

Julianne Winge

Karakterisering av råstoff fra makrell (*Scomber scombrus*).  
Produksjon av proteinhydrolysater for optimal utnyttelse av makrellrestråstoff.

Mai 2019

Julianne Winge

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





Kunnskap for en bedre verden

Karakterisering av råstoff fra makrell  
(*Scomber scombrus*). Produksjon av  
proteinhydrolysater for optimal utnyttelse  
av makrellrestråstoff.

**Julianne Winge**

Master i Mat og teknologi (FTMAMAT)

Innlevert: Mai 2019

Hovedveileder: Jørgen Lerfall

Medveileder: Ana Karina Carvajal

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Institutt for bioteknologi og matvitenskap



## Erkjennelser

Takk til SINTEF Ocean som har latt meg jobbe i deres lokaler og skrive min mastergradsoppgave på prosjektet MarOmega3. Takk til Ana Carvajal, både for å sette av tid og forskningsmidler slik at jeg har hatt en oppgave å jobbe med, og takk for veiledning underveis. En stor takk til Jørgen Lerfall, veileder fra NTNU, for verdifull hjelp og veiledning av oppgave. Også en stor takk til Merethe Selnes og Marte Schei for uvurderlig hjelp og opplæring på laboratoriet, og for at dere har gjort hverdagen lettere, både med faglige diskusjoner og hyggelige samtaler. En takk rettes også til Rasa Slizyte, Inger Beate Standal, Jannicke Fugledal Remme og Revilija Mozuraityte for at dere har bidratt med analysering av prøver og svart på spørsmål. Jeg vil også takke min studievenn Kaja Kristine Haug som har vært min samarbeidspartner under deler av mastergradsoppgaven. Uten deg hadde både mastergradsstudiet og -jobbingen vært mye tøffere å komme seg gjennom. Familie og venner takkes også, for mye støtte underveis og korrekturlesning av oppgave.

## Forord

Mastergradsoppgave skrives som en avsluttende oppgave ved utdanningen master i Mat og teknologi (FTMAMAT) ved Norges tekniske-naturvitenskapelige universitet (NTNU), i Trondheim. Mastergradsarbeidet har foregått fra høsten 2018 til våren 2019, med henholdsvis 15 og 30 studiepoeng. Oppgaven er gjennomført i samarbeid med SINTEF Ocean på prosjektet MarOmega3, hvor forskningsleder Ana Carvajal er prosjektleder. MarOmega3 er et prosjekt som skal jobbe for mer utnyttelse av restråstoff fra makrell, og skal foregå fra 2018 til 2021 i regi av prosjekteier Pelagia AS og EPAX. SINTEF og Nofima er FoU-partnere. Mastergradsoppgaven tar for seg karakterisering av råstoff fra Nordatlantisk makrell (*Scorber scombrus*) landet høsten 2018 og vinteren 2019, samt kjemiske analyser på proteinfraksjoner produsert fra makrellrestråstoff ved ulike betingelser av enzymatisk hydrolyse, hvor utbytte, kvalitet og proteinsammensetning skal vurderes.

Trondheim, 20. mai 2019

A handwritten signature in blue ink that reads "Julianne Winge". The signature is written in a cursive style and is centered on a light blue rectangular background.

---

Julianne Winge

## Sammendrag

Nordatlantisk makrell (*Scomber scombrus*) er en rik kilde til marine lipider og proteiner. I dag eksporteres store deler av makrellen ut av landet i rund form, og verdifullt restråstoffmateriale går tapt. Prosjektet «Pelagisk løft – økt bearbeiding av makrell» skal jobbe for at mer av makrellen videreforedles i Norge. Den økende globale befolkningsveksten og mer etterspørsel etter mat, legger press på industrien til å utnytte alle tilgjengelige ressurser som kan videreforedles til nye høyverdige produkter. Dersom en større andel av makrellen foredles i Norge, vil man få tilgang på restråstoff av høy kvalitet.

Kunnskap om fiskens sammensetning og innhold av fettsyrer, samt variasjoner med hensyn til fangsttidspunkt, er viktig informasjon som bør kartlegges. Dette vil gi en indikasjon på når makrellen er fettest og rikest på flerumettede fettsyrer (PUFA), hvordan råstoffet bør håndteres, samt hvilken industri råstoffet egner seg best i. For å karakterisere Nordatlantisk makrell, og variasjoner med hensyn til fangsttidspunkt, ble vann-, tørrstoff-, aske-, protein- og lipidinnhold bestemt i fraksjonene hode/rygg/hale (HRH), samfengt, innmat og filet, fra oktober- og januarmakrell. I tillegg ble fettsyresammensetning, innhold av lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i triglyserider (TAG) bestemt i fraksjonene HRH, samfengt og innmat.

Resultater viste et numerisk høyere innhold av lipider i oktobermakrell i alle fraksjoner, samt et signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere innhold av aske og tørrstoff, sammenlignet med januarmakrell. Proteininnholdet var mer stabilt mellom oktober- og januarmakrell, hvor det bare ble vist en signifikant forskjell ( $P < 0,05$ ) i proteininnhold for filet- og HRH-fraksjonen, med høyest proteinkonsentrasjon i oktobermakrell. Fangsttidspunkt og variasjoner i lipidinnhold påvirket ikke fettsyresammensetningen, lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i TAG. Selv om fettlagre og TAG blir brukt som næring hos fisk gjennom vinteren, vil ikke nedbrytningen av fett endre fettsyresammensetningen. Uavhengig av fangsttidspunkt ble det vist høye nivåer av PUFA-er, og makrell er utmerket kilde til omega-3 fettsyrer både på høsten og vinteren.

Videre ble enzymatisk hydrolyse med restråstoff fra makrell gjennomført for å produsere tørkede fiskeproteinhydrolysat (FPH) og sedimentprøver. Restråstoff-fraksjonene HRH (fra oktobermakrell), samfengt (fra oktobermakrell) og HRH (fra januarmakrell) ble benyttet. Hensikten var å studere hvordan ulike betingelser (restråstoff benyttet, tilsetning av Alkalase eller ikke og forskjellig hydrolysetid) påvirket utbytte, kvalitet og proteinsammensetning i proteinhydrolysatene.

På FPH-prøvene ble analysene tørrstoff/aske, totalt lipidinnhold, C/N-protein, hydrolysegrad, aminosyresammensetning og molekylvektsfordeling (Mw) gjennomført. I

tillegg ble analysene tørrstoff/aske, totalt fett, C/N-protein, hydrolysegrad og aminosyresammensetning gjennomført på tørkede sedimentprøvene fra 60-minutters uttak.

Resultater viste høy hydrolysegrad allerede ved oppstart, og at utbytte økte med hydrolysetiden. FPH produsert fra samfengt restråstoff ga et signifikant større ( $P < 0,001$ ) FPH-utbytte sammenlignet med FPH produsert fra HRH restråstoff. Resultatene viste også at samfengt restråstoff ikke hadde behov for tilsats av Alkalase, da et like bra FPH-utbytte, kvalitetsegenskaper og proteinsammensetning ble oppnådd i FPH når Alkalase ikke ble tilsatt. Dette tyder på at det er mange aktive enzymer i innmatfraksjonen. Resultater fra FPH produsert fra HRH (oktober og januar) restråstoff viste at tilsetning av Alkalase var nødvendig for å gi en signifikant økning i utbytte, samt bedre kvalitet og proteinsammensetninger i FPH ( $P < 0,05$ ).

Størst proteinkonsentrasjon ble vist i FPH produsert fra HRH (januar) med enzymet Alkalase etter 60 minutter hydrolysetid ( $81,7 \pm 1,8$  g/100 g i tørrvekt). En høyere proteinkonsentrasjon i FPH fremstilt av restråstoff fra januar makrell kan ha en sammenheng med et lavere lipidinnhold i denne fraksjonen. Et høyere lipidinnhold vil føre til en større oljefraksjon, som vil resultere i en proporsjonal reduksjon av hydrolysatfraksjonen. Aminosyresammensetningen i alle FPH viste et velbalansert innhold av alle essensielle aminosyrer (EAA). Protein efficiency ratio (PER) viste god kvalitet (verdi over 2,0) i alle FPH prøver produsert fra samfengt, samt i FPH produsert fra HRH med Alkalase.

Tørket sediment ble også studert. Sammenlignet med FPH-prøver ble det vist en lavere proteinkonsentrasjon, samt et betydelig høyere fettinnhold. Å tilsette oksidanter bør vurderes for å bevare kvaliteten. I tillegg ble det vist høye PER-verdier. Tørket sediment fra makrellrestråstoff hadde ikke like bra kvalitet som FPH, men kan likevel anses som et høyproteinprodukt som kan videreføres til eksempelvis fôrindustrien.

Alt i alt, viste resultater i denne mastergradsoppgaven at Nordatlantisk makrell er fetest på høsten, mens sammensetning av fettsyrer og innhold av lipidklasser holder seg mer stabilt. Hydrolyseforsøkene viste at HRH fraksjonen kan være en like godt egnet restråstoff-fraksjon som samfengt, til produksjon av FPH. Det er viktig å påpeke at de endogene enzymene i HRH restråstoff ikke er nok til å øke utbytte alene, og at et kommersielt enzym, slik som Alkalase, vil være nødvendig å tilsette under hydrolyseprosessen. I tillegg vil FPH produsert fra HRH anses som et renere produkt og være mer attraktivt på markedet, sammenlignet med FPH produsert fra samfengt. Slo og innmat er ikke like attraktivt, samt at det vil være flere aktive enzymer som kan føre til kvalitetsforringelse.



## Abstract

North Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) is a rich source to marine lipids and proteins. Today, most of the mackerel are exported out of the country and valuable residual raw material is lost. The project “*Pelagisk løft – økt bearbeidning av makrell*” is working towards processing a larger portion of the mackerel in Norway. The increasing global population growth and more demand for food, puts pressure on the industry to exploit all available resources that can be processed into new, high-quality products. If a larger proportion of the mackerel is processed in Norway, one will have access to high quality residual raw materials.

Knowledge of the fish composition and content of fatty acids, as well as variations regarding to catch time, should be surveyed. This information will give an indication of when the mackerel is at its fattest and richest in polyunsaturated fatty acids (PUFA), how the raw material should be handled, and which industry the raw material is best suited for. To characterize the North Atlantic mackerel, and the variations in the raw material at different catch time, water, dry matter, ash, protein and lipid content were determined in the fractions head/back/tail (HRH), HRH+viscera, viscera and fillet. In addition, fatty acid composition, content of lipid classes and positioning of fatty acids in triglycerides (TAG) were determined in all the fractions except from the fillet.

A numerically higher lipid content was shown in October mackerel in all fractions, as well as a significant higher ( $P < 0.05$ ) ash and dry matter content. The protein content remained more stable. Catch time and variations in lipid content did not remarkably affect the fatty acid composition, lipid classes and positioning of fatty acids in TAG. Although fat stores and TAGs are used as nutrients in fish throughout the winter, the degradation of fat will not alter the fatty acid composition. Regardless of the catch time, high levels of PUFAs were shown, and mackerel was shown to be an excellent source of omega-3 fatty acids both in autumn and winter.

Furthermore, enzymatic hydrolysis with residual materials from mackerel were performed to produce dried fish protein hydrolysate (FPH) and sediment samples. The residual material fractions were HRH (from October mackerel), HRH+viscera (from October mackerel) and HRH (from January mackerel). The purpose was to study how different conditions (residual raw material used, addition of Alcalase or not, and different hydrolysis time) affected yield, quality and protein composition in the protein hydrolysates.

On the FPH, the analyzes of dry matter/ash, total fat, C/N protein, degree of hydrolysis, amino acid composition and molecular weight distribution (Mw) were performed. In addition, the analyzes of dry matter/ash, total fat, C/N protein, degree of hydrolysis and amino acid composition were carried out in the dried sediment samples from 60-minute withdrawals.

Results showed a high degree of hydrolysis already at the start and that yield increased with the hydrolysis time. FPH produced from HRH+viscera residuals had a significantly larger ( $P < 0.001$ ) FPH yield compared to FPH produced from HRH residuals. The results also showed that HRH+viscera residuals did not need the addition of Alcalase, as an equally good FPH yield, quality properties and protein composition were achieved in FPH when Alcalase was not added. This suggests that there are many active enzymes in the viscera fraction. Results from FPH produced from HRH (October and January) residuals showed that the addition of Alcalase was necessary to provide a significant increase in yield, as well as better quality and protein compositions in FPH ( $P < 0.05$ ).

Highest protein concentration was shown in FPH produced from HRH (Jan) with the enzyme Alcalase after 60 minutes of hydrolysis ( $81.7 \pm 1.8$  g / 100 g in dry weight). A higher protein concentration in FPH made from residual material from January may be related to a lower lipid content in this fraction. A higher lipid content will result in a larger oil fraction, which will result in a proportional reduction of the hydrolysate fraction. The amino acid composition of all FPH samples showed a well-balanced content of all essential amino acids (EAA). The PER values showed good quality (value over 2.0) in all FPH samples produced from HRH+viscera, as well as in FPH produced from HRH with Alcalase.

Dried sediment was also studied. Compared with FPH samples, a lower protein concentration and a significantly higher fat content were shown. Adding oxidants to the samples should be considered to maintain quality. In addition, high PER values were shown in all dried sediments. Dried sediment from mackerel raw material did not have as good quality as FPH but can nevertheless be regarded as a high protein product that can be processed to for example in feeding industry.

Overall, the results showed that the North Atlantic mackerel is at its fattest in the autumn, while the composition of fatty acids and lipid content remains more stable. The hydrolysis experiments showed that the HRH fraction can be an equally suitable residual raw material fraction as HRH+viscera, for the production of FPH. It is important to point out that the endogenous enzymes in HRH residues are not enough to increase yield alone, and that a commercial enzyme, such as Alcalase, will be required to add during the hydrolysis process. In addition, FPH produced from HRH will be considered a cleaner product and be more attractive on the market, compared to FPH produced from HRH+viscera. Viscera is not so attractive and there will be more active enzymes that can lead to quality deterioration.

## Forkortelser

HRH	–	Hode/rygg/hale, hode- og beinfraksjoner
FPH	–	Fiskeproteinhydrolysat
TAG	–	Triglyserider
PL	–	Fosfolipider
DAG	–	Diglyserider
MAG	–	Monoglyserider
MUFA	–	Enumettede fettsyrer
PUFA	–	Flerumettede fettsyrer
FFA	–	Frie fettsyrer
EAA	–	Essensielle aminosyrer
Da	–	Dalton
Mw	–	Molekylvektfordeling
SD	–	Standardavvik
HPLC	–	High performance liquid chromatography
PER	–	Protein efficiency ratio

## Innholdsfortegnelse

<b>ERKJENNELSER</b> .....	<b>I</b>
<b>FORORD</b> .....	<b>II</b>
<b>SAMMENDRAG</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>FORKORTELSER</b> .....	<b>VII</b>
<b>1. INTRODUKSJON</b> .....	<b>1</b>
1.1 BAKGRUNN FOR MASTERGRADSOPPGAVE.....	1
1.2 OMFANG MED AVGRENSNINGER.....	1
1.2.1 Forsknings spørsmål.....	3
1.3 NORDATLANTISK MAKRELL ( <i>SCOMBER SCOMBRUS</i> ).....	3
1.3.1 Den kjemiske sammensetningen i Nordatlantisk makrell.....	5
1.4 MARINT RESTRÅSTOFF.....	5
1.5 HYDROLYSE.....	6
1.5.1 Enzymatisk hydrolyse.....	6
1.6 MARINE LIPIDER.....	9
1.6.1 Fettsyrer.....	11
1.6.2 Fettsyresammensetning og posisjonering av fettsyrer.....	12
1.7 MARINE PROTEINER.....	13
1.7.1 Fiskeproteinhydrolysat - FPH.....	13
1.7.2 Aminosyrer.....	13
1.7.3 Molekylvekt av proteiner og proteinderivater.....	14
1.8 FORRINGELSE OG DENATURERING AV MARINT RÅSTOFF.....	15
1.9 ANALYSEMETODER.....	16
1.9.1 Bestemmelse av hydrolysegrad ved formoltitering.....	16
1.9.2 NMR analyser av lipider.....	16
1.9.3 Bestemmelse av totalt proteininnhold på C/N-analysator.....	16
1.9.4 Aminosyreanalyse.....	17
1.9.5 Molekylvektfordeling.....	18
<b>2. MATERIALE OG METODE</b> .....	<b>19</b>
2.1 DET EKSPERIMENTELLE DESIGN.....	19
2.2 FANGSTDATA.....	21
2.3 FORBEREDELSE AV RÅSTOFFMATERIALE.....	22
2.3.1 Tining, filetering og kverning.....	22
2.4 ENZYMATISK HYDROLYSE.....	24
2.4.1 Separasjon av fraksjoner og massebalanse.....	26
2.5 ANALYSEMETODER.....	28
2.5.1 Bestemmelse av tørrstoff- og askeinnhold.....	28
2.5.2 Bestemmelse av hydrolysegrad ved formolitrering.....	28
2.5.3 Totalt lipidinnhold.....	29
2.5.4 Bestemmelse av fettsyresammensetning.....	30
2.5.5 NMR analyser.....	31
2.5.6 Bestemmelse av proteininnhold på C/N-analysator.....	32
2.5.7 Aminosyreanalyse på HPLC.....	32
2.5.8 Molekylvektfordeling.....	34
2.6 STATISTISKE ANALYSER.....	34
<b>3. RESULTAT OG DISKUSJON</b> .....	<b>35</b>
3.1 KARAKTERISERING AV NORDATLANTISK MAKRELL ( <i>SCOMBER SCOMBRUS</i> ).....	35
3.1.1 Fordeling av råstoff-fraksjoner.....	35
3.1.2 Den kjemiske sammensetningen av råstoff-fraksjoner.....	36
3.1.3 Fettsyresammensetning i restråstoff.....	38
3.1.4 NMR-analyser – Lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i triglyserider.....	40
3.2 PRODUKSJON AV FPH FRA MAKRELLRESTRÅSTOFF VED ENZYMATISK HYDROLYSE.....	43

3.2.1 Utbytte av hydrolysat og massebalanse.....	43
3.2.2 Hydrolysegrad i FPH.....	47
3.2.3 Den kjemiske sammensetningen i FPH.....	49
3.2.4 Molekylvektfordeling (Mw) i FPH.....	59
3.2.5 Den kjemiske sammensetningen i tørket sediment.....	65
<b>4. KONKLUSJON .....</b>	<b>70</b>
<b>5. FREMTIDIG ARBEID .....</b>	<b>71</b>
<b>REFERANSER.....</b>	<b>72</b>
<b>VEDLEGG .....</b>	<b>I</b>
<b>VEDLEGG A: VEKTDATA FRA FILETERING AV MAKRELL MED DIFFERANSER FOR HVER FRAKSJON I FORHOLD TIL TOTALVEKT .....</b>	<b>II</b>
<b>VEDLEGG B: TØRRSTOFF- OG ASKEINNHOLD I RÅSTOFF-FRAKSJONER .....</b>	<b>VI</b>
<b>VEDLEGG C: TOTALT LIPIDINNHOLD I RÅSTOFF-FRAKSJONER .....</b>	<b>IX</b>
<b>VEDLEGG D: PROTEININNHOLD I RÅSTOFF-FRAKSJONER.....</b>	<b>XI</b>
<b>VEDLEGG E: FETTSYRESAMMENSETNING I RESTRÅSTOFF-FRAKSJONER.....</b>	<b>XIII</b>
<b>VEDLEGG F: LIPIDKLASSER OG POSISJONERING AV FETTSYRER I TRIGLYSERIDER.....</b>	<b>XX</b>
<b>VEDLEGG G: HYDROLYSEFORSØK – UTBYTTE DATA .....</b>	<b>XXII</b>
<b>VEDLEGG H: TØRRSTOFF- OG ASKEINNHOLD I HYDROLYSEFRAKSJONER (SEDIMENT, EMULSJON OG HYDROLYSAT) .....</b>	<b>XXVI</b>
<b>VEDLEGG I: TØRRSTOFF- OG ASKEINNHOLD I FRYSETØRKEDE FPH OG SEDIMENTPRØVER.....</b>	<b>XLII</b>
<b>VEDLEGG J: TOTALT LIPIDINNHOLD I FPH OG SEDIMENTPRØVER.....</b>	<b>XLVIII</b>
<b>VEDLEGG K PROTEININNHOLD I FPH OG TØRKET SEDIMENT .....</b>	<b>LIII</b>
<b>VEDLEGG L. AMINOSYRESAMMENSETNING I FPH OG SEDIMENT .....</b>	<b>LX</b>
<b>VEDLEGG M. HYDROLYSEGRAD I FPH.....</b>	<b>LXIX</b>
<b>VEDLEGG N. MOLEKYLVEKTSFORDELING.....</b>	<b>LXXIV</b>

# 1. Introduksjon

## 1.1 Bakgrunn for mastergradsoppgave

Mastergradsoppgaven er utført i samarbeid med forskningsinstituttet SINTEF Ocean på prosjektet MarOmega3 som forsker på ulike muligheter man har for utnyttelse av restråstoff fra Nordatlantisk makrell (*Scomber scombrus*). Bakgrunnen for prosjektet baserer seg på handlingsplanen «Pelagisk løft – økt bearbeiding av makrell», hvor det skal satses på bærekraftige og lønnsomme norskproduserte makrellfileter (FHF, 2018). Ved økning av foredlingsgraden av makrell i Norge, gis tilgang på restråstoff av høy kvalitet som kan videreforedles til nye produkter.

Årlig landes det 300 000 tonn makrell i Norge og bortimot alt blir i solgt som hel fisk og eksportert ut av landet. Bare 2-4% av makrellen fileteres og videreforedles i Norge (Remme, 2018), noe som innebærer tap av verdifullt råstoff. Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond og andre aktuelle parter i næringen jobber for at foredlingsgraden av makrell i Norge skal økes (FHF, 2017). I prosjektet «Pelagisk løft – økt bearbeiding av makrell» satses det på utvikling av ny teknologi for bearbeiding av makrell, samt utvikling og optimalisering av metoder for produksjon av nye omega-3 produkter og hydrolysater. Dette skal føre til økt verdiskapning for makrellråstoff og merverdi i den pelagiske sektoren. Målet er å filetere og videreforedle minst 25% av makrell i Norge innen 2020 (FHF, 2018).

Som en konsekvens av at Norge i lang tid har eksportert makrell ut av landet er det begrenset med forskning og kunnskap om makrellens råstoff sammensetning. Denne mangelen på kunnskap hindrer norsk industri i å utvikle makrellsektoren (Skåra, Sone, & Skuland, 2018). Forståelse for hvordan råstoffet skal håndteres og kunnskap om råstoffets sammensetning ved ulikt fangsttidspunkt er viktig informasjon i arbeidet med å øke utnyttelsen av restråstoffet. Det er derfor nødvendig for mer forskning på Nordatlantisk makrell.

## 1.2 Omfang med avgrensninger

Mastergradsarbeidet ble delt inn i to hovedstudier. Studie 1 innebar karakterisering av Nordatlantisk makrell og studie 2 tok for seg enzymatisk hydrolyse til produksjon av proteinhydrolysater fra makrellrestråstoff.

I første studie ble Nordatlantisk makrell (*Scomber Scombrus*) karakterisert ved to ulike tidspunkt i fangstsesongen; makrell landet oktober 2018 og makrell landet januar 2019. Hensikten var å øke kunnskapen om makrellens kjemiske sammensetning og om sammensetningen endret seg gjennom fangstsesongen. Da ble følgende råstoff-fraksjoner karakterisert: Hode/rygg/hale (HRH), samfengt (hel makrell ÷filet, + buklist), innmat (+

buklist) og filet (+buklist). I alle fraksjoner ble vann-, tørrstoff-, aske- protein- og lipidinnhold bestemt. I tillegg ble fettsyresammensetning, innhold av lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i triglyserider (TAG) undersøkt i fraksjonene HRH, samfengt og innmat.

For å vurdere variasjoner i råstoff-fraksjoner mellom fangsttidspunkt ble statistiske tester utført på resultater fra protein-, vann-, tørrstoff- og askeinnhold. Ved analysing på totalt lipidinnhold og fettsyresammensetning ble bare to paralleller analysert, og dermed for lite grunnlag til å vurdere signifikante forskjeller. Lipidklasseanalysing og posisjonering av fettsyrer i TAG ble utført som en screeningmetode, det vil si én parallell ble analysert. Resultater vil gi en indikasjon om sammensetningen i råstoff-fraksjonene varierer ved ulikt tidspunkt i fangstsesongen.

For å øke utnyttelsen av makrellrestråstoff ble det i andre studiet gjennomført seks ulike enzymatiske hydrolyseforsøk med mål om produksjon av tørkede prøver av fiskeproteinhydrolysat (FPH) og sediment. Hensikten med hydrolyseforsøkene var å undersøke hvordan ulike hydrolysebetingelser og forskjellige restråstoff-fraksjoner påvirket utbytte, kvalitet og proteinsammensetning i FPH, og hvordan kvalitet og proteinsammensetningen var i tørket sediment sammenlignet med FPH.

Restråstoff-fraksjonene som ble benyttet til produksjon av FPH og tørket sediment var samfengt fra oktobermakrell, HRH fra oktobermakrell og HRH fra januarmakrell. I tillegg ble to ulike enzymatiske hydrolyseforsøk gjennomført på hver restråstoff-fraksjon; naturlig hydrolyse med restråstoffets egne enzymer (endogene) og hydrolyse med tilsetning av det kommersielle enzymet Alkalase. Uttak av hydrolyseprøver skjedde ved oppstart, 0 minutter, og etter 30 og 60 minutter. Alle de seks ulike hydrolyseforsøkene ble gjennomført to ganger (to reaktorer) for å skaffe to paralleller av samme data.

For å undersøke hvordan ulike restråstoff-fraksjoner, enzymbruk og hydrolysetid påvirket utbytte, kvalitet og proteinsammensetning i FPH, ble massebalanse, hydrolysegrad, tørrstoff/aske, totalt lipidinnhold, aminosyreanalyse, C/N-protein og molekylvektfordeling analysert. Det ble lagt mest fokus på FPH, men tørkede sedimentprøver fra 60-minutters uttak ble også studert og evaluert opp mot FPH. På tørkede sedimentprøver ble analysene tørrstoff/aske, totalt lipidinnhold, aminosyreanalyse og C/N-protein utført. Statistiske tester ble gjennomført på resultater hvor det var nok datagrunnlag til dette ( $n > 2$ ).

Det ble valgt å ikke utføre hydrolyseforsøk på samfengt fra januar, grunnet begrenset med tid. Det ble valgt å gå videre med restråstoffet HRH av den grunn at man tror det vil være lettere å lage et hydrolysat av høy kvalitet når man separerer vekk innmaten. HRH er også en mindre benyttet restråstoff-fraksjon i hydrolyse og vil dermed gir en større forskningshøyde i denne mastergradsoppgaven

Noe av laboratoriearbeidet har foregått med medstudent Kaja Kristine Haug, som også har utført mastergradsoppgave på det samme prosjektet, men med fokus på oljeutvinning. Arbeid som er utført felles er filetering av makrell, karakterisering av restråstoff-fraksjoner, enzymatisk hydrolyse, og massebalanse.

På grunn av problemer med analysering på instrument ble resultater fra proteinanalyser (studie 1) mottatt sent i arbeidet med oppgaven. Det samme gjaldt resultater fra molekylvektfordeling (studie 2) hvor det var utfordringer med databehandlingen med varierende prøveresultater som var vanskelig å analysere. Diskusjon av disse parameterne er dermed begrenset.

### 1.2.1 Forsknings spørsmål

Basert på de to hovedstudiene presentert i 1.2 *Omfang med avgrensinger*, deles mastergradsoppgaven inn i fire problemstillinger. Den første problemstillingen er knyttet opp mot studie 1, mens problemstillinger 2, 3 og 4 er knyttet opp mot studie 2.

1. Hvordan vil den kjemiske sammensetningen i restråstoff fra Nordatlantisk makrell (*Scomber scombrus*) påvirkes av når makrellen er fisket (høst 2018 og vinter 2019)?
2. Hvordan vil ulike hydrolysebetingelser påvirke utbytte, kvalitet og proteinsammensetninger i FPH?
3. Hvilken restråstoff-fraksjon av makrell vil gi størst utbytte, kvalitet og proteinsammensetning i FPH?
4. Hvordan vil kvalitet og proteinsammensetningen i tørket sediment være sammenlignet med FPH?

### 1.3 Nordatlantisk makrell (*Scomber Scombrus*)

Nordatlantisk makrell (*Scomber Scombrus*) er en pelagisk og fet fisk som har sitt utbredelsesområde langs norskekysten i Norskehavet, samt fra Nord-Afrika i Middelhavet og helt til nord i Barentshavet (NIFES, 2014; Nøttestad, 2019). Makrellen er en aktiv svømmer og beveger seg i stim over store avstander. Når makrell skal gyte svømmer den til Nordsjøen og Skagerrak, deretter videre til Norskehavet etter gyting. Dette gjelder også makrell fra sørligere områder. Derfor forvaltes makrellen som én bestand, Nordatlantisk makrell, da makrell fra sørligere trakter blander seg med makrell i Norskehavet (Nøttestad, 2019).

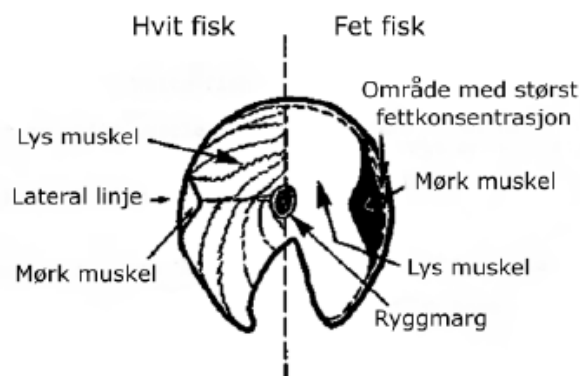




Figur 1.1 Bildet viser en Nordatlantisk makrell landet i januar 2019. Makrellen er levert av Pelagia til SINTEF Ocean. (Foto: privat).

Makrell er blant en av de feteste fiskeartene, men fettinnholdet vil kunne variere gjennom sesong. På vårparten har makrellen et lavt fettinnhold på omtrent 3%, mens på høsten kan fettinnholdet øke til 30% (NIFES, 2014). Etter gyting i juni blir makrellen en såkalt «høst makrell» og vil da konsumere mer mat. Makrell som er landet etter gyting, eksempelvis i oktober, vil være i slutten av vekstsesong og dermed rund og feit. I vinterhalvåret lever fisken nær havbunnen på sør-vest kysten av Norge. I denne perioden konsumerer makrellen betydelig mindre (Norwegian Seafood Council, 2018). I figur 1.1 er Nordatlantisk makrell landet i januar vist.

Muskel hos fisk kan enten være lys eller mørk (se figur 1.2). Typisk for pelagiske arter er at de deponerer fett i mørk muskulatur og bruker dette som energikilde ved kontinuerlig svømming. Mørk muskulatur har en aerob forbrenning med en god blodforsyning og blir brukt til kontinuerlig svømming. Den lyse muskulaturen har en anaerob forbrenning og benyttes til flukt og angrep. Makrellen er en svømmer og vil trenge kontinuerlig tilførsel av energi, samt et bufferlager når det er lite mat tilgjengelig. Derfor har makrellen en større andel mørk muskulatur (Murray & Burt, 1983). Figur 1.2 viser hvordan hvit og fet fisk deponerer fett sitt.



Figur 1.2 Illustrasjon av et tverrsnitt av fiskemuskel og fordelingen av lys og mørk muskulatur hos hvit fisk og fet fisk. Pelagiske arter deponerer fett i mørk muskulatur og bruker dette som energi ved kontinuerlig svømming (Murray & Burt, 1983).

### 1.3.1 Den kjemiske sammensetningen i Nordatlantisk makrell

Den kjemiske sammensetning til makrell vil variere gjennom fangstsesongen. Variasjoner skyldes naturlige sesongvariasjoner, vekstsesonger, reproduktive sykluser, mattilgang, biosyntese og andre miljøfaktorer (Bandarra, Batista, Nunes, & Empis, 2001; Romotowska, Gudjónsdóttir, Karlsdóttir, Kristinsson, & Arason, 2017). Den kjemiske sammensetningen i makrellfilet (*Scomber scombrus*) kan variere fra 60-74% vann, 1,0-23,5% fett og 16-20% protein (Murray & Burt, 1983).

Innhold av fett (lipider), fettsyrer og vann vil være det som varierer mest. For makrell landet i Norge vil lipidinnholdet være høyest i høstmånedene september og oktober, og lavest i januar og februar (Standal, Mozuraityte, et al., 2018). Det varierende fettinnholdet vil kunne resultere i endringer i fettsyrekomposisjon og kvalitet (Romotowska, Karlsdóttir, Gudjónsdóttir, Kristinsson, & Arason, 2016). Bandarra et al. (2001) fant signifikant lavere lipidinnhold hos makrell (horse makrell) på vinterhalvåret. Proteininnholdet derimot, holdt seg mer stabilt. Hardy & Keay (1972) fant også variasjoner i fettinnhold og et mer stabilt proteininnhold ved ulike årstider hos Atlantisk makrell. På grunn av store variasjoner og raske endringer i fettinnhold, er makrellråstoffet ekstra følsom ovenfor behandlings- og transportbetingelser, noe som kan føre til økt forringelse av kvalitet slik som muskelgaping (Keay, 2001).

### 1.4 Marint restråstoff

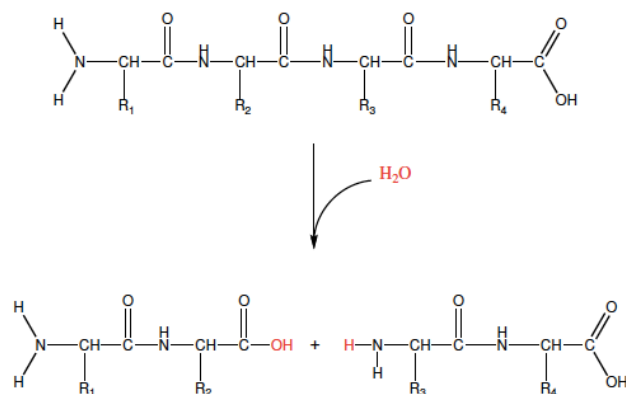
For å kunne definere hva restråstoff er, må hovedproduktet være avklart. Hovedproduktet er hovedkomponenten av det marine produktet man ønsker, eksempelvis fileten. Hvis fileten er hovedproduktet vil restråstoff være de fraksjonene man sitter igjen med etter filetering. Det er vanlig å omtale følgende som restråstoff; hodet på fisken, skinn, innvoller, bein, hud og avskjær, samt ødelagt fisk og fisk som ikke kan benyttes til human konsum (Rustad, 2003; Rustad, Storrø, & Slizyte, 2011). Marint restråstoff kan defineres som «*Det som ikke er det primære hovedprodukt ved anvendelse av et råstoff*» (Richardsen, Nystøyl, Strandheim, & Marthinussen, 2017).

Det er forventet at den globale etterspørselen etter protein vil dobles innen 2050. Befolkningsveksten fører til et økende behov for maksimal utnyttelse av alle tilgjengelige ressurser for å kunne mette jordas befolkning (Aspevik et al., 2017). Å utnytte alle tilgjengelige restråstoffressurser på en bærekraftig måte vil føre til miljømessig vinning, samt være med på å oppnå FNs bærekraftsmål 2 «Utrydde sult» (FN-Sambandet, 2019). Interessen for marint restråstoff øker og blir i dag sett på som en viktig ressurs med et stort potensial. Mer utnyttelse av restråstoff vil gi tilgang på verdifulle lipider og marine proteiner (Rustad et al., 2011).

Ofte omdannes restråstoffet til produkter med lav markedsverdi. Dette kan være ingredienser til fôrproduksjon, gjødsel eller fiskemel (Rustad et al., 2011). På grunn av den økende vitenskapelige forståelsen av egenskapene til fiskeolje og fiskeproteiner, og velutviklede prosesssteknologier, kan enda mer av det øvrige restråstoffmaterialet benyttes til produksjon av verdifulle produkter. Hydrolyse er en prosess teknologi som benyttes til bearbeiding av restråstoff og produksjon av verdiskapende produkter. Dette kan være oljeprodukter, proteinprodukter, aminosyrer, enzymer, bioaktive peptider, kollagen og gelatin (Ramakrishnan, Ghaly, Brooks, & Budge, 2013). Hvert år brukes flere tusen tonn restråstoff til produksjon av fiskeproteinhydrolysat (FPH) i Norge (Kristinsson & Rasco, 2000a). FPH er et høyproteinprodukt, med både ernæringsmessige-, funksjonelle- og bioaktive egenskaper og dermed ettertraktet i mange markeder (R. Slizyte, Grimsmo, & Storrø, 2010). Å omdanne proteinholdig restråstoff til FPH vil gi merverdi til produktet (Aspmo, Horn, & Eijnsink, 2005).

## 1.5 Hydrolyse

Hydrolyse er en kjemisk reaksjon hvor molekyler spaltes ved hjelp av vannmolekyler. Ved hydrolyse av et lipid vil et vannmolekyl spalte esterbindingene mellom triglyseridmolekylet, mens ved hydrolyse av et protein vil peptidbindingene i proteinet spaltes (Speight, 2017). Eksempel på proteinspalting vises i figur 1.3.



Figur 1.3 Hydrolyse av et protein til peptider (Skjellegrind, 2013). Et vannmolekyl spalter et protein ved å hydrolysere en peptidbinding.

### 1.5.1 Enzymatisk hydrolyse

Ved enzymatisk hydrolyse vil enzymer spalte proteiner til peptider med varierende størrelse, samt frie aminosyrer. Når proteiner brytes ned og peptidbindingene mellom aminosyrene spaltes, vil man få peptider med en mindre molekylær størrelse (Panyam & Kilara, 1996). Enzymatisk hydrolyse er en favorisert metode for utvinning av olje og produksjon av FPH

ettersom det gir produkter av høy funksjonalitet og næringsverdi (Rustad, 2003). Metoden er lite tidkrevende og tilsats av enzymer vil gjøre prosessen mer kontrollert- og repeterbar (Bhaskar, Benila, Radha, & Lalitha, 2008). Hydrolyse gjør det også mulig å produsere FPH med et lavt innhold av fett. Dette er ønskelig da det reduserer lipidoksidasjon og øker lagringsstabiliteten i hydrolysatet (Kristinsson & Rasco, 2000a).

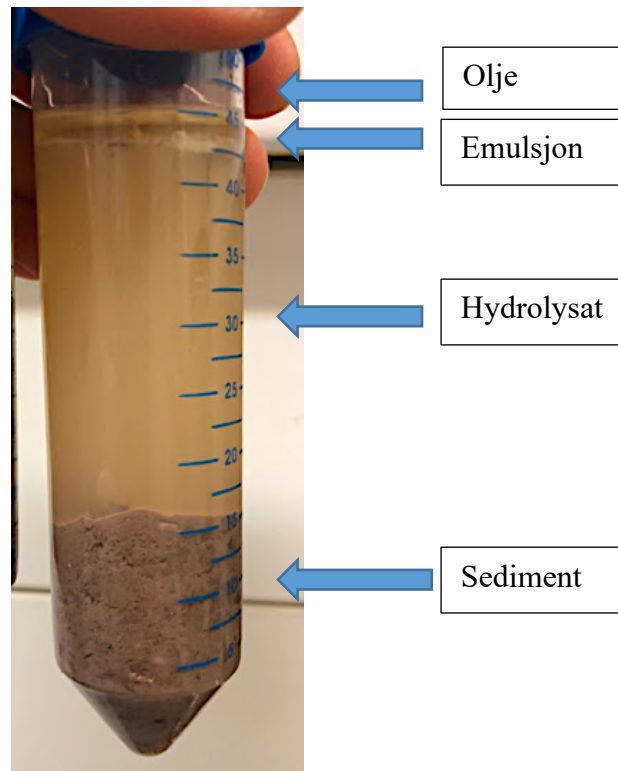
For å oppnå høykvalitets proteinhydrolysater, er valg av enzymer svært viktig. Forskjellige enzymer har forskjellig spesifisitet og gir produkter med ulike egenskaper (Hou, Li, & Zhao, 2011; Kristinsson & Rasco, 2000b). Enzymatisk hydrolyse av marint restråstoff kan enten skje ved å nyttiggjøre seg av kun de endogene enzymer (proteaser) som naturlig er tilstede i restråstoffet, eller ved bruk av kommersielle enzymer som tilsettes under hydrolyseforsøket med hensikt om å katalysere hydrolyseprosessen (Meldstad, 2015). Proteaser er proteolytiske enzymer som spalter proteiner i mindre peptider. Pepsin er en protease og finnes blant annet i innmaten hos fisk (Gildberg, 1993). Proteolytiske enzymer kan deles inn i to grupper i henhold til deres virkemåte: endopeptidaser, som hydrolyserer peptidbindinger i midten av polypeptidkjeder eller eksopeptidaser, som fjerner terminale aminosyrerester fra polypeptidkjeder (Palmer, 1995).

Foretrukne kommersielle enzymer under enzymatisk hydrolyse er protease av bakteriell opprinnelse, slik som Alkalase, Neutrase og Protease N (Aspmo et al., 2005). Hvis FPH skal ha matvarekvalitet, må de kommersielle enzymene være fra en ikke-patogen organisme hvis enzymet er av mikrobiell opprinnelse. Alkalase, som er et mikrobielt enzym fremstilt gjennom fermentering fra stammen *Bacillus licheniformis*, er et favorisert enzym ved fiskehydrolyse på grunn av dets høyre grad av hydrolyse som nås under kort tid og moderate betingelser (Bhaskar et al., 2008). I tillegg produserer Alkalase FPH med lite bitterhet sammenlignet med flere andre enzymer (Aspmo et al., 2005; Hoyle & Merritt, 1994; Kristinsson & Rasco, 2000a). Flere forskere mener Alkalase er et av de beste enzymene ved fremstilling av FPH (Benjakul & Morrissey, 1997; Hoyle & Merritt, 1994). Shahidi, Han og Synowiecki (1995) studerte egenskapene i FPH produsert av Alkalase og sammenlignet med hydrolysater produsert av andre enzymer. FPH produsert av Alkalase hadde bedre funksjonelle egenskaper, en aminosyresammensetning som var sammenlignbar med fiskemuskel, et høyt proteininnhold med godt nitrogenutbytte, samt høy ernæringsverdi. Bruk av kommersielle enzymer ved hydrolyse er kostbart. Så hvis det skal utvikles et lønnsomt sluttprodukt, vil det være nødvendig å redusere bruken av enzymer. Likevel er det godt dokumentert at Alkalase kan være en bra kandidat til fremstilling av FPH basert på enzymkostnad per aktivitet (Kristinsson & Rasco, 2000a).

Substrat- og enzymkonsentrasjoner, grad av proteindenaturering, pH, ionestyrke, temperatur og fravær eller tilstedeværelse av hemmende stoffer vil også kunne påvirke hydrolysen (Kilara, 1985; Panyam & Kilara, 1996). Mengde proteiner brutt ned vil øke med tid og temperatur. En hydrolysetemperatur på 55 °C har vist seg å være den optimale temperaturen ved bruk av enzymet Alkalase (Ovissipour et al., 2009).

Kvaliteten og sammensetningen på restråstoffet som benyttes til hydrolyse vil ha betydning for fremstilling av FPH. Restråstoff bestående av beinfraksjoner og lave konsentrasjoner av endogene enzymer, er stabile. Mens restråstoff med et høyt innhold av endogene enzymer, slik som innmat, er lett degraderbare. Høye konsentrasjoner av endogene enzymer kan gi mindre kontroll over hydrolyseprosessen (Opheim, 2015). I midlertidig vil de endogene enzymene ha høy enzymatisk aktivitet og initiere nedbrytningen av proteiner (Haard, 1998), som er en ønsket effekt. Restråstoff med mye enzymer, eksempelvis samfengt, har blitt rapportert som gode kilder til proteiner, fett, enzymer, gode substrater for melkesyrefermentering og en kilde til protease-produserende bakterier (Bhaskar, Sudeepa, Rashmi, & Tamil, 2007; Gao, Hirata, Toorisaka, & Hano, 2006; Gildberg, 2001).

Etter fullført hydrolyse med påfølgende sentrifugering av hydrolyseprøven vil man oppnå fraksjonene olje, hydrolysat, sediment og eventuelt emulsjon (se figur 1.4). Oljefraksjonen legger seg øverst i røret og inneholder for det meste upolare hydrofobe lipider. Under olje vil eventuelt emulsjon dannes. Dette er en blanding av hydrofobe forbindelser, og dannelsen av emulsjon øker ved omrøring og hydrolysetid. Under olje- og emulsjonsfraksjonen vil FPH befinne seg. Dette er en proteinrik og vandig fraksjon bestående av polare hydrofile proteiner og andre vannløselige forbindelser. Nederst i sentrifugerøret vil sedimentet legge seg. Denne fasen består av beinrester som ikke er løst opp, uløselige proteiner og slam (Al-Janabi, 2016). Ved utførelse av hydrolyse er det ønskelig å få størst mulig utbytte av fraksjonen olje og hydrolysat, og minst mulig av fraksjonene emulsjon og sediment (R. Slizyte et al., 2010).



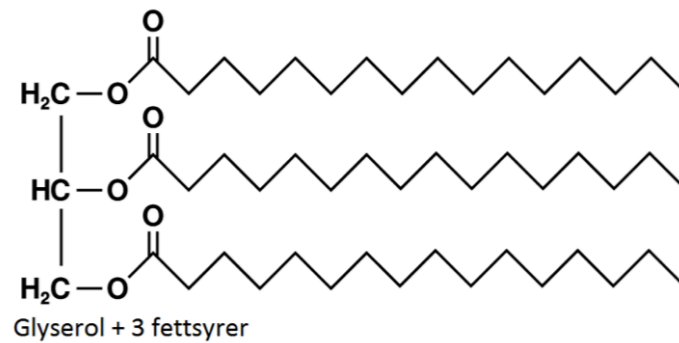
Figur 1.4 Illustrasjon av de ulike fraksjonene som oppnås etter enzymatisk hydrolyse av fiskerestråstoff; olje, emulsjon, hydrolysat og sediment.

## 1.6 Marine lipider

Lipider er en stor og mangfoldig gruppe organiske forbindelser og omfatter både olje, fettsyrer og fettlignende stoffer. Lipider består hovedsakelig av hydrogen og karbonatomer og deles inn i fosfolipider, mono-, di- og triglyserider, steroler og voks (Hauge, 2018). Typisk for lipider er at de er uløselig i vann og løselig i organiske løsningsmidler, slik som kloroform (Hauge, 2018). Lipidenes funksjoner er mange, eksempelvis fungerer de som energilager, strukturkomponenter, hormoner og emulgatorer (Svihus & Bernatek, 2018). Hvis lipider er flytende ved romtemperatur vil de betegnes som olje. Den flytende egenskapen skyldes høyt innhold av umettede fettsyrer. Hvis lipidene er i fast form ved romtemperatur vil de ha et høyere innhold av mettede fettsyrer (Aarnes, 2011).

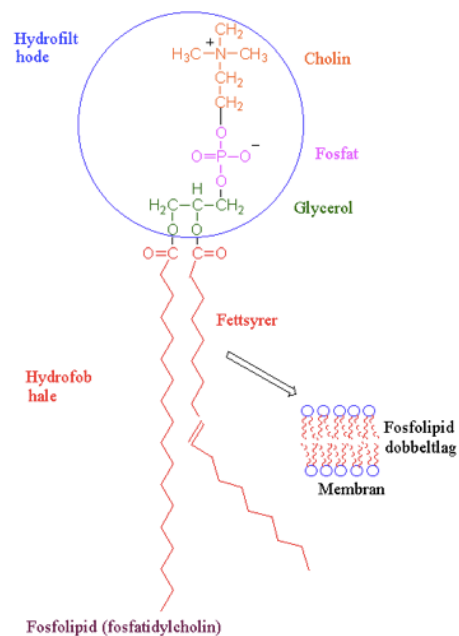
Hovedsakelig klassifiseres lipider inn i to grupper; nøytrale/upolare lipider og polare lipider. De nøytrale lipidene inkluderer lipidklassene triglyserider (TAG), voks og sterioder, og fungerer som energilager. TAG er den største gruppen nøytrale lipider og er bygget opp av tre fettsyrer bundet til en glyserol (se figur 1.5). Både magre og fete arter deponerer fett i en form av TAG i fettvev og muskelvev (Phleger, Nelson, Mooney, & Nichols, 2002). Hos pelagiske arter benyttes TAG-lipidene som et energireserver i mørkt muskelvev til kontinuerlig svømming (Huss, 1995). I likhet med triglyserider er diglyserid (DAG) og monoglyserid

(MAG) bygd opp av en glyserol med esterbindinger, men med henholdsvis to og en fettsyre. DAG og MAG er altså nedbrytningsprodukter av TAG (Eriksen, 2012)



Figur 1.5 Strukturen til et triglyserid. Tre fettsyrer er bundet til glyserol med esterbinding (Dahl, 2015).

De polare lipider inkluderer fosfolipidene (PL) glyserofosfolipider og glykoglyserider, og sfingolipider, og er viktige strukturkomponenter (Eriksen, 2012). PL er bygd opp av to fettsyrer og en fosforsyre, med et hydrofilt hode og en hydrofob hale (se figur 1.6), og fungerer som byggesteiner i celledmembraner (Hui et al., 2012).

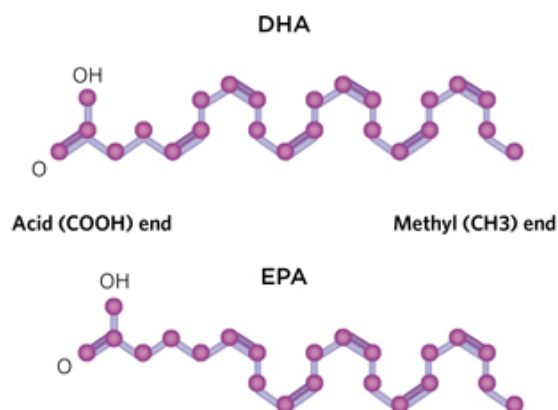


Figur 1.6 Fosfolipid med et hydrofilt hode og en hydrofob hale (UiO, 2018).

### 1.6.1 Fettsyrer

Et lipid består av én eller flere fettsyrer. Alle fettsyrer er bygd opp av en kjede karbonatomer, med en karboksylsyregruppe i den ene enden og en metylgruppe i den andre enden (Lande, 2018). Fettsyrene varierer i karbonkjedelengde, antall bindinger av karbon-karbon strukturen, samt plassering i molekylet. Karbonkjeden kan inneholde alt fra 2 til 22 karbonatomer, og basert på den organiske strukturen til karbonkjeden kan fettsyrer klassifiseres i tre forskjellige grupper (Aursand et al., 2011):

1. Mettede fettsyrer. Har bare enkeltbindinger mellom karbonatomene.
2. Enumettede fettsyrer (MUFA). Har en dobbeltbinding mellom karbonatomene.
3. Flerumettede fettsyrer (PUFA). Har to eller flere dobbeltbindinger mellom karbonatomene. Figur 1.7 viser PUFA'ene DHA og EPA.



Figur 1.7 Omega-3 fettsyrene DHA og EPA. I struktur ses dobbeltbindinger som er karakteristisk for PUFA (Anderson & Taylor, 2012)

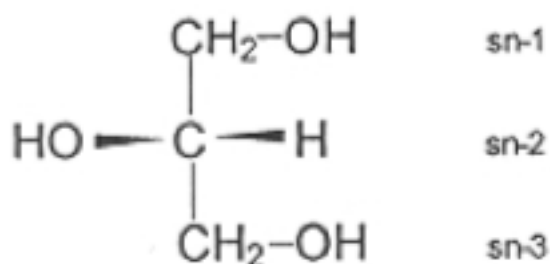
Når første dobbeltbindingen i en PUFA befinner seg tre karbonatomer fra metylenden av karbonkjeden, klassifiseres fettsyren som en omega-3 fettsyre (n-3). Makrell, som er en fet fisk, er en rik kilde til omega-3 fettsyrer (Romotowska, Gudjónsdóttir, et al., 2016), eksempelvis eikosapentansyre (EPA, 20:5 n-3), dokosapentaensyre (DPA, 22:5 n-3) og dokosahexaensyre (DHA, 22:6 n-3) (Luzia, Sampaio, Castellucci, & Torres, 2003). Disse beregnes som betinget essensielle fettsyrer; de er viktige i et humant kosthold, men ikke livsnødvendige (Health, 2018). Marine lipider og omega-3 er viktige kilder til energi og fører med seg flere helsegevinster ved humant konsum. Det vil kunne gi en redusert risiko for hjertesykdommer og kreft (Bäck & Hansson, 2019; Luzia et al., 2003), samt ha en positiv effekt på psykisk helse (Perica & Delas, 2011).



### 1.6.2 Fettsyresammensetning og posisjonering av fettsyrer

Sammensetning av nøytrale og polare lipidklasser i marine arter vil være påvirket av fangstområder, årstider og mattilgang (McGill & Moffat 1992). I en studie utført av Tanakol, Yazici, Sener og Sencer (1999), hvor fettsyresammensetningen hos makrell ble undersøkt, var palmitinsyre, oleinsyre, EPA og DHA de mest omfattende individuelle fettsyrene som ble funnet. Av PUFA-er utgjorde EPA og DHA størsteparten av omega-3 fettsyrene.

For å øke forståelsen og bruksområdene av marine fiskeoljer i eksempelvis mat og farmasøytiske applikasjoner, er det viktig å kartlegge sammensetningen og posisjonering av fettsyrer i TAG (Zhang, Shen, Zhang, Li, & Wang, 2018). I marine oljer finnes omega-3 hovedsakelig i form av TAG. I TAG kan fordelingen og posisjoneringen av fettsyrer forklares med sn-systemet (stereospesifikk nummerering) (Fennema, 1996). Fettsyrene er posisjonert til tre forskjellige stereospesifikke posisjoner på glyserol-ryggraden, og posisjoneringen av fettsyrene nummereres etter deres stereospesifisitet som enten sn-1, sn-2 eller sn-3 (Karupaiah & Sundram, 2007). Se figur 1.8. Ulike kombinasjoner av fettsyrene gir forskjellige utgaver av TAG-molekylene. Sammensetningene og posisjonsfordelingen er av interesse, da dette vil påvirke hvordan menneskekroppen fordøyer og tar opp fettsyrene (Schuchardt & Hahn, 2013), samt deres oksidative stabilitet (Zhang et al., 2018). Omega-3 plasserer seg hovedsakelig i posisjon 2 i TAG. Det er kjent at fettsyrer plassert i sn-1 og sn-2 vil lettere hydrolyseres og tas opp i tarmen (Rogalska, Ransac, & Verger, 1990), mens fettsyrer i posisjon 2 vil absorberes bundet til glyserolmolekylet (Karupaiah & Sundram, 2007).



Figur 1.8 Illustrasjon av et TAG molekyl med sn-nummerering (Fennema, 1996).

Posisjonering av fettsyrer i fiskeoljer gir også verdifull informasjon til autentiseringsformål (Standal, Axelson, & Aursand, 2009). En total profil med fordeling av fettsyrer kan også benyttes til å karakterisere fiskearter. Posisjonering av fettsyrer i TAG i makrell vil skille seg fra andre arter. Hos sild vil man eksempelvis kunne se over 90% av DHA i sn2-posisjon (Standal et al., 2009).

## 1.7 Marine proteiner

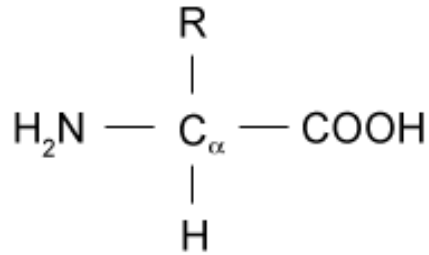
Marine arter er en utmerket kilde til proteiner. Ved riktig håndtering og behandling, blir restråstoff fra marine arter sett på som et trygt høyproteinprodukt, med flere ernæringsmessige fordeler (Ramakrishnan et al., 2013). Protein- og aminosyresammensetningen i fiskeproteiner er sammenlignbar med andre animalske proteinkilder slik som egg, melk og biff (Hui et al., 2012). Inntak av proteiner er viktig i et humant kosthold ettersom proteiner fungerer som kroppens byggeklosser. Konsum av marine proteiner kan gi økt beintetthet, tilførsel av essensielle aminosyrer og bioaktive peptider (Jensen & Mæhre, 2016), samt virke blodtrykksenkende og immunstimulerende (Wang-Andersen & Haugsgjerd, 2011).

### 1.7.1 Fiskeproteinhydrolysat - FPH

FPH er et nedbrytningsprodukt av fiskeproteiner bestående av mindre peptider og aminosyrer (Chalamaiah, Dinesh kumar, Hemalatha, & Jyothirmayi, 2012; Ghaly, Ramakrishnan, Brooks, & Dave, 2013). FPH er en høykvalitets proteinkilde som kan benyttes i flere industrier. Det kan benyttes som en ingrediens i fôrindustrien, til fermentering eller i farmasøytiske produkter (Aspmo et al., 2005; Wang-Andersen & Haugsgjerd, 2011). Når FPH fremstilles under kontrollerte enzymatiske prosesser kan det ha potensiale i næringsmiddelindustrien (Wang-Andersen & Haugsgjerd, 2011). Det vil blant annet være en lovende ingrediens i funksjonell mat på grunn av innhold av bioaktive peptider (Rasmussen & Morrissey, 2007). Bioaktive peptider fra marine kilder kan opprettholde god helse og redusere risikoen for kroniske sykdommer (Nurdiani, Vasiljevic, Singh, & Donkor, 2017). Kvaliteten og egenskapene til FPH vil variere ut i fra hvilke enzymer som er tilstede under hydrolyseprosessen, samt hvilken temperatur som benyttes og hvor lenge hydrolyseprosessen har foregått (See, Hoo, & Babji, 2011).

### 1.7.2 Aminosyrer

Aminosyrer er organiske syrer og de viktigste bestanddelene i et protein. De fungerer som byggesteiner i proteinet, hvor det finnes rundt 20 forskjellige aminosyrer. En aminosyre består av en aminogruppe karboksylsyregruppe, hydrogen og en variabel/funksjonell gruppe (Osuri, 2013). De klassifiseres etter struktur og hvordan R-gruppen er sammensatt (Kierulf, 2018; UiO, 2019). Den generelle strukturen til en aminosyre er vist i figur 1.9.



Figur 1.9 Generell struktur av en aminosyre (Osuri, 2013). Aminogruppen til venstre, syregruppen til høyre, hydrogen nederst i midten, variable øverst i midten og karbonatomet i midten.

Aminosyresammensetningen i fiskeprotein inkluderer 16-18 ulike aminosyrer og sammensetning vil variere mellom art og sesong (Ghaly et al., 2013). Det finnes 8 essensielle aminosyrer (EAA) og 8 ikke-EAA i fiskeproteiner. Aminosyresammensetningen i FPH vil variere ut i fra hvilke enzymer som har hydrolysert proteinet, ettersom enzymer har ulik spesifisitet og bindingssteder ved spalting av peptidbinger. Dette vil resultere i forskjellige aminosyrer (Pasupuleti & Braun, 2010).

Mennesker er avhengige av å få tilført EAA gjennom kosten da kroppen ikke klarer å syntetisere disse selv (Engelking, 2015). Aminosyrer er blant annet ansvarlig for syntese av de fleste kroppsvev, enzymer, hormoner og andre metabolske molekyler (Oluwaniyi, Dosumu, & Awolola, 2010). I tillegg er de viktig i helbredelsesprosesser i menneskekroppen (Osibona, Kusemiju, & Akande, 2009). I Nordatlantisk makrell finnes følgende EAA; tryptofan, treonin, isoleucin, leucin, lysin, metionin, valin, histidin og fenylalanin. Og ikke-essensielle aminosyrer; hydroxylisin, serin, glutaminsyre, prolin, glysin, alanin, tryosin og arginin (Haaland, Arnese, & Njaa, 1990).

### 1.7.3 Molekylvekt av proteiner og proteinderivater

Kartlegging av molekylvekt er viktig med tanke på handel og lovverk, og når bruksområde til FPH skal vurderes (Wang-Andersen & Haugsgjerd, 2011). Molekylvekten i proteiner varierer fra 10 000 - 600 000 Dalton (Da). Når proteiner hydrolyseres vil det dannes peptider og aminosyrer med en lavere molekylvekt. Aminosyrer vil eksempelvis ha en molekylvekt rundt 135 Da (UiO, 2011). Hydrolysater fra marine kilder kan ha egenskapen antioksidantaktivitet. Wu, Chen & Shiau (2003) utført antioksidantmålinger i makrell (*scomber austriasicus*) hydrolysater hvor de fant merkbare antioksidantaktiviteter. Det ble også vist korrelasjon mellom mengden av peptider og antioksidantaktivitet. Andre studier har vist at peptider fra marine kilder har antioksidantaktivitet under 1000 Da (Ahn, Je, & Cho, 2012; Dong et al., 2010).

## 1.8 Foringelse og denaturering av marint råstoff

Biologisk materiale er utsatt for mikrobiell nedbrytning. Forebyggende tiltak slik som fryselagring og håndtering under optimale forhold, er nødvendig for at kvaliteten skal bevares. Holdbarheten til makrell under fryselagring vil variere avhengig av den kjemisk sammensetning, slik som innholdet av PUFA-er, samt ved hvilke temperaturer makrellen er lagret etter fangst (Romotowska et al., 2017; Romotowska, Karlsdóttir, et al., 2016). Makrell er en fet art bestående av høye nivåer av fettsyrer, og vil dermed være utsatt for lipidoksidasjoner. Eksempelvis vil PL forårsake flere kvalitetsproblemer som skyldes lipidoksidasjon enn det nøytrale lipider gjør. Dette skyldes at PL har høyere nivåer av umettede fettsyrer, samt at de har et større overflateareal sammenlignet med nøytrale lipider (Hultin & Kelleher, 2000). Et større overflateareal gjør PL mer utsatt for prooksidanter og antioksidanter, slik som hem-proteiner, radikaler, jern og kobber. Prooksidanter kan føre til høye nivåer av lipidoksidasjonsprodukter, spesielt når muskulaturen kvernes og komponentene blandes inn med lipider og oksygen (Hultin, 1994). Lipidoksidasjon resulterer i dannelsen av komponenter som vil gi en rått og harsk lukt, samt en negativ påvirkning på muskelens struktur og farge. Oksidasjon under frossen lagring er en av de viktigste årsakene til kvalitetstap i fet fisk (Romotowska et al., 2017).

Det er også en sammenheng mellom lipidoksidasjon og proteinoksidasjon. Lipidoksidasjonskomponenter kan indusere proteindenaturering, som igjen vil føre til teksturforandringer (King & Li, 1999). Marine arter er mer utsatt for proteinoksidasjon sammenlignet med landdyr på grunn av sitt høye innhold av PUFA-er. Makrell som er en fet fisk med et høyt innhold av fettsyrer, vil være spesielt utsatt for oksidative reaksjoner. Fete fiskearter inneholder også høye nivåer av haemproteiner, som på samme måte vil fungerer som oksidasjonsinitiator (Berna & Soyer, 2018). Proteinoksidasjon kan resultere i strukturelle og biokjemiske endringer, samt tap av verdifulle aminosyrer. Det kan også gi dannelsen av tverrbindinger som vil føre til endring i de funksjonelle egenskapene (Lund, Heinonen, Baron, & Estevez, 2011).

Degradering av proteiner i fisk er temperaturavhengig. Det er viktig med lave oppbevaringstemperaturer for at biologisk materiale ikke skal brytes ned. Når råstoff lagres ved høyere temperaturer, kan dette medføre til en økende proteolytisk aktivitet. Enzymer, slik som kaptasin B og kaptasin L, aktiveres og kutter ender på proteinene i råstoffet. Dette fører til mer oppspaltning av proteiner og høyere andel av aminosyrer. Høyere temperatur ved lagring og tining kan også føre til mer fullstendig nedbrytning av fettceller, som i sin tur kan friggi MAG og DAG, samt frie fettsyrer (FFA), som virker emulgerende, og resultere i økte lipidnivåer (Hui et al., 2012).

## 1.9 Analysemetoder

### 1.9.1 Bestemmelse av hydrolysegrad ved formoltitering

Hydrolysegrad defineres som andelen av spaltede peptidbindinger i et hydrolysat. Omfanget av proteolyse ved hydrolyse er kvantifisert ved hydrolysegrad og måler % frie aminogruupper og prosentandelen peptidbindinger. Ved proteinspaltning vil frie aminosyrer og peptider få en fri aminogruppe. Denne vil kunne reagere med formaldehyd, og videre analyseres mot totalt antall aminogruupper i proteinet (Solberg & Høgøy, 1994). Ved formoltitering tilsettes formaldehyd til proteinhydrolysatløsningen, noe som fører til at formaldehyd skyver likevekten mellom aminosyrer med protoniserte og ikke-protoniserte aminoender mot  $\text{NH}_2$ . Formaldehyd reagerer med  $\text{NH}_2$ -gruppene og aminogrupeene i sidekjeden til lysin og arginin. Det resulterer i dannelse av methyloderivater og frigjøring av  $\text{H}^+$ -ioner. Ved titrering vil mengde NaOH brukt til å titrere til pH 8,5 være proporsjonalt med antall aminogruupper. Intakte proteiner har en hydrolysegrad-verdi på 0%, mens et protein som er fullstendig hydrolysert til frie aminosyrer har en verdi på 100% (Panyam & Kilara, 1996).

### 1.9.2 NMR analyser av lipider

NMR (kjernemagnetisk resonans) spektroskopi er et verktøy som benyttes for å studere sammensetning og kvalitet i fettprøver. NMR er en multikomponent teknikk og krever kun en enkel prøvepreparering: olje som er tilsatt løsningsmiddel blir overført til et NMR-rør før analysering. Eksempler på NMR teknikker er  $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR og  $^{31}\text{P}$  NMR, og de detekterer henholdsvis isotopene  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  og  $^{31}\text{P}$ .

$^{13}\text{C}$  NMR gir informasjon om tilstedeværelse av lipidklassene TAG, DAG, MAG, FFA, PL, etylestere, voks-estere og kolesterol, samt posisjonering av fettsyrer, og fettsyresammensetning av enkelte fettsyrer (inkludert DHA, EPA, n-3, n-6 osv).  $^{31}\text{P}$  NMR gir informasjon om PL-klasser og  $^1\text{H}$  gir informasjon om tilstedeværelse av omega-3 og DHA/EPA innhold, samt informasjon om lipidklasser (Lankhorst & Chang, 2017).

### 1.9.3 Bestemmelse av totalt proteininnhold på C/N-analysator

Hensikt med metode er å analysere innhold av karbon og nitrogen i prøve slik at mengde protein kan kvantifiseres. Resultat vil presenteres som proteininnhold eller proteinkonsentrasjon, og vil inkludere alt av nitrogen i prøve (aminosyrer, peptider og proteiner). Analysering utføres på Nitrogen/Carbon analysatoren Elemental Combustion System 4010 (ECS 4010) hvor operasjonsbetingelser for Nitrogen/Carbon analyse benyttes. ECS 4010 består av tre moduler; et forbrenningssystem, et deteksjonssystem og et datahåndteringssystem. I forbrenningssystemet vil prøvene reagere med oksygen, antennes og

gi gassforbrenningsproduktene  $N_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2O$  og  $SO_2$ . Gassene vil strømme gjennom en gasskromatografisk separasjonskolonne (GC) som holdes ved en konstant temperatur, og hvor gassene bæres av helium. Nitrogenoksider reduseres til elementært nitrogen, og  $O_2$  til  $CuO$ . Når gassene passerer gjennom GC-kolonnen, separeres gassene og detekteres sekvensielt av en termisk ledningsdetektor (TCD). TCD produserer et elektrisk signal som er proporsjonalt med konsentrasjon av nitrogen og karbon i prøven. EAS-programvaren sammenligner elementtoppene til et kjent standardmateriale (etter kalibrering) og genererer en rapport for hvert element på vektbasis (Technologies, 2005).

For beregning av protein fra total %nitrogen kan flere forholdstall benyttes. Omgjøringsfaktoren 6,25 er den mest benyttede faktoren til å bestemme proteininnhold fra %nitrogen. Faktoren er basert på gjennomsnittsinholdet av nitrogen i proteiner. Likevel er det noe diskusjon rundt hvilket tall som egner seg best. Restråstoff fra fisk kan inneholde nitrogen fra andre kilder enn bare aminosyrer og proteiner. Flere forskere har eksempelvis vist at en omgjøringsfaktor på 5,82 også kan være en anvendelig faktor for bestemmelse av protein i restråstoff fra fisk (Gnaiger & Bitterlich, 1984; Sosulski & Imafidon, 1990), mens andre mener faktoren 5,71 er den mest korrekte (Diniz, Barbarino, Oiano-Neto, Pacheco, & Lourenco, 2013).

#### 1.9.4 Aminosyreanalyse

Ved analyse av aminosyresammensetning benyttes syrehydrolyse, som er en klassisk metode med merkptoethanol. Analysen er viktig for deteksjon av aminosyrer, i tillegg til at data fra analysen kan brukes til proteinidentifikasjon. Til analysering benyttes hydrolysater opparbeidet gjennom hydrolyse. Proteiner og peptider må være fullstendig hydrolysert, slik at aminosyrer kan finnes i hydrolysatet. Selve hydrolysen er et viktig prosesstrinn og må utføres nøyaktig, for å kunne gi et pålitelig aminosyreanalyseresultat (Weiss, Manneberg, Juranville, Lahm, & Fountoulakis, 1998). Merkptoethanol som benyttes som løsemiddel under prøveopparbeiding reduserer proteindisulfidbindinger i prøvene og beskytter sulfhydrylgrupper fra oksidasjon (Sigma-Aldrich, 2019).

Aminosyrer analyseres på HPLC (High Performance Liquid Chromatography), eller oversatt til norsk; væskechromatografi. Dette er en form for kolonnechromatografi som pumper prøveblandinger ved høyt trykk gjennom en kolonne med kromatografisk pakkemateriale. Et HPLC-system består av løsemiddelreservoaret, en høytrykkspumpe, en kolonne, et innsprøytningssystem og en detektor (Linde, 2019).

### 1.9.5 Molekylvektfordeling

Molekylvektfordeling ( $M_w$ ) beskriver sammenhengen mellom antall mol av hver polymer og molarmassen. Polymerer består av repeterende enheter (monomer) bundet i lange kjeder. Kjedelengden uttrykkes ofte i forhold til molekylvekten til polymerkjeden, relatert til den relative molekylmassen av monomene og antallet monomere forbundet i kjeden (Rudin, 1989).

Enzymatisk hydrolyse vil redusere molekylvekten av peptidene og øke antall ioniserbare grupper. De nye peptidene er mindre og mer vannløselige enn de intakte proteinene (Panyam & Kilara, 1996). Et proteinhydrolysat kan både inneholde lavmolekylvekts peptider og høymolekylvekts peptider, samt hydrolyserte proteiner. Spesifisitet av enzym, samt hydrolysebetingelser og omfanget av hydrolyse vil være med på å generere et variert spekter av peptider av ulik størrelse. Enzymer kan også ha forskjellige temperaturoptimum, og dermed hydrolysere forskjellige peptidbinger (Panyam & Kilara, 1996), og gi opphav til ulike peptidstørrelser.





I studie 1 ble analysene i tabell 2.1 utført. Analysene ble gjort på kvernet restråstoff. Målet var å øke kunnskapen og forståelsen for makrellens sammensetning, og om det var variasjon gjennom sesong. Det ble gjennomført statistiske analyser på resultatene mellom oktober- og januarmakrell for å kunne si noe om variasjoner i den kjemiske sammensetningen ved ulikt fangsttidspunkt. Kartleggingen av den kjemiske sammensetningen er viktig informasjon i arbeidet med å øke utnyttelsesgraden av makrellen. Makrell er en fettrik art med mange essensielle fettsyrer, men som også er utsatt for lipidoksidasjon. Hvis sammensetningen kartlegges, kan råstoffet behandles under optimale forhold, og samt at man kan videreforedle restråstoffet i den industrien det har størst potensiale i.

### Tabell 2.1

Tabell viser analyser som er gjennomført ved karakterisering av restråstoff fra Nordatlantisk makrell. Karakterisering ble utført på fraksjonene HRH (hode/rygg/hale), samfengt, innmat og filet, både på makrell landet i oktober 2018 og makrell landet i januar 2019.

Råstoff-fraksjon:	HRH, samfengt og innmat:	Filet:
<b>Analyser:</b>	- Totalt lipidinnhold	- Totalt lipidinnhold
	- Tørrstoff/aske	- Tørrstoff/aske
	- C/N-protein	- C/N-protein
	- Fettsyresammensetning	
	- Lipidklasser <sup>1</sup>	
	- Posisjonering i triglyserider <sup>1</sup>	

<sup>1</sup> Lipidklasser med posisjonering ble utført som en screeningmetode.

I studie 2 ble proteinhydrolysater (FPH og sediment) produsert ved enzymatisk hydrolyse. Det ble gjennomført seks forskjellige hydrolyseforsøk, og hvert hydrolyseforsøk ble utført to ganger med hensikt om to paralleller. Av makrellen ble det benyttet tre ulike restråstoff-fraksjoner. Disse var HRH og samfengt fra oktobermakrell, og HRH fra januarmakrell. På hver fraksjon ble det utført et hydrolyseforsøk uten tilsetning av enzymer (endogent, autolyse) og et med tilsetning av enzymet Alkalase. Under hydrolyseprosessen ble det tatt ut prøver etter 0, 30 og 60 minutter hydrolysetid. I tabell 2.4 er forsøksbetingelsene vist. Av FPH og sedimentfraksjonen ble det laget frysetørkede prøver som ble brukt til videre analysering. Av sedimentprøver ble bare 60-minutters prøver studert. I tabell 2.2 er analysene som er gjennomført på FPH og tørket sediment vist.

## Tabell 2.2

Tabell viser hvilke analyser som er gjennomført på FPH og tørket sediment (60-prøver) for å studere hvordan ulike betingelser av hydrolyse (enzym, tid og restråstoff-fraksjon) påvirker utbytte, proteinsammensetning og kvalitet.

Prøvemateriale:	Tørket FPH	Tørket sediment <sup>1</sup>
<b>Analyser:</b>	- Massebalanse	- Massebalanse
	- Hydrolysegrad	- Tørrstoff/aske
	- Tørrstoff/aske	- C/N-protein
	- C/N-protein	- Totalt lipidinnhold
	- Totalt lipidinnhold	- Aminosyreanalyse
	- Aminosyreanalyse	
	- Molekylvektfordeling	

<sup>1</sup>For tørket sediment er bare 60-minutters prøver analysert.

Ettersom valg av enzym og hydrolysegrad (tid) er avgjørende for proteinhydrolysaters funksjonelle egenskaper (Panyam & Kilara, 1996) er det ønskelig å finne de optimale betingelsene, samt restråstoff-fraksjonene, som er best egnet til produksjon av FPH fra makrellrestråstoff. Forskjellige virkninger av ulikt enzymbruk ble evaluert og diskutert med tanke på FPH-utbytte, proteinsammensetningen og kvalitet. I tillegg ble restråstoff-fraksjonene vurdert med tanke på om ulik restråstoff-fraksjon hadde innvirkninger på utbyttet og proteinsammensetningen. Hydrolysetid ble også evaluert, hvor det var mest fokus på forskjellen mellom hydrolysetid 0 minutter og 60 minutter, og om hydrolysetid på 60 minutter var tilstrekkelig nok. Det ble lagt mest fokus på FPH, men tørkede sedimentprøver ble også studert og evaluert med tanke på hvordan ulikt enzymbruk og restråstoff-fraksjon påvirket kvalitet og proteinsammensetning, samt hvordan sedimentprøvene var i forhold til FPH. Statistiske analyser ble gjennomført mellom de ulike hydrolysebetingelsene der det var nok datagrunnlag.

## 2.2 Fangstdata

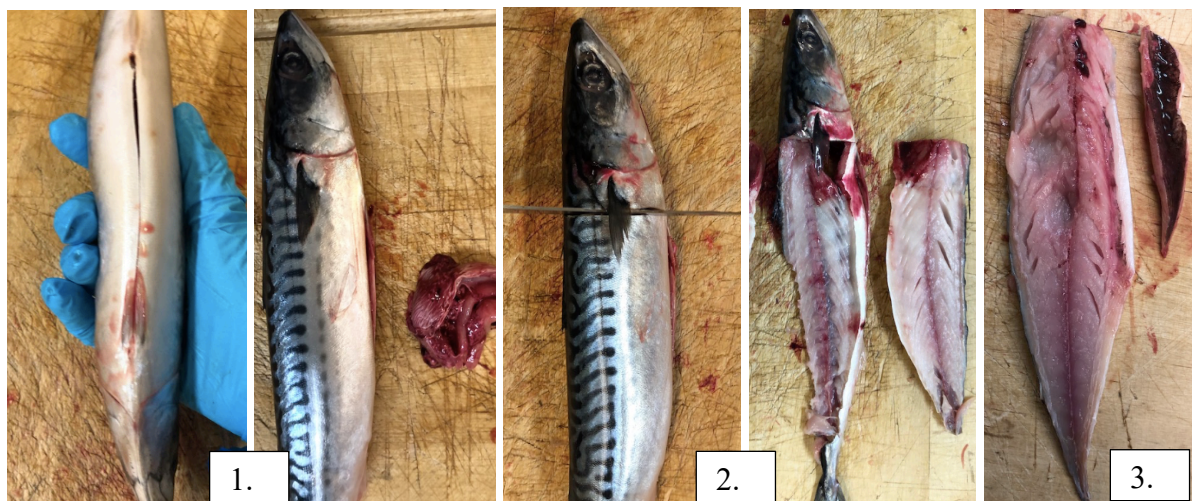
Nordatlantisk makrell (*Scomber Scomberus*) som benyttes i denne mastergradsoppgaven, ble landet ved to ulike tidspunkt; oktober 2018 og januar 2019. Makrellen ble fisket i Norskehavet og levert til den norske produsenten og eksportøren Pelagia i Selje. Hel makrell (100-500 gram) ble blokkfrost i 20 kg esker ved -25 °C og transportert med hurtigruta til SINTEF Ocean, Trondheim. Ved SINTEF Ocean ble makrellen lagret ved anbefalt frysetemperatur -25 °C (Romotowska et al., 2017) før videre arbeid.

## 2.3 Forberedelser av råstoffmateriale

Forberedelser av råstoffmateriale til forsøkene er vist i tabell 2.3. Forberedelser innebar uttak av makrell til tining, filetering, kverning og videre prosessering. For hvert uttak til tining ble det tatt ut nok makrell til å kunne gjennomføre to hydrolyseforsøk (studie 2) og til en eventuell råstoffkarakterisering (studie 1) (se tabell 2.3). Det ble tatt ut flere fisk av januarmakrellen fordi makrellen var mindre i størrelse, sammenlignet med oktobermakrellen. Gjennomsnittlig hel vekt (snitt  $\pm$  SD) av 18 makrell landet i oktober og gjennomsnittlig hel vekt av 40 makrell landet i januar var  $416,7 \pm 48,8$ g og  $256,8 \pm 61,6$ g, respektivt.

### 2.3.1 Tining, filetering og kverning

Makrell ble tatt ut fra  $-25$  °C fryser og tint i 20 timer ved  $16$  °C og/eller  $5$  °C før videre filetering. Se tabell 2.3 for tinetemperaturer. Filetering av makrell ble gjennomført som illustrert i figur 2.2.



Figur 2.2 Illustrasjon av hvordan makrell ble filetert. (1): Magen snittes og innvoller tas ut. (2): Fileter skjæres av ved å dra kniven langs ryggen. (3): Buklist skjæres av filet og blandes med innmat-fraksjon..

Filetert makrell ble enten fordelt i fraksjonene HRH, innmat (med buklist) og filet (uten buklist), eller i samfengt (alt av makrell bortsett fra filet) og filet (uten buklist). De ulike fraksjonene ble veid og vekt notert ned. Fraksjonene ble umiddelbart kvernet i en kjøttkvern av type Hobart med hull diameter 5 mm. Kvernet prøve ble enten lagret ved  $-80$  °C, før kjemiske analyser på råstoffsammensetning (studie 1), eller videre prosessert gjennom enzymatisk hydrolyse (studie 2). Enzymatisk hydrolyse ble gjennomført innen fire timer etter filetering og kverning. Prøvemateriale ble lagret i et kaldt rom ved temperatur  $5$  °C før prosesseringen.

**Tabell 2.3**

Forberedelse av råstoffmateriale – Nordatlantisk makrell (*Scomber scombrus*). Tabell illustrerer uttak for oktober- og januarmakrell, antall makrell som er tatt ut per uttak, tinebetingelser, og hvilke fraksjoner som er benyttet til råstoffkarakterisering (studie 1) og til hydrolyse (studie 2). Hydrolyseforsøkene ble gjennomført i to paralleller; R1 og R2. Data fra R1 og R2 presenteres samlet i presentasjon av resultater.

<b>Oktober</b>					
	<b>Ca. antall makrell</b>	<b>Tine-betingelser</b>	<b>Fraksjon til råstoffkarakterisering (Studie 1)</b>	<b>Fraksjon til hydrolyse (Endogene) (Studie 2)</b>	<b>Fraksjon til hydrolyse (Alkalase)</b>
<b>Uttak 1 10.12.18</b>	20	20t ved 16 °C <sup>1</sup>		HRH, R1 <sup>2</sup>	HRH, R1 <sup>3</sup>
<b>Uttak 2 12.12.18</b>	20	5t ved 16 °C og 15t ved 5°C	HRH, innmat og filet	HRH, R2	HRH, R2
<b>Uttak 3 17.12.18</b>	20	5t ved 16 °C og 15t ved 5°C	Samfengt	Samfengt, R1	Samfengt, R1
<b>Uttak 4 18.12.18</b>	20	5t ved 16 °C og 15t ved 5°C		Samfengt, R2	Samfengt, R2
<b>Januar</b>					
<b>Uttak 5 27.02.19</b>	40	5t ved 16 °C og 15t ved 5°C	HRH, innmat og filet	HRH, R1	HRH, R1
<b>Uttak 6 6.03.19</b>	40	5t ved 16 °C og 15t ved 5°C	Samfengt	HRH, R2	HRH, R2

<sup>1</sup>Makrell fra uttak 1 ble tint ved andre betingelser. Dette tas med i betraktning når resultater sammenlignes og diskuteres.

<sup>2</sup> R1 = reaktor/parallell 1

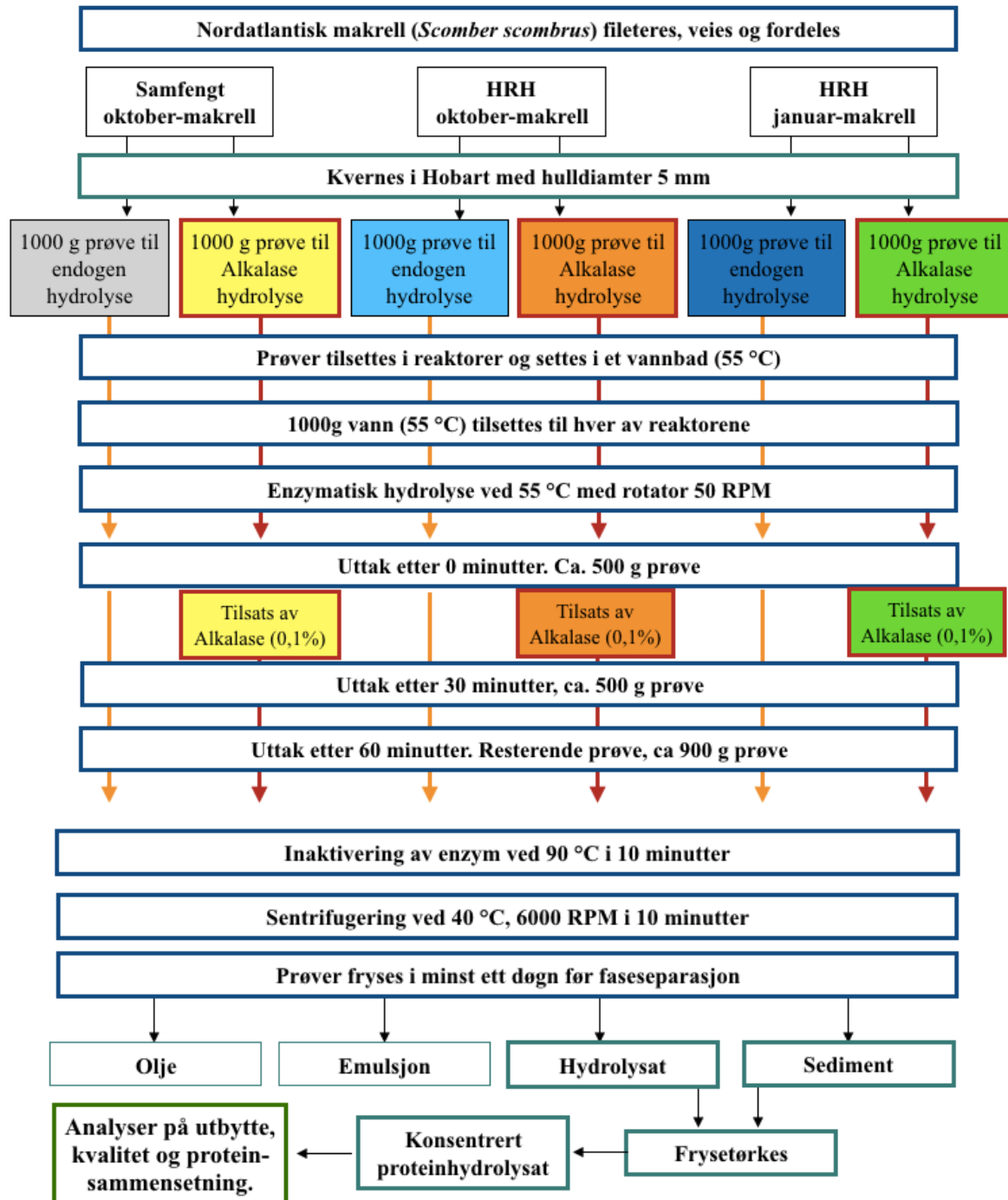
<sup>3</sup> R2 = reaktor/parallell 2

Planen var å tine makrell under like betingelser ved alle tineuttak. Dette for å få så like paralleller som mulig, hvor pre-analytiske forhold ikke skulle påvirke sammensetning og kvalitet i prøvematerialet. Tineprosessen før filetering ble utført ulikt for uttak 1 og resterende uttak. Ved uttak 1 ble makrell tint ved 16 °C i 20 timer, og da ble makrellen mer tint enn forventet. I tillegg vil det trolig ha skjedd en forringelse av råstoffet. En annen studie har tint makrell over natten i et kaldt rom i 4 °C (Hou et al., 2011). Senere uttak og tining ble derfor gjennomført ved å tine makrell i 16 °C i 5 timer og i 5 °C i 15 timer.

Ettersom tinebetingelser for parallell 1 og parallell 2 HRH (oktober) er forskjellige, kan ikke parallellene vurderes som like, og data fra parallell 1 HRH (oktober) vil ikke inkluderes i resultatfremstilling. Data er bare inkluderte ved presentasjon av massebalanse da det tenkes at utbytte ved filetering ikke er påvirket, og det ble heller ikke funnet signifikante forskjeller ( $P > 0,05$ ) mellom R1 og R2 i massebalansedata. Resultater fra de andre analysene fra HRH (okt) R1 inkluderes i vedlegg.

## 2.4 Enzymatisk hydrolyse

Enzymatisk hydrolyse ble gjennomført på makrellrestråstoff, med og uten tilsetning av Alkalase. Flytskjema for de seks ulike hydrolyseforsøkene er illustrert i figur 2.3. Forsøksbetingelsene er vist i tabell 2.4. Hvert hydrolyseforsøk ble utført to ganger.



Figur 2.3 Flytskjema for hydrolyseforsøkene. Seks forskjellige hydrolyseforsøk ble gjennomført. Orange pil viser fremgangsmåte for endogen hydrolyse, mens rød pil viser fremgangsmåte for hydrolyse med tilsats av Alkalase. I tillegg har hydrolyseforsøkene fått tildelt ulike farger. Samfengt-oktober-endogene = grå. Samfengt-oktober-Alkalase = gul. HRH-oktober-endogene = lyseblå. HRH-oktober-Alkalase = Orange. HRH-januar-endogene = mørkeblå. HRH-januar-Alkalase = grønn. Disse fargene vil benyttes senere i oppgaven ved presentasjon av resultater i figurer. Hensikten med hydrolyseforsøkene var produksjon av tørket FPH og sediment.

Kvernet restråstoff (1000 g) ble overført til en reaktor og tilsatt 1000 g destillert vann som var forvarmet til 50-55 °C i mikrobølgeovn (Whirlpool talent family 3d system). Restråstoff og vann, hydrolyseprøven, ble blandet sammen i reaktoren og varmet til 50-55 °C i et vannbad. Hydrolyseprøven sto under stadig omrøring ved 50 RPM ved hjelp av et rotorblad. Når prøven nådde ønsket hydrolysetemperatur (omtrent 50-55 °C) ble 0-minutters prøve (500 g) tatt ut. For hydrolyse med tilsatt av et kommersielt enzym, ble 0,1% (av råstoffets våtvekt) av enzymet Alkalase (® 2.4 L FG, Novozymes AS, Denmark) tilsatt etter uttak av 0-minutters prøve. Ved naturlig (endogen) hydrolyseforsøk ble ingen enzymer tilsatt. Videre uttak skjedde etter 30 og 60 minutter, med respektive uttak av 500 g hydrolyseprøve og resterende hydrolyseprøve (omtrent 900 g). Alle prøveuttak ble veid og vekt kontrollert. Videre ble enzymer i hydrolyseprøvene inaktivert, ved at prøvene ble varmet opp til 90 °C i mikrobølgeovn (Ovissipour et al., 2009) og holdt ved denne temperaturen i 10 minutter. Etter inaktivering ble hydrolyseprøvene fordelt på 50ml-sentrifugerør og sentrifugert i sentrifuge (Sigma-3K-2) ved 40 °C og 6000 RPM i 10 minutter. Etter sentrifugering, ble fraksjonene olje, hydrolysat, sediment og eventuelt emulsjon dannet. Prøvene ble deretter fryst ned stående i minst 1 døgn ved -20 °C før videre bearbeiding (seperasjon av fraksjoner og massebalanse). Figur 2.4 illustrerer de ulike fraksjonene som oppnås etter hydrolyse med påfølgende sentrifugering og innfrysing.

**Tabell 2.4**

Forsøksbetingelser for enzymatisk hydrolyse med makrellrestråstoff. Det ble gjennomført seks forskjellige hydrolyseforsøk, med to paralleller per forsøk. HRH – hode/rygg/hale. Samf – samfengt.

Forsøk, Råstoff	Enzym-type	Temp [°C]	Råstoff [kg]	Vann [kg]	Enzymmengde [vektprosent pr kg råstoff]	Prøveuttak Tid [min]	Prøvenavn
HRH (okt) (R1)	Endogen	50-55	1	1	0	0, 30, 60	B-min-E-1
HRH (okt) (R1)	Alkalase	50-55	1	1	0,1	0, 30, 60	B-min-A-1
HRH (okt) (R2)	Endogen	50-55	1	1	0	0, 30, 60	B-min-E-2
HRH (okt) (R2)	Alkalase	50-55	1	1	0,1	0, 30, 60	B-min-A-2
Samf (okt) (R1)	Endogen	50-55	1	1	0	0, 30, 60	S-min-E-1
Samf (okt) (R1)	Alkalase	50-55	1	1	0,1	0, 30, 60	S-min-A-1
Samf (okt) (R2)	Endogen	50-55	1	1	0	0, 30, 60	S-min-E-2
Samf (okt) (R2)	Alkalase	50-55	1	1	0,1	0, 30, 60	S-min-A-2
HRH (jan) (R1)	Endogen	50-55	1	1	0	0, 30, 60	J-min-E-1
HRH (jan) (R1)	Alkalase	50-55	1	1	0,1	0, 30, 60	J-min-A-1
HRH (jan) (R2)	Endogen	50-55	1	1	0	0, 30, 60	J-min-E-2
HRH (jan) (R2)	Alkalase	50-55	1	1	0,1	0, 30, 60	J-min-A-2

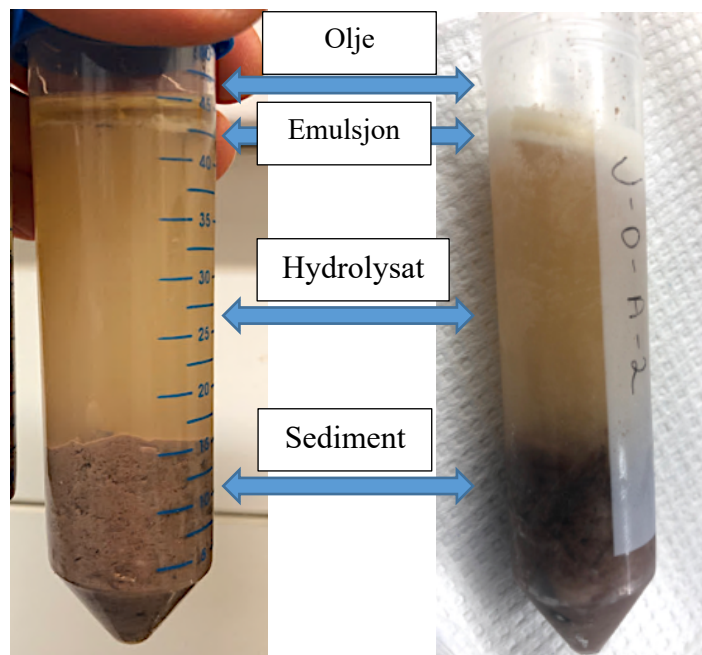
R1 – Reaktor/parallel 1

R2 – Reaktor/parallel 2

B-min-E/A-1/2 – HRH(okt)-hydrolysetid (0, 30, 60)-Endogen/Alkalase-R1/R2

S-min-E/A-1/2 – Samfengt(okt)-hydrolysetid (0, 30, 60)-Endogen/Alkalase-R1/R2

J-min-E/A-1/2 – HRH(jan)-hydrolysetid (0, 30, 60)-Endogen/Alkalase-R1/R2



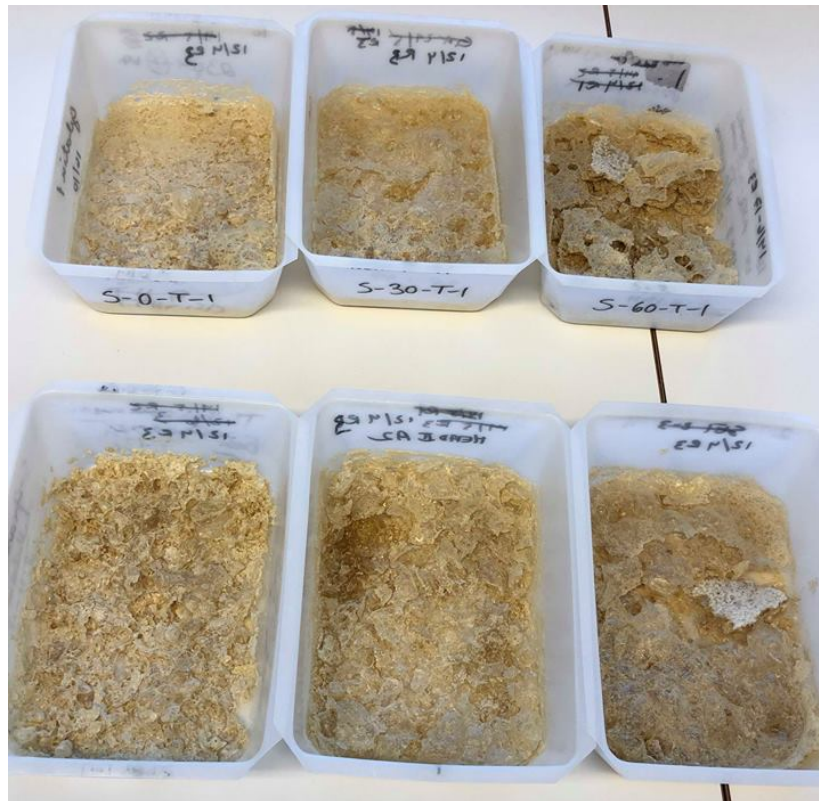
Figur 2.4 Til venstre ses hydrolyseprøve etter hydrolyse og sentrifugering. Til høyre ses hydrolyseprøve etter innfrysning ved  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  i et døgn. Hydrolyseprøve fordeles i fraksjonene olje, emulsjon, hydrolysat og sediment.

#### 2.4.1 Separasjon av fraksjoner og massebalanse

Innholdet i de frosne sentrifugerørene med hydrolyseprøve ble separert i fraksjonene olje, hydrolysat, sediment og eventuelt emulsjon. I figur 2.4 er de ulike fraksjoner vist. Olje ble skrapet ut av sentrifugerøret og overført til et nytt sentrifugerør. Resterende prøvemateriale ble kakkert ut av røret, og en skalpell ble brukt til å skille de resterende fraksjonene fra hverandre. Når alt prøvemateriale fra samme hydrolyseforsøk var fordelt og samlet sammen, ble fraksjonenes vekt notert. For å skille olje fra eventuelle rester av hydrolysat og emulsjon, ble rør med oppsamlet olje sentrifugert. Separert olje ble fordelt på flere mindre sentrifugerør (25 ml). Det som var igjen i oljesentrifugerøret ble addert på vekten til hydrolysat eller eventuelt emulsjon. Videre arbeid med oljeprøver ble utført av medstudent Kaja Kristine Haug. Hydrolysatfraksjonen ble tint og filtrert gjennom glassull, og 2 paralleller ble tatt ut til tørrstoffanalyse. Av sediment og emulsjon ble det tatt ut prøver til tørrstoff/aske-analyse i 4 paralleller. Vektdata fra veiing av fraksjoner og data fra tørrstoffanalyser ble satt inn i ligning 1 for å kontrollere at mengde tørrstoff i 100 g våtvekt (råstoff) var lik summen av tørrstoff i fraksjonene per 100 g våtvekt (råstoff).

$$\text{Vekt}_{\text{råstoff}} \times (\text{Tørrvekt } \%)_{\text{råstoff}} = \text{Vekt}_{\text{olje}} \times (\text{Tørrvekt } \%)_{\text{olje}} + \text{Vekt}_{\text{emulsjon}} \times (\text{Tørrvekt } \%)_{\text{emulsjon}} + \text{Vekt}_{\text{hydrolysat}} \times (\text{Tørrvekt } \%)_{\text{hydrolysat}} + \text{Vekt}_{\text{sediment}} \times (\text{Tørrvekt } \%)_{\text{sediment}} \quad (1.)$$

Av hydrolysat (0-, 30- og 60-minutters prøver) og sediment (60-minutters prøver) ble det laget frysetørkede prøver. Da ble ønsket mengde hydrolysat og sediment overført til et plastbeger, som videre ble fryst ved  $-80^{\circ}\text{C}$ , og deretter frysetørket i frysetørker. Når hydrolysat og sediment var fullstendig tørket (etter 1-2 døgn), ble prøvene kvernet til en homogen pulverblanding (se figur 2.5 og 2.6). Tørket sediment ble kvernet manuelt med en morter, mens tørket hydrolysat (FPH) ble kvernet i en kaffekvern (Bodum Bistro elektrisk kaffekvern).



Figur 2.5 Frysetørket hydrolysat (FPH) fra hydrolyseforsøk med samfengt restråstoff fra makrell.



Figur 2.6 Frysetørket sediment, fra hydrolyseforsøk med HRH restråstoff fra makrell. Tørket sediment fra endogen hydrolyse, 60-minutters prøve, til venstre. Tørket sediment fra hydrolyse med enzym, 60-minutters prøve, til høyre. Her ses det også tydelige forskjeller på sedimentprøver når ulikt enzym benyttes ved hydrolyse. Prøve som er tilsatt enzym (høyre) er betydeligere bløtere, trolig på grunn av mer nedbrutt proteinmateriale.



## 2.5 Analysemetoder

### 2.5.1 Bestemmelse av tørrstoff- og askeinnhold

Tørrstoffinnhold ble bestemt ved å veie ut 2 g råstoffprøve (studie 1) eller våt hydrolyseprøve (studie 2) med 4 desimalers nøyaktighet i 4 eller 2 paralleller, respektivt, i forhåndsveide digler eller glasskopper. For frysetørkede prøver, FPH og sediment (studie 2), ble 0,15 g veid ut i 2 paralleller. Prøvene ble tørket i varmeskap (Termaks) ved 105 °C i 24 timer. Etter tørking ble prøvene avkjølt til romtemperatur i en eksikator. Avkjølt prøve ble veid og tørrstoffinnhold i % ble beregnet. For å bestemme askeinnhold, ble digel med den tørkede prøven satt i en foraskningsovn (Cerama GL kammerovn G20-20 All in, program 13) ved 600 °C i 12 timer. Digel ble avkjølt i eksikator før prøver ble veid og % aske ble beregnet.

### 2.5.2 Bestemmelse av hydrolysegrad ved formoltitrering

Hydrolysegrad i FPH (studie 2) ble bestemt ved formoltitrering. Omtrent 0,3 g FPH-prøve ble veid ut i et begerglass i 3 paralleller. Nøyaktig vekt ble notert. Prøvene ble løst med destillert vann til en totalvekt på 50 g. Prøveblandingen ble homogenisert ved at begerglasset med prøve ble tilsatt en magnet og videre plassert på en rotator med et magnetfelt. Den homogeniserte prøveblandingen ble tilsatt 0,1 M NaOH (CAS# 1310-73-2, Sigma-Aldrich) til pH 7 ble nådd, før 10 ml formaldehyd (CAS# 50-00-0, Merck KGaA) ble tilsatt. Prøven hvilte i 5 minutter før løsningen ble titrert til pH 8,5 med 0,1 M NaOH. Forbrukt 0,1 M NaOH ble lest av byretten.

For å kunne beregne hydrolysegrad, må man kjenne til prosentinnholdet av nitrogen i prøven. Dette ble bestemt ved C/N-analyse, se kapittel 2.5.6 *Bestemmelse av proteininnhold på C/N-analysator*. Resultatberegning av hydrolysegrad følger ligning 2 «frie aminosyrer (%)» og ligning 3 «Hydrolysegrad».

$$\text{frie aminosyrer (\%)} = \frac{A \times B \times 14,007 \times 100\%}{C \times 1000} \quad (2)$$

hvor

A = Forbrukt NaOH i ml

B = Konsentrasjon av titrant [M]

C = Vekt av prøve [g]

14,007 = Nitrogens molare masse

For bestemmelse av hydrolysegrad ble ligning 3 benyttet:

$$\text{Hydrolysegrad (\%)} = \frac{D \times 100}{E} \quad (3)$$

hvor

D = % frie aminosyrer

E = % Nitrogen

### 2.5.3 Totalt lipidinnhold

Totalt lipidinnhold ble ekstrahert fra prøvematerialet etter en modifisert og tilpasset metode av Bligh and Dyer (1959). Prosedyren vil være noe ulik for våt prøve og for frysetørket prøve. I de våte råstoffprøver (studie 1) ble en «makrometode» benyttet og på tørkede hydrolysater, FPH og sediment (studie 2), ble en «mikrometode» benyttet. Forskjellen er mengde prøve og løsemidler benyttet, samt tidsbruk for homogenisering.

#### «Makrometode» (studie 1)

På råstoffprøver (HRH, innmat, samfengt og filet) ble omtrent 10 g våt prøve veid ut i en sentrifugekopp. Dette ble gjort i 2 paralleller og nøyaktig vekt ble notert. Råstoffprøvene ble homogenisert (Ultra-Turrax homogenizer) med 16 ml destillert vann, 40 ml metanol (CAS# 67-56-1, Merck KGaA) og 20 ml kloroform (CAS# 865-49-6, Merck KGaA) på is i 2 minutter. Etter 2 minutter ble 20 ml kloroform tilsatt og homogenisert 40 sekunder på is. Deretter ble 20 ml destillert vann tilsatt og prøve homogenisert på is i nye 40 sekunder. Etter tilsats av løsemidler og homogenisering ble prøvene sentrifugert ved 5000 RPM i 15 minutter i sentrifuge (Jouan KR22). Etter sentrifugering ble det det nederste laget (kloroformfasen) pipettert over i et nytt rør, og fra dette røret ble 2,0 ml av kloroformfasen pipettert over til et veid kimaxrør. Kloroform i kimaxrøret ble dampet av på varmeblokk (PIERCE Reacti-Therm) ved 60 °C med tilførsel av N<sub>2</sub>-gass. Etter avdamping ble prøvene avkjølt i minst 1 time i eksikator, før røret med fett ble veid og % lipidinnhold ble beregnet av innveid prøve (ligning 4).

#### «Mikrometode» (studie 2)

For det frysetørkede prøvematerialet, FPH og sediment, ble et mindre volum av prøve og løsemidler benyttet. Omtrent 50 mg tørr prøve ble veid ut i kimaxrør, i 2 paralleller og nøyaktig vekt ble notert. Prøvene ble tilsatt 0,5 ml destillert vann, 2 ml metanol (CAS# 67-56-1, Merck KGaA) og 1,0 ml kloroform (CAS# 865-49-6, Merck KGaA) før prøvene ble homogenisert (Ultra-Turrax homogenizer) på is i 1 minutt. 1,0 ml kloroform ble igjen tilsatt og prøve homogenisert i 20 sekunder på is. Tilslutt ble det tilsatt 1 ml destillert vann før prøven ble homogenisert på is i nye 20 sekunder. Prøvene ble sentrifugert i sentrifuge (Eppendorf sentrifuge 5804R) i 10 minutter ved 4000 RPM og 20 °C. Etter sentrifugering ble det nederste laget i røret, kloroformfasen, pipettert over til nye kimaxrør. For å bestemme totalt lipidinnhold

ble 0,5 ml kloroform pipettert ut igjen fra det nye kimaxrøret og overført til et veid og glødet glassrør. Kloroformen ble dampet av ved tilførsel av N<sub>2</sub>-gass. Etter avdamping ble prøvene avkjølt i en eksikator i minst 1 time før røret med fett ble veid og % lipidinnhold ble beregnet av innveid prøve (ligning 4).

$$\% \text{ Totalt lipidinnhold} = \frac{\text{Inndampet fett (g)} \times \text{Tilsatt kloroform (ml)} \times 100\%}{\text{Inndampet kloroform (ml)} \times \text{Innveid prøve (g)}} \quad (4)$$

#### 2.5.4 Bestemmelse av fettsyresammensetning

Fettsyresammensetning ble undersøkt i restråstoff-fraksjonene HRH, samfengt og innmat (studie 1). Fettsyresammensetningen ble bestemt ved separasjon på en gaskromatograf (Agilent Technologies 7890A GC system, med Agilent Technologies 7693 autosampler) (GC). Lipidekstrakt (kloroformfasen) som ble opparbeidet ved utførelse av metode beskrevet i 2.5.3 *Totalt lipidinnhold* ble benyttet. Kloroform i lipidekstraktene ble først dampet av ved tilførsel av N<sub>2</sub>-gass. Prøvene ble videre opparbeidet ved at 10 mg lipidprøve ble veid ut i 2 paralleller og nøyaktig vekt ble notert. Deretter ble en internstandard (Methyl Heneicosanoate, USA) laget ved å veie ut 15,2 mg internstandard og løse denne i 18 ml kloroform (CAS# 865-49-6, Merck KGaA). 1 ml internstandard med kloroform ble tilsatt til hver prøve. Prøver ble deretter ristet på minirister (MS2 Minishaker, IKA), før kloroform ble dampet av på varmeblokk (PIERCE Reacti-Therm) ved 60 °C med N<sub>2</sub>-innblåsning. Etter avdamping ble 1 ml 0,5 M NaOH (CAS# 1310-73-2, Sigma-Aldrich) løst i metanol (CAS# 67-56-1, Sigma-Aldrich) tilsatt. Kork på prøvene ble skrudd på før prøvene ble satt på varmeblokk ved 100 °C i 15 minutter. Deretter ble prøver avkjølt før 2 ml Bortrifluorid (BF<sub>3</sub>) (CAS# 373-57-9, Sigma-Aldrich) ble tilsatt. Prøvene ble satt på varmeblokk ved 100 °C i 5 minutter, før de ble avkjølt igjen. Heksan (CAS# 110-54-3, Merck KGaA) ble tilsatt og prøvene ble igjen satt på varmeblokk ved 100 °C i 1 minutt. Deretter ble prøvene avkjølt og tilsatt 1 ml heksan og 2 ml mettett saltløsning. Prøvene ble ristet på minirister før de ble sentrifugert (Eppendorf sentrifuge 5804R) ved 2000 RPM i 3 min. Toppfasen som ble dannet etter sentrifugering, ble overført til et annet rør. Heksan (1 ml) ble tilsatt til prøverøret, og ble på nytt ristet og sentrifugert ved de samme betingelsene. Toppfasen ble tatt ut igjen og overført til det samme røret som ved første uttak. Dette ble gjentatt en gang til. Toppfaser (heksanfasen) fra tre uttak ble blandet sammen og kjørt på gaskromatografi instrument (GC). Analysering av prøver på GC ble utført av ingeniør Merethe Selnes, ved SINTEF Ocean. Kolonnen som ble benyttet var en Agilent CP7713, med lengdekolonne 25m x 250 µm x 0,2 µm og maksimal ovn temperatur 265 °C. Bæregass var hydrogen.

### 2.5.5 NMR analyser

NMR analyser ble utført på restråstoff-fraksjonene HRH, samfengt og innmat (studie 1). Analysering ble gjennomført som en screening. Lipidekstrakt som ble opparbeidet ved utførelse av metode beskrevet i 2.5.3 *Totalt lipidinnhold*, ble benyttet. Summen av fosfolipider i prøvene ble beregnet fra  $^{31}\text{P}$  NMR, mens innholdet av acylglyseroler, FFA, kolesterol og posisjonsfordeling av fettsyrer (i TAG) ble beregnet fra  $^{13}\text{C}$  NMR (og  $^1\text{H}$  NMR). Utveiling av lipidekstrakt ble gjennomført på laboratoriet av undertegnende. Analysering og kvantifisering av prøver ble utført på Gløshaugen (NTNU) av forsker Inger Beate Standal. Metoden ble basert på litteraturverdier hentet fra Burri, Hoem, Monakhova, and Diehl (2016); Haraldsson, Gudmundsson, and Almarsson (1995); Standal, Carvajal, et al. (2018).

NMR-teknikkene  $^{13}\text{C}$  NMR og  $^1\text{H}$ :

Lipidekstrakt ble veid ut (100 mg) i 1 parallell og nøyaktig vekt ble notert. Prøver ble tilsatt 0,500 ml deuterert klorofom (CAS# 865-49-6), som inneholdt 1% Tetrametylsilan (TMS) for kjemisk skiftreferanse og 0,2% w/v EGDM (CAS# 110-71-4) som intern standard for kvantifisering. Videre ble prøve overført til 5 mm NMR rør. NMR-spektra ble registrert på en Bruker Avance 600 MHz spektrometer (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Tyskland) ved omgivelsestemperatur (25 °C) med en cryo probe som opererte ved en  $^1\text{H}$  frekvens på 600,23 MHz, og en  $^{13}\text{C}$ -frekvens på 150,94 MHz.

For  $^1\text{H}$  NMR ble følgende parametere anvendt: pulsprogram zg30, tidsdomene 64 k, spektralbredde 20,5 ppm, akvisisjonstid 2,6 s, relaksasjonstid 4,0 s, antall skann 64, dummy skanner 4. «Zero filling» og eksponentiell linjebredning på 0,30 Hz ble benyttet før Fouriertransformasjon.

For  $^{13}\text{C}$  NMR ble følgende parametere anvendt: pulsprogram zgig90, tidsdomene 128k, spektralbredde 239 ppm, akvisisjonstid 1,82 s, relaksasjonstid 35 s, antall skann 128 - 256, dummy skanner 4. «Zero filling» og linjebredning på 0,4 Hz ble benyttet før Fouriertransformasjon.

NMR-teknikk  $^{31}\text{P}$  NMR:

Lipidekstrakt ble veid ut (omtrent 30 mg), i 2 paralleller og nøyaktig vekt ble notert. Lipidekstraktprøven ble tilsatt 0,550 ml løsning bestående av CDCL<sub>3</sub> (CAS# 865-49-6) og MetOD (1:1), inneholdende trietylfosfat (TEP) som intern standard (0,235 vekt%). Løsningen ble overført til 5 mm NMR-rørene (til ca. 4,2 cm høyde i rørene). NMR-spektra ble registrert på en Bruker Avance 600 MHz spektrometer (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Tyskland) ved omgivelsestemperatur (25 °C) med en cryo probe som opererte ved en  $^{31}\text{P}$  NMR-frekvens

på 161,96 MHz. Kjøreparameterne var: pulsprogram zgig30, tidsdomene 246 k, spektralbredde 80,0 ppm, akvisisjonstid 9,9 sek, relaksasjonstid 10,0 sek, antall skann 64. «Zero filling» og linjebredning på 1,0 Hz ble benyttet før Fourier-transformasjon.

#### Kvantifisering

NMR gir resultater på molarbasis, på individuelle  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  og  $^{31}\text{P}$  atomer. Arealet av toppene i NMR-spektra tilsvarer antall atomer toppene oppstår fra. Eksempelvis for metylsignalet i  $^1\text{H}$  NMR er det tre  $^1\text{H}$ -signaler for hver fettsyre. For  $^{31}\text{P}$  NMR detekteres kun  $^{31}\text{P}$ -atomer, så det er ett signal for hvert fosfolipidmolekyl. For å kunne sammenligne resultatene med andre kjemiske analyser, er vektprosent beregnet fra molar konsentrasjon ved å bruke en omtrentlig molekylvekt på 280 g/mol for fettsyrer (gjennomsnittlig molekylvekt beregnet ut fra GC-verdier), som resulterer i omtrent 782 g/mol for fosfolipider og 854 g/mol for triglyserider.

#### 2.5.6 Bestemmelse av proteininnhold på C/N-analysator

Totalt nitrogeninnhold i ble bestemt ved hjelp av en Carbon/Nitrogen-analysator (Elemental Combustion System 4010, Nitrogen/Protein analyzer (ECS 4010)). Frysetørket prøvemateriale (studie 1 og 2) ble veid ut (omtrent 1 mg) i tinnkapsler og pakket til runde kapsler uten fliker. Det ble veid ut 4 paralleller per prøve og nøyaktig vekt ble notert. For standard ble en middelmetode med standarden Acetanlide (code 031040, Costech Analytical technologies, inc.) benyttet, med 12 paralleller. De pakkete prøvekapslende ble analysert på C/N-analysator, utført av ingeniør Marte Schei ved SINTEF Ocean. Driftsparameterne som ble benyttet var; CHNS metode, venstre forbrenningskolonne ved 1050 °C, høyre forbrenningskolonne (kobberkolonne) ved 650 °C, gaskromatografisk separasjonskolonne ved 80 °C med kolonnelengde 2 meter. For beregning av protein fra total %nitrogen ble forholdstallet 6,25 benyttet i studie 2 og forholdstallet 5,71 benyttet i studie 1. Resultat gir sum av proteiner, peptider og aminosyrer i prøven.

#### 2.5.7 Aminosyreanalyse på HPLC

Aminosyreanalyse ble utført på FPH og sediment (studie 2). På forhånd ble løsningen 6 M HCl (Sigma-Aldrich) med 0,4% merkptoethanol (CAS# 60-24-2, Sigma Aldrich) laget. Prøve ble veid ut (90-110 mg), i 3 paralleller, og overført til tette kimaxrør. Nøyaktig vekt ble notert. 2,0 ml av løsningen 6 M HCl med 0,4 % merkptoethanol ble pipettert ut og tilsatt i prøvene. Prøvene ble godt lukket med en kork før de ble satt i varmeskap (Termaks) ved 110 °C i 24 timer. Etter inkubering ble prøvene avkjølt til romtemperatur og nøytralisert til pH 2,2-

3,0 ved tilsats av 5 M NaOH (CAS# 1310-58-3, Merck KGaA) (omtrent 2,3 ml). pH-verdien ble kontrollert med et pH-papir. Når pH 2,2-3,0 var nådd, ble prøvene filtrert over i en 10 ml volumetrisk kolbe via GFC Whatman filter (55 mm Ø). Det tomme kimaxrøret ble skylt i to runder med 2 ml av fortynningsmiddelet Natrium Sodium (Pickering Laboratories) før fortynningsmiddel og gjenværende prøverester i kimaxrøret ble filtrert over til kolben med den tilhørende prøven. Etter at prøven hadde passert gjennom filteret, ble filteret skylt med fortynningsmiddel (omtrent 2 ml) i to runder. Filteret ble fjernet fra trakten, trakten ble skylt med fortynningsmiddel og kolben ble fylt opp med fortynning til 10 ml merket. Kolben ble lukket og blandet godt.

Før analysering på HPLC ble prøvene fortynnet med fortynningsmiddel Natrium Sodium i forholdet 1:11 (100 ul prøve + 1000 ul fortynning) i et HPLC hetteglass. Den fortynnede aminosyreoppløsningen ble kontrollert med pH-papir, hvor en pH på 2,1-2,5 var ønskelig. Videre ble aminosyreprofilen i prøvene analysert ved hjelp av et HPLC-system (Afilent Infinity 1260, Agilent Technologies) koblet til en on-line post-kolonne derivatiseringsmodul (Pinnacle PCX, Pickering laboratorier, Mountain View, CA, USA), ved bruk av nynhydrin (Trione) som derivatiserende reagens og Na<sup>+</sup>-ion utbytteskolonne (4,6x110 mm, 5 mm). 18 standard aminosyrer (Asparginsyre + asparagin, threonin, serin, glutaminsyre + glutamin, prolin, glycin, alanin, cystin (cys-cys), valin, metionin, isoleucin, leucin, tyrosin, fenyilalanin, histidin, lysin, ammoniakk og arginin) ble kvantifisert fra standardkurver målt med aminosyrestandarder. Alle buffere, reagenser, aminosyrestandarder og kolonnen kom fra Pickering laboratorier (Mountain View, CA, USA). Analysering på HPLC ble utført av seniorforsker Rasa Slizyte, ved SINTEF Ocean.

#### Protein efficiency ratio (PER)

Kalkulasjon av PER i FPH og tørket sediment ble beregnet i henhold til ligninger utviklet av Alsmeyer, Cunningham og Happich (1974) (PER 1-3) og Lee, Elliot, Rickansrud og Hagberg (1978) (PER 4 og 5). Ligningene gir estimer av proteinkvalitet basert på aminosyreprofiler etter hydrolyse:

- PER 1:  $(-0,684 + 0,4565[LEU]) - 0,047[PRO]$
- PER 2:  $(-0,468 + 0,454[LEU]) - 0,105[TYR]$
- PER 3:  $(-1,816 + 0,435[MET] + 0,780[LEU] + 0,211[HIS]) - 0,944[TYR]$
- PER 4:  $(0,08084[\Sigma AA7] - 0,1094)$ , hvor  $\Sigma AA7$  er *treonin + valin + metionin + isoleucin + leucin + fenyilalanin + lysin*
- PER 5:  $(0,06320[\Sigma AA10] - 0,1539)$ , hvor  $\Sigma AA10 = [\Sigma AA7] + \text{histidin} + \text{arginin} + \text{tryptofan}$

### 2.5.8 Molekylvektfordeling

Molekylvektfordeling av protein, peptider og aminosyrer som er tilstede i FPH ble undersøkt (studie 2). Frysetørket prøvematerialet (Omtrent 1 gram) ble sendt til SINTEF Ålesund for analysering. Videre opparbeiding og utførelse av metode ble gjennomført av forsker Jannicke Fugledal Remme. Da ble følgende utført:

Prøvene ble løst i vann til en konsentrasjon på omtrent 10 mg/ml, før de ble fortynnet til en konsentrasjon på 1 mg/ml i vann. Prøvene ble analysert på Hitachi HPLC med UV detektor ved 220 nm, og med en Superdex peptide 10/300 kolonne. Analysen ble kjørt i romtemperatur og isokratisk, med 30 % acetonitrile, 0.1 % TFA i vann, ved 0,4 ml/min. Prøvevolum var 50 µl. Som standard ble følgende benyttet; Cytokrom C (12327 Da), aprotinin (6512 Da), insulin A (2531 Da), leucine enkepaline (555.6 Da), Val-Tyr-Val (379.5 Da) og Gly-Tyr (23822 Da). Regresjonslinjen for standardene var  $r^2 = 0.960$ . Kromatogrammene ble manuelt integrert av Jannicke Fugledal Remme. Integreringen ble gjort på bakgrunn av retensjonstid. Molekylvekt ble delt inn i 9 intervaller. Disse var < 200 Da, 200-500 Da, 500-1000 Da, 1000-2000 Da, 2000-5000 Da, 5000-10 000 Da, 10 000-15 000Da, 15 000-20 000 Da og > 20 000 Da.

### 2.6 Statistiske analyser

Statistiske analyser ble utført i Microsoft Excel 2018. Analyseresultatene fremstilles som gjennomsnittsverdi av «n» paralleller og  $\pm$  standardavvik (STDAV). For å undersøke signifikante forskjeller er T-test og ANOVA benyttet. Ved sammenligning av to datasett er tosidig T-test med antatt ulik varians benyttet. Ved tre eller flere datasett er ANOVA benyttet. Det er benyttet et signifikansnivå på  $p \leq 0,05$  (konfidensintervall 95%).

### 3. Resultat og diskusjon

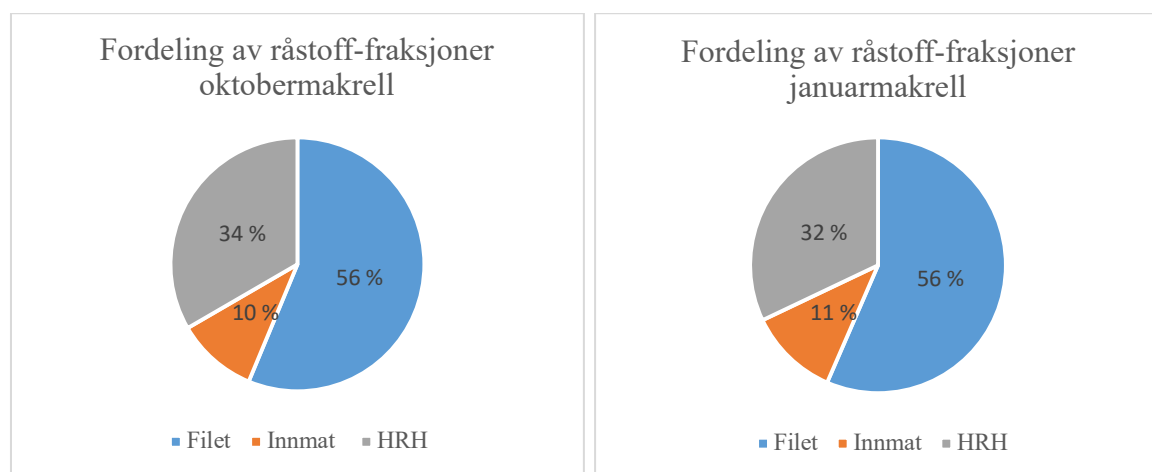
I denne mastergradsoppgaven har det blitt gjennomført to hovedstudier. I kapittel 3.1 vil resultater fra første studie og diskusjon av problemstilling 1 presenteres. I kapittel 3.2 vil resultater fra studie 2 og diskusjon av problemstillingene 2, 3 og 4 presenteres.

#### 3.1 Karakterisering av Nordatlantisk makrell (*Scomber scombrus*)

Som følge av at store deler av makrellen som landes i Norge eksporteres ut av landet i hel form, er det lite kunnskap tilgjengelig om restråstoffets sammensetning og kvalitetsegenskaper. Før industriell utnyttelse er det viktig å kartlegge den kjemiske sammensetningen og variasjoner med hensyn til ulikt fangsttidspunkt. Kunnskap om makrellens sammensetning er viktig informasjon i arbeidet mot å øke verdiskapningen i den pelagiske næringen.

##### 3.1.1 Fordeling av råstoff-fraksjoner

Nordatlantisk makrell, landet i oktober 2018 og januar 2019, ble filetert og fordelt i fraksjonene HRH, innmat, samfengt og filet. Se vedlegg A.1 for vektdata. Makrell landet i oktober var signifikant større ( $P < 0,001$ ) og veide i snitt 62,4% mer. Visuelt var det tydelig at januarmakrellen var magrere. Dette stemmer med teorien om sesongvariasjoner; i vinterhalvåret er makrellen i en ikke-veksts sesong, mattilgangen er redusert og fisken konsumerer mindre (Norwegian Seafood Council, 2018). Prosentvis fordeling av råstoff-fraksjoner er vist i figur 3.1. Selv om januarmakrellen var betydelige mindre, var det ingen signifikante forskjeller ( $P > 0,05$ ) i fordeling og prosentvis differanse for hver av fraksjonene i forhold til totalvekt mellom fangsttidspunkt. Se vedlegg A.1 for alle differanser.



Figur 3.1 Fordeling av råstoff-fraksjonene filet, innmat og HRH (hode/rygg/hale) for oktober- og januarmakrell. Andelen restråstoff utgjør en betydelig del av makrellen.



Fraksjonene HRH og innmat utgjorde 43-44% av totalvekten av makrellen. I en masterstudie utført av Al-Janabi (2016) ble en omtrent lik fordeling av filet og restråstoff i Nordatlantisk makrell landet i september funnet. Andelen restråstoff utgjør en vesentlig del, og er dermed en stor ressurs med mye potensiale som bør utnyttes til videre produksjon av høyverdigeprodukter.

### 3.1.2 Den kjemiske sammensetningen av råstoff-fraksjoner

For å bestemme den kjemiske sammensetningen i råstoff fra oktober- og januarmakrell, ble vann-, tørrstoff-, aske-, protein- og lipidinnhold undersøkt i fraksjonene HRH, innmat, samfengt og filet. Den kjemiske sammensetningen er oppsummert i tabell 3.2 og i figur 3.2.

**Tabell 3.2**

Kjemisk sammensetning i råstoff-fraksjonene HRH, samfengt, innmat og filet fra Nordatlantisk makrell (oktober- og januarmakrell). Vann, aske, lipid og proteininnhold er presentert som g/100 g av råmateriale (våtvekt). Data presenteres i % som gjennomsnitt av «n» paralleller  $\pm$  SD.

<b>Parameter/ Råstoff- fraksjon</b>	<b>Vann<sup>1</sup> [%] n = 3</b>	<b>Aske [%] n = 3</b>	<b>Lipid [%]<sup>2</sup> n = 2</b>	<b>Protein [%] n = 4</b>
HRH okt	60,0 $\pm$ 2,0	5,1 $\pm$ 0,2	20,1 $\pm$ 2,3	13,9 $\pm$ 0,5
HRH jan	66,6 $\pm$ 2,6	3,3 $\pm$ 0,5	15,7 $\pm$ 0,7	12,1 $\pm$ 0,6
<i>P-verdi</i>	<i>P</i> < 0,026	<i>P</i> < 0,009		<i>P</i> < 0,003
Samfengt okt	58,0 $\pm$ 0,9	5,6 $\pm$ 0,1	21,5 $\pm$ 0,6	13,1 $\pm$ 1,0
Samfengt jan	66,4 $\pm$ 1,21	3,3 $\pm$ 0,1	14,4 $\pm$ 0,9	12,8 $\pm$ 0,3
<i>P-verdi</i>	<i>P</i> < 0,001	<i>P</i> < 0,001		<i>P</i> > 0,570
Innmat okt	61,7 $\pm$ 1,7	2,0 $\pm$ 0,1	22,0 $\pm$ 0,1	12,6 $\pm$ 2,1
Innmat jan	66,7 $\pm$ 2,3	1,5 $\pm$ 0,1	16,1 $\pm$ 2,0	15,1 $\pm$ 1,8
<i>P-verdi</i>	<i>P</i> > 0,108	<i>P</i> < 0,001		<i>P</i> > 0,305
Filet okt	49,6 $\pm$ 1,1	1,7 $\pm$ 0,1	25,5 $\pm$ 2,8	15,1 $\pm$ 0,3
Filet jan	72,3 $\pm$ 2,3	1,5 $\pm$ 0,0	11,3 $\pm$ 1,4	14,1 $\pm$ 0,2
<i>P-verdi</i>	<i>P</i> < 0,002	<i>P</i> < 0,018		<i>P</i> < 0,002

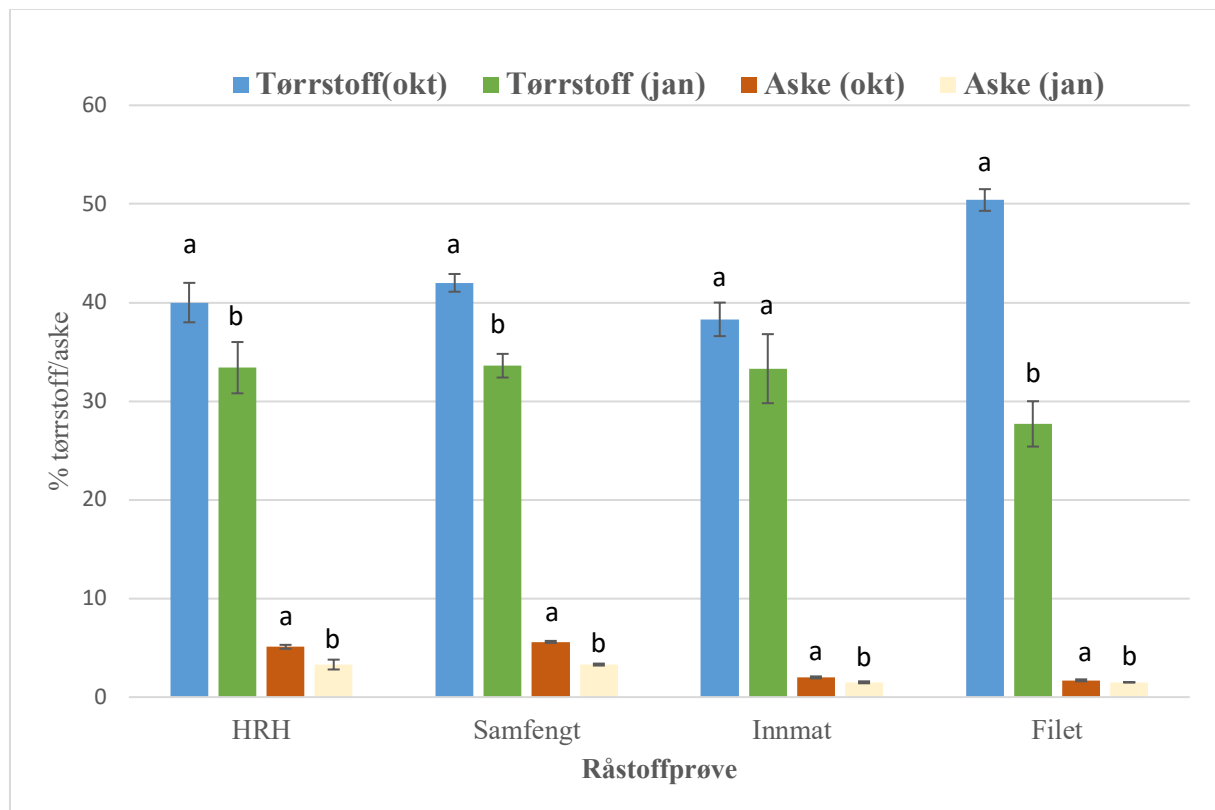
<sup>1</sup>Tørrstoff er summen av aske, lipid og protein.

<sup>2</sup>Det er en del usikkerhet i lipidresultatene på grunn av n=2. For lite grunnlag til å gjennomføre variansanalyse.

Fra tabell 3.2 ser man at det er forskjeller i den kjemiske sammensetning mellom oktober- og januarmakrell. Spesielt ser man et numeriske høyere fettinnhold og signifikant høyere askeinnhold i fraksjoner fra oktobermakrell. Et høyt askeinnhold indikerer høyt innhold av mineraler (Khiari, Rico, Martin-Diana, & Barry-Ryan, 2013). Vanninnholdet var signifikant størst i fraksjoner fra januarmakrell, sett bort i fra innmatfraksjonen. Proteininnholdet var mer stabilt mellom oktober- og januar-råstoffet, hvor det bare ble vist en signifikant forskjell i

proteininnhold for filet- og HRH-fraksjonen, med høyest proteinkonsentrasjon i oktobermakrell. Murray and Burt (1983) har rapportert om en variasjon i sammensetningen i makrell fra 60-74% vann, 1,0-23,5% fett og 16-20% protein av råmaterialet. En lignende sammensetning ble også funnet i en masterstudie av Al-Janabi (2016) hvor lipid-, protein-, og askeinnhold i makrellrestråstoff (lignende samfengt) var på  $17,9 \pm 0,8\%$ ,  $12,7 \pm 0,6\%$  og  $3,2 \pm 0,01\%$ , respektivt. Fangsttidspunkt var i sistnevnte studie i september.

Det at det ble funnet høyest fettinnhold i makrellråstoff fra oktober, var som forventet, og er i samsvar med teorien om at makrell er fettest på høsten (Norwegian Seafood Council, 2018). Høyere fettinnhold i makrell landet på høsten er også vist i tidligere studier (Bandarra et al., 2001; Hardy & Keay, 1972). Proteinverdier var mer stabil mellom fangsttidspunktet. Et omvendt lineært forhold mellom lipid og vanninnhold med et proteinnivå som forblir mer konstant, ble også observert av Hardy & Keay (1972).



Figur 3.2 Tørrstoff- og askeinnhold i råstoff-fraksjonene HRH, samfengt, innmat og filet, fra oktober- og januarmakrell.  $n = 3$ . Oktobermakrell sammenlignes med januarmakrell. Ulike bokstaver indikerer signifikant forskjell. Mest tørrstoff og aske ble funnet i oktobermakrell.

Fra figur 3.2 ble det vist tydelige variasjoner i tørrstoff- og askeinnhold mellom oktober og januarmakrell. Tørrstoffinnholdet reflekterer innholdet av fett, protein og aske. Oktobermakrell hadde i alle fraksjoner (bortsett fra innmat) signifikant høyere ( $P < 0,05$ )

innhold av tørrstoff, og kan ses i sammenheng med at det er mer fett i oktobermakrell. En lik trend i sammensetning i makrellråstoff har blitt vist i en tidligere studie (Skåra et al., 2018).

Det er ønskelig med en fettrik makrell, men det er også viktig å huske på at en fettrik fisk er mer utsatt for lipidoksidasjon og nedbrytning under lagring, som er en av de viktigste årsakene til kvalitetstap i fet fisk (Romotowska et al., 2017). Januarmakrell, som hadde lavere fettinnhold, vil trolig være mindre utsatt for lipidoksidasjon og et mer lagringsstabilt råstoff. Utfordringen knyttet til januarmakrell vil heller være det høyere innholdet av vann. Vann har lav økonomisk verdi, samt at et høyere vanninnhold kan virke negativt på kvaliteten når fisk fryses. Hvis fryse- og lagringstemperatur svinger, kan dette medføre dannelse av iskrystaller og kvalitetstap. Høyere vanninnhold i marine produkter kan også påvirke mikrobiologisk stabilitet. Kartlegging av makrellens kjemiske sammensetning er derfor viktig i arbeidet med å øke videreforedlingen av makrellen i Norge. Det gir informasjon om hvordan fisken bør håndteres, hvilke lagrebetingelser som passer fisken best, samt hvilken industri råstoffet har størst potensiale i.

### 3.1.3 Fettsyresammensetning i restråstoff

I tillegg til å karakterisere den kjemiske sammensetningen, ble fettsyresammensetning bestemt. Dette vil gi informasjon om tilstedeværelse, samt mengde fettsyrer i olje ekstrahert fra makrell. Fettsyresammensetningen i restråstoff-fraksjonene HRH, samfengt og innmat fra begge fangstsesongene (oktober og januar) er vist i tabell 3.3. Statistiske tester er ikke benyttet grunnet for få paralleller (n=2.)

**Tabell 3.3**

Fettsyresammensetning vist som sum av fettsyrer i % av totale fettsyrer i olje ekstrahert fra makrell-restråstoff. n=2.

	<b>HRH (okt) [%]</b>	<b>HRH (jan) [%]</b>	<b>Samfengt (okt) [%]</b>	<b>Samfengt (jan) [%]</b>	<b>Innmat (okt) [%]</b>	<b>Innmat (jan) [%]</b>
<b>C14:0</b>	8,0 ± 0,0	7,3 ± 0,0	7,9 ± 0,2	7,5 ± 0,0	8,1 ± 0,1	7,8 ± 0,0
<b>C14:1</b>	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C15:0</b>	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0
<b>C16:0</b>	14,3 ± 0,1	14,3 ± 0,2	14,2 ± 0,2	14,3 ± 0,0	14,4 ± 0,1	13,8 ± 0,0
<b>C16:1</b>	5,0 ± 0,2	4,6 ± 0,0	4,9 ± 0,2	5,0 ± 0,2	4,8 ± 0,0	5,1 ± 0,0
<b>C17:0</b>	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C17:1</b>	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
<b>C18:0</b>	2,1 ± 0,0	2,1 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,1 ± 0,0	2,1 ± 0,0
<b>C18:1n11+n9</b>	11,6 ± 0,0	12,4 ± 0,0	11,2 ± 0,0	12,0 ± 0,0	12,0 ± 0,0	11,0 ± 0,0
<b>C18:1n7</b>	2,1 ± 0,0	2,2 ± 0,0	1,9 ± 0,0	2,2 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0
<b>C18:2n6</b>	1,6 ± 0,0	1,6 ± 0,0	1,6 ± 0,0	1,6 ± 0,0	1,7 ± 0,0	1,6 ± 0,0
<b>C18:3n6</b>	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C18:3n3</b>	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0
<b>C18:4n3 (SDA)</b>	5,1 ± 0,0	4,9 ± 0,0	5,3 ± 0,0	4,9 ± 0,0	5,0 ± 0,0	5,3 ± 0,0
<b>C20:0</b>	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
<b>C20:1</b>	9,1 ± 0,2	9,0 ± 0,0	9,2 ± 0,1	8,9 ± 0,0	8,7 ± 0,0	9,1 ± 0,0
<b>C20:2n6</b>	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C20:3n6</b>	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
<b>C20:4n6</b>	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
<b>C20:3n3</b>	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
<b>C20:4n3</b>	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0
<b>C20:5n3 (EPA)</b>	7,3 ± 0,0	7,5 ± 0,0	7,5 ± 0,0	7,6 ± 0,0	7,5 ± 0,0	7,7 ± 0,0
<b>C22:0</b>	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
<b>C22:1n11</b>	10,8 ± 0,0	10,3 ± 0,0	10,8 ± 0,3	10,4 ± 0,0	10,2 ± 0,1	10,8 ± 0,1
<b>C22:1n9</b>	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,6 ± 0,2
<b>C22:2</b>	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
<b>C22:3</b>	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
<b>C22:4</b>	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
<b>C22:5n3 (DPA)</b>	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,1 ± 0,0
<b>C24:0</b>	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,5 ± 0,7	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
<b>C22:6n3 (DHA)</b>	8,8 ± 0,2	9,7 ± 0,0	9,4 ± 0,1	9,7 ± 0,0	9,3 ± 0,1	9,6 ± 0,1
<b>C24:1n9</b>	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0
<b>Sum fettsyrer</b>	94,3 ± 0,4	94,5 ± 0,2	94,9 ± 0,4	94,6 ± 0,0	94,3 ± 0,0	94,4 ± 0,2
<b>Sum ukjente</b>	5,7 ± 0,4	5,5 ± 0,2	5,1 ± 0,4	5,4 ± 0,0	5,7 ± 0,0	5,6 ± 0,2
<b>Sum mettet fett</b>	25,5 ± 0,1	24,9 ± 0,2	25,8 ± 1,1	25,1 ± 0,1	25,7 ± 0,1	24,8 ± 0,0
<b>Sum MUFA</b>	40,5 ± 0,5	40,5 ± 0,0	40,0 ± 0,5	40,3 ± 0,2	39,7 ± 0,1	39,9 ± 0,1
<b>Sum PUFA</b>	28,2 ± 0,2	29,2 ± 0,0	29,2 ± 0,2	29,2 ± 0,1	28,9 ± 0,1	29,8 ± 0,1
<b>sum omega-3</b>	24,9 ± 0,2	26,0 ± 0,1	25,9 ± 0,1	25,9 ± 0,1	25,5 ± 0,1	26,5 ± 0,1

I tabell 3.3 ble det vist at olje ekstrahert fra makrell inneholdt et bredt spekter av fettsyrer. Det ble ikke funnet noen tydelige endringer og forskjeller i prosentvis fordeling av fettsyrer mellom oktober- og januarmakrell. Totalsum av fettsyrer i oljeprøver varierte fra 94,3% til 94,6%. Fettsyrefordelingen i makrell var dominert av MUFA ( $39,7 \pm 0,1\%$  -  $40,4 \pm 0,5\%$ ), etterfulgt av PUFA ( $28,2 \pm 0,2\%$  -  $29,8 \pm 0,1\%$ ) og mettede fettsyrer ( $24,8 \pm 0,0\%$  -  $25,8 \pm 1,1\%$ ). Resultater samsvarer med tidligere funn gjort i makrellrestråstoff fra september. Al-Janabi (2016) fant sum av fettsyrer, MUFA, PUFA, mettede fettsyrer og omega-3 på henholdsvis 94,1%, 42,7%, 29,9%, 21,7% og 26,6%.

Det er ønskelig med et høyt innhold av PUFA, da det er her man finner omega-3 fettsyrene. Høyest numerisk innhold av PUFA ble funnet i innmat (jan) og lavest i HRH (okt). Den praktiske betydningen av forskjellen er trolig lav. Innhold av PUFA er stabilt i alle fraksjoner, og også mellom fangsttidspunkt. I en studie utført av Tanakol, Yazici, Sener og Sencer (1999), hvor fettsyresammensetningen hos makrell ble undersøkt, var palmitinsyre (C16:0), oleinsyre (C18:1), EPA og DHA de mest omfattende individuelle fettsyrene som ble funnet. Og av PUFA-er utgjorde EPA og DHA størsteparten av omega-3 fettsyrene. Dette er i samsvar med funn i denne mastergradsoppgaven hvor palmitinsyre og oleinsyre ble funnet på henholdsvis  $13,8 \pm 0,0\%$  -  $14,4 \pm 0,1\%$  og  $11,0 \pm 0,0\%$  -  $12 \pm 0,0\%$ , og høyest konsentrasjon av omega-3 fettsyrene ble vist i DHA og EPA, på henholdsvis  $8,8 \pm 0,2$  -  $9,7 \pm 0,0\%$  og  $7,3 \pm 0,0$  -  $7,7 \pm 0,0\%$ . Romotowska, Karlsdóttir, et al. (2016) fant også et innhold av DHA og EPA i makrell (landet i september) på henholdsvis 11,1% og 7,9%. Uavhengig av fangsttidspunkt er makrell en rik kilde til de sunne omega-3 fettsyrer.

Resultater av totalt lipidinnhold i fraksjonene presentert tidligere i denne studien (3.1.2 *Kjemiske sammensetningen av råstoffet*), viste at lipidinnholdet var høyest i oktobermakrell. Variasjoner i lipidinnhold ser ikke ut til å påvirke fettsyresammensetningen bemerkelsesverdig. Selv om fettlagre og TAG blir brukt som næring hos fisk gjennom vinteren, vil ikke nedbrytningen endre fettsyresammensetningen. TAG inneholder trolig likt av alle fettsyrer, selv ved lavere konsentrasjoner.

#### 3.1.4 NMR-analyser – Lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i triglyserider

NMR spekteret gir informasjon om både lipidklasser og posisjoneringer av fettsyrer i TAG. NMR er en ikke-mållrettet teknikk som kan detektere/kvantifisere sammensetningen av olje og dermed se endringer og forskjeller i lipidklasser. Lipidklasseanalyse og posisjonering ble utført som en screening. Det vil si at ett spekter for hver oljeprøve ble analysert for å se om det var forskjeller i fettclassesammensetningen i oljer ekstrahert fra

fraksjonene HRH, innmat og samfengt mellom fangsttidspunkt. Da dette ble utført som en screening er det ikke benyttet statistiske tester for å vurdere signifikante forskjeller mellom prøvene.

## Lipidklasser

Resultatene fra NMR teknikkene  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  og  $^{13}\text{C}$  fremstilles samlet og er vist i tabell 3.4.

**Tabell 3.4**

Prosentvis fordeling av lipidklassene triglyserider (TAG), diglyserider (DAG), monoglyserid (MAG), fosfolipid (PL) og kolesterol i olje ekstrahert fra makrell-restråstoff.

	<b>TAG</b>	<b>DAG</b>	<b>MAG</b>	<b>PL</b>	<b>Kolesterol</b>
	<b>[%]</b>	<b>[%]</b>	<b>[%]</b>	<b>[%]</b>	<b>[%]</b>
<b>HRH (okt)</b>	93,9	1,9	0,08	3,1	0,9
<b>HRH (jan)</b>	93,0	2,2	0,03	3,3	1,4
<b>Samfengt (okt)</b>	93,5	2,4	0,14	2,9	1,0
<b>Samfengt (jan)</b>	92,5	3,0	0,19	3,0	1,3
<b>Innmat (okt)</b>	89,4	6,0	0,83	2,6	1,2
<b>Innmat (jan)</b>	88,5	5,2	0,64	3,7	1,9

I tabell 3.4 ser man tydelig at TAG er den dominerende lipidklassen, hvor denne utgjorde omtrentlig 89-94% av lipidene. Høye nivåer av TAG samsvarer med makrellens deponeringsmønster hvor de deponerer fett i en form av TAG (Phleger et al., 2002), og har et behov for store mengder, da de bruker TAG-lipidene som et energireserver til kontinuerlig svømming (Huss, 1995). Andelen av TAG av totalt lipid varierte lite mellom oktober- og januar makrell for de ulike fraksjonene i prøvene undersøkt. Selv om en noe høyere verdi ble vist i oktober makrell er den praktiske betydningen av forskjellen trolig lav. Mest TAG ble vist i fraksjon HRH og samfengt, mens prøver av innmat hadde noe lavere andel TAG. Dette kan forklares med at TAG er hovedsakelig lokaliserte i mørk muskulatur (Murray & Burt, 1983).

Sammenlignet med en tidligere studie, som fant innhold av PL på 7,8% i restråstoff fra makrell (Al-Janabi, 2016), ble det detektert relativt lave verdier av PL (2,6-3,7%) i denne mastergradsoppgaven. Videre ble det vist at DAG utgjorde 1,9-6,0% av lipidene, og høyest innhold ble funnet i innmat. Høyest innhold av DAG i innmat kan ha en sammenheng med at innmat er en ustabil fraksjon med stor enzymatisk aktivitet, hvor TAG kan spaltes til FFA +

DAG, og videre til MAG. Også PL vil kunne spaltes ved lagring, til eksempelvis FFA + lysoPL, eller DAG + glyserofosfat gruppen (Chen et al., 2017).

Kvantifiseringen av TAG, DAG og MAG er viktig i et næringsmiddelperspektiv ettersom DAG og MAG dannes som uønskede biprodukter ved hydrolyse (Lankhorst & Chang, 2017). Ut ifra resultatene i denne studien er det vanskelig å si om innholdet i DAG er høyere i innmat, eller i hvor stor grad PL og TAG er spaltet av til DAG/FFA. Høyere verdier kan skyldes FFA som er spaltet av PL og TAG, og derfor ses også lavere verdier av PL og TAG i innmat.

### Posisjonering av fettsyrer i TAG

Som vist tidligere i denne mastergradstudien består olje fra makrell hovedsakelig av TAG. Ulike kombinasjoner og plassering av fettsyrene i TAG (om de er lokalisert i sn1,3 eller sn2 på glyserol) gir forskjellige utgaver av TAG-molekylene. Posisjonering av fettsyrene DHA, EPA og SDA i sn-2 posisjon i TAG er vist i tabell 3.5.

#### Tabell 3.5

Tabell viser andel fettsyrer i sn-2-posisjon (mol%) av fettsyrene dokosaheksaensyre (DHA), eikosapentaensyre (EPA) og stearidonsyre (SDA) i makrell-triglyserider. Resterende fettsyrer ligger i sn-1,3 posisjon.

	<b>DHA 22:6n-3</b>	<b>EPA 20:5n-3</b>	<b>SDA 18:4n-3</b>
	<b>[mol %]</b>	<b>[mol %]</b>	<b>[mol %]</b>
<b>HRH (okt)</b>	65	23	32
<b>HRH (jan)</b>	63	25	39
<b>Samfengt (okt)</b>	67	21	33
<b>Samfengt (jan)</b>	61	32	44
<b>Innmat (okt)</b>	70	23	39
<b>Innmat (jan)</b>	66	32	40

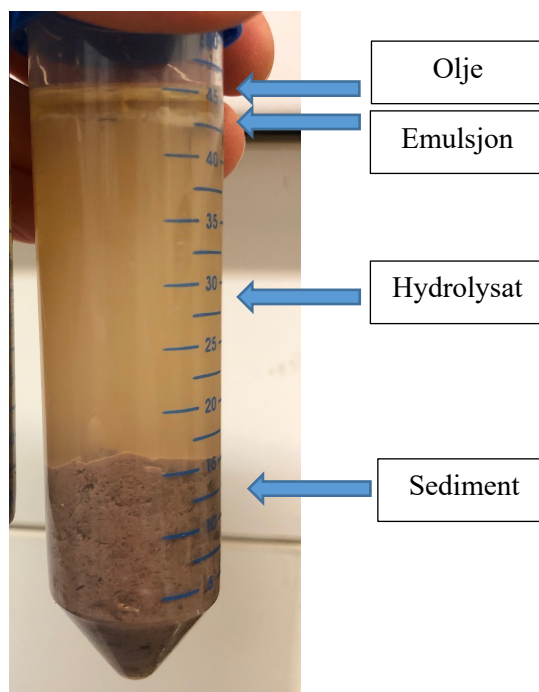
Majoriteten av DHA funnet i denne mastergradsoppgaven befant seg i posisjon sn-2 (61-70%). En mindre andel EPA (21-32%) og SDA (32-44%) befant seg i sn-2 posisjonen. Resterende vil befinne seg i sn-1,3 posisjon. Det ble vist noe høyere andel DHA i sn-2 posisjon i oktobermakrell, og en noe høyere andel EPA og SDA i sn-2 posisjon i januarmakrell, men den praktiske betydningen av forskjellen trolig lav. Posisjonering av fettsyrer i TAG vil ikke variere bemerkelsesverdig mellom fangsttidspunkt. Resultatene i denne mastergradsoppgaven er i samsvar med en tidligere studie gjort på makrell utført av Standal et al. (2009), hvor andelen av DHA, EPA og SDA i sn-2-posisjoner var på henholdsvis 75%, 30% og 40%.

### 3.2 Produksjon av FPH fra makrellrestråstoff ved enzymatisk hydrolyse

For å øke utnyttelsesgraden av makrell i Norge er det først og fremst viktig å kartlegge råstoffets kjemiske sammensetning (studie 1). Videre er det interessant å undersøke hvilke muligheter man har for å øke verdien til makrellrestråstoffet. Enzymatisk hydrolyse til produksjon av tørkede proteinprodukter (FPH og sediment) kan gi merverdi til restråstoffet. FPH av høy kvalitet og fremstilt under optimale betingelser kan benyttes i human ernæring (Nesse, Nagalakshmi, Marimuthu, & Singh, 2011; Wang-Andersen & Haugsgjerd, 2011) og dermed være med på å oppnå FNs bærekraftsmål 2 «Utrydde sult» (FN-Sambandet, 2019). I studie 2 har tørkede prøver av FPH og sediment blitt produsert ved enzymatisk hydrolyse ved forskjellige betingelser. Se kapittel 2.4 og tabell 2.4 for forsøksbetingelser.

#### 3.2.1 Utbytte av hydrolysat og massebalanse

Det sentrifugerte hydrolyseproduktet med fraksjonene olje, emulsjon, hydrolysat og sediment er vist i figur 3.6. Det er ønskelig å et stort utbytte av olje og hydrolysat, og minimalt utbytte av emulsjon og sediment (R. Slizyte et al., 2010; Spinelli, Koury, & Miller, 1972). I figur 3.6 ble det vist minimalt med emulsjon, litt olje på toppen, og et større utbytte av hydrolysat enn sediment.



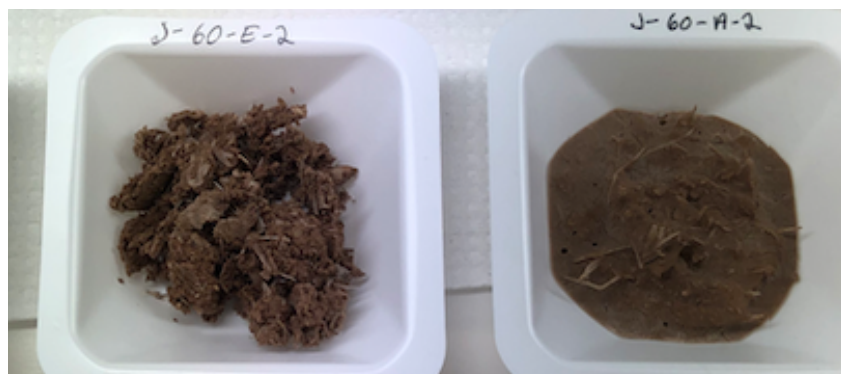
Figur 3.6 Sentrifugerør illustrerer hydrolysatet med de ulike fasene etter hydrolyse og sentrifugering av HRH (januar, 60-prøve med Alkalase). Fasene er olje på toppen, og deretter emulsjon, hydrolysat og sediment på bunnen.



Videre ble hydrolysat (FPH) og sediment frysetørket. Frysetørket FPH er vist i figur 3.7 og frysetørket sediment er vist i figur 3.8.



Figur 3.7 Frysetørket FPH. FPH fra hydrolyse med endogene enzymer til venstre og FPH fra hydrolyse med Alkalase til høyre. J-60-E-2 er prøve fra HRH (jan), 60-uttak, endogene enzymer og parallell 2. Det samme gjelder prøve J-60-A-2, men her står A for hydrolyseforsøk med tilsats av Alkalase.

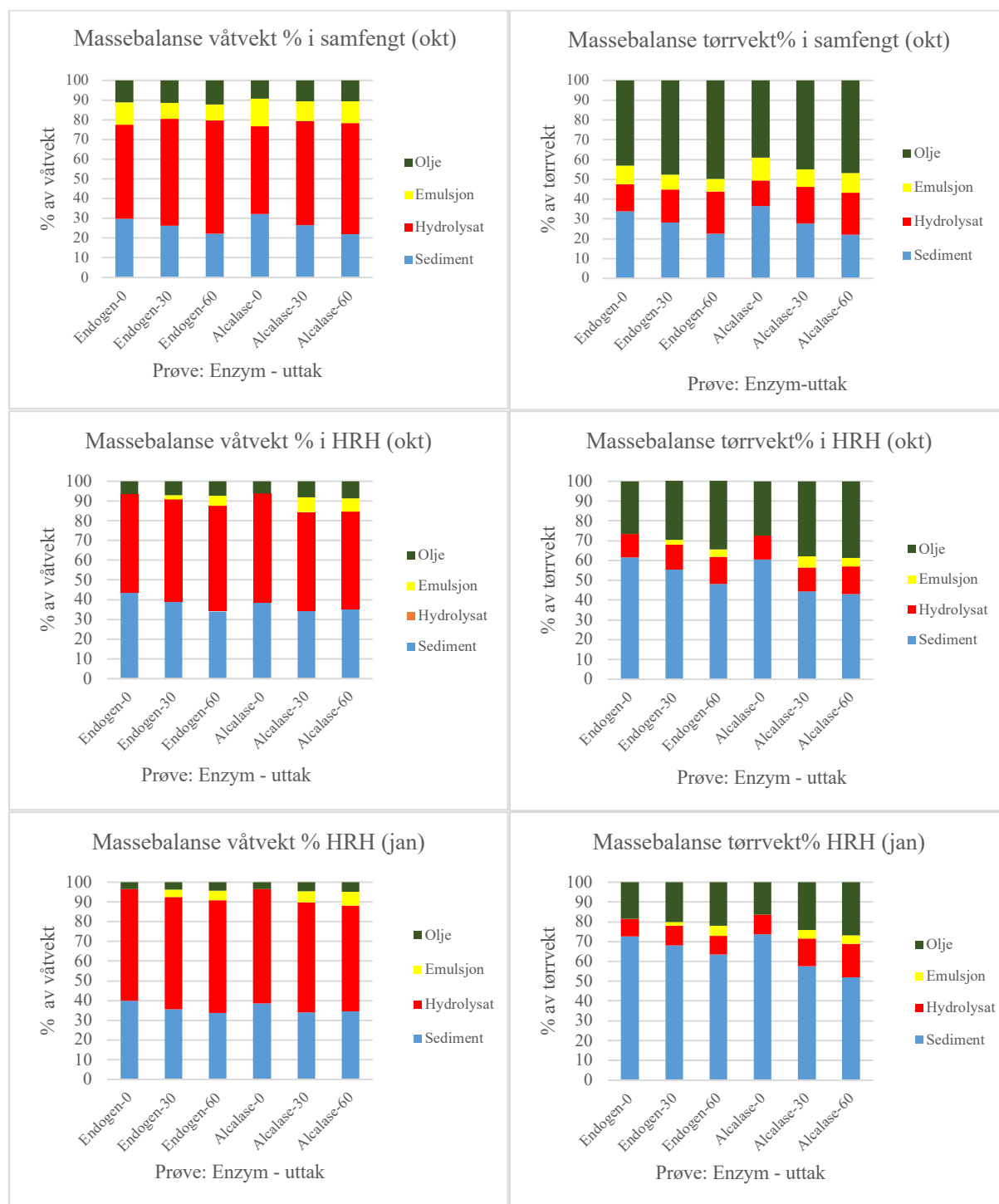


Figur 3.8 Frysetørket sediment, fra januarmakrell. Samme prøvenummerering som i figur 3.7. Sediment fra hydrolyse med endogene enzymer til venstre. Sediment fra hydrolyse med Alkalase til høyre.

I figur 3.7 og 3.8 er det vist frysetørkede prøvematerialer fra et hydrolyseforsøk med kun endogene enzymer til venstre og et hydrolyseforsøk hvor Alkalase er tilsatt til høyre. Prøvene kommer fra samme råstoff-fraksjon (HRH januar), hydrolyseuttak 60-minutter og reaktor 2. Forskjellen er enzymtilsats. Allerede før de kjemiske analysene kan det visuelt observeres at Alkalase spalter mer proteiner i prøvematerialet enn det de endogene enzymene gjør. FPH med Alkalase var mer porøst og sedimentfraksjonen var betydeligere bløtere. Analyser av vanninnhold bekreftet de visuelle observasjonene; frysetørket sediment produsert ved kun endogene enzymer hadde et vanninnhold på  $63,6 \pm 3,4\%$ , og frysetørket sediment produsert ved tilsats av Alkalase hadde et vanninnhold på  $72,7 \pm 0,9\%$ . Forskjellen var signifikant ( $P < 0,001$ ).

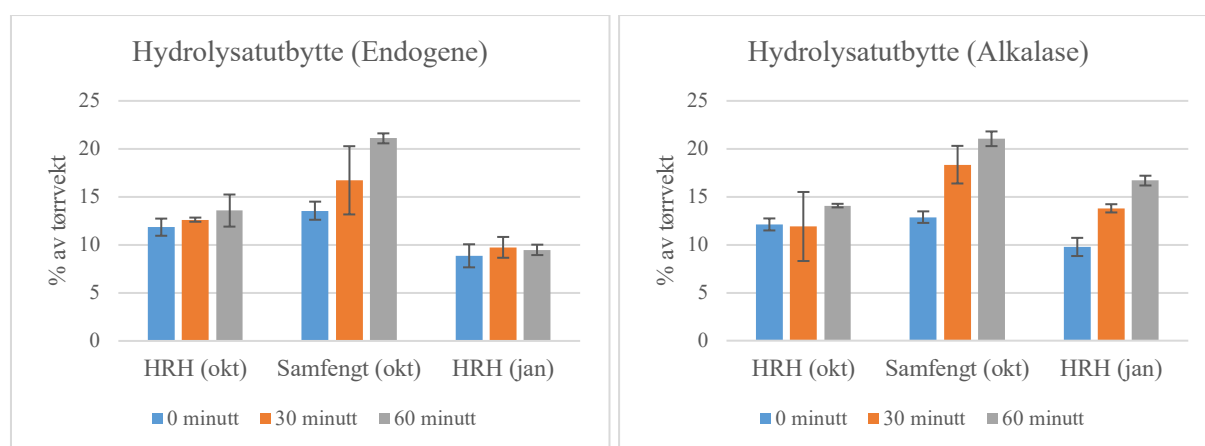
## Massebalanse – % av våt- og tørrvekt av hydrolysefraksjonene

Mengdefordelingen av de ulike fraksjonene vil variere avhengig av sammensetning og kvalitet på restråstoffet, samt hydrolysebetingelser (hydrolysetid og enzymtype i dette forsøket). Ved å kvantifisere utbyttmengden av de ulike fraksjonene, kan hydrolyseforsøkene sammenlignes og evalueres. Massebalanse i våt- og tørrvekt%, fra de ulike hydrolyseforsøkene, vist i figur 3.9. Utbyttedata er vist i vedlegg G.



Figur 3.9 Massebalansedata og fordeling av de ulike fraksjonene olje, emulsjon, hydrolysat og sediment, fra alle hydrolyseforsøk. Til venstre er % av våtvekt vist, og høyere er % av tørrvekt vist.

Massebalansen i figur 3.9 viser en tydelig redusering i sedimentfraksjonen ved lengre hydrolysetid for alle hydrolyseforsøk når % av tørrvekt studeres. Utbyttet av sedimentfraksjonen var signifikant lavest ( $P < 0,001$ ) i hydrolyseforsøk med samfengt. Emulsjonsdannelse forekom i alle hydrolyseforsøk, både med og uten tilsetning av Alkalase. Samfengt ga størst emulsjonsdannelse som muligens kan skyldes mer enzymer og lipider i denne fraksjonen. Slizyte, Dauksas, Falch, Storrø og Rustad (2005) utførte hydrolyse på torskerestråstoff og deres resultater viste også at høye lipidnivåer i råmaterialet økte mengde emulsjon. Det ble også vist en økning i emulsjonsdannelsen med hydrolysetiden. Dette kan resultere i tap av olje, fordi oljen emulgeres (R. Slizyte et al., 2010). Valg av råstoff vil ha betydning for hvor mye av materialet som brytes ned, men er også viktig med tanke på emulsjonsdannelse og medfølgende tap av olje.



Figur 3.10 Utbytte av hydrolysatfraksjonen i tørrvekt% (hvis det var 100 g tørrstoff) fra alle restråstoff-fraksjoner. Naturlig hydrolyse til venstre og hydrolyse med alkalase til høyre. Mengde hydrolysat øker med hydrolysetid. Det ses mest hydrolysatutbytte i restråstoff samfengt uttak 60.  $n=2$ .

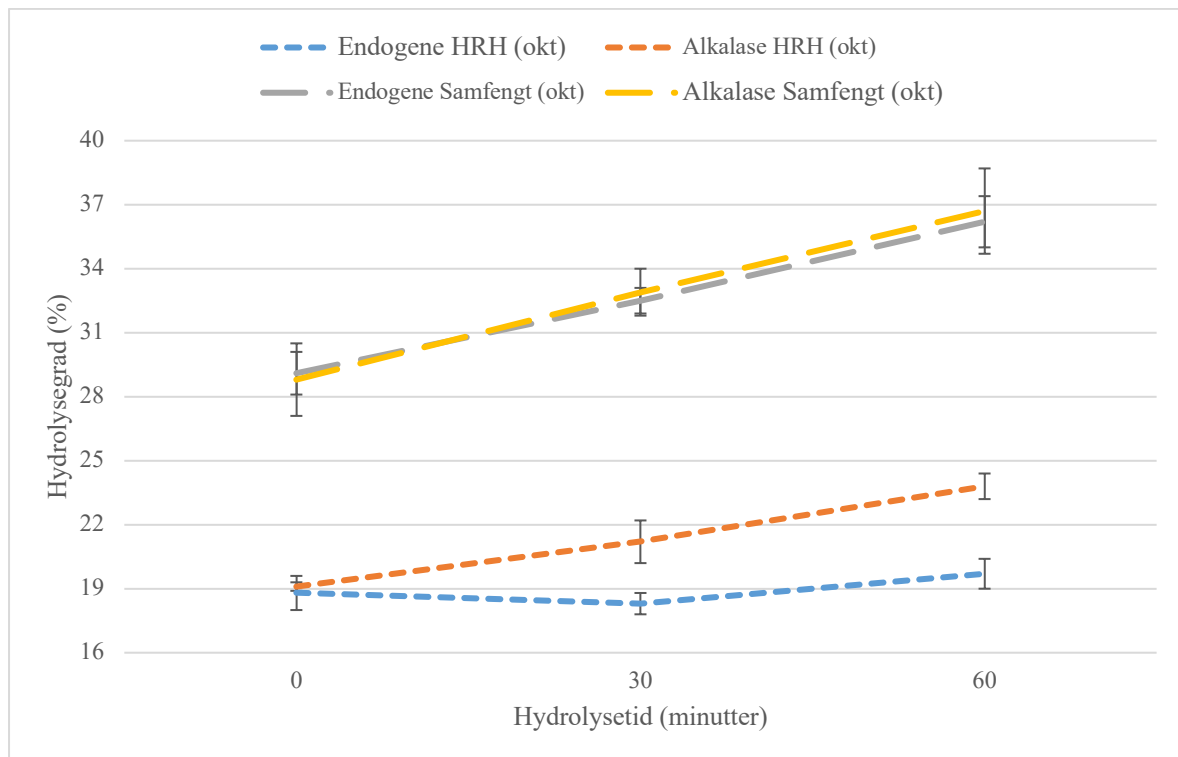
Hydrolysatutbytte fra alle hydrolyseforsøk er oppsummert i figur 3.10. Utbytte av hydrolysat var signifikant forskjellig mellom hydrolyseforsøkene ( $P < 0,006$ ). Hydrolysatutbytte økte med hydrolysetiden, hvor størst økning ble vist i hydrolyseforsøk med Alkalase. Størst hydrolysatutbytte forekom i hydrolyseforsøk med samfengt etter 60 minutter hydrolyse, hvor naturlig hydrolyse med kun endogene enzymer og hydrolyse med Alkalase ga like stort utbytte, på respektive  $21,1 \pm 0,5\%$  og  $21,0 \pm 0,8\%$ . De endogene enzymene i samfengt er aktive, og tilsats av Alkalase vil ikke være nødvendig for å øke utbyttet. Endogene enzymer har også i tidligere studier vist seg å ha god effekt på hydrolyse og oppløsningsutbytte (Aspmo et al., 2005; Derouiche, Guadix, Guadix, Gargouri, & Espejo-Carpio, 2018). For hydrolyse med HRH (jan) ble det vist størst hydrolysatutbytte (ved 60 minutter) når Alkalase ble benyttet.

Tilsats av Alkalase vil derfor være nødvendig da det ikke er nok aktive enzymer i HRH restråstoffet til å øke utbyttet av hydrolysat alene over tid.

### 3.2.2 Hydrolysegrad i FPH

Hydrolysegrad ble målt for å undersøke grad av proteinspalting. Høy hydrolysegrad indikerer større FPH-utbytte. Hydrolysegrad som funksjon av hydrolysetid i FPH er vist i figur 3.11 og 3.12.

#### Hydrolysegrad i FPH produsert av samfengt (oktobermakrell) og HRH (oktobermakrell)



Figur 3.11 Hydrolysegrad som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra samfengt og HRH oktober restråstoff, ved bruk av kun endogene enzymer og ved bruk av Alkalase. HRH oktober: n=3. Samfengt oktober: n=6.

Allerede ved start (0 minutter) ble det vist høy hydrolysegrad (FPH-utbytte) i alle prøver. Dette indikerer at det er aktive endogene enzymer i restråstoffet, som allerede under oppvarming har startet hydrolyseringen av proteiner. Det ble også vist en tydelig forskjell i utbytte etter 60 minutt hydrolyse mellom FPH produsert fra samfengt og FPH produsert fra HRH. FPH produsert fra samfengt ga et signifikant høyere utbytte ( $P < 0,001$ ). Dette har trolig en sammenheng med flere endogene enzymer i samfengt restråstoff, som spalter proteiner. Tidligere studier har også vist at de endogene enzymene i råstoffet gir økt hydrolysegrad (Aspmo et al., 2005; Pastoriza, Sampedro, Cabo, Herrera, & Bernárdez, 2004).

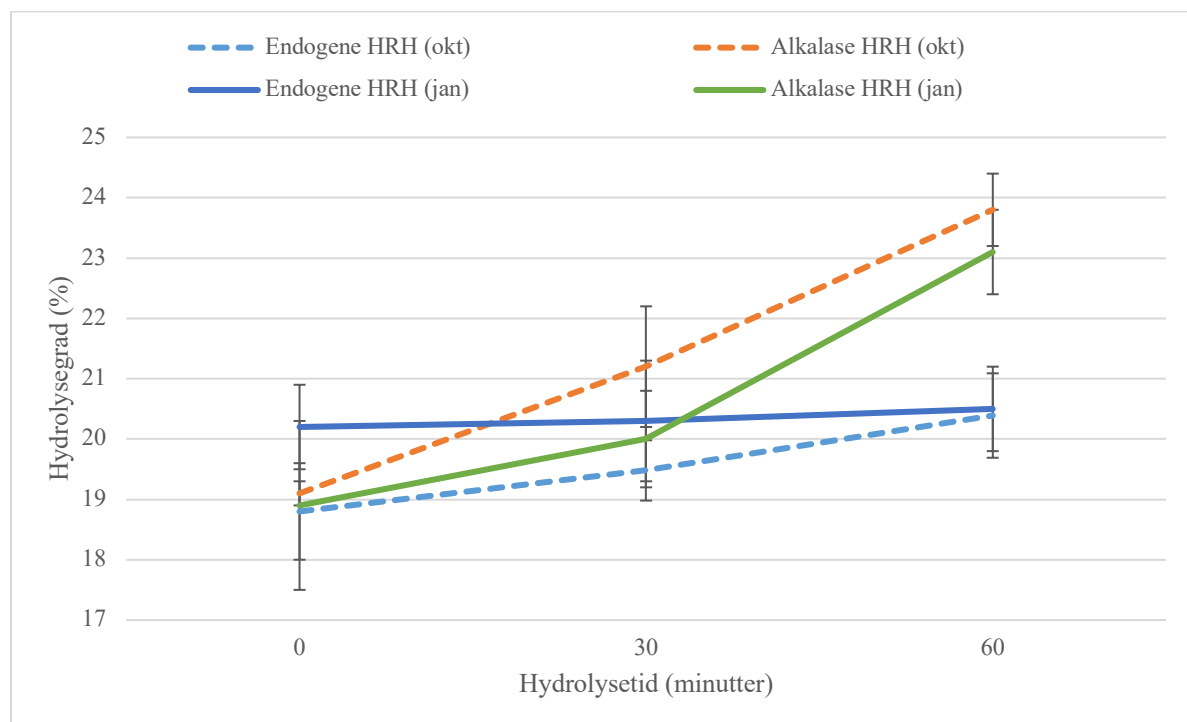
I figur 3.11 ble det også vist at hydrolysegraden øker som funksjon av tid. Økningen er signifikant ( $P < 0,001$ ) mellom 0 og 60 minutt i alle FPH-prøver, bortsett fra FPH produsert fra HRH med kun endogene enzymer. Kun endogene enzymene i HRH restråstoff vil ikke være nok til å gi en signifikant økning i FPH-utbyttet.

Når FPH produsert fra samfengt restråstoff med ulikt enzymbruk ble sammenlignet, ble det ikke funnet signifikante forskjeller ( $P > 0,719$ ) i FPH-utbyttet. Det vil derfor være unødvendig å tilsette Alkalase under hydrolyse med samfengt restråstoff. I HRH derimot, ble det funnet en signifikant økning ( $P < 0,001$ ) i FPH-utbyttet når Alkalase ble benyttet.

Hvis FPH produsert fra HRH restråstoff skal gi et like høyt FPH-utbytte som FPH produsert fra samfengt, kan det være interessant å undersøke effekt av andre hydrolysebetingelser. Det er blant annet kjent at en økning i enzymkonsentrasjon gir en økning i hydrolysegrad (Ramakrishnan et al., 2013; Zapata-Monotoya, Giraldo-Rios, & Baez-Suarez, 2018). I denne mastergradsoppgaven ble en enzymkonsentrasjon av Alkalase på 0,1% (av råstoffets våtvekt) benyttet. Ramakrishnan et al. (2013) fastslo at en enzymkonsentrasjon av Alkalase på 0,5% under hydrolyse på makrellrestråstoff var det beste med tanke på proteinutvinning og enzymkostnad.

### Hydrolysegrad i FPH produsert av HRH (oktober- og januarmakrell)

I figur 3.12 er hydrolysegrad i FPH fra HRH (oktobermakrell) og HRH (januarmakrell) vist.



Figur 3.12 Hydrolysegrad som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra HRH (oktobermakrell) og HRH (januarmakrell), ved bruk av kun endogene enzymer og ved bruk av Alkalase. HRH okt:  $n=3$ . HRH jan:  $n=6$ .

Signifikant høyere ( $P < 0,001$ ) FPH-utbytte ble funnet i FPH produsert fra HRH (både produsert fra oktober- og januarmakrell) ved bruk av Alkalase, sammenlignet ved bruk av kun endogene enzymer. I tillegg ble det vist en signifikant økning ( $P < 0,001$ ) i FPH-utbytte som funksjon av tid når Alkalase ble benyttet. Den samme økningen i FPH-utbyttet ble ikke vist i FPH produsert ved kun endogene enzymer. Tilsats av enzym vil derfor være nødvendig for å gi økt utbytte i FPH produsert fra HRH restråstoff. Hydrolysegrad er positivt korrelert med hydrolysatutbytte, og like trender i hydrolysatutbytte ble vist i massebalanse, kapittel 3.2.2 *Utbytter av hydrolysat/massebalanse*.

Det var ingen signifikant forskjell ( $P > 0,05$ ) i FPH-utbytte mellom FPH produsert fra HRH (oktober) og FPH produsert fra HRH (januar). Fangsttidspunkt har dermed ikke innvirkning på utbyttet i FPH produsert fra HRH. Eventuelle små forskjeller vil skyldes variasjoner i hvor aktive de endogene enzymene i restråstoffet er.

### 3.2.3 Den kjemiske sammensetningen i FPH

Den kjemiske sammensetningen i FPH ble bestemt ved å analysere mengde protein, tørrstoff, vann, aske, lipid. I tillegg ble aminosyresammensetningen bestemt. Sammensetningen i FPH er viktig informasjon når effekt av ulike hydrolysebetingelser skal evalueres. Det gir også informasjon om kvalitet og næringsinnhold, som er viktig i et næringsperspektivet (Chalamaiah et al., 2012).

Det er eksempelvis ønskelig å produsere hydrolysater med et høyt proteininnhold bestående av mindre peptider, samt hydrolysater med et lavt innhold av fett (Gildberg, 1993; Kristinsson & Rasco, 2000a). FPH med høyt proteininnhold kan potensielt brukes som proteintilskudd i menneskelig ernæring (Chalamaiah et al., 2012), og lave fettnivåer gir bedre lagringsstabilitet på grunn av redusert sannsynlighet for lipidoksidasjon (Ovissipour et al., 2009). Den kjemiske sammensetningen til FPH produsert fra alle hydrolyseforsøk er oppsummert i tabell 3.6.

**Tabell 3.6**

Kjemisk sammensetning i FPH. Viser fordeling av protein, vann, aske og fett i % (g/100g i tørrvekt).

Data er presentert som gjennomsnittverdi av «n» paralleller  $\pm$  SD.

Hydrolyse- tid (min)	Enzym	Restråstoff	Protein [%] (n=8) <sup>1</sup>	Vann [%] (n=4) <sup>2</sup>	Aske [%] (n=4) <sup>2</sup>	Fett [%] (n=4) <sup>2</sup>
0	Endogene	Samfengt (okt)	68,2 $\pm$ 0,1	5,1 $\pm$ 0,2	25,3 $\pm$ 0,2	2,3 $\pm$ 1,5
30			70,2 $\pm$ 0,8	5,5 $\pm$ 0,1	23,1 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,5
60			70,4 $\pm$ 0,9	5,8 $\pm$ 0,1	21,6 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 0,3
0	Alkalase		66,7 $\pm$ 0,8	4,9 $\pm$ 0,3	27,1 $\pm$ 0,7	0,6 $\pm$ 0,3
30			69,2 $\pm$ 0,5	5,5 $\pm$ 0,3	23,2 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2
60			70,0 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,5	21,7 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,1
0	Endogene	HRH (okt)	53,7 $\pm$ 0,8	3,0 $\pm$ 0,0	42,0 $\pm$ 0,0	4,2 $\pm$ 1,0
30			57,0 $\pm$ 0,9	2,7 $\pm$ 0,0	41,8 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,1
60			57,5 $\pm$ 0,7	2,7 $\pm$ 0,3	40,6 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,2
0	Alkalase		52,4 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 0,2	44,4 $\pm$ 0,3	3,1 $\pm$ 0,4
30			66,0 $\pm$ 0,7	2,4 $\pm$ 0,3	30,2 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,1
60			68,6 $\pm$ 0,8	1,6 $\pm$ 0,1	29,2 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,0
0	Endogene	HRH (jan)	70,1 $\pm$ 0,5	4,1 $\pm$ 1,0	25,8 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,7
30			72,2 $\pm$ 0,7	3,9 $\pm$ 0,4	24,3 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,4
60			72,6 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 0,7	23,3 $\pm$ 0,9	2,6 $\pm$ 0,4
0	Alkalase		72,3 $\pm$ 2,4	3,6 $\pm$ 0,3	24,0 $\pm$ 0,2	2,4 $\pm$ 0,4
30			81,5 $\pm$ 2,0	4,4 $\pm$ 0,4	15,5 $\pm$ 0,9	1,0 $\pm$ 0,0
60			81,7 $\pm$ 1,8	5,5 $\pm$ 0,5	13,5 $\pm$ 0,6	1,2 $\pm$ 0,2

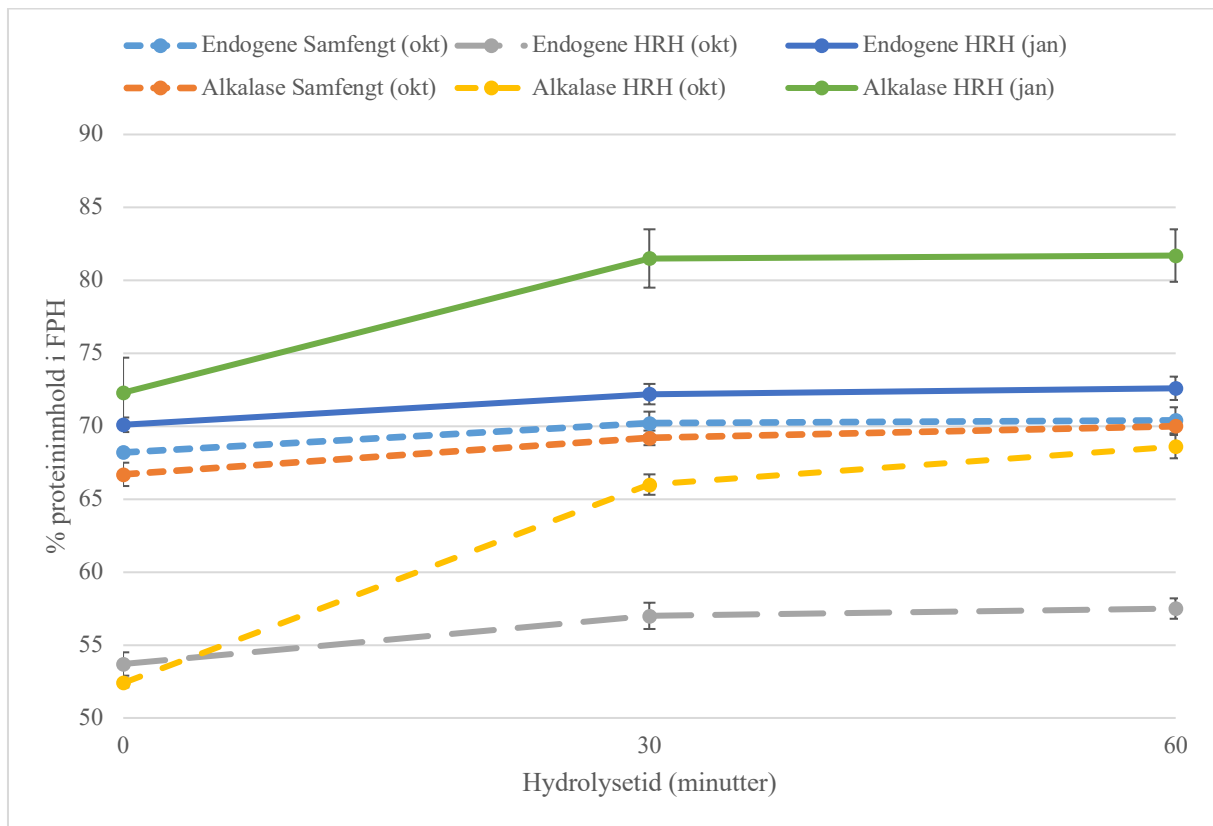
<sup>1</sup> HRH (okt): n=4 (protein)

<sup>2</sup> HRH (okt): n=2 (vann, aske og fett)

### Proteininnhold i FPH

FPH-prøver hadde et høyt innhold av proteiner, hvor proteinkonsentrasjon varierte fra 52,4  $\pm$  0,3% til 81,7  $\pm$  1,8% (g/100g i tørrvekt). Flere studier har rapportert om tilsvarende proteininnhold i FPH fra fiskerestråstoff (Chalamaiah et al., 2012; Ovissipour et al., 2009; Romotowska et al., 2017). I figur 3.13 er proteinkonsentrasjon i FPH som funksjon av hydrolysetid vist. Proteinkonsentrasjonen økte signifikant med hydrolysetid i alle prøver ( $P < 0,001$ ). Størst proteinkonsentrasjon ble vist etter 60 minutter hydrolyse. Med tanke på

proteinutvinning fra makrellrestråstoff og enzymkostand har Ramakrishnan et al. (2013) anbefalt 1 time hydrolysetid.



Figur 3.13 Proteininnhold i FPH som funksjon av hydrolysetid. Like striped linjer indikerer likt restråstoff. Samfengt oktober: n=8. HRH oktober: n=4. HRH januar: n=8.

Proteinkonsentrasjonen var signifikant høyere ( $P < 0,001$ ) i FPH produsert fra HRH (oktober) og HRH (januar) etter 60 minutt når Alkalase ble benyttet, sammenlignet med FPH produsert ved kun bruk av endogene enzymer. Den samme forskjellen i proteinkonsentrasjon ble ikke funnet i FPH produsert fra samfengt (okt) ( $P > 0,245$ ). Enzymtilsetning i samfengt vil ikke øke proteinkonsentrasjonen.

Størst proteinkonsentrasjon ble funnet i FPH produsert fra HRH (januar) ved bruk av Alkalase etter 60 minutter hydrolysetid ( $81,7 \pm 1,8\%$ ). Proteinkonsentrasjonen var signifikant større ( $P < 0,001$ ) i FPH produsert fra HRH (januar) med bruk av Alkalase, sammenlignet med de andre FPH-prøvene ved samme hydrolysetid og enzymbruk. Dette selv om FPH-utbyttet ikke var størst i FPH produsert fra HRH (januar). En tidligere studie har vist at større fisk (av samme art) har en lavere proteinkonsentrasjon og høyere askeverdier, sammenlignet med mindre fisk (Toppe, Albrektsen, Hope, & Aksnes, 2007). Dette samsvarer med resultatene i denne studien. I studie 1 ble det vist at oktobermakrell veide i snitt 62,4% mer enn



januarmakrell. Av data vist i tabell 3.6. kan man se lavere proteinkonsentrasjon og høyere askeverdier i oktobermakrell, sammenlignet med januarmakrell.

Proteinkonsentrasjonen korrelerte også med mengde lipider i råmaterialet. Fra studie 1 ble det vist at lipidinnholdet var størst i restråstoff-fraksjonene samfengt (oktober) og HRH (oktober), på henholdsvis  $21,5 \pm 0,6\%$  og  $20,1 \pm 2,3\%$ , og lavest i HRH (januar), på  $15,7 \pm 0,7\%$ . Høyest proteinkonsentrasjon ses altså i råmaterialet med lavest lipidinnhold. Dette kan begrunnes med at høyere andel lipider i råmaterialet gir en større oljefraksjon etter hydrolyse, noe som fører til en proporsjonel reduksjon av hydrolysatet. Like funn ble også vist en studie hvor hydrolyse med torskeråstoff ble undersøkt (Šližyte et al., 2005).

### **Vann- og askeinnhold i FPH**

I denne studien varierte vanninnholdet i FPH fra  $1,6 \pm 0,1\%$  til  $5,8 \pm 0,1\%$  (g/100 g i tørrvekt), og ligger dermed innenfor anbefalt grenseområde som er 5 - 7,5% for FPH (Buinov, Ginzburg, & Syroedov, 1977). Andre studier har også vist et vanninnhold under 10% i FPH (Bhaskar et al., 2008; Chalamaiah et al., 2012)

Askeinnholdet i FPH-prøvene varierte fra  $13,5 \pm 0,6$  til  $44,4 \pm 0,3\%$  (g/100 g i tørrvekt). Det er ønskelig å ha et lavt innhold av aske i hydrolysatene. Askeinnholdet vil reflekterer uorganisk materiale i FPH, og generelt vil askeinnholdet skyldes av bein- og hodefraksjonene i råstoffet (Batista, Ramos, Coutinho, Bandarra, & Nunes, 2010). Det er lite tilgjengelig litteratur om askeinnhold i FPH produsert fra makrellrestråstoff. Carvajal, Slizyte, Storrø og Aursand (2015) rapportere om et askeinnhold på  $14,7 \pm 0,4\%$  i FPH produsert fra sild ved bruk av Alkalase. Andre studier har rapportert om et askeinnhold i ulike FPH i området 0,45 - 27% (av total sammensetning) (Benjakul & Morrissey, 1997; Bhaskar et al., 2008).

Det ble funnet et høyt askeinnhold i FPH produsert fra HRH (oktober) ( $29,2 \pm 0,2\%$  -  $44,4 \pm 0,3\%$ ), og askeinnholdet er langt over tidligere rapporterte mengder. Mengde aske i råstoff fra HRH (oktober) ( $5,1 \pm 0,2\%$ ) var noe høyere sammenlignet med i askeinnholdet i råstoff fra HRH (januar) ( $3,3 \pm 0,5$ ). Denne forskjellen er av liten praktisk betydning for askeinnholdet i FPH, da råstoff HRH (oktober) hadde et askeinnhold som anses som normalt. En forklaring på det høye askeinnholdet kan være fremmedlegemer som har blitt med prøven og gitt et falskt forhøyet askeinnhold. Tidligere studier har rapportert om høyere askeinnhold i FPH når syre eller base tilsettes for justering av pH i prøve (Chalamaiah et al., 2012). Men dette kan ikke ha vært tilfelle i denne studien da pH ikke ble justert.

**Tabell 3.7**

Askeinnhold i FPH. Sammenligning av askeinnhold i FPH mellom 0 minutters prøve og 60 minutters prøve, hvor signifikante forskjeller presenteres som P-verdi til høyre i tabell. Tabellen viser også en sammenligning av askeinnhold i FPH mellom ulike enzymbruk, hvor ulike små bokstaver indikerer signifikante forskjeller. Samfengt (okt) n=4. HRH (okt) n=2. HRH (jan) n=4.

Prøve	Enzym	Aske [%] i FPH		P-verdi
		0-prøve	60-prøve	
Samfengt (okt)	Endogene	25,3 ± 0,2	21,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	<i>P</i> < 0,001
	Alkalase	27,1 ± 0,7	21,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	<i>P</i> < 0,001
HRH (okt)	Endogene	42,0 ± 0,0	40,6 ± 0,2	<sup>i</sup>
	Alkalase	44,4 ± 0,3	29,2 ± 0,2	
HRH (jan)	Endogene	25,8 ± 0,3	23,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	<i>P</i> < 0,002
	Alkalase	23,9 ± 0,2	13,5 ± 0,6 <sup>b</sup>	<i>P</i> < 0,001

<sup>1</sup> Det er noe usikkerhet i askeresultater fra HRH oktobermakrell på grunn av n=2. For lite grunnlag til å vurdere signifikante forskjeller.

Det ble funnet forskjeller i askeinnhold som funksjon av hydrolysetid i FPH-prøver. Se tabell 3.7 for signifikansdata. Minst aske ble vist i FPH etter 60 minutter hydrolyse. Ved lengre hydrolysetid, hydrolyseres mer proteiner og proteinkonsentrasjon i FPH øker, noe som vil resultere i at prosentvis aske går ned.

Askeinnhold i FPH (60-minutters prøve) produsert fra HRH (oktober) og HRH (januar) ved bruk av Alkalase, ga også lavere askeinnhold sammenlignet med FPH produsert ved kun endogene enzymer. FPH produsert fra samfengt (oktober) viste ingen signifikante forskjeller i askeinnhold når ulike enzymbruk ble sammenlignet.

### Lipidinnhold i FPH

Det er ønskelig å ha et lipidinnhold lavere enn 0,5% (av tørrvekt) når man skal produsere FPH av høy kvalitet (R. Slizyte et al., 2010; Spinelli et al., 1972). Lavere lipidnivåer vil minimere oksidasjon og dermed bevare kvaliteten i de tørkede hydrolysatprøvene. Et av målene med enzymatisk hydrolyse er å skille lipidene fra proteinfraksjonen og redusere lipidinnholdet.

Bestemmelse av totalt lipidinnhold i FPH ga noe unøyaktig resultater. For enkelte prøver var det store standardavvik mellom parallellene (reaktor 1 og 2), og lite sammenheng i lipidinnhold og hydrolysetid. Eksempelvis varierte lipidinnholdet fra 1,0% til 3,6% i samme prøve, men fra ulike reaktorer. Det ble tatt kontrollprøver på avvikende paralleller for å undersøke om avvik skyldtes forhold ved utførelse av metode, men like resultater i lipidinnhold ble også

da påvist. Varierende lipidinnhold mellom reaktor 1 og reaktor 2, og generelt høye lipidverdier i hydrolysaten, kan skyldes flere faktorer. Fileteringsprosessen kan ha skjedd ulikt og/eller unøyaktig. Sentrifugeringen etter hydrolyse har ikke vært optimal og kan ha medført dårlig separasjon av fraksjonene. Videre kan den manuelle fraksjonsseparasjonen ikke blitt utført nøyaktig nok. Dette ble utført av undertegnende med en medstudent hvor det var første gangen dette ble gjort. Med lite kjennskap til utseende av de ulike fraksjonene, spesielt hva som var olje, emulsjon og hydrolysat, er det store sannsynligheter for at mer fett enn nødvendig har blitt inkludert i hydrolysatet. I tillegg vil filtrering av tint hydrolysat gjennom glassull være en lite optimal metode, da glassull ikke stopper hydrofobe molekyler (molekyler som finnes i olje) i å trenge gjennom glassulla. Dette må tas med i betraktning ved vurdering av resultater. Resultater med store standardavvik er ikke egnet for nøyaktig og riktig bestemmelse av lipidinnhold i FPH. Rasa Slizyte et al. (2016) viste at mengde lipider i FPH vil reduseres betydelig hvis olje fra råstoffet separeres før hydrolyse. En slik oljeseparasjon før hydrolyse ville vært et godt alternativ i dette forsøket for å produsere hydrolysater med lavere lipidinnhold.

Lipidinnholdet i FPH-prøvene i denne studien varierte fra  $0,6 \pm 0,3$  -  $4,2 \pm 1,0\%$  (g/100 g i tørrvekt) (se tabell 3.3). Flere tidligere studier har rapportert om lipidinnhold under 5% i ulike FPH (Bhaskar et al., 2008; Chalamaiah et al., 2012; Ovissipour et al., 2009). Carvajal et al. (2015) rapporterte om et lipidinnhold på  $1,6 \pm 0,4\%$  i FPH produsert fra silderestråstoff (lignende samfengt) ved bruk av Alkalase. Ved enzymtilsetning og lengre hydrolysetid er det ønskelig å redusere mengde lipider i FPH. Effekten av tilsetning av Alkalase er vist i tabell 3.8, og effekt av hydrolysetid er vist i tabell 3.9.

#### *Totalt lipidinnhold, endogen vs. Alkalase (60-prøver)*

FPH-prøvene som er produsert ved bruk av Alkalase hadde et lavere lipidinnhold sammenlignet med FPH produsert ved bruk av kun endogene enzymer. Se tabell 3.5 for signifikansdata. Alkalase har en større effekt på proteinnedbrytningen, som ble vist tidligere i denne studien, noe som resulterer til mer frigjørelse av fett fra proteinkomponentene i prøven.

**Tabell 3.8**

Totalt lipidinnhold i % (g/100 g i tørrvekt) i FPH (60-prøver) produsert ved bruk av kun endogene enzymer og ved bruk av Alkalase.

<b>Lipidinnhold [%] i FPH</b>				
<b>Prøve</b>		<b>60-prøve - endogene</b>	<b>60-prøve - Alkalase</b>	<b>P-verdi</b>
<b>Samfengt (okt)</b>	n=4	1,3 ± 0,3	0,9 ± 0,1	<i>P</i> < 0,072
<b>HRH (okt)</b>	n=2 <sup>1</sup>	1,5 ± 0,2	1,1 ± 0,0	
<b>HRH (jan)</b>	n=4	2,6 ± 0,4	1,2 ± 0,2	<i>P</i> < 0,001

<sup>1</sup> Det er noe usikkerhet i lipidresultatene fra HRH okt-makrell på grunn av N=2, og derfor for lite grunnlag til å vurdere signifikante forskjeller. Men en numerisk forskjell kan ses.

#### *Totalt lipidinnhold, hydrolysetid 0-minutters prøve vs. 60-minutters prøve*

FPH-prøver produsert fra HRH restråstoff (fra både oktober- og januarmakrell) ved bruk av Alkalase, hadde en reduksjon i lipidinnhold ved lengre hydrolysetid. Mens FPH produsert fra samfengt ved bruk av Alkalase, hadde ikke en reduksjon i lipidinnhold ved lengre hydrolysetid. Det ble heller ikke vist signifikant reduksjon i lipidinnhold i FPH produsert ved bruk av kun endogene enzymer, ved lengre hydrolysetid. Tabell 3.9 viser signifikansdata.

**Tabell 3.9**

Totalt lipidinnhold i % i FPH. Sammenligning i lipidinnhold mellom 0 og 60 minutt hydrolyse i FPH produsert ved bruk av Alkalase, og ved bruk av kun endogene enzymer. Signifikante forskjeller i lipidinnhold med hensyn til hydrolysetid er vist som P-verdi i høyre kolonne. Forskjellige små bokstaver mellom kolonnene viser signifikante forskjeller i lipidinnhold i FPH produsert fra ulike restråstoff-fraksjoner.

<b>Lipidinnhold [%] i FPH</b>				
<b>Prøve</b>		<b>0-min – Alkalase</b>	<b>60-min – Alkalase</b>	<b>P-verdi</b>
<b>Samfengt (okt)</b>	n=4	0,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,1	<i>P</i> > 0,219
<b>HRH (okt)</b>	n=2	3,1 ± 0,4 <sup>1</sup>	1,1 ± 0,0 <sup>1</sup>	<sup>1</sup>
<b>HRH (jan)</b>	n=4	2,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,2	<i>P</i> < 0,006
		<b>0-min - Endogen</b>	<b>60-min - Endogen</b>	
<b>Samfengt (okt)</b>	n=4	2,3 ± 1,5 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,3	<i>P</i> > 0,273
<b>HRH (okt)</b>	n=2	4,2 ± 1,0 <sup>1</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>1</sup>	<sup>1</sup>
<b>HRH (jan)</b>	n=4	2,0 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,4	<i>P</i> > 0,056

<sup>1</sup> Det er noe usikkerhet i lipidresultatene fra HRH okt-makrell på grunn av n=2, og derfor for lite grunnlag til å vurdere signifikante forskjeller. Med det ble vist numeriske forskjeller mellom 0-minutters prøve og 60-minutters prøve.

### *Totalt lipidinnhold i FPH produsert fra ulike restråstoff-fraksjon*

Totalt lipidinnhold i FPH (0-prøver) varierte noe mellom hvilken restråstoff-fraksjon som hadde blitt brukt til produksjon av FPH. I tabell 3.9 indikerer små bokstaver mellom kolonnene signifikante forskjeller i lipidinnhold mellom FPH fremstilt fra ulike restråstoff-fraksjoner. I teorien er «0-minutters prøve Alkalase» og «0-minutters prøve endogen» den samme prøven, da 0-minutters prøve er hydrolysat uten tilsats av Alkalase. I tabell 3.9 er det vist store forskjeller i lipidinnhold mellom disse prøvene. Dette kan skyldes forhold som ble diskutert tidligere.

### **Aminosyresammensetning i FPH**

Aminosyresammensetningen i FPH ble analysert for å undersøke om enzyμβruk og restråstoff hadde innvirkning på sammensetning og innhold av aminosyrer. Fra tidligere resultater i den denne studien har størst FPH-utbytte og proteinkonsentrasjon i FPH blitt vist i 60 minutters prøver. Tabell 3.10 viser aminosyreprofil i FPH (60-prøver) fra Nordatlantisk makrell. Aminosyresammensetning fra 0- og 30-minutters prøver kan ses i vedlegg L.

**Tabell 3.10**

Aminosyresammensetning i FPH (60-prøver). Resultater er gitt som gjennomsnitt g aminosyre per 100 g tørket prøve  $\pm$  SD. EAA er uthevet i fet skrift.

FPH 60-prøver	Samfengt (okt) n=4	Samfengt (okt) n=3	HRH (okt) n=2	HRH (okt) n=2	HRH (jan) n=5	HRH (jan) n=3
Aminosyrer/ Enzym	Endogen	Alkalase	Endogen	Alkalase	Endogen	Alkalase
Taurin	0,5 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,0	0,9 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,9	1,8 $\pm$ 0,6
Methionine-sulfoxid	-	-	-	-	-	-
Hydroxyprolin	1,7 $\pm$ 1,1	0,6 $\pm$ 0,0	1,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,0	1,8 $\pm$ 0,2	1,1 $\pm$ 0,0
Asparginsyre+Asparagin	5,1 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,2	4,6 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 0,1	5,2 $\pm$ 0,3
<b>Treonin</b>	<b>2,2 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>2,3 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>1,1 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,0 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,5 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,5 <math>\pm</math> 0,2</b>
Serin	2,8 $\pm$ 0,1	3,1 $\pm$ 0,0	2,0 $\pm$ 0,0	2,6 $\pm$ 0,0	2,8 $\pm$ 0,4	3,6 $\pm$ 0,3
Glutaminsyre+Glutamin	7,6 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,6	5,4 $\pm$ 0,1	7,6 $\pm$ 0,0	6,1 $\pm$ 0,3	8,4 $\pm$ 0,4
Prolin	2,6 $\pm$ 0,0	2,8 $\pm$ 0,3	2,4 $\pm$ 0,1	2,7 $\pm$ 0,0	3,5 $\pm$ 0,5	3,9 $\pm$ 0,3
Glysin	4,7 $\pm$ 0,1	4,7 $\pm$ 0,4	6,1 $\pm$ 0,1	5,5 $\pm$ 0,0	8,1 $\pm$ 0,4	6,4 $\pm$ 0,4
Alanin	3,5 $\pm$ 0,1	3,8 $\pm$ 0,2	2,9 $\pm$ 0,1	3,6 $\pm$ 0,0	4,6 $\pm$ 0,9	5,4 $\pm$ 0,8
Cystin	0,1 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,7	-	-	0,2 $\pm$ 0,5	1,1 $\pm$ 0,7
<b>Valin</b>	<b>3,0 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>3,2 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,2 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>2,5 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,5 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>3,0 <math>\pm</math> 0,1</b>
<b>Metionin</b>	<b>1,4 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,7 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>0,7 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,2 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>0,9 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>1,5 <math>\pm</math> 0,1</b>
<b>Isoleucin</b>	<b>2,1 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,4 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>0,8 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,7 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,0 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,1 <math>\pm</math> 0,0</b>
<b>Leucin</b>	<b>3,9 <math>\pm</math> 0,2</b>	<b>4,3 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>2,0 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>3,5 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>2,3 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>4,3 <math>\pm</math> 0,2</b>
Tyrosin	1,7 $\pm$ 0,1	1,9 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,0	1,3 $\pm$ 0,0	0,5 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,2
<b>Fenylalanin</b>	<b>2,1 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,4 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,2 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,8 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>1,5 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,1 <math>\pm</math> 0,1</b>
<b>Histidin</b>	<b>2,2 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,2 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,0 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>2,2 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>2,4 <math>\pm</math> 0,3</b>	<b>2,3 <math>\pm</math> 0,2</b>
Hydroxylysin	-	-	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
<b>Lysin</b>	<b>4,8 <math>\pm</math> 0,2</b>	<b>4,9 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,7 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>4,4 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>3,3 <math>\pm</math> 0,2</b>	<b>5,5 <math>\pm</math> 0,3</b>
Ammoniakk	0,8 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1
<b>Arginin</b>	<b>3,7 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>3,8 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>2,7 <math>\pm</math> 0,1</b>	<b>3,4 <math>\pm</math> 0,0</b>	<b>4,0 <math>\pm</math> 0,9</b>	<b>4,3 <math>\pm</math> 0,1</b>
<b>SUM (AA only)<sup>1</sup></b>	<b>55,7<math>\pm</math>1,7</b>	<b>57,9<math>\pm</math>0,7</b>	<b>41,3 <math>\pm</math> 3,2</b>	<b>52,7<math>\pm</math>0,2</b>	<b>52,0<math>\pm</math>2,3</b>	<b>65,8<math>\pm</math>1,4</b>
SUM (AA+ammoniakk)	56,5 $\pm$ 1,6	58,7 $\pm$ 0,8	42,0 $\pm$ 3,3	53,5 $\pm$ 0,2	53,0 $\pm$ 2,4	66,9 $\pm$ 1,5
Prosentandel EAA (%)	45,2	46,9	37,0	43,2	35,4	41,9
PER 1 <sup>2</sup>	2,3	2,5	1,4	2,1	1,0	2,0
PER 2 <sup>3</sup>	2,4	2,5	1,7	2,3	1,4	2,3
PER 3 <sup>4</sup>	2,8	3,0	3,0	3,1	2,5	3,1
PER 4 <sup>5</sup>	2,8	3,0	2,0	2,6	1,9	2,6
PER 5 <sup>6</sup>	2,7	2,8	2,2	2,6	2,1	2,5

<sup>1</sup> SUM (AA only): sum av totalt innhold av aminosyrer. Proteiner er sum av aminosyrer: ammoniak er bi/degradering produkt.

<sup>2</sup> PER 1: (-0,684 + 0,4565[LEU]) - 0,047[PRO]

<sup>3</sup> PER 2: (-0,468 + 0,454[LEU] - 0,105[TYR])

<sup>4</sup> PER 3: (-1,816+0,435[MET] + 0,780[LEU] + 0,211[HIS] - 0,944[TYR])

<sup>5</sup> PER 4: (0,08084[ΣAA7] - 0,1094), hvor ΣAA7 er treonin+ valin+ metionin+ isoleucin+ leucin+ fenylalanin+ lysin

<sup>6</sup> PER 5: (0,06320[ΣAA10] - 0,1539, hvor ΣAA10= [ΣAA7]+ histidin+ arginin+ tryptofan

Totalsum av aminosyrer varierte fra  $41,3 \pm 3,2\%$  til  $65,8 \pm 1,4\%$  i FPH (60-prøver). FPH-prøvene hadde en velbalansert aminosyresammensetning bestående av nesten alle de EAA, med unntak av tryptofan som ikke kan detekteres med metoden som ble benyttet. Høyest konsentrasjon av EAA ble funnet i lysin og leusin. Av de ikke-essensielle aminosyrene ble det detektert høyest konsentrasjoner av asparaginsyre og glutaminsyre, som er dannet etter syrehydrolysing av asparagin og glutamin. Funn i denne studien er i samsvar med tidligere studier utført på makrell (Beaulieu, Thibodeau, Bryl, & Carbonneau, 2009; Leu, Jhaveri, Karakoltsidis, & Constantinides, 1983)

FPH produsert fra samfengt (oktober) hadde høyest prosentandel EAA (45,2 - 46,9%), og det ble funnet høye konsentrasjoner av isoleucin, lysin og valin. Opheim et al. (2015) fant også høy konsentrasjon av disse aminosyrene i FPH bestående av innmat (fra laks). FPH produsert fra HRH (januar) ved bruk av Alkalase hadde høyest innhold av totalt aminosyrer ( $65,8 \pm 1,4\%$ ). Proteinkonsentrasjonen ble også vist til å være størst i FPH fra samme prøve.

Aminosyresammensetningen varierte mellom prøvene ut i fra hvilket restråstoff som hadde blitt benyttet til produksjon av FPH. Dette kan forklares med ulike aktive enzymer i restråstoff under hydrolyse. Ulike enzymer vil ha forskjellige bindingssteder på proteiner ved hydrolyse, og resultere til forskjellige frie aminosyrer (Toppe et al., 2007). Sum frie aminosyrer var høyere i FPH produsert ved bruk av Alkalase. Forskjellen var signifikant for HRH (oktober) og HRH (januar) ( $P < 0,05$ ). I tillegg ble det vist en økning i nivå av frie aminosyrer i FPH som funksjon av hydrolysetiden (se vedlegg L).

### *Protein efficiency ratio (PER)*

En PER-verdi kan benyttes til å evaluere kvalitet og ernæringsverdien i proteiner. Høy PER-verdi indikerer bedre kvalitet og høyere andel EAA. Ut i fra disse verdiene kan industrien velge den FPH-prøven som har ønskelig aminosyresammensetning. En PER-verdi over 2,0 indikerer god kvalitet (Deraz, 2015).

Valg av restråstoff og enzym til produksjon av FPH påvirker kvalitet og ernæringsverdien. I tabell 3.10 ble det vist at FPH produsert ved bruk av Alkalase ga større PER-verdier sammenlignet med FPH produsert ved bruk av kun endogene enzymer, spesielt i

FPH produsert fra HRH restråstoff. I tillegg var PER-verdiene størst i FPH produsert fra samfengt restråstoff. Høyere PER-verdier i FPH produsert fra prøver bestående av innmat har også blitt vist i en tidligere studie (Opheim et al., 2015). Likevel vil FPH produsert fra samfengt være et mindre attraktivt produkt, da denne fraksjonen inneholder innmat og slo. FPH produsert av HRH ved bruk av Alkalase hadde sammenlignbare PER-verdier som FPH produsert av samfengt hadde, og kan vurderes som et like bra produkt. PER-verdiene viste lite variasjon i FPH med tanke på fangsttidspunkt av makrellen.

#### *Tinebehandlingens påvirkning på aminosyreresultater*

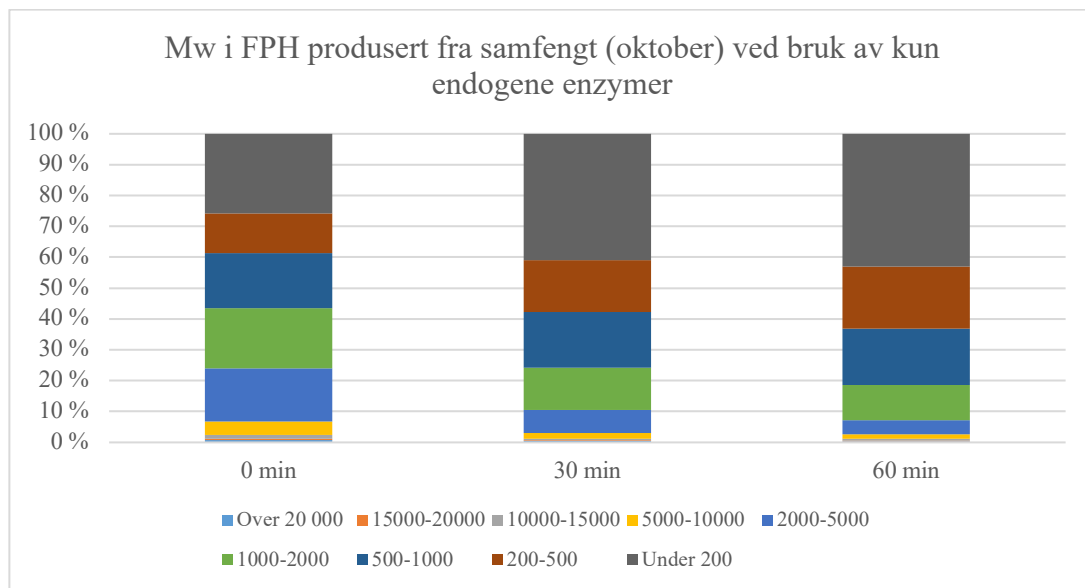
Som nevnt tidligere er resultater fra HRH (oktober) R1 utelatt fra resultatdelen, da råstoffet ble tint under ugunstige forhold. Hvis aminosyreprofilen fra HRH (oktober) R1 og R2 sammenlignes (se vedlegg L), ses det store forskjeller i totalt aminosyreinnhold. Trenden man ser er høyere verdi av totalt aminosyrer i data fra R1, eksempelvis  $38,2 \pm 3,9\%$  vs.  $28,3 \pm 1,8\%$ . Under tinelagring ved høyere temperaturer vil enzymaktiviteten øke og resultere i mer nedbrytning av råstoffet, og mer oppspalting og frigjørelse av aminosyrer. Aminosyrer kan være oksidert eller deaminert til en annen type aminosyrer. Dette kan ha påvirket de EAA negativt. Riktig og lik tinebehandling er derfor viktig da det kan påvirke sluttresultater.

#### 3.2.4 Molekylvektfordeling (Mw) i FPH

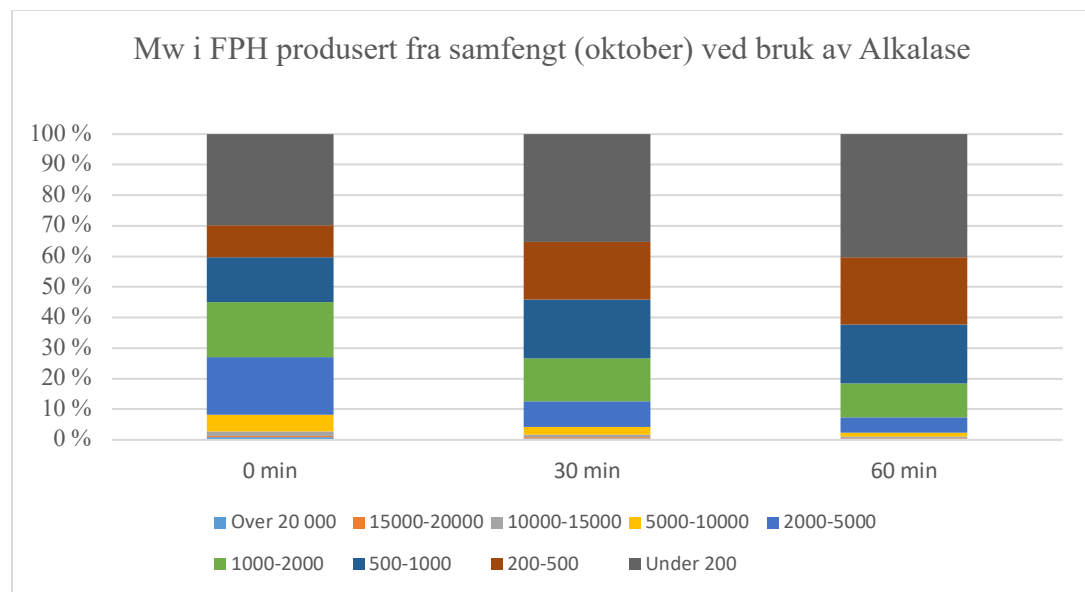
Mw ble studert i alle FPH-prøver. Ved Mw forventes en reduksjon i større peptider og økning i mindre peptider i løpet av hydrolysen. Mw i FPH-prøvene som funksjon av hydrolysetid er vist i figur 3.20 til 3.25.



## Mw i FPH produsert fra Samfengt (oktober)



Figur 3.20 Molekylvektfordeling (Mw) som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra samfengt ved bruk av kun endogene enzymer. Allerede ved start ses mange peptider under 10 000 Da.



Figur 3.21 Molekylvektfordeling (Mw) som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra samfengt ved bruk av Alkalase. Allerede ved start ses mange peptider under 10 000 Da.

I figur 3.20 og figur 3.21 ble det vist en reduksjon av større peptider og økning av mindre peptider i løpet av hydrolysen. Allerede i 0-minutters prøver, før selve oppstarten av hydrolyse, ble det vist at FPH produsert fra samfengt restråstoff besto hovedsakelig av proteiner under 10 000 Da, hvor rundt 97% var under 10 000 Da. Dette indikerer at de endogene enzymene i samfengt restråstoff er meget aktive og at hydrolysereaksjonen starter allerede under oppvarmingen.

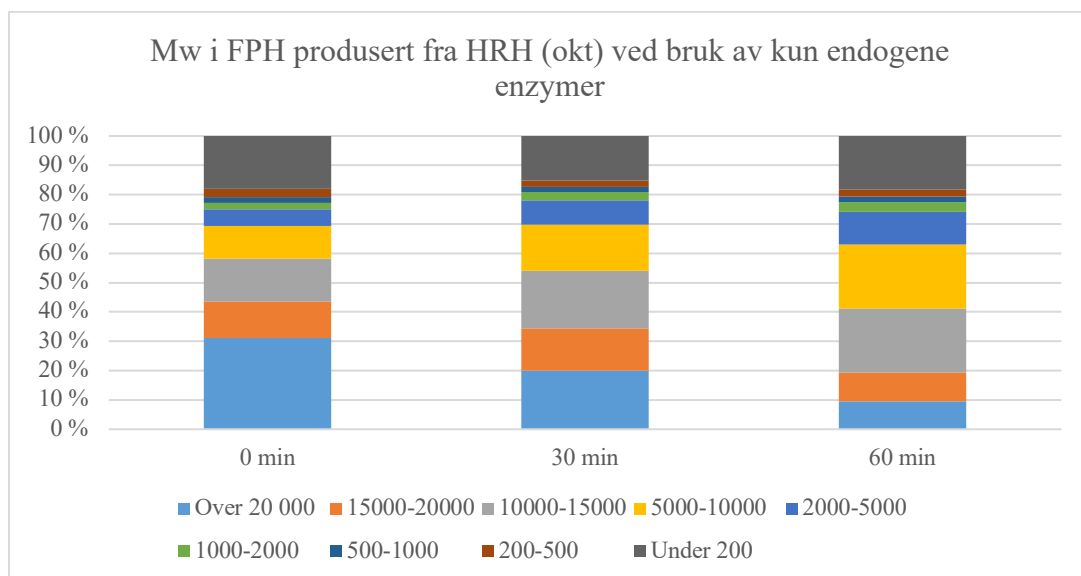
Statistiske tester viste ingen signifikante forskjeller ( $P > 0,05$ ) i peptidstørrelser mellom FPH produsert ved bruk av kun endogene enzymer og FPH produsert ved bruk av Alkalase. De endogene enzymene i samfengt restråstoff alene har like god effekt på nedbrytningen av proteiner, som når Alkalase tilsettes. Molekylvektsfordelingen reflekterer også resultater fra hydrolysegrad (se kapittel 3.2.2 *Hydrolysegrad i FPH*). Da ble det også funnet en høy hydrolysegrad allerede ved oppstart (0 minutt), samt at Alkalase ikke utgjorde en signifikant økning i hydrolysegrad.

Det vil være interessant å undersøke Mw i hydrolysatprøve tatt ut under oppvarming før hydrolysestart. Det behov for å finne en mer passende hydrolysetemperatur, da det tenkes at en lavere temperatur kan være nok når de endogene enzymene er så aktive. Det vil også redusere oppvarmingstiden.

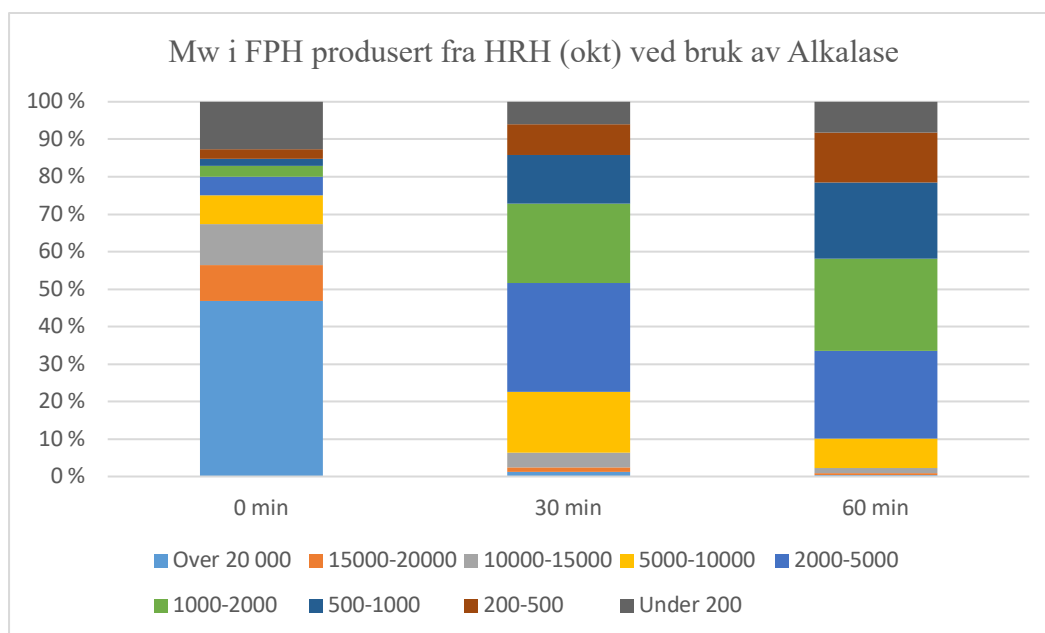
### Mw i FPH produsert fra HRH (oktober) og HRH (januar)

Etttersom FPH produsert fra HRH (oktober) og HRH (januar) restråstoff hadde en lavere hydrolysegrad (se kapittel 3.2.2 *Hydrolysegrad i FPH*), var det forventet at de inneholdt større peptider, sammenlignet med FPH produsert fra samfengt (oktober). Mw viste at FPH produsert fra HRH (oktober) og HRH (januar) inneholdt 17-23% og 39-44%, respektivt, av peptider under 1000 Da, sammenlignet med 55-57% i FPH produsert fra samfengt. Samfengt restråstoff skiller seg fra HRH restråstoff ved at det består av innmat med mange aktive enzymer som vil initiere hydrolyseringen av proteiner allerede under oppvarmingen.

#### HRH (oktober)



Figur 3.22 Molekylvektsfordeling (Mw) som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra HRH (oktober) ved bruk av kun endogene enzymer.



Figur 3.23 Molekylvektfordeling (Mw) som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra HRH (oktober) ved bruk av Alkalase

Mw i FPH produsert fra HRH (okt) viste en varierende fordeling når FPH produsert ved bruk av kun endogene enzymer ble sammenlignet med FPH produsert ved bruk av Alkalase. Se figur 3.22 og 3.23. Det var en reduksjon av de større peptidene i løpet av hydrolysen, hvor Alkalase ga størst reduksjon. I tabell 3.11 kan tydelige numeriske forskjeller mellom bruk av endogene enzymer og tilsats av Alkalase observeres.

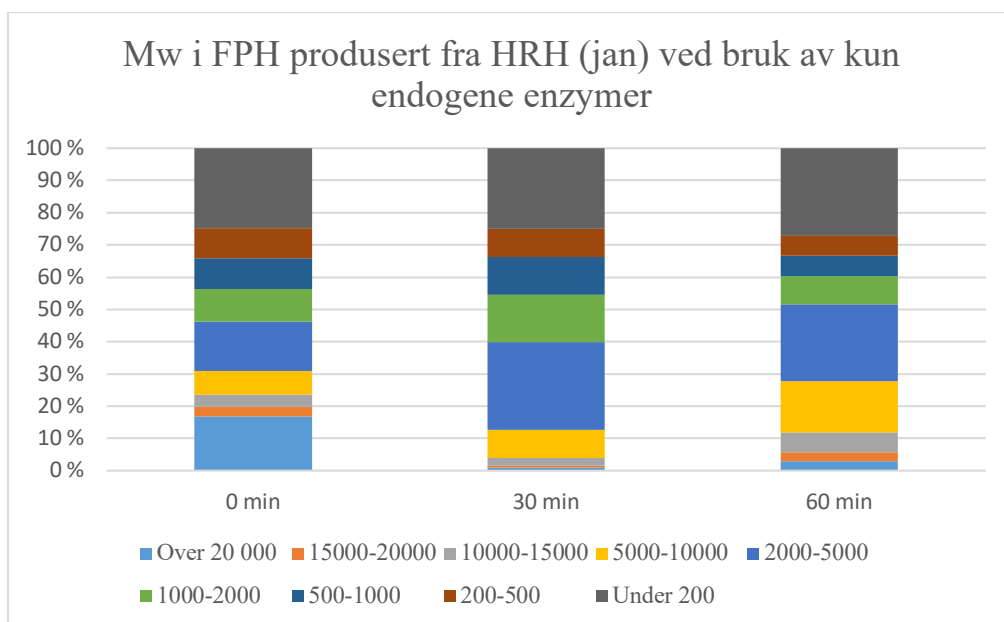
**Tabell 3.11**

Molekylvektfordeling (%) i FPH produsert fra HRH (oktober) (n=2)

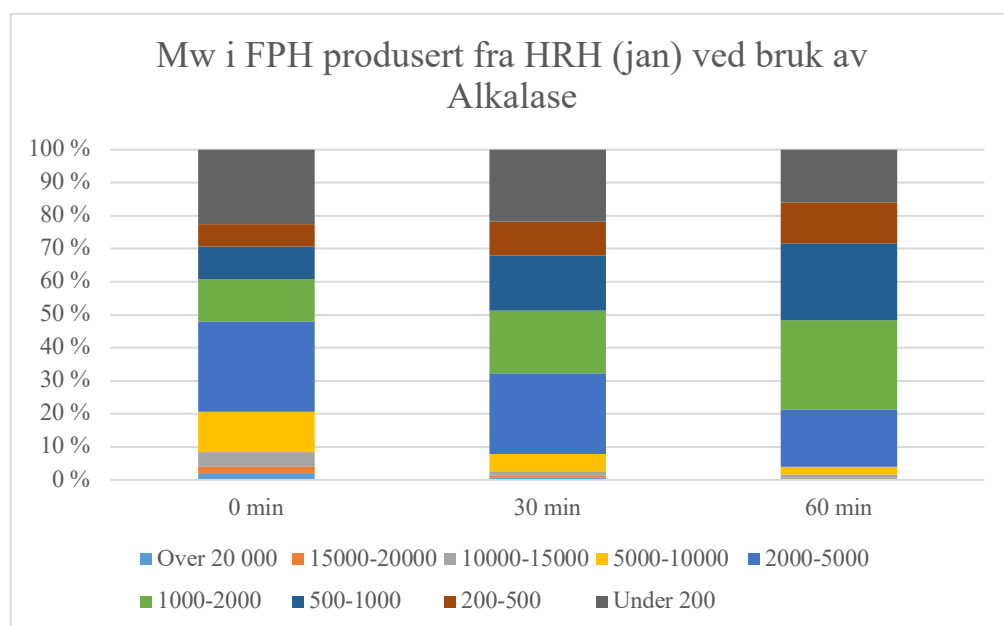
	Endogen 0 min	Alkalase 0 min	Endogen 30 min	Alkalase 30 min	Endogen 60 min	Alkalase 60 min
<b>Over 20000</b>	31,2 ± 1,1	46,9 ± 0,0	20,0 ± 0,1	1,3 ± 0,0	9,6 ± 1,2	0,5 ± 0,1
<b>15000-20000</b>	12,4 ± 0,4	9,5 ± 0,0	14,4 ± 0,0	1,1 ± 0,0	9,8 ± 2,0	0,4 ± 0,0
<b>10000-15000</b>	14,6 ± 0,2	11,0 ± 0,0	19,7 ± 0,3	4,0 ± 0,2	21,8 ± 0,2	1,4 ± 0,1
<b>5000-10000</b>	11,1 ± 0,5	7,8 ± 0,0	15,8 ± 0,3	16,2 ± 0,7	21,8 ± 0,4	7,9 ± 1,2
<b>2000-5000</b>	5,7 ± 0,3	4,8 ± 0,0	8,4 ± 0,4	29,2 ± 0,6	11,3 ± 0,4	23,4 ± 4,8
<b>1000-2000</b>	2,3 ± 0,1	3,0 ± 0,0	2,7 ± 0,4	21,1 ± 0,3	3,2 ± 0,0	24,6 ± 0,1
<b>500-1000</b>	2,0 ± 0,4	1,9 ± 0,0	1,9 ± 0,2	13,0 ± 0,3	2,0 ± 0,1	20,5 ± 3,5
<b>200-500</b>	2,8 ± 0,2	2,6 ± 0,0	2,3 ± 0,2	8,2 ± 0,6	2,4 ± 0,1	13,3 ± 0,8
<b>Under 200</b>	18,1 ± 1,2	12,6 ± 0,0	15,1 ± 1,7	6,0 ± 0,3	18,2 ± 2,0	8,2 ± 1,6

### HRH (januar)

Ved analysering av Mw i FPH produsert fra HRH (januar) var det en del utfordringer med databehandlingen. Analyseresultater ga store standardavvik mellom paralleller, selv etter omkjøringer. Det vil derfor være noe usikkerhet i resultatene. Figur 3.24 og figur 3.25 viser Mw i FPH produsert fra HRH (januar) ved bruk av kun endogene enzymer og ved tilsats av Alkalase, respektivt. Resultatene viste en reduksjon av større peptider ved lengre hydrolysetid.



Figur 3.24 Molekylvektfordeling (Mw) som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra HRH (januar) ved bruk av kun endogene enzymer



Figur 3.25 Molekylvektfordeling (Mw) som funksjon av hydrolysetid i FPH produsert fra HRH (januar) ved bruk av Alkalase

I tabell 3.12 er Mw i FPH produsert fra HRH (januar) oppsummert. På grunn av store standardavvik er ikke resultater egnet for pålitelig vurdering. Det ble vist en saktere nedbrytning av peptider når kun endogene enzymer ble benyttet. I tillegg var hydrolysetid på 60 minutt nødvendig for å få et peptidstørrelser under 10 000 Da.

**Tabell 3.12**

Molekylvektfordeling (%) i FPH produsert fra HRH (jan) (n=4).

	<b>Endogen 0 min</b>	<b>Alkalase 0 min</b>	<b>Endogen 30 min</b>	<b>Alkalase 30 min</b>	<b>Endogen 60 min</b>	<b>Alkalase 60 min</b>
<b>Over 20 000</b>	16,9 ± 18,2	2,0 ± 1,2	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1	2,9 ± 2,6	0,5 ± 0,2
<b>15000-20000</b>	3,0 ± 2,5	2,0 ± 1,6	0,7 ± 0,4	0,5 ± 0,1	2,8 ± 2,7	0,3 ± 0,1
<b>10000-15000</b>	3,8 ± 1,8	4,5 ± 3,0	2,3 ± 1,6	1,4 ± 0,3	6,3 ± 4,2	0,9 ± 0,1
<b>5000-10000</b>	7,2 ± 4,9	12,1 ± 5,2	8,8 ± 5,5	5,3 ± 0,6	15,8 ± 6,1	2,2 ± 0,5
<b>2000-5000</b>	15,3 ± 13,7	27,5 ± 7,1	27,2 ± 10,8	24,4 ± 4,0	23,9 ± 6,2	17,3 ± 3,9
<b>1000-2000</b>	10,3 ± 6,4	12,7 ± 4,4	14,7 ± 3,3	18,9 ± 1,7	8,6 ± 6,0	27,3 ± 5,2
<b>500-1000</b>	9,5 ± 8,7	9,8 ± 6,8	11,8 ± 8,8	16,7 ± 3,6	6,4 ± 6,1	23,3 ± 1,2
<b>200-500</b>	9,4 ± 4,1	6,8 ± 2,9	8,7 ± 4,7	10,2 ± 1,3	6,1 ± 2,4	12,3 ± 1,4
<b>Under 200</b>	24,7 ± 4,9	22,6 ± 1,6	25,0 ± 1,4	21,8 ± 0,5	27,3 ± 2,4	16,0 ± 8,3

Mw av proteiner i FPH er viktig informasjon når bruksområde skal vurderes. Det ble vist en ulik Mw mellom prøvene, og da spesielt mellom FPH produsert fra ulike restråstoff-fraksjoner, og også om det ble benyttet Alkalase eller ikke i FPH produsert fra HRH. Dette begrunnes med at spesifisitet av enzym, samt hydrolysebetingelser og omfanget av hydrolyse vil være med på å generere et variert spekter av peptider av ulike størrelser. FPH bestående av lavmolekylærvekts peptider har vist seg å ha større sjans for å absorberes gjennom tarmen og utøve biologiske effekter (Roberts, Burney, Black, & Zaloga, 1999). Resultatene fra Mw viste at FPH produsert fra samfengt hadde den beste nedbrytningen av peptider, mens FPH produsert fra HRH ga mer varierende resultater. For å optimalisere hydrolyseprosessen vil det være nødvendig å identifisere de endogene enzymene i restråstoff-fraksjonene slik at man kan forstå og kontrollere den endogene hydrolyseprosessen ytterligere.

### 3.2.5 Den kjemiske sammensetningen i tørket sediment

For å vurdere kvalitet og proteinsammensetning i tørket sediment ble den kjemiske sammensetning i tørket sediment, 60-prøver, analysert. Tørket sediment har, i likhet med FPH, potensiale til å bli videreforedlet i industrien, og kan eksempelvis brukes som ingrediens i fiskemel. Den kjemiske sammensetningen er vist i tabell 3.13.

**Tabell 3.13**

Kjemisk sammensetning i tørket sediment. Viser fordeling av protein, vann, aske og fett i % (g/100g i tørrvekt). Data er presentert som gjennomsnittverdi av «n» paralleller ± SD. Forskjellig små bokstaver indikerer signifikante forskjeller mellom kolonnene: forskjeller mellom tørket sediment produsert ved kun endogene enzymer og tørket sediment produsert ved bruk av Alkalase.

Hydrolyse- tid (min)	Enzym	Restråstoff	Protein[%] n=6 <sup>1</sup>	Vann[%] n=4 <sup>2</sup>	Aske[%] n=4 <sup>2</sup>	Fett[%] n=4 <sup>2</sup>
60	Endogene	Samfengt (okt)	53,5 ± 4,4 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	27,6 ± 3,4 <sup>a</sup>	21,8 ± 0,1 <sup>a</sup>
60	Alkalase		57,1 ± 1,0 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	21,0 ± 3,1 <sup>b</sup>	20,7 ± 2,4 <sup>a</sup>
60	Endogene	HRH (okt)	59,5 ± 2,2 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>*</sup>	14,2 ± 0,9 <sup>*</sup>	31,7 ± 0,3 <sup>*</sup>
60	Alkalase		58,0 ± 2,2 <sup>a</sup>	1,4 ± 0,1 <sup>*</sup>	21,4 ± 1,7 <sup>*</sup>	22,2 ± 0,4 <sup>*</sup>
60	Endogene	HRH (jan)	60,0 ± 3,9 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	14,3 ± 1,9 <sup>b</sup>	39,0 ± 2,0 <sup>a</sup>
60	Alkalase		58,3 ± 4,1 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	22,46 ± 3,1 <sup>a</sup>	30,7 ± 2,5 <sup>b</sup>

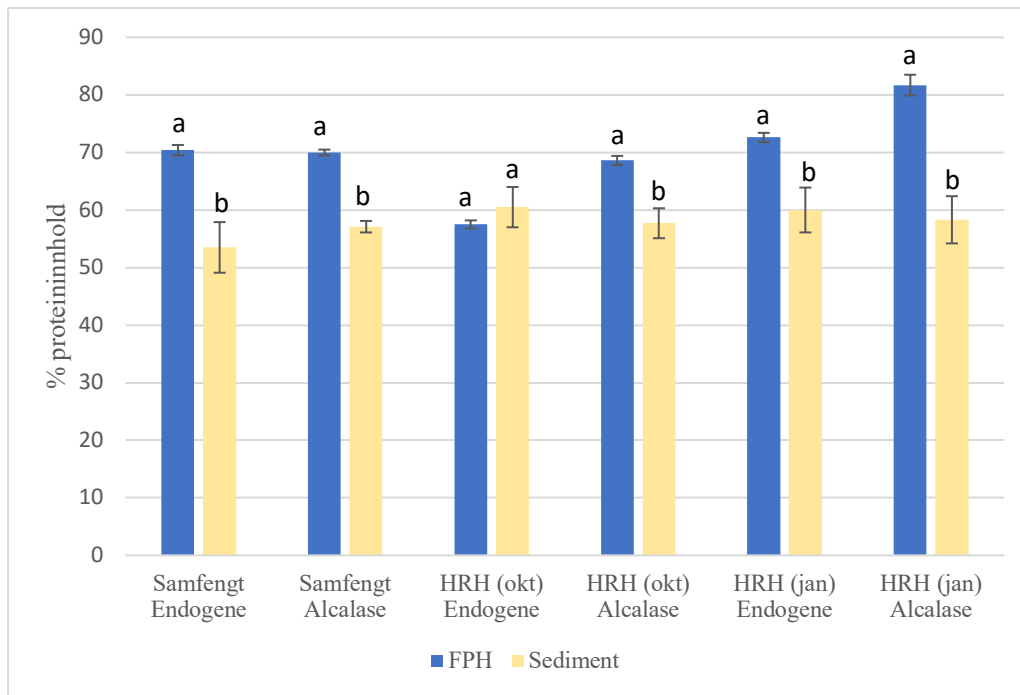
<sup>1</sup> HRH (okt): n=3 (protein)

<sup>2</sup> HRH (okt): n=2 (vann, aske og fett).

\* For lite datagrunnlag til å vurdere signifikante forskjeller.

### Proteininnhold i proteinfraksjoner

I tørket sediment (60-prøver) varierte proteininnholdet fra 53,3 ± 4,0% til 60,5 ± 3,5% av tørrvekt. Forskjellig enzymbruk ga ingen signifikante forskjeller i proteininnhold i sediment ( $P > 0,005$ ). Carvajal et al. (2015) studerte den kjemiske sammensetningen i tørket sediment produsert fra silderestråstoff. De fant et proteininnhold i tørket sediment på 57,2 ± 0,4% (når det ble produsert ved bruk av Alkalase), som er et lignende resultat som ble vist i denne mastergradsoppgaven.

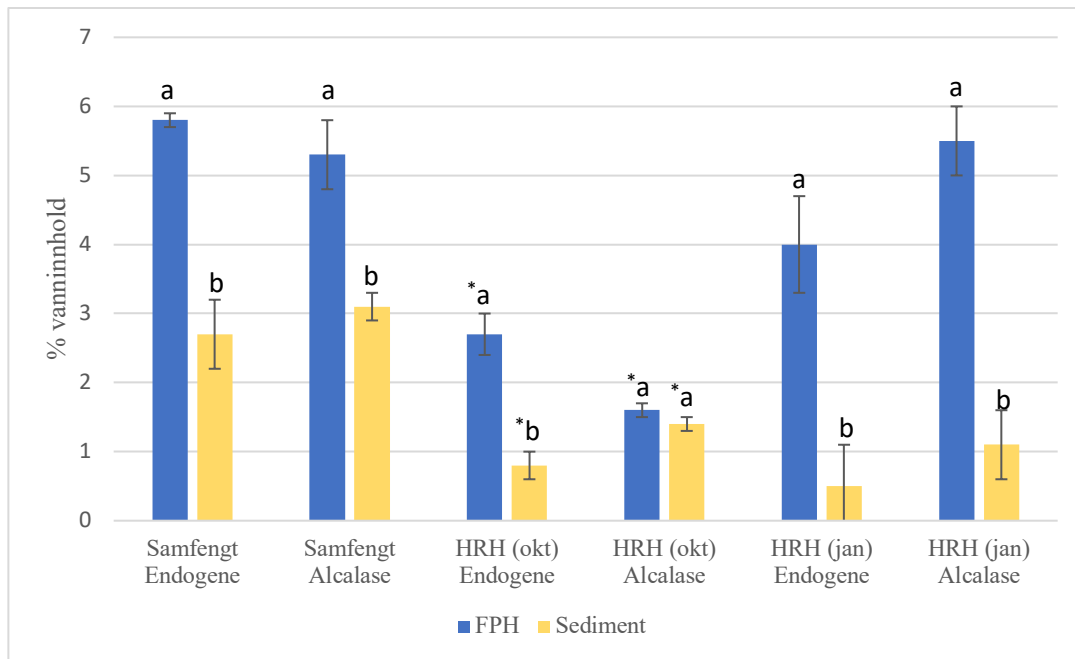


Figur 3.26 % proteininnhold i FPH og sediment, 60-prøver. Proteinkonsentrasjonen var høyere i FPH, sammenlignet med tørket sediment av samme type hydrolyseprøve. Det er ønskelig å se en lavere proteinkonsentrasjon i tørket sediment, sammenlignet med FPH. Ulike bokstaver indikerer signifikante forskjeller mellom FPH og sediment. Samfengt og HRH (januar): n=6. HRH (oktober): n=3.

Sammenlignet med FPH-prøver, ble det detektert et lavere innhold av protein i tørket sediment. Dette er ønskelig, ettersom man vil at proteinfraksjoner skal brytes ned slik at peptider og frie aminosyrer havner i hydrolysatfraksjonen, i stedet for som intakte proteiner i sedimentet. I figur 3.26 ble det vist at proteininnholdet i sediment er lavere i alle prøver, sammenlignet med FPH av samme type hydrolyseprøve, bortsett fra prøver fra HRH (oktober) produsert med kun endogene enzymer. Kun endogene enzymer i HRH (oktober) fraksjon er trolig ikke aktive nok til å kunne gi en tilstrekkelig nedbrytning av proteiner.

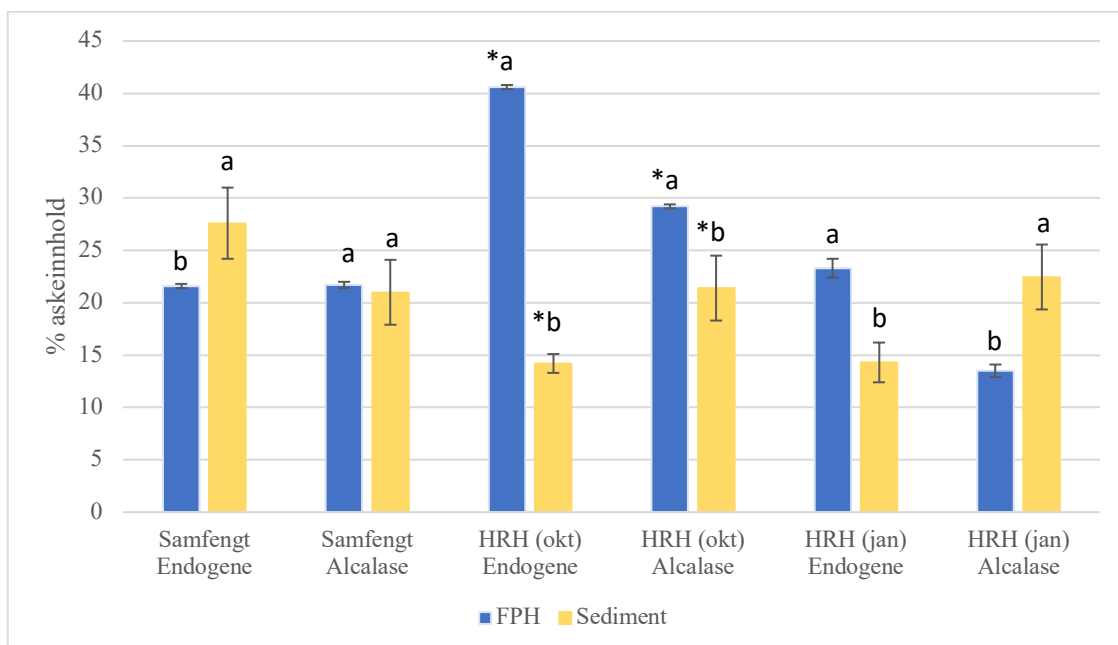
### Vann- og askeinnhold i proteinfraksjoner

Vanninnholdet i tørket sediment (60-prøver) varierte fra  $0,8 \pm 0,2\%$  til  $3,1 \pm 0,2\%$  av tørrvekt, mens askeinnholdet varierte fra 14,2% til 27,6% av tørrvekt. Carvajal et al. (2015) fant et askeinnhold i tørket sediment produsert fra silderestråstoff ved bruk av Alcalase mellom 11,6 - 17,6% av tørrvekt. Vanninnholdet i proteinfraksjonene er vist i figur 3.17, og askeinnholdet i figur 3.18.



Figur 3.27 % vanninnhold i FPH og tørket sediment, 60-prøver. Samfengt og HRH (januar): n=4. HRH (oktober): n=2. Mer vann ble vist i FPH. Ulike små bokstaver indikerer signifikante forskjeller mellom FPH og sediment. \*Numeriske forskjeller i askeinnhold mellom FPH og sediment produsert fra HRH (okt).

I figur 3.27 ble det vist et signifikant lavere ( $P < 0,001$ ) vanninnhold i sedimentprøvene. Lavere vanninnhold i tørket sediment kan ses i sammenheng med at det er mer fett i sedimentprøvene (se figur 3.29).



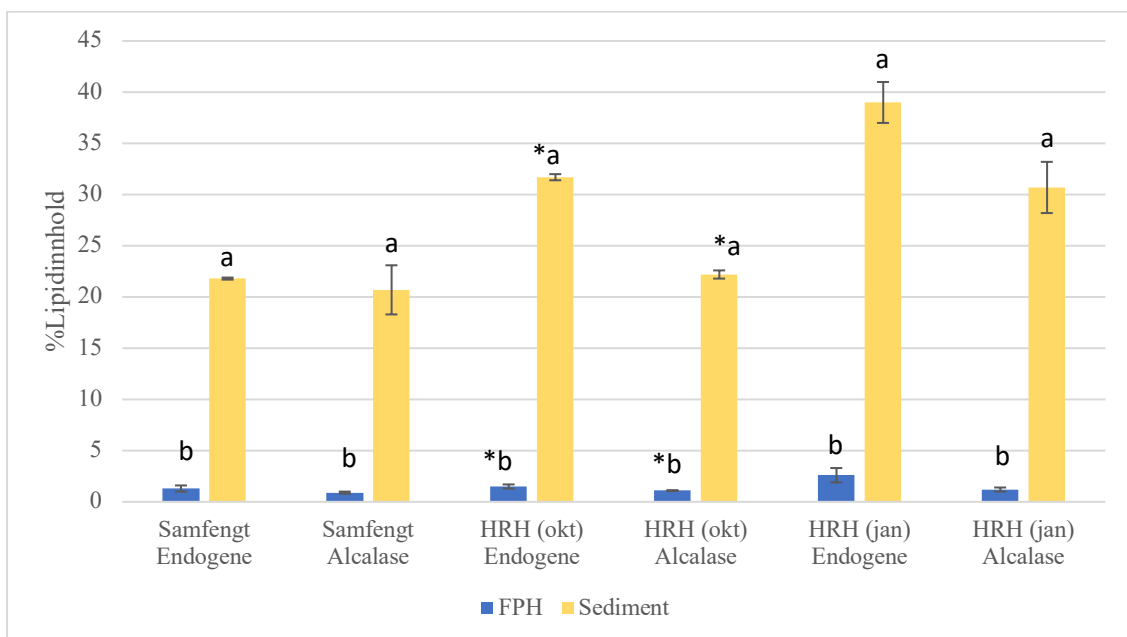
Figur 3.28 % askeinnhold i FPH og tørket sediment, 60-prøver. Innhold av aske varierer mellom prøvene. Samfengt og HRH (januar): n=4. HRH (oktober): n=2. Ulike små bokstaver indikerer signifikante forskjeller mellom FPH og sediment. For lite grunnlag til å vurdere signifikante forskjeller i HRH (okt) på grunn av n=2. \*Numeriske forskjeller i askeinnhold mellom FPH og sediment produsert fra HRH (okt).



I figur 3.28 ble askeinnholdet i FPH og tørket sediment sammenlignet. For noen prøver var askeinnholdet høyest i FPH, mens for andre prøver høyest i sediment. Innhold av aske i tørket sedimentprøver vil trolig variere ut i fra mengden av de andre komponentene i prøven, slik som vann. Hvis man studerer innholdet av vann i tørket sediment som er vist i figur 3.27 kan man se at der det er et lavt vanninnhold, vil det være et høyere askeinnhold.

### Lipidinnhold i proteinfraksjoner

Lipidinnholdet i tørket sediment varierte fra  $20,7 \pm 2,4\%$  til  $39,0 \pm 2,0\%$  av tørrvekt. Carvajal et al. (2015) fant et lipidinnhold i tørket sediment produsert fra silderestråstoff ved bruk av Alcalase fra 14,0% til 16,4% av tørrvekt. Høyt lipidinnhold kan skyldes forhold diskutert tidligere i oppgaven, samt utilstrekkelig nedbrytning av sedimentfraksjonen. Lipidinnholdet i tørket sediment ble sammenlignet med lipidinnholdet i FPH av samme prøve. Sammenligningen er vist i figur 3.29.



Figur 3.29 %Lipidinnhold i tørket FPH og sediment, 60-prøver. Mest lipider ble vist i tørket sediment. Samfengt og HRH (januar):  $n=4$ . HRH (oktober):  $n=2$ . Ulike små bokstaver indikerer signifikante forskjeller mellom FPH og sediment. For lite grunnlag til å vurdere signifikante forskjeller i HRH (oktober) på grunn av  $n=2$ .

\*Numeriske forskjeller i askeinnhold mellom FPH og sediment produsert fra HRH (oktober).

Det kommer tydelig frem av figur 3.29 at tørket sediment har et signifikant høyere ( $P < 0,001$ ) innhold av lipider sammenlignet med FPH produsert fra samme prøve. Dette trolig på grunn av at det er mye uoppløst materiale i sedimentfraksjonen. Tørket sediment vil dermed være mer utsatt for lipidoksidasjon, og kvalitet vil forringes raskere enn det vil gjøre i FPH prøver. For å hindre lipidoksidasjon kan oksidanter tilsettes tørket sedimentprøver.

Når den kjemiske sammensetningen i FPH-prøver ble studert, ble det ved flere tilfeller konkludert at tilsats av Alkalase var bare nødvendig når FPH ble produsert fra HRH. Samfengt restråstoff lot seg ikke påvirke av ekstra enzymtilsetning. Like funn med hensyn til virkning av enzymtilsetning ble også vist i tørket sediment.

### Aminosyresammensetning og PER-verdier i proteinfraksjoner

I vedlegg L ses aminosyresammensetningen til tørket sediment. Tørket sediment hadde en velbalansert aminosyresammensetning. Trenden man så var noe lavere verdi av totalt frie aminosyrer i tørket sediment sammenlignet med FPH-prøver. PER-verdier i FPH og tørket sediment ble sammenlignet for å vurdere kvaliteten av proteinfraksjonene. En sammenligning av PER-verdier mellom FPH og tørket sediment er vist i tabell 3.14.

**Tabell 3.14**

PER verdier i FPH og tørket sediment (60-prøver). Sedim = tørket sediment.

	Samfengt(okt)		Samfengt(okt)		HRH (okt)		HRH (okt)		HRH (jan)		HRH (jan)	
	Endogene		Alkalase		Endogene		Alkalase		Endogene		Alkalase	
	FPH	Sedim.	FPH	Sedim.	FPH	Sedim.	FPH	Sedim.	FPH	Sedim.	FPH	Sedim.
PER1	2,3	2,4	2,5	2,7	1,4	2,8	2,1	2,7	1,0	2,7	2,0	2,3
PER2	2,4	2,5	2,5	2,7	1,7	2,8	2,3	2,7	1,4	2,8	2,3	2,5
PER3	2,8	2,9	3,0	3,2	3,0	3,4	3,1	3,1	2,5	3,3	3,1	2,7
PER4	2,8	3,1	3,0	3,2	2,0	3,3	2,6	3,3	1,9	3,2	2,6	2,8
PER5	2,7	2,9	2,8	3,0	2,2	3,1	2,6	3,0	2,1	2,9	2,5	2,7

Tabell 3.14 viste noe høyere PER-verdier i sedimentfraksjonen. Dette skyldes at sedimenter hadde høyere konsentrasjoner av de fleste EAA. Aminosyrer er hydrofobe, og det er naturlig at de vil legge seg i sedimentfraksjonen (Liaset & Espe, 2008). Høyere PER-verdier i tørket sediment ble også observert i en studie med sild (Šližytė, Carvajal, Mozuraityte, Aursand, & Storrø, 2014). PER-verdiene indikerer at både FPH og sedimenter er en rik kilde til protein med en velbalansert aminosyreprofil.

## 4. Konklusjon

Den kjemiske sammensetningen i råstoff fra Nordatlantisk makrell ble studert i makrellråstoff fra oktobermakrell (2018) og januarmakrell (2019). Det ble vist et numerisk høyere lipidinnhold, og et signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere innhold av aske og tørrstoff i makrellråstoff fra oktober. Proteininnholdet var mer stabilt mellom oktober- og januarmakrell, hvor det bare ble vist en signifikant forskjell ( $P < 0,05$ ) i proteininnhold for filet- og HRH-fraksjonen, med høyest proteinkonsentrasjon i oktobermakrell.. Variasjonen som ble vist i lipidinnhold mellom oktober- og januarmakrell påvirket ikke fettsyresammensetningen, samt innhold av lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i TAG.

Resultater fra hydrolyseforsøkene viste at samfengt restråstoff ga størst utbytte av FPH. Allerede ved hydrolysestart var hydrolyseringen godt i gang i FPH produsert samfengt. Tilsetning av Alkalase ved produksjon av FPH fra samfengt viste seg å være unødvendig da det ikke ga noen signifikante forskjeller i utbytte, kvalitet og proteinsammensetning.

HRH restråstoff viste seg å være et godt alternativ til produksjon av FPH, når Alkalase ble benyttet i produksjonen. Det ble vist signifikante forbedringer i utbytte, kvalitet og proteinsammensetning i FPH når Alkalase ble benyttet, sammenlignet med kun endogene enzymer. Proteininnholdet ble også funnet til å være størst i FPH produsert fra HRH (januar) ved bruk av Alkalase ( $P < 0,001$ ). PER verdier i FPH produsert fra HRH ved bruk av Alkalase viste også høy kvalitet og var sammenlignbar med FPH produsert fra samfengt. Hydrolysetid på 60 minutter var nødvendig med tanke på økning i utbytte og kvalitet. Molekylvektfordelingen viste en reduksjon av større peptider ved lengre hydrolysetid.

I tørket sediment ble det funnet et lavere proteininnhold i alle prøver, samt et høyere fettinnhold sammenlignet med FPH. Et høyere fettinnhold er ikke gunstig med tanke på lipidoksidasjon, og tilsetning av oksidanter bør vurderes. I tørket sediment ble det også vist at kvalitet ble bedre ved tilsetning av Alkalase. Sedimentfraksjonen viste også en velbalansert aminosyreprofil og høye PER-verdier.

Basert på disse resultater kan HRH restråstoff vurderes som en god kandidat til produksjon av FPH. FPH produsert fra samfengt vil være et mindre attraktivt produkt på markedet ettersom det består slo. Videre optimalisering og tilpasning av prosess teknologi vil være nødvendig for å gi et FPH-produkt av høyere kvalitet.

## 5. Fremtidig arbeid

Gjennom forsøkene som er utført i denne mastergradsoppgaven er det vist mange interessante resultater man kan jobbe videre med. Først og fremst vil det være nødvendig å analysere flere paralleller av analyseparameterne fra råstoffkarakteriseringen (studie 1), slik at signifikante tester kan gjennomføres. En større datamengde vil kunne gi mer pålitelige resultater. Det ville også vært spennende og karakterisert makrell ved flere årstider.

For studie 2 vil det være nødvendig og gjennomføre hydrolyseforsøk av reaktor 1 med HRH (oktober), da denne parallellen ble forkastet. Det vil også være nødvendig å analysere flere paralleller per prøve på de analysene som er gjennomført. Færre paralleller gir mer usikkerhet i dataene, og signifikante tester kan ikke benyttes til å trekke konklusjoner.

Hydrolyseforsøkene viste høy grad av hydrolyse allerede ved oppstart (0-minutters prøver). Det vil derfor være interessant å ta ut en hydrolyseprøve under oppvarming, eksempelvis etter 15 minutter, for å undersøke forhold som hydrolysatutbytte og hydrolysegrad i prøver. Kanskje kan hydrolysetemperatur og oppvarmingstid reduseres.

For å kunne kontrollere og forstå hydrolyseprosessen i en større sammenheng, vil det være interessant å indentifisere de endogene enzymene som er tilstede i makrellrestråstoffet. Dette vil gi mer informasjon om hvordan de endogene enzymene spalter proteinene. En slik informasjon vil gjøre det enklere å optimalisere hydrolyseprosessen og designe et sluttprodukt med spesifikke egenskaper for det ønskede bruksområdet.

Det vil også være interessant å undersøke om en høyere konsentrasjon av enzymet Alkalase ved hydrolyse med HRH restråstoff vil kunne gi en hydrolysegrad og FPH-utbytte som er sammenlignbar med hydrolyse med samfengt restråstoff. En lengre hydrolysetid vil også være nødvendig da resultater fra hydrolysegrad viste at hydrolyseringen og utbyttet ikke hadde flatet ut. Sannsynlighet for at en hydrolysegrad lengre enn 60 minutt er nødvendig er stor.

## Referanser

- Ahn, C.-B., Je, J.-Y., & Cho, Y.-S. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. *Food Research International*, *49*(1), 92-98. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.002>
- Al-Janabi, Y. (2016). The Utilization of Mackerel (*Scomber scombrus*) Rest Raw Material Towards the Production of Oil and Protein - Effect of Storage Conditions on Yield, Quality, and Composition. In: NTNU.
- Alsmeyer, R. H., Cunningham, A. E., & Happich, M. L. (1974). Equations predict PER from amino acid analysis. *Food Technol.*, *34*.
- Anderson, E. J., & Taylor, D. A. (2012). Omega-3s: Fishing for a Mechanism. Retrieved from <https://www.the-scientist.com/features/omega-3s-fishing-for-a-mechanism-40246#references>
- Aspevik, T., Oterhals, A., Ronning, S. B., Altintzoglou, T., Wubshet, S. G., Gildberg, A., . . . Lindberg, D. (2017). Valorization of Proteins from Co- and By-Products from the Fish and Meat Industry. *Top Curr Chem (Cham)*, *375*(3), 53. doi:10.1007/s41061-017-0143-6
- Aspmo, S. I., Horn, S. J., & Eijsink, V. G. (2005). Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, *40*(5), 1957-1966. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.07.011>
- Aursand, M., Mozuraityte, R., Hamre, K., Knutsen, H., Maage, A., & Arukwe, A. (2011). Description of the processes in the value chain and risk assessment of decomposition substances and oxidation products in fish oils 73-118.
- Bandarra, N. M., Batista, I., Nunes, M. L., & Empis, J. M. (2001). Seasonal variation in the chemical composition of horse-mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research and Technology*, *212*(5), 535-539. doi:10.1007/s002170100299
- Batista, I., Ramos, C., Coutinho, J., Bandarra, N. M., & Nunes, M. L. (2010). Characterization of protein hydrolysates and lipids obtained from black scabbardfish (*Aphanopus carbo*) by-products and antioxidative activity of the hydrolysates produced. *Process Biochemistry*, *45*(1), 18-24. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.07.019>
- Beaulieu, L., Thibodeau, J., Bryl, P., & Carbonneau, M. (2009). Proteolytic processing of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and biochemical characterisation of hydrolysates. *International Journal of Food Science & Technology*, *44*(8), 1609-1618. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.01924.x
- Benjakul, S., & Morrissey, M. T. (1997). Protein Hydrolysates from Pacific Whiting Solid Wastes. *J Agric Food Chem*, *45*(9), 3423-3430. doi:10.1021/jf970294g
- Berna, Ö. Ö., & Soyer, A. (2018). Effect of plant extracts on lipid and protein oxidation of mackerel (*Scomber scombrus*) mince during frozen storage. *Journal of food science and technology*, *55*(1), 120-127. doi:10.1007/s13197-017-2847-6
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., & Lalitha, R. G. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, *99*(2), 335-343. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.015>
- Bhaskar, N., Sudeepa, E. S., Rashmi, H. N., & Tamil, S. A. (2007). Partial purification and characterization of protease of *Bacillus proteolyticus* CFR3001 isolated from fish

- processing waste and its antibacterial activities. *Bioresour Technol*, 98(14), 2758-2764. doi:10.1016/j.biortech.2006.09.033
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, 37(8), 911-917. doi:10.1139/o59-099
- Buinov, A. A., Ginzburg, A. S., & Syroedov, V. I. (1977). Hydroscopic properties of fish protein hydrolysates dried in a foamed state. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii Pishchevaya Technol*, 3.
- Burri, L., Hoem, N., Monakhova, Y. B., & Diehl, B. W. K. (2016). Fingerprinting Krill Oil by 31P, 1H and 13C NMR Spectroscopies. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(8), 1037-1049. doi:10.1007/s11746-016-2836-3
- Bäck, M., & Hansson, G. K. (2019). Omega-3 fatty acids, cardiovascular risk, and the resolution of inflammation. *The FASEB Journal*, 33(2), 1536-1539. doi:10.1096/fj.201802445R
- Carvajal, A. K., Slizyte, R., Storrø, I., & Aursand, M. (2015). Production of High Quality Fish Oil by Thermal Treatment and Enzymatic Protein Hydrolysis from Fresh Norwegian Spring Spawning Herring By-Products. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(8), 807-823. doi:10.1080/10498850.2013.814740
- Chalamaiah, M., Dinesh kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020-3038. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100
- Chen, Q., Wang, X., Cong, P., Liu, Y., Wang, Y., Xu, J., & Xue, C. (2017). Mechanism of Phospholipid Hydrolysis for Oyster *Crassostrea plicatula* Phospholipids During Storage Using Shotgun Lipidomics. *Lipids*, 52(12), 1045-1058. doi:10.1007/s11745-017-4305-7
- Dahl, L. E. (2015). *Kalsiumforsøpet rapsolje eller prosessert palmeolje som fetttilsetning i kraftfôr til melkekyr - effekt på melkeytelse og melkens kjemiske sammensetning* (Master), Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Fakultet for veterinærmedisin og biovitenskap. Retrieved from <https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/294263/Masteroppgave%20Lene%20Elise%20Dahl.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Deraz, S. F. (2015). Protein Hydrolysate from Visceral Waste Proteins of Bolti Fish (*Tilapia nilotica*): Chemical and Nutritional Variations as Affected by Processing pHs and Time of Hydrolysis. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(6), 614-631. doi:10.1080/10498850.2013.797534
- Derouiche, B. M. H., Guadix, E. M., Guadix, A., Gargouri, M., & Espejo-Carpio, F. J. (2018). Valorisation of tuna viscera by endogenous enzymatic treatment. *International Journal of Food Science & Technology*. doi:10.1111/ijfs.14009
- Diniz, G. S., Barbarino, E., Oiano-Neto, J., Pacheco, S., & Lourenco, S. O. (2013). Gross Chemical Profile and Calculation of Nitrogen-to-Protein Conversion Factors for nine species of fishes from coastal water Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(2), 254-254. doi:10.3856/vol41-issue2-fulltext-5
- Dong, X.-P., Zhu, B.-W., Zhao, H.-X., Zhou, D.-Y., Wu, H.-T., Yang, J.-F., . . . Murata, Y. (2010). Preparation and in vitro antioxidant activity of enzymatic hydrolysates from oyster (*Crassostrea talienwhannensis*) meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(5), 978-984. doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02223.x

- Engelking, L. R. (2015). Chapter 3 - Amino Acid Modifications. In L. R. Engelking (Ed.), *Textbook of Veterinary Physiological Chemistry (Third Edition)* (pp. 12-17). Boston: Academic Press.
- Eriksen, S. A. (2012). *Lipidklasser og fettsyresammensetning i omega-3 produkter*. (Master), Universitetet i Tromsø, Tromsø. Retrieved from <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/4325/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Fennema, O. R. (1996). *Food Chemistry, Third Edition* (3 ed.). Boca Roca, United States: CRC Press.
- FHF. (2017). Pelagisk løft: Pilotlinje for filetering av makrell. Retrieved from <https://www.fhf.no/prosjektdetaljer/?projectNumber=901151>
- FHF. (2018). Kvalitet på olje produsert av restråstoff fra fersk og frosset makrell. Retrieved from <https://fhf.no/prosjektdetaljer/?projectNumber=901317>
- FN-Sambandet. (2019, 10.04.19). FNs bærekraftsmål. Retrieved from <https://www.fn.no/Om-FN/FNs-baerekraftsmaal>
- Gao, M.-T., Hirata, M., Toorisaka, E., & Hano, T. (2006). Acid-hydrolysis of fish wastes for lactic acid fermentation. *Bioresource Technology*, *97*(18), 2414-2420. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.10.002>
- Ghaly, A. E., Ramakrishnan, V. V., Brooks, M. S., & Dave, D. (2013). Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, *5*. doi:10.4172/1948-5948.1000110
- Gildberg, A. (1993). Enzymic processing of marine raw materials. *Process Biochemistry*, *28*(1), 1-15. doi:[https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)80030-8](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)80030-8)
- Gildberg, A. (2001). Utilisation of male Arctic capelin and Atlantic cod intestines for fish sauce production--evaluation of fermentation conditions. *Bioresour Technol*, *76*(2), 119-123.
- Gnaiger, E., & Bitterlich, G. (1984). Proximate biochemical composition and caloric content calculated from elemental CHN analysis: a stoichiometric concept. *Oecologia*, *62*(3), 289-298. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00384259>
- Haraldsson, G. G., Gudmundsson, B. Ö., & Almarsson, Ö. (1995). The synthesis of homogeneous triglycerides of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid by lipase. *Tetrahedron*, *51*(3), 941-952. doi:[https://doi.org/10.1016/0040-4020\(94\)00983-2](https://doi.org/10.1016/0040-4020(94)00983-2)
- Hardy, R., & Keay, J. N. (1972). Seasonal variations in the chemical composition of Cornish mackerel, *Scomber scombrus* (L), with detailed reference to the lipids. *International Journal of Food Science & Technology*, *7*(2), 125-137. doi:[doi:10.1111/j.1365-2621.1972.tb01648.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1972.tb01648.x)
- Hauge, J. G. (2018). Lipider. Retrieved from <https://snl.no/lipider>
- Health, N. I. o. (2018). Omega-3 Fatty Acids. Retrieved from <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-HealthProfessional/>
- Hou, H., Li, B., & Zhao, X. (2011). Enzymatic hydrolysis of defatted mackerel protein with low bitter taste. *Journal of Ocean University of China*, *10*(1), 85-92. doi:10.1007/s11802-011-1785-6
- Hoyle, N. T., & Merritt, J. H. (1994). Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*, *59*(1), 76-79. doi:[doi:10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06901.x)

- Hui, Y. H., Cross, N., Kristinsson, H. G., Lim, M. H., Nip, W. K., Siow, L. F., & Stanfield, P. S. (2012). Biochemistry of Seafood Processing. In *Food Biochemistry and Food Processing*. Food Biochemistry and Food Processing.
- Hultin, H. O. (1994). Oxidation of lipids in seafoods. In F. Shahidi & J. R. Botta (Eds.), *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality* (pp. 49-74). Boston, MA: Springer US.
- Hultin, H. O., & Kelleher, S. D. (2000). *Surimi processing from dark muscle fish* (J. W. Park Ed.). Surimi and Surimi Seafood: Surimi and Surimi Seafood.
- Huss, H. H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. Retrieved from Rome: <http://www.fao.org/3/V7180E/V7180E00.htm>
- Haaland, H., Arnese, E., & Njaa, L. R. (1990). Amino acid composition of whole mackerel (*Scomber scombrus*) stored anaerobically at 20°C and at 2°C. *International Journal of Food Science & Technology*, 25(1), 82-87. doi:10.1111/j.1365-2621.1990.tb01062.x
- Haard, N. F. (1998). Specialty enzymes from marine organisms. *Food technology (USA)*, 52(7), 64-67.
- Jensen, I.-J., & Mæhre, H. (2016). Preclinical and Clinical Studies on Antioxidative, Antihypertensive and Cardioprotective Effect of Marine Proteins and Peptides—A Review. *Marine Drugs*, 14(11).
- Karupaiah, T., & Sundram, K. (2007). Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. *Nutrition & metabolism*, 4, 16-16. doi:10.1186/1743-7075-4-16
- Keay, J. N. (2001). Handling and processing mackerel. Retrieved from <http://www.fao.org/3/x5938e/x5938e00.htm>
- Khiari, Z., Rico, D., Martin-Diana, A. B., & Barry-Ryan, C. (2013). Comparison between gelatines extracted from mackerel and blue whiting bones after different pre-treatments. *Food Chem*, 139(1-4), 347-354. doi:10.1016/j.foodchem.2013.01.017
- Kierulf, P. (2018). Aminosyrer. Retrieved from <https://snl.no/aminosyrer>
- Kilara, A. (1985). Enzyme-modified Protein Food Ingredients. *Process Biochemistry*, 20, 149-158.
- King, A. J., & Li, S. J. (1999). Association of Malonaldehyde with Rabbit Myosin Subfragment 1. In Y. L. Xiong, H. Chi-Tang, & F. Shahidi (Eds.), *Quality Attributes of Muscle Foods* (pp. 277-286). Boston, MA: Springer US.
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000a). Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties AU - Kristinsson, Hordur G. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1), 43-81. doi:10.1080/10408690091189266
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000b). Kinetics of the hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. *Process Biochemistry*, 36(1), 131-139. doi:https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00195-3
- Lande, B. (2018). Fettsyrer - ernæring. Retrieved from [https://sml.snl.no/fettsyrer\\_-\\_ern%C3%A6ring](https://sml.snl.no/fettsyrer_-_ern%C3%A6ring)
- Lankhorst, P. P., & Chang, A.-N. (2017). The Application of NMR in Compositional and Quantitative Analysis of Oils and Lipids. In G. A. Webb (Ed.), *Modern Magnetic Resonance* (pp. 1-22). Cham: Springer International Publishing.
- Lee, Y., Elliot, J. G., Rickansrud, D. A., & Hagberg, E. Y. C. (1978). PREDICTING PROTEIN EFFICIENCY RATIO BY THE CHEMICAL DETERMINATION OF CONNECTIVE TISSUE



- CONTENT IN MEAT. *Journal of Food Science*, 43(5), 1359-1362. doi:10.1111/j.1365-2621.1978.tb02490.x
- Leu, S. S., Jhaveri, S. N., Karakoltsidis, P. A., & Constantinides, S. M. (1983). Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.): seasonal variation in proximate composition and distribution of chemical nutrients. *Food Science*.
- Liaset, B., & Espe, M. (2008). Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. *Process Biochemistry*, 43(1), 42-48. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.10.007>
- Linde. (2019). High performance liquid chromatography (HPLC). Retrieved from [http://hiq.linde-gas.com/en/analytical\\_methods/liquid\\_chromatography/high\\_performance\\_liquid\\_chromatography.html](http://hiq.linde-gas.com/en/analytical_methods/liquid_chromatography/high_performance_liquid_chromatography.html)
- Lund, M. N., Heinonen, M., Baron, C. P., & Estevez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: a review. *Mol Nutr Food Res*, 55(1), 83-95. doi:10.1002/mnfr.201000453
- Luzia, L. A., Sampaio, G. R., Castellucci, C. M. N., & Torres, E. A. F. S. (2003). The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*, 83(1), 93-97. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00054-2)
- Meldstad, F. (2015). *Hydrolysis of Marine Cod (Gadus Morhua) Head - Utilization of rest raw material from cod for production of ingredients for human consumption*. (Master), NTNU, NTNU.
- Murray, J., & Burt, J. R. (1983). *The Composition of Fish* (38 ed.). Ministry of technology: Torry Research Station.
- Nesse, K. O., Nagalakshmi, A. P., Marimuthu, P., & Singh, M. (2011). Efficacy of a fish protein hydrolysate in malnourished children. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 26(4), 360-365. doi:10.1007/s12291-011-0145-z
- NIFES. (2014, 3.03.2017). Makrell. Retrieved from <https://nifes.hi.no/art/makrell/#topp>
- Norwegian Seafood Council. (2018). Catching mackerel at its best. Retrieved from <https://mackerel.fromnorway.com/value-chain/season/>
- Nurdiani, R., Vasiljevic, T., Singh, T. K., & Donkor, O. N. (2017). Bioactive peptides from fish by-products with anticarcinogenic potential. *International Food Research Journal*, 24(5), 1840-1849.
- Nøttestad, L. (2019, 04.04.2019). Tema: Makrell. Retrieved from <https://www.imr.no/hi/temasider/arter/makrell>
- Oluwaniyi, O. O., Dosumu, O. O., & Awolola, G. V. (2010). Effect of local processing methods (boiling, frying and roasting) on the amino acid composition of four marine fishes commonly consumed in Nigeria. *Food Chemistry*, 123(4), 1000-1006. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.051>
- Opheim, M. (2015). *Hydrolysis of Atlantic salmon (Salmo salar) rest raw materials Influence of process conditions and evaluation of hydrolysate in diets for broiler chickens and piglets*. (PHD), Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Norwegian University of Life Sciences. Retrieved from [https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2495845/Margareth\\_Opheim\\_%28IHA%29\\_Thesis\\_2015-85.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2495845/Margareth_Opheim_%28IHA%29_Thesis_2015-85.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Opheim, M., Šližytė, R., Sterten, H., Provan, F., Larssen, E., & Kjos, N. P. (2015). Hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) rest raw materials—Effect of raw material and processing on composition, nutritional value, and potential bioactive peptides in the

- hydrolysates. *Process Biochemistry*, 50(8), 1247-1257.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.04.017>
- Osibona, A. O., Kusemiju, K., & Akande, G. R. (2009). Fatty Acid Composition and Amino Acid Profile of Two Freshwater Species, African Catfish ( *Clarias gariepinus* ) And Tilapia ( *Tilapia zillii*. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 9.  
doi:10.4314/ajfand.v9i1.19216
- Osuri, G. (2013). I.c Amino acids. Retrieved from <https://www.bioinformatics.org/tutorial/1-3.html>
- Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H. (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115(1), 238-242. doi:10.1016/j.foodchem.2008.12.013
- Palmer, T. (1995). *Understanding enzymes* (4 ed.). Hertfordshire, UK: Prentice Hall.
- Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science & Technology*, 7(4), 120-125.  
doi:[https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10012-1](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10012-1)
- Pastoriza, L., Sampedro, G., Cabo, M. L., Herrera, J. J., & Bernárdez, M. (2004). Solubilisation of proteins from rayfish residues by endogenous and commercial enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(1), 83-88. doi:10.1002/jsfa.1617
- Pasupuleti, V. K., & Braun, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. In *Protein hydrolysates in biotechnology* (pp. 11-32). Netherlands: Springer Netherlands.
- Perica, M. M., & Delas, I. (2011). Essential fatty acids and psychiatric disorders. *Nutr Clin Pract*, 26(4), 409-425. doi:10.1177/0884533611411306
- Phleger, C. F., Nelson, M. M., Mooney, B. D., & Nichols, P. D. (2002). Interannual and between species comparison of the lipids, fatty acids and sterols of Antarctic krill from the US AMLR Elephant Island survey area. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 131(4), 733-747.
- Ramakrishnan, V. V., Ghaly, A. E., Brooks, M. S., & Budge, S., M.,. (2013). Extraction of Proteins from Mackerel Fish Processing Waste Using Alcalase Enzyme *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, 3, 2-9.
- Rasmussen, R. S., & Morrissey, M. T. (2007). Marine biotechnology for production of food ingredients. *Adv Food Nutr Res*, 52, 237-292. doi:10.1016/s1043-4526(06)52005-4
- Remme, F. J. (2018). Bærekraftig og fersk omega-3 fra makrell. Retrieved from <https://blogg.sintef.no/sintefocean-nb/baerekraftig-og-fer-sk-omega-3-fra-makrell/>
- Richardsen, R., Nystøyl, R., Strandheim, G., & Marthinussen, A. (2017). *Analyse marint restråstoff, 2016 - Tilgang og anvendelse av marint restråstoff i Norge*. Retrieved from <https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2446152/Analyse%2bmarint%2brestr%25C3%25A5stoff%2b%2b2016%2bsluttrapport%2bsignert.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Roberts, P. R., Burney, J. D., Black, K. W., & Zaloga, G. P. (1999). Effect of chain length on absorption of biologically active peptides from the gastrointestinal tract. *Digestion*, 60(4), 332-337. doi:10.1159/000007679
- Rogalska, E., Ransac, S., & Verger, R. (1990). Stereoselectivity of lipases. II. Stereoselective hydrolysis of triglycerides by gastric and pancreatic lipases. *J Biol Chem*, 265(33), 20271-20276.

- Romotowska, P. E., Gudjónsdóttir, M., Karlsdóttir, M. G., Kristinsson, H. G., & Arason, S. (2017). Stability of frozen Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) as affected by temperature abuse during transportation. *LWT - Food Science and Technology*, *83*, 275-282. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.024>
- Romotowska, P. E., Gudjónsdóttir, M., Kristinsdóttir, T. B., Karlsdóttir, M. G., Arason, S., Jónsson, Á., & Kristinsson, H. G. (2016). Effect of brining and frozen storage on physicochemical properties of well-fed Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) intended for hot smoking and canning. *LWT - Food Science and Technology*, *72*, 199-205. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.055>
- Romotowska, P. E., Karlsdóttir, M. G., Gudjónsdóttir, M., Kristinsson, H. G., & Arason, S. (2016). Seasonal and geographical variation in chemical composition and lipid stability of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) caught in Icelandic waters. *Journal of Food Composition and Analysis*, *49*, 9-18. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.03.005>
- Rudin, A. (1989). 18 - Molecular Weight Distributions. In G. Allen & J. C. Bevington (Eds.), *Comprehensive Polymer Science and Supplements* (pp. 239-244). Amsterdam: Pergamon.
- Rustad, T. (2003). Utilisation of marine by-products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, *2*(4), 458-463.
- Rustad, T., Storrø, I., & Slizyte, R. (2011). Possibilities for the utilisation of marine by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(10), 2001-2014. doi:[doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02736.x)
- Schuchardt, J. P., & Hahn, A. (2013). Bioavailability of long-chain omega-3 fatty acids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *89*(1), 1-8. doi:[10.1016/j.plefa.2013.03.010](https://doi.org/10.1016/j.plefa.2013.03.010)
- See, S. F., Hoo, L. L., & Babji, A. S. (2011). Optimization of enzymatic hydrolysis of salmon (*Salmo salar*) skin by Alcalase. *International Food Research Journal*, *18*(4), 1359-1365.
- Shahidi, F., Han, X., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry*, *53*(3), 285-293. doi:[https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)93934-J](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)93934-J)
- Sigma-Aldrich. (2019). 2-Mercaptoethanol. Retrieved from [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/m6250?lang=en&region=NO&gclid=Cj0KQCjw4qvlBRDiARIsAHme6ovepTDTITxtmDhTr9uwGw12SQdkmXdSu4VywzOEtiv0ZzNHrdfhHF4aAhd7EALw\\_wcB](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/m6250?lang=en&region=NO&gclid=Cj0KQCjw4qvlBRDiARIsAHme6ovepTDTITxtmDhTr9uwGw12SQdkmXdSu4VywzOEtiv0ZzNHrdfhHF4aAhd7EALw_wcB)
- Skipnes, D., Johnsen, S. O., Skåra, T., Sivertsvik, M., & Lekang, O. (2011). Optimization of Heat Processing of Farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Muscle with Respect to Cook Loss, Water Holding Capacity, Color, and Texture. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *20*(3), 331-340. doi:[10.1080/10498850.2011.571808](https://doi.org/10.1080/10498850.2011.571808)
- Skjellegrind, R. B. (2013). *Enzymatisk hydrolyse av biprodukter fra laks: Produksjon av hydrolysater med helsebringende effekt.* (Master), NTNU, Institutt for bioteknologi og matvitenskap. Retrieved from <https://brage.bibsys.no/xmlui/handle/11250/246009>
- Skåra, T., Sone, I., & Skuland, A. (2018). Hot smoked Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) Effects of catch season, frozen storage time of raw material (fillets) and chilled storage time of finished product, on colour and sensory characteristics. (2018).
- Šližytė, R., Carvajal, A. K., Mozuraityte, R., Aursand, M., & Storrø, I. (2014). Nutritionally rich marine proteins from fresh herring by-products for human consumption. *Process Biochemistry*, *49*(7), 1205-1215. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.03.012>

- Šližyte, R., Daukšas, E., Falch, E., Storrø, I., & Rustad, T. (2005). Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, *40*(3), 1415-1424. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.033>
- Slizyte, R., Grimsmo, L., & Storrø, I. (2010). *Prosessering av biråstoff fra sild til olje og proteinhydrolysat. Laboratorieforsøk med ulike proteaser og pilotforsøk med ultraferskt råstoff*. Retrieved from SINTEF Fiskeri og havbruk: <https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/2496248/A105063-%2BProsessering%2Bav%2Bbir%25C3%25A5stoff%2Bfra%2Bsild%2Btil%2Bolje%2Bog%2Bproteinhydrolysat.%2BLaboratoriefors%25C3%25B8k%2Bmed%2Bulike%2Bproteaser%2Bog%2Bpilotfors%25C3%25B8k%2Bmed%2Bultraferskt%2Br%25C3%25A5stoff-Rasa%2BSlizyte.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Slizyte, R., Rommi, K., Mozuraityte, R., Eck, P., Five, K., & Rustad, T. (2016). Bioactivities of fish protein hydrolysates from defatted salmon backbones. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, *11*, 99-109. doi:10.1016/j.btre.2016.08.003
- Solberg, C., & Høggøy, I. (1994). *Prosesskontroll ved oppkonsentrering av ensilasje, Bruk av «nær infrarøf spektroskopi» (NIT-analyse)*. Retrieved from RUBIN:
- Sosulski, F. W., & Imafidon, G. I. (1990). Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. *J Agric Food Chem*, *38*(6), 1351-1356. doi:10.1021/jf00096a011
- Speight, J. G. (2017). Chapter 3 - Industrial Organic Chemistry. In J. G. Speight (Ed.), *Environmental Organic Chemistry for Engineers* (pp. 87-151): Butterworth-Heinemann.
- Spinelli, J., Koury, B., & Miller, R. (1972). APPROACHES TO THE UTILIZATION OF FISH FOR THE PREPARATION OF PROTEIN ISOLATES Enzymic Modifications of Myofibrillar Fish Proteins. *Journal of Food Science*, *37*(4), 604-608. doi:10.1111/j.1365-2621.1972.tb02703.x
- Standal, I. B., Axelson, D. E., & Aursand, M. (2009). Differentiation of Fish Oils According to Species by <sup>13</sup>C-NMR Regiospecific Analyses of Triacylglycerols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *86*(5), 401-407. doi:10.1007/s11746-009-1370-y
- Standal, I. B., Carvajal, A. K., Mozuraityte, R., Storrø, I., Størseth, T., Abbasi, E., & Aursand, M. (2018). High-Resolution NMR as Tool to Study Enzyme-Catalyzed Production of Fatty Acid Ethyl Esters from Marine Oils. In G. A. Webb (Ed.), *Modern Magnetic Resonance* (pp. 1853-1866). Cham: Springer International Publishing.
- Standal, I. B., Mozuraityte, R., Rustad, T., Alinasabhematabadi, L., Carlsson, N., & Undeland, I. (2018). Quality of Filleted Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) During Chilled and Frozen Storage: Changes in Lipids, Vitamin D, Proteins, and Small Metabolites, including Biogenic Amines. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *27*(3), 338-357. doi:10.1080/10498850.2018.1436107
- Svihus, B., & Bernatek, E. R. (2018). Fett. Retrieved from <https://sml.snl.no/fett>
- Tanakol, R., Yazici, Z., Sener, E., & Sencer, E. (1999). Fatty acid composition of 19 species of fish from the Black Sea and the Marmara Sea. *Lipids*, *34*(3), 291-297.
- Technologies, C. A. (2005). ECS 4010 Nitrogen/Protein Analyzer - Instrument Description. Retrieved from [http://www.costechanalytical.com/products/ecs4010\\_description.aspx](http://www.costechanalytical.com/products/ecs4010_description.aspx)
- Toppe, J., Albrektsen, S., Hope, B., & Aksnes, A. (2007). Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species.

- Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 146(3), 395-401. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.11.020>
- UiO. (2011, 14. januar 2019). Protein. Retrieved from <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/p/protein.html>
- UiO. (2018, 16. april 2018). Fosfolipid. Retrieved from <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/f/fosfolipid.html>
- UiO. (2019, 25. januar 2019). Protein og aminosyrer. Retrieved from <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/p/protein-og-aminosyrer.html>
- Wang-Andersen, J., & Haugsgjerd, B., O.,. (2011). *Forbedret analysemetodikk for peptidstørrelsesfordeling i marine proteinhydrolysater*. Retrieved from Nofima AS: <https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/bitstream/handle/11250/2557665/Rapport%2b43-2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Weiss, M., Manneberg, M., Juranville, J. F., Lahm, H. W., & Fountoulakis, M. (1998). Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *J Chromatogr A*, 795(2), 263-275.
- Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 36(9-10), 949-957. doi:10.1016/s0963-9969(03)00104-2
- Zapata-Monotoya, J. E., Giraldo-Rios, D. E., & Baez-Suarez, A. J. (2018). KINETIC MODELING OF THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF PROTEINS OF VISCERAS FROM RED TILAPIA (*Oreochromis sp.*): EFFECT OF SUBSTRATE AND ENZYME CONCENTRATION. *Vitae*, 25, 17-25.
- Zhang, H., Shen, Y., Zhang, Y., Li, L., & Wang, X. (2018). Regiospecific Analysis of Fatty Acids and Calculation of Triglyceride Molecular Species in Marine Fish Oils. *BioMed Research International*, 2018, 7. doi:10.1155/2018/9016840
- Aarnes, H. (2011, 15. februar 2011). Fett (lipider). Retrieved from <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/plfys/biokjemi/fett.html>

## Vedlegg

Vedlegg A til G presenterer data fra studie 1. Vedlegg H til N presenterer data fra studie 2.

I studie 2 benyttes følgende prøvenavn:

- S-0-E/A-1
- S-0-E/A-2
- S-30-E/A-1
- S-30-E/A-2
- S-60-E/A-1
- S-60-E/A-2

Hvor «S» er samfengt oktober-restråstoff. «0»-, «30»- eller «60» er hydrolysetid. «E» står for endogen hydrolyse (naturlig hydrolyse) og «A» står for hydrolyse med Alkalase. Og «1» eller «2» er parallell/reaktor 1 eller 2.

- B-0-E/A-1
- B-0-E/A-2
- B-30-E/A-1
- B-30-E/A-2
- B-60-E/A-1
- B-60-E/A-2

Hvor «B» er hode/rygg/hale (HRH) oktober-restråstoff. «0»-, «30»- eller «60» er hydrolysetid. «E» står for endogen hydrolyse (naturlig hydrolyse) og «A» står for hydrolyse med Alkalase. Og «1» eller «2» er parallell/reaktor 1 eller 2.

For disse data er parallell 1 ikke inkludert i resultater på grunn av tining av makrell ved andre betingelser. Data vil likevel tas med i vedlegg, men fremstilles alene.

- J-0-E/A-1
- J-0-E/A-2
- J-30-E/A-1
- J-30-E/A-2
- J-60-E/A-1
- J-60-E/A-2

Hvor «J» er HRH januar-restråstoff. «0»-, «30»- eller «60» er hydrolysetid. «E» står for endogen hydrolyse (naturlig hydrolyse) og «A» står for hydrolyse med Alkalase. Og «1» eller «2» er parallell/reaktor 1 eller 2.

## Vedlegg A: Vektdata fra filetering av makrell med differanser for hver fraksjon i forhold til totalvekt

Vedlegg inneholder rådata fra karakterisering av de ulike fraksjonene i makrell, både fra oktober- og januarmakrell.

**Tabell A.1**

Vekt og differanser for oktobermakrell

<b>Fisk</b>	<b>Vekt hel</b>	<b>Filetvekt</b>	<b>Diff.</b>	<b>Innmat</b>	<b>Diff.</b>	<b>HRH</b>	<b>Diff.</b>
<b>Nr.</b>	<b>fisk [g]</b>	<b>[g]</b>	<b>%</b>	<b>[g]</b>	<b>%</b>	<b>[g]</b>	<b>%</b>
<b>1</b>	412,94	222,42	53,86 %	44,36	10,74 %	138,67	33,58 %
<b>2</b>	445,10	243,22	54,64 %	41,00	9,21 %	145,01	32,58 %
<b>3</b>	410,98	217,25	52,86 %	41,69	10,14 %	139,39	33,92 %
<b>4</b>	438,39	217,03	49,51 %	45,35	10,34 %	171,80	39,19 %
<b>5</b>	445,79	229,28	51,43 %	51,17	11,48 %	162,53	36,46 %
<b>6</b>	441,45	240,41	54,46 %	37,81	8,56 %	160,29	36,31 %
<b>7</b>	427,68	240,39	56,21 %	43,75	10,23 %	140,89	32,94 %
<b>8</b>	425,80	239,70	56,29 %	41,43	9,73 %	140,37	32,97 %
<b>9</b>	464,95	283,86	61,05 %	43,83	9,43 %	143,35	30,83 %
<b>10</b>	426,64	241,24	56,54 %	40,39	9,47 %	138,10	32,37 %
<b>11</b>	438,02	260,00	59,36 %	47,53	10,85 %	130,10	29,70 %
<b>12</b>	446,36	248,52	55,68 %	49,13	11,01 %	147,58	33,06 %
<b>13</b>	386,19	221,66	57,40 %	42,35	10,97 %	117,16	30,34 %
<b>14</b>	430,93	250,03	58,02 %	40,82	9,47 %	133,79	31,05 %
<b>15</b>	416,11	226,50	54,43 %	47,75	11,48 %	138,14	33,20 %
<b>16</b>	238,29	136,70	57,37 %	27,66	11,61 %	71,20	29,88 %
<b>17</b>	416,02	228,45	54,91 %	44,50	10,70 %	138,28	33,24 %
<b>18</b>	388,64	223,44	57,49 %	34,50	8,88 %	125,38	32,26 %
<b>Snitt</b>	<b>416,68</b>	<b>231,67</b>	<b>55,64 %</b>	<b>42,50</b>	<b>10,24 %</b>	<b>137,89</b>	<b>32,99 %</b>
<b>SD</b>	<b>48,8</b>	<b>29,0</b>	<b>0,03</b>	<b>5,47</b>	<b>0,01</b>	<b>21,09</b>	<b>0,02</b>



**Tabell A.2**

Vekt og differanser for januarmakrell

<b>Fisk Nr.</b>	<b>Vekt hel fisk [g]</b>	<b>Filetvekt [g]</b>	<b>Diff. %</b>	<b>Innmat [g]</b>	<b>Diff. %</b>	<b>HRH [g]</b>	<b>Diff. %</b>
1	304,78	168,01	55,13	35,93	11,79	97,92	32,13
2	270,69	151,82	56,09	27,59	10,19	84,78	31,32
3	335,9	179,41	53,41	44,07	13,12	106,54	31,72
4	201,6	111,72	55,42	21,98	10,90	64,10	31,80
5	285,07	157,88	55,38	35,91	12,60	89,58	31,42
6	259,1	151,41	58,44	26,50	10,23	79,63	30,73
7	222,72	125,4	56,30	23,78	10,68	69,89	31,38
8	327,21	171,86	52,52	44,08	13,47	109,26	33,39
9	156,32	90,02	57,59	14,02	8,97	50,05	32,02
10	334,72	185,35	55,37	37,17	11,10	110,56	33,03
11	196,01	106,78	54,48	16,38	8,36	68,37	34,88
12	201,1	108,02	53,71	22,91	11,39	35,43	17,62
13	195,95	106,17	54,18	20,85	10,64	64,69	33,01
14	327,86	180,38	55,02	36,01	10,98	106,82	32,58
15	228,29	129,63	56,78	23,22	10,17	70,87	31,04
16	221,58	118,26	53,37	25,25	11,40	75,11	33,90
17	335,8	188,84	56,24	32,65	9,72	109,62	32,64
18	194,32	104,8	53,93	22,56	11,61	64,82	33,36
19	189,79	104,6	55,11	21,21	11,18	61,15	32,22
20	254,23	124,66	49,03	30,74	12,09	93,49	36,77
21	195,17	109,55	56,13	20,36	10,43	62,10	31,82
22	173,58	93,85	54,07	18,48	10,65	59,18	34,09
23	269,36	151,03	56,07	29,41	10,92	84,75	31,46
24	207,79	114,73	55,21	24,45	11,77	66,12	31,82
25	358,97	199,24	55,50	40,09	11,17	116,07	32,33
26	188,90	94,28	49,91	27,21	14,40	63,60	33,67
27	223,48	128,9	57,68	23,16	10,36	68,33	30,58
28	282,72	149,81	52,99	37,21	13,16	91,97	32,53
29	285,46	176,53	61,84	29,66	10,39	75,89	26,59
30	248,94	136,16	54,70	27,83	11,18	83,01	33,35
31	158,19	88,9	56,20	16,36	10,34	48,10	30,41
32	355,10	193,74	54,56	41,53	11,70	116,73	32,87
33	250,12	139,73	55,87	30,00	11,99	76,60	30,63
34	323,91	183,006	56,50	36,44	11,25	102,28	31,58
35	165,99	95,44	57,50	17,13	10,32	51,15	30,82
36	316,93	180,41	56,92	35,42	11,18	99,36	31,35
37	322,43	190,85	59,19	37,17	11,53	90,78	28,15
38	324,83	179,22	55,17	36,15	11,13	106,70	32,85
39	247,70	150,07	60,59	29,87	12,06	64,79	26,16
40	327,55	186,66	56,99	39,97	12,20	98,44	30,05

---

<b>Snitt</b>	<b>256,75</b>	<b>142,68</b>	<b>55,53</b>	<b>29,02</b>	<b>11,22</b>	<b>80,97</b>	<b>31,50</b>
<b>SD</b>	61,59	35,15	2,38	8,22	1,16	21,06	2,97

---

## Vedlegg B: Tørrstoff- og askeinnhold i råstoff-fraksjoner

Tørrstoff- og askeinnhold ble analysert i alle fraksjoner med hensikt om å bestemme hva råmaterialet besto av. Vedlegg inneholder rådata for beregninger av vann-, tørrstoff- og askeinnhold.

**Tabell B.1**

Rådata for bestemmelse av vann-, tørrstoff- og askeinnhold i råstoff-fraksjoner i oktobermakrell

<b>Prøve</b>	<b>Digel [g]</b>	<b>Digel m/prøve [g]</b>	<b>Etter tørring [g]</b>	<b>Vann [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Tørrstoff [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Etter forask. [g]</b>	<b>Aske [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>HRH</b>	27,9911	29,9900	28,7945	<b>59,81</b>	<b>59,98</b>	2,03	<b>40,19</b>	<b>40,02</b>	2,03	28,0963	<b>5,3</b>	<b>5,1</b>	0,19
<b>HRH</b>	25,2618	27,4857	26,1949	<b>58,04</b>			<b>41,96</b>			25,3744	<b>5,06</b>		
<b>HRH</b>	28,2072	30,4881	29,0720	<b>62,09</b>			<b>37,91</b>			28,3188	<b>4,89</b>		
<b>Innmat</b>	19,0301	21,8401	20,1498	<b>60,15</b>	<b>61,67</b>	1,71	<b>39,85</b>	<b>38,33</b>	1,71	19,0867	<b>2,01</b>	<b>1,95</b>	0,06
<b>Innmat</b>	19,3804	22,8545	20,7243	<b>61,32</b>			<b>38,68</b>			19,4483	<b>1,95</b>		
<b>Innmat</b>	20,0978	23,3264	21,2754	<b>63,53</b>			<b>36,47</b>			20,1587	<b>1,89</b>		
<b>Samfengt</b>	18,1676	21,7200	19,6378	<b>58,61</b>	<b>58,01</b>	0,91	<b>41,39</b>	<b>41,99</b>	0,91	18,3677	<b>5,63</b>	<b>5,60</b>	0,05
<b>Samfengt</b>	18,5367	21,3017	19,7267	<b>56,96</b>			<b>43,04</b>			18,6924	<b>5,63</b>		
<b>Samfengt</b>	14,0870	16,5670	15,1176	<b>58,44</b>			<b>41,56</b>			14,2245	<b>5,54</b>		
<b>Filet</b>	28,6937	31,5792	30,1132	<b>50,81</b>	<b>49,58</b>	1,07	<b>49,19</b>	<b>50,42</b>	1,07	28,7458	<b>1,81</b>	<b>1,75</b>	0,08
<b>Filet</b>	19,0651	22,2349	20,6820	<b>48,99</b>			<b>51,01</b>			19,1217	<b>1,79</b>		
<b>Filet</b>	18,1400	20,8531	19,5255	<b>48,93</b>			<b>51,07</b>			18,1848	<b>1,65</b>		

**Tabell B.2**

Rådata for karakterisering av vann-, tørrstoff- og askeinnhold i råstoff-fraksjoner i januarmakrell

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve [g]	Etter tørrking [g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
<b>HRH</b>	17,6504	19,9987	18,5011	<b>63,77</b>	<b>66,62</b>	2,63	<b>36,23</b>	<b>33,38</b>	2,63	<b>17,7259</b>	<b>3,21</b>	<b>3,32</b>	0,47
<b>HRH</b>	16,6464	18,3328	17,1698	<b>68,96</b>			<b>31,04</b>			16,7110	3,83		
<b>HRH</b>	17,5277	19,6548	18,2268	<b>67,13</b>			<b>32,87</b>			17,5895	<b>2,91</b>		
<b>Innmat</b>	12,8069	15,7491	13,6962	<b>69,77</b>	<b>66,73</b>	3,60	<b>30,23</b>	<b>33,27</b>	3,46	12,8531	<b>1,57</b>	<b>1,47</b>	0,09
<b>Innmat</b>	14,8036	17,8993	15,8110	<b>67,46</b>			<b>32,54</b>			14,8479	<b>1,43</b>		
<b>Innmat</b>	13,1822	16,3232	14,3454	<b>62,97</b>			<b>37,03</b>			13,2266	<b>1,41</b>		
<b>Samfengt</b>	16,0566	18,0936	16,7167	<b>67,59</b>	<b>66,45</b>	3,60	<b>32,41</b>	<b>33,55</b>	1,21	16,1226	<b>3,24</b>	<b>3,32</b>	0,14
<b>Samfengt</b>	17,0270	19,5205	17,8607	<b>66,57</b>			<b>33,43</b>			17,1140	<b>3,49</b>		
<b>Samfengt</b>	18,3870	21,3123	19,4056	<b>65,18</b>			<b>34,82</b>			18,4819	<b>3,24</b>		
<b>Filet</b>	13,1524	15,4644	13,7479	<b>74,24</b>	<b>72,34</b>	2,30	<b>25,76</b>	<b>27,66</b>	2,30	13,1868	<b>1,49</b>	<b>1,47</b>	0,03
<b>Filet</b>	14,2776	16,6848	14,9276	<b>73,00</b>			<b>27,00</b>			14,3132	<b>1,48</b>		
<b>Filet</b>	14,5580	17,4667	15,4366	<b>69,79</b>			<b>30,21</b>			14,5996	<b>1,43</b>		

## Vedlegg C: Totalt lipidinnhold i råstoff-fraksjoner

Bestemmelse av totalt lipidinnhold i råstoff-fraksjonene ble utført ved bruk av en modifisert metode av Bligh & Dyer, makrometode. Vedlegg inneholder rådata fra beregninger av totalt lipidinnhold. Kalkulasjonene av totalt lipidinnhold ble gjort ved å bruke ligning 4.

$$\% \text{ Totalt lipidinnhold} = \frac{\text{Inndampet fett (g)} \times \text{Tilsatt kloroform (ml)} \times 100\%}{\text{Inndampet kloroform (ml)} \times \text{Innveid prøve (g)}} \quad (4.)$$

**Tabell C.1**

Rådata for kalkulasjon av totalt lipidinnhold i råstoff-fraksjoner i oktobermakrell.

<b>PRØVE</b>	<b>Vekt prøve</b> [g]	<b>Vekt rør</b> [g]	<b>Rør + fett</b> [g]	<b>Fett</b> [%]	<b>Snitt fett</b> [%]	<b>SD</b>
<b>HRH</b>	11,72	10,9270	11,0352	18,47	<b>20,09</b>	2,29
<b>HRH</b>	11,13	11,2331	11,3539	21,70		
<b>Innmat</b>	11,88	10,8783	11,0084	21,91	<b>21,98</b>	0,10
<b>Innmat</b>	10,85	10,8658	10,9855	22,05		
<b>Samfengt</b>	10,27	11,0270	11,1396	21,94	<b>21,51</b>	0,60
<b>Samfengt</b>	11,43	10,8572	10,9777	21,09		
<b>Filet</b>	11,50	10,9405	11,0757	23,52	<b>25,49</b>	2,79
<b>Filet</b>	10,03	10,8416	10,9793	27,46		

**Tabell C.2**

Rådata for kalkulasjon av totalt lipidinnhold i råstoff-fraksjoner i januarmakrell.

<b>PRØVE</b>	<b>Vekt prøve</b> [g]	<b>Vekt rør</b> [g]	<b>Rør + fett</b> [g]	<b>Fett</b> [%]	<b>Snitt fett</b> [%]	<b>SD</b>
<b>HRH</b>	10,59	11,1616	11,2422	15,22	<b>15,72</b>	0,71
<b>HRH</b>	10,32	10,8826	10,9663	16,22		
<b>Innmat</b>	10,55	10,8397	10,9171	14,67	<b>16,09</b>	2,01
<b>Innmat</b>	10,47	10,8796	10,9713	17,52		
<b>Samfengt</b>	10,47	10,8191	10,8908	13,70	<b>14,35</b>	0,92
<b>Samfengt</b>	10,96	10,7616	10,8438	15,00		
<b>Filet</b>	11,00	10,8149	10,8824	12,27	<b>11,28</b>	1,40
<b>Filet</b>	10,49	10,8099	10,8639	10,30		

## Vedlegg D: Proteininnhold i råstoff-fraksjoner

Bestemmelse av proteininnhold i råstoff-fraksjonene gjennomført på tørrstoff ved bruk av C/N-protein metode. Proteininnholdet ble beregnet ved bruk av omregningsfaktor 5,71. Resultat gir sum av proteiner, peptider og aminosyrer i prøven. Resultater er gitt som både tørrvekt og våtvekt.



**Tabell D.1**

Proteininnhold i råstoff-fraksjoner, fra oktober- og januarmakrell.

	% protein i tørrvekt	Snitt	SD	% protein i våtvekt	Snitt	SD
<b>Filet (jan)</b>	51,6	<b>51,1</b>	0,6	14,3	<b>14,1</b>	0,2
	51,4			14,2		
	50,7			14,1		
	50,4			14,0		
<b>Innmat (jan)</b>	41,8	<b>45,3</b>	5,3	13,9	<b>15,1</b>	1,8
	51,8			17,2		
	40,3			13,4		
	47,4			15,8		
<b>Samfengt (okt)</b>	30,2	<b>31,2</b>	2,4	12,7	<b>13,1</b>	1,0
	30,5			12,8		
	34,8			14,6		
	29,5			12,4		
<b>HRH (jan)</b>	37,8	<b>36,2</b>	1,7	12,6	<b>12,1</b>	0,6
	33,8			11,3		
	36,1			12,0		
	37,2			12,4		
<b>Samfengt (jan)</b>	38,4	<b>38,1</b>	1,0	12,9	<b>12,8</b>	0,3
	37,0			12,4		
	39,2			13,2		
	37,6			12,6		
<b>Filet (okt)</b>	30,2	<b>30,0</b>	0,5	15,2	<b>15,1</b>	0,3
	29,8			15,0		
	29,4			14,8		
	30,7			15,5		
<b>HRH (okt)</b>	33,7	<b>34,8</b>	1,2	13,5	<b>13,9</b>	0,5
	33,8			13,5		
	36,0			14,4		
	35,6			14,3		
<b>Innmat (okt)</b>	28,9	<b>32,9</b>	5,6	11,1	<b>12,6</b>	2,1
	81,3			31,1		
	36,8			14,1		
	0,4			0,1		

## Vedlegg E: Fettsyresammensetning i restråstoff-fraksjoner

Fettsyresammensetningen i % av totale fettsyrer ble bestemt i olje ekstrahert fra restråstoff-fraksjonene HRH, samfengt og innmat, fra både oktober- og januarmakrell.

**Tabell E.1**

Rådata av fettsyresammensetningen i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff HRH (oktober). To paralleller fra samme prøve; 1 og 2.

Fettsyre	HRH (okt) [%]		Snitt	SD
	1	2		
<b>C14:0</b>	7,98	7,98	7,98	0,00
<b>C14:1</b>	0,30	0,30	0,30	0,00
<b>C15:0</b>	0,55	0,55	0,55	0,00
<b>C16:0</b>	14,34	14,26	14,30	0,06
<b>C16:1</b>	5,18	4,84	5,01	0,24
<b>C17:0</b>	0,35	0,35	0,35	0,00
<b>C17:1</b>	0,37	0,38	0,38	0,01
<b>C18:0</b>	2,07	2,04	2,06	0,02
<b>C18:1n11+ n9</b>	11,64	11,58	11,61	0,04
<b>C18:1n7</b>	2,08	2,02	2,05	0,04
<b>C18:2n6</b>	1,63	1,61	1,62	0,01
<b>C18:3n6</b>	0,27	0,27	0,27	0,00
<b>C18:3n3</b>	1,51	1,51	1,51	0,00
<b>c18:4n3</b>	5,11	5,11	5,11	0,00
<b>C20:0</b>	0,17	0,17	0,17	0,00
<b>C20:1</b>	9,30	8,96	9,13	0,24
<b>C20:2n6</b>	0,28	0,29	0,29	0,01
<b>c20:3n6</b>	0,10	0,10	0,10	0,00
<b>C20:4n6</b>	0,34	0,33	0,34	0,01
<b>C20:3n3</b>	0,19	0,19	0,19	0,00
<b>c20:4n3</b>	1,00	1,00	1,00	0,00
<b>C20:5n3</b>	7,26	7,31	7,29	0,04
<b>C22:0</b>	0,09	0,10	0,10	0,01
<b>c22:1n11</b>	10,75	10,80	10,78	0,04
<b>C22:1n9</b>	0,72	0,72	0,72	0,00
<b>C22:2</b>	0,42	0,42	0,42	0,00
<b>C22:3</b>	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>C22:4</b>	0,18	0,18	0,18	0,00
<b>c22:5n3</b>	1,03	1,01	1,02	0,01
<b>C24:0</b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>C22:6n3</b>	8,69	8,97	8,83	0,20
<b>C24:1n9</b>	0,56	0,58	0,57	0,01
<b>sum</b>	94,53	94,00	94,27	0,37
<b>sum ukjente topper</b>	5,47	6,00	5,73	0,37
<b>Sum sat</b>	25,55	25,45	25,50	0,07
<b>Sum mono</b>	40,90	40,18	40,54	0,51
<b>Sum poly</b>	28,08	28,37	28,23	0,21
<b>sum omega 3</b>	24,79	25,10	24,95	0,22

**Tabell E.2**

Rådata av fettsyresammensetningen i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff HRH (januar). To paralleller fra samme prøve; 1 og 2.

Fettsyre	HRH (jan) [%]			
	1	2	snitt	SD
<b>C14:0</b>	7,34	7,27	7,31	0,05
<b>C14:1</b>	0,29	0,29	0,29	0,00
<b>C15:0</b>	0,55	0,54	0,55	0,01
<b>C16:0</b>	14,43	14,19	14,31	0,17
<b>C16:1</b>	4,59	4,58	4,59	0,01
<b>C17:0</b>	0,36	0,36	0,36	0,00
<b>C17:1</b>	0,39	0,39	0,39	0,00
<b>C18:0</b>	2,16	2,13	2,15	0,02
<b>C18:1n11+ n9</b>	12,46	12,42	12,44	0,03
<b>C18:1n7</b>	2,20	2,20	2,20	0,00
<b>C18:2n6</b>	1,57	1,56	1,57	0,01
<b>C18:3n6</b>	0,31	0,26	0,29	0,04
<b>C18:3n3</b>	1,47	1,47	1,47	0,00
<b>c18:4n3</b>	4,90	4,89	4,90	0,01
<b>C20:0</b>	0,15	0,15	0,15	0,00
<b>C20:1</b>	8,99	8,99	8,99	0,00
<b>C20:2n6</b>	0,29	0,29	0,29	0,00
<b>c20:3n6</b>	0,09	0,09	0,09	0,00
<b>C20:4n6</b>	0,28	0,27	0,28	0,01
<b>C20:3n3</b>	0,21	0,21	0,21	0,00
<b>c20:4n3</b>	1,05	1,06	1,06	0,01
<b>C20:5n3</b>	7,48	7,50	7,49	0,01
<b>C22:0</b>	0,09	0,09	0,09	0,00
<b>c22:1n11</b>	10,28	10,30	10,29	0,01
<b>C22:1n9</b>	0,69	0,70	0,70	0,01
<b>C22:2</b>	0,41	0,41	0,41	0,00
<b>C22:3</b>	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>C22:4</b>	0,20	0,21	0,21	0,01
<b>c22:5n3</b>	1,11	1,12	1,12	0,01
<b>C24:0</b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>C22:6n3</b>	9,71	9,78	9,75	0,05
<b>C24:1n9</b>	0,58	0,58	0,58	0,00
<b>sum</b>	94,70	94,37	94,54	0,23
<b>sum ukjente topper</b>	5,30	5,63	5,47	0,23
<b>Sum sat</b>	25,08	24,73	24,91	0,25
<b>Sum mono</b>	40,47	40,45	40,46	0,01
<b>Sum poly</b>	29,15	29,19	29,17	0,03
<b>sum omega 3</b>	25,93	26,03	25,98	0,07

**Tabell E.3**

Rådata av fettsyresammensetningen i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff samfengt (okt). To paralleller fra samme prøve; 1 og 2.

Fettsyre	Samfengt (oktober) [%]			
	1	2	snitt	SD
<b>C14:0</b>	7,75	8,06	7,91	0,22
<b>C14:1</b>	0,29	0,31	0,30	0,01
<b>C15:0</b>	0,53	0,55	0,54	0,01
<b>C16:0</b>	14,05	14,29	14,17	0,17
<b>C16:1</b>	5,00	4,72	4,86	0,20
<b>C17:0</b>	0,34	0,35	0,35	0,01
<b>C17:1</b>	0,37	0,37	0,37	0,00
<b>C18:0</b>	2,03	2,03	2,03	0,00
<b>C18:1n11+ n9</b>	11,22	11,24	11,23	0,01
<b>C18:1n7</b>	1,94	1,95	1,95	0,01
<b>C18:2n6</b>	1,61	1,61	1,61	0,00
<b>C18:3n6</b>	0,31	0,26	0,29	0,04
<b>C18:3n3</b>	1,52	1,52	1,52	0,00
<b>c18:4n3</b>	5,23	5,27	5,25	0,03
<b>C20:0</b>	0,16	0,16	0,16	0,00
<b>C20:1</b>	9,25	9,11	9,18	0,10
<b>C20:2n6</b>	0,28	0,28	0,28	0,00
<b>c20:3n6</b>	0,10	0,10	0,10	0,00
<b>C20:4n6</b>	0,33	0,29	0,31	0,03
<b>C20:3n3</b>	0,20	0,21	0,21	0,01
<b>c20:4n3</b>	1,04	1,02	1,03	0,01
<b>C20:5n3</b>	7,55	7,52	7,54	0,02
<b>C22:0</b>	0,10	0,11	0,11	0,01
<b>c22:1n11</b>	11,03	10,64	10,84	0,28
<b>C22:1n9</b>	0,67	0,70	0,69	0,02
<b>C22:2</b>	0,43	0,43	0,43	0,00
<b>C22:3</b>	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>C22:4</b>	0,18	0,18	0,18	0,00
<b>c22:5n3</b>	1,02	0,99	1,01	0,02
<b>C24:0</b>	0,00	1,00	0,50	0,71
<b>C22:6n3</b>	9,45	9,28	9,37	0,12
<b>C24:1n9</b>	0,62	0,59	0,61	0,02
<b>sum</b>	94,67	95,21	94,94	0,38
<b>sum ukjente topper</b>	5,33	4,79	5,06	0,38
<b>Sum sat</b>	24,96	26,55	25,76	1,12
<b>Sum mono</b>	40,39	39,63	40,01	0,54
<b>Sum poly</b>	29,32	29,03	29,18	0,21
<b>sum omega 3</b>	26,01	25,81	25,91	0,14

**Tabell E.4**

Rådata av fettsyresammensetningen i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff samfengt (jan). To paralleller fra samme prøve; 1 og 2.

Fettsyre	Samfengt (januar) [%]			
	1	2	Snitt	SD
C14:0	7,51	7,50	7,51	0,01
C14:1	0,29	0,29	0,29	0,00
C15:0	0,55	0,54	0,55	0,01
C16:0	14,33	14,28	14,31	0,04
C16:1	4,81	5,12	4,97	0,22
C17:0	0,36	0,35	0,36	0,01
C17:1	0,37	0,37	0,37	0,00
C18:0	2,17	2,16	2,17	0,01
C18:1n11+ n9	11,98	11,95	11,97	0,02
C18:1n7	2,16	2,14	2,15	0,01
C18:2n6	1,61	1,60	1,61	0,01
C18:3n6	0,24	0,27	0,26	0,02
C18:3n3	1,48	1,48	1,48	0,00
c18:4n3	4,86	4,84	4,85	0,01
C20:0	0,16	0,15	0,16	0,01
C20:1	8,91	8,96	8,94	0,04
C20:2n6	0,29	0,29	0,29	0,00
c20:3n6	0,10	0,10	0,10	0,00
C20:4n6	0,31	0,29	0,30	0,01
C20:3n3	0,21	0,21	0,21	0,00
c20:4n3	1,04	1,05	1,05	0,01
C20:5n3	7,57	7,54	7,56	0,02
C22:0	0,08	0,09	0,09	0,01
c22:1n11	10,36	10,35	10,36	0,01
C22:1n9	0,70	0,68	0,69	0,01
C22:2	0,41	0,41	0,41	0,00
C22:3	0,07	0,07	0,07	0,00
C22:4	0,20	0,20	0,20	0,00
c22:5n3	1,12	1,11	1,12	0,01
C24:0	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:6n3	9,72	9,66	9,69	0,04
C24:1n9	0,62	0,61	0,62	0,01
sum	94,59	94,66	94,63	0,05
sum ukjente topper	5,41	5,34	5,38	0,05
Sum sat	25,16	25,07	25,12	0,06
Sum mono	40,20	40,47	40,34	0,19
Sum poly	29,23	29,12	29,18	0,08
sum omega 3	26,00	25,89	25,95	0,08

**Tabell E.5**

Rådata av fettsyresammensetningen i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff innmat (okt). To paralleller fra samme prøve; 1 og 2.

Fettsyre	Innmat (oktober) [%]		Snitt	SD
	1	2		
<b>C14:0</b>	8,11	8,00	8,06	0,08
<b>C14:1</b>	0,32	0,32	0,32	0,00
<b>C15:0</b>	0,56	0,54	0,55	0,01
<b>C16:0</b>	14,48	14,39	14,44	0,06
<b>C16:1</b>	4,86	4,83	4,85	0,02
<b>C17:0</b>	0,35	0,35	0,35	0,00
<b>C17:1</b>	0,37	0,36	0,37	0,01
<b>C18:0</b>	2,10	2,11	2,11	0,01
<b>C18:1n11+ n9</b>	12,00	11,96	11,98	0,03
<b>C18:1n7</b>	2,04	2,03	2,04	0,01
<b>C18:2n6</b>	1,66	1,65	1,66	0,01
<b>C18:3n6</b>	0,27	0,27	0,27	0,00
<b>C18:3n3</b>	1,52	1,52	1,52	0,00
<b>c18:4n3</b>	5,00	4,99	5,00	0,01
<b>C20:0</b>	0,16	0,16	0,16	0,00
<b>C20:1</b>	8,67	8,70	8,69	0,02
<b>C20:2n6</b>	0,27	0,27	0,27	0,00
<b>c20:3n6</b>	0,11	0,11	0,11	0,00
<b>C20:4n6</b>	0,33	0,33	0,33	0,00
<b>C20:3n3</b>	0,19	0,19	0,19	0,00
<b>c20:4n3</b>	1,03	1,03	1,03	0,00
<b>C20:5n3</b>	7,48	7,51	7,50	0,02
<b>C22:0</b>	0,09	0,09	0,09	0,00
<b>c22:1n11</b>	10,10	10,23	10,17	0,09
<b>C22:1n9</b>	0,68	0,66	0,67	0,01
<b>C22:2</b>	0,43	0,43	0,43	0,00
<b>C22:3</b>	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>C22:4</b>	0,18	0,18	0,18	0,00
<b>c22:5n3</b>	1,05	1,06	1,06	0,01
<b>C24:0</b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>C22:6n3</b>	9,20	9,30	9,25	0,07
<b>C24:1n9</b>	0,61	0,63	0,62	0,01
<b>sum</b>	94,29	94,27	94,28	0,01
<b>sum ukjente topper</b>	5,71	5,73	5,72	0,01
<b>Sum sat</b>	25,85	25,64	25,75	0,15
<b>Sum mono</b>	39,65	39,72	39,68	0,05
<b>Sum poly</b>	28,79	28,91	28,85	0,08
<b>sum omega 3</b>	25,47	25,60	25,54	0,09

**Tabell E.6**

Rådata av fettsyresammensetningen i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff innmat (jan). To paralleller fra samme prøve; 1 og 2.

Fettsyre	Innmat (januar) [%]		Snitt	SD
	1	2		
<b>C14:0</b>	7,81	7,83	7,82	0,01
<b>C14:1</b>	0,29	0,29	0,29	0,00
<b>C15:0</b>	0,52	0,52	0,52	0,00
<b>C16:0</b>	13,82	13,80	13,81	0,01
<b>C16:1</b>	5,13	5,13	5,13	0,00
<b>C17:0</b>	0,34	0,34	0,34	0,00
<b>C17:1</b>	0,36	0,36	0,36	0,00
<b>C18:0</b>	2,07	2,03	2,05	0,03
<b>C18:1n11+ n9</b>	10,96	10,96	10,96	0,00
<b>C18:1n7</b>	2,00	1,99	2,00	0,01
<b>C18:2n6</b>	1,61	1,61	1,61	0,00
<b>C18:3n6</b>	0,30	0,28	0,29	0,01
<b>C18:3n3</b>	1,51	1,52	1,52	0,01
<b>c18:4n3</b>	5,27	5,29	5,28	0,01
<b>C20:0</b>	0,16	0,16	0,16	0,00
<b>C20:1</b>	9,14	9,12	9,13	0,01
<b>C20:2n6</b>	0,28	0,28	0,28	0,00
<b>c20:3n6</b>	0,11	0,11	0,11	0,00
<b>C20:4n6</b>	0,34	0,35	0,35	0,01
<b>C20:3n3</b>	0,21	0,21	0,21	0,00
<b>c20:4n3</b>	1,06	1,06	1,06	0,00
<b>C20:5n3</b>	7,72	7,76	7,74	0,03
<b>C22:0</b>	0,10	0,10	0,10	0,00
<b>c22:1n11</b>	10,87	10,77	10,82	0,07
<b>C22:1n9</b>	0,45	0,70	0,58	0,18
<b>C22:2</b>	0,42	0,45	0,44	0,02
<b>C22:3</b>	0,07	0,07	0,07	0,00
<b>C22:4</b>	0,19	0,18	0,19	0,01
<b>c22:5n3</b>	1,09	1,10	1,10	0,01
<b>C24:0</b>	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>C22:6n3</b>	9,51	9,59	9,55	0,06
<b>C24:1n9</b>	0,59	0,59	0,59	0,00
<b>sum</b>	94,30	94,55	94,43	0,18
<b>sum ukjente topper</b>	5,70	5,45	5,58	0,18
<b>Sum sat</b>	24,82	24,78	24,80	0,03
<b>Sum mono</b>	39,79	39,91	39,85	0,08
<b>Sum poly</b>	29,69	29,86	29,78	0,12
<b>sum omega 3</b>	26,37	26,53	26,45	0,11



## Vedlegg F: Lipidklasser og posisjonering av fettsyrer i triglyserider

Lipidklasser i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff og posisjonering ble bestemt i restråstoff-fraksjonene HRH, samfengt og innmat, fra både oktober- og januarmakrell.

**Tabell F.1**

Lipidklassefordeling i olje ekstrahert fra makrellrestråstoff og posisjonering av fettsyrer i triglyserider. Fordeling vises i %.

	<b>Lipidklasser</b>					<b>Posisjonering i triglyserider</b>		
	TAG	DAG	MAG	PLs	Kolesterol	sn 2 pos DHA	sn 2 pos EPA	sn 2 pos C18:4
<b>HRH okt</b>	93,9	1,9	0,08	3,1	0,9	65	23	32
<b>Innmat okt</b>	89,4	6,0	0,83	2,6	1,2	70	23	39
<b>Samfengt okt</b>	93,5	2,4	0,14	2,9	1,0	67	21	33
<b>HRH jan</b>	93,0	2,2	0,03	3,3	1,4	63	25	39
<b>Innmat jan</b>	88,5	5,2	0,64	3,7	1,9	66	32	40
<b>Samfengt jan</b>	92,5	3,0	0,19	3,0	1,3	61	32	44

## Vedlegg G: Hydrolyseforsøk – utbytte data

Massebalanse fra alle hydrolyseforsøk, med utbyttedata. Presentert som våtvekt og tørrvekt.

**Tabell G.1**

Massebalansedata utbytte – hydrolyseforsøk med HRH (okt), parallell 1 og parallell 2.

Enzym	Prøve- navn	Olje [g]	Hydrolysat [g]	Emulsjon [g]	Sediment [g]	Sum [g]	Hydrolyse- uttak [g]
Endogen	B-0-E-1	29,56	204,86	-	191,55	426,0	501,88
Endogen	B-30-E-1	31,65	221,96	3,00	172,72	429,33	501,55
Endogen	B-60-E-1	62,87	461,01	42,22	286,40	852,50	949,12
Alcalase	B-0-A-1	28,59	224,34	0,00	166,56	419,49	502,67
Alcalase	B-30-A-1	35,57	226,35	33,71	150,47	446,10	500,91
Alcalase	B-60-A-1	75,40	439,10	59,37	319,69	893,56	958,38
Endogen	B-0-E-2	24,29	210,38	-	174,75	409,42	502,72
Endogen	B-30-E-2	29,78	232,40	15,08	168,00	445,26	511,29
Endogen	B-60-E-2	56,77	418,82	44,41	273,85	793,85	935,93
Alcalase	B-0-A-2	25,81	256,87	0,00	167,15	449,83	504,68
Alcalase	B-30-A-2	37,18	217,24	31,72	154,80	440,9	501,84
Alcalase	B-60-A-2	76,51	440,34	63,12	302,88	882,9	972,65

**Tabell G.2**

Hydrolyseforsøk med HRH (okt). Våtvekt %, Gjennomsnitt av parallell 1 og parallell 2. N=2.

Enzym - uttak	Sediment Våtvekt %	Hydrolysat Våtvekt %	Emulsjon Våtvekt %	Olje Våtvekt %
Endogen-0	43,83 ± 1,6	49,74 ± 2,3	-	6,4 ± 0,7
Endogen-30	38,98 ± 1,8	51,95 ± 0,4	2,04 ± 1,9	7,0 ± 0,5
Endogen-60	34,05 ± 0,6	53,42 ± 0,9	5,27 ± 0,5	7,3 ± 0,2
Alcalase-0	38,43 ± 1,8	55,29 ± 2,6		6,3 ± 0,8
Alcalase-30	34,42 ± 1,0	50,00 ± 1,0	7,38 ± 0,3	8,2 ± 0,3
Alcalase-60	35,04 ± 1,0	49,51 ± 0,5	6,90 ± 0,4	8,6 ± 0,2

**Tabell G.3**

Hydrolyseforsøk med HRH (okt). Tørrvekt %, Gjennomsnitt av parallell 1 og parallell 2. N=2

Enzym - uttak	Sediment Tørrvekt %	Hydrolysat Tørrvekt %	Emulsjon Tørrvekt %	Olje Tørrvekt %
Endogen-0	61,6 ± 1,5	11,8 ± 0,9	-	26,6 ± 2,4
Endogen-30	55,4 ± 1,0	12,6 ± 0,2	2,5 ± 0,0	30,7 ± 1,0
Endogen-60	48,2 ± 6,0	13,6 ± 1,7	3,7 ± 0,0	36,3 ± 1,7
Alcalase-0	60,4 ± 0,8	12,1 ± 0,6	-	27,5 ± 0,2
Alcalase-30	44,5 ± 0,9	11,9 ± 3,6	5,6 ± 0,8	38,0 ± 1,9
Alcalase-60	43,0 ± 1,8	14,1 ± 0,2	4,2 ± 0,5	38,8 ± 1,1

**Tabell G.4**

Massebalansedata utbytte – hydrolyseforsøk med samfengt (okt). Parallell 1 og parallell 2.

Enzym	Prøve- navn	Olje [g]	Hydrolysat [g]	Emulsjon [g]	Sediment [g]	Sum [g]	Hydrolyse- uttak [g]
Endogen	S-0-E-1	43,86	210,26	52,76	134,24	441,12	503,50
Endogen	S-30-E-1	47,02	247,61	34,58	118,65	447,86	500,66
Endogen	S-60-E-1	101,56	505,96	71,64	204,33	883,49	956,04
Alcalase	S-0-A-1	42,14	201,35	61,75	142,87	448,11	499,94
Alcalase	S-30-A-1	47,92	232,67	44,21	124,08	448,88	501,85
Alcalase	S-60-A-1	90,38	494,98	79,22	215,30	879,88	958,41
Endogen	S-0-E-2	55,25	210,93	48,12	129,63	443,93	501,08
Endogen	S-30-E-2	56,33	241,95	38,45	119,58	456,31	502,34
Endogen	S-60-E-2	114,53	514,40	72,87	191,02	892,82	963,80
Alcalase	S-0-A-2	42,17	198,31	63,92	147,07	451,47	504,14
Alcalase	S-30-A-2	48,43	245,89	44,27	115,04	453,63	503,14
Alcalase	S-60-A-2	99,23	505,26	114,08	171,54	890,11	960,8

**Tabell G.5**

Hydrolyseforsøk med samfengt (okt). Våtvekt %, Gjennomsnitt av parallell 1 og parallell 2. (n=2)

Enzym - uttak	Sediment Våtvekt %	Hydrolysat Våtvekt %	Emulsjon Våtvekt %	Olje Våtvekt %
Endogen-0	29,8 ± 0,9	47,6 ± 0,1	11,4 ± 0,8	11,2 ± 1,8
Endogen-30	26,3 ± 0,2	54,2 ± 1,6	8,1 ± 0,5	11,4 ± 1,3
Endogen-60	22,3 ± 1,2	57,4 ± 0,2	8,1 ± 0,0	12,2 ± 0,9
Alcalase-0	32,2 ± 0,5	44,4 ± 0,7	14,0 ± 0,3	9,4 ± 0,0
Alcalase-30	26,5 ± 1,6	53,0 ± 1,7	9,8 ± 0,1	10,7 ± 0,0
Alcalase-60	21,9 ± 3,7	56,5 ± 0,4	10,9 ± 2,7	10,7 ± 0,6

**Tabell G.6**

Hydrolyseforsøk med samfengt (okt). Tørrvekt %, Gjennomsnitt av parallell 1 og parallell 2. (n=2)

Enzym - uttak	Sediment Tørrvekt %	Hydrolysat Tørrvekt %	Emulsjon Tørrvekt %	Olje Tørrvekt %
Endogen-0	33,9 ± 2,4	13,6 ± 0,9	9,3 ± 1,1	43,2 ± 4,4
Endogen-30	28,2 ± 1,0	16,7 ± 3,6	7,4 ± 0,0	47,7 ± 4,6
Endogen-60	22,6 ± 3,2	21,1 ± 0,5	6,6 ± 0,0	49,7 ± 2,8
Alcalase-0	36,6 ± 1,0	12,9 ± 0,6	11,5 ± 0,4	39,0 ± 0,1
Alcalase-30	27,8 ± 2,5	18,3 ± 2,0	8,9 ± 0,5	44,9 ± 0,0
Alcalase-60	22,1 ± 7,3	21,0 ± 0,8	10,2 ± 3,0	46,7 ± 3,5

**Tabell G.7**

Massebalansedata utbytte – Hydrolyseforsøk med HRH (jan). Parallell 1 og parallell 2.

Enzym	Prøve- navn	Olje [g]	Hydrolysat [g]	Emulsjon [g]	Sediment [g]	Sum [g]	Hydrolyse- uttak [g]
Endogen	J-0-E-1	15,00	260,54	-	170,42	445,96	501,29
Endogen	J-30-E-1	17,36	275,54	19,04	162,32	474,26	502,49
Endogen	J-60-E-1	29,66	493,43	66,61	293,06	882,76	928,85
Alcalase	J-0-A-1	15,64	246,67	-	175,28	437,59	502,98
Alcalase	J-30-A-1	24,04	273,38	20,26	157,91	475,59	503,59
Alcalase	J-60-A-1	52,46	516,80	69,47	349,40	988,13	988,13
Endogen	J-0-E-2	17,05	239,79	-	181,27	438,11	496,72
Endogen	J-30-E-2	17,57	238,88	13,07	159,45	428,97	489,05
Endogen	J-60-E-2	45,13	491,93	18,76	290,53	846,35	975,54
Alcalase	J-0-A-2	14,6	263,55	-	165,19	443,34	500,92
Alcalase	J-30-A-2	19,03	243,66	30,43	156,37	449,49	501,90
Alcalase	J-60-A-2	40,58	490,56	63,21	301,69	896,04	969,54

**Tabell G.8**

Hydrolyseforsøk med HRH (jan). Våtvekt %, Gjennomsnitt av parallell 1 og parallell2. (n=2)

Enzym - uttak	Sediment Våtvekt %	Hydrolysat Våtvekt %	Emulsjon Våtvekt %	Olje Våtvekt %
Endogen-0	39,79 ± 2,2	56,58 ± 2,6	-	3,6 ± 0,4
Endogen-30	35,70 ± 2,1	56,89 ± 1,7	3,53 ± 0,7	3,9 ± 0,3
Endogen-60	33,76 ± 0,8	57,01 ± 1,6	4,88 ± 3,8	4,3 ± 1,4
Alcalase-0	38,66 ± 2,0	57,91 ± 2,2	-	3,4 ± 0,2
Alcalase-30	34,00 ± 1,1	55,85 ± 2,3	5,51 ± 1,8	4,6 ± 0,6
Alcalase-60	34,51 ± 1,2	53,52 ± 1,7	7,04 ± 0,0	4,9 ± 0,6

**Tabell G.9**

Hydrolyseforsøk med HRH (jan). Tørrvekt %, Gjennomsnitt av parallell 1 og parallell 2. (n=2)

Enzym - uttak	Sediment Tørrvekt %	Hydrolysat Tørrvekt %	Emulsjon Tørrvekt %	Olje Tørrvekt %
Endogen-0	72,7 ± 0,4	8,9 ± 1,2	-	18,5 ± 0,8
Endogen-30	68,2 ± 0,5	9,7 ± 1,1	1,9 ± 0,8	20,2 ± 0,2
Endogen-60	63,4 ± 1,0	9,5 ± 0,5	5,2 ± 5,4	21,9 ± 5,0
Alcalase-0	73,8 ± 1,6	9,8 ± 0,9	-	16,5 ± 0,7
Alcalase-30	57,7 ± 0,2	13,8 ± 0,4	4,4 ± 2,9	24,2 ± 3,1
Alcalase-60	52,0 ± 0,2	16,7 ± 0,5	4,4 ± 1,6	26,9 ± 1,9

## Vedlegg H: Tørrstoff- og askeinnhold i hydrolysefraksjoner (sediment, emulsjon og hydrolysat)

Tørrstoff- og askeinnhold ble bestemt i alle hydrolysefraksjoner (sediment, emulsjon og hydrolysat) fra alle hydrolyseforsøk.

**Tabell H.1**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt sedimentfraksjon fra HRH (okt) (R1)

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve [g]	Etter tørring [g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
<b>B-0-E-1</b>	17,0933	19,9559	18,0371	<b>67,03</b>	<b>67,00</b>	1,05	<b>32,97</b>	<b>33,00</b>	1,05	17,2516	<b>5,53</b>	<b>5,84</b>	0,36
<b>B-0-E-1</b>	19,0158	22,4172	20,1182	<b>67,59</b>			<b>32,41</b>			19,2174	<b>5,93</b>		
<b>B-0-E-1</b>	16,9025	19,8154	17,9074	<b>65,50</b>			<b>34,50</b>			17,0865	<b>6,32</b>		
<b>B-0-E-1</b>	19,1467	22,8298	20,3305	<b>67,86</b>			<b>32,14</b>			19,3526	<b>5,59</b>		
<b>B-30-E-1</b>	17,4952	21,1430	18,6578	<b>68,13</b>	<b>67,30</b>	1,20	<b>31,87</b>	<b>32,70</b>	1,20	17,7105	<b>5,90</b>	<b>5,59</b>	0,55
<b>B-30-E-1</b>	18,2832	21,1370	19,2616	<b>65,72</b>			<b>34,28</b>			18,4567	<b>6,08</b>		
<b>B-30-E-1</b>	17,6937	19,9808	18,4180	<b>68,33</b>			<b>31,67</b>			17,8045	<b>4,84</b>		
<b>B-30-E-1</b>	19,6561	22,9257	20,7340	<b>67,03</b>			<b>32,97</b>			19,8371	<b>5,54</b>		
<b>B-60-E-1</b>	25,5802	27,3067	26,1672	<b>66,00</b>	<b>67,23</b>	1,57	<b>34,00</b>	<b>32,77</b>	1,57	25,6905	<b>6,39</b>	<b>5,18</b>	1,17
<b>B-60-E-1</b>	17,9128	19,6412	18,4416	<b>69,41</b>			<b>30,59</b>			17,9755	<b>3,63</b>		
<b>B-60-E-1</b>	17,6505	19,5443	18,2689	<b>67,35</b>			<b>32,65</b>			17,7457	<b>5,03</b>		
<b>B-60-E-1</b>	17,2172	18,8030	17,7538	<b>66,16</b>			<b>33,84</b>			17,3070	<b>5,66</b>		
<b>B-0-A-1</b>	18,9732	20,4737	19,4313	<b>69,47</b>	<b>62,78</b>	5,04	<b>30,53</b>	<b>37,22</b>	5,04	19,0341	<b>4,06</b>	<b>5,86</b>	1,36
<b>B-0-A-1</b>	18,3877	20,0655	19,0794	<b>58,77</b>			<b>41,23</b>			18,4923	<b>6,23</b>		
<b>B-0-A-1</b>	18,3050	19,9266	18,9700	<b>58,99</b>			<b>41,01</b>			18,4239	<b>7,33</b>		
<b>B-0-A-1</b>	21,3902	22,7718	21,8894	<b>63,87</b>			<b>36,13</b>			21,4708	<b>5,83</b>		
<b>B-30-A-1</b>	16,8727	19,8982	17,7421	<b>71,26</b>	<b>71,66</b>	0,46	<b>28,74</b>	<b>28,34</b>	0,46	17,0353	<b>5,37</b>	<b>5,09</b>	0,55
<b>B-30-A-1</b>	18,0140	21,1313	18,9068	<b>71,36</b>			<b>28,64</b>			18,1918	<b>5,70</b>		
<b>B-30-A-1</b>	17,1855	19,6508	17,8691	<b>72,27</b>			<b>27,73</b>			17,3018	<b>4,72</b>		
<b>B-30-A-1</b>	31,3653	34,4158	32,2277	<b>71,73</b>			<b>28,27</b>			31,5040	<b>4,55</b>		
<b>B-60-A-1</b>	22,3225	25,3980	23,1969	<b>71,57</b>	<b>72,57</b>	1,34	<b>28,43</b>	<b>27,43</b>	1,34	22,5866	<b>8,59</b>	<b>7,68</b>	0,85
<b>B-60-A-1</b>	17,1733	20,0394	17,9524	<b>72,82</b>			<b>27,18</b>			17,3870	<b>7,46</b>		
<b>B-60-A-1</b>	17,1706	19,5822	17,7886	<b>74,37</b>			<b>25,63</b>			17,3299	<b>6,61</b>		
<b>B-60-A-1</b>	20,8864	22,8612	21,4485	<b>71,54</b>			<b>28,46</b>			21,0460	<b>8,08</b>		



**Tabell H.2**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt sedimentfraksjon fra HRH (okt). Parallell 2.

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve [g]	Etter tørking [g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
<b>B-0-E-2</b>	12,8061	14,3975	13,3454	<b>66,11</b>	<b>65,01</b>	1,52	<b>33,89</b>	<b>34,99</b>	1,52	12,8740	<b>4,27</b>	<b>6,40</b>	1,47
<b>B-0-E-2</b>	13,4478	15,1496	14,0748	<b>63,16</b>			<b>36,84</b>			13,5715	<b>7,27</b>		
<b>B-0-E-2</b>	18,7437	20,3350	19,3104	<b>64,39</b>			<b>35,61</b>			18,8624	<b>7,46</b>		
<b>B-0-E-2</b>	14,5098	15,5375	14,8551	<b>66,40</b>			<b>33,60</b>			14,5776	<b>6,60</b>		
<b>B-30-E-2</b>	13,8730	15,4400	14,3848	<b>67,34</b>	<b>67,77</b>	1,40	<b>32,66</b>	<b>32,23</b>	1,40	13,9734	<b>6,41</b>	<b>5,96</b>	0,76
<b>B-30-E-2</b>	13,8431	15,1686	14,2721	<b>67,63</b>			<b>32,37</b>			13,9267	<b>6,31</b>		
<b>B-30-E-2</b>	27,3965	29,4173	28,0085	<b>69,71</b>			<b>30,29</b>			27,4939	<b>4,82</b>		
<b>B-30-E-2</b>	22,4463	24,2765	23,0615	<b>66,39</b>			<b>33,61</b>			22,5615	<b>6,29</b>		
<b>B-60-E-2</b>	14,3907	15,9392	14,8535	<b>70,11</b>	<b>75,70</b>	17,44	<b>29,89</b>	<b>32,55</b>	3,05	14,4543	<b>4,11</b>	<b>5,90</b>	1,60
<b>B-60-E-2</b>	14,1625	15,7920	14,6819	<b>68,13</b>			<b>31,87</b>			14,2455	<b>5,09</b>		
<b>B-60-E-2</b>	14,7921	16,5393	15,4374	<b>63,07</b>			<b>36,93</b>			14,9263	<b>7,68</b>		
<b>B-60-E-2</b>	13,9188	15,1285	14,3000	<b>68,49</b>			<b>31,51</b>			14,0001	<b>6,71</b>		
<b>B-0-A-2</b>	14,6205	16,1680	15,1841	<b>63,58</b>	<b>65,57</b>	1,66	<b>36,42</b>	<b>34,43</b>	1,66	14,7250	<b>6,75</b>	<b>5,51</b>	0,90
<b>B-0-A-2</b>	14,3163	16,0984	14,8934	<b>67,62</b>			<b>32,38</b>			14,4033	<b>4,88</b>		
<b>B-0-A-2</b>	13,1696	14,8427	13,7420	<b>65,79</b>			<b>34,21</b>			13,2504	<b>4,83</b>		
<b>B-0-A-2</b>	13,6936	15,8695	14,4486	<b>65,30</b>			<b>34,70</b>			13,8145	<b>5,56</b>		
<b>B-30-A-2</b>	14,4546	16,7320	15,0382	<b>74,37</b>	<b>72,46</b>	3,11	<b>25,63</b>	<b>27,54</b>	3,11	14,5213	<b>2,93</b>	<b>5,26</b>	2,44
<b>B-30-A-2</b>	13,7149	15,9558	14,3345	<b>72,35</b>			<b>27,65</b>			13,8339	<b>5,31</b>		
<b>B-30-A-2</b>	22,1695	24,5528	22,7654	<b>75,00</b>			<b>25,00</b>			22,2687	<b>4,16</b>		
<b>B-30-A-2</b>	13,9672	16,2700	14,7013	<b>68,12</b>			<b>31,88</b>			14,1657	<b>8,62</b>		
<b>B-60-A-2</b>	14,5935	17,0865	15,2455	<b>73,85</b>	<b>73,33</b>	0,36	<b>26,15</b>	<b>26,67</b>	0,36	14,7073	<b>4,56</b>	<b>6,02</b>	1,03
<b>B-60-A-2</b>	13,9432	16,9622	14,7555	<b>73,09</b>			<b>26,91</b>			14,1539	<b>6,98</b>		
<b>B-60-A-2</b>	14,0991	16,3051	14,6926	<b>73,10</b>			<b>26,90</b>			14,2391	<b>6,35</b>		
<b>B-60-A-2</b>	14,3411	16,2190	14,8428	<b>73,28</b>			<b>26,72</b>			14,4570	<b>6,17</b>		

**Tabell H.3**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt emulsjon fra HRH (okt). Parallell 1.

<b>Prøve</b>	<b>Digel [g]</b>	<b>Digel m/prøve[g]</b>	<b>Etter tørking [g]</b>	<b>Vann [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Tørrstoff [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Etter forask. [g]</b>	<b>Aske [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>B-30-A-1</b>	17,8155	20,9332	18,2859	<b>84,91</b>	<b>85,52</b>	0,50	<b>15,09</b>	<b>14,48</b>	0,50	17,8882	<b>2,33</b>	<b>2,37</b>	0,03
<b>B-30-A-1</b>	16,6505	20,8425	17,2620	<b>85,41</b>			<b>14,59</b>			16,7492	<b>2,35</b>		
<b>B-30-A-1</b>	25,0074	29,1852	25,6078	<b>85,63</b>			<b>14,37</b>			25,1073	<b>2,39</b>		
<b>B-30-A-1</b>	28,3985	31,9360	28,8898	<b>86,11</b>			<b>13,89</b>			28,4833	<b>2,40</b>		
<b>B-60-A-1</b>	18,0277	21,8435	18,5095	<b>87,37</b>	<b>87,24</b>	0,21	<b>12,63</b>	<b>12,76</b>	0,21	18,0998	<b>1,89</b>	<b>1,91</b>	0,02
<b>B-60-A-1</b>	20,7230	25,5376	21,3390	<b>87,21</b>			<b>12,79</b>			20,8158	<b>1,93</b>		
<b>B-60-A-1</b>	19,5198	23,8079	20,0787	<b>86,97</b>			<b>13,03</b>			19,6019	<b>1,91</b>		
<b>B-60-A-1</b>	21,4242	25,6608	21,9571	<b>87,42</b>			<b>12,58</b>			21,5055	<b>1,92</b>		

**Tabell H.4**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt emulsjon fra HRH (okt). Parallell 2.

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tørking[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
<b>B-30-E-2</b>	22,5985	23,9066	22,8623	<b>79,83</b>	<b>83,41</b>	2,67	<b>20,17</b>	<b>16,59</b>	2,67	22,6266	<b>2,15</b>	<b>2,17</b>	0,06
<b>B-30-E-2</b>	28,9866	30,1541	29,1834	<b>83,14</b>			<b>16,86</b>			29,0112	<b>2,11</b>		
<b>B-30-E-2</b>	14,5574	15,9215	14,7681	<b>84,55</b>			<b>15,45</b>			14,5875	<b>2,21</b>		
<b>B-30-E-2</b>	23,7762	25,7092	24,0448	<b>86,10</b>			<b>13,90</b>			23,8193	<b>2,23</b>		
<b>B-60-E-2</b>	12,6023	14,1643	12,8563	<b>83,74</b>	<b>87,35</b>	3,87	<b>16,26</b>	<b>12,65</b>	3,87	12,6305	<b>1,81</b>	<b>1,90</b>	0,11
<b>B-60-E-2</b>	14,4410	15,5505	14,6142	<b>84,39</b>			<b>15,61</b>			14,4611	<b>1,81</b>		
<b>B-60-E-2</b>	14,4691	16,0429	14,6301	<b>89,77</b>			<b>10,23</b>			14,5000	<b>1,96</b>		
<b>B-60-E-2</b>	13,0094	15,3537	13,2083	<b>91,52</b>			<b>8,48</b>			13,0567	<b>2,02</b>		
<b>B-30-A-2</b>	13,7105	15,3365	14,0707	<b>77,85</b>	<b>81,65</b>	2,85	<b>22,15</b>	<b>18,35</b>	2,85	13,7389	<b>1,75</b>	<b>3,51</b>	3,36
<b>B-30-A-2</b>	13,1813	14,7987	13,4474	<b>83,55</b>			<b>16,45</b>			13,3197	<b>8,56</b>		
<b>B-30-A-2</b>	13,6522	15,6432	14,0285	<b>81,10</b>			<b>18,90</b>			13,6889	<b>1,84</b>		
<b>B-30-A-2</b>	13,7179	15,8797	14,0615	<b>84,11</b>			<b>15,89</b>			13,7592	<b>1,91</b>		
<b>B-60-A-2</b>	12,8272	15,2764	13,1889	<b>85,23</b>	<b>86,02</b>	0,56	<b>14,77</b>	<b>13,98</b>	0,56	12,8716	<b>1,81</b>	<b>1,88</b>	0,05
<b>B-60-A-2</b>	13,9560	16,3986	14,2857	<b>86,50</b>			<b>13,50</b>			14,0026	<b>1,91</b>		
<b>B-60-A-2</b>	13,7126	16,0602	14,0409	<b>86,02</b>			<b>13,98</b>			13,7571	<b>1,90</b>		
<b>B-60-A-2</b>	14,6702	17,0567	14,9968	<b>86,31</b>			<b>13,69</b>			14,7159	<b>1,91</b>		

**Tabell H.5**

Tørrstoffinnhold i våt hydrolysat fra HRH (okt). Parallell 1.

<b>Prøve</b>	<b>Digel [g]</b>	<b>Digel m/prøve[g]</b>	<b>Etter tøking[g]</b>	<b>Vann [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Tørrstoff [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>B-0-E-1</b>	7,4458	8,9490	7,5291	<b>94,46</b>	<b>94,28</b>	0,25	<b>5,54</b>	<b>5,72</b>	0,25
<b>B-0-E-1</b>	8,2223	9,7872	8,3145	<b>94,11</b>			<b>5,89</b>		
<b>B-30-E-1</b>	7,1259	8,6283	7,2123	<b>94,25</b>	<b>94,34</b>	0,14	<b>5,75</b>	<b>5,66</b>	0,14
<b>B-30-E-1</b>	7,6404	9,2323	7,7289	<b>94,44</b>			<b>5,56</b>		
<b>B-60-E-1</b>	7,3146	9,4556	7,4173	<b>95,20</b>	<b>95,19</b>	0,02	<b>4,80</b>	<b>4,81</b>	0,02
<b>B-60-E-1</b>	7,6257	9,4383	7,7131	<b>95,18</b>			<b>4,82</b>		
<b>B-0-A-1</b>	7,6760	8,5479	7,7266	<b>94,20</b>	<b>94,20</b>	0,01	<b>5,80</b>	<b>5,80</b>	0,01
<b>B-0-A-1</b>	7,6130	8,6218	7,6714	<b>94,21</b>			<b>5,79</b>		
<b>B-30-A-1</b>	7,2286	8,8013	7,3262	<b>93,79</b>	<b>93,80</b>	0,01	<b>6,21</b>	<b>6,20</b>	0,01
<b>B-30-A-1</b>	7,7448	9,5633	7,8573	<b>93,81</b>			<b>6,19</b>		
<b>B-60-A-1</b>	6,9987	8,6949	7,1056	<b>93,70</b>	<b>93,70</b>	0,00	<b>6,30</b>	<b>6,30</b>	0,00
<b>B-60-A-1</b>	7,7232	9,5516	7,8384	<b>93,70</b>			<b>6,30</b>		

**Tabell H.6**

Tørrstoffinnhold i våt hydrolysat fra HRH (okt). Parallell 2.

<b>Prøve</b>	<b>Digel [g]</b>	<b>Digel m/prøve[g]</b>	<b>Etter tørrking[g]</b>	<b>Vann [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Tørrstoff [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>B-0-E-2</b>	5,5411	7,2514	5,6411	<b>94,15</b>	<b>94,21</b>	0,08	<b>5,85</b>	<b>5,79</b>	0,08
<b>B-0-E-2</b>	7,5784	9,2402	7,6738	<b>94,26</b>			<b>5,74</b>		
<b>B-30-E-2</b>	7,3345	8,8107	7,4148	<b>94,56</b>	<b>94,55</b>	0,02	<b>5,44</b>	<b>5,45</b>	0,02
<b>B-30-E-2</b>	7,2786	9,2659	7,3872	<b>94,54</b>			<b>5,46</b>		
<b>B-60-E-2</b>	7,3192	9,0881	7,4132	<b>94,69</b>	<b>94,67</b>	0,03	<b>5,31</b>	<b>5,33</b>	0,03
<b>B-60-E-2</b>	7,1094	8,9596	7,2084	<b>94,65</b>			<b>5,35</b>		
<b>B-0-A-2</b>	7,296	9,1559	7,3661	<b>96,23</b>	<b>95,71</b>	0,73	<b>3,77</b>	<b>4,29</b>	0,73
<b>B-0-A-2</b>	7,2938	8,7997	7,3661	<b>95,20</b>			<b>4,80</b>		
<b>B-30-A-2</b>	7,5865	9,1042	7,6412	<b>96,40</b>	<b>95,93</b>	0,66	<b>3,60</b>	<b>4,07</b>	0,66
<b>B-30-A-2</b>	7,2935	8,5664	7,3513	<b>95,46</b>			<b>4,54</b>		
<b>B-60-A-2</b>	7,3661	9,33	7,4889	<b>93,75</b>	<b>93,75</b>	0,00	<b>6,25</b>	<b>6,25</b>	0,00
<b>B-60-A-2</b>	5,6123	7,6844	5,7418	<b>93,75</b>			<b>6,25</b>		

**Tabell H.7**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt sediment fra samfengt (okt).

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tørrking[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
S-0-E-1	19,2163	22,2070	20,0828	<b>71,03</b>	<b>70,62</b>	1,14	<b>28,97</b>	<b>29,38</b>	1,14	19,4280	<b>7,08</b>	<b>6,84</b>	0,67
S-0-E-1	19,0160	20,7350	19,4958	<b>72,09</b>			<b>27,91</b>			19,1308	<b>6,68</b>		
S-0-E-1	16,8044	19,1283	17,4847	<b>70,73</b>			<b>29,27</b>			16,9684	<b>7,06</b>		
S-0-E-1	16,8724	19,5646	17,6807	<b>69,98</b>			<b>30,02</b>			17,0441	<b>6,38</b>		
S-0-E-2	19,2160	21,4633	19,8741	<b>70,72</b>			<b>29,28</b>			19,4005	<b>8,21</b>		
S-0-E-2	18,2008	19,9190	18,6977	<b>71,08</b>			<b>28,92</b>			18,3191	<b>6,89</b>		
S-0-E-2	14,0994	16,0632	14,6663	<b>71,13</b>			<b>28,87</b>			14,2159	<b>5,93</b>		
S-0-E-2	13,7136	14,9632	14,1108	<b>68,21</b>			<b>31,79</b>			13,7947	<b>6,49</b>		
S-30-E-1	17,1737	18,8617	17,6018	<b>74,64</b>	<b>74,38</b>	1,69	<b>25,36</b>	<b>25,62</b>	1,69	17,2459	<b>4,28</b>	<b>5,07</b>	1,21
S-30-E-1	16,2843	17,8702	16,7269	<b>72,09</b>			<b>27,91</b>			16,3662	<b>5,16</b>		
S-30-E-1	17,9134	19,7757	18,4048	<b>73,61</b>			<b>26,39</b>			18,0237	<b>5,92</b>		
S-30-E-1	17,4271	19,0597	17,8126	<b>76,39</b>			<b>23,61</b>			17,4893	<b>3,81</b>		
S-30-E-2	22,5984	24,1081	22,9425	<b>77,21</b>			<b>22,79</b>			22,6465	<b>3,19</b>		
S-30-E-2	28,0572	30,3939	28,6872	<b>73,04</b>			<b>26,96</b>			28,2067	<b>6,40</b>		
S-30-E-2	17,7329	19,5876	18,2132	<b>74,10</b>			<b>25,90</b>			17,8336	<b>5,43</b>		
S-30-E-2	27,3967	29,6299	27,9790	<b>73,93</b>			<b>26,07</b>			27,5399	<b>6,41</b>		
S-60-E-1	19,8387	23,1311	20,7425	<b>72,55</b>	<b>75,24</b>	1,64	<b>27,45</b>	<b>24,76</b>	1,64	20,1092	<b>8,22</b>	<b>6,85</b>	1,24
S-60-E-1	18,3872	21,8913	19,3160	<b>73,49</b>			<b>26,51</b>			18,6742	<b>8,19</b>		
S-60-E-1	22,3219	24,0155	22,7278	<b>76,03</b>			<b>23,97</b>			22,4355	<b>6,71</b>		
S-60-E-1	28,3974	31,0215	29,0737	<b>74,23</b>			<b>25,77</b>			28,6060	<b>7,95</b>		
S-60-E-2	19,8391	21,9725	20,3557	<b>75,79</b>			<b>24,21</b>			19,9907	<b>7,11</b>		
S-60-E-2	18,9781	21,0211	19,4717	<b>75,84</b>			<b>24,16</b>			19,0780	<b>4,89</b>		
S-60-E-2	17,9125	19,5387	18,2901	<b>76,78</b>			<b>23,22</b>			18,0111	<b>6,06</b>		
S-60-E-2	19,5191	21,6218	19,9986	<b>77,20</b>			<b>22,80</b>			19,6392	<b>5,71</b>		
S-0-A-1	30,1654	32,1912	30,7545	<b>70,92</b>	<b>72,68</b>	1,40	<b>29,08</b>	<b>27,32</b>	1,40	30,2688	<b>5,10</b>	<b>5,60</b>	0,76
S-0-A-1	17,6503	19,6313	18,2036	<b>72,07</b>			<b>27,93</b>			17,7618	<b>5,63</b>		

<b>S-0-A-1</b>	17,6941	19,5796	18,2112	<b>72,57</b>			<b>27,43</b>			17,8156	<b>6,44</b>		
<b>S-0-A-1</b>	16,5247	18,9359	17,2012	<b>71,94</b>			<b>28,06</b>			16,6602	<b>5,62</b>		
<b>S-0-A-2</b>	28,2059	30,3772	28,8259	<b>71,45</b>			<b>28,55</b>			28,3183	<b>5,18</b>		
<b>S-0-A-2</b>	17,6204	19,4980	18,0995	<b>74,48</b>			<b>25,52</b>			17,7182	<b>5,21</b>		
<b>S-0-A-2</b>	18,1679	19,7873	18,6026	<b>73,16</b>			<b>26,84</b>			18,2805	<b>6,95</b>		
<b>S-0-A-2</b>	17,4424	19,4087	17,9374	<b>74,83</b>			<b>25,17</b>			17,5339	<b>4,65</b>		
<b>S-30-A-1</b>	18,5366	20,0605	18,9481	<b>73,00</b>	<b>75,09</b>	2,08	<b>27,00</b>	<b>24,91</b>	2,08	18,6474	<b>7,27</b>	<b>6,26</b>	1,81
<b>S-30-A-1</b>	13,1621	15,1968	13,5935	<b>78,80</b>			<b>21,20</b>			13,2082	<b>2,27</b>		
<b>S-30-A-1</b>	17,0518	19,4531	17,7091	<b>72,63</b>			<b>27,37</b>			17,2481	<b>8,17</b>		
<b>S-30-A-1</b>	17,7333	19,7909	18,2706	<b>73,89</b>			<b>26,11</b>			17,8578	<b>6,05</b>		
<b>S-30-A-2</b>	16,0557	19,3147	16,8672	<b>75,10</b>			<b>24,90</b>			16,2668	<b>6,48</b>		
<b>S-30-A-2</b>	17,5274	20,2150	18,1750	<b>75,90</b>			<b>24,10</b>			17,7114	<b>6,85</b>		
<b>S-30-A-2</b>	13,4481	15,4063	13,8994	<b>76,95</b>			<b>23,05</b>			13,5571	<b>5,57</b>		
<b>S-30-A-2</b>	28,9866	31,2425	29,5629	<b>74,45</b>			<b>25,55</b>			29,1537	<b>7,41</b>		
<b>S-60-A-1</b>	19,5185	21,6902	20,0938	<b>73,51</b>	<b>75,07</b>	1,55	<b>26,49</b>	<b>24,93</b>	1,55	19,6935	<b>8,06</b>	<b>8,14</b>	0,58
<b>S-60-A-1</b>	28,2054	30,3927	28,7754	<b>73,94</b>			<b>26,06</b>			28,3964	<b>8,73</b>		
<b>S-60-A-1</b>	28,6920	31,8847	29,5387	<b>73,48</b>			<b>26,52</b>			28,9608	<b>8,42</b>		
<b>S-60-A-1</b>	28,0570	29,8813	28,5037	<b>75,51</b>			<b>24,49</b>			28,1962	<b>7,63</b>		
<b>S-60-A-2</b>	14,2769	16,7579	14,8967	<b>75,02</b>			<b>24,98</b>			14,4994	<b>8,97</b>		
<b>S-60-A-2</b>	21,7725	23,9143	22,2740	<b>76,59</b>			<b>23,41</b>			21,9378	<b>7,72</b>		
<b>S-60-A-2</b>	18,7438	21,1406	19,2846	<b>77,44</b>			<b>22,56</b>			18,9224	<b>7,45</b>		
<b>S-60-A-2</b>	13,9436	21,1406	14,5831	<b>91,11</b>			<b>8,89</b>			14,1507	<b>2,88</b>		

**Tabell H.8**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt emulasjonsfraksjon fra samfengt (okt).

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tørrking[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
S-0-E-1	17,1733	19,1807	17,6005	<b>78,72</b>	<b>78,88</b>	0,96	<b>21,28</b>	<b>21,12</b>	0,96	17,2164	<b>2,15</b>	<b>2,06</b>	0,14
S-0-E-1	17,3869	19,4488	17,8173	<b>79,13</b>			<b>20,87</b>			17,4325	<b>2,21</b>		
S-0-E-1	17,8154	19,8015	18,2153	<b>79,87</b>			<b>20,13</b>			17,8594	<b>2,22</b>		
S-0-E-1	31,3651	33,8011	31,8888	<b>78,50</b>			<b>21,50</b>			31,4185	<b>2,19</b>		
S-0-E-2	13,0098	15,2277	13,4470	<b>80,29</b>			<b>19,71</b>			13,0533	<b>1,96</b>		
S-0-E-2	13,7156	16,4306	14,2889	<b>78,88</b>			<b>21,12</b>			13,7675	<b>1,91</b>		
S-0-E-2	14,6711	18,0454	15,4432	<b>77,12</b>			<b>22,88</b>			14,7366	<b>1,94</b>		
S-0-E-2	13,9852	16,3305	14,4892	<b>78,51</b>			<b>21,49</b>			14,0304	<b>1,93</b>		
S-30-E-1	16,7761	19,1778	17,3806	<b>74,83</b>	<b>78,12</b>	1,51	<b>25,17</b>	<b>21,88</b>	1,51	16,8255	<b>2,06</b>	<b>2,05</b>	0,05
S-30-E-1	17,0937	18,9966	17,5068	<b>78,29</b>			<b>21,71</b>			17,1340	<b>2,12</b>		
S-30-E-1	16,8726	18,7461	17,2995	<b>77,21</b>			<b>22,79</b>			16,9119	<b>2,10</b>		
S-30-E-1	18,0263	19,1566	18,2570	<b>79,59</b>			<b>20,41</b>			18,0496	<b>2,06</b>		
S-30-E-2	18,5366	20,5151	18,9682	<b>78,19</b>			<b>21,81</b>			18,5759	<b>1,99</b>		
S-30-E-2	13,8045	15,9563	14,2626	<b>78,71</b>			<b>21,29</b>			13,8479	<b>2,02</b>		
S-30-E-2	13,1513	15,6863	13,6808	<b>79,11</b>			<b>20,89</b>			13,2025	<b>2,02</b>		
S-30-E-2	14,3168	16,6359	14,8036	<b>79,01</b>			<b>20,99</b>			14,3635	<b>2,01</b>		
S-60-E-1	25,2623	28,3490	25,8779	<b>80,06</b>	<b>80,03</b>	0,32	<b>19,94</b>	<b>19,97</b>	0,32	knust			
S-60-E-1	20,1066	23,1184	20,7142	<b>79,83</b>			<b>20,17</b>			20,1717	<b>2,16</b>	<b>2,10</b>	0,04
S-60-E-1	16,2846	18,0375	16,6267	<b>80,48</b>			<b>19,52</b>			16,3214	<b>2,10</b>		
S-60-E-1	20,0436	22,4136	20,5080	<b>80,41</b>			<b>19,59</b>			20,0938	<b>2,12</b>		
S-60-E-2	12,8063	15,6035	13,3723	<b>79,77</b>			<b>20,23</b>			12,8638	<b>2,06</b>		
S-60-E-2	12,6028	15,5999	13,2107	<b>79,72</b>			<b>20,28</b>			12,6666	<b>2,13</b>		
S-60-E-2	13,7361	16,1411	14,2108	<b>80,26</b>			<b>19,74</b>			13,7866	<b>2,10</b>		
S-60-E-2	17,9447	20,9817	18,5616	<b>79,69</b>			<b>20,31</b>			18,0076	<b>2,07</b>		
S-0-A-1	17,6503	20,6416	18,2277	<b>80,70</b>	<b>80,21</b>	0,65	<b>19,30</b>	<b>19,79</b>	0,65	17,7114	<b>2,04</b>	<b>1,97</b>	0,06
S-0-A-1	28,4574	31,5230	29,0487	<b>80,71</b>			<b>19,29</b>			28,5194	<b>2,02</b>		



<b>S-0-A-1</b>	17,0227	20,4195	17,7059	<b>79,89</b>			<b>20,11</b>			17,0861	<b>1,87</b>		
<b>S-0-A-1</b>	14,2808	16,4148	14,6992	<b>80,39</b>			<b>19,61</b>			14,3244	<b>2,04</b>		
<b>S-0-A-2</b>	18,8850	22,1611	19,5803	<b>78,78</b>			<b>21,22</b>			18,9493	<b>1,96</b>		
<b>S-0-A-2</b>	14,3910	16,4347	14,7914	<b>80,41</b>			<b>19,59</b>			14,4314	<b>1,98</b>		
<b>S-0-A-2</b>	13,8739	15,6506	14,2281	<b>80,06</b>			<b>19,94</b>			13,9080	<b>1,92</b>		
<b>S-0-A-2</b>	13,7186	15,1373	13,9923	<b>80,71</b>			<b>19,29</b>			13,7460	<b>1,93</b>		
<b>S-30-A-1</b>	23,1395	25,3264	23,6235	<b>77,87</b>	<b>78,35</b>	1,23	<b>22,13</b>	<b>21,65</b>	1,23	23,1868	<b>2,16</b>	<b>2,09</b>	0,14
<b>S-30-A-1</b>	19,7483	21,6007	20,1270	<b>79,56</b>			<b>20,44</b>			19,7888	<b>2,19</b>		
<b>S-30-A-1</b>	13,9623	16,0429	14,3869	<b>79,59</b>			<b>20,41</b>			14,0095	<b>2,27</b>		
<b>S-30-A-1</b>	18,2829	20,1185	18,6472	<b>80,15</b>			<b>19,85</b>			18,3244	<b>2,26</b>		
<b>S-30-A-2</b>	14,5938	15,9282	14,8975	<b>77,24</b>			<b>22,76</b>			14,6197	<b>1,94</b>		
<b>S-30-A-2</b>	17,4372	19,5882	17,9342	<b>76,89</b>			<b>23,11</b>			17,4790	<b>1,94</b>		
<b>S-30-A-2</b>	15,0175	16,4881	15,3445	<b>77,76</b>			<b>22,24</b>			15,0472	<b>2,02</b>		
<b>S-30-A-2</b>	18,1583	20,3499	18,6471	<b>77,70</b>			<b>22,30</b>			18,2012	<b>1,96</b>		
<b>S-60-A-1</b>	13,1126	16,3123	13,7694	<b>79,47</b>	<b>78,67</b>	0,71	<b>20,53</b>	<b>21,33</b>	0,71	13,1881	<b>2,36</b>	<b>2,50</b>	0,28
<b>S-60-A-1</b>	14,1001	17,1645	14,7378	<b>79,19</b>			<b>20,81</b>			14,1719	<b>2,34</b>		
<b>S-60-A-1</b>	21,3898	23,6108	21,8500	<b>79,28</b>			<b>20,72</b>			21,4421	<b>2,35</b>		
<b>S-60-A-2</b>	19,5173	22,1087	20,0926	<b>77,80</b>			<b>22,20</b>			19,5980	<b>3,11</b>		
<b>S-60-A-2</b>	14,4555	16,2766	14,8473	<b>78,49</b>			<b>21,51</b>			14,4998	<b>2,43</b>		
<b>S-60-A-2</b>	14,0872	16,2623	14,5498	<b>78,73</b>			<b>21,27</b>			14,1404	<b>2,45</b>		
<b>S-60-A-2</b>	14,3414	16,5401	14,8314	<b>77,71</b>			<b>22,29</b>			14,3948	<b>2,43</b>		

**Tabell H.9**

Tørrstoffinnhold i våt hydrolysat fra samfengt (okt).

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tøking[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD
S-0-E-1	7,4363	8,4557	7,5117	<b>92,60</b>	<b>92,65</b>	0,07	<b>7,40</b>	<b>7,35</b>	0,07
S-0-E-1	5,4237	6,1216	5,4755	<b>92,58</b>			<b>7,42</b>		
S-0-E-2	5,5854	7,0742	5,6940	<b>92,71</b>			<b>7,29</b>		
S-0-E-2	5,4182	6,7036	5,5120	<b>92,70</b>			<b>7,30</b>		
S-30-E-1	7,6107	8,4263	7,6778	<b>91,77</b>	<b>92,64</b>	1,62	<b>8,23</b>	<b>7,36</b>	1,62
S-30-E-1	7,1483	8,1117	7,2275	<b>91,78</b>			<b>8,22</b>		
S-30-E-2	5,5818	6,7445	5,6756	<b>91,93</b>			<b>8,07</b>		
S-30-E-2	5,5804	7,5574	5,6780	<b>95,06</b>			<b>4,94</b>		
S-60-E-1	7,4643	8,2435	7,5298	<b>91,59</b>	<b>91,01</b>	0,87	<b>8,41</b>	<b>8,99</b>	0,87
S-60-E-1	7,2851	8,0682	7,3559	<b>90,96</b>			<b>9,04</b>		
S-60-E-2	5,4191	7,1523	5,5960	<b>89,79</b>			<b>10,21</b>		
S-60-E-2	5,4829	7,1518	5,6215	<b>91,70</b>			<b>8,30</b>		
S-0-A-1	7,2851	8,8576	7,3898	<b>93,34</b>	<b>93,03</b>	0,34	<b>6,66</b>	<b>6,97</b>	0,34
S-0-A-1	7,4787	9,3688	7,6051	<b>93,31</b>			<b>6,69</b>		
S-0-A-2	5,4224	7,1708	5,5489	<b>92,76</b>			<b>7,24</b>		
S-0-A-2	5,4316	7,2023	5,5605	<b>92,72</b>			<b>7,28</b>		
S-30-A-1	7,2668	8,7808	7,3854	<b>92,17</b>	<b>91,78</b>	0,50	<b>7,83</b>	<b>8,22</b>	0,50
S-30-A-1	7,5828	9,2632	7,7128	<b>92,26</b>			<b>7,74</b>		
S-30-A-2	5,4157	7,2192	5,5717	<b>91,35</b>			<b>8,65</b>		
S-30-A-2	5,4450	6,9768	5,5776	<b>91,34</b>			<b>8,66</b>		
S-60-A-1	7,2538	8,4546	7,3558	<b>91,51</b>	<b>91,45</b>	0,09	<b>8,49</b>	<b>8,55</b>	0,09
S-60-A-1	7,8018	9,1641	7,9169	<b>91,55</b>			<b>8,45</b>		
S-60-A-2	5,4449	7,8809	5,6553	<b>91,36</b>			<b>8,64</b>		
S-60-A-2	5,5970	7,0583	5,7230	<b>91,38</b>			<b>8,62</b>		

**Tabell H.10**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt sedimentfraksjon fra HRH (jan).

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tørring[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
J-0-E-1	19,8388	21,1920	20,3205	<b>64,40</b>	<b>64,19</b>	3,21	<b>35,60</b>	<b>35,81</b>	3,21	19,9064	<b>5,00</b>	<b>5,05</b>	0,65
J-0-E-1	17,1877	19,1128	17,8478	<b>65,71</b>			<b>34,29</b>			17,2785	<b>4,72</b>		
J-0-E-1	18,0149	19,5423	18,5616	<b>64,21</b>			<b>35,79</b>			18,0901	<b>4,92</b>		
J-0-E-1	17,6223	19,0283	18,1428	<b>62,98</b>			<b>37,02</b>			17,6886	<b>4,72</b>		
J-0-E-2	20,8858	22,0285	21,2918	<b>64,47</b>			<b>35,53</b>			20,9476	<b>5,41</b>		
J-0-E-2	13,7139	15,1164	14,1465	<b>69,16</b>			<b>30,84</b>			13,7743	<b>4,31</b>		
J-0-E-2	13,9631	15,1328	14,4494	<b>58,43</b>			<b>41,57</b>			14,037	<b>6,32</b>		
J-30-E-1	18,1702	20,3203	18,9524	<b>63,62</b>	<b>63,43</b>	2,66	<b>36,38</b>	<b>36,57</b>	2,66	18,2904	<b>5,59</b>	<b>4,90</b>	0,74
J-30-E-1	17,4278	19,4054	18,0924	<b>66,39</b>			<b>33,61</b>			17,5051	<b>3,91</b>		
J-30-E-1	18,3061	20,1695	18,9225	<b>66,92</b>			<b>33,08</b>			18,3823	<b>4,09</b>		
J-30-E-1	18,3112	20,0853	19,0157	<b>60,29</b>			<b>39,71</b>			18,4104	<b>5,59</b>		
J-30-E-2	21,6667	22,84	22,132	<b>60,34</b>			<b>39,66</b>			21,7184	<b>4,41</b>		
J-30-E-2	28,4566	30,1943	29,1134	<b>62,20</b>			<b>37,80</b>			28,5504	<b>5,40</b>		
J-30-E-2	23,624	25,2435	24,2031	<b>64,24</b>			<b>35,76</b>			23,7106	<b>5,35</b>		
J-60-E-1	21,7706	24,0772	22,5965	<b>64,19</b>	<b>63,56</b>	3,41	<b>35,81</b>	<b>36,44</b>	3,41	21,8662	<b>4,14</b>	<b>5,40</b>	1,60
J-60-E-1	27,1200	29,0397	27,7941	<b>64,89</b>			<b>35,11</b>			27,2134	<b>4,87</b>		
J-60-E-1	27,3967	28,9577	27,8982	<b>67,87</b>			<b>32,13</b>			27,4596	<b>4,03</b>		
J-60-E-1	22,3225	24,2470	22,9906	<b>65,28</b>			<b>34,72</b>			22,4041	<b>4,24</b>		
J-60-E-2	25,9598	27,3743	26,5672	<b>57,06</b>			<b>42,94</b>			26,0797	<b>8,48</b>		
J-60-E-2	28,7809	30,5053	29,4034	<b>63,90</b>			<b>36,10</b>			28,8834	<b>5,94</b>		
J-60-E-2	13,8445	15,5745	14,5072	<b>61,69</b>			<b>38,31</b>			13,9496	<b>6,08</b>		
J-0-A-1	28,3970	29,8912	29,0086	<b>59,07</b>	<b>60,11</b>	3,19	<b>40,93</b>	<b>39,89</b>	3,19	28,4834	<b>5,78</b>	<b>6,00</b>	0,66
J-0-A-1	16,8049	18,5564	17,5211	<b>59,11</b>			<b>40,89</b>			16,9114	<b>6,08</b>		
J-0-A-1	17,0512	18,4093	17,6645	<b>54,84</b>			<b>45,16</b>			17,1394	<b>6,49</b>		
J-0-A-1	13,1614	14,5986	13,7402	<b>59,73</b>			<b>40,27</b>			13,2470	<b>5,96</b>		
J-0-A-2	22,1692	24,1464	22,9126	<b>62,40</b>			<b>37,60</b>			22,2918	<b>6,20</b>		

<b>J-0-A-2</b>	10,0644	12,4358	10,9065	<b>64,49</b>			<b>35,51</b>			10,177	<b>4,75</b>		
<b>J-0-A-2</b>	14,3921	16,1353	15,0283	<b>63,50</b>			<b>36,50</b>			14,492	<b>5,73</b>		
<b>J-0-A-2</b>	29,884	31,8255	30,7038	<b>57,77</b>			<b>42,23</b>			30,0202	<b>7,02</b>		
<b>J-30-A-1</b>	13,9453	15,7779	14,5387	<b>67,62</b>	<b>67,34</b>	1,93	<b>32,38</b>	<b>32,66</b>	1,93	14,0752	<b>7,09</b>	<b>6,15</b>	1,55
<b>J-30-A-1</b>	14,5949	16,4545	15,2610	<b>64,18</b>			<b>35,82</b>			14,7473	<b>8,20</b>		
<b>J-30-A-1</b>	14,0706	15,6298	14,5855	<b>66,98</b>			<b>33,02</b>			14,1680	<b>6,25</b>		
<b>J-30-A-1</b>	15,0190	17,2887	15,7538	<b>67,63</b>			<b>32,37</b>			15,1619	<b>6,30</b>		
<b>J-30-A-2</b>	16,9762	19,0375	17,6925	<b>65,25</b>			<b>34,75</b>			17,1379	<b>7,84</b>		
<b>J-30-A-2</b>	17,1721	20,0201	18,0647	<b>68,66</b>			<b>31,34</b>			17,3172	<b>5,09</b>		
<b>J-30-A-2</b>	18,2006	22,3279	19,4229	<b>70,38</b>			<b>29,62</b>			18,3605	<b>3,87</b>		
<b>J-30-A-2</b>	16,7855	19,4138	17,6249	<b>68,06</b>			<b>31,94</b>			16,9052	<b>4,55</b>		
<b>J-60-A-1</b>	14,1638	18,2822	15,3161	<b>72,02</b>	<b>72,65</b>	0,90	<b>27,98</b>	<b>27,35</b>	0,90	14,3423	<b>4,33</b>	<b>4,14</b>	1,11
<b>J-60-A-1</b>	13,4716	16,3799	14,2935	<b>71,74</b>			<b>28,26</b>			13,6380	<b>5,72</b>		
<b>J-60-A-1</b>	13,8064	16,5638	14,5735	<b>72,18</b>			<b>27,82</b>			13,9474	<b>5,11</b>		
<b>J-60-A-1</b>	13,2002	15,7458	13,8861	<b>73,06</b>			<b>26,94</b>			13,2804	<b>3,15</b>		
<b>J-60-A-2</b>	19,6566	22,7307	20,4718	<b>73,48</b>			<b>26,52</b>			19,7923	<b>4,41</b>		
<b>J-60-A-2</b>	13,9569	16,487	14,6118	<b>74,12</b>			<b>25,88</b>			14,0521	<b>3,76</b>		
<b>J-60-A-2</b>	32,229	36,5367	33,4363	<b>71,97</b>			<b>28,03</b>			32,3368	<b>2,50</b>		

**Tabell H.11**

Tørrstoff- og askeinnhold i våt emulasjonsfraksjon fra HRH (jan). Varierende antall paralleller skyldes lite med prøvemateriale.

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tørrking[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
J-0-E-2	13,7368	14,9924	13,8382	<b>91,92</b>	<b>91,92</b>	0	<b>8,08</b>	<b>8,08</b>	<b>0,00</b>	13,7460	<b>0,73</b>	<b>0,73</b>	<b>0,00</b>
J-30-E-1	18,1424	20,2706	18,2872	<b>93,20</b>	<b>93,64</b>	0,93	<b>6,80</b>	<b>6,36</b>	0,93	18,1577	<b>0,72</b>	<b>0,65</b>	0,06
J-30-E-1	20,0447	21,9854	20,1513	<b>94,51</b>			<b>5,49</b>			20,0578	<b>0,68</b>		
J-30-E-2	14,3180	16,0726	14,4490	<b>92,53</b>			<b>7,47</b>			14,3290	<b>0,63</b>		
J-30-E-2	13,6535	15,7818	13,7746	<b>94,31</b>			<b>5,69</b>			13,6658	<b>0,58</b>		
J-60-E-1	18,2292	20,8169	18,4649	<b>90,89</b>	<b>90,77</b>	2,13	<b>9,11</b>	<b>9,23</b>	2,13	18,2444	<b>0,59</b>	<b>0,63</b>	0,11
J-60-E-1	17,9458	21,5179	18,3803	<b>87,84</b>			<b>12,16</b>			17,9675	<b>0,61</b>		
J-60-E-2	13,1712	14,7653	13,2843	<b>92,91</b>			<b>7,09</b>			13,1800	<b>0,55</b>		
J-60-E-2	14,0885	14,8854	14,1568	<b>91,43</b>			<b>8,57</b>			14,0948	<b>0,79</b>		
J-30-A-1	17,6143	20,4264	17,9654	<b>87,51</b>	<b>90,66</b>	1,60	<b>12,49</b>	<b>9,34</b>	1,60	17,6292	<b>0,53</b>	<b>0,65</b>	0,15
J-30-A-1	17,0243	20,2399	17,2857	<b>91,87</b>			<b>8,13</b>			17,0425	<b>0,57</b>		
J-30-A-2	13,8748	17,3947	14,2010	<b>90,73</b>			<b>9,27</b>			13,8950	<b>0,57</b>		
J-30-A-2	13,4493	15,3709	13,6264	<b>90,78</b>			<b>9,22</b>			13,4600	<b>0,56</b>		
J-30-A-2	14,1013	16,3254	14,2896	<b>91,53</b>			<b>8,47</b>			14,1201	<b>0,85</b>		
J-30-A-2	14,2813	16,0278	14,4295	<b>91,51</b>			<b>8,49</b>			14,2958	<b>0,83</b>		
J-60-A-1	18,1607	20,0591	18,3208	<b>91,57</b>	<b>91,83</b>	0,43	<b>8,43</b>	<b>8,17</b>	0,43	18,1676	<b>0,36</b>	<b>0,50</b>	0,11
J-60-A-1	17,3994	18,8348	17,5272	<b>91,10</b>			<b>8,90</b>			17,4055	<b>0,42</b>		
J-60-A-2	14,4700	16,6315	14,6416	<b>92,06</b>			<b>7,94</b>			14,4845	<b>0,67</b>		
J-60-A-2	13,1140	15,1818	13,2808	<b>91,93</b>			<b>8,07</b>			13,1250	<b>0,53</b>		
J-60-A-2	14,7927	16,9951	14,9625	<b>92,29</b>			<b>7,71</b>			14,8030	<b>0,47</b>		
J-60-A-2	13,7111	15,3489	13,8420	<b>92,01</b>			<b>7,99</b>			13,7200	<b>0,54</b>		

**Tabell H.12**

Tørrstoffinnhold i våt hydrolysat produsert fra HRH (jan).

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve[g]	Etter tørrking[g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD
J-0-E-1	5,6055	7,3435	5,6600	<b>96,86</b>	<b>96,94</b>	0,13	<b>3,14</b>	<b>3,06</b>	0,13
J-0-E-1	5,4444	6,9905	5,4927	<b>96,88</b>			<b>3,12</b>		
J-0-E-2	5,4153	6,8915	5,4576	<b>97,13</b>			<b>2,87</b>		
J-0-E-2	5,4282	7,0907	5,4800	<b>96,88</b>			<b>3,12</b>		
J-30-E-1	5,5797	7,2173	5,6333	<b>96,73</b>	<b>96,72</b>	0,03	<b>3,27</b>	<b>3,28</b>	0,03
J-30-E-1	5,4667	7,1117	5,5201	<b>96,75</b>			<b>3,25</b>		
J-30-E-2	7,7439	8,8229	7,7795	<b>96,70</b>			<b>3,30</b>		
J-30-E-2	5,6051	6,8578	5,6465	<b>96,70</b>			<b>3,30</b>		
J-60-E-1	7,2274	9,1052	7,2876	<b>96,79</b>	<b>96,75</b>	0,03	<b>3,21</b>	<b>3,25</b>	0,03
J-60-E-1	5,3972	7,1820	5,4551	<b>96,76</b>			<b>3,24</b>		
J-60-E-2	5,4326	7,1161	5,4879	<b>96,72</b>			<b>3,28</b>		
J-60-E-2	4,9746	6,6725	5,0301	<b>96,73</b>			<b>3,27</b>		
J-0-A-1	4,9115	6,5445	4,9709	<b>96,36</b>	<b>96,48</b>	0,12	<b>3,64</b>	<b>3,52</b>	0,12
J-0-A-1	4,9471	6,4892	5,0025	<b>96,41</b>			<b>3,59</b>		
J-0-A-2	5,5930	7,0468	5,6430	<b>96,56</b>			<b>3,44</b>		
J-0-A-2	5,6061	7,7066	5,6775	<b>96,60</b>			<b>3,40</b>		
J-30-A-1	7,5628	9,3660	7,6439	<b>95,50</b>	<b>95,24</b>	0,30	<b>4,50</b>	<b>4,76</b>	0,30
J-30-A-1	5,6261	7,5737	5,7138	<b>95,50</b>			<b>4,50</b>		
J-30-A-2	5,4670	7,4918	5,5685	<b>94,99</b>			<b>5,01</b>		
J-30-A-2	5,5064	7,8190	5,6228	<b>94,97</b>			<b>5,03</b>		
J-60-A-1	5,4314	7,1923	5,5312	<b>94,33</b>	<b>94,30</b>	0,25	<b>5,67</b>	<b>5,70</b>	0,25
J-60-A-1	5,5645	7,4788	5,6807	<b>93,93</b>			<b>6,07</b>		
J-60-A-2	4,9197	6,6605	5,0160	<b>94,47</b>			<b>5,53</b>		
J-60-A-2	7,6698	9,1782	7,7533	<b>94,46</b>			<b>5,54</b>		

## Vedlegg I: Tørrstoff- og askeinnhold i frysetørkede FPH og sedimentprøver

Tørrstoff- og askeinnhold ble bestemt i alle frysetørkede FPH og sedimentprøver. Parallell 1 fra prøver produsert fra HRH (okt) er ikke inkludert i resultater.

**Tabell I.1**

Tørrstoff- og askeinnhold i FPH og tørket sedimentprøver produsert fra HRH (okt) parallell 1. Parallell 1 inkluderes ikke i resultater.

<b>Prøve</b>	<b>Digel [g]</b>	<b>Digel m/prøve [g]</b>	<b>Etter tørrking [g]</b>	<b>Vann [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Tørrstoff [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Etter forask. [g]</b>	<b>Aske [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>FPH</b>													
<b>B-0-E-1</b>	13,9680	14,1109	14,1053	<b>3,92</b>	<b>4,01</b>	0,13	<b>96,08</b>	<b>95,99</b>	0,13	14,0220	<b>37,79</b>	<b>37,62</b>	0,23
<b>B-0-E-1</b>	13,1818	13,3062	13,3011	<b>4,10</b>			<b>95,90</b>			13,2284	<b>37,46</b>		
<b>B-30-E-1</b>	13,8438	14,0077	14,0005	<b>4,39</b>	<b>4,35</b>	0,05	<b>95,61</b>	<b>95,65</b>	0,05	13,9055	<b>37,64</b>	<b>37,75</b>	0,14
<b>B-30-E-1</b>	13,1991	13,3682	13,3609	<b>4,32</b>			<b>95,68</b>			13,2631	<b>37,85</b>		
<b>B-60-E-1</b>	13,1688	13,3420	13,3349	<b>4,10</b>	<b>4,11</b>	0,01	<b>95,90</b>	<b>95,89</b>	0,01	13,2353	<b>38,39</b>	<b>38,22</b>	0,24
<b>B-60-E-1</b>	13,6528	13,9227	13,9116	<b>4,11</b>			<b>95,89</b>			13,7555	<b>38,05</b>		
<b>B-0-A-1</b>	14,4694	14,6435	14,6362	<b>4,19</b>	<b>4,19</b>	0,01	<b>95,81</b>	<b>95,81</b>	0,01	14,5373	<b>39,00</b>	<b>38,74</b>	0,37
<b>B-0-A-1</b>	13,4702	13,6568	13,6490	<b>4,18</b>			<b>95,82</b>			13,5420	<b>38,48</b>		
<b>B-30-A-1</b>	12,8281	13,0803	13,0685	<b>4,68</b>	<b>4,54</b>	0,20	<b>95,32</b>	<b>95,46</b>	0,20	12,8996	<b>28,35</b>	<b>28,38</b>	0,04
<b>B-30-A-1</b>	14,5105	14,9083	14,8908	<b>4,40</b>			<b>95,60</b>			14,6235	<b>28,41</b>		
<b>B-60-A-1</b>	14,6212	14,8427	14,8327	<b>4,51</b>	<b>4,50</b>	0,02	<b>95,49</b>	<b>95,50</b>	0,02	14,6794	<b>26,28</b>	<b>26,34</b>	0,09
<b>B-60-A-1</b>	13,6942	14,0192	14,0046	<b>4,49</b>			<b>95,51</b>			13,7800	<b>26,40</b>		
<b>Sediment</b>													
<b>B-60-E-1</b>	14,3175	14,4913	14,4887	<b>1,50</b>	<b>1,55</b>	0,07	<b>98,50</b>	<b>98,45</b>	0,07	14,3459	<b>16,34</b>	<b>16,85</b>	0,72
<b>B-60-E-1</b>	18,2287	18,4292	18,4260	<b>1,60</b>			<b>98,40</b>			18,2635	<b>17,36</b>		
<b>B-60-A-1</b>	17,5772	17,7069	17,7048	<b>1,62</b>	<b>1,46</b>	0,23	<b>98,38</b>	<b>98,54</b>	0,23	17,6123	<b>27,06</b>	<b>26,31</b>	1,06
<b>B-60-A-1</b>	17,6207	17,7600	17,7582	<b>1,29</b>			<b>98,71</b>			17,6563	<b>25,56</b>		



**Tabell I.2**

Tørrstoff- og askeinnhold i tørket FPH og tørket sedimentprøver produsert fra HRH (okt), parallell 2.

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve [g]	Etter tørrking [g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
<b>FPH</b>													
<b>B-0-E-2</b>	14,7926	14,9083	14,9048	<b>3,03</b>	<b>3,00</b>	0,04	<b>96,97</b>	<b>97,00</b>	0,04	14,8412	<b>42,01</b>	<b>42,01</b>	0,01
<b>B-0-E-2</b>	14,4412	14,5828	14,5786	<b>2,97</b>			<b>97,03</b>			14,5007	<b>42,02</b>		
<b>B-30-E-2</b>	14,5578	14,7155	14,7113	<b>2,66</b>	<b>2,67</b>	0,02	<b>97,34</b>	<b>97,33</b>	0,02	14,6234	<b>41,60</b>	<b>41,75</b>	0,21
<b>B-30-E-2</b>	23,7761	23,9809	23,9754	<b>2,69</b>			<b>97,31</b>			23,8619	<b>41,89</b>		
<b>B-60-E-2</b>	13,7108	13,8218	13,8190	<b>2,52</b>	<b>2,70</b>	0,25	<b>97,48</b>	<b>97,30</b>	0,25	13,7557	<b>40,45</b>	<b>40,56</b>	0,16
<b>B-60-E-2</b>	14,0697	14,2369	14,2321	<b>2,87</b>			<b>97,13</b>			14,1377	<b>40,67</b>		
<b>B-0-A-2</b>	16,9758	17,1155	17,1119	<b>2,58</b>	<b>2,68</b>	0,15	<b>97,42</b>	<b>97,32</b>	0,15	17,0381	<b>44,60</b>	<b>44,42</b>	0,25
<b>B-0-A-2</b>	16,7851	16,8927	16,8897	<b>2,79</b>			<b>97,21</b>			16,8327	<b>44,24</b>		
<b>B-30-A-2</b>	17,7210	17,9193	17,9149	<b>2,22</b>	<b>2,44</b>	0,31	<b>97,78</b>	<b>97,56</b>	0,31	17,7811	<b>30,31</b>	<b>30,22</b>	0,13
<b>B-30-A-2</b>	17,0423	17,2116	17,2071	<b>2,66</b>			<b>97,34</b>			17,0933	<b>30,12</b>		
<b>B-60-A-2</b>	22,4462	22,5613	22,5594	<b>1,65</b>	<b>1,57</b>	0,11	<b>98,35</b>	<b>98,43</b>	0,11	22,4797	<b>29,11</b>	<b>29,24</b>	0,18
<b>B-60-A-2</b>	17,6468	17,7871	17,7850	<b>1,50</b>			<b>98,50</b>			17,6880	<b>29,37</b>		
<b>Sediment</b>													
<b>B-60-E-2</b>	13,4704	13,5959	13,5950	<b>0,72</b>	<b>0,84</b>	0,17	<b>99,28</b>	<b>99,16</b>	0,17	13,4875	<b>13,63</b>	<b>14,24</b>	0,87
<b>B-60-E-2</b>	18,3097	18,4450	18,4437	<b>0,96</b>			<b>99,04</b>			18,3298	<b>14,86</b>		
<b>B-60-A-2</b>	18,0137	18,1470	18,1451	<b>1,43</b>	<b>1,36</b>	0,10	<b>98,57</b>	<b>98,64</b>	0,10	18,0407	<b>20,26</b>	<b>21,42</b>	1,65
<b>B-60-A-2</b>	13,7107	13,8426	13,8409	<b>1,29</b>			<b>98,71</b>			13,7405	<b>22,59</b>		

**Tabell I.3**

Tørrstoff- og askeinnhold i tørket FPH og tørket sedimentprøver produsert fra samfengt (okt).

Prøve	Digel [g]	Digel m/prøve [g]	Etter tørking [g]	Vann [%]	Snitt	SD	Tørrstoff [%]	Snitt	SD	Etter forask. [g]	Aske [%]	Snitt	SD
FPH													
S-0-E-1	17,3119	17,4481	17,4409	<b>5,29</b>	<b>5,05</b>	0,21	<b>94,71</b>	<b>94,95</b>	0,21	17,3461	<b>25,11</b>	<b>25,29</b>	0,18
S-0-E-1	18,3098	18,4866	18,4775	<b>5,15</b>			<b>94,85</b>			18,3548	<b>25,45</b>		
S-0-E-2	13,1138	13,2847	13,2762	<b>4,97</b>			<b>95,03</b>			13,1568	<b>25,16</b>		
S-0-E-2	14,6719	14,7867	14,7812	<b>4,79</b>			<b>95,21</b>			14,7011	<b>25,44</b>		
S-30-E-1	23,4917	23,7945	23,7776	<b>5,58</b>	<b>5,50</b>	0,09	<b>94,42</b>	<b>94,50</b>	0,09	23,5619	<b>23,18</b>	<b>23,05</b>	0,18
S-30-E-1	22,1696	22,4073	22,3944	<b>5,43</b>			<b>94,57</b>			22,2247	<b>23,18</b>		
S-30-E-2	14,1627	14,3114	14,3031	<b>5,58</b>			<b>94,42</b>			14,1966	<b>22,80</b>		
S-30-E-2	14,3916	14,521	14,5140	<b>5,41</b>			<b>94,59</b>			14,4214	<b>23,03</b>		
S-60-E-1	16,8046	17,0096	16,9979	<b>5,71</b>	<b>5,81</b>	0,10	<b>94,29</b>	<b>94,19</b>	0,10	16,8489	<b>21,61</b>	<b>21,63</b>	0,15
S-60-E-1	20,9927	21,1817	21,1708	<b>5,77</b>			<b>94,23</b>			21,0340	<b>21,85</b>		
S-60-E-2	14,1000	14,2396	14,2313	<b>5,95</b>			<b>94,05</b>			14,1301	<b>21,56</b>		
S-60-E-2	13,0511	13,1799	13,1724	<b>5,82</b>			<b>94,18</b>			13,0788	<b>21,51</b>		
S-0-A-1	13,9569	14,1425	14,1340	<b>4,58</b>	<b>4,85</b>	0,26	<b>95,42</b>	<b>95,15</b>	0,26	14,0086	<b>27,86</b>	<b>27,11</b>	0,70
S-0-A-1	24,4585	24,6819	24,6703	<b>5,19</b>			<b>94,81</b>			24,5201	<b>27,57</b>		
S-0-A-2	12,8070	13,0857	13,0725	<b>4,74</b>			<b>95,26</b>			12,8811	<b>26,59</b>		
S-0-A-2	13,7161	13,853	13,8463	<b>4,89</b>			<b>95,11</b>			13,7523	<b>26,44</b>		
S-30-A-1	18,2288	18,3752	18,3676	<b>5,19</b>	<b>5,48</b>	0,26	<b>94,81</b>	<b>94,52</b>	0,26	18,2629	<b>23,29</b>	<b>23,17</b>	0,18
S-30-A-1	21,6667	21,8371	21,8280	<b>5,34</b>			<b>94,66</b>			21,7065	<b>23,36</b>		
S-30-A-2	13,7191	13,8609	13,8529	<b>5,64</b>			<b>94,36</b>			13,7517	<b>22,99</b>		
S-30-A-2	14,3174	14,4475	14,4400	<b>5,76</b>			<b>94,24</b>			14,3474	<b>23,06</b>		
S-60-A-1	18,1416	18,2953	18,2878	<b>4,88</b>	<b>5,32</b>	0,51	<b>95,12</b>	<b>94,68</b>	0,51	18,1752	<b>21,86</b>	<b>21,71</b>	0,28
S-60-A-1	17,6126	17,7394	17,7332	<b>4,89</b>			<b>95,11</b>			17,6405	<b>22,00</b>		
S-60-A-2	14,8029	14,9361	14,9285	<b>5,71</b>			<b>94,29</b>			14,8317	<b>21,62</b>		
S-60-A-2	23,5604	23,7168	23,7077	<b>5,82</b>			<b>94,18</b>			23,5938	<b>21,36</b>		

<b>Sediment</b>													
<b>S-60-E-1</b>	14,4696	14,6023	14,5994	<b>2,19</b>	<b>2,69</b>	0,54	<b>97,81</b>	<b>97,31</b>	0,54	14,5106	<b>30,90</b>	<b>27,61</b>	3,44
<b>S-60-E-1</b>	13,1133	13,2651	13,2615	<b>2,37</b>			<b>97,63</b>			13,1585	<b>29,78</b>		
<b>S-60-E-2</b>	14,6210	14,7379	14,7346	<b>2,82</b>			<b>97,18</b>			14,6520	<b>26,52</b>		
<b>S-60-E-2</b>	13,1823	13,3267	13,3218	<b>3,39</b>			<b>96,61</b>			13,2159	<b>23,27</b>		
<b>S-60-A-1</b>	14,3914	14,4967	14,4935	<b>3,04</b>	<b>3,09</b>	0,21	<b>96,96</b>	<b>96,91</b>	0,21	14,4111	<b>18,71</b>	<b>21,02</b>	3,14
<b>S-60-A-1</b>	12,8071	12,9174	12,9143	<b>2,81</b>			<b>97,19</b>			12,8269	<b>17,95</b>		
<b>S-60-A-2</b>	13,1707	13,2530	13,2503	<b>3,28</b>			<b>96,72</b>			13,1899	<b>23,33</b>		
<b>S-60-A-2</b>	14,8033	14,9091	14,9057	<b>3,21</b>			<b>96,79</b>			14,8288	<b>24,10</b>		

**Tabell I.4**

Tørrstoff- og askeinnhold i tørket FPH og tørket sedimentprøver produsert fra HRH (jan).

<b>Prøve</b>	<b>Digel [g]</b>	<b>Digel m/prøve [g]</b>	<b>Etter tørrking [g]</b>	<b>Vann [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Tørrstoff [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>	<b>Etter forask. [g]</b>	<b>Aske [%]</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>FPH</b>													
<b>J-0-E-1</b>	21,6661	21,7528	21,7500	<b>3,23</b>	<b>4,07</b>	0,95	<b>96,77</b>	<b>95,93</b>	0,95	21,6884	<b>25,72</b>	<b>25,84</b>	0,28
<b>J-0-E-1</b>	14,4566	14,5272	14,5249	<b>3,26</b>			<b>96,74</b>			14,4751	<b>26,20</b>		
<b>J-0-E-2</b>	23,7760	23,8877	23,8822	<b>4,92</b>			<b>95,08</b>			23,8049	<b>25,87</b>		
<b>J-0-E-2</b>	21,4245	21,5482	21,5422	<b>4,85</b>			<b>95,15</b>			21,4561	<b>25,55</b>		
<b>J-30-E-1</b>	19,5183	19,6384	19,6342	<b>3,50</b>	<b>3,91</b>	0,39	<b>96,50</b>	<b>96,09</b>	0,39	19,5466	<b>23,56</b>	<b>24,22</b>	0,82
<b>J-30-E-1</b>	18,7432	18,8578	18,8535	<b>3,75</b>			<b>96,25</b>			18,7701	<b>23,47</b>		
<b>J-30-E-2</b>	17,4429	17,5685	17,5635	<b>3,98</b>			<b>96,02</b>			17,4740	<b>24,76</b>		
<b>J-30-E-2</b>	17,9132	18,0217	18,0169	<b>4,42</b>			<b>95,58</b>			17,9404	<b>25,07</b>		
<b>J-60-E-1</b>	13,6953	13,8306	13,8261	<b>3,33</b>	<b>3,96</b>	0,74	<b>96,67</b>	<b>96,04</b>	0,74	13,7255	<b>22,32</b>	<b>23,26</b>	0,90
<b>J-60-E-1</b>	14,4419	14,5596	14,5557	<b>3,31</b>			<b>96,69</b>			14,4686	<b>22,68</b>		
<b>J-60-E-2</b>	17,5174	17,6467	17,6408	<b>4,56</b>			<b>95,44</b>			17,5487	<b>24,21</b>		
<b>J-60-E-2</b>	17,3868	17,5441	17,5368	<b>4,64</b>			<b>95,36</b>			17,4243	<b>23,84</b>		

<b>J-0-A-1</b>	21,3892	21,4592	21,4570	<b>3,14</b>	<b>3,57</b>	0,34	<b>96,86</b>	<b>96,43</b>	0,34	21,4060	<b>24,00</b>	<b>23,94</b>	0,16
<b>J-0-A-1</b>	13,8443	13,9160	13,9135	<b>3,49</b>			<b>96,51</b>			13,8616	<b>24,13</b>		
<b>J-0-A-2</b>	17,4378	17,5462	17,5422	<b>3,69</b>			<b>96,31</b>			17,4636	<b>23,80</b>		
<b>J-0-A-2</b>	17,7330	17,8468	17,8423	<b>3,95</b>			<b>96,05</b>			17,7601	<b>23,81</b>		
<b>J-30-A-1</b>	12,6043	12,7447	12,7381	<b>4,70</b>	<b>4,35</b>	0,39	<b>95,30</b>	<b>95,65</b>	0,39	12,6272	<b>16,31</b>	<b>15,53</b>	0,88
<b>J-30-A-1</b>	13,1843	13,3491	13,3414	<b>4,67</b>			<b>95,33</b>			13,2111	<b>16,26</b>		
<b>J-30-A-2</b>	17,2183	17,3621	17,3564	<b>3,96</b>			<b>96,04</b>			17,2395	<b>14,74</b>		
<b>J-30-A-2</b>	17,4953	17,6839	17,6762	<b>4,08</b>			<b>95,92</b>			17,5232	<b>14,79</b>		
<b>J-60-A-1</b>	13,7146	13,8985	13,8874	<b>6,04</b>	<b>5,52</b>	0,52	<b>93,96</b>	<b>94,48</b>	0,52	13,7402	<b>13,92</b>	<b>13,49</b>	0,64
<b>J-60-A-1</b>	14,6720	14,7956	14,7883	<b>5,91</b>			<b>94,09</b>			14,6895	<b>14,16</b>		
<b>J-60-A-2</b>	17,4686	17,5837	17,5778	<b>5,13</b>			<b>94,87</b>			17,4835	<b>12,95</b>		
<b>J-60-A-2</b>	19,2162	19,3476	19,3410	<b>5,02</b>			<b>94,98</b>			19,2332	<b>12,94</b>		
<b>Sediment</b>													
<b>J-60-E-1</b>	13,1533	13,2333	13,2333	<b>0,04</b>	<b>0,53</b>	0,55	<b>99,96</b>	<b>99,47</b>	0,55	13,1633	<b>12,50</b>	<b>14,30</b>	1,91
<b>J-60-E-1</b>	13,9627	14,1400	14,1398	<b>0,11</b>			<b>99,89</b>			13,9863	<b>13,31</b>		
<b>J-60-E-2</b>	24,4588	24,5637	24,5629	<b>0,76</b>			<b>99,24</b>			24,4765	<b>16,87</b>		
<b>J-60-E-2</b>	20,9928	21,1175	21,1160	<b>1,20</b>			<b>98,80</b>			21,0109	<b>14,51</b>		
<b>J-60-A-1</b>	14,3420	14,4857	14,4847	<b>0,70</b>	<b>1,10</b>	0,45	<b>99,30</b>	<b>98,90</b>	0,45	14,3782	<b>25,19</b>	<b>22,46</b>	3,13
<b>J-60-A-1</b>	13,7165	13,8697	13,8686	<b>0,72</b>			<b>99,28</b>			13,7550	<b>25,13</b>		
<b>J-60-A-2</b>	17,0948	17,1907	17,1892	<b>1,56</b>			<b>98,44</b>			17,1141	<b>20,13</b>		
<b>J-60-A-2</b>	17,7206	17,8418	17,8401	<b>1,40</b>			<b>98,60</b>			17,7441	<b>19,39</b>		

## Vedlegg J: Totalt lipidinnhold i FPH og sedimentprøver

Bestemmelse av totalt lipidinnhold i FPH og tørket sedimentprøver ble utført ved bruk av en modifisert metode av Bligh & Dyer, mikrometode. Tabell G.1 - G.4 presenterer rådata fra kalkulasjon av totalt lipidinnhold. Kalkulasjonene ble gjort ved å bruke ligning 4.

$$\% \text{ Totalt lipidinnhold} = \frac{\text{Inndampet fett (g)} \times \text{Tilsatt kloroform (ml)} \times 100\%}{\text{Inndampet kloroform (ml)} \times \text{Innveid prøve (g)}} \quad (4.)$$

Store standardavvik mellom enkelte paralleller. Det ble tatt stikkprøver, med det ble også da vist store standardavvik. Gjennomsnitt fra totalt 4 stykk er benyttet (2 fra hver parallell).

**Tabell J.1**

Rådata fra beregning av totalt lipidinnhold i tørket FPH og tørket sedimentprøver produsert fra HRH (okt). Parallell 1.

<b>PRØVE</b>	<b>Vekt prøve</b>	<b>Vekt rør</b>	<b>Rør + fett</b>	<b>Fett</b>	<b>Snitt fett</b>	<b>SD</b>
	<b>[mg]</b>	<b>[mg]</b>	<b>[mg]</b>	<b>[%]</b>	<b>[%]</b>	
<b><u>FPH:</u></b>						
<b>B-0-E-1</b>	57,80	1478,2413	1478,9646	5,01	<b>4,93</b>	0,11
<b>B-0-E-1</b>	52,50	1322,2919	1322,9289	4,85		
<b>B-30-E-1</b>	64,00	1286,2012	1286,9570	4,72	<b>4,77</b>	0,05
<b>B-30-E-1</b>	61,50	1211,5876	1212,3288	4,82		
<b>B-60-E-1</b>	78,60	1259,1488	1259,8805	3,72	<b>3,69</b>	0,05
<b>B-60-E-1</b>	59,70	830,4522	830,9970	3,65		
<b>B-0-A-1</b>	82,40	851,7251	852,8463	5,44	<b>5,44</b>	0,00
<b>B-0-A-1</b>	67,00	797,5372	798,4480	5,44		
<b>B-30-A-1</b>	103,00	1362,0500	1362,4391	1,51	<b>1,26</b>	0,36
<b>B-30-A-1</b>	96,70	1205,8924	1206,1356	1,01		
<b>B-60-A-1</b>	96,50	1558,0540	1558,5150	1,91	<b>1,62</b>	0,41
<b>B-60-A-1</b>	91,20	1388,8680	1389,1714	1,33		
<b><u>Sediment:</u></b>						
<b>B-60-E-1</b>	53,30	834,2081	838,6090	33,03	<b>33,58</b>	0,78
<b>B-60-E-1</b>	46,00	824,0535	827,9790	34,13		
<b>B-60-A-1</b>	39,700	824,9980	827,0877	21,05	<b>19,95</b>	1,57
<b>B-60-A-1</b>	38,40	865,3875	867,1959	18,84		

**Tabell J.2**

Rådata for kalkulasjon av totalt lipidinnhold i tørket FPH og tørket sediment produsert fra HRH (okt).  
Parallell 2.

<b>PRØVE</b>	<b>Vekt prøve</b> [mg]	<b>Vekt rør</b> [mg]	<b>Rør + fett</b> [mg]	<b>Fett</b> [%]	<b>Snitt fett</b> [%]	<b>SD</b>
<b><u>FPH:</u></b>						
<b>B-0-E-2</b>	43,60	1428,4740	1428,8571	3,51	<b>4,23</b>	1,02
<b>B-0-E-2</b>	60,50	1338,8535	1339,6025	4,95		
<b>B-30-E-2</b>	48,50	785,8738	785,9978	1,02	<b>0,97</b>	0,08
<b>B-30-E-2</b>	118,90	1319,5130	1319,7835	0,91		
<b>B-60-E-2</b>	98,90	1481,9604	1482,2938	1,35	<b>1,49</b>	0,20
<b>B-60-E-2</b>	76,50	1509,1126	1509,4247	1,63		
<b>B-0-A-2</b>	54,40	1350,3169	1350,7010	2,82	<b>3,09</b>	0,37
<b>B-0-A-2</b>	60,30	1555,9090	1556,4141	3,35		
<b>B-30-A-2</b>	106,50	1438,1149	1438,5085	1,48	<b>1,40</b>	0,11
<b>B-30-A-2</b>	71,80	1499,3035	1499,5420	1,33		
<b>B-60-A-2</b>	76,70	1319,8667	1320,0825	1,13	<b>1,12</b>	0,01
<b>B-60-A-2</b>	59,40	1301,6925	1301,8577	1,11		
<b><u>Sediment:</u></b>						
<b>B-60-E-2</b>	57,80	1231,5388	1236,1460	31,88	<b>31,65</b>	0,33
<b>B-60-E-2</b>	56,70	1236,6314	1241,0838	31,41		
<b>B-60-A-2</b>	63,50	819,2050	822,7725	22,47	<b>22,20</b>	0,38
<b>B-60-A-2</b>	53,70	846,3970	849,3419	21,94		

**Tabell J.3**

Rådata for kalkulasjon av totalt lipidinnhold i FPH og tørket sediment produsert fra samfengt (okt).

<b>PRØVE</b>	<b>Vekt prøve</b>	<b>Vekt rør</b>	<b>Rør + fett</b>	<b>Fett</b>	<b>Snitt fett</b>	<b>SD</b>
	<b>[mg]</b>	<b>[mg]</b>	<b>[mg]</b>	<b>[%]</b>	<b>[%]</b>	
<b><u>FPH:</u></b>						
S-0-E-1	50,80	910,8603	910,9713	0,87	<b>2,28</b>	1,48
S-0-E-1	54,00	1318,9070	1319,0591	1,13		
S-0-E-2	45,30	1147,0147	1147,4160	3,54		
S-0-E-2	40,40	1213,5677	1213,9299	3,59		
S-30-E-1	47,10	1286,5520	1286,7851	1,98	<b>1,33</b>	0,49
S-30-E-1	58,30	983,5415	983,6566	0,79		
S-30-E-2	45,70	754,8413	754,9850	1,26		
S-30-E-2	46,70	1224,6080	1224,7570	1,28		
S-60-E-1	62,50	894,7204	894,9194	1,27	<b>1,29</b>	0,29
S-60-E-1	67,00	1287,7950	1288,0788	1,69		
S-60-E-2	39,70	814,8525	814,9692	1,18		
S-60-E-2	51,10	792,1803	792,3080	1,00		
S-0-A-1	53,30	1214,2942	1214,4120	0,88	<b>0,63</b>	0,34
S-0-A-1	56,50	1241,8919	1242,0238	0,93		
S-0-A-2	65,40	1332,5366	1332,5742	0,23		
S-0-A-2	47,30	795,6955	795,7518	0,48		
S-30-A-1	90,70	1272,1890	1272,3644	0,77	<b>0,94</b>	0,24
S-30-A-1	95,40	1275,6124	1275,8000	0,79		
S-30-A-2	54,80	861,5054	861,6823	1,29		
S-30-A-2	41,20	1180,4457	1180,5383	0,90		
S-60-A-1	53,10	836,1488	836,2667	0,89	<b>0,89</b>	0,08
S-60-A-1	63,70	830,9323	831,0773	0,91		
S-60-A-2	84,10	874,2036	874,3703	0,79		
S-60-A-2	54,40	1239,2270	1239,3600	0,98		
<b><u>Sediment:</u></b>						
S-60-E-1	45,30	1025,4455	1028,3570	25,71	<b>21,84</b>	2,71
s-60-E-1	40,00	1221,8393	1223,8635	20,24		
S-60-E-2	69,00	913,2330	916,6332	19,71		
S-60-E-2	57,70	798,9525	802,0808	21,69		
S-60-A-1	51,60	1232,8614	1235,7700	22,55	<b>20,73</b>	2,38
S-60-A-1	43,80	1322,9105	1325,4300	23,01		
S-60-A-2	48,40	803,6600	805,8948	18,47		
S-60-A-2	40,70	1228,0099	1229,9333	18,90		



**Tabell J.4**

Rådata for kalkulasjon av totalt lipidinnhold i FPH og tørket sediment produsert fra HRH (jan).

<b>PRØVE</b>	<b>Vekt prøve</b> [mg]	<b>Vekt rør</b> [mg]	<b>Rør + fett</b> [mg]	<b>Fett</b> [%]	<b>Snitt fett</b> [%]	<b>SD</b>
J-0-E-1	44,50	933,9012	934,1605	2,33	<b>2,02</b>	0,36
J-0-E-1	46,80	1209,2211	1209,4910	2,31		
J-0-E-2	47,10	1205,07860	1205,2695	1,62		
J-0-E-2	41,60	844,99090	845,1790	1,81		
J-30-E-1	60,90	1224,4838	1224,8749	2,57	<b>2,21</b>	0,41
J-30-E-1	50,30	1286,5030	1286,8255	2,56		
J-30-E-2	39,20	1173,81990	1174,0045	1,88		
J-30-E-2	58,00	1199,83760	1200,1012	1,82		
J-60-E-1	52,10	1239,1694	1239,5348	2,81	<b>2,62</b>	0,37
J-60-E-1	51,60	1322,2095	1322,5720	2,81		
J-60-E-2	80,10	807,79870	808,3619	2,81		
J-60-E-2	73,80	799,41330	799,7953	2,07		
J-0-A-1	49,20	1355,3750	1355,7235	2,83	<b>2,43</b>	0,44
J-0-A-1	47,60	861,2971	861,6284	2,78		
J-0-A-2	41,00	727,27200	727,4843	2,07		
J-0-A-2	46,80	834,24000	834,4774	2,03		
J-30-A-1	80,50	851,6216	851,8315	1,04	<b>1,04</b>	0,03
J-30-A-1	90,50	1241,5638	1241,7980	1,04		
J-30-A-2	90,20	854,50140	854,7440	1,08		
J-30-A-2	67,40	1278,75990	1278,928	1,00		
J-60-A-1	83,00	1346,2745	1346,5706	1,43	<b>1,23</b>	0,24
J-60-A-1	81,40	791,9713	792,2651	1,44		
J-60-A-2	96,90	1305,64850	1305,8847	0,98		
J-60-A-2	56,10	1204,65040	1204,8004	1,07		
<b>Sediment:</b>						
J-60-E-1	58,30	1350,2065	1355,6596	37,41	<b>38,95</b>	1,96
J-60-E-1	68,80	1319,3438	1326,2960	40,42		
J-60-E-2	47,70	786,4363	790,8616	37,11		
J-60-E-2	58,60	929,5096	935,4941	40,85		
J-60-A-1	87,90	835,5493	841,7547	28,24	<b>30,71</b>	2,50
J-60-A-1	87,40	1271,9413	1278,4830	29,94		
J-60-A-2	41,20	856,0784	859,2190	30,49		
J-60-A-2	55,00	1240,6529	1245,3510	34,17		

## Vedlegg K Proteininnhold i FPH og tørket sediment

Proteininnhold ble bestemt i tørkede prøver, FPH og sediment, ved C/N-protein metode. Proteininnholdet ble beregnet ved bruk av omregningsfaktor 6,25. Resultat gir sum av proteiner, peptider og aminosyrer i prøven.

**Tabell K.1**

Proteininnhold i tørket FPH produsert fra samfengt (okt).

Prøve	% protein	Gjennomsnitt	SD	% nitrogen (til hydrolysegrad)
<u>FPH</u>				
<b>S-0-E-1</b>	68,48	<b>68,19</b>	0,41	10,91
	67,99			
	67,66			
	68,89			
<b>S-0-E-2</b>	67,85			
	67,91			
	68,25			
	68,45			
<b>S-30-E-1</b>	69,74	<b>70,15</b>	0,83	11,22
	70,33			
	70,13			
	69,66			
<b>S-30-E-2</b>	70,01			
	69,71			
	69,53			
	72,08			
<b>S-60-E-1</b>	69,45	<b>70,41</b>	0,87	11,27
	71,41			
	71,65			
	70,75			
<b>S-60-E-2</b>	70,83			
	69,67			
	70,07			
	69,44			
<b>S-0-A-1</b>	67,30	<b>66,69</b>	0,83	10,67
	65,39			
	66,27			
	67,19			
<b>S-0-A-2</b>	66,53			
	68,14			
	66,36			
	66,31			
<b>S-30-A-1</b>	69,33	<b>69,22</b>	0,46	11,08

	69,49			
	69,12			
	68,83			
<b>S-30-A-2</b>	69,07			
	69,02			
	68,74			
	70,18			
<b>S-60-A-1</b>	70,99	<b>69,97</b>	0,52	11,19
	69,85			
	70,21			
	70,23			
<b>S-60-A-2</b>	69,63			
	69,23			
	69,75			
	69,87			

**Tabell K.2**

Proteininnhold i tørket sediment produsert fra samfengt (okt). Høyere standardavvik på grunn av mindre homogent materiale. En uteliggerparallel fra hver prøve fjernes.

<b>Prøve</b>	<b>% protein</b>	<b>Gjennomsnitt</b>	<b>SD</b>	<b>% nitrogen (til hydrolysegrad)</b>
<b><u>Sediment</u></b>				
<b>S-60-E-1</b>	55,12	<b>53,53</b>	4,40	8,57
	52,70			
	55,61			
<b>S-60-E-2</b>	47,01			
	50,88			
	59,83			
<b>S-60-A-1</b>	57,69	<b>57,08</b>	1,03	9,16
	57,93			
	57,49			
<b>S-60-A-2</b>	57,85			
	55,74			
	55,80			

**Tabell K.3**

Proteininnhold i tørket FPH produsert fra HRH (okt). Prøver fra parallell 1 inkluderes ikke i resultater.

Prøve	% protein	Gjennomsnitt	SD	% nitrogen (til hydrolysegrad)
<b><u>FPH</u></b>				
<b>B-0-E-1</b>	57,05	57,03	0,80	9,12
	55,96			
	57,90			
	57,19			
<b>B-0-E-2</b>	52,75	<b>53,67</b>	<b>0,84</b>	<b>8,59</b>
	50,91			
	54,38			
	53,90			
<b>B-30-E-1</b>	56,64	56,83	0,22	9,09
	56,63			
	57,01			
	57,04			
<b>B-30-E-2</b>	56,37	<b>56,96</b>	<b>0,94</b>	<b>9,11</b>
	55,94			
	57,85			
	57,66			
<b>B-60-E-1</b>	57,17	57,38	1,66	9,18
	58,75			
	58,48			
	55,11			
<b>B-60-E-2</b>	57,43	<b>57,48</b>	<b>0,72</b>	<b>9,20</b>
	56,55			
	57,63			
	58,30			
<b>B-0-A-1</b>	53,72	54,25	0,5	8,68
	53,93			
	54,57			
	54,77			
<b>B-0-A-2</b>	51,93	<b>52,35</b>	<b>0,31</b>	<b>8,38</b>
	52,32			
	52,54			
	52,60			
<b>B-30-A-1</b>	67,17	67,20	1,36	10,75

	65,35			
	68,57			
	67,68			
<b>B-30-A-2</b>	65,57	<b>66,04</b>	<b>0,72</b>	<b>10,57</b>
	65,29			
	66,59			
	66,72			
<b>B-60-A-1</b>	67,53	67,54	0,58	11,05
	66,96			
	68,11			
<b>B-60-A-2</b>	67,76	<b>68,64</b>	<b>0,77</b>	<b>10,76</b>
	69,04			
	69,14			

**Tabell K.4**

Proteininnhold i tørket sediment produsert fra HRH (okt). Høyere standardavvik på grunn av mindre homogent materiale.

<b>Prøve</b>	<b>% protein</b>	<b>Gjennomsnitt</b>	<b>SD</b>
<b><u>Sediment</u></b>			
<b>B-60-E-1</b>	57,95	61,51	4,75
	59,68		
	66,90		
<b>B-60-E-2</b>	57,28	<b>59,49</b>	<b>2,16</b>
	59,58		
	61,60		
<b>B-60-A-1</b>	58,70	57,06	3,41
	53,14		
	59,34		
<b>B-60-A-2</b>	60,19	<b>57,96</b>	<b>2,23</b>
	55,72		
	57,97		

%Nitrogen er ikke inkludert her da det ikke ble utført hydrolysegrad på sedimentprøver.

**Tabell K.5**

Proteininnhold i tørket FPH produsert fra HRH (jan).

Prøve	% Protein	Gjennomsnitt	SD	% Nitrogen (til hydrolysegrad)
<b><u>FPH</u></b>				
<b>J-0-E-1</b>	70,70	<b>70,09</b>	0,53	11,22
	70,51			
	69,31			
	69,75			
<b>J-0-E-2</b>	70,39			
	92,44			
	85,80			
	69,91			
<b>J-30-E-1</b>	73,12	<b>72,19</b>	0,69	11,55
	71,93			
	72,31			
	71,23			
<b>J-30-E-2</b>	72,80			
	71,23			
	72,51			
	72,41			
<b>J-60-E-1</b>	72,46	<b>72,56</b>	0,82	11,61
	74,44			
	72,46			
	72,57			
<b>J-60-E-2</b>	71,99			
	72,53			
	71,72			
	72,29			
<b>J-0-A-1</b>	71,28	<b>72,27</b>	2,37	11,57
	69,88			
	68,62			
	70,95			
<b>J-0-A-2</b>	74,48			
	74,51			
	74,31			
	74,11			
<b>J-30-A-1</b>	79,78	<b>81,52</b>	2,01	13,05

	79,90			
	79,69			
	79,30			
<b>J-30-A-2</b>	83,59			
	83,90			
	82,83			
	83,15			
<b>J-60-A-1</b>	80,30	<b>81,74</b>	1,76	13,08
	79,75			
	80,17			
	80,25			
<b>J-60-A-2</b>	83,89			
	83,31			
	83,25			
	83,02			

**Tabell K.6**

Proteininnhold i tørket sediment produsert fra HRH (jan). Høyere standardavvik på grunn av mindre homogent materiale. En uteliggerparallel fra hver prøve fjernes.

<b>Prøve</b>	<b>% Protein</b>	<b>Gjennomsnitt</b>	<b>SD</b>
<b><u>Sediment</u></b>			
<b>J-60-E-1</b>	62,29	<b>60,01</b>	3,92
	55,72		
	66,21		
<b>J-60-E-2</b>	61,03		
	57,75		
	57,10		
<hr/>			
<b>J-60-A-1</b>	66,26	<b>58,30</b>	4,10
	58,99		
	56,93		
<b>J-60-A-2</b>	55,25		
	56,49		
	55,90		

%Nitrogen er ikke inkludert da det ikke ble utført hydrolysegrad på sedimentprøver.



## Vedlegg L. Aminosyresammensetning i FPH og sediment

Resultater er gitt som gjennomsnitt g aminosyre per 100 g tørket prøve  $\pm$  SD.p. Resultater fra 1 og R2 presenteres samlet, sett bort i fra HRH – oktobermakrell, hvor bare R2 vil inkluderes i resultater.

**Tabell L.1**

Aminosyresammensetning i FPH og tørket sediment produsert fra HRH (okt) ved bruk av kun endogene enzymer. Reaktor 1 - Disse data inkluderes ikke i resultater.

<b>Prøve</b>	<b>FPH B-0-E-1(n=3)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>	<b>FPH B-30-E-1(n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>	<b>FPH B-60-E-1(n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>	<b>Sediment B-60-E-1(n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	2,3 ± 0,2	3,0 ± 0,0	2,7 ± 0,1	0,2 ± 0,0
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,2 ± 0,0	0,4 ± 0,1
Aspartic acid + Asparagine	2,3 ± 0,1	2,6 ± 0,0	2,7 ± 0,1	3,6 ± 0,2
Threonine	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,0	1,4 ± 0,0	2,4 ± 0,3
Serine	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,0	2,3 ± 0,0	1,6 ± 0,2
Glutamic acid + Glutamine	4,5 ± 0,4	5,4 ± 0,0	5,5 ± 0,0	5,1 ± 0,5
Proline	2,6 ± 0,5	2,8 ± 0,0	2,3 ± 0,0	2,0 ± 0,2
Glycine	6,5 ± 0,6	7,3 ± 0,1	7,0 ± 0,0	3,2 ± 0,1
Alanine	2,9 ± 0,0	3,7 ± 0,0	3,7 ± 0,0	2,5 ± 0,1
Cystine (Cys- Cys)	-	-	-	-
Valine	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,0	1,3 ± 0,0	2,5 ± 0,3
Methionine	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,0 ± 0,1
Isoleucine	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	1,8 ± 0,2
Leucine	1,6 ± 0,2	1,9 ± 0,0	2,0 ± 0,0	3,2 ± 0,3
Tyrosine	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,3 ± 0,1
Phenylalanine	1,1 ± 0,2	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1
Histidine	2,0 ± 0,2	2,3 ± 0,0	2,2 ± 0,0	1,3 ± 0,1
Hydroxylysine	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Lysine	2,1 ± 0,3	2,5 ± 0,0	2,6 ± 0,0	3,3 ± 0,3
Ammonia	0,6 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,5 ± 0,1
Arginine	2,6 ± 0,3	2,9 ± 0,0	3,2 ± 0,1	2,7 ± 0,1
<b>SUM (AA only)</b>	<b>38,2 ± 3,9</b>	<b>43,8 ± 0,3</b>	<b>43,5 ± 0,1</b>	<b>40,1 ± 3,0</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>38,9 ± 3,9</b>	<b>44,6 ± 0,3</b>	<b>44,4 ± 0,2</b>	<b>40,6 ± 3,1</b>

**Tabell L.2**

Aminosyresammensetning i FPH og tørket sediment produsert fra HRH (okt) ved bruk av Alkalase.  
Reaktor 1 - Disse data inkluderes ikke i resultater.

<b>Prøve</b>	<b>FPH B-0-A-1(n=2)</b>	<b>FPH B-30-A-1(n=2)</b>	<b>FPH B-60-A-1(n=3)</b>	<b>Sediment B-60-A-1 (n=3)</b>
	<i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD,p</b>	<b>Snitt ± SD,p</b>	<b>Snitt ± SD,p</b>	<b>Snitt ± SD,p</b>
Taurin	2,9 ± 0,0	2,1 ± 0,0	1,7 ± 0,4	0,3 ± 0,1
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	1,2 ± 0,0	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Aspartic acid + Asparagine	2,4 ± 0,0	4,6 ± 0,1	4,7 ± 0,2	4,0 ± 0,2
Threonine	1,2 ± 0,0	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,6
Serine	2,0 ± 0,1	3,1 ± 0,1	2,9 ± 0,2	2,2 ± 0,3
Glutamic acid + Glutamine	4,9 ± 0,1	8,4 ± 0,2	7,9 ± 0,7	5,7 ± 0,2
Proline	2,4 ± 0,2	3,1 ± 0,2	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,3
Glycine	6,7 ± 0,2	6,2 ± 0,2	5,8 ± 0,4	4,5 ± 0,7
Alanine	3,4 ± 0,1	4,7 ± 0,2	4,0 ± 0,6	2,9 ± 0,2
Cystine (Cys- Cys)	-	-	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Valine	1,1 ± 0,0	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,0
Methionine	0,7 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,2 ± 0,0
Isoleucine	0,7 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Leucine	1,7 ± 0,0	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,3	3,4 ± 0,0
Tyrosine	0,5 ± 0,0	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,4 ± 0,0
Phenylalanine	1,2 ± 0,0	1,8 ± 0,0	1,9 ± 0,1	2,4 ± 0,0
Histidine	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,4 ± 0,2	1,6 ± 0,0
Hydroxylysine	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,0
Lysine	2,3 ± 0,1	4,7 ± 0,1	4,6 ± 0,3	3,5 ± 0,0
Ammonia	0,8 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Arginine	2,7 ± 0,1	3,8 ± 0,3	3,6 ± 0,2	3,1 ± 0,1
<b>SUM (AA only)</b>	<b>40,8 ± 0,7</b>	<b>59,0 ± 2,0</b>	<b>56,3 ± 3,9</b>	<b>46,2 ± 1,9</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>41,5 ± 0,7</b>	<b>60,0 ± 2,0</b>	<b>57,2 ± 4,0</b>	<b>46,8 ± 1,8</b>

**Tabell L.3**

Aminosyresammensetning i FPH og tørket sediment produsert fra HRH (okt) ved bruk av kun endogene enzymer. Reaktor 2.

<b>Prøve</b>	<b>FPH B-0-E-2 (n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>	<b>FPH B-30-E-2 (n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>	<b>FPH B-60-E-2 (n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>	<b>Sediment B-60-E-2 (n=2)</b> <i>per dry weight AA % (dw)</i>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,4	1,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	0,4 ± 0,0
Aspartic acid + Asparagine	1,8 ± 0,1	2,3 ± 0,2	2,6 ± 0,2	4,3 ± 0,1
Threonine	0,7 ± 0,0	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1
Serine	1,3 ± 0,1	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,0	1,7 ± 0,0
Glutamic acid + Glutamine	3,3 ± 0,4	4,5 ± 0,6	5,4 ± 0,1	5,8 ± 0,1
Proline	1,8 ± 0,2	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,0
Glycine	4,8 ± 0,3	6,1 ± 0,3	6,1 ± 0,1	3,4 ± 0,0
Alanine	2,2 ± 0,0	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1	2,8 ± 0,1
Cystine (Cys- Cys)	-	-	-	-
Valine	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,0	2,8 ± 0,1
Methionine	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,0	1,0 ± 0,0
Isoleucine	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,0	2,1 ± 0,1
Leucine	1,2 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,0	3,6 ± 0,1
Tyrosine	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,3 ± 0,0
Phenylalanine	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,0	2,4 ± 0,1
Histidine	1,6 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,0	1,6 ± 0,1
Hydroxylysine	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Lysine	1,6 ± 0,2	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,0	3,8 ± 0,1
Ammonia	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Arginine	1,9 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,7 ± 0,1	2,9 ± 0,1
<b>SUM (AA only)</b>	<b>28,3 ± 1,8</b>	<b>35,9 ± 2,6</b>	<b>39,0 ± 0,8</b>	<b>44,8 ± 1,0</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>28,8 ± 1,7</b>	<b>36,6 ± 2,6</b>	<b>39,7 ± 0,8</b>	<b>45,5 ± 1,1</b>

**Tabell L.4**

Aminosyresammensetning i FPH og tørket sediment produsert fra HRH (okt) ved bruk av Alkalase.  
Reaktor 2.

<b>Prøve</b>	<b>FPH B-0-A-2(n=2)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH B-30-A-2(n=2)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH B-60-A-2(n=2)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>Sediment B-60-A-2 (n=2)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>
<b>Aminosyre</b>	<b>Gjennomsnitt ± SD.p</b>	<b>Gjennomsnitt ± SD.p</b>	<b>Gjennomsnitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	1,3 ± 0,1	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,1	0,3 ± 0,0
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	1,3 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Aspartic acid + Asparagine	2,0 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,6 ± 0,0	4,3 ± 0,1
Threonine	0,8 ± 0,1	1,7 ± 0,0	2,0 ± 0,0	2,8 ± 0,1
Serine	1,6 ± 0,2	2,4 ± 0,1	2,6 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Glutamic acid + Glutamine	3,9 ± 0,3	7,1 ± 0,3	7,6 ± 0,0	5,7 ± 0,2
Proline	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,7 ± 0,0	2,2 ± 0,0
Glycine	5,7 ± 0,5	5,4 ± 0,2	5,5 ± 0,0	3,8 ± 0,1
Alanine	2,4 ± 0,2	3,4 ± 0,1	3,6 ± 0,0	2,9 ± 0,1
Cystine (Cys- Cys)	-	-	-	-
Valine	0,8 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,5 ± 0,0	2,8 ± 0,1
Methionine	0,5 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,2 ± 0,0	1,1 ± 0,0
Isoleucine	0,5 ± 0,0	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,0	2,0 ± 0,1
Leucine	1,3 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,5 ± 0,0	3,6 ± 0,1
Tyrosine	0,3 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,5 ± 0,0
Phenylalanine	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,0	1,8 ± 0,0	2,5 ± 0,1
Histidine	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,0	1,7 ± 0,0
Hydroxylysine	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	-
Lysine	1,8 ± 0,1	4,0 ± 0,2	4,4 ± 0,0	3,7 ± 0,1
Ammonia	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,6 ± 0,0
Arginine	2,2 ± 0,1	3,1 ± 0,1	3,4 ± 0,0	3,1 ± 0,0
<b>SUM (AA only)</b>	<b>32,0 ± 2,3</b>	<b>48,6 ± 1,5</b>	<b>52,7 ± 0,2</b>	<b>46,2 ± 1,3</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>32,6 ± 2,4</b>	<b>49,5 ± 1,6</b>	<b>53,5 ± 0,2</b>	<b>46,8 ± 1,3</b>

**Tabell L.5**

Aminosyresammensetning i FPH og tørket sediment produsert fra samfengt (okt) ved bruk av kun endogene enzymer.

<b>Prøve</b>	<b>FPH S-0-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH S-30-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH S-60-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>Sediment S-60-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,5 ± 0,4	0,4 ± 0,2
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,7 ± 1,1	0,6 ± 0,1
Aspartic acid + Asparagine	4,2 ± 0,3	4,9 ± 0,1	5,1 ± 0,2	3,7 ± 0,3
Threonine	1,8 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,0	2,7 ± 0,2
Serine	2,6 ± 0,1	3,2 ± 0,4	2,8 ± 0,1	1,5 ± 0,2
Glutamic acid + Glutamine	6,6 ± 0,6	7,5 ± 0,2	7,6 ± 0,2	5,1 ± 0,4
Proline	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,0	2,2 ± 0,0
Glycine	4,5 ± 0,4	4,8 ± 0,2	4,7 ± 0,1	4,3 ± 0,1
Alanine	3,7 ± 0,4	4,1 ± 0,5	3,5 ± 0,1	2,7 ± 0,1
Cystine (Cys- Cys)	0,5 ± 0,5	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,1
Valine	2,6 ± 0,1	3,1 ± 0,2	3,0 ± 0,1	2,4 ± 0,3
Methionine	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,0	1,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0
Isoleucine	1,8 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,1 ± 0,1	1,7 ± 0,2
Leucine	3,6 ± 0,2	4,2 ± 0,2	3,9 ± 0,2	3,1 ± 0,4
Tyrosine	1,5 ± 0,0	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1
Phenylalanine	1,9 ± 0,1	2,2 ± 0,0	2,1 ± 0,1	2,0 ± 0,2
Histidine	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,0	2,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Hydroxylysine	-	-	-	0,1 ± 0,0
Lysine	4,4 ± 0,2	5,0 ± 0,3	4,8 ± 0,2	3,0 ± 0,4
Ammonia	0,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1
Arginine	3,5 ± 0,2	3,9 ± 0,2	3,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1
<b>SUM (AA only)</b>	<b>50,4 ± 1,7</b>	<b>57,4 ± 1,9</b>	<b>55,7 ± 1,7</b>	<b>41,8 ± 2,9</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>51,2 ± 1,8</b>	<b>58,3 ± 1,9</b>	<b>56,5 ± 1,6</b>	<b>42,4 ± 2,9</b>

**Tabell L.6**

Aminosyresammensetning i FPH og tørket sediment produsert fra samfengt (okt) ved bruk av Alkalase.

<b>Prøve</b>	<b>FPH S-0-A (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH S-30-A (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH S-60-A (n=3)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>Sediment S-60-A (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Aspartic acid + Asparagine	4,6 ± 0,3	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,4	4,1 ± 0,1
Threonine	2,0 ± 0,1	2,4 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,9 ± 0,0
Serine	2,8 ± 0,2	3,0 ± 0,1	3,1 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Glutamic acid + Glutamine	7,5 ± 0,1	7,7 ± 0,1	7,5 ± 0,6	5,7 ± 0,0
Proline	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,3	2,1 ± 0,1
Glycine	5,2 ± 0,1	5,0 ± 0,1	4,7 ± 0,4	4,0 ± 0,3
Alanine	3,5 ± 0,1	43,6 ± 0,1	3,8 ± 0,2	2,9 ± 0,0
Cystine (Cys-Cys)	-	0,0 ± 0,1	0,5 ± 0,7	0,2 ± 0,0
Valine	2,7 ± 0,1	3,0 ± 0,1	3,2 ± 0,0	2,8 ± 0,1
Methionine	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,0
Isoleucine	1,8 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Leucine	3,6 ± 0,2	4,1 ± 0,1	4,3 ± 0,0	3,6 ± 0,2
Tyrosine	1,5 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Phenylalanine	2,0 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,0	2,4 ± 0,1
Histidine	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,6 ± 0,1
Hydroxylysine	-	-	-	0,1 ± 0,0
Lysine	4,6 ± 0,1	4,8 ± 0,1	4,9 ± 0,1	3,6 ± 0,1
Ammonia	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Arginine	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,8 ± 0,0	3,0 ± 0,1
<b>SUM (AA only)</b>	<b>53,5 ± 1,0</b>	<b>56,4 ± 1,2</b>	<b>57,9 ± 0,7</b>	<b>46,2 ± 0,3</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>54,3 ± 1,0</b>	<b>57,2 ± 1,1</b>	<b>58,7 ± 0,8</b>	<b>46,9 ± 0,3</b>

**Tabell L.7**

Aminosyresammensetning i tørket FPH og tørket sediment produsert fra HRH (jan) ved bruk av kun endogene enzymer.

<b>Prøve</b>	<b>FPH J-0-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH J-30-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH J-60-E (n=5)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>Sediment J-60-E (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	4,8 ± 0,2	4,8 ± 0,3	2,7 ± 0,9	0,1 ± 0,1
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	1,7 ± 0,0	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,2	0,1 ± 0,2
Aspartic acid + Asparagine	2,5 ± 0,2	3,1 ± 0,1	3,0 ± 0,1	3,4 ± 0,6
Threonine	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,2
Serine	2,0 ± 0,1	2,5 ± 0,2	2,8 ± 0,4	2,1 ± 0,1
Glutamic acid + Glutamine	5,2 ± 0,2	6,2 ± 0,3	6,1 ± 0,3	4,7 ± 0,6
Proline	3,1 ± 0,2	3,4 ± 0,1	3,5 ± 0,5	1,6 ± 0,2
Glycine	7,2 ± 0,3	8,5 ± 0,5	8,1 ± 0,4	2,9 ± 0,3
Alanine	3,1 ± 0,1	3,7 ± 0,2	4,6 ± 0,9	2,4 ± 0,1
Cystine (Cys- Cys)	-	-	0,2 ± 0,5	0,1 ± 0,1
Valine	1,1 ± 0,0	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,3 ± 0,1
Methionine	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Isoleucine	0,7 ± 0,0	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,6 ± 0,1
Leucine	1,7 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,0	2,9 ± 0,2
Tyrosine	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,1
Phenylalanine	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,2
Histidine	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,1 ± 0,0
Hydroxylysine	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,1	-
Lysine	2,5 ± 0,1	3,0 ± 0,2	3,3 ± 0,2	3,0 ± 0,3
Ammonia	0,9 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1	0,5 ± 0,0
Arginine	2,8 ± 0,2	3,2 ± 0,3	4,0 ± 0,9	2,5 ± 0,2
<b>SUM (AA only)</b>	44,7 ± 1,9	51,2 ± 2,4	52,0 ± 2,3	36,2 ± 2,7
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	45,5 ± 1,9	52,2 ± 2,5	53,0 ± 2,4	36,6 ± 2,7



**Tabell L.8**

Aminosyresammensetning i tørket FPH og tørket sediment produsert fra HRH (jan) ved bruk av Alkalase.

<b>Prøve</b>	<b>FPH J-0-A (n=5)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH J-30-A (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>FPH J-60-A (n=3)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>	<b>Sediment J-60-A (n=4)</b> <i>per dry weight</i> <b>AA % (dw)</b>
<b>Aminosyre</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>	<b>Snitt ± SD.p</b>
Taurin	3,2 ± 1,0	2,2 ± 0,7	1,8 ± 0,6	0,4 ± 0,3
Methionine sulfoxide	-	-	-	-
Hydroxyproline	1,9 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Aspartic acid + Asparagine	2,5 ± 0,3	4,9 ± 0,4	5,2 ± 0,3	3,3 ± 0,2
Threonine	1,2 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2
Serine	2,3 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,6 ± 0,3	2,2 ± 0,2
Glutamic acid + Glutamine	5,2 ± 0,3	8,7 ± 0,4	8,4 ± 0,4	4,5 ± 0,5
Proline	3,4 ± 0,3	3,4 ± 0,3	3,9 ± 0,3	2,0 ± 0,2
Glycine	8,0 ± 0,1	7,1 ± 0,3	6,4 ± 0,4	3,9 ± 0,4
Alanine	4,1 ± 0,7	4,5 ± 0,4	5,4 ± 0,8	2,6 ± 0,4
Cystine (Cys- Cys)	-	-	1,1 ± 0,7	0,2 ± 0,3
Valine	1,3 ± 0,0	2,5 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Methionine	0,9 ± 0,1	1,3 ± 0,0	1,5 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Isoleucine	0,8 ± 0,0	1,7 ± 0,1	2,1 ± 0,0	1,5 ± 0,1
Leucine	1,9 ± 0,1	3,8 ± 0,0	4,3 ± 0,2	2,7 ± 0,2
Tyrosine	0,8 ± 0,6	1,0 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,1
Phenylalanine	1,2 ± 0,4	1,7 ± 0,0	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Histidine	2,3 ± 0,2	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,2 ± 0,1
Hydroxylysine	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Lysine	2,7 ± 0,2	4,9 ± 0,1	5,5 ± 0,3	2,7 ± 0,2
Ammonia	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,1	0,5 ± 0,0
Arginine	3,3 ± 0,3	3,9 ± 0,1	4,3 ± 0,1	2,6 ± 0,2
<b>SUM (AA only)</b>	<b>47,3 ± 0,6</b>	<b>61,0 ± 1,4</b>	<b>65,8 ± 1,4</b>	<b>37,9 ± 2,3</b>
<b>SUM (AA + ammonia)</b>	<b>48,2 ± 0,6</b>	<b>62,0 ± 1,4</b>	<b>66,9 ± 1,5</b>	<b>38,4 ± 2,3</b>

## Vedlegg M. Hydrolysegrad i FPH

Hydrolysegrad ble bestemt i FPH-prøver ved formoltitrering. Resultatberegning av hydrolysegrad følger ligning 2 og 3.

$$\text{frie aminosyrer (\%)} = \frac{A \times B \times 14,007 \times 100\%}{C \times 1000} \quad (2)$$

hvor

A = Forbrukt NaOH i ml

B = Konsentrasjon av titrant [M]

C = Vekt av prøve [g]

14,007 = Nitrogens molare masse

For bestemmelse av hydrolysegrad ble ligning 3 benyttet:

$$\text{Hydrolysegrad (\%)} = \frac{D \times 100}{E} \quad (3)$$

hvor

D = % frie aminosyrer

E = % Nitrogen

**Tabell M.1**

Hydrolysegrad i tørket FPH produsert fra samfengt oktobermakrell.

Prøve	Vekt (g)	0,1M NaOH (ml)	% Frie aminosyrer	% Nitrogen	Hydrolysegrad	Snitt	SD
<b>S-0-E-1</b>	0,2506	5,51	3,08	10,91	28,23	<b>29,1</b>	1,0
	0,2168	4,80	3,10		28,43		
	0,2247	4,90	3,05		28,00		
<b>S-0-E-2</b>	0,1919	4,55	3,32	10,91	30,44		
	0,2078	4,74	3,20		29,29		
	0,1975	4,63	3,28		30,10		
<b>S-30-E-1</b>	0,2424	6,30	3,64	11,22	32,45	<b>32,5</b>	0,6
	0,2409	6,13	3,56		31,77		
	0,223	5,69	3,57		31,85		
<b>S-30-E-2</b>	0,2439	6,47	3,72	11,22	33,12		
	0,2032	5,38	3,71		33,05		
	0,1926	5,10	3,71		33,06		
<b>S-60-E-1</b>	0,2416	6,83	3,96	11,27	35,14	<b>36,2</b>	1,2
	0,2241	6,31	3,94		35,00		
	0,2118	6,05	4,00		35,50		
<b>S-60-E-2</b>	0,1928	5,86	4,26	11,27	37,78		
	0,2016	5,95	4,13		36,68		
	0,1974	5,90	4,19		37,15		
<b>S-0-A-1</b>	0,2037	4,30	2,96	10,67	27,71	<b>28,8</b>	1,7
	0,2177	4,42	2,84		26,65		
<b>S-0-A-2</b>	0,223	5,12	3,22	10,67	30,14		
	0,2018	4,45	3,09		28,95		
	0,211	4,94	3,28		30,73		
<b>S-30-A-1</b>	0,2415	6,10	3,54	11,08	31,93	<b>32,9</b>	1,1
	0,2413	6,08	3,53		31,85		
	0,2172	5,45	3,51		31,72		
<b>S-30-A-2</b>	0,2104	5,62	3,74	11,08	33,77		
	0,2012	5,39	3,75		33,87		
	0,1903	5,12	3,77		34,01		
<b>S-60-A-1</b>	0,2198	6,14	3,91	11,19	34,97	<b>36,7</b>	2,0
	0,197	5,38	3,83		34,18		
	0,1875	5,36	4,00		35,78		
<b>S-60-A-2</b>	0,2017	6,27	4,35	11,19	38,91		
	0,2039	6,36	4,37		39,04		
	0,2425	7,21	4,16		37,22		

**Tabell M.2**

Hydrolysegrad i tørket FPH produsert fra HRH (okt), reaktor 1.Parallell er ikke inkludert i resultater.

Prøve	Vekt (g)	0,1M NaOH (ml)	% Frie aminosyrer	% Nitrogen	Hydrolysegrad	Snitt	SD
<b>B-0-E-1</b>	0,3561	4,38	1,72	9,12	18,89	20,0	1,0
	0,2956	4,02	1,90		20,89		
	0,2548	3,34	1,84		20,13		
<b>B-30-E-1</b>	0,187	2,63	1,97	9,09	21,67	20,8	0,9
	0,2703	3,49	1,81		19,90		
	0,2569	3,47	1,89		20,81		
<b>B-60-E-1</b>	0,2334	3,37	2,02	9,18	22,03	21,4	0,5
	0,2665	3,66	1,92		20,95		
	0,224	3,13	1,96		21,32		
<b>B-0-A-1</b>	0,2122	2,64	1,74	8,68	20,08	20,6	0,4
	0,2339	3,02	1,81		20,84		
	0,2103	2,72	1,81		20,87		
<b>B-30-A-1</b>	0,2763	4,8	2,43	10,75	22,64	22,7	0,3
	0,2773	4,76	2,40		22,37		
	0,2375	4,2	2,48		23,04		
<b>B-60-A-1</b>	0,2583	5,07	2,75	11,05	24,88	24,6	0,5
	0,2857	5,43	2,66		24,09		
	0,2432	4,78	2,75		24,91		

**Tabell M.3**

Hydrolysegrad i tørket FPH produsert fra HRH (okt), reaktor 2.

<b>Prøve</b>	<b>Vekt (g)</b>	<b>0,1M NaOH (ml)</b>	<b>% Frie aminosyrer</b>	<b>% Nitrogen</b>	<b>Hydrolysegrad</b>	<b>Snitt</b>	<b>SD</b>
<b>B-0-E-2</b>	0,2465	2,86	1,63	8,59	18,92	18,8	0,8
	0,2551	3,07	1,69		19,62		
	0,2434	2,68	1,54		17,95		
<b>B-30-E-2</b>	0,2432	2,98	1,72	9,11	18,84	18,3	0,5
	0,2968	3,43	1,62		17,77		
	0,2224	2,65	1,67		18,32		
<b>B-60-E-2</b>	0,2448	3,09	1,77	9,2	19,22	19,7	0,7
	0,2296	2,94	1,79		19,50		
	0,237	3,19	1,89		20,49		
<b>B-0-A-2</b>	0,2184	2,49	1,60	8,38	19,06	19,1	0,2
	0,2128	2,4	1,58		18,85		
	0,222	2,56	1,62		19,27		
<b>B-30-A-2</b>	0,2292	3,61	2,21	10,57	20,87	21,2	1,0
	0,2246	3,46	2,16		20,41		
	0,2075	3,51	2,37		22,42		
<b>B-60-A-2</b>	0,2661	4,77	2,51	10,76	23,33	23,8	0,6
	0,2127	4	2,63		24,48		
	0,24	4,33	2,53		23,49		

**Tabell M.4**

Hydrolysegrad i FPH produsert fra HRH (jan).

Prøve	Vekt g	0,1M NaOH (ml)	% Frie aminosyrer	% Nitrogen	Hydrolysegrad	Snitt	SD
<b>J-0-E-1</b>	0,3095	6,86	3,10	11,22	27,67	<b>20,2</b>	0,7
	0,293	4,48	2,14		19,09		
	0,3435	5,52	2,25		20,06		
<b>J-0-E-2</b>	0,206	3,43	2,33	11,22	20,79		
	0,2601	4,21	2,27		20,21		
	0,2126	3,51	2,31		20,61		
<b>J-30-E-1</b>	0,2605	4,21	2,26	11,55	19,60	<b>20,3</b>	1,0
	0,3137	4,96	2,21		19,17		
	0,2438	3,94	2,26		19,60		
<b>J-30-E-2</b>	0,2204	3,97	2,52	11,55	21,84		
	0,2349	4,00	2,39		20,65		
	0,2316	3,97	2,40		20,79		
<b>J-60-E-1</b>	0,3033	5,31	2,45	11,61	21,12	<b>20,5</b>	0,7
	0,2254	3,82	2,37		20,45		
	0,2528	4,01	2,22		19,14		
<b>J-60-E-2</b>	0,2185	3,82	2,45	11,61	21,09		
	0,2547	4,29	2,36		20,32		
	0,2267	3,93	2,43		20,91		
<b>J-0-A-1</b>	0,2574	3,80	2,07	11,57	17,87	<b>18,9</b>	1,4
	0,2501	3,66	2,05		17,72		
	0,2222	3,20	2,02		17,43		
<b>J-0-A-2</b>	0,1986	3,25	2,29	11,57	19,81		
	0,1852	3,18	2,41		20,79		
	0,2126	3,47	2,29		19,76		
<b>J-30-A-1</b>	0,3251	5,87	2,53	13,05	19,38	<b>20,0</b>	0,8
	0,2475	4,48	2,54		19,43		
	0,306	5,48	2,51		19,22		
<b>J-30-A-2</b>	0,2594	5,03	2,72	13,05	20,81		
	0,2967	5,67	2,68		20,51		
	0,2064	4,02	2,73		20,91		
<b>J-60-A-1</b>	0,3192	6,66	2,92	13,08	22,34	<b>23,1</b>	0,7
	0,3122	6,56	2,94		22,50		
	0,2638	5,62	2,98		22,81		
<b>J-60-A-2</b>	0,2366	5,26	3,11	13,08	23,81		
	0,1928	4,35	3,16		24,16		
	0,2018	4,38	3,04		23,24		

## Vedlegg N. Molekylvektfordeling

Molekylvektfordeling ble analysert i FPH prøver. Molekylvekt ble delt inn i 9 intervaller. Disse var < 200 Da, 200-500 Da, 500-1000 Da, 1000-2000 Da, 2000-5000 Da, 5000-10 000 Da, 10 000-15 000Da, 15 000-20 000 Da og > 20 000 Da.

**Tabell N.1**

Molekylvektfordeling i FPH produsert fra samfengt ved kun endogene enzymer.

<b>AREAL</b>	<b>S-0-E-1a</b>	<b>S-0-E-1b</b>	<b>S-0-E-2a</b>	<b>S-0-E-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	1,1	0,9	0,5	0,4
<b>15000-20000</b>	0,5	0,4	0,5	0,4
<b>10000-15000</b>	1,1	1,2	1,5	1,5
<b>5000-10000</b>	4,7	4,6	4,3	3,9
<b>2000-5000</b>	16,5	17,5	17,3	16,8
<b>1000-2000</b>	17,4	18,7	20,5	21,7
<b>500-1000</b>	14,9	15,7	19,4	21,2
<b>200-500</b>	11,7	11,8	13,4	14,6
<b>Under 200</b>	32,1	29,1	22,6	19,5
<b>Total</b>	100	99,9	100	100

<b>AREAL</b>	<b>S-30-E-1a</b>	<b>S-30-E-1b</b>	<b>S-30-E-2a</b>	<b>S-30-E-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,6	0,5	0,3	0,7
<b>15000-20000</b>	0,2	0,1	0,2	0,3
<b>10000-15000</b>	0,4	0,4	0,7	0,7
<b>5000-10000</b>	2,2	2,0	1,5	1,7
<b>2000-5000</b>	8,0	7,8	6,8	6,8
<b>1000-2000</b>	13,9	14,1	13,8	13,4
<b>500-1000</b>	16,9	16,7	19,5	19,2
<b>200-500</b>	17,9	18,1	15,7	15,2
<b>Under 200</b>	39,9	40,2	41,6	41,9
<b>Total</b>	100	99,9	100,1	99,9

<b>AREAL</b>	<b>S-60-E-1a</b>	<b>S-60-E-1b</b>	<b>S-60-E-2a</b>	<b>S-60-E-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,4	0,2	0,4	0,5
<b>15000-20000</b>	0,2	0,1	0,3	0,3
<b>10000-15000</b>	0,5	0,3	0,9	0,6
<b>5000-10000</b>	1,5	1,3	1,7	1,0
<b>2000-5000</b>	4,9	4,9	5,7	3,5
<b>1000-2000</b>	11,2	11,3	13	9,9
<b>500-1000</b>	16,2	16,4	20,5	19,9
<b>200-500</b>	20,4	20,3	20,6	18,7
<b>Under 200</b>	44,5	45,2	36,9	45,7
<b>Total</b>	99,8	100	100	100,1



**Tabell N.2**

Molekylvektfordeling i FPH produsert fra samfengt ved bruk av Alkalase.

<b>AREAL</b>	<b>S-0-A-1a</b>	<b>S-0-A-1b</b>	<b>S-0-A-2a</b>	<b>S-0-A-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	1,2	1,2	0,4	0,5
<b>15000-20000</b>	0,5	0,7	0,4	0,5
<b>10000-15000</b>	1,6	1,6	1,2	1,3
<b>5000-10000</b>	6,9	7,1	3,9	4
<b>2000-5000</b>	22,3	20,6	15,7	16,3
<b>1000-2000</b>	19,3	16,7	17,8	18,4
<b>500-1000</b>	14,4	12,2	15,7	16,7
<b>200-500</b>	10,2	8,9	11,5	11,2
<b>Under 200</b>	23,6	31	33,4	31
<b>Total</b>	100	100	100	99,9

<b>AREAL</b>	<b>S-30-A-1a</b>	<b>S-30-A-1b</b>	<b>S-30-A-2a</b>	<b>S-30-A-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,5	0,4	0,7	0,6
<b>15000-20000</b>	0,4	0,2	0,4	0,3
<b>10000-15000</b>	0,9	0,6	0,9	0,8
<b>5000-10000</b>	2,8	2,3	2,5	2,5
<b>2000-5000</b>	9,4	9,2	7,6	7,4
<b>1000-2000</b>	14,8	15,1	13,3	13,2
<b>500-1000</b>	19	19,3	19	19,3
<b>200-500</b>	18,3	18,6	19,3	19,2
<b>Under 200</b>	33,8	34,3	36,3	36,8
<b>Total</b>	99,9	100	100	100,1

<b>AREAL</b>	<b>S-60-A-1a</b>	<b>S-60-A-1b</b>	<b>S-60-A-2a</b>	<b>S-60-A-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,4	0,5	0,1	0,2
<b>15000-20000</b>	0,2	0,3	0,1	0,2
<b>10000-15000</b>	0,6	0,6	0,5	0,4
<b>5000-10000</b>	1,7	1,8	1	0,8
<b>2000-5000</b>	6,2	6,1	3,8	3,6
<b>1000-2000</b>	12,3	12,1	10,2	10,3
<b>500-1000</b>	19,2	19	19,1	19,4
<b>200-500</b>	21,9	21,8	22,2	22,1
<b>Under 200</b>	37,4	37,7	42,9	43,2
<b>Total</b>	99,9	99,9	99,9	100,2

**Tabell N.3**

Molekylvektfordeling i FPH produsert HRH (okt) ved bruk av kun endogene enzymer. Parallell 1 ikke inkludert i resultater.

<b>AREAL</b>	<b>B-0-E-2a</b>	<b>B-0-E-2b</b>	<b>B-0-E-1a</b>	<b>B-0-E-1b</b>
<b>Over 20 000</b>	30,4	32	29,8	31
<b>15000-20000</b>	12,6	12,1	8,8	10,6
<b>10000-15000</b>	14,7	14,4	9,7	11,4
<b>5000-10000</b>	11,4	10,7	7,9	8,1
<b>2000-5000</b>	5,5	5,9	5,4	4
<b>1000-2000</b>	2,2	2,4	3,3	1,9
<b>500-1000</b>	1,7	2,2	3,4	2
<b>200-500</b>	2,6	2,9	4,5	2,9
<b>Under 200</b>	18,9	17,2	27,3	28,2
<b>Total</b>	100	99,8	100,1	100,1

<b>AREAL</b>	<b>B-30-E-2a</b>	<b>B-30-E-2b</b>	<b>B-30-E-1a</b>	<b>B-30-E-1b</b>
<b>Over 20 000</b>	20	19,9	5	7,1
<b>15000-20000</b>	14,4	14,4	5,8	8,6
<b>10000-15000</b>	19,9	19,5	15,5	21,1
<b>5000-10000</b>	16	15,6	29,3	27,6
<b>2000-5000</b>	8,6	8,1	23,1	16,3
<b>1000-2000</b>	2,9	2,4	7	3,9
<b>500-1000</b>	2	1,7	3,7	2,7
<b>200-500</b>	2,4	2,1	3,7	3,9
<b>Under 200</b>	13,9	16,3	6,9	8,7
<b>Total</b>	100,1	100	100	99,9

<b>AREAL</b>	<b>B-60-E-2a</b>	<b>B-60-E-2b</b>	<b>B-60-E-1a</b>	<b>B-60-E-1b</b>
<b>Over 20 000</b>	8,7	10,4	10,3	10,7
<b>15000-20000</b>	11,2	8,4	10,6	10,6
<b>10000-15000</b>	21,9	21,6	18	18,2
<b>5000-10000</b>	22,1	21,5	17,4	17,5
<b>2000-5000</b>	11,6	11	7,6	7,8
<b>1000-2000</b>	3,2	3,2	2,4	2,4
<b>500-1000</b>	2,1	1,9	2,1	1,9
<b>200-500</b>	2,4	2,3	3,1	2,8
<b>Under 200</b>	16,8	19,6	28,4	28,1
<b>Total</b>	100	99,9	99,9	100

Tabell N.4

Molekylvektsfordeling i FPH produsert fra HRH (okt) ved bruk av Alkalase. Her er ikke parallell 1 inkludert i resultatene.

<b>AREAL</b>	<b>B-0-A-2a</b>	<b>B-0-A-2b</b>	<b>B-0-A-1a</b>	<b>B-0-A-1b</b>
<b>Over 20 000</b>	46,9	Problemer	2,9	5,8
<b>15000-20000</b>	9,5	med data-	3,2	7,9
<b>10000-15000</b>	11	behandling	9,7	16,1
<b>5000-10000</b>	7,8		21,9	21,7
<b>2000-5000</b>	4,8		22,1	16,1
<b>1000-2000</b>	3		7,9	9,2
<b>500-1000</b>	1,9		4,8	7,7
<b>200-500</b>	2,6		4,4	5,5
<b>Under 200</b>	12,6		23,1	9,9
<b>Total</b>	100,1	0	100	99,9

<b>AREAL</b>	<b>B-30-A-2a</b>	<b>B-30-A-2b</b>	<b>B-30-A-1a</b>	<b>B-30-A-1b</b>
<b>Over 20 000</b>	1,3	1,3	0,8	2,2
<b>15000-20000</b>	1,1	1,1	0,9	0,9
<b>10000-15000</b>	4,1	3,8	3,4	3,4
<b>5000-10000</b>	16,7	15,7	14,8	14,6
<b>2000-5000</b>	28,7	29,6	29,1	18,8
<b>1000-2000</b>	20,9	21,3	23	9,8
<b>500-1000</b>	12,8	13,2	14,1	5,7
<b>200-500</b>	8,6	7,8	8,1	4,8
<b>Under 200</b>	5,8	6,2	5,8	39,8
<b>Total</b>	100	100	100	100

<b>AREAL</b>	<b>B-60-A-2a</b>	<b>B-60-A-2b</b>	<b>B-60-A-1a</b>	<b>B-60-A-1b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,5	0,4	0,7	0,5
<b>15000-20000</b>	0,4	0,4	0,6	0,5
<b>10000-15000</b>	1,3	1,4	1,8	1,3
<b>5000-10000</b>	7	8,7	9,4	8,5
<b>2000-5000</b>	20	26,8	29,3	27,7
<b>1000-2000</b>	24,7	24,5	24,1	23,8
<b>500-1000</b>	22,9	18	17	17,4
<b>200-500</b>	13,8	12,7	10,9	12,9
<b>Under 200</b>	9,3	7,1	6,1	7,3
<b>Total</b>	99,9	100	99,9	99,9

Tabell N.5

Molekylvektfordeling i tørket FPH produsert fra HRH (jan) ved kun endogene enzymer.

<b>AREAL</b>	<b>J-0-E-1a</b>	<b>J-O-E-1b</b>	<b>J-0-E-2a</b>	<b>J-O-E-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	34,9	30,1	0,9	1,6
<b>15000-20000</b>	6,2	3,7	0,5	1,6
<b>10000-15000</b>	5	4,1	1,2	4,9
<b>5000-10000</b>	5,7	5,5	3,2	14,4
<b>2000-5000</b>	6,4	7,4	11,8	35,5
<b>1000-2000</b>	4,8	5,3	18,1	13
<b>500-1000</b>	4,9	5	22,5	5,4
<b>200-500</b>	8,1	8,9	15,2	5,4
<b>Under 200</b>	24	30	26,5	18,4
<b>Total</b>	100	100	99,9	100,2

<b>AREAL</b>	<b>J-30-E-1a</b>	<b>J-30-E-1b</b>	<b>J-30-E-2a</b>	<b>J-30-E-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,7	1	0,7	1,1
<b>15000-20000</b>	0,5	1,2	0,7	0,4
<b>10000-15000</b>	1,2	4,5	2,4	1
<b>5000-10000</b>	5,9	15,8	10,1	3,3
<b>2000-5000</b>	23,1	35,8	36	13,7
<b>1000-2000</b>	16,5	10	15,2	17,2
<b>500-1000</b>	16	3,5	5,5	22
<b>200-500</b>	10,2	4,2	5,6	14,6
<b>Under 200</b>	25,8	24	23,7	26,6
<b>Total</b>	99,9	100	99,9	99,9

<b>AREAL</b>	<b>J-60-E-1a</b>	<b>J-60-E-1b</b>	<b>J-60-E-2a</b>	<b>J-60-E-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,9	2	6,7	1,9
<b>15000-20000</b>	0,6	1,8	6,8	2
<b>10000-15000</b>	1,5	6	11,8	5,7
<b>5000-10000</b>	7,4	20,6	19,9	15,4
<b>2000-5000</b>	25,1	31,2	16,2	23,1
<b>1000-2000</b>	16,6	5,2	3	9,5
<b>500-1000</b>	14,6	2,1	1,5	7,5
<b>200-500</b>	9,3	4,3	4,1	6,6
<b>Under 200</b>	24,1	26,9	29,8	28,2
<b>Total</b>	100,1	100,1	99,8	99,9

**Tabell N.6**

Molekylvektfordeling i tørket FPH produsert fra HRH (jan) ved bruk av Alkalase.

<b>AREAL</b>	<b>J-0-A-1a</b>	<b>J-O-A-1b</b>	<b>J-0-A-2a</b>	<b>J-O-A-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	1,5	1,2	1,6	3,8
<b>15000-20000</b>	1	0,7	1,9	4,2
<b>10000-15000</b>	3,2	1,4	4,7	8,5
<b>5000-10000</b>	13	5,2	12,6	17,7
<b>2000-5000</b>	37,7	21,6	24,4	26,2
<b>1000-2000</b>	13,3	17,9	12,5	7,2
<b>500-1000</b>	4,7	18,8	11,2	4,5
<b>200-500</b>	4,9	10,8	6,8	4,5
<b>Under 200</b>	20,6	22,3	24,3	23,2
<b>Total</b>	99,9	99,9	100	99,8

<b>AREAL</b>	<b>J-30-A-1a</b>	<b>J-30-A-1b</b>	<b>J-30-A-2a</b>	<b>J-30-A-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,6	0,6	0,3	0,5
<b>15000-20000</b>	0,5	0,4	0,2	0,4
<b>10000-15000</b>	1,2	1	0,6	1
<b>5000-10000</b>	4	3,6	2,8	4
<b>2000-5000</b>	24,3	23,6	27,1	32,5
<b>1000-2000</b>	21,5	21,8	25,2	23,7
<b>500-1000</b>	19,3	20,1	17,8	12,2
<b>200-500</b>	10,1	10,4	8,5	7,6
<b>Under 200</b>	18,5	18,5	17,5	18,2
<b>Total</b>	100	100	100	100,1

<b>AREAL</b>	<b>J-60-A-1a</b>	<b>J-60-A-1b</b>	<b>J-60-A-2a</b>	<b>J-60-A-2b</b>
<b>Over 20 000</b>	0,6	0,7	0,4	0,2
<b>15000-20000</b>	0,3	0,4	0,3	0,2
<b>10000-15000</b>	0,8	1	1	0,9
<b>5000-10000</b>	1,7	1,8	2,6	2,7
<b>2000-5000</b>	14,9	13,1	20,8	20,4
<b>1000-2000</b>	22,8	22,8	30,4	33
<b>500-1000</b>	22,2	24,7	22,5	23,9
<b>200-500</b>	12,2	14,3	11,1	11,5
<b>Under 200</b>	24,6	21,3	11	7,2
<b>Total</b>	100,1	100,1	100,1	100