

Rapport nr. 302/75

RUBIN-FÔRET

Lavere alginatkonsentrasjon og alternative bindere



RAPPORT-TITTEL

RUBIN-FÔRET. Lavere alginatkonsentrasjon og alternative bindere

RAPPORTNUMMER	302/75	PROSJEKTNUMMER	302
UTGIVER	RUBIN	DATO	Desember 1997

UTFØRENDE INSTITUSJONER

NTNU, institutt for bioteknologi

7034 Trondheim

Tlf.: 73 59 82 60

Kontaktperson: Kurt Draget

SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER

Målet for det arbeidet denne rapporten omhandler, har vært å redusere mengde alginat brukt som geldanner i RUBIN-fôret. Alginatet i RUBIN-fôret utgjør en vesentlig kostnadsfaktor, og redusert innblanding vil kunne gjøre RUBIN-fôret billigere enn det er i dag. Dette arbeidet er et delprosjekt innenfor prosjektet "Optimalisering av RUBIN-fôret".

En har forsøkt å prehydratisere alginatet (løse det i vann før tilsetning til fiskemassen), for å få optimal gelingseffekt, samt å bruke andre og kraftigere alginat typer. Forsøkene er gjort ved Øyfisk A/S, og er bygd på resultatene av det arbeidet som ble gjort i laboratoriet i prosjektet "RUBIN-fôret. Videreføring av gelingsteknikk" ved NTNU (RUBIN-rapport 302/46).

Foruten Algibind, ble det brukt alginat isolert fra stilk og blad av stortare (*L. hyperborea*), som er mer potente geldannere. Den vanlige resepten innebærer 5% Algibind. I forsøkene har en prøvd 1% Algibind, 0,5% *L.hyperborea* stilk og 0,5% *L.hyperborea* blad. For hver av disse tre variantene har en prøvd både prehydratisering av alginatet og direkte tilsetning av tørt alginat. I alle blandingene er tap av tørre ingredienser ved redusert mengde alginat kompensert ved ekstra tilsats av hvetemel. En har også hatt en standardblanding med den opprinnelige Algibind-konsentrasjonen på 5%.

Selv om prehydratiseringen på ingen måte var optimal pga. den høye viskositeten av massen, syntes denne prosessen å ha en klar positiv effekt når det ble brukt *L.hyperborea*. Pellets med 0,5% prehydratisert alginat var like gode som pellets av standardblandingen.

Man ønsket å undersøke betydningen av alginatets to bindingsmekanismer; geldannelse kontra elektrostatiske bindinger, ved å erstatte alginatet helt eller delvis med lignosulfonat, som kun har sistnevnte bindingsmekanisme. Siden lignosulfonat er et høyt forgrenet molekyl, ga ikke denne alene nok viskositet og dermed nødvendig fasthet av massen før/etter pelletering. Det er imidlertid mulig at deler av alginatmengden (30-50%) kan erstattes med lignosulfonat siden en "halvblanding" ga et rimelig bra resultat.

En har videre prøvd å erstatte den ekstruderte hveten med potetstivelse og -fiber. Disse hadde svært god vannbindingsevne og ga pellets med høy fasthet, men prisen er svært høy. Flere forsøk med lavere konsentrasjoner og bedre blandeprosedyrer, kan muligens gi så godt resultat at bruken vil lønne seg.

Stiftelsen RUBIN

Pirsenteret, Brattøra
7005 Trondheim

Telefon 73 51 82 15

Telefax 73 51 70 84

Optimalisering av RUBIN-fôret

Delprosjekt: Lavere alginatkonsentrasjon og alternative bindere

INNHold

SAMMENDRAG	1
INNLEDNING/BAKGRUNN.....	2
MATERIELL OG METODER	3
a) Alginatkvaliteter utprøvd hos Øyfisk A/S.....	3
b) Lignosulfonat og potetstivelse utprøvd hos Seafood Farmers A/S.....	4
RESULTAT OG DISKUSJON	5
a) Alginatkvaliteter og hydratisert alginat utprøvd hos Øyfisk A/S.....	5
b) Lignosulfonat og potetstivelse og potetfiber utprøvd hos Seafood Farmers A/S.....	6
KONKLUSJON.....	7

SAMMENDRAG

Dette delprosjektet har vært en videreføring av tidligere RUBIN-prosjekt på 'Fersk-fôr'. Mål for denne forsøksserien har vært å forsøke en pilotproduksjon for å redusere mengde alginat brukt som geldanner. Dette er forsøkt gjort ved å hydratisere alginatet (løse i vann) før det ble tilsatt fiskemassen samt å bruke høyere foredlede alginatkvaliteter ved lavere konsentrasjoner. Det har også vært forsøkt å bruke LignoBond DD (lignosulfonat) fra Borregaard som alternativ binder, samt ulike potetstivelseskvaliteter fra Lyckeby Stärkelse, Sverige.

Resultatmessig viste det seg at redusert mengde høyforedlet alginat fra stortare-stilk ga en mekanisk like god pellet som ved høyere konsentrasjoner av Algibind. Dette er som forventet siden den tekniske kvaliteten Algibind inneholder mindre mengde alginat og med dårligere gelingsegenskaper enn det rensede alginatet. For å teste teorien med elektrostatiske bindinger mellom negativt ladet alginat og positivt ladede proteiner ble polyanionet lignosulfonat testet som et alternativ. Lignosulfonat er i motsetning til alginat et sterkt forgreinet molekyl som ikke gir noen viskositet, eller fasthet, til pelleteringsmassen. Siden lignosulfonat ikke på langt nær ga samme effekt som alginat, så viser det at alternative binderes evne til å gi en god fasthet til pelleteringsmassen er vel så viktig som de elektrostatiske egenskaper. Potetstivelse viste meget god vannbindingsevne, men er for øyeblikket for kostbar for denne type anvendelse.

INNLEDNING/BAKGRUNN

Dette delprosjektet bygger i hovedsak på resultater presentert i RUBIN-rapport 302/46 hvor pellet-dannelse i syrebad første gang er beskrevet. Dette konseptet er nå i kommersiell drift. I den omtalte rapporten beskrives at i laboratorieforsøk ble det oppnådd tilsvarende og god mekanisk styrke ved å anvende 0.5% ren-alginat fra stortare (*Laminaria hyperborea*) med 4.5% ekstra hvetemel i stedet for 5% Algibind. I dette delprosjektet var derfor et mål å etterprøve de tidligere laboratorie-observasjonene ved pilotproduksjon hos Øyfisk A/S på Myre i Vesterålen. For alginat har det eksistert en usikkerhet angående hydratisering av alginat i fiskemassen når dette blandes tørt inn. Muligheten for en suboptimal hydratisering av tilsatt alginat kan ikke utelukkes ved at det dannes alginat/protein-komplekser (elektrostatisk interaksjoner) på overflaten av delvis hydratiserte alginatpartikler under innblanding i fiskemassen. Effekten av en pre-hydratisering av alginat, dvs. at det ble laget en 10% stamløsning av alginat før tilsats til fiskemassen, skulle derfor også utprøves. Hos Seafood Farmers A/S på Vigra ble effekten av lignosulfonat og potetstivelse undersøkt.

MATERIELL OG METODER

a) Alginatkvaliteter utprøvd hos Øyfisk A/S

Alginatene som ble brukt i denne forsøksserien var, ved siden av Algibind fra Algea A/S, prøver isolert fra stilk og blad på *Laminaria hyperborea* (stortare). Disse prøvene ble velvillig gitt fra Pronova Biopolymer A/S. Disse alginatene dekker det området av guluronatinnhold (som bestemmer geldanningsevnen) som man finner i kommersielle alginater. Typisk kjemisk sammensetning og sekvens for disse tre alginatene er gitt i Tabell 1.

Det ble laget 500kg-blandinger. Utgangspunktet var følgende standardblanding:

250 kg sild
150 kg magert avskjær
50 kg hvetemel
25 kg LT-mel
25 kg Algibind
250 g vitaminblanding
250 g mineralblanding
1,75 kg CaCO₃

Over denne standardblandingen ble det gjort følgende variasjoner:

Variant 1: i stedet for 25 kg Algibind brukes 2,5 kg (0,5%) *L. hyperborea* alginat (eller 5 kilo (1%) Algibind) hydratisert i 25 liter vann + kilo ekstra hvetemel

Variant 2: i stedet for 25 kg Algibind brukes 2,5 kg (0,5%) tørt *L. hyperborea* alginat (eller 5 kilo (1%) Algibind) + 20 kg ekstra hvetemel

Følgende blandinger ble laget:

Blanding 1: Standard med 5% Algibind
Blanding 2: Variant 1 med SF120 (*L. hyperborea* stilk)
Blanding 3: Variant 2 med SF120 (*L. hyperborea* stilk)
Blanding 4: Variant 1 med SF120RB (*L. hyperborea* blad)
Blanding 5: Variant 2 med SF120RB (*L. hyperborea* blad)
Blanding 6: Variant 1 med Algibind (5 kilo til 25 liter vann)
Blanding 7: Variant 2 med Algibind (5 kilo tørt)

Pre-hydratisert alginat ble laget ved å dispergere 2,5 kg alginat (5,0 kilo i tilfellet Algibind) i 25 liter vann ved 60 °C. Dette ble gjort vha. en kraftig boremaskin (1,150 kW) påmontert et røreverk beregnet for omrøring av maling. Selve blandingsprosedyren ble utført på følgende måte: Alginatet fik gå sammen med

fiskemassen i 15 minutter før resten av det tørre ble tilsatt og avsluttet med ytterligere 10 minutter i blandeverket.

Ferdig pellet ble mekanisk karakterisert vha. et medbrakt Stevens Texture Analyser kompresjonsinstrument. Mekanisk egenskap ble tallfestet som den kraft (i gram) som var nødvendig for å komprimere en ferdig pellet 3 mm ved en konstant hastighet på 0,2 mm/s. Dette ble gjort ved romtemperatur på både nylaget pellet (1 time etter geling) og på pellet som hadde tilbrakt natta over i kjøleskap ved 4 °C. 5 pellet fra hver fôrtype ble målt. Generelt bør det framheves at kompresjonsdata fra disse eksperimentene ikke er direkte sammenlignbare med de resultatene som ble presentert i RUBIN-rapport 302/46 på grunn av endringer i pellet-dimensjon. 50 kilo av hver ferdig fôrtype ble tatt ut til fordøyelighetsforsøk.

b) Lignosulfonat og potetstivelse utprøvd hos Seafood Farmers A/S

1. Utgangspunkt: 400 g sild
 50 g ekstrudert hvete
 37,5 g Algibind
 25 g sildemel

2. Variasjoner: Ekstrudert stivelse ble forsøkt byttet ut både med Lyckeby's potetstivelse og potetfiber. Effekt av Borregaards LignoBond DD ble sammenlignet med effekten av Algibind (grov-alginat).

RESULTAT OG DISKUSJON

a) Alginatkvaliteter og hydratisert alginat utprøvd hos Øyfisk A/S

Under hydratiseringen av alginat ble det gjort følgende observasjoner: Selv om vi startet med vann som holdt 60 °C (noe som reduserer viskositeten betraktelig), så krevdes det en sterk motor for å drive den nødvendige omrøringen. Vi startet ut med en 400W motor, men måtte gå opp til 1150W for å få den nødvendige motorkraften. Videre kunne det observeres at mens de rene alginattypene (*L. hyperborea* stilk og blad) ga meget viskøse løsninger ved 10%, så kunne denne konsentrasjonen dobles før samme viskositet ble observert med Algibind. 10% *L. hyperborea*-alginat og 20% Algibind begge ga "løsninger" med klare faststoff-egenskaper. Dette medførte at "løsningene" var enklere å måke ut enn å helle ut. Dette medførte igjen at innblanding av disse hydratiserte alginatene ikke ble så optimal som ønsket idet klumper heller enn flytende alginat måtte fordeles i fiskemassen. Men det må konkluderes med at vi klarte å få alginatet hydratisert (om ikke fullstendig løst) før det ble tilsatt fiskemassen.

Generelt kan det slås fast at ingen av blandingene i denne eksperimentelle serien ga en mekanisk god nok pellet; *heller ikke* standardblanding med 5% Algibind. Grunnen til dette er ikke helt klar, men det er klart at på det gjeldende tidspunkt så ble det brukt noe mer enn 5% alginat i produksjonsprosessen hos Øyfisk. Ser vi noe mer inngående på de målte mekaniske egenskapene for de ferdig pellets (Tabell 2), så kan det likevel trekkes noen interessante konklusjoner. Den første er at ingen av blandingene ga pellet med dårligere mekaniske egenskaper etter 18 timer i kjøleskap. De blandingene som ga de mest "lovene" pellets etter 1 time (nr. 1, 2 og 4) økte faktisk betydelig i styrke ved denne behandlingen. Dette indikerer at det pågår en etterherding ved lagring i pellets fra disse blandingene.

Den andre og kanskje mest interessante konklusjonen er at en hydratisering av de mest potente geldannerene (*L. hyperborea*-alginatene) har en klar positiv effekt (jfr. blanding 2 mot 3, og 4 mot 5). Dette medfører at 0.5% *L. hyperborea*-alginat gir pellet med like gode mekaniske egenskaper som 5% Algibind (jfr. blandingene 2 og 4 mot blanding 1; data i overensstemmelse med rapport 302/46). 1% Algibind (blandingene 6 og 7) gir klart dårligere mekaniske egenskaper selv om man også her kan spore en positiv effekt av hydratisering. Ut fra dette kan man lansere ideen om at ved bruk av alginat i lave konsentrasjoner, så er en forutgående hydratisering av alginatet før innblanding i fiskemassen en ubetinget fordel. Dette kan komme av at ved "overskudd" av alginat (som ved bruk av 5% Algibind), så er det ikke så kritisk om noe protein skulle "klabbe seg på" alginatkornene før de er helt løst i fiskemassen fordi det alltid vil finnes noe alginat som vil løses helt. Ved lave konsentrasjoner av alginat, derimot, vil situasjonen selvfølgelig bli mer labil idet konsentrasjonen av reaktive proteiner er konstant og vil dermed ta ut en relativt høyere andel av alginatet fra gelfasen.

En annen viktig problemstilling som denne forsøksserien reiser er om alginatets bindeegenskaper (gitt som elektrostatiske interaksjoner med proteiner) er blitt undervurdert i forhold til dets gelingsegenskaper. Slik som prosessen er satt opp i dag, så er maursyrebadet en viktig del i å få omsatt kalsiumkarbonatet til fritt Ca^{2+}

slik at gelingen med alginat kan finne sted. Men samtidig skjer også viktige endringer hos proteinene; når fiskeproteinene får kontakt med maursyrebadet ($\text{pH} < 2,5$) vil de få en netto positiv ladning (- karboksylgruppene vil bli protonisert mens -aminogruppene beholder sin positive ladning). Dette åpner for stor grad av elektrostatiske interaksjoner med det negativt ladde alginatet. De målte mekaniske egenskaper skiller ikke mellom en kalsium-alginatgel og alginatets interaksjon med proteiner. Hvis så er tilfelle, så kan man også tenke seg andre bindere (negativt ladde polyelektrolytter) brukt i systemet som f.eks. lignosulfonater, karboksymetylcellulose (CMC) og xanthan. Man kan godt tenke seg et system hvor det benyttes en ikke-gelende anionisk (negativt ladet) polyelektrolytt som bindemiddel i kombinasjon med alginat som geldanner.

b) Lignosulfonat og potetstivelse og potetfiber utprøvd hos Seafood Farmers A/S

For å teste ideen med andre bindere videre ble effekten av lignosulfonat sammenlignet med alginat testet. Det man kan si fra denne forsøksserien er at alginat klart har sin misjon i eksisterende fôr-konsept. Lignosulfonat ga ikke ønsket effekt alene selv om den er en polyelektrolytt på linje med alginat og som sådan kan danne elektrostatiske interaksjoner med positivt ladde proteiner. Problemet med lignosulfonat er at det er et kompakt, høyt forgrenet molekyl som ikke gir viskositet og dermed ikke nødvendig fasthet av ferdig pellet. Det er imidlertid mulig at noe av alginat-mengden kan byttes ut med lignosulfonat (30 til 50%) siden en "halvblanding" ga et rimelig bra resultat. Denne forsøksserien kan imidlertid ikke utelukke positive effekter av andre, lineære polyanioner som xanthan og CMC.

Lyckeby's potetstivelse ga en "lengre", mer fleksibel pellet sammenlignet med ekstrudert stivelse. Potetfiberen, restfraksjon etter stivelsesframstillingen, hadde en formidabel fortykningseffekt og ga ferdig pellet en veldig bra fasthet. Problemet ligger i at potetstivelsen og -fiberen har en rimelig høy pris slik at det er vanskelig å se for seg noe stort inntjeningspotensiale ved å bytte ut hvete med potetfiber.

KONKLUSJON

1. Prehydratisering av alginat er en ubetinget fordel; særlig ved lave alginatkonsentrasjoner.
2. Ved bruk av høyrenset alginat oppnås samme mekaniske egenskaper ved 1/10 av konsentrasjonen sammenlignet med teknisk kvalitet alginat.
3. Lignosulfonat ga ikke like gode mekaniske egenskaper som alginat. Dette kan imidlertid skyldes manglende fortykning/fasthet ved bruk av lignosulfonat og ikke manglende binder/protein-interaksjoner. Videre forsøk med teknisk kvalitet xanthan bør gjennomføres.
4. Forsøkene med potetstivelse ble ikke utført under optimale forhold; særlig ikke selve blandedprosedyren. Det er derfor mulig at man i pilotskala vil kunne få effekter av potetstivelse/-fiber ved lavere konsentrasjoner enn det som ble påvist i denne forsøksserien.

VEDLEGG

Tabell 1

Typisk kjemisk sammensetning og sekvens for alginater brukt i denne forsøksserien. F angir de ulike fraksjoner av monomere og monomersekvenser i de ulike prøvene målt vha. NMR-spektroskopi. $N_{G>1}$ = gjennomsnittlig lengde av guluronsyreblokker større enn 1.

Prøve	F _G	F _M	F _{GG}	F _{MM}	F _{GM,MG}	F _{GGG}	F _{GGM}	F _{MGM}	N _{G>1}
<i>Algibind</i>	0.39	0.61	0.23	0.46	0.16	0.17	0.07	0.09	4.5
<i>L. hyperborea</i> (blad)	0.51	0.49	0.33	0.35	0.16	0.28	0.05	0.11	7.6
<i>L. hyperborea</i> (stilk)	0.68	0.32	0.52	0.17	0.16	0.47	0.05	0.10	11.2

Tabell 2

Kraft nødvendig for å trykke sammen pellet 3mm ved romtemperatur med en hastighet på 0.2mm/s.
'1 time' = pellet 1 time etter geling. 'Natta over' = ca. 18 timer i kjøleskap. De ulike blandinger er beskrevet over.

Blanding #	Kompresjonskraft (g)	STD (±)
1 (1 time)	98	15
1 (natta over)	170	30
2 (1 time)	110	10
2 (natta over)	196	17
3 (1 time)	79	5
3 (natta over)	105	16
4 (1 time)	96	9
4 (natta over)	203	4
5 (1 time)	85	10
5 (natta over)	85	6
6 (1 time)	75	12
6 (natta over)	135	9
7 (1 time)	51	12
7 (natta over)	59	5