

Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke Sensorisk kvalitet på sildemelkepulver testet ved akselererte lagringsbetingelser – Fagrapport 2

Henning Egede-Nissen, Gjermund Vogt, John-Erik Haugen, Øistein Høstmark, Åge Oterhals





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

Nofima har om lag 400 ansatte.

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

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

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

Bergen:

Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sunndalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Averøy:

Ekkilsøy
NO-6530 Averøy

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
Faks: 64 94 33 14
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA

Rapport

<p>ISBN: 978-82-8296-143-1 (trykt) ISBN: 978-82-8296-144-8 (pdf) ISSN 1890-579X</p>	
<p><i>Tittel:</i> Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke Sensorisk kvalitet på sildemelkepulver testet ved akselererte lagringsbetingelser - Fagrapport 2</p>	<p><i>Rapportnr.:</i> 49/2013</p>
<p><i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Henning Egede-Nissen; Gjermund Vogt, John-Erik Haugen, Øistein Høstmark, Åge Oterhals</p>	<p><i>Tilgjengelighet:</i> Åpen</p>
<p><i>Avdeling:</i> Marin bioteknologi</p>	<p><i>Dato:</i> 28. november 2013</p>
<p><i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og Havbruksnæringens Forskningsfond</p>	<p><i>Ant. sider og vedlegg:</i> 13+1</p>
<p><i>Stikkord:</i> Sildemelkepulver, tørketeknologi, antioksidanter, stabilitet, kvalitet</p>	<p><i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF#900547</p>
<p><i>Sammendrag/anbefalinger:</i></p> <p>Målet med prosjektet har vært å optimalisere fremstillingen av et pulverprodukt basert på sildemelke, og å teste effekten av antioksidanter på produktstabilitet. Pulver ble fremstilt ved å tørke varmebehandlet sildemelke tilsatt antioksidant (rosmarinekstrakt) i en varmluft mølletørke. Sildemelkepulveret ble lagret ved -80 °C før uttesting av tre ulike antioksidanter basert på et faktorielt forsøksdesign. Oksidasjonsstabiliteten ble testet ved lagring i 35 °C med lufttilgang. Periodevis sensorisk evaluering ble brukt til å bestemme nødvendig lagringstid før analyse av flyktige forbindelser og evaluering av sensorisk kvalitet.</p> <p>Flash-tørking av sildemelke i nærvær av antioksidant i en varmlufts mølletørke gir kort tørketid med minimal fettoksidasjon. Produktet har en lukt og smak som kan sammenlignes med torskepulver.</p> <p>Headspace GC-MS analyser viste flyktige forbindelser typisk for oksidasjon av marine pulver, men i konsentrasjoner under terskelen for ubehagelig smak og lukt. Alle produktvarianter ble ansett som sensorisk akseptable etter 3 måneders lagring ved 35 °C tilsvarende 2 års lagringstid ved 5 °C.</p> <p>Det er funnet en signifikant korrelasjon mellom luktintensitet av sildemelke dispergert i varmt vann og måling av flyktige forbindelser basert på dynamisk headspace-analyser. Resultatene bekrefter at metodikken egner seg til å følge utvikling av sensorisk kvalitet (luktintensitet) i et pulverprodukt av sildemelke.</p> <p>Det er påvist positive signifikante effekter av å tilsette antioksidant(er) etter tørking på sensorikk og konsentrasjon TMA, DMA og eddiksyre. Kombinasjonen rosmarin-propylgallat er vurdert som best basert på en kombinasjon av disse kvalitetsparameterne.</p>	
<p><i>Prosjektnr.:</i> 21103</p>	

Forord

Denne fagrapporten gjelder del 2 i prosjektet “Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke: Oppfølgingsprosjekt” som i sin helhet er finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF). Rapporten beskriver produksjon og lagring av sildemelkepulver for å undersøke stabiliteten over tid. Prosjektet er et år på etterskudd, vesentlig fordi det har tatt uforholdsmessig lang tid å etablere gode metoder for å følge og kontrollere fettoksidasjonen under produksjon og lagring av sildemelkepulver. FHF har vist stor forståelse for utfordringene dette har gitt.

Norway Pelagic har som tidligere vært tilbyder av restråstoff, og har også vært en god diskusjonspartner i prosjektet.

Innhold

1	Innledning.....	1
2	Materialer og metoder	2
2.1	Materialer.....	2
2.2	Metoder.....	2
2.2.1	Råstoffbehandling og tørketeknologi.....	2
2.2.2	Uttesting av antioksidanter	3
2.2.3	Kjemiske analyser	3
2.2.4	Sensorisk evaluering.....	4
2.2.5	Statistiske analyser	4
3	Resultater og diskusjon	5
3.1	Tørking.....	5
3.2	Kjemisk sammensetning.....	5
3.3	Uttesting av antioksidanter	6
4	Konklusjon	12
5	Referanser	13
	Vedlegg 1.....	i

1 Innledning

Tørking av biologisk materiale til et pulver er en mye brukt metode for å redusere vannaktiviteten i råvarer, og på den måten sikre mikrobiologisk stabilitet under lagring ved romtemperatur og muliggjøre anvendelse i tørre formulerte produkter. Til gjengjeld vil et pulverprodukt få stor overflate som eksponeres sterkt mot luft med resulterende økt risiko for oksidasjon av umettet fett.

Frysetørking er en god, men kostbar teknologi for konservering av mat fordi kvaliteten på det rehydratiserte produktet normalt blir bedre enn ved andre tørketeknikker (Martinez og Labuza, 1968). Skånsom tørking ved lav temperatur gir minimal belastning på produktet. Lang tørketid kan imidlertid gi negative utslag for noen produkter, og lav kapasitet gjør tørketeknikken lite attraktiv annet enn for høykost nisje-produkter. For fettholdige og komplekse produkter kan lang tørketid gi utilsiktet kvalitetsforringelse. Lavt vanninnhold og derav svært lav vannaktivitet i sluttproduktet som man gjerne får ved frysetørking, vil dessuten kunne medvirke til akselerert fettoksidasjon (Nelson og Labuza, 1992).

Tørking av fiskemuskel med lavt fettinnhold (spesielt fra hvitfisk) har vært gjennomført i industriell skala i mange år, og er relativt lett å få til på en tilfredsstillende måte. Shaviklo *et al.* (2010) har fremstilt både frysetørket og spraytørket surimi fra seifilet med gode funksjonelle egenskaper. Tørking av marint restråstoff er mindre beskrevet, åpenbart fordi dette er sammensatte produkter med en rekke utfordringer. Unntaket er tørking av rogn fra diverse marine arter. Plante *et al.* (2008) har rapportert fremstilling av fôringredienser ved lavtemperatur vakuumbtørking av melke fra pukkellaks og lyr. Her ble det imidlertid brukt høye nivå av den syntetiske og ikke næringsmiddelgodkjente antioksidanten ethoxyquin for å forhindre fettoksidasjon. Bragadottir *et al.* (2007) har studert fettoksidasjon i spraytørket hydrolysat av restråstoff fra sei. Høyt oksidasjonsnivå ble observert allerede i nylaget pulver som en indikasjon på dårlig kontrollerte prosessbetingelser, og ytterligere oksidasjon av fett ble påvist ved lagring av pulveret over tid.

Sildemelke har et høyt innhold av trimetylaminoksid (TMAO), som har funksjon som osmoregulator i en rekke marine arter. TMAO kan brytes ned bakterielt, enzymatisk og termisk til en rekke flyktige nitrogenbaser (Wu & Bechtel, 2008). Spesielt utfordrende for ferskhetsopplevelsen er trimetylamin (TMA), som gir en karakteristisk emmen og lite attraktiv lukt og smak. TMA er flyktig, men også ekstremt vannløselig og derfor vanskelig å fjerne. Fjerning av TMAO hadde løst problemet, men teknologi for selektiv gjennomføring av dette i organisk materiale er ikke kjent. Et hovedmål for dette prosjektet har vært å utvikle teknologi for direkte tørking og stabilisering av sildemelke. Næringsmiddelgodkjente antioksidanter er tilsatt før og etter tørkeoperasjonen. Uttesting av oksidasjonsstabilitet er gjennomført under akselererte betingelser (35 °C og lufteksponering) for å dokumentere lagringsstabilitet og evaluere muligheten for å bevare en akseptabel smak over tid. Implisitt har det også vært et mål å utvikle prosessbetingelser som hemmer omdanning av TMAO til TMA.

2 Materialer og metoder

2.1 Materialer

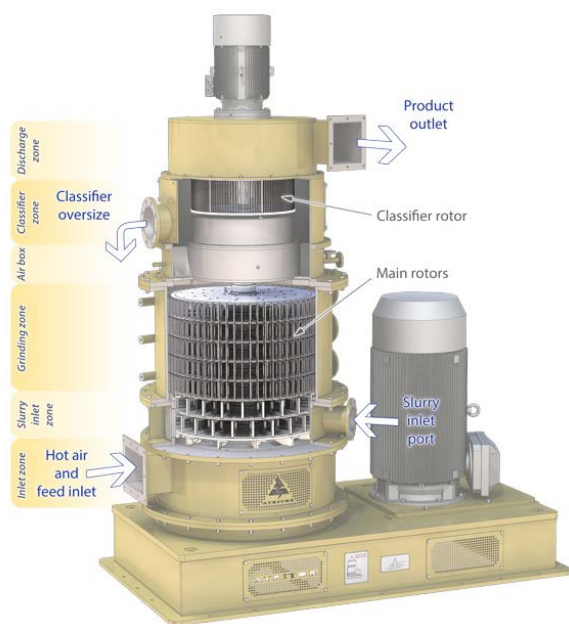
Sildemelken ble manuelt utsortert fra samfengt restråstoff ved Norway Pelagic Kalvåg i februar 2012 og lagret på frys ved -33 °C i 12 måneder før bruk. Følgende antioksidanter er anvendt: Rosemary Extract Liquid Refined (Fenchem), Grindox 653 (propylgallat; DuPont), Grindox 1032 (naturlig tokoferolmiks; DuPont).

Sildemelkepulver fra første del av prosjektet, produsert i mars 2012, ble anvendt for å øke tørrstoffinnholdet i føden ved oppstart av tørkeprosess.

2.2 Metoder

2.2.1 Råstoffbehandling og tørketeknologi

Prøver for undersøkelse i labskala ble frysetørket som beskrevet i fagrapport 1 (Egede-Nissen *et al.*, 2012). I pilotskala ble blokker av sildemelke halvtint, kuttet i mindre stykker på båndsav, og matet inn i en rørvarmeveksler som beskrevet av Egede-Nissen *et al.* (2012). Varmebehandlet sildemelke ble tørket på en Jäckering varmluft mølletørke (prinsippskisse vist i Figur 1).



Mølletørking

Mølletørken formaler og tørker i en operasjon. Tørkingen skjer ved høy innløpstemperatur, men tørkeprosessen er meget rask grunnet parallell formaling av tørkegodset (liten partikkelstørrelse). Tørken kan håndtere både filterkaker, slam og slurryer, men kan være følsom for påbrenning og beleggproblemer.

Figur 1 Prinsippskisse for varmluft mølletørke

Varmekoagulert sildemelke ble tilsatt rosmarineekstrakt (Rosemary Extract Liquid Refined, 2000 ppm/kg fett) før tørking. Massen ble ved oppstart av tørkeprosessen blandet med sildemelkepulver for å øke tørrstoffinnholdet inn på tørken. Nyprodusert tørket pulver ble deretter delvis kjørt i retur

for å oppnå stabilt tørrstoffinnhold i føden. Tørkeprosessen ble gjennomført basert på en semi-kontinuerlig returkjøring av pulver tilsvarende 10 sykluser før uttak av prøve til lagringsstudiet.

2.2.2 Uttesting av antioksidanter

Uttesting av antioksidanter etter tørking er gjennomført på sildemelkepulver fremstilt med tilsetning av rosmarinekstrakt før tørking. Antioksidantene ble løst i etanol og sprayet inn i pulverprøven under kraftig blanding. Prøvene ble deretter vakuamtørket for å få fjernet hovedmengden av etanol. Et 3-faktorielt design (Tabell 1) er brukt for å evaluere effekt tilsetning av følgende nivå antioksidanter (alle tilsetninger på tørrstoff-basis): 200 ppm rosmarinekstrakt, 200 ppm propylgallat (Grindox 653) og 200 ppm tokoferolmiks (Grindox 1032). Etter tilsetning av antioksidant ble sildemelkeprøvene overført til glassflasker med skrukork og satt i varmeskap ved 35 °C. Lokket ble fjernet i cirka 10 min en gang per uke for å utligne eventuell reduksjon i partialtrykk oksygen.

For fire av forsøksbetingelsene (# 1,3,4 og 5) ble det laget replikate prøver, det vil si totalt 12 uavhengige prøver i forsøket. Prøve uten tilsetning av antioksidant og med 200 ppm propylgallat ble sammenlignet sensorisk etter 0, 3, 6, 9 og 12 uker for å avgjøre når lagringsforsøket kunne avsluttes.

Tabell 1 Forsøksdesign anvendt ved uttesting av antioksidanter

Prøve #	Kortnavn	Tokoferol	Propylgallat	Rosmarinekstrakt
1	Ref	-	-	-
2	T	+	-	-
3	P	-	+	-
4	T-P	+	+	-
5	R	-	-	+
6	T-R	+	-	+
7	P-R	-	+	+
8	T-P-R	+	+	+

2.2.3 Kjemiske analyser

Kjemiske analyser er gjennomført ved Nofima BioLab i Bergen og ved Nofima Ås. Sekundære oksidasjonsprodukter ble målt ved bruk av en intern TBARS-metode (destillasjon). Fettinnhold ble målt ved bruk av kloroform-metanol ekstraksjon (Bligh & Dyer, 1959). Flyktige nitrogenbaser ble bestemt med Conway & Byrnes (1933) mikrodifusjonsmetode.

Dynamisk *Headspace* prøveuttak ble gjennomført på to måter: 1. Med Markes Micro-Chamber Thermal-Extractor (Figur 2) og 2. Med spesialtilpassede glasskolber. Prøvene ble «flushet» med nitrogen og flyktige forbindelser adsorbent i rør med Tenax-GR adsorbent. Analyser ble foretatt ved hjelp av gasskromatografi-massespektrometri (GC-MS) som beskrevet av Olsen *et al.* (2005).



Figur 2 Markes Micro-Chamber Thermal-Extractor

2.2.4 Sensorisk evaluering

Evaluering av lukt- og smaksintensitet i pulver ble gjennomført ved bruk av et internt panel på 3 personer med tidligere erfaring fra testing av marine *flavour*-produkter. Prøvene ble rangert på en skala fra 0–4 der karakter 0 tilsvarer ingen forskjell og karakter 4 en svært tydelig forskjell (utenfor akseptgrense) relativt til en prøve lagret ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ uten tilsetning av antioksidant. Før smaking ble prøven suspendert i kokende vann (2,5 g prøve/100 ml vann) og satt til henstand i 5 minutter.

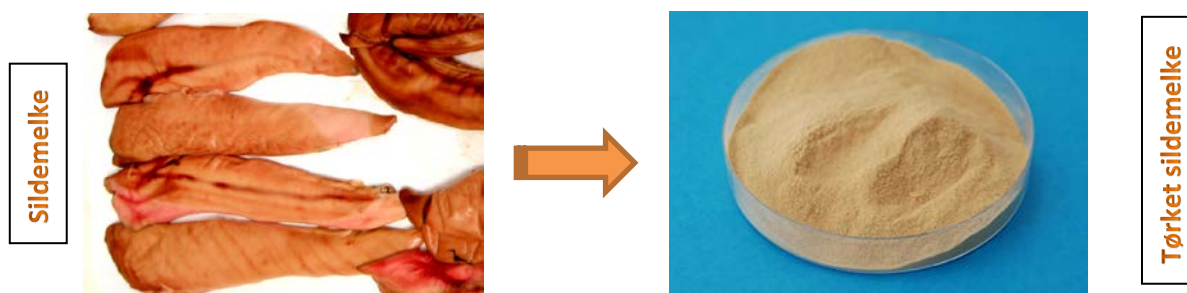
2.2.5 Statistiske analyser

Multivariable analyser ble gjennomført basert på «principal component analysis» (PCA analyse) og «partial least squares regression» (PLS regresjon) i Unscrambler ver.9.8. Faktorielt forsøksdesign ble analysert ved bruk av ANOVA-modulen i STATISTICA ver.12.

3 Resultater og diskusjon

3.1 Tørking

Sildemelken som ble anvendt i forsøket hadde ligget på frys ved -33 °C i cirka ett år. I fagrapport 1 (Egede-Nissen *et al.*, 2012) fremgår det at fryselagring i minst 9 måneder ved -30 °C ikke gir vesentlig forringelse av råstoff. Kvaliteten ble med basis i denne dokumentasjonen vurdert som akseptabel, men ikke optimal.



Figur 3 Fra sildemelke til sildemelkepulver

Sildemelkepulveret som var kjølelagret i ett år uten antioksidanter viste tegn på harskning. Pulveret ble derfor kun anvendt ved oppstart av tørkeprosessen dag 1, og ble gjennom returkjøring over tørken redusert til <1 % før uttak av prøver for bruk i lagringsforsøk og uttesting av antioksidant.

3.2 Kjemisk sammensetning

Kjemisk sammensetning på tørket sildemelke er gitt i Tabell 2. Tørrstoffinnholdet viste god overenstemmelse med tilsvarende produksjon i 2011. Sildemelke har spesielt mye aminosyrer med høyt N-innhold (arginin og glutaminsyre) og mye N av ikke-proteininnatur (nukleinsyrer). Dette gir en vesentlig lavere råproteinfaktor enn 6,25 og kun N-innholdet er derfor oppgitt i Tabell 2. Fettnivået viser et avvik på 1,5 % mellom de to uttakene, hvilket reflekterer årstids- og år til år variasjoner (uttak i november 2010 og februar 2012) i sammensetning av sildemelke. Innholdet av TMAO er høyt i begge tilfeller og i overensstemmelse med nivå rapportert i melke (Egede-Nissen *et al.*, 2012). Totalt flyktig N viser vesentlig høyere nivå i prøve fra 2011. Dette kan muligens tilskrives et høyere nivå DMA (ikke kvantifisert, men påvist i *headspace* analyser).

Tabell 2 Kjemiske analyser av sildemelkepulver

Analyse	Enhet	2013	2011
Totalt tørrstoff	%	92,6	92,4
Nitrogen, Kjeldahl	%	14,1	
Aske	%	9,7	
Fett, Bligh & Dyer	%	15,1	13,6
Trimetylamin-N	mg N/100 g	6	3
Trimetylaminoksid-N	mg N/100 g	366	302
Total flyktig N	mg N/100 g	13	43

Ferskt sildemelkepulver hadde en frisk og behagelig lukt tilsvarende torskepulver. Ut fra tidligere erfaringer ble det bestemt å følge oksidasjonen under lagringsforløpet ved analyse av TBARS (sekundære oksidasjonsprodukter), GC-MS (flyktige organiske komponenter), og ved sensorisk analyse (internt smakspanel).

Destillasjonsmetoden for kvantifisering av TBARS viste seg å være lite egnet for sildemelkepulver. I første del av prosjektet ble to ulike metoder sammenlignet (Wang Andersen & Sørensen, 2012). Destillasjonsmetoden ga pålitelige resultater i fryselagringsforsøk på sildemelke, mens TCA-ekstraksjon ikke fungerte. Analyser i prøver fra kinetikkforsøk på sildemelkepulver viste nedgang i TBARS-verdier over tid. Det ble imidlertid registrert dannelse av et ukjent fargekompleks som absorberte ved en annen bølgelengde enn det som normalt anvendes i analysen. Det ble avkreftet at denne fargereaksjonen skyldes tilsetning av rosmarinestrukt. Vi har ingen god forklaring på dannelse av avvikende fargekompleks, annet enn at thiobarbitursyre reagerer med andre komponenter i sildemelke enn malondialdehyd og gir falsk positiv prøve. Verdiene er derfor høyst usikre, og vi velger å ikke inkludere TBARS-resultatene i rapporten.

3.3 Uttesting av antioksidanter

Det er i prosjektet blitt gjennomført uttesting av alternative metoder for å følge oksidasjonsutviklingen i sildemelkepulver. Tidligere arbeid (Bohne *et al.*, 2010) har indikert at analyse av peroksidtall (PV) og anisidinverdier (AV) som fungerer bra på fiskeoljer ikke gir pålitelige resultater på sildemelkepulver. Heller ikke TBARS har gitt tilfredsstillende resultat på sildemelkepulver (jfr. ovenfor). Akselererte tester med Oxipres-metoden ble forkastet i første del av prosjektet. Dynamisk *headspace* GC-MS analyse har fremstått som den beste analysemetoden supplert med sensoriske analyser og er anvendt i dette forsøket.

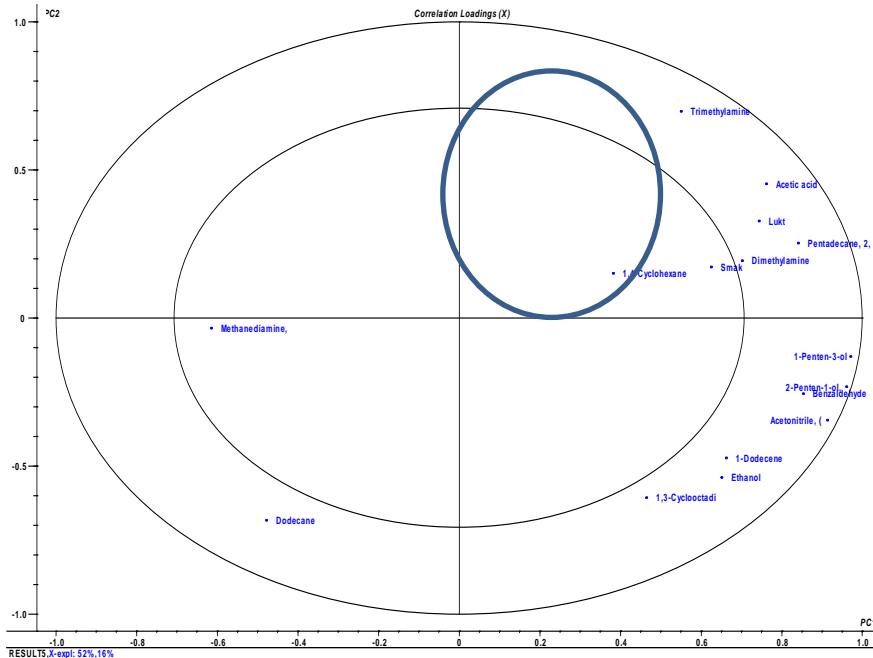
Flash-tørking i en varmlufts mølletørke gir kort tørketid og minimal fettoksidasjon og omdanning av TMAO. Tilsetning av antioksidant(er) før og etter tørking er her anvendt for å hemme oksidasjon og forlenge lagringsstabiliteten.

Behov for lagringstid ved 35 °C for å få frem forskjeller mellom prøvene var ikke kjent ved oppstart av lagringsstudiet. Det ble derfor valgt å følge utvikling av oksidasjonsnivå gjennom sensorisk testing av to av prøvene, jfr. Tabell 1: Den antatt dårligste (referanse) og beste prøve (tilsatt propylgallat). Etter 12 ukers lagring var det klar forskjell mellom disse prøvene, og *headspace* GC-MS og sensorisk analyse av alle prøver i det faktorielle forsøket ble på dette grunnlag påbegynt.

Ny produksjon av pulver basert på fryselagret sildemelke og tilsatt av antioksidant ga et tilfredsstillende utgangspunkt for langtidslagring av sildemelkepulver. Det nyproduserte sildemelkepulveret hadde smak og lukt som nykøkt torsk ved utblanding i varmt vann. Etter 12 ukers lagring ved 35 °C ble fortsatt alle produktene vurdert å ha en akseptabel kvalitet, men med mindre frisk smak og lukt og mer «fiskearoma». Forutsettes en dobling av oksidasjonshastighet ved 10 °C økning i lagringstemperatur tilsvarer dette 9 måneder holdbarhet ved 20 °C og 2 år ved 5 °C.

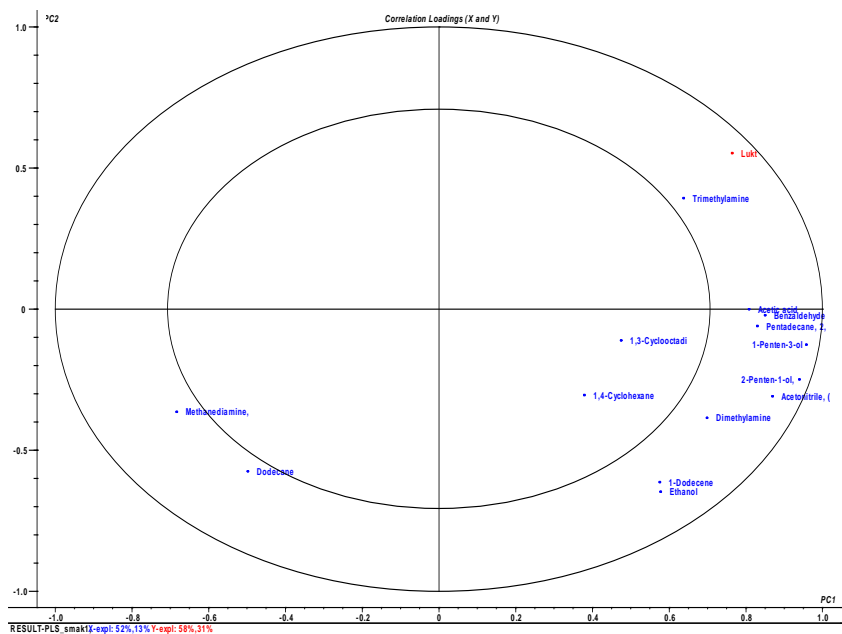
Principal komponent analyse, PCA, av sensorikk og *headspace* analyser (Vedlegg 1) bekrefter at utvikling av uønsket lukt og smak i pulveret er assosiert med økt konsentrasjon av TMA, DMA og eddiksyre (Figur 4). Plottet viser også at varians for lukt er mye bedre forklart enn smak. Pentadecane 2, 6, 10, 14-tetrametyl er en restkomponent fra den anvendte emballasjen. 1,4-cyclohexanedione er

dårlig forklart (< 50 %). De øvrige analyserte oksidasjonsproduktene er positivt assosiert til lukt og smak langs PC1, men negativt assosiert langs PC2. Metandiamin, N, N, N', N'-tetrametyl- (termisk produkt) og dodecane (hydrokarbon) er begge negativt assosiert til lukt og smak. 52 % og 16 % av variansen i datamatriksen kunne forklare av henholdsvis PC1 og PC2.

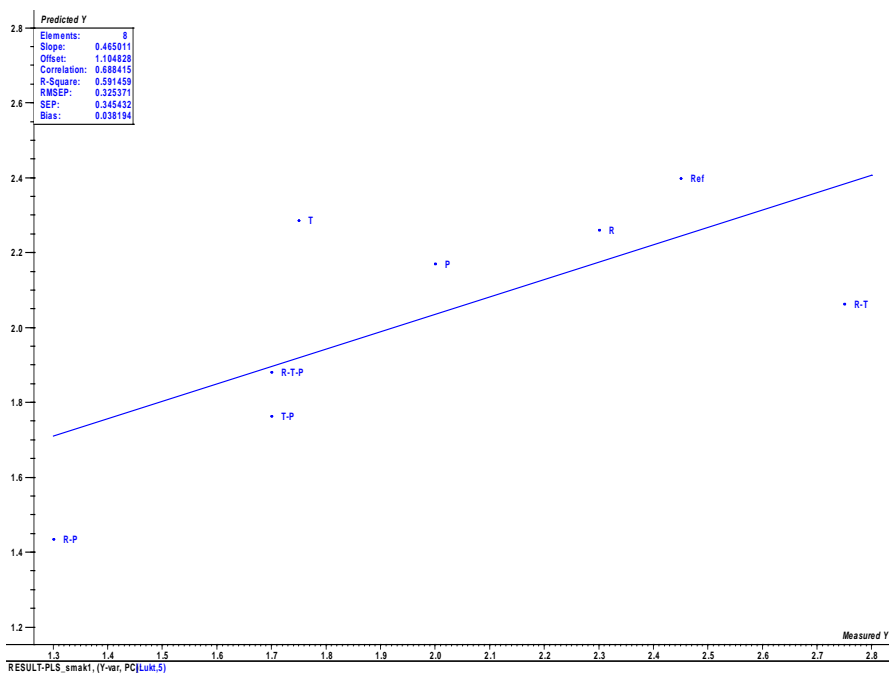


Figur 4 Principal komponent analyse (PCA-plott) av sensoriske data (lukt og smak) og flyktige forbindelser i sildemelkepulver lagret i 12 uker. De to sirklene angir henholdsvis 100 og 50% forklart varians.

Utvikling av luktintensitet kunne modelleres ved bruk av multilinjær analyse (PLS regresjon) med en kryssvalidert korrelasjon (observert mot predikert) på 0,68 og predikeringsfeil (RMSEP) på 0,3 skalaenheter (Figur 6). Luktintensitet var primært assosiert med økende TMA-konsentrasjon i pulveret (Figur 5). Det var ikke mulig å etablere en tilsvarende modell for smaksintensitet. Varians for denne variabelen var også dårlig forklart i PCA-plottet (Figur 4).



Figur 5 Laddingsplott fra PLS-regresjon av sensoriske data (lukt) og flyktige forbindelser i sildemelkepulver lagret i 12 uker.



Figur 6 Predikering av luktintensitet for sildemelkepulver dispergert i varmt vann basert på flyktige komponenter i headspace over pulver.

I ANOVA-analysen er det kun tatt med komponenter som har gitt en signifikant ($p < 0,05$) eller nær signifikant ($p < 0,1$) effekt (Tabell 3).

Tabell 3 Effekt av antioksidanter basert på faktorielt forsøksdesign. Røde tall angir $p < 0,05$, blå tall $p < 0,1$

Antioksidant (*)	Trimetylamin	Methanedi Amin N,N,N',N'- tetramethyl-	Dimetylamin	1-Penten-3-ol	2-Penten-1-ol, (Z)-	Eddiksyre	Smak	Lukt
	fra TMAO	termisk prod.	fra TMAO	oks.prod. fra fett	oks.prod. fra fett	oks.prod. fra fett	-	-
R	0,219158	0,272038	0,436210	0,291106	0,497569	0,302964	0,423638	0,714223
T	0,388225	0,093959	0,002833	0,320077	0,268470	0,134068	0,127051	0,809008
P	0,000065	0,060953	0,000990	0,234702	0,320528	0,017666	0,082848	0,006267
R-T	0,289108	0,317114	0,001916	0,511491	0,481550	0,299315	0,012015	0,021086
R-P	0,949611	0,388357	0,560936	0,082686	0,130488	0,881343	0,127051	0,046355
T-P	0,664001	0,148652	0,002286	0,327480	0,094724	0,314852	0,423638	0,496886

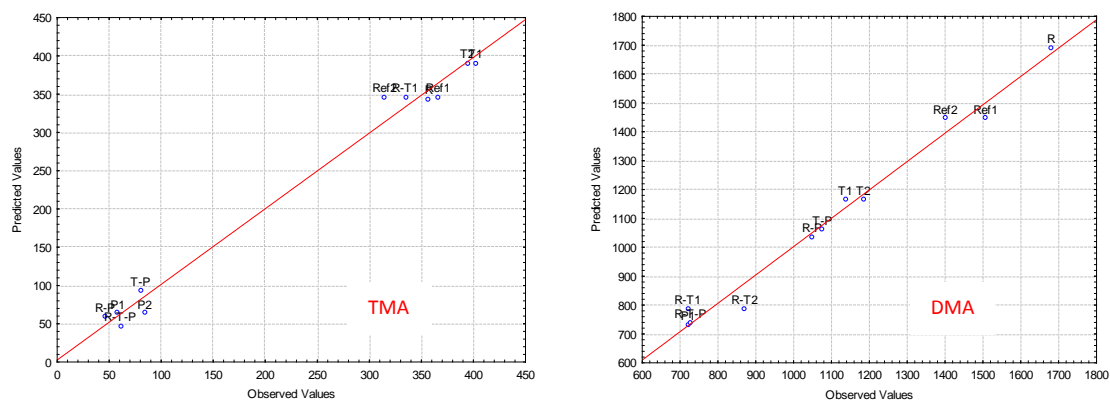
(*) R = Rosmarinekstrakt, T = Tokoferol, P = Propylgallat

TMA og DMA gir begge en emmen fiskelukt og er her påvist i alle prøver etter lagring. Sammen med eddiksyre er disse også sterkest assosiert til sensorikk-data basert på PCA-analysen (Figur 4). Laveste nivå av disse komponentene er funnet i pulver tilsatt propylgallat og tokoferol. Høyeste nivå er funnet i referansen og i prøver tilsatt rosmarin (Vedlegg 1 og Figur 7 og 8). For TMA kommer kun tilsetning av propylgallat signifikant ut (Tabell 3), og plotting av observerte mot predikerte verdier viser en klar gruppering for prøver tilsatt denne antioksidanten alene eller i kombinasjon. I datagrunnlaget for TMA er R-T2 tatt ut på grunn av sterkt avvikende verdi (trolig «outlier»).

For DMA viser ANOVA signifikant effekt av både tokoferol og propylgallat, samt interaksjon mellom disse. Tilsetning av rosmarin alene kommer dårligst ut (Figur 7), mens kombinasjonen tokoferol-rosmarin viser signifikant effekt (Tabell 3) og de laveste verdier. I datasettet for DMA er P2 tatt ut grunnet stort avvik (trolig «outlier»). Sildemelken ble tilsatt høye nivå rosmarin før tørking og manglende effekt ved tilsetning etter tørking kan skyldes utflating ved høye konsentrasjoner eller en mulig pro-oksidant effekt ved tilsetning alene.

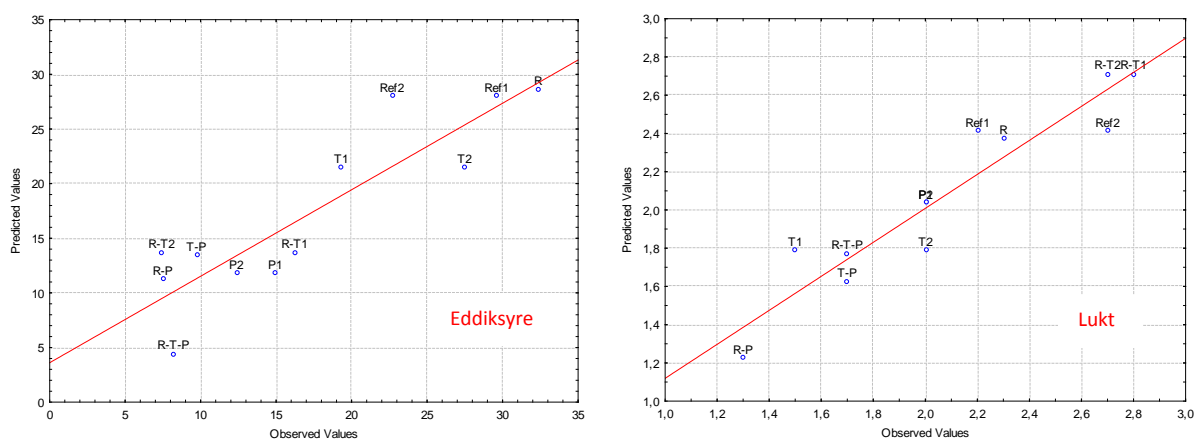
Også for eddiksyre kommer kun tilsetning av propylgallat ut med signifikant effekt (Tabell 3). Lave nivå er her observert for kombinasjonene rosmarin-tokoferol og rosmarin-propylgallat (Figur 8), men disse interaksjonene er ikke signifikante (Tabell 3). For oksidasjonsproduktene 1-penten-3-ol og 2-penten-1-ol, (Z)- er ingen av hovedeffektene signifikante. Dette samme gjelder også for metandiamin N,N,N',N'-tetramethyl (Tabell 3).

Tilsetning av propylgallat kommer også signifikant ut for lukt og nær signifikant for smak (Tabell 3). Kombinasjonen rosmarin-propylgallat viser signifikant effekt på lukt, og kommer også best ut i testen basert på denne parameteren (Vedlegg 1). Motsatt kommer kombinasjonen rosmarin-tokoferol dårlig ut på smak og lukt (signifikante effekter).



Figur 7 Observerte verdier versus predikerte verdier for henholdsvis trimetylammin (TMA) og dimetylammin (DMA).

Rosmarin har høye verdier av både TMA, DMA og eddiksyre parallelt med dårlig resultat på lukt i samsvar med referanseprøven (Figur 7 og 8). Det er derfor ikke oppnådd noen tilleggseffekt ved tilsetning av mer rosmarinekstrakt etter tørking. I kombinasjon med propylgallat er det derimot oppnådd interessante effekter og denne prøven kommer totalt sett best ut. Rosmarin-tokoferol har lave verdier for TMA/DMA, men kommer dårlig ut på lukt. Tilsetning av tokoferol alene har kommet best ut på smak (Vedlegg 1) og blant de beste på lukt (Figur 8). Denne antioksidanten har imidlertid gitt relativt høye verdier av TMA og eddiksyre (Figur 7 og 8) og viser kompleksiteten i tolkning av denne type data.



Figur 8 Observerte verdier versus predikerte verdier for henholdsvis eddiksyre og lukt.

Dynamisk headspace baserer seg på å «fange» flyktige forbindelser i gassfasen over en prøve ved å «flush» med nitrogen for oppkonsentrering på adsorbent før analyse på GC-MS. De målte verdier angir relative konsentrasjoner i henhold til en tilsatt intern standard, men er også avhengig av fordelingskoeffisienten av de flyktige komponentene mellom matrisen og gassfasen. Nivåene kan imidlertid brukes til å sammenligne relative konsentrasjoner i like prøver som i dette forsøket. Det er funnet en signifikant korrelasjon mellom luktintensitet av sildemelke dispergert i varmt vann og måling av flyktige forbindelser basert på dynamisk headspace-analyse. Resultatene bekrefter at metodikken egner seg til å følge utvikling av sensorisk kvalitet (luktintensitet) i et pulverprodukt av sildemelke. Prosjektet har gitt ny kunnskap om hvordan oksidasjonsforløp og kvalitet kan følges i

sildemelkepulver. Metodikken vil også kunne anvendes som verktøy for å følge holdbarheten på andre typer marine pulver, f.eks. på et pulver av en blanding av silderogn og -melke.

Sildemelkepulver har vært testet ut i markedet for *flavours*, og smaksmessig kommer produktet ut omtrent som pulver av hvitfisk. Pulverproduktet bør også prøves ut i andre markeder, der potensielle ernærings- og/eller helsemessige effekter av sildemelke fokuseres. Sildemelke har høyt proteininnhold med gunstig aminosyresammensetning, høyt innhold av nukleotider (DNA) som kan ha immunstimulerende virkning, og selv om fettinnholdet ikke er så høyt kan sammensetningen være desto mer interessant.

4 Konklusjon

- Flash-tørking av sildemelke i nærvær av antioksidant i en varmlufts mølletørke gir kort tørketid med minimal fettoksidasjon. Produktet har en lukt og smak som kan sammenlignes med torskepulver.
- Det er funnet en signifikant korrelasjon mellom luktintensitet av sildemelke dispergert i varmt vann (anslag 40–60 °C) og måling av flyktige forbindelser basert på dynamisk *headspace* GC-MS analyse. Resultatene bekrefter at metodikken egner seg til å følge utvikling av sensorisk kvalitet (luktintensitet) i et pulverprodukt av sildemelke.
- Det er påvist positive signifikante effekter av å tilsette antioksidant(er) etter tørking på sensorikk og konsentrasjon TMA, DMA og eddiksyre. Kombinasjonen rosmarin-propylgallat er vurdert som best basert på en kombinasjon av disse kvalitetsparameterne.
- Forsøk med akselerert lagring indikerer at mølletørket sildemelkepulver kan opprettholde akseptabel lukt og smak i opp til 2 år ved kjølelagringsbetingelser.

5 Referanser

- Bligh, E.G. & W.J.A. Dyer (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, pp. 911–917.
- Bohne, V., Ø. Høstmark, H. Nygaard, T.A. Samuelson & J. Pettersen (2010). Kommersiell utnyttelse av sildemelke. Intern Nofimarapport, 36 s.
- Bragadóttir M., E. Reynisson, K.A. Þórarinsdóttir & S. Arason (2007). Stability of Fish Powder Made from Saithe (*Pollachius virens*) as Measured by Lipid Oxidation and Functional Properties. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **16**: 1, pp. 115–135.
- Conway, E.J. & A.J. Byrnes (1933). An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. I. The micro-determination of ammonia. *The biochemical Journal*, **27**, pp. 419–429.
- Egede-Nissen, H., Ø. Høstmark, B.O. Haugsgjerd, G. Vogt & Å. Oterhals (2012). Utvikling av høykvalitets pulverprodukt fra sildemelke. Fagrapport 1, FHF-prosjekt #900547. 19 s.
- Huynh M.D, D.D. Kitts, C. Hu & A.W. Trites (2007). Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, **146**, pp. 504–511.
- Martinez, F. & T.P. Labuza (1968). Rate of deterioration of freeze-dried salmon as a function of relative humidity. *Journal of Food Science*, **33**, pp. 241–247.
- Nelson, K.A. & T.P. Labuza (1992). Relationship between water and lipid oxidation rates - water activity and glass-transition theory. *ACS Symposium Series*, **500**, pp. 93–103.
- Olsen E., G. Vogt, D. Ekeberg, M. Sandbakk, J. Pettersen & A. Nilsson (2005). Analysis of the early stages of the lipid oxidation of in freeze-stored pork back fat and mechanically recovered poultry meat. *J. Agric. Food Chem.*, **53**:2, pp. 338–348.
- Plante, S., S. Smiley, A.C.M. Oliveira, D.A.J. Stone, R.W. Hardy & P.J. Bechtel (2008). Chemical Characterization of Testes Meals Made from Alaska's Seafood Processing Byproducts. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **17**: 2, pp. 195–211.
- Shaviklo, G.R., G. Thorkelsson, S. Arason, H.G. Kristinsson & K. Sveinsdottir (2010). The influence of additives and drying methods on quality attributes of fish protein powder made from saithe (*Pollachius virens*). *J Sci Food Agric*, **90**, pp. 2133–2143.
- Wang-Andersen, J. & J.M. Sørensen (2012). TBARS-målinger i sildemelke: Sammenligning av TCA-ekstraksjonsmetode og destillasjonsmetode. Intern Nofima-rapport P21149. 19 s.
- Wu, T.H. & P.J. Bechtel (2008). Ammonia, Dimethylamine, Trimethylamine, and Trimethylamine Oxide from Raw and Processed Fish By-Products. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **17**: 1, pp. 27–38.

Vedlegg 1

Datafiler til statistiske beregninger

Variabel	RM	TOC	PG	Trimethyl-amine	Methane-diamine, N,N,N',N'-tetramethyl-	Dimethyl-amine	Ethanol	1-Penten-3-ol	Dodecane	1-Dodecene
Opprinnelse	→			Red.prod. fra TMAO	Termisk produkt	Red.prod. fra TMAO	Rest løsemiddel	Oks.prod. fra olje	Hydrokarbon	Hydrokarbon
Ref1	-1	-1	-1	365,7	324,1	1506,5	468,6	1117,4	39,9	71,3
Ref2	-1	-1	-1	314,7	240,3	1400,1	329,0	937,9	32,0	61,6
R	1	-1	-1	357,1	244,3	1679,5	402,7	1143,5	41,1	89,5
T1	-1	1	-1	401,6	263,7	1135,4	267,9	916,2	41,6	40,0
T2	-1	1	-1	393,9	180,7	1183,1	214,6	804,0	35,2	35,1
R-T1	1	1	-1	334,2	314,7	719,3	125,7	893,6	18,7	43,1
R-T2	1	1	-1	96,6	211,4	869,6	208,3	975,0	22,3	51,7
P1	-1	-1	1	58,0	952,8	720,4	428,8	934,7	42,1	94,5
P2	-1	-1	1	83,9	333,1	1642,7	664,0	1204,9	32,2	121,0
R-P	1	-1	1	46,2	1491,8	1048,4	206,5	657,7	58,8	48,8
T-P	-1	1	1	80,3	455,9	1075,7	380,0	920,1	77,1	59,3
R-T-P	1	1	1	60,5	272,3	727,3	250,9	832,6	79,0	57,3

Variabel	Acetonitrile, (dimethyl- amino)-	2-Penten-1-ol, (Z)-	Acetic acid	Benz- aldehyde	Pentadecane, 2,6,10,14- tetramethyl	1,3-Cyclo- octadiene	1,4-Cyclo- hexane- dione	Smak	Lukt
Opprinnelse	Uidentifisert amin	Oks.prod. fra olje	Oks.prod. fra olje	Fra adsorbenten	Restmonomer fra PET	Oks.prod. fra olje	Oks.prod. fra olje	-	-
Ref1	118,6	316,6	29,6	60,8	106,7	94,1	28,4	2,7	2,2
Ref2	90,1	265,0	22,7	52,3	99,7	73,3	32,3	3,0	2,7
R	106,8	312,0	32,4	52,1	112,6	89,1	35,5	2,3	2,3
T1	79,1	246,7	19,3	47,5	69,6	90,0	27,8	1,8	1,5
T2	66,5	205,8	27,5	45,9	69,4	73,5	29,4	2,3	2,0
R-T1	74,4	223,6	16,2	44,7	80,9	76,1	28,2	2,7	2,8
R-T2	100,4	277,0	7,4	54,1	93,4	94,5	27,2	3,0	2,7
P1	86,7	262,5	14,9	45,0	64,2	86,4	30,0	2,7	2,0
P2	114,4	290,5	12,4	57,6	101,9	85,8	28,8	3,0	2,0
R-P	70,8	200,8	7,5	39,3	75,2	68,8	29,8	2,0	1,3
T-P	91,9	262,2	9,7	52,5	70,5	94,8	24,6	2,0	1,7
R-T-P	88,8	249,2	8,2	48,2	76,2	92,4	33,1	2,0	1,7

