



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **320964**

(13) **B2**

NORGE

(51) Int Cl.

A23J 3/30 (2006.01)

A23J 3/32 (2006.01)

A23J 3/34 (2006.01)

A23J 1/04 (2006.01)

A23L 1/325 (2006.01)

A23K 1/00 (2006.01)

Patentstyret

Avvik fra Patent B1 etter innsigelse B2

(21)	Søknadsnr	20042188	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr
(22)	Inng.dag	2004.05.26	(85)	Videreføringsdag
(24)	Løpedag	2004.05.26	(30)	Prioritet
(41)	Alm.tilgj	2005.11.28		
(45)	Meddelt	2006.02.20		
(73)	Innehaver	Norcape Biotechnology AS, c/o Due Miljø AS, Postboks 138 Lilleaker, 0280 OSLO		
(72)	Oppfinner	Eddy G Torp, Bekkefaret 6a, 0280 OSLO Osvold Torrissen, Postboks 91, 8012 BODØ Michael Charles Doolan, Brigstock House, Hall Hill, NN143EZ BRIGSTOCK, NORHAMPTONSHIRE, GB		
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO		

(54)	Benevnelse	Hydrolysert marint proteinprodukt og et fôrprodukt omfattende dette, fremgangsmåte for fremstilling og anvendelse		
(56)	Anførte publikasjoner	EP-B1-566645, EP-B1-785726, NO-A-20021877, NO-B1-315304, NO-B1-317285, NO B1 317003 Alfonso, M.D., et al; Nanofiltration of wastewaters from the fish meal industry; Desalination, 151 (2002), s. 131-138 Almás, Application of crossflow membrane technology in the fishing industry, Desalination, 53 (1985), s. 167-180		
(57)	Sammendrag			

Foreliggende oppfinnelse angår et hydrolysert marint proteinprodukt og en fremgangsmåte for fremstilling av produktet. Videre angår oppfinnelsen et fôrprodukt for dyr, inkludert menneske, og et kulturmedium omfattende det hydrolyserte marine proteinproduktet.

OPPFINNELSENS OMRÅDE

Foreliggende oppfinnelse angår et hydrolysert marint proteinprodukt og en fremgangsmåte for fremstilling av produktet. Videre angår oppfinnelsen et fôrprodukt for dyr, inkludert menneske, og anvendelse av det hydrolyserte marine proteinproduktet som tilsetning til dyrkningsmedier.

Proteinproduktet kan hydrolyseres ved enzymatisk aktivitet, bakteriell aktivitet, syrer, koking eller en hvilken som helst kombinasjon av disse. Proteinproduktet kan også inkludere peptidfraksjon limvann inneholdende bioaktive peptider. Fôrproduktet kan være et hvilket som helst ernæringsprodukt som kan konsumeres av et hvilket som helst dyr inkludert menneske.

OPPRINNELSENS BAKGRUNN

Biprodukter fra fiskeindustri, husdyrhold og akvakultur er kilder for protein, karbohydrat, olje og fett. Mengden biprodukter fra fiskeriindustrien, meieriindustrien og matvareindustrien er enormt, og økende etter hvert som for eksempel akvakulturen utvikles videre. Dette medfører utfordringer både med hensyn på logistikk og miljø. Å anvende store mengder tradisjonelle biprodukter fra fiskeindustrien til husdyrhold er i praksis vanskelig da store mengder av mel og ensilasje produseres fra produkter som når disse er flere dager gamle vil gi produktet en ubehagelig lukt og som også kan påvirke dyrenes helse. Fremstilling av LT (lavtemperaturmel) eller høykvalitetsmel fra fersk fisk, uten disse problemer, har vist seg å forbedre fôrkvaliteten og vekstutvikling. Det er allerede stilt krav med hensyn på verdien til hydrolysatene som helsefremmende produkter. (Journal of Food Science - Functional properties of Herring protein hydrolysate. In the dairy field Maubois et al US patent 4427558 - Hydrolysis of whey proteins - describe the use of foods as medicines: Animal Feed Sci. Technology July 1996 - Oullet D.R. Hydrolysed proteins in ruminant nutrition has been considered, as a means of improving milk production and limiting the loss of nitrogen through excretion).

Anvendelse av myse som dyrefôr er vel etablert basert på de funksjonelle egenskapene til proteiner og energien som tilføres dyrefôret ved laktosen. Standard fiskemel tilsettes ofte i en konsentrasjon på ca. 5% for å øke ytelsen. Fôring av unge griser med dette er spesielt fordelaktig. Myse anvendes også som kalvetilskudd, kalvemelkerstatning og som tilskudd til melkekyr. I tillegg er svine- og okseplasma proteiner blitt anvendt som

fôr for å forbedre helsen, veksten og den generelle tilstand til dyret. Anvendelse av plasmaproteiner er nå slutt i EU etter at det er kjent at det å fôre pattedyr med deres egne proteiner kan medføre store helserisikoer. Problemene med BSE (Bovin spongiform encefalopati) antas å være årsaken til dette. Anvendelse av
5 pattedyrproteiner (bortsett fra proteiner fra melk) i dyrefôr (med unntak av rovdyr) er nå forbudt i EU. Unntatt er fiskeprotein som kommer fra en helt forskjellig dyreart som kan anvendes som fôr til dyr inkludert fugler, pattedyr og mennesker.

Ettersom behovet for myseproteiner har økt på verdensbasis, tilsettes
10 erstatningsproteiner, hovedsakelig soyamel, som myseerstatning. Disse proteinene er hovedsakelig i sin native rå tilstand eller som soyamel og det er problemer forbundet med fordøyelse og absorpsjon av disse proteinene. Trypsin, et naturlig proteolytisk enzym i tarmen, inhiberes av visse aminosyreseter til stede i soyaproteiner. Dette påvirker fordøyeligheten hos for eksempel unge griser som har lavt nivå av trypsin.

15 Fiskeproteiner og fiskemel er også historisk blitt anvendt som en god kilde for proteiner og mineraler i meieriindustrien og grise- og fjærkreindustrien. De er naturlige gode kilder for de essensielle aminosyrene lysin og metionin. Sporelementer av jod og selen er fordelaktig. Dette anses å fortsette og behovet vil øke dersom de tekniske
20 utfordringene med hensyn til renhet, saltinnhold og uønskede nitrogenforbindelser løses.

Blanding av hydrolyserte marine proteiner med naturlige søtningstoffer som laktose og den forbedrede kvaliteten, baseres på fjerning av uønskede biogene aminer ved
25 membranteknologi slik det beskrives her i dokumentet.

Tilgjengeligheten på et rensset marint proteinhydrolysat og limvannspeptidfraksjon inneholdende bioaktive peptider, gjør det nå mulig å erstatte de verdifulle myseproteinene i ultrafiltreringspermeatet fra meieriindustrien. Fôring av griser med
30 disse fordelaktige marine proteiner er i tester sammenliknet med pattedyrplasmaproteiner og viser en økt ytelse (europeisk patentsøknad EP 09512 837 A1). De er spesielt rike på de essensielle aminosyrene lysin og metionin. Lysin er spesielt viktig i grisediett. Andre undersøkelser har vist at næringsverdien i fiskehydrolysat når man benytter kontrollert hydrolyse av surgjort ensilasje kan øke
35 veksten, men hydrolysegraden påvirker også bitterheten (Enzymatic Hydrolysis of by products from fish processing – Journal of Science Food & Agriculture 80-:581-589 (2000)).

Høye nivåer av histamin kan forårsake skombroid forgiftning. Symptomene på dette inkluderer etter en kort inkuberingsperiode utslett, ansiktsrødme, oppkast, diaré, kortpustethet (vanskelig eller overfladisk pust), hodepine og metallisk/pepperaktig smak i munnen. Høye nivåer av toksiske aminer absorberes i tarmen, og detoksifiseres normalt av leveren og elimineres deretter via nyrene, men vedvarende eksponering frembringer til slutt forstyrrelser på cellenivå i organene, hvilket fører til lever- og nyresvikt. Ifølge FDA anses i Amerika fisk med høyere verdier enn 50 ppm histamin som ødelagt, selv om forgiftning vanligvis oppstår ved høyere enn 200 ppm. Avendelse av fiskeavfall og bedervet fisk, kombinert med dårlig håndtering fører vanligvis til høye nivåer av histamin i mel og andre produkter.

I meieriindustrien og i mindre grad fiskeindustrien, har anvendelse av membranteknologi muliggjort prosesser som separerer proteinene fra de tradisjonelle biproduktene. Myse er biprodukt fra ost- og kaseinfremstilling. Det er blitt anvendt i årtier som et fôrprodukt for dyr, spesielt melkekyr og griser. Det inneholder alle de løselige melkeproteinene som albumin og immunglobuliner, og antimikrobielle midler slik som laktoferrin og laktoperoksidase. Dette er naturens midler for beskyttelse av unge dyr. Utvikling av membranfiltrering har gjort det mulig for meierifirmaer å undersøke verdien av disse proteinene med høy næringsverdi for spedbarnsmat, bakervarer, helseprodukter og meieriprodukter med forbedret kvalitet. I sin tur har dette medført et overskudd av ultrafiltrerings-(UF) permeater som ofte er vanskelig å bli kvitt.

Proteinene utgjør bare 10-12% av tørrstoffet i myse. De resterende 90% utgjøres av laktose og mineraler, spesielt fysiologisk viktige makromineraler slik som magnesium, kalsium, fosfor og kalium, pluss ikke-proteinnitrogen. Mineralene til stede i UF-permeat utnyttes mer effektivt av grisen enn mineraler i vegetabilsk fôr. (Principles of Swine Nutrition – Texas A&M University).

30

Laktose utgjør 75% av det resterende tørrstoffet i myse og er hovedenergikilden for nyfødte pattedyr. Forsøk er utført for å kombinere rensed laktose produsert kommersielt med syntetiske aminosyrer for å erstatte myse i barnedietter, (USA Animal and Dairy Science – Dove 1998) og er vist å ha en ytelse som tilsvarer myse. Det er vist ved undersøkelser at laktose og aminosyrer kan erstatte myse i dietter hos tidlig avendte griser, og kan erstatte alt unntatt 5% av mysen i dietten. Ved å redusere mysen i dietten

kan griseproducenter redusere diettkostnadene hos tidlig avvendte griser. I disse testene var også et fiskemelnivå på 5% til stede i alle studiene.

Noen studier har vist (J. Food Sci Vol 64 No. 6 1999. Functional Properties of Fish
5 Hydrolysate from Herring [Clupea harengus] at når hydrolyse utføres ved anvendelse av
tilsvarende enzymatiske fremgangsmåter fremstilles et hydrolysat med god
emulgeringsstabilitet og tilfredsstillende skumekspensjonsevne. Sammenliknet med
standard melproduksjon var hydrolysatproteininnholdet økt i den vandige fraksjon,
mens fettinnholdet var betydelig redusert, hvilket muliggjør bedre fettseparering. Noen
10 nye fremgangsmåter for fremstilling av tørrfôr er også utviklet - Dry Feed for fish US
patent 6168 815 Alfa Laval and US Patent 6036983 NovoNordisk AS.

Utfordringen er å fremstille et høykvalitetsproteinderivat fra disse biproduktene som har
lave mineralnivåer, spesielt natrium og klorid, og lave nivåer av uønskede
15 aminforbindelser og andre restprodukter fra den enzymatiske og mikrobielle
degradering av aminosyrer.

Anvendelse av UF på hydrolyserte fiskeproteiner er blitt forsøkt kommersielt ved flere
anledninger, men har alltid vært mislykket på grunn av den lave effektiviteten i
20 fremgangsmåtene, kostnadene, membransystemene og de tilgjengelige
membranmaterialer.

En annen utfordring eksisterer på grunn av bitterheten som forårsakes av
peptonproduksjon. Tidligere kjent teknikk beskriver smaks kontroll som etableres ved
25 søining av peptoner og proteinfraksjoner ved inkubering med en melkesyrebakterie. US
patent 6214585 beskriver at laktobasillus kan utnytte laktose som et substrat slik at
tilsetning av melkeprotein fra UF-permeat som inneholder laktose i stor grad vil
forbedre denne prosessen. Fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse reduserer
problemene forbundet med dårlig smak ved å redusere innholdet av biogene aminer.
30 Tilsetning av laktose vil bli opprettholdt og reduserer behov for tilsetning av
laktobasillus.

Kjent teknikk eksisterer for anvendelse av keramisk mikrofiltrering på limvann. Dette er
i kommersiell anvendelse i Norge, og produserer et permeat som selges som
35 tilsetningsstoff i maten, til fiskesupper, som smaksstoffer og som en ingrediens.
Membranene som anvendes er 0,2 mikron titanoksidmembraner fremstilt av Membralox
(Frankrike). Den europeiske patentsøknad EP 0951 837 A1 vurderer produksjon av

bioaktive peptider for å øke veksten hos dyr, hvilket omfatter fremstilling og anvendelse i sammensetninger for å øke vekst av varmblodige dyr og fisk. Sammenligningen presenterer oppfinnelsen som fremstilling av en bioaktiv peptidsammensetning som anvender enzymatisk hydrolyse ved å benytte enzymer avledet fra magen til atlantisk torsk. Dette er sammenliknet med plasmaproteiner (blod egg myse) og gis som et alternativt protein for vekstøkning hos varmblodige dyr. Som ved standard hydrolyser anvender oppfinnelsen enzymer i en kontrollert tidsperiode og ved kontrollert temperatur for å frembringe et standard produkt. Sammenliknbare studier viser fordelene ved å anvende disse peptidene som en erstatning for plasmaproteiner.

10

Norsk patentsøknad nr. 20021877 beskriver fremstilling av et proteinhydrolysat ved anvendelse av en velling med et proteolytisk preparat utledet fra en gadida-art.

Norsk patent nr. 315304 beskriver en fremgangsmåte for å fremstille et myseproteinhydrolysat ved bruk av spesifikt definerte proteaser fra bestemte mikroorganismer. Fremgangsmåten omfatter anvendelse av ultrafiltrering og nanofiltrering, men skiller seg allikevel fra foreliggende oppfinnelse.

15

Norsk patent 317285 beskriver en fremgangsmåte for fremstilling av en peptidsammensetning egnet for peritoneal dialyse.

20

Den europeiske patentsøknad EP-B1-566645 beskriver en fremgangsmåte for å fremstille et vegetabilsk proteinhydrolysat ved ultrafiltrering og nanofiltrering. Proteinhydrolysatet og fremgangsmåten skiller seg fra proteinhydrolysatet og fremgangsmåten i foreliggende oppfinnelse.

25

EP-B1-785726 beskriver en fremgangsmåte for å fremstille et melkeproteinhydrolysat ved hjelp av spesielle proteaser oppnådd fra tilberedninger av mikroorganismer.

Foreliggende oppfinnelse frembringer et nytt marint proteinhydrolysat som viser reduserte nivåer av monovalente og divalente ioner så vel som reduserte nivåer av skadelige biogene aminer.

30

BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

35

De nåværende hydrolyserte proteinprodukter anvendt for eksempel som en ingrediens i fôr inneholder et høyt nivå av monovalente ioner og biogene aminer som, slik det

beskrives andre steder, er toksiske og gir en vond smak til produktet, noe som er problematisk.

5 Dette problem løses ved foreliggende oppfinnelse. Et nytt hydrolysert proteinprodukt frembringes som omfatter et betydelig redusert nivå av ikke-proteinnitrogen, aminer og monovalente ioner, og reduserer den toksiske effekten av biogene aminer og den høye saltkonsentrasjonen.

10 Videre er det en utfordring ved fremstilling av det hydrolyserte proteinproduktet å bli kvitt det store vannvolumet. Normalt fjernes vannet ved fordampning hvilket er en svært energikrevende prosess.

15 Foreliggende oppfinnelse løser dette problem ved å kombinere ultrafiltrering og nanofiltrering for dermed å fjerne mer enn 70 % av vannet. Det energikrevende fordampningstrinnet er således omtrent helt fjernet.

20 En slik betydelig reduksjon i mengde småmolekylære molekyler og vann var uventet da de fysikalske egenskaper til limvann og ensilasje gjør dem svært vanskelig å bearbeide ved de fleste industrielle membraner.

25 Den kombinerte anvendelse av en keramisk ultrafiltrering (UF) ved høy temperatur og den kontrollerte konsentrering ved nanofiltrering ved (NF) ga en høy sluttproduktkonsentrasjon og med fjerning av uønskede forbindelser en betydelig økning i kvalitet som konverterer et problemmateriale til et ønsket produkt.

30 Et aspekt ved foreliggende oppfinnelse er å frembringe et hydrolysert proteinprodukt eller et rensset limvann med et minimalt nivå av biogene aminer og monovalente ioner ved NF.

35 En annen hensikt ifølge foreliggende oppfinnelse er å frembringe en kostnadseffektiv fremgangsmåte for fremstilling av dette produktet.

Produksjon av hydrolysert marint proteinprodukt omfattende lavt saltinnhold, lavt innhold av biogene aminer og NPN (ikke-proteinnitrogen) er ønskelig. Dette produktet 35 anvendes som en ingrediens i fôr for dyr, mennesker og mikroorganismer, og forbedrer kvaliteten til fiskemel. Videre utnyttes det når det blandes med ultrafiltreringspermeat (75% laktose) fra melkeprodukter som en forbedret dyreførsingrediens, til å erstatte

myse, melk, annen proteinerstatning slik som soya, hvete og deres derivater, i ulike fôrformuleringer.

Foreliggende oppfinnelse angår hydrolysert marint proteinprodukt, kjennetegnet ved at det omfatter et redusert nivå av monovalente ioner og biogene amingrupper (NPN) og andre restprodukter fra enzymatisk, koking, syre og mikrobiell degradering eller kombinasjon av disse, der nivået av monovalente ioner og biogene aminer er minst redusert til 40% av det opprinnelige.

Saltinnholdet kommer fra saltinnholdet i organismene som anvendes og fra sjøvann som anvendes ved pumping av fisken. De uønskede små nitrogenforbindelsene (NPN og biogene aminer) oppstår ved hydrolyttisk påvirkning av proteinkildene.

Foreliggende oppfinnelse angår videre en fremgangsmåte omfattende de følgende trinn:

15

- a) homogenisering av biprodukt fra fisk og/eller andre marine kilder
- b) kontrollert hydrolyse av nevnte proteiner ved anvendelse av naturlig forekommende enzymer og/eller bakterier, spesielt de som er til stede i mage-tarmkanalen hos fisk, og/eller utnyttelse av limvann fra prosessering av marint råmateriale
- c) hydrolysatet fra trinn b) utsettes for ultrafiltrering og frembringer et UF-permeat inneholdende hydrolyserte proteiner og et UF-retentat inneholdende olje, fett emulsjoner, fibre og andre store molekyler
- d) UF-permeatet fra trin c) utsettes videre for nanofiltrering og frembringer et NF-permeat inneholdende vann, monovalente ioner og biogene aminer, og et NF-retentat inneholdende hydrolyserte proteiner
- e) UF-retentatet fra trinn c) og NF-retentatet fra trinn d) konsentreres hver for seg eller i kombinasjon ved spraytørking, vakuomtørking eller en hvilken som helst annen tørkemethode
- f) NF-permeatet inneholdende vann, monovalente ioner og biogene aminer blir ikke benyttet

Det resulterende rensede konsentrerte blandingen av rensed fiskeproteinhydrolysat inneholdende bioaktive peptider kan deretter kombineres med oljer og proteiner som er fjernet fra limvann eller alternativt blandes med ultrafiltreringspermater fra myse eller melk og melkeprodukter inneholdende ubetydelige mengder av melkeprotein. Dette sistnevnte produkt kan anvendes som dyrefôr. Et rensed fiskeproteinhydrolysat kan også

fremstilles ved enzymatisk degradering av en surgjort blanding av biprodukter fra fiskeforedling og prosessert ved den samme fremgangsmåten.

I en utførelsesform kombineres de to produktene for å danne et fôrprodukt med både
5 nødvendige protein og karbohydratkilder. Tilstedeværelse av laktose i ultrafiltreringspermeatet fra myse er spesielt fordelaktig som energikilde for unge avvente griser. Tilsetning av UF-behandlet fiskeproteinhydrolysat eller UF-permeatet fra limvann, tilfører alle de essensielle (spesielt lysin) og ikke-essensielle aminosyrer. Alle de essensielle aminosyrer, sporelementer og mineraler er til stede. Hver har en spesiell
10 rolle i å begünstige vekst og ernæring, hvilket kombineres i dette produktet. Ved normal produksjon av disse produktene uten et nanofiltrerings (NF)-trinn, kan tilstedeværelsen av høye nivåer av natriumklorid pluss bakteriell degradering av proteiner som danner histamin, og derivatene putrecin og cadaverin, ved lave nivåer begrense toleransen og tilsetning til fôr for unge griser og andre dyr.

15 Det hydrolyserte fiskeprotein ifølge oppfinnelsen kan anvendes i bred utstrekning som en komponent i flere produkter. Fortrinnsvis er det hydrolyserte fiskeprotein tilsiktet som et fôrprodukt spesielt for svin og kyr (melkekyr) men kan gis til alle typer dyr, der fiskediett er tradisjonelt (mink og rev for pelsproduksjon) og er på tilsvarende måte
20 fordelaktig for dyr slik som katter og hunder så vel som mennesker.

Oppfinnelsen eliminerer hovedsakelig problemet med høye nivåer av salter og biogene aminer og andre restprodukter fra enzymatisk og mikrobiell degradering av aminosyrer ved fremstilling av et produkt med høyere kvalitet basert på nye
25 filtreringsfremgangsmåter. For fullmelet dannet ved kombinerings av UF- og NF-systemer etter fjerning av vann og oppløste stoffer, betyr det produksjon av et fiskemelprodukt som kan matche LT-kvaliteten. Anvendelse av denne fremgangsmåte for å fremstille et NF-konsentrat som deretter kombineres med melkesukkeret som finnes i melkeproteinpermeat kan hjelpe til med å forbedre smak og maskere enhver
30 bitterhet forbundet med peptoner fremstilt av hydrolyserte proteiner.

Proteinhydrolysatet inneholder høye nivåer av natriumklorid. Bakteriell degradering av protein danner histaminer og dens derivater putrecin og cadaverin som er toksiske. Oppfinnelsen angår også fjerning av disse uønskede forbindelsene ved anvendelse av
35 nanofiltrerings (NF)-membraner enten på fiskeproteinhydrolysatet eller limvannpermeater som kan ha vært behandlet ved ultrafiltrering. Ved å gjøre dette konsentreres UF-permeatet ved NF til et nivå på 4 til 5 ganger og opp til 80 % av vannet

fjernes, hvilket inneholder en tilsvarende andel av uønskede oppløste stoffer. Dette resulterer også i en betydelig energisparing på opptil 50 % av kostnadene ved standard fordampning.

- 5 En annen betydelig fordel ved det hydrolyserte marine proteinproduktet ifølge oppfinnelsen og følgelig også førproduktet, er at mengden monovalente ioner er redusert sammenliknet med vanlig dyrefôr. Det er kjent at høyt innhold av monovalente ioner (salt) fører til økt vanninntak og mangel på nok med vann medfører alvorlig toksisitet hos dyrene, spesielt unge dyr. De toksiske symptomene er mangel på næring, manglende balanse, uberegnelig adferd og endelig død (lesjoner finnes typisk i hjernen). Reduksjonen av monovalente ioner og reduksjon av mineralinnholdet ved anvendelse av nanofiltreringen ifølge oppfinnelsen forbedrer mineralprofilen. Nanofiltrering frembringer derfor en beskyttelse for unge dyr mot slike forstyrrelser og bibeholder de viktige divalente forbindelsene. Anvendelse av nanofiltrering på rensset hydrolysert protein gir i tillegg en betydelig reduksjon i mengden aminer slik som cadaverin, putrecin, histamin og andre uønskede aminer som kan være til stede som et resultat av mikrobiologisk degradering, ofte forårsaket av de mikroorganismer som normalt er til stede i biproduktene på grunn av dårlig håndtering, alder etc. De vanlige forårsakende bakterier er Clostridium, Salmonella Proteus og Escherichia Coli og kontaminering oppstår før surgjøringen av ensilasjen. Symptomer hos pelsdyr på for mye histamin i dietten er diaré, redusert matinntak, redusert kroppsvektøkning i forhold til matinntak som står i direkte sammenheng med det observerte histidinnivå, oppkast og dilatert magesekk. (Nutrient requirements of Mink and Foxes 1982 National Academy Press).
- 15
- 20
- 25 Disse problemene er løst ved foreliggende oppfinnelse. Ifølge oppfinnelsen frembringes forbedrede fremstillingsmetoder. Oppfinnelsen anvender teknikker utviklet ved fremskritt innen meieriindustrien der de store volumene (gjennomsnittlig 1 million liter per dag i en fabrikk) har ført til kostnadsreduksjon, effektive utforminger, bedre og mer fleksibel membran teknologi og konstruksjon. Membranene som anvendes er tilsvarende de som anvendes ved olje og vannseparering. Videre anvendes spesifikke membranmaterialer som er blitt anvendt i miljøer med høye saltinnhold, som gir bedre motstand mot forurensning av fett og oljer, som er betydelig mer hydrofobe og gir bedre mekanisk beskyttelse mot lav pH og de høye temperaturene i limvannet når de anvendes ved disse fremgangsmåtene. Bedre membranutvelgelse og utstyrsutforming for å optimalisere strømming (flow) og trykkbetingelser legger til rette for storskala, mer effektiv prosessering av marine proteinhydrolysater eller limvannsfraksjoner inneholdende bioaktive peptider.
- 30
- 35

Tradisjonelt avgjøres biproduktene fra fiskebearbeiding til ensilasje med det gjenværende av fiskekjøttet etter filetering, innvoller og skjelett som lages til et lavkvalitets fiskemel fra ensilasje. Hel fisk slik som lodde og sild anvendes også.

- 5 Standard fremgangsmåte for ensilasje er å samle biproduktene og surgjøre enten med mineralsyrer eller organiske syrer til en pH lavere enn 4,0. Dette hindrer bakterievekst og hydrolyserer proteinene delvis.

- Tilsetning av proteolytiske enzymer som kan fungere ved lav pH øker videre hydrolysen, og frembringer en blanding av peptider, olje, velling, ben og fiskeskjell. Dette homogeniseres noen ganger for å lage en jevn blanding. Sentrifugeseparatorer anvendes for å separere olje og vann. Fiskemelet fremstilles fra en blanding av hel fisk og/eller ensilasje som kokes og steriliseres. De resulterende vandige flytende biprodukter kan fordampes og konsentratet tilsettes tilbake til ensilasjen. Disse produktene inneholder ofte høye nivåer av histamin og dens derivater som danner en vond lukt.
- 10
15

- Ved å blande det marine proteinhydrolysat med UF-permeat fra melk inneholdende høye nivåer av karbohydrater under kontrollerte betingelser og en kontrollert grad av hydrolyse, ved anvendelse av friske produkter, direkte på stedet for prosessering og også om bord på skipet, og deretter anvende membranteknologi i en sentral bearbeidingsprosess, vil fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen muliggjøre produksjon av et forbedret fôr. Et slikt fôr vil øke ytelsen ved fôring (vekst, energi, tilvekst, helse). Den nye fremgangsmåten vil sikre at nivået av histamin og andre biogene aminer er under terskelen for det som er ubrukelig. Den totale kvaliteten på helmelet og melet fremstilt fra ensilasje vil også være betydelig øket.
- 20
25

- Ifølge oppfinnelsen frembringes et dyrefôr ved å kombinere et rensset marint proteinhydrolysat avledet fra enten limvann eller ensilasje, blandet med UF-permeat fra melkeprotein. En ytterligere fordel ved det nye dyrefôret er at det ikke i seg selv inneholder noen genmodifiserte organismer. (GMO). Dyrefôr basert på GMO har i løpet av de siste årene blitt bredt anvendt fordi det er problemer med å skaffe ikke genmodifiserte soyaprotein og andre vegetabiliske materialer.
- 30

- 35 Det hydrolyserte protein frembrakt ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan også være egnet for anvendelse innen farmasøytisk industri som et vekstmedium.

Oppfinnelsen angår således anvendelse av produktet ifølge krav 1 som en tilsetning til dyrkingsmedier.

Ytterligere trekk og fordeler ved oppfinnelsen vil bli tydelige ved den følgende
5 detaljerte beskrivelsen av oppfinnelsen.

DETALJERT BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

Hensikten med oppfinnelsen er å frembringe

- 10 - nye forebrede kosteffektive sunne produkter med gunstige effekter for mennesker, dyr og kulturer
- forbedre smak av hydrolysatet ved å kontrollere den enzymatiske reaksjon
- produsere en forbedret sammensetning (mer fordøyelig protein med en høyere næringsverdi, bedre kvalitet, mindre monovalente ioner, mindre
15 biogene aminforbindelser)
- tilføre verdier til fiskemel produsert fra hel fisk og/eller ensilasje ved å forbedre den totale kvalitet når komponentene gjenforenes uten vann og uønskede oppløste stoffer
- redusere energikostnadene ved å konsentrere peptidet mens vann fjernes og
20 de uønskede oppløste stoffene forblir i NF-permeatet
- en ny ultrafiltreringsprosess som anvender høymembrantetthetskeramiske ultrafiltreringsmembraner med en forbedret mekanisk styrke, med lavere enhetskostnad og produksjonskostnad enn tidligere oppnådd med hulfiber eller tubulære eller andre keramiske fibere og en betydelig fordel i
25 driftstemperatur over 50 °C og opp til 90 °C med et pH-område mellom 1 og 14
- en ny nanofiltrering som selektivt fjerner monovalente ioner for å forbedre mineralbalansen og fjerner uønsket NPN inkludert biogene aminforbindelser
- en kombinasjon av disse ultrafiltrerings- og nanofiltreringsprosesser som
30 frembringer en mer smakfull og et renere fiskeproteinhydrolysat, og når dette anvendes på limvann frembringes et kombinert melprodukt med høyere kvalitet med hensyn på smak og renhet. En blanding av høykvalitets fiskeprotein og melkeprotein UF-permeat for å frembringe økt næringsverdi sammen med en høy energikilde.

35

En skjematisk presentasjon av den vanlige industriprosessen og den nye industriprosessen ifølge oppfinnelsen vises i figur 1.

Ifølge oppfinnelsen er nivået av monovalente ioner, biogene aminer og andre restprodukter redusert ved å kombinere trinnene UF og NF, og nivået er minst redusert til 40 % av det opprinnelige. Ytterligere flyktige organiske løselige forbindelser er fjernet og medfører mindre lukt og et produkt med bedre smak.

Ifølge oppfinnelsen kan de hydrolyserte marine proteiner oppnås fra en hvilken som helst fiskekilde og inkluderer fiskeensilasje, fiskebiprodukter og limvann fra fiskemelindustri eller fra en hvilken som helst vannlevende art inkludert krabbe, skalldyr, ensilasje, biprodukter og limvann og kokt vann fra prosesseringen eller en hvilken som helst kombinasjon av disse.

Oppfinnelsen angår videre en fremgangsmåte for å fremstille et hydrolysert marint proteinprodukt, omfattende de følgende trinn:

15

- a) homogenisering av biprodukt fra fisk og/eller andre marine kilder
- b) kontrollert hydrolyse av nevnte proteiner ved anvendelse av naturlig forekommende enzymer og/eller bakterier, spesielt de som er tilstede i mage-tarmkanalen hos fisk, og/eller utnyttelse av limvann fra prosessering av marint råmateriale
- c) hydrolysatet fra trinn b) utsettes for ultrafiltrering og frembringer et UF-permeat inneholdende hydrolyserte proteiner og et UF-retentat inneholdende olje, fett emulsjoner, fibre og andre store molekyler
- d) UF-permeatet fra trin c) utsettes videre for nanofiltrering og frembringer et NF-permeat inneholdende vann, monovalente ioner og biogene aminer, og et NF-retentat inneholdende hydrolyserte proteiner
- e) UF-retentatet fra trinn c) og NF-retentatet fra trinn d) konsentreres hver for seg eller i kombinasjon ved spraytørring, vakuamtørring eller en hvilken som helst annen tørkemetode
- f) NF-permeatet inneholdende vann, monovalente ioner og biogene aminer blir ikke benyttet

35

Ultrafiltreringen kan fortrinnsvis utføres ved høytetthets keramiske membraner. Nanofiltrering kan fortrinnsvis utføres ved høyselektive membraner.

I et aspekt ifølge oppfinnelsen kan ultrafiltrerings- og nanofiltreringstrinnene foregå på limvann og kokt vann ved temperaturer høyere enn 60°C.

Et ytterligere aspekt av oppfinnelsen er et fôrprodukt omfattende det hydrolyserte marine proteinprodukt og en hvilken som helst karbohydratkilde, vitaminer, olje, fett og sporelementer.

5

Fôret anvendes fortrinnsvis der en balansert diett er nødvendig for mennesker og dyr, spesielt unge griser, melkekyr, mink, rev, husdyr og andre arter. Dette oppnås ifølge foreliggende oppfinnelse ved at det frembringes et fôr med høy kvalitet inneholdende gunstige fiskeprotein og reduserte nivåer av monovalente ioner og biogene aminer, og 10 karbohydrater avledet fra en hvilken som helst kilde fortrinnsvis biprodukter fra bearbeiding av melk.

Et ytterligere aspekt ifølge oppfinnelsen er næring for mikroorganismer, der det hydrolyserte marinproteinproduktet anvendes som en tilsetning tilkulturmedier.

15

Et ytterligere aspekt ifølge oppfinnelsen er at fjerning av vann ved UF og NF kan utnytte overskudd av energi ute på skipene, for dermed å redusere kostnader og øke skipets driftstid og radius.

20 **FIGURER**

Figur 1 er et flytdiagram som viser hvordan produksjon av hydrolysert marint proteinprodukt ifølge oppfinnelsen skiller seg fra den vanlige industriprosessen.

25 Figur 2 er en kurve som viser det transmembrane trykket ved en strømningshastighet på 750 liter per minutt.

Figur 3 er en kurve som viser det transmembrane trykket ved en strømningshastighet på 850 liter per minutt.

30

Figur 4 er en kurve som viser det transmembrane trykket ved en strømningshastighet på 950 liter per minutt.

35 Figur 5 er en kurve som viser det transmembrane trykket ved en strømningshastighet på 1050 liter per minutt.

Figur 6 er en kurve som viser UF-gjennomtrengningen over tid for ulike driftstrykk og mengde faststoff.

Figur 7 er en kurve som viser fluksvariasjonen versus retentatkonsentrasjon i limvann
5 ved 80 °C.

Figur 8 er en kurve som viser fluksreduksjon i forhold til retentatvolumkonsentrasjonsforholdet (VCR).

10 Figur 9 er en kurve som viser konsentreringen ved anvendelse av NF-membraner på peptoner fremstilt ved enzymatisk hydrolyse av fiskeensilasjon og ultrafiltrering (permeat).

Figur 10 er et flytdiagram som viser fjerning av salter og biogene aminer ved den
15 kombinerte UF og NF-metoden.

UTFØRELSESEKSEMPLER

De følgende eksempler beskriver oppfinnelsen ytterligere og har ikke til hensikt å
20 begrense oppfinnelsen.

Materialer og fremgangsmåter

Ultrafiltrering (UF) og nanofiltrering (NF)

25 Utgangsmaterialer for det hydrolyserte marine proteinproduktet ifølge oppfinnelsen kan være en hvilken som helst marin proteinkilde slik som fisk, biprodukter fra fisk, fiskeensilasje og limvann fra fiskemelfremstilling. For å illustrere fremgangsmåten anvendes limvann og ensilasje.

30 Limvann ved 80 °C inneholder olje, proteiner, salter, aminer og vann. Det første trinnet er å fjerne olje ved en hvilken som helst separeringsteknikk kjent innen området. Etter separering av oljen anvendes UF for å separere proteinene og den oljen som er igjen etter separasjonen fra de hydrolyserte proteiner, aminer og salter. Retentatet, dvs. de konsentrerte proteiner og oljer inneholder gelatinaktige proteiner som deretter kan føres
35 tilbake til melet for å øke binding.

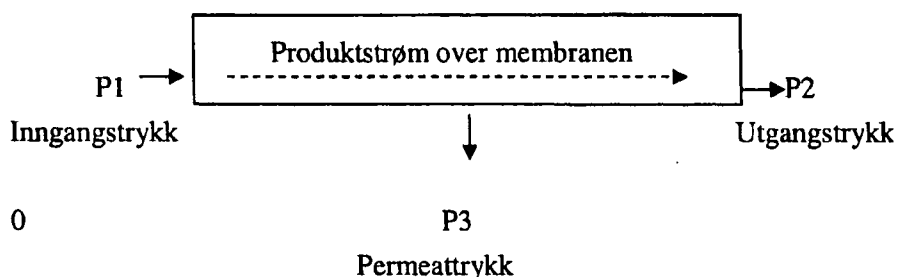
- Permeatet, dvs. væsken som går igjennom UF-membranen og som mates gjennom NF, inneholder salter, aminer og vann. Noen av aminene i permeatet er ønskede, dvs. peptider og peptoner. Andre, slik som biogene aminer er ikke ønskede. Innholdet av biogene aminer reduseres via NF-membranfiltrering. Disse småmolekylære forbindelsene passerer gjennom membranen. De større ønskede aminer bibeholdes i NF-retentatet. Saltfjerning er også gunstig for å forbedre produktkvaliteten. NF muliggjør passasje av vann, svært små aminer og salter. Anvendelse av NF konsentrerer også disse peptoner fordi det meste av vannet fjernes ved at salter etc. fjernes som permeat.
- 10 Dersom peptoner fremstilles fra limvann kan de føres tilbake til melet. Dersom peptonene fremstilles fra ensilasje kan de separeres og selges som fiskeproteinkonsentrat (FPC). I dette tilfelle kan UF-retentatet anvendes som et enzymprodukt eller tilsettes mel.

15 **Del 1 – Bestemmelse av driftsbetingelser for UF-membranen**

Eksperimentene ble utført ved anvendelse av SeparaTech CMF-pilotanlegg med et Corning Ceramic-element med et 0,01 mikron porestørrelse.

- 20 Når man skal lage en forsøksprotokoll for keramiske membraner utføres en serie innledende tester ved ulike tverrstrøms hastigheter. Dette for å bestemme den mest egnede strømningshastighet over membranoverflaten og det resulterende trykkfallet. Corning-membranen ble valgt på grunn av dens unike monolittiske struktur. Til forskjell fra andre keramiske membransystemer fyller membranen karet hvilket gir en
- 25 svært enhetlig trykkforandring over filteret for ulike strømningsbetingelser. Dette muliggjør utvelgelse av de optimale parametere for separering av proteiner, olje og peptoner.

- 30 Det transmembrane trykket, TMP defineres som det gjennomsnittlige trykkfall over membranen fra en side til den andre. Dette beregnes som følger:



5

0

$$\text{Transmembrantrykk (TMP)} = \frac{(P1 + P2) - P3}{2}$$

10

Dette beregnes for en serie ulike strømningshastigheter for å bestemme de beste driftsbetingelser for produktet. Trykkfallet $P1 - P2$ er konstant for en gitt strømningshastighet. $P1$ og $P3$ endres for å gi den beste og mest konsistente permeatstrømhastigheten. Fire eksperimenter ble utført ved strømningshastigheter på 750, 850, 950 og 1050 liter per minutt (lpm). Resultatene er vist i henholdsvis figure 2, 3, 4 og 5. Membranprodusentene anbefaler et maksimalt TMP på 4 bar og en strømningshastighet på opp til 1150 lpm.

De oppnådde resultater bekrefter at den mest konsistente permeatstrøm ble oppnådd ved strømningshastigheter mellom 750 og 850 lpm. Siden den gjennomsnittlige permeatstrøm var høyere ved 850 lpm ble denne strømningshastighet valgt for evaluering av separering av peptoner og salt fra protein. For alle testene var temperaturen 50 °C.

25

Del 2 – produksjonsforsøk

Ved å anvende den samme resirkuleringsstrømningshastigheten på 850 lpm over membranen ble 3 ulike forsøk utført.

30

Del 2.1 – lavt inngangstrykk

Den første testen ble kjørt på et inngangstrykk på 2 bar (lavt trykk) og målingene registrerte permeatstrøm korrigert for temperaturendringer, batchvolumet som økte med diafiltrering etter hvert som konsentrering fant sted og den reduserte permeasjonshastighet og konsentreringsforhold.

35

Tabell 1: Resultater etter en test med lavt inngangstrykk

Tid min	P1 Bar	P2 bar	P3 bar	Trykk fall	TMP bar	Temp C	Perm lpm	Perm Korr	Kons lpm	Resirk lpm	Tank tilførsel lts	Permeat volum lts	Sum av Perm og kons	VCR
0	2	1	0.67	1	0.83	55,8	9,4	8,85	120	850	1000			1,0
20	2	1	0.67	1	0.83	58,3	9,1	8,38	120	850	673	204	877	1,5
35	2	1	0.67	1	0.83	59,3	9,4	8,53	120	850	605	282	887	1,7
45	2	1	0.67	1	0.83	60,2	8,4	7,51	120	850	500	336	836	2,0
60	2	1	0.67	1	0.83	60,4	8,9	7,95	120	850	333	486	819	3,0
75	2	1	0.67	1	0.83	61,3	8,2	7,26	120	850	250	566	816	4,0
85	2	1	0.67	1	0.83	61,9	8,1	7,13	120	850	200	610	810	5,0
90	2	1	0.67	1	0.83	62,3	7,9	6,91	120	850	169	639	808	5,9
92	2	1	0.67	1	0.83	62,6	8,0	6,97	120	850	150	653	803	6,7
95	2	1	0.67	1	0.83	62,8	7,9	6,85	120	850	135	669	804	7,4
100	2	1	0.67	1	0.83	70,5	8,2	6,52	120	850	260	722	982	9,5
115	2	1	0.67	1	0.83	70,0	8,2	6,56	120	850	140	811	951	17,7

Forkortelser:

- 5 Trykkfall er forskjellen mellom P1 og P2
 TMP – transmembrant trykk
 Perm lpm – strømningshastighet av permeat i lpm
 Perm korr – permeatstrøm korrigert for temperatur
 Kons lpm – konsentratstrømningshastighet til batchtanken i lpm
- 10 Resirk lpm – resirkuleringsstrømningshastigheten av konsentrat i lpm
 Permeatvolum lts – totalt volum av oppnådd permeat (liter)
 Sum av perm og kons – totalt volum av kombinert permeat og diafiltreringsvann

Del 2.2 – Høyt inngangstrykk

15

Etter de innledende forsøk ved 2 bar ble et annet forsøk utført med et høyere grunntrykk for å bestemme effekten på permeasjonsstrøm og omfanget på prosessen. Resultatene er oppsummert i tabell 2 og viser at et lavere grunntrykk medfører en lavere fluks men hastigheten på fluksreduksjonen er høyere når grunntrykket (driftstrykket) på 4 bar

20 anvendes og kurven er brattere.

Tabell 2: Resultatene etter et forsøk med høyt inngangstrykk

Tid min	P1 bar	P2 bar	P3 bar	Trykk fall	TMP bar	Temp C	Perm lpm	Perm korr lpm	Kons lpm	Resirk lpm	Tank Tilførsel lts	Perm vol lts	VCR
0	3	2	.67	1	1.67	51,6	13	12,8	120	850	1000		1.0
15	3	2	.67	1	1.67	51,6	13	12,8	120	850	704	375	1.6
25	3	2	.67	1	1.67	53,4	11,9	11,5	120	850	611	463	1.9
35	3	2	.67	1	1.67	54,8	11,4	10,9	120	850	472	600	2.5
45	3	2	.67	1	1.67	55,4	10,5	10,0	120	850	405	685	3.2
55	3	2	.67	1	1.67	56,1	10,7	10,1	120	850	311	761	4.2
55	3	2	.67	1	1.67	56,5	10,0	9,4	120	850	266	807	5.2
60	3	2	.67	1	1.67	57,9	9,8	9,0	120	850	200	873	7.9
63	3	2	.67	1	1.67	58,7	10,0	9,1	120	850	160	910	11.1
66	3	2	.67	1	1.67	59,4	9,6	8,7	120	850	130	941	17.0

Forkortelser: som i tabell 1

5

Del 2.3 – Høyt faststoffinnhold

10 For å undersøke variasjonen i tilførselsstrømmen ble til slutt limvann med høyere tørrstoffinnhold anvendt for å undersøke hvilken effekt dette vil ha på systemet. Resultatene er oppsummert i tabell 3. Konsentrasjonsevnen over tid var mye lavere siden fluksen også var lavere.

Tabell 3: Resultatet etter en test med et høyt tørrstoffinnhold

Tid	Tid min	P1 bar	P2 bar	P3 Bar	Trykk fall	TMP bar	Tcmp C	Perm lpm	Perm korr	Resirk lmp	Tank tilførsel l/s	Permeat Volum	VCR
	0	3	2	.67	.87	1.77	55	.8.5	8.0	850	1000		
11:00	15	3	2	.67	.87	1.77	56	8,5	8,0	850	673	327	1,5
11:15	30	3	2	.67	.87	1.77	55	7,2	6,9	850	565	435	1,8
11:30	45	3	2	.67	.87	1.77	56	6,4	6,0	850	469	531	2,1
11:45	60	3	2	.67	.87	1.77	60	5,2	4,7	850	391	609	2,6
12:00	75	3	2	.67	.87	1.77	64	5,0	4,3	850	316	684	3,2

Forkortelser som i tabell 1

- 5 Resultatene fra tabell 1, 2 og 3 er plottet i figur 6 for å vise nedgang i fluks over tid og konsentreringsforhold. Figuren viser at det er en raskere nedgang i fluksen som trenger igjennom ved et høyt trykk. UF-systemet ble kjørt ved 2 ulike trykk og med ulike tørrstoffinnhold for å bestemme mulighetene for konsentrering av geléaktige proteiner, fosfolipider og oljer. Permeatet fra en UF-membran inneholder kun lavmolekylære
- 10 forbindelser slik som peptider, peptoner, aminosyrer og salter som er små nok til å passere gjennom membranen (molekylvektsgrense < 50.000). Det er derfor bedre å drive systemet ved et så lavt trykk som mulig når tørrstoffinnholdet i limvann er 4% for å oppnå best mulig separering.

15 **Del 2.4 – Ultrafiltrering av limvann ved 80 °C – en kontinuerlig batch fra standard produksjonsmateriale**

Etter bestemmelse av det optimale driftstrykket for membranen og det optimale tverrstrøms hastigheten, ble en produksjon for en kontinuerlig batch fremstilt ved 80 °C.

- 20 Resultatene var som følger.

Tabell 4: Retentatkonsentrering versus fluks når limvann fra fiskeensilasje bearbeides.

Faststoff i retentat (TS)%	Fluks (lm2h)	Strømningshastighet (lph)
4,0	89,1	312
5,0	70,9	248
6,5	59,4	208
8,0	52,6	184
9,5	50,3	176
11,0	49,1	172
13,5	49,1	172
15,0	49,1	172
16,5	48,6	170
18,0	48,0	168

Forkortelser:

- 5 TS – totalt oppløst faststoff som % av totalvolum
 Fluks (lm2h) – strømningshastighet av permeat gjennom membranen som liter per m² per time.

Strømningshastighet lph = strømningshastighet i liter per time.

10

Resultatene i tabell 4 og figur 10 viser at limvann etter oljeseparering inneholder 4 % tørrstoff. En massebalanseberegning vises i figur 10. Etter konsentrering ved UF er tørrstoffet i konsentratet ved 5 gangers volumetrisk konsentrasjon ca. 11 %.

- Tørrstoffinnholdet i permeatet er ca. 2,0 % inneholdende 80 % aske og uønskede
 15 aminer. Økningen i retentatfaststoff påvirker viskositeten. Ved mer enn 5 gangers konsentrering kreves et mye høyere drivtrykk for å opprettholde fluksen. Fluksen var kontinuerlig over membranen, men for å opprettholde dette var et høyere drivtrykk nødvendig. Dette ble automatisk regulert ved anvendelse av en "Frequency inverter" på pumpemotoren.

20

Prøvene ble tatt ved ulike tidspunkter og analysert for tørrstoffinnhold. Resultatene ble ekstrapolert til massebalanse. Se figur 10. Alt permeatet ble innsamlet for å frembringe en homogen blanding som ville være den samme som permeatet produsert ved et kontinuerlig UF-membrananlegg. Dette ble tilført et nanofiltreringssystem for å separere

uønskede aminer og monovalente ioner (salter) som var til stede. Konsentratet fra NF ble blandet med UF-konsentratet for å lage et "hjemmel" limvannsprodukt uten de mest uønskede aminer og salter.

5 **Del 2.5 – Nanofiltrering av UF-permeat**

NF-membranen var et PTI Company TFC (Thin Film Composite) spiralviklet element med 1,14 m² areal.

10 Et driftstrykk på 25 bar ble anvendt. Trykkfallet over membranen var 0,7 bar i samsvar med produsentens anbefalinger. Dette var ekvivalent med en strømningshastighet på 22 lpm inn i membrankaret.

Permeatstrømningshastigheten ble registrert og målinger tatt av retentatvolumet og tørrstoffet. Disse verdier ble anvendt for å beregne volumkonsentrasjonsfaktoren og det endelige tørrstoffinnhold i retentatet. Permeattørrstoffet ble også målt ved refraktometer og prøver ble tatt for å analysere mengden salt som er fjernet og for å bestemme tapet av ikke-proteinnitrogen (NPN) og salt. For NPN og protein ble en standard Kjeldahl-metode anvendt for å bestemme total nitrogen. Saltanalysen ble utført ved anvendelse av sølvnitratitreringsmetoden.

20

Nivået av uønskede aminer i retentatet ble målt ved anvendelse av HPLC som er en standard måte for å bestemme kvaliteten på fiskemel og klassifisere dette innen fiskeindustrien.

25 Resultatene vises i tabell 5 og en teoretisk massebalanse beregnet for å vise andelene av hver komponent etter den kombinerte prosessen. Se figur 10.

Ytterligere fordeler ved UF- og NF-prosessen er at permeatet fortynnes og retentatet konsentreres. Resultatet av dette er at mer enn 70 % av vannet fjernes (se figur 10) før 30 fordampning, hvilket gir en betydelig energibesparelse. I noen tilfeller der limvann er svært geleaktig på grunn av de fisketyperne som anvendes, elimineres fordampning og litt mer vann fjernes ved anvendelse av filtreringsprosesser.

35 Dette skaper en betydelig økonomisk fordel for brukeren av en kombinert UF og NF-system og reduserer energikostnadene.

Tabell 5: NF-konsentrering av UF-permeat ved anvendelse av en NF-membran med et overflateareal på 1,14 m²

5

Konsentreringsfaktor VCR	Fluks(lmh)	Invers strømningshastighet s/l
2	26,1	30
3	19,1	22
4	16,5	19
5	13,9	16
6	13,0	15
7	12,2	14
8	11,7	13,5
9	11,1	12,8
10	10,9	12,5

Resultatene bekrefter at det fortynnede UF-permeat kan konsentreres opp til 10 ganger ved anvendelse av et nanofiltreringsmembransystem.

- 10 Ved konsentrering til et VCR på 10 ganger oppnås en 90 % fjerning av monovalente ioner og uønskede aminer som er til stede i UF-permeatet. Ved å anvende en kombinasjon av UF og NF fjernes 72 % av vannet og det er en 31 % reduksjon i tørrstoffet. Totalt tørrstoff 18,5 % TS gelainaktig materiale, fast ved romtemperatur, flytende ved 80 °C.

15

	NH ₃ /VN	Salt
Limvann	28,36 %	1,80 %
Permeat	22,49 %	1,33 %
Konsentrat	30,31 %	1,60 %

20

Forkortelser NH₃/VN: nitrogen inneholdt som ammoniakk (NH₃) eller som totalt flyktig nitrogen (VN)

Salt – natriumklorid målt ved anvendelse av sølvnitratfelling.

Den volumetriske konsentreringsfaktor var 10 ganger slik at massebalansen viser en 90 % fjerning av vann inneholdende 66,5 % av saltet og 71,4 % av NH_3/VN .

Permeatet innholdt også peptoner og peptidfraksjoner. Det totale oppløste
5 faststoffinnholdet i permeatet var 2,0 % TS.

Den alternative anvendelse av UF-system og NF for peptoner fremstiller ulike resultater. Nåværende teknologi eksisterer for anvendelse av UF-membraner for å rense peptoner fremstilt ved enzymatisk og sur hydrolyse. Ved anvendelse av nanofiltrering
10 kan dette deretter også bli ytterligere forbedret ved å fjerne de monovalente ionene og de uønskede aminene som er til stede, og som vanligvis er til stede som et resultat av gammel eller degradert fiskeavfall som råmateriale for ensilasje. Dersom dette omdannes til mel blir produktet av lav kvalitet med mindre den ovenfor beskrevne teknologi anvendes.

15 En typisk innmating til UF når fiskeavfall blir hydrolysert er ca. 12 % TS og det resulterende permeatet inneholder omtrent 8 % tørrstoff.

På grunn av den hydrokroskopiske egenskapen til peptoner og det høye osmotiske trykket
20 (trykket nødvendig for å fjerne vann) er det nødvendig å kjøre NF ved 30 bar og anvende diafiltrering etter en 50 % fjerning av vann for å oppnå den nødvendige konsentrering og fjerning av salt og aminer. Diafiltreringsforholdet som ble anvendt var 1000 liter redusert til 500 og deretter tilsettes 500 liter vann tilsatt for å regulere volumet tilbake til 1000 liter. Volumet reduseres deretter så langt som mulig for å få det
25 nødvendige produkt med reduserte salter aminer. Konsentreringsfaktorene som ble oppnådd var i området 8 x, hvilket gir omtrent 87% fjerning av salter og aminer.

30

35

Tabell 6: NF-konsentrering av UF-permeat produsert fra ensilasje hydrolysert med syre og proteolytiske enzymer ved anvendelse av en PTI TFC-membran med et overflateareal på 1,14 m².

Konsentreringsfaktor	Fluks(lmh)	Invers strømningshastighet (s/l)
2	12,2	14
1,5	9,6	11
2	7,8	9
2,5	6,1	7
3	9,6	11
3,5	7,8	9
4	6,6	7,6
4,5	6,1	7
5	5,7	6,5
5,5	5,5	6,3
6	5,3	6,1
6,5	5,2	6
7	5,0	5,8
7,5	5,0	5,8
8	5,0	5,8

5

Diafiltreringsvann ble tilsatt når volumkonsentreringsforholdet var 3,0.

Resultatene bekrefter at systemene også kan anvendes for produksjon av høykvalitetsensilasje eller rensede peptoner laget fra fiskeavfall.

10

Resultatene viser at marine proteiner som er hydrolysert ved koking, syre, enzymatisk påvirkning eller en kombinasjon av noen av disse kan bearbeides ved anvendelse av UF og deretter NF for å frembringe et redusert nivå av aminer og redusert nivå av salter (monovalente ioner) sammenliknet med nivåene oppnådd ved konvensjonelle

15

fremgangsmåter uten UF og NF.

For å oppnå disse resultatene må en temperatur på minimum 50 °C og ideelt 80 °C anvendes. Ved lavere temperaturer er gjennomstrømningshastigheten (fluksen) så lav på

grunn av den høye viskositeten til proteinene spesielt ved anvendelse av enkelte fiskearter.

5 Aminene og de monovalente ionene er redusert til ca. 30 % av den opprinnelige massen i innmatingsstrømmen. Mer enn 70 % fjernes.

Den kombinerte fremgangsmåten resulterer i en konsentrering av oljer og proteiner (UF) og peptoner (NF) som reduserer bruken av energi til fordampning fordi vannet allerede er fjernet. I noen tilfeller der konsentreringen er høy nok og proteinene 10 geleaktige nok, blir fordampning unødvendig. Dette gir store energibesparelser.

P a t e n t k r a v

1.

20 Hydrolysert marint proteinprodukt, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter et redusert nivå av monovalente ioner og biogene aminer (NPN) og andre restprodukter fra enzymatisk, koking, syre og mikrobiell degradering eller kombinasjon av disse, der nivået av monovalente ioner og biogene aminer er minst redusert til 40% av det opprinnelige.

25

2.

Produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at nivået av monovalente ioner og biogene aminer er redusert ved å kombinere ultrafiltrering (UF) og nanofiltrering (NF).

30 3.

Produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at de marine proteinene er oppnådd fra en hvilken som helst fiskekilde og inkluderer fiskeensilasje, fiskebiprodukter og limvann fra fiskemelproduksjon.

35 4.

Produkt ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at de marine proteinene er oppnådd fra en hvilken som helst akvatisk kilde inkludert krabber, skalldyr, ensilasje,

biprodukter og limvann og kokt vann fra prosessering eller enhver kombinasjon av disse.

5.

- 5 Produkt ifølge krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at flyktige organiske løselige forbindelser er fjernet og lukten er redusert.

6.

10 Fremgangsmåten for fremstilling av et hydrolysert marint proteinprodukt, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter de følgende trinn:

- a) homogenisering av biprodukt fra fisk og/eller andre marine kilder
- b) kontrollert hydrolyse av nevnte proteiner ved anvendelse av naturlig forekommende enzymer og/eller bakterier, spesielt de som er tilstede i mage-tarmkanalen hos fisk, og/eller utnyttelse av limvann fra prosessering av marint råmateriale
- 15 c) hydrolysatet fra trinn b) utsettes for ultrafiltrering og frembringer et UF-permeat inneholdende hydrolyserte proteiner og et UF-retentat inneholdende olje, fett emulsjoner, fibre og andre store molekyler
- d) UF-permeatet fra trin c) utsettes videre for nanofiltrering og frembringer et NF-permeat inneholdende vann, monovalente ioner og biogene aminer, og et NF-retentat inneholdende hydrolyserte proteiner
- 20 e) UF-retentatet fra trinn c) og NF-retentatet fra trinn d) konsentreres hver for seg eller i kombinasjon ved spraytørking, vakuamtørking eller en hvilken som helst annen tørkemetode
- 25 f) NF-permeatet inneholdende vann, monovalente ioner og biogene aminer blir ikke benyttet

7.

30 Fremgangsmåte ifølge krav 6, k a r a k t e r i s e r t v e d at ultrafiltreringen utføres ved hjelp av en høytetthets keramisk membran.

8.

Fremgangsmåte ifølge krav 6, k a r a k t e r i s e r t v e d at nanofiltreringen utføres ved hjelp av høyselektive membraner.

9.
Fremgangsmåte ifølge krav 6, k a r a k t e r i s e r t v e d at UF- og NF-
vannfjerningsprosessen kan utgjøre energibesparelser på skipet for å redusere kostnader
og øke skipets driftstid og radius.
- 5 10.
Fremgangsmåte ifølge krav 6, k a r a k t e r i s e r t v e d at behovet for å redusere vann
ved fordampning og energi spares.
- 10 11.
Fremgangsmåte ifølge krav 6, k a r a k t e r i s e r t v e d at ultrafiltreringen og
nanofiltreringen kan utføres på limvann og/eller kokende vann ved temperaturer større
enn 60 °C.
- 15 12.
Fôrprodukt, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter produktet ifølge krav 1 og en
hvilken som helst karbohydratkilde, vitaminer, oljer, fett og sporelementer.
- 20 13.
Fôrprodukt ifølge krav 12, k a r a k t e r i s e r t v e d at karbohydratkilden er oppnådd
fra melkemyse.
- 25 14.
Fôrprodukt ifølge krav 12, k a r a k t e r i s e r t v e d at det anvendes der det er behov
for en balansert diett for unge griser, melkekyr, mink, rev, kjæledyr og andre arter der
fiskeprotein er fordelaktig og høykvalitets fôr, spesielt med lave monovalente ioner og
biogene aminer er nødvendige, og der karbohydratene kan avledes fra biprodukter fra
melkebearbeiding.
- 30 15.
Anvendelse av produktet ifølge krav 1 som en tilsetning til dyrkingsmedier.

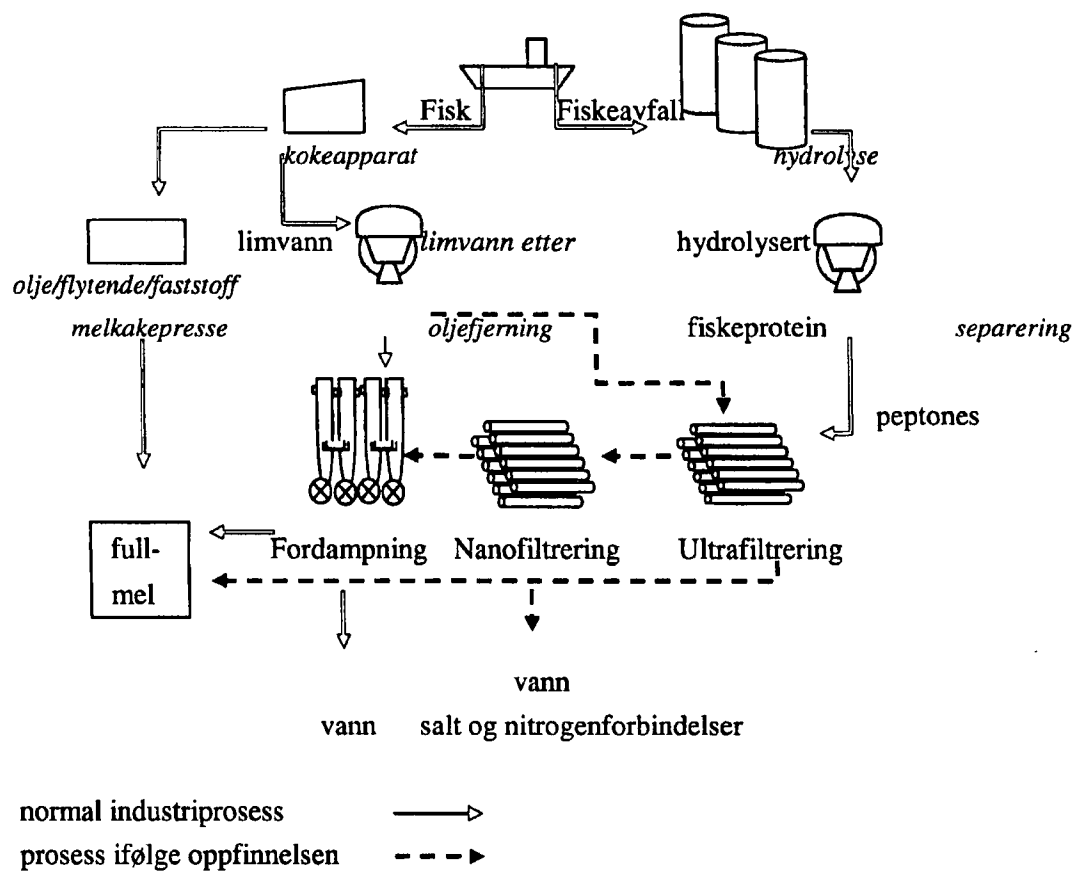
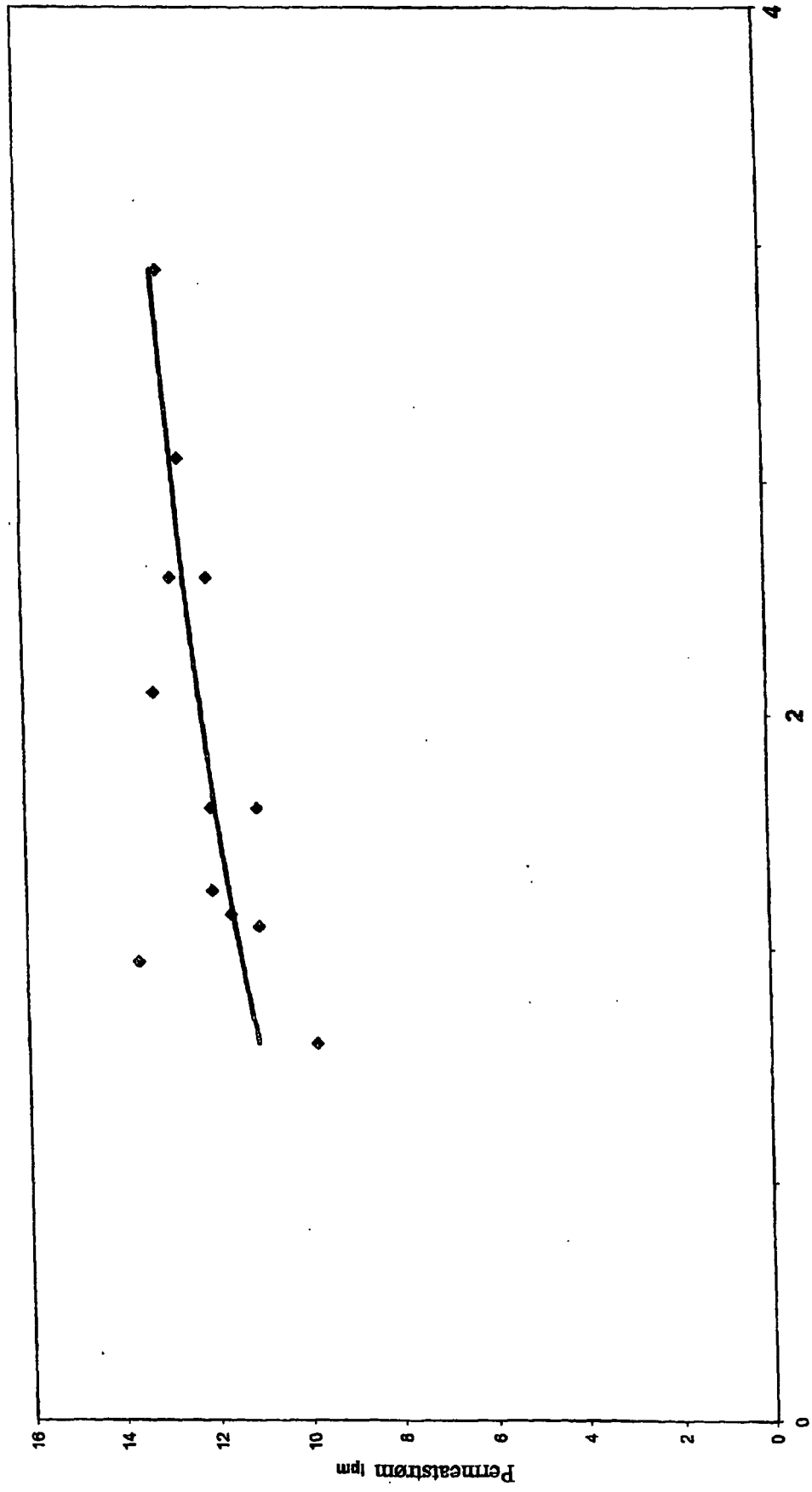


FIG 1

Figur 1 er et flytdiagram som viser hvordan produksjonen av hydrolysert marint proteinprodukt ifølge oppfinnelsen skiller seg fra den normale industriprosessen.

TMP ved strømningshastighet på 750 lpm



Transmembrantrykk (bar)

Fig 2

TMP ved strømningshastighet på 850 lpm

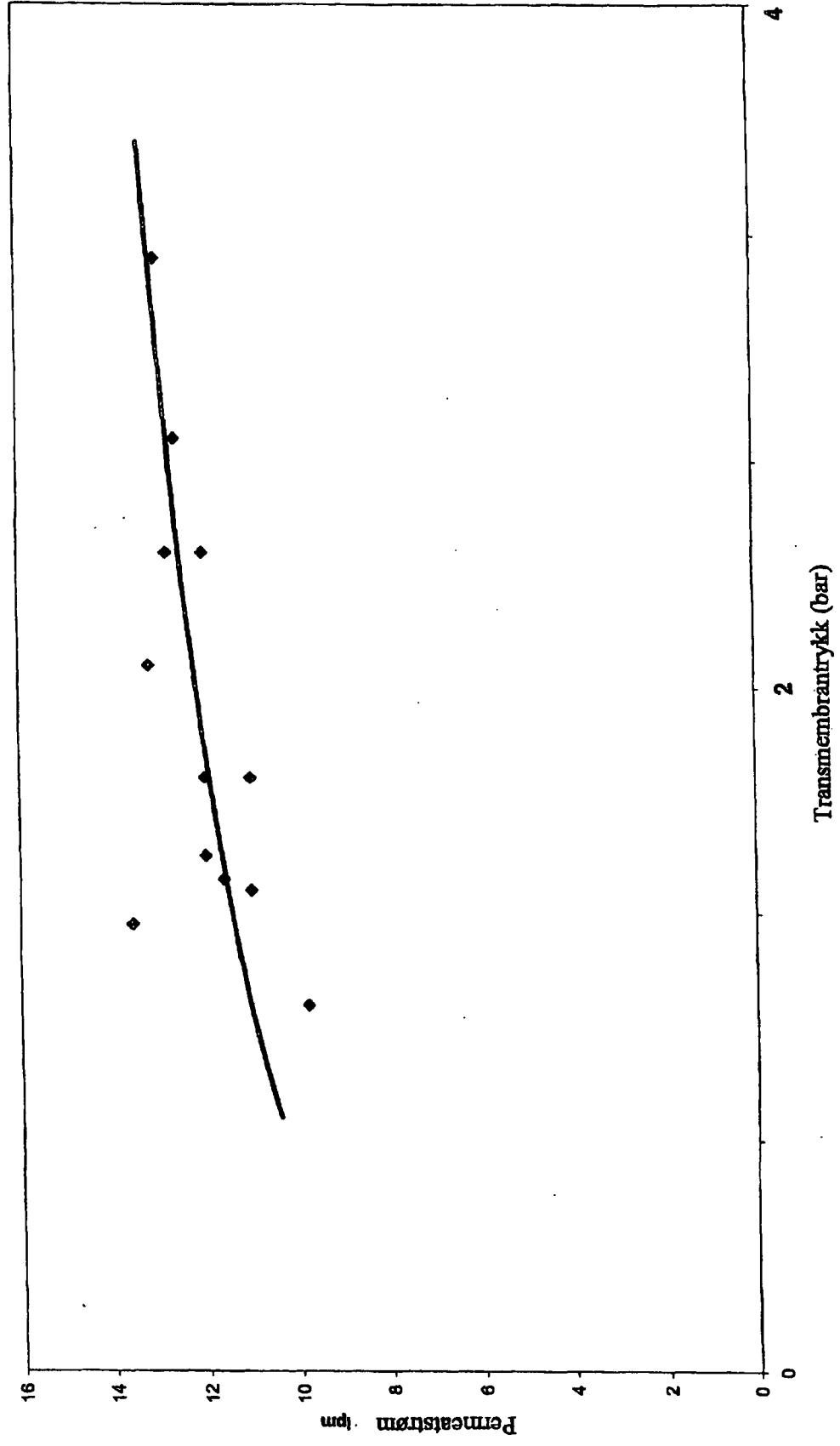


Fig 3

TMP ved strømningshastighet på 950 lpm

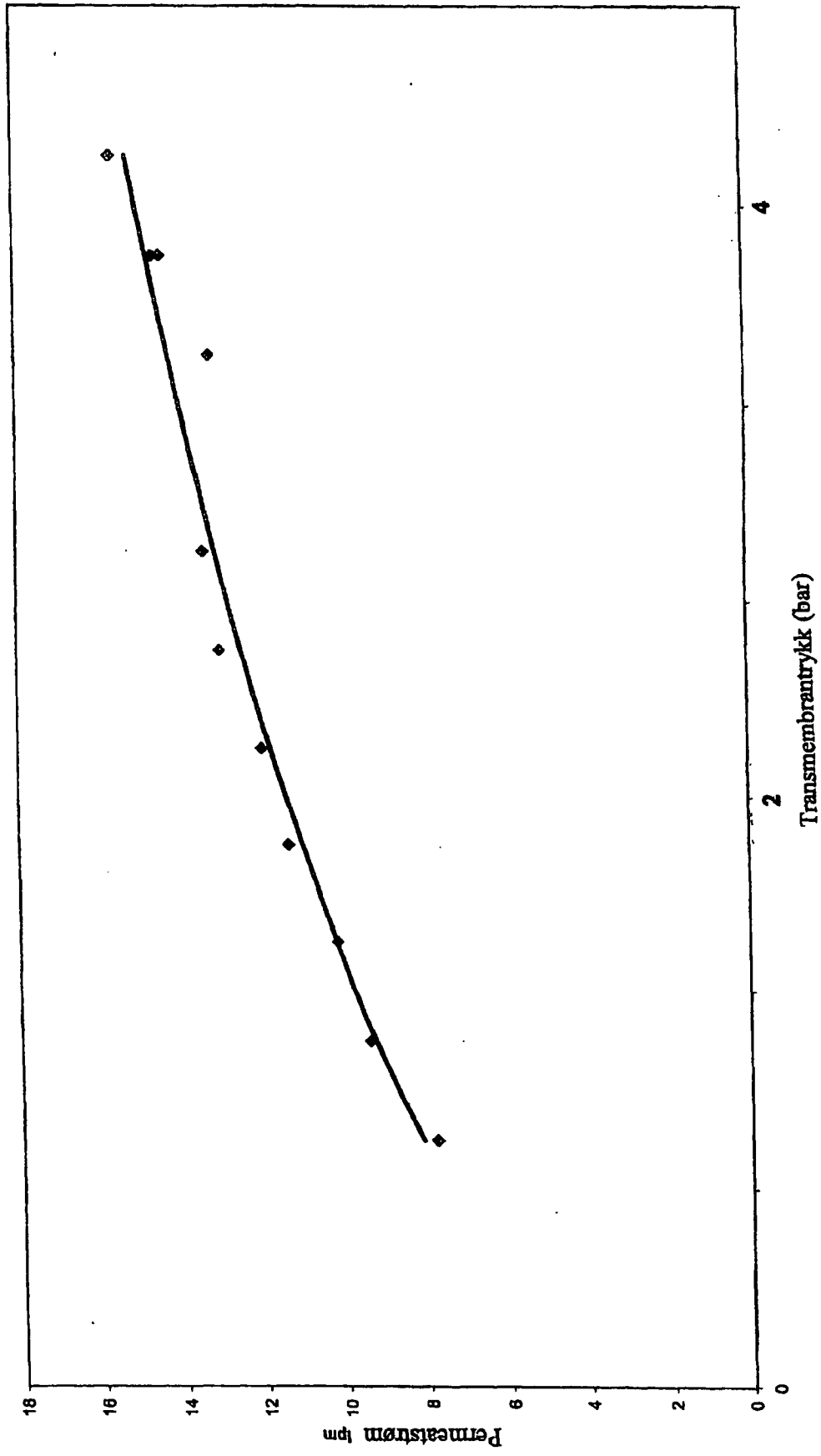


Fig 4

TMP ved strømingshastighet på 1050 lpm

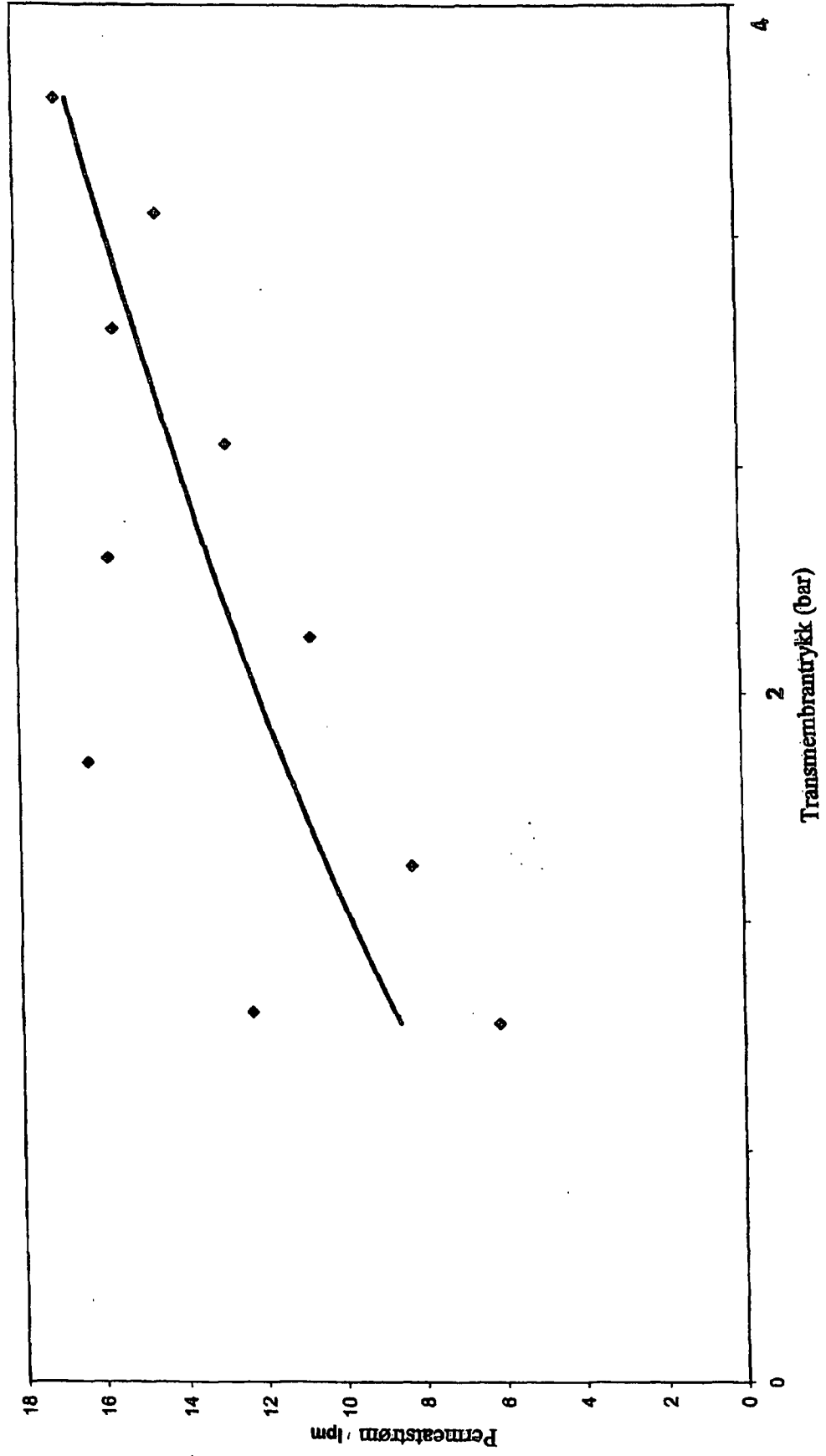
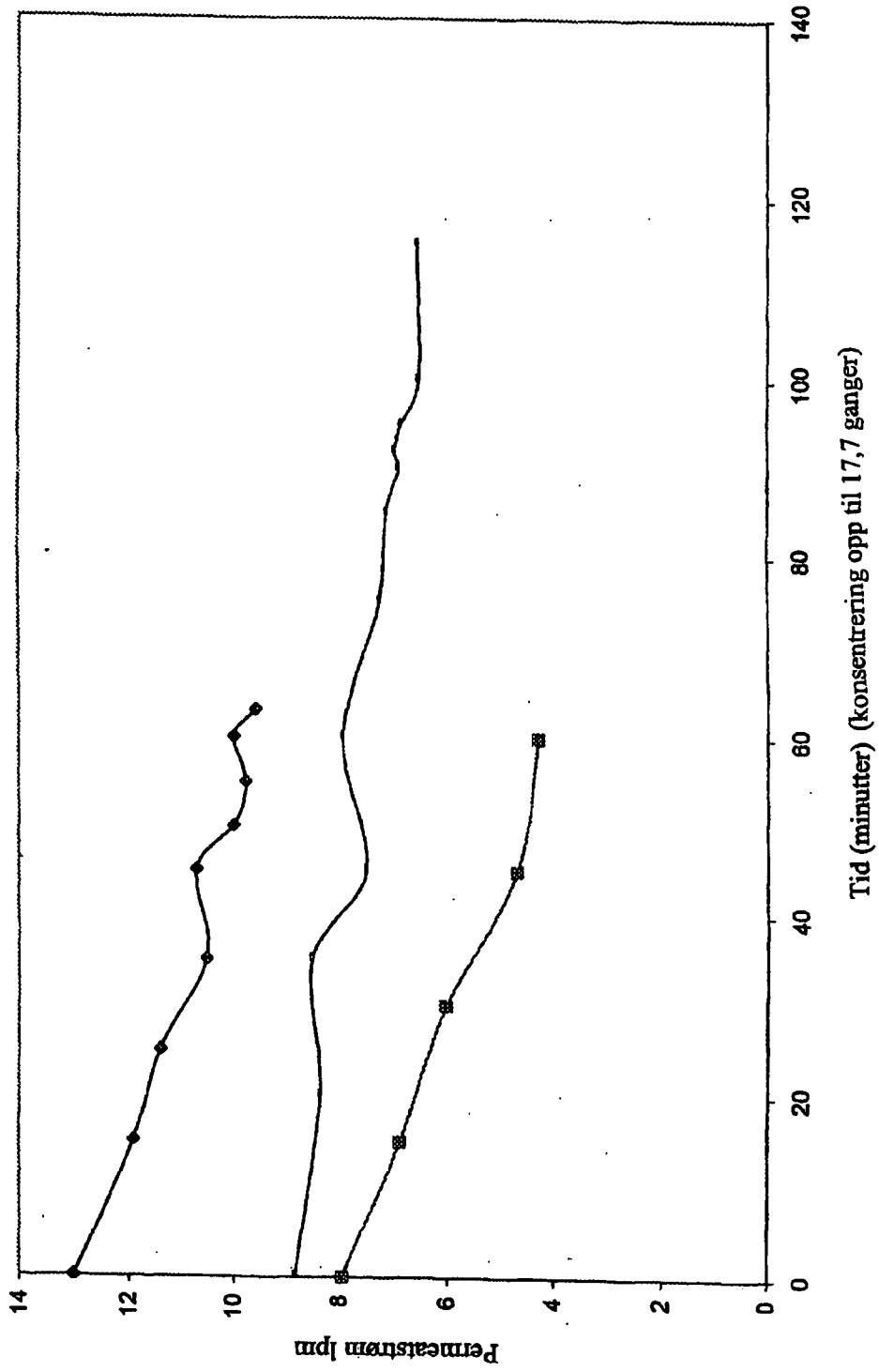


Fig 5

Permeat versus konsentreringsforhold over tid ved 50 °C



Konsentrering av limvann ved UF

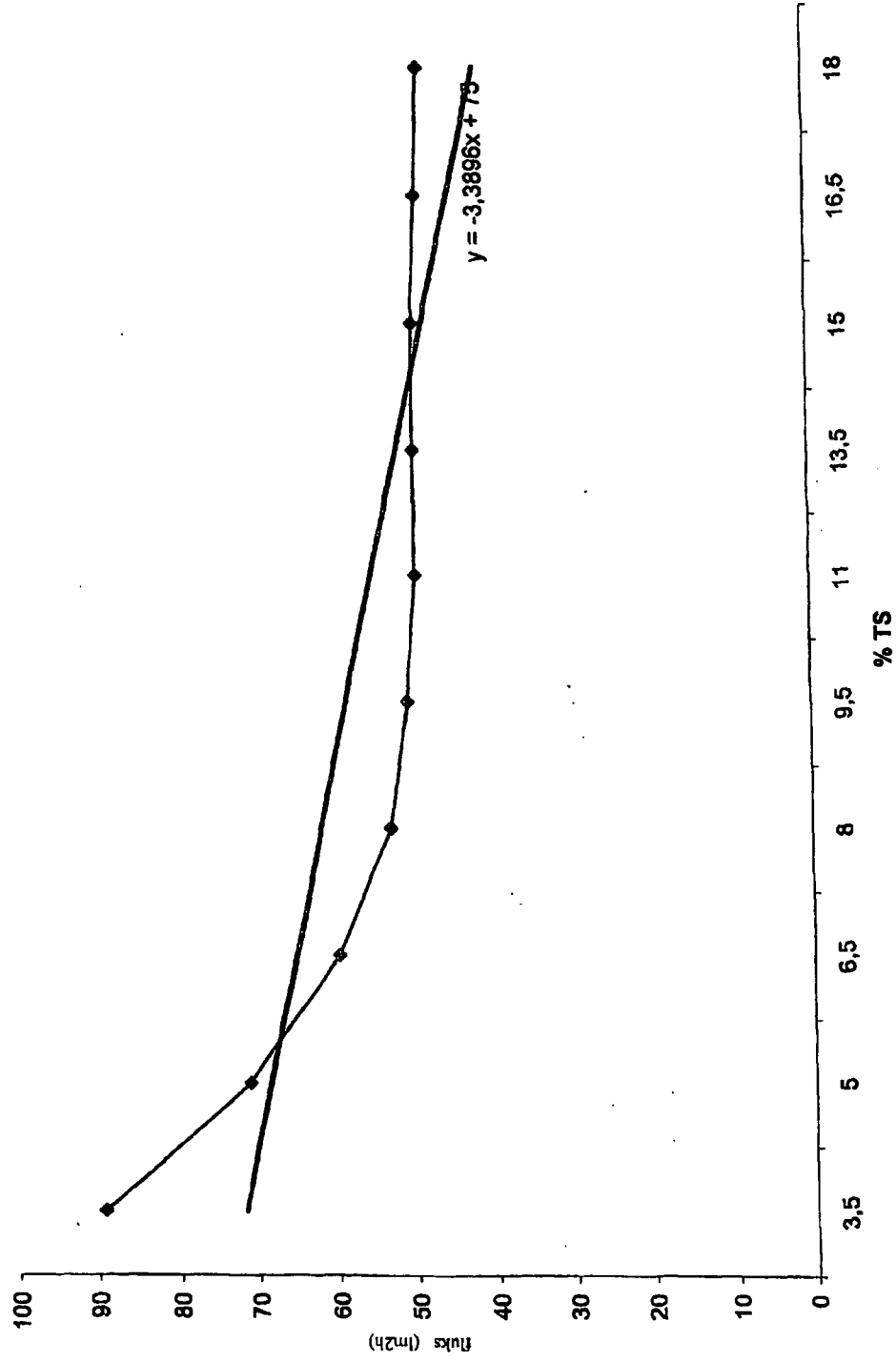


Fig 7

Konsentrering av UF-permeat med NF

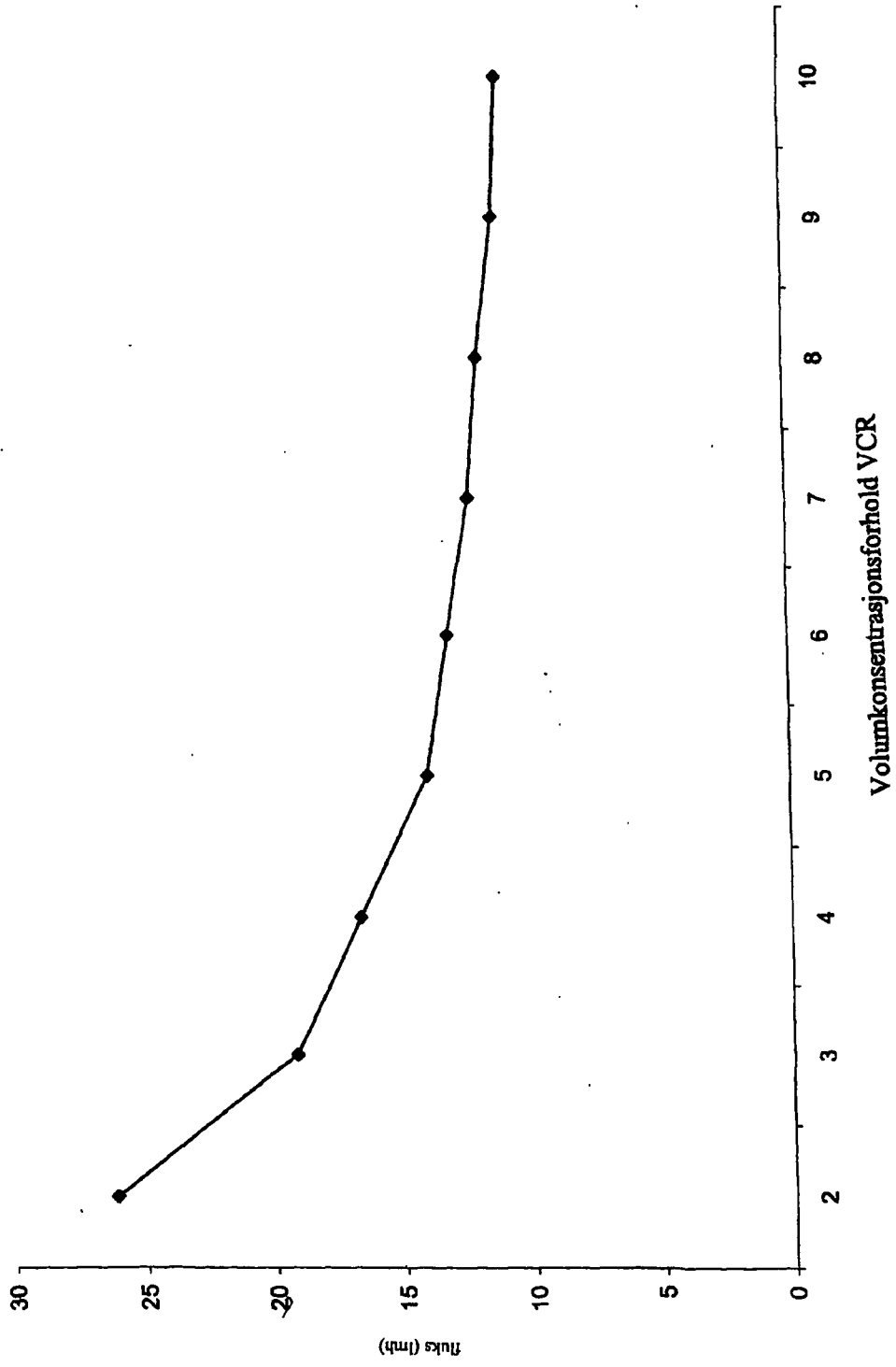


Fig 8

Nanofiltrering av UF-permeat med diafiltrering

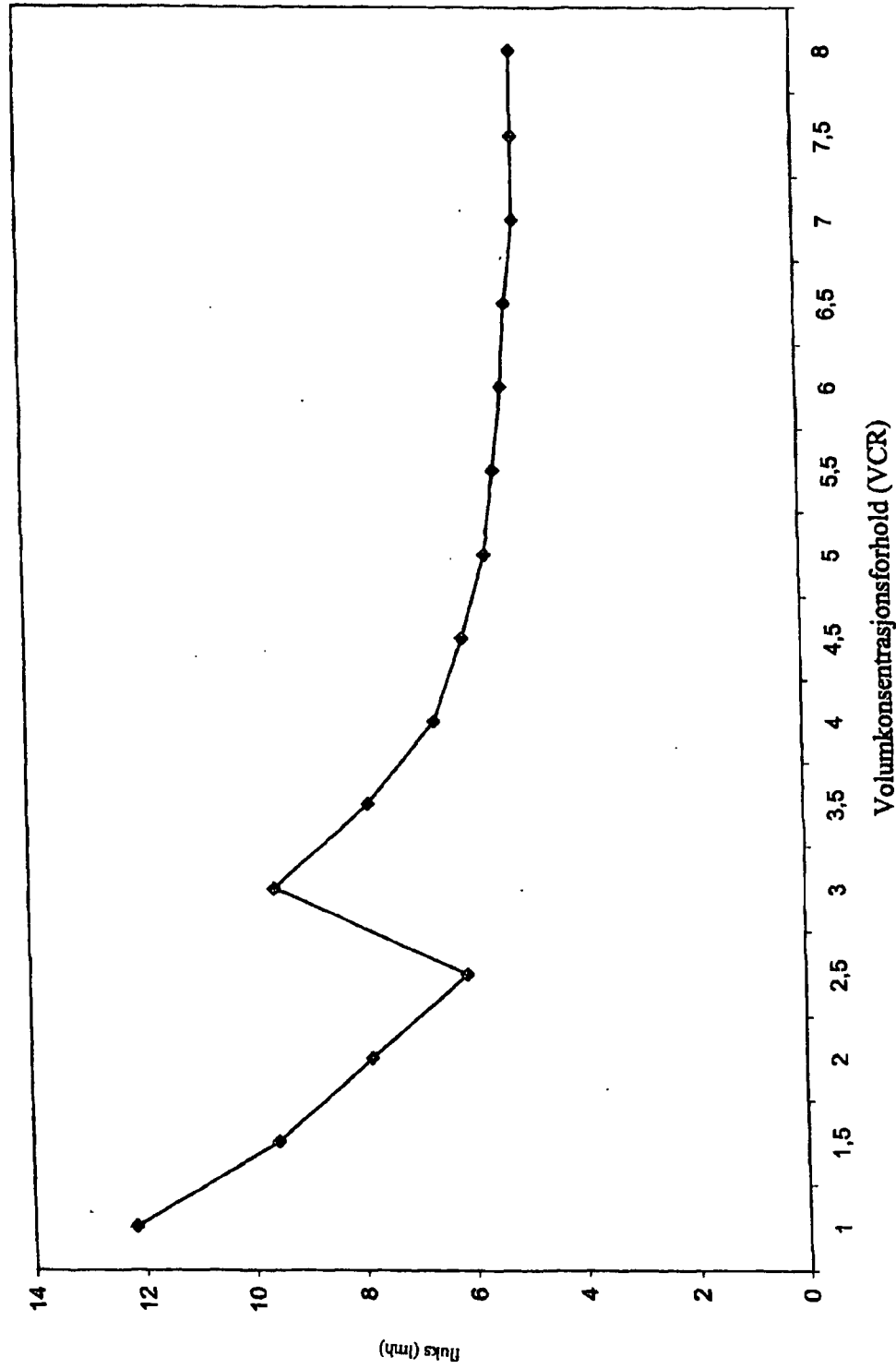


Fig 9

Ultrafiltrering (UF) og nanofiltrering (NF)-prosessen (DM kg = vekt tørrstoff i løsning)

1. Limvann ved 80 °C inneholder olje, proteiner, salter, aminer og vann. Det separeres for å fjerne oljen
2. Hensikten med UF er å separere proteinene og den gjenværende oljen (etter separering) fra de hydrolyserte proteiner, aminer og salter.
3. De rensede proteiner og oljer inneholder gelatinaktige proteiner som deretter kan returneres til melet for å forbedre binding
4. Permeatet (det flytende som går igjennom UF-membranen) inneholder salt, aminer og vann
5. Noen av aminene i permeatet er ønskelig – peptider og peptoner, andre som biogene aminer (Putrescin) er ikke ønskelige
6. Innholdet av biogene aminer reduseres. Saltfjerning er også fordelaktig for å forbedre produktkvaliteten
7. NF muliggjør passasje av vann, svært små aminer og salter. Retentatet inneholder de ønskede peptoner og peptider
8. Anvendelse av NF konsentrerer også disse peptonene fordi det meste av vannet fjernes når salter etc. fjernes i løsningen
9. Dersom peptonene er fremstilt fra limvann kan de føres tilbake til melet
10. Dersom peptonene er fremstilt fra ensilasje kan de separeres og selges som FPC. I dette tilfellet kan UF-retentatet anvendes som enzym eller mel

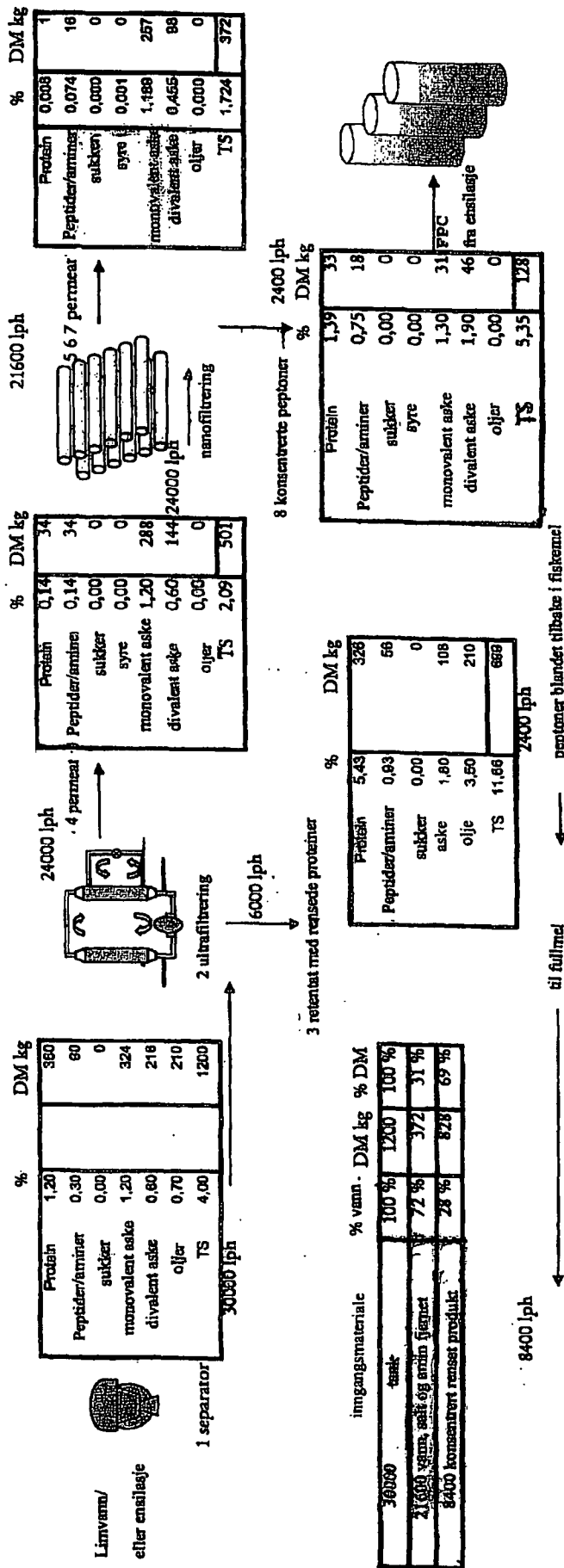


Fig 10