



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

BACHELOROPPGAVE 2021

20 studiepoeng

Verdiøkning av restråstoff fra krabbeforedling
Value increasing of rest raw material from crab processing

utført av

Marcus Hoff Hansen

Emilie Michelsen

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

Sammendrag

Hensikten med oppgaven var å studere prosessforhold ved enzymatisk hydrolyse av restråstoff, og finne de mest optimale forholdene for størst mulig proteinutbytte. Motivasjonen for oppgaven var engasjement og interesse for utvikling av teknologi som kan bidra til verdiøkning og en mer bærekraftig matindustri.

Opgaven tok for seg enzymatisk hydrolyse av restråstoff fra krabbeforedling for dannelselse av proteinholdig hydrolysat. Det ble gjennomført i alt 14 hydrolyser, der type råstoff, enzym, enzymkonsentrasjon og hydrolyseringstid ble valgt som varierende faktorer. Restråstoffet som ble brukt var fra kokt og rå krabbe. Enzymene papain og bromelain ble sammenlignet ved konsentrasjonene 0%, 0,1% og 1%, og hydrolysering på 1 time og 6 timer ble vurdert. Prøvene bestod av råstoff og vann i forholdet 1:2, og hydrolyseringstemperatur ble bestemt til å være 50°C.

Etter hydrolysering ble alle prøvene analysert for tørrstoffinnhold, og deretter tørket ved spray- eller frysetørking. Videre analyser for å finne innhold av nitrogen, frie aminogrupeer og protein ga grunnlag for beregning av hydrolysegrad samt vurdering av de ulike forholdene. Noen utvalgte prøver ble også analysert for saltinnhold. Brixmåling ble brukt under 6 timers hydrolyse for å indikere tørrstoffinnhold, slik at utviklingen i hydrolyseprosessen over tid kunnes følges. Senere ble et temperaturforsøk utført på råstoffet ved 30°C, 40°C og 50°C for å undersøke eventuell sammenheng med denaturering av proteiner. Fargeanalyse ble til slutt utført på alle prøvene for å vurdere kvalitet.

Vurdering av prosessforholdene ble gjort ved å se på resultater fra analysene av prøvene, og sett i sammenheng med restråstoffenes sammensetning. Hydrolysatene hadde et proteininnhold på 50,07-62,07%. Ut ifra forsøkene som ble gjennomført, ble det konkludert med at de mest optimale prosessforholdene for størst mulig proteinutbytte var bruk av restråstoff fra rå krabbe, med tilsats av 1% papain. Ut ifra fargeanalysene ble det bestemt at hydrolysatene fra kokt restråstoff hadde best kvalitet.

Abstract

The purpose of this thesis was to study the processing conditions for enzymatic hydrolysis of rest raw material from brown crab, and to find the most optimal conditions for the recovery of protein. The motivation for this task was the engagement and interest for development of technology that can contribute to value increase and a more sustainable food industry.

This thesis dealt with enzymatic hydrolysis of rest raw material from crab processing to create a protein rich hydrolysate. A total of 14 samples was hydrolysed, where type of rest raw material, enzyme, enzyme concentration and hydrolysis reaction time were chosen as variable factors. The rest raw materials used came from boiled and raw crab. The enzymes papain and bromelain were compared in the concentrations 0%, 0,1% and 1% and hydrolysis reaction time of 1 and 6 hours was evaluated. The samples consisted of rest raw material and water in the ratio of 1:2, and hydrolysis reaction temperature was decided to be 50°C.

After hydrolysis all samples were measured for dry matter content, and then dried by spray and freeze drying. Further analysis to find the content of nitrogen, free amino groups and protein gave the basis for calculation of degree of hydrolysis and evaluation of the different conditions. Some selected samples were also analysed for salt content. The measurement of Brix value during the six-hour hydrolysis experiment gave an indication of dry matter content, which was used to follow the increase of dry matter content over time. A temperature experiment was performed on the rest raw material to investigate any effects of protein denaturation at different temperatures.

Evaluation of processing conditions were done by evaluating the results of the samples and compared with the composition of the rest raw material. The hydrolysates had a protein content of 50,07-62,07%. Based on the experiments that were done, it was concluded that the most optimal processing conditions for the recovery of protein was by the use of rest raw material from raw crab, with the addition of 1% papain. From the color analysis it was decided that the hydrolysates from boiled crab rest raw material had the best quality.

Forord

Denne bacheloroppgaven ble skrevet som avsluttende del av studiet Matteknologi ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap ved NTNU i Trondheim våren 2021. Laboratoriarbeidet i forbindelse med oppgaven ble utført ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, samt Institutt for energi og prosesssteknikk ved NTNU.

Kostnadene i forbindelse med oppgaven ble dekket av NTNU, og råstoff ble levert av HitraMat AS.

Vi ønsker å rette en stor og inderlig takk til hovedveileder Kirill Mukhatov for engasjerende og konstruktiv veiledning under arbeidet med oppgaven. En hjertelig takk til medveileder Ignat Tolstorebrov for entusiastiske og lærerike diskusjoner, samt hjelp til analyser og støtte på lab. Takk også til veileder Tina Olaussen ved Kystmiljø for krabbeveiledning og hjelp med levering av råstoff.

Tusen takk til Anne Kathrine Streitlien, Siri Stavrum, Turid Rustad, Martin Haider, Anna Lødeng og Veronica Hammer Hjellnes for oppmuntring og hjelp med utstyr på lab ved gjennomførelse av analyser.

Mare Hoff Hansen

Emilie Nielsen

Trondheim, 20.5.2021

Innholdsfortegnelse

1	Innledning	1
2	Teori.....	2
2.1	Taskekrabbe.....	2
2.1.1	<i>Forbruk og næringsinnhold</i>	2
2.1.2	<i>Restråstoff fra skalldyr og krabbe</i>	3
2.2	Proteiner og enzymer.....	3
2.2.1	<i>Autolyse</i>	4
2.3	Enzymatisk proteinhydrolyse	4
2.4	Tørrstoff og brix	6
2.5	Farge som kvalitetsparameter	6
3	Materialer og metoder	7
3.1	Råstoff	7
3.2	Eksperimentdesign.....	8
3.3	Enzymatisk hydrolyse.....	9
3.3.1	<i>Hydrolyse med utvidet tid</i>	11
3.4	Tørrstoff.....	12
3.5	Spraytørking	13
3.6	Frysetørking	13
3.7	Analyse av nitrogeninnhold ved bruk av Kjeldahl-metoden	14
3.8	Analyse av frie aminogrupeer ved formoltitrering.....	15
3.9	Salt.....	15
3.10	Temperaturforsøk	16
3.11	Fargemåling	16
4	Resultater og diskusjon	17
4.1	Kjemisk sammensetning av råstoff.....	17
4.1.1	<i>Tørrstoff</i>	17
4.1.2	<i>Totalt nitrogeninnhold</i>	17
4.1.3	<i>Frie aminogrupeer og grad av hydrolyse</i>	18
4.2	Enzymatisk hydrolyse av kokt restråstoff	19
4.2.1	<i>Forhold mellom fraksjoner</i>	19
4.2.2	<i>Tørrstoff</i>	20
4.2.3	<i>Tørking</i>	22

4.2.4	<i>Protein</i>	23
4.2.5	<i>Frie aminogrunder og grad av hydrolyse</i>	24
4.3	Enzymatisk hydrolyse av rått restråstoff	25
4.3.1	<i>Forhold mellom fraksjoner</i>	26
4.3.2	<i>Tørrstoff</i>	27
4.3.3	<i>Tørking</i>	28
4.3.4	<i>Protein</i>	29
4.3.5	<i>Frie aminogrunder og grad av hydrolyse</i>	30
4.4	Salt	30
4.5	Effekt av hydrolyseringstid	31
4.5.1	<i>1 time vs. 6 timer</i>	33
4.6	Effekt av temperatur	33
4.7	Fargemåling	34
5	Konklusjon.....	36
5.1	Veien videre.....	37
6	Referanseliste	38

Vedlegg

1 Innledning

Klimaendringer og befolkningsvekst skaper utfordringer for den globale matsikkerheten. Matproduksjon er ressurskrevende og står dessuten for store klimagassutslipp. Samtidig er matsvinn et økende problem og ikke bærekraftig. Med hensyn til miljø, ressurser og økonomi må derfor matsvinn reduseres. Det skaper behov for å finne innovative og bærekraftige løsninger slik at tilgjengelige ressurser kan utnyttes i større grad enn det gjør i dag. For eksempel kan næringsstoffer i mat som ikke oppfyller kvalitetskrav som utseende og størrelse, gjenbrukes i nye produkter. FNs bærekraftsmål tar sikte på blant annet å utrydde sult, fremme økonomisk vekst og innovasjon, sikre bærekraftig produksjon, bevare livet i havet og stoppe klimaendringene (FN, 2021). Gjenbruk av ressurser for næringsrik matproduksjon vil møte alle disse målene.

Fiskeri er en viktig del av verdiskapingen i Norge. I 2019 ble det produsert 3,55 millioner tonn marint råstoff, derav oppstod 965 000 tonn restråstoff (Myhre et al., 2020). Av dette ble 84% utnyttet. Myhre et al. (2020) definerer restråstoff som «det som ikke er primære hovedprodukt ved anvendelse av et råstoff». Størsteparten av restråstoffet prosesseres i dag ved ensilering eller ekstraksjon av fiskemel og olje. Det meste ender opp som dyre- og fiskefôr, mens kun en liten andel går til humant konsum. For størst mulig verdiøkning bør restråstoff brukes til produksjon av produkter til humant konsum, framfor brensel og fôr.

Enzymatisk hydrolyse er også en velkjent prosessmetode i fiskeindustrien, der proteiner kan ekstraheres over i en anvendelig vannfraksjon og danne proteinholdig hydrolysat (Nasri, 2017). Hydrolysat kan brukes som for eksempel proteintilskudd i matvarer eller medisin.

Selv om utnyttelsesgraden av restråstoff er høy og trenden økende, er det fortsatt potensiale for å utnytte mer. Fordelt på sektor er utnyttelsesgraden lavest for skalldyr. Målet med oppgaven var å lage hydrolysat fra restråstoff fra krabbeforedling, samt å finne de mest optimale prosessforholdene for størst mulig proteinutbytte og best kvalitet.

Opgaven er viktig for å øke kunnskap om krabberåstoff og prosessforhold ved enzymatisk hydrolyse. Det kan bidra til å gjøre det mer lønnsomt å gjenbruke restråstoff.

2 Teori

2.1 Taskekrabbe

Taskekrabbe (*Cancer pagurus*) er den vanligste krabbearten i Norge. Den er utbredt i hele Europa og er stor blant fangst av skalldyr (Zimmermann et al., 2020). I Norge fiskes taskekrabbe langs store deler av kysten, med størst omfang omkring Møre, Trøndelag og Helgeland. De siste ti årene har årlig fangst vært på omtrent 5000 tonn i Norge, mot 40-50 tusen tonn i Europa. Taskekrabbe fiskes hovedsakelig fra august til oktober, når krabben er gyteklar og full av rogn og næring (Søvik et al., 2017).

Ved fiskemottak sorteres fangsten etter størrelse, vekt og kjønn, og krabber som ikke oppfyller krav til minstemål på skallbredde, kjøttfylde eller utseende som svarte flekker og mangel på klør, kastes ut igjen (Søvik et al., 2017).

2.1.1 Forbruk og næringsinnhold

Den norske forbrukeren kjøper i all hovedsak kokte, fylte krabbeskjell og krabbeklør, samt håndrenset hvitt krabbekjøtt (Olafsen, 2004). Ved salg av hel krabbe regnes også rogn, lever og brunkjøtt som matprodukt, men betraktes som biprodukt ved produksjon av krabbekjøtt. Østvik et al. (2005) estimerte i 2005 at biprodukter fra taskekrabber utgjør en andel på 53% av tilgjengelig råstoff. Skall ble sett på som eneste biprodukt, mens brunkjøtt, leggekjøtt fra små bein og rester av burmat fra krabbehuset ble ansett som potensielle produkter og ikke biprodukter. Den reelle andelen biprodukt fra krabbe er dermed enda høyere.

Hel, kokt krabbe inneholder omtrent 23% protein, 2% fett, 1% karbohydrat og er en god kilde til vitamin E, B12 og mineraler som kalsium og sink (Østvik et al., 2005). Analyser utført av Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning i 2005 viste et næringsinnhold i brunkjøtt på 13,5-15,7g protein /100g, samt høyt innhold av vitaminer og mineraler. Det gjør biproduktet interessant for utnyttelse av næringsstoffer.

Næringsinnholdet i de ulike fraksjonene i krabben varierer. Mens kjøttet er rikt på proteiner, består skallet i tillegg av store deler kalsiumforbindelser og kitin, samt pigmenter (Olafsen, 2004). Kitin er et nitrogenholdig polysakkarid som brukes i blant annet kosttilskudd, medisiner og kosmetikk (Kardas, et al., 2012). En analyse på krabbeprodukter konkluderte med at 13-17% av tørrstoffet i totalmengden krabbeprodukter er kitin (Olafsen, 2004).

2.1.2 *Restråstoff fra skalldyr og krabbe*

I 2019 ble 51% av tilgjengelig restråstoff fra skalldyr utnyttet i Norge. Hovedsakelig gjenbrukes dette som fôr, gjødsel eller biogass, mens det i utlandet også brukes til produksjon av kitin og krabbemel. Den største andelen av restråstoffet som ikke utnyttes, er skall (Myhre et al., 2020; Olafsen, 2004).

Marint restråstoff er rikt på proteiner. I et prosjekt utført av Nofima ble innhold av protein og kitin i krabbemel beregnet basert på analyser av egenprodusert krabbemel. Krabbemelet ble produsert ved kverning og tørking av restråstoff fra kongekrabbe. Beregninger basert på målinger av blant annet nitrogeninnhold viste et innhold av protein på 30,9-33,6%, og innhold av kitin på 35,2-37,9% (Stenberg et al., 2012).

2.2 *Proteiner og enzymer*

Proteiner er en viktig kilde til næring og energi i kostholdet. De er bygget opp av aminosyrer og er avgjørende for en rekke prosesser i cellene i kroppen, som metabolisme (Nelson & Cox, 2017). Aminosyrer består av aminogrupeer med nitrogenatomer. Analyse av nitrogeninnhold i en prøve kan dermed benyttes for å estimere innhold av protein.

Ulike typer proteiner har spesifikke oppgaver. Enzymer er proteiner som katalyserer kjemiske reaksjoner, deriblant endopeptidase og eksopeptidase som er spesifikke proteinhydrolyserende enzymer (Khattak et al., 2015). Endopeptidase splitter tilfeldige peptidbindinger inne i molekylet og danner mindre peptider, mens eksopeptidase splitter bindinger ytterst på protein- og peptidkjedene og danner aminosyrer, di- og tripeptider. Bromelain og Papain er blant de mest kjente endopeptidasene.

Bromelain er et planteenzym som ekstraheres fra ananas (Rao et al., 1998). Det er aktivt ved pH 5-9 og inaktiveres ved 70 °C. Enzymet har bred spesifisitet for spalting av proteiner og benyttes gjerne ved produksjon av proteinhydrolysat til matprodukter, fordi det kan danne hydrolysat uten bitre peptider og dermed gi bedre smak på hydrolysatet (Gildberg, 1993).

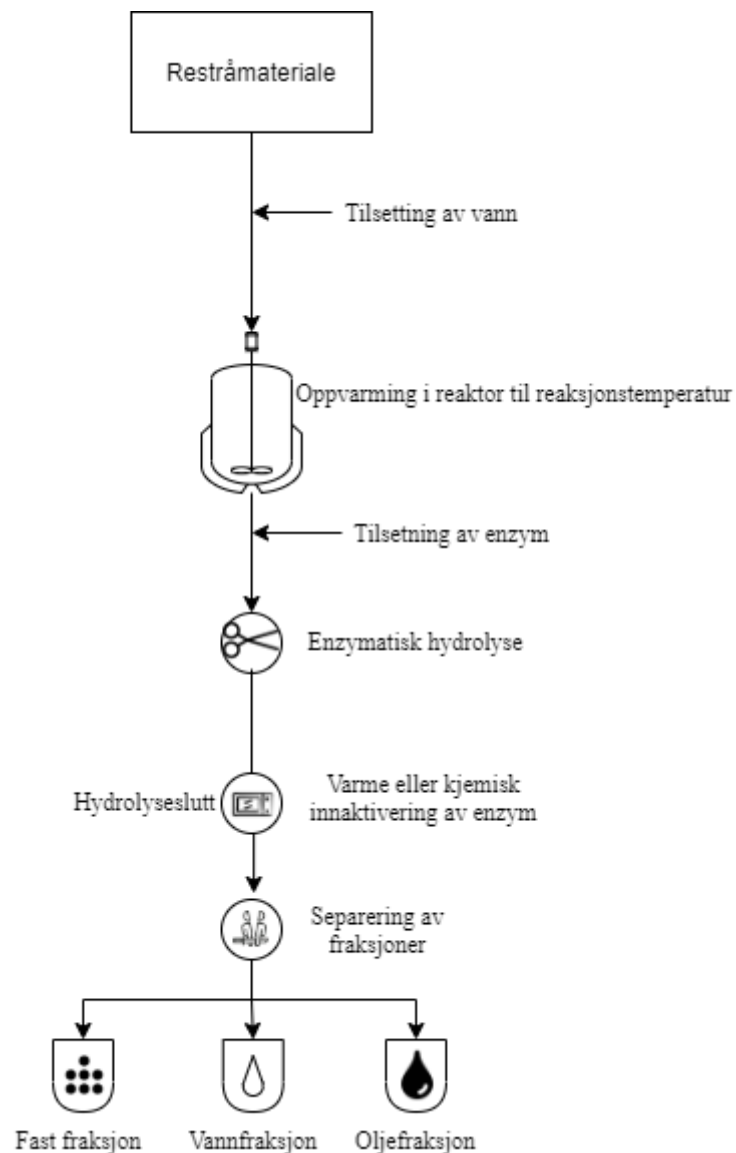
Papain er et planteenzym som ekstraheres fra papaya (Rao et al., 1998). Det er aktivt ved pH 5-9 og stabilt opptil 80°C. Enzymet har også bred spesifisitet for spalting av proteiner, noe som kan gi høy løselighet. I forbindelse med en studie som omhandlet enzymhydrolysater og bitterhet ble det vist høyere enzymaktivitet og hydrolysegrad for papain enn for bromelain (Seo et al., 2008).

2.2.1 Autolyse

Enzymer, som peptidaser, finnes naturlig i alle planter, dyr og mikroorganismer (Khattak et al., 2015). Ved celledød vil enzymene bryte ned molekylene i dyre- og plantevevet, uten bakteriell forråtnelse. Dette kalles autolyse (Dernby, 1918). Disse enzymene som befinner seg inni fordøyelseskanalen til dyr, kalles endogene enzymer. Optimal pH for autolyse er 5-7.

2.3 Enzymatisk proteinhydrolyse

Hydrolyse er en kjemisk reaksjon der bindinger i molekyler splittes ved opptak av vann (Nelson et al., 2017). Ved hydrolyse av proteiner vil splitting av peptidbindinger danne peptider og frie aminosyrer. I industrien benyttes kommersielle enzymer for å kontrollere reaksjonene og oppnå en effektiv prosess med høyt proteinutbytte og ønskede egenskaper (Grimsmo, 2015).



Figur 1 Hovedtrinnene i en enzymatisk hydrolyseprosess.

Figur 1 viser hovedtrinnene i en enzymatisk hydrolyseprosess. Ved endt hydrolyse separeres produktet til en oljefraksjon, en vannfraksjon med vannløselige komponenter og en fast fraksjon med sedimenter. Vannfraksjonen er hovedproduktet og omtales etter tørking som hydrolysat. Hydrolysatets egenskaper avhenger av råstoff, temperatur, pH, tid, enzym og enzymkonsentrasjon (Nasri, 2017).

Under hydrolysen vil vannløselige proteiner og komponenter fra råstoffet ekstraheres over i vannfraksjonen. Løselighet er derfor en viktig egenskap hos proteinet, men kan være vanskelig å oppnå (Adler-Nissen, 1976). Nedbryting av proteiner vil kunne øke løseligheten, men aminosyresammensetning og peptidstørrelse avhenger av hvilke enzymer som benyttes. Store molekyler er tunge og kan koagulere, mens små peptider og frie aminosyrer er lettere tilgjengelig og vil kunne ekstraheres over i vannfraksjonen. Enzymer kan også danne hydrofobe, vannavstøtende peptider og føre til lavt proteininnhold i hydrolysatet, tross høy grad av hydrolyse (Paraman et al., 2007).

Ved enzymatisk hydrolyse frigjøres peptider med gode bioaktive egenskaper som antioksidativ kapasitet, antimikrobiell effekt og kolesterolsenkende effekt, og kan derfor brukes til å forebygge mot kronisk sykdom (Wergedahl et al., 2004; Udenigwe et al., 2012). I tillegg medfører det matnyttige egenskaper som bevaring av næringsverdi, letter fordøyelsen og påvirker sensoriske egenskaper som smak og lukt (Tavano, 2013).

For å angi proteinkvalitet kan hydrolysegrad være en god parameter. Hydrolysegrad (DH%) defineres som prosentandelen spaltede peptidbindinger av det totale antallet peptidbindinger (Nielsen et al., 2001). Studier viser at hydrolysegrad øker med økt temperatur (Ovissipour et al., 2009; Bhaskar et al., 2008; Peterson et al., 1989). Det kan skyldes at denaturering av proteiner øker med økt temperatur og at mange proteiner hydrolyseres lettere når de denatureres (Adler-Nissen, 1976). Høy temperatur vil også påvirke enzymene og kan medføre irreversibel deaktivering (Peterson et al., 1989).

Hydrolyse kan karakteriseres ved måling av for eksempel nitrogeninnhold, formoltitrering eller spektroskopiske analysemetoder.

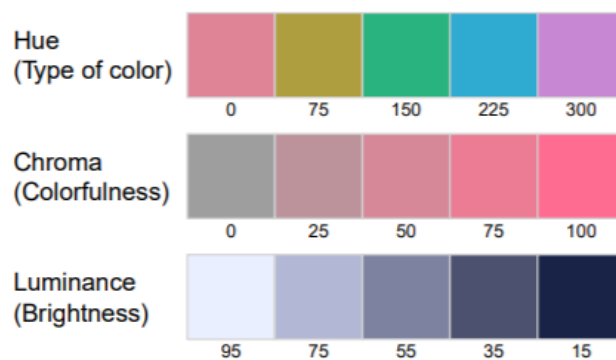
2.4 Tørrstoff og brix

Tørrstoffinnhold er den totale mengden løselige faste stoffer i en prøve, etter at all væske er fjernet. Et mål på tørrstoff kan indikere mengden næringsstoffer i prøven. Som et anslag for mengde tørrstoff i en prøve, kan brix benyttes. Brix er en måleenhet for brytningsindeks av sukrose i sukkerløsning (da Costa, 2021). Det anses allikevel som et mål for innhold av oppløselige faste stoffer som sukrose, aminosyrer, proteiner m.m. i en løsning (Varnam et al., 1994).

2.5 Farge som kvalitetsparameter

Farge anses som en av mange kvalitetsparametere for matprodukter, som er viktig for aksept fra forbruker. Farge kan påvirkes av for eksempel råstoff, prosessering, fettinnhold, oksidasjon, lys, temperatur og vanninnhold (Bueno-Solano et al., 2008).

Basert på det menneskelige fargesynet, kan farge defineres av tre dimensjoner: fargetone/ hue (basert på bølgelengde som definerer fargen), kroma (for fargeintensitet, sammenlignet med grå) og luminans (lysstyrke som mengde grått) (Zeileis et al., 2009). Dette er kjent som HCL-fargemodellen. Figur 2 illustrerer de tre dimensjonene.



Figur 2 HCL-fargemodellen. Øverst: fargetone H fra 0 til 360, med $C=60$ og $L=65$. I midten: kroma C fra 0 til 100, med $H=0$ og $L=65$. Nederst: Luminans L fra 100 til 0, med $H=260$ og $C=25$ (Zeileis et al., 2020).

3 Materialer og metoder

3.1 Råstoff

I forsøkene ble det benyttet nedfrost restråstoff fra HitraMats produksjon av taskekrabbe høsten 2020. Det var fordelt i en del kokt og en del rått restråstoff. Restråstoffet fra kokt krabbe bestod av rester etter koking og rensing av krabbe der kjøttet var tatt ut til humant konsum, og hovedsakelig skall fra legger, klør og bryst var igjen. Restråstoffet fra rå krabbe bestod av råstoff som ikke er egnet til humant konsum, som utsorterte hele krabber med enten for lite kjøtt, for mange svarte flekker på skallet eller dødkrabber, samt magesekker fra kokte krabber. Figur 3 og 4 viser restråstoffet som ble benyttet til forsøkene.



Figur 3 Restråstoff fra kokt krabbe.



Figur 4 Restråstoff fra rå krabbe.

Det rå og kokte restråstoffet ble hver for seg kvernet i blender til en grov masse med synlige skallfragmenter, som vist i henholdsvis Figur 5 og 6. Det kokte restråstoffet var betydelig enklere å kverne, ettersom at det bestod av mindre komponenter. Dette resulterte i mindre skallfragmenter enn i det rå restråstoffet. Det ferdig kvernete, kokte restråstoffet bestod av små klumper faststoff og skallfragmenter, mens det rå restråstoffet var en mer viskøs masse. Alle videre forsøk ble utført på restråstoffet etter kverning.



Figur 5 Grovmalt restråstoff fra kokt krabbe.

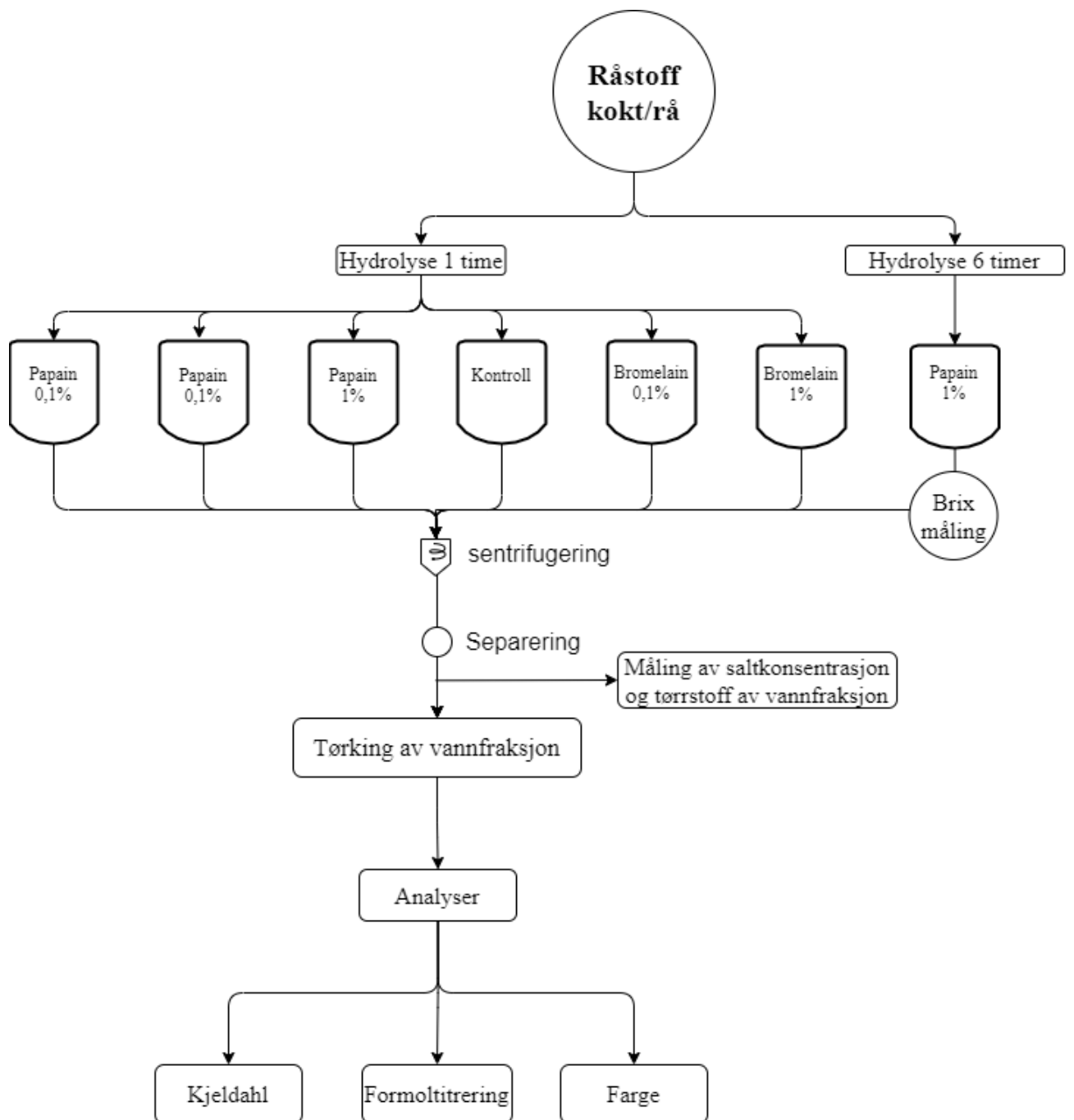


Figur 6 Grovmalt restråstoff fra rå krabbe.

Etter kverning ble prøvene nedfryst til -20°C i porsjenspakker á 500 g. Det ble benyttet om lag 6kg rå krabbe og 5kg kokt krabbe til forsøkene.

3.2 Eksperimentdesign

Figur 7 viser skjematisk oversikt over hele forsøket.



Figur 7 Skjematisk oversikt over forsøket.

3.3 Enzymatisk hydrolyse

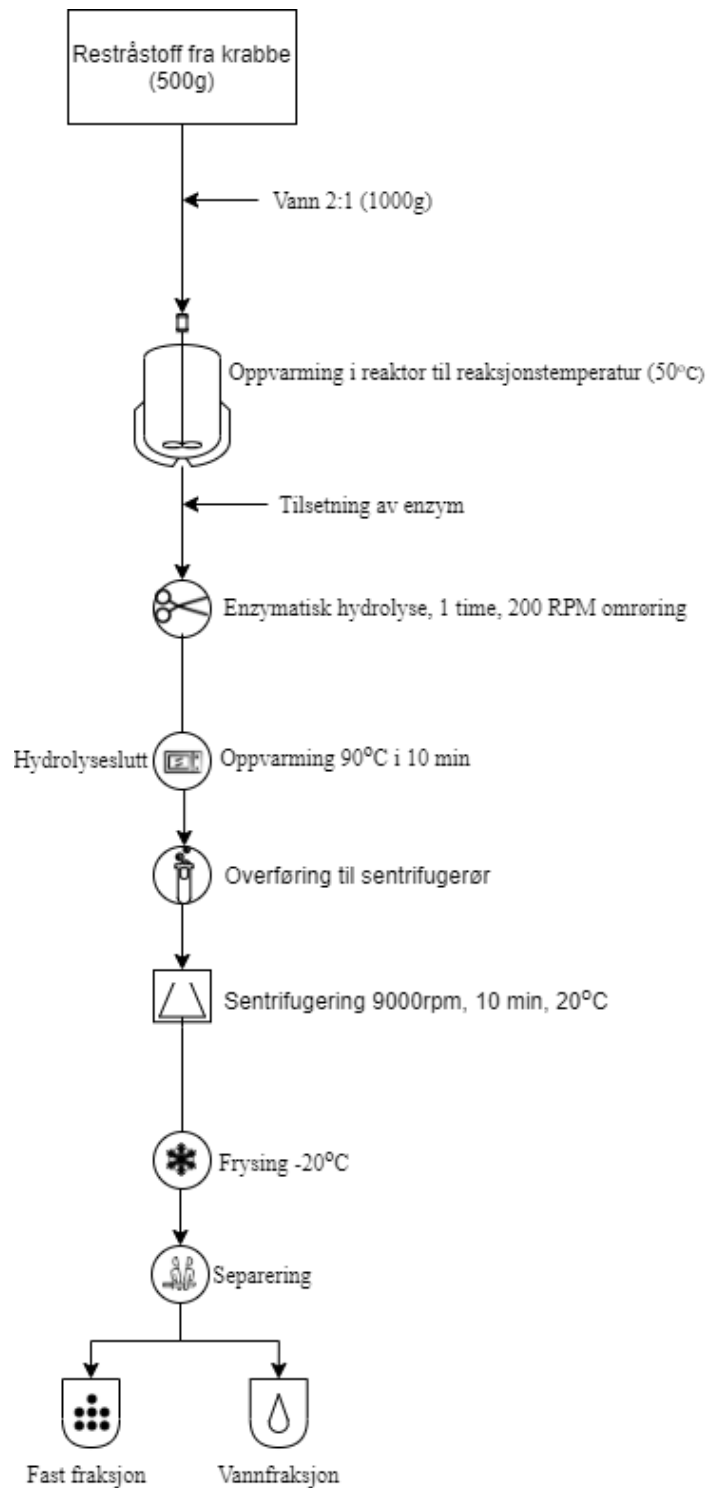
Tabell 1 viser oversikt over 12 prøver som ble hydrolysert.

Tabell 1 Oversikt over type råstoff, enzym og enzymkonsentrasjon i % av råstoffmengde for de 12 prøvene som ble hydrolysert. Hydrolyseringstid for alle prøvene var 1 time.

Prøve	Råstoff	Enzym	Enzymkonsentrasjon [% av råstoff]
K1	Kokt	-	0
K2	Kokt	Bromelain	0,1
K3	Kokt	Bromelain	1
K4	Kokt	Papain	0,1
K5	Kokt	Papain	0,1
K6	Kokt	Papain	1
R1	Rå	-	0
R2	Rå	Bromelain	0,1
R3	Rå	Bromelain	1
R4	Rå	Papain	0,1
R5	Rå	Papain	0,1
R6	Rå	Papain	1

Hver av prøvene besto av 500g råstoff og 1000mL avionisert vann, se Vedlegg 1 for verdier. Det ble først utført to paralleller for hvert av råstoffene (K4, K5; R4, R5). Resten av hydrolysene ble utført i randomisert rekkefølge, deriblant en kontroll uten enzymtilsats for hvert av råstoffene (K1; R1). Enzymkonsentrasjoner og hydrolyseringstemperatur på 50°C ble bestemt basert på forskningsartikler (Šližytė, 2005; Liu et al., 2010). Enzymene som ble benyttet var bromelain (Sigma Aldrich, B4882) og papain (Sigma Aldrich, P3375).

Figur 8 viser gangen i den enzymatiske hydrolysen som ble gjennomført.



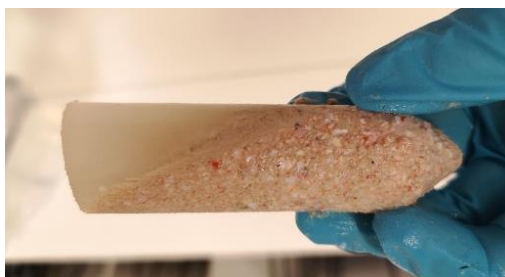
Figur 8 Flytskjema for enzymatisk hydrolyse som ble gjennomført for prøvene K1-K6 og R1-R6.



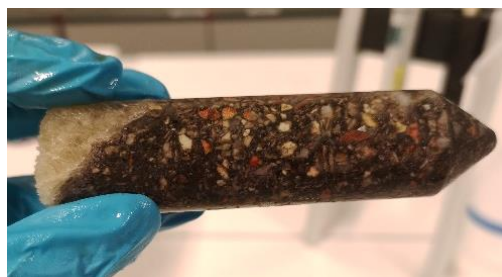
Figur 9 Hydrolyse av restråstoff fra kokt krabbe i reaktor.

Hver av prøvene ble tilsatt en Altas systemreaktor (Syrris Ltd.), som vist i Figur 9. Reaktoren ble varmet opp og satt på omrøring (50°C, 200rpm). Enzym ble så løst i 5mL avionisert vann ved hjelp av magnetrører. Da restråstoffblandingen hadde nådd 50°C, ble enzymløsningen tilsatt og prøven hydrolysert i 1 time. Alle prøvene holdt en på stabil temperatur på 50°C gjennom hele hydrolyseprosessen, og stabil pH på 7,9 og 7,4 for henholdsvis kokt og rå krabbe. Etter 1 time hydrolyse ble blandingen varmet opp til 90°C i mikrobølgeovn (900W). Det tok ca. 20 minutter fra hydrolyseslutt til blandingen nådde 90°C. Hydrolyseblandingen ble med jevne mellomrom varmet opp for å holde temperaturen over 90°C i 10min for inaktivering av enzymene. Blandingene ble så sentrifugert i 10min (9000rpm) og deretter nedfrost til -20°C. Fast fraksjon og vannfraksjon ble senere separert i frossen tilstand ved bruk av skalpell, og lagret ved -20°C. Figur 10 og 11 viser de separerte fraksjonene av hydrolyseblandingen av restråstoff fra henholdsvis kokt og rå krabbe etter sentrifugering. Lavt fettinnhold visualiseres ved liten/ingen oljefraksjon.

senere separert i frossen tilstand ved bruk av skalpell, og lagret ved -20°C. Figur 10 og 11 viser de separerte fraksjonene av hydrolyseblandingen av restråstoff fra henholdsvis kokt og rå krabbe etter sentrifugering. Lavt fettinnhold visualiseres ved liten/ingen oljefraksjon.



Figur 10 Separert fast- og vannfraksjon fra kokt krabbe, etter sentrifugering og frysing.



Figur 11 Separert fast- og vannfraksjon fra rå krabbe, etter sentrifugering og frysing.

3.3.1 Hydrolyse med utvidet tid

For å se på tid som faktor for hydrolyseprosessen, ble det gjennomført to hydrolyser på 6 timer, K7 og R7. Prosessen ble ellers gjennomført som for K1-K6 og R1-R6. Tabell 2 viser betingelser for prøvene. Hvert 30.minutt ble omtrent 2mL av hydrolyseblandingen tatt ut for filtrering og måling av brix med ATAGO RX-5000 refraktometer. Brixverdiene vises i Vedlegg 5. Temperaturen holdt 50°C gjennom hele hydrolyseprosessen for begge forsøkene, og pH hadde stabil verdi på 7,9 og 7,4 for henholdsvis prøve K7 og R7. Etter sentrifugering ble hydrolyseblandingen separert ved vakuumfiltrering i stedet for manuelt med skalpell som prøve

K1-K6 og R1-R6. Dette ga mindre tap av prøvemateriale. Resultatene er diskutert i Kapittel 4.5.

Tabell 2 Oversikt over type råstoff, enzym, og enzymkonsentrasjon i % av råstoffmengde. Hydrolyseringstid for begge prøvene var 6 timer.

Prøve	Råstoff	Enzym	Enzymkonsentrasjon [% av råstoff]
K7	Kokt	Papain	1
R7	Rå	Papain	1

3.4 Tørrstoff

Tørrstoffinnholdet i vannfraksjonen ble bestemt ved veing av filtrert prøve før og etter tørking i varmeskap ved 105°C i 24 timer. Alle prøvene ble målt i tre paralleller. Tørrstoffinnhold ble så beregnet ved bruk av Ligning 1.

$$\%tørrstoff = \frac{tørrvekt [g]}{våtvekt [g]} \times 100 \% \quad (1)$$

%Tørrstoff ble brukt videre til å beregne tørrvekt av hydrolysat og restråstoff, vist i Ligning 2.

$$Tørrvekt [g] = \frac{\%tørrstoff \times våtvekt [g]}{100 \%} \quad (2)$$

Tørrvekten til vannfraksjonen og restråstoffet ble brukt til å beregne det prosentvise utbyttet av restråstoffet, som vist i Ligning 3. Dette viser hvor mye av tørrvekten til restråstoffet som har gått over til vannfraksjonen.

$$\%grad \text{ av utbytte} = \frac{Tørrvekt \text{ av vannfraksjon [g]}}{Tørrvekt \text{ av restråstoff [g]}} \times 100 \% \quad (3)$$

3.5 Spraytørking

Prøvene K1-K6 og R1-R6 ble tint fra fryst tilstand og filtrert ved bruk av glassull. Spraytørking ble gjennomført med Pulvis GB22 spraytørker (Yamato Scientific Co., Ltd), som vist i Figur 12, med en inngangstemperatur på 201°C og utgangstemperatur på 102-106°C. Trykkluft til forstøveren ble stilt inn på 0,8kgf/cm² og tørkeluft på 0,31 m³/min. Dette ga en tørkehastighet på ca. 150mL/t, som vil si at en prøve på 500mL hadde en tørketid på 3 timer og 20 minutter. Når prøven var tørket ferdig, ble pulveret samlet fra beholderen og veid.

Det ble også forsøkt å gjøre tørkeprosessen raskere ved å øke tørkeluftstrømmen til 40m³/min og senke lufttrykket til forstøveren til 0,2kgf/cm², med samme inngangs- og utgangstemperatur som før. Dette ga en tørketid på ca. 300mL/t.



Figur 12 Pulvis GB22 spraytørker.

3.6 Frysetørking

Frysetørkingen ble gjennomført med en Christ Alpha 2-4 LSC plus vakuumbrysetørker med Lyocube kammer og temperaturkontrollerte plater (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH). Ca. 300mL prøvemateriale ble helt over i en 35x25cm ildfast form som var veid på forhånd, og satt til frysing ved -50°C til neste dag. Påfølgende dag ble prøvene plassert i tørkekammeret og trykket ble redusert til under 1 mbar og kondensatortemperaturen var på ca. -85°C. Prøvene stod i kammeret til neste dag hvor de ble sjekket for resterende iskrystaller. Dersom det var resterende vann i prøven, ble metoden gjentatt. Den tørkende prøven ble så veid og lagret ved -20°C.

3.7 Analyse av nitrogeninnhold ved bruk av Kjeldahl-metoden

Totalt nitrogeninnhold ble bestemt ved bruk av Kjeldahl-metoden tilpasset for kjøtt og fisk (BÜCHI Labortechnik AG, 2013). Prøvemateriale ble veid opp på veiepapir, hvor 1g ble veid opp for råstoffmateriale og 0,2g ble veid opp for tørket hydrolysat. Vekten ble notert med fire desimalers nøyaktighet. Det ble tatt to paralleller for hver prøve. Hver prøve ble tilsatt 2 Kjeldahl-tabletter og 15mL konsentrert svovelsyre. Deretter ble prøvene satt i en KjelDigester K-449 for fordøyelse med temperaturregime i henhold til Tabell 3.

Tabell 3 Temperatur- og tidsregime for fordøying.

Trinn	Temperatur (°C)	Tid
1	280	0
2	320	20
3	420	120
Nedkjøling	-	30

Etter fordøying ble prøvene plassert i KjelMaster K-375 for destillering og titrering. Destillerings- og titreringsparametere er hentet fra BÜCHI Labortechnik AG (2013). Resultatet ble beregnet ut ifra Ligning 4, 5 og 6, hvor W_n er vektfraksjonen av nitrogen, $V_{prøve}$ er mengden titrant brukt til prøven, V_{blank} er den gjennomsnittlige mengden titrant brukt til blankprøven, Z er den molare valensfaktoren (2 for H_2SO_4), C er konsentrasjonen av titrant, F er titrantfaktor, M_n er molykylærvekten av nitrogen (14,007 g/mol), $m_{prøve}$ er vekten av prøven (g), 1000 er omregningsfaktor (mL/L) og PF er proteinfaktoren. Proteinfaktoren til kjøtt og fisk er 6,25 (BÜCHI Labortechnik AG, 2013).

$$W_n = \frac{(V_{prøve} - V_{blank}) \times Z \times C \times F \times M_n}{m_{prøve} \times 1000} \quad (4)$$

$$\%nitrogen = W_n \times 100\% \quad (5)$$

$$\%protein = W_n \times PF \times 100\% \quad (6)$$

3.8 Analyse av frie aminogrunder ved formoltitrering

Bestemmelse av frie aminogrunder og grad av hydrolyse ble bestemt ved formoltitrering (Taylor, 1957). Prøvemateriale ble veid (ca. 1,5g) i et begerglass og blandet med vann til 50g. Alle prøvene hadde en pH på over 7,0 og ble justert ned til pH 7,0 med 1M HCl løsning. Deretter ble det tilsatt 10mL formaldehyd som var justert til pH 8,5 med NaOH. Prøven sto så i 5 minutter med omrøring før titrering. Prøveblandingen ble titrert til pH 8,5 med 0,1M NaOH (TitroLine® 7000, SI Analytics). Mengden titrant ble brukt til å beregne andelen frie aminogrunder ved bruk av Ligning 7, hvor A er mL NaOH brukt til titring, B er konsentrasjonen av løsningen som er brukt til titrering (0,1M), 14,007 er molekylmassen til nitrogen og C er mengden prøve(g). 100 og 1000 er oppskaleringsfaktorer som gir svaret i prosent. Grad av hydrolyse ble bestemt ved bruk av Ligning 8, hvor D er %frie aminogrunder, 100 er oppskaleringsfaktor som gir svaret i prosent og E er %nitrogen i prøven.

$$\%frie\ aminogrunder = \frac{A \times B \times 14,007 \times 100 \%}{C \times 1000} \quad (7)$$

$$\%grad\ av\ hydrolyse = \frac{D \times 100 \%}{E} \quad (8)$$

3.9 Salt

Saltinnholdet i vannfraksjonen ble målt med PAL-SALT 03S, ATAGO digital saltmåler. Saltmåleren er vist i Figur 13. Instrumentet måler den elektriske konduktiviteten hvor salt er en elektrolytt som leder strøm (ATAGO Co, LTD). Forsøket ble utført som en kuriositet på et tilfeldig utvalg av prøvene. En måling ble gjort på prøvene K1, K2, K5, R3 og R4.



Figur 13 PAL-SALT 03S, ATAGO saltmåler.

Basert på resultatet kunne andelen salt i tørket vannfraksjon beregnes ved bruk av Ligning 9. %saltinnhold er saltinnholdet i vannfraksjonen, V_{vf} er vekten av vannfraksjonen og V_{ts} er vekten av den tørkede vannfraksjonen.

$$\%salt \text{ i tørket vannfraksjon} = \frac{\%saltinnhold \times V_{vf}}{V_{ts}} \quad (9)$$

3.10 Temperaturforsøk

Det ble stilt spørsmål ved om høy hydrolyseringstemperatur (50°C) kan ha medvirket til lavt tørrstoffinnhold i vannfraksjonen, ved å koagulere og utfelle proteiner. For å undersøke om lavere temperatur påvirker løselighet og utfelling av proteiner, ble det utført et visuelt forsøk. Restråstoff fra rå krabbe ble blandet med avionisert vann i forholdet 1:2, og fordelt i tre begerglass. Hver av prøveblandningene ble varmet opp til henholdsvis 30°C, 40°C og 50°C, og stående i 30 minutter for utfelling. Figur 22 og 23 viser utfellingene.

3.11 Fargemåling

Fargemåling av tørket hydrolysat ble utført med ColorFlex EZ spektrofotometer. Prøven ble overført til glassprøvekoppen til ca. 2-3cm av høyden til glasset var fylt. Glassprøvekoppen ble plassert på spektrofotometeret og prøvekoppekslet ble plassert over for å forhindre interferens fra eksternt lys. Deretter ble fargemålingen tatt og verdiene hue, kroma og luminans ble notert.

4 Resultater og diskusjon

4.1 Kjemisk sammensetning av råstoff

Et av delmålene med oppgaven var å finne den kjemiske sammensetningen av restråstoffene fra kokt og rå krabbe. Hovedresultatene vises i Tabell 4, rådata finnes i Vedlegg 1 og 2.

*Tabell 4: Kjemisk sammensetning i kokt og rått restråstoff fra taskekrabbe. [v/vv] er vekt av våtvekt, mens [v/tv] er vekt av tørrvekt. *frysetørket prøve.*

Råstoff	Kokt	Rå
Tørrstoff [%]	64,56 ± 0,04	33,12 ± 0,93
Nitrogen [g/100g, v/vv]	1,93 ± 0,02	1,59 ± 0,03
Protein [g/100g, v/vv]	12,08 ± 0,14	9,91 ± 0,22
Nitrogen [g/100g, v/tv]*	2,91 ± 0,00	4,48 ± 0,26
Protein [g/100g, v/tv]*	18,18 ± 0,02	27,99 ± 1,61

4.1.1 Tørrstoff

Tørrstoffinnholdet i kokt og rått restråstoff vises i Tabell 4. Tørrstoffinnholdet i det kokte restråstoffet var på 64,56±0,04%. Lavt standardavvik tyder på at det kvernedede restråstoffet var homogent. For det rå restråstoffet var tørrstoffinnholdet på 33,12±0,93%. Etter kverning dannet dette restråstoffet en mindre homogen masse enn det kokte, med store skallfragmenter i en ellers viskøs masse. Dette vises også i et høyere standardavvik for det rå enn for det kokte.

Tørrstoffinnholdet i det kokte restråstoffet var høyere enn i det rå. Dette skyldes den ulike sammensetningen i råstoffene. Mens det rå restråstoffet inneholdt hele krabber med innvoller og kjøtt, som er komponenter som inneholder mye vann, hadde det kokte råstoffet lavere innhold av vann ettersom det meste av kjøtt og innvoller hadde blitt fjernet. Det kokte råstoffet inneholdt en stor andel skall, som ga høyere tørrstoffinnhold. Tidligere undersøkelser på rent krabbeskall har vist tørrstoffinnhold på 98% (Vedlegg 7). Siden det kokte råstoffet hadde mye lavere tørrstoffinnhold enn rent krabbeskall tyder det på at det var tilstedeværelse av kjøtt og/eller innmat som hadde lavere tørrstoffinnhold.

4.1.2 Totalt nitrogeninnhold

Totalt nitrogeninnhold ble bestemt ved bruk av Kjeldahl-metoden. Resultatet vises i Tabell 4, rådata finnes i Vedlegg 2. Totalt nitrogeninnhold ble bestemt for kvernet restråstoff, det vil si med innhold av vann, samt for frysetørket restråstoff.

Nitrogeninnholdet i det kokte restråstoffet var 1,93±0,02g/100g, noe som gir 12,08±0,14g/100g protein med proteinfaktor 6,25. Nitrogeninnholdet i frysetørket, kokt restråstoff ble funnet til å

være $2,91 \pm 0,00 \text{g}/100\text{g}$, noe som gir $18,18 \pm 0,02 \text{g}/100\text{g}$ protein. Dette er sammenlignbart med et annet studie på samme råstoff fra en annen batch, hvor proteininnholdet i våtvekt ble funnet til å være $14,70 \pm 1,5 \text{g}/100\text{g}$ (Hageli et al., 2020). For rått restråstoff var nitrogeninnholdet for våtvekt og tørrvekt på $1,59 \pm 0,03$ og $4,48 \pm 0,26 \text{g}/100\text{g}$ respektivt. Dette viser at konsentrasjonen av nitrogen var høyere for det rå restråstoffet enn for det kokte, ved tørrvekt.

Kitin er et nitrogenholdig polysakkarid i krabbeskall. Siden andelen skall i det kokte restråstoffet var høyere enn i det rå, vil nitrogeninnholdet i dette råstoffet bestå av en høyere andel kitin. Det kan bety at det faktiske proteininnholdet i det kokte restråstoffet sannsynligvis var lavere enn i det rå restråstoffet.

4.1.3 Frie aminogrupeer og grad av hydrolyse

Innholdet av frie aminogrupeer i restråstoffene ble bestemt ved formoltitrering som beskrevet i Kapittel 2.12. Resultatene vises i Tabell 5, rådata finnes i Vedlegg 3. Formoltitreringen ble utført på frysetørket restråstoff. Innholdet av frie aminogrupeer i kokt og rått restråstoff var $0,22 \pm 0,04$ og $0,84 \pm 0,10 \text{mg}/\text{g}$ respektivt.

Tabell 5 Resultater fra beregninger av grad av hydrolyse i restråstoffene. Resultatet viser gjennomsnittet basert på to paralleller. [v/tv] er vekt av tørrvekt.

Råstoff	Frie aminogrupeer [mg/g, v/tv]	Grad av hydrolyse [%]
Kokt	$0,22 \pm 0,04$	$7,48 \pm 1,41$
Rå	$0,84 \pm 0,10$	$18,65 \pm 2,31$

Grad av hydrolyse ble bestemt ut ifra totalt nitrogeninnhold og frie aminogrupeer som beskrevet i Kapittel 3.7. Resultatet for grad av hydrolyse vises i Tabell 5. Det var stor forskjell i grad av hydrolyse mellom kokt og rått restråstoff, hvor kokt restråstoff fikk en mye lavere verdi enn rått. Dette kan skyldes at det rå restråstoffet inneholdt mer protein enn det kokte og i tillegg kan ha gjennomgått autolyse. Dermed kan det være at andelen frie aminogrupeer var høyere for det rå restråstoffet enn for det kokte.

Det er også viktig å påpeke at det ligger grunnlag for usikkerhet rundt resultatene. En av grunnene til dette er justeringen av pH til prøvene før formoltitreringen. Alle prøvene hadde en høy pH på over 7,00 og måtte justeres ned ved hjelp av 1M saltsyre (HCl). Bufferkapasiteten var høy for råstoffprøvene, som betyr at det var nødvendig å tilsette større mengder syre for å få ned pH. Metoden ble utført etter Taylor (1957) som en indirekte titrering (Taylor, 1957). Denne metoden gir ingen beskrivelse av formoltitrering med tilsvarende prøver og refererer til

prøver hvor pH justeres opp til 7,00 ved hjelp av en base (NaOH). Et alternativ til å justere pH ned med syre, er å bruke formaldehyd. Dette ble gjort i en lignende undersøkelse av frie aminogrupper i restråstoff fra snøkrabbe, der grad av hydrolyse for rått restråstoff var $16,8 \pm 1,9\%$ (Bakkeland, 2019). Dette kan indikere at justering av pH med syre ga sammenlignbare resultater med metoden hvor formaldehyd ble brukt.

Andelen kitin i restråstoffet ble heller ikke bestemt, som betyr at totalt nitrogeninnhold vil inneholde nitrogen fra både kitin og protein. I formoltitrering skal nitrogen fra protein brukes i kalkulasjonen av grad av hydrolyse for å få nøyaktige resultater. Siden nitrogen fra både protein og kitin blir brukt til utregning av grad av hydrolyse vil resultat ikke være nøyaktig, men gi en veivisende verdi som kan brukes til å sammenligne kokt og rått restråstoff.

4.2 Enzymatisk hydrolyse av kokt restråstoff

Enzymatisk hydrolyse av kokt restråstoff ble utført som beskrevet i Kapittel 3.2. En oversikt over prøvene vises i Tabell 6.

Tabell 6 Oversikt over enzym og enzymkonsentrasjon for prøvene med kokt restråstoff.

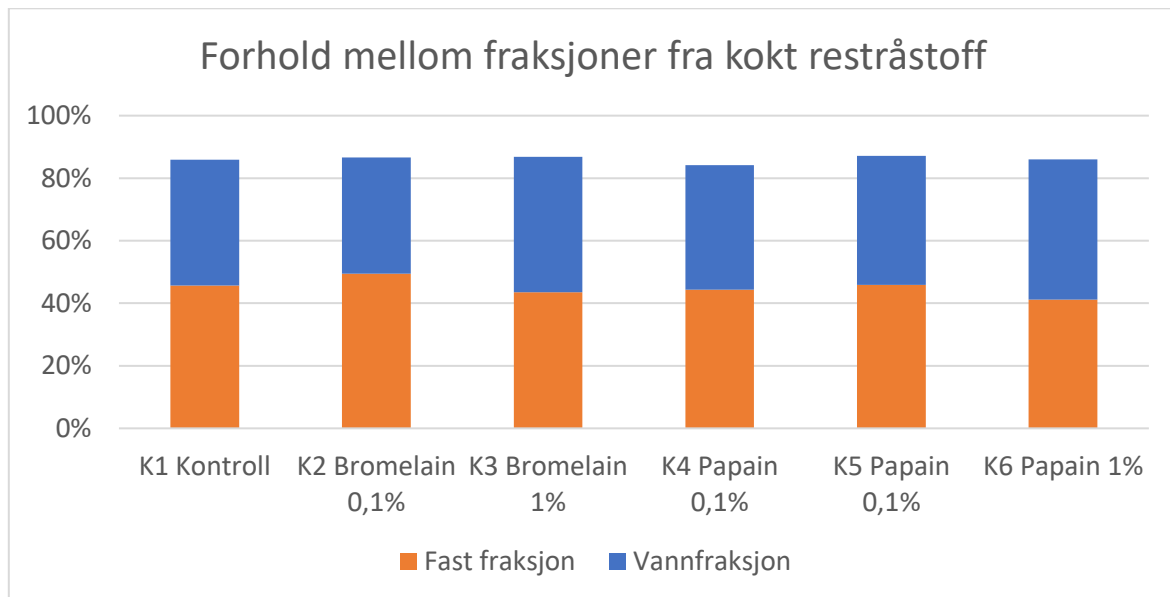
Prøve	Enzym	Enzymkonsentrasjon [% av råstoff]
K1	Kontroll	0
K2	Bromelain	0,1
K3	Bromelain	1
K4	Papain	0,1
K5	Papain	0,1
K6	Papain	1

4.2.1 Forhold mellom fraksjoner

Enzymatisk hydrolyse av prøvene med det kokte restråstoffet skapte to tydelige fraksjoner etter sentrifugering, som vist i Figur 10. Det var en fast fraksjon og en vannfraksjon. Fettinnholdet i råstoffet var så lavt at det ikke lot seg gjøre å separere oljefraksjonen fra resten av prøven. Rådata for prøvene vises i Vedlegg 1.

Vekten av fast fraksjon og vannfraksjon for prøvene er basert på samme prinsipp som beskrevet i Kapittel 3.2.1. Figur 14 viser forholdet mellom fraksjonene basert på den totale vekten av hydrolyseblandingen. Dette er for å verifisere sentrifugering og separering av frosne fraksjoner

som separeringsmetode. Type enzym og enzymkonsentrasjon, i tillegg til kontrollprøven, er representert for å sammenligne forskjeller.



Figur 14 Fordeling av fast fraksjon og vannfraksjon som prosent av total hydrolyseblending etter sentrifugering og separering for prøvene med kokt restråstoff.

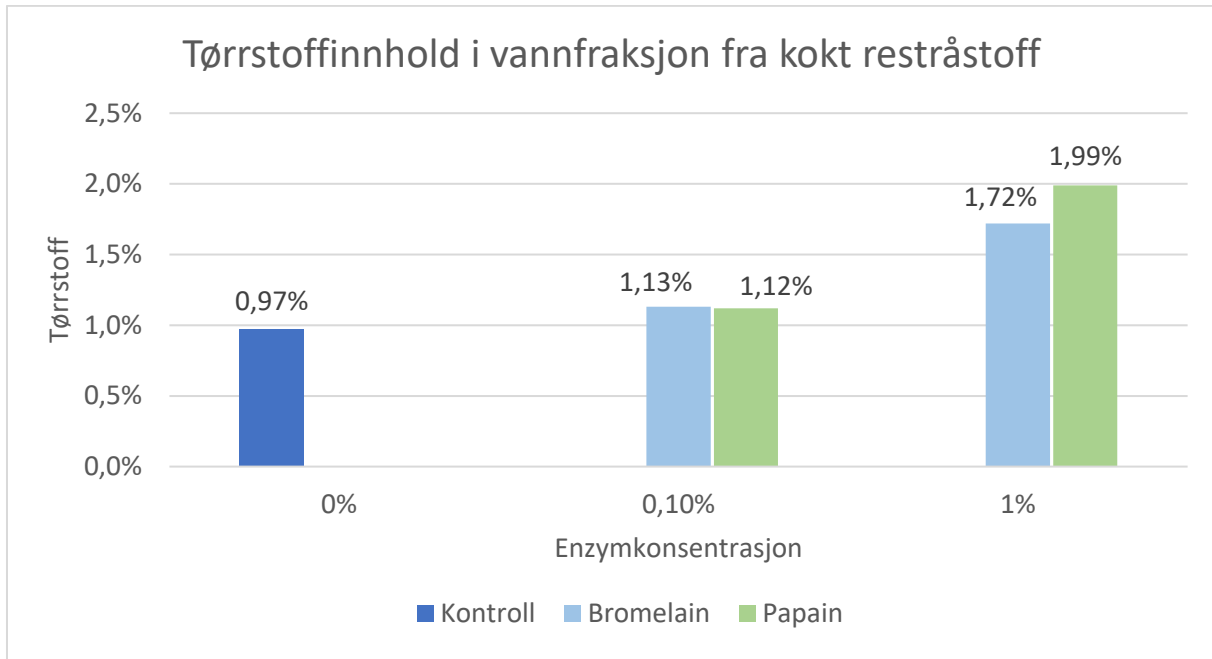
Resultatet viser at det er minimale forskjeller i den totale vekten av begge fraksjoner for alle prøvene. Figur 14 viser også et gjennomsnittlig tap på $13,90 \pm 1,04\%$ av hydrolyseblendingen. Det meste av dette tapet er vann som har fordampet under inaktiveringen. Noe av tapet kan også ha forekommet under separeringen, da deler av fraksjonene smeltet under separering og ble igjen på skjærefjølen.

4.2.2 Tørrstoff

Et av målene med oppgaven var å se på sammenhengen mellom type tilsatt enzym og enzymkonsentrasjon for å bestemme egnede parametere for enzymatisk hydrolyse av krabberestråstoff. Verdien av tørrstoffinnhold i vannfraksjon er et viktig kriterium for å vise effekten av hydrolyseprosessen, hvor det er ønskelig med høyere tørrstoffkonsentrasjon. Det er to grunner til dette. Den ene er at høyere konsentrasjon av tørrstoff gir høyere utbytte av produkt, som gir større verdi for en produsent. Den andre grunnen er at høyere tørrstoffkonsentrasjon betyr at mindre vann må fjernes ved tørking. Dette gjør at det kreves mindre energi og tid for å tørke produktet, og gjør prosessen mer bærekraftig og billigere.

Tørrstoffkonsentrasjonen i de hydrolyserte vannfraksjonene av kokt restråstoff vises i Figur 15, rådata finnes i Vedlegg 4. Figuren viser sammenhengen mellom økning i enzymkonsentrasjon og andel tørrstoff i vannfraksjonen. Sammenlignet med kontrollprøven var tørrstoffinnholdet i

prøvene med 0,1% enzymkonsentrasjon liten. Det kan bety at 0,1% enzym var for lite. 1% enzymkonsentrasjon ga høyere tørrstoffinnhold for begge enzymene, og papain ga en høyere konsentrasjon enn bromelain.

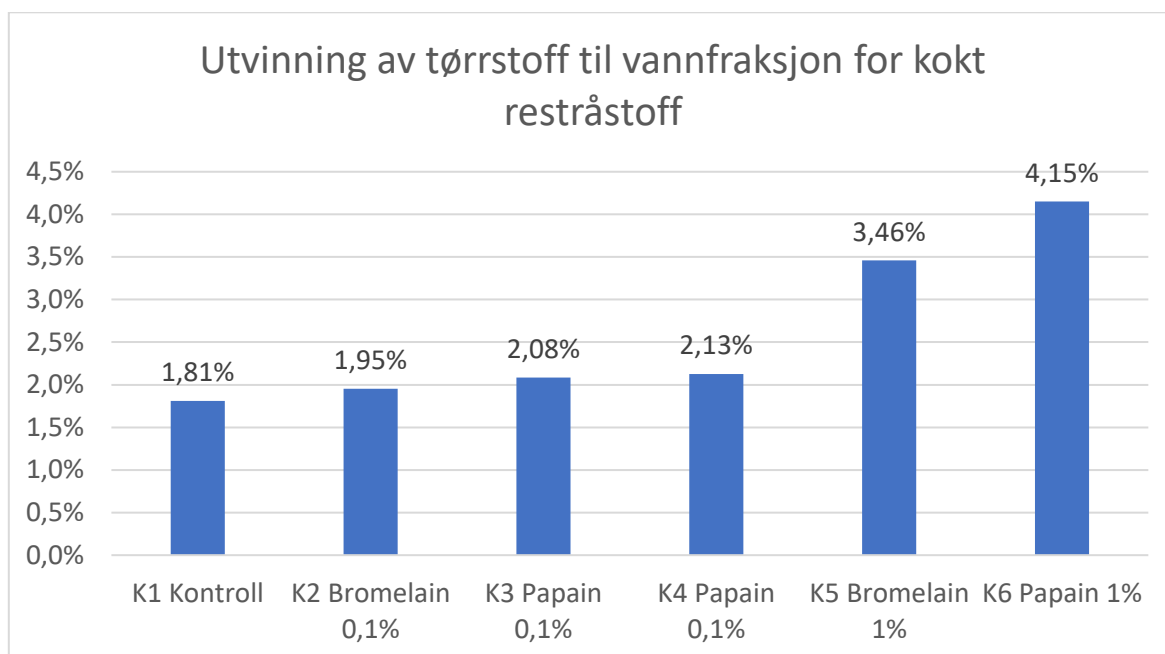


Figur 15 Tørrstoffinnhold i vannfraksjon fra kokt restråstoff. Papain 0,1% viser gjennomsnittlig verdi for parallellene K4 og K5.

Figur 16 viser andelen tørrstoff i prøvene, rådata finnes i Vedlegg 1. Graden av utvinning viser hvor stor andel av tørrstoffet som har blitt overført til vannfraksjonen. Tallene er basert på det estimerte tørrstoffinnholdet i råstoffet delt på tørrstoffinnholdet i vannfraksjonen. Tørrstoffinnholdet i råstoffet ble beregnet ved å multiplisere gjennomsnittlig andel tørrstoff av råstoffet med mengden råstoff i prøven som ble hydrolysert. Tørrstoffinnholdet i vannfraksjonen ble beregnet ved å multiplisere andel tørrstoff i vannfraksjon med vekten av gjenvunnet vannfraksjon etter separering.

Resultatene viser at prøven med papain 1% (K6) medførte høyest grad av ekstraksjon av komponenter fra råstoffet over til vannfraksjonen. For prøvene med 0,1% enzymkonsentrasjon ga papain et noe høyere utbytte enn bromelain. Generelt var utbyttet lavt. Mengden tørrstoff som ble ekstrahert til vannfraksjonen er ikke sammenlignbart med mengden protein i restråstoffet. Hvis alt nitrogen i restråstoffet regnes som protein og hadde blitt ekstrahert under hydrolyse, ville utvunnet tørrstoff til vannfraksjon ligget nærmere 18,18%, som var proteininnholdet i restråstoffet fra kokt krabbe ved tørrvekt. Dette kan tyde på at mye av

proteinet og andre nitrogenholdige stoffer ikke er tilgjengelig for enzymene, men kan være innkapslet i mineraler i krabbeskallet.



Figur 16 Utvinning av tørrstoff fra restråstoff over til vannfraksjon, for prøvene med kokt restråstoff.

4.2.3 Tørking

Tørking ble gjennomført med Pulvis GB22 spraytørker på samtlige prøver. Teoretisk vekt av tørrstoff i vannfraksjon ble beregnet ut ifra prosent tørrstoffinnhold i vannfraksjon og vekten av vannfraksjon etter separering. Verdiene finnes i Vedlegg 1. Resultatet er basert på mengden produkt etter tørking som en del av total teoretisk mengde tørrstoff. Dette ble gjort for å vurdere spraytørking som passende metode for tørking. Verdiene ble også brukt ved beregning av mengde protein i neste kapittel.

Tabell 7 Beregnede verdier for teoretisk vekt av tørrstoff i vannfraksjon, vekt av prøve etter spraytørking og beregnet prosessstap for prøvene med kokt restråstoff.

Prøve	Beregnet vekt av tørrstoff i vannfraksjon [g]	Vekt av prøve etter tørking [g]	Prosesstap [%]
K1 Kontroll	5,91	2,13	63,98
K2 Bromelain 0,1%	6,34	3,09	51,23
K3 Bromelain 1%	11,17	6,9	38,21
K4 Papain 0,1%	6,73	3,63	46,05
K5 Papain 0,1%	6,87	3,61	47,43
K6 Papain 1%	13,46	8,52	36,70

Resultatene i Tabell 7 viser at et høyere innhold av tørrstoff i vannfraksjonen ga større utbytte av produkt og mindre prosessstap. Dette kommer av at deler av det tørkede produktet satte seg fast på innsiden av tørkekammeret og sykklonen i spraytørkeren.

4.2.4 Protein

Hydrolysatene ble analysert for proteininnhold ved bruk av Kjeldahl-metoden. Verdiene ble gitt i % totalnitrogen og omregningsfaktoren som ble brukt til å beregne proteininnhold var 6,25. Resultatene vises i Tabell 8, rådata finnes i Vedlegg 2.

Tabell 8 Verdier for totalt nitrogen- og proteininnhold i prøvene fra Kjeldahl-metoden.. Verdiene er basert på to paralleller.

Prøve	Nitrogen [%]	Protein [%]
K1 Kontroll	8,98 ± 0,05	56,11 ± 0,33
K2 Bromelain 0,1%	9,48 ± 0,01	59,23 ± 0,05
K3 Bromelain 1%	8,93 ± 0,01	55,81 ± 0,09
K4 Papain 0,1%	9,93 ± 0,01	62,07 ± 0,04
K5 Papain 0,1%	9,87 ± 0,01	61,68 ± 0,09
K6 Papain 1%	9,54 ± 0,00	59,60 ± 0,00

Verdiene for proteininnhold i hydrolysatene viser store forskjeller mellom type enzym og enzymkonsentrasjon. Prøvene med bromelain 0,1% (K2) og bromelain 1% (K3) inneholdt 59,23% og 55,81% protein respektiv. Dette utgjør en differanse på 5,77%, som vil si at bromelain 0,1% ga 5,77% høyere proteinkonsentrasjon enn bromelain 1%.

Papain 0,1% (K4 og K5) hadde et gjennomsnittlig proteininnhold på 61,88±0,23%. Dette viste 3,68% høyere verdi enn for papain 1% (K6), som var 59,60 ± 0,00%.

Tabell 9 Beregnet mengde protein i vannfraksjon.

Prøve	Mengde protein [g]
K1 Kontroll	3,32 ± 0,02
K2 Bromelain 0,1%	3,75 ± 0,00
K3 Bromelain 1%	6,23 ± 0,01
K4 Papain 0,1%	4,18 ± 0,01
K5 Papain 0,1%	4,24 ± 0,01
K6 Papain 1%	8,02 ± 0,00

Mengden protein i vannfraksjonen viser derimot at papain 1% ga 47,30% mer protein enn papain 0,1%. Mengde protein i vannfraksjon er beregnet ut ifra beregnet vekt av tørrstoff i vannfraksjon fra Tabell 7 og proteininnhold fra Tabell 8. Verdiene vises i Tabell 9.

Mengde protein beregnet for prøvene med 0,1% og 1% bromelain var på 3,75 og 6,23 gram respektiv. Bromelain 1% ga dermed 39,81% mer protein enn bromelain 0,1%. Dette viser at lavere konsentrasjon av bromelain ga høyere andel protein, men mindre mengde.

Ettersom resultatene viser at høyere enzymkonsentrasjon ga større mengde protein, men lavere konsentrasjon, tyder dette på at når enzymene hydrolyserer protein frigjøres det også andre ikke-nitrogenholdige stoffer i vannfraksjonen. Dette kan være kalsiumforbindelser og andre mineraler fra skallet til krabben (Olafsen, 2004). Disse biproduktene utgjør en stor andel av det tørkede hydrolysatet.

Papain 0,1% ga 4,28% høyere proteinkonsentrasjon og 12,38% mer protein sammenlignet med bromelain 0,1%. Ved 1% enzymkonsentrasjon ga papain 6,36% høyere proteinkonsentrasjon og 22,32% mer protein. Resultatene viser at papain ved begge konsentrasjoner gir høyest konsentrasjon av protein og høyest utbytte av protein.

4.2.5 Frie aminogruupper og grad av hydrolyse

Innholdet av frie aminogruupper i de tørkede hydrolysatene ble beregnet ut ifra verdier fra formolitrering. På grunn av for lite prøvemateriale ble det ikke tatt paralleller av prøvene K1, K2, K5 og K6. Hovedresultatet vises i Tabell 10, rådata finnes i Vedlegg 3.

Tabell 10 Beregnede verdier for innhold av frie aminogruupper og grad av hydrolyse for prøvene fra kokt restråstoff. For papain 0,1% er resultatet presentert som et gjennomsnitt av prøve K4 og K5.

Prøve	Frie aminogruupper [%]	Grad av hydrolyse [%]
K1 Kontroll	2,82	31,418
K2 Bromelain 0,1%	2,49	26,299
K3 Bromelain 1%	1,88 ± 0,02	21,04 ± 0,18
K4+K5 Papain 0,1%	2,40 ± 0,06	24,23 ± 0,54
K6 Papain 1%	1,80 ± 0,03	18,92 ± 0,28

Resultatet viser at ingen av enzymene førte til høyere grad av hydrolyse eller høyere konsentrasjon av frie aminogruupper enn kontrollprøven. Resultatet viser at grad av hydrolyse var lavere ved høyere enzymkonsentrasjon. Dette vil si at forholdet mellom frie aminogruupper og protein i prøvene med høy enzymkonsentrasjon var lavere og kan bety at peptidene var

lengre og ikke like denaturert som prøvene med lavere enzymkonsentrasjon. Andre studier på enzymatisk hydrolyse har funnet ut at tilsetning av enzymer kan gi større mengde frie aminogrupeer (Bakkelund, 2019; Šližytė et al., 2005). Resultatene i Tabell 10 viser derimot en motsatt virkning. En mulig forklaring på dette kan være at det under varmebehandlingen kun ekstraheres kortere peptider, mens den enzymatiske behandlingen skaper flere, men lengre peptider. En alternativ forklaring kan være at mengden ikke-nitrogenholdige biprodukter som skapes under enzymatisk hydrolyse øker med økt enzymkonsentrasjon.

4.3 Enzymatisk hydrolyse av rått restråstoff

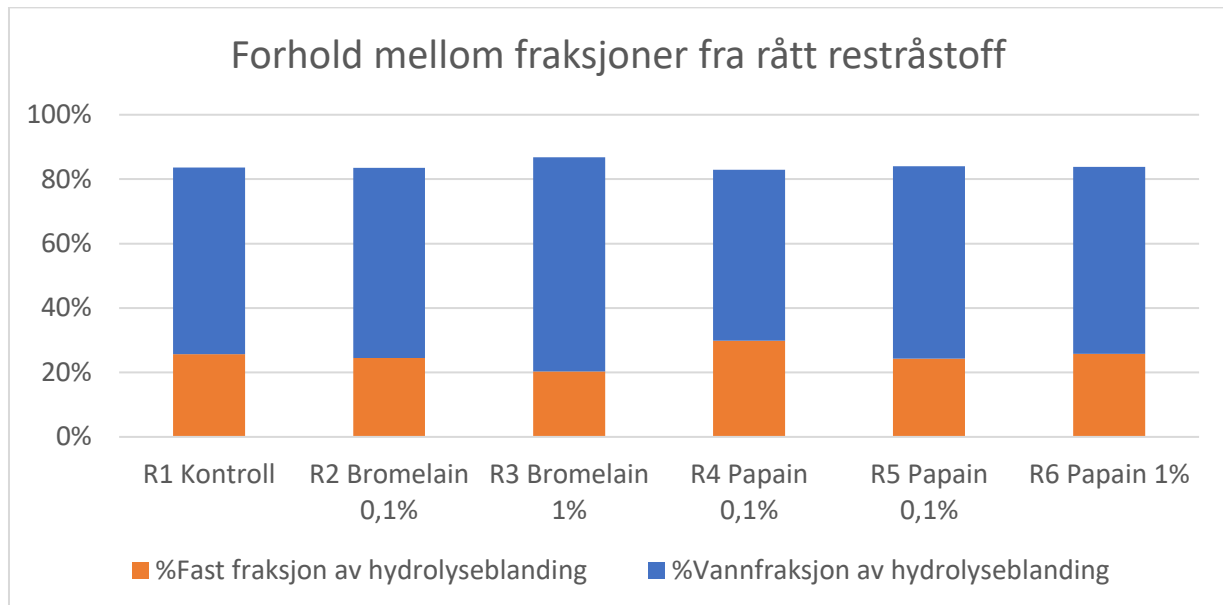
Enzymatisk hydrolyse av rått restråstoff ble utført som beskrevet i Kapittel 3.2. En oversikt over prøvene vises i Tabell 11.

Tabell 11 Oversikt over enzym og enzymkonsentrasjon for prøvene med rått restråstoff.

Prøve	Enzym	Konsentrasjon [%]
R1	Kontroll	0
R2	Bromelain	0,1
R3	Bromelain	1
R4	Papain	0,1
R5	Papain	0,1
R6	Papain	1

4.3.1 Forhold mellom fraksjoner

Enzymatisk hydrolyse av prøvene med det rå restråstoffet skapte to tydelige fraksjoner etter sentrifugering, som vist i Figur 11. Forholdet mellom fraksjonene vises i Figur 17, rådata finnes i Vedlegg 1.

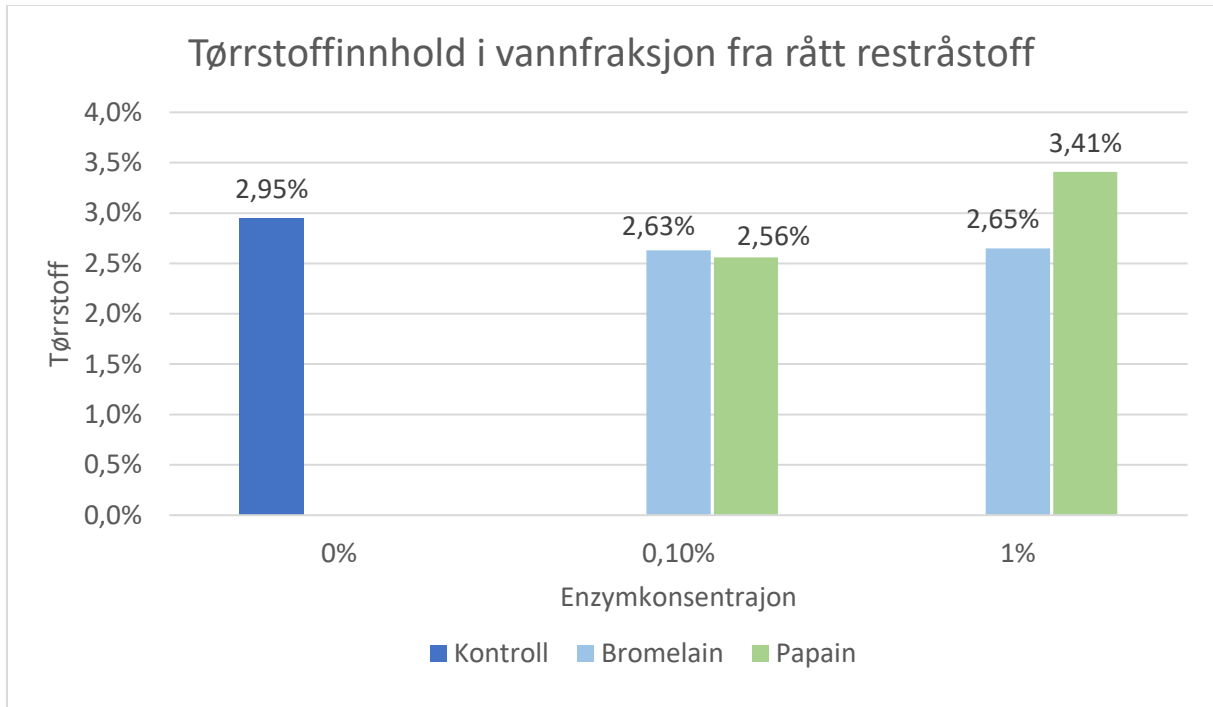


Figur 17 Fordeling av fast fraksjon og vannfraksjon som prosent av total hydrolyseblending etter sentrifugering og separering for prøvene fra rått restråstoff.

Figur 17 viser noe forskjell i forholdet mellom fast fraksjon og vannfraksjon mellom prøvene. Gjennomsnittlig tap av hydrolyseblendingen var på $15,88 \pm 1,37\%$, som er et høyere tap sammenlignet med prøvene med restråstoff fra kokt krabbe. En grunn til dette kan være at det rå restråstoffet inneholdt mer vann enn det kokte, som førte til større grad av fordamping. En større andel vannfraksjon vises også i resultatet sammenlignet med det kokte restråstoffet, som var forventet ettersom råstoffet inneholdt mer vann enn det kokte råstoffet. Prøven med bromelain 1% (R3) skiller seg ut ved at den hadde høyere andel vannfraksjon og mindre andel fast fraksjon enn de andre prøvene. Grunnen til dette er usikker, men det er mulig deler av den faste fraksjonen ble med vannfraksjonen under separering, ettersom at det var vanskelig å unngå å få med deler av den faste fraksjonen i vannfraksjonen under oppdeling av prøvene.

4.3.2 Tørrstoff

Tørrstoffkonsentrasjonen i de hydrolyserte vannfraksjonene fra rått restråstoff vises i Figur 8, rådata finnes i Vedlegg 4.

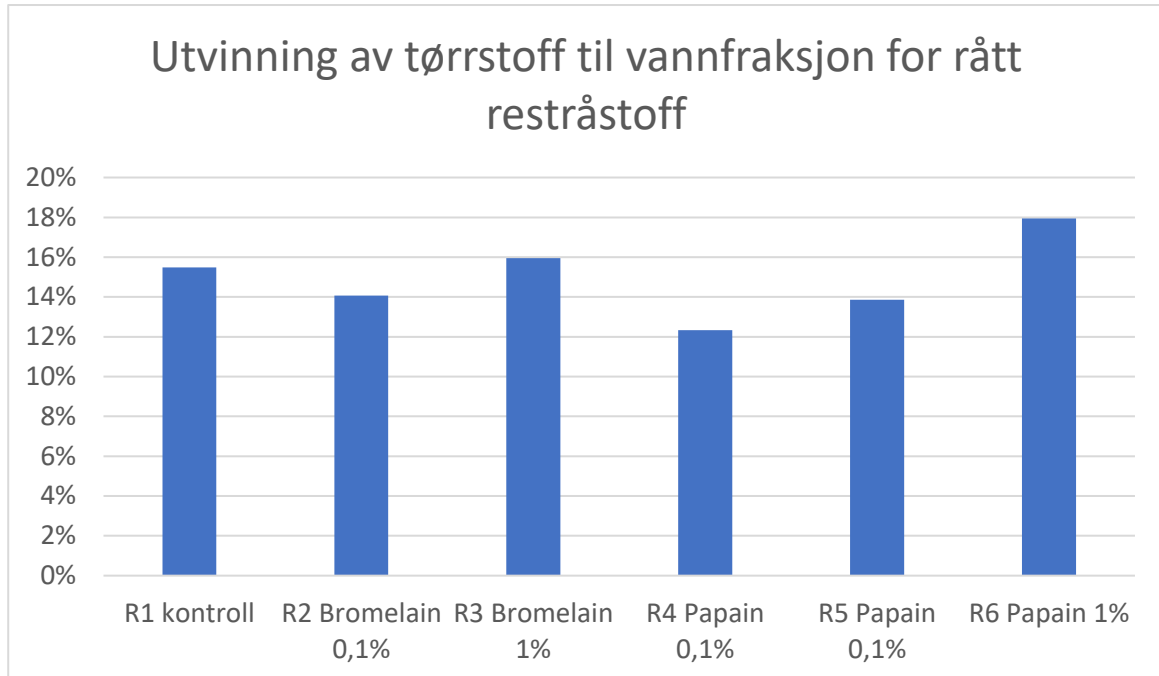


Figur 18 Tørrstoffinnhold i vannfraksjon for prøvene fra rått restråstoff. Papain 0,1% viser gjennomsnittlig verdi for parallellene R4 og R5.

Resultatet viser at ingen av prøvene tilsatt enzym ga høyere innhold av tørrstoff enn kontrollprøven, med unntak av 1% papain. Det kan skyldes autolyse. Gildberg (1993) opplyser at tilsats av enzymer *ikke* ga høyere utbytte når innholdet av endogene enzymer i råstoffet var høyt (Gildberg, 1993). Det samme ble vist i en studie av Opheim et al. (2016), der det ble spekulert i om høy enzymaktivitet, som følge av enzymtilsats i tillegg til de endogene enzymene, kan ha forårsaket reduksjon av proteinenes emulgerende egenskaper og skapt ustabilitet (Opheim et al., 2016). Ustabile proteiner kan ha ført til en ukontrollert hydrolyse med tilfeldige reaksjoner og utbytte.

Figur 19 viser derimot større variasjon mellom prøvene. Alle prøvene tilsatt 0,1% enzym ekstraherte lavere mengde tørrstoff fra restråstoffet enn kontrollprøven. Dette tyder på at tilsetning av enzym i lave konsentrasjoner ikke har noen større effekt ved tilstedeværelsen av endogene enzymer.

Prøven med 1% papain var den eneste prøven som ga merkbart større utbytte enn kontrollprøven. Dette kan indikere at papain kan fungere sammen med endogene enzymer for å gi høyere utbytte, men med konsentrasjon på 1% eller høyere.



Figur 19 Utvinning av tørrstoff fra restråstoff over til vannfraksjon, for prøvene rått restråstoff.

4.3.3 Tørking

Tørking av prøvene ble utført med GB-22 spraytørker for samtlige prøver med unntak av R4, hvor hele prøven ble tørket med Christ Alpha 2-4 LSC vakuumfrysetørker. Resultatene vises i Tabell 12, rådata finnes i Vedlegg 1. Noen av prøvene ble ikke veid etter tørking, noe som resulterte i manglende data.

Tabell 12 Beregnede verdier for teoretisk vekt av tørrstoff i vannfraksjon, vekt av prøve etter tørking og beregnet prosessstap for prøvene fra rått restråstoff. *R4 ble frysetørket, mens de andre prøvene ble spraytørket.

Prøve	Beregnet vekt av tørrstoff i vannfraksjon [g]	Vekt av prøve etter tørking [g]	Prosesstap [%]
R1 Kontroll	25,63	NA	NA
R2 Bromelain 0,1%	23,31	18,21	21,90 %
R3 bromelain 1%	26,41	20,98	20,57%
R4* papain 0,1%	20,42	19,84	2,85 %
R5 papain 0,1%	22,97	NA	NA
R6 papain 1%	29,73	NA	NA

Resultatet viser at prosessstapet for den frysetørkede prøven (R4) var mye lavere enn for de spraytørkede prøvene (R1, R2, R3, R5 og R6). Dette var som forventet, ettersom noe prøvemateriale satte seg fast på veggene i tørkekammeret og sykklonen til spraytørkeren.

4.3.4 Protein

Hydrolysatene ble analysert for proteininnhold ved bruk av Kjeldahl-metoden. Endelige resultater vises i Tabell 13, rådata finnes i Vedlegg 2.

Tabell 13 Verdier for totalt nitrogen- og proteininnhold i prøvene fra Kjeldahl-metoden. Verdiene er basert på to paralleller.

Prøve	Nitrogen [%]	Protein [%]
R1 Kontroll	9,33 ± 0,01	58,29 ± 0,07
R2 Bromelain 0,1%	9,39 ± 0,06	58,68 ± 0,36
R3 Bromelain 1%	8,01 ± 0,02	50,07 ± 0,10
R4 Papain 0,1%	9,50 ± 0,01	59,38 ± 0,07
R5 Papain 0,1%	9,37 ± 0,02	58,55 ± 0,15
R6 Papain 1%	9,08 ± 0,04	56,72 ± 0,26

Resultatet viser at det er liten forskjell i konsentrasjon av protein mellom prøvene, med unntak av prøven med bromelain 1% som hadde lavere konsentrasjon enn de andre prøvene. Dette førte til at prøven også fikk lavere mengde protein enn prøven med 0,1% enzymkonsentrasjon, selv om det ble ekstrahert større mengde tørrstoff. Dette viser samme trend som for restråstoff fra kokt krabbe, men i dette tilfellet var andelen biprodukt høyere.

Tabell 14 Beregnet mengde protein i vannfraksjon.

Prøve	Mengde protein [g]
R1 Kontroll	14,94 ± 0,02
R2 Bromelain 0,1%	13,68 ± 0,08
R3 Bromelain 1%	13,23 ± 0,03
R4 Papain 0,1%	12,13 ± 0,01
R5 Papain 0,1%	13,45 ± 0,03
R6 Papain 1%	16,86 ± 0,08

Mengden protein i vannfraksjonene vises i Tabell 14. Det er beregnet ut ifra beregnet vekt av tørrstoff i vannfraksjon fra Tabell 12 og proteininnhold fra Tabell 13. Resultatene viser liten forskjell i mengde protein mellom prøvene. Prøve R6 hadde noe større mengde protein enn

kontrollprøven. De resterende prøvene med tilsats av enzym ga lavere utbytte enn kontrollprøven.

De små forskjellene i proteinkonsentrasjon og mengde protein indikerer at de tilsatte enzymene ikke ga noe bedre effekt for proteinekstraksjon når endogene enzymer er tilstedeværende, men peptidsammensetningen kan være forskjellig.

4.3.5 Frie aminogrunder og grad av hydrolyse

Frie aminogrunder ble beregnet ut ifra verdier fra formoltitrering. Resultatet vises i Tabell 15, rådata finnes i Vedlegg 3. Resultatene for papain 0,1% er basert på gjennomsnittet av parallellene R4 og R5.

Tabell 15 Beregnede verdier for innhold av frie aminogrunder og grad av hydrolyse for prøvene fra rått restråstoff. For papain 0,1% er resultatet presentert som et gjennomsnitt av prøve R4 og R5.

Prøve	Frie aminogrunder [%]	Grad av hydrolyse [%]
R1 Kontroll	3,13 ± 0,04	33,54 ± 0,48
R2 Bromelain 0,1%	3,10 ± 0,03	33,03 ± 0,32
R3 Bromelain 1%	2,64 ± 0,01	32,92 ± 0,10
R4+R5 Papain 0,1%	3,39 ± 0,11	35,94 ± 0,92
R6 Papain 1%	2,95 ± 0,04	32,51 ± 0,44

Resultatet viser svært liten forskjell i grad av hydrolyse mellom prøvene. Fenomenet fra Kapittel 3.2.5, hvor grad hydrolyse var lavere ved 1% enzymkonsentrasjon sammenlignet med 0,1%, vises også i dette resultatet. Papain 0,1% hadde det høyeste innholdet av frie aminogrunder og høyest grad av hydrolyse.

4.4 Salt

Tabell 8 og 13 viser at proteininnholdet i de tørkede hydrolysatenes var på 50,07-62,07%, basert på målt nitrogeninnhold. Det betyr at store deler av prøvene (>40%) bestod av ikke-nitrogenholdige komponenter. Resultater fra målt saltinnhold i vannfraksjonene fra utvalgte prøver ga innsikt i hva resten av tørrstoffet blant annet bestod av. Resultatet vises i Tabell 16 som prosentandel av totalvekten til tørrstoffet i vannfraksjonen.

Tabell 16 Saltinnhold i tilfeldig utvalgte prøver.

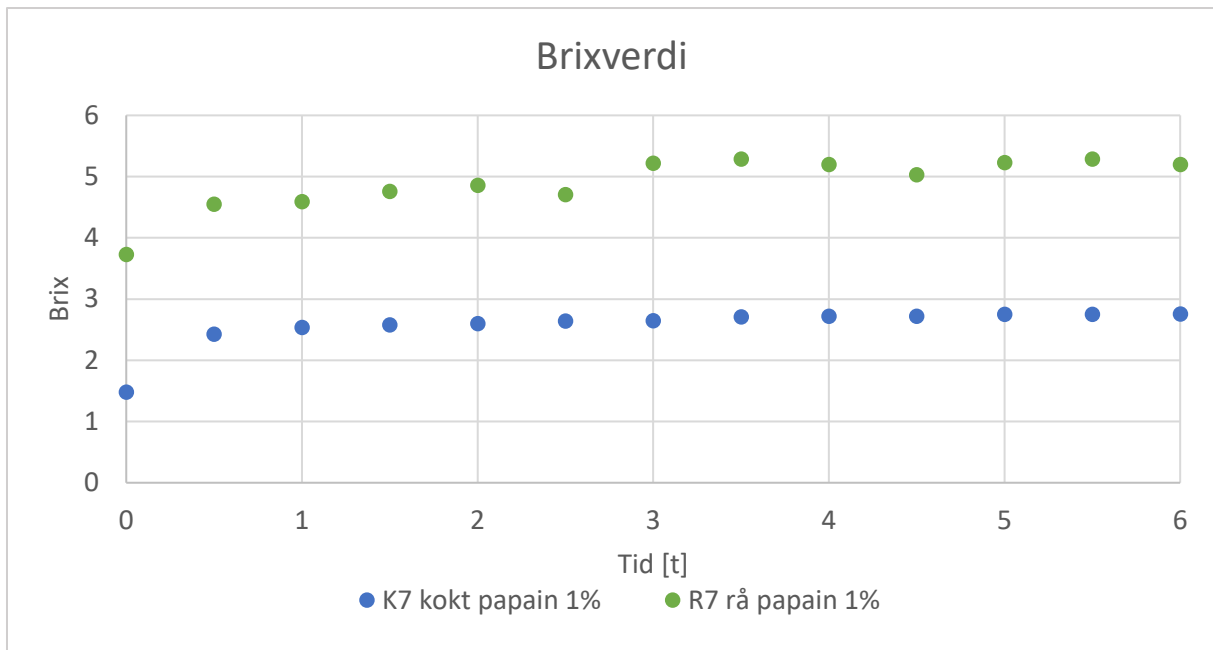
Prøve	Saltkonsentrasjon i vannfraksjon [%]	Andel salt i tørrstoff [%]
K1	0,37	38
K2	0,36	32
K5	0,36	32
R3	0,72	27
R4	0,64	25

Resultatet viser at en betydelig andel av tørrstoffet i hydrolysaten bestod av salt. Det er ikke sikkert om saltinnholdet kan ha påvirket hydrolysen, men høye konsentrasjoner av natriumklorid har tidligere vist seg å kunne øke løselighetsgraden til proteiner (Dumetz et al., 2007). Det er derimot ikke kjent hvilke salter hydrolysaten inneholder. Dersom saltet stammer fra natriumklorid fra sjøvann, kan det være mulig å vaske dette ut av restråstoffet med avionisert vann før enzymatisk hydrolyse. Det kunne ha gitt et renere produkt med mindre andel salt og høyere andel protein.

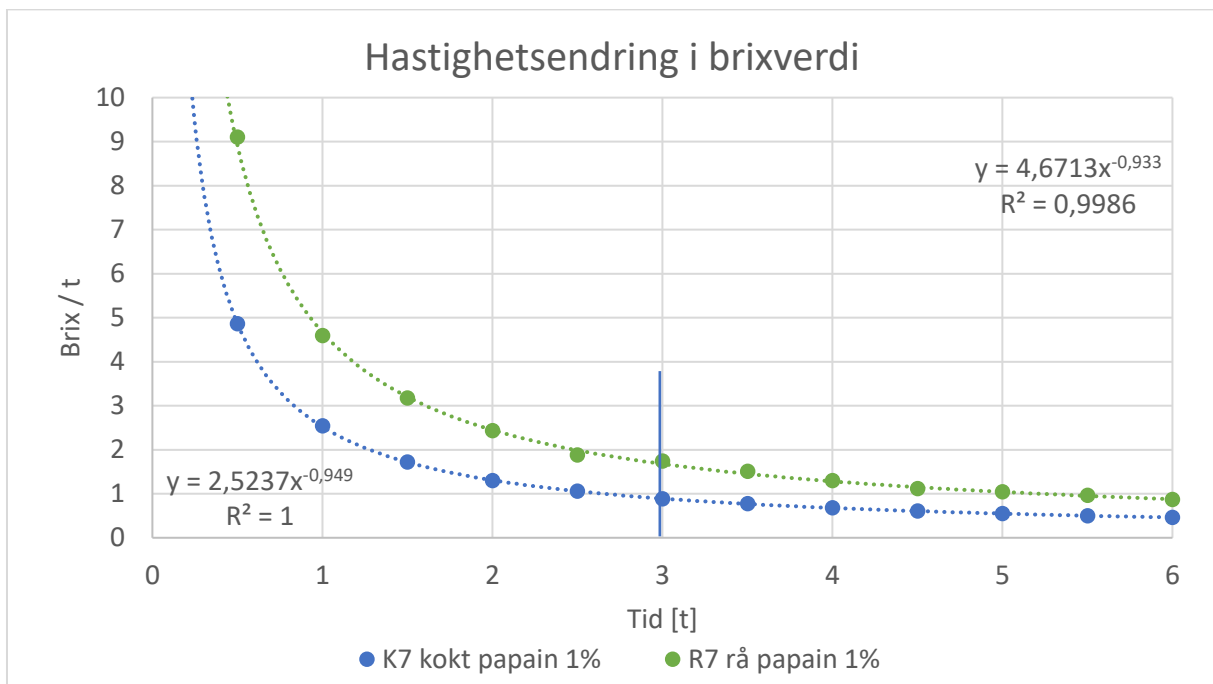
4.5 Effekt av hydrolyseringstid

Vedlegg 5 viser brixverdiene som ble målt under 6 timers hydrolyse av prøver fra kokt og rått restråstoff (K7 og R7). Brixmåling ble brukt for å få en fortløpende indikasjon på utviklingen av hydrolyseprosessen, samt mengde tørrstoff i hydrolysaten underveis. Figur 20 viser at brixverdien økte hurtig i løpet av første 0,5 timer, med etterfølgende svak økning med tiden. Dette kan skyldes at det var mange lett tilgjengelige peptidbindinger ved starten av hydrolysen, og dermed flere reaksjoner på kort tid.

Figur 21 viser trendlinjer for hastighetsendring i brixverdi gjennom hydrolysene. Verdiene for begge råstoffene viser samme trend, med brytningspunkt ved omkring 3 timer, hvor hastigheten flater ut og nærmer seg null. Det kan bety at det ikke er flere tilgjengelige peptidbindinger for enzymene og at hydrolyseringen nærmer seg fullstendig. Med tanke på at hydrolyse er en energikrevende prosess, er det ikke ønskelig å holde prosessen gående når utbyttet er lite. Det vil ikke være økonomisk bærekraftig. Det konkluderes derfor med at optimal hydrolyseringstid for forsøkene var 3 timer.



Figur 20 Endring i brixverdi under 6 timers hydrolyse.



Figur 21 Trendlinjer for hastighetsendring i brixverdi under 6 timers hydrolyse.

4.5.1 1 time vs. 6 timer

Tabell 17 viser tørrstoffinnhold, grad av hydrolyse og proteininnhold for prøvene fra kokt og rått restråstoff med papain 1% og hydrolyseringstid på 1 og 6 timer (K6, K7, R6 og R7).

Tabell 17 Tørrstoffinnhold, grad av hydrolyse og proteininnhold for prøvene med kokt og rått restråstoff, papain 1%, og hydrolyseringstid på 1 og 6 timer.

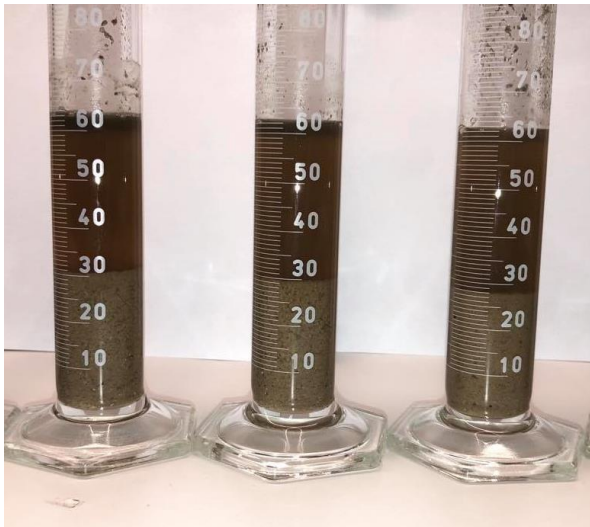
Prøve	Hydrolyserings- tid [t]	Tørrstoff [%]	Grad av hydrolyse [%]	Protein [%]
K6 kokt, papain 1%	1	1,99 ±0,03	18,91±0,28	59,60±0,00
K7 kokt, papain 1%	6	2,45 ±0,13	18,80±0,25	59,70±0,03
R6 rå, papain 1%	1	3,41± 0,02	32,51±0,44	56,72±0,26
R7 rå, papain 1%	6	4,01 ± 0,19	37,31±0,24	60,18±0,11

Verdiene viser høyere innhold av tørrstoff for prøvene som ble hydrolysert i 6 timer sammenlignet med 1 time. Det samsvarer med økningen i brixverdi i Figur 20. Sammenligning av prøvene fra kokt restråstoff viser liten forskjellen i grad av hydrolyse samt proteininnhold mellom K6 og K7. Det kan bety at proteinhydrolysen for K7 også var fullstendig etter 1 time, men at andre vannløselige komponenter kan ha blitt ekstrahert i 6 timer og medført høyere tørrstoff. K7 hadde lavere grad av hydrolyse enn K6, som kan skyldes rekombinasjon av peptider. Dette ble vist i en studie om hydrolyse av restråstoff fra krabbe, hvor grad av hydrolyse ble redusert etter 6 timer (Liu et al., 2010).

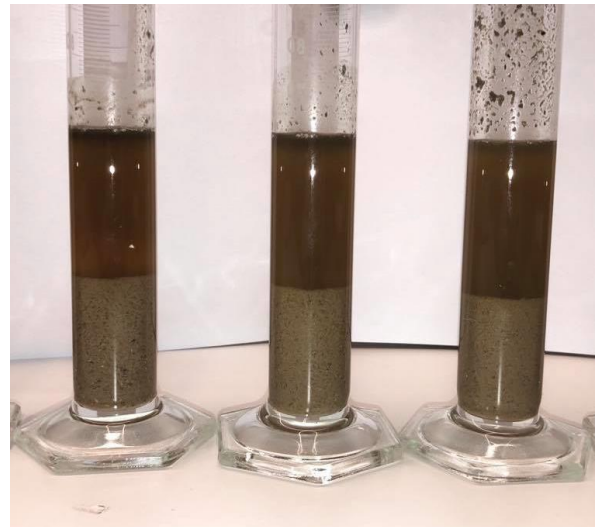
Med tanke på det rå restråstoffet hadde R7 høyere grad av hydrolyse og høyere proteininnhold enn R6. Det kan bety at hydrolysene ikke var fullstendige etter 1 time, og at det fortsatt var tilgjengelige peptidbindinger for spalting.

4.6 Effekt av temperatur

På bakgrunn av antakelse om at lavt tørrstoffinnhold i vannfraksjonen kan ha skyldtes høy hydrolyseringstemperatur som forårsaket denaturering og utfelling av proteiner, ble det sett på eventuell sammenheng mellom grad av utfelling og temperatur. Utfelling av råstoff ved 30°C, 40°C og 50°C er vist i Figur 22 og 23 etter henholdsvis 10 og 30 minutter.



Figur 22 Utfelling av rått råstoff i vann etter 30 minutter.
Fra venstre ved 30°C, 40°C og 50°C.



Figur 23 Utfelling av rått råstoff i vann etter 10 minutter.
Fra venstre ved 30°C, 40°C og 50°C.

Figur 22 viser hurtigst utfelling i prøven med høyest temperatur, mens Figur 23 viser at mengden utfelling til slutt var lik for alle prøvene. Hurtigere utfelling skyldes hurtigere bevegelse av partiklene i væsken ved høyere temperatur.

Forsøket viste at mengden utfelling var lik ved alle temperaturene. Dermed kan det ikke konkluderes med at lavere hydrolyseringstemperatur kunne ført til mindre utfelling og høyere tørrstoffinnhold i vannfraksjonen.

4.7 Fargemåling

For å bedømme produktenes kvalitet ble hydrolysatenes etter tørking analysert for farge. H-, C- og L-verdier for prøvene vises i Vedlegg 6. Type enzym, enzymkonsentrasjon og hydrolyseringstid ga ikke store forskjeller i farge mellom hydrolysatenes. Små ulikheter kan skyldes nedbryting av pigmenter ved hydrolyse, varmeinaktivering og tørking.

Figur 24 viser oversikt over alle hydrolysatenes etter tørking. Det vises tydelig forskjell mellom hydrolysater fra kokt og fra rått restråstoff, der alle hydrolysatenes fra kokt restråstoff var lysere (høyere L-verdi) og gulere (høyere H-verdi) enn hydrolysatenes fra rått restråstoff. Det kommer av ulik sammensetning og forbehandling av råstoffene.



Figur 24 Oversikt over hydrolysatenes etter tørking. Øverst fra venstre: K1, K2, K3, K4, K5, K6, K7. Nederst fra venstre: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7. Prøve R4 ble frysetørket, mens de andre prøvene ble spraytørket.

Alle prøvene ble spraytørket, med unntak av R4 som ble frysetørket. Frysetørking ga en svært mørkere og mer intens farge. Dette skyldes større partikler i det frysetørkede hydrolysatet enn i det som var spraytørket. Større partikler absorberer mer lys og gir mørkere farge. Frysetørket hydrolysat kan derfor gis lysere farge ved å kverne materialet til mindre partikler.

Hydrolysat fra kokt krabbe hadde en mer attraktiv farge enn hydrolysat fra rå krabbe, hvor lysere farge for pulver er mer attraktivt og har dermed høyere kvalitetsverdi.

5 Konklusjon

Målet med oppgaven var å lage hydrolysat av restråstoff fra krabbeforedling, samt å finne de mest optimale prosessforholdene for størst mulig proteinutbytte og best kvalitet.

Analysene av restråstoffet viste at kokt krabbe hadde det høyeste totale nitrogeninnholdet ved våtvekt. Restråstoff fra rå krabbe hadde høyere nitrogeninnhold enn kokt krabbe ved tørrvekt. Rå krabbe hadde også høyere andel frie aminogrupeer enn kokt krabbe, som kan indikere at proteinene var mer tilgjengelige i dette restråstoffet.

Hydrolyse av restråstoffet fra kokt krabbe viste at enzymet papain ga det høyeste utbyttet av protein ved både 0,1% og 1% konsentrasjon, sammenlignet med bromelain. For restråstoffet fra rå krabbe ga kun papain ved 1% enzymkonsentrasjon merkbart bedre resultat enn for de andre hydrolysene. Ingen av de andre prøvene med rått restråstoff ga høyere proteinutbytte enn kontrollprøven uten tilsatt enzym. Det er et klart tegn på at de endogene enzymene påvirker ytelsen av de tilsatte enzymene.

Hydrolysatene hadde et proteininnhold på 50,07-62,07%. Det antas at resten i størst grad var salt, kalsiumforbindelser og mineraler.

Målinger av brix gjennom 6 timers hydrolyse viste kun litt høyere verdier ved 6 timer sammenlignet med ved 1 time. Trendlinje for hastighetsendring viser minimal endring av brix etter 3 timer, og det konkluderes med at 3 timers hydrolyse hadde vært optimalt for forsøkene for å oppnå høyest mulig proteinutbytte.

Undersøkelse av temperaturens effekt på denaturering og løselighet av proteiner viste ingen forskjell i mengde utfelling ved 30°C, 40°C og 50°C. Det kan bety at hydrolyseringstemperaturen på 50°C ikke var for høy og ikke årsaken til lavt proteininnhold i hydrolysatene.

Fargemålingene viste tydelig forskjell mellom hydrolysatene fra kokt og rått restråstoff, mens type enzym, enzymkonsentrasjon og hydrolyseringstid ga liten forskjell i farge. Hydrolysatene fra kokt restråstoff hadde den mest attraktive fargen.

Ut ifra forsøkene som ble gjennomført, konkluderes det med at de mest optimale prosessforholdene for enzymatisk hydrolyse for størst mulig proteinutbytte var bruk av restråstoff fra rå krabbe med tilsatt av 1% papain. Minimale forskjeller i proteininnhold mellom prøvene gjør allikevel ikke forholdene til det beste alternativet. Med tanke på mengde enzym i forhold til utbytte, ga autolyse av rått restråstoff best gevinst. Lønnsomhet er nøkkelen til å

skape interesse for investering, og dermed er optimale prosessforhold ikke alene løsningen på hvordan utnyttelse av restråstoff kan optimaliseres.

5.1 Veien videre

På grunn av begrenset tid og tilgang til utsyr ble ikke andelen frie aminosyrer undersøkt. Det kunne vært interessant å se på andelen av ulike frie aminosyrer ved HPLC, samt bioaktive peptider ved å undersøke antioksidativ kapasitet for å undersøke om forskjellige enzymer endrer sammensetningen av disse stoffene, som er en avgjørende faktor for kvaliteten på proteinhydrolysatet.

Proteinutbyttet fra kokt restråstoff var lavt, derfor kan det være interessant å utforske metoder for demineralisering av krabbeskall før hydrolyse. Demineralisering kan frigjøre proteiner og kitin som er innkapslet i mineraler i krabbeskallet. Dette kan muligens øke utbyttet av protein fra kokt restråstoff ved at proteiner i skallet blir tilgjengelig for enzymer. Et forslag til en bærekraftig måte å gjøre dette på uten bruk av syrer eller baser, er fermentering ved hjelp av melkesyrebakterier.

pH har en stor effekt på enzymaktivitet og justeringer av pH kan øke effektiviteten av hydrolyseringen. Det brukes normalt kjemikalier som sterke syrer eller baser for å justere pH og dette påfører ekstra kostnader og kan føre til miljø- og helserisikoer. Det kan derfor være interessant å se på kostnadseffektive og bærekraftige metoder for å justere pH, samt finne optimal pH for hydrolysene.

Det hadde også vært interessant å se på de sensoriske egenskapene til proteinhydrolysatet, spesielt til det rå restråstoffet for å undersøke om de endogene enzymene kan gi tilfredsstillende smak som tilsetning i et matprodukt, f.eks. skalldyrsaus eller buljong.

6 Referanseliste

- Adler-Nissen, J. (1976). Enzymatic hydrolysis of proteins for increased solubility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 24 (6), p. 1090-1093. <https://doi.org/10.1021/jf60208a021>
- ATAGO CO., LTD. (u.å.). *Salt Meter*. <https://www.atago.net/product/?l=en&f=products-salt-top.php>
- Bakkeland, T. P. B. (2019). *How can proteins, lipids and astaxanthin be extracted from snow crab (Chionoecetes opilio) rest raw material in a sustainable manner?* (Masteroppgave) NTNU. <http://hdl.handle.net/11250/2621737>
- 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*, Vol. 99 (2), p. 335-343. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.015>
- Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O. N., Lauterio-García, R., Adan-Bante, N. P. & Sánchez-Machado, D. I. (2009). Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. *Food Chemistry*, Vol. 112 (3), p. 671-675. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.029>
- BÜCHI Labortechnik AG. (2013, Juli). *Application Note No. 114/2013: Nitrogen & protein determination in meat products*. <https://www.buchi.com/en/content/nitrogen-protein-determination-meat-products>
- da Costa, M. V. A., Fontes, C. H., Carvalho, G. & de Moraes Júnior, E. C. (2021). UltraBrix: A Device for Measuring the Soluble Solids Content in Sugarcane. *Sustainability*, Vol. 13 (3), p. 1227. <https://doi.org/10.3390/su13031227>
- Dernby, K. B. (1918). A study on autolysis of animal tissues. *Journal of biological chemistry*, Vol. 35 (2), p. 179-219. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)86452-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)86452-3)
- Dumetz, A. C., Snellinger-O'brien, A. M., Kaler, E. W. & Lenhoff, A. M. (2007). Patterns of protein protein interactions in salt solutions and implications for protein crystallization. *Protein Science*, Vol. 16(9), p. 1867-77. <https://doi.org/10.1110/ps.072957907>
- FN. (2021, 19. april). FNs bærekraftsmål. <https://www.fn.no/Om-FN/FNs-baerekraftsmaal>
- Freeman, H. C. & Hoogland, P. L. (1956). Processing og Cof and Haddock Viscera: 1. Laboratory Experiments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 13 (6), p. 869-877. <https://doi.org/10.1139/f56-049>
- Gildberg, A. (1993). Enzymatic Processing of Marine Raw-Materials. *Process Biochemistry*, Vol. 28 (1), p. 1-15. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)80030-8](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)80030-8)

- Grimsmo, L., Carvajal, A., Misimi, E., Slizyte, R., Thakur, M. Toldnes, B. & Wolff, R. (2015). Mulighetene for foredling og produkter fra restråstoff fra hvitfisk. (SINTEF rapport A26862). SINTEF Fiskeri og havbruk AS
- Hageli, H., Nustad, M. B. & Rubin, T. T. (2020). *Utilization of by-products from the common whelk (Buccinum undatum) & Brown crab (Cancer pagarus)* (Bacheloroppgave) NTNU. <https://hdl.handle.net/11250/2664009>
- Kardas I., Struszczyk M. H., Kucharska M., van den Broek L. A. M., van Dam J. E. G. & Ciechańska D. (2012). Chitin and chitosan as functional biopolymers for industrial applications. Narvard P. (red.). *The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE): Research Initiatives and Results*. (p. 329-374) Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0421-7>
- Khattak, W. A., Ul-Islam, M., Ullah, M. W., Khan, S. & Park, J. K. (2015). Endogenous Hydrolyzing Enzymes: Isolation, Characterization, and Applications in Biological Processes. I K. G. Ramawat & J. Mérillon (Red.) *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*, p. 535-579. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16298-0_55
- Liu, G., Cao, M., Yu, H., Hu, Y., Zhang, C. & Su, W. (2010). Optimisation of enzymatic hydrolysis of the by-products of marinecrab processing using mixed enzymes. *International journal of food science & technology*. Vol. 45 (6). p. 1198-1204. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02255.x>
- Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH (u.å.) Alpha 2-4 LSCplus <https://www.martinchrist.de/en/products/laboratory/product/p/pr/s/alpha-2-4-lscplus/>
- Myhre, M., Richardsen, R., Nystøyl, R. & Strandheim, G. (2020). Analyse marint restråstoff 2019. (SINTEF rapport 2020:00904). SINTEF Ocean og Kontali Analyse AS
- Nasri, M. (2017). Chapter Four - Protein Hydrolysates and Biopeptides: Production, Biological Activities, and Applications in Foods and Health Benefits. A Review. *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 81, p. 109-159. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.003>
- Nelson, D. & Cox, M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (7th int. ed.). New York: W.H. Freeman.
- Nielsen, P.M., Petersen, D. & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*, Vol. 66 (5). p. 642-646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>
- Olafsen, T. (2004). Biprodukter fra krabbeproduksjon (Rapportnr. 4013/120). RUBIN
- 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*, Vol. 115 (1), p. 238-242. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.013>
- Paraman, I., Hettiarachchy, N. S., Schaefer, C. & Beck, M. I. (2007). Hydrophobicity, Solubility, and Emulsifying Properties of Enzyme-Modified Rice Endosperm Protein. *Cereal Chemistry*, Vol. 84 (4), p. 343-349. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-4-0343>
- Peterson, R. S., Hill Jr, C. G. & Amundson, C. H. (1989). Effects of temperature on the hydrolysis of lactose by immobilized β -galactosidase in a capillary bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 34 (4), p. 429-437. <https://doi.org/10.1002/bit.260340403>
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S. & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 62 (3), p. 597-635. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.597-635.1998>
- Seo, W. H., Lee H. G. & Baek, H. H. (2008). Evaluation of bitterness in enzymatic hydrolysates of soy protein isolate by taste dilution analysis. *Journal of Food Science*, Vol. 73 (1), p. 41-46. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00610.x>
- Šližytė, R., Rustad, T. & Storrø, I. (2005). Enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products: Optimization of yield and properties of lipid and protein fractions. *Process Biochemistry*. Vol. 40(12). p. 3680-3692. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.04.007>
- Søvik, G., Jenssen, M., Hjelset, A. M. & Krogness, C. (2017). Ressursundersøkelse av taskekrabbe langs norskekysten: rapport fra fangstregisteringer i 2001-2015. (Rapport fra Havforskningen 25-2017). Havforskningsinstituttet
- Stenberg, E., Siikavuopio, S. I., Gildberg, A., Mundheim, H. & Jakobsen R. (2012). Biprodukter fra kongekrabbe (*Paralithodes Camtschaticus*). (Rapportnr. 5/2012). Nofima
- Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: an important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Vol. 90, p. 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011>
- Taylor, W. H. (1957). Formol titration: An evaluation of its various modifications. *The Analyst*, Vol. 82 (976), p. 488-498. <https://doi.org/10.1039/AN9578200488>
- Udenigwe, C.C. & Aluko, R.E. (2011). Food protein-derived bioactive peptides: Production, processing and potential health benefits. *Journal of Food Science*, Vol. 77 (1), p. R11-R24. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02455.x>
- Varnam, A. & Sutherland, J. M. (1994). *Beverages: technology, chemistry and microbiology*. Chapman & Hall. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2508-0>

- Wergedahl, H., Liaset, B., Gudbrandsen, O.A., Lied, E., Espe, M., Muna, Z., Mørk, S. & Berge, R.K. (2004). Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol, and lowers acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. *The Journal of Nutrition*, Vol. 134(6), p. 1320-1327. <https://doi.org/10.1093/jn/134.6.1320>
- Yamato Scientific Co. Ltd. (u.å.) *Spray Dryer GA32*. <https://www.yamato-scientific.com/product/other/ga32.htm>
- Zeileis, A., Fisher, J. C., Hornik, K., Ihaka, R., McWhite, C. D., Murrell, P., Stauffer, R. & Wilke, C. O. (2020). Colorspace: A Toolbox for Manipulating and Assessing Colors and Palettes. *Journal of Statistical Software*, Vol. 96 (1). <https://doi.org/10.18637/jss.v096.i01>
- Zeileis, A., Hornik, K. & Murrell, P. (2009). Escaping RGBland: Selecting colors for statistical graphics. *Computational Statistics & Data Analysis*, Vol. 53 (9), p. 3259-3270. <https://doi.org/10.1016/j.csda.2008.11.033>
- Zimmermann, F., Jenssen, M., Nedreaas, K., Søvik, G., Hjelset, A. M. & Bakke, S. (2020). Kunnskapsgrunnlaget for taskekrabbe langs norskekysten. (Rapport for havforskningen 2020-4). Havforskningsinstituttet
- Østvik, S. O. & Grimsmo, L. (2005). Produkt- og markedsutviklingsprosjekt for krabbe (taskekrabbe *Cancer pagurus*). (Rapportnr. SFH 80A055069). SINTEF Fiskeri og havbruk AS

Vekt av råstoff, vann og enzymtilsats i prøvene, samt beregninger for prøvene fra kokt restråstoff

Prøve	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
Vekt råstoff i prøven[g]	505,95	502,80	500,04	500,00	500,53	502,20	500,05
Tilsatt vann i prøven [mL]	1012	1006	1000	1000	1001	1004	1005
Tilsatt enzym [g]	0	0,502	5,000	0,500	0,500	5,022	5,000
Tørrstoff i råstoff [%]	64,56	64,56	64,56	64,56	64,56	64,56	64,56
Beregnet tørrvekt av råstoff [g]	326,65	324,61	322,83	322,81	323,15	324,23	322,84
Vekt vannfraksjon [g]	610,55	560	648,85	598,3	619,55	675,25	654,25
Tørrstoff i vannfraksjon [%]	0,97	1,13	1,72	1,12	1,11	1,99	2,45
Beregnet tørrvekt av vannfraksjon [g]	5,91	6,34	11,17	6,73	6,87	13,46	16,06
Utvinnet restråstoff (tørrvekt) [%]	1,81	1,95	3,46	2,08	2,13	4,15	4,97
Vekt fast fraksjon [g]	693,35	746,8	653,15	664,7	688,2	620,4	542
Tørrstoff i fast fraksjon [%]	44,90	49,90	43,22	39,76	46,55	50,09	45,66
Beregnet tørrvekt av fast fraksjon [g]	311,30	372,63	282,27	264,26	320,35	310,78	247,48
Totalvekt hydrolyseblending [g]	1517,85	1508,4	1500,12	1500	1501,59	1506,6	1500,15
Fast fraksjon av hydrolyseblending [%]	45,68	49,51	43,54	44,31	45,83	41,18	36,13
Vannfraksjon av hydrolyseblending [%]	40,22	37,13	43,25	39,89	41,26	44,82	43,61

Vekt av råstoff, vann og enzymtilsats i prøvene, samt beregninger for prøvene fra rått restråstoff

Prøve	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
Vekt råstoff i prøven [g]	500,10	500,42	500,06	500,42	500,40	500,31	500,13
Tilsatt vann i prøven [mL]	1000	1011	1000	1001	1001	1001	1020
Tilsatt enzym [g]	0	0,500	5,000	0,500	0,500	5,003	5,001
Tørrstoff i råstoff [%]	33,12	33,12	33,12	33,12	33,12	33,12	33,12
Beregnet tørrvekt av råstoff [g]	165,61	165,71	165,60	165,71	165,71	165,68	165,62
Vekt vannfraksjon [g]	869,75	885,65	996,95	797,15	896,8	871,15	1079,5
Tørrstoff i vannfraksjon [%]	2,95	2,63	2,65	2,56	2,56	3,41	4,01
Beregnet tørrvekt av vannfraksjon [g]	25,63	23,31	26,41	20,42	22,97	29,73	43,31
Utvunnet restråstoff (tørrvekt) [%]	15,48	14,07	15,95	12,32	13,86	17,94	26,15
Vekt fast fraksjon (g)	384,65	367,9	305,3	447,55	364,4	387,45	238,4
Tørrstoff i fast fraksjon [%]	46,00	38,45	39,72	45,14	45,14	22,20	NA
Beregnet tørrvekt av fast fraksjon [g]	176,94	141,45	121,26	202,02	164,49	86,01	NA
Totalvekt hydrolyseblanding [g]	1500,3	1501,26	1500,18	1501,26	1501,2	1500,93	1500,39
Fast fraksjon av hydrolyseblanding [%]	25,64	24,51	20,35	29,81	24,27	25,81	15,89
Vannfraksjon av hydrolyseblanding [%]	57,97	58,99	66,46	53,10	59,74	58,04	71,95

Verdier fra analyse av nitrogeninnhold ved Kjeldahl-metoden, samt beregnet mengde proteininnhold i vannfraksjon for prøvene fra kokt restråstoff. (1) og (2) indikerer parallell 1 og 2

Prøve	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
%nitrogen (1)	9,02	9,47	8,94	9,94	9,88	9,54	9,33
%nitrogen (2)	8,94	9,48	8,92	9,93	9,86	9,54	9,32
%protein (1)	56,34	59,20	55,87	62,09	61,75	59,60	58,34
%protein (2)	55,88	59,27	55,74	62,04	61,62	59,59	58,24
Mengde protein (1) [g]	3,33	3,75	6,24	4,18	4,24	8,02	14,95
Mengde protein (2) [g]	3,30	3,76	6,23	4,26	4,23	8,02	14,93
Gjennomsnitt %nitrogen	8,98	9,48	8,93	9,93	9,87	9,54	9,33
%nitrogen std.av.	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01
Gjennomsnitt %protein	56,11	59,23	55,81	62,07	61,68	59,60	58,29
%protein std.av.	0,33	0,05	0,09	0,04	0,09	0,00	0,07
Gjennomsnitt mengde protein [g]	3,32	3,75	6,23	4,22	4,24	8,02	14,94
Mengde protein std.av.	0,0196	0,0031	0,0099	0,0583	0,0064	0,0006	0,0170

Verdier fra analyse av nitrogeninnhold ved Kjeldahl-metoden, samt beregnet mengde proteininnhold i vannfraksjon for prøvene fra rått restråstoff. (1) og (2) indikerer parallell 1 og 2

Prøve	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
%nitrogen (1)	9,43	8,00	9,51	9,35	9,10	9,55	9,62
%nitrogen (2)	9,35	8,02	9,49	9,39	9,05	9,56	9,64
%protein (1)	58,94	50,00	59,43	58,45	56,90	59,68	60,11
%protein (2)	58,43	50,14	59,34	58,66	56,53	59,73	60,26
Mengde protein (1) [g]	13,74	13,21	12,14	13,43	16,92	17,74	27,06
Mengde protein (2) [g]	13,62	13,24	12,12	13,48	16,81	17,76	27,13
Gjennomsnitt %nitrogen	9,39	8,01	9,50	9,37	9,07	9,55	9,63
%nitrogen std.av.	0,06	0,02	0,01	0,02	0,04	0,00	0,02
Gjennomsnitt %protein	58,68	50,07	59,38	58,55	56,72	59,70	60,18
%protein std.av.	0,36	0,10	0,07	0,15	0,26	0,03	0,11
Gjennomsnitt mengde protein [g]	13,68	13,23	12,13	13,45	16,86	17,75	27,10
Mengde protein std.av.	0,0835	0,0257	0,0135	0,0335	0,0775	0,0092	0,0497

Verdier fra analyse av nitrogeninnhold ved Kjeldahl-metoden, samt beregnet mengde proteininnhold i restråstoffene. (1), (2) (3) og (4) indikerer paralleller

Prøve	Rått restråstoff	Kokt restråstoff	Rått frysetørket restråstoff	Kokt frysetørket restråstoff
%nitrogen (1)	1,608	1,911	4,661	2,907
%nitrogen (2)	1,551	1,946	4,296	2,911
%nitrogen (3)	1,560	1,956	-	-
%nitrogen (4)	1,621	1,916	-	-
%protein (1)	10,05	11,94	29,13	18,17
%protein (2)	9,69	12,16	26,85	18,19
%protein (3)	9,75	12,23	-	-
%protein (4)	10,13	11,98	-	-
Gjennomsnitt %nitrogen	1,585	1,932	4,479	2,909
%nitrogen std.av.	0,03	0,02	0,26	0,00
Gjennomsnitt %protein	9,91	12,08	27,99	18,18
%protein std.av.	0,22	0,14	1,61	0,02

Verdier fra analyse ved formoltitrering, samt beregnet innhold av frie aminogrupeer og grad av hydrolyse

Prøve	Prøve [g]	NaOH [mL]	frie amino-grupper [%]	N (g.snitt) [%]	Grad av hydrolyse [%]	Protein [%]
K1	1,46	29,4	2,82	8,978	31,418	56,11
K1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
K2	1,51	26,87	2,49	9,478	26,299	59,23
K2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
K3	1,5	19,99	1,87	8,929	20,906	55,81
K3	1,5	20,24	1,89	8,929	21,167	55,81
K4	1,46	25,48	2,44	9,931	24,616	62,07
K4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
K5	1,5	25,21	2,35	9,870	23,852	61,68
K5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
K6	1,5	19,52	1,82	9,536	19,116	59,60
K6	1,5	19,11	1,78	9,536	18,714	59,60
K7	1,5	19,41	1,81	9,553	18,974	59,70
K7	1,5	19,05	1,78	9,553	18,622	59,70
R1	1,5	33,16	3,10	9,327	33,201	58,29
R1	1,01	22,78	3,16	9,327	33,873	58,29
R2	1,5	32,98	3,08	9,390	32,799	58,68
R2	1,5	33,44	3,12	9,390	33,257	58,68
R3	1	18,79	2,63	8,011	32,854	50,07
R3	1	18,87	2,64	8,011	32,994	50,07
R4	1,01	25,21	3,50	9,502	36,796	59,38
R4	1	24,83	3,48	9,502	36,604	59,38
R5	1,02	23,79	3,27	9,369	34,871	58,55
R5	1	23,73	3,32	9,369	35,479	58,55
R6	1,01	21,07	2,92	9,075	32,201	56,72
R6	1	21,26	2,98	9,075	32,816	56,72
R7	1,5	38,3	3,58	9,630	37,141	60,18
R7	1,5	38,65	3,61	9,630	37,480	60,18
Kokt	1,5	2,64	0,25	2,909	8,474	18,18
Råstoff						
Kokt råstoff	1,5	2,02	0,19	2,909	6,484	18,18
Rått råstoff	1,5	8,16	0,76	4,479	17,014	27,99
Rått råstoff	1,01	6,55	0,91	4,479	20,283	27,99

Rådata for beregning av tørrstoffinnhold i vannfraksjon og restråstoff, med tre paralleller for vannfraksjon og to paralleller for restråstoff

Prøve	Vekt digel	Vekt prøve (våt)	Totalvekt (våt)	Totalvekt (tørr)	Vekt tørrstoff	Tørrstoff [%]
K1	2,56	9,36	11,92	2,66	0,1	1,07
K1	2,56	6,81	9,37	2,63	0,07	1,03
K1	2,6	7,41	10,01	2,66	0,06	0,81
K2	2,53	7,95	10,48	2,63	0,1	1,26
K2	2,54	8,47	11,01	2,63	0,09	1,06
K2	2,55	8,38	10,93	2,64	0,09	1,07
K3	2,56	11,81	14,37	2,77	0,21	1,78
K3	2,56	12,17	14,73	2,77	0,21	1,73
K3	2,58	12,05	14,63	2,78	0,2	1,66
K4	2,57	11,11	13,68	2,7	0,13	1,17
K4	2,58	8,55	11,13	2,67	0,09	1,05
K4	2,56	7,82	10,38	2,65	0,09	1,15
K5	2,55	7,38	9,93	2,63	0,08	1,08
K5	2,54	9,56	12,1	2,64	0,1	1,05
K5	2,54	7,53	10,07	2,63	0,09	1,20
K6	2,58	12,11	14,69	2,82	0,24	1,98
K6	2,58	9,63	12,21	2,77	0,19	1,97
K6	2,57	10,37	12,94	2,78	0,21	2,03
K7	2,58	10,33	12,91	2,82	0,24	2,32
K7	2,57	10,86	13,43	2,85	0,28	2,58
K7	2,57	11,78	14,35	2,86	0,29	2,46
R1	2,56	13,11	15,67	2,93	0,37	2,82
R1	2,56	13,69	16,25	2,98	0,42	3,07
R1	2,56	11,52	14,08	2,9	0,34	2,95
R2	2,59	10,9	13,49	2,87	0,28	2,57
R2	2,55	9,71	12,26	2,81	0,26	2,68
R2	2,58	9,43	12,01	2,83	0,25	2,65
R3	2,59	8,36	10,95	2,8	0,21	2,51
R3	2,58	8,04	10,62	2,8	0,22	2,74
R3	2,57	10,37	12,94	2,85	0,28	2,70
R4	2,53	7,73	10,26	2,74	0,21	2,72
R4	2,55	8,09	10,64	2,75	0,2	2,47
R4	2,55	8,01	10,56	2,75	0,2	2,50
R5	2,56	4,72	7,28	2,68	0,12	2,54

R5	2,53	3,77	6,3	2,63	0,1	2,65
R5	2,56	5,22	7,78	2,69	0,13	2,49
R6	2,57	11,34	13,91	2,96	0,39	3,44
R6	2,58	10,58	13,16	2,94	0,36	3,40
R6	2,53	8,54	11,07	2,82	0,29	3,40
R7	2,57	8,28	10,85	2,92	0,35	4,23
R7	2,58	9,67	12,25	2,99	0,41	4,24
R7	2,59	9,64	12,23	2,98	0,39	4,05
Kokt råstoff	2,57	7,81	10,38	7,61	5,04	64,53
Kokt råstoff	2,58	6,58	9,16	6,83	4,25	64,59
Rått råstoff	2,53	10,29	12,82	5,87	3,34	32,46
Rått råstoff	2,54	9,89	12,43	5,88	3,34	33,77

Brixverdier fra 6 timers hydrolyse

Tid [t]	Brix [%] K7	Brix [%] R7
0	1,48	3,73
0,5	2,43	4,55
1	2,54	4,59
1,5	2,58	4,76
2	2,6	4,86
2,5	2,64	4,71
3	2,65	5,22
3,5	2,71	5,29
4	2,72	5,2
4,5	2,72	5,03
5	2,75	5,23
5,5	2,75	5,29
6	2,76	5,2

Fargeverdier for de tørkede hydrolysatene.

Prøve	h	C	L
K1	92,50	13,36	94,11
K2	94,84	10,73	95,07
K3	93,99	8,17	95,61
K4	95,12	7,81	95,68
K5	93,06	10,40	94,95
K6	94,14	7,46	95,50
K7	95,47	7,18	95,62
R1	88,14	14,10	81,41
R2	88,77	13,46	82,43
R3	89,38	12,85	82,62
R4	79,86	18,35	51,75
R5	88,14	14,10	81,41
R6	88,57	12,39	82,35
R7	87,56	14,42	81,78

Resultater fra analyse av tørrstoffinnhold av krabbeskall utført våren 2020 ved næringsmiddellaboratoriet IBT, NTNU av Marcus Hoff Hansen.

Parallell	Vekt digel	vekt prøve(våt)	Totalvekt (våt)	Totalvekt (tørr)	Vekt tørrstoff	%tørrstoff
1	1,8131	3,0017	4,8148	4,7576	2,9445	98,09 %
2	1,8138	3,5034	5,3172	5,2476	3,4338	98,01 %
3	1,8287	2,4887	4,3174	4,2717	2,4430	98,16 %