

Komponenter i råolje fra makrell restråstoff som bidrar til lukt og smak

John-Erik Haugen





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra, Alta og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1433 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Alta:

Kunnskapsparken, Markedsgata 3
NO-9510 Alta

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

| | |
|---|---|
| <i>Tittel:</i> Komponenter i råolje fra makrell restråstoff som bidrar til lukt og smak | ISBN 978-82-8296-641-2 (pdf) ISSN 1890-579X |
| <i>Title:</i> Components in crude oil from mackerel that contribute odor and taste | <i>Rapportnr.:</i> 40/2018 |
| <i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> John-erik Haugen | <i>Tilgjengelighet:</i> Åpen |
| <i>Avdeling:</i> Mat og helse | <i>Dato:</i> 30. juni 2018 |
| <i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering | <i>Ant. sider og vedlegg:</i> 15 |
| <i>Stikkord:</i> Makrellolje, restråstoff, HS-GC/MS, lukt- og smakskomponenter | <i>Oppdragsgivers ref.:</i> 901370/Lars Lovund |
| <i>Sammendrag/anbefalinger:</i> | <i>Prosjektnr.:</i> 12191 |
| <p>Det er analysert flyktige forbindelser i råolje fra makrell restråstoff for å påvise komponenter som kan bidra til lukt og smak i råoljen. De fleste av de påviste stoffene, bortsett fra noen av hydrokarbonene, er luktaktive stoffer, har ulik luktkarakter, og som til sammen vil bidra til lukt og smak av råoljen. Men pga manglende data på empiriske luktkterksler i olje/fettfase av mange av de påviste forbindelsene, har det ikke latt seg gjøre å foreta en kvantifisering av luktverdier for alle forbindelsene for å komme frem til de viktigste aromakomponentene i oljen. Med utgangspunkt i de målte konsentrasjoner, fettløselighet til stoffene, eksisterende luktkterskler og litteraturdata på tilsvarende flyktig forbindelse påvist i marine råoljer, kan vi konkludere at det vil være aldehydene og syrene som vil bidra mest til lukt og smak av råoljen. Av aldehydene var det 2-propenal og butanal som hadde de høyeste luktverdiene, etterfulgt av heksanal, tr,2-pental, oktanal, 2-butenal og tr, cis-2,4-heptadienal.</p> <p>Ved bruk av headspace-GC/MS ble det funnet mest hydrokarboner (41,3 %), derav flest enumettede hydrokarboner, alkoholer (17,2 %), syrer (15,3 %), aldehyder (9,3 %), sulfider/tioler (8 %), ketoner (2,8 %), furaner (1,8 %), aromater (2,1 %,) og 1,9 % andre forbindelser der 3 forbindelser ikke lot seg identifisere. 18 komponenter med høyest konsentrasjon er gjengitt i Figur 2 og utgjorde hele 75 % av total konsentrasjonen flyktige forbindelser målt. Høyest forekomst ble funnet for 2,4,6,10-pentadekan, og utgjorde 33 % av totalkonsentrasjonen flyktige forbindelser. Deretter følger dimetyldisulfid, 2,4-dimetyl-1,3-pentadien, 1-butanol, 4-metyl-pentansyre og cis, cis-3,5-oktadien.</p> <p>De fleste hydrokarboner, aldehyder, ketoner, syrer (C2-C5), furaner og enkelte av alkoholene er sekundære oksidasjonsprodukter fra peroksidering av de flerumettede omega-3 og omega-6 fettsyrene som finnes i oljen. I tillegg kan noen av de flyktige syrene også stamme fra bakterievekst i råstoffet, som også sulfidene kan indikere, som dannes fra både bakteriell nedbrytning av svovelholdige aminosyrer i råstoffet eller termisk kjemiske reaksjoner under råstoffbehandlingen. Flere av de påviste esterene kan også være bakterielle sekundære metabolitter. Typiske markører for lipid oksidasjon i marine oljer ble funnet, som propanal, 1-penten-3-ol, 1-penten-3-on, tr tr-heptadienal og 2-etylfuran.</p> | |

English summary/recommendation:

Volatile compounds in crude oil from mackerel residue have been analyzed to detect components that can contribute to odor and taste in the crude oil. Most of the detected substances, with the exception of some of the hydrocarbons, are odoriferous, have different odor thresholds, and which together will contribute to the smell and taste of the crude oil. However, due to lack of data on empirical oil phase odor threshold data of many of the compounds detected, it has not been possible to quantify odor activity values for all the compounds to arrive at the most important aroma components of the oil. Based on the measured concentrations, fat solubility of the substances, existing odor thresholds and literature data on the corresponding volatile compounds detected in marine crude oils, we can conclude that it will be the aldehydes and acids that will contribute most to the smell and taste of the crude oil. Of the aldehydes, 2-propenal and butanal had the highest odor activity values, followed by hexanal, tr, 2-pentenal, octanal, 2-butenal and tr, cis-2,4-heptadienal.

Using headspace-GC/MS, it was found that most hydrocarbons (41.3%) were found, most of which were monounsaturated hydrocarbons, alcohols (17.2%), acids (15.3%), aldehydes (9.3%), sulphides/thiols (8%), ketones (2.8%), furans (1.8%), aromatics (2.1%), and 1.9% other compounds where 3 compounds were not identifiable. 18 components with the highest concentration accounted for as much as 75% of the total concentration of volatiles measured. The highest amount was found for 2,4,6,10-pentadecane, accounting for 33% of the total volatiles. Next comes dimethyl disulphide, 2,4-dimethyl-1,3-pentadiene, 1-butanol, 4-methyl-pentanoic acid and cis, cis-3,5-octadiene.

Most of the hydrocarbons, aldehydes, ketones, acids (C2-C5), furans and some of the alcohols were secondary oxidation products from the peroxidation of the polyunsaturated omega-3 and omega-6 fatty acids contained in the oil. In addition, some of the volatile acids may also result from bacterial growth in the feedstock, which may also indicate the sulfides, which are formed from both bacterial degradation of sulfur-containing amino acids in the raw material or thermal chemical reactions during raw material processing. Several of the detected esters may also be bacterial secondary metabolites. Typical markers for lipid oxidation in marine oils were found, such as propanal, 1-penten-3-ol, 1-penten-3-one, tr tr-heptadienal and 2-ethylfuran.

Innhold

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Bakgrunn, problemstilling | 1 |
| 1.1 | Bakgrunn..... | 1 |
| 1.2 | Problemstilling..... | 1 |
| 2 | Material og metoder | 2 |
| 2.1 | Prøvemateriale | 2 |
| 2.2 | Flyktige forbindelser | 3 |
| 2.2.1 | Gassprøvetaking | 3 |
| 2.2.2 | Analyse | 3 |
| 2.2.3 | Identifisering og kvantifisering | 3 |
| 3 | Resultater..... | 5 |
| 3.1 | Gasskromatografisk analyse | 5 |
| 3.2 | Komponenter som bidrar til lukt og smak..... | 9 |
| 4 | Konklusjon..... | 11 |
| 5 | Referanser | 12 |
| 6 | Vedlegg | 13 |
| | Vedlegg 1 | 13 |
| | Vedlegg 2 | 14 |

1 Bakgrunn, problemstilling

1.1 Bakgrunn

FHF har i løpet av de siste to årene arbeidet systematisk og målrettet med utvikling av kunnskap og teknologi for økt bearbeiding av makrell. Satsingen kalles «Pelagisk løft – økt bearbeiding av makrell». Bakgrunnen er at bare 2–4 % av landet makrell foredles til filét. Resten av de ca. 350.000 tonn eksporteres ut av landet rundfrosset. Næringen har, i samarbeid med FHF, etablert en pilotlinje på ett av de pelagiske anleggene (Selje). Pilotlinjer er satt sammen av flere ulike prosjekter med relativt stort spredning i tematikk.

Makrell er en art med stort fettinnhold og rik på essensielle fettsyrer som bl.a. EPA og DHA. Neste fase i «Pelagisk løft – økt bearbeiding av makrell» ser nærmere på hvilke muligheter som finnes for utnyttelse av restråstoffet fra filétproduksjon til produksjon av høyverdige olje- og proteinkomponenter til humant konsum og *petfood*-markedet. Arbeidet med å utnytte restråstoffet har utfordringer som krever betydelig FoU-innsats. Det er laget eget «veikart» for denne satsingen som danner grunnlaget for prioriteringene i 2018.

FHF ønsker på overordnet nivå å få gjennomført et prosjekt som skal raffinere et gitt kvantum råolje fra restråstoff av makrell. Raffineringen skal gjøres for å oppnå høykvalitetsprodukt for humant konsum av råolje fra restråstoff av makrell.

Råolje fra makrell restråstoff produsert fra Sintef sin containerprosess lagret hos Epax Norway uten tilsatt antioksidant danner råstoffet for dette prosjektet.

1.2 Problemstilling

Hovedmålet til prosjektet er å foredle råolje av restråstoff fra makrell til høykvalitetsprodukt for humant konsum.

Prosjektet har følgende delmål:

1. Kartlegge *state of the art* teknologi til raffinering av makrellolje
2. Kjemisk karakterisering av makrell råolje
3. Undersøke hvilke komponenter som forårsaker lukt/smak på makrellolje
4. Utvikle en koldklaringsprosess for å oppnå klar olje ved romtemperatur (med nøytral smak og lukt, lite farge og evt. tilsatt kunstig smak)
 - i) Uttesting i labskala
 - ii) Uttesting i pilotskala
5. Gjennomføre sensoriske analyser for kartlegging av best egnet sluttprodukt for humant konsum
6. Beregne utbytte for produksjon av ulike produkttyper
7. Produktstabilitet mht harskning
- 8.

Denne prosjektrapporten omhandler arbeidspakke 3: Undersøke hvilke komponenter som forårsaker lukt/smak på makrellolje.

2 Material og metoder

2.1 Prøvemateriale

Makrellråoljen ble produsert av makrellbiprodukter i SINTEFs forsøkskontainer ved Pelagias anlegg i Selje i oktober 2017. Den ble i desember fraktet i 1000 liters IBC-kontainere til Epax i Ålesund der den ble varmet til ca 40°C før filtrering for å fjerne proteinrester som prosessen i Selje ikke hadde fjernet pga tekniske problemer. Etter filtrering gjennom posefilter tidlig i desember 2017 ble to kontainerne stående kjølig i produksjonslokalene før tilsetning av 1,2 mg/g mix tokoferol som antioxidant til den ene kontaineren. Dette ble gjort 29.1.2018. Begge containere ble videre satt på permanent lager som holder sval temperatur; ca 10°C).

En representativ prøve av dette materialet har id A18-041 og ble analysert 29.1.2018. Prøven ble tatt fra kontaineren med tilsatt antioksidant. En antar at analyseverdiene vil være like ved fylletidspunktet for de to kontainerne.

Det ble besluttet å bruke oljen fra kontaineren UTEN tilsatt mix-tokoferol for dette FHF-prosjektet.

Før prøveuttak til NOFIMA, ble kontaineren varmet til ca 40°C med bruk av «elektrisk magebelte» og oljen ble homogenisert med bruk av lanse med kraftig nitrogenblåsing i bunnen av kontaineren. Det ble tatt ut representative prøver til NOFIMA 3. mai 2018 (id: F18-167) som ble sendt til Nofima 29. mai 2018.

Det samme prøvematerialet ble analysert i QC-laboratoriet til Epax for noen kvalitetsparametere og med følgende resultater:

Prøve-id: F18-167 (uten antioxidant, analysert hos Epax)

- Anisidintall: 7,4
- Peroksidantall: 0,9 meq/kg
- Totox: 9,2 (Totox=PVx2+AV)
- Syretall: 1,2 mg KOH/g

Følgende resultater foreligger fra tidligere uttak og analyser av makrellråoljen:
Etter filtrering av råoljen 7.12.2017.

Prøve-id: F17-368 (uten antioxidant, analysert hos Epax)

- Anisidintall: 6,6
- Peroksidantall: 0,5
- Totox: 7,6
- Syretall: 1,4

Prøveuttak fra 29.01.2018. Denne prøven er fra kontainer tilsatt mix tokoferol

Prøve-id: A18-041 (med mix tokoferol, analysert hos Epax)

- Anisidintall: 4,4
- Peroksidantall 1,1 meq/kg
- Totox: 7
- Syretall: 1,0

Tilsvarende prøve analysert hos BioLab (Nofima) (A18-041, se **Vedlegg 1**):

Prøve-id: A18-041 (med mix tocoferol, analysert hos Nofima)

- Anisidintall: 3,4
- Peroksidantall 3,3 meq/kg
- Totox: 10,0
- Syretall: 1,0

Fettsyresammensetning i råoljen er blitt analysert hos BioLab (Nofima) og resultatene er gjengitt i **Vedlegg 2**.

2.2 Flyktige forbindelser

Det er analysert flyktige forbindelser ved bruk av dynamisk headspace gasskromatografi massespektrometri (HS-GC/MS) for identifisering av lukt/smaks aktive komponenter som kan bidra til smaken til råoljen.

2.2.1 Gassprøvetaking

Forut for den gasskromatografiske analysen ble de flyktige komponenter samles opp på en adsorbent etter følgende prosedyre: 2 g prøve ble tilsatt i en 250 ml Erlenmeyer-kolbe, og en løsning av etylheptanoat (> 99 %, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Tyskland) i metanol (pa, Merck GmbH, Darmstadt, Tyskland) ble tilsatt som en intern standard (400 ng). Prøvene ble oppvarmet til 70 °C i et vannbad og gjennomblåst med 100 ml/min nitrogen gjennom et Drechsel-hode i 20 minutter. Flyktige forbindelser ble dynamisk ekstrahert (totalt 2 liter gassprøve) og samlet opp på aktivt kull (Tenax GR, kornstørrelse 60/80 mesh, Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, USA) som adsorbent.

2.2.2 Analyse

Absorbenttrør med gassprøve ble overført til en automatisk prøveveksler forbundet med en gasskromatograf der de kull-adsorberte forbindelser ble desorbert ved 250 °C i 5 minutter i en Markes Unity / Ultra automatisk termisk desorpsjons-enhet (Markes International Ltd, Llantisant, England) og overført til en Agilent 6890 gasskromatograf (GC, Agilent, Palo Alto, CA, USA) med en Agilent 5973 Masseselektiv detektor (et kvadrupol basert massefilter) i elektron ionisasjon (EI) modus ved 70 eV ionisasjonsenergi og måling av positive ionefragmenter. Forbindelsene ble separert på en polar DB-WAXetr gasskromatografi kolonne fra J & W Scientific/Agilent (0,25 mm i.d., 0,5 µm film, 30 m). Helium (99,9999 %) ble brukt som bæregass.

2.2.3 Identifisering og kvantifisering

Integrasjonen av toppareal og foreløpig identifisering av forbindelser ble utført med HP Chemstation programvare (G1701CA versjon C.00.00, Agilent Technologies). Identifikasjon av forbindelsene ble bekreftet ved sammenligning av de målte massespektraene av GC-toppene med de rene standarder i henhold til NIST014 massespektralbiblioteket (versjon 2, 2005, US handelsminister/Agilent).

Konsentrasjonen av de enkelte flyktige forbindelsene ble beregnet til ng pr. gram prøve basert på intern standard tilsatt før gassprøvetaking. Analysen ble utført i duplikat for alle prøver. Systemytelsen

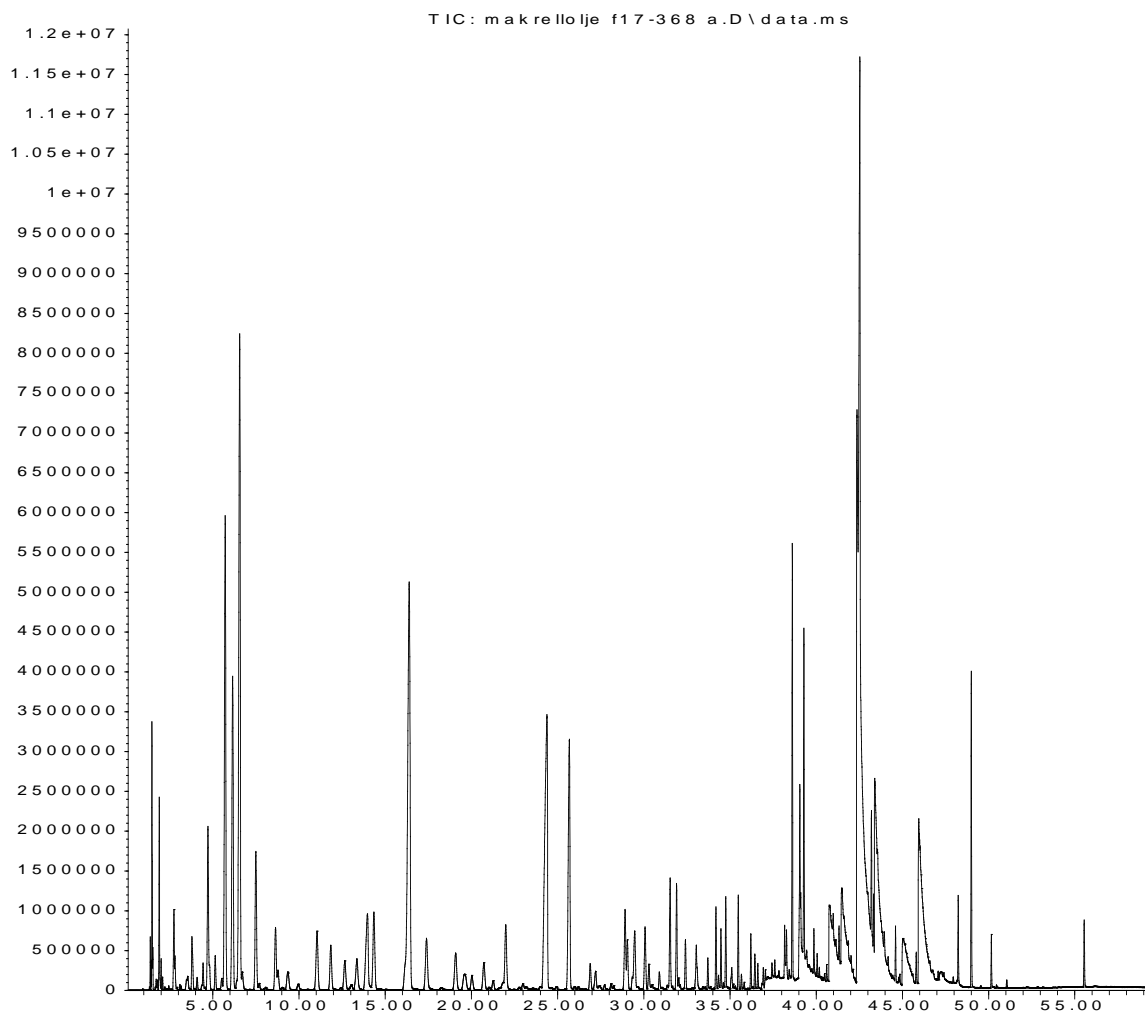
ble sjekket med blind- og kontrollprøver før, under og etter GC analyse av prøveserien. Presisjonen på parallellene var mindre enn 10 %.

3 Resultater

3.1 Gasskromatografisk analyse

Gasskromatogram fra HS-GC/MS analysen av den ene parallellprøven (A) er vist i **Figur 1**. Ca. 100 flyktige forbindelser ble funnet hvorav ca. 96 % av komponentene kunne identifiseres med høy sikkerhet (se **Tabell 1A** og **1B**). De fleste av forbindelsene er også tidligere påvist i marine råoljer (Taati et al, 2017; Song et al 2018).

Abundance



Time -->

Figur 1 Gasskromatogram (TIC) fra headspace GC/MS analyse av makrell råolje. X-aksen gjengir retensjonstid i minutter og y-aksen mengden av respektive gasskromatografisk separerte forbindelser/topper. Til sammenligning, Tabell 1, med komponenter identifisert og respektive retensjonstider.

Det ble funnet mest hydrokarboner (41,3 %), derav flest enumettede hydrokarboner, alkoholer (17,2 %), syrer (15,3 %), aldehyder (9,3 %), sulfider/tioler (8 %), ketoner (2,8 %), furaner (1,8 %), aromater (2,1 %) og 1,9 % andre forbindelser der 3 forbindelser ikke lot seg identifisere entydig (**Tabell 2**).

Tabell 1A Flyktige komponenter påvist etter økende gasskromatografisk retensjonstid (Ret.tid) i minutter, navnet på forbindelsen, CAS-nummer, MS bibliotek Match % og konsentrasjon. Økende Match % innebærer en høyere sikkerhet på identifisering av komponent. Erfaringsmessig representerer en Match % større enn 65 % en entydig identifisering av forbindelsen.

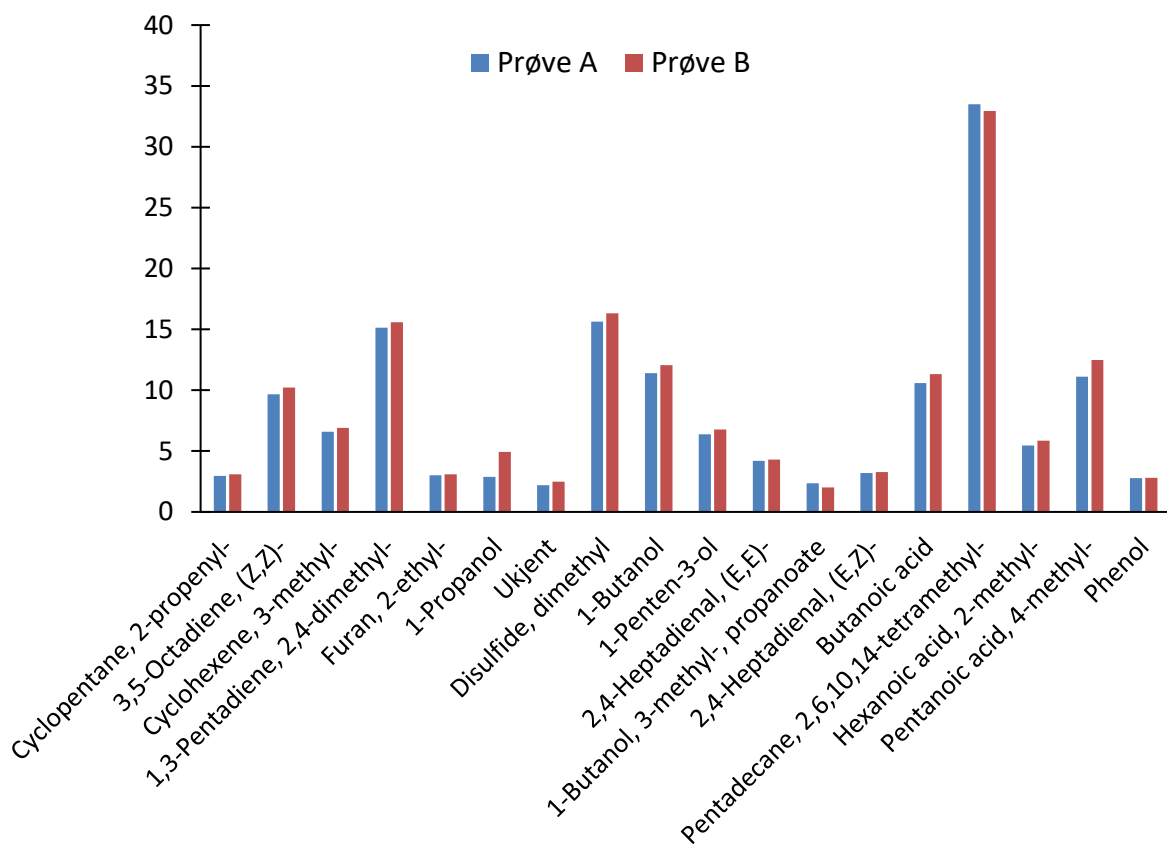
| Komp. Nr. | Ret.tid | MS bibliotek Id. | CAS Nr. | Match % | ng/g |
|-----------|---------|--|-------------|---------|-------|
| 1 | 1,37 | Pentane | 000109-66-0 | 91 | 0,34 |
| 2 | 1,43 | 1-Pentene | 000109-67-1 | 87 | 0,24 |
| 3 | 1,47 | 2-Pentene, (Z)- | 000627-20-3 | 91 | 2,55 |
| 4 | 1,53 | Hexane | 000110-54-3 | 90 | 0,23 |
| 5 | 1,90 | Heptane | 000142-82-5 | 95 | 1,61 |
| 6 | 2,00 | 2,4-Hexadiene, (Z,Z)- | 006108-61-8 | 94 | 0,23 |
| 7 | 2,09 | 2,4-Hexadiene | 000592-46-1 | 94 | 0,11 |
| 8 | 2,74 | Heptane, 2,4-dimethyl- | 002213-23-2 | 72 | 1,07 |
| 9 | 2,81 | Propanal | 000123-38-6 | 78 | 0,24 |
| 10 | 3,47 | 1-Octene | 000111-66-0 | 96 | 0,16 |
| 11 | 3,79 | 2-Propenal | 000107-02-8 | 86 | 1,12 |
| 12 | 4,09 | 2-Octene, (E)- | 013389-42-9 | 95 | 0,20 |
| 13 | 4,43 | Butanal | 000123-72-8 | 91 | 0,36 |
| 14 | 4,72 | Cyclopentane, 2-propenyl- | 003524-75-2 | 58 | 3,02 |
| 15 | 5,14 | 2-Butanone | 000078-93-3 | 90 | 0,58 |
| 16 | 5,52 | Butanal, 2-methyl- | 000096-17-3 | 38 | 0,22 |
| 17 | 5,72 | 3,5-Octadiene, (Z,Z)- | 007348-80-3 | 86 | 9,94 |
| 18 | 6,15 | Cyclohexene, 3-methyl- | 000591-48-0 | 68 | 6,74 |
| 19 | 6,56 | 1,3-Pentadiene, 2,4-dimethyl- | 001000-86-8 | 94 | 15,36 |
| 20 | 6,71 | Benzene | 000071-43-2 | 70 | 0,41 |
| 21 | 7,50 | Furan, 2-ethyl- | 003208-16-0 | 91 | 3,06 |
| 22 | 7,69 | Propanoic acid, ethyl ester | 000105-37-3 | 64 | 0,14 |
| 23 | 8,07 | Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester | 000097-62-1 | 91 | 0,11 |
| 24 | 8,64 | 3-Pentanone | 000096-22-0 | 80 | 1,53 |
| 25 | 9,36 | Decane, 2,4,6-trimethyl- | 062108-27-4 | 64 | 0,64 |
| 26 | 9,95 | 5,5-Dimethyl-1,3-hexadiene | 001515-79-3 | 91 | 0,20 |
| 27 | 11,05 | 5,5-Dimethyl-1,3-hexadiene | 001515-79-3 | 91 | 1,96 |
| 28 | 11,85 | 1-Penten-3-one | 001629-58-9 | 72 | 1,43 |
| 29 | 12,66 | 2-Butanol | 000078-92-2 | 83 | 1,07 |
| 30 | 13,36 | 2-Butenal | 004170-30-3 | 68 | 1,22 |
| 31 | 13,98 | 1-Propanol | 000071-23-8 | 78 | 3,91 |
| 32 | 14,35 | Unknown | 010304-16-2 | 43 | 2,34 |
| 33 | 16,39 | Disulfide, dimethyl | 000624-92-0 | 97 | 15,97 |
| 34 | 17,39 | Hexanal | 000066-25-1 | 91 | 1,75 |
| 35 | 19,09 | 1-Propanol, 2-methyl- | 000078-83-1 | 90 | 1,36 |
| 36 | 19,60 | 1,3-trans,5-cis-octatriene | 040087-61-4 | 87 | 0,38 |
| 37 | 20,03 | 2-Pentenal, (Z)- | 001576-87-0 | 70 | 0,48 |
| 38 | 20,73 | 3-Pentanol | 000584-02-1 | 83 | 0,89 |
| 39 | 21,26 | Propane, 2-methyl-2-(methylthio)- | 006163-64-0 | 59 | 0,26 |
| 40 | 21,99 | 2-Pentenal, (E)- | 001576-87-0 | 94 | 1,90 |
| 41 | 22,99 | 1-Undecene | 000821-95-4 | 83 | 0,14 |
| 42 | 24,38 | 1-Butanol | 000071-36-3 | 91 | 11,73 |
| 43 | 25,68 | 1-Penten-3-ol | 000616-25-1 | 72 | 6,57 |
| 44 | 26,89 | Heptanal | 000111-71-7 | 95 | 0,58 |
| 45 | 27,20 | D-Limonene | 005989-27-5 | 94 | 0,38 |
| 46 | 27,72 | Butanethioic acid, S-methyl ester | 002432-51-1 | 91 | 0,11 |
| 47 | 28,10 | trans,trans-2,9-Undecadiene | 022057-21-2 | 74 | 0,14 |
| 48 | 28,24 | 1-Undecene-9-methyl | 074630-41-4 | 47 | 0,09 |
| 49 | 28,91 | Formic acid, heptyl ester | 000112-23-2 | 72 | 1,80 |
| 50 | 29,05 | 2-Hexenal | 000505-57-7 | 95 | 0,94 |

Tabell 1B Flyktige komponenter påvist etter økende gasskromatografisk retensjonstid (Ret.tid) i minutter, navnet på forbindelsen, CAS-nummer, MS bibliotek Match % og konsentrasjon. Økende Match % innebærer en høyere sikkerhet på identifisering av komponent. Erfaringsmessig representerer en Match % større enn 65 % en entydig identifisering av forbindelsen.

| Komp. Nr. | Ret.tid | MS bibliotek Id. | CAS Nr. | Match % | ng/g |
|-----------|---------|---|--------------|---------|-------|
| 51 | 29,34 | Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester | 000097-85-8 | 64 | 0,19 |
| 52 | 29,48 | Allylidencyclohexane | 005664-10-8 | 46 | 1,40 |
| 53 | 30,07 | Cyclopropane, 1-ethenyl-2-hexenyl-, [1.alpha.,2.beta.(E)]-(./-.)- | 022822-99-7 | 43 | 1,37 |
| 54 | 30,30 | Cyclopentene,1-(2-propenyl)- | 037689-19-3 | 50 | 0,49 |
| 55 | 30,91 | 4-Heptenal, (Z)- | 006728-31-0 | 91 | 0,31 |
| 56 | 31,53 | 1-Pentanol | 000071-41-0 | 90 | 1,75 |
| 57 | 31,90 | Bicyclo[3.3.0]oct-2-en-7-one, 6-methyl- | 1000150-437 | 47 | 1,57 |
| 58 | 32,02 | 2(3H,4H)-Cyclopenta[b]furanone, 3a,6a-dihydro- | 1000197-37-2 | 49 | 0,16 |
| 59 | 32,42 | 1,3-Cyclooctadiene, (Z,Z)-Spiro[cyclopropane-1,2'-[6.7]diaz | 003806-59-5 | 58 | 0,73 |
| 60 | 33,05 | Octanal | 000124-13-0 | 96 | 0,93 |
| 61 | 33,72 | cis-2-(2-Pentenyl)furan | 070424-13-4 | 97 | 0,42 |
| 62 | 34,19 | 1-Pentanol, 4-methyl- | 000626-89-1 | 53 | 0,98 |
| 63 | 34,33 | 1-Hexene, 3,5-dimethyl-6-Oxabicyclo[3.1.0]hexane | 007423-69-0 | 38 | 0,16 |
| 64 | 34,47 | 2-Penten-1-ol, (E)- | 001576-96-1 | 64 | 0,69 |
| 65 | 35,10 | 3-Heptanol, 4-methyl- | 014979-39-6 | 78 | 0,34 |
| 66 | 35,48 | 1-Hexanol | 000111-27-3 | 90 | 1,01 |
| 67 | 35,67 | 3,3-Dimethylbutane-2-ol | 000464-07-3 | 53 | 0,17 |
| 68 | 36,21 | Dimethyl trisulfide | 003658-80-8 | 97 | 0,59 |
| 69 | 36,44 | 3-Hexen-1-ol, (Z)- | 000928-96-1 | 60 | 0,45 |
| 70 | 36,61 | Nonanal | 000124-19-6 | 90 | 0,30 |
| 71 | 36,93 | 2,4-Hexadienal, (E,E)- | 000142-83-6 | 46 | 0,22 |
| 72 | 37,05 | Hexanal, 2-ethyl- | 000123-05-7 | 47 | 0,18 |
| 73 | 37,44 | 1-Propene, 1-methoxy-1,5-Hexadiene-3,4-diol, 2,5-dimeth | 007319-16-6 | 58 | 0,16 |
| 74 | 37,60 | 1,5-Hexadiene-3,4-diol, 2,5-dimethyl- | 004723-10-8 | 37 | 0,18 |
| 75 | 38,17 | 1-Octen-3-ol | 003391-86-4 | 47 | 0,51 |
| 76 | 38,28 | Heptanol | 053535-33-4 | 53 | 0,50 |
| 77 | 38,62 | 2,4-Heptadienal, (E,E)- | 004313-03-5 | 94 | 4,25 |
| 78 | 39,05 | 1-Butanol, 3-methyl-, propanoate | 000105-68-0 | 43 | 2,18 |
| 79 | 39,29 | 2,4-Heptadienal, (E,E)- | 004313-03-5 | 94 | 3,24 |
| 80 | 39,87 | 3,5-Octadien-2-one, (E,E)- | 030086-02-3 | 70 | 0,50 |
| 81 | 40,05 | Benzaldehyde | 000100-52-7 | 93 | 0,21 |
| 82 | 40,61 | Formic acid, octyl ester | 000112-32-3 | 64 | 0,16 |
| 83 | 40,76 | Propanoic acid | 000079-09-4 | 90 | 1,02 |
| 84 | 41,32 | 2,6-Nonadienal, (E,Z)- | 000557-48-2 | 43 | 0,37 |
| 85 | 41,48 | Propanoic acid, 2-methyl- | 000079-31-2 | 62 | 1,11 |
| 86 | 42,37 | Butanoic acid | 000107-92-6 | 91 | 10,96 |
| 87 | 42,53 | Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- | 001921-70-6 | 62 | 33,23 |
| 88 | 43,20 | 4,6-Heptadien-1-ol, (Z)- | 118495-96-8 | 41 | 1,17 |
| 89 | 43,33 | Unknown | 000107-92-6 | 18 | 0,46 |
| 90 | 43,39 | Hexanoic acid, 2-methyl- | 004536-23-6 | 83 | 5,65 |
| 91 | 44,60 | 2-Heptene, 5-methyl- | 022487-87-2 | 50 | 0,52 |
| 92 | 45,04 | Pentanoic acid | 000109-52-4 | 83 | 0,65 |
| 93 | 45,80 | 2-Nonen-4-yne, (Z)- | 056392-46-2 | 43 | 0,34 |
| 94 | 45,95 | Pentanoic acid, 4-methyl- | 000646-07-1 | 90 | 11,79 |
| 95 | 48,24 | 2-Methylbutanoic anhydride | 001468-39-9 | 40 | 1,07 |
| 96 | 48,99 | Phenol | 000108-95-2 | 94 | 2,79 |
| 97 | 50,16 | Phenol, 4-methyl- | 000106-44-5 | 97 | 0,46 |
| 98 | 55,54 | Indole | 000120-72-9 | 97 | 0,75 |

Tabell 2 Andelen ulike flyktige stoffklasser i makrell råoljen.

| Stoffklasse | % av total konsentr. | Antall forbindelser |
|-----------------|----------------------|---------------------|
| Hydrokarboner | 41,3 | 30 |
| Alkoholer | 17,5 | 20 |
| Syrer | 15,3 | 7 |
| Aldehyder | 9,3 | 19 |
| Sulfider/tioler | 8,0 | 4 |
| Ketoner | 2,8 | 6 |
| Furaner | 1,8 | 2 |
| Aromater | 2,1 | 4 |
| Andre | 1,9 | 5 |



Figur 2 Konsentrasjonen (ng/g) av flyktige hovedkomponenter i makrell råolje.

18 komponenter med høyest konsentrasjon er gjengitt i **Figur 2** og utgjør hele 75 % av total konsentrasjonen flyktige forbindelser målt. Høyest forekomst ble funnet for 2,4,6,10-pentadekan (trivialnavn: pristan), som utgjorde 33 % av totalkonsentrasjonen flyktige forbindelser. Deretter følger dimetyldisulfid, 2,4-dimetyl-1,3-pentadien, 1-butanol, 4-metyl-pentansyre og cis, cis-3,5-oktadien. Pristan har tidligere blitt påvist i fiskeoljer, spesielt i uraffinerte råoljer (Sørensen and Mehlum 1948; Sørensen and Sørensen 1949) fra fisk og som kommer fra inntak av alger (McKenna og Kallio 1971; Reid and Budge 2015). Pristan finnes i de fleste petroleumsprodukter og kan også indikere petroleumsforurensning (Volkman et al. 1992).

De fleste påviste hydrokarboner, aldehyder, ketoner, syrer (C2-C5), furaner og enkelte av alkoholene er sekundære oksidasjonsprodukter fra peroksidering av de flerumettede omega-3 og omega-6 fettsyrene som finnes i oljen (**Vedlegg 2**). I tillegg kan noen av de flyktige syrene også stamme fra bakterievekst i råstoffet, som også sulfidene kan indikere, som dannes fra både bakteriell nedbrytning av svovelholdige aminosyrer i råstoffet eller termisk kjemiske reaksjoner under råstoffbehandlingen. Flere av de påviste esterene kan også være bakterielle sekundære metabolitter. Typiske markører for lipid oksidasjon i marine oljer ble funnet, som propanal, 1-penten-3-ol, 1-penten-3-on, tr, tr-heptadienal og 2-etylfuran.

3.2 Komponenter som bidrar til lukt og smak

De fleste av de påviste stoffene, bortsett fra noen av hydrokarbonene, er luktaktive stoffer, har ulik luktkarakter, og som til sammen bidrar til lukt og smak. Det er imidlertid flere forhold som har betydning for i hvilken grad flyktige forbindelser bidrar til lukt/aroma og smak i fiskeoljer: Men det er ikke nødvendigvis forbindelsene med høyest konsentrasjon som vil bidra mest til lukten og smaken til fiskeoljer. Men det er den såkalte *luktværdien* (eng. *Odour Activity Value, OAV*), som er definert ved konsentrasjonen til den luktaktive forbindelsen, delt på den empiriske luktterskelen. Luktterskelen er igjen bestemt av prøvetype/matriks, som bestemmer retensjon og frigjøring av de flyktige forbindelsene. Dermed vil fettløselige flyktige forbindelser ha økt løselighet i en olje, som bidrar til en større retensjon i fettfasen og høyere luktterskel, enn om de hadde forekommet i vann, og omvendt for vannløselige flyktige forbindelser. De empiriske lukttersklene til de ulike stoffklassene påvist (**Tabell 2**), varierer, og i en olje vil de derfor ha en økende luktterskler med økende løselighet i oljen/fettfasen: Aromater > hydrokarboner > furaner > sulfider > alkoholer > aldehyder > ketoner og syrer (**Tabell 3**). Siden aldehyder, ketoner og syrer har lavest luktterskel av de påviste stoffklassene, vil de også gi større bidrag til lukten og smaken av makrell råoljen. De ulike forbindelsene innen hver stoffklasse (**Tabell 2**) vil igjen ha ulike luktterskler i en olje, som vist for aldehydene i **Tabell 3**.

Men det er spesielt aldehydene som bidrar til den karakteristiske harske lukt og smak i fiskeoljer, selv etter raffinering. Den karakteristiske fiskelukt/smak i fiskeoljer kommer mest sannsynligvis fra heksanal, og 1-penten-3-ol i henhold til litteraturen. Flyktige aminer som f.eks. trimetylamin vil oftest også bidra til fiskelukt/smak i både rå og raffinerte fiskeoljer, men disse kunne ikke påvises i råoljen.

Tabell 3 Empiriske luktterskler for de dominerende flyktige forbindelser som kam forekomme i marine oljer (fra Frankel 2005). Stoffklassene 1-6 representerer typiske markører for autooksidasjon av flerumettede ω -3 fettsyrer: 1) 2-Etylfuran, 2) 1-penten-3-ol, 3) 2-Pentenal, 4) Propanal, 5) tr2, tr4-Heptadienal og 6) 1-Penten-3-on representerer.

| Compounds | Thresholds (mg/kg) |
|--|--------------------|
| Hydrocarbons | 90-2150 |
| Substituted furans ¹ | 2-27 |
| Vinyl alcohols ² | 0.5-3 |
| 1-alkenes | 0.02-9 |
| 2-alkenals ³ | 0.04-2.5 |
| Alkanals ⁴ | 0.04-1.0 |
| Trans,trans-2,4-alkadienals ⁵ | 0.04-0.3 |
| Isolated alkadienals | 0.002-0.3 |
| Isolated cis-alkenals | 0.0003-0.1 |
| Trans,cis-alkadienals | 0.002-0.006 |
| Vinyl ketones ⁶ | 0.00002-0.007 |

Men det er spesielt aldehydene som bidrar til den karakteristiske harske lukt og smak i fiskeoljer, selv etter raffinering. Den karakteristiske fiskelukt/smak i fiskeoljer kommer mest sannsynligvis fra heksanal, og og 1-penten-3-ol i henhold til litteraturen. Flyktige aminer som f.eks. trimetylamin vil oftest også bidra til fiskelukt/smak i både rå og raffinerte fiskeoljer, men disse kunne ikke påvises i råoljen.

Bidraget av flyktige komponenter til den samlede lukt og smak til råoljen kan evalueres ved bestemmelse av andelen av de flyktige luktaktive komponenter i råoljen og de sensoriske luktterskler. Det foreligger imidlertid ikke sensorisk analysedata fra denne råoljen til sammenligning med de målte flyktige forbindelsene, men dette vil nærmere undersøkt i arbeidspakke 4. Bruk av de empiriske lukttersklene for beregning av de respektive luktverdiene, vil derfor kun gi et estimat på hvilke forbindelser som vil bidra mest til lukten og smaken til oljen. Empiriske luktterskler finnes for en del av de påviste forbindelsene, men selv data publisert for oljer, viser ofte luktterskler for enkeltforbindelser over et større konsentrasjonsområde, selv for de samme forbindelsene. Dessuten finnes ikke tilstrekkelige data på luktterskler i olje/fettfase på mange av forbindelsene påvist i. I denne rapporten har vi tatt utgangspunkt i data fra Belitz and Grosch 1999, Shahidi 2001 og Frankel 2005. Men pga manglende data på empiriske luktterskler i olje/fettfase av mange av de påviste forbindelsene, har det ikke latt seg gjøre å foreta en kvantifisering av luktverdier for alle forbindelsene for å komme frem til de viktigste aromakomponentene i oljen. Men med utgangspunkt i de målte konsentrasjoner, konsentrasjonen, fettløselighet til stoffene, eksisterende luktterskler og litteraturdata på tilsvarende flyktige forbindelse påvist i marine råoljer, kan man konkludere at det vil være de flyktige aldehydene og syrene som vil bidra mest til lukt og smak av råoljen. Av aldehydene var det 2-propenal og butanal som hadde de høyeste luktverdiene, etterfulgt av heksanal, tr,2-pentenal, oktanal, 2-butenal og tr, cis-2,4-heptadienal.

4 Konklusjon

Det er analysert flyktige forbindelser i råolje fra makrell restråstoff for å påvise komponenter som kan bidra til lukt og smak i råoljen. For analyse av flyktige komponenter ble det benyttet dynamisk headspace gasskromatografi massespektrometri (DHS-GC/MS). Det ble samlet opp 2 liter gass på aktivt kull ved 70 °C under nitrogen i 20 minutter som ble overført via automatisk termisk desorpsjon til en gasskromatograf, etterfulgt av gasskromatografisk separasjon av de flyktige forbindelsene og identifisering ved hjelp av massespektrometri.

Det ble funnet mest hydrokarboner (41,3 %), derav flest enumettede hydrokarboner, alkoholer (17,2 %), syrer (15,3 %), aldehyder (9,3 %), sulfider/tioler (8 %), ketoner (2,8 %), furaner (1,8 %), aromater (2,1 %) og 1,9 % andre forbindelser der 3 forbindelser ikke lot seg identifisere. 18 komponenter med høyest konsentrasjon utgjorde hele 75 % av total konsentrasjonen flyktige forbindelser målt. Høyest forekomst ble funnet for 2,4,6,10-pentadekan (trivialnavn: pristan), som utgjorde 33 % av totalkonsentrasjonen flyktige forbindelser. Deretter fulgte dimetyldisulfid, 2,4-dimetyl-1,3-pentadien, 1-butanol, 4-metyl-pentansyre og cis, cis-3,5-oktadien.

De fleste påviste hydrokarboner, aldehyder, ketoner, syrer (C2-C5), furaner og enkelte av alkoholene er sekundære oksidasjonsprodukter fra peroksidering av de flerumettede omega-3 og omega-6 fettsyrene som finnes i oljen. I tillegg kan noen av de flyktige syrene også stamme fra bakterievekst i råstoffet, som også sulfidene kan indikere, som dannes fra både bakteriell nedbrytning av svovelholdige aminosyrer i råstoffet eller termisk kjemiske reaksjoner under råstoffbehandlingen. Flere av de påviste esterene kan også være bakterielle sekundære metabolitter. Typiske markører for lipid oksidasjon i marine oljer ble funnet, som propanal, 1-penten-3-ol, 1-penten-3-on, tr, tr-heptadienal og 2-etylfuran.

De fleste av de påviste stoffene, bortsett fra noen av hydrokarbonene, er luktaktive stoffer, har ulik luktkarakter, og som til sammen vil bidra til lukt og smak av råoljen. Men pga manglende data på empiriske luktterskler i olje/fettfase av mange de påviste forbindelsene, har det ikke latt seg gjøre å foreta en kvantifisering av luktverdier for alle forbindelsene for å komme frem til de viktigste aromakomponentene i oljen. Med utgangspunkt i de målte konsentrasjoner, fettløselighet til stoffene, eksisterende luktterskler og litteraturdata på tilsvarende flyktig forbindelse påvist i marine råoljer, kan vi konkludere at det vil være aldehydene og syrene som vil bidra mest til lukt og smak av råoljen. Av aldehydene var det 2-ppopenal og butanal som hadde de høyeste luktverdiene, etterfulgt av heksanal, tr,2-pentenal, oktanal, 2-butenal og tr, cis-2,4-heptadienal.

5 Referanser

- Belitz, H.D. and W. Grosch 1999. Food Chemistry, Springer Verlag, München. ISBN 10: 3540646922
- Frankel, E.N. 2005. Lipid Oxidation. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge UK, ISBN 978-0-9531949-8-8.
- Olsen, E., Vogt, G., Veberg, A., Ekeberg, D., and A. Nilsson 2005. Analysis of early lipid oxidation in smoked, comminuted pork or poultry sausages with spices. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53: 7448-74457.
- McKenna EJ and Kallio RE, Microbial metabolism of the isoprenoid alkane pristene 1071. *Proceedings of National Academy of Science USA* 68:1552–1554.
- Reid, A.J. and S.M. Budge 2014. Identification of unresolved complex mixtures (UCMs) of hydrocarbons in commercial fish oil Supplements. *Journal the Science of Food Agriculture* 95: 423–428
- Shahidi , F. 2001. Headspace Volatile Aldehydes as Indicators of Lipid Oxidation in foods. In: R.L. Rouseff and K.R. Cadwallader (eds.): *Headspace analysis of foods and flavors. Theory and practice.* (ISBN 0306465612), p. 113-123.
- Song. G., Dai, Z., Shen,Q., Peng, X and M. Zhang 2018. Analysis of the Changes in Volatile Compound and Fatty Acid Profiles of Fish Oil in Chemical Refining Process. *European Journal of Lipid Science and Technology* 120, 1700219.
- Sørensen, N.A. and J. Mehlum 1948. *Acta Chimica Scandinavica* 2, 140.
- Sørensen, J. and N.A. Sørensen 1949. *Acta Chimica Scandinavica* 3, 939.
- Taati, M.M., Shabanpour, B. and O. Mehdi 2017. Extraction of oil from tuna by-product by supercritical fluid extraction (SFE) and comparison with wet reduction method. *AAFL Bioflux*, 2017, Volume 10, Issue 6.
- Volkman, J.K., Holdsworth, D.G., Neill, G.P. and Jr. H.J. Bavor 1992. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. *Science of the Total Environment* 112:203–219.

6 Vedlegg

Vedlegg 1

Epax Norway AS
Postboks 2047

6028 Ålesund

Att: Beate Stokkereit



Nofima BioLab
Kjerreidviken 16
NO-5141 Fyllingsdalen
Tlf +47 55 50 12 00
www.nofima.no

Org. nr. NO 989 278 836 VAT

Fyllingsdalen, 06.02.2018

Ref.: 2018/0608/2

ANALYSEBEVIS

Mottaksdato: 31.01.2018
Analyse av: Prøve merket Makrellolje, A18-041
Ref:

Analysert: 05.02.2018 - 06.02.2018

Analyseresultater

| Prøvenummer BioLab Kundens merking | | 2018-00608-01 A18-041 | | |
|---------------------------------------|----------------------|--------------------------|--|--|
| A07 Frie fettsyrer | % | 0,5 | | |
| A13 Vann (Karl Fischer) | % | 0,11 | | |
| A11 Smuss | % | 0,02 | | |
| A09 Anisidintall | | 3,4 | | |
| A10 Peroksid tall | meq peroksid/kg olje | 3,3 | | |

Jarle Wang-Andersen
Leder BioLab

Resultatene gjelder kun de analyserte prøver. De kan ikke gjengis i utdrag uten vårt samtykke.
Vennligst kontakt oss hvis opplysninger om analyseusikkerhet ønskes tilsendt.
Metodereferanser for akkrediterte analyser: <http://nofima.no/forskningsanlegg/biolab>

Vedlegg 2



Nofima BioLab
Kjerreidviken 16
NO-5141 Fyllingsdalen
Tlf +47 55 50 12 00
www.nofima.no

Org. nr. NO 989 278 835 VAT

Epax Norway AS
Postboks 2047

6028 Ålesund

Att: Beate Stokkerei

Fyllingsdalen, 05.02.2018

Ref.: 2018/0608/0

ANALYSEBEVIS

Mottaksdato: 31.01.2018
Analyse av: Prøve merket Makrellolje, A18-041
Ref:

Analysert: 01.02.2018 - 05.02.2018

Analyseresultater

| Prøvenummer BioLab Kundens merking | | 2018-00608-01 A18-041 | | |
|---------------------------------------|--------|--------------------------|--|--|
| A68 14:0 | g/100g | 6,7 | | |
| A68 16:0 | g/100g | 12,3 | | |
| A68 18:0 | g/100g | 1,8 | | |
| A68 20:0 | g/100g | 0,2 | | |
| A68 22:0 | g/100g | 0,1 | | |
| A68 16:1 n-7 | g/100g | 3,7 | | |
| A68 18:1 (n-9)+(n-7)+(n-5) | g/100g | 12,3 | | |
| A68 20:1 (n-9)+(n-7) | g/100g | 10,1 | | |
| A68 22:1 (n-11)+(n-9)+(n-7) | g/100g | 15,3 | | |
| A68 24:1 n-9 | g/100g | 1,0 | | |
| A68 16:2 n-4 | g/100g | 0,4 | | |
| A68 16:3 n-4 | g/100g | 0,1 | | |
| A68 18:2 n-6 | g/100g | 1,6 | | |
| A68 18:3 n-6 | g/100g | 0,2 | | |
| A68 20:2 n-6 | g/100g | 0,3 | | |
| A68 20:3 n-6 | g/100g | 0,1 | | |
| A68 20:4 n-6 | g/100g | 0,4 | | |
| A68 22:4 n-6 | g/100g | 0,1 | | |
| A68 18:3 n-3 | g/100g | 1,3 | | |
| A68 18:4 n-3 | g/100g | 4,3 | | |
| A68 20:3 n-3 | g/100g | 0,2 | | |
| A68 20:4 n-3 | g/100g | 1,1 | | |
| A68 20:5 n-3 | g/100g | 7,4 | | |
| A68 21:5 n-3 | g/100g | 0,5 | | |
| A68 22:5 n-3 | g/100g | 1,3 | | |
| A68 22:6 n-3 | g/100g | 10,8 | | |

Jarle Wang Andersen
Leder BioLab

Resultatene gjelder kun de analyserte prøver. De kan ikke gjengis i utdrag uten vårt samtykke.
Vennligst kontakt oss hvis opplysninger om analyseusikkerhet ønskes tilsendt.
Metodereferanser for akkrediterte analyser: <http://nofima.no/forskningsanlegg/biolab>

Epax Norway AS
Postboks 2047

6028 Ålesund

Att: Beate Stokkerei

Fyllingsdalen, 05.02.2018

Ref.: 2018/0608/1

ANALYSEBEVIS

Mottaksdato: 31.01.2018
Analyse av: Prøve merket Makrellolje, A18-041
Ref:

Analysert: 01.02.2018 - 05.02.2018

Analyseresultater

| Prøvenummer BioLab Kundens merking | | 2018-00608-01 A18-041 | | |
|---------------------------------------|--------|--------------------------|--|--|
| A68 Sum mettede fettsyrer | g/100g | 21,1 | | |
| A68 Sum monoene fettsyrer | g/100g | 42,4 | | |
| A68 Sum PUFA (n-6) fettsyrer | g/100g | 2,7 | | |
| A68 Sum PUFA (n-3) fettsyrer | g/100g | 26,9 | | |
| A68 Sum PUFA fettsyrer totalt | g/100g | 30,1 | | |
| A68 Sum identifiserte fettsyrer | g/100g | 93,6 | | |

Fettsyresultatene er beregnet som fettsyreemylestere.


Jarle Wang-Andersen
Leder BioLab

Resultatene gjelder kun de analyserte prøver. De kan ikke gjengis i utdrag uten vårt samtykke.
Vennligst kontakt oss hvis opplysninger om analyseusikkerhet ønskes tilsendt.
Metodereferanser for akkrediterte analyser: <http://nofima.no/forskningsanlegg/biolab>

