



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 304631

(13) B2

(51) Int Cl.

A23K 1/10 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

A23K 1/20 (2006.01)

Patentstyret

Avvik fra Patent B1 etter innsigelse (B2)

(21)	Søknadsnr	19961453	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	
(22)	Inng.dag	1996.04.12	(85)	Videreføringsdag	
(24)	Løpedag	1996.04.12	(30)	Prioritet	Ingen
(41)	Alm.tilgj	1997.10.13			
(45)	Meddelt	1999.01.25			
(73)	Innehaver	Silver Feed AS , Postboks 55, 8320 Skrova, NO			
(72)	Oppfinner	Almar Ellingsen, Skrova, NO			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS , Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, NO			

(54)	Benevnelse	Fremgangsmåte for fremstilling av overflatekoagulert fôr til kjæledyr, oppdrettsfisk, pelsdyr, fugler og andre dyr ved overflatekoagulering			
(56)	Anførte publikasjoner	EP-A1-208013, FR-A-2525439, NO-B-177731			
(57)	Sammendrag				

Overflatekoagulering av kjøtt- og/eller fiskefarse er en prosess som er utviklet for framstilling av pet food (fôr til kjæledyr), våtfôr til fisk- og/eller pelsdyrôr. Fôret produseres av en farse fremstilt av kjøtt- og/eller fiskebiprodukter og/eller hel fisk, samt noe energigivende mel. Pellet av fiskefarse overflatebehandles med nok varme til å påføre fôrpartiklene en hinne av koaguler protein, mens proteinet i resten av fôrpartiklene vil ha avtakende grad av koagulering inn mot partikkelkjernen. Metodene som beskrives i denne søknaden omfatter (1): Koking i varm animalsk og/eller vegetabilsk olje, og (2): Fall gjennom en kolonne fylt med overhettete damp. Ved regulering av tilført varmesum kan flyteeenskaper i fôr beregnet til fisk justeres. Koking i varm olje (animalsk og/eller vegetabilsk) ved ulik temperatur og oppholdstid gir i tillegg mulighet til å regulere fôrets innhold av vann, fett og fettsyrer.

Foreliggende oppfinnelse vedrører en fremgangsmåte for fremstilling av overflatekoagulert kjæledyrfôr og fôr til oppdrettsfisk, pelsdyr, fugler og andre dyr.

- Overflatekoagulering av kjøtt- og/eller fiskefarse er en fremgangsmåte som er utviklet for fremstilling av kjæledyrfôr, våtfôr til fisk- og/eller pelsdyr. Fôret produseres av en farse fremstilt av kjøtt- og/eller fiskebiprodukter og/eller hel fisk, samt noe energigivende mel. Pellet av fiskefarse overflatebehandles med nok varme til å påføre forpartiklene en hinne av koagulert protein, mens proteinet i resten av forpartiklene vil ha avtakende grad av koagulering inn mot partikkelkjernen. Fremgangsmåtene som beskrives heri omfatter koking i varm, animalsk og/eller vegetabilsk olje. Ved regulering av tilført varmesum kan flyteegenskaper i fôr beregnet til fisk justeres. Koking i varm olje (animalsk og/eller vegetabilsk) ved ulik temperatur og oppholdstid gir i tillegg mulighet til å regulere fôrets innhold av vann, fett og fettsyrer.
- Biprodukter fra fiskeri-, husdyr- og havbruk er en kilde for protein og fett, og mengden av biprodukter fra fiskeforedlings- og matvareindustrien er svært stor. Å anvende store mengder fiskebiprodukter til våre tradisjonelle husdyr er praktisk umulig, da slike mengder ville sette bismak på produktene. Dette er imidlertid ikke noe problem hvis avfallet benyttes til kjæledyrfôr og fôr til pelsdyr og/eller oppdrettsfisk. Det er allerede en begrenset bruk av fiskeavfall i tørrfôr (fôr med <10% vanninnhold) til oppdrettsfisk og husdyr. Tørrfôrproduksjonen til fisk er likevel hovedsakelig basert på bruk av fiskemel og fiskeolje. Det største potensialet for bruk av fiskeavfall ligger derfor i en utvidet bruk av våtfôr (fôr med >10% vanninnhold) i oppdrett av laksefisk. Produksjon av fôr til fisk benyttes her som eksempel, men fremgangsmåten som beskrives kan også benyttes til produksjon av pet food og pelsdyrfôr (og eventuelt fôr til andre dyr og fugler).

- Da oppdrett av laks startet i Norge i begynnelsen av 70-årene, var produksjonen basert på våtfôr. Innholdet av protein og fett varierte sterkt i dette fôret og fôret hadde dårlig struktur. Dette medførte høyt forspill. Tørrfôr ble derfor tidlig en stor konkurrent til våtfôr. I løpet av de siste ti-femten årene har bruken av våtfôr til fisk nesten opphørt. Den tekniske kvaliteten på tørrfôr har blitt stadig bedre, og intensiv forskning på fôr til laksefisk har ført til at laksefôr i dag inneholder om lag 40% protein og 30% fett. Dette har forbedret forutnyttelsen, og samtidig gitt lavere kostnader ved fôrproduksjon da proteinråvarer er dyrere enn fett (oljer). Kombinert med mindre forspill, har forbruket av fôr blitt redusert fra ca. 3,5 kg tørrstoff til ca. 1,1 kg tørrstoff pr. kg produsert fisk. Kostnadene ved lakseproduksjon er derfor dramatisk redusert siden starten rundt 1970.

Vi må imidlertid forvente at kostnadene må reduseres ytterligere, og siden
förcostnadene utgjör over 40% av produksjonskostnadene kan förprisen bidra til dette.
Fiskeprodukter er svært billige (0-70 öre pr kg) da det ofte medförer ekstra kostnader for
fiskeforedlere å kvitte seg med slike avfallsprodukter. Våtför er derfor igjen aktuelt til
5 fiskeoppdrett.

Nye våtför må tilfredsstille kravene moderne fiskeoppdrett setter til fysisk förstruktur,
og verken klebe, knuse eller løse seg for fort opp i vannmassene. Fremgangsmåten som
beskrives i søknaden tar sikte på å oppnå slik stabilisering ved å varmebehandle
10 overflaten av våtförpellet (som hovedsakelig består av kjøtt- og/eller fiskebiprodukter
og noe energigivende mel) i varm olje. Gjennom behandling med varm olje vil
pelletoverflatene koagulere, slik at de hverken kleber seg til hverandre og omgivende
utstyr, eller løser seg i vann. Graden av koagulering vil avta inn mot pelletkjernen, og
dybden av koagulering vil derfor kunne reguleres.

15 Målet er at sentrale enheter med tilgang på kjøtt- og/eller fiskeavfall i fremtiden skal
kunne forsyne lakseprodusenter med kvalitetsför som er vesentlig billigere enn tørrför.
Konseptet vil gi store innsparinger for de lakseprodusenter som kan benytte seg av det,
samtidig som det vil sikre en bedre utnyttelse av norske fiskeressurser.

20 Kjæledyrför og pelsdyrför av god kvalitet vil kunne produseres med det samme utstyret,
eventuelt i de samme fabrikkene.

Dagens produksjon av oppdrettsfisk er tørrförbasert, utföringen er i stor grad
25 automatisert og utföringsmengden er lett å regulere. Föret er imidlertid kostbart. Flere
våtförkonsepter er derfor under utpröving, deriblant geling ved bruk av alginater og
gjennomkoagulering ved bruk av mikrobølger.

I Norge kontrolleres produksjonen av tørrför til oppdrettsfisk av fem firmaer: T.

30 Skretting, Felleskjöpet, Ewos, BioMar og Nor Aqua. Alle firmaene leverer för av god
fysisk og ernæringsmessig kvalitet. Den store ulempen med tørrför er imidlertid høy
pris på grunn av produksjon med bruk av tørre og foredlede råvarer (fiskemel, animalsk
og/eller vegetabilsk olje, soya og rene stivelsesprodukter).

35 Gelet våtför har god fysisk struktur, og kan föres ut automatisk. Alginater er imidlertid
både kostbare, ufordøyerlige og kan dessuten redusere förutnyttningen.

Gjennomkoagulering av våtför ved hjelp av mikrobølger er energimessig svært

kostbart. Dette skyldes (1): mikrobølgevarme kan kun skapes ved bruk av elektrisitet, og generering av mikrobølger har et varmetap ved en temperatur som egner seg dårlig for gjenvinning. (2): Oppvarming av pellet ved mikrobølger skjer innenfra.

Restenergien i et gjennomvarmt fôr må derfor nødvendigvis bli svært høy sammenliknet med et overflatebehandlet fôr. Våtfôr produsert ved bruk av mikrobølgevarme kan derfor ikke gi særlig billigere fôr enn dagens tørrfôr.

I NO 177731 er det beskrevet en fremgangsmåte hvor fôret først blir ekstrudert. For å kunne foreta ekstruderingen tilsettes det ca. 25% vann som må fjernes igjen etter ekstruderingen. Dette er i realiteten en tørkefremgangsmåte og en hensikt med prosessen er å få fett inn. Ved at varmebadet er på over 100°C oppnås det støtkoking, og det kjøles i et varmebad ved ca. 50-60°C. Ved fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse er hensikten med fettbadet derimot å oppnå en overflatekoagulering. Det skal videres oppnås en formstabilisering/formgivning. Produktet er ikke ekstrudert på forhånd, men farsen kuttes i passende lengder som slippes ned i varmebadet, og som dermed får en stabil form.

Foreliggende oppfinnelse vedrører følgelig en fremgangsmåte for fremstilling av overflatekoagulert kjæledyrfôr og fôr til oppdrettsfisk, pelsdyr, fugler og andre dyr, kjennetegnet ved at farsen fremstilt av biprodukter fra kjøtt- og/eller fiskeindustrien og/eller hel fisk, samt noe energigivende mel pelleres direkte opp i oljebadet og overflatekoaguleres i det varme oljebadet (animalsk og/eller vegetabilsk olje) ved varmebehandling i 5-60 sek. ved 100-200°C for å påføre fôret en overflatehinne av koagulert protein i det den tilførte varmesummen (tid x temperatur) kan reguleres når flyteegenskaper justeres i fôr til fisk og fôrets innhold av vann, fett og spesielle fettsyrer justeres ved regulering av oppholdstiden av oljebadet og/eller temperatur i badet, hvorefter fiskefarsen raskt løftes ut av oljebadet for kjøling etter koagulering.

Overflatekoagulert våtfôr har særlige fordeler. Fremgangsmåten er basert på anvendelse av billige, lokale, våte råvarer, blandet med noe energigivende mel. Den omfatter ikke tilsats av ufordøyelige bindere.

Langvarig høy temperatur ved lav fuktighet kan påføre proteinet varmeskader og dermed redusere både fordøyelighet og tilvekst. Ved overflatekoagulering foregår imidlertid varmebehandlingen ved høy temperatur (100-200°C), mens fôrpartiklene er våte (<50% tørrstoff), og tiden for varmeoverføring er svært kort (5-60 sekunder). Overflaten av fôrpartiklene utsettes for høy nok varme til å påføre fôrpartiklene en hinne

av koagulert protein mens proteinet i resten av förpartiklene vil ha avtakende grad av koagulering inn mot partikkelkjernen. Fremgangsmåten bedrer fordøyeligheten av proteinet i forhold til rå kjøtt- og/eller fiskefarse, sannsynligvis grunnet en proteinstruktur som er bedre tilgjengelig for enzymatisk spaltning, og dermed også er bedre tilgjengelig for opptak. Slik proteinstruktur kan også medføre en "proteinmikseffekt" med ulik oppløselighets- og fordøyelighetshastighet av proteinet i de ulike delene av förpartikkelen. Dette kan i så fall medføre et jevnere opptak av aminosyrer fra tarmkanalen og bedre utnytting av aminosyrene til muskelavleiring.

- 10 Energiøkonomien i produksjon av våtförpellet er svært viktig da det er store råvaremengder som skal behandles. Ved overflatekoagulering vil forbruket av energi til varmekoaguleringsprosessen være lavt i utgangspunktet da kun pelletteroverflaten skal varmes opp. Oljebad (animalsk og/eller vegetabilsk olje) vil helt eller delvis kunne varmes med damp. Over 90% av energien i et dampkretsløp kan vanligvis gjenvinnes i slike prosesser. Hovedmengden av energiforbruket i produksjonen vil derfor være i form av restvarme i det ferdige föret. Denne energien lar seg vanskelig gjenvinne.

- Koking av animalsk og/eller vegetabilsk olje og påfølgende avkjøling gir faste pellets med "kjøttbolkonsistens" som ikke kleber selv etter frysing. Oljekoking reduserer vanninnholdet i föret og tilfører föret ekstra fett. Dette gir muligheter for å regulere fettinnholdet i föret samt til å tilføre ønskede fettsyrer. Det høyere fettinnholdet, sannsynligvis sammen med dannelser av gassblærer i förpartiklene ved varmebehandlingen, gir det oljekokte föret helt andre flyteegenskaper enn rå fiskefarse. Det åpner muligheter for å regulere flyteeenskapene i oljekokt fiskeföret ved å regulere temperatur (grad av støtkoking) og oppholdstid (grad av fettinntrengning) i oljebadet.

Fettinnholdet i förpartiklene kan videre økes ved påsprøyting av olje før avkjøling.

- For å oppnå en våtförpellet med de nevnte fysiske egenskapene må pellet av kjøtt- og/eller fiskefarse overflatebehandles med varme, slik at de påføres en overflatehinne av koagulert protein. Fremgangsmåtene som beskrives i denne søknaden omfatter som angitt ovenfor (1): koking i varm animalsk og/eller vegetabilsk olje (frityrsteking).

Eksempler

- 35 Ved koking i varm olje pelletteres fiskefarsen direkte i oljebad (animalsk og/eller vegetabilsk olje, 100-200°C), og løftes med et transportbånd med skovler ut av badet og inn i en kjøletunnel. Oppholdstiden i oljebadet (5-60 sekunder) reguleres med

hatigheten på transportbåndet. Oljen varmes med damprør eller elektriske elementer. Det nedkjølte føret fylles deretter i egnet emballasje, for eksempel storsekk eller container.

- 5 I. Innledende forsøk med fordøyelighet av våtfôr til laks produsert ved overflatekoagulering i varm olje.

MATERIALER OG METODER

10 Produksjon av forsøksfôr

Blanding av premiks

- To premikser ble blandet i en kjøkkenmaskin, begge bestående av 2 kg forklistret hvete-havreblanding (70% hvete + 30% havre), og tilsatt 5 g indikator for fordøyelighets
- 15 bestemmelse. *Premiks 1* ble tilsatt 5 g ytterbiumoksid (Yb_2O_3), mens *Premiks 2* ble tilsatt 5 g yttriumoksid (Y_2O_3). For å sikre jevn fordeling av indikator i premiksene ble hver indikator først blandet med en liten mengde av melblandingen. Resten av melet ble gradvis tilsatt i løpet av 15 minutter, og hver premiks ble deretter eltet i 20 minutter.

20 *Blanding av fiskefarse*

Tre deler hel sild (27 kg) og 1 del hel torsk (9 kg) ble malt to ganger. Halvparten av fiskemassen ble frosset i blokker à 750 g, mens resten ble eltet med gradvis tilsats av *Premiks 1*. Den ferdige blandingen inneholdt 100 g hvete-havreblanding pr. kg, og ble eltet videre i 20 minutter. Farsen ble deretter satt kaldt over natta.

25

Produksjon av oljekokt fôr

Pellet av passende størrelse ble produsert med hjelp av kjøkkenmaskin med pølsetut og manuell kutting av farsestrengen. Deretter ble de kokt i solsikkeolje i 15 sekunder ved 180 °C i en frityrkoker, ristet tørre, kjølt ned på rist, og singelfrosset.

30

Produksjon av ubehandlet fôr

- Blokken på 750 g fiskefarse ble tint på kjølerom over natten, eltet i kjøkkenmaskin med gradvis tilsats av 83 g *Premiks 2*. Den ferdige blandingen inneholdt 100 g hvete-havreblanding pr. kg, og ble eltet videre i 20 minutter. Farsen ble deretter rullet ut i
- 35 strenger, og kuttet opp i passende pellet.

Fordøyelighetsforsøk

Fisk og fasiliteter

- 5 Forsøket ble utført med laks i sjøvann, i 8 kar (1x1 m), med 20 fisk à 500 g i hvert kar. Lys var på kontinuerlig, og fôr ble tildelt 24 timer i døgnet ved hjelp av bandautomater.

Stryking av gjødsel

- Gjødsel ble strøket for fordøyelighetsmåling dag 8, dag 15 og dag 18. Gjødsel fra alle
10 uttakene ble slått sammen innen kar. Grunnet små gjødselmengder ble prøver fra to og to kar innen hver behandling slått sammen. Fordøyelighet ble videre bestemt i henhold til metode beskrevet av Austreng (1978).

Kjemiske analyser.

- 15 Bestemmelse av tørrstoff (105°C, 16-18t), aske (forbrenning ved 550 °C til konstant vekt), nitrogen (Kjeldahl N), fett (med hydrolyse) og bruttoenergi (bombekalorimeter) ble foretatt ved AKVAFORSKs laboratorium på Sunndalsøra. Konsentrasjonen av yttrium og ytterbium ble analysert spektrofotometrisk ved Landbrukets analysesenter i Ås.

20

Statistisk analyse.

- Resultatene ble analysert med enveis variansanalyse (n=2), med signifikansnivå valgt lik $P < 0.05$ (5% sannsynlighet for feilforkastning av hypotese). Resultatene er oppgitt
25 som middel $\pm$ middelets standardfeil.

RESULTATER OG DISKUSJON

Effekter av varmebehandling på fôrets struktur

- 30 Sammensetningen av fiskefarsen og fôrene er vist i Tabell 1. Den ferdige farsen hadde en seig og fin konsistens, men var med bare 10% innhold av tørre råvarer fremdeles for klissete til pelletproduksjon. Koking i olje og påfølgende avkjøling ga imidlertid faste pellet med "kjøttbollekonsistens", som ikke klebet selv etter frysing. Oljekokingen reduserte vanninnholdet i fôret fra 61 til 51%, og tilførte fôret ekstra fett.

35

Tabell 1. Sammensetning av fôr

Fôr	1	2
	Ubehandlet	Oljekokt
<i>Formulering, g/kg (fôr oljekoking)</i>		
Hel sild	675	675
Hel torsk	225	225
Premiks 1 ¹	100	
Premiks 2 ²		100
<i>Kjemisk sammensetning (etter oljekoking)</i>		
Tørrestoff (TS), g/kg	389,5	490,9
Protein, g/kg TS ³	427,9	384,3
Fett, g/kg TS	310,2	405,2
Aske, g/kg TS	51,5	42,1
Energi, MJ/kg TS	25,2	27,5

¹ 70% forklistret hvete + 30% forklistret havre, tilsatt 2,5 g/kg Y₂O₃.

² 70% forklistret hvete + 30% forklistret havre, tilsatt 2,5 g/kg Yb₂O₃.

³ N x 6,25.

Det høyere fettinnholdet, sannsynligvis sammen med dannelser av gassblærer i forpartiklene ved varmebehandlingen, ga det oljekokte fôret helt andre flyteegenskaper enn den rå fiskefarsen. Fiskefarsen sank umiddelbart, mens det oljekokte fôret kunne holde seg flytende i bortimot 24 timer. Som en del av forsøket var det planlagt et preferansestudium, for å undersøke om oljekokingen påvirket smakeligheten av farsen. Dette viste det seg umulig å gjennomføre, da laksen relativt raskt tok den synkende rå fiskefarsen, men brukte mye lengre tid til å venne seg til det flytende, oljekokte fôret. Et smakelighetsstudie ville derfor i stor grad påvirkes av fiskens preferanse for flytende eller synkende fôr. At alle fiskegrupper tok fôr med tiden, indikerer imidlertid at smak ikke har vært avgjørende for fiskens vegring mot å ta det oljekokte fôret i startfasen av forsøket.

Effekter av varmebehandling på fordøyelighet

Som det framgår av tabell 2, hadde koking i olje positiv effekt på fordøyeligheten av fôret. Spesielt interessant var den økte proteinfordøyeligheten. Fordøyeligheten av både protein og energi ble bedret med 7%.

Tabell 2. Fordøyelighet av fôrene

Fôr	1	2
	Ubehandlet	Oljekokt
Protein ¹	84±0,2 ^b	90±0,2 ^a
Fett	96±0,4	97±0,3
Energi	83±1,1 ^b	89±0,2 ^a

^{a,b} markerer statistisk sikre forskjeller.

¹ N x 6,25.

Langvarig høy temperatur ved lav fuktighet kan påføre protein varmeskader, og slik redusere både fordøyelighet og muskelavleiring (Opstvedt m. fl., 1984; Pike m. fl., 1990). Varmerbehandlingen i dette forsøket foregikk ved høy temperatur (180 °C), men fôrpartiklene var våte (39% TS), og tiden for varmeoverføring var kort (15 sek.).

Sannsynligvis har bare overflaten av fôrpartiklene vært utsatt for høy nok varme til potensielt å ødelegge protein. Proteinene i resten av fôrpartiklene så ut til å ha avtakende grad av koagulering inn mot partikkelkjernen. Summen kan ha gitt en proteinstruktur som er bedre tilgjengelig for enzymatisk spalting, og derfor også er bedre tilgjengelig for fisken.

Slik proteinstruktur kan også medføre en "proteinmikseffekt", med ulik oppløselighets- og fordøyelighetshastighet av proteinet i de ulike delene av fôrpartikkelen. Dette kan i så fall medføre et jevnere opptak av aminosyrer fra tarmkanalen, og bedre utnyttning av aminosyrene til muskelavleiring. Å undersøke slike effekter vil imidlertid kreve ytterligere forsøk.

Fettfordøyeligheten var høy for begge fôrene, og ble lite påvirket av varmen og den ekstra tilførselen av fett ved oljekokingen. Den ekstra fetttilførselen reduserte imidlertid forholdet mellom fordøyelig protein og fordøyelig energi (g fordøyelig protein / fordøyelig MJ) fra 17,2 til 14,1 g/MJ. Det optimale forholdet mellom fordøyelig protein og fordøyelig energi i fôr til laks i sjøvannsfasen ligger mellom 16 og 20 g/MJ (Einen og Roem, 1996). Ved oljekoking bør derfor farsen blandes med mer protein i forhold til fett enn i dette forsøket, enten ved bruk av magrere fiskeråstoff, eller

ved tilsats av ekstra fiskemel. Velger man å tilsette fiskemel, vil man samtidig få en tørrere og bedre konsistens på farsen som skal pelleteres.

5 Konklusjoner

Dette forsøket har vist at koking av fiskefarse i olje medfører:

- En stabil, koagulert partikkelstruktur
- Mindre vann og mer fett i fôrpartiklene (mer tørrstoff)
- 10 • Bedret fordøyelighet av proteinet i fôret

Oljekoking er følgelig en lovende produksjonsform for overflatekoagulert våtfôr til laks med hensyn på fôrutnytting.

15

Sammensetningsforslag

Alternativ 1: Kun bruk av fet fisk:

20

Råvare, g/kg	Andel	Tørrstoff	Protein	Fett	Karbohydrat
Sild, 15% fett	850	314	153	128	
Hvetemel (forklistret)	100	92	12	3	70
25 Fiskemel	50	46	35	5	
Totalt		452	200	136	70

Fordøyelig energi, MJ/kg	Totalt	Fra:	Protein	Fett	Karbohydrat
30	9,8		4,27	4,84	0,72
Andel av fordøyelig energi:			43%	49%	7%

35

Alternativ 2: Kun bruk av mager fisk:

Råvare, g/kg	Andel	Tørrstoff	Protein	Fett	Karbohydrat
5 Torsk (1,5% fett)	750	365	135	15	
Fiskeolje	100			100	
Hvetemel (forklistret)	100	92	12	3	70
Fiskemel	50	46	35	5	
Totalt		403	182	123	70
10 Fordøyelig energi, MJ/kg	Totalt	Era:	Protein	Fett	Karbohydrat
	9,0		3,88	4,37	0,72
15 Andel av fordøyelig energi			43%	49%	8%

Kalkulasjonene av fordøyelig energi er gjort under følgende forutsetninger:

20

Protein: 90% fordøyelig
 Fett: 90% fordøyelig
 Karbohydrat: 60% fordøyelig

25 Begge sammensetningene er velballanserte i henhold til fiskens behov for protein, fett og karbohydrater.

Sammensetningene omfatter de ekstreme situasjonene der kun fet eller mager fisk benyttes. Innholdet av hvetemel og fiskemel er imidlertid holdt konstant. Derfor kan man ved å interpolere lett komme fram til riktig forhold mellom fiskeråstoff og olje i nye resepter der både feit og mager fisk inngår.

30

Det vil være nødvendig å tilsette føret vitaminer, makromineraler og astaxanthin (farge).

II. Forsøk utført på fordøyelighet av overflatekoagulert våtfôr til laks etter ulike steketider i 180°C olje.

MATERIALE OG METODER

5

Produksjon av forsøksfôr

Maling av fiskeråstoff, blanding av farse og frityrsteking av pellet ble utført ved Alamar AS, Svolvær.

10

Blanding av fiskefarse

Formuleringen av fiskefarsen er presentert i Tabell 1. Farsen ble produsert i to omganger, men med samme sammensetning: 82,9% fiskeråstoff (frossen hel sild og frossent torskeavskjær), 11,7% tørt mel (LT-fiskemel og siktet hvetemel), 4,9% fiskeolje og 0,5% vann.

15

Før innblanding i farsen ble fiskemelet tilsatt 1 g av den ufordøyelige markøren yttriumoksid (Y_2O_3) pr. kg, for å gi 50 mg Y_2O_3 pr. kg av den ferdigblandede farsen. For å sikre jevn fordeling av markøren i fiskemelet, ble Y_2O_3 først blandet inn i en liten mengde av fiskemelet i en kjøkkenmaskin. Deretter ble resten av fiskemelet gradvis tilsatt i en større eltemaskin.

20

Som antioksidant ble farsen tilsatt Butylhydroksitoluen (BHT). Krystallinsk BHT ble først løst i sprit etter forholdet 60g BHT pr. l sprit, og 16 ml av denne løsningen ble deretter tilsatt pr. kg fiskeolje før innblanding i farsen (50 mg BHT pr. kg farse).

25

Ved blanding av farsene ble først tinet fiskeråstoff kuttet opp og blandet i en stor hurtighakke. Deretter ble fiskemel, hvetemel, olje og vann etter tur tilsatt og blandet inn i fiskemassen i hurtighakken. Til slutt ble blandingene kjørt gjennom en mikrokutter med knivhastighet 3000 - 4000 omdr./min. De ferdige farsene holdt en temperatur på ca. 30 °C.

30

Tabell 1. Formulering og kjemisk sammensetning av farsen

	Farse, 1. produksjon	Farse, 2. produksjon
5	<i>Formulering, g/kg</i>	
	Frossen hel sild ¹	585
	Frossent torskeavskjær ²	244
	Fiskemel ³	49
	Hvetemel ⁴	68
10	Fiskeolje ⁵	49
	Vann	5
	<i>Kjemisk sammensetning</i>	
	Tørrstoff (TS), g/kg	422
	Protein, g/kg TS ⁶	421
15	Fett, g/kg TS	397
	Aske, g/kg TS	62
	¹ Levert av K. J. Ellingsen AS, Skrova, Norge.	
	² Levert av M. Johansen AS, Stamsund, Norge.	
20	³ Norse LT-94 (Nordsildmel, Bergen, Norge), tilsatt 1,0 g Y ₂ O ₃ (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo, USA), pr. kg.	
	⁴ Siktet hvetemjøl (Statkorn, Oslo, Norge).	
	⁵ Rød fiskeolje (Biomar AS, Myre, Norge), tilsatt 1 g BHT (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo, USA) pr. kg.	
25	⁶ N x 6,25.	

Produksjon av frityrstekte fôr

Forsøksfôret ble produsert i en modifisert fiskebollekoker, der matrisediameteren i bolleklipperen var 11 mm. Kokeren var 6 m lang, og var fylt med 1200 l olje, som ble varmet opp av 28 elektriske elementer á 3,0-3,2 kW (totalt 86-90 kW). I kokeren var det montert et skråstilt transportband som kom opp av oljebadet etter 3 m. Ved justering av hastigheten på dette transportbandet kunne farsebollenes oppholdstiden i oljebadet reguleres. Fra frityrkokeren gikk det ferdigstekte fôret videre på et 7 m åpent transportband, før det gikk inn på et 6 m transportband gjennom en luftkjølt tunnel.

Av hver farseblanding ble det produsert tre ulike fôr (Tabell 2):

Fôr 1, stekt i 15 sekunder

Fôr 2, stekt i 25 sekunder

Fôr 3, stekt i 35 sekunder

Hvert fôr ble følgelig produsert av to separate farseblandinger i to separate stekeserier.

- 5 Produksjonen av hvert forsøksfôr startet når temperaturen i oljebadet nådde 184 °C. Ved hver produksjon sank deretter temperaturen gradvis til ca. 179 °C. Kjernetemperaturen i fôrpartiklene ble målt i $55 \pm 7,9$ (middel $\pm$ standardavvik) partikler fra hver produksjon med et elektronisk termometer ved enden av transportbandet i frityrstekeren, d.v.s. 3 m etter at fôret kom ut av oljebadet.

10

Tabell 2. Kjemisk sammensetning av oljekokt fôr

		<u>1. produksjon</u>			<u>2. produksjon</u>		
15	Sekunder i oljebad	15	25	35	15	25	35
	<i>Kjemisk sammensetning</i>						
	Tørrestoff (TS), g/kg	502	507	511	497	523	536
	Protein, g/kg TS ¹	354	362	372	364	356	357
	Fett, g/kg TS	461	492	471	497	517	505
20	Stivelse, g/kg TS	48	49	49	49	44	58
	Aske, g/kg TS	65	57	52	56	49	56
	Energi, MJ/kg TS	28,3	28,4	28,5	28,4	29,1	28,5

¹N x 6,25

25

Det ferdige fôret ble samlet i plastbakker, kjølt i kjølerom (2 °C), og frosset inn i fryserom (-30 °C) samme ettermiddag.

30

Fordøyelighetsforsøk

Fisk, fasiliteter og stryking av gjødsel

- Forsøket ble utført med laks i sjøvann, i 12 forsøksmerder (3x7x5 m), med 40 fisk à 2,5 kg i hver merd. Fisk ble plassert ut 11 dager før forsøkstart, for tilvenning til forsøksmerkene. I forsøksperioden ble fisken fôret i henhold til appetitt to ganger daglig.

35

Samleprøver av gjødsel innen merd ble strøket for fordøyelighetsmåling dag 19. Fordøyelighet ble videre bestemt i henhold til metode beskrevet av Austreng (1978), med bruk av yttriumoksid som ufordøyelig markør (Austreng m.fl., 1996).

5 *Kjemiske analyser*

Bestemmelse av tørrstoff (105°C, 16-18t), aske (forbrenning ved 550 °C til konstant vekt), nitrogen (Semi-micro-Kjeldahl, Kjeltex-Auto System, Tecator, Höganäs, Sverige), fett (petroleumseterekstraksjon i en Fosstec (Tecator) analysator etter HCl-hydrolyse, Stoldt (1952)), stivelse (som beskrevet av Storebakken m.fl. (1991)) og bruttoenergi (Parr 1271 Bomb calorimeter, Parr, Moline, IL, USA) ble foretatt ved AKVAFORSKs laboratorier. Yttrium i fôr og gjødsel ble målt i aske (løst i konge vann (HCl:HNO₃ 2:1 (v/v)) ved AKVAFORSK) med et ICP-spektrometer (Model 1100, Thermo Jarrel/Ash, Franklin, MA, USA) ved Landbrukets analysesenter i Ås.

15 *Statistisk analyse*

Resultatene ble analysert med envegs (kjernetemperatur i fôrpartikler, n=2; fordøyelighet, n=4) og tovegs (fordøyelighet, fôr * kokeserie) variansanalyse ved bruk av General linear models (GLM) prosedyren i programvaren SAS (SAS, 1985). For kjernetemperatur i fôrpartikler ble signifikansnivået valgt lik $P < 0,10$ (10% sannsynlighet for feilforkastning av hypotese). Fôr fordøyelighet ble signifikansnivået valgt lik $P < 0,05$ (5% sannsynlighet for feilforkastning av hypotese). Signifikante forskjeller ble rangert ved bruk av Duncan's Multiple Range Test. Resultatene er oppgitt som middel $\pm$ middelets standardfeil.

25 RESULTATER OG DISKUSJON

Fysiske og kjemiske endringer i fôr

Målingen av kjernetemperatur i fôrpartiklene (Tabell 3) ble noe usikker, da hastigheten på transportbåndet ut av oljebadet var høy. Det var derfor vanskelig å plassere målesonden nøyaktig i sentrum av fôrpartiklene. Samtidig var avkjølingen av fôrpartiklene allerede i gang, da målingene ble foretatt 3 m etter at fôrpartiklene kom opp av oljebadet. Samlet resulterte dette i relativt stor variasjon mellom enkeltmålingene.

Tabell 3. Kjernetemperatur i frityrstekte fôrpartikler etter ulik tid i oljebad
(Middel standardfeil, n=2).

5	Sekunder i oljebad	15	25	35
	Kjernetemperatur (�C)	86,5�4,9 ^b	95,4�2,8 ^a	96,0�1,1 ^a

10 Ulike fotnoter ^{ab} angir signifikante forskjeller innen rad på 10% nivå.

Kjernetemperaturen i f rpartiklene som var stekt i 15 sekunder var signifikant lavere enn kjernetemperaturen i partiklene som var stekt lenger. Mellom partiklene som var kokt i 25 eller 35 sekunder var det ingen forskjell i kjernetemperatur. Dette viser at kjernetemperaturen i f rpartiklene hadde nådd kokepunktet etter 25 sekunders steketid ved 180  C. At de målte temperaturene ved 25 og 35 sekunders steketid er noe lavere enn 100  C, skyldes sannsynligvis at temperaturmålingene ble foretatt svært raskt, at f rpartiklene allerede var noe avkjølt, og at størrelsen på f rpartiklene var ujevn, der kjernetemperaturen fremdeles var lavere i de aller største partiklene. Det siste illustreres også ved at variasjonen i kjernetemperatur avtok n r f rpartiklenes steketid økte fra 25 til 35 sekunder.

Frityrsteking medførte at tørrstoffinnholdet i f ret og fettinnholdet i f rt rrstoffet økte (se Tabell 4). I hver produksjonsserie økte vanntapet i f rpartiklene med økende steketid. Fettopptaket var imidlertid høyest etter den mellomste steketiden, d.v.s. etter 25 sekunder. Disse beregningene er foretatt på grunnlag av analyser av startuttak av farse fra før hver produksjonsserie, og ville følgelig påvirkes av uhomogen farse. Ulikheter i partikkelstørrelser mellom uttakene til analyse av de ulike f rene vil også påvirke beregningene, da større partikler har mindre overflate for fettinntrenging under frityrsteking (Orthoefer m. fl., 1996), og for absorpsjon av fett ved avkjøling (Banks, 1996). Det er likevel sannsynlig at reduksjonen i fettinnhold fra 25 sekunders steketid til 35 sekunders steketid var en effekt av at d mptrykket i de stekende de f rpartiklene reverserte noe av oljeopptaket (Banks, 1996). Dette understøttes av at fettinnholdet i f rpartiklene økte mens kjernetemperaturen steg, mens det avtok noe etter at kjernetemperaturen stabiliserte seg ved kokepunktet.

Tabell 4. Endringer i sammensetning av fôr ved oljekoking (Middel $\pm$ standardavvik, n=2)

5	Sekunder i oljebad	Tørrstoff- økning (%)	Fettøkning (% i tørrstoff)	Vanntap (g/kg farse) ¹	Fettopptak (g/kg farse) ¹
	15	7,6 $\pm$ 0,6	10,4 $\pm$ 5,7	163,5 $\pm$ 6,0	74,5 $\pm$ 29,0
10	25	9,2 $\pm$ 0,9	13,0 $\pm$ 6,0	205,0 $\pm$ 33,9	86,5 $\pm$ 29,0
	35	10,0 $\pm$ 1,6	11,3 $\pm$ 5,5	213,5 $\pm$ 41,7	77,5 $\pm$ 37,5

²I forhold til konsentrasjon av yttrium i farse og fôr

15

Åpen frityrsteking gir både termolytisk og oksidativ degradering av frityroljen, slik at oljen vil få økende innhold av lite tilgjengelige og/eller giftige produkter jo lengre tid den benyttes (Márquez-Ruiz og Dobarganes, 1996; Orthofer og Cooper, 1996; Orthofer m.fl., 1996). Rotteforsøk har vist at innblanding av mer enn 15% brukt frityrolje i fôret kan medføre vekstreduksjon, og kan i enkelte tilfeller også være giftig (Márquez-Ruiz og Dobarganes, 1996). Opptaket av frityrolje i frityrstekt våtfôr er ligger godt under 15%. Likevel vil det være viktig med god utskifting av frityroljen, både m.h.p. turnover (d.v.s. hvor lang tid det tar før all oljen er skiftet ut ved etterfylling) og oljeskift i frityrkokeren.

25

Fordøyelighet

Det var ingen forskjell mellom fordøyelighet av næringsstoffer mellom fôr stekt fra 15 til 35 sekunder, og det var heller ingen effekt av produksjonsserie (Tabell 5). Sammenliknet med normale fordøyelighetsverdier av ekstrudert fiskefôr funnet ved bruk av ufordøyelige markører og stryking av gjødsel (Refstie m.fl., 1996a; Refstie m. fl., 1996b; Storebakken m.fl., 1996), var verdiene i dette forsøket høye. Frityrsteking av våtfôr viser seg derfor som en skånsom varmebehandlingsprosess, der oppholdstid på inntil 35 sekunder i 180 °C olje påfører proteinet i ferske råvarer svært liten om noen varmeskade.

35

Tabell 5. Fordøyelighet av oljekokt fôr og forhold mellom fordøyelig protein og fordøyelig energi i fôr etter ulik tid i oljebad (Middel±standardfeil, n=4).

Enveis variansanalyse innen fôr					
Sekunder i oljebad	Fordøyelighet (%)				FP/FE ¹
	Tørrstoff	Protein	Fett	Energi	(g/MJ)
15	94,8±0,2	89,0±0,1	93,8±0,5	88,8±0,4	12,7±0,1
25	94,9±0,2	88,9±0,2	93,2±0,7	88,9±0,4	12,5±0,1
35	95,1±0,1	89,3±0,3	93,4±0,7	88,9±0,3	12,8±0,1

Toveis variansanalyse med samspill

Effekt av

Sekunder i oljebad	I.S.	I.S.	I.S.	I.S.	*
Kokeserie	I.S.	I.S.	I.S.	I.S.	I.S.
Sekunder x serie	I.S.	I.S.	I.S.	I.S.	*

Ulike fotnoter ^{abc} angir signifikante forskjeller innen kolonne på 5% nivå.

* angir signifikante forskjeller på 5% nivå.

I.S. angir ikke signifikante forskjeller.

¹ Gram fordøyelig protein pr. fordøyelig MJ

Innledende studier med frityrkoking av våtfôr i 15 sekunder ved 180 °C viste faktisk en positiv effekt på tilgjengeligheten av fôrprotein (Refstie og Austreng, 1996). Sammenstilt kan resultatene fra dette og det innledende forsøket tyde på at frityrsteking i inntil til 35 sekunder har samme positive effekt på fôrprotein.

Når det gjelder forholdet mellom fordøyelig protein og fordøyelig energi (FP/FE, g/MJ) i de enkelte fôrene, var forskjellene små. Ulike steketider ga likevel forskjellig FP/FE-forhold (Tabell 5). Siden fordøyelighetene av både fett og energi var like for alle forene, var dette kun en effekt av ulikt opptak av frityrolje ved de ulike steketidene (Tabell 4).

Fôr tørrfôr ligger det optimale FP/FE-forholdet i fôr til laks i sjøvannsfåsen mellom 16 og 20 g/MJ (Einen og Roem, 1996). Høyere vanninnhold og eventuell bedre proteinkvalitet kan muligens medføre at riktig FP/FE-forhold er lavere i våtfôr enn i tørrfôr. I våtfôrene i dette forsøket var imidlertid FP/FE-forholdet så lavt som 12,7±0,3 g/MJ (middel±standardavvik). Ved frityrsteking av våtfôr bør derfor farsen inneholde

mer magert fiskeråstoff og/eller proteinmel (fiskemel, soyamel etc.). Tilsettes mer proteinmel, vil samtidig tørrstoffinnholdet i det ferdige fôret øke.

Konklusjoner

- 5 Frityrsteking av våtfôrpellet ($\varnothing = 11$ mm) ved 180 °C i 15, 25 eller 35 sekunder medfører:
- Våtfôrpelletene er gjennomvarme først etter 25 sekunders steketid.
 - Tørrstoffinnholdet i våtfôret øker med økende steketid, grunnet avdamping.
 - 10 • Opptaket av frityrolje øker når steketiden øker 15 til 25 sekunder, men opptaket kan reverseres noe når steketiden økes videre til 35 sekunder.
 - Fordøyeligheten av næringsstoffer er uberørt av steketider innen intervallet 15 til 35 sekunder.
- 15 Vi konkluderer derfor med at frityrsteking av våtfôr er en skånsom varmebehandlingsprosess, der steking i 180 °C olje i inntil 35 sekunder ikke påfører proteinet i fôret varmeskader.

20

III. Forsøk på fordøyelighet av astaxanthin i overflatekoagulert våtfôr til laks etter ulike steketider i 180°C olje.

MATERIALER OG METODER

25

Produksjon av forsøksfôr

Blanding av fiskefarse

- Formuleringen av fiskefarsen er presentert i Tabell 1. Farsen ble produsert i to omganger, men etter samme resept: 82,9% fiskeråstoff (frossen hel sild og frossent torskavskjær), 11,7% tørt mel (LT-fiskemel og siktet hvetemel), 4,9% fiskeolje og
- 30 0,5% vann.

Carophyll Pink, tilsvarende 30 mg/kg våtvekt ble tilsatt de to ulike produksjonene av farse. For første produksjon av farse ble Carophyll Pink dispergert i

varmt vann (50 °C) ved røring i ca. 30 min. og rørt inn i oljefasen. For andre produksjon av farse ble tørt Carophyll Pink tilsatt sammen med yttriumoksid (Y_2O_3). Før innblanding i farsen ble fiskemelet tilsatt 1 g av den ufordøyelige markøren Y_2O_3 pr. kg, for å gi 50 mg Y_2O_3 pr. kg av den ferdigblandede farsen.

- 5 For å sikre jevn fordeling av markøren i fiskemelet, ble Y_2O_3 først blandet med en liten mengde av fiskemelblandingen i en kjøkkenmaskin. Deretter ble resten av fiskemelet gradvis tilsatt i en større eltemaskin.

- Farsen ble tilsatt butylhydroksytoluen (BHT; 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol) som antioksidant. Krystallinsk BHT ble løst i etanol (60g BHT/l). Løsningen (16 ml) ble satt
10 til fiskeoljen før innblanding i farsen (50 mg BHT pr. kg farse).

Ved blanding av farsene ble først tint fiskeråstoff kuttet opp og blandet i en hurtighakke (Schneidmischer 325, Krämer-Grebe, Wallau/Lahn, Tyskland). Deretter ble fiskemel, hvetemel, olje og vann tilsatt etter tur og blandet inn i fiskemassen.

- Blandingene ble deretter finfordelt ved hjelp av en mikrokutter med knivhastighet 3000
15 - 4000 omdr./min. De ferdige farsene holdt en temperatur på ca. 30 °C.

Tabell 1. Formulering og kjemisk sammensetning av farsen

	Farse, 1. produksjon	Farse, 2. produksjon
5	<i>Formulering, g/kg</i>	
	Frossen hel sild ¹	585
	Frossent torskeavskjær ²	244
	Fiskemel ³	49
	Hvetemel ⁴	68
10	Fiskeolje ⁵	49
	Vann	5
	<i>Formulering, mg/kg</i>	
	Astaxanthin	30
	<i>Kjemisk sammensetning, analysert</i>	
15	Tørrstoff (TS), g/kg	422
	Protein, g/kg TS ⁶	421
	Fett, g/kg TS	397
	Karbohydrat, g/kg TS	120
	Aske, g/kg TS	62

¹ Levert av K. J. Ellingsen AS, Skrova, Norge.² Levert av M. Johansen AS, Stamsund, Norge.³ Norse LT-94 (Nordsildmel, Bergen, Norge), tilsatt 1,0 g Y₂O₃ (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo, USA), pr. kg.⁴ Siktet hvetemel (Statkorn, Oslo, Norge).⁵ Rød fiskeolje (Biomar AS, Myre, Norge), tilsatt 1 g BHT (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo, USA) pr. kg.⁶ N x 6,25.30 *Produksjon av frityrstekt för*

Forsøksföret ble produsert i en modifisert fiskebollekoker, der matrisediameteren i bolleklipperen var 11 mm. Kokeren var 6 m lang, og var fylt med 1200 l olje, som ble varmet opp av 28 elektriske elementer á 3,0-3,2 kW (totalt 86-90 kW). I kokeren var det montert et skråstilt transportbånd som kom opp av oljebadet etter 3 m. Ved justering

35 av hastigheten på transportbandet ble farsebollenes oppholdstid i oljebadet regulert. Det ferdigstekte föret ble ført videre på et åpent transportbånd (7 m), og deretter gjennom en luftkjølt tunnel (6 m).

Av hver farseblanding ble det produsert tre ulike för (Tabell 2):

Fôr 1 og 4 kokt i 15 sekunder

Fôr 2 og 5 kokt i 25 sekunder

Fôr 3 og 6 kokt i 35 sekunder

- 5 Hvert fôr ble følgelig produsert av to separate farseblandinger i to separate stekeserier. Produksjonen av hvert forsøksfôr startet når temperaturen i oljebadet nådde 184 °C. Temperaturen sank deretter gradvis til ca. 179 °C. Kjernetemperaturen i fôrpartiklene ble målt i $55 \pm 7,9$ (middel $\pm$ standardavvik) partikler fra hver produksjon med et elektronisk termometer ved enden av transportbandet i frityrstekeren, d.v.s. 3 m etter at
- 10 fôret kom ut av oljebadet.

Tabell 2. Kjemisk sammensetning av oljekokt fôr

15		<u>1. produksjon</u>			<u>2. produksjon</u>		
	Sekunder i oljebad	15	25	35	15	25	35
	<i>Kjemisk sammensetning</i>						
	Tørrstoff (TS), g/kg	502	507	511	497	523	536
	Protein, g/kg TS ¹	354	362	372	364	356	357
20	Fett, g/kg TS	461	492	471	497	517	505
	Stivelse, g/kg TS	48	49	49	49	44	58
	Aske, g/kg TS	65	57	52	56	49	56
	Energi, MJ/kg TS	28,3	28,4	28,5	28,4	29,1	28,5
25	¹ N x 6,25						

Det ferdige fôret ble samlet i plastbakker, kjølt i kjølerom (2 °C), og frosset inn i fryserom

- 30 (-30 °C) samme ettermiddag.

Fordøyelighetsforsøk

Fisk, fasiliteter og stryking av gjødsel

- Forsøket ble utført med laks i sjøvann, i 12 forsøksmerder (3x7x5 m), med 40 fisk à 2,5
- 35 kg i hver merd. Fisk ble plassert ut 11 dager før forsøkstart, for tilvenning til

forsøksmerdene. I forsøksperioden ble fisken føret i henhold til appetitt to ganger daglig.

Samleprøver av gjødsel innen merd ble strøket for fordøyelighetsmåling dag 19.

5 *Kjemiske analyser*

Bestemmelse av tørrstoff (105 °C, 16-18t), aske (forbrenning ved 550 °C til konstant vekt), nitrogen (Semi-micro-Kjeldahl, Kjelttec-Auto System, Tecator, Höganäs, Sverige), fett (petroleumseterekstraksjon i en Fosstec (Tecator) analysator etter HCl-hydrolyse, Stoldt (1952)), stivelse (som beskrevet av Storebakken m.fl. (1991)) og bruttoenergi (Parr 1271 Bomb calorimeter, Parr, Moline, IL, USA) ble foretatt ved AKVAFORSKs laboratorier. Yttrium i før og gjødsel ble målt i aske (løst i konge vann (HCl:HNO₃ 2:1 (v/v)) ved AKVAFORSK) med et ICP-spektrometer (Model 1100, Thermo Jarrel/Ash, Franklin, MA, USA) ved Landbrukets analysesenter i Ås.

15 *Analyse av astaxanthin i gjødsel og før.*

Gjødsel ble frosset inn på tørris umiddelbart etter stryking for å unngå nedbrytning av carotenoid. Prøvene ble oppbevart ved -80 °C inntil analyse. Prøven ble tint ved romtemperatur og homogenisert ved røring med glasstav. Omtrent 10,0 g våt homogenisert gjødsel ble veid inn og behandlet enzymatisk med protease (Maxatase[®]

- 20 P, 30 mg; International Biosynthetics, Rijswijk, Nederland) i destillert vann (10 ml) i et ultralyd vannbad (30 min, 50 °C) for å bryte ned gelatin i Carophyll Pink[™]. Etanol (100 ml) ble tilsatt i en volumetrisk kolbe og diklormetan ble fylt til 250 ml. En alikvot (10 ml) av ekstraktet ble rensset ved kolonnekromatografi med silica gel 60 (Merck, Darmstadt, Tyskland, no. 7733), og eluatet ble dampet av. Prøven ble løst i et nøyaktig
- 25 bestemt volum (typisk 1 ml) *n*-hexane:acetone (86:14) og filtreres (0,45 µm; Minisart SRP15, Sartorius, Tyskland), direkte i prøveglass til HPLC og oppbevart ved -80 °C inntil analyse ved HPLC.

HPLC-prosedyre for analyse av astaxanthin

Prøvene ble analysert isokratisk ved HPLC på en silica gel kolonne (Merck Hibar, LiChrosorb Si 60, 5 µm partikkelstørrelse; indre diameter 4,6 mm, lengde 125 mm; gjennomstrømnings-hastighet 1,5 ml/min; (35 bar); deteksjonsbølgelengde 470 nm)

5 med 14% aceton i hexan som mobilfase, som beskrevet av Vecchi m.fl. (1987).

Konsentrasjonen ble beregnet ved hjelp av en ekstern standard. HPLCen som ble brukt var en Shimadzu LC-10AS væskeskromatograf koplet til en Shimadzu SPD-M6A Photodiode array UV-VIS detector og Shimadzu CBM-10A Communications Bus modul. Prøvene ble injisert ved hjelp av en Shimadzu SIL-10 autoinjektor.

10 Kromatogrammene ble reintegrert (Class LC10 software, Shimadzu, Japan) for baselinje-korreksjon. Retensjonstiden (R_T) for astaxanthin var ca. 10,0 min.

Standarder.

Eksterne standarder ble benyttet for å kvantifisere carotenoidinnhold i prøvene.

15 Standarder med kjent konsentrasjon ble laget og kjørt hver gang prøver blir analysert.

Omtrent 3 mg krystalinsk all-*trans*-astaxanthin (Hoffmann-La Roche Ltd, Sveits) ble veid inn i en 100 ml volumetrisk kolbe og løst i 4,5 ml kloroform. Deretter ble 95,5 ml *n*-hexan tilsatt. En aliquot av denne astaxanthinløsningen (10 ml) ble pipettert inn i en annen 100 ml volumetrisk kolbe, og 90 ml 4,5% kloroform i *n*-hexan ble tilsatt.

20 Absorbansen av denne 10%-løsningen ble målt i en glass-kyvette i et spektrofotometer (UV-260, Shimadzu, Japan), mot en referansecelle med 4,5% kloroform i *n*-hexan.

Konsentrasjonen ble beregnet i henhold til følgende sammenheng:

$$25 \quad \text{Konsentrasjon} = \frac{10 * \text{Vol} * \text{Abs}}{E_{1\%, 1\text{cm}}}$$

hvor

Vol = Volumet av løsemiddel brukt for å lage standarden

30 Abs = Absorbansen ved å måle ved 470nm for astaxanthin

$E_{1\%, 1\text{cm}} = 2100$ for astaxanthin, i hexan ved $\lambda_{\text{max}}=472$ nm.

Bestemmelse av fordøyeligheter

Tilsynelatende fordøyelighetskoeffisienter (ADC) for astaxanthin i de ulike førene ble

35 bestemt ved en indirekte metode etter uttak av gjødsel som beskrevet av Austreng

(1978). Yttriumoksid ble benyttet som ufordøyelig markør (Austreng m.fl., 1996). ADC ble beregnet i henhold til Maynard and Loosli (1969).

Statistisk analyse

- 5 Resultatene ble analysert ved hjelp av variansanalyse ved bruk av General linear models (GLM) prosedyren i programvaren SAS (SAS, 1985). For fordøyelighet ble signifikansnivået valgt lik $P < 0,05$ (5% sannsynlighet for feilforkastning av hypotese). Resultatene er oppgitt som middel $\pm$ middelets standardfeil.

10

RESULTATER OG DISKUSJON

Prosess-stabilitet av forbehandlet og ubehandlet Carophyll Pink

- 15 I Tabell 3 er innholdet av astaxanthin i før med forbehandlet eller ubehandlet astaxanthin gitt for de ulike behandlingstidene i olje. Det var signifikant forskjell mellom innholdet av astaxanthin basert på tørrstoffinnhold i førene ($p < 0,001$). Det var også signifikant forskjell ($p < 0,05$) mellom før tilsatt ubehandlet ($45,4 \pm 1,7$) og varmebehandlet astaxanthin ($38,2 \pm 0,9$). Dette kan tyde på at man får et større tap av
- 20 astaxanthin gjennom prosessen når man dispergerer Carophyll Pink i vann forut for tilsats i førfarsen. Det var ingen signifikante effekter av behandlingstid på innhold av astaxanthin basert på tørrstoffinnhold. Dette vil imidlertid bli belyst nærmere i en senere rapport.

- 25 *Tabell 3. Innhold av astaxanthin i oljekokt før umiddelbart etter produksjon (mg/kg TS).*

	Sekunder i oljebad		
	15	25	35
	<u>Astaxanthin, mg/kg TS</u>		
Forbehandlet	$38,7 \pm 1,0^{bc}$	$36,2 \pm 1,3^c$	$39,7 \pm 1,8^{bc}$
Ubehandlet	$45,4 \pm 2,7^{ab}$	$41,3 \pm 3,3^{bc}$	$49,3 \pm 1,5^a$

- 35 Ulike fotnoter ^{abc} angir signifikante forskjeller ($p < 0,05$).

Fordøyelighet

Tilsynelatende fordøyelighetskoeffisienter for astaxanthin (ADC) for de ulike førene er gitt i Tabell 4. Det var ingen signifikante forskjeller i fordøyelighet av astaxanthin mellom før stekt fra 15 til 35 sekunder, selv om det var en tendens til at før med forbehandlet astaxanthin hadde forskjellig fordøyelighet etter behandling i henholdsvis 15 og 35 sekunder (Tabell 4). Sammenliknet med fordøyelighetsverdier for canthaxanthin funnet ved bruk av ufordøyelige markører og stryking av gjødsel (Torrissen m.fl., 1990), var verdiene i dette forsøket meget høye. Sammenliknbare resultater ble oppnådd for astaxanthin hos regnbueørret (Choubert og Storebakken, 1996; Bjerkeng m.fl., 1997). Frityrsteking av våtfør viser seg derfor som en forholdsvis skånsom varmebehandlingsprosess, der oppholdstid på inntil 35 sekunder i 180 °C olje ikke fører til noen vesentlig forringelse av fiskens evne til å utnytte astaxanthin.

Tabell 4. Fordøyelighetskoeffisienter (ADC) for ubehandlet og vanndispergert astaxanthin i oljekokt før behandlet i henholdsvis 15, 25 og 35 s i oljebad (180 °C).

Sekunder i oljebad	ADC (%)	
	Varmebehandlet	Ubehandlet
15	85,5±0,7 ^t	82,2±1,7
25	84,9±1,0	80,1±1,1
35	77,8±4,1 ^r	81,0±1,0

Ulike fotnoter ^{tr} angir trender (0,05<p≤0,1).

Det var en svak tendens til at fordøyeligheten til astaxanthin tapte seg etter som behandlingstiden i oljebadet økte, Tabell 5.

Det var ingen signifikante forskjeller i fordøyelighet av astaxanthin som følge av eventuell forbehandling av astaxanthin, Tabell 6. Man skulle faktisk forvente en noe høyere fordøyelighet av astaxanthin hos fisk som fikk forbehandlet astaxanthin, fordi konsentrasjonen av astaxanthin i dette fôret var lavere. Lavere carotenoid-konsentrasjon gir høyere fordøyelighet (Torrissen m.fl., 1990; Smith m.fl., 1992; Choubert og Storebakken, 1996).

Konklusjoner

Frityrsteking av våtførpellet ($\varnothing = 11$ mm) ved ca. 180 °C i 15, 25 eller 35 sekunder medfører:

- Fordøyeligheten av ubehandlet astaxanthin var meget høy, trolig som følge av tilstrekkelig oppløsning av gelatin under varmebehandling i olje.
- Vanddispergering av Carophyll Pink fører til at astaxanthin brytes hurtigere ned.
- Ved forlenget varmebehandlingstid kan man forvente betydelige tap og redusert fordøyelighet av astaxanthin.

Tabell 5. Effekten av varmebehandlingstid på fordøyelighet (ADC) av astaxanthin i oljekokt før.

Sekunder i oljebad	ADC (%)
15	83,9
25	82,5
35	79,4
Effekt	p=0.15

Tabell 6. Effekten av forbehandling astaxanthin på fordøyelighet (ADC) av astaxanthin i oljekokt før.

ADC (%)		
Varmebehandlet	Ubehandlet	
82,3	81,3	I.S.

I.S. angir ikke signifikante forskjeller.

Det kan følgelig trekkes den konklusjon at frityrsteking av våtfôr er en skånsom varmebehandlingsprosess, der steking i 180 °C olje i inntil 35 sekunder ikke fører til redusert fordøyelighet av astaxanthin. Varmeprosessen i seg selv synes å være tilstrekkelig til at man skal få en tilfredstillende fordøyelighet av astaxanthin fra

5 Carophyll Pink uten at noen form for forbehandling synes nødvendig

KILDEHENVISNINGER

10

Austreng, E., 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract.

Aquaculture, 13: 265-272.

15 Austreng, E., 1994. Rubin-fôret, våtfôr til oppdrettsfisk. Utprøving av teknikk og fôringsforsøk. RUBIN-rapport nr. 302/36, Trondheim, 20s.

Austreng, E. og Draget, K., 1996. Rubin-fôret: Fra idé til kommersiell produksjon. Norsk fiskeoppdrett, 21(20): 38-39.

Austreng, E., Thomassen, M.Š., Thomassen, Y., Refstie, S. og Storebakken, T., 1996.

20 Oxides of rare earth metals as new inert markers in digestibility studies with fish. Manuskript.

Banks, D., 1996. Industrial frying. I: E.G. Perkins og M.D. Ericson (Redaktører), Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications. AOAC Press, Champaign, USA, side 258-270.

25 Bjerkeng, B., Følling, M., Lagocki, S., Storebakken, T., Olli, J.J. og Alsted, N., 1997. Different bioavailability of all-*E*-astaxanthin and *Z*-isomers of astaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Manuskript.

Choubert, G. og Storebakken, T., 1996. Digestibility of astaxanthin and canthaxanthin in rainbow trout as affected by dietary concentration, feeding rate and water salinity. Ann. Zootechn., 45: 445-453.

30

Einen, O. og Roem, A. J., 1996. Growth, feed utilisation and body composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed extruded high energy diets of varying protein/energy ratios.

Under utarbeiding.

- Einen, O. og Roem, A. J., 1996. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: Growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquaculture Nutrition*. In press.
- Márquez-Ruiz, G. og Dobarganes, M.C., 1996. Nutritional and physiological effects of used frying fats. I: E.G. Perkins og M.D. Ericson (Redaktører), *Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications*. AOAC Press, Champaign, USA, side 160-182.
- Opstvedt, J., Miller, R., Hardy, R.W. og Spinelli, J., 1984. Heat induced changes in sulfhydryl groups and disulfide bonds in fish protein and their effect on protein and amino acid digestibility in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Agric. Food Chem.*, 32(4): 929-935.
- Orthoefer, F.T., Gurkin, S. og Liu, K., 1996. Dynamics of frying. I: E.G. Perkins og M.D. Ericson (Redaktører), *Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications*. AOAC Press, Champaign, USA, side 223-244.
- Orthoefer, F.T. og Cooper, D.S., 1996. Evaluation of used frying oil. I: E.G. Perkins og M.D. Ericson (Redaktører), *Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications*. AOAC Press, Champaign, USA, side 285-296.
- Pike, I. H., Andorsdóttir, G. og Mundheim, H., 1990. The role of fish meal in diets for salmonids. *Int. Assoc. Fish Meal Manufacturers, Techn. Bull.*, No 24, 35 pp.
- Refstie, S. og Austreng, E., 1996. Fordøyelighet av våtfôr til laks produsert ved overflatekoagulering i varm olje. AKVAFORSK-rapport nr. 5/96, 11 sider. FORTROLIG.
- Refstie, S., Korsøen, Ø.J., Storebakken, T., og Roem, A.J., 1996a. Soya to Atlantic salmon and rainbow trout: A comparative study. Manuskript.
- Refstie, S., Storebakken, T. og Roem, A.J., 1996b. Adaptation to hulled and dehulled, enzyme treated soybean meal in diets for Atlantic salmon. Manuskript.
- SAS, 1985. SAS/STAT® Guide for personal computers, Version 6 Ed. Cary, NC, SAS Institute Inc., 378 sider
- Stoldt, W., 1952. Vorschlag zur Vereinheitlichung der Fettbestimmung in Lebensmitteln. *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 54: 206-207
- Smith, B.E., Hardy, R.W. og Torrissen, O.J., 1992. Synthetic astaxanthin deposition in pan-size coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 104: 105-119.
- Storebakken, T., 1985. Binders in fish feeds I. Effect of alginate and guar gum on growth, digestibility, feed intake and passage through the gastrointestinal tract of rainbow trout. *Aquaculture*, 47: 11-26.

Storebakken, T. og Austreng, E., 1987. Binders in fish feeds II. Effect of different alginates on the digestibility of macronutrients in rainbow trout. *Aquaculture*, 60: 121-131.

Storebakken, T., Hung, S.S.O., Calvert, C.C. og Plisetskaya, E., 1991. Nutrient partitioning in rainbow trout at different feeding rates. *Aquaculture*, 96: 191-203.

Storebakken, T., Refstie, S., Bæverfjord, G. og Roem, A.J., 1996. Long-term effects of high energy soy diets for Atlantic salmon in sea water. Manuskript.

Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. og Stone, F.E., 1990. Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on the apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 88: 315-362.

Vecchi, M., Glinz, E., Meduna, V. og Schiedt, K., 1987. HPLC separation and determination of astacene, semiastacene, astaxanthin, and other keto-carotenoids. *J. High Resolution Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 10: 348-351.

p a t e n t k r a v

1.

- 5 Fremgangsmåte for fremstilling av overflatekoagulert fôr til kjæledyr, oppdrettsfisk, pelsdyr, fugler og andre dyr, med forbedret fordøyelighet og uten tilsetning av ufordøyelige bindere, k a r a k t e r i s e r t v e d a t farse fremstilt fra våte fôrmidler, slik som biprodukter fra kjøtt- og/eller fiskeindustrien og/eller hel fisk, sammen med noe energigivende mel, uten forutgående tørking pelletteres direkte opp i et varmt oljebad (animalsk og/eller vegetabilsk olje), hvor
10 pelletten undergår varmebehandling i 5-60 sekunder ved 100-200 °C, hvorved behandlingstid og behandlingstemperatur fastsettes slik at bare det ytre laget av pelletten koagulerer.

2.

- 15 Fremgangsmåte for fremstilling av overflatekoagulert fôr til kjæledyr, oppdrettsfisk og pelsdyr ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t overflatekoagulert pellet sprøytes med olje (animalsk og/eller vegetabilsk) før kjøling.