fisk fra båter og vil også ha mulighet for levendelagring av torsk. I tillegg til å ha slaktelinjer for å produsere fiskefilet, vil mottaket tilrettelegge for å håndtere alt restråstoff som er til overs etter slakting av fisken. Målet er å kunne produsere produkter av høy verdi fra restråstoffet. Restråstoffet vil holde høy kvalitet og være kategorisert som egnet for humant konsum av Mattilsynet. For å kunne oppnå høyest mulig verdi av råstoffet er det viktig å etablere prosesser som resulterer i høykvalitets produkter samtidig som de har investerings- og operasjonskostnader som er lave med sikre og forutsigbare markeder for de produktene som blir solgt. Mye restråstoff fra hvitfisk blir i dag ikke utnyttet. Det er mange grunner til dette, logistikk er en viktig grunn, der man tidligere har hatt store problemer med å samle inn restråstoffet på en måte som gir mulighet for å bevare topp kvalitet med utgangspunkt i et helt ferskt råstoff. Restråstoffet blir raskt nedbrutt etter slakting av fisken og det må håndteres veldig raskt for at målet om topp kvalitet kan oppnås. På det nye anlegget på Myre ser man for seg at restråstoffet etter filetering tas direkte inn i produksjonslinjer for videre prosessering. Det er aktuelt å gjøre hydrolyse av deler eller alt av råstoffet og å se på muligheter for utnyttelse av beinrester. Det planlegges et hydrolyseanlegg på fabrikk. Torskehoder og torskerygger fra hvitfisk filetering på Myre havbruk ble hydrolysert og vannfasen ble tørket og analysert. Prosjektet ble gjort for å vurdere bruk av prosessert restråstoff til humant konsum. Torskerygger ble behandlet i en et-steps prosess der fokus ble lagt på å produsere et proteinpulver med nøytral smak. For å øke kollagenutbyttet i proteinpulver fra torskehoder ble flere ulike enzymatiske to-steps strategier vurdert i henhold til kollageninnhold og smak/tekstur. Bruken av beinrester og markeder for dette ble også vurdert. Hydrolyse av ryggene resulterte i et velsmakende produkt i en kostnadseffektiv prosess. Smak og fysiokjemiske egenskaper ble vurdert som gode i ulike markeder. Hodene ble hydrolysert i en sekvensiell prosess med to ulike enzymer der et av dem økte kollagenutbyttet med opptil 50 %. Torskerygger ble hydrolysert i en batch prosess. Utbytte og kvalitetsforskjeller på fersk og frosset materiale ble vurdert. En markeds og kostnadsvurdering bør gjøres før man bestemmer hva slags enzymstrategi som skal benyttes på hodene, torskeryggene gir godt resultat med en enkel hydrolyse. Beinrester som gjenstår etter enzymatisk hydrolyse kan behandles videre for å oppnå bedre utnyttelse av næringsstoffene i bein. Videre utvikling og etablering av prosesser i større skala anbefales, ettersom resultatene indikerer at det er gode muligheter for utnyttelse av torskehoder og rygger til humant konsum.

Myre Havbruk is establishing a new receiving plant and in connection with this Myre Havbruk has together with Nofima and FHF investigated the possibilities of total utilization of by products from the slaughter process. The by-products are of high value and suitable for human consumption. Cod heads and backs have been investigated and processes have been developed towards making high value products. The processes developed needs to be evaluated in connection of investment and operational costs in order to maximize the value creation. A great deal of by-products from white fish is not utilized today in Norway. There are many reasons for this, logistically it can be challenging to collect the biomass in such a way that the quality is optimal, or the processes that are available results in low yield or in a product that is not desirable (taste, physiochemical properties, etc). The by-products at Myre are of top quality and in this project different processes ensuring total utilization of this biomass is described. From heads a collagen enriched protein product was developed, which was suitable for further processing for bone mineral and protein extraction. For the backs, a well tasting protein

powder was developed in a cost effective way. Fresh and frozen biomass was compared. About 11 % of the biomass (bones) remains after hydrolysis, this can be further processed in an established process for extraction of valuable components in bones. From this project, it is concluded that high value products can be developed from cod heads and backs.

2 Innledning

Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt

Prosjektet ble igangsatt i forbindelse med Myre Havbruk sin etablering av et nytt mottaksanlegg for hvitfisk på Myre i Vesterålen. Anlegget skal motta fisk fra båter og vil ha levendelagring av torsk. I tillegg til å ha slaktelinjer for å produsere fiskefilet vil mottaket legge opp til å håndtere alt restråstoff som er til overs etter slakting av fisken. Målet er å kunne produsere produkter av høy verdi fra restråstoffet. Restråstoffet vil holde høy kvalitet og være kategorisert som passende til humant konsum at mattilsynet. For å kunne oppnå høyest mulig verdi av råstoffet er det viktig å etablere prosesser som resulterer i de beste produktene samtidig som de har investerings- og operasjonskostnader som er lave med sikre og forutsigbare markeder for de produktene som blir solgt.

Av et totalvolum på 353 000 tonn torskeavskjær, ble omtrent 166 000 tonn ikke utnyttet i 2016 (Richardsen, 2017). Hoder og skrotter fra hvitfisk etter filetering inneholder mye restkjøtt, og i tillegg cirka 20 % bein som har vært betraktet som problemavfall. Fiskekjøttet kan utnyttes i konvensjonell fiskemelsproduksjon, mens i dette prosjektet er det tilsiktet produksjon av godt betalte proteinhydrolysater. Grunnen til at mye av torskeavskjær ikke blir utnyttet er delt, mye kan ligge på grunn av logistikken, men det er også store variasjoner i råstoffet gjennom sesongen og fra lokasjon til lokasjon. Tidligere har hatt store problemer med å samle inn restråstoffet i et format som gjør at det er bevarer topp kvalitet. Restråstoffet blir raskt nedbrutt etter slakting av fisken og dermed må det håndteres veldig raskt for at topp kvalitet kan oppnås.

På det nye anlegget på Myre ser man for seg at restråstoffet etter filetering tas direkte inn i linjer for prosessering av restråstoff. Det er aktuelt å gjøre hydrolyse av deler eller alt av råstoffet. Her vil man hente ut mye av de muskelprotein restene som ligger i restråstoffet. Det planlegges et hydrolyseanlegg på fabrikken av lignende oppsett som er installert ved Biotep i Kaldfjorden utenfor Tromsø. Et utviklingsløp der Biotep brukes til å utvikle og optimalisere prosesser før de overføres til en optimalisert konfigurering og prosess hos Myre havbruk er ideelt for å maksimere utbytte og inntjening. Prosesser som utvikles på bruk av restråstoff fra hvitfisk vil også være til stor nytte for hele fiskeindustrien. Hydrolyse og bruk av marine restråstoffer har tidligere blitt beskrevet i litteraturen (Albrektsen, Arbese, Meldstad, Olsen, Šližyte, Viðarsson), men det finnes få kommersielle produkter. I dette prosjektet har vi sett på muligheter for å ta i bruk ny teknologi innen prosessering til biokonvertering av restråstoff fra torsk med fokus på totalutnyttelse.

Produksjon av nye bærekraftige ingredienser fra restråstoff fra hvitfisk kan bli viktig med hensyn til å nå målet om total utnyttelse av alt marint råstoff, inkludert alle sidestrømmer fra kommersiell produksjon. Dette er beskrevet i flere nasjonale og internasjonale strategiske dokumenter rettet mot marine råstoffer og bioøkonomi.

Hydrolyse av rygger og hoder er første steg for å ta ut rester av muskelproteiner, og det vil resultere i et proteinhydrolysat. Dette hydrolysatet kan brukes inn mot sportsnæring, til smakstilsetning, til proteinberikning, til petfood, til fiskefôr og dyrefôr for å nevne noen områder. Dette proteinproduktet vil være med på å dekke et identifisert markedsbehov for marine proteiner. Etter at proteinhydrolysatene er produsert fra torsk hoder og -rygger er det en god del beinrester til overs, ca 11 % av råstoffet. Beinråstoff er generelt et lite løselig og hardt materiale som kan være krevende å

prosessere, og potensialet for å utnytte næringsstoffene i bein er derfor lite utnyttet. Vi har beskrevet her en metode for å bruke disse benrestene videre til nye produkter. Metoden er utviklet av Nofima og gjør at mineralene og proteinene som er igjen i benene kan brukes til produksjon av ingredienser som kan inngå i fiskefôr eller som funksjonelle ingredienser i andre markeder. Torskebein inneholder flere viktige næringsstoffer, i hovedsak mineraler (50 %) og proteiner (35 %), men også lave nivå av fett (1–2 %). De mest vanlige mineralene i bein er kalsium (Ca) og fosfor (P) som finnes i beinskjelettet i form av hydroksyapatitt [$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_2$], et lite løselig mineralkompleks som har lav fordøyelighet i fisk (Toppe *et al.*, 2007; Nordrum *et al.*, 1997).

Fosfor er en globalt begrenset og ikke-fornybar ressurs (Van Vuuren *et al.*, 2010) og mangelfull tilgang på fosfor til gjødsling sees på som en mulig trussel for fremtidig global matproduksjon. I EU er det innført tiltak for å redusere høyt forbruk, sløseri og tap av fosfor (www.phosphorusplatform.eu). Laks tar gjennomsnittlig opp bare 30 % av fosfor mengden i fôret, noe som betyr at omtrent 70 %, mer enn 10 000 tonn, slippes ut i miljøet hvert år (Yttestøl *et al.*, 2015). En kombinasjon av mer effektiv utnyttelse av dagens tilgjengelige ressurser, sammen med resirkulering av fosfor fra biprodukter, avfall og gjødsel er tiltak som kan redusere dagens sårbarhet.

Fosfor i fiskebein kan resirkuleres ved å ta i bruk ny teknologi for prosessering (Albrektsen 2017a). Det er funnet at mineralingredienser fra fiskebein kan dekke behovet for P til vekst og skjelettutvikling i laks på ulike livsstadier (Ytteborg *et al.*, 2016; Albrektsen *et al.*, 2017a), i tillegg til at de kan øke fordøyeligheten av næringsstoffer og gi økt vekst og pigmentering (Albrektsen *et al.*, 2017b).

Fosfor

Ingredienser produsert fra fiskebein inneholder typisk 16–18.000 mg/kg P, det vil si 16–18 % P (Ytteborg *et al.*, 2016; Albrektsen *et al.*, 2017). Fordøyeligheten av P frigjort fra fiskebein er høy, og i forsøk med laks er det vist at fordøyeligheten av P er svært høy (80 %), omtrent likt med de aller beste kommersielle mono Na-P salter som brukes i dag.

Kalsium

Cirka 99 % av kroppens Ca-lager finnes i skjelettet, og Ca brukes som et viktig tilskudd i human ernæring for å unngå utvikling av osteoporose (beinskjørhet). I fiskebein er det dobbelt så mye kalsium som fosfor. Marine kilder til Ca er etterspurt for å dekke humant behov, og høyt priset. Selv ikke-prosesserte beinprodukter kan i dag selges til en pris på cirka 10 kr/kg, og disse produktene er ettertraktet blant annet i Asia.

Mineralingrediensene som produseres fra bein inneholder lite Ca (< 2 %), ettersom dette mineralet blir felt ut som et eget produkt. Dette er gunstig basert på at Ca ellers kan opptre som et antinæringsstoff ved å binde seg til P og andre mineraler, og dermed hemme mineralopptaket.

Magnesium, Mg

Omtrent halvparten av kroppens Mg finnes i beinskjelettet, mens resten er fordelt på muskler og bløtvev. Mg er viktig for normal funksjon i muskler og hjerte, og for et normalt stoffskifte.

Fiskebein ingredienser produsert fra sild og kolmule inneholder 3800–5600 mg/kg Mg (0,4–0,6 %).

Sporelementer

I tillegg til makroelementene, inneholder fiskebein ingredienser små mengder av sink, Zn (113–215 mg/kg), jern, Fe (82–176 mg/kg); mangan, Mn (17–48 mg/kg), kopper, Cu (2,7–6,8 mg/kg) og cobolt,

Co (0,08–0,09 mg/kg), foruten en rekke andre sporelementer (Albrektsen *et al.*, 2017). Kvantitativt er det primært Zn, Fe og Mn som er tilstede i såpass store mengder at de kan ha en biologisk betydning. Selv om nivåene i beiningrediensene er lave, så kan det ikke utelukkes at et balansert tilskudd av mange ulike mineraler kan gi positive effekter på mineralisering og beinstyrke, særlig dersom kostholdet gir utilstrekkelig tilgang på disse mineralene fra andre råstoffkilder. Flere mineraler har også viktige funksjoner for omsetting av næringsstoffer og for oksidasjonsforsvaret.

Et budsjett på 500 KNOK ble bevilget fra FHF, og prosjektet hadde en total ramme på 580 KNOK. Ragnhild Whitaker fra Nofima var prosjektleder, prosjektteamet bestod av Birthe Vang, Jan-Arne Arnesen, Sissel Albrektsen, Audun Iversen og Sten Siikavupio fra Nofima, samt Andre Reinholdtsen fra Myre havbruk.

Styringsgruppe var opprettet av FHF og består av: Frank Jakobsen fra FHF, Andre Reinholdtsen fra Myre Havbruk og Kristian Klo fra Gunnar Klo AS, Andreas Austnes fra Fjordlaks AS, Jaran Rauø fra Marealis, Anders Bjørnerem fra Nordic Wildfish.

3 Problemstilling og formål

Ved å utvikle gode produkter av restråstoff fra hvitfisk som er kommersielt attraktive, kan man skape verdi for mange aktører i hvitfisknæringen.

I dette prosjektet ble det gjort forsøk og utviklet prosesser for å ta vare på og utnytte torskehoder og rygger fra slaktelinjen. Potensialet for å bruke skinn, kjøttrester og beinråstoff som utgangspunkt for nye produkter er beskrevet. Dette gir mulighet for å øke verdiskapningen for næringen ved å finne et eller flere markeder som produktene kan selges i.

Målet med prosjektet var å definere de beste prosesser og produkter ut fra hvilket råstoff som er tilgjengelig, sesongvariasjoner, markeder og prosesskostnader. Alle deler trenger ikke gå til det samme markedet, men råstoffet brukt her er av høy kvalitet og kan derfor oppnå høye priser. Levendelagring åpner også opp for jevn tilgang av råstoff gjennom året. Målet med forprosjektet var å utvikle en prosess eller prosesser som gir produkt(er) til konsum med attraktive egenskaper, inkludert god smak, fysiokjemiske egenskaper som gjør at man kan inkludere produktet i mat e.l.

4 Prosjektgjennomføring

Hoder og rygger ble behandlet med ulike enzymstrategier for å skape produkter som kunne gå til human konsum. Utseende, smak og innhold ble vurdert. På ryggene ble en en-steps hydrolyse utført med et enzym, Corolase, som er food grade (kan brukes i mat) og samtidig ikke for kostbart i forhold til industriell skala.

På hodene ble en to-steps hydrolyse med ulike enzymer forsøkt, her var målet å utvikle et produkt som hadde høyt innhold av kollagen, hadde ønsket tekstur og smak og samtidig resulterte i beinrester som var fri for kjøttrester og som kunne brukes videre for å oppnå totalutnyttelse av råstoffet.

Opprinnelig var det tiltenkt en skalering av en av prosessene ved Biotep, men det ble vurdert som mer viktig innenfor rammene til prosjektet å sammenligne utbytte og resultat fra frosne mot ferske torskeshoder. Dette vil gi bedre innsikt i gjennomføring av restråstoff prosesseringen. Det ble utført en pilot skala prosessering for å demonstrere at prosessen var skalerbar. I tillegg ble en smaks og egenskapsvurdering av produktet utført internt på Nofima og av industrirepresentanter.

Etter at hodene og ryggene er prosessert gjenstår en beinmasse, omtrent 11 % av råstoffet. I dette prosjektet har vi beskrevet en metode som Nofima har utviklet for å frigjøre både mineraler og proteiner i fiskebein, næringsstoffene blir da mer vannløselige og lettere å fordøye. Mineralprosessen kan anvendes på ulike typer beinråstoff, og er testet på beinmel separert fra kolmulemel (Albrektsen *et al.*, 2013), på bein separert fra avskjær fra sild og torsk (Albrektsen *et al.*, 2014; 2017; Ytteborg *et al.*, 2016) og på laksebein (RFFVest prosjekt 256952). Prosessen kan anvendes på hoder og rygger der fiskekjøttet allerede er fjernet ved enzymatisk hydrolyse, eller på rå ubehandlet bein.

Mineralene i bein løses ut ved hjelp av hydrolyse i en sterk syre (Figur 1), en prosess som er svært effektiv og som kan frigjøre 85–90 % av fosfor. Mineralene i bein omdannes da til vannløselige mineraler. Løselig fosfor er lett fordøyelig og kan brukes til å dekke fosfor behovet for normal vekst, mineralisering og skjelettutvikling i laks (Albrektsen *et al.*, 2013, 2017a; Ytteborg *et al.*, 2016).

Etter syrehydrolyse blir den vannløselige fraksjonen separert, oppkonsentrert og spraytørket til et tørt og finmalt pulver (20–60 µm) som kan brukes enten som en mineralrik fôringrediens eller som et tilsetningsstoff i fôr. Kravene til produktdokumentasjon vil være ulik for ulike produkter og markeder.

Gjennomføring av prosjektet

Det er utført 7 hydrolyseforsøk på torskeshoder og 2 på rygger i lab skala. Deretter ble en av prosessene skalert i pilot skala. Råstoffet ble tilsendt Nofima i frossen tilstand. Deler av råstoffet ble tint og hakket i en hurtighakke, fordelt i mindre porsjoner på ca 1 kg, vakuumpakket og frosset. Pakker med råstoff ble tint i løpet av 1-2 timer før hydrolyse. Råstoffet ble aldri liggende lenge i tint tilstand. Hydrolyseforsøkene ble utført i en Distek Symphony 7100. Råstoffet ble blandet 1:1 med vann og pH justert til ønsket verdi med konsentrert maursyre (99 %). Temperaturen ble så økt til 50 °C før enzym ble tilsatt. For å inaktivere enzymene ble temperaturen økt til 90 °C i 20 min. Etter avkjøling ble beinrester fjernet med sil før vannfasen ble sentrifugert 7000 x g i 20 minutter og filtrert gjennom et No 4 filter (Whatman).

For hydrolyse av torskeshodene ble det brukt ulike kombinasjoner av enzymer fra DSM Maxipro (se tabell 1). I en sekvensiell prosess ble det først utført hydrolyse med PSP etterfulgt av forskjellige andre

enzymer (2-4). Vi ønsket å studere om det var mulig å ta ut en kollagenrik peptidfraksjon før muskelprotein og andre proteiner i hodet ble ekstrahert.

Tabell 1 Enzymbehandling og hydrolysebetingelser for torsk hodene

Hydrolyse nr	Enzym 1	pH	Tid (minutter)	Enzym 2	pH	Tid
1	PSP (2%)	4,4-5,2	120	NPU (2%)	7,0	60
2	PSP (2%)	4,0-4,4	80	AFP (1,5)	4,4	60
3	PSP (2%)	4	30	AFP (1%)	5,2	60
4	PSP (2%)	3,9	60	AFP (1%)	5,0	60
5*	PSP (2%)	4,2	60	AFP (2 %)	4,8	60
6*	PSP (1%)	4,2	60	AFP (1 %)	4,8	60
7	PSP (1%)	4,2	20	BAP:NPU (1:1) (0,5 %)	7,0	60

*Råstoffet er kvernet til en finere masse i ei kvern på NFH.

Hydrolyse av torskeryggene ble utført på opphakkert råstoff med samme temperatur og forhold mellom vann og råstoff som torsk hodene. Enzymene Alcalase og Corolase 2TS ble brukt ved konsentrasjon 0,5 % (ml enzym/ vekt råstoff) og 1 times hydrolysetid. Etter hydrolyse ble prøvene inaktivert på samme måte som beskrevet tidligere.

Sammenligning av ferske og frosne hoder

Hoder fra teinefanget fisk ble kort tid etter slaktning hakket i hurtighakke og deler av råstoffet ble vacuum pakket og frosset ved -30 °C. Ferskt råstoff ble hydrolysert samme dag som fisken ble slaktet med en to trinns hydrolyse med PSP og BAP:NPU og ett-trinns med Corolase 2TS. Hydrolysebetingelser for PSP/BAP:NPU. Enzymkonsentrasjon PSP, 1 % (pH 4). BAP:NPU 0,5 %. Hydrolysetid 1 time på hvert trinn. For hydrolyse med Corolase ble pH ikke justert. Enzymkonsentrasjon 0,5 % og 1 time hydrolysetid. Etter 16 dager i fryst tilstand ble tilsvarende råstoff tint og hydrolyse utført med de samme betingelser som beskrevet over. Næringsstoffer fra bein kan så hentes ut i en syrehydrolyseprosess som beskrevet under dersom dette er ønskelig.

Dette gir følgende totalprosess:



Torsk hoder og rygger



Hydrolyse



Proteinpulver ut



Beinrester



Hydrolyserte torskerygger



Syrehydrolyse



Separasjon



Inndamping



spraytørking

Figur 1 Skjematisk oversikt over prosess fra restråstoff, via proteinpulver til produkt fra ben.

Oppskalering av hydrolyse av torskerygger.

For å teste om det kunne være mulig å overføre laboratorieskala analyser til industriskala produksjon, ble det utført en oppskalering fra lab skala til pilotskala i Nofimas pilot hall i Tromsø. En del av hydrolysatet ble også spraytørket siden denne tørkemethoden vil være en aktuell tørkemethode i industriskalaproduksjon. Frosne rygger ble tint over natt ved romtemperatur før de ble kjørt i gjennom en hurtighakke på samme måte som beskrevet for hoder og rygger. Hydrolysen ble utført med de samme betingelsene som ble brukt i lab skala. Temperatur 50 °C og 1 time hydrolysetid. Corolase 2TS ble brukt som enzym (0,5 % i forhold til vekt av råstoffet). Enzymet ble inaktivert ved å heve temperaturen til 90 °C og holde den temperaturen i 10 minutter. Etter inaktivering ble bein separert i fra med siling. Væskefasen ble så sentrifugert 7000 x g i 20 minutter før den ble konsentrert ved inndamping i rotavapor. Temperatur under inndamping var 45 °C. Etter hydrolyse ble en del frysetørket, mens en del ble fryst inn for spraytørking. Totalt ble 10 kg rygger hydrolysert. Det er en 28 gang oppskalering i forhold til forsøk i laboratoriet. Utbyttet basert på tørrstoff var 49,1 % for hydrolysatet. I små skala forsøk var utbyttet ca 52 %. Forskjellen kan skyldes at et lite tap i spraytørkeprosessen. Tapen er på grunn av at en nokså liten del av hydrolysatet (1/4) ble spraytørket, noe som resulterer i noe tapt på grunn av vanskeligheter med å få alt pulveret ut av spraytørken. Utbytte av bein (26,5 %) og sediment (15,7 %) var også ikke signifikant forskjellig fra det vi fikk i lab skala (28,7 og 18,4 %).

Smakstest.

For å evaluere de sensoriske egenskapene til hydrolysat av torskerygger ble 3 ulike prøver smakstestet og sammenlignet med 2 hydrolysater fra myse. Mysehydrolysatene var produsert med enzymet Alcalase (M/A –ft) og enzymet Corolase (M/C – ft) og begge var frysetørket. Hydrolysatene fra torskerygger var produsert med Alcalase (T/A- ft) og Corolase (T/C – ft), begge frysetørket. I tillegg ble en prøve fra oppskalering av hydrolyse av torskerygger produsert med Corolase og spraytørket (T/C – sp) testet. Alle prøvene ble blandet til 1 % konsentrasjon (1g /100 ml) i vann. Smakspanelet bestod av 6 personer der halvparten har fått innledende trening i sensorisk analyse fra Nofima. Smaksbildet ble valgt i samarbeid med forskere innen avdeling for sensorikk, forbruker og innovasjon i Nofima, og følgende ord ble valgt til beskrivelse av hydrolysat: fisk/tørrfisk, giftig/besk/bitter, salt, emmen/muggen, umami/fiskebuljong, sur og søt. Hydrolysatene ble bedømt på en skala fra 0-5 der 0 var ingen smak og 5 var intens smak.

Hydrolysatene ble deretter testet av to industrirepresentanter. Disse har ikke formell smakstrening men har erfaring fra hva som er ønsket i ulike markeder.

5 Oppnådde resultater

Tabell 2 Prosent utbytte beregnet fra tørrstoffinnhold av råstoffet og de forskjellige fraksjonene fra den enzymatiske hydrolysen

Hydrolyse nr	PSP	2. Enzym	Beinrester	Sediment	Sum
1	25,5	22,9	-	-	
2	26,9	12,7	50,3	22,4	112,3
3	23,5	15,7	40,5	19,9	99,6
4	24,9	13,9	44,3	18,2	101,5
5*	28,3	10,6	27,6	25,5	85,8
6*	26,8	7	36,8	26,6	97,2
7	18,8	27,9	44,3	15,2	106,2

*Finkvernede prøver

Tabell 2 viser utbyttet som tørrstoff i de forskjellige fraksjonene etter hydrolyse. Utbyttet av PSP-hydrolysatet er forholdsvis likt for de ulike hydrolysene bortsett fra forsøk 7 hvor det er lavere. Det tyder på at 1 % enzym og 20 minutters hydrolysetid ikke er tilstrekkelig for å få et godt utbytte. Ellers viser tabellen at ved å finmale råstoffet øker utbyttet av sediment. Det skyldes nok at en del bein blir finmalt og ender opp som sediment i hydrolysatet.

Tabell 3 Protein og proteinutbytte i fraksjoner etter hydrolyseforsøk 4 med Maxipro PSP og AFP

	% protein	% utbytte
PSP	64	25,3
AFP	72,7	16,1
Sediment	77,2	22,4
Beinrester	29	20,4
Sum utbytte		84,2

Tabell 4 Protein og proteinutbytte i fraksjoner etter hydrolyseforsøk 7 med Maxipro PSP og BAP:NPU

	% protein	% utbytte
PSP	58,6	17,5
BAP:NPU	78,9	34,9
Sediment	77,2	18,6
Beinrester	29	20,4
Sum utbytte		91,4

Tabell 3 og 4 viser protein og proteinutbytte i henholdsvis hydrolyseforsøk 4 og 7. PSP hydrolysatene har lavere proteininnhold enn hydrolysatene fra steg to i hydrolysen. Det skyldes at askeinnholdet (tabell 5) blir høyere på grunn av at pH blir justert med syre. Torskehodene brukt til hydrolyse hadde

et tørrstoffinnhold på 20,5 %. Av tørrstoffet var det 68,4 % protein og 29,6 % aske. Fettinnhold ble ikke analysert, men hvis man antar at resten er lipider blir det 2 % som stemmer med tidligere analyser av torskeshoder (Arnesen og Gildberg, 2006).

Tabell 5 Vann, protein og askeinnhold (%) i noen frysetørkede hydrolysater fra forsøk 4 og 7 på torskeshoder, samt Alcalase og Corolase hydrolysater fra torskerygger

	PSP (4)	PSP (7)	AFP	BAP:NPU	Corolase	Alcalase
Vann	10,6	14,5	7,8	7,4	6,7	7,1
Protein	64,0	58,6	72,7	78,9	89,0	87,0
Aske	18,8	25,2	8,3	6,6	5,0	4,0

Tabell 5 viser vann, protein og aske i noen torskeshodehydrolysater og hydrolysater av torskerygger (Corolase og Alcalase). Som nevnt har PSP-hydrolysater høyt askeinnhold sammenlignet med de andre. Men det ser også ut til at de tar til seg mer vann over tid sammenlignet med de andre. Torskerygghydrolysater har forholdsvis høyt proteininnhold og lavt askeinnhold.

Tabell 6 Aminosyresammensetning (frie + proteinbundet) i torskeshodehydrolysat samt i frysetørkede torskeshoder. Mengde totale aminosyrer og mengde av de 20 aminosyrer som inngår i protein er kalkulert

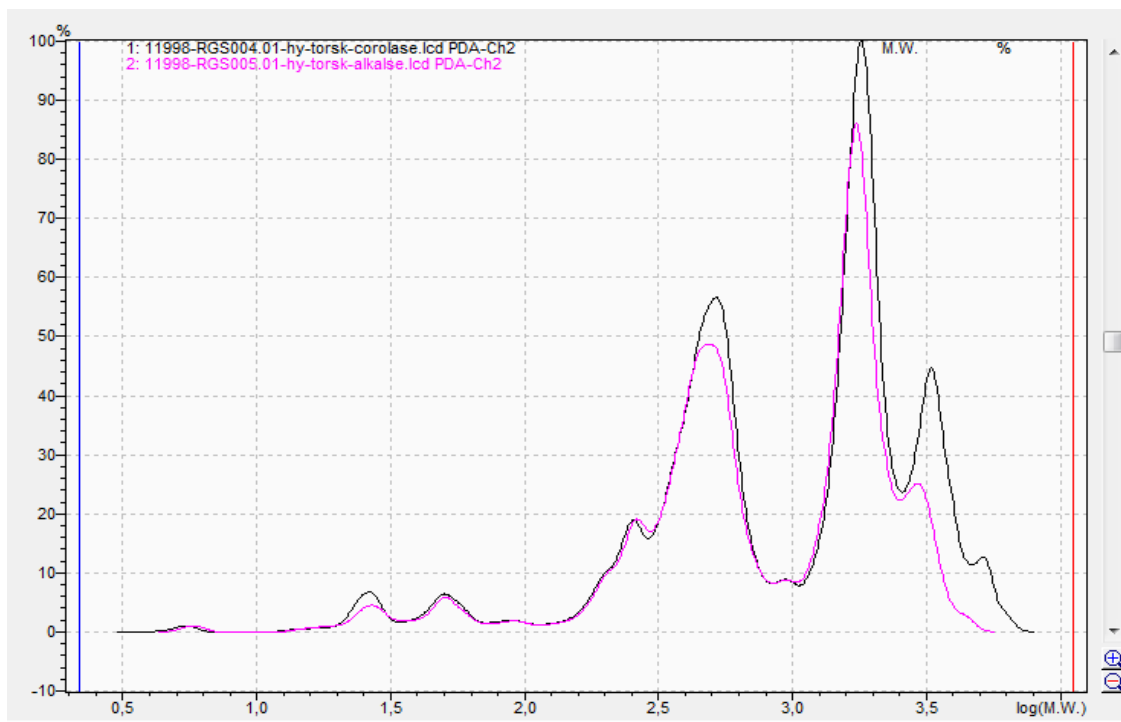
	Forsøk 1		Forsøk 2		Forsøk 3		Forsøk 4		Forsøk 5 *		Forsøk 6 *		Forsøk 7		
	PSP 2%	NPU 2%	PSP 2%	AFP 1,5%	PSP 2%	AFP 1%	PSP 2%	AFP 1%	PSP 2%	AFP 2%	PSP 1%	AFP 1%	PSP 1%	BAP:NPU (1:1) 0,5%	Fryste hoder
Tau	14,5	3,8	7,7	16,5	14,6	6,0	14,1	6,3	14,2	7,9	13,5	6,6	17,5	4,9	5,9
Asp	29,7	51,1	31,2	31,1	25,5	44,7	28,4	43,7	29,1	44,1	29,2	44,8	25,6	54,2	37,9
Hyp	20,9	8,7	21,8	8,2	22,2	16,4	24,5	16,6	27,5	16,2	25,8	13,6	22,7	14,2	14,2
Thr	18,4	33,4	18,6	20,7	14,7	27,6	16,4	26,4	16,7	25,9	16,6	26,7	14,4	33,1	22,6
Ser	30,2	35,6	31,1	24,7	27,8	36,3	31,0	36,2	33,0	35,7	32,2	34,7	28,3	40,2	31,1
Glu	60,5	96,3	65,6	58,0	51,3	94,5	58,5	94,3	60,7	97,9	60,6	98,4	52,7	108,6	72,7
Pro	39,0	29,8	40,4	23,8	38,9	37,5	42,4	38,1	46,4	37,2	44,9	34,1	39,5	38,5	32,7
Gly	93,5	59,3	97,5	50,8	97,9	83,6	105,7	86,3	116,9	83,2	109,9	72,3	97,7	78,7	73,5
Ala	42,0	44,1	43,6	32,4	40,5	47,6	44,1	47,6	47,0	48,1	45,7	46,0	40,7	50,7	39,8
Val	16,9	34,1	17,2	21,3	13,0	28,1	14,8	26,9	14,6	26,5	15,0	27,5	12,8	35,6	23,9
Cys	1,4	5,6	1,4	2,6	0,8	3,3	1,0	3,0	0,8	2,7		3,2	0,9	5,4	3,9
Met	11,9	21,1	12,7	12,5	10,7	18,8	11,4	18,1	11,8	18,3	12,0	19,2	10,4	22,5	15,4
Ile	11,0	27,3	11,7	15,7	8,6	21,1	9,7	20,6	9,8	20,6	9,9	22,0	8,6	27,5	18,7
Leu	23,2	50,1	25,8	29,9	17,6	42,8	20,2	41,4	20,3	43,4	20,5	44,4	17,7	51,6	34,6
Tyr	4,8	21,3	7,1	10,0	5,0	13,5	5,3	12,4	5,3	12,3		13,7	3,5	16,4	6,5
Phe	11,8	23,6	11,9	15,4	10,2	18,1	11,0	17,2	11,0	16,9	11,1	17,8	9,8	24,3	18,1
EtOHNH3	0,8		0,7	0,9	1,0	0,6	0,9		0,9	0,6			1,0		
NH3	6,4	7,6	5,6	7,2	5,5	7,8	6,0	7,6	6,2	7,9	5,9	7,5	5,7	9,2	5,9
HyLys	4,6	2,3	5,0	2,3	4,6	4,1	5,3	4,1	5,7	3,7	5,3	2,9	4,3	3,7	3,3
Lys	29,9	50,9	32,8	34,6	22,9	51,5	25,9	49,4	26,3	54,1	27,3	55,5	23,9	55,4	34,8
1-methis	2,6		1,1	2,8	2,6	0,8	2,2	0,8	2,3	1,1	2,1	1,1	3,4		
His	7,5	12,4	8,1	8,7	6,5	11,3	7,1	11,0	7,2	11,2	7,4	11,8	6,6	13,2	9,2
Arg	39,7	44,0	42,9	31,2	36,4	51,8	40,1	50,3	43,7	52,1	42,3	50,4	37,0	52,7	40,8
Σ alle	521	66	541	462	479	668	526	658	557	668	537	654	485	741	545
Σ AA20	471	640	499	424	428	632	473	623	501	630	484	623	430	709	516

Tabell 6 viser at PSP-hydrolysatene inneholder mer av noen aminosyrer som er typiske for kollagen enn hydrolysatene fra steg 2. Aminosyrene er Hydroksyprolin (Hyp), Prolin (Pro), Glysin (Gly) og Hydroksylisin (HyLyd). Samtidig har hydrolysatene fra steg to høyere innhold av Asp, Thr, Glu, Leu og Tyr enn PSP-hydrolysatene. Noen aminosyrer har forholdsvis likt innhold i steg en og steg to hydrolysatene. Eksempler på det er Serin og Alanin.

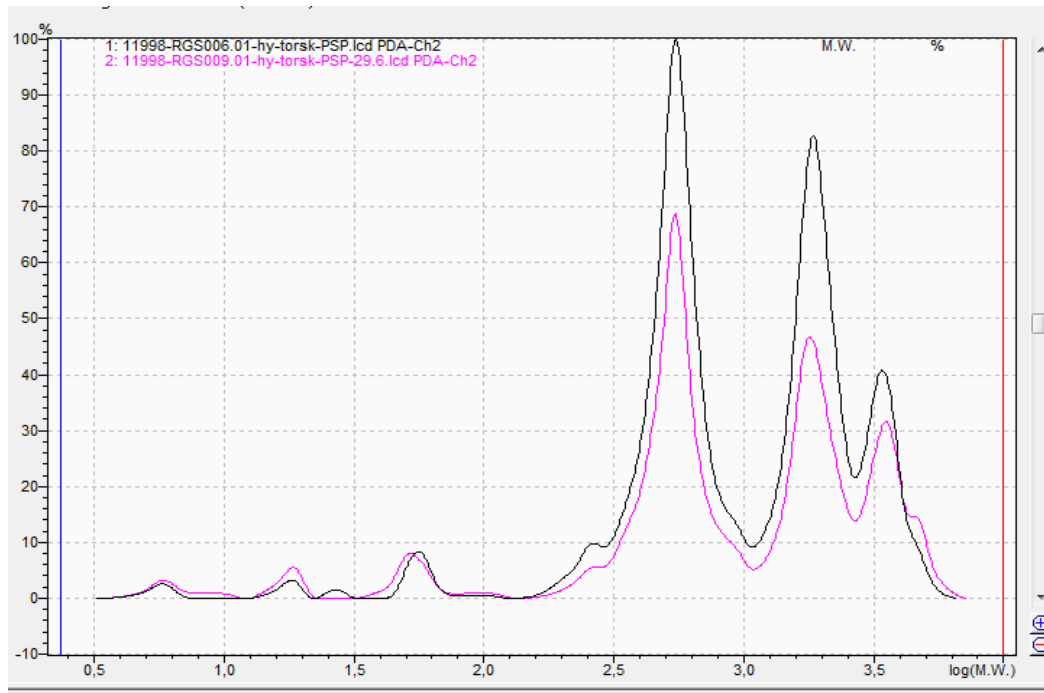
Tabell 7 Prosent utbytte av tørrstoff i hydrolysatene etter hydrolyse av ferske og frosne hoder

Enzymer	Ferske	Frosne
PSP	25,7	22,8
BAP:NPU	11,0	11,8
Sum PSP og BAP:NPU	36,7	34,6
Corolase	37,1	40,5

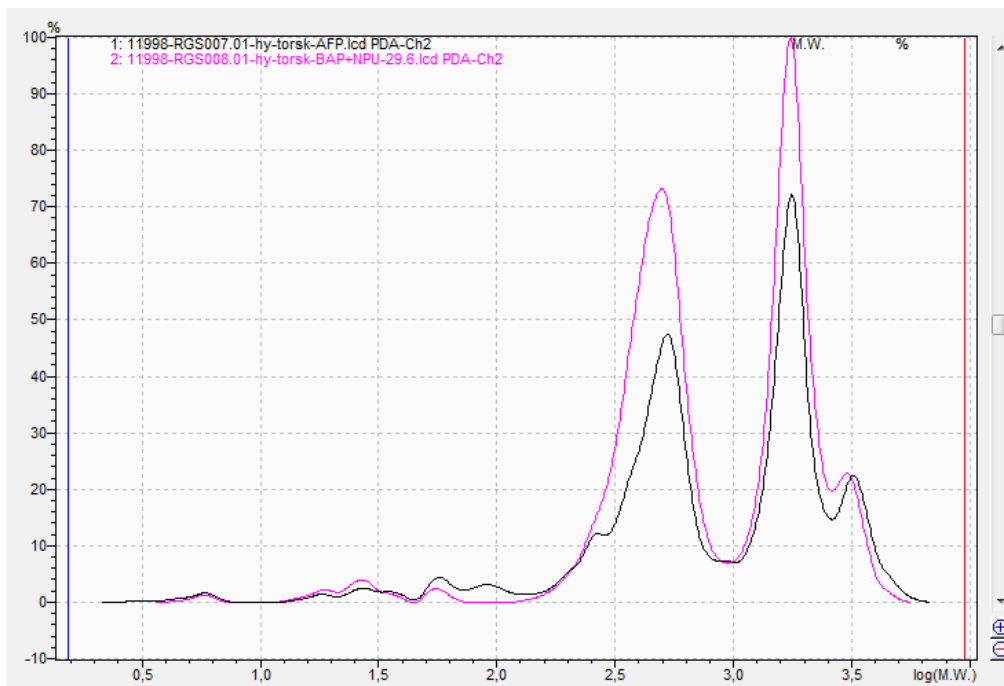
Tabell 7 viser at det ikke er dramatiske forskjeller i utbyttet etter hydrolyse av ferske og frosne hoder. Hydrolyse av ferske hoder med PSP gir litt høyere utbytte sammenlignet med tilsvarende hydrolysat fra frosne hoder. Hydrolyse med Corolase (ett steg) gav det høyest utbytte fra frosne hoder.



Figur 2 Molekylvektfordeling til torskerygghydrolysatene hydrolysert med Corolase og Alcalase (svart) Log molekylvekt på x-aksen



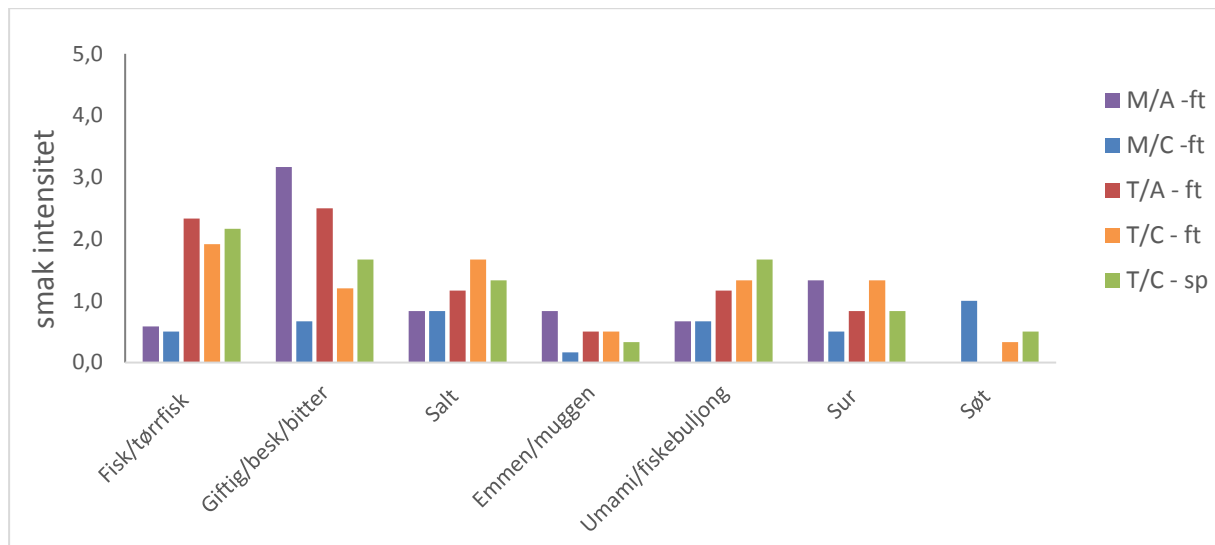
Figur 3 Molekylvektfordelingen til torskeshodehydrolysat hydrolysert med 1 og 2 % Maxipro PSP (svart)



Figur 4 Molekylvektfordeling av torskeshodehydrolysat (steg 2) hydrolysert med Maxipro AFP (svart) og en miks av Maxipro BAP og Maxipro NPU (1:1)

Figur 2 viser molekylvektfordelingen til torskerygghydrolysatene. Profilen til Corolase og Alcalase er nokså lik, men Corolase ser ut til å ha flere molekyler med molekylvekt rundt 500 (log 2,5), 1800 (log 3,25) og over 3200 Da (log 3,5). Figur 3 viser at ved å øke enzymkonsentrasjon fra 1 til 2 % får man flere molekyler med størrelse mellom 400-5000 Da. Figur 4 viser at kombinasjonen av BAP og NPU er

mer effektiv til å bryte ned proteinene enn AFP. Det dannes mer av de lavmolekylære peptidene (rundt 500 Da) og de med litt høyere molekylvekt (rundt 1800 Da).



Figur 5. Gjennomsnitt smaksevaluering av hydrolysat fra torskerygger (T) og myse (M) produsert med enten Alcalase (A) eller Corolase (C). Hydrolysatene ble enten frysetørket (ft) eller spraytørket (sp).

Smakene ble bedømt på en skala fra 0 -5 der 0 var ingen smak, 1 var veldig lite smak og 5 var intens smak. Hydrolysat av torskerygger hadde som forventet en markert fiskesmak i forhold til mysehydrolysat. Hydrolysater produsert med Corolase 2TS var mer smaksnøytrale enn hydrolysater produsert med Alcalase som var preget av bittersmak uavhengig av råstoff.

Av industrirepresentanter ble hydrolysatet vurdert som meget bra for markedspreferanser, særlig asiatiske markeder der en saltfri fiskesmak er ønsket av konsumenter.

Vurdering av funnene (statistikk, sikkerhet, presisjon etc.)

Resultatene fra en to stegs hydrolyse av torskehoder viser at det er mulig å lage to hydrolysater fra et og samme råstoff ved å kombinere ulike enzymer. Analysen av aminosyresammensetning viser at det er mulig å lage at hydrolysat som er rikt på en del aminosyrer som er typiske for kollagen. Ulempen med et slikt hydrolysat er at det får et litt lavt proteininnhold på grunn av høyt askeinnhold. Her må det vurderes om det lønnsomt å ta den ekstra innsatsen med å justere pH for å få ut et produkt rikt på kollagenpeptider.

Forskjellen mellom ferske og frosne hoder som råstoff til hydrolyse var minimal. I dette forsøket var råstoffet frosset i 16 dager ved -30 °C. Det er mulig at frysing ved høyere temperatur og lengre tid vil kunne gi større forskjeller.

Hydrolyse av torskerygger gir et pulver rikt på protein og lavt askeinnhold. Smaksmessig er hydrolysatet produsert med Corolase mye bedre enn tilsvarende laget med Alcalase. Etter at proteinrester fra hoder og rygger er tatt ut kan beina prosesseres videre for å oppnå total utnyttelse av proteiner og mineraler. Mineralprosessen kan med letthet tilpasses ulike typer beinråstoff (Albrektsen et al., 2013, 2014, 2017a; Ytteborg et al., 2016).

Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)

Hydrolysene er utført slik at det skal være mulig å skalere prosessene og implementere disse prosessene i slaktelinjen til Myre Havbruk. Vi har diskutert direkte oppsett med Myre havbruk og benyttet enzymer som kan brukes i matproduksjon og som er mulig å bruke i skalerte prosesser. Det må være tilgjengelighet på enzymene i industriskala og kostnadene skal kunne forsvares ved prisen som er oppnåelig i markedet.

Priser for proteinpulver fra torsk varierer, Seagarden selger et torskeprotein produkt som koster 600 kr/kilo. For protein inn mot fôr og petfood ligger prisen mye lavere, men man kan regne med minst 20 kr/kilo på andre enden av skalaen.

Når det gjelder beinrester etter hydrolyse av torskehoder vil det være kostnader forbundet med infrastruktur av oppsett av mineralekstraksjon, noen av disse kostnader vil kunne tas sammen med et hydrolyseanlegg for proteinhydrolysater, inkludert separasjon, inndamping og spraytørke. Dersom det velges batch hydrolyse hos Myre, kan reaktortankene kombineres med hydrolyse av bein. Dersom Myre velger kontinuerlig hydrolyse vil det være ekstra kostnader med syrehydrolyse av bein. Verdien av produkter fra bein varierer med tanke på kundesegmenter, disse kan være humankonsum eller fôr (fisk, kylling, petfood) industri, eller jordanrikning, med synkende kilopris. Nøyaktig kilopris kommer an på anvendelse og kan variere fra flere hundre til ned om ensifret kronebeløp per kilo.

Vurdering/drøfting av nytteverdi for sjømatnæringen: gir resultatene bidrag til FHF's visjon om bærekraftig og lønnsom sjømatnæring i vekst?

Dette prosjektet har som beskrevet over nytteverdi i form av at det fremmer en bærekraftig fiskerinæring med fokus på totalutnyttelse og maksimal verdiskapning med vedvarende sysselsetning i områder med fiskeri.

6 Patentrettigheter - IPR

Teknologien for produksjon av mineralrike ingredienser fra fiskebein er patentert (Aksnes, 2002/ revidert 2007), og det er tatt ut nye patenter knyttet til optimalisering av teknologien og til nye anvendelser av produktene (Albrektsen, 2015; 2016), ettersom ingrediensene bl.a. kan gi kvalitetsforbedringer i form av økt pigmentering i laks (Albrektsen *et al.*, 2017b). I noen forsøk er det påvist økt fordøyelighet av næringsstoffer i laks fôret med mineralrike ingredienser (Albrektsen *et al.*, 2013) og moderat til signifikant økt vekst (Albrektsen *et al.*, 2017a).

Nofima har fått innvilget et nytt prosjekt som skal verifisere en optimalisert prosess for hydrolyse av mineraler i torskebein med mindre bruk av kjemikalier (Forny2020 prosjekt 273421). I prosjektet skal vi også verifisere ny teknologi for hydrolyse av kollagenrike proteiner i av-mineraliserte bein, og dokumentere mulig merverdi av hydrolyserte beinproteiner som fôr og næringsmiddel.

Formålet med prosjektet er å lisensiere ut ny teknologi til industri som er interessert i å anvende teknologien, en prosess som er styrt av Bergen Teknologioverføring (BTO).

7 Referanser

- Aksnes, A. (2002, revidert 2007a). Framgangsmåte for å forbedre den biologiske fordøybarheten til et fôrprodukt, samt produkt resulterende derav, samt anvendelse av produktet. Mineraler. Søknadsnr 20045728
- Albrektsen (2015). Patent application number 1522443.9. [Patent] Patent No/License no.: 1522443.9 Registered 2015-12-18
- Albrektsen (2016). PCT application, GB2016/053975, Registered 2016-12-16
- Albrektsen, S., K.H. Thorsen, G. Bæverfjord & H. Nygaard (2013). Improved phosphorus utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) by acid hydrolysis of bone minerals in fish meal. Interdisciplinary Approaches in Fish Skeletal Biology (IAFSB), 2013. Poster.
- Albrektsen, S., E.-J. Lock, G. Bæverfjord, M.E. Pedersen, H.R. Takle, R. Ørnstrud, E. Veiseth-Kent, R. Waagbø & E.Ytteborg (2014). Økt utnyttelse av næringsstoffer fra marint restråstoff. Tromsø: Nofima 2014 (ISBN 978-82-8296-170-7) 15 p. Nofima rapportserie (11/2014).
- Albrektsen, S., E.-J.Lock, G. Bæverfjord, M. Pedersen, A. Krasnov, H. Takle, E. Veiseth-Kent, R. Ørnstrud, R. Waagbø, E. Ytteborg (2017a). Utilization of acid hydrolysed phosphorous from herring by-products in feed for Atlantic salmon 0⁺-smolt. *Aquaculture Nutrition* 2017, pp. 1–18.
- Albrektsen, S., T.K. Østbye, M. Pedersen, E. Ytteborg, B. Ruyter & T. Ytrestøyl (2017b). Dietary impacts of acid extracted soluble fish bone compounds on astaxanthin utilization and muscle quality in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, submitted manuscript.
- Arnesen, J.A. and A. Gildberg, Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. *Process Biochemistry*, 2006. 41(3): p. 697-700.
- Bello, A.E. & S. Oesser (2006). Collagen hydrolysate for the treatment of osteoarthritis and other joint disorders: a review of the literature. *Current Medical Research and Opinion*, **22**:11, pp. 2221–2232.
- Nordrum, S., T. Aasgård, K.D. Shearer & P. Arnesen (1997). Availability of phosphorus in fish bone meal and inorganic salts to Atlantic salmon (*Salmo salar*) as determined by retention. *Aquaculture*, **157**, pp. 51-61.
- Olsen, R.L., J. Toppe, and I. Karunasagar, Challenges and realistic opportunities in the use of by-products from processing of fish and shellfish. *Trends in Food Science & Technology*, 2014. 36(2): p. 144-151.
- Richardsen, Nystøyl, Strandheim & Marthinussen (2017). Analyse av marint restråstoff 2016 (Norwegian report).
- Šližyte, R., et al., Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, 2005. 40(3–4): p. 1415-1424.
- Toppe, J., S. Albrektsen, B. Hope & A. Aksnes (2007). Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. *Comp. Biochem. Physiol. B.* ,**146**, pp. 395–401.
- Van Vuuren, D.P., A.F. Bouwman & A.H.W. Beusen (2010) Phosphorus demand for the 1970-2100 period: A scenario analysis of resource depletion. *Global Envir. Change*, 20, pp. 428–439.
- Meldstad, F., Hydrolysis of Marine Cod (*Gadus Morhua*) head, in Department of Biotechnology. 2015, Norwegian University of Science and Technology.
- Viðarsson, Á.J.o.J.R., By-products from whitefish processing, in *Matis Rapport series*, MATIS, Editor. 2016, ISSN: 1670-7192
- Ytrestøyl, T., T.S. Aas & T. Aasgård (2015). Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture*, 448, pp. 365–374.
- Ytteborg, E., G. Bæverfjord, E.-J. Lock, M. Pedersen, H. Takle, R. Ørnstrud, R. Waagbø & S. Albrektsen (2016). Utilization of acid hydrolysed phosphorous from herring by-products in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*) start-feeding fry. *Aquaculture*, **459**, pp. 173–184.

8 Leveranser

I prosjektet er det levert følgende:

Prosjektbeskrivelse

Referater fra styremøter

Populærvitenskapelig publikasjon

Sluttrapport, faglig og administrativ

Faktaark om prosjektet

