

Rapport nr. 151

Lakseblod som ingrediens i næringsmidler.

**Pilotforsøk separasjon og
tørking.**



RAPPORTTITTEL**LAKSEBLOD SOM INGREDIENS I NÆRINGSMIDLER.
PILOTFORSØK SEPARASJON OG TØR KING.**

RAPPORTNUMMER	151	PROSJEKTNUMMER	4508
UTGIVER	RUBIN	DATO	april 2008

UTFØRENDE INSTITUSJONER**Vital Marin AS**Hauane
6200 Stranda

Kontaktperson: Jørund Hagen (joerund@stansas.no)

SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER

Norsk lakseblod er en ressurs med et verdiskapingspotensial som er lite utnyttet. I tidligere arbeid er det utviklet metoder for å blø ut laksen og ta vare på blodet. Dessuten har forsøk blitt gjort med lakseblod som tilsetning i dyrefôr, og det har vært gjennomført en innledende markedsundersøkelse for lakseblod i næringsmidler (RUBIN-rapport 138). På denne bakgrunn foreslo Vital Marin et prosjekt som skulle omfatte fremstilling av pilot skala prøver av lakseplasma og hemoglobinpulver. Produktene skulle testes på kunder. Arbeidet skulle også omfatte analyse og karakterisering av produktene og noe teknisk informasjon.

Prosjektet ble noe endret i forhold til opprinnelig plan, grunnet vanskeligheter med oppsamlingen av rennende blod og geltekniske problem i plasmafase. Produktene ble derfor ikke vurdert av aktuelle kunder. Resultatene for øvrig viser at:

- Lakseblod koagulerer ved en lavere temperatur enn grise- og kublod. Det er derfor viktig at blodet tilsettes antikoagulant så tidlig som mulig. Dette er ikke like enkelt for laks som for de store dyrene, der hvert dyr kan behandles separat.
- Lakseplasma binder svakere geler ved koagulasjon enn gelene fra kyr og griseplasma. Den røde fasen fra laksblod danner imidlertid meget sterke geler. Det gjør også helblod.
- Spraytørring av lakseplasma og rød fase synes å fungere bra.
- Det kan være mulig å omfordele proteinene mellom lakseplasma og rød fase slik at plasma geler bedre, men dette er et komplisert arbeid som fordrer stor kunnskap og mye eksperimentelt arbeid.
- Kommersielt sett er det plasma som har det største potensialet.

Bedriften ønsker å gå videre med et forenklet prosjekt basert på utnyttelse av helblod.

Lakseblod som ingrediens i næringsmidler

Trinn 2:
Prøver i pilotskala.

Sluttrapport.

Vital Marin AS, mars 2008.

Innhold

1. Sammendrag	2
2. Bakgrunn og hensikt.....	3
3. Planlegging.....	3
4. Mål.....	5
5. Organisering og prosjektteam.....	5
6. Fremdrift.....	5
7. Kjemisk bakgrunn.....	6
8. Pilotforsøk.....	7
9. Videre forsøk i lab skala.....	12
10. Konklusjon.....	13
11. Litteratur.....	14

1. Sammendrag

- Prosjektet ble noe endret i forhold til opprinnelig plan, grunnet vanskeligheter med oppsamlingen av rennende blod og geltekniske problem i plasmafase. Produktene ble derfor ikke vurdert av aktuelle kunder.
- Lakseblod koagulerer ved en lavere temperatur enn grise- og kublod. Det er derfor viktig at blodet tilsettes antikoagulant så tidlig som mulig. Dette er ikke like enkelt for laks som for de store dyrene, der hvert dyr kan behandles separat.
- Lakseplasma binder svakere geler ved koagulasjon enn gelene fra kyr og griseplasma. Den røde fasen fra laksblod danner imidlertid meget sterke geler. Det gjør også helblod.
- Spraytørking av lakseplasma og rød fase virker å fungere bra.
- Det kan være mulig å omfordele proteinene mellom lakseplasma og rød fase slik at plasma geler bedre, men dette er et komplisert arbeid som fordrer stor kunnskap og mye eksperimentelt arbeid.
- Kommersielt sett er det plasma som har det største potensialet.
- Grunnet de tekniske vanskelighetene, som beskrives over, var det ikke mulig å få frem prøver som kunne vurderes av aktuelle kunder.

2. Bakgrunn og hensikt

Norsk lakseblod er en ressurs med et verdiskapingspotensial som er lite utnyttet. I tidligere arbeid er det utviklet metoder for å blø ut laksen og ta vare på blodet. Det viser seg at man effektivt kan samle opp 2 % blod fra hver laks, og med en årlig produksjon av oppdrettslaks på 750 000 tonn i Norge representerer dette 15 000 tonn blod.

Det er gjort forsøk med lakseblod som tilsetning i dyrefôr. Det nye produktkonsept som foreslås i dette prosjekt, bygger på det.

I Sverige og Danmark tar man vare på alt blod fra slakta kyr og griser på en næringsmiddelhygienisk måte. Blodet separeres i en rød fase, hemoglobin, og en klar proteinfase, plasma. Begge disse produktene selges til næringsmiddelsindustrien i Europa som verdifulle tilsetning i blodpølse, blodpudding, kjøttboller, farseprodukter og pateer.

For å legge grunnlaget for en mulig forretningsmessig utvikling av lakseblod, har Stiftelsen Rubin gjennomført et innledende markedsprosjekt, "Lakseblod som ingrediens i næringsmidler, innledende markedsundersøkelse". Konklusjonen i forprosjektet ble at det finnes stor interesse bland skandinaviske næringsmiddelbedrifter for å teste ut plasma og hemoglobinpulver fra laks, spesielt i fiskebaserte produkter.

På denne bakgrunn foreslo Vital Marin AS at prosjektet drives videre i et trinn 2 som omfatter fremstilling av pilot skala prøver av laksplasma og hemoglobinpulver. Produktet skulle testes av kunder. Arbeidet burde også omfatte analyse og karakterisering av produktene og noe teknisk informasjon.

3. Planlegging

Prosjektet var tenkt å gjennomføres i henhold til strukturen nedenfor.

- Prosjektoppstart: Planlegging av pilotforsøk. Koordinering av utstyrsleverandører. Diskusjon og beslutning om tørkeprosessen. Klargjøring av fremdriftsplan. Informasjon til kunder som skal teste produktene.
- Pilotforsøk: Utføres ved Marine Harvest AS sitt slakteri på Eggesbønes. Lakseblodet separeres i pilot separator fra Westfalia. Om mulig tørkes alle produkter på plassen. Alternativt må det transporteres i nedkjølt tilstand og spraytørkes i Kävlinge eller København. Resultat: Stabile produkter til analyse, applikasjons- og markedsarbeid.
- Analyse av produkter. Utføres av Norsk Matanalyse eller AnalyCen. Følgende analyser skal gjøres: Protein, salter (aske), jern, fett, omega-3 fettsyrer, vann, pH, bakteriell status. Dette er standardanalyser som utføres rutinemessig. Resultat: Denne type av informasjon må inn i et preliminært datablad.
- Brukerinformasjon: Tas fram av SINTEF. Her trengs kunnskap om næringsmiddelsingredienser og hvordan denne type tilsatser skal brukes av kundene. Undersøkning av plasmas gelningsegenskaper med vekt på

temperatur, tid og konsentrasjon. Resultat: Viser hvordan produktene kan brukes i kundenes applikasjoner.

- Datablad: Analyser og brukerinformasjon sammenfattes i et preliminært datablad.
- Kundearbeid: Prøver, sammen med datablad, sendes til de kunder som ønsker å teste produktene, se tidligere rapport: "Lakseblod som ingrediens i næringsmidler – innledende markedsundersøkelse", Rubin 4508/138, august 2006. De bedrifter som i markedsundersøkelsen har angitt at de er interessert i å teste produkter kontaktet på nytt i desember 2006. Følgende bedrifter er villige til å være med på et utviklingsløp fram mot kommersialisering av produktene:

Bedrift	Applikasjon
AS Berggren, Kongsvinger	Plasma i fiskefarse
Domstein Enghav, Måløy	Plasma i farseprodukter. Ønsker økt tyggmotstand og økt fasthet i farsen.
Mills, Oslo	Hemoglobinpulver for jernberikning. Plasma med fosfolipider til functional foods.
ABBA Seafood AB (Orkla) Göteborg	Plasma til laks- og böcklingpastej.
Lyckeby Culinar, Fjälkinge	Hemoglobinpulver som farge til fiskprodukter, plasma til binding i fiskepateer.
Formidabel, Malmö	Plasma til fiskgratänger, fiskfärs.
Nordfalks Industri AB, Göteborg	Plasma generelt til fiskeprodukter.

Bedriftenes tester følges opp pr telefon, eventuelt besøk. Resultat: Informasjonen systematiseres og rapporteres. Eventuelle produkttilpassninger diskuteres i prosjektgruppen.

- Prisnivå. På basis av testene oppskattes et prisnivå for produktene. Disse prisene brukes for å opprette en produktkalkyle.

4. Mål

Det skal lages et hvitt plasmamel, som skal ha gode gelingsegenskaper, og et rødt hemoglobinmel. Produktene skal kunne dokumentere human standard.

Mer spesifikt vil prosjektet:

- Dokumentere en prosess for separasjon og tørking av blodplasma og hemoglobin i pilotskala. Dette kan ligge til grunn for senere fullskala utbygning ved laksslakterier i Norge.
- Klargjøre krav og spesifikasjoner fra kunder på laksebasert plasma og hemoglobin, nå basert på utførte tester av pilotskala produkter.
- Systematisere synspunkter, krav og ønskemål fra bedrifter som testet produktene.
- Synliggjøre spesifikke fortrinn med laksebasert plasma sammenliknet med plasma fra kyr og griser.
- Legge grunnlag for eventuelle kundesamarbeid og fremtidige partnerprosesser.

5. Organisering og prosjektteam

Prosjektet ble gjennomført av Vital Marin AS med Jørund Hagen som prosjektleder. Prosjektgruppen bestod av Frode H. Kjølås, Seaside AS, Jørund Hagen, Vital Marin AS, Ken Schönningesen, Marine Harvest ASA og Robert Wahren, Core Competence AB.

6. Fremdrift

Prosjektet startet i mars 2007 og beregnet tid på gjennomføringen var 8 måneder. De første forsøkene ble utført i slutten av mars. Det viste seg at det var komplisert å samle opp blodet før det hadde koagulert. Antikoagulant (natriumsitrat) ble benyttet og dette ble etter hvert tilsatt så tidlig i prosessen som mulig. Oppsamlet blod ble holdt kjølig, men den røde fasen koagulerte i separatoren da denne var vanskelig å kjøle. Etter separeringen ble prøvene transportert fra Eggesbønes til Ellco Food i Kävlinge, Skåne. Der ble prøvene spraytørket. Det viste seg at den fargeløse laksplasman ikke stivnet. Den røde fasen ble derimot til en sterk gel.

Ettersom det er lakseplasma som er mest interessant mht et kommersielt synspunkt fokuseres arbeidet videre på å få frem en godt gelende plasma for næringsmiddelindustrien. Oppsamlingen av blod forbedres, antikoagulant tilsettes tidligere og separasjonen kjøres ved ulike frekvenser for å få de proteiner som gelner til å flytte seg fra rød til fargeløs fase.

Mye tid, kraft og resurser er lagt ned for å forstå hvorfor plasma ikke gelner. Ekspertene i Norge og internasjonalt er kontaktet og spurt om råd. Kontrollforsøk i laboratorieskala er blitt utført for å sjekke hypoteser, men arbeidet har ikke ført fram til et godt nok kommersielt plasmaprodukt basert på lakseblod. De momentene som er beskrevet i kapittel 3, brukerinformasjon, datablad, kundearbeid og prisnivå, har derfor ikke kunnet gjennomføres.

7. Kjemisk bakgrunn

Teknologien for å utnytte blod fra varmblodige dyr til ulike formål er allerede utviklet, slik at utnyttelsen av fiskeblod kan i stor grad gå direkte inn i slike prosesser. Dette sparer en lang rekke utviklingskostnader og kutter tiden fram til markedet. Prosjektet, så langt, har imidlertid vist at det ikke er rett fram å benytte samme teknologi som for dyreblod. Det er også stor forskjell på forsøk i laboratorium og til uttesting i større skala. Forholdene er trolig ikke alltid skalerbare eller lineære og påvirkningsfaktorer som kan minimaliseres eller utelukkes i et småskalforsøk kommer inn for fullt ved oppskalert produksjon.

Blod består av blodplasma og blodceller. Blodcellene transporteres gjennom blodplasmaet. Blodet inneholder flere typer celler som sirkulerer i kroppen. Disse cellene blir gjerne omtalt som blodlegemer og har helt spesialiserte oppgaver. I hovedsak kan man dele disse cellene inn i tre hovedgrupper:

- *Røde blodceller* (erytrocytter); er transportceller uten cellekjerne. De røde blodlegemene inneholder hemoglobin, som er et jernholdig protein som binder oksygen. Det er hemoglobin som gir blodet den karakteristiske rødfargen.
- *Hvite blodceller* (leukocytt): De hvite blodlegemene, som er en fargeløs væske, er forsvars- og vaktmesterceller med kjerne.
- *Blodplater* (trombocytt); gjør blodet i stand til å koagulere. Blodplater utgjør ca. 45 % av blodets volum.

Når blodet koagulerer, omdannes fibrinogenet til uløselige fibrin med hjelp av trombin eller protrombin. En forutsetning for dette er at det finnes kalsium ioner tilgjengelig. Plasma kan ikke framstilles ved den tradisjonelle slakteprosessen, ettersom det her skjer en overgang av fibrinogen til fibrin og blodet koagulerer. Derfor må blodet hindres i å koagulere. Dette skjer ved tilsetning av spesielle antikoaguleringsstoffer. Kalsiumbindende stoffer, som sitrater, er særlig egnet for dette formålet. Disse hindrer dannelsen av trombin og således også koagulasjon.

Hvis blod som behandles med antikoagulant separeres, oppnås en lys, flytende komponent, plasma. Den andre delen de røde blodlegemene eller blodkonsentrat, er et meget sterkt, naturlig rødt fargestoff og jernrikt.

Antikoaguleringsmiddel

Ulike antikoagulantia har sine spesielle bruksområder. Heparin er det som har vist seg å innvirke minst på kliniske og kjemiske tester. I humanmedisinen er tri-Na-sitrat spesielt egnet til studie av koagulasjon. Anbefalingen nedenfor kommer fra separatorbedriften Westfalia:

- Som antikoagulant benyttes trinatriumsitrat. Ref: A technique for processing animal blood with particular emphasis on blood plasma recovery, av Ing. Josef Döpjohann, Westfalia Separator AG, Oelde.
- Originaloppskrift:
 - 3 kg Na₃sitrat løses i 10 L vann.
 - 2 L av denne løsningen tilsettes 100 L blod.
 - Beregning av tilsats av trinatriumsitrat per liter blod:
(3kg/10L)*(2L/100L) = 6 Kg/1000L = 6g/L.
 - For å oppnå antikoagulantvirkning bør det tilsettes 6 g/L.

- Ved tilsats av trinatriumsitrat, benytt prosedyren som er beskrevet ovenfor. Det må lages først en konsentrert stock løsning som så skal tilsettes til det ferdige blodet. Antikoagulantløsningen må tilsettes så raskt som mulig etter at blodet kommer ut av fisken. Har blodet først koagulert er det ingen vei tilbake. Det er mulig å benytte andre antikoaguleringsmidler også, dersom sitrat skaper problemer.

8. Pilotforsøk

Den generelle prosessen ved pilotforsøkene har følgende delmomenter:

- Tappe blod fra laks. Samle opp og tilsette antikoagulant
- Separere plasma og rød fase i separator
- Konsentrere med ultrafiltrering
- Transportere til Kävlinge i Sverige
- Spraytørke for å få produkt for kundetest

Tappe:

Blodet må ha antikoagulerende middel tilsatt rett etter utblødning og etter konsentrering (forbruker sitrat). For å få et sikkert resultat er etterbehandling og oppbevaring av prøvepartiet svært viktig. Vanligvis oppbevares blodet kjølig, fra 0-4 °C, for å hindre hemolyse (oppløsning av de røde blodlegemene) og svelling av erythrocytter (røde blodlegemer). Gjøres det feil her forsvinner gelningsegenskapene også. Massebalansen skal regnes og det må journalføres mengder etc. i de forskjellige trinnene.

Separering:

Plasma skilles fra blodlegemene ved separering. Testseparatoren leveres av Westfalia sammen med prosesspersonale. Minste mengde blod batch er 100 l. Dette skal separeres ved 50 Hz.

Konsentrering:

Kun plasmadelen konsentreres. Due Miljø AS leverer ultrafiltreringsanlegget for testen. Også de stiller med en servicemann. Filtringen skal skje rett etter separeringen. Utfordringen ligger også her i å holde blodet nedkjølt under prosessen. Målet vil være å skille ut vann slik at tørrstoffinnholdet (TS) blir ca 20 %. TS tester skal et nærliggende laboratorium, Kystlab, utføre.

Transportere:

Både det konsentrerte plasmaet og hemoglobinet skal sendes nedkjølt (0-4°C) til Ellco Food AB i Kevlinge (Sverige) så fort som råd. NorCargo skal levere dette innen 48 timer.

Spraytørke:

De beste tørkene finnes hos de med lang erfaring fra landbruksindustrien. For å finne en produsent med blod som arbeidsfelt må en til utlandet. Ellco Food AB nær Malmö var villig til å delta i prosjektet. Blodlogistikken ender altså der. Pulveret som blir sluttresultatet er da stabilt og kan lagres lenge.

Tester

Analyse av produktene utføres av Norsk Matanalyse. Følgene analyser skal gjøres:

- Protein
- Salter (aske)
- Jern
- Fett, omega-3 fettsyrer
- Vann, pH, bakteriell status. Dette er standardanalyser som utføres rutinemessig.

Denne type av informasjon må inn i et preliminært datablad. Muligens bør det dokumenteres en fettsyreprofil og aminosyreprofil også. (Dette finnes allerede av helblod). Massebalansen må også dokumenteres.

Gelningsegenskaper, farge, melkvalitet ellers, etc. utføres og vurderes av kundene sammen med prosjektteamet. Melprøver og databladet vil være resultatet av pilotprosessen.

Pilotforsøk 1

Slakteriet på Eggesbønes har installert utblødningsutstyr fra SeaSide AS, se bilde 1. Laksen bedøves og en pulsåre kuttet før fisken legges i en utblødningsbeholder, blå beholdere, se bilde. Blodet samles opp i en renne under de blå beholderne.



Bilde 1, utblødningsband.

En Westfalia test separator ble oppmontert av erfarne folk fra leverandøren. De stilte krav til hvordan blodet skulle se ut og til mengde blod. Det ble også benyttet en liten spinn sentrifuge til å se på utfelt mengde.

Due Miljø AS hadde også en fagmann til stede som klargjorde sitt UV anlegg for å konsentrere plasmaet etter separeringen. En rekke små detaljer var på førehand klargjort. Det er bl.a. viktig å holde en lav temperatur.

- Dette ble gjort:
 1. Det ble brukt mye tid på å tappe blodet. Ofte koagulerte blandingen, men etter hvert fikk en brukbar kontroll vha mye sitrat og siling.

2. Separeringen gikk fint etter litt prøving og feiling. Det ble ca 50 liter plasma og 10 liter hemoglobin. Se bilde 2.



Bilde 2, separering.

3. Klargjort for konsentrering, se bilde 3.



Bilde 3, ultrafiltrering.

4. Det ble ca 10 l plasma konsentrat. TS på 14,6%.
5. Konsentratet og hemoglobindelen ble sendt til Ellco Food AB med Jetpack. Spraytørkingen av plasmaen gikk fint.
6. Ca 1 kg pulver ble sendt til Matforsk for bakteriologiske tester. For resultat se øverst side 12 og vedlegg 2.

Erfaringer:

- Tester med en liten spinn sentrifuge indikerer at plasmafasen utgjør 65 % av blodet og røde fasen utgjør 35 %.
- Saltinnholdet i blodet påvirker separasjonen. Dess høyere salthalt (natriumsitrat) desto mindre tetthetsforskjell mellom plasma og hemoglobin og vanskeligere separasjon.
- En altfor høy salthalt kan bidra til å sprengte blodcellene slik at plasmaet blir farget. For dyreblod fungerer 6 % bra.
- Så fort blodet kommer ut i luft starter koagulasjonen. Derfor er det viktig å tilsette sitrat så fort som mulig. Her må vi gjøre forbedringer.
- Koagulasjon kan også hindres på andre måter.
- Gelningstester hos Ellco Food viser at verken den spraytørkede plasmaen eller plasmakonsentratet fra ultrafiltreringen gelner under standard-betingelsene.
- Den røde fasen, derimot, gelner sterkt. Den hadde begynt gelningen under kjøletransporten til Ellco Food, og det var derfor ikke mulig denne gang å få den spraytørket. Vi forsøkte, men fikk raskt stopp i spraytørken.

Forbedringer, funderinger

Blodet koagulerer for fort og for mye. Dette er en brekkstang for å få til industrielt uttak. Blodet som kommer sent ut av fisken, må trolig stoppes. Alternativt må hele linjen, sprayeres med sitrat slik at antikoaguleringsmiddelet treffer bloddryppet rett etter at det har forlatt fisken. Tappeplaten må være ren, ingen hindringer etc. Blodet må altså komme i kontakt med sitratet hurtigst mulig.

Fiskeblodet sin pH verdi er fin, ca 7,4. Hva med fiskekjøttet? Er det generelle stressnivået hos fisken så høy at det påvirker koaguleringen? Dette ble undersøkt ved å ta blodprøver av levende, ustresset fisk. Koaguleringshastigheten (uten sitrat) av en slik prøve avvek lite fra tilsvarende forsøk fra slaktelinjen. Det skal installeres et elektrisk bedøvingsystem til fisken som kanskje gir mindre stress og noen ekstra sekunder?

Må blodet piskes ved sitrat tilsettingen? Kan blodlinjen gjøres hurtigere? Ved tapping av blod rett fra fiskene kunne man ikke se eller føle koagulering i sitratløsningen. Etter 30 min lagring ble blodet silt. Løsningen rant lett gjennom og la lite igjen i silen. Ved å ta blod fra de blå beholderne, se bilde 1, ca 10-20 sek etter at fisken ble bløgget, kunne man nesten med en gang se mer koagulering i løsningen. Ved siling etter ca 30 min var andelen koagulert blod klart større. Forskjellen mellom blod oppsamlet 10cm fra start og 2m fra start er liten. Forskjellen på koaguleringstiden mellom fisk i merd og fisk på slaktelinjen var også liten. Forbedringen må komme litt her og litt der?

Resultatet av forbedringstestene gjorde det letter å samle opp rennende blod. Silen tettet ikke så ofte og blodandelen som ikke koagulerte ble større. Uttaket er ikke optimalt mht en industriell løsning, men gir grunnlag for et nytt uttak for separering av flere hundre liter blod.

Pilotforsøk 2.

Ved hjelp av enkle forbedringsknep:

- hurtigere fremdrift av blodet
- røring
- spraying av sitrat over og under de blå beholderne
- stans av "gammalt" blod

ble 200 l rennende blod samlet på ca 4-5 timer.

Separeringen gikk ganske bra, litt rødere plasmadel etter hvert. Hemoglobinet var rødt og litt tykt, plasmadelen var rosa og lettflytende. Andelen rødt/hvitt ble 3/17 kanner. 20 kanner a 10 l med plasma og hemoglobin væske ble sendt til Ellco Food for spraytørking.

Fortsatt er det for krevende å samle inn flytende blod slik at linjen må ytterligere forbedres. Det som ble gjort nå var å samle blod fra kun den første delen av utblødningslinjen og spraye litt. Det nye forslaget går ut på å ta hele linjen i bruk igjen, men med en modifisering:

- Mer spraytilsetting av sitratet
- Endre frekvensen på separatoren

Pilotforsøk 3

Det ble lagt ut et slangesystem med 10 dyser oppover rennen og koblet på en pumpekanne med sitratløsning. En frekvensomformer ble montert på separatoren. Ellers etter samme metode som før.

Det ble samlet opp 250 liter ikke koagulert blod på ca 3 timer. Det er rekord. Separerte først ca 20 liter på 25 hertz. Fikk da lite plasma og mye hemoglobin. 35Hz gikk svært bra. Andelen rødt/hvitt ble ca 40 kg/165 kg (20/80). Pakket så dette for sending til Ellco.

Tok ut prøver av plasma, hemoglobin og rent blod (også ferskt blod). Reiste til Kystlab for gelningstest (se vedlegg 1):

- Prøve 1: Ikke koagulert blod (med sitratløsning) tilsatt CaCl_2 . Blanding: 10 g kalsiumklorid oppløses i 1 dl vann. 150 ml blod tilsettes 15 ml (10 %) av kalsiumløsningen.
- Prøve 2: Plasma 25 Hz.
- Prøve 3: Plasma 35 Hz.
- Prøve 4: Røde blodlegemer 35 Hz.
- Prøve 5: Ikke koagulert blod (med sitrat).
- Prøve 6: Plasmasedimentering (ikke koagulert blod som har stått litt. Plasmaet ligger da øverst).
- Prøve 7: Plasma tilsatt CaCl_2 . (Samme blanding som prøve 1).

Alle prøvene ble lagt i en skål som rommet 150 ml. Disse skålene stod 1 time i varmeskap på 80 °C. Resultatet ble (se vedlegg 1 fra Kystlab):

- Prøve 1: Gelnet svært bra. Man kunne skjære, med skalpell, ut slicer.
- Prøve 2, 3, 6 og 7 var lik, men kun med en svak fortykning.
- Prøve 4 og 5 gelnet, men svakere enn prøve 1.

Det lykkes ikke å få den fargeløse plasmafase til å gelne hos Ellco Food heller. Bindingsegenskapene har gått tapt i prosessen. Førrige test viser at rent blod tilsatt CaCl_2 (motsatt virkning av sitratet) gir en sterk gel.

Det er nå sprayet sitrat over en større del av linjen. Fortsatt må sprayingen bli mer omfattende – flere dyser og mer stabil spraying. Dette er allikevel framsteg.

Tester av blodet

Plasmamelet er testet for bakterielle mikroorganismer (vedlegg 2). Resultatet var lave verdier eller ikke påvist med unntak av aerobe mikroorganismer.

Massebalanse:

- 65 % plasma
- 35 % hemoglobin
- Ultrafiltrering: 14 % TS i plasmadelen
- Ca 10 % av plasmaet ble til pulver med 6-8 % vann

9. Videre forsøk i lab skala

Det som hindrer videre utvikling i prosjektet nå er gelningsegenskapene. Arbeidet rettes enda mer inn mot å finne ut av hvorfor gelen ikke skjer i hvit fase. En rekke hypoteser testes hos kystlab.

I tillegg samles informasjon fra eksperter i inn og utland. Prof. Bjarne Østerud, Medisinsk Biologi, Universitetet i Tromsø, tror at det er et enzym (faktor 13 enzymet transaminase), som sitter bundet til de røde blodlegemene hos laks, som skaper problemet. Han foreslo å enzymatisk hydrolysere rød fase. Enzymet kan vi få gjennom å tilsette laksehjerne. Gelningen startes senere ved hjelp av CaCl_2 som katalysator.

Prøvene som ble blandet med laksehjerne og kalsiumklorid ble også testet for gelning etter 1-2 min i romtemperatur før de ble satt i varmeskapet. Resultatene her ga oss en indikasjon på gelning i hemoglobinprøvene, mens vi så absolutt ingen tegn i plasmaprøvene.

Gode råd kom også fra Universitetet for Miljø- og Biovitenskap, Even Manseth og prof. Ragnar Flengsrud samt fra en internasjonal gruppe ved universitetet i Girona Spania, ved Dr. Elena Sagner.

For å bevise forskjellen på laboratorium tester og skalerte tester tas det ut blod rett fra blodårene. Uttaket skjer fra vena caudalis ved stikk fra punkt like under sidelinjen i linje mellom fettfinne og gattfinne. Tørr Heparin er tilsatt i ferdige vakuummør, så kalte Vacutainerrør.

Plasma skilles fra blodlegemene ved sentrifugering (3000 omdr/min i 10 min). Sentrifugeringen skjedde umiddelbart etter bloduttaket.

En standard prosedyre ga:

- Blodet gelnet
- Hemoglobin gelnet
- Plasma gelnet ikke

Tidligere er plasmadelen ultrafiltrert og tørket uten å få fram gelningsegenskaper. I denne testen skal plasmadelen inndampes til en høyere TS enn sist. Dette ble gjort:

- Inndamperen på 27 grader.
- Inndampe plasman til omkring halve volumet.
- Teste gelningsevne på vanlig måte, 1 time, 80 grader.

Resultatet ble:

- Plasma gelnet noe i 2 av prøvene.
- Plasmaet gelnet ikke i de 2 neste.

For første gang er det antydning til bra gelning i plasmafase.

Det viste seg altså å være svært vanskelig å få gelningsproteinene over i hvit fase. Årsaken kan være at levringen alt har startet ved oppsamlingspunktet og at de egenskapene forsvinner ut i silingen av blodet. Denne hypotesen ble prøvd verifisert uten at en kunne drage en helt klar slutning. Blod tappet rett fra blodårene til fisken i vacuteinerrør med antikoagulant ble separert og geltestet uten positivt resultat. Dette kan tyde på at det gjøres en systemfeil ved separasjon av plasma og rød fase, eller at plasmadelen har svake gelningsegenskaper. Kanskje er det for mye vann i plasmadelen?

10. Konklusjon

Det er dokumentert en prosess for separasjon og tørking av blodplasma og hemoglobin i pilotskala. Kravene til prosessen, for å få til kommersielle produkter, er mer omfattende enn tidligere antatt. En rekke tester er utført for å få til et godt nok produkt for kunder, men det gjenstår mer arbeid med plasma delen før den er klar for ekstern vurdering.

Etter å ha utført en rekke standard gelningstester for de ulike komponentene får vi:

- Rent blod gelner sterkt eller svært sterkt.
- Hemoglobin gelner sterkt eller svært sterkt.
- Plasma gelner svært svakt eller ikke i det hele tatt.
- Inndampa plasma gelnet noe i to tester.

Dette er ikke godt nok for å gå ut bredt til kunder. Prosjektet har gjennom flere repetisjoner prøvd å forbedre prosessen uten å lykkes. Dette resulterer i at prosjektet stanses. Det er for stor avstand fram til en god nok gel av plasmaråvaren. En vil allikevel søke om å gå videre med et oppfølgingsprosjekt med noe enklere innretning, og da med fokus på utnyttelse av helblod.

11. Litteratur

Fiskehelse, redigert av Trygve T Poppe.

SINTEF rapport, Kjemisk konservering av fiskeblod, rapport nr SFT80MKFO5129, Kjell D Josefen, 2005.

SINTEF rapport, Kartegging av prosess for å fjerne vann fra fiskeblod, prosjekt nr 16X55201, Erling J Aune, Ola Jonassen, 2005. Inkl notat om viskositetsmåling og informasjon om vakuomtørke.

SINTEF rapport, Økonomisk vurdering av ulike konserveringsmetoder for lakseblod, rapport nr SFH80FO55051, Ivar Storrø, 2005.

SINTEF notat, Test of Westfalia separator BTC3, Ivar Storrø m.fl, 2005.

SINTEF notat, Prosjekt "konservering av fiskeblod", Ivar Storrø, 2005.

SINTEF notat, Kjemisk analyse av lakseblod, Ivar Storrø, 2005.

SINTEF notat, Tørking av lakseblod, effekt på polyumettede fettsyrer, Ivar Storrø, 2005.

Fish Blood and its Fractions as Food Ingredients: Journal of Aquatic Food Product Technology, vol. 15 Issue 1, p. 19-51. 2006. Elena Saguer, Nuri Fort, J. M. Regenstein.

Studies on Atlantic salmon (*Salmo salar*) thrombin and fibrinogen with emphasis on their purification, characterization and potential use as meat binding agents. Agricultural University of Norway, Doctor Scientiarum Thesis 2004:14. Even Manseth

Method of using fish plasma components for tissue culture, US Patent 6 599 740. July 29, 2003.

Analysis of Blood Coagulation in the Zebrafish. Blood Cells, Molecules, and Diseases (1999) 25(15) August 15: 239-249. Pudur Jagadeeswaran, John P. Sheehan.

Vital Marin AS: Geldannelse i lakseblod

Formål:

Finne ut hvilke av de forskjellige lakseblodprøvene som danner så sterk gel under varmebehandling at den er skivbar (kan deles i skiver med kniv).

Fremgangsmåte:

12.06.07 mottok Kystlab AS avd. Sunnmøre sju forskjellige prøver av lakseblod fra Vital Marin AS. Disse skulle testes for geldanningssevne under varmebehandling. Ca. 150ml prøve ble tatt ut og satt i varmeskap ved 80°C i 1 time. Deretter ble prøvene satt kjølig i en time. Prøvene ble undersøkt for om de hadde dannet en gel ved at en skar i prøvene med en kniv. Tabell 1 viser en oversikt over de forskjellige lakseblodprøvene som ble testet.

Tabell 1: Oversikt over de forskjellige lakseblodprøvene som ble testet.

Prøve nr.:	Merking av prøve
1	Blod med CaCl ₂
2	Plasma 25 Hz
3	Plasma 35 Hz
4	Røde
5	Blod
6	Plasma-sedimentering
7	Plasma med CaCl ₂

Resultat:

Tabell 2 gir en oversikt over konsistens av lakseblod etter varmebehandling ved 80°C i 1 time.



Tabell 2: Konsistens av lakseblod etter varmebehandling ved 80°C i 1 time.

Prøve nr.:	Merking av prøve	Geldanning etter varmebehandling
1	Blod med CaCl ₂	Sterk gel. Kunne dele gelen i skiver med kniv, og gelen sleppte ikke væske. Fargen var brun.
2	Plasma 25 Hz	Prøven hadde tyknet noe (suppe-konsistens), men den kunne ikke deles i skiver med kniv. Prøven sleppte væske. Fargen var grå.
3	Plasma 35 Hz	Prøven hadde tyknet noe (suppe-konsistens), men den kunne ikke deles i skiver med kniv. Prøven sleppte væske, men prøven hadde tyknet noe mer enn prøve to. Fargen var grå.
4	Røde	Veldig tykk konsistens, men prøven rann sakte tilbake etter skjæring med kniv. Gelen var ikke så sterk at den kunne deles i skiver med kniv. Fargen var mørkerød.
5	Blod	Prøven tyknet en del, men var ikke så sterk at den kunne deles i skiver med kniv. Tynnere i konsistens enn prøve en og fire, men tykkere en de resterende prøvene.
6	Plasma-sedimentering	Prøven hadde tyknet noe (suppe-konsistens), men den kunne ikke deles i skiver med kniv. Prøven sleppte væske. Samme konsistens som prøve tre. Fargen var grå.
7	Plasma med CaCl ₂	Veldig svak, men prøven hadde tyknet litt (tynnere enn suppe-konsistens). Konsistensen var den tynneste av alle prøvene. Fargen var grå.

Det var ingen endring av konsistensen på prøvene etter at de hadde stått kjølig i en time.

Oppsummering

Det viste seg at prøve nr. 1 (blod med CaCl₂) var den eneste prøven som dannet sterk nok gel til at den var skivbar (kunne deles i skiver med kniv). Prøve 7 (plasma med CaCl₂) var den prøven som var mest tyntflytende.

Med vennlig hilsen

Mona Mjånes Reitan

Kystlab AS avd. Sunnmøre



Vital Marin AS

Jørund Hagen
Hauane
6200 STRANDA

ANALYSERAPPORT

Resultatene gjelder bare for de analyserte prøver og kan ikke gjengis i utdrag uten skriftlig godkjenning fra Norsk Matanalyse.

Oslo, 25 April, 2007

Ankomstdato: 13 April, 2007

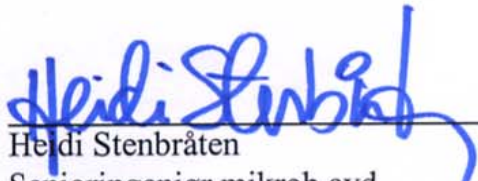
Analyseperiode: 130407 250407

Analyseresultater for Journalnr: B0703029

Prøvenr.	B0703029000-00	Varenr	
Artikkelnavn	Diverse	Uttakstid/sted	20070330
Prøve merket	Blodplama - tørket	Prøvetaker	R. Wahren
Analyse	Resultat	Enhet	Metode
Aerobe mikroorg.	12000	CFU/g (ml)	NMKL 86
Kolif. bakt.	<10	CFU/g (ml)	NMKL 44
Staph. aureus	<10	CFU/g ml	PETRIFILM STX
L.monocytogenes	Ikke påvist	Pr. 25 g	VIDAS LMO

Målesikkerhet oppgis ved henvendelse til laboratoriet.

Tegnet < før resultatangivelsen betyr mindre enn den angitte verdien og tegnet > betyr større enn den angitte verdien.


Heidi Stenbråten
Senioringeniør mikrob.avd

Kopi til:

Norsk Matanalyse
Hovedkontor Oslo
Nils Hansens vei 4
Postboks 6166 Etterstad
0602 Oslo
Tlf. 23 05 05 00
Fax 23 05 05 01

Norsk Matanalyse
avd. Trondheim
Heggstadmoen 19
Postboks 98 Heimdal
7472 Trondheim
Tlf. 72 59 36 50
Fax 72 59 36 51

Norsk Matanalyse
avd. Ålesund
Nedre Strandgate 4
Postboks 550
6001 Ålesund
Tlf. 70 13 43 00
Fax 70 13 43 01

Norsk Matanalyse
avd. Klepp
Lalandsveien 2
4353 Klepp st.
Tlf. 51 42 41 30
Fax 51 42 41 31

Bankgiro:
8101.05.75141
Foretaksnr.:
NO 982 571 146 MVA
www.matanalyse.no
post@matanalyse.no