

2020:00322 - Åpen

# Rapport

## Kvalitetsprotein fra torsk ehoder

HEADS UP II

### Forfattere

Jannicke F. Remme

Andreas Austnes



# Rapport

## Kvalitetsprotein fra torskehoder

### HEADS UP II

RAPPORTNR	PROSJEKTNR	VERSJON	DATO
2020:00322	302003718	1	2020-10-20

**EMNEORD:**

torsk  
torskehoder  
hydrolyse  
enzymatisk hydrolyse  
industriell skala  
stabilitet  
holdbarhet  
regelverk hydrolysat

**FORFATTERE**

Jannicke F. Remme  
Andreas Austnes

**OPPDRAGSGIVER**

FHF

**OPPDRAGSGIVERS REF.**

901499

**ANTALL SIDER OG VEDLEGG:**

21 + vedlegg

**GRADERING**

Åpen

**GRADERING DENNE SIDE**

Åpen

**ISBN****SAMMENDRAG**

Prosjektet har gjennomført industriell hydrolyse av hele torskehoder i reaktor utviklet av Fjordlaks AS. Det er produsert et proteinhydrolysat med over 90 % protein, som er lett vannløselig og som har en nøytral lukt og smak.

Driftsteknisk er det mulig å hydrolysere hele hoder. Det løser utfordringen med torskebein videre i prosessen. Reaktoren som ble benyttet hadde også en god løsning for å ta ut beinfraksjonen. Men, det er også noen utfordringer knyttet til hydrolyse av hele hoder. Det stiller store krav til utforming av reaktor, for å oppnå forventet utbytte. Det er helt nødvendig å lage et rørverk som klarer å få omrøring på hele massen.

Hydrolysatet ble lagret, mørkt og i romtemperatur, i ett år. Det er ingen endringer i kjemisk sammensetning eller hvordan pulveret oppleves (lukt, farge) etter ett års lagring. Bakterietallet er stabilt under <1000 cfu i hele lagringstiden. Etter 6 mnd er det en liten økning i mengde biogene aminer.

Den mest nærliggende merkingen av hydrolysat til bruk som ingrediens er pr. dags dato; hydrolysert fiskeprotein. Hele 14 forskrifter regulerer dette.

**UTARBEIDET AV**

Jannicke F. Remme

**KONTROLLERT AV**

Rasa Slizyte

**GODKJENT AV**

Hans Bjelland

Historikk

---

<b>VERSJON</b>	<b>DATO</b>	<b>VERSJONSBEKRIVELSE</b>
1	2020-09-21	Dokumentet er opprettet

## Innholdsfortegnelse

<b>1</b>	<b>INTRODUKSJON</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>PROBLEMSTILLING / FORMÅL</b> .....	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>MATERIALER OG METODER</b> .....	<b>6</b>
3.1	Råstoff.....	6
3.1.1	Hydrolysebetingelser for notsei, uer og torskehoder.....	6
3.1.2	Industriforsøk ved Karlsøybruket.....	6
3.2	Hydrolysebetingelser ved laboratorietester.....	6
3.3	Pilotforsøk ved Karlsøybruket.....	6
3.4	Kjemisk sammensetning.....	6
3.4.1	Tørking.....	6
3.4.2	Vanninnhold og tørrstoff.....	7
3.4.3	Aske.....	7
3.4.4	Fettinnhold.....	7
3.4.5	Proteininnhold.....	7
3.4.6	Hydrolysegrad.....	7
3.4.7	Molekylvektsfordeling.....	7
3.4.8	Aminosyrer, kimtall, TVN og biogene aminer.....	7
<b>4</b>	<b>RESULTATER OG DISKUSJON</b> .....	<b>8</b>
4.1	Hydrolyse av torskehoder, sei og uer.....	8
4.1.1	Tørket hydrolysat.....	8
4.1.2	Molekylvektsfordeling.....	9
4.2	Industriforsøk ved Karlsøybruket.....	9
4.2.1	Hydrolysat.....	11
4.2.2	Beinfraksjon.....	11
4.3	Karakterisering av tørket hydrolysat fra industriforsøk.....	11
4.3.1	Hydrolysegrad.....	12
4.3.2	Molekylvektsfordeling.....	12
4.4	Stabilitet.....	13
4.4.1	Aminosyresammensetning.....	13
4.4.2	Biogene aminer.....	14
4.5	Dokumentasjonskrav og merking.....	15
4.5.1	Merking.....	16
<b>5</b>	<b>KONKLUSJON</b> .....	<b>17</b>
<b>6</b>	<b>Hovedfunn</b> .....	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>Leveranser</b> .....	<b>18</b>
<b>8</b>	<b>REFERANSER</b> .....	<b>19</b>

## 1 INTRODUKSJON

Befolkningsvekst og økt behov for fôr til oppdrett vil bidra til en betydelig etterspørsel etter proteiner. Markedet krever proteiner som har god smak, høy næringsverdi, tilstrekkelig holdbarhet og konkurransedyktig pris. Alt dette er innen rekkevidde for protein fra torskehoder. Produksjon av høykvalitets marine proteiner fra torskehoder [1] kan gi økt verdiskaping i norske sjømatbedrifter og bidra til stabil tilgang på protein.

På torsken utgjør hodene rundt 20 % av vekten [2,3]. De inneholder rundt 15 % protein, en god del bein og lite fett [3]. Dette tilsvarer et teoretisk proteinutbytte på 15 %. Proteinutbyttet fra hydrolysatet, som er hovedproduktet fra proteinhydrolyse, beskriver hvor effektiv hydrolyseprosessen er [4]. Både tilstand- og sammensetning av råstoff påvirker hydrolysen. Det er kjent at inaktivering av endogene enzymer før hydrolyse og tilsats av kommersielle enzymer gir en mer kontrollert prosess. Denaturerte proteiner er vanskelige å hydrolysere [5,6,7].

Pilotforsøk gjennomført ved Tufjordbruket har gitt et godt innblikk i muligheter og utfordringer rundt hydrolyse av torskehoder [1]. Den største utfordringen er knyttet til høyt innhold av bein i hodene. Beina er utfordrende både med tanke på kverning og pumping. Ved hydrolyse av torskehoder dannes det en stor beinfraksjon, som også er tung. Det er lett at beinfraksjonen "pakker" seg i bunnen av en reaktor. En hydrolysetank i full skala må ta høyde for dette.

Fjordlaks AS ønsker å skape størst mulig verdi for virksomheten, gjennom å øke utnyttelsesgraden av restråstoff. I Fjordlaks konsernet produseres det ca. 10-14.000 tonn restråstoff (hode, innmat og rygg) fra frossen og fersk hvitfisk per år. Torskehodene utgjør 4000 tonn av dette restråstoffet. Fjordlaks driver blant annet Tufjordbruket, lokalisert på Rolvsøya i Finnmark, og Karlsøybruket lokalisert på Vannøya i Troms. I det første HEADS UP prosjektet ble en tradisjonell hydrolyselinje i pilotskala testet ved Tufjordbruket. Erfaringene derfra har Fjordlaks AS benyttet til å utvikle en ny hydrolysetank.

Prosjektets **hovedmål** har vært å produsere protein fra hvitfiskhoder til humant konsum. Delmålene i prosjektet var:

- (1) Videre optimalisere hydrolysebetingelser for hoder, samt gjennomføre labskala forsøk for hydrolyse av uer og liten sei
- (2) Gjennomføre fullskala forsøk
- (3) Undersøke holdbarhet til tørket hydrolysat
- (4) Kartlegge krav til dokumentasjon og merking

### Prosjektgruppen har bestått av

Jannicke Fugledal Remme, SINTEF Ocean, Prosjektleder  
Andreas Austvik (erstattet av Kevin Salbuvik), Fjordlaks  
Ana Karina Carvajal, SINTEF Ocean  
Rasa Slizyte, SINTEF Ocean

### Referansegruppen har bestått av

Anders Bjørnerem (gikk ut av gruppen da han sluttet i Nordic Wildfish)  
Laila Horgen, Orkla Foods Norge  
Ragnar Olsen, Universitetet i Tromsø  
Amund Pedersen, Fjordlaks AS  
Jaran Rauø, Marealis AS

## 2 PROBLEMSTILLING / FORMÅL

Mange aktører i konvensjonell industri har tørket hoder og eksportert disse. Disse opplever et sviktende marked. De er interessert i å se på nye metoder og teknologier for utnyttelse av torskehoder. Hydrolysater fra torskehoder har blitt laget i laboratorium og pilotskala (HEADS UP) med svært lovende resultater. Dette prosjektet vil, ved gjennomføring og optimalisering av hydrolyse i full skala, øke kunnskapen om kvalitet og utbytte av proteiner. Kunnskapen vil bli benyttet til å avgjøre om det vil være lønnsomt å satse på storskala produksjon av hydrolyse. Økt lønnsomhet i foredlingsindustrien vil gi verdiskaping langs hele kysten, og er i tråd med regjeringens visjon om at Norge skal bli verdens fremste sjømatnasjon.

Å produsere marine proteiner fra hodene vil gi bedriften større verdiskaping, og et mer stabilt marked å forholde seg til. I tillegg bidrar det til å sikre arbeidsplasser i fiskerinæringen. Verdiskaping i nåværende marked har et potensial opp mot 50 til 100 millioner kroner for hvitfiskrestråstoffet, i form av høyverdige proteiner. Verdiskaping fra marin ingrediensindustri har hatt en positiv utvikling de senere år. Den norske industrien har delvis utviklet seg som en integrert del av sjømatnæringen, spesielt i havbruksindustrien, og delvis som spesialisert kompetanseindustri med en betydelig forsknings- og utviklingsaktivitet. I 2050 vil Norge inneha en sterk posisjon innen marin ingrediensindustri og produsere produkter inn mot de globale markedene for næringsmiddel, helsekost og farmasi.

## 3 MATERIALER OG METODER

### 3.1 Råstoff

#### 3.1.1 Hydrolysebetingelser for notsei, uer og torskehoder

Hel uer, notsei og torskehoder ble sendt fra Tufjordbruket og Karlsøybruket til SINTEF Ocean i Trondheim i frossen tilstand. Råstoffet ble oppbevart på fryselager fram til bruk. Det ble tint på kjølerom (4°C) over natt før forsøkene (10 timer). Råstoffet ble grovkuttet med kniv og kjøttøks før de ble kvernet (hullskive 10 mm). Det ble tatt ut prøver av råstoffet for hver dag med hydrolyseforsøk (tabell 1). De ulike artene ble hydrolysert hver for seg, i to paralleller.

#### 3.1.2 Industriforsøk ved Karlsøybruket

Hydrolyseforsøkene ved Karlsøybruket ble gjennomført med ferske torskehoder.

### 3.2 Hydrolysebetingelser ved laboratorietester

Kvernet råstoff og vann ble tilsatt i hydrolysereaktoren. Da råstoffet hadde en temperatur på 50 °C, ble ulike enzym tilsatt, som Papain og Bromelain, Protamex og flere nye enzymer for uttesting fra Taylorzymes. Det ble tilsatt 0,1 % enzym beregnet fra råstoffvekt. Hydrolysereaksjonen varte i 60 minutter. Prøvene ble inaktivert ved å raskt øke temperaturen til 90 °C og deretter holde den over 90 °C i 10 minutter. Prøvene ble deretter sentrifugert ved 3000 rpm i 10 min. Hydrolysat og sediment ble separert, veid og analysert. Det ble kjørt to paralleller av hvert forsøk.

### 3.3 Pilotforsøk ved Karlsøybruket

Fjordlaks har utviklet en ny hydrolysetank basert på erfaringene fra det første HEADS UP prosjektet. Den nye tanken ble benyttet til gjennomføring av hydrolyseforsøkene. I reaktoren ble det tilsatt mellom 800-1000 kg hoder og mellom 200-500 kg vann. Det ble tilsatt 0,1 % enzym. Etter endt hydrolyseforsøk ble det tatt ut prøver fra hver batch til analyse. Det resterende hydrolysatet fra alle 6 forsøk ble slått sammen, fryst, ultra- og nanofiltrert (hos Membranteknikk AS) og tørket (hos Seagarden AS). Dette hydrolysatet ble delt i 5 prøver som ble lagret mørkt, og i romtemperatur, i 12 måneder. Hver 3 måned ble kjemisk sammensetning, aminosyresammensetning, biogene aminer, TVN og kimtall, analysert. Molekylvektfordelingen ble analysert for første og siste prøve.

### 3.4 Kjemisk sammensetning

#### 3.4.1 Tørking

Det ble tatt ut hydrolysat prøve fra de 6 ulike batchene. Fra samme batch ble en del av prøven frysetørket, mens en annen del av prøven har blitt spraytørket.

### 3.4.2 Vanninnhold og tørrstoff

Vanninnholdet i prøvene ble bestemt ved å tørke homogenisert råstoff i varmeskap ved 105 °C over natten. Vann-/tørrstoffinnholdet ble beregnet som massetap etter tørking og presentert i prosent vann/tørrstoff i prøven. Resultater er presentert som gjennomsnittlige verdier fra tre eller fire paralleller med standardavvik.

### 3.4.3 Aske

Aske i prøvene ble bestemt ved å sette tørket prøve i varmeovn ved 600 °C i 12 timer. Aske ble beregnet som massetap og presentert i prosent aske i prøve. Resultater er presentert som gjennomsnittlige verdier fra tre-fire paralleller med standardavvik.

### 3.4.4 Fettinnhold

Totalt lipidinnhold ble bestemt med Bligh and Dyer-metoden [8]. Resultater er presentert som gjennomsnittlige verdier fra to paralleller med standardavvik.

### 3.4.5 Proteininnhold

Bestemmelse av proteininnhold ble gjort ved å benytte en CN- elementanalysator (Elemental Combustion System 4010, CHNS-O) for i første omgang å bestemme prøvens nitrogeninnhold (N). Proteinmengden i ulike konsentrater ble beregnet fra nitrogeninnholdet, der et forhold mellom mengde nitrogen og mengde protein på 6,25 ble brukt. Resultater er presentert som gjennomsnittlige verdier fra seks paralleller med standardavvik.

### 3.4.6 Hydrolysegrad

Hydrolysegrad refererer forholdet (%) av  $\alpha$ -aminonitrogen i forhold til totalt nitrogen i prøven. Hydrolysegraden er analysert med formol-titrering. Analyseres med tre paralleller.

### 3.4.7 Molekylvektfordeling

Prøvene ble løst i vann til en konsentrasjon på ca 10 mg/ml, før de ble fortynnet til en endelig konsentrasjon på 1 mg/ml i vann. Prøvene ble analysert med en Hitachi HPLC med UV detector ved 220 nm, med en Superdex peptide 10/300 kolonne. Analysen kjøres i romtemperatur og isokratisk med 30 % acetonitril, 0.1 % TFA i vann, ved 0.3 ml/min. Prøvevolum var 50  $\mu$ l. Cytochrome C (12327 Da), aprotinin (6512 Da), insulin A (2531 Da), leucine enkepaline (555.6 Da), Val-Tyr-Val (379.5 Da) og Gly-Tyr (23822 Da) ble benyttet som standard. Regresjonslinjen for standardene var  $r^2=0.960$ . Kromatogrammene ble manuelt integrert. Integreringen er gjort på bakgrunn av retensjonstid for standarden.

### 3.4.8 Aminosyrer, kimtall, TVN og biogene aminer

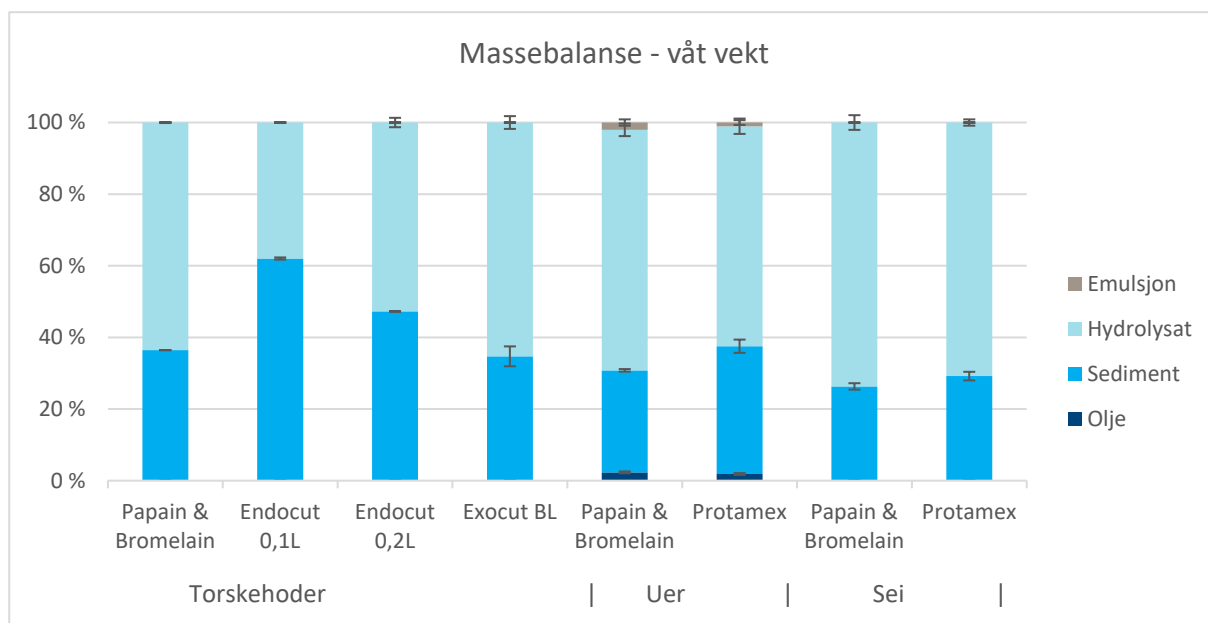
Aminosyresammensetning, kimtall, TVN og biogene aminer ble analysert hos Eurofins.



## 4 RESULTATER OG DISKUSJON

### 4.1 Hydrolyse av torskehoder, sei og uer

Det ble gjennomført 4 hydrolyseforsøk av torskehoder, hvorav 3 gikk til å teste ut nye, anbefalte, enzymer fra Taylorzymes. Disse ble sammenlignet med den beste enzymkombinasjonen fra HEADS UP I prosjektet [9], papain og bromelain. Dårlig hydrolyse gir en større sedimentfraksjon og en mindre hydrolysatfraksjon. Resultatene er oppsummert i figur 1.



Figur 1: Figuren viser fordeling av de ulike fraksjonene, hydrolysat, sediment, olje og emulsjon, etter hydrolyse av torskehoder, uer og sei.

Papain og bromelain i kombinasjon og Exocut BL var de mest effektive enzymene for torskehoder. De to endocut enzymene ga mindre effektiv hydrolyse. For uer og notsei er det små variasjoner mellom de to enzymkombinasjonene som ble testet, protamex eller papain og bromelain, men sistnevnte gir større hydrolysatfraksjon for begge artene. For uer gir også papain og bromelain en større emulsjonsfraksjon. Det er verdt å merke seg at hydrolyse av hel uer vil gi en oljefraksjon.

#### 4.1.1 Tørket hydrolysat

Etter forsøkene ble hydrolysatet frysetørket. Proteininnholdet for torskehodene varierer fra  $62,8 \pm 0,5$  for Endocut 0,1L (som også gav den minste hydrolysatfraksjon) til  $78,1 \pm 0,2$  % for papain og bromelain. Resultatene for torskehoder samsvarer med de gjennomført i HEADS UP prosjektet [9]. Endocut 0,2L gir også høyt proteininnhold i det tørkede hydrolysatet, men dette enzymet er mindre effektivt og gir lavere utbytte enn hydrolyse med papain og bromelain. Høyt proteininnhold gir høyest kommersiell verdi.

Hydrolysatene fra sei og uer har også høyt innhold av protein. Proteininnholdet er klart høyere i hydrolysat fra sløyd notsei. Til tross for høyt innhold av protein, er det ikke aktuelt å sløye notsei. Både uer og sei kan være kommersielt interessante som råvare for hydrolyse.

#### 4.1.2 Molekylvektfordeling

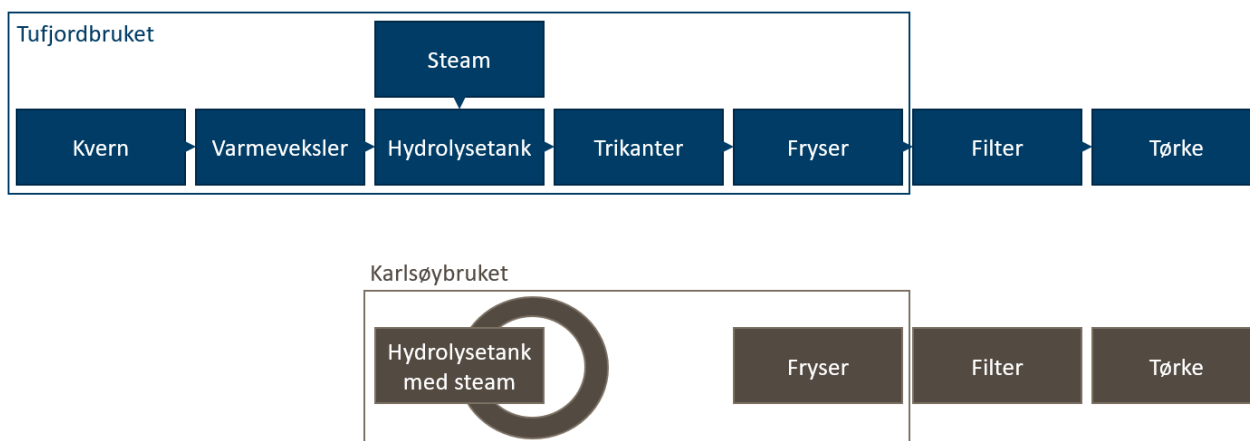
Det er stor forskjell i molekylvektfordelingen for de ulike enzymene som er brukt på torskehoder. Papain og bromelain er endoproteaser (kutter midt i peptidkjeden) med preferanse for cystein. Endocut 0,1L og Endocut 0,2L er også endoproteaser. Exocut BL er en protease som kutter proteinet fra enden.

Det er ikke kjent hva som er optimal molekylvektfordeling, men noe kunnskap er etablert. Alle bioaktive peptider er mindre enn 2000 Dalton, samt at små peptider også fordøyes lettere. Hydrolysater som skal brukes som ingredienser i mat eller helsekost bør være vannløselige. Hele proteiner og store molekyler reduserer løseligheten i vann. Det er også antatt at bitre peptider, som reduserer kvaliteten og bruksområdet betraktelig, er mellom 200-500 Dalton. Det er derfor antatt at en molekylvektfordeling som ligger mellom de store og minste molekylene vil være et godt resultat.

En molekylvektfordeling som har mange store molekyler, som Endocut 0,1L, gjenspeiler ofte en ufullstendig hydrolyse. Dette forsterker konklusjonen om ineffektiv hydrolyse også basert på forholdet mellom hydrolysat og sediment etter hydrolyseforsøkene. Exocut BL hydrolysatet har en høyere andel mindre peptider enn de andre, og samsvarer med at enzymet kutter proteinet fra enden.

## 4.2 Industriforsøk ved Karlsøybruket

Ved gjennomføring av industriforsøk ved Karlsøybruket ble det utviklet en redusert prosesslinje, uten kvern, varmeveksler og trikanter. En sammenligning av prosesslinjene er vist i figur 2. Prosesslinjen har tatt stort hensyn til utfordringene knyttet til kverning og pumping av beinfraksjonen fra hodene.



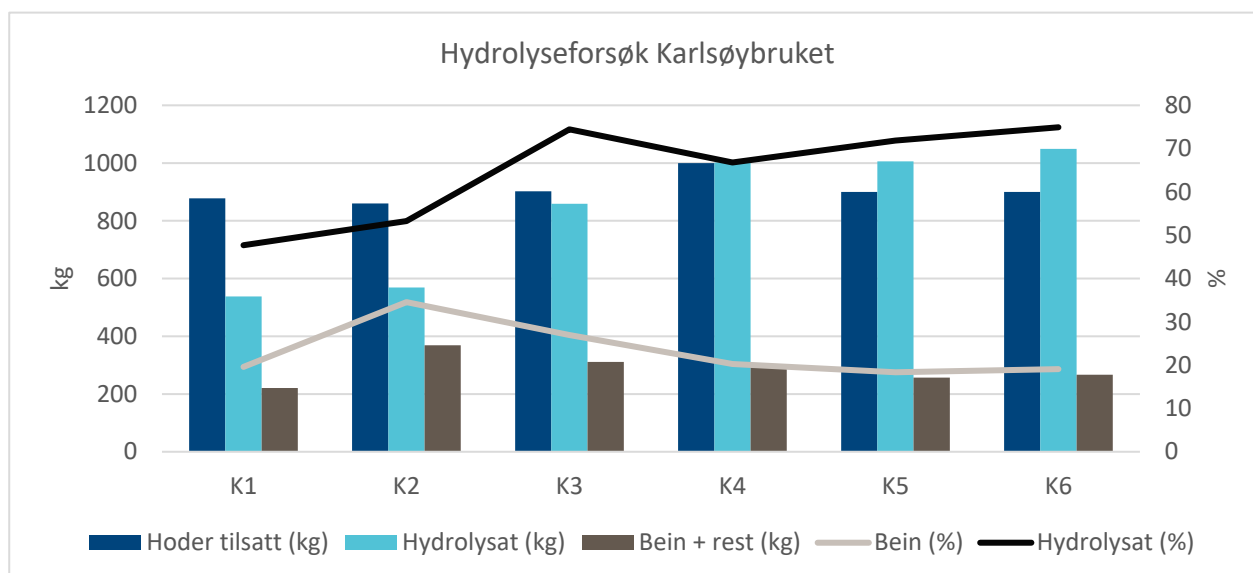
Figur 2: Likheter og ulikheter mellom prosesslinjen testet i de to HEADS UP prosjektene.

Den nye hydrolysereaktoren hadde rask varmeutveksling og en smart løsning til beinfraksjonen. En indre sil i tanken ble etter endt hydrolyse løftet ut av tanken og tømt. Reaktoren hadde for svakt rørverk, og førte til utfordringer knyttet omrøring når det var mye hoder og lite vann i tanken. Hele hoder pakker seg lett og det kreves mye energi for å bevege de rundt i begynnelsen av hydrolysen. Uttestingen av hydrolysetanken startet med dobbelt så mye hoder som vann, basert på forsøkene ved Tufjordbruket. Etter hvert i uttestingen måtte det tilsettes mer vann enn ønsket for å få omrøring.

Den nye hydrolysetanken hadde for svakt rørverk til å gjennomføre hydrolyseforsøk på hoder med lite tilsatt vann. Underveis i uttestingen ble tre hovedstrategier testet ut. Det første forsøket, K1, følger den klassiske hydrolyseoppskriften. I forsøket stoppet rørverket raskt opp, men det kom i gang igjen.

I de to neste forsøkene, K2 og K3, ble det tilsatt mer vann i forhold til hodene. Alle hodene ble tilsatt før enzymet var tilsatt og det var problemer med omrøring. I disse forsøkene ble beinsila heist opp, slik at denne hang over hydrolysetanken ved inaktivering. Ideen var å spare energi til oppvarming ved å bruke beinsila som lokk og å slippe å varme opp hele massen. Resultatene viser at hydrolysen er dårligst i disse forsøkene.

Ønsket om å tilsette minst mulig vann, førte til at vi i de tre siste forsøkene tilsatte halvparten av hodene først, for så å tilsette enzym, før resten av hodene ble tilsatt. Ideen her var at de første hodene skulle slippe en del vann tidlig i prosessen, som kunne brukes til å opprettholde omrøring i tanken når de neste hodene ble tilsatt. De to siste forsøkene ble kjørt med noe høyere konsentrasjon av enzym, og med samme vann/råstoff forhold. Det var de tre siste forsøkene som ga minst beinfraksjon. Dette antyder at hydrolysen var mest effektiv her. Fordeling av hydrolysat og beinfraksjon i våtvekt er vist i figur 3. Produksjonstap er differansen mellom det som gikk inn i reaktoren og det som kom ut i sluttprodukter. Produksjonstapet oppstår blant annet ved omkobling av slanger, tekniske utfordringer som fører til lekkasje og avdamping.



Figur 3: Figuren viser total vekt i hydrolysetanken, vekten av hoder i hydrolyseforsøket, samt vekt av hydrolysat og bein/rest fraksjon. I tillegg er utbytte hydrolysat (%) og beinfraksjon (%) vist.

I forsøkene ved Karlsøybruket ble hele hoder hydrolysert, i motsetning til kverna hoder. Alle tidligere resultater og prosessjusteringer er gjort for kvernede hoder. Det ble raskt tydelig at det er både vanskeligere å røre hele hoder og at hydrolyse av hele hoder krever mer vann. Hodene pakker seg tett i bunnen av tanken og da kreves det mye energi for å dra de rundt. Tørrstoffinnholdet varierte fra 5,4 % til 11,1 % i de gjennomførte forsøkene.

Hydrolysatet som ble produsert ved Karlsøybruket gjennomgikk ikke en separasjon. Ved hydrolyse av torskehoder i Mobile Sealab ble hydrolysatet separert i en trikanter. Da ble det produsert rundt 5 % grakse. Graksen består hovedsakelig av uløst protein og fosfolipider. Dette må trekkes fra det teoretiske utbyttet. I tillegg vil uløste proteiner og en god del fett filtreres av med membranfilter (mikro/ultrafilter), og salter vil kunne filtreres av med nanofiltrering. Det forventede utbyttet er derfor lavere enn det teoretiske.

#### 4.2.1 Hydrolysat

Det ble produsert over 5000 kg med hydrolysat. Hydrolysatet ble tappet på IBC beholdere og avkjølt i kar med rennende kaldt vann før de ble satt på fryseren. To av IBC beholderene ble ikke avkjølt raskt nok og måtte kasseres. Rundt 2000 kg hydrolysat ble sendt videre til membranfiltrering og tørking. Holdbarheten til flytende hydrolysat på IBC beholder er mindre enn 24 timer.

Frossent hydrolysat ble først sendt til Membranteknikk for membranfiltrering. Metodikk og filtreringsparametere er Membranteknikk sin eiendom og rapporteres ikke i denne rapporten. De rapporterte at de kasserte omtrent halvparten av tønnene pga sur lukt. I tillegg filtrerte de av nesten alt fett (fra ca 8,5 % fett i hydrolysatet til 0,2 % fett i sluttproduktet), og halvparten av saltet (fra 11,6 % i hydrolysatet til 2,8 % i sluttproduktet). I tillegg oppkonsentreres proteinene ved membranfiltrering. En god del vann er også filtrert av. Oppkonsentrert hydrolysat ble så fryst igjen, før de ble sendt til Seagarden for tørking. Hydrolysatet ble spraytørket, men parametere utover det er Seagarden sin eiendom og rapporteres ikke i denne rapporten.

Fra et forventet utbytte på over 500 kg til et oppnådd utbytte på 63 kg er det mange prosesstrinn som kan optimaliseres og forbedres. Det største tapet skjer i selve hydrolyseprosessen, der beinfraksjonen inneholder nesten 700 kg mer fiskerester enn forventet. I tillegg gikk mye hydrolysat tapt underveis pga kort holdbarhet, og i gjentatte tining/frysings sykluser.

#### 4.2.2 Beinfraksjon

Beinfraksjonen er en god indikator på hvor god hydrolysen har vært. Det kom tydelig fram at rørverket i den nye hydrolysereaktoren må forbedres. Problemer med rørverket førte til redusert hydrolyse. Det at hodene er hele kan også ha bidratt til den store variasjonen i hydrolyse på det som ble igjen i beinfraksjonen. I alle batchene var det øverste laget i tanken helt rene bein. I bunnen av tanken, der omrøringen var dårligst, lå det igjen hele hoder. Beinfraksjonen, som inneholder både rene bein og uhydrolysert råstoff utgjorde mellom 18,4 % til 34,6 % av hydrolysert masse. Beinfraksjonen er i alle tilfellene langt over forventet. I tidligere forsøk, i Mobile Sealab, med kvernet råstoff, utgjorde beinfraksjonen 20 % av råstoffet. Også i denne fraksjonen lå det igjen fiskerester. Men, ved hydrolyse av hele hoder, øker kravet til omrøring.

### 4.3 Karakterisering av tørket hydrolysat fra industriforsøk

Det ble tatt ut prøver fra de 6 ulike batchene for laboratorieanalyser, der en serie ble frysetørket uten at hydrolysatet ble filtrert, dekantert eller sentrifugert (KH-serien). I tillegg ble en prøveserie sentrifugert før frysetørking (KF). Denne prøveserien kan lettest sammenlignes med betingelser fra laboratorier og tidligere forsøk [9]. Et større volum, opptil 3 liter, ble spraytørket (KS), etter at prøvene hadde blitt filtrert. Tørkede hydrolysater inneholder jevnt over over 80 % protein, og rundt 10 % aske. Proteininnholdet er signifikant lavere og fettinnholdet er signifikant høyere i hydrolysatene som ikke er sentrifugert/filtrert ( $p \leq 0,05$ ). Sentrifugeringen og filtrering fjerner uløst protein og fett effektivt.

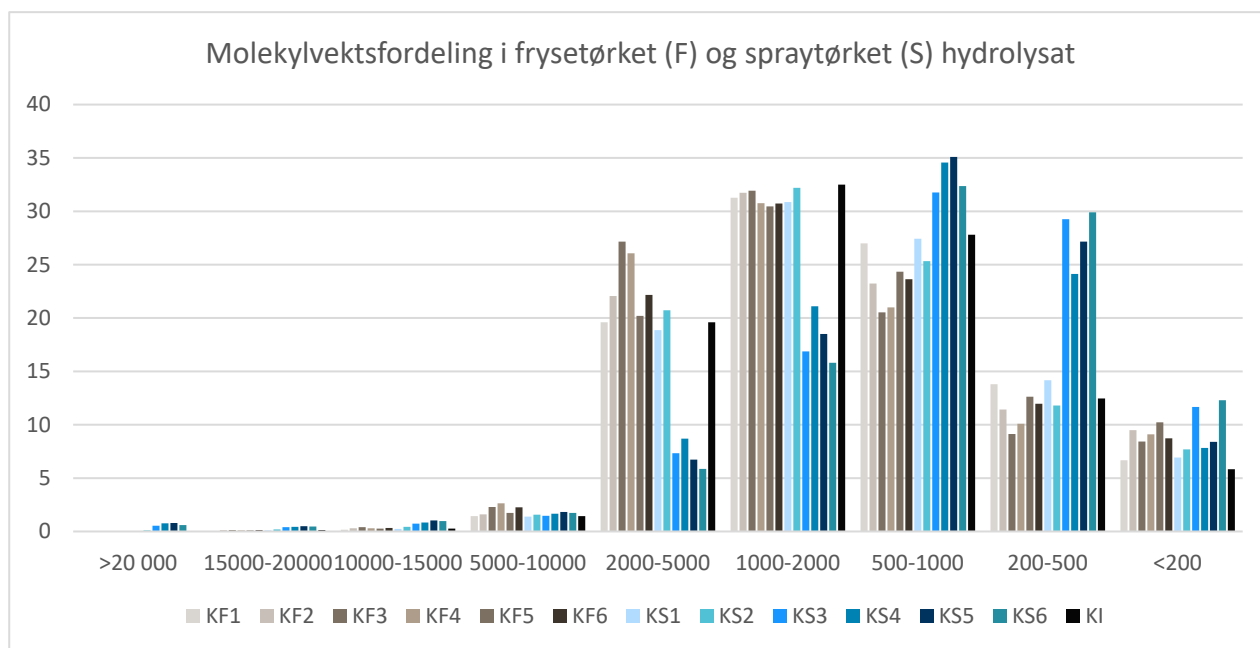
Rundt 2000 kg ble sendt til industriell filtrering hos Membranteknikk og tørking hos Seagarden (batch KI). Pulveret som kom tilbake har høyt proteininnhold, over 93 %, mild smak og er fullt løselig i vann. Denne prøven ble analysert hos Eurofins. Den kjemiske sammensetningen er vist i tabell 6. I dette hydrolysatet ble også innholdet av kalsium (810 mg/kg), natrium (16 000 mg/kg) og fosfor (3700 mg/kg) analysert.

### 4.3.1 Hydrolysegrad

Hydrolysegraden varierer i området 17 % og 22 %. Hydrolysegraden er lavest i den første prøveproduksjonen (K1) i den nye hydrolysereaktoren. Dette forsøket ble gjennomført med det som var forventet å være gode betingelser for kvernedede hoder. I forsøket var det flere stopp i røring, og det ble tydelig at det er tyngre å røre hele hoder i forhold til kverna hoder. Målet om minst mulig tilsatt vann ble opprettholdt i de tre første forsøkene (K1-K3). I de tre siste forsøkene ble det tilsatt mer vann. I de to siste forsøkene ble det også tilsatt mer enzym. Hydrolysegraden er høyere for hele hoder, sammenlignet med de for kverna hoder hydrolysert i Mobile Sealab [9]. Hydrolysegraden der lå på 15 %.

### 4.3.2 Molekylvektfordeling

Molekylvektfordelingen (figur 4) viser fordeling av ulike protein og peptidfragmenter. Molekylvektfordelingen er analysert både i frysetørket og spraytørket hydrolysat. Bitre peptider, som kan være en utfordring for marine proteinhydrolysater, har ofte en molekylvekt på 200-500 Dalton. Resultatene viser forskjeller i molekylvektfordeling avhengig av tørketype. De frysetørkede prøvene er mer homogene i molekylvektfordelingen, mens de spraytørkede prøvene viste større variasjon. For alle prøvene er det liten variasjon over 10 000 Dalton. De spraytørkede prøvene KS3-KS6, har betydelig lavere innhold av peptider i størrelsen 1000 – 5000 Dalton, og betydelig høyere andel peptider i størrelsen 200 – 1000 Dalton.



Figur 4: Molekylvektfordeling i frysetørkede og spraytørkede hydrolysater produsert ved Karlsøybruket.

HEADS II resultatene gjelder hydrolyse av hele hoder i en nyutviklet hydrolysereaktor. I de frysetørkede prøvene var 25 % av peptidene over 2000 Dalton, og 44 % var mindre enn 1000 Dalton. To av prøvene som ble spraytørket, KS1 og KS2, har tilsvarende fordeling. De 4 andre spraytørkede prøvene, som er spraytørket i lab skala (KS3-KS6), inneholder 11 % peptider over 2000 Dalton og 71 % under 1000 Dalton. Prøven som er industrielt membranfiltrert og spraytørket inneholder 51 % peptider over 2000 Dalton og 46 % peptider under 1000 Dalton.

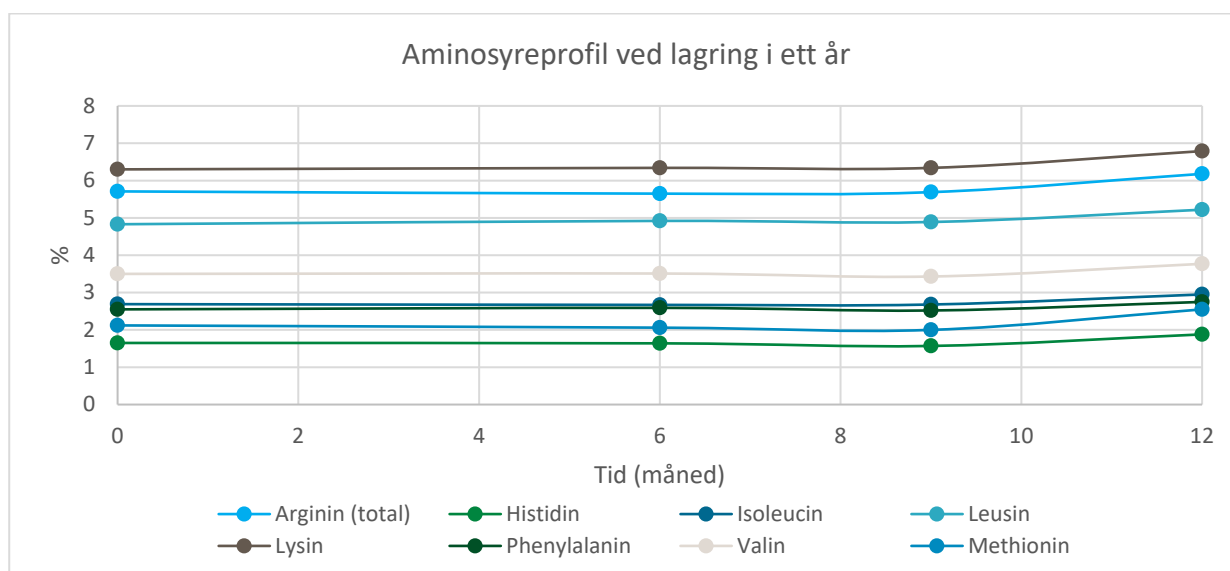
## 4.4 Stabilitet

Tørket hydrolysat ble oppbevart mørkt ved romtemperatur i 12 mnd. Hver 3 mnd har kjemisk sammensetning, kimtall, flyktig nitrogen (TVN), biogene aminer og aminosyresammensetning blitt analysert. Den kjemiske sammensetningen til hydrolysatet (vann, aske, fett og protein) er stabil gjennom hele perioden, og ligger i området 90,9 – 94,0 % for protein, 3,6 %-4,4 % vann, 5,7 – 7,2 % aske og 0,1-0,9 % fett. Proteinmengden Kimtallet er under 1000 cfu i hele lagringsperioden.

TVN er et mål på ferskhet. Fersk fisk har TVN på 14 mg/g [15]. I det samme studiet var TVN etter 25 timer 30 mg/g og etter 36 timer var verdien 50 mg/g. Hydrolysatet har i utgangspunktet høyere innhold av TVN. Selv om det har vært produsert fra ferske hoder, stiger TVN ved produksjon, samt i prosesser som frysing, tining, filtrering og tørking. Innholdet av TVN i hydrolysatet er høyere enn ønsket. Det er mulig å redusere, ved å få en sammenhengende produksjonslinje for hydrolysatet. Ved lagring av hydrolysatet i 12 måneder, varierer TVN i området 202-207, med en avvikende måling på 310 mg/g etter 3 mnd.

### 4.4.1 Aminosyresammensetning

Aminosyresammensetningen har betydning for hydrolysatets næringsverdi. Hydrolysatet har høyest innhold av aminosyrene asparaginsyre (5,8 %), glutaminsyre (12,8 %) og glysin (12,3 %), og lavest innhold av aminosyrene tryptofan (0,5 %), cystein (0,7 %) og histidin (1,7 %). Innholdet av de 8 essensielle aminosyrene (valin, leucin, fenylalanin, tryptofan, lysin, isoleucin, metionin og treonin) utgjør 28,8 % av alle aminosyrene. Ved lagring av proteinhydrolysatet i inntil ett år er det kun små variasjoner i aminosyreprofilen. For noen aminosyrer virker de å være mer stabile de første 9 mnd. Deretter skjer det en endring i hydrolysatet som påvirker %-vis fordeling av aminosyrer (figur 5). Dette gjelder aminosyrene arginin, histidin, isoleucin, leucin, lysin, fenylalanin, valin og metionin.

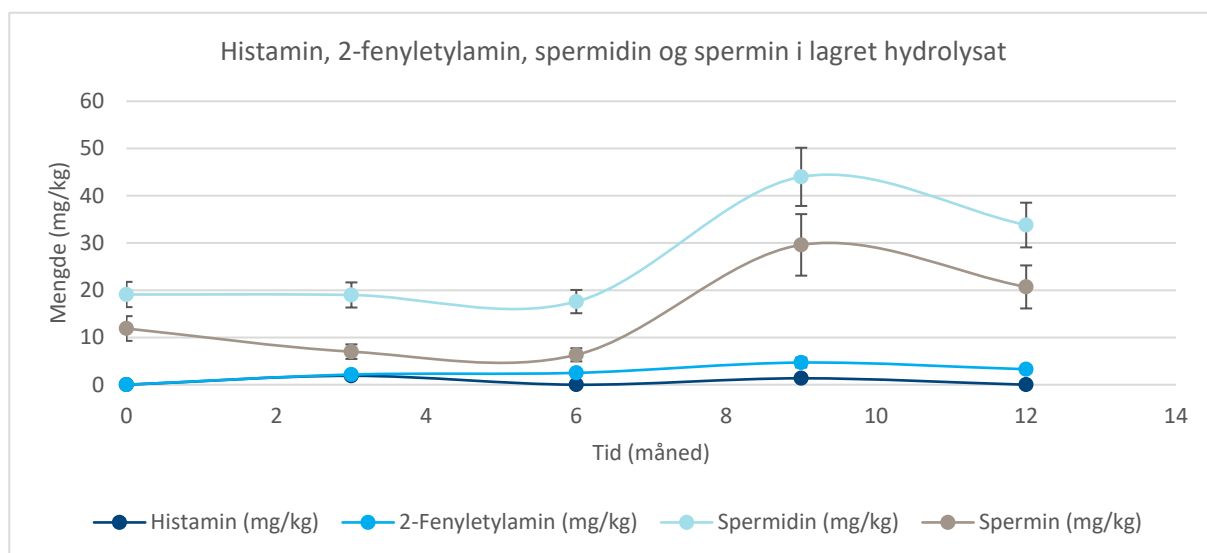


Figur 5: Endring i aminosyreprofil ved lagring av hydrolysat i ett år.

#### 4.4.2 Biogene aminer

Kvaliteten til hydrolysatet blir påvirket av mange faktorer. Råstoffkvalitet, selve hydrolyseprosessen og etterbehandling. Biogene aminer dannes ved nedbrytning av bestemte aminosyrer [16], og kan brukes som en kvalitetsindikator. Biogene aminer kan utvikles både i råstoffet og under prosessering. De er termisk stabile, i motsetning til TVN [15].

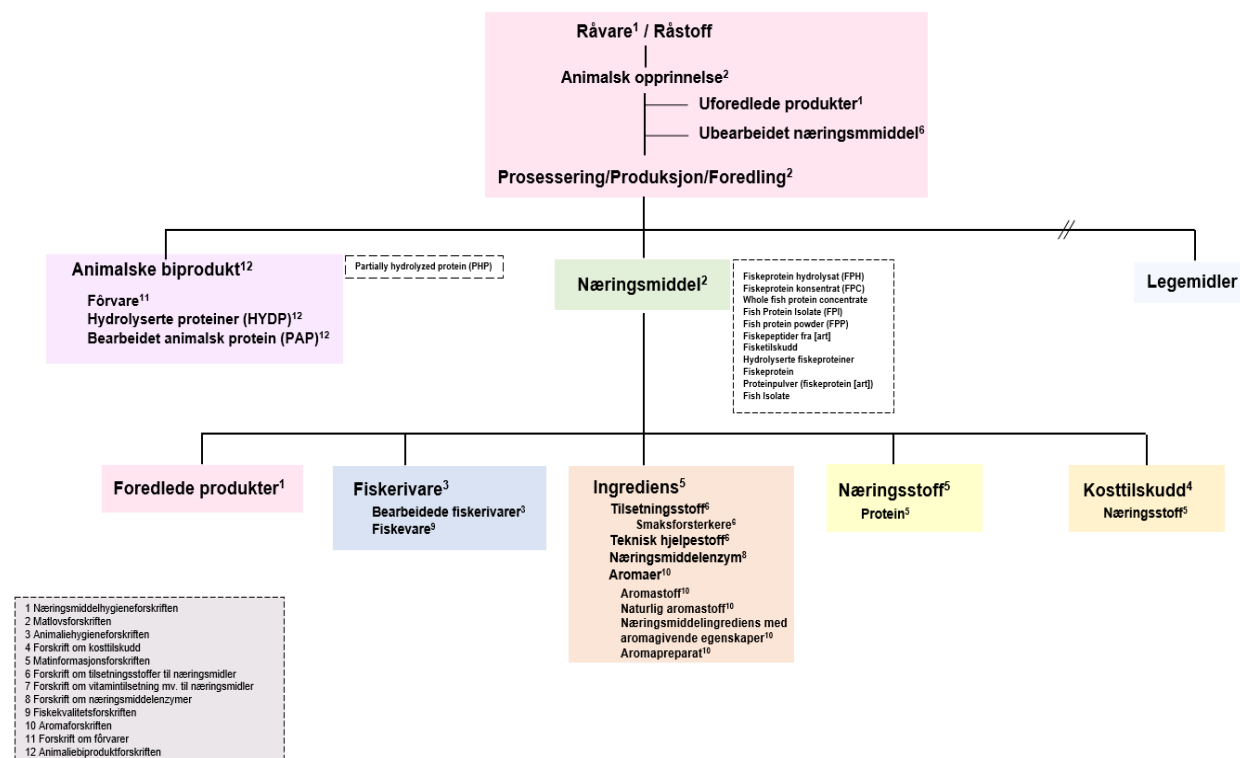
HEADS II hydrolysatet har et innhold av biogene aminer som er høyt [17, 18, 19, pers med; Hallgeir Sterten, Felleskjøpet] sammenlignet med andre fiskeproteinhydrolysater (figur 6). Bakgrunnen for forhøyede verdier i dette hydrolysatet er forbehandlingen. Etter endt hydrolyse ble hydrolysatet kjølt for sakte ned. Deretter var det gjennom frysing, tining, membranfiltrering, frysing, tining og tørking. I en industriell produksjon vil membranfiltrering og enten inndampning eller tørking skje fortløpende. Det er dermed grunn til å anta at det kan produseres hydrolysater med lavere innhold av biogene aminer i full industriskala produksjon. Innholdet av biogene aminer er tilnærmet uforandret i 6 mnd, før de fleste målte får en økning det siste halve året.



Figur 6: Innhold av biogene aminer i industrielt filtrert og tørket hydrolysat over en periode på ett år.

## 4.5 Dokumentasjonskrav og merking

HEADS II prosjektet har forsøkt å få en klarhet i regelverket rundt merking av mat/næringsprodukter som inneholder hydrolysat, basert på gjennomgang av 14 forskrifter (figur 7). Bruken av hydrolyserte proteiner benyttes i all hovedsak i to kategorier; næringsmidler og fôr. I tillegg finnes det mulige anvendelser innen farmasi, men det blir ikke vurdert i dette avsnittet.



Figur 7: Begreper og relevante forskrifter som har betydning for merking av produkter som inneholder hydrolysater.

Den generelle næringsmiddelhygieneforskriften gjelder all matproduksjon, inkludert produksjon av sjømat og marine ingredienser. Definisjonen av næringsmidler<sup>1</sup> omfatter **ethvert stoff eller produkt som er bestemt til eller med rimelighet kan forventes å inntas av mennesker**. Næringsmidler omfatter foredelede produkter<sup>2</sup>, fiskerivarer<sup>3</sup>, kosttilskudd<sup>4</sup>, ingredienser<sup>5</sup>, næringsstoff<sup>5</sup> og tilsetningsstoff<sup>6</sup> med tilhørende definisjoner i ulike forskrifter. Flere ulike hensyn (som f.eks. innpakning og salgsform) vil også kunne få innvirkning på definisjonen, og dermed bruken, av ulike produkt. En oversikt over begreper og hvilke forskrifter som gjelder er oppsummert i figur 8.



Betegnelse	Kilde
<b>Fiskeprotein hydrolysat (FPH)</b>	[21] Venugopal, 2016.
<b>Fiskeprotein konsentrat (FPC)</b>	[22] Windsor, 2001.
<b>Whole fish protein concentrate</b>	21 C.F.R §172.385 2019 CFR: Tilsetningsstoffer tillatt for humant konsum
<b>Fish Protein Isolate (FPI)</b>	21 C.F.R. §172.340 2019 CFR: Tilsetningsstoffer tillatt for humant konsum
<b>Fish protein powder (FPP)</b>	Generell betegnelse
<b>Fiskepeptider fra [art]</b>	Angitt i <i>Forskrift om ny mat</i>
<b>Fisketilskudd</b>	Seagarden
<b>Hydrolyserte fiskeproteiner</b>	Hydroprot, ProGo, Endurance protein, Peptid+, angitt i BKU* fra Tolletaten
<b>Fiskeprotein</b>	Polarin, Laxpro, GlucoWell, Hairgain
<b>Proteinpulver (fiskeprotein [art])</b>	Angitt i BKU* fra Tolletaten
<b>Fish Isolate</b>	Bio Phoenix Formulations
<b>Partially hydrolyzed protein (PHP)</b>	Generell betegnelse – til dyrefôr

\*BKU – Bindende klassifiseringsuttalelse

Det er ikke tillatt å omsette eller merke sluttproduktet med "hydrolysert protein" uten å etterleve krav i gjeldende biproduktregelverk. Videre bruk og merking av HYDP som fôr omfattes av både animaliebiprodukt-, fôr- og TSE-regelverket.

#### 4.5.1 Merking

Et sentralt punkt i alle vurderinger som gjøres rundt merking av næringsmidler er at de ikke er villedende for forbruker. Det benyttes mange ulike *betegnelser* på

proteiner fra fisk. Noen av disse er definert, mens andre er mer generelle betegnelser. Det stilles ikke krav til informasjon om hvilke deler av fisken som har inngått i produksjonsprosessen så lenge betegnelsen eller merking ikke er villedende med tanke på opphavet til råstoffet. Hydrolyserte proteiner fra fisk kan sies å ha beveget seg så langt fra det opprinnelige produktet at det kan oppfattes som villedende dersom det betegnes som "fisk". Vurderinger rundt merking må gjøres for hvert enkelt produkt, og en bør utøve forsiktighet rundt betegnelse og påstander knyttet til produktene.

- 1 Næringsmiddelhygieneforskriften
- 2 Matlovsforskriften
- 3 Animaliehygieneforskriften
- 4 Forskrift om kosttilskudd
- 5 Matinformasjonsforskriften
- 6 Forskrift om tilsetningsstoffer til næringsmidler
- 7 Forskrift om vitamintilsetning mv. til næringsmidler
- 8 Forskrift om næringsmiddelenszymer
- 9 Fiskekvalitetsforskriften
- 10 Forskrift om ekstraksjonsmidler
- 11 Aromaforskriften
- 12 Animaliebiproduktforskriften
- 13 Forskrift om fôrvarer
14. Forskrift om TSE

## 5 KONKLUSJON

Prosjektet har gjennomført industriell hydrolyse av hele torskehoder i egenutviklet reaktor. Det er produsert et proteinhydrolysat med over 90 % protein, som er lett vannløselig og som har en nøytral lukt og smak. I lab skala ble det vist at uer og notsei også kan hydrolyseres, men da må det forventes en olje/emulsjonsfase. Hydrolyse av sløyd notsei ga et produkt med svært god smak.

Driftsteknisk er det mulig å hydrolysere hele hoder. Det løser utfordringen med torskebein videre i prosessen. Reaktoren som ble benyttet hadde også en god løsning for å ta ut beinfraksjonen. Men, det er også noen utfordringer knyttet til hydrolyse av hele hoder. Det stiller store krav til utforming av reaktor. Det er helt nødvendig å lage et rørverk som klarer å få omrøring på hele massen. De industrielle forsøkene i dette prosjektet ga lavere utbytte enn tidligere. Dette skyldes antagelig: (1) Dårlig omrøring i tanken gjorde at mye av råstoffet lå igjen, (2) ulik størrelse på hodene gir større spredning i MW-delning, og dermed større svinn ved filtrering og (3) filtrering og tørking i industriskala av et lite volum hydrolysat, gir mye svinn i prosessene. Det ble også klart at vått hydrolysat har svært kort holdbarhetstid. Halvparten av det produserte hydrolysatet gikk tapt da det ikke ble avkjølt raskt nok ved Karlsøybruket. I tillegg gikk halvparten av det som ble sendt videre til filtrering tapt, da det også var forringet ved ankomst. Det er derfor viktig at hydrolysatet stabiliseres rett etter produksjon.

Hydrolysatet ble lagret, mørkt og i romtemperatur, i ett år. Det har god holdbarhet det første halve året, mens enkelte av parameterne gir større variasjon det siste halve året. Det er ingen store endringer i analyseresultater eller hvordan pulveret oppleves (lukt, farge) etter ett års lagring.

Det finnes 14 forskrifter som er relevante i forbindelse med hydrolyse av marint restråstoff. Ingen gir et klart svar på hvordan produktet skal dokumenteres eller merkes, annet enn at det ikke skal være villedende. Den mest nærliggende merkingen pr. dags dato vil være; hydrolysert fiskeprotein.

## 6 Hovedfunn

- Det er mulig å hydrolysere hele torskeshoder, men det krever tilpasset teknologi
- Det kan produseres proteinprodukter med over 90 % protein og nøytral lukt og smak
- Proteinpulveret kan lagres ett år uten kvalitetstap
- 14 forskrifter er aktuelle for marine proteinprodukter

## 7 Leveranser

<b>Leveranse</b>	<b>Beskrivelse</b>
L1	Prosjektnotat med resultater fra hydrolyseforsøk.
L2	Prosjektnotat med resultater fra stabilitetsforsøk.
L3	Faktaark
L4	Referat fra første møte i styringsgruppen, nr.1
L5	Referat fra første møte i styringsgruppen, nr.2
L6	Faglig sluttrapport i tråd med FHF's retningslinje
L7	Administrativ sluttrapport.
L8	Referat fra sluttmøte med FHF og Fjordlaks (inkl styringsgruppe)

## 8 REFERANSER

1. Kystmagasinet, 10.04.14
2. Cod, <http://www.fao.org>
3. Kjerstad, M., Aas, G. H. (2007). Muligheter for å utnytte torskehoder til konsumprodukter. Møreforskning, rapport 0706, ISSN 0804-5380
4. Mohr, V. (1980). Enzymes technology in the meat and fisheries industries. *Process Biochemistry*, 15 (6), 18-21,32
5. Mohr, V. (1977). Fish protein concentrate production by enzymic hydrolysis. Paper presented at the FEBS Federation of European Biochemical Societies 11th Meeting, Copenhagen.
6. Slizyte, R., Rustad, T., & Storro, I. (2005). Enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products - Optimization of yield and properties of lipid and protein fractions. *Process Biochemistry*, 40(12), 3680-3692.
7. Šližytė, R., Van Nguyen, J., Rustad, T., & Storrø, I. (2004). Hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products: influence of initial heat inactivation, concentration and separation conditions. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13 (2), 31-48.
8. Bligh, E.G. and W.J. Dyer. (1959) *A rapid method of total lipid extraction and purification*. *Can J Biochem Physiol*, 1959. **37**(8): p. 911-7.
9. Remme, JF., Carvajal, AK., Indergård, E., Toldnes, B., Slizyte, R., Grimsmo, L., Austnes, A. (2018). HEADS UP – Alternativ anvendelse av torskehoder. SINTEF rapport 2018-00475.
10. Sabeena Farvin, K. H., Andersen, L. L., Otte, J., Nielsen, H. H., Jessen, F., Jacobsen, C. (2016). Antioxidant activity of cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysates: Fractionation and characterisation of peptide fractions. *Food Chemistry*, 204, 409-419.
11. Klomklao, S., Benjakul, S. (2017): Utilization of tuna processing byproducts: Protein hydrolysate from Skipjack tuna (*Katsuwonus Pelamis*) viscera. *Journal of food processing and preservation* 41.
12. Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H. (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry* 115:238-242
13. Zhou, P. and Regenstein, J. M. (2004). Optimization of extraction conditions for Pollock skin gelatin. *Journal of Food Science* 69: 393–398.
14. Jafarpour, A., Gomes, RM., Gregersen, S., Sloth, JJ., Jacobsen, C., Sørensen, ADM. (2020). Characterization of cod (*Gadus morhua*) frame composition and its valorization by enzymatic hydrolysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 89, 103469.
15. Ricque-Marie, D., Parra, MIA., Cruz-Suarez, LE., Cuzon, G., Cousin, M., Pike, I. (1998). Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture* 165, 95-109.
16. Yongsawatdigul, J., Choi, YJ., Udornporn, S. (2004). Biogenic amines formation in fish sauce prepared from fresh and temperature abused Indian Anchovy (*Stolephous indicus*). *Journal of Food Science* 69 (4).
17. Foador, JF., Karr-Lilienthal, LK., Parsons, CM., Bauer, LL., Utterback, PL., Schasteen, CS., Bechtel, PJ., Fahey Jr, GC. (2006). Fish meals, fish components, and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. *J. Anim. Sci* 84, 2852-2765.
18. Aksnes, A., Izquierdo, MS., Robaina, L., Vergara, JM., Montero, D (1997). Influence of fish meal quality and feed pellet on growth, feed efficiency and muscle composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 153, 251-261.
19. Jasour, MS., Wagner, L., Sundekilde, UK., Larsen, BK., Rasmussen, HT., Hjermitsev., Hammershøj, M., Dalsgaard, AJT., Dalsgaard, TK. (2018). Fishmeal with different levels of biogenic amines in aquafeed: Comparison of feed protein quality, fish growth performance, and metabolism. *Aquaculture* 488, 80-89.

- 20 Adler S.A. & Løes A.-K. 2018. Utnyttelse av utrangerte verpehøner til fôr. Norsk institutt for bioøkonomi. NIBIO RAPPORT Vol. 4, Nr. 31, 2018.
- 21 Venugopal, V. 2016. Advances in Food and Nutrition Research, Chapter Three - Enzymes from Seafood Processing Waste and Their Applications in Seafood Processing. Editor(s): Se-Kwon Kim, Fidel Toldrá. Academic Press, Vol. 78, 2016. s. 47-69.
- 22 Windsor, M. L. (2001). Fish protein concentrate. Torry advisory note, No. 39. FAO in partnership with support unit for international fisheries and aquatic research, SIFAR. Tilgjengelig fra: <http://www.fao.org/3/x5917e01.htm> (Hentet: 28.10.20)
- 23 Sjödin, A.M. 2019. *How do you get an approved health claim in Europe? – Experiences from within the system.* Presentert på Neutraceutical and pharmaceutical regulatory affairs seminar, Ålesund, Norge.

## Lover og forskrifter

**Animaliebiproduktforskriften.** 2016. *Forskrift om animalske biprodukter som ikke er beregnet på konsum.* (FOR-2016-09-14-1064). Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2016-09-14-1064?q=animaliebiprodukt> (Hentet: 28.10.2019).

**Animaliehygieneforskriften.** 2008. *Forskrift om særlige hygieneregler for næringsmidler av animalsk opprinnelse.* (FOR-2008-12-22-1624). Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1624> (Hentet: 28.10.2019).

**Code of federal regulations (CFR).** 2019. PART 172—FOOD ADDITIVES PERMITTED FOR DIRECT ADDITION TO FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION. Tilgjengelig fra: [https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=cea6a6f46aae695c22502d74df2b8882&mc=true&node=pt21.2.172&rgn=div5#\\_top](https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=cea6a6f46aae695c22502d74df2b8882&mc=true&node=pt21.2.172&rgn=div5#_top) (Hentet: 31.10.2019).

**Forskrift om ernærings- og helsepåstander.** 2010. *Forskrift om ernærings- og helsepåstander om næringsmidler.* FOR-2010-02-17-187. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2010-02-17-187> (Hentet: 28.10.2019).

**Forskrift om kosttilskudd.** 2004. *Forskrift om kosttilskudd.* (FOR-2004-05-20-755). Tilgjengelig fra: <http://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2004-05-20-755> (Hentet: 28.10.2019).

**Forskrift om kvalitet på fisk og fiskevarer.** 2013. *Forskrift om kvalitet på fisk og fiskevarer.* FOR-2013-06-28-844. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2013-06-28-844?q=kvalitet%20p%C3%A5%20fisk> (Hentet: 28.10.2019).

**Forskrift om ny mat.** 2017. *Forskrift om ny mat.* FOR-2017-07-25-1215. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2017-07-25-1215> (Hentet: 28.10.2019).

**Forskrift om næringsmiddelenszymer.** 2011. *Forskrift om næringsmiddelenszymer.* FOR-2011-06-06-667. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2011-06-06-667> (Hentet: 28.10.2019).

**Forskrift om tilsetningsstoffer til næringsmidler.** 2011. *Forskrift om tilsetningsstoffer til næringsmidler.* FOR-2011-06-06-668. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2011-06-06-668> (Hentet: 28.10.2019).

**Forskrift om vitamintilsetning mv. til næringsmidler.** 2010. *Forskrift om tilsetning av vitaminer, mineraler og visse andre stoffer til næringsmidler.* FOR-2010-02-26-247. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2010-02-26-247> (Hentet: 28.10.2019).

**Matinformasjonsforskriften.** 2014. *Forskrift om matinformasjon til forbrukerne.* (FOR-2014-11-28-1497). Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2014-11-28-1497> (Hentet: 28.10.2019).

**Matlovsforskriften.** 2008. *Forskrift om allmenne prinsipper og krav i næringsmiddelregelverket.* FOR-2008-12-22-1620. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1620?q=matlovsfor> (Hentet: 28.10.2019).

**Mattilsynet,** 2013. *Kosttilskudd - en tilstandsbeskrivelse.* Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/spesialmat\\_og\\_kosttilskudd/kosttilskudd/tilstandsbeskrivelse\\_kosttilskudd\\_2013.10266/binary/Tilstandsbeskrivelse%20kosttilskudd%20\(2013\)](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/spesialmat_og_kosttilskudd/kosttilskudd/tilstandsbeskrivelse_kosttilskudd_2013.10266/binary/Tilstandsbeskrivelse%20kosttilskudd%20(2013)) (Hentet: 06.11.2019).

**Mattilsynet.** 2014. *Særnærprodukter som blir vanlige næringsmidler etter 20. juli 2016.* Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/spesialmat\\_og\\_kosttilskudd/saernaerprodukter\\_s\\_om\\_bli\\_vanlige\\_naeringsmidler\\_etter\\_20\\_juli\\_2016.17032](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/spesialmat_og_kosttilskudd/saernaerprodukter_s_om_bli_vanlige_naeringsmidler_etter_20_juli_2016.17032) (Hentet: 10.12.2019).

**Mattilsynet.** 2015. *Er det krav til mengdeangivelse av ingredienser?* Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/merking\\_av\\_mat/generelle\\_krav\\_til\\_merking\\_av\\_mat/er\\_det\\_krav\\_til\\_mengdeangivelse\\_av\\_ingredientser.9082](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/merking_av_mat/generelle_krav_til_merking_av_mat/er_det_krav_til_mengdeangivelse_av_ingredientser.9082) (Hentet 30.10.2019).

**Mattilsynet.** 2017a. *Ekspert av kosttilskudd.* Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/spesialmat\\_og\\_kosttilskudd/kosttilskudd/eksport\\_av\\_kosttilskudd.26222](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/spesialmat_og_kosttilskudd/kosttilskudd/eksport_av_kosttilskudd.26222) (hentet: 28.10.2019).

**Mattilsynet.** 2017b. *Bearbeiding og omsetning av hydrolysert protein av fisk til fôr.* Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/fisk\\_og\\_akvakultur/animaliebioprodukter/bearbeiding\\_og\\_omsetning\\_av\\_hydrolysert\\_protein\\_av\\_fisk\\_til\\_for.28391](https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/animaliebioprodukter/bearbeiding_og_omsetning_av_hydrolysert_protein_av_fisk_til_for.28391) (Hentet 29.10.2019).

**Næringsmiddelhygieneforskriften.** 2008. *Forskrift om næringsmiddelhygiene.* (FOR-2008-12-22-1623). Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1623> (Hentet: 28.10.2019).