

Verkefnaskýrsla
24 - 05



Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins

OKTÓBER 2005

Prótein í frárennslisvatni
Forathugun á magni og eiginleikum

Póra Valsdóttir
Katrín Ásta Stefánsdóttir
Sigurjón Arason

Verkefnaskýrsla RF
24-05

Prótein í frárennslisvatni

Forathugun á magni og eiginleikum

Kristín Anna Þórarinsdóttir

Katrín Ásta Stefánsdóttir

Sigurjón Arason

Reykjavík október 2005

Skýrsluágrip Rannsóknastofnunar fiskiðnaðarins

Icelandic Fisheries Laboratories Report Summary



Titill / Title	Prótein í frárennslisvatni		
Höfundar / Authors	Kristín Anna Þórarinsdóttir, Katrín Ásta Stefánsdóttir og Sigurjón Arason		
Skýrsla Rf /IFL report	24-05	Útgáfudagur / Date:	Október 2005
Verknr. / project no.	1593		
Styrktaraðilar / funding:	AVS		
Ágrip á íslensku:	Markmið þessa forverkefnis var að afla grunnupplýsinga um magn og gerð próteina í frárennslisvatni með hugsanlega nýtingu þeirra til manneldis í huga. Frárennslisvatni frá flökunarvél og roðflettivél var safnað, magn þess nam um 12 L/mín við flökun og 13 L/mín við roðflettingu. Samkvæmt því var vatnsnotkun um 0,4-0,5 L/kg afurða ef miðað var við tvö kg fisk og um 50% vinnslunýtingu. Hlutfall þess fiskholds sem tapaðist við flökun var um 0,4% af þyngd hráefnis en um 1,0% töpuðust við roðflettingu. Upplýsingar um eiginleika fiskmassans, m.t.t. möskva-stærðar sigta (0,25-4 mm) og véla, fengust með mælingum á efnainnihaldi, seigju, vatnsheldni og leysanleika próteina, ásamt rafdrætti.		
Lykilorð á íslensku:	Frárennslisli, prótein, fiskur		
Summary in English:	Waste water from filleting and skinning machines was collected, during processing of cod. The flow rate from the filleting machine was 12L/min and 13L/min from the skinning machine. The water collected yielded 0.4-0.5 L/kg of fillets, the average weight of each gutted fish was estimated to be 2 kg and the processing weight to be 50%. The ratio of fish flesh lost during filleting was 0.4% of the weight of gutted fish but 1.0% was lost during skinning. The effects of processing machines and filtration range (0.25-4 mm) on chemical content, viscosity, water holding capacity, solubility and presence of muscle proteins were evaluated.		
English keywords:	Waste water, protein, fish		

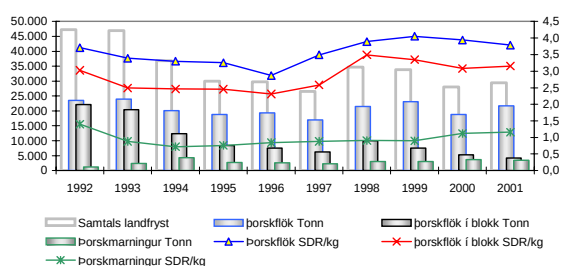
EFNISYFIRLIT

1. INNGANGUR	7
Búnaður til síunar úr frárennslisvatni	7
Eiginleikar einangraðra próteina úr frárennslisvatni	10
2. FRAMKVÆMD	10
Vettvangsferð til Brim	10
Sýnataka hjá Toppfiski	10
Söfnun og síun á vatni	10
Geymsla og greiningar á sýnum	10
Efnamælingar og pH	11
Leysanleiki próteina og Biuret-próteinmæling	11
Rafdráttur (SDS-PAGE)	11
Undirbúningur sýna	11
Rafdráttur sýna	13
Seigjumælingar	13
Vatnsheldnimælingar	13
Litmælingar	13
2. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR	14
Vettvangsferð til Brims á Akureyri	14
Vatnsnotkun við flökun og roðflettingu hjá Toppfiski	14
Áhrif síunar frárennslisvatns á tap fiskholds við flökun og roðflettingu	15
Áhrif möskvastærðar sigtis og staðsetningar í vélum á magn próteina	15
Efnainnihald í fiskmassa	16
Litur og sjónrænt mat	16
Leysanleiki próteina í fiskmassa úr frárennslisvatni	17
Rafdráttur	18
Vatnsheldni (WHC)	19
Seigja	20
4. ÁLYKTANIR	22
Fjárhagslegur ávinningur af einangrun próteina úr frárennsli	23
5. ÞAKKARORÐ	23
6. HEIMILDIR	23

1. INNGANGUR

Á síðustu árum hefur verið lögð áhersla á að fullnýta afla sem berst að landi og á sem hagkvæmastan hátt. Nákvæm stýring á vinnslubúnaði og ferlum miðast við því að hámarka nýtingu hráefnis en eins og staðan er í dag tapast nokkur hluti próteina með frárennslisvatni við vinnslu.

Miðað við mælingar sem gerðar hafa verið á frárennslisvatni úr bolfiskvinnslu gæti próteintap numið um 4-9% af heildarmagni próteina sem fer í gegnum vinnsluna. Gera má ráð fyrir að í frárennslisvatni, sem kemur frá flökun, roðflettingu og snyrtingu, sé próteinstyrkur um 0,4-0,8%. Ef miðað er við 10 ára tímabil af landfrystum þorskafurðum, er magn þeirra að meðaltali um 35 þús. tonn á ári (Mynd 1). Magn próteina sem tapast í frárennslisvatni gæti því verið á bilinu 250-600 tonn á ári miðað við ofangeindar tölur. Það sem hefur áhrif á þurr-efnistap við vinnslu er m.a. ástand hráefnis, þrýstingur og magn vatns sem notað er við vinnslu, og stillingar og gerð vinnslubúnaðar.



Mynd 1. Landfrystar þorskafurðir (skv. upplýsingum frá Hagstofu Íslands).

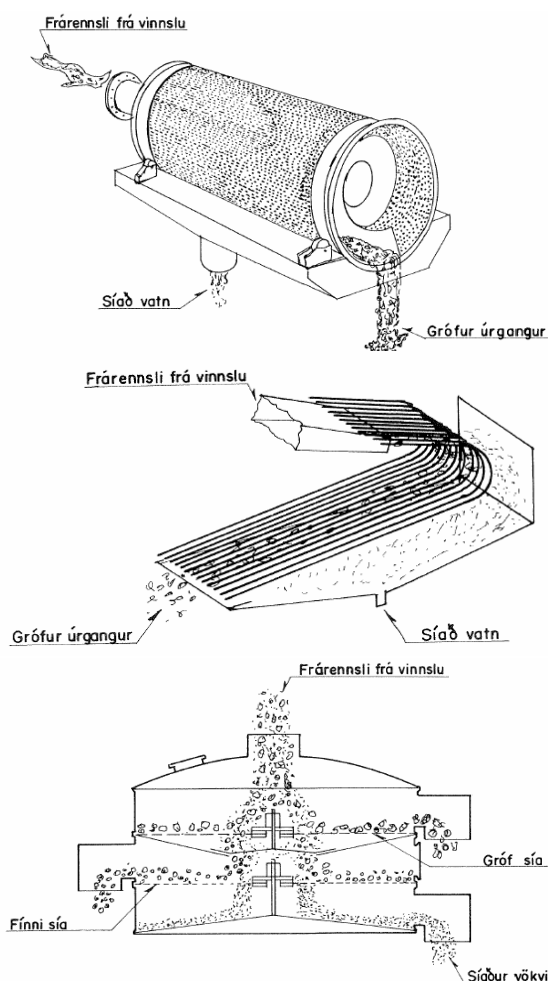
Búast má við breytileika í eiginleikum próteina eftir því hvaðan úr vinnslunni þau koma. Í móttöku má þannig gera ráð fyrir að blóð og slím skolist út í frárennslisvatni en við hausun, flökun og roðflettingu eigi megin tap fiskvöðva sér stað. Vöðvinn er opnaður við flökun og skolaður, um leið geta tægjur og jafnvel bitar af vöðva losnað. Á þessu stigi í ferlinu ættu eiginleikar próteina í frárennslisvatni að vera einna líkastir fiskvöðva, en einangrunaraðferðir geta haft áhrif á eiginleika þeirra.

Búnaður til síunar úr frárennslisvatni

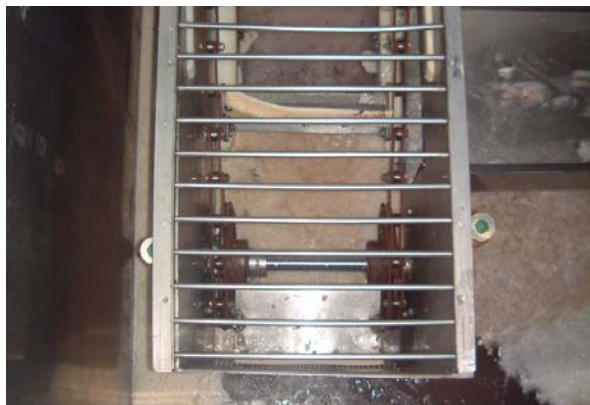
Ýmsar aðferðir má nota til að ná lífrænu efni úr frárennslisvatni. Aðferðirnar byggjast á eigin-

leikum þess massa sem safna á, s.s. stærð agna (síun), eðlisþyngd (skiljun/fleyting/botnfelling) og leysanleika (botnfelling/skiljun). Taka þarf tillit til þess hvort meginmarkmiðið er að skila hreinu frárennslisvatni eða endurheimta nýtanleg verðmæti til manneldis úr vatninu. Það hefur mikið að segja við einangrun á próteinum úr frárennslisvatni hvaða prótein um er að ræða, stærð, lögun og leysanleiki þeirra fer t.a.m. eftir salttyrk og pH.

Gera má ráð fyrir að skipta þurfi einangrunarferlinu í að minnsta kosti tvö skref, annars vegar grófa sigtun sem er fylgt eftir með fínri síun eða öðrum aðferðum til að ná smærri ögnum úr vatninu. Með grófsigtun má ná stærri hlutum, eins og beinum og tægjum úr vatninu, s.s. með hverfisíum, bogasíum og tromlusíum, (Mynd 2 og 3) (Hollustuvernd, 1995). Talið er að ná megi allt að 50% af þurrefni með grófsigtun (Sigurjón Arason og Guðjón A. Auðunsson, 2005).



Mynd 2. Hverfisía (efst), bogasía og hristisía (neðst) til einangrunar á misgrófu efni úr vatni (Hollustuvernd 1995).

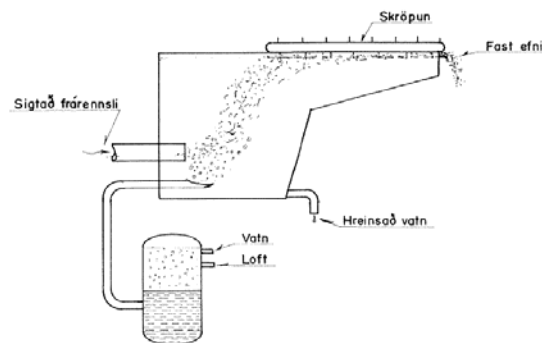


Mynd 3. Tromlusigtun úr frárennslisvatni frá bol-fiskvinnslu og safnaður fiskmassi

Við notkun á bogasíu getur bil milli sigtstanga verið allt að 0,25 mm en hristisigti gefa möguleika á að fara enn neðar (0,1 mm) eftir vali á síum. Tromlur eru með misgrófum götum en hægt er að fá þær með gatastærð niður í 1 mm (Björgvin H. Bjarnason og Erlendur S. Friðriksson, 2000). Tromlusigti hefur t.d. verið beitt á vatn áður en fiskmassinn fer úr húsi en afurðin fer í lífrænan úrgang. Beita þyrfti sigtun fyrr í ferlinu, þ.e. strax við vinnsluvélar til að heilnæmi fiskmassans sé nægilega gott til að nýta megi hann til manneldis.

Þekkt er að nota fleytingu (air floatation), t.d. við fiskimjólframléiðslu til að ná þurrefnum úr blóðvatni (Mynd 4). Loftflæði undir ákveðnum þrýstingi (6 atmosphere) er beitt í vatni til að fleyta þurrefnum upp á yfirborð og þeim síðan fleytt ofan af. Hægt er að nota hjálparefni til að auka hlutfall þeirra efna sem fljóta að yfirborði (Björgvin H. Bjarnason og Erlendur S. Friðriksson, 2000).

Sýnt hefur verið fram á að endurheimta megi prótein úr frárennslisvatni matvælavinnslu, til að mynda með eðlis- og efnafræðilegum aðferðum, þar sem þurrefni eru felld út og með himnusíun (crossflow membranes, charged mem-



Mynd 4. Fleytibúnaður til að minnka þurrefni í frárennsli (Hollustuvernd 1995)

branes) (Almas, 1985; Yaroshchuk og Staude, 1992, Xu o.fl 2001 og 2002). Við botnfellingu er efnisögnum sökkkt með breytingum á sýrustigi og/eða felliefnum. Hannaðir hafa verið sérstakir tankar í þeim tilgangi. Sjá má fyrir sér að nota megi botnfellingu, hugsanlega samhliða skiljun, til að ná próteinum úr vatni ef notuð eru efni eða aðferðir sem ekki hafa neikvæð áhrif á heilnæmi próteinanna.

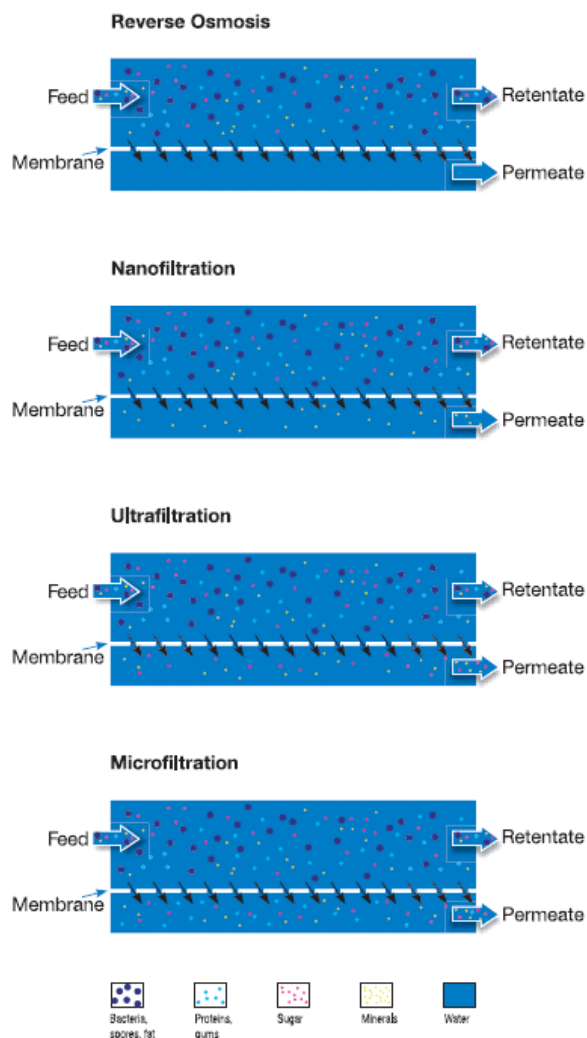
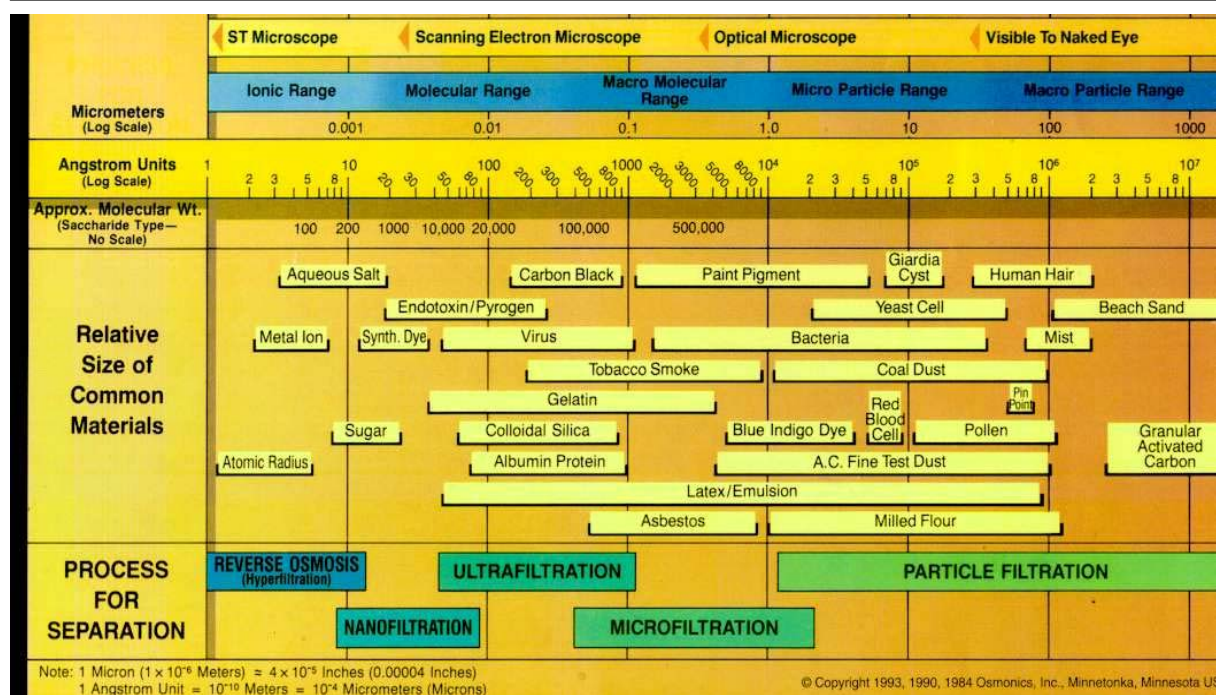
Himnusíun er talin mun álitlegri aðferð en botnfelling og fleyting með tilliti til endurheimta á próteinum og afkasta í vinnslu (Afonso og Bórquez, 2002). Kosturinn er sá að beitt er þrýstingi við einangrun en ekki efnum eða hitun til að ná próteinunum úr vatninu, sem getur reynst árangursríkara með tilliti til eiginleika próteinanna. Vandamálið er hins vegar að próteinin geta bundist eða fest sig við himnurnar og valdið því að þær stíflast. Hægt er að draga úr því með vali á himnum, stefnu flæðis vs. himnu (cross-flow) og fleiri þáttum.

Himnusíun má beita til að ná smærri ögnum og þá einkum þeim sem ekki eru sýnilegar en hana má greina niður í undirflokk; microfiltration (MF), ultrafiltration (UF), nanofiltration (NF) og reverse osmosis (RO) eftir gatastærð í síun sem aftur hefur áhrif á þrýsting og flæðihraða við síun (Tafla 1 og mynd 5). Himnusíun gefur möguleika á að einangra mismunandi prótein eftir stærð og ná þar með próteinum með mismunandi eiginleika.

Himnusíun er notuð í mjólkuriðnaði til að endurheimta prótein, s.s. mysuprótein við osta-

Tafla 1. Flokkun himnusíunar eftir gatastærð og vinnsluþrýstingi (Konefal og Þorkelsson, 2003)

Síun	Gatastærð (m)	Þrýstingur (bör)
Microfiltration	0,1-10 *10 ⁻⁶	0,5-2
Ultrafiltration	1-100 *10 ⁻⁹	1-10
Nanofiltration	1-10 *10 ⁻⁹	7-14
Reverse osmosis	< 1 *10 ⁻⁹	10-70



Reverse osmosis (RO)

Reverse osmosis uses the tightest possible membrane in liquid separation. In principle, water is the only material that can permeate the membrane. All other materials (salts, sugars, etc.) will be unable to pass through.

Nanofiltration (NF)

Nanofiltration is not as fine a separation process as reverse osmosis, and uses membranes that are slightly more open. Nanofiltration allows small ions to pass through while excluding larger ions and most organic components.

Ultrafiltration (UF)

Ultrafiltration involves using membranes in which the pores are larger and the pressure is relatively low. Salts, sugars, organic acids and smaller peptides are allowed to pass, while proteins, fats and polysaccharides are not.

Microfiltration (MF)

In microfiltration, suspended solids, bacteria and fat globules are normally the only substances not allowed to pass through.

Mynd 5. Stærðarflokkun mismunandi agna og mismunandi himnusúnaðferðir [Filtration spectrum 2005 og Membrane filtration 2005].

gerð. Notkun aðferðarinnar í fiskiðnaði hefur verið skoðuð af vísindamönnum en aðeins verið notuð að litlu marki og þá helst í surimiframleiðslu til að endurvinnna vatnsleysanleg prótein úr vinnsluvatni (Afonso og Bórquez, 2002). Rannsóknir hafa verið gerðar á einangrun próteina úr vinnsluvatni surimis með himnusíun (MF og UF). Með því að nota síun með 0,1 nm (100 pm) var hægt að auka hlutfall þurrefna í sigtuðum massa fimmtánfalt eða í um 16% og tæknilegir eiginleikar próteinanna reyndust góðir (Lin o.fl. 1995). Við vötnun á lútfiski tapast töluvert af próteinum en sýnt hefur verið fram á að endurheimta megi um 85% af þeim með UF, sem fylgt er eftir með ísóelektrískri fellingunni og lækun á sýrustigi (Eriksson, 1974). Áhugavert er að skoða einangrun próteina við hefðbundna flakavinnslu en mest er próteintapið talið vera við flökun og roðflettingu þar sem fiskholdið er í raun opnað gagnvart flæði vatns (Matthiasson and Sivik, 1978).

Eiginleikar einangraðra próteina úr frárennslisvatni

Lítið hefur verið gert af því að skoða einangrun próteina úr frárennslisvatni með tilliti til tæknilegra eiginleika þeirra, en þær aðferðir sem notaðar eru skipta miklu máli. Einangraðar afurðir hafa verið nýttar í dýrafóður en gæði þeirra geta einnig verið það mikil að hægt sé að nota þær til manneldis. Það fer þó eftir hvaðan úr vinnslunni vatnið kemur og hvernig meðhöndlun og einangrun á sér stað. Ef nýta á próteinin til manneldis er mikilvægt að gætt sé fyllsta hreinlætis og að allir ferlar miði að því að skila heilnæmum massa með óverulegri skerðingu á tæknilegum eiginleikum próteina. Til að lækka örverufjölda í frárennslisvatni er hægt að beita þrýstingi (100-1000 Mpa) og síðan einangra prótein úr því. Sem dæmi um einangrun þurrefnis í matvælaíðnaði má nefna einangrun þurrefna í eggjaverksmiðju þar sem mælingar voru gerðar á fitu og próteinum. Magn lífsnauðsynlegra aminosýra var í sama hlutfalli og í eggjum og meltanleiki próteina var góður (Xu o.fl. 2001 og 2002). Ávinningur þess að einangra þurrefni eða prótein úr frárennslisvatni ekki aðeins í bættri nýtingu hráefna, frárennslis-

vatnið verður einnig hreinn og má jafnvel endurnýta það í vinnslunni.

2. FRAMKVÆMD

Vettvangsferð til Brims hf

Farið var í vettvangsverð í Brim hf, til að skoða aðstæður og funda með hlutaðeigandi aðilum. Vinnslan var skoðuð og jafnframt hvernig frárennslismálum var háttað.

Sýnataka hjá Toppfiski

Tilraun með síun á frárennslisvatni var framkvæmd hjá Toppfiski, 12. júlí 2004. Hráefnið sem unnið var á þeim tíma var þorskur (2,5-3,5 kg) sem hafði verið veiddur í dragnót á skipinu Agli Halldórssyni 9. júlí 2004. Fiskurinn var geymdur í ís frá veiði. Frárennslisvatn var síað og próteinmassi tekin til greininga. Auk þess voru tekin flök af þeim fiski sem unninn var við söfnun.

Söfnun og síun á vatni

Vatni sem rann frá vélum var safnað í 30 L plastkassa sem staðsettir voru undir flökunarvél í framhaldi af hausara og roðflettivél (Baader 184). Við endann var roðum og vatni safnað í 40 L plasttunnu (Tafla 2 og mynd 6).

Söfnun tók um 2,5 mín. frá roðflettivél, en safnað var þrisvar til að fá fiskmassa í mælingar. Söfnun frá flökunarvél tók um 7,5 mín. en safnað var tvisvar frá henni. Mælingar voru gerðar á magni vatns, tíma og fjölda roða sem safnaðist í hvert ílát. Síun var framkvæmd með hringlaga sigtum (þvermál 20,3 cm), síunarflötur var 0,032 m² en möskvastærð nets í botni var mismunandi (0,25, 0,5, 1, 2 og 4 mm) (Mynd 7).

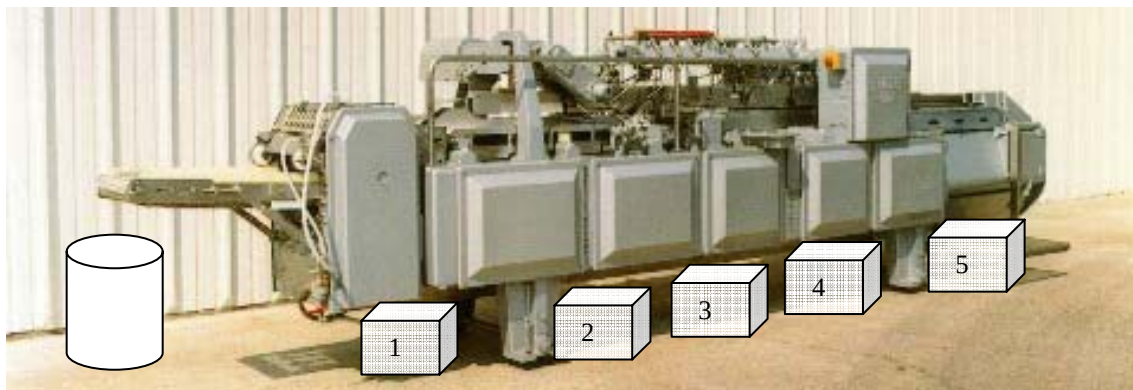
Sigtin voru látnar standa í um tvær mín. á gólfinu áður en þau voru vegin. Vatnssýnið var tekið þegar búíð var að sía frárennslisvatnið gegnum öll sigtin. Hrært var vel í vatninu til að leitast við að gera það sem einsleitast áður en vatnssýni var tekið.

Geymsla og greiningar á sýnum

Sýnin voru fryst strax og geymd við -24°C þar til mælingar (Tafla 3) fóru fram. Þau voru þídd upp við stofuhita yfir nótt fyrir mælingu.

Tafla 2. Staðsetning plasttunnu og plastkassa:

Plasttunna	Kassi 1	Kassi 2	Kassi 3	Kassi 4	Kassi 5
Roð- og vatnssöfnun	Undir hjól	Efra hnífapar	Á milli hnífapara	Neðra hnífapar	Hjól eftir hausara



Mynd 6. Staðsetning tunnunar og kassa undir vinnsluvélum



Mynd 7. Sigt notað til síunar á fiskmassa úr frárennslisvatni.

Takmarkandi þættir við seigjumælingar voru þurrefnisinnihald og tægjur og bein í sýnum úr grófustu (4 mm) sigtuninni. Þeim sýnum var sleppt ásamt sýnum sem innihéldu minna en 16% þurrefni. Einnig voru gerðar þurrefnismælingar á vatni eftir síun.

Efnaæmælingar og pH

Vatnsinnihald (g/100g) var metið út frá massatapi við þurrkun sýnis í fjórar klukkustundir við 105°C (ISO, 1983). Próteinmagn var ákvarðað með aðferð Kjeldahls (ISO, 1987).

Sýrustig var mælt fyrir og eftir geymslu í frosti með stunguelektroðu (Mettler Toledo - SE 104 combination electrode) sem tengd var Knick Portamess sýrustigsmæli (Knick, Berlín, Þýskaland).

Leysanleiki próteina og Biuret-próteinmæling

Leysanleiki próteina var ákvarðaður í þíddum sýnum eftir geymslu í frosti, með 1M LiCl útdrætti, 0,15 M KCl útdrætti og eimuðu vatni. Sýni (10 g) og lausn/vatn (190 mL) var sett í blandara (Ultra Turrax mixer, T25, IKA, Labor-technik, Þýskaland) á hraðanum 8.000 snún/

mín. í 20 sek (Kelleher og Hultin 1991). Einnig voru gerðar mælingar á leysanleika próteina í vatni þar sem hlutfall vatns og sýna var stillt af með tilliti til þess að heildarmagn próteina (skv. Kjeldahl) í 200 mL, væri það sama í öllum hópum eða 8 mg/mL.

Lausnir voru geymdar í eina klst. á ís og síðan var vökvi aðskilinn frá yfirborðsfroðu og settur í skilvindu (Sorvall RD-5B, Du Pont Instruments, Frakkland) í 15 mín við 16.000 x g (10.000 snún/mín.) og 0-5 °C. Sýni voru geymd á ís þar til Biuret próteinmæling (Torten og Whitaker 1964, Layne 1957) var framkvæmd til greiningar próteininnihalds í floti (Sólveig Ingólfsdóttir, 1996). Ljósgleypni var mæld við 540 nm í DMS 80 ljósgleypnimæli (Varian Techtron Pty. Limited, Mulgrave, Ástralía).

Leysanleiki próteina í 200 mL lausn var reiknaður á tvennan hátt, sem hlutfall af heildarmagni próteina (%) og sem hlutfall af magni sýnis (mg/g sýni):

$$\text{Leysanleik i próteina (\%)} = \frac{\text{Uppleyst prótein í lausn (skv. Biuret)}}{\text{Heildarpróteinmagn (skv. Kjeldahl) í 200 mL lausnar}}$$

$$\text{Leysanleiki próteina (mg / g sýnis)} = \frac{\text{Magn uppleystra próteina skv. Biuret (mg / mL)} * 200 \text{ mL}}{\text{Magn sýnis (g) í 200 mL lausnar}}$$

Rafdráttur (SDS-PAGE)

Undirbúningur sýna

Sýni voru rafdreigin eftir þrenns konar meðhöndlun:

1. próteinflot úr mælingum á leysanleika - notað beint í rafdrátt
2. sýni voru þynnt með vatni þannig að próteinstyrkur náði 1,6%
3. sýni voru blönduð með vatni (10 g :190 mL) en skilvindun fyrir suðu sleppt.

Í lið 2 voru notuð sýni af fiskmassanum og úr fiskflaki sem tekið var úr vinnslu á sama tíma og söfnun á frárennslisvatni stóð yfir. Í stað þess að nota fast hlutfall af sýni á móti vatni, eins og

Tafla 3. Sýni og mælingar á fiskmassa við síun á frárennslisvatni

Sýni	Vatn (%)	Prótein (%)	WHC (%)	Litur	pH	Prótein (Biuret)	Seigja (Bohlin)	Seigja (Brabender)	Raf-dráttur	Leysanl. LiCl	Leysanl. KCl	Leysanl. vatn
Fiskflak	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Fiskmassi frá flökunarvél												
Sigt. 0,25 mm	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x
Sigtað 0,5 mm	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x
Sigtað 1 mm	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sigtað 2 mm	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sigtað 4 mm	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x
Fiskmassi frá roðflettivél*)												
Sigt. 0,5 mm	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sigtað 1 mm	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sigtað 2 mm	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sigtað 4 mm	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x

*) Sýni frá roðflettivél = R-sýni

gert var við mælingar á leysanleika, var próteinstyrkur stilltur af (1,6%) með því að þynna sýnin með vatni. Sýni voru blönduð í Ultra Turrax blandara (T25, IKA, Labortechnik, Þýskaland) á hraðanum 8.000 snún/mín. í 30 sek. Lausnin var geymd í eina klst. á ís og síðan var vökvinn aðskilinn frá yfirborðsfroðu og settur í skilvindu (Sorvall RD-5B, Du Pont Instruments, Frakkland) í 15 mín. við 16.000 x g (10.000 snún/mín.) og 0-5 °C.

Í lið 3. voru notuð sýni blönduð með vatni (10 g: 190 mL) í Ultra Turrax blandara á sama hátt og áður. Hins vegar voru sýni tekin strax af vökvu í rafdrátt í stað þess að skilvinda hann fyrst eins og gert var í mælingum á leysanleika (liður 1). Aðeins voru tekin sýni af 0,25 mm (~0,3 mg/ml), 0,5 mm (~0,2 mg/ml) og 2 mm (~0,1 mg/ml) fiskmassa og af flaki (~1,3 mg/ml). Tölur innan sviga gefa til kynna próteinstyrk eftir blöndun með vatni.

Rafdráttur sýna

Sýnin voru blönduð með Laemmli-sýnabuffer (Bio-Rad, 62,5 mM Tris-HCl (pH 6,8), 25% glycerol, 2% SDS, 0,01% bromophenol blue) og 5% β-mercaptoethanol (v:v) bætt í. Hlutföll voru 100 µL sýni: 190 µL sýnabuffer : 10 µL β-mercaptoethanol. Eftir blöndun á hristara í 2-5 sek. voru sýnin sett í sjóðandi vatn í 5 mín. og síðan kæld strax á ís. Eftir suðu voru sýnin skilvinduð (Centrifuge 5415, Eppendorf, Hamburg, Germany) við 11.758 x g (12.000 snún/mín.) í 15 mín.

Rafdráttur var framkvæmdur á 4-15% Tris-HCl geljum (Bio-Rad, Ready Gel Precast Gels) í Mini Protean II (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK). Samsetning keyrslubuffers var samkvæmt Laemmli-aðferð (Laemmli 1970). Nákvæmlega 10 µL af soðnum sýnum var sprautað í hvern bolla (rás) á gelunum með Hamilton sprautu (Hamilton Company, Bonaduz, Switzerland). Í ystu rásunum á hverju geli voru keyrðir próteinstaðlar (Bio-Rad, unstained SDS-PAGE standards): Myosin 200 kDa, β-galactosidase 116,250 kDa, phosphorylase b 97,4 kDa, bovine serum albumin (BSA) 66,2 kDa, ovalbumin 45 kDa, carbonic amylase 31 kDa, trypsin inhibitor 21,5 kDa, lysozyme 14,4 kDa og aprotinin 6,5 kDa.

Próteinin voru rafdregin við 200 V spennu en straumur/gel var 60 mA. Rafdráttur tók um 40 mín. eða þar til próteinbönd höfðu dregist nægilega vel yfir gelið. Eftir rafdrátt voru gelin

sett í 3% TCA lausn í 15 mín. á hristara, síðan lituð í 0.1% (w/v) Coomassie brilliant blue litunarlausn (45% methanol, 7% acetic acid) í 30 mín. á hristara. Aflitað var þrisvar (3*20 mín.) í aflitunarlausn (45% methanol, 7% acetic acid) á hristara.

Gelin voru mynduð (Multi-Analyst version 1.1, Bio-Rad Laboratories, Inc., Herts, UK) og próteinbönd ákvörðuð með samanburði við staðlaraðir (GelCompar II 1.01, Applied Maths BVBA, Kortrijk, Belgium). Línulegt samband milli mólþunga staðla og staðsetningar í geli var notað til að greina mólþunga próteinbanda í sýnum.

Seigjumælingar

Til seigjumælinga voru tekin öll sýni með 6% þurrefnisinnihald eða meira, fyrir utan sýni úr 4 mm sigtun þar sem tægjur trufluðu mælingu. Áður en mæling var framkvæmd var þurrefnisinnihald stillt af í 6% eða 94% vatnsinnihald, út frá vatnsmælingum sem gerðar höfðu verið á sýnunum. Ein mæling var gerð á hverju sýni.

Seigja var mæld með *Bohlin BV88 viscometer* (Bohlin Instruments, Cirencester, England) við 25 °C, hraðastillingu 8, kerfi (system switch) 6 and spindil C30. Seigja var mæld í 150 mL bikarglasi, en magn sýnis var 100 g.

Seigja var einnig mæld með *Brabender® Viscograph E coaxial viscometer* (Brabender® OHG, Duisburg, Germany) við hitun. Hitastig í byrjun var 25 °C, en meðan á mælingu stóð var sýnið hitað um 1.5 °C/mín. þar til 85°C var náð. Sýni var haldið við 85°C í 5 mín. „Measuring cartridge“ var 700 cmg (0.7 Nm) og snúningshraði 75 snún/mín. Magn sýnis í mælingu var 300 g.

Vatnsheldnimælingar

Notuð var aðferð sem lýst hefur verið af Eide og fleirum (1982). Magn sýna, sem vigtað var nákvæmlega í hvert glas, var um tvö g. Við keyrslu var hraði stilltur á 210 x g (1300 snún/mín.), hiti á 0-5 °C en tímalengd hverrar keyrslu var 5 mín. (Sorvall type RC-5B, Dupont Company, USA). Vatnsinnihald sýnis fyrir keyrslu, ásamt þyngdartapi voru notuð til útreikninga á vatnsheldni:

$$WHC (\%) = \frac{\text{Magn vatns í sýni fyrir keyrslu (g)} - \text{Þyngdartap við keyrslu (g)}}{\text{Magn vatns í sýni fyrir keyrslu (g)}} * 100$$

Litmælingar

Sýni voru litmæld eftir geymslu í frosti með Minolta CR-300 Chroma meter (Minolta Cam-

era Co., Ltd., Osaka, Japan) í Lab* mælikerfi (CIE 1976) með CIE Illuminant C. Hætt var upp í sýnum til að gera þau sem einsleitust og ákveðið magn sett í tilraunaglös (2,5 cm í þvermál), hæð sýnis í glasi var um 10 cm. Glösin voru hrist á vortex hristara í 15 sek og síðan sett í sérstakan sýnahaldara (Minolta CR A70, Minolta Camera Co., Ltd., Osaka, Japan) til mælinga. Niðurstöður voru gefnar í L^* (0 = svartur, 100 = hvítt), a^* (+ gildi = rauður litur, - gildi = grænn) og b^* (+ gildi = gulur litur, - gildi = blár) gildum.

3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR

Vettvangsferð til Brims á Akureyri

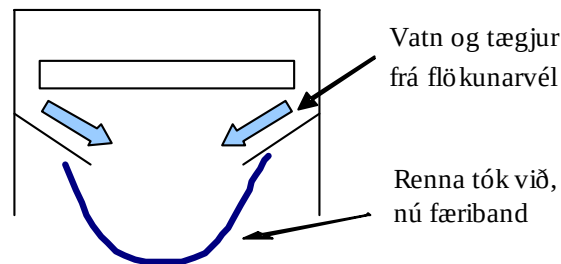
Byrjað var á því að skoða vinnslusalinn hjá Brimi, áhersla var lögð á flökunar- og roðflettivélar. Fisktægjur og stærri hlutar töpuðust frá vélum og í gegnum færribönd. Gólfíð var þakið í fisktægjum sem síðan fóru í rennur (Mynd 8). Áður en frárennslisvatn fór út úr húsi fór það í gegnum gildru þar sem stærstum hluta fisktægja var safnað og þær síðan settar í lífrænan úrgang. Vatnsnotkun per vél var áætluð um 30 L/mín en afköst voru áætluð um 30 fiskar á mín. Samkvæmt því var **vatnsnotkun um 0,5 L/kg** hráefnis og **1 L/kg afurðar**, miðað við tveggja kg meðalpunga á slægðum fiski og 50% vinnslunýtingu (Tafla 4).



Mynd 8. Tap fiskmassa við vinnslu bolfisks hjá Brim hf.

Tafla 4. Áætluð vatnsnotkun við flökun og roðflettingu

Vatnsnotkun	Roðflettivél	Flökunarvél
L/mín	13,0	11,9
L/fisk	0,45	0,40
L/kg (m.v. 2 kg fisk)	0,24	0,20
L/ kg afurða (m.v. 50% vinnslunýtingu)	0,45	0,40



Mynd 9. Skýringarmynd m.t.t. próteintaps frá flökunarvél

Fram kom að aðalvandamálið fælist í því að safna fisktægjum áður en þær lenda á gólfi og fara í frárennsli. Auðveldlega má ná vatni frá roðflettivélum en hins vegar hafa verið gerðar breytingar hvað flökunarvélur varðar sem torvelda söfnun. Auðvelt ætti þó að vera að koma fyrir rennu til þess að framkvæma tilraun, þ.e. safna frárennsli frá flökunarvél og kanna magn próteina. Áður rann vatn og fiskhlutar frá vélum eftir rennu en nú eru notuð færribönd til að taka við fiskhlutum, sem þýðir að vatnið rennur í gegnum færriböndin (Mynd 9). Tægjur sem fara með skolun nást en ekki það sem fer út af vélum.

Breytileiki vegna mismunandi véla var ekki talinn mikill í vinnslu Brims á Akureyri. Aðrir áhrifaþættir gátu verið aldur hráefnis (geymslútími fyrir vinnslu) og stærð fiska. Fyrir lá hvaðan aflinn var og aldur hans, á hverjum vinnsludegi. Hins vegar blandaðist fiskurinn við hausun og stærðarflokkun en það kom í veg fyrir að hægt væri að fylgja hverju kari eftir í gegnum vinnsluna. Ákveðið var að safna frá einni vél á ákveðnum tíma þar sem upplýsingar um hráefni og vinnsluna yrðu skráðar. Við söfnun yrði aðeins notuð gróf sigti.

Vatnsnotkun við flökun og roðflettingu hjá Toppfiski

Afköst í flökun og roðflettingu voru 26-30 fiskar á mínútu á því tímabili sem safnað var. Vatnsmagn sem safnaðist frá flökunarvél og roðflettivél, nam um 0,40 L/fisk við flökun en 0,45 L/fisk við roðflettingu. Ef miðað var við að meðalþyngd slægðs fisks væri um tvö kg og vinnslunýtingu um 50% myndi það samsvara um 0,40 og 0,45 L/kg afurðar. Afköstin voru svipuð og hjá Brimi (30 fiskar á mín.) en safnað vatnsmagn hjá Toppfiski var aðeins um helmingur þess magns sem áætlað er að hafi verið notað per kg afurða hjá Brimi. Ekki náðist allt vatn sem rann frá vélum Toppfisks en með

fullkomnari útfærslu á söfnunarbúnaði væri hægt ná meira vatni.

Áhrif síunar frárennslisvatns á tap fiskholds við flökun og roðflettingu

Mælingar á magni og próteininnihaldi fiskmassa og frárennslisvatns eftir síun voru notaðar til að meta hlutfall próteina í vatninu fyrir síun og heimtur við síun. Hlutfall próteina í frárennslisvatni fyrir síun var um 0,3% frá flökunarvél en um 0,7% frá roðflettivél. Heimtur próteina við síun þurrefnis reyndust um 37,7% úr vatni frá flökunarvél og um 62,5% úr vatni frá roðflettivél (Tafla 5). Við síun á vatni frá flökunarvél voru notuð 0,25-4 mm sigti en 0,5-4 mm sigti fyrir vatn frá roðflettivél. Sú nálgun var gerð að meta allt köfnunarefni sem prótein en hluti þess hefur verið tilkomið vegna niðurbrotsefna, s.s. TVN og frírra aínósýra.

Samkvæmt vatnsmælingum sem gerðar voru á frárennslisvatni eftir síun var þurrefnisinnihald um 0,1-0,2% í vatni frá flökunarvél en 0,2-0,3% í vatni frá roðflettivél. Það var svipað og mælingar á próteininnihaldi sýndu en stærstur hluti þurrefnis í fiskholdi var prótein.

Tap fiskholds miðað við hráefnis- og afurðamagn var metið út frá vinnsluafköstum á söfnunartíma og mældu efnainnihaldi síaðs fiskmassa og flaka sem unnin voru á meðan söfnun stóð. Þessir útreikningar gáfu vísbendingu um að um 1,4% af hráefni geti tapast við flökun og roðflettingu sem samsvarar því að um 2,6% af afurðum séu að tapast við ferlið. Mun hærri hlutfall fiskvöðva tapaðist við roðflettingu en flökun (Tafla 6).

Samkvæmt fyrri úttektum hefur verið talið að 1,5-5% af því hráefni sem unnið er í landi geti skolest út í frárennslisvatni (Hafsteinn Helgason, 1994). Bent hefur verið á að magn og samsetning fiskmassa í frárennslis sé háð mörgum þáttum og því erfitt að yfirfæra magntölur á milli framleiðsluaðila og það gildir jafnvel um mismunandi vinnsludaga hjá sama fyrirtæki. Vatnsnotkun, vatnsprýstingur, ástand hráefnis og vélbúnaðar ásamt afköstum við vinnslu geta verið áhrifabættir.

Áhrif möskvastærðar sigtis og staðsetningar í vélum á magn próteina

Áhrif staðsetningar og möskvastærðar sigtis á magn fiskholds var metið út frá magni próteina á hverjum stað. Með því móti var leiðrétt fyrir vatnsinnihaldi sem var breytilegt eftir möskvastærð. Yfir helmingur próteina í síaða fiskmassanum náðist með síun í grófasta sigtið (4 mm) og í 1-4 mm sigti náðust um 85-90% próteina (Tafla 7).

Mest safnaðist af próteinum undir efra hnífapari, þegar búið var að skera flökin alveg frá hrygg, eða um 56%. Ef skipting próteina í þessum flokki var skoðuð eftir möskvastærð sást að um 67% náðust með grófasta sigtinu (4 mm) en aðeins um 8,3 % í 0,25 og 0,5 mm sigti (Tafla 8). Niðurstöður sýndu að meginhluti próteina sem næst með 0,25-4 mm sigtum, skilar sér í 1-4 mm sigtum. Hafa ber í huga að grófasti massinn gat innihaldið bein og tægjur sem nauðsynlegt gæti reynst að hreinsa frá fyrir frekari vinnslu fiskmassans.

Tafla 5. Hlutfall próteina í frárennslisvatni fyrir og eftir síun, ásamt heimtum við sigtun.

	Flökunarvél	Roðflettivél
Prótein í frárennslisvatni fyrir síun (%)	0,3	0,7
Prótein í frárennslisvatni eftir síun (%)	0,2	0,3
Heimtur próteina við sigtun (%)	37,7%	62,5

Tafla 6. Tap fiskvöðva í frárennslisvatni fyrir og eftir síun vatns, miðað við magn hráefnis og afurða

		Flökunarvél	Roðflettivél
Fyrir síun	Tap fiskvöðva m.v. magn hráefnis (%)	0,4	1,0
Fyrir síun	Tap fiskvöðva m.v. magn afurða (%)	0,7	1,9
Eftir síun	Tap fiskvöðva m.v. magn hráefnis (%)	0,2	0,4
Eftir síun	Tap fiskvöðva m.v. magn afurða (%)	0,5	0,7

Tafla 7. Hlutfallsleg skipting (%) próteina eftir möskvastærð sigta, fyrir flökunarvél er 0,25 mm sigtum sleppt í öðru tillitinu til samanburðar við skiptingu frá roðflettivél.

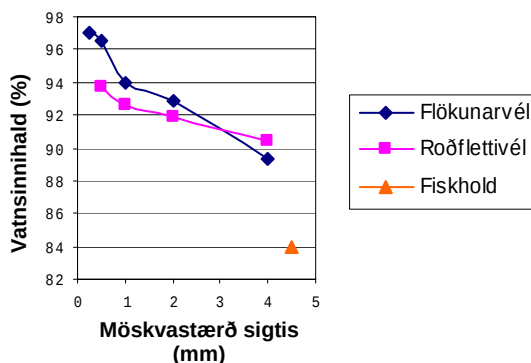
Möskvastærð sigta	0,25 mm	0,5 mm	1 mm	2 mm	4 mm
Flökunarvél (0,25-4 mm)	6,4	8,9	18,5	12,3	53,9
Flökunarvél (0,5-4 mm)		9,5	19,7	13,2	57,6
Roðflettivél (0,5-4 mm)		11,0	10,3	14,0	64,8

Tafla 8. Hlutfallsleg skipting (%) próteina eftir möskvastærð og staðsetningu í flökunarvél

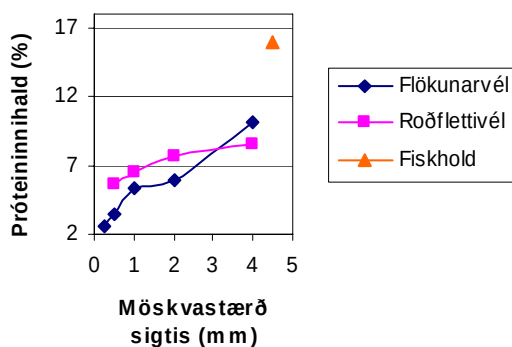
Möskvastærð (mm)	Milli hausara og neðra hnífapars	Neðra hnífapar	Á milli hnífapara	Efra hnífapar	Undir hjóli fyrir roðflettingu
0,25	10,6	9,2	12,3	3,6	5,1
0,50	16,6	16,0	16,1	4,7	5,0
1	17,2	25,0	25,1	13,7	34,6
2	14,6	14,1	12,2	11,1	15,7
4	41,0	35,7	34,2	67,0	39,6
Hlutfallsleg skipting (%) eftir staðsetningu	12,6	8,7	15,1	55,7	7,8

Efnainnihald í fiskmassa

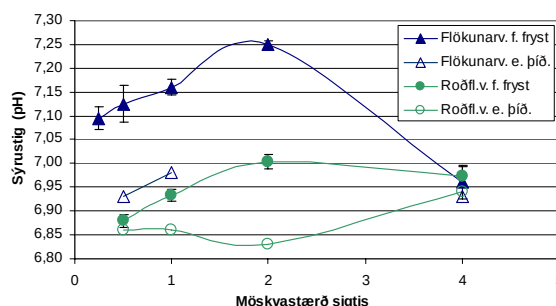
Vatnsinnihald fór hækkandi með minnkandi möskvastærð sigtis og próteininnihald minnkandi (Mynd 10 og Mynd 11). Mælingar voru einnig gerðar á fiskflaki sem safnað var á sama tíma. Vatnsinnihald var mun herra í sigtaða fiskmassanum (90,4-97,0%) en í fiskvöðva (84,0%), þar sem ekki náðist að sigta allt frárennslisvatnið frá. Próteininnihald var þar af leiðandi lægra (2,6-10,1%) heldur en í fiskvöðva (16,0%).



Mynd 10. Vatnsinnihald í sigtuðum fiskmassa úr frárennslisvatni og fiskflaki úr sama hráefni.



Mynd 11. Próteininnihald í sigtuðum fiskmassa úr frárennslisvatni og fiskflaki úr sama hráefni.

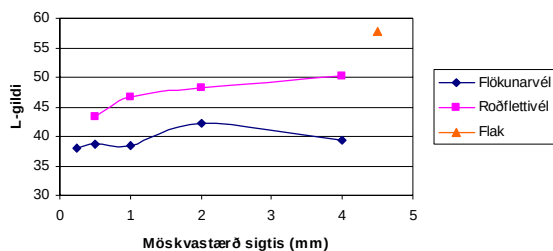


Mynd 12. Sýrustig í fiskmassa fyrir og eftir frystingu

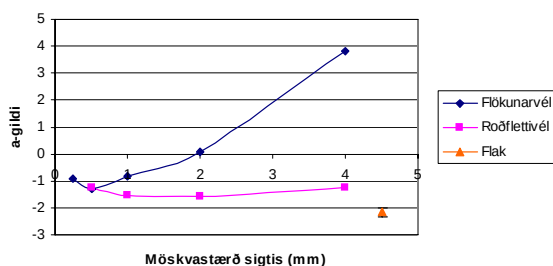
Sýrustig var breytilegt, bæði eftir möskvastærð sigtis og eftir því frá hvaða vél það var tekið. Frysting á sýnum leiddi til lækkunar á sýrustigi (Mynd 12). Undantekning frá þessu voru sýni úr sigtum með 4 mm möskvastærð, sýrustig var svipað í öllum sýnum, óháð frystingu og vél. Áhrif frystingar á sýrustig í hreinum fiskvöðva reyndust einnig óveruleg, pH mældist 6,40 fyrir frystingu og 6,44 eftir þiðingu. Sýrustig hreins vatns í vinnslunni reyndist vera um 9,08. Mælingar á vatni eftir síun sýndu að pH í vatni frá flökunarvél var um 7,01-7,09 og um 6,85-6,88 í vatni frá roðflettivél. Þetta var í samræmi við niðurstöður mælinga á fiskmassanum, þ.e. að sýrustig fiskmassa frá roðflettivél var almennt lægra nema fyrir sýni úr sigti með 4 mm möskvastærð.

Litur og sjónrænt mat

L*-gildi var mælt, til að meta hvítan blæ á sýnum. Fiskmassinn var ekki eins hvítur að lit og hreinn fiskvöðvi og einnig var munur á milli véla (Mynd 13). Fiskmassi frá roðflettivél var ekki eins hvítur og fiskmassi frá flökunarvél. Skýringin gæti að hluta til verið sú að það lag sem næst liggur roði er venjulega ekki eins hvítt og sá hluti flaksins sem næstur er hrygg. Hugsanlega hefur vatnið heldur ekki verið eins tært þar sem roð lá í vatninu þar til síað var.



Mynd 13. L* gildi úr litmælingu á fiskflaki og fiskmassa úr síun frárennslisvatns frá flökunarvél og roðflettivél.

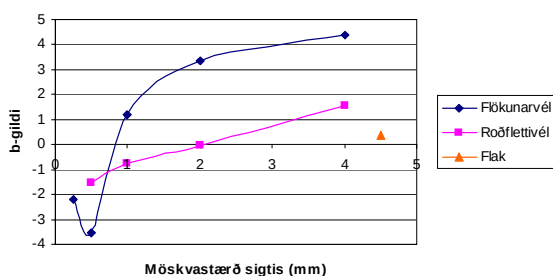


Mynd 14. a* gildi úr litmælingu á fiskflaki og fiskmassa úr síun frárennslisvatns frá flökunarvél og roðflettivél.

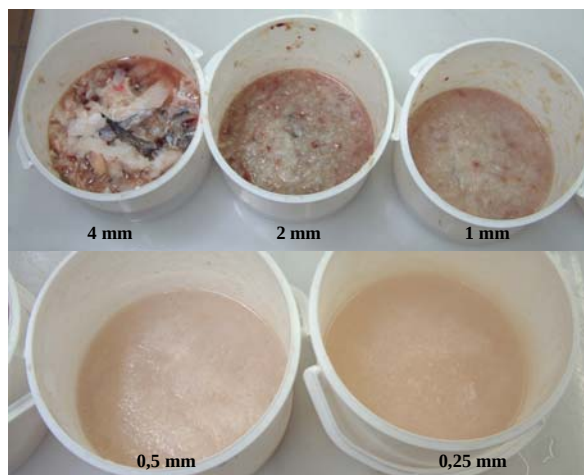
Breyting á L*-gildi eftir möskvastærð var svipuð í sýnum frá báðum vélum.

Munur á a*-gildum fiskmassa frá flökunarvél og roðflettivél jókst eftir því sem möskvastærð sigta var meiri (Mynd 14). Hækkandi a*-gildi þýddi að rauður litur var meira ríkjandi í fiskmassanum. Við mælingar sást að meira var af blóðtægjum og hugsanlega innyflaleifum í sýnum frá flökunarvél sem skýrði af stærstum hluta aukningu í a*-gildi fyrir sýni úr 2 og 4 mm sigtum. Aftur á móti var fiskmassi frá roðflettivél mun líkari fiskflaki.

Hækkun varð á b*-gildi með möskvastærð sigta bæði í fiskmassa frá roðfletti- og flökunarvél en það var hærra fyrir flökunarvél. Hátt b*-gildi gaf til kynna gulán blá en lágt að bláleitari litur væri meira ríkjandi. Líklegt er að vatnsinnihald hafi áhrif á niðurstöður og einnig hve samfelldur vöðvinn er (Mynd 15).



Mynd 15. b* gildi úr litmælingu á fiskflaki og fiskmassa úr síun frárennslisvatns frá flökunarvél og roðflettivél.

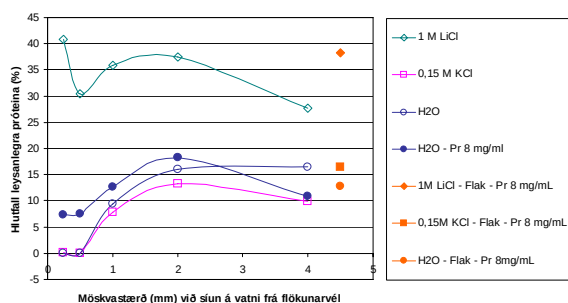


Mynd 16. Fiskmassi sem sigtaður var úr frárennslisvatni frá flökunarvél, sigti með 0,25 – 4 mm möskvastærð voru notuð.

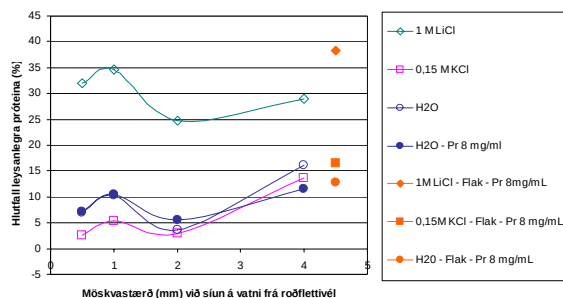
Í grófasta sigtið (4 mm) kom nokkuð af uggum, himnum og beinum eins og sjá má á myndum af sýnunum. Fiskmassi úr sigtum með 1-4 mm möskvastærð var nokkuð blóðlitaður en eftir finni sigtun (0,25-0,5 mm) voru sýnin mun hvítari og fiskmassinn var samfelldari og gelkenndari (Mynd 16).

Leysanleiki próteina

Leysanleiki próteina í fiskmassanum var mun meiri í 1 M LiCl lausn (25-40%) en í 0,15M KCl lausn (0-15%) og vatni (0-20%). Þetta átti við bæði um vatn frá flökunarvél og roðflettivél (Mynd 17 og Mynd 18). Leysanleiki próteina í fiskflaki var einnig mestur í 1 M LiCl (38,3%) en 16,5% í 0,15 M KCl lausn og 12,7% í vatni. Tilhneiging var til hækkandi leysni með aukinni möskvastærð, frá 0,5 mm til tveggja mm, í vatni frá flökunarvél. Leysanleiki próteina í 1 M LiCl lausn virtist þó mestur hjá



Mynd 17. Hlutfall (%) leysanlegra fiskpróteina í fiskflaki og síuðum fiskmassa úr frárennslisvatni frá flökunarvél í 1 M LiCl, 0,15 M KCl og í eimuðu vatni (10 g : 190 mL) Auk þess var gerð mæling þar sem heildarmagn próteina (skv. Kjeldahl) var stillt af í 8 mg/mL í öllum hópum sem var sama próteininnihald og við mælingar á flaki.



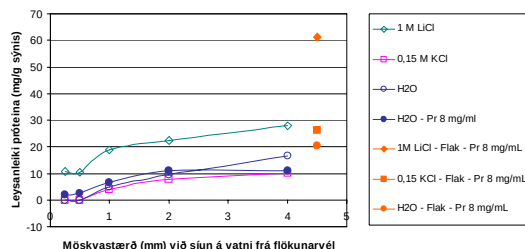
Mynd 18. Hlutfall (%) leysanlegra fiskpróteína í fiskflaki og síuðum fiskmassa úr frárennslisvatni frá roðflettivél, í 1 M LiCl, 0,15 M KCl og í eimuðu vatni (10 g : 190 mL). Auk þess var gerð mæling þar sem heildarmagn próteína (skv. Kjeldahl) var stillt af í 8 mg/mL í öllum hópum sem var sama próteininnihald og við mælingar á flaki.

Tafla 9. Styrkleiki próteína (mg/ml) í lausn eftir blöndun sýnis við vatn í hlutfallinu 10 g : 190 mL

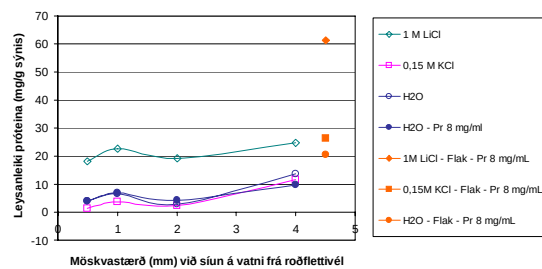
Möskvastærð (mm)	0,25	0,5	1	2	4
Sýni frá flökunarvél	1,3	1,7	2,65	3	5,05
Sýni frá roðflettivél		2,85	3,25	3,85	4,25

fiskmassa sem sigtaður var með 0,25 mm sigti. Þó ber að geta þess að ekki var hægt meta leysanleika í vatni (H₂O) og 0,15 M KCl í fiskmassa úr 0,25 og 0,5 mm sigtum, sökum lágs próteininnihalds (Tafla 9), nema þar sem heildarmagn próteína í lausn var stillt af í 8 mg/mL eftir blöndun.

Leysanleiki próteína í vatni frá roðflettivél var einnig skoðaður m.t.t. möskvastærðar. Það sem var einkum ólíkt próteinum frá flökunarvél var að leysni féll í tveggja mm hópnum í öllum lausnum (Mynd 18). Einnig virtist hámarksleysni próteína í fiskmassa frá roðflettivél vera minni heldur í en fiskmassa frá flökunarvél.



Mynd 19. Leysanleiki próteína (mg/g sýnis) í fiskflaki og síuðum fiskmassa úr frárennslisvatni frá flökunarvél í 1 M LiCl, 0,15 M KCl og í eimuðu vatni (10 g : 190 mL). Auk þess var gerð mæling þar sem heildarmagn próteína (skv. Kjeldahl) var stillt af í 8 mg/mL í öllum hópum sem var sama próteininnihald og við mælingar á flaki.



Mynd 20. Leysanleiki próteína (mg/g sýnis) í fiskflaki og síuðum fiskmassa úr frárennslisvatni frá roðflettivél, í 1 M LiCl, 0,15 M KCl og í eimuðu vatni (10 g : 190 mL). Auk þess var gerð mæling þar sem heildarmagn próteína (skv. Kjeldahl) var stillt af í 8 mg/mL í öllum hópum sem var sama próteininnihald og við mælingar á flaki.

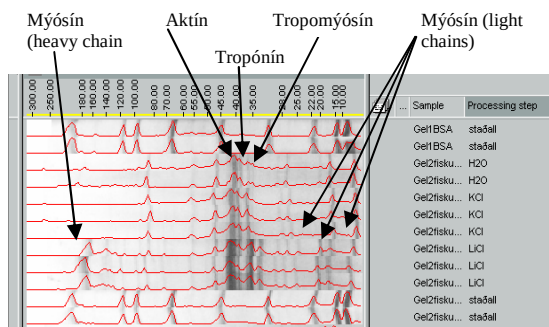
Þegar leysanleiki var metinn sem mg/g sýnis (Mynd 19 og Mynd 20), hafði vatnsinnihald í fiskmassa áhrif á niðurstöður og fór leysanleiki lækkandi með hækkandi vatnsinnihaldi í sýnum frá flökunarvél ($r^2 = -0,8 - (-0,9)$). Svipuð tilhneiging var í gögnum fyrir leysanleika í vatni, óháð því hvort próteinstyrkur hafði verið stilltur af í 8 mg/mL eða ekki, nema í fiskmassa úr fjögurra mm sigtun. Þar var leysanleiki meiri í lausn sem innihélt 8 mg/mL.

Minna samband virtist vera á milli þessara þátta í vatni frá roðflettivél ($r^2 = -0,6 - (-0,8)$). Þar féll leysni lítillega í fiskmassa úr tveggja mm sigtun líkt og þegar leysni var reiknuð sem hlutfall af próteinum.

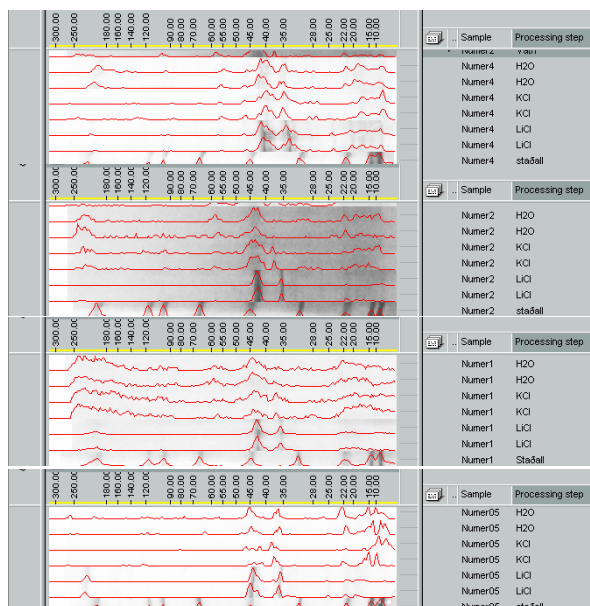
Rafdráttur

Rafdráttur á próteinfloti úr hreinum fiskvöðva sýndi að magn próteína í lausn jókst með auknum saltstyrk, sem var í samræmi við niðurstöður úr mælingum á leysanleika próteína.

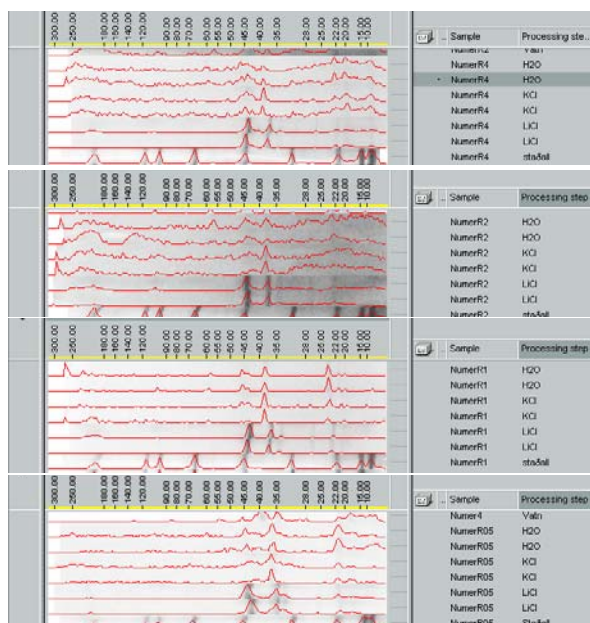
Bönd fyrir mýósín (heavy chain mw ~ 190 kDa; light chains ~ 18, 20, 25 kDa) aktín (mw ~



Mynd 21. Rafdráttur á próteinfloti úr hreinum fiskvöðva sem blandaður var með vatni, 0,15 M KCl og 1 M LiCl (fiskur: lausn, 10 g : 190 mL). Tvær efst og tvær neðstu rásirnar sýna staðlaraðir.

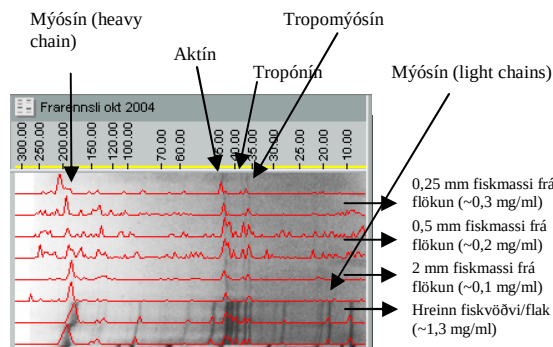


Mynd 22. Rafdráttur á próteínfloti úr fiskmassa (0,5 mm) frá flökunarvél, 4 mm (4), 2 mm (2), 1mm (1) og 0,5 mm (0,5).



Mynd 23. Rafdráttur á próteínfloti úr fiskmassa frá roðflettivél, 4 mm (R4), 2 mm (R2), 1mm (R1) og 0,5 mm (R0,5).

42 kDa) trópónín (~37 kDa) og trópómýósín (~35 kDa), voru almennt daufari eða vart greinanleg í vatni og 0,15 M KCl lausn (Mynd 21). Minna var af próteínum í sigtaða fiskmassanum, próteínbönd voru daufari heldur en í sýni af fiskflaki og oft var aðeins hægt að greina þau prótein sem komu sterkast fram fyrir hreinan fiskvöðva, s.s. aktín, trópómýósín og léttari hluta mýósíns (Mynd 22 og Mynd 23). Ekki var hægt að greina annan mun á sýnum úr fiskflaki og sigtuðum fiskmassa.

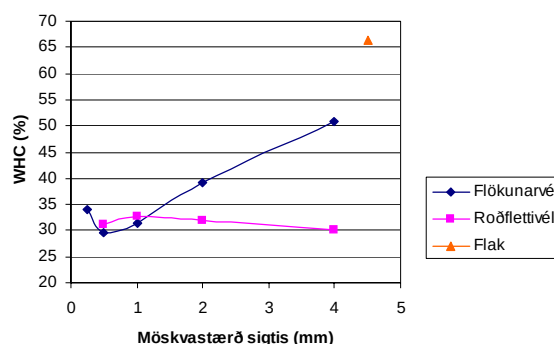


Mynd 24. Sýni til rafdráttar tekin strax í stað þess að setja þau fyrst í skilvindu (prótein mg/ml skv. Biuret-mælingu).

Einnig voru rafdreigin sýni þar sem fiski var blandað við vatn og sýni tekin strax til rafdráttar, en ekki eftir skilvindun (eins og við mælingar á leysanleika). Mýósínband (~190-200 kDa) varð mun greinilegra og af svipuðum styrkleika og aktín í hreinum fiskvöðva. Sýni úr fiskmassa voru mun daufari, sem var í samræmi við lægri próteinstyrk í sýnum heldur en í flaki. Hins vegar fengust vísbendingar um að samsetning próteina væri svipuð og í flaki, einkum voru bönd á bilinu 35-45 kDa áberandi. Gera má ráð fyrir að þau hafi staðið fyrir aktín, trópónín og trópómýósín (Mynd 24).

Vatnsheldni (WHC)

Vatnsheldni var 66,4% í fiskflökum en nokkuð lægri í fiskmassa (30-50%) enda mikið af vatni sem laddi við fisktægjur í fiskmassanum og sigtaðist ekki að fullu frá en tapaðist auðveldlega við skilvindun. Vatnsheldni í fiskmassa frá roðflettivél reyndist svipuð í öllum stærðarflokkum en í fiskmassa frá flökunarvél fór vatnsheldni hækkandi með möskvastærð sigtis frá 0,5 mm (Mynd 25). Vatnsinnihald gæti haft einhver áhrif en meiri munur (7,2 prósentustig) var á hlutfalli vatns í sýnum frá flökunarvél



Mynd 25. Vatnsheldni í fiskflökum og fiskmassa síuðum úr frárennslisvatni frá flökunar- og roðflettivél.

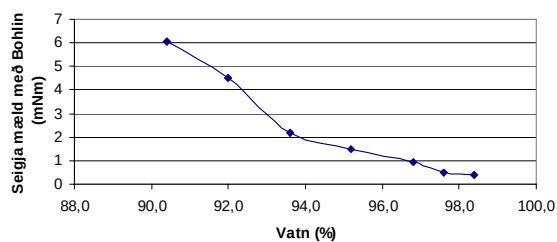
á milli sigta en á milli sýna frá roðflettivél (3,3 prósentustig).

Seigja

Seigja (Bohlin) var mæld í sýnum sem innihéldu um 94% vatn eða minna. Hærra vatnsinnihald var talið vera of hátt til að hægt væri að mæla seigju til að fá góðan samanburð á hópum. Því var mælingum á fiskmassa úr 0,5 og 0,25 mm sigtun frá flökunarvél sleppt. Þessi ákvörðun var tekin út frá formælingum á fiskflaki þar sem vatni og vöðva var blandað saman í mismunandi hlutföllum (Mynd 26) og einnig út frá birtum niðurstöðum (Kristberg Kristbergsson og Sigfússon, 2002). Vatnsinnihald sýna var stillt á 94% með íblöndun vatns áður en seigjumælingar voru gerðar.

Mælingar á seigju gáfu vísbendingar um gelunareiginleika fiskmassans, eins var sjónrænn munur á sýnum. Eftir frystingu og þíðingu hafði hluti vatns skilist frá fiskmassa úr 0,5-2 mm sigtum. Mesta sýnilega gelunin kom fram í þíddum sýnum frá sigtum með 0,5 mm og 1,0 mm möskvastærð þar sem hlaupkenndur klumpur myndaðist (Mynd 27). Hins vegar var gelmyndun tiltölulega lítil í sýnum frá sigtum með möskvastærð upp á 2,0 mm.

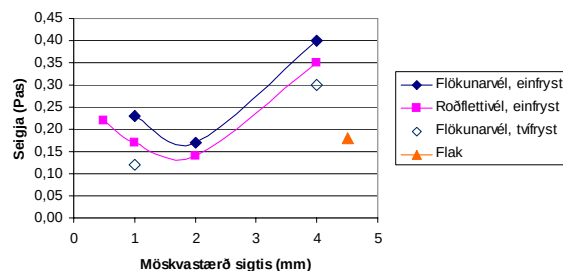
Seigja sýna frá flökunarvél mældist 0,17-0,40 Pas (Bohlin) og seigja sýna frá roðflettivél mældist 0,14-0,35 Pas. Til viðmiðunar var



Mynd 26. Sýni af sigtuðum fiskmassa eftir þíðingu, töluvert af vatni hafði skilist frá massanum.



Mynd 27. Forathuganir á áhrifum af blöndun vatns við fiskvöðva á seigju, frá 0,11 í 1,5 (fiskur/vatn). Reiknað var heildarhlutfall vatns í blöndun út frá því vatni sem til staðar var í vöðvanum og viðbættu vatni.



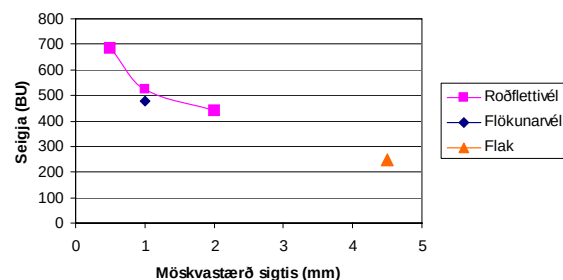
Mynd 28. Seigja (Bohlin) sigtaðs (0,5-4 mm) fiskmassa og hakkaðs fiskflaks (fiskhold) eftir að vatnsinnihald var stillt af í 94%.

seigja fiskflaks í lægri kantinum eða 0,18 Pas. Seigja fór heldur lækkandi með möskvastærð til og með tveggja mm stærðarflokki en var mun hærri í fjögurra mm fiskmassa en í öðrum stærðarflokkum (Mynd 28). Í sýnum frá sigtum með möskvastærð 4 mm var mikið um tægjur og bein sem var trúlega meginástæða þess að seigja mældist hærri en í öðrum hópum.

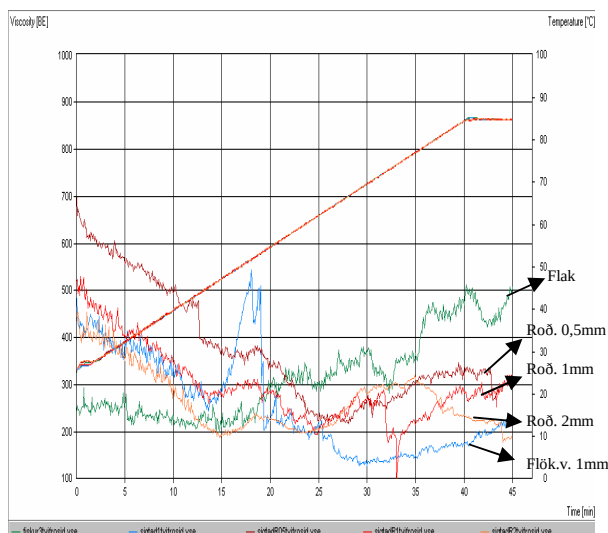
Frysting sýna hafði einhver áhrif á seigju þeirra en seigja var heldur minni í tvífrystum en einfrystum sýnum (flökunarvél 1 og 4 mm).

Seigja var einnig mæld á tvífrystum sýnum með Brabender seigjumæli en sá mælir gaf möguleika á hitun sýnis en við mælingar í Bohlin seigjumæli var mælt við fast hitastig (20°C). Fyrst og fremst voru mæld sýni frá roðflettivél en fiskmassa frá fjögurra mm sigtun sleppt þar sem að tægjur trufluðu mælingar of mikið. Seigja fór lækkandi með möskvastærð (0,5-2 mm) og mældist hærri en í flökum (Mynd 29) sem var í samræmi við niðurstöður frá Bohlin mæli.

Breytingar á seigju við hitun voru einnig skoðaðar. Seigja féll almennt með hitastigi í sigtuðum fiskmassa að (45)-70°C (Mynd 30). Eftir það eða við 70-75°C, hækkaði hún lítillega aftur. Ferill fyrir hakkað fiskflak var frábrugð-



Mynd 29. Upphafsgildi við seigjumælingu á sigtuðum fiskmassa og fiskflaki í Brabender seigjumæli þar sem sýni voru hituð frá 30 °C upp í 85 °C. (Vatnsinnihald 94%).



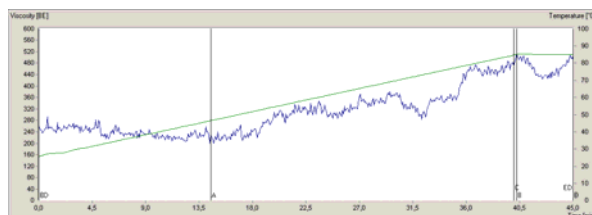
Mynd 30. Ferlar seigju við hitun í Brabender seigjumæli. Mæld voru sýni af sigtum frá roðflettivél (fiskmassa (0,5-2 mm) og flökunarvél (1mm). Til viðmiðunar var hakkað fiskflak einnig mælt

inn að því leytir að seigja féll lítið við hitun og byrjaði að hækka fyrr en í sigtuðum fiskmassa eða við um 50°C. Auðveldara var að greina breytingar á seigju við hitun með því að skoða hvern feril fyrir sig og auðveldara að greina einstaka toppa. Suð („noise“) í ferlum hafði þó áhrif á greininguna og í vissum tilfellum var erfitt að skera úr um hvað var toppur og hvað var suð.

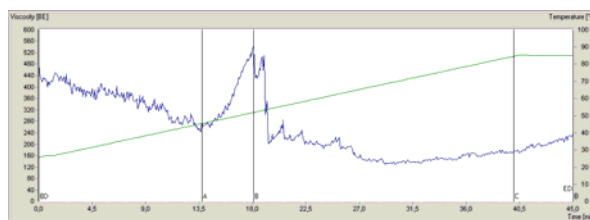
Meginmunurinn á milli flaksins og sigtaða fiskmassans lá í því að seigja hélst nokkuð stöðug að um 50°C en eftir það fór hún hækkanandi að 85°C. Greina mátti ákveðna „toppa“ á hitastigsbilinu 50-60, 60-72, 72-80 og 80-85°C (Mynd 31).

Við mælingar á fiskmassa frá flökunarvél kom fram stór toppur við 45-54°C, með hámark við um 52°C. Smá toppar komu fram með hámark við 55°C, 57-58 °C, 62-65°C. Eftir að 75°C var náð jókst seigja lítilsháttar (Mynd 32).

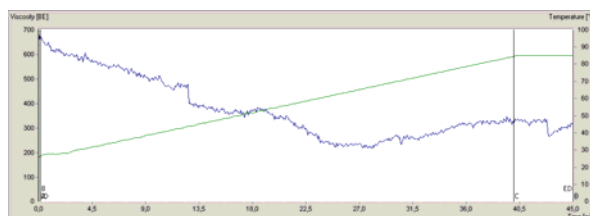
Við mælingar á seigju í 0,5 mm fiskmassa frá roðflettivél kom fram lítill toppur við 43-45°C, síðan mátti greina breytingu í ferli við 50-55°C



Mynd 31. Breytingar á seigju hakkaðs fiskflaks við hitun frá 30°C í 85°C. Vatni var bætt við sýni, vatnsinnihald eftir blöndun var 94%.



Mynd 32. Breytingar á seigju sigtaðs fiskmassa (1 mm) frá flökunarvél, við hitun frá 30°C í 85°C. Vatni var bætt við sýni, vatnsinnihald eftir blöndun var 94%.



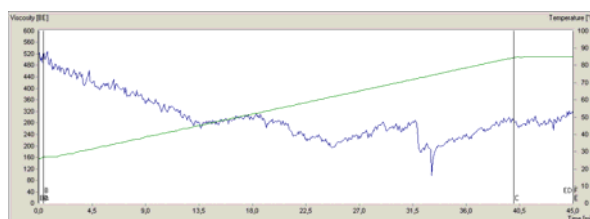
Mynd 33. Breytingar á seigju sigtaðs fiskmassa (0,5 mm) frá roðflettivél, við hitun frá 30°C í 85°C. Vatni var bætt við sýni, vatnsinnihald eftir blöndun var 94%.

C og 68-72°C. Tilhneiging var til aukinnar seigju eftir að 68°C var náð (Mynd 33).

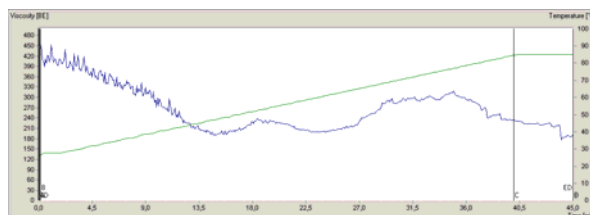
Seigja í 1 mm fiskmassa frá roðflettivél minnkaði að um 45°C en eftir það mátti sjá nokkra toppamyndun að 62°C þar sem lágmarki var náð síðan kom fram breiður toppur þar sem seigja var mest við 68-72°C. Eftir það minnkaði hún aftur en jókst síðan frá 75°C (Mynd 34).

Seigja í fiskmassa frá 2 mm frá roðflettivél minnkaði að um 48°C. Eftir það kom fram toppur sem náði að um 59°C. Seigja jókst að rúnum 80°C en minnkaði eftir það (Mynd 35).

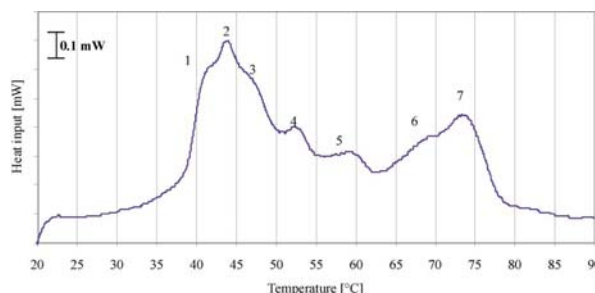
Ef niðurstöður eru skoðaðar í samhengi við það hitastig sem þekkt er fyrir afmyndun prót-



Mynd 34. Breytingar á seigju sigtaðs fiskmassa (1 mm) frá roðflettivél, við hitun frá 30°C í 85°C. Vatni var bætt við sýni, vatnsinnihald eftir blöndun var 94%.



Mynd 35. Breytingar á seigju sigtaðs fiskmassa (2 mm) frá roðflettivél, við hitun frá 30°C í 85°C. Vatni var bætt við sýni, vatnsinnihald eftir blöndun var 94%.



Mynd 36. DSC-ferill sem sýnir afmyndun vöðvapróteina við hitun; mýósín (1, 2, 4) - hámark við 44°C, sarcoplasmic prótein (3, 5, 6) - hámark við 59,3°C og aktín (7) (Kristín Anna Þórarinsdóttir o.fl. 2002).

eina, þá mátti sjá að seigja minnkaði án toppa að um 45°C í fiskmassanum. Vitað er að afmyndun próteina á sér stað á bilinu 39-76°C skv. mælingum með „differential scanning calorimetry“ (DSC) (Mynd 36).

Hugsanlegt er að þeir toppar sem komu fram við við seigjumælingar, um og yfir 50°C, hafi verið vegna afmyndunar á mýósíni og sarkoplasmic-próteinum en toppar við hærra hitastig hafi verið afleiðing af afmyndun aktíns. (Tafla 10).

Að vísu er hér aðeins um fá sýni að ræða en keyrslur á fiskmassa frá roðflettivél sýndu toppa við lægra hitastig heldur en í fiskmassa frá flökunarvél og fiskflaki. Það gæti tengst því að meira hafi verið af kollageni í sýnum frá roðflettivél sem afmyndast hafa við lægra hitastig en vöðvapróteinin mýósín og aktín.

Mælingar á áferðar- og seigjueiginleikum próteina í kjöti og fiski hafa verið skýrðir út frá breytingum sem verða á byggingu þeirra við afmyndun. Á fyrstu stigum afmyndunar raskast spirallögun (helix) próteina, ný tengi milli þeirra myndast, próteinhneppi myndast og síðan á sér stað geljun. Máli skiptir hvort um heilan eða smækkaðan vöðva er að ræða m.t.t. þess hvernig

áferðareiginleikar, s.s. seigja eða meyrni breytast með hitastigi (Tornberg, 2005) sem er í samræmi við þær vísbendingar sem fengust í þessari tilraun. Mælingar á hörku kjötvöðva við hitun hafa sýnt að harka eykst frá 45-55°C en fellur hratt milli 55 og 60°C en eftir það eykst hún aftur upp að 80°C. Í smækkuðum vöðva var hún hins vegar lág við upphafshitastig 45°C en jókst jafnt þétt upp að 80°C og var eftir 60°C svipuð því sem mældist í heilum vöðva (Tornberg, 2005). Þessar breytingar og skil sem verða við 55-60°C, hafa verið tengdar við afmyndunarhitastig próteina. Talað er um afmyndun kjöts hefjist við 30°C og með DSC-greiningum hefur verið sýnt fram á að meginafmyndun mýósíns sé við 54-58°C, sarkoplasmic prótein og kollagen við 65-68°C og aktín við 80-83°C (Tornberg, 2005). Breytingar á áferðareiginleikum á milli 40 og 60°C tengist því afmyndun mýósíns og frá 65-80°C afmyndun kollagens. Til samanburðar við okkar tilraun ber að geta þess að fiskprótein afmyndast við heldur lægra hitastig en kjöt og einkum er munur á kollageni í fiski og kjöti þar sem afmyndun þess hefst á undan afmyndun mýósíns (Hastings o.fl., 1985). Kjötprótein er hins vegar hitaþolnari en fiskprótein, þó sérstaklega kollagen.

4. ÁLYKTANIR

Minnka mætti próteintap um helming með tiltölulega grófri síun, en eftir er að finna hentugan búnað sem tryggir að síur stíflist ekki og að öryggi og heilnæmi fiskmassans sé ásættanlegt m.t.t. nýtingar til manneldis. Hafa ber í huga að þessar tölur miðast við þær aðstæður sem fyrir hendi voru þegar safnað var, s.s. vinnslubúnað, afköst o.fl. Því má gera ráð fyrir einhverjum breytileika milli vinnsluhúsa en

Tafla 10. Yfirlit yfir toppa við seigjumælingar á sýnum frá roðfletti- og flökunarvélum og hugsanleg tenging þeirra við afmyndun mismunandi próteina.

Sýni	Kollagen	Mýósín (/sarkoplasmic-prótein)	Aktín (/sarkoplasmic-prótein)	Aktín		
Fiskur		50-60 °C	60-72 °C	72-80 °C	80-85 °C	Hækkar frá 50 °C
Flökunarvél 1 mm hámark toppa		55 °C 57-58 °C	62-65 °C			Hækkar frá 75 °C
Roðflettiv. 0,5 mm	43-45 °C	50-55 °C	68-72 °C			Hækkar frá 68 °C
Roðflettiv. 1 mm		45-54 °C 54-58 °C 55-60 °C	62 (68)-72 °C			Hækkar frá 75 °C
Roðflettiv. 2 mm		48-59 °C	65-80 °C			Hækkar frá 69 °C en fellur aftur við 80 °C

einnig getur ástands hráefnis og aðstæður við vinnslu haft talsverð áhrif.

Síði fiskmassinn var með mun lægra þurr-efnisinnihald en fiskflök sem unnin voru á sama tíma. Hann var ekki eins hvítur en útlit var nokkuð háð möskvastærð. Með grófustu sigtuninni kom nokkuð mikið af tægjum og beinum en með finni sigtun varð fiskmassinn hvítari og einsleitari. Eins virtist hann gelast frekar eins og seigjumælingar gáfu vísbendingar um. Reyndar trufluðu tægjur nokkuð mælingar í grófasta flokknum og því var seigja nokkuð hærri þar. Greining á próteinum sýndi ekki fram á marktækan mun á próteinsamsetningu síða fiskmassans og fiskflaka. Hins vegar gáfu mælingar á leysanleika til kynna að eiginleikar fiskmassans séu breytilegir eftir vélum og eftir möskvastærð sigta. Breytileiki í vatnsheldni skýrist trúlega að mestu leyti af breytileika í próteininnihaldi sýna. Ekki er ljós ástæða hækkunar í leysanleika, vatnsheldni og seigju í fiskmassa frá flökunarvél, úr sigtum með 0,25 mm möskvastærð, samanborið við 0,5 mm sigti. Við seigjumælingar virtist seigjumyndun hefjast fyrr í sýnum frá roðflettivél heldur en flökunarvél. Hugsanlegt er að staðsetning próteina sem losna sé önnur, næst roði í stað þess að vera innar í vöðvanum, nær hrygg og eiginleikar þeirra því frábrugðnir.

Við túlkun á niðurstöðum ber að hafa í huga að um forathugun var að ræða og fjöldi sýna því takmarkaður af því fjármagni sem til staðar var. Lagt er til að gerðar verði frekari tilraunir með einangrun próteina úr frárennslisvatni og athugað hvort og hvernig nýta megi þann þurrrefnishluta sem ekki náðist með sigtunum. Nota mætti enn grófari síun í upphafi til að ná uggum, beinum og stærri hlutum frá. Ef þess er gætt að safna fiskmassanum strax við vinnsluvélar og ef vel er staðið að allri meðhöndlun má sjá fyrir sér hráefni sem nýta má í ýmsar afurðir, t.d. við endurmótun, innsprautun eða til vinnslu á tæknilegum fiskpróteinum. Með því að beita misfinni síun má auk þess sjá fyrir sér að einangra megi fiskmassa með mismunandi eiginleika eftir möskvastærð síu og hvaðan úr ferlinu þau koma.

Fjárhagslegur ávinningur af einangrun próteina úr frárennsli

Ávinningur þess að einangra þurrrefni úr frárennslisvatni eru tvíþættur, annars vegar er verið að nýta betur verðmæti sjávarafla og hins vegar

að stuðla að umhverfisvænni framleiðsluháttum þar sem minna af lífrænum efnum tapast út í umhverfið. Á hverju ári eru um 60 þús. tonn framleidd af ferskum og frosnum bolfiskafurðum í landvinnslustöðvunum. Ef miðað er við að 1% af hráefnisþyngd tapist við flökun og roðflettingu myndi það samsvara um 1.200 tonnum af flakaafurðum sem er umtalsvert magn. Mikilvægt er að leita leiða til að nýta þennan hluta fiskholds en verðmæti ræðst af notkunarmöguleikum. Ef miðað væri við lágmarksverð, eins og fæst t.d. fyrir marning (100 kr/kg), mundu verðmæti þess sem nú tapast við flökun og roðflettingu nema um 120 milljónum króna. Gera má ráð fyrir að próteinin yrðu nýtt í verðmætari afurðir en marning eða fóður og því gæti verðmætið numið allt að 500 millj. kr. Á móti kæmi einhver kostnaður við að setja upp búnað til að einangra próteinin. Ljóst er að með tiltölulega einföldum síunarbúnaði mætti ná umtalsverðu magni af þeim próteinum sem í dag fara forgörðum í frárennsli.

5. ÞAKKARORÐ

AVS er þakkað fyrir veittan styrk í verkefnið og Toppfiski fyrir veitta aðstoð, aðstöðu og hráefni við söfnun.

6. HEIMILDIR

- Afonso MD og Bórquez R. 2002. Review of the treatment of seafood processing wastewaters and recovery of proteins therein by membrane separation processes - prospects of the ultrafiltration of wastewaters from the fish meal industry. *Desalination*, 142: 29-45.
- Almas KA. 1985. Applications of crossflow membrane technology in the fishing industry. *Desalination*, 53: 167-180.
- Björgvin H. Bjarnason og Erlendur S. Friðriksson. 2000. *Hreinna frárennsli*. Lokaverkefni við Sjávarútvegsdeild Háskólans á Akureyri. 28 bls.
- Eide O, Borresen T, Strom T. 1982. Minced fish production from capelin (*Mallotus villosus*). *Journal of Food Science*, 47: 347-54.
- Eriksson, 1974. Applied Research for RO and UF. *Process Biochemistry*, 9: 18-19.
- Hafsteinn Helgason. 1994. *Frárennsli frá fiskvinnslu*. Samsetning - Magn - Hreinsun. Iðntæknistofnun Íslands. 16 bls.
- Hastings RJ, Rodger GW, Park R, Matthews AD og Anderson EM 1985. Differential scanning calorimetry of fish muscle: the effect of processing and species variation. *Journal of Food Science*, 50: 503-506, 510.

- Hollustuvernd. 1995. *Hreinsun á frárennsli frá rækjuvinnslu*. Reykjavík: Hollustuvernd ríkisins, mengunarvarnir. 21 bls.
- ISO. 1983. 6496 Determination of moisture and other volatile matter content. Genf, Switzerland: The Int'l Organization for Standardization. 7 p.
- ISO. 1997. 5953 Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content - Kjeldahl method. Genf, Switzerland: The Int'l Organization for Standardization. 9 p.
- Kelleher SD og Hultin HO. 1991. Lithium chloride as a preferred extractant of fish proteins. *Journal of Food Science*, 56: 315-317.
- Konefal J og Guðjón Þorkelsson, 2003. Membrane filtration in fish protein processing. *Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins, Project report 23-03*. 79 bls.
- Kristberg Kristbergsson og Halldór Sigfússon. 2002. Use of Brabender(R) Viscograph E to measure some rheological properties of minced fish muscle. *Journal of Texture Studies* 33: 183-200.
- Kristín Anna Þórarinsdóttir, Sigurjón Arason, Margrét Geirsdóttir, Sigurður G. Bogason, og Kristberg Kristbergsson. 2002. Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77: 377-385.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Lin TM, Park JW og Morrissey M T. 1995. Recovered protein and reconditioned water from surimi processing waste. *Journal of Food Science*, 60: 4-9.
- Matthiasson E og Sivik B. 1978. New methods of recovering fish processing waters. *Livsmedelsteknik*, 20: 241-244.
- Sigurjón Arason og Guðjón A. Auðunsson 2005. Frárennsli og vatnsnotkun í fiskiðnaði. Óútgefið efni. *Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins*. 28 bls.
- Sólveig Ingólfssdóttir. 1996. *Seasonal variations in some chemical and functional properties of cod (*Gadus morhua*) mince*. M.Sc. ritgerð í matvælafræði. Háskóli Íslands. 78 bls.
- Tornberg E. 2005. Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70: 493-508.
- Torten J og Whitaker JR. 1964. Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meats. *Journal of Food Science*, 29: 168-174.
- Yaroshchuk A og Staude E. 1992. Charged membranes for low pressure reverse osmosis properties and applications. *Desalination*, 86: 115-133.
- Xu LJ, Sheldon BW, Larick DK og Carawan RE. 2002. Recovery and utilization of useful by-products from egg processing wastewater by electrocoagulation. *Poultry Science*, 81: 785-792.
- Xu LJ, Sheldon BW, Carawan RE, Larick DK og Chao AC. 2001. Recovery and characterization of by-products from egg processing plant wastewater using coagulants. *Poultry Science*, 80: 57-65.

Vefslóðir:

- Filtration spectrum. Water purification products. Sótt 11. apríl 2005 af <http://wppinc.com/filter.htm>
- Membrane filtration. Alfa Laval. Sótt 11. apríl 2005 af http://www.alfalaval.com/digitalassets/2/file13899_1_AL_-_membrane_filtration.pdf