



NTNU - Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

BACHELOROPPGAVE 2022

15 studiepoeng

## **Bærekraftig produksjon av hydrolysat**



utført av

Njål Berg Knudsen

Iver Hovstad Røphaug

Ambjørn Bardal

Dette arbeidet er gjennomført som ledd i bachelorutdanningen i matvitenskap, teknologi og bærekraft ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU. Bruk av oppgavens innhold skjer på eget ansvar.



## Sammendrag

Hensikten med denne oppgaven var å se på hvordan man kan videreforedle hydrolysatet av fiskerestråstoff på en måte som øker kvaliteten og kommersiell verdi. I tillegg vil denne oppgaven besvare problemer når det gjelder effektiv og bærekraftig bruk av marine ressurser i produksjon og konsum.

Oppgaven tok for seg forbehandling og avvanningsmetoder for enzymatisk hydrolyserte torskehoder. Sluttproduktet til hydrolysatet skulle være et proteinpulver som fungerer som en funksjonell ingrediens. Det ble gjennomført seks ulike prosesser innen separering, oppkonsentrering og tørking på hydrolysatprøvene, i tillegg til analyser for å bestemme ulike kvalitetsparametere.

Separering via sedimentering og mikrofiltrering ble gjennomført for å fjerne uønskede partikler. Tørkingen ble mer tidseffektiv ved at hydrolysatløsningen ble oppkonsentrert. Oppkonsentreringsmetodene her inkluderte nanofiltrering og inndampning. Tørkemethodene vi undersøkte var frysetørking og spraytørking. Analyser ble gjort for hvert steg. Rått hydrolysat ble karakterisert med hensyn på tørrstoff, saltkonsentrasjon, vannaktivitet, farge og viskositet. Hydrolysat som ble separert og/eller oppkonsentrert ble karakterisert med hensyn på de samme parametre for å bestemme hvordan det ble påvirket av prosessen. Aminosyresammensetning, tørrstoffmengde, vannaktivitet, protein- og saltmengde samt farge ble målt i tørkede prøver.

Ønskede kvaliteter i produktet var lys farge, lang holdbarhet, høyest mulig proteininnhold og minst mulig salt, mest mulig essensielle aminosyrer, samt lav viskositet under hele prosessen. I tillegg skulle prosesseringen ha et lavt strømforbruk.

Resultatene viste at fargen var best i topplag som ble spraytørket eller rått hydrolysat som ble nanofiltrert. Sammensetningen av protein, salt og andre stoffer ble kun bedre med nanofiltrering. Aminosyresammensetningen ble lite endret av de ulike prosesseringsmetodene. Det ble målt litt færre essensielle aminosyrer i den vannløselige delen. Viskositet var lavest i topplag og ble gradvis høyere i nanofiltrat, rått hydrolysat, og bunnlag. I tillegg observerte vi at viskositet ble lavest med lav tørrstoffkonsentrasjon, høy temperatur og høyt saltinnhold.

Ut fra de valgte kvalitetskriteriene var de beste resultatene oppnådd med en trestegsprosess bestående av mikrofiltrering, oppkonsentrert med nanofiltrering, og til slutt frysetørking. Disse gav bes med tanke på farge, protein- og saltsammensetning. Ut fra resultatene for de enkelte prosesstrinnene ville trolig den optimale prosessen være sedimentering, nanofiltrering av topplaget og til slutt spraytørking. Dette forsøkt ble imidlertid ikke utført på grunn av dårlig tid.

## **Abstract**

The purpose of this task was to observe the processes and treatments of an intermediary product in a way which focused on promoting quality and adding value to the product.

The goal is to dehydrate enzymatically hydrolyzed heads of cod. The final product of this dehydration would be a protein-powder which has good nutritional and functional properties. There were performed six different processes within separation, concentrating and drying. In addition, there were measurements for quality parameters that would affect sensory properties, functional properties and production costs of the final product.

Separating the insoluble particles from the hydrolysate-mixture can be achieved with two methods. The first was membrane microfiltration. The second was sedimentation by gravity into a top- and bottom layer by letting the mixture stand still. The concentration-methods include low-temperature evaporation and nanofiltration. The drying methods were freeze-drying and spray-drying. The dry mass, water activity, salt-concentration, color and viscosity were measured in the pre-processed hydrolysate-mixture. For the separated and/or concentrated hydrolysate-mixture the same parameters were measured to decide whether the processes changed the values. The composition of amino-acids, dry mass, water activity, the concentration of nitrogen-protein and salt, in addition to color were measured in the final powder

The desired qualities in our product were light color; the highest amount of protein with the least amount of salt; large concentration essential amino acids; and a low viscosity during the whole process. The process also needed a low energy-usage.

Our results showed that the color was lightest in spray-dried products, top-layers and nanofiltrated mixtures. The composition of salt and protein would only be improved by nanofiltration. The overall composition of essential and non-essential amino acids was relatively unchanged. Essential amino acids were found to be in higher concentration in the water-insoluble particles. Viscosity was lowest in top-layer, compared to raw hydrolysate, bottom-layer and nanofiltrated. We observed that viscosity would get lower with low concentration of dry-mass, high temperature, and high concentration of salt.

From our task we decided that a micro- and nanofiltrated mixture that was freeze-dried gave the best results. However, we had little time to try all combinations and this process isn't perfect. If there had been more time to perform tests, we would spray dry a nanofiltrated top layer for better results in color and energy-use.

## Forord

Dette er en rapport av de ulike forsøkene gjennomført i våren 2022 i sammenheng med bacheloroppgaven “Bærekraftig produksjon av hydrolysat”. Rapporten ble skrevet som en del av den avsluttende bacheloroppgaven i Matteknologi, men faget heter nå Matvitenskap, Teknologi og Bærekraft. Prosessene og analysene i oppgaven ble gjennomført på Varmetekniske laboratorier ved Institutt for energi og Prosessteknikk, og på Kalvskinnet ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap.

Alt av råmateriale ble generøst donert av Vesterålen Havbruk Produksjonslag, og alle kostnader for forsøkene ble dekket av NTNU.

Vi vil rekke takk til alle som har hjulpet med fremstillingen av denne bacheloroppgaven. Først vil vi takke Ignat Tolstorebrov for å ha gitt oss ideer og motivasjon til å gå lengre i oppgaven og Kirill Mukhatov som har gitt konstruktive tilbakemeldinger på jobben som ble gjort. Vi rekker også en takk til Anne-Kathrine Streitlien, Martin Haider og Kari Helgetun Langfoss for god veiledning i labforsøk på Akrinn, i tillegg til Siri Stavrum, Tarjei Haugbro og Turid Rustad for veiledning til forsøkene på Kjemiblokk 3.

Njål B. Knudsen

Andbjørn Bardal

Iver Hovstad Røphaug

Trondheim, 20.05.2022

## **Innhold**

1. Innledning	1
2. Teoretisk bakgrunn	2
2.1 Restråstoff	2
2.2 Fiskeproteinhydrolysat	2
2.3 Membranfiltrering, konsentrering og tørking	5
2.4 Proteinpulver av hydrolysat	11
2.5 Energibruk	12
3. Materialer og metoder	13
3.1 Rått hydrolysat	13
3.2 Forsøksdesign	14
3.3 Separering	16
3.4 Konsentrering	17
3.5 Tørking	18
3.6 Målemetoder	20
4. Resultater og vurdering	27
4.1 Hydrolysat før tørking	27
4.2 Viskositet	31
4.3 Tørket fiskeproteinhydrolysat	33
5. Konklusjon	41
5.1 Videre arbeid	42
6. Referanser	43
Vedlegg 1	1 side
Vedlegg 2	2 sider
Vedlegg 3	1 side
Vedlegg 4	1 side
Vedlegg 5	2 sider
Vedlegg 6	1 side
Vedlegg 7	2 sider
Vedlegg 8	2 sider
Vedlegg 9	2 sider
Vedlegg 10	2 sider
Vedlegg 11	13 sider

## 1. Innledning

Verden står foran store utfordringer innen overforbruk og uansvarlig produksjon. Blant disse utfordringene er en urealistisk utnyttelse av havets tilgjengelige ressurser, som stadig får reduserte fiskebestander og biomangfold. Dette går mot FN sine bærekraftsmål, hvor mål 12 og 14 er spesielt relevante her. Mål 12 er å sikre at det bygges opp bærekraftige forbruks- og produksjonsmønstre, som innebærer å forvalte naturressurser på den mest effektive måten (FN 2022a). Mål 14 er å bevare havet og bruke marine ressurser på en bærekraftig måte (FN 2022b). Norske fiskerier velger å forkaste fiskebiter av torsk med mulig høykvalitetsprotein, fordi fiskeråstoff som ikke blir til høykvalitetsprodukter ikke produserer nok verdi (Myhre et al. 2021). Da bør problemet løses på en måte som ikke skader næringsliv, fordi ifølge mål 14.7 skal man sikre de økonomiske fordelene av bærekraftig havbruk, for fiskerier, slakterier og akvakultur (FN 2022b).

Det finnes en løsning på problemet, i å produsere fiskeproteinhydrolysat av dette restråstoffet. Dette tiltaket har en mulighet til å øke verdien i fiskeindustrien betraktelig (Hallarsdottir et al. 2014). Produkter av fiskeproteinhydrolysat kan benyttes som en funksjonell ingrediens for humant konsum, og har høy verdi på grunn av gode egenskaper som å fremme bioaktivitet, antioksidativ effekt, og alle de essensielle aminosyrer som finnes i fisk (Hallarsdottir et al. 2014). Det endelige produktet av fiskeproteinhydrolysat er et proteinpulver som kan tilsettes i matvarer.

Denne prosessen har blitt utforsket mange ganger før og er relativt velkjent i fiskenæringen. Det har blitt publisert artikler som tar for seg utfordringer fra ulike aspekter ved produksjon, bl.a. hvordan å unngå kvalitetsforringelse via oksidasjon (Hallarsdottir m.fl. 2014), hvilken hydrolyseringsprosess som gir best kvalitet (Kristiansson & Rasco 2000), og kvaliteten av proteinhydrolysatet fra ulike fiskearter (Liceaga-Gesualdo & Li-Chan 1999). Forbedringspotensialet er stort, fordi dette hydrolysatet inneholder mye vann, som er utfordrende å håndtere med tanke på transport og lagring.

Problemstillingen for denne oppgaven er økt av utnyttelse av tilgjengelige restråstoffer på en måte som ivaretar økonomiske fordeler. Hovedmålet er å finne en prosess som oppnår god kvalitet i proteinpulveret og øker den kommersielle verdien. God kvalitet er her definert som at det gir økt verdi via lys farge, høy konsentrasjon av essensielle aminosyrer, lavt saltinnhold og lang holdbarhet. I tillegg skal prosessen ha lavt energiforbruk.

## 2. Teoretisk bakgrunn

### 2.1 Restråstoff

Marint restråstoff er en samlebetegnelse for det som ikke blir til primære hovedprodukter ved anvendelse av marint råstoffet. Hovedprodukter fra marint råstoff inkluderer rundfrossen fisk, hel, sløyd fisk og filetert fisk. Marint restråstoff er hoder, ryggrader, skinn og bein fra fisk. (He m.fl. 2013) oppgir at gjennomsnittlig proteinandel av tørrstoff i restråstoff er på ca. 50 % og at proteinet består av ca. 30% essensielle aminosyrer. (Myhre m.fl. 2021)

Til tross for høyt innhold av viktige næringsstoffer er det kun en liten del av det utnyttede restråstoffet som går til produksjon av verdifulle produkter beregnet til humant konsum (Myhre m.fl. 2021). I 2020 gikk 69% av utnyttet restråstoffet i Norge til produksjon av dyrefor, 18% gikk til bioenergi og 13% gikk til humant konsum. (Myhre m.fl. 2021)

I 2020 var utnyttelsesgraden av tilgjengelig restråstoff på 93 % i havbrukssektoren, 100% i pelagisk sektor, men kun på 58 % i hvitfisknæringen. Tilgjengelig restråstoff i hvitfisknæringen var på 292 000 tonn, og 123 000 tonn (42%) av dette ble altså ikke utnyttet. Mangel på økonomiske insentiver til å ta vare på mer restråstoff kan være en årsak til den lave utnyttelsesgraden. (Myhre m.fl. 2021)

Økt utnyttelsesgrad kan virkeliggjøres hvis sluttproduktet som produseres er såpass økonomisk verdifullt at det kan forvares å bruke mye ressurser på å ta vare på, og bearbeide restråstoffet. Fiskeproteinhydrolysat til humant konsum er et eksempel på et produkt som kan føre til økt interesse rundt utnyttelse av restråstoff fra hvitfisknæringen. (He m.fl. 2013)

### 2.2 Fiskeproteinhydrolysat

Fiskeproteinhydrolysat kan defineres som en blanding av polypeptider, oligopeptider og aminosyrer som dannes ved kjemisk eller enzymatisk hydrolysering av protein fra fisk (Rao m.fl. 2016).

Den kjemiske hydrolyseringsmetoden innebærer å bryte ned bindinger med svært etsende stoffer som er enten syrlige eller alkaliske ved høy temperatur. For syrehydrolysering benyttes vanligvis sterk saltsyre (6 Molar HCl) eller svovelsyre, som nøytraliseres med lut (NaOH) for å danne salt som er trygt for konsum i små mengder (Kristiansson & Rasco 2000). Enhver løsning av fiskeproteiner kan bli fullstendig hydrolysert med 6 M HCl i 118°C i 18 timer. Alkalisk hydrolysering innebærer å spalte peptidbindinger med NaOH i 95°C i 20 min (Kristiansson & Rasco 2000).



Kjemisk produsert hydrolysat vil generelt oppnå en høyere andel protein i løselig fraksjon enn enzymatisk produsert hydrolysat. Kjemisk hydrolyse er også en billigere og mindre tidkrevende prosess. Ved bruk av syrehydrolysing vil imidlertid den essensielle aminosyren tryptofan bli ødelagt (He m.fl. 2013)

Enzymatisk hydrolysing av fiskeprotein utføres ved at protolytiske enzymer tilsettes i en homogenisert blanding av fiskeråstoff og vann. Blandingsforholdet er vanligvis en del råstoff for en del vann (He m.fl. 2013). Fiskehoder utgjør 35 % av tilgjengelig restråstoff fra hvitfisknæringen og kan benyttes som råstoff (Myhre m.fl. 2021). Enzymer som anvendes for hydrolysing inkluderer papayaproteinase utvinnet fra papaya, kombinert med bromelain utvinnet fra ananas (Petrova m.fl. 2018). Ved hydrolysingen brytes bindinger i proteinet slik at vannløselige peptider og frie aminosyrer dannes (Petrova m.fl. 2013). Hydrolysingen kan avsluttes ved å bruke en temperatur på 90 grader for å deaktivere enzymene (He m.fl. 2013).

Etter hydrolysing separeres olje og uløselig fraksjon bort fra løselig fraksjonen. Det er den løselige fraksjonen som inneholder brukbare peptider og aminosyrer. (Petrova m.fl. 2018)

Løselighetsevne er den fysiokjemiske egenskapen som blir mest forandret når råstoff hydrolyseres. Enzymatisk spaltet hydrolysat har peptider med mindre molekylær vekt enn det originale proteinet. Det forventes at denne reduksjonen i peptidstørrelse vil føre til økt løselighet og lavere viskositet. På de gjenværende større proteinene vil flere hydrofile sidegrupper blottlegges slik at affiniteten for vannmolekylene øker (Jeon m.fl. 1999; He m.fl. 2013). Innholdet av NaCl i en konsentrert proteinløsning vil ha viskositetssenkende effekt, trolig forårsaket av at de forstyrrer intermolekulære tiltrekninger via ladning (Wang m.fl. 2015).

Kvaliteten til denne løselige fraksjonen er avhengig graden og utbyttet av hydrolysing, i tillegg til hvorvidt funksjonaliteten har blitt redusert av hydrolyseprosessen. Den sensoriske verdien av fiskeproteinhydrolysat blir også redusert av at oljerester i løselig fraksjon harskner, og reduseres av kontaminanter som prooksidanter (Halldorsdottir m.fl. 2014) Aminesyrefordelingen bestemmer proteinkvaliteten og næringsverdien, hvor flest mulig essensielle aminosyrer sammenlignet med ikke-essensielle gir best kvalitet (Millward m.fl. 2008). Den beste løselige fraksjonen har høyest mulig grad av hydrolysing sammenlignet med reduksjon av funksjon, ingen olje, og mer essensielle aminosyrer enn ikke-essensielle.

For at hydrolysat av torskeproteiner skal ha god kvalitet må mest mulig av de essensielle aminosyrene i torsk ivaretas. Fordelingen av aminosyrer i torsk kan variere enormt, avhengig hvor proteinene kommer fra, men en typisk torskefilet vil ha relativt høyt innhold av essensielle aminosyrer.

Tabell 1 viser aminosyrefordelingen av en analyse som ble gjennomført på torskemusklér. Analysen viser alle aminosyrer bortsett fra asparagin (Asn), tryptofan (Trp), og prolin (Pro), fordi syrebehandling i analysene ødelegger disse aminosyrene. (Iwasaki & Harada 1985)

Tabell 1: Aminosyresammensetning av tre referanser (Novikov m.fl. 2018), (Teixera & Mendes 2020 s. 308), (Iwasaki & Harada 1985)

<b>Ikke-essensielle AA (mmol/l)</b>	<b>Torsk (1985)</b>	<b>Torske-muskel (2020)</b>	<b>Hydolytat (2018)</b>	<b>Essensielle AA (mmol/l)</b>	<b>Torsk (1985)</b>	<b>Torske-muskel (2020)</b>	<b>Hydolytat (2018)</b>
Asp	11,41 %	11,24 %	8,83 %	His	2,68 %	1,86 %	0,71 %
Glu	17,57 %	17,97 %	11,31 %	Thr	4,57 %	5,30 %	5,30 %
Asn	0,00 %	0,00 %	0,00 %	Met	3,66 %	3,22 %	3,53 %
Ala	6,26 %	6,94 %	7,77 %	Val	5,51 %	5,23 %	5,30 %
Tyr	4,24 %	3,79 %	0,71 %	Phe	4,52 %	4,29 %	4,59 %
Aba	0,00 %	0,00 %	0,00 %	Ile	5,06 %	4,80 %	3,53 %
Ser	3,72 %	5,23 %	4,24 %	Leu	8,90 %	8,59 %	12,01 %
Gln	0,00 %	0,00 %	0,00 %	Lys	10,67 %	7,95 %	14,84 %
Gly/Arg	11,23 %	13,60 %	17,31 %				
<b>Sum ikke-essensielle</b>	<b>54,42 %</b>	<b>58,77 %</b>	<b>50,18</b>	<b>Sum essensielle</b>	<b>45,58 %</b>	<b>41,23 %</b>	<b>49,82 %</b>

Løselig fraksjonen av fiskeproteinhydrolysat kan inneholde opptil 90 % vann og er svært utsatt for mikrobiologisk aktivitet. Kontaminering av hydrolysatet kan unngås ved å fryse det under lagring og transport, eller ved regelmessig varmebehandling. (Petrova m.fl. 2018) Disse konserveringsmetodene er problematiske på lang sikt, ettersom frysing er en svært energikrevende og ineffektiv løsning for hydrolysat som produseres på en industriell skala. Varmebehandlingen i en kokeprosess fører til irreversibel skade på aminosyrer og peptider. Det trengs en effektiv konserveringsmetode som gir lang lagringstid og samtidig ivaretar kvalitetene som oppnås ved hydrolysen.

Hovedmålet for disse metodene er å fjerne vannet fra hydrolysatet. Vannet er en unyttig vekt med tanke på frakt og gjør produktet ustabil i kraft av at mikrobiell nedbryting er en faktor. Stabiliteten må økes slik at dette unngås. De ulike metodene er samlet i begrepet avvanningsmetoder. Hvilke av disse som anvendes påvirker egenskapene til endeproduktet. Teoretisk er det mulig å oppnå en komplett kvalitetsoverføring fra hydrolysatet til produktet, men i praksis må noen kompromiss inngås. Utover hvordan kvaliteten påvirkes har avvanningsmetodene forskjellige energikrav og kan i tilfeller bare oppnå deler av den fullstendige avvanningen. Noen metoder må i tillegg innføre et tidligere prosessstrinn for i det hele tatt å være brukbare.

Disse avvanningsmetodene er vakuumpkonsentrering på lav eller høy temperatur; revers osmose eller nanofiltrering; frysekonsentrering, frysetørking og spraytørking. Bare tørkemethodene går hele veien til proteinpulver, men de andre har gjerne et gunstigere forhold mellom energibruken for avvanning. Filtrering og sedimentering kan brukes som et tidligere prosessstrinn før konsentrering og er særlig nyttig for nanofiltrering og revers osmose.

Helhetlig burde flere avvanningsmetoder kombineres for å oppnå det som ønskes av produsent med tanke på kostnad og kvalitet. Det endelige produktet skal ha en holdbarhet på flere år, ha lav egenvekt i forhold til verdifullt protein og kunne brukes som ingrediens i andre varer uten utfordring.

### 2.3 Membranfiltrering, konsentrering og tørking

I dette kapitlet beskrives ulike metoder av membranfiltrerings-, konsentrerings- og tørkeprosesser som kan benyttes ved foredling av flytende fiskeproteinhydrolysat til proteinpulver.

#### 2.3.1 Membranfiltrering

Membranfiltrering er en trykkdrevet prosess som går ut på å dele en løsning i to fraksjoner ved hjelp av et semipermeabelt filter (Van der Bruggen 2002; Eykamp 1995). Fraksjonen som strømmer igjennom filteret kalles permeat og fraksjonen som holdes tilbake kalles retentat. Trykket bidrar til å øke løsningsgjennomtrengelighetsevne gjennom filteret. (Cheryan 1998 s. 1-9)

Membranfiltrering kan benyttes for å fjerne urenheter og til oppkonsentrering (Petrova m.fl. 2018). Riktig størrelse på membranporene er viktig for å skille uønskede og ønskede partikler på en effektiv måte (Petrova m.fl. 2018).

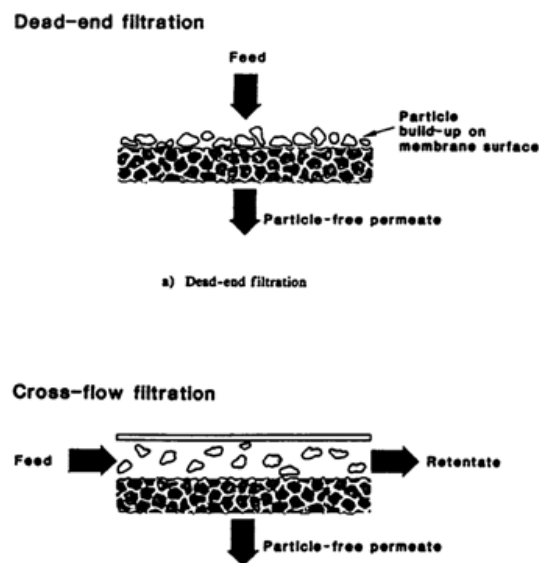
Membranfiltre kan kategoriseres etter molekylær vekt på partikler som blir holdt tilbake, “molecular weight cut-off” (MWCO). MWCO kan defineres som den molekylærvekten til et globulært protein som blir holdt tilbake 9 av 10 ganger. Molekylærvekten måles i Dalton (Da) (Eykamp 1995) og peptider i enzymatisk produsert hydrolysat kan ha molekylærvekt på 4000 Da (4 kDa) (Petrova m.fl. 2018).

Det at et molekyl har en molekylærvekt som, i teorien, tilsier at et filter skal kunne holde det igjen som retentat, betyr ikke at dette alltid skjer i realiteten. Det har for eksempel blitt rapportert om at det lineære polysakkaridet dextran 250 som med molekylærvekt på 250 kDa har trengt igjennom filter som har 50 kDa MWCO. (Eykamp 1995)

Ved bruk av membranfiltrering er “fouling” av filter er et stort problem. Fenomenet kan beskrives som en årsak til reduserende flux, som ikke kan utbedres under filtreringsprosessen. Flux brukes som verdi på gjennomstrømning av løsning igjennom en membran og oppgis gjerne som volum per areal og tid ( $l/m^2h$ ). (Eykamp 1995)

“Dead end flow” og “cross flow” er to ulike prinsipper som kan benyttes ved membranfiltrering. Ved dead end flow går strømmen av løsning direkte mot filteret. Det er dette prinsippet som benyttes ved filtrering av kaffe. Det er en fare for fouling via oppkonsentrering av tørrstoff på membranfilterets overflate. På grunn av dette anbefales det å bruke cross flow prinsippet på løsninger med tørrstoffinnhold på over 0,5%. Ved cross flow strømmer løsningen parallelt med membranfilterets overflate og sannsynligheten for at oppkonsentrering fører til fouling reduseres. (Eykamp 1995)

Figur 1 viser skjematisk oversikt over dead end flow og cross flow filtrering.



Figur 1: Skjematisk framstilling av dead end flow og cross flow filtrering (Eykamp 1995)

Mikrofiltrering (MF) er en membranfiltreringsmetode som kan benyttes ved behov for å separere partikler med størrelse på 100 nm, eller oppgitt i molekylærvækt, ca. 100 kDa (Petrova m.fl. 2018). Det bør poengteres at nanometer og kDa ikke er proporsjonale enheter, og dette eksempelet er en tilfeldighet. Trykket under prosessen er vanligvis på 1-4 bar. (Perry and Green 2007) Både dead end flow og cross flow prinsippet brukes ved MF. (Eykamp 1995)

Bruksområdet til MF inkluderer grovfiltrering av løsninger for å fjerne større partikler, før løsningen filtreres videre med membranfiltreringsmetoder som fjerner mindre partikler (Baker 2012). Nanofiltrering, som beskrives nærmere i neste kapittel, er et eksempel på en slik metode.

### 2.3.2 Konsentrering

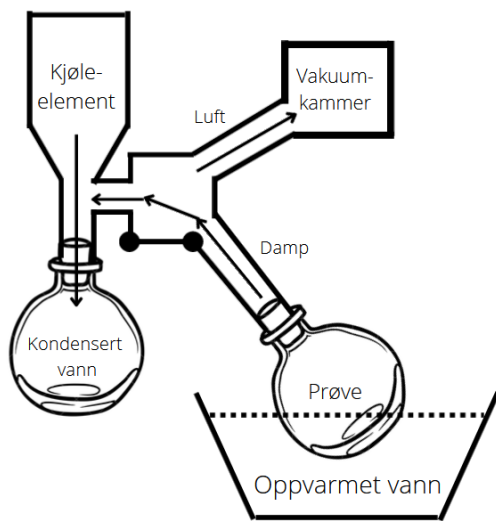
Før det lages pulver av fiskeproteinhydrolysat kan man oppkonsentrere løsningen, som innebærer å redusere vanninnholdet. Konsentrering benyttes for å gjøre tørkeprosessen mer effektiv med tanke på hastighet og energiforbruk, fordi strømforbruket til en konsentreringsmetode er gjerne mye lavere enn for tørking.

Nanofiltrering (NF) kan brukes for å konsentrere hydrolysat (Van der Bruggen m.fl. 2008). NF er egentlig en membranfiltreringsmetode, hvis filtre har membranstørrelse 1,0 nm i diameter som kan holde igjen partikler med molekylærvækt på 300-500 Da, inkludert enkle peptider (4,0 kDa) i hydrolysat (Mohammad m.fl. 2015; Petrova m.fl. 2018). Trykk ved NF kan være mellom 7 og 68 bar (Street m.fl. 2014 s. 227). Det er hovedsakelig vann og salt som separeres igjennom filteret (Van Der Bruggen m.fl. 2008). Det har blitt rapportert om saltreduksjon på 15-37 % fra biprodukt i sukkerindustrien ved bruk av NF, og i meieriindustrien har det blitt rapportert om 40 % saltreduksjon ved bruk av NF på myse (Mohammad m.fl. 2015; Van der Bruggen m.fl. 2008).

Det har blitt rapportert at en trykkøkning fra 20 til 40 bar ved nanofiltrering av myse ikke vil gi høyere flux, det antas at dette skyldes oppkonsentrering av protein på overflaten ved trykkøkning. Det har også blitt rapportert at økning av temperatur ved bruk av NF på myse førte til høyere flux. Det kan forklares ved at viskositet blir lavere når temperaturen stiger. (Suarez 2006)

NF er et rimelig konsentrasjonsalternativ, og begrensinger knyttet til fouling kan utbedres ved å pre-prosessere løsningen med MF for å fjerne store partikler (Pasupuleti and braun 2010; Mohammad m.fl. 2015).

Vakuumkonsentrering er en annen konsentreringsmetode som går ut på å fordampe vann i



Figur 2: Prinsippet bak vakuumkonsentrering

prøver under lavtrykk. Ved en vakuumkonsentrering skal prøven settes i et lukket system med et vakuumkammer, et kjøleelement, og et kammer til å samle opp fuktighet fra prøven. Deretter plasseres prøvebeholder over et varmeelement, for å igangsette fordamping av vannet. Vakuumkammeret senker lufttrykket i systemet, som tillater fordamping ved lavere temperaturer (Perry & Green 1997). Dette er viktig for å bevare produktets egenskaper, da peptider og aminosyrer ikke blir ødelagt av varmebehandlingen (Schuck et al 2013). Fuktighet fra prøven som har blitt fordampet vil stige til -og kondensere på kjøleelementets overflate

og videre samles kondensen i en beholder. (Heidolph 2022) Prinsippet presenteres i Figur 2.

Energikostnadene knyttet til vakuumkonsentrering er ca 10 ganger så høye som energikostnadene knyttet til membranfiltering. (Schuck m.fl. 2013)

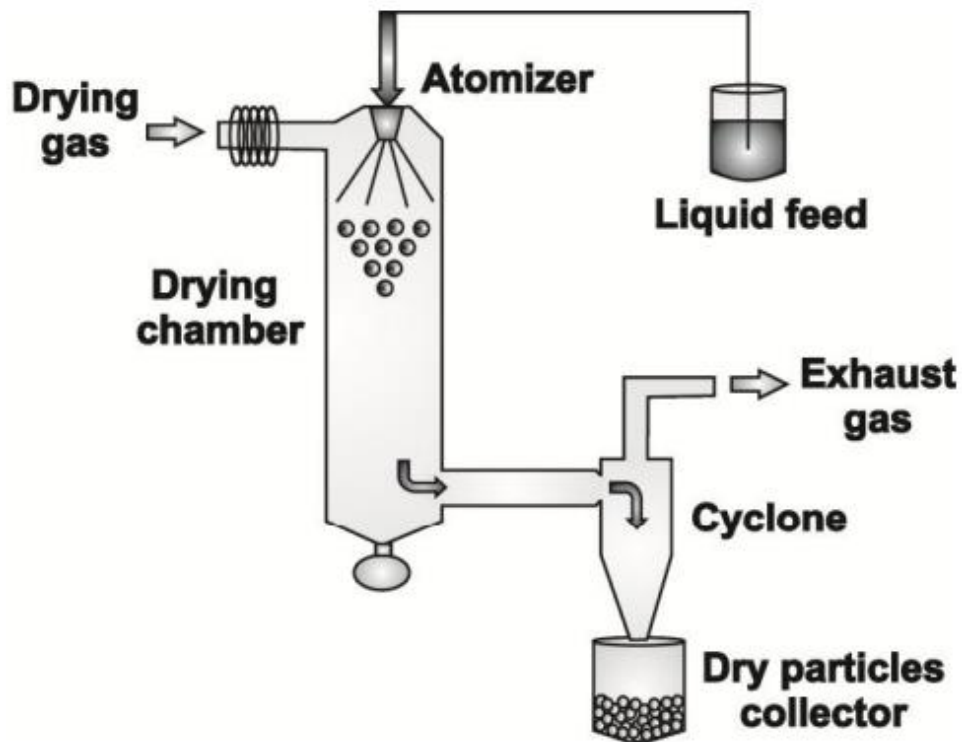
### 2.3.3 Tørking

Tørking er prosessen som gjør flytende fiskeproteinhydrolysat om til pulver. Videre beskrives to slike prosesser: spraytørking og frysetørking.

#### 2.3.3.1 Spraytørking

Pulver kan utvinnes fra en væske ved bruk av spraytørking. Prosessen går ut på at væsken presses igjennom en dyse ved hjelp av en peristaltisk pumpe. Dysen munner ut i et kammer der en konstant strøm av luft med temperatur på 150-220°C føres igjennom. Væsken atomiseres idet den sprayer ut av dysen og vann fordampes raskt ved kontakt med den varme luftstrømmen. De gjenværende partiklene føres videre og samles opp i en beholder som pulver. (Cal & Sollohub 2009) (Petrova m.fl. 2018)

Figur 3 viser en skjematisk oversikt over prosessen.



Figur 3: Prinsippet bak en spraytørker (Sosnik & Seremeta 2015 s. 54)

Mengden væske som fjernes fra partiklene bestemmes av luftstrømmens hastighet, fuktighet og temperatur, samt størrelsen på aerosolene. Mindre aerosoler i kombinasjon med en tørr luftstrøm med høy temperatur og høy hastighet gir en mer effektiv væskefjerning, fordi atomisering vil øke væskens overflateareal betraktelig. Aerosolene blir mindre ved økt trykk på væsken som presses igjennom dysen. Økt overflateareal betyr raskere energiabsorbering, slik at vannet i løsningen fordampes raskere. Om vanninnholdet blir for høyt at det overgår varmeenergien vil prosessen bli utilstrekkelig. Det er viktig at luften er varm nok til å kunne fjerne væske effektivt, men ikke så varm at produktet endrer farge betraktelig eller blir brent. (Ratti 2001) (Cal & Sollohub 2009)

Utilstrekkelig væskefjerning fra aerosolene kan føre til at partikler setter seg fast i varmekammerets vegger. Det er ofte de største aerosolene som setter seg fast, da de har størst moment og blir slynget i veggen før de er tilstrekkelig tørket. Årsaken til at aerosolene er for store kan være væskens viskositet. For høy viskositet tillater ikke at nok utgangshastighet overføres fra det påsatte trykket i dysen (Cal & Sollohub 2009). Tetting av dysen kan også oppstå. I (Schuck m.fl. 2013) rapporteres det om at optimal pulverkvalitet av protein fra melk oppnås ved at viskositeten på konsentratet er mindre enn 200 mPas før tørking. I

melkeproteinløsning tilsvarer viskositet på 200 mPas et tørrstoffinnhold på 20-25%. Ikke-newtonske væsker kan ofte være for viskøse til å kunne spraytørkes (Cal & Sollohub 2009)

Spraytørking er den tørkemethoden som brukes mest i storskala tørking av hydrolysat, fordi prosessen gir effektiv produksjon og tilfredsstillende kvalitet på produkt. (Petrova m.fl. 2018)

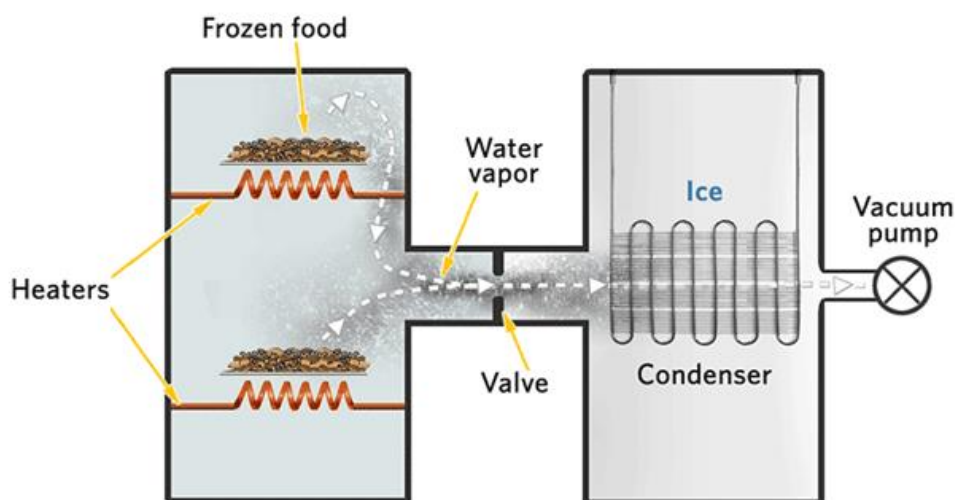
Energikostnadene for spraytørking er omtrent 10 ganger høyere enn for vakuumpkonsentrering. (Schuck m.fl. 2013)

### 2.3.3.2 Frysetørking

Prinsippet for frysetørking er at vann fjernes fra et fryst produkt via sublimasjon. Dette kan oppnås ved å tilføre varme til et produkt som befinner seg ved temperaturer lavere enn trippelpunktet til vann (0,001°C) og ved trykk under 0,00612 bar. (Ratti 2013)

En frysetørker består av tre hovedkomponenter: vakuumpumpe, varmeelement og kondenser. Vakuumpumpen har som oppgave å senke trykket inne i tørkekammeret til 0,00004 bar – 0,00027 bar. Varmeelementet skal varme opp produkt for å muliggjøre sublimasjon. Kondenseren har en temperatur på -60°C eller lavere og har som oppgave å samle opp all vanddampen som oppstår inne i tørkekammeret. (Ratti 2013)

Figur 4 illustrerer frysetørking av matvarer.



Figur 4: Prinsippet bak frysetørking (Lebuza & Erdman 1984)

Sublimasjonen går raskest i det området av produktet som er nærmest varmeelementet. Det betyr at jo tykkere produktet er jo lenger tid vil det ta før isen i kjernen har sublimert. (Ratti 2013) Økt temperatur vil gi raskere sublimasjon, men kan føre til kvalitetstap i produktet eller at produktet kollapser. Dette vil føre til saktere sublimering, da tettheten øker og det blir mer



krevende for vannet i midten å trekke ut av produktet. (Ratti 2013) Høyt tørrstoffinnhold i produktet som skal frysetørkes og dannelse av tykt islag på kondensatoren vil også føre til at sublimasjonen går saktere (Ratti 2013; Petrova m.fl. 2018).

Frysetørking er kjent for å gi sluttprodukt av høy kvalitet, og den lave temperaturen og vannaktiviteten under prosessen hindrer mikrobiell vekst (Ratti 2001). Samtidig er prosessen svært energikrevende. Når ulike tørkemetoder skal sammenlignes er det vanlig å sammenligne kvaliteten på sluttproduktet, samt energikostnader. (Ratti 2013)

Frysetørking har ca. 5 ganger så høye energikostnader som spraytørking. (Schuck m.fl. 2013)

## 2.4 Proteinpulver av hydrolysat

Proteinpulver fra hydrolysat kan inneholde de essensielle og ikke-essensielle aminosyrene og er et produkt som blant annet kan benyttes som kosttilskudd og som ingrediens i næringsmidler (Chalamaiah m.fl. 2012). Det er flere parametere som er viktig for produktkvaliteten til pulveret. Eksempler på parametere er tørrstoffinnhold, proteininnhold, saltinnhold, vannaktivitet og farge

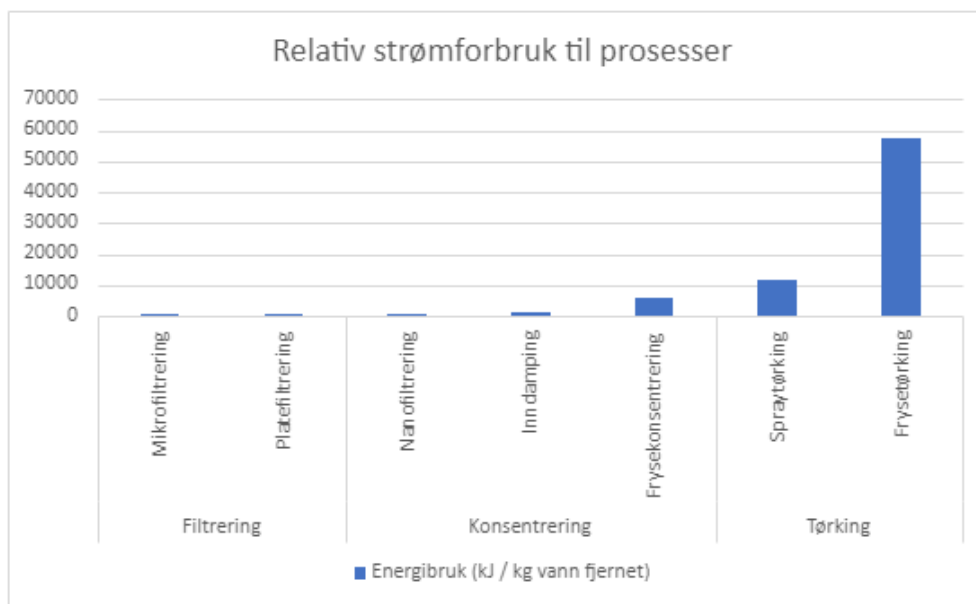
Proteinpulver av hydrolysat kan både ha et tørrstoffinnhold på over 90% og et proteininnhold på 60-90 % (Chalamaiah m.fl. 2012). Dette er en stor forbedring i forhold til tørrstoff og proteininnholdet i for eksempel hodekapp av torsk som har et tørrstoff innhold på rundt 20 % og proteininnhold på ca. 14% (Petrova m.fl. 2018). På grunn av avvanning vil saltkonsentrasjonen i pulveret være mye høyere enn i råstoffet.

Vannaktiviteten til en matvare sier noe om hvor utsatt den er for mikrobiell forringelse (Mathlouthi 2001). Mikroorganismer er aktive ved vannaktivitet mellom 0,85 og 1. Matvarer kan deles inn i de tre ulike grupper avhengig av hvilken vannaktivitet de har. Low moisture foods (LMF) har vannaktivitet på 0,6 eller lavere, intermediate moisture food (IMF) har vannaktivitet høyere enn 0,6 og lavere enn 0,85, og high moisture foods (HMF) har vannaktivitet på 0,85 eller høyere. Proteinpulver hører til i gruppen LMF og er lite utsatt for mikrobiell forringelse, men kan være utsatt for lipidoksidasjon, hvis det er litt oljerester igjen, da hastigheten på lipidoksidasjon øker ved vannaktivitet lavere enn 0,2 og ved vannaktivitet høyere enn 0,35. Samtidig er hastigheten på lipidoksidasjon lavest mellom 0,2 og 0,35. (Rao m.fl. 2016)

Hvor mye et næringsmiddel appellerer til en forbruker, avhenger blant annet av produktets farge. (Egerton m.fl. 2017) For et appellerende pulver av fiskeproteinhydrolysat bør fargen være mest mulig konsistent og blek eller lys (Jervis m.fl. 2012). (Slizyte et al. 2005) rapportere om at fargen på tørket fiskeproteinhydrolysat fra torsk kan ha en lys gul farge.

## 2.5 Energibruk

Ifølge Schuck så er tørkeprosesser de mest energikrevende av alle prosessene involvert i produksjon. En generell oversikt med prosesseringsmetodene og deres strømknudner i industriell skala vises i Figur 5.



Figur 5: Energibruk i kJ per kg fjernet vann

Membranfiltrering regnes som svært lavt energiforbruk fordi det anvender gass under trykk for å drive løsningen gjennom filter. I frysetøking vil det være mer tidseffektivt å håndtere store batcher av gangen, men strømforbruk er fremdeles på høyt nivå sammenlignet med spraytøking.

### 3. Materialer og metoder

#### 3.1 Rått hydrolysat

I denne bacheloroppgaven ble løselig fraksjon av enzymatisk spaltet hydrolysat brukt som utgangspunkt. Hydrolysatet ble laget av 400 kg restråstoff, 200 kg vann, 200 g papain og 200 g bromelain og 100 ml Endocut 02L. Tiden med aktiv hydrolyse varte i omtrent 120 min på ca. 55°C. Sterilisering ble utført ved å holde temperaturen på 90°C i 10 minutter. Deretter ble løselig fraksjon separert med Flottweg Z23-3 Tricanter på 40 % dreiemoment med en beregnet sentrifugalkraft på 2822 G-krefter. Etter separering ble løselig fraksjon kjølt ned til 20° C. Restråstoffet i hydrolysatet ble donert fra Vesterålen Havbruk Produksjonslag AS. Hydrolysatet ble fraktet til NTNU i bøtter som hver rommet 10 liter og det var tilgang på omtrent 500 liter av dette hydrolysatet for forsøket. Hydrolysat var nedfryst under transport og lagring, og måtte tines i forveien av alle forsøk.

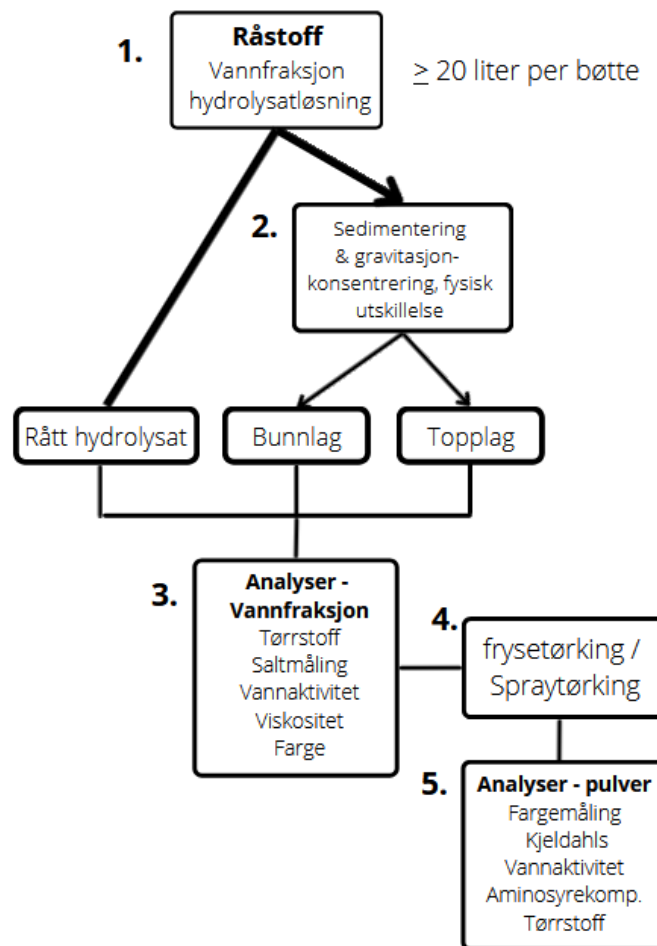
Figur 6 viser en flaske av tint hydrolysat til venstre, og en bøtte med hydrolysat som er i ferd med å tines til høyre



*Figur 6: Rått hydrolysat. Til venstre: frossen som mottatt på bøtte. Til høyre: Tint hydrolysat på flaske*

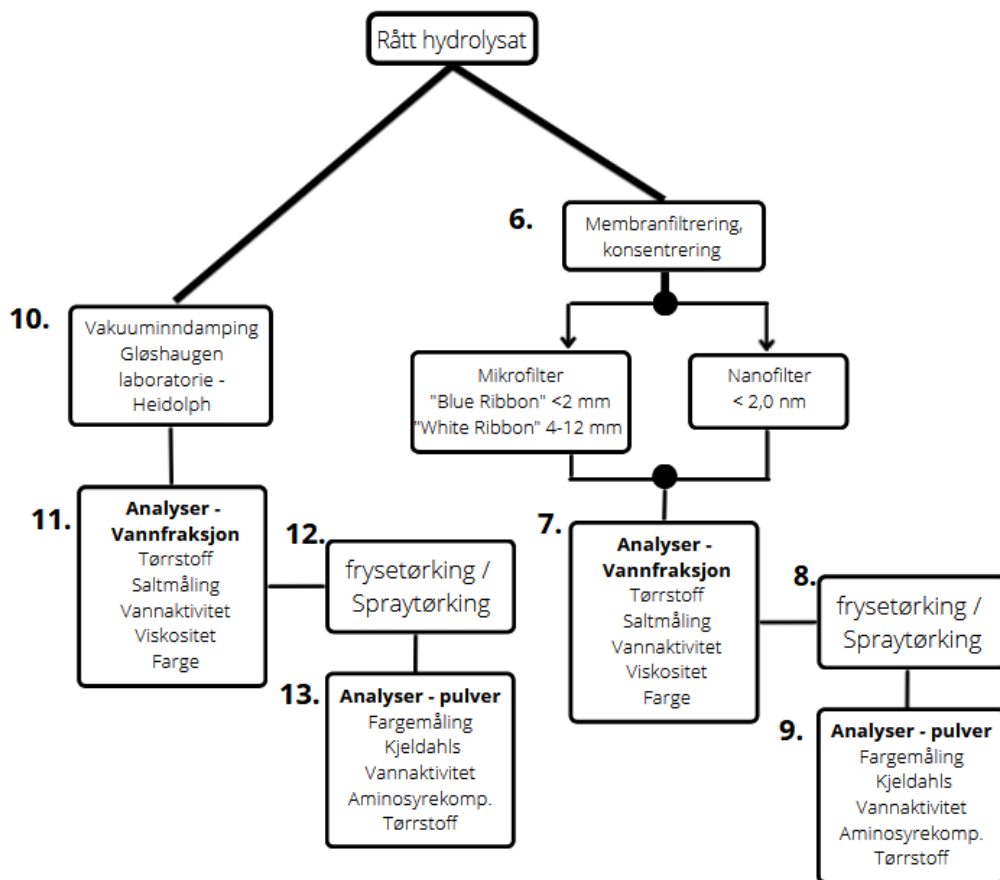
## 3.2 Forsøksdesign

Første steg var å karakterisere rått hydrolysat (se 3.1. i rapporten og punkt 1 i Figur 7). Hydrolysatet hadde faste partikler som ikke var løselig i vann. Noe av dette hydrolysatet ble satt til sedimentering for å skille ut partiklene i bunnlag og topplag (se 3.2 i rapporten, og punkt 2 i Figur 7). Da ble rått hydrolysat og sedimenteringsproduktene analysert med hensyn på kvalitetsparameterne som er relevante for flytende hydrolysat, altså tørrstoff, saltkonsentrasjon, vannaktivitet, farge og viskositet (se punkt 3 i Figur 7). Deretter ble prøver for rått hydrolysat og sedimentert hydrolysat tørket med frysetørring og spraytørring (se punkt 4 i Figur 7). De tørkede prøvene ble analysert med hensyn på farge, protein- og nitrogeninnhold via kjeldahls, vannaktivitet, aminosyresammensetning, og tørrstoff (se punkt 5 i figur 7).



Figur 7: Forsøksdesign, rått hydrolysat og sedimentering med analyser

Rått hydrolysat ble da prosessert med membranfiltrering, først med mikrofilter og så med nanofilter (se punkt 6 i figur 8). For å kunne nanofiltrere på den mest effektive måten ble hydrolysatet først filtrert med Blue Ribbon. De flytende prøvene ble da analysert med hensyn på kvalitetsparameterne som gjelder for flytende prøver (se punkt 7 i figur 8). Disse blir da tørket og analysert med analysene som er relevante for pulver (se punkt 8 og 9 i figur 8). Deretter ble rått hydrolysat dampet inn med vakuuminndamping, hvis prøver videre ble analysert og tørket på samme vis som de membranfiltrerte prøvene (se punkt 10, 11 og 12 i figur 8).



Figur 8: Forsøksdesign, mikrofiltrering, nanofiltrering og vakuuminndamping med analyser

### 3.3 Separering

#### 3.3.1 Sedimentering

Rått hydrolysatet inneholdt uløselige partikler som ikke ble separert ut ved trikantering. For å skille disse restene fra råstoffet ble bøttene satt til cirka 48 timer med sedimentering. Deretter ble det øvre laget (topplag) fjernet fra det nedre (bunnlag). Figur 9 viser en flaske av hydrolysat med tydelig skille mellom topp- og bunnlag på grunn av sedimenteringen. Topplaget ble overført til en ny beholder ved hjelp av hevertprinsippet. Slangemunningen ble satt på den øverste delen av topplaget og ført gradvis nedover. Prosessen ble stanset da det aller meste av topplaget hadde blitt overført til egen bøtte. En sikkerhetsmargin på omtrent 1 cm ble lagt inn for å unngå overføring av bunnlag.



Figur 9: Visuell framstilling av sedimentering etter 48 timer

#### 3.3.2 Mikrofiltrering – Laboport N 820G, Blue Ribbon & White Ribbon

Vakuumpumpen Laboport N 820G ble brukt ved mikrofiltrering av rått hydrolysat. Filtrene som ble brukt var Whatman Blue Ribbon 589/3 med porestørrelse på  $< 2$  mikrometer og Whatman White Ribbon 589/2 med porestørrelse mellom 4 og 12 mikrometer. Pumpen var koblet til en vakuumkanne via en gummislange. En filtreringsbeholder med filter oppi ble plassert i kanneåpningen.



Ved filtrering ble dead end filtreringsprinsippet benyttet og undertrykket i kolben bidro til at hydrolysatet i filtreringsbeholderen ble trukket igjennom filteret. Figur 10 viser hvordan utstyret var montert under filtrering.

Figur 10: Laboport N 820G med vakuumkanne, som benyttes her for å filtrere rått hydrolysat med Blue Ribbon 589/3

## 3.4 Konsentrering

### 3.4.1 Nanofiltrering – Membrane Triple systems

MMS Membrane Triple System (MMS) (Figur 11) ble brukt ved nanofiltrering av permeat fra mikrofiltrering med Blue Ribbon filter. Maskinen bruker crossflow prinsippet på tre filtre parallelt. Hvert filter har et overflateareal på 28 cm<sup>2</sup> med porer som slipper igjennom partikler med molekylærvækt på 200 Da.

Prøvemengden ble overført inn i feed-tanken, som ble lukket og trykksatt. Deretter ble gasstilgang åpnet for å skape trykk. Filtreringsprosessen ble holdt på ca. 30 bar. Etter en time ble prosessen stoppet og vekten på retentatet og permeatet ble notert.



*Figur 11: MMS Membrane Triple System (MMS) som ble benyttet ved nanofiltrering*

### 3.3.2 Vakuumpkonsentrering - Heidolph VAP-Ultimate



Heidolph VAP-Ultimate (Figur 12) ble benyttet til vakuumpkonsentrering av hydrolysat. Systemet hadde et undertrykk på ca. 35 mbar. Temperaturen på vannet som varmet opp kolben med prøvemateriale var på ca. 40°C. Kolben med prøve hadde en rotasjonshastighet på ca. 20 rpm, og temperaturen på kondensatoren var på ca. 5°C. Prosessen ble stoppet etter 1,5 time og vekten på kondens og hydrolysat ble notert

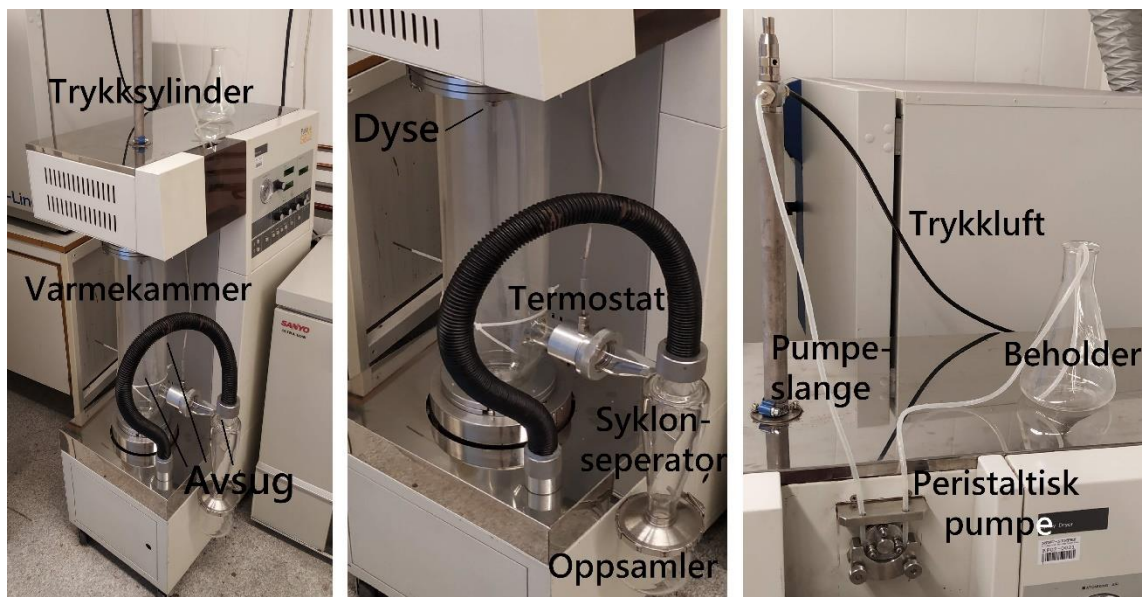
*Figur 12: Heidolph VAP-Ultimate*



## 3.5 Tørking

### 3.5.1 Spraytørking - Yamato Pulvis GB22

Yamato Pulvis Spray Dryer GB22 (Figur 13) ble benyttet ved spraytørking. Den følger prinsippene gitt i teorien. Gassen brukt til oppvarming og trykk er atmosfærisk luft. Prosessen ble gjennomført med en oppvarmingstemperatur på  $\sim 215\text{ }^{\circ}\text{C}$ , luftstrømmen er satt til  $\sim 0,25\text{ m}^3/\text{min}$ , trykkluft til  $0.4\text{ kg}\cdot\text{f}/\text{cm}^2$  og den peristaltiske pumpen justert til at den utgående temperaturen ikke går under  $90^{\circ}\text{C}$ . Pumpen har ikke en måler, men er satt til lavere enn 20% av kapasiteten. Ved disse parameterne holder den utgående temperaturen seg stabil. Figur 14 viser et øyeblikksbilde av parameterverdiene under prosessen.



Figur 13: En oversikt over de ulike komponentene i Yamato Pulvis GB22.



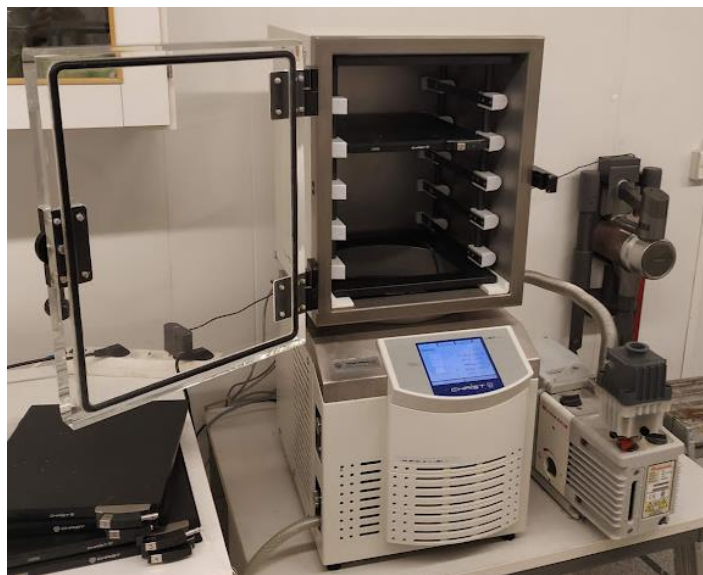
Figur 14: Verdiene for temperatur på inngående og utgående luftstrøm, hastighet på luftstrøm, samt lufttrykk ved dysen under spraytørkeprosessen



### 3.5.2 Frysetørking - Christ Alpha 2-4 LSC

Prosessen ble gjennomført med en Christ Alpha 2-4 LSC vakuumfrysetørker og Lyocube vakuumkammer (Figur 15). Før tørkeprosessen begynte ble temperaturen i tørkeskapet senket til  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$  i en «oppvarming». Når lav nok temperatur var nådd, ble en ildfast form med fryst hydrolysat plassert i tørkeskapet. Trykket ble senket til 1,0 mbar.

Tørkeprosessen ble stoppet etter 24 timer. Produktet ble tatt ut og lagret i plastposer ved romtemperatur.



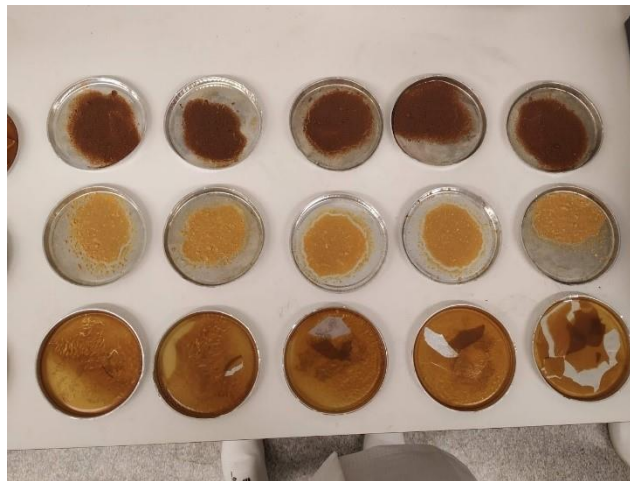
*Figur 15: Christ Alpha 2-4 LSC vakuumfrysetørker, sammen med et LyoCube vakuumkammer*

## 3.6 Målemetoder

### 3.6.1 Tørrstoff - Varmeskap

For å bestemme den vannfrie massen i prøvene ble det gjennomført tørrstoffanalyser. Analysen ble utført på hydrolysatprøvene før og etter tørking, og ble utført ved å veie en aluminiumskål og notere massen, deretter tilsette omtrent 20 g av de ikke-tørkede hydrolysatprøvene og ca. 2 g av pulverprøvene og notere vekten. Hver prøve hadde fem paralleller. Prøvene ble plassert i et varmeskap på 105 °C. Etter et døgn ble prøvene tatt ut og veid. Vekten til skålene ble subtrahert fra den gjenværende massen.

Figur 16 viser hvordan hydrolysatprøvene bunnlag, topplag og rått hydrolysat så ut etter tørking.



*Figur 16: Tre tørrstoffprøver, av bunnlag (øverst), topplag (midterst) og rått hydrolysat (nederst)*

### 3.6.2 Kjeldahls – Nitrogen- og proteinanalyse - KjelMaster K-375

Totalt innhold av nitrogen ble målt med Kjeldahlsmetoden for å videre måle mengden protein i tørrstoffet. Først ble prøvemengde målt på nitrogenfritt veiepapir, sammen med blankprøver og internkontroll. Hver prøve hadde tre paralleller totalt. Blankprøver besto av nitrogenfritt veiepapir, mens internkontroll besto av veiepapir og omtrent 0,200 g 97,7% glysin.

Prøvene ble satt til varmebehandling i KjelDigester K-449 med temperatur-verdiene i Tabell 2. Disse verdiene har tidligere blitt brukt for å måle proteininnhold i melkepulver.

Tabell 2: Temperaturoppsett for Kjeldahls med hydrolysatpulver

Trinn	Temperatur	Tid
1	0-280°C	Ca. 30 min
2	280°C	120 min
3	320°C	60 min
4	Nedkjøling	Ca. 20 min

Etter varmebehandlingen ble prøvene plassert i KjelMaster K-375 for å titreres og få Nitrogeninnhold beregnet. Nitrogeninnhold ble regnet ut med utgangspunkt i mengden titrert prøve, titrert blindprøve, konsentrasjonen av syre (0,1 M), og mengden oppveid prøve, jamfør **Feil! Fant ikke referanseilden..** Faktortallet som ble brukt ved beregning av protein fra nitrogeninnhold var 6,25. Utregningen av protein ble gjennomført jamfør **Feil! Fant ikke referanseilden..**

$$\%N = \frac{14.01 \frac{g}{mol} * (ml \text{ titrert prøve} - ml \text{ titrert blindprøve}) * c_{syre} * 2 * 100\%}{m_{prøve} (g) * 1000 \frac{ml}{dl}} \quad (1)$$

$$\%P = 6,25 * \%N \quad (2)$$

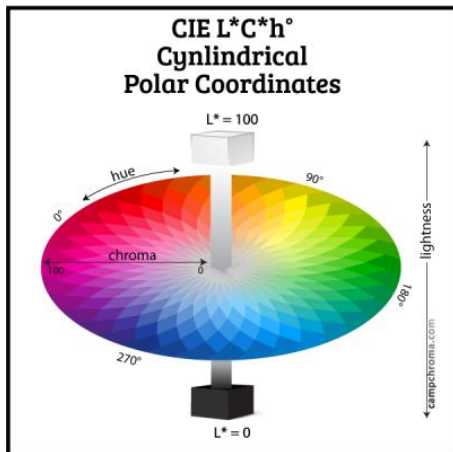
Man må merke seg at forholdstallet 6,25 er en tilnærming som brukes på tvers av alle fiskearter og dyrearter til humant konsum, men den er ikke nøyaktig.

### 3.6.5 Farge - Colorflex EZ Spektrofotometer

Farge ble målt med Colorflex EZ Spektrofotometer på ferdige pulverprøver og flytende prøver. Maskinen ble standardisert jamfør instruksjonene ved å måle svart og hvitt. Prøveglass ble fylt med 50 ml prøve i væskeform, eller fylt opp til 0,5 cm dersom prøven var pulver.

Det ble tatt fem paralleller av hver prøve i CIE-L\*C\*h\*-spekteret (Figur 17) Dette spekteret baserer på tre fargeverdier; *luminance* (luminans), *chroma* (fargeintensitet) og *hue* (fargetone).

Hver av disse verdiene er på en skala. Luminans er på skala fra 0 til 100, hvor 0 er svart som



absorberer alt lys og 100 er fullstendig hvitt og reflekterer alt av lys. Fargeintensiteten er også på en skala fra 0 til 100, hvor 0 er uten spor av farge og betyr at målet er kun på luminansskalaen (hvitt, grått og svart). 100 fargeintensitet betyr at fargen er på ytterpunktet av fargetonen, og kan ikke endres av luminansen. Fargetone er på en gradering fra 0 til 360, hvor 0 starter på rosa, går mot brun, og 360 er tilbake på rosa.

Figur 17: CIE-L\*a\*b\* modell for fargemåling

### 3.6.4 Vannaktivitet - AquaLab Dew Point



For å bestemme vannaktiviteten til både tørkede og flytende prøver benyttet vi et AquaLab Dew Point Water Activity-meter (Figur 18). Maskinen bestemmer vannaktivitet ved å måle damptrykk til en prøve ved en gitt temperatur, og sammenligner det med damptrykket til vann ved samme temperatur, i henhold til Formel 3.

Figur 18: AquaLab Dew Point Activity- meter

$$a^W = \frac{P}{P_0} \quad (3)$$

Prøver ble overført til beholdere slik at de dekket bunnen av beholderen, og prøvebeholder ble plassert i prøvekammer og lokket ble lukket. Målingen ble gjort når prøven hadde lik temperatur som omgivelsene, ca. 25 °C. Vannaktivitetsverdien ble notert ned.

### 3.6.5 Salt - PAL-SALT 03S ATAGO



For å bestemme konsentrasjonen av NaCl i flytende prøver ble et PAL-SALT 03S ATAGO refraktometer benyttet (Figur 19). Prinsippet til maskinen går ut på å måle konduktiviteten til løsningen, med NaCl som leder. Maskinen vil da automatisk regne ut saltkonsentrasjonen. Det ble tatt et utvalg av prøver for å beregne saltkonsentrasjon i ferdig tørket pulver. 5-10 dråper av prøve ble satt i måleren. Det ble tatt tre paralleller av hver prøve.

*Figur 19: PAL-SALT 03S ATAGO refraktometer*

### 3.6.6 HPLC – High Performance Liquid Chromatography

For å bestemme kvaliteten på protein ble det gjennomført en HPLC-analyse på flere prøver av hydrolysat. Analysen ble gjennomført på NTNU Instituttet for bioteknologi og matvitenskap. Forberedelse av prøvene ble gjennomført av bachelorgruppen.

Fullstendig kjemisk hydrolyse av pulverprøvene ble utført ved preparering til analysen. Det ble tatt tre paralleller av hver prøve, som ble overført til glassrør. Hver parallell fikk redusert pH ved tilsetning 6 M HCl. Ø. Prøvene ble varmebehandlet ved 105 °C i 24 timer. Etter hydrolysering ble 10 ml av prøvene overført til et nytt rør for nøytralisering med 6 M NaOH. De nøytraliserte løsningene ble filtrert med en vakuumkolbe med et Whatman GF/C-filter for å fjerne grove rester av uløselig protein. Den filtrerte nøytrale løsningen måtte overføres til 10 ml rør som ble fylt opp med avionisert vann.

Det ble overført 100 µl i nye rør, som ble fylt opp til 100 ml med avionisert vann igjen, for å oppnå en 1:1000-løsning. Denne løsningen ble filtrert på nytt gjennom et 0,22 µm-filter med sprøyte. Etter filtrering ble 0,205 ml av disse prøvene sendt inn til HPLC hos NTNU.

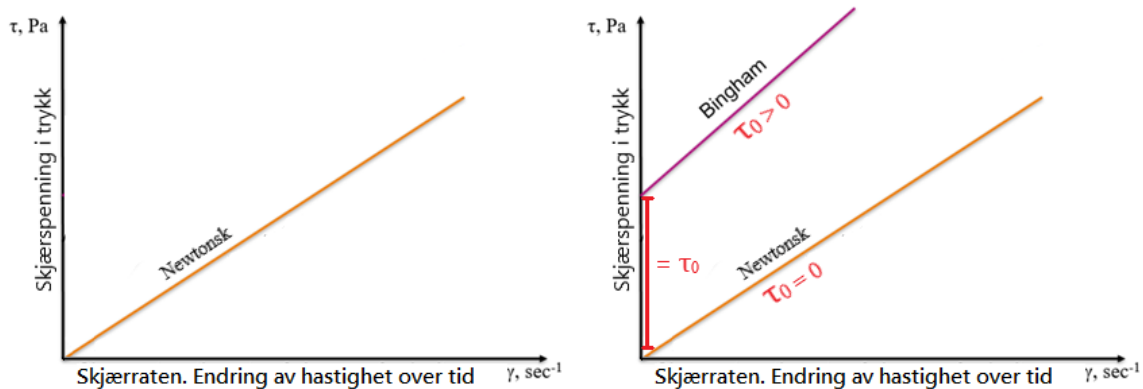
Resterende prøvemateriale ble lagret for å ta nye HPLC-prøver ved senere anledning om nødvendig.

### 3.6.7 Viskositet Rheometer TA Instruments AR-G2

Viskositet er et mål på hvor tyktflytende en væske er og forteller noe om hvor mye kraft en eventuell pumpe må gi for å flytte denne gitte væsken gjennom et system. Definisjonen på viskositet er gitt i Formel 4 og viser til kraften  $N$  over tid  $s$  utøvet på et areal  $m^2$ .

$$\frac{\text{kraft} * \text{tid}}{\text{areal}} = \frac{N*s}{m^2} = Pas \quad (4)$$

Rør som skal brukes til transport av væsker med løst stoff må dimensjoneres korrekt med tanke på dette tallet. Om skjærspenningen (shear stress) danner et proporsjonalt forhold med skjærraten (shear rate) beskrives et newtonsk fluid vist til venstre i Figur 20. Om stigningen er lineær, men har en konstant, er det et Bingham fluid vist til høyre Figur 20.



Figur 20: Tilpasset fra presentasjon NTNU Presentasjon Ignat Tolstorebrov

En formel for å beskrive andre fluider enn newtonske er Herschel-Bulkley modellen. Den uttrykker skjærspenningen  $\tau$  (Pa) ved tre konstanter:  $\tau_0$  som er vikegrensen for skjærspenning (Pa) (heretter omtalt som vikegrensen),  $m$  som er fluidkonsistensindeks (Pa\*s) og  $\gamma$  som er skjærrate ( $\frac{1}{s}$ ) opphøyd med  $n$  som er flytindeks, se Formel 5.

$$\tau = \tau_0 + m * \gamma^n \quad (5)$$

Med en antakelse om at flytindeksen  $n$  er 1 og at vikegrensa for skjærspenningen er null vil man se et newtonsk fluid som kan uttrykkes med Formel 6.

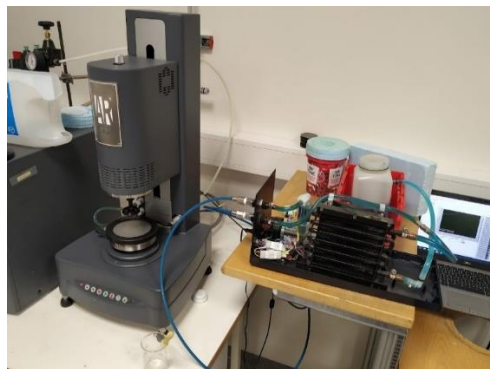
$$\tau = m * \gamma^1 \rightarrow m = \frac{\tau}{\gamma} \quad (6)$$

Vikegrensa for skjærspenning er ikke null for en Bingham fluid og må tas høyde for som vist i Formel 7.

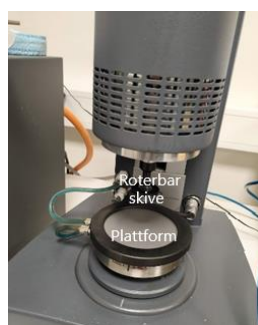
$$\tau = \tau_0 + m * \gamma^1 \rightarrow m = \frac{\tau - \tau_0}{\gamma} \quad (7)$$

Fluidkonsistensindeksen vil da være tilgjengelig. Dette er en nyttigere verdi enn skjærspenningen i seg selv da fluidkonsistensindeksen er konstant for newtonske og Bingham fluider. En eventuell målemetode må ha muligheten til å registrere både vikegrensa og indeksen slik at atferden til fluiden kan modelleres og forutsees. I praksis brukes stigningstallet  $m$  og konstantledd  $\gamma$  ved regresjon av denne typen datapunkt. Da det forventes at det enten er et newtonsk eller Bingham fluid vil grafen være mer eller mindre lineær. Korrelasjonsstallet  $R^2$  som sammenligner en lineær graf og verdiene vil da si noe om flytindeksen- den burde være tilnærmet lik 1.

Prinsippet bak et AR-G2 Rheometer fra TA Instruments vist i Figur 21 er en roterbar skive der kraften for omdreining gjengis som skjærspenning. Rotasjon kan også brukes som avstand over tid og da kan skjærraten, eller hastigheten på den registrerte skjærspenningen, bestemmes. Prøven plasseres mellom denne skiven og en plattform hvor avstanden kan justeres med det bevegelige staget for skiven, se Figur 22. Det er viktig at hver prøveserie har samme avstand mellom skiven og plattformen slik at skjærratene er sammenlignbare. Enheten som kjøler ned og varmer opp plattformen er vist i Figur 23.



Figur 21: AR-G2 Rheometer fra TA Instruments



Figur 22: Roterbar skive og plattform



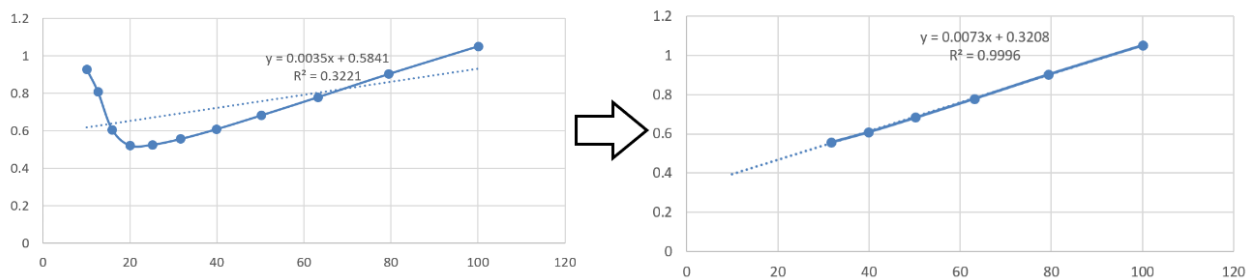
Figur 23: Temperaturregulator



Et medium varmes enten opp med varmekabler eller kjøles ned via en radiator og vifte før det pumpes gjennom plattformen. Før hver måleserie skal skiven kalibreres for nullavstand til plattformen og hvor mye kraft som kreves for å rotere skiven i seg selv. Et forsøk med avionisert vann gjøres for å bekrefte at apparatet fungerer og det er ingen nevneverdige avvik fra den newtonske modellen.

Den følgende protokollen ble brukt på hver konsentrasjon: Tre temperaturer med tre paralleller for hver temperatur. En parallell har 10 målinger hvor maskinen prøver å ha en stabil måling av 3 forsøk etter hverandre med opptil 10 forsøk på hver måling. Den totale tiden kunne derfor variere avhengig av hvor raskt målingene kom innenfor den satte toleransegrensen mellom målingene. Om 10 forsøk ikke var nok, samles de 10 datapunktene og en gjennomsnittsverdi tas av de 3 verdiene som er nærmest medianen. Hver temperatur hadde en holdetid for å oppnå den rette temperaturen før en måling ble tatt. Temperaturene var 6°C, 25°C og 50°C. Frysetørket pulver av hvert stoff ble blandet med avionisert vann til originalkonsentrasjon, 15%, 30% og 50% for å vise ulike scenario under avvanning. Bunnlag ble også blandet til 40% da den var tydelig mer viskøs fra start og 50% ble antatt å gi abnorme verdier. Stoffene valgt til forsøket var rått hydrolysat, to ulike topplag, bunnlag og hydrolysat filtrert med Blue Ribbon som deretter ble konsentrert med en påfølgende nanofiltrering.

Verdiene fra de 10 målingene ble satt opp i en graf der tiden i sekunder ( $\text{sek}^{-1}$ ) utgjorde x-aksen og skjærkraften (Pa) utgjorde y-aksen. Grafene viste for det aller meste en lineær stigning fra begynnelsen, men mange hadde også en tydelig vikegrense for skjærspenning. En lineær regresjonslinje sammen med korrelasjonstall ble lagt til for hver graf. Om korrelasjonstallet  $R^2$  var  $<0.98$  ble avvikende verdier fjernet fram til 0.98 eller mer var oppnådd som i Figur 24. De avvikende verdiene var for det aller meste i grafens begynnelse.



Figur 24: Korreksjon av grafer

Verdiene som brukes er stigningstallet og konstantleddet som beskrevet i Formel 7.



## 4. Resultater og vurdering

En oversikt over hva de ulike hydrolysatprøvene før tørking navngis som i tekst er vist i Tabell 3. Hvilke navn hydrolysatprøvene får før tørking, avhenger av hvilke separerings –og konsentreringsmetoder de ble utsatt for. Prøven som ikke gikk gjennom separering og/eller konsentrering blir omtalt som Rå.

Tabell 3: Prøvenavn til ikke-tørket hydrolysat utsatt for ulike separerings –og konsentreringsmetoder

Prøvenavn	Separering og/eller konsentrering
<b>Blue Ribbon</b>	Mikrofiltrering Blue Ribbon
<b>White Ribbon</b>	Mikrofiltrering White Ribbon
<b>Nanofiltrert</b>	Blue Ribbon + nanofiltrering
<b>Vakuumpkonsentrert</b>	Vakuumpkonsentrering
<b>Topplag</b>	Sedimentering (topplag)
<b>Bunntag</b>	Sedimentering (bunntag)

Når hydrolysatprøvene etter tørking blir omtalt i tekst, vil tørkemethoden som ble benyttet også inngå i prøvenavnet. Eksempler på prøvenavn til tørket hydrolysat er Frysetørket Topplag og Spraytørket Rå.

### 4.1 Hydrolysat før tørking

Parameterne som ble analysert i hydrolysatprøvene var tørrstoff, saltinnhold, vannaktivitet, farge og viskositet.

Tabell 4 viser gjennomsnittsverdiene fra tørrstoff -og saltanalyser gjort på hydrolysatprøvene før tørking.

Tabell 4: Gjennomsnittsverdier fra tørrstoff -og saltanalyser på hydrolysat før tørking. \*ikke målt. \*\*estimert verdi

Prøve	Tørrstoff, %	Saltinnhold, %
Rått hydrolysat	7,81	0,93
Topplag	7,06	0,92
Bunntag	9,09	0,79
Blue Ribbon	5,82	0,65
White Ribbon	7,10	*
Nanofiltrert	18,30	0,74
Vakuumpkonsentrert	20,14	2,40**

\* i tabellen viser til at saltinnholdet ikke ble målt i White Ribbon

\*\* viser til at saltinnhold i Vakuumpkonsentrert ble estimert ved utregning.

Beregning av saltverdien er gjort med antagelsen om at saltinnholdet i Rå og Vakuumkonsentrert er proporsjonal. Slik at ved en økning av tørrstoffinnhold fra ca. 7,81 til 20,14, vil også saltmengden øke fra 0,93 til 2,40. Beregning for estimert verdi av saltinnhold i Vakuumkonsentrert er gitt i Vedlegg 1.

Vedlegg 1 og 2 viser måleverdiene som ble brukt til å regne ut gjennomsnittet, samt standardavvikene for henholdsvis saltinnhold og tørrstoffinnhold. Standardavvikene var små og tyder på at gjennomsnittsverdiene er representative for målingene.

Tørrstoff-verdiene var forskjellige i prøvene fra de ulike preprosesseringsmetodene. Samtlige av prøvene som ikke ble konsentrert hadde under 10 % tørrstoff, og følgelig over 90 % vann. Store mengder vann må altså fjernes ved proteinpulverproduksjon, og det bør tilstrebes å redusere energibruk knyttet til tørking i størst mulig grad. Dette kan oppnås ved å oppkonsentrere hydrolysatet før tørking.

Rå hadde lavere tørrstoffinnhold enn Bunnlag og høyere enn Topplag. Sedimentering førte altså til oppkonsentrering av tørrstoff på bunn. Dette var ikke overraskende da det visuelt var veldig tydelig at partikler hadde sunket ned til bunn.

Tørrstoff-verdiene til Blue Ribbon og White Ribbon var svært ulike. White Ribbon-filteret (porestørrelse 12 $\mu$ m-4 $\mu$ m) tillot flere partikler å strøme igjennom enn det Blue Ribbon (porestørrelse <2 $\mu$ m) gjorde. Noe rent vann kan ha blitt lagt til i løpet av filtreringen som beskrevet i metoden og kan ha utgjort en forskjell med tanke på tørrstoff- og saltinnholdet.

For Nanofiltrert og Vakuumkonsentrert økte tørrstoffmengden fra ca. 7,81 til henholdsvis 18,30% og 20,14%. Tørrstoff-økningen var et produkt av hvor lenge oppkonsentreringsprosessen foregikk og mengden hydrolysat som ble prosessert. Vakuumkonsentreringen foregikk i 2,5 timer og fjernet 0,231 kg vann per time, mens nanofiltrering foregikk i ca. 1 time og fjernet 0,284 kg vann per time. Dersom man inkluderer tiden brukt på mikrofiltrering er tiden på nanofiltrering nærmere 6 timer (se Vedlegg 3).

Saltinnholdet var forskjellig i de ulike prøvene. Det var større kapasitet for saltoppløsning i Topplag enn i Bunnlag. Lavt saltinnhold kombinert med høyt innhold av tørrstoff i Bunnlag tilsier at salt i tørrstoff ble sterkt redusert. I Topplag var det motsatt og forholdet mellom salt og tørrstoff økte, da sedimenteringen førte til større reduksjon i tørrstoffinnhold enn i

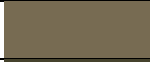

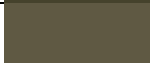
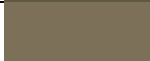
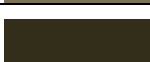
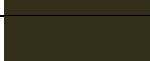
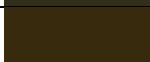
saltinnhold. Dette forklares av at bunnlaget blir mettet med de synlige uløselige partiklene, som kan forskyve saltmetningen mot topplaget eller binde til seg mineraler og saltkomponenter.

Ved konsentrering øker saltinnhold i takt med økning av tørrstoff. Unntaket er nanofiltrering, hvor både vann og salt blir fjernet. Ved sammenlikning av forholdet mellom salt og tørrstoff i Rå (0,93 % salt / 7,81 % tørrstoff) og Nanofiltrert (0,74 % salt / 18,30 % tørrstoff) er det tydelig at noe salt har blitt fjernet. Ved ønske om et proteinpulver med så lite salt som mulig bør derfor nanofiltrering vurderes som konsentreringsmetode.

Vannaktiviteten ble målt i alle prøvene utenom Vakuumpkonsentrert. Vannaktiviteten i ikke-konsentrerte prøver var på 0,99 og i Nanofiltrert var vannaktiviteten 0,98. Disse forskjellene er neglisjerbare i hvilken betydning de har for hemming av mikrobiell vekst, da samtlige prøvene klassifiseres som HMF og er svært utsatt for mikrobiell aktivitet. Fryselagring vil være hensiktsmessig for å øke holdbarheten til prøvene. Vedlegg 4 viser vannaktivitetsverdiene som ble brukt til å regne ut gjennomsnittsverdi og standardavvik for de ulike prøvene.

Farge ble målt i alle prøvene unntatt Vakuumpkonsentrert. Gjennomsnittsverdien for målingene til de ulike prøvene er vist i Tabell 5. Vedlegg 5 viser fargeverdiene som er brukt til å regne ut gjennomsnitt og standardavvik for prøvene.

Tabell 5: Gjennomsnittsverdien for fargemålingene tatt på de ulike prøvene

Prøve	Luminans, L	Intensitet, C	Tone, h	Eksempel
Rå	45,72	15,86	84,35	
Topplag A	28,46	13,37	97,26	
Topplag B	37,68	14,28	92,68	
Bunnlag	48,30	15,01	82,76	
White Ribbon	19,30	13,86	94,94	
Blue Ribbon	18,53	13,97	95,81	
Nanofiltrert	17,93	20,54	79,38	

Luminans er den nyttigste faktoren da fargetonen og metningen ikke varierer særlig og er vanskelig å vurdere uten visuell hjelp. Luminans går på en skala fra 0 til 100, der 100 er fullstendig hvitt ved ingen fargeintensitet og svart er 0. Uten prøve vil L-verdien gis som 0 da Colorflex EZ spektrofotometeret bruker et svart kammer for prøven. Det betyr at all verdi over

dette viser til ugjennomsiktighet på grunn av partikler. Stoffet reflekterer blitslyset tilbake i linsen i motsetning til å absorberes av den svarte bakgrunnen i prøveholderen.

Forskjellige L-verdier for Topplag A og Topplag B kommer av at Topplag B var kontaminert med en liten mengde bunnlag etter hevertbruk i en størrelsesorden på ~3% av hele sitt volum. L-verdien for Topplag A er derfor mer representativ for fargen til Topplag.

Korrelasjonen mellom innhold av sedimenterbare partikler og luminans vises tydelig i tabellen. Generelt er prøvene med mest tørrstoff minst gjennomsiktige og har høyest L-verdi. Unntaket for denne korrelasjonen er Nanofiltrert og White Ribbon. Nanofiltrert har lavest L-verdi og er mest gjennomsiktig, til tross for at tørrstoffinnholdet er høyest i denne prøven. White Ribbon og Topplag A har relativt likt tørrstoffinnhold. Dette er ikke åpenbart når prøvenes L-verdier sammenliknes. Forskjellene i L verdi er mye større enn det som forventes fra prøver med liknende tørrstoffinnhold. Denne observasjonen tyder på at det ikke kun er tørrstoffinnhold som påvirker gjennomsiktigheten til prøvene, men også type tørrstoff.

Ett av de opprinnelige målene var å finne den optimale porestørrelsen som fjernet forurensningen fra hydrolysatet og samtidig ivaretok mest mulig nyttig tørrstoff. Intervallene og presisjonen av de tilgjengelige porestørrelsene var ikke tilstrekkelig i sjiktet 12 $\mu$ m-2 $\mu$ m. Blue Ribbon ble brukt som forstadiet til nanofiltreringen og regnet for å være av bedre kvalitet ved øyesyn sammenlignet med White Ribbon. L-verdiene på fra hverandre og uansett lavere enn Topplag A. Om dette argumentet brukes, sammen med den høyere tørrstoffandelen på 7,10%, er White Ribbon et bedre alternativ for en videre nanofiltrering. Ved øyesyn var det likevel en tydelig ugjennomsiktighet i sammenligning mellom filtrene som avgjorde valget for dette forsøket. Partiklene som gir effekten kan være alt fra 12 $\mu$ m til 4 $\mu$ m. Videre forsøk burde ha en mer presis inndeling av ulike porestørrelser, gjerne fra 10 $\mu$ m-2 $\mu$ m med intervaller på 1 $\mu$ m.

Idéen med å bruke et spektrofotometer var i utgangspunktet å kunne si noe om mengden med uløselig stoff. Men det ser ut til at litt forurensning gir en stor forskjell (Topplag A og B), en betraktelig økning av uløselige partikler en relativ liten økning (Rått hydrolysat og Bunnlag) og merkbare synsforskjeller har nærmest ingen ulikhet i luminans (White- og Blue Ribbon). En positiv konsekvens er at metoden raskt gir svar på lekkasjer eller dårlig separasjon og kan i så fall benyttes til prosessovervåking. Men som en objektiv kvalitetsbedømmelse er den problematisk for flytende hydrolysat.

## 4.2 Viskositet

Viskositeten avhenger av temperatur, mengden tørrstoff og hvilket stoff, da med hensyn til mengden uløselige partikler og saltinnholdet. Prøvematerialet er som beskrevet i metoden, der separasjonsmetoden er variabelen med unntak av Nanofiltrert som også har en avvanningsmetode. Tabell 6 er en behandlet versjon av Vedlegg 6 som beskriver alle resultatene fra rheometeret.

Tabell 6: Resultat av viskositetsmålinger for Rå, Bunnlag, to ulike topplag der Topplag B har noe kontaminering og Nanofiltrert. TS er tørrstoff,  $m$  er fluidviskositetsindeks og  $\tau$  er vikegrense for skjærspenning.

		6°C		25°C		50°C	
TS(%)		$m$	$\tau$	$m$	$\tau$	$m$	$\tau$
Bunnlag	15	0.0098	0.044	0.0074	0.28 ± 0.05	0.0048	0.14 ± 0.02
	40	1.3 ± 0.2	46 ± 38	0.51	28 ± 5	0.5	19 ± 5
	50	2.9 ± 0.4	126 ± 95	0.46 ± 0.06	189	0.68	68 ± 7
Rå	15	0.0057 ± 0.003	[<0.01]	0.0039	[<0.01]	0.0039	0.028 ± 0.01
	30	0.0033	0.043 ± 0.03	0.019	0.054 ± 0.008	0.02	0.25 ± 0.04
	50	0.77	2.8 ± 1.7	0.39	5.0	0.2	2.6
Nanofiltrert	15	0.0062	[<0.01]	0.0036	[<0.01]	0.0022	[<0.01]
	30	0.035	0.038	0.018	[<0.01]	0.0097	[<0.01]
	50	0.7	3.4 ± 0.6	0.28	0.6	0.091	0.27 ± 0.06
Topplag A	15	0.0054	[<0.01]	0.0032	[<0.01]	0.0021	[<0.01]
	30	0.029	0.049 ± 0.03	0.016	0.012	0.0088	0.014 ± 0.002
	50	0.43	1.1	0.19	0.28 ± 0.1	0.069 ± 0.01	0.11 ± 0.2
Topplag B	15	0.0062	[<0.01]	0.0037	[<0.01]	0.0024	[<0.01]
	30	0.026	0.031 ± 0.01	0.015	0.028 ± 0.004	0.0087	0.045
	50	0.44	1.3 ± 0.2	0.18	1.8 ± 0.8	0.071	0.26 ± 0.2

Konsentrasjoner større og lik 15% brukes da verdiene blir interessante spesielt med tanke på vikegrensen til Bunnlag. Trendene er likevel de samme for originalkonsentrasjonene om de skulle vært tatt med. Standardavvik mindre enn 10% av gjennomsnittet er ikke tatt med. Grafene brukt til grunnlag for tabellen har flytindeks  $n$  korrigert mot 1 som beskrevet i metoden og  $n$  er derfor ikke tatt med. Alle målingene i forsøket hadde vikegrense, men vikegrenseverdier under 0.01 Pas regnes for å tilhøre newtonske fluider da de er såpass lave og markert slik. Bingham fluider har vikegrense over dette tallet. Bunnlag 30% var med en misforståelse blandet til 15% og feilen ble oppdaget etter forsøksstidsrommet.

Prøvematerialet blir mer viskøst ved kaldere temperaturer og høyere konsentrasjon, men faktoren som påvirker mest er stoffet. Graden av uløselige partikler forårsaker store spenn i både viskositetsindeksen og vikegrensen der effekten er tydelig allerede på 15%. Bunnlag viser enormt forhøyede verdier fra 3-5 ganger viskositetsindeksen og 26-37 ganger vikegrensen sammenlignet med Rått hydrolysat på samme konsentrasjon og temperatur. Dataene er også utsatt for store standardavvik. Rått hydrolysat har høyere verdier enn resterende med 1.5 til 2 ganger økning sammenlignet henholdsvis med Nanofiltrert og topplagene. Et uforutsett resultat er Nanofiltrert som har jevnt over høyere viskositetsindeks enn topplagene. Fra fargemålinger og tørrstoff er graden av uløselige partikler enda lavere enn de sedimenterte topplagene. Dette ble undersøkt videre og det viser seg at salt i høykonsentrerte peptid/proteinløsninger har en reduserende effekt på viskositeten. Ved at avvanningsmetoden fjerner NaCl sammen med vann har man da det motsatte. Da utfallet var uforutsett mangler sammenligninger med bare frysetørket mikrofiltrat og hvor stor påvirkningen fra saltfjerningen er uviss. Om topplagene sammenlignes er Topplag B nesten identisk med noe høyere vikegrenser enn Topplag A. Noe forurensning ser derfor ikke ut til å være så forstyrrende som antatt og vist med luminansverdiene i Tabell 5.

Tørking av prøvematerialet under måleprosessen kan ha gitt en feilaktig høy verdi på de siste målingene enn om plattformen var forseglet. Vikegrensene der standardavviket er relativt høyt med mer enn 50% av gjennomsnittet forårsakes hovedsakelig av den første parallellen, som er alt fra 1,5 til 5 ganger så høyt som de to påfølgende parallellene. Prøvematerialet ser ut til å 'stivne' i løpet av oppvarmingen og krever mer for å settes i gang. For en eventuell produksjon ved høye konsentrasjoner skal en være klar over uforutsette økninger i skjærspenning ved stillstand.

Nanofiltrert, Topplag A og -B 50% 25°C er fremdeles under oppgitte toleransegrensa for Yamato Pulvis Spraydryer GB22 på 0,3 Pas. Topplagene kan konsentreres høyere enn 50%, men Nanofiltrert er nær grensen allerede.

### 4.3 Tørket fiskeproteinhydrolysat

Etter tørking er prøvene klare til å brukes som funksjonell ingrediens. Da kan påvirkning av de foregående prosessene på det endelige produktet bestemmes. For å bestemme egenskapene og kvaliteten av det endelige pulveret vurderes farge, holdbarhet, kjemisk sammensetning, og ernæringsmessige kvalitet med essensielle aminosyrer.

#### 4.3.1 Utseendet av pulver









Tørking av Rå, Topplag, Bunnlag ble gjort med både frysetørking og spraytørking. Nanofiltrert og Vakuumfiltrert ble kun frysetørket. Figur 26 viser utseende til de åtte tørkede prøvene.



*Figur 26: Åtte pulverprøver, fra øverst venstre mot høyre: Frysetørket Rå, Frysetørket Topplag, Frysetørket Bunnlag, Frysetørket Nanofiltrert. Fra nederst venstre mot høyre; Spraytørket Rå, Spraytørket Topplag, Spraytørket Bunnlag, Frysetørket Vakuumkonsentrert.*

Man kan se fra figuren at fargen til et pulver er sterkt knyttet til tørkemetoden som ble anvendt. De spraytørkede versjonene av Rå, Topplag og Bunnlag mye lysere i fargen enn de frysetørkede versjonene. Dette presenteres også i resultatene fra en fargemåling som ble gjennomført på disse prøvene i Tabell 7. (Se vedlegg 7)

Tabell 7: Fargemål til proteinpulverprøver i figur 26

Prøve	Luminans, L	Intensitet, C	Tone, h	Eksempel
Frysetørket rått	69,6	23,6	82,3	
Frysetørket topplag	75,7	21,3	86,7	
Frysetørket bunnlag	65,3	25,0	82,3	
Spraytørket rått	82,7	17,3	86,6	
Spraytørket topplag	89,3	12,2	91,4	
Spraytørket bunnlag	79,1	15,3	15,4	
Vakuumkonsentrert rått	60,4	3,0	20,1	
Nanofiltrert rått	81,7	21,1	87,2	

Årsaken til den lysere fargen i spraytørkede prøver er fordi et pulver med høyere antall partikler som er mindre i størrelse vil reflektere mer lys sammenlignet med et pulver med store partikler. Spraytørket hydrolysat lager et pulver ved å omdanne løsningen til aerosoler med minimal størrelse, og partikkelstørrelsen er tilsvarende liten.

Valg av konsentreringsmetode vil også påvirke fargen. Nanofiltrert har mye lysere farge of høyere L-verdi enn Vakuumkonsentrert. Det blir en åpenbart mørkere farge av å benytte inndamping som oppkonsentrering, som overgår fargen til både rå hydrolysat og bunnlag med samme tørkemetode. Dette minner om en bruningsreaksjon, som kan enten skje enzymatisk eller kjemisk (maillardreaksjon) i kombinasjon med varmebehandlingen under inndampingen. En enzymatisk bruningsreaksjon tilsier at hydrolysatet inneholder polyfenoloksidaser eller peroksidaser. Dette er usannsynlig, fordi hydrolyseringsenzymene blir inaktivert med varmebehandling etter endt produksjonstid, og det samme vil skje med andre enzymer. Dersom hydrolysatet inneholder enzymer for bruningsreaksjon måtte prøven bli kontaminert med en stor mengde av enzymene. En ikke-enzymatisk bruning betyr at det er sukker, aldehyder eller ketoner i hydrolysatet. Den mest sannsynlige årsaken er at inndampet hydrolysat består av enda større partikler enn vanlig hydrolysat. Kvaliteten på pulveret har altså blitt redusert av inndampingen.



Her finnes det vesentlige forskjeller i fargetone og intensitet mellom prøvene. Spraytørket bunnlag og frysetørket vakuumpulver har forskjellige fargetoner og intensitet sammenlignet med resten, på en måte som peker sterkere mot rosa og grått henholdsvis. Disse fargene er tydeligvis ikke de samme som prøvene viser i Figur 26, så det er trygt å si at disse to prøvene har avvikende verdier. Feilkilden kan være en feilkalibrering av maskinen eller dårlig isolasjon mot ytre lys under måling. Kontaminering av prøvene med rød- eller svartfarget stoff virker usannsynlig sett at prøvene hadde samme farge som i Figur 6 under fargemåling.

Her kan fargen til pulverprøvene knyttes til fargen på de flytende prøvene. Fra Tabell 5 ser man at fargen er mørkest i topplag A som inneholdt minst bunnlagspartikler og nanofiltrert. Fra Tabell 7 ser man at topplag og nanofiltrat som inneholdt minst bunnlagspartikler har lyseste farge. Denne sammenhengen tilsier at bunnlagspartikler bidrar til en mørkere farge i det endelige proteinpulveret, som senker kvaliteten.

Ved ny anledning for å gjennomføre forsøk på hydrolysat bør man forsøke nanofiltrering på topplag, for å oppnå en enda lysere farge som minner mer om hvitt.

#### 4.3.2 Vannaktivitet i pulver

Pulver er aldri fullstendig vannfritt hvis det utsettes for luft. For å bestemme om pulver er utsatt for mikrobielle risiko ble det bestemt vannaktiviteten til de samme åtte prøvene som fikk fargen målt (se Vedlegg 8). Dessverre mangler data for frysetørket vakuumpulver hydrolysat

De åtte prøvene som presenteres i Tabell 8 har alle vannaktivitet under 0,6 og klassifiseres som LMF, og er lite utsatt for mikrobiell forringelse. Prøvene kan imidlertid være utsatt for harskning, da harskningshastigheten øker ved vannaktivitet lavere enn 0,2. Harskning er kun problematisk hvis det er oljerester i pulveret, som ikke er tilfellet for våre prøver.

Det er alltid større vannaktivitet i spraytørket pulver sammenlignet med frysetørket pulver. Dette skyldes raskere opptak av fuktighet i spraytørket og manglende fordampning. Den hurtige sorpsjonen skyldes partikkelstørrelsen, hvor mye mindre partikler betyr større overflateareal for å binde til seg fuktighet. Den andre årsaken kan være en feil ved oppsettet som vil føre til ufullstendig tørking, bl.a. lav temperatur og fuktig luft i spraytørke-maskinen.

Tabell 8: Vannaktivitet til ferdig tørket pulver

Prøve	vannaktivitet
Frysetørket rå hydrolysat	0,1147
Frysetørket Topplag	0,1346
Frysetørket Bunnlag	0,0778
Spraytørket Rå Hydrolysat	0,1969
Spraytørket Topplag	0,1899
Spraytørket Bunnlag	0,1794
Frysetørket vakuumpkonsentert	x
Frysetørket nanofiltret	0,0645

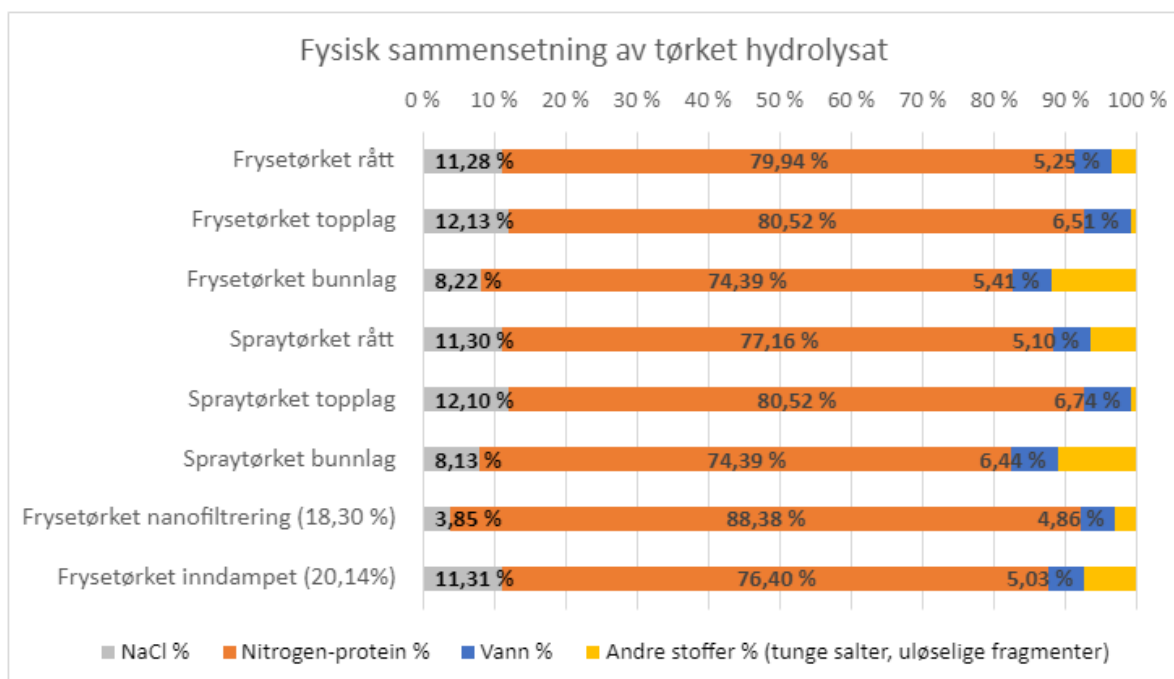
#### 4.3.3 Sammensetningen av pulveret

Den kjemiske sammensetningen ble regnet ut for åtte ulike prøver. Det ble bestemt innholdet av frysetørket hydrolysat, -topplag, -bunnlag, retentat av nanofiltrering og permeat av Nanofiltrering. Ved å kombinere det målte tørrstoffet til hver prøve med målt saltkonsentrasjon i vannfraksjon (se Vedlegg 1), ble saltinnholdet i pulveret tilnærmet. Masseprosenten av aminosyrer og peptider er tilnærmet proteinmassen, som ble bestemt med Kjeldahls metode på frysetørket og spraytørket pulver (se Vedlegg 9). I tillegg var gjenværende fuktighet i pulveret bestemt med en tørrstoffprøve av det ferdige pulveret. (se Vedlegg 10). Resultatene av disse målingene og utregningene blir presentert i Tabell 9.

Tabell 9: salt, peptider og aminosyrer, og tørrstoff i utvalget av prøver i pulverform

Prøve	NaCl	Peptider & aminosyrer	Tørrstoff
Frysetørket rått	11,28 %	79,94 %	94,75 %
Frysetørket topplag	12,13 %	80,52 %	93,49 %
Frysetørket bunnlag	8,22 %	74,39 %	94,59 %
Spraytørket rått	11,30 %	77,16 %	94,90 %
Spraytørket topplag	12,10 %	80,52 %	93,26 %
Spraytørket bunnlag	8,13 %	74,39 %	93,56 %
Frysetørket nanofiltrert (18,30 %)	3,85 %	88,38 %	95,14 %
Frysetørket indampet (20.14 %)	11,31 %*	76,40 %	94,97 %

\*Denne saltkonsentrasjonen ble beregnet ut fra den estimerte verdien i Tabell 4. Fra verdiene i Tabell 9 ble Figur 27 satt sammen for å illustrere bedre de ulike komponentene.



Figur 27: Et diagram som representerer komponentene i ferdig tørket pulver av rå hydrolysat, topplag, bunnlag, nanofiltrat og inndampet hydrolysat

Det ønskes et hydrolysatpulver som inneholder mest mulig aminosyrer og peptider (protein), og lavere innhold av NaCl og andre stoffer. Pulver av rå hydrolysat vil inneholde ca. 80% protein, i tillegg til NaCl og andre uspesifiserte stoffer som antas å være tyngre salter og uløselige aminosyrer.

Fra resultatene observeres det at proteinkonsentrasjon er jevnt høyere i topplag enn i bunnlag, samt saltkonsentrasjonen økes. Innholdet av andre uspesifiserte stoffer er i lavere konsentrasjoner i topplag mens det er stadig høyere i bunnlag. Disse stoffene antas å være tyngre salter og andre uløselige aminosyrer som felles ut under sedimentering. Det observeres ingen signifikante forskjeller mellom spraytørking og frysetørking og inndamping viser ingen effekt på sammensetningen sammenlignet med rått hydrolysat.

Effekten av nanofiltreringen ble en reduksjon av salt og uløselige stoffer i tørrstoffet og økt konsentrasjon av protein i retentatet. Kvaliteten økte betraktelig via mikro- og nanofiltrering, som bidrar til å oppnå målet til oppgaven. Nanofiltrering er en konsentreringsmetode som bruker minst strøm av alle metodene nevnt, og oppnår de ønskede resultatene i pulveret.

Det finnes forbedringsmuligheter som kan tas opp ved videre forsøk. For eksempel viste alle pulverprøvene en tendens til å ta opp fuktighet over tid. Dette fører til en dissonans med de andre konsentrasjonene, særlig for topplag, fordi vanninnholdet ble målt lenge etter de andre

analysene. Betegnelsen av andre stoffer var for mangelen av protein, vann og salt i pulveret, og masseprosenten for protein er basert på en unøyaktig omregning fra den mer nøyaktige masseprosenten for nitrogen.

Det kan ha blitt overgått av en akkumulering av vann i pulveret. Diagrammet viser at topplag-pulveret har ingen andre stoffer enn protein, NaCl og vann, men det er mest sannsynlig at det er andre stoffer i pulveret. Forsøketiden strakk seg ikke til å gjennomføre nye protein- og saltmålinger.

Mikrofiltrering er også en uperfekt metode for å fjerne uløselige partikler, og sedimentering er en langt enklere og billigere måte å gjøre det på. Ved å nanofiltrere topplag sparer man ressurser og oppnår lik eller bedre kvalitet.

#### 4.3.4 Aminosyresammensetning av peptider

For å bestemme kvaliteten til proteinet i pulveret har det blitt gjennomført HPLC på flere prøver, som bestemmer utslaget av aminosyrer. Proteiner med god kvalitet vil inneholde mest mulig essensielle aminosyrer. Tabell 10 viser fordelingen av aminosyrer til fire typer pulver og tre referanser fra ulike artikler som har blitt nevnt i teoridelen. Aminosyrene tryptofan, prolin og asparaginsyre ble målt i så små mengder i våre egne prøver at de ikke ble inkludert i analysen, eller i omregningen av referansene. Vedlegg 11 viser verdiene som ble brukt til å regne ut gjennomsnittlig aminosyresammensetning i de ulike prøvene.

Tabell 10: Oversikt over gjennomsnittlige aminosyresammensetningen til hydrolysatprøver og referanseprøver. Ble regnet om til å vise forholdet mellom et bestemt utvalg av aminosyrer, ekskludert prolin, tryptofan og asparaginsyre

AA (mmol/l)	Rå hydrolysat	Topplag	Bunnlag	Nano- og mikrofiltrat	Torske-muskel (2020)	Torske-muskel (1985)	Hydolyosat referanse
Asp	8,82 %	8,70 %	9,36 %	8,71 %	11,24 %	8,35 %	8,83%
Glu	10,94 %	11,17 %	11,35 %	11,21 %	17,97 %	0,00 %	11,31%
Asn	0,07 %	0,01 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00 %	0,00%
Ala	11,36 %	11,38 %	11,03 %	11,02 %	6,94 %	7,25 %	7,77%
Tyr	1,00 %	1,15 %	0,02 %	1,35 %	3,79 %	1,72 %	0,71%
Aba	0,18 %	0,17 %	0,12 %	0,14 %	0,00 %	0,00 %	0,00%
Ser	7,49 %	7,47 %	7,74 %	7,46 %	5,23 %	5,55 %	4,24%
Gln	0,00 %	0,00 %	0,01 %	0,00 %	0,00 %	13,16 %	0,00%
Gly/Arg	29,54 %	30,02 %	28,01 %	30,00 %	13,60 %	20,75 %	17,31%
<b>Sum ikke-essensielle</b>	<b>69,40 %</b>	<b>70,08 %</b>	<b>67,64 %</b>	<b>69,89 %</b>	<b>58,77 %</b>	<b>56,78 %</b>	<b>50,17 %</b>
His	1,25 %	1,12 %	1,05 %	1,38 %	1,86 %	4,75 %	0,71%
Thr	4,75 %	4,71 %	5,05 %	4,67 %	5,30 %	4,86 %	5,30%
Met	2,38 %	2,42 %	2,44 %	2,37 %	3,22 %	1,44 %	3,53%
Val	4,33 %	4,29 %	4,40 %	4,19 %	5,23 %	4,80 %	5,30%
Phe	2,59 %	2,41 %	2,89 %	2,43 %	4,29 %	2,36 %	4,59%
Ile	2,87 %	2,82 %	3,09 %	2,82 %	4,80 %	4,13 %	3,53%
Leu	6,06 %	5,87 %	7,10 %	5,86 %	8,59 %	7,64 %	12,01%
Lys	6,36 %	6,29 %	6,35 %	6,38 %	7,95 %	13,24 %	14,84%
<b>Sum essensielle</b>	<b>30,60 %</b>	<b>29,92 %</b>	<b>32,36 %</b>	<b>30,11 %</b>	<b>41,23 %</b>	<b>43,22 %</b>	<b>49,81 %</b>

Man kan se fra resultatene at omtrent 30% av de valgte aminosyrene er essensielle, hvor det er registrert mest i bunnlaget, mens vanlig hydrolysat har nest mest. Prøvene viser attpåtil mindre utslag på essensielle aminosyrer enn vanlige torskemusklere fra begge forsøk, og mye mindre essensielle aminosyrer sammenlignet med referanse-hydrolysatet fra forsøket i 2018.

De mest tilgjengelige aminosyrene i hydrolysat, topplag, bunnlag og nanofiltrert er ikke-essensielle aminosyrer glutaminsyre, alanin og glysin, mens det kun finnes sporstoffer av argininsyre og glutamin. Av de essensielle aminosyrene er det mest av lysin, leucin og treonin. Mellom prøvene våre er det liten forskjell på konsentrasjoner av enkelte aminosyrer, sammenlignet med forskjellen mellom prøvene og referansene fra artiklene. Dette gir inntrykk av at sedimentering og nanofiltrering har liten innvirkning på tilgjengeligheten av aminosyrer.

Årsaken til forskjellen som finnes mellom tørrstoff og topplag/bunnlag kan forklares ved at de essensielle aminosyrene finnes i uløselige partikler som faller til bunnlaget. Dette kan også gi en grunn til at mengden av essensielle aminosyrer er større i torskemuskel enn i hydrolysat, bortsett fra at det er helt forskjellige råvarer som brukes i analysene. Under produksjonen av hydrolysat blir uløselige partikler skilt fra vannfasen, men innholdet av vannløselige aminosyrer og peptider blir relativt uendret.

At våre prøver og referanse-hydrolysatprøven har slike forskjellige verdier er fordi det er ulike hydrolyseringsprosesser. Prøvene våre anvender bromelain og papain som hydrolyseringsenzymmer, mens referanseprøven anvender «hepatopancreatine». Dette enzymet spesialiserer seg i å spalte vannløselige enzymer som Leucin og Lysin fra torsken. I tillegg ble det brukt andre restråstoffer enn torskeshoder i referansen, inkludert innvoller og bein. Et bredere utvalg av råvare betyr at det er flere proteiner og aminosyrekomposisjoner som kan omdannes til vannløselige aminosyrer.

## 5. Konklusjon

Før tørking hadde hydrolysatprøvene lavt tørrstoff- og saltinnhold og høy vannaktivitet. Den høye vannaktiviteten gir hydrolysatet kort holdbarhet. Ved tørking av hydrolysatet må store mengder vann fjernes, og konsentrering før tørking vil være gunstig for å redusere energibruken.

Viskositeten i hydrolysatprøvene ble påvirket av temperaturen, konsentrasjonen av tørrstoff og forbehandlingen av materialet, hvorav forbehandlingen var den klart mest påvirkende faktoren. Mellom fraksjonene i en sedimentering var det opptil 675 ganger høyere vikegrense for skjærspenning ved samme temperatur og konsentrasjon. For fluidviskositetsindeksen var det opptil 10 ganger forskjell. Prøvene med redusert grad av uløselige partikler kunne anvendes av spraytørkere med >50% konsentrasjon ved romtemperatur i motsetning til de uten behandling. Uløselige partikler var den delen av hydrolysatet som forbehandlingen måtte fjerne effektivt. Sedimentering kan oppnå liknende resultat som mikrofiltrering.

I pulverprøvene ble parameterne vannaktivitet, farge, saltinnhold, tørrstoff, aminosyresammensetning og proteininnhold analysert. Vannaktiviteten var lav i samtlige prøver og de var derfor lite utsatt for mikrobiell forringelse. Spraytørkede prøver hadde lysere farge enn de frysetørkede hadde, og vakuumpkonsentert prøve hadde mørkest farge. Nanofiltrert prøve hadde lavest saltinnhold og høyest tørrstoff- og proteininnhold. Aminosyresammensetningen var relativt lik for de ulike prosessene, hvor innhold av essensielle aminosyrer lå på ca. 30 %.

Av de ulike avvanningsmetodene som ble benyttet var det protokollen bestående av mikrofiltrering, nanofiltrering og frysetørking som ga sluttprodukt med høyest proteininnhold og lavest saltinnhold. Produktet hadde lys farge og lav vannaktivitet. Energibruken knyttet til denne avvanningsmetoden er ifølge teorien lavere enn i de andre avvanningsmetodene.

For å konkludere er det mulig å lage et høyverdiprodukt fra hydrolysat med lave produksjonskostnader. Dette er økonomisk gunstig for fiskeindustrien og kan bidra til økt utnyttelsen av marine ressurser.

## 5.1 Videre arbeid

Et bruksområde for proteinpulveret fra bunnfallet må etableres. Da nanofiltrering kan fjerne salt er kanskje en av de store utfordringene med kjemisk hydrolyse imøtekommet- det burde undersøkes.

Mulighetene for å aktivt sedimentere i.e. en sentrifuge må undersøkes for å redusere tidsbruken og overholde kravene om mattrygghet. I tillegg kan utbyttet og kvaliteten på topplaget forbedres med nøyaktig prosessstyring. Om ikke sentrifuger ser ut til å bli løsningen må mikrofiltrering undersøkes videre med mer presisjon.

I tillegg vil det være relevant å anvende fiskeproteinhydrolysat som har blitt produsert med en bredere blanding av / eller ulike deler av restråstoffet. Styring av hydrolyseringsprosessen er interessant med tanke på utbyttet av en sedimentering og forholdet mellom topp- og bunnlag.



## 6. Referanser

Anandharamakrishnan C og Ishwarya S P (2015). *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*, 1–36. [doi:10.1002/9781118863985.ch1](https://doi.org/10.1002/9781118863985.ch1)

Baker R (2012) *Microfiltration, in Membrane Technology and Applications*, 3. utgave, John Wiley & Sons Ltd, California. ISBN 978-0-470-74372-0

Britannica T Editors of Encyclopaedia (2022) *viscosity Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/viscosity>

Cal K & Sollohub K (2009) *Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters* journal of pharmaceutical sciences, 99/2, doi 10.1002/jps.21886

Chalamaiah M, Dinesh B K, Hemalatha R & Jyothirmayi T (2012) *Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review* Food Chemistry, 135/1, s. 3020–3038

Cheryan M (1998) *Fouling and Cleaning in Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*, 2. utgave, CRC Press, Florida, ISBN: 978-0-429-17911-2

Choubert G (1997) *Colour measurement, using the CIELCH colour space, of muscle of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed astaxanthin: effects of family, ploidy, sex, and location of reading*, Aquaculture Research, 28/1, s. 15-22

Clemente A (2000) *Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition*, Trends in Food Science & Technology, 11/1, s. 254-262

Connel J J & Howgate P G (1958) *Studies on the Proteins of Fish Skeletal Muscle: 6. Amino Acid Composition of Cod Fibrillar Proteins*, Torrey Research station, 71/1, s. 82-86.

Egerton S, Culloty S, Whooley J, Stanton C & Ross R P (2017) *Characterization of protein hydrolysates from blue whiting (*Micromesistius poutassou*) and their application in beverage fortification* Food Chemistry (2017), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.107>

Eykamp W (1995) *Microfiltration and ultrafiltration Membrane Separations Technology. Principles and Applications*

Fellows P J (2009) *Food processing technology: Principles and practice*, 3. utgave, Woodhead Publishing Ltd. ISBN: 978-1-84569-216-2

FN-sambandet (2022a) *Ansvarlig forbruk og produksjon* [<https://www.fn.no/om-fn/fns-baerekraftsmaal/ansvarlig-forbruk-og-produksjon>] [27.05.2022]

FN-sambandet (2022b) *Livet I havet* [<https://www.fn.no/om-fn/fns-baerekraftsmaal/livet-i-havet>] [27.05.2022]

Halldorsdottir S M, Sveinsdottir H, Gudmundsdottir A, Thorkelsson G & Kristinsson H G (2014) *High quality fish protein hydrolysates prepared from by-product material with Fucus vesiculosus extract*, Journal of functional foods, 9/1, s. 10-17

He S, Franco C & Zhang W (2013) *Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP)*, Food Research International, 50/1, s. 289–297

Iwasaki M & Harada R (1985) *Proximate and Amino Acid Composition of the Roe and Muscle of Selected Marine Species*, Journal of food science, 50/1, s. 1585-1587

Jeon Y, Byun H & Kim S (1999) *Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes*, Process Biochemistry, 35/1, s. 471–478

Jervis S, Campbell R, Wojciechowski K L, Foegeding E A, Drake M A & Barbano M D (2012) *Effect of bleaching whey on sensory and functional properties of 80% whey protein*, National library of medicine, 95/6, s. 2848-62

Jiang B, Tsao R, Li Y, & Miao M (2014) *Food Analysis Technologies I*: N K Van Alfen (red:) *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* 1. utgave Elsevier Inc. ISBN: 978-0-444-52512-3

Kristinsson H G & Rasco B A (2000) *Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40/1, s. 43-81, DOI: [10.1080/10408690091189266](https://doi.org/10.1080/10408690091189266)

Labuza T P & Erdman J W (1984) *Food Science and Nutritional health* West Publishing Co, St. Paul MN. 1984.

Liceaga-Gesualdo A M & Li-Chan E C Y (1999) *Functional Properties of Fish ProteinHydrolysate from Herring (Clupea harengus)*, Journal of food science, 64/6, s. 1000-1004

Mathlouthi M (2001) *Water content, water activity, water structure and the stability of foodstuffs*, Food control, 12/1, s. 409-417

Mohammad A W, Teow Y H, Ang W L, Chung Y T, Oatley-Radcliffe D L & Hilal N (2015) *Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects*, Desalination, 356/1, s. 226–254

Millward D J, Layman D K, Tomé D, & Schaafsma G (2008) *Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health*, American journal of clinical nutrition, 8/7, s. 1576-1581

Myhre M, Richardsen R, Nystøyl R, Strandheim G (2021) *Analyse marint restråstoff 2020* Sintef rapport 2021:00633 Sintef Ocean AS og Kontali Analyse AS

Novikov V Y, Derkach S R, Kuchina Y A, Shironina A Y & Mukhin V A (2018) *Kinetics of enzymatic reactions in the production of fish protein hydrolysates* Journal of Dispersion Science and Technology, 39:10, 1454-1461, DOI: 10.1080/01932691.2017.1414612

Pasupuleti V K & Demain A L (2010) *State of the art manufacturing of protien hydroysates I: Pasupuleti V K & Braun S (red.) Protein hydrolysates in biotechnology* Springer Science+Business Media B.V. 2010 DOI 10.1007/978-1-4020-6674-0\_2

Perry R H & Green D W (1997) *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 7. utgave, McGraw-Hill, ISBN 978-0-07-049841-9

Petrova I, Tolstorebrov I & Eikevik T G (2018) *Production of fish protein hydrolysates step by step: technological aspects, equipment used, major energy costs and methods of their minimizing*, Int Aquat Res, 10/1, s. 223–241

Rao Q, Kamdar A K & Labuza T P (2016) *Storage Stability of Food Protein Hydrolysates—A Review*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56/7, 1169-1192, DOI: 10.1080/10408398.2012.758085

Ratti C (2001) *Hot air and freeze-drying of high value foods: a review*, Journal of Food Engineering, 49/1, s. 311-319

Ratti C (2013) *Freeze drying for food powder production*, Woodhead Publishing Limited, DOI: 10.1533/9780857098672.1.57

Schuck P, le Floch-Fouere C & Jeantet R (2013) *Changes in Functional Properties of Milk Protein Powders: Effects of Vacuum Concentration and Drying*, *Drying Technology: An International Journal*, 31/13-14, s. 1578-1591, DOI: 10.1080/07373937.2013.816316

Slizyte R, Dauksas E, Falch E, Storrø I & Rustad T (2005) *Characteristics of protein fractions generated from hydrolysed cod (Gadus morhua) by-products*, *Process Biochemistry*, 40/1, s. 2021–2033

Sosnik A & Seremeta K P (2015) *Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers*, *Advances in Colloid and Interface Science*, doi:10.1016/j.cis.2015.05.00

Street A, Sustich R, Duncan J & Savage N (2014) *Water Treatment by Dendrimer-Enhanced Filtration: Principles and Applications* I: Diallo M S (red) *Nanotechnology Applications for Clean Water: Solutions for improving water quality* 2nd Edition William Andrew ISBN-13: 978-1455731169

Suárez E, Lobo A , Álvarez S, Riera F A & Álvarez R (2006) *Partial demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by nanofiltration at pilot-plant scale*, *Desalination*, 198/1, s. 274–281

Teixeira B, and Mendes R (2020) *The Nutritional Quality of Dried Salted Cod: the Effect of Processing and Polyphosphates Addition*, *Journal of Food and Nutrition Research*, 8/7, s. 304-312. doi: 10.12691/jfnr-8-7-1.

Van der Bruggen B, Manttari M, Nystrom M (2008) *Drawbacks of applying nanofiltration and how to avoid them: A review*, *Separation and Purification Technology*, 63/1, s. 251–263

Wang S, Zhang N, Hu T, Dai W, Feng X, Zhang X & Qian F (2015) *Viscosity-Lowering Effect of Amino Acids and Salts on Highly Concentrated Solutions of Two IgG1 Monoclonal Antibodies* *Molecular Pharmaceutics* 12 (12), 4478-4487 [DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00643](https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00643)

Beregning av estimert saltinnhold etter konsentrering og tørking. Verdiene som ble brukt til å regne ut gjennomsnitt og standardavvik for saltinnhold for ikke-tørkede prøver.

Beregning av saltinnhold i flytende Vakuumkonsentrert rått hydrolysat	
Tørrstoff i Rått= 7,81%	
Saltinnhold i Rått =0,93%	
Tørrstoffinnhold i Vakuumkonsentrert= 20,14%	
Antar at forhold mellom saltinnhold og tørrstoff er likt i Rå og Vakuumkonsentrert slik at likningen $0,93/7,81=x/20,14$	
$x= 2,40$	
Saltkonsentrasjon i vakuumkonsentrert rått hydrolysat som pulver	
Saltinnhold i vakuumkonsentrert = 2,40%	
Tørrstoffinnhold i Vakuumkonsentrert= 20,14%	
Tørrstoffinnhold i pulver vakuumkonsentrert = 94,97%	
$2,40\% * 94,97\% / 20,14\% = 11,31\%$	

Rå	Saltinnhold%	Bunnlag	Saltinnhold%	Nanofiltrert	Saltinnhold%
1. måling	0,92	1. måling	0,81	1. måling	0,71
2. måling	0,93	2. måling	0,78	2. måling	0,75
3. måling	0,94	3. måling	0,78	3. måling	0,76
<b>Gj.snitt</b>	<b>0,93</b>	4. måling	0,80	<b>Gj.snitt</b>	<b>0,74</b>
<b>St.avvik</b>	<b>0,01</b>	5. måling	0,79	<b>St.avvik</b>	<b>0,02</b>
<b>Topplag</b>	<b>Saltinnhold%</b>	<b>Gj.snitt</b>	<b>0,79</b>		
1. måling	0,91	<b>St.avvik</b>	<b>0,01</b>		
2. måling	0,91	<b>Blue Ribbon</b>	<b>Saltinnhold%</b>		
3. måling	0,91	1. måling	0,66		
4. måling	0,94	2. måling	0,66		
5. måling	0,92	3. måling	0,62		
<b>Gj.snitt</b>	<b>0,92</b>	<b>Gj.snitt</b>	<b>0,65</b>		
<b>St.avvik</b>	<b>0,01</b>	<b>St.avvik</b>	<b>0,02</b>		

**Tørrstoff for prøver før tørking**

<b>Rått hydrolysat</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	2,43	22,84	4,02	20,41	1,59	7,79 %
2.måling	2,41	22,03	3,94	19,62	1,53	7,80 %
3. måling	2,55	22,55	4,11	20,00	1,56	7,80 %
4. måling	2,46	22,01	3,98	19,55	1,52	7,77 %
5.måling	2,52	22,87	4,12	20,35	1,60	7,86 %
<b>Gj.snitt</b>						7,81 %
<b>St. avvik</b>						0,00

<b>Topplag</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	51,87	71,82	53,27	19,95	1,4	7,02 %
2.måling	48,6	68,53	50,01	19,93	1,41	7,07 %
3. måling	51,68	71,66	53,08	19,98	1,4	7,01 %
4. måling	48,69	68,61	50,11	19,92	1,42	7,13 %
5.måling	51,68	71,7	53,1	20,02	1,42	7,09 %
<b>Gj.snitt</b>						7,06 %
<b>St. avvik</b>						0,00

<b>Bunnlag</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	51,81	72,04	53,66	20,23	1,85	9,14 %
2.måling	41,56	61,55	43,39	19,99	1,83	9,15 %
3. måling	42,28	62,43	44,13	20,15	1,85	9,18 %
4. måling	48,82	68,74	50,66	19,92	1,84	9,24 %
5.måling	45,57	65,43	47,3	19,86	1,73	8,71 %
<b>Gj.snitt</b>						9,09 %
<b>St. avvik</b>						0,00

<b>Blue Ribbon</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	2,58	22,64	3,75	20,06	1,17	5,83 %
2.måling	2,56	21,59	3,66	19,03	1,1	5,78 %
3. måling	2,58	23,59	3,81	21,01	1,23	5,85 %
4. måling				0	0	
5.måling				0	0	
<b>Gj.snitt</b>						5,82 %
<b>St. avvik</b>						0,00

<b>White ribbon</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	2,49	20,17	3,76	17,68	1,27	7,18 %
2.måling	2,51	20,14	3,74	17,63	1,23	6,98 %
3. måling	2,47	22,32	3,89	19,85	1,42	7,15 %
4. måling				0	0	
5.måling				0	0	
<b>Gj.snitt</b>						7,10 %
<b>St. avvik</b>						0,00

<b>Nanofiltrert</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	2,4	5,5	2,99	3,1	0,59	19,03 %
2.måling	2,51	5,53	3,05	3,02	0,54	17,88 %
3. måling	2,5	5,5	3,04	3	0,54	18,00 %
4. måling				0	0	
5.måling				0	0	
<b>Gj.snitt</b>						18,30 %
<b>St. avvik</b>						0,00

<b>Vakuumpkonsentret</b>	Pannevekt, g	Total våtvekt, g	Total tørrvekt, g	Prøve våtvekt, g	Prøve tørrvekt, g	tørrstoff
1.måling	2,5	17,42	5,5	14,92	3	20,11 %
2.måling	2,4	17,58	5,47	15,18	3,07	20,22 %
3. måling	2,5	17,91	5,58	15,41	3,08	19,99 %
4. måling	2,4	17,54	5,46	15,14	3,06	20,21 %
5.måling	2,45	17,83	5,55	15,38	3,1	20,16 %
<b>Gj.snitt</b>						20,14 %
<b>St. avvik</b>						0,00

## Strøm- og tidsberegninger

### Vakuumpkonsentrering

Vi har ett forsøk med maskinen å ta informasjon fra, mest beleilig for oss. Bare anta at dette gjelder i alle tilfeller, i rapporten.

- Heidolph Ultimate VAP
  - Supplenteres med 1400 W (1,4 kW) og har en varmekapasitet på 1300 W (1,3 kW)
- Hei-chill 600
  - Strøminntak er på 700-750 W
- Rotavac valve tec
  - 200-230 V og 0,8-0,85 A
  - Strømforbruk er på 160-195,5 W

Samlet maksimal strømbruk er 2,3455 kW

Ved å behandle hydrolysat i 2,5 timer med 45°C og 20 rotasjoner per minutt vil man fjerne 576,71 gram vann fra 952,41 g løsning.

Maksimalt strømbruk i 2,5 timer blir  $2,5 \text{ h} * 2,3455 = 5,863 \text{ kWh} = 21,11 \text{ MJ}$

$21,11 \text{ MJ} / 0,57671 \text{ kg} = 36,6 \text{ MJ} / \text{kg}$  vann som fjernes.

$5,863 \text{ kWh} / 0,57671 \text{ kg} = 10,166 \text{ kWh} / \text{kg}$  vann

For å fjerne et kilogram med vann fra vanlig hydrolysat bruker man opptil **36,6 MJ** eller **10,2 kWh**.

Vann fjernet per time:  $576,71 \text{ g} / 2,5 \text{ h} = 230,68 \text{ g} / \text{h}$

### Membranfiltreringsmaskin

## TripleSystem

*Tools enabling Innovation*

### Specifications

Dimensions (L x W x H)	700 x 510 x 510 (mm)
Weight	50 kg
Installed power requirement	0.18 kW (220/110V)
Number of membrane cells	3 (connected in series or parallel)
Membrane area/cell	28 cm <sup>2</sup>
Circulation pump	Speed controllable, magnetically coupled gear pump (CIP and SIP capability)
Permeate flow rate	1.5 – 7.5 ml/min (for flux values of 10 - 50 Lm <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> )
Crossflow	0.5 – 2 L/min (equivalent to approx. 0.5 – 4 m/s)
Tubing	All tubing and fittings Mat. 316 L
Feed Tank	Stainless steel 316L, Volume 800 ml, heating/cooling jacket area 0.04 m <sup>2</sup>
System hold up volume	50 ml
Instruments	2 x Pressure transducers (0 – 50 bar) 1 x Temperature transducer (0 – 100 °C) 1 x Balance (0 – 2100 g, 0.1 g resolution)
Gaskets, Seals & O-rings	EPDM (others on request)
Pressure rating	PN40, driving pressure created by compressed N <sub>2</sub>
Temperature rating	5 – 80 °C (polystat required)
HMI	Touch panel for process control, indication of parameters and data logging

Ved Nanofiltrering fjernes ca 284 g vann (med salt) per time.

$1 \text{ kg} / 0,284 \text{ kg} * 1 \text{ h} * 0,18 \text{ kW} = 0,634 \text{ kWh} = 2,28 \text{ MJ}$

0,18 kWh

Hvert kg vann fjernet bruker **2,28 MJ** og **0,634 kWh**



## Vannaktivitet for prøver før tørking

Bunnlag	aW	temp (°C)
1. måling	0,9917	24,92
2. måling	0,9904	24,92
3. måling	0,9918	24,92
Gj.snitt	0,9913	
St. avvik	0,0006	
Topplag A	aW	temp (°C)
1. måling	0,9915	24,91
2. måling	0,993	24,92
3. måling	0,9916	24,91
Gj.snitt	<b>0,9920</b>	
St. avvik	<b>0,0007</b>	

Rå	Vannaktivitet	temp (°C)
1. måling	0,9932	24,91
2. måling	0,9919	24,92
3. måling	0,9922	24,91
4. måling	0,9927	24,91
5. måling	0,9909	24,91
Gj.snitt	0,9922	
St. avvik	0,0008	
Blue Ribbon	aW	temp (°C)
1. måling	0,9925	24,91
2. måling	0,9951	24,91
3. måling	0,9958	24,91
Gj.snitt	<b>0,9945</b>	
St. avvik	<b>0,0014</b>	

White Ribbon	aW	temp (°C)
1. måling	0,9923	24,92
2. måling	0,9912	24,92
3. måling	0,9926	24,91
Gj.snitt	<b>0,9920</b>	
St. avvik	<b>0,0006</b>	

Nanofiltrert	aW	temp (°C)
1. måling	0,9831	24,92
2. måling	0,9831	24,92
3. måling	0,9813	24,92
Gj.snitt	<b>0,9825</b>	
St. avvik	<b>0,0008</b>	

**Farge for prøver før tørking**

<b>Rått hydrolysat</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	45,76	15,85	84,39
2. måling	45,76	15,88	84,32
3. måling	45,71	15,86	84,29
4. måling	45,69	15,87	84,37
5. måling	45,68	15,86	84,39
<b>Gj.snitt</b>	<b>45,72</b>	<b>15,86</b>	<b>84,35</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>

<b>Topplag A</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	28,47	13,40	97,22
2. måling	28,45	13,38	97,23
3. måling	28,46	13,36	97,25
4. måling	28,45	13,36	97,33
5. måling	28,46	13,34	97,25
<b>Gj.snitt</b>	<b>28,46</b>	<b>13,37</b>	<b>97,26</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>

<b>Topplag B</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	37,66	14,25	92,54
2. måling	37,67	14,26	92,66
3. måling	37,68	14,3	92,69
4. måling	37,68	14,25	92,77
5. måling	37,69	14,32	92,76
<b>Gj.snitt</b>	<b>37,68</b>	<b>14,28</b>	<b>92,68</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,08</b>

<b>Bunnlag</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	48,49	15,04	82,73
2. måling	48,25	15,00	82,76
3. måling	48,26	15,03	82,77
4. måling	48,24	14,99	82,75
5. måling	48,25	14,99	82,78
<b>Gj.snitt</b>	<b>48,30</b>	<b>15,01</b>	<b>82,76</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,10</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>

<b>Blue Ribbon</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	18,58	14,08	95,90
2. måling	18,53	13,96	95,84
3. måling	18,53	13,97	95,97
4. måling	18,52	13,96	95,71
5. måling	18,50	13,90	95,63
<b>Gj.snitt</b>	<b>18,53</b>	<b>13,97</b>	<b>95,81</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>	<b>0,12</b>

<b>White Ribbon</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	19,32	13,87	94,97
2. måling	19,33	13,84	95,05
3. måling	19,32	13,9	94,95
4. måling	19,26	13,84	94,97
5. måling	19,26	13,86	94,78
<b>Gj.snitt</b>	<b>19,3</b>	<b>13,86</b>	<b>94,94</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,09</b>

<b>Nanofiltrert</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	18,03	20,66	79,47
2. måling	17,93	20,48	79,19
3. måling	17,86	20,50	79,56
4. måling	17,94	20,45	79,26
5. måling	17,91	20,61	79,40
<b>Gj.snitt</b>	<b>17,93</b>	<b>20,54</b>	<b>79,38</b>
<b>St. avvik</b>	<b>0,06</b>	<b>0,08</b>	<b>0,14</b>

Viskositet. Gjennomsnitt og standardavvik for fluidviskositetsindeks  $m$ , flytindeks  $n$  og vikegrense  $\tau$

		6 °C			25 °C			50 °C		
TS%		$m$	$n$	$\tau$	$m$	$n$	$\tau$	$m$	$n$	$\tau$
Bunnlag	9.2 %	0.0043 (0.0002)	1	0.017 (0.016)	0.0034 (0.0001)	1	0.034 (0.01)	0.0022 (0.0001)	1	0.051 (0.007)
	15 %	0.0098 (0.003)	1	0.044 (0.03)	0.0074 (0.0005)	1	0.279 (0.049)	0.0048 (0.0003)	1	0.141 (0.02)
	(15%)	0.0104 (0.002)	1	0.046 (0.029)	0.0075 (0.0002)	1	0.307 (0.021)	0.0050 (0.0003)	1	0.101 (0.011)
	40 %	1.285 (0.21)	1	46.2 (37.54)	0.505 (0.039)	1	27.46 (4.8)	0.53 (0.058)	1	18.82 (4.83)
	50 %	2.89 (0.37)	1	126.4 (95.2)	0.463 (0.061)	1	188.9 (4.47)	0.679 (0.03)	1	68.43 (6.64)
Topplag A	7.25%	0.0026 (0)	1	0.00094 (0.00093)	0.0016 (0)	1	0.0011 (0.0015)	0.001 (0.000047)	1	0.0026 (0.0022)
	15%	0.0054 (0)	1	0.001667 (0.000232)	0.0032 (0.000047)	1	0.00053 (0.00025)	0.0021 (0)	1	0.0023 (0.00024)
	30%	0.029 (0.00040)	1	0.049 (0.031)	0.016 (0.00012)	1	0.012 (0.00087)	0.0088 (0.00016)	1	0.014 (0.0024)
	50%	0.4345 (0.004)	1	1.07184 (0.05733)	0.19 (0.0015)	1	0.28 (0.12)	0.069 (0.010)	1	0.11 (0.22)
	7%	0.0027 (0)	1	0.0005 (0.00016)	0.0017 (0)	1	0.00027 (0.00019)	0.0011 (0)	1	0.0007 (0.000356)
Topplag B	15%	0.0062 (0)	1	0.0025 (0.00046)	0.0037 (0)	1	0.0014 (0.000294)	0.0024 (0)	1	0.0088 (0)
	30%	0.0263 (0.000082)	1	0.031 (0.0108)	0.015 (0.00038)	1	0.028 (0.0042)	0.0087 (0.00021)	1	0.045 (0.0023)
	50%	0.44 (0.0013)	1	1.3043 (0.2077)	0.18 (0.0079)	1	1.7513 (0.7845)	0.071 (0.0055)	1	0.26 (0.16)
	7,8%	0.0029 (0)	1	0.002 (0.0005)	0.0018 (0.000047)	1	0.00063 (0.00026)	0.0018 (0.000082)	1	0.0037 (0.0002)
	15%	0.0057 (0.0030)	1	0.0072 (0.0049)	0.0039 (0.000047)	1	0.0042 (0.00005)	0.0039 (0.000094)	1	0.019 (0.0017)
Rå	30%	0.0033 (0.00019)	1	0.043 (0.034)	0.019 (0.0005)	1	0.0538 (0.0077)	0.0201 (0.00082)	1	0.25 (0.036)
	50%	0.77 (0.0083)	1	2.79 (1.72)	0.39 (0.0035)	1	4.99 (0.10)	0.20 (0.0061)	1	2.63 (0.13)
	6%	0.0023 (0)	~1	0.0034 (0.00084)	0.0015 (0)	1	0.0006 (0.0003)	0.0097 (0.000047)	1	0.0013 (0.00075)
	15%	0.0062 (0.000047)	1	0.0047 (0.0031)	0.0036 (0)	1	0.0011 (0.000047)	0.0022 (0.000047)	1	0.0017 (0.0011)
	30%	0.035 (0.000125)	1	0.038 (0.0019)	0.0182 (0.000082)	1	0.0097 (0.00087)	0.0097 (0.000047)	1	0.0169 (0.0032)
50%	0.70 (0.0083)	1	3.38 (0.553)	0.28 (0.0018)	1	0.60 (0.033)	0.091 (0.00079)	1	0.27 (0.059)	

**Farge for prøver etter tørking**

<b>Frysetørket Rå</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	69,57	23,6	82,29
2. måling	69,57	23,57	82,27
3. måling	69,57	23,59	82,29
4. måling	69,57	23,58	82,26
5. måling	69,57	23,59	82,25
<b>Gj.snitt</b>	69,57	23,586	82,272
<b>St. avvik</b>	0	0,010198039	0,016

<b>Frysetørket Topplag</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	75,73	21,25	86,7
2. måling	75,73	21,26	86,72
3. måling	75,73	21,25	86,72
4. måling	75,73	21,26	86,74
5. måling	75,73	21,26	86,72
<b>Gj.snitt</b>	75,73	21,256	86,72
<b>St. avvik</b>	0	0,004898979	0,012649111

<b>Frysetørket Bunnlag</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	65,29	25,03	82,35
2. måling	65,29	25	82,3
3. måling	65,29	25,02	82,32
4. måling	65,29	25,02	82,36
5. måling	65,29	25,02	82,35
<b>Gj.snitt</b>	65,29	25,018	82,336
<b>St. avvik</b>	0	0,009797959	0,022449944

<b>Frysetørket Vakuumkonsent rert</b>	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	60,43	3,01	20,13
2. måling	60,42	3	20,15
3. måling	60,41	2,99	20,14
4. måling	60,42	3,01	20,11
5. måling	60,41	3,01	20,13
<b>Gj.snitt</b>	60,418	3,004	20,132
<b>St. avvik</b>	0,0083666	0,008944272	0,014832397

**Frysetørket****Nanofiltrert**

	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	81,75	21,08	87,24
2. måling	81,74	21,08	87,2
3. måling	81,75	21,07	87,19
4. måling	81,74	21,07	87,19
5. måling	81,74	21,08	87,24
<b>Gj.snitt</b>	81,744	21,076	87,212
<b>St. avvik</b>	0,004898979	0,004898979	0,023151674

**Spraytørket Rå**

1. måling	82,74	17,35	86,61
2. måling	82,74	17,34	86,59
3. måling	82,74	17,33	86,61
4. måling	82,74	17,32	86,6
5. måling	82,74	17,32	86,59
<b>Gj.snitt</b>	82,74	17,332	86,6
<b>St. avvik</b>	0	0,011661904	0,008944272

**Spraytørket****Topplag**

	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	89,33	12,17	91,35
2. måling	89,32	12,17	91,37
3. måling	89,32	12,16	91,33
4. måling	89,32	12,18	91,32
5. måling	89,32	12,16	91,39
<b>Gj.snitt</b>	89,322	12,168	91,352
<b>St. avvik</b>	0,004	0,007483315	0,025612497

**Spraytørket****Bunnlag**

	L verdi	C verdi	H verdi
1. måling	79,14	15,33	15,45
2. måling	79,14	15,31	15,42
3. måling	79,14	15,32	15,47
4. måling	79,14	15,3	15,45
5. måling	79,14	15,32	15,42
<b>Gj.snitt</b>	79,14	15,316	15,442
<b>St. avvik</b>	0	0,010198039	0,019390719

**Vannaktivitet for prøver etter tørking**

<b>Frysetørket Rå</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,1128	2,1
2. måling	0,1112	2,03
3. måling	0,1200	2,07
<b>Gj.snitt</b>	0,1147	
<b>St. avvik</b>	0,00382739	

<b>Frysetørket Topplag</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,1343	2,03
2. måling	0,134	1,98
3. måling	0,1355	2,03
<b>Gj.snitt</b>	0,1346	
<b>St. avvik</b>	0,00064807	

<b>Frysetørket Bunnlag</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,0783	1,15
2. måling	0,0727	1,09
3. måling	0,0825	1,03
<b>Gj.snitt</b>	0,07783333	
<b>St. avvik</b>	0,00401442	

<b>Frysetørket Nanofiltrert</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,0659	2,02
2. måling	0,0638	2,04
3. måling	0,0638	2,06
<b>Gj.snitt</b>	0,0645	
<b>St. avvik</b>	0,00098995	

<b>Spraytørket Rå</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,1972	2,16
2. måling	0,1965	2,19
3. måling	0,1969	2,06
<b>Gj.snitt</b>	0,19686667	
<b>St. avvik</b>	0,00028674	

<b>Spraytørket Topplag</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,189	2,14
2. måling	0,1902	2,12
3. måling	0,1906	2,06
<b>Gj.snitt</b>	0,18993333	
<b>St. avvik</b>	0,00067987	

<b>Spraytørket Buunlag</b>	aW	vekt (g)
1. måling	0,1789	2,02
2. måling	0,1799	2,08
3. måling	0,1793	2,08
<b>Gj.snitt</b>	0,17936667	
<b>St. avvik</b>	0,00041096	



**Kjeldahls resultater**

Hver av verdiene for %N og %P ble regnet ut med formlene (1) og (2)

Forsøk	Blank	Prøvenavn	Titrert prøve (ml)	Masse prøve (g)	%Nitrogen	%Protein	Kommentar:
1 21.feb	0,285	Råstoff hydrolysat 1	9,184	0,1949	12,79 %	79,96 %	
		Råstoff hydrolysat 2	9,408	0,2001	12,77 %	79,84 %	
		Råstoff hydrolysat 3	9,803	0,2083	12,80 %	80,02 %	
		Labfiltrert 1	9,963	0,1902	14,26 %	89,11 %	Metode er uklar
		Labfiltrert 2	9,98	0,1878	14,47 %	90,41 %	
		Labfiltrert 3	10,955	0,2069	14,45 %	90,31 %	
2 03.mar	0,31	Bunnlag 1	8,845	0,2024	11,82 %	73,85 %	
		Bunnlag 2	8,84	0,2036	11,74 %	73,37 %	
		Bunnlag 3	9,56	0,2198	11,79 %	73,70 %	
		Topplag 1	9,789	0,2087	12,73 %	79,54 %	
		Topplag 2	10,696	0,2285	12,74 %	79,60 %	
		Topplag 3	9,583	0,2043	12,72 %	79,49 %	
		UFP 1	8,802	0,1942	12,25 %	76,58 %	
		UFP 2	8,631	0,1907	12,23 %	76,41 %	
		UFP 3	8,93	0,1971	12,25 %	76,59 %	
		UFR 1	9,718	0,2048	12,87 %	80,45 %	
		UFR 2	11,743	0,2058	15,99 %	99,93 %	Feil ved maskinen
		UFR 3	na	na			
			na	na			
			na	na			
	na	na					

3 15.mar	0,308	TUFR 1	9,915	0,2096	12,84 %	80,27 %	
		TUFR 2	10,377	0,2196	12,85 %	80,30 %	
		TUFR 3	9,594	0,203	12,82 %	80,11 %	
		TUFP 1	9,405	0,2001	12,74 %	79,62 %	
		TUFP 2	9,644	0,2057	12,72 %	79,48 %	
		TUFP 3	9,524	0,2026	12,75 %	79,66 %	
		MFP 1	9,465	0,201	12,77 %	79,78 %	
		MFP 2	9,438	0,2007	12,75 %	79,67 %	
		MFP 3	9,865	0,2102	12,74 %	79,62 %	
		MFR 1	9,231	0,2045	12,23 %	76,41 %	
		MFR 2	9,225	0,2039	12,25 %	76,59 %	
		MFR 3	9,108	0,2021	12,20 %	76,25 %	
		RO 1	9,691	0,2064	12,74 %	79,61 %	
		RO 2	10,483	0,223	12,78 %	79,91 %	
		RO 3	9,575	0,2039	12,73 %	79,59 %	
4 26.apr	0,311	NFBR 2 (1)	10,521	0,2009	14,24 %	89,00 %	
		NFBR 2 (2)	10,473	0,2027	14,05 %	87,80 %	
		NFBR 2 (3)	10,9	0,2099	14,14 %	88,35 %	
		Råvare I 1	9,528	0,2018	12,80 %	79,99 %	
		Råvare I 2	9,663	0,2027	12,93 %	80,80 %	
		Råvare I 3	9,797	0,2062	12,89 %	80,56 %	
		Råvare S 1	9,27	0,2032	12,35 %	77,21 %	
		Råvare S 2	9,13	0,2	12,36 %	77,22 %	
		Råvare S 3	9,151	0,2009	12,33 %	77,06 %	
		TS 1	10,428	0,2197	12,90 %	80,64 %	
		TS 2	9,742	0,205	12,89 %	80,57 %	
		TS 3	9,473	0,1997	12,86 %	80,35 %	
		BS 1	8,826	0,2007	11,89 %	74,30 %	
		BS 2	9,089	0,2068	11,89 %	74,33 %	
		BS 3	8,927	0,2024	11,93 %	74,55 %	

**Tørrstoff for prøver etter tørking**

Frysetørket rått hydrolysat	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,57	4,07	3,99	1,50	1,42	94,67%
2. måling	2,51	4,04	3,96	1,53	1,45	94,77%
3. måling	2,50	4,04	3,96	1,54	1,46	94,81%
Gj. snitt						94,75%
St. avvik						7,22E-04

Frysetørket topplag	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,56	4,7	4,53	2,14	1,97	92,06%
2. måling	2,43	4,55	4,4	2,12	1,97	92,92%
3. måling	2,51	4,75	4,6	2,24	2,09	93,30%
Gj. snitt						92,76%
St. avvik						6,40E-03

Frysetørket bunnlag	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,48	4,47	4,34	1,99	1,86	93,47%
2. måling	2,48	4,55	4,45	2,07	1,97	95,17%
3. måling	2,49	4,55	4,45	2,06	1,96	95,15%
Gj. snitt						94,59%
St. avvik						9,76E-03

Frysetørket NF hydrolysat	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,47	4,51	4,41	2,04	1,94	95,10%
2. måling	2,50	4,23	4,15	1,73	1,65	95,38%
3. måling	2,48	4,26	4,17	1,78	1,69	94,94%
Gj. snitt						95,14%
St. avvik						2,19E-03

Spraytørket hydrolysat	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,50	4,07	3,98	1,57	1,48	94,27%
2. måling	2,48	3,95	3,9	1,47	1,42	96,60%
3. måling	2,56	4,02	3,93	1,46	1,37	93,84%
Gj. snitt						94,90%
St. avvik						1,49E-02

Spraytørket Topplag	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,54	4,55	4,41	2,01	1,87	93,03%
2. måling	2,43	4,50	4,37	2,07	1,94	93,72%
3. måling	2,51	4,52	4,38	2,01	1,87	93,03%
Gj. snitt						93,26%
St. avvik						3,95E-03

Frysetørket Bunnlag	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,53	4,59	4,49	2,06	1,96	95,15%
2. måling	2,51	4,42	4,28	1,91	1,77	92,67%
3. måling	2,49	5,01	4,83	2,52	2,34	92,86%
Gj. snitt						93,56%
St. avvik						1,38E-02

Frysetørket Vakuumpkonsentrert	Pannevekt g	Total våtvekt g	total tørrvekt g	Våtvekt g	Tørrvekt g	Tørrstoff %
1. måling	2,32	5,72	5,55	3,4	3,23	95,00%
2. måling	2,54	5,09	4,97	2,55	2,43	95,29%
3. måling	2,52	5,50	5,34	2,98	2,82	94,63%
Gj. snitt						94,97%
St. avvik						3,32E-03

**Aminosyresammensetning****Forsøk 1**

Navn/No

1	No. 1 Topplag 1	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
	1	Asp	1,553	11,741	102,735	10,58	16,13	3,6167
	2	Glu	2,85	13,785	44,485	12,43	6,98	4,7483
	3	Asn	3,783	0,016	0,012	0,01	0	0,0055
	4	His	4,36	1,182	6,762	1,07	1,06	0,5275
	5	Ser	4,858	6,943	37,984	6,26	5,96	3,1398
	6	Gln	5,568	0,001	0,005	0	0	0,0005
	7	Gly/Arg	8,21	31,168	114,581	28,1	17,99	12,2526
	8	Thr	8,857	4,323	17,462	3,9	2,74	1,967
	9	Ala	13,365	12,533	59,919	11,3	9,41	4,5619
	10	Tyr	14,742	0,348	2,524	0,31	0,4	0,1304
	11	Aba	16,542	0,098	0,878	0,09	0,14	0,0348
	12	Met	18,277	3,002	25,533	2,71	4,01	1,0136
	13	Val	18,588	5,321	44,188	4,8	6,94	1,6272
	14	Phe	19,062	2,775	24,144	2,5	3,79	1,0205
	15	Ile	20,048	3,515	31,376	3,17	4,93	1,0835
	16	Leu	20,392	7,715	64,649	6,95	10,15	2,6262
	17	Lys	22,08	6,467	59,685	5,83	9,37	2,4102
				<b>110,932</b>	<b>636,92</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>40,7662</b>

2	No. 2 Topplag 2	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
	1	Asp	1,563	18,306	159,511	10,58	16,01	5,639
	2	Glu	2,857	21,141	68,316	12,22	6,86	7,2822
	3	Asn	3,735	0,008	0,016	0	0	0,0029
	4	His	4,375	1,561	8,841	0,9	0,89	0,6961
	5	Ser	4,873	11,231	61,744	6,49	6,2	5,0793
	6	Gln	5,487	0	0	0	0	0,0001
	7	Gly/Arg	8,23	49,171	181,217	28,43	18,19	19,33
	8	Thr	8,875	6,707	27,559	3,88	2,77	3,0516
	9	Ala	13,383	19,277	93,257	11,14	9,36	7,0166
	10	Tyr	14,753	0,072	0,57	0,04	0,06	0,0271
	11	Aba	16,558	0,125	1,294	0,07	0,13	0,0444
	12	Met	18,292	4,568	38,657	2,64	3,88	1,5422
	13	Val	18,603	8,329	69,573	4,82	6,98	2,5471
	14	Phe	19,078	4,254	37,225	2,46	3,74	1,5646
	15	Ile	20,065	5,552	49,556	3,21	4,97	1,7115
	16	Leu	20,405	12,114	101,147	7	10,15	4,1235
	17	Lys	22,098	10,555	97,645	6,1	9,8	3,9338
	<b>Total:</b>			<b>172,97</b>	<b>996,128</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>63,592</b>

No. 3 3 Topplag 3		AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp		1,555	18,702	163,391	10,63	16,16	5,7611
2	Glu		2,857	21,207	68,204	12,05	6,74	7,3047
3	Asn		3,693	0,002	0,01	0	0	0,0007
4	His		4,372	1,683	9,37	0,96	0,93	0,7507
5	Ser		4,87	10,958	60,081	6,23	5,94	4,956
6	Gln		5,478	0	0,004	0	0	0
7	Gly/Arg		8,228	50,684	185,148	28,81	18,31	19,9247
8	Thr		8,88	6,79	27,676	3,86	2,74	3,0891
9	Ala		13,383	19,846	97,267	11,28	9,62	7,2239
10	Tyr		14,74	0,008	0,08	0	0,01	0,0031
11	Aba		16,552	0,304	2,371	0,17	0,23	0,1077
12	Met		18,287	4,461	37,634	2,54	3,72	1,5061
13	Val		18,598	8,313	69,211	4,72	6,84	2,5423
14	Phe		19,07	4,402	38,502	2,5	3,81	1,6192
15	Ile		20,058	5,501	48,893	3,13	4,84	1,6959
16	Leu		20,4	12,3	103,934	6,99	10,28	4,187
17	Lys		22,087	10,781	99,442	6,13	9,83	4,0182
<b>Total:</b>				<b>175,943</b>	<b>1011,22</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>64,6904</b>

No. 4 Ultrafiltrert Rått H 1		AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp		1,558	11,889	104,432	9,11	13,87	3,6622
2	Glu		2,86	14,378	46,939	11,02	6,24	4,9526
3	Asn		3,67	0,001	0,011	0	0	0,0004
4	His		4,37	1,432	8,295	1,1	1,1	0,6388
5	Ser		4,87	8,704	48,221	6,67	6,41	3,9364
6	Gln		5,497	0,002	0,006	0	0	0,0008
7	Gly/Arg		8,233	36,194	128,591	27,75	17,08	14,2285
8	Thr		8,883	5,103	20,652	3,91	2,74	2,3215
9	Ala		13,388	15,907	75,65	12,19	10,05	5,7901
10	Tyr		14,753	0,059	0,437	0,05	0,06	0,022
11	Aba		16,557	0,228	1,784	0,17	0,24	0,0807
12	Met		18,292	3,892	32,935	2,98	4,38	1,3142
13	Val		18,605	6,765	56,624	5,19	7,52	2,069
14	Phe		19,075	3,623	31,507	2,78	4,19	1,3328
15	Ile		20,063	4,367	38,931	3,35	5,17	1,3463
16	Leu		20,407	9,994	84,65	7,66	11,25	3,4019
17	Lys		22,092	7,906	73,017	6,06	9,7	2,9464
<b>Total:</b>				<b>130,444</b>	<b>752,685</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 5 Ultrafiltret Rått H 2	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,56	13,779	122,043	9,24	14,06	4,2446
2	Glu	2,858	17,005	55,932	11,4	6,44	5,8574
3	Asn	3,715	0,002	0	0	0	0,0008
4	His	4,367	1,043	5,968	0,7	0,69	0,4652
5	Ser	4,865	9,433	52,685	6,32	6,07	4,2661
6	Gln	5,375	0,001	0,017	0	0	0,0005
7	Gly/Arg	8,233	41,326	147,407	27,71	16,98	16,2461
8	Thr	8,875	5,892	24,004	3,95	2,77	2,6809
9	Ala	13,383	18,024	88,219	12,08	10,16	6,5606
10	Tyr	14,73	0,014	0,113	0,01	0,01	0,0052
11	Aba	16,552	0,28	2,134	0,19	0,25	0,0993
12	Met	18,287	4,266	36,115	2,86	4,16	1,4402
13	Val	18,598	7,892	66,155	5,29	7,62	2,4135
14	Phe	19,073	4,094	35,97	2,74	4,14	1,5057
15	Ile	20,058	5,097	45,481	3,42	5,24	1,5714
16	Leu	20,402	11,706	99,399	7,85	11,45	3,9848
17	Lys	22,092	9,292	86,245	6,23	9,94	3,4633
<b>Total:</b>			<b>149,147</b>	<b>867,885</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 6 Ultrafiltret rått H 3	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,56	14,091	124,152	9,26	13,95	4,3405
2	Glu	2,863	17,304	56,21	11,37	6,31	5,9604
3	Asn	3,755	0,024	0,016	0,02	0	0,0084
4	His	4,378	0,978	5,515	0,64	0,62	0,4364
5	Ser	4,877	9,585	53,786	6,3	6,04	4,3349
6	Gln	5,348	0,001	0,007	0	0	0,0002
7	Gly/Arg	8,247	42,112	152,414	27,66	17,12	16,555
8	Thr	8,888	6,022	24,547	3,96	2,76	2,74
9	Ala	13,393	18,413	91,293	12,1	10,25	6,7023
10	Tyr	14,765	0,024	0,16	0,02	0,02	0,009
11	Aba	16,558	0,267	2,189	0,18	0,25	0,0947
12	Met	18,293	4,326	36,673	2,84	4,12	1,4607
13	Val	18,605	8,194	68,731	5,38	7,72	2,5059
14	Phe	19,078	4,206	36,743	2,76	4,13	1,5471
15	Ile	20,067	5,262	47,274	3,46	5,31	1,6223
16	Leu	20,407	11,896	102,92	7,81	11,56	4,0493
17	Lys	22,095	9,53	87,654	6,26	9,85	3,5517
<b>Total:</b>			<b>152,236</b>	<b>890,285</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 7 Bunnlag 1	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,563	13,476	118,601	11,05	16,51	4,1511
2	Glu	2,865	14,708	48,519	12,06	6,75	5,0664
3	Asn	3,478	0,009	0	0,01	0	0,0033
4	His	4,38	1,166	6,912	0,96	0,96	0,52
5	Ser	4,885	7,631	41,925	6,26	5,84	3,4512
6	Gln	5,443	0,001	0,002	0	0	0,0003
7	Gly/Arg	8,248	31,784	114,734	26,06	15,97	12,4949
8	Thr	8,895	4,883	20,075	4	2,79	2,2218
9	Ala	13,402	13,457	64,412	11,04	8,97	4,8982
10	Tyr	14,763	0,021	0,157	0,02	0,02	0,008
11	Aba	16,562	0,144	1,238	0,12	0,17	0,0509
12	Met	18,295	3,292	27,822	2,7	3,87	1,1116
13	Val	18,607	6,402	53,697	5,25	7,48	1,9578
14	Phe	19,08	3,537	30,793	2,9	4,29	1,3011
15	Ile	20,068	4,466	39,904	3,66	5,56	1,3768
16	Leu	20,41	9,291	78,646	7,62	10,95	3,1628
17	Lys	22,097	7,677	70,898	6,3	9,87	2,8611
<b>Total:</b>			<b>121,946</b>	<b>718,334</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 8 Bunnlag 2	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,565	16,472	144,966	11,19	16,69	5,0742
2	Glu	2,87	17,668	58,35	12	6,72	6,0857
3	Asn	3,448	0	0	0	0	0
4	His	4,383	1,085	6,393	0,74	0,74	0,4841
5	Ser	4,887	9,283	51,299	6,31	5,91	4,1981
6	Gln	5,518	0,016	0,033	0,01	0	0,0058
7	Gly/Arg	8,257	38,526	139,96	26,17	16,12	15,1454
8	Thr	8,898	6,047	24,67	4,11	2,84	2,7511
9	Ala	13,41	16,385	78,893	11,13	9,09	5,9642
10	Tyr	14,755	0,02	0,141	0,01	0,02	0,0074
11	Aba	16,565	0,182	1,468	0,12	0,17	0,0643
12	Met	18,302	3,787	32,006	2,57	3,69	1,2787
13	Val	18,612	7,754	65,229	5,27	7,51	2,3715
14	Phe	19,083	4,199	36,878	2,85	4,25	1,5443
15	Ile	20,07	5,402	48,073	3,67	5,54	1,6653
16	Leu	20,413	11,285	95,94	7,67	11,05	3,8413
17	Lys	22,103	9,08	84,051	6,17	9,68	3,3841
<b>Total:</b>			<b>147,19</b>	<b>868,351</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	



No. 9 Bunnlag 3	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,563	12,164	107,648	11,12	16,72	3,747
2	Glu	2,878	13,268	43,981	12,13	6,83	4,5701
3	Asn	3,715	0,003	0	0	0	0,001
4	His	4,38	1,022	6,18	0,93	0,96	0,4558
5	Ser	4,882	6,803	37,535	6,22	5,83	3,0766
6	Gln	5,495	0,015	0,02	0,01	0	0,0056
7	Gly/Arg	8,257	28,387	102,01	25,94	15,84	11,1595
8	Thr	8,903	4,438	18,13	4,06	2,82	2,0193
9	Ala	13,41	12,153	57,44	11,11	8,92	4,4234
10	Tyr	14,753	0,022	0,157	0,02	0,02	0,0081
11	Aba	16,562	0,137	1,099	0,13	0,17	0,0487
12	Met	18,295	2,922	24,78	2,67	3,85	0,9866
13	Val	18,607	5,761	48,37	5,27	7,51	1,7618
14	Phe	19,08	3,146	27,43	2,88	4,26	1,1572
15	Ile	20,065	4,017	35,795	3,67	5,56	1,2382
16	Leu	20,408	8,32	70,27	7,6	10,91	2,8322
17	Lys	22,093	6,838	63,132	6,25	9,8	2,5485
<b>Total:</b>			<b>109,415</b>	<b>643,977</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 10 Topplag ultrafiltrert ret. 1	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,563	15,964	139,923	10,78	16,43	4,9177
2	Glu	2,868	18,236	59,281	12,32	6,96	6,2814
3	Asn	3,743	0,018	0,017	0,01	0	0,0065
4	His	4,383	1,548	8,967	1,05	1,05	0,6905
5	Ser	4,887	9,171	50,323	6,19	5,91	4,1476
6	Gln	5,478	0,005	0,015	0	0	0,0017
7	Gly/Arg	8,26	42,039	154,457	28,39	18,13	16,5265
8	Thr	8,907	5,654	23,173	3,82	2,72	2,5723
9	Ala	13,413	16,003	76,448	10,81	8,97	5,825
10	Tyr	14,777	1,761	12,816	1,19	1,5	0,6606
11	Aba	16,56	0,134	1,133	0,09	0,13	0,0473
12	Met	18,298	3,701	31,384	2,5	3,68	1,2497
13	Val	18,612	7,029	58,581	4,75	6,88	2,1496
14	Phe	19,083	3,436	30,002	2,32	3,52	1,2637
15	Ile	20,072	4,785	42,708	3,23	5,01	1,4752
16	Leu	20,413	9,719	80,668	6,56	9,47	3,3082
17	Lys	22,102	8,862	81,913	5,99	9,62	3,303
<b>Total:</b>			<b>148,065</b>	<b>851,808</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 11 Topplag ultrafiltrert ret. 2	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1		1,872	1,753	18,742	0,98	1,6	n.a.
2		2,035	5,59	18,653	3,13	1,59	n.a.
3		2,358	5,498	25,136	3,08	2,14	n.a.
4		2,532	2,927	16,197	1,64	1,38	n.a.
5	Glu	2,84	1,005	4,681	0,56	0,4	0,3462
6	His	4,29	21,678	99,265	12,13	8,45	9,6694
7	Gln	5,598	1,446	7,758	0,81	0,66	0,5361
8		6,185	11,141	59,74	6,23	5,08	n.a.
9		7,338	1,77	5,68	0,99	0,48	n.a.
10		9,435	10,707	154,659	5,99	13,16	n.a.
11		9,507	38,523	216,738	21,56	18,45	n.a.
12		10,138	5,795	28,63	3,24	2,44	n.a.
13	Ala	13,433	7,525	27,331	4,21	2,33	2,7391
14		13,93	19,108	106,746	10,69	9,09	n.a.
15	Met	18,342	4,145	35,508	2,32	3,02	1,3994
16	Val	18,645	8,268	69,521	4,63	5,92	2,5286
17	Phe	19,095	4,024	35,12	2,25	2,99	1,4801
18	Ile	20,072	5,601	50,039	3,13	4,26	1,7266
19	Leu	20,41	11,62	96,609	6,5	8,22	3,9554
20	Lys	22,08	10,593	98,133	5,93	8,35	3,9482
<b>Total:</b>			<b>178,717</b>	<b>1174,886</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 12 Topplag Ultrafiltrert ret. 3	AA	Retention Time	Area mV*min	Height mV	Relative Area %	Relative Height %	Amount umol/l
1	Asp	1,618	19,591	192,097	11,05	18,24	6,0348
2	Glu	3,017	22,88	80,568	12,9	7,65	7,8811
3	Asn	3,743	0,006	0,015	0	0	0,0022
4	His	4,4	1,552	8,88	0,88	0,84	0,6922
5	Ser	4,907	11,185	64,23	6,31	6,1	5,0585
6	Gln	5,463	0	0,009	0	0	0,0001
7	Gly/Arg	8,262	50,985	190,527	28,75	18,09	20,0433
8	Thr	8,898	6,933	29,002	3,91	2,75	3,1543
9	Ala	13,392	18,717	93,698	10,55	8,9	6,813
10	Tyr	14,742	0,023	0,17	0,01	0,02	0,0087
11	Aba	16,547	0,163	1,399	0,09	0,13	0,0578
12	Met	18,29	4,227	35,702	2,38	3,39	1,427
13	Val	18,603	8,465	70,714	4,77	6,71	2,5887
14	Phe	19,078	4,104	35,737	2,31	3,39	1,5097
15	Ile	20,065	5,744	51,233	3,24	4,86	1,7706
16	Leu	20,41	11,869	98,454	6,69	9,35	4,0401
17	Lys	22,1	10,904	100,769	6,15	9,57	4,0639
<b>Total:</b>			<b>177,348</b>	<b>1053,205</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

**Forsøk 2**

No. 1	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
Rått Hydrolysat 1		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,555	13,083	114,809	10,34	15,17	4,1553
2	Glu	2,342	15,578	48,516	12,31	6,41	4,9997
3	Asn	3,567	0,063	0,456	0,05	0,06	0,0228
4	His	4,495	0,831	4,957	0,66	0,65	0,387
5	Ser	4,82	8,338	44,59	6,59	5,89	3,3014
6	Gln	5,472	0	0,01	0	0	0,0002
7	Gly/Arg	8,132	36,131	152,432	28,55	20,14	13,5001
8	Thr	8,765	5,209	20,846	4,12	2,75	2,178
9	Ala	13,263	13,612	68,097	10,76	9	5,3902
10	Tyr	14,68	0,097	0,795	0,08	0,1	0,0366
11	Aba	16,568	0,19	1,691	0,15	0,22	0,0655
12	Met	18,237	3,129	26,472	2,47	3,5	1,0438
13	Val	18,53	6,543	54,573	5,17	7,21	2,0174
14	Phe	19,025	3,157	28,527	2,49	3,77	1,1507
15	Ile	19,998	4,288	39,006	3,39	5,15	1,3396
16	Leu	20,35	8,294	76,481	6,55	10,1	2,855
17	Lys	22,052	7,994	74,779	6,32	9,88	2,9555
<b>Total:</b>			<b>126,537</b>	<b>757,037</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 2 Rått Hydrolysat 2	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,558	16,561	144,944	9,86	14,52	5,2601
2	Glu	2,347	20,87	65,787	12,43	6,59	6,6982
3	Asn	3,587	0,242	1,563	0,14	0,16	0,0876
4	His	4,5	1,811	10,669	1,08	1,07	0,8436
5	Ser	4,823	11,476	60,796	6,83	6,09	4,5435
6	Gln	5,472	0,001	0,004	0	0	0,0004
7	Gly/Arg	8,135	47,51	197,62	28,29	19,79	17,7518
8	Thr	8,77	6,867	27,82	4,09	2,79	2,871
9	Ala	13,263	17,035	85,989	10,14	8,61	6,7457
10	Tyr	14,683	1,904	13,289	1,13	1,33	0,7153
11	Aba	16,563	0,321	2,797	0,19	0,28	0,1109
12	Met	18,24	4,12	34,791	2,45	3,48	1,3743
13	Val	18,535	8,461	70,483	5,04	7,06	2,6089
14	Phe	19,027	4,321	37,527	2,57	3,76	1,5753
15	Ile	20,002	5,555	50,793	3,31	5,09	1,7353
16	Leu	20,35	10,539	96,309	6,27	9,65	3,6278
17	Lys	22,055	10,362	97,244	6,17	9,74	3,8312
<b>Total:</b>			<b>167,957</b>	<b>998,426</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 3 Rått Hydrolysat 3	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,552	16,746	147,796	9,82	14,51	5,3188
2	Glu	2,34	20,533	65,677	12,04	6,45	6,5899
3	Asn	3,545	0,008	0,102	0	0,01	0,003
4	His	4,49	1,859	11,024	1,09	1,08	0,8661
5	Ser	4,815	11,818	63,04	6,93	6,19	4,6792
6	Gln	5,412	0,001	0	0	0	0,0005
7	Gly/Arg	8,127	48,504	202,192	28,45	19,85	18,1231
8	Thr	8,763	6,922	28,147	4,06	2,76	2,8941
9	Ala	13,258	17,288	87,193	10,14	8,56	6,846
10	Tyr	14,678	2,459	17,29	1,44	1,7	0,9237
11	Aba	16,553	0,346	2,963	0,2	0,29	0,1194
12	Met	18,233	4,671	39,501	2,74	3,88	1,558
13	Val	18,527	8,45	70,243	4,96	6,9	2,6055
14	Phe	19,018	4,376	37,817	2,57	3,71	1,595
15	Ile	19,997	5,528	50,287	3,24	4,94	1,7269
16	Leu	20,347	10,582	97,736	6,21	9,6	3,6426
17	Lys	22,053	10,411	97,55	6,11	9,58	3,8494
<b>Total:</b>			<b>170,503</b>	<b>1018,558</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 4 Nanofiltrert Blue Ribbon 1	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,565	19,114	166,733	9,82	14,47	6,0709
2	Glu	2,362	23,955	76,998	12,31	6,68	7,6883
3	Asn	3,58	0,007	0,086	0	0,01	0,0027
4	His	4,507	2,089	12,294	1,07	1,07	0,9731
5	Ser	4,828	13,301	70,505	6,84	6,12	5,2664
6	Gln	5,477	0,003	0,005	0	0	0,001
7	Gly/Arg	8,15	56,129	233,381	28,85	20,26	20,9722
8	Thr	8,783	7,868	31,628	4,04	2,75	3,2894
9	Ala	13,277	19,482	97,957	10,01	8,5	7,7147
10	Tyr	14,697	2,48	17,305	1,27	1,5	0,9314
11	Aba	16,573	0,294	2,581	0,15	0,22	0,1014
12	Met	18,247	4,942	41,865	2,54	3,63	1,6486
13	Val	18,54	9,573	79,894	4,92	6,93	2,9518
14	Phe	19,035	4,692	40,678	2,41	3,53	1,7105
15	Ile	20,012	6,427	56,869	3,3	4,94	2,0076
16	Leu	20,358	12,082	109,203	6,21	9,48	4,1588
17	Lys	22,058	12,137	114,206	6,24	9,91	4,4875
<b>Total:</b>			<b>194,574</b>	<b>1152,187</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 5 Nanofiltrert Blue Ribbon 2	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,568	15,237	134,179	9,9	14,7	4,8396
2	Glu	2,365	19,557	64,113	12,71	7,02	6,2768
3	Asn	3,568	0,002	0,029	0	0	0,0008
4	His	4,5	1,665	9,693	1,08	1,06	0,7755
5	Ser	4,827	10,418	55,436	6,77	6,07	4,1249
6	Gln	5,485	0,001	0,016	0	0	0,0005
7	Gly/Arg	8,145	44,412	184,317	28,85	20,19	16,5944
8	Thr	8,777	6,218	25,191	4,04	2,76	2,5996
9	Ala	13,275	15,355	77,216	9,98	8,46	6,0804
10	Tyr	14,697	2,014	14,165	1,31	1,55	0,7563
11	Aba	16,567	0,229	1,983	0,15	0,22	0,0791
12	Met	18,247	3,967	33,435	2,58	3,66	1,3231
13	Val	18,54	7,562	62,873	4,91	6,89	2,3316
14	Phe	19,032	3,693	31,937	2,4	3,5	1,3462
15	Ile	20,008	4,891	44,499	3,18	4,87	1,5279
16	Leu	20,357	9,142	84,127	5,94	9,22	3,1471
17	Lys	22,058	9,556	89,615	6,21	9,82	3,5333
<b>Total:</b>			<b>153,92</b>	<b>912,825</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 6 Nanofiltrert Blue Ribbon 3	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,558	18,026	157,471	9,88	14,63	5,7254
2	Glu	2,353	23,163	72,975	12,69	6,78	7,4341
3	Asn	3,552	0,001	0	0	0	0,0005
4	His	4,498	1,884	11,163	1,03	1,04	0,8776
5	Ser	4,825	12,231	65,515	6,7	6,09	4,8424
6	Gln	5,403	0,001	0	0	0	0,0006
7	Gly/Arg	8,145	52,74	218,334	28,9	20,29	19,7059
8	Thr	8,783	7,229	29,511	3,96	2,74	3,0224
9	Ala	13,282	18,303	91,852	10,03	8,53	7,2478
10	Tyr	14,693	2,364	16,633	1,3	1,55	0,8879
11	Aba	16,567	0,234	2,171	0,13	0,2	0,0808
12	Met	18,242	4,658	39,424	2,55	3,66	1,5539
13	Val	18,538	8,829	73,04	4,84	6,79	2,7222
14	Phe	19,03	4,353	37,77	2,39	3,51	1,5867
15	Ile	20,002	5,929	52,918	3,25	4,92	1,8522
16	Leu	20,352	11,297	102,071	6,19	9,48	3,8888
17	Lys	22,053	11,246	105,433	6,16	9,8	4,1581
<b>Total:</b>			<b>182,488</b>	<b>1076,281</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 7 Topplag II 1	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,558	16,283	143,543	9,72	14,43	5,1717
2	Glu	2,355	20,445	66,431	12,2	6,68	6,5619
3	Asn	3,563	0,001	0,015	0	0	0,0004
4	His	4,507	1,783	10,392	1,06	1,04	0,8307
5	Ser	4,83	11,508	60,952	6,87	6,13	4,5565
6	Gln	5,493	0,004	0	0	0	0,0014
7	Gly/Arg	8,152	48,622	201,114	29,02	20,22	18,1674
8	Thr	8,785	6,689	27,215	3,99	2,74	2,7965
9	Ala	13,282	17,124	86,362	10,22	8,68	6,781
10	Tyr	14,695	2,351	16,529	1,4	1,66	0,8829
11	Aba	16,57	0,293	2,626	0,17	0,26	0,1011
12	Met	18,243	4,51	38,165	2,69	3,84	1,5046
13	Val	18,537	8,137	67,663	4,86	6,8	2,509
14	Phe	19,028	4,117	35,677	2,46	3,59	1,5007
15	Ile	20,005	5,267	47,841	3,14	4,81	1,6454
16	Leu	20,353	10,13	93,532	6,05	9,4	3,4872
17	Lys	22,057	10,305	96,755	6,15	9,73	3,8101
<b>Total:</b>			<b>167,57</b>	<b>994,811</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 8 Topplag II 2	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	
1	Asp	1,555	16,347	142,581	9,72	14,3	5,1921
2	Glu	2,348	21,037	66,396	12,5	6,66	6,7519
3	Asn	3,533	0,001	0,011	0	0	0,0003
4	His	4,502	1,767	10,476	1,05	1,05	0,823
5	Ser	4,828	11,363	60,684	6,75	6,09	4,4989
6	Gln	5,38	0,001	0	0	0	0,0003
7	Gly/Arg	8,155	48,617	203,515	28,9	20,41	18,1653
8	Thr	8,785	6,699	27,184	3,98	2,73	2,801
9	Ala	13,28	17,129	86,767	10,18	8,7	6,783
10	Tyr	14,695	2,246	15,758	1,34	1,58	0,8438
11	Aba	16,563	0,305	2,635	0,18	0,26	0,1051
12	Met	18,242	4,508	37,965	2,68	3,81	1,5036
13	Val	18,537	8,24	68,574	4,9	6,88	2,5407
14	Phe	19,025	4,136	35,728	2,46	3,58	1,5075
15	Ile	20,003	5,373	48,657	3,19	4,88	1,6784
16	Leu	20,353	10,159	93,502	6,04	9,38	3,4969
17	Lys	22,053	10,317	96,504	6,13	9,68	3,8145
<b>Total:</b>			<b>168,243</b>	<b>996,938</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 9 Topplag II 3	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	
1	Asp	1,562	11,613	102,771	10,24	15,23	3,6885
2	Glu	2,363	14,713	47,417	12,97	7,03	4,7221
3	Asn	3,583	0,046	0,362	0,04	0,05	0,0168
4	His	4,508	0,334	1,938	0,29	0,29	0,1556
5	Ser	4,837	7,582	40,9	6,68	6,06	3,0018
6	Gln	5,463	0	0,014	0	0	0,0001
7	Gly/Arg	8,157	32,487	134,94	28,64	20	12,1386
8	Thr	8,79	4,799	19,171	4,23	2,84	2,0065
9	Ala	13,282	12,131	60,727	10,69	9	4,8039
10	Tyr	14,693	0,364	2,806	0,32	0,42	0,1369
11	Aba	16,567	0,205	1,82	0,18	0,27	0,0707
12	Met	18,242	2,7	22,773	2,38	3,37	0,9007
13	Val	18,537	6,066	50,575	5,35	7,49	1,8702
14	Phe	19,03	2,409	22,232	2,12	3,29	0,8781
15	Ile	20,003	3,925	35,769	3,46	5,3	1,2263
16	Leu	20,352	7,226	66,267	6,37	9,82	2,4875
17	Lys	22,053	6,832	64,371	6,02	9,54	2,5259
<b>Total:</b>			<b>113,433</b>	<b>674,853</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 10 Bunnlag II 1	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	
1	Asp	1,562	9,383	82,248	10,22	14,87	2,9801
2	Glu	2,357	11,357	36,135	12,37	6,53	3,645
3	Asn	3,553	0,001	0,024	0	0	0,0005
4	His	4,505	1,075	6,25	1,17	1,13	0,5009
5	Ser	4,833	6,213	32,718	6,77	5,92	2,4597
6	Gln	5,41	0	0	0	0	0,0001
7	Gly/Arg	8,163	23,791	98,062	25,92	17,73	8,8895
8	Thr	8,798	3,772	15,315	4,11	2,77	1,577
9	Ala	13,29	8,95	44,694	9,75	8,08	3,5443
10	Tyr	14,705	1,54	10,817	1,68	1,96	0,5785
11	Aba	16,572	0,195	1,692	0,21	0,31	0,0673
12	Met	18,25	2,613	22,105	2,85	4	0,8717
13	Val	18,545	4,858	40,383	5,29	7,3	1,4979
14	Phe	19,035	2,667	22,977	2,91	4,15	0,9722
15	Ile	20,012	3,419	30,197	3,72	5,46	1,0679
16	Leu	20,36	6,319	56,527	6,88	10,22	2,1753
17	Lys	22,06	5,639	52,888	6,14	9,56	2,085
<b>Total:</b>			<b>91,794</b>	<b>553,032</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	

No. 11 Bunnlag II 2	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
		min	mV*min	mV	%	%	
1	Asp	1,553	12,297	108,501	10,62	15,49	3,9057
2	Glu	2,353	14,703	46,339	12,69	6,61	4,719
3	Asn	3,562	0,046	0,357	0,04	0,05	0,0167
4	His	4,502	0,409	2,446	0,35	0,35	0,1907
5	Ser	4,83	8,422	45,51	7,27	6,5	3,3345
6	Gln	5,478	0,001	0,009	0	0	0,0002
7	Gly/Arg	8,155	30,284	125,068	26,14	17,85	11,3153
8	Thr	8,792	5,007	20,432	4,32	2,92	2,0935
9	Ala	13,285	11,689	59,241	10,09	8,46	4,6287
10	Tyr	14,692	0,132	1,029	0,11	0,15	0,0494
11	Aba	16,563	0,246	2,115	0,21	0,3	0,0849
12	Met	18,24	3,143	26,479	2,71	3,78	1,0485
13	Val	18,533	6,426	53,678	5,55	7,66	1,9813
14	Phe	19,023	3,118	28,506	2,69	4,07	1,1366
15	Ile	19,998	4,545	40,161	3,92	5,73	1,4199
16	Leu	20,348	8,21	73,281	7,09	10,46	2,8262
17	Lys	22,048	7,158	67,396	6,18	9,62	2,6465
<b>Total:</b>			<b>115,836</b>	<b>700,551</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	



No. 12	Peak Name	Retention Time	Area	Height	Relative Area	Relative Height	Amount
Bunnlag II 3		min	mV*min	mV	%	%	umol/l
1	Asp	1,567	15,17	133,903	10,11	14,79	4,8184
2	Glu	2,363	18,086	58,11	12,06	6,42	5,8046
3	Asn	3,585	0,001	0,014	0	0	0,0002
4	His	4,517	1,732	10,026	1,15	1,11	0,8068
5	Ser	4,843	10,321	54,382	6,88	6,01	4,0862
6	Gln	5,523	0	0,004	0	0	0,0001
7	Gly/Arg	8,175	39,387	161,894	26,26	17,89	14,7169
8	Thr	8,803	6,252	25,501	4,17	2,82	2,6137
9	Ala	13,302	14,633	73,772	9,76	8,15	5,7946
10	Tyr	14,712	2,376	16,62	1,58	1,84	0,8923
11	Aba	16,578	0,349	2,986	0,23	0,33	0,1205
12	Met	18,258	4,268	35,993	2,85	3,98	1,4236
13	Val	18,552	7,929	65,777	5,29	7,27	2,4448
14	Phe	19,042	4,339	37,563	2,89	4,15	1,5817
15	Ile	20,02	5,586	49,537	3,72	5,47	1,745
16	Leu	20,367	10,335	92,307	6,89	10,2	3,5577
17	Lys	22,068	9,232	86,678	6,15	9,58	3,4133
<b>Total:</b>			<b>149,995</b>	<b>905,068</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	