

Varmebehandling av makrell

Effekt på proteinstabilitet

Christina Grønstad

Industriell kjemi og bioteknologi

Innlevert: juni 2015

Hovedveileder: Turid Rustad, IBT

Medveileder: Inger Beate Standal, SINTEF

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for bioteknologi

Forord

Denne masteroppgaven er skrevet som en del av den 5-årige utdanningen i industriell kjemi og bioteknologi ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Arbeidet har foregått på institutt for bioteknologi og avdeling for næringsmiddelkjemi.

Jeg vil rette en stor takk til min veileder, professor Turid Rustad, som har vært til stor hjelp med teori og litteratur, det eksperimentelle og veiledning til skrivingen av oppgaven. Jeg vil også rette en takk til min medveilder, Dr. Inger Beate Standal ved SINTEF Fiskeri og havbruk, for hjelp med utvikling av oppgaven, planlegging og preparering av prøver.

Også må jeg takke alle som har vært involvert i det praktiske arbeidet med oppgaven. Takk til Trude Johansen (Avdelingsingeniør) for opplæring i metoder og Maiken J. Lindgjerdet-Grøndtveit (Laboratorieassistent) for hjelp på næringsmiddelkjemilaboratoriet. Takk til Marte Schei (Ingeniør) og Revilija Mozuraityte (Forsker) hos SINTEF Fiskeri og havbruk for hjelp til preparering av prøver. Takk til Hans Fredrik Kvitvang (Forsker) og Anders Brunsvik (M.Sc.) fra SINTEF Materialer og kjemi for veiledning til preparering av prøver og gjennomføring av headspace GC-MS analyser. Takk til Kåre A. Kristiansen (Overingeniør) ved NTNU og Torunn Holten (Senior ingeniør) ved SINTEF Materialer og kjemi for hjelp med resultatene fra headspace GC-MS. Og så vil jeg rette en takk til Marita Helen Kvammen (Product developer), bedriftskontakt hos Orkla Foods Norge, for veiledning med oppgaven, og Orkla Foods Norge for gjennomføring av sensorisk analyse.

Til slutt vil jeg si takk til min familie og mine venner for støtte og gode råd, tips og triks underveis.

Sammendrag

Denne masteroppgaven er skrevet som en del av *The ProHealthPelagic Project* som er ledet av SINTEF Fiskeri og havbruk AS. Målet med oppgaven er å studere kvalitetsendringer ved varmebehandling av makrell (*Scomber scombrus*). Kvalitetsendringene ble målt som endringer i proteinløselighet, oksidasjon (reduksjon i SH grupper), sensorikk og endring i flyktige forbindelser.

Det har blitt gjennomført et kartleggingsforsøk hvor målet var å finne ut hvilke temperaturer som kunne være interessante å studere videre. I det neste forsøket ble det laget mildere varmebehandlet makrell og makrell i tomat i vakuumposer som det ble målt vanninnhold, endringer i proteinløselighet og endringer i proteinoksidasjon på. I et tredje forsøk ble det laget mildere varmebehandlet og hermetisert makrell i tomat i hermetikkbokser. Endringer i flyktige forbindelser og sensoriske analyser ble undersøkt for disse prøvene i tillegg til prøver av Stabbur-Makrell fra ordinær produksjon og nyprodusert Stabbur-Makrell.

Innholdet av løselige proteiner etter varmebehandling var høyest ved 60°C for prøvene med makrell i tomatsaus, mens prøvene med makrell uten saus hadde høyest innhold av løselige proteiner ved 70°C. Mengde vann- og saltløselig protein var generelt lavere for prøvene som ble varmebehandlet på 80 og 90°C. Resultatene tyder på at det er en fordel å varmebehandle makrell i tomat ved en temperatur som er lavere enn 70°C for å unngå for kraftig denaturering av proteinene slik at produktet beholder sin saftighet. Vannløselige proteiner avtok med tiden for prøvene med makrell som var varmebehandlet på 60 og 80°C. For prøvene med makrell i tomatsaus var det varmebehandling ved 70°C som viste en tydelig trend hvor innholdet av vannløselige proteiner avtok med tiden.

Det var mindre oksidering av proteiner i prøvene som ble varmebehandlet på 60 og 70°C, enn for prøvene som ble varmebehandlet på 80 og 90°C.

1-heptanol, eddiksyre, pristane og smørsyre ble funnet i de mildere varmebehandlede prøvene av makrell i tomat med headspace GC-MS analyse. For prøvene av nyprodusert Stabbur-Makrell ble disse fire forbindelsene funnet, i tillegg til fire andre forbindelser. Det ble totalt funnet åtte forbindelser. Hvilke forbindelser de nyproduserte Stabbur-Makrell prøvene inneholdt varierte, noe som viser at det skjer endringer i produktet når det blir lagret etter varmebehandling. Av de åtte forbindelsene ble 1-heptanol funnet i 17 av 18 prøver.

Sammenligninger gjort fra uttak 1 og uttak 4 for sensorisk analyse viste at bilukten og fiskesmaken til V-85 gikk ned. Den hermetiserte prøven viste nedgang i hvithet og en liten nedgang i fiskesmak. Nyprodusert Stabbur-Makrell hadde en liten nedgang i bismak, mens standard Stabbur-Makrell hadde en liten nedgang i fiskesmak. Alle prøvene fra alle uttakene

ble lagt sammen og fremstilt i et spindelvevplott. Makrell i tomat som ble varmebehandlet på 85°C skilte seg ut fra de andre prøvene for alle de sensoriske egenskapene som ble undersøkt. Variansanalyse viste at tyggemotstand og fasthet var motsatt korrelert mot hvithet og fiskesmak ($p=0,017$). Prøvene som ble varmebehandlet på 85°C hadde høyest verdier for hvithet.

Abstract

This master thesis is written as a part of *The ProHealthPelagic Project*, which is supervised by SINTEF Fisheries and Aquaculture. The aim of this thesis is to study the quality changes in Mackerel (*Scomber scombrus*) after heat treatment. Changes in protein solubility, oxidation (reduction of SH-groups), sensory analysis, and volatile compounds are the quality parameters that were studied.

By doing a mapping experiment, the temperatures suited for further studies were determined. In the next experiment, samples of mackerel and mackerel in tomato sauce were prepared in plastic vacuum bags by heating at mild temperatures. Water content, changes in protein solubility, and changes in protein oxidation was measured. In a third experiment, mackerel in tomato sauce was prepared in tin cans by mild heat treatment and canning. Changes in volatile compounds was measured, and sensory analysis was carried out for these samples, including Stabbur-Makrell from ordinary production and freshly produced Stabbur-Makrell.

Sample 70U2 had the highest content of water soluble proteins (1,07%), while sample 60M2 had the highest content of salt soluble proteins (0,49%). The lowest contents of water and salt soluble proteins were, in general, found in the samples which were heated at 80 and 90°C. These results imply that heating of mackerel in tomato sauce at temperatures below 70°C should be considered, to avoid too much denaturation of proteins, keeping the product juicy. In the samples with plain mackerel, which were heated at 60 and 80°C, there was a decrease in water soluble proteins with time. For samples containing mackerel in tomato sauce, heated at 70°C, there was also a decrease in water soluble proteins with time.

There was less protein oxidation in samples which were heated at 60 and 70°C compared to those heated at 80 and 90°C.

1-heptanol, acetic acid, pristane, and butanoic acid was detected in the samples of mackerel in tomato sauce, which were heated at mild temperatures, by analyzing the samples with headspace GC-MS. The samples of freshly produced Stabbur-Makrell contained these four compounds, and four more. Eight compounds were detected in total. Which compounds the freshly produced Stabbur-Makrell contained, varied with storage time. This shows that there are changes within the product, which occurs when it is stored after heat treatment. Out of the eight compounds, 1-heptanol was detected in 17 out of 18 samples.

By comparing the sensory analysis results from week 1 and week 4, there was a decrease in off-odor and fish flavor in the V-85 sample. The canned sample showed a decrease in whiteness, and a small decrease in fish flavor. A small decrease in bi-flavor was detected for freshly produced Stabbur-Makrell, while for Stabbur-Makrell from the original production

there was a small decrease in fish flavor. All samples from all weeks were added, and showed in a spindle plot. Mackerel in tomato sauce, which was heated at 85°C, stood out from the rest of the samples for all sensory attributes which was analyzed. Variance analysis of the sensory results showed that the chewing resistance and firmness were oppositely correlated to whiteness and fish flavor ($p=0,017$). The samples heated at 85°C showed the highest values for whiteness.

Forkortelser

| | |
|---------------|---|
| AMDIS | Automatic Mass spectral Deconvolution and Identification System |
| ANOVA | Variansanalyse (analysis of variance) |
| BGG | Bovint gamma globulin |
| DHA | Dokosaheksaensyre |
| DTNB | 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoat) |
| D-verdi | Desimal reduksjonstid |
| EPA | Eikosapentaensyre |
| GC-MS | Gasskromotografi-massespektrometri |
| KCl | Kaliumklorid |
| NaCl | Natriumklorid |
| NAG | β -N-glukosaminidase |
| NIST | National Institute of Standards and Technology Mass Spectral Database |
| PCA | Prinsipal komponent analyse (principal component analysis) |
| R-SH | Reaktive sulfhydrylgrupper |
| RSW | Nedkjølt sjøvann |
| SH-grupper | Sulfhydrylgrupper |
| SS | Saltløselig (salt soluble) |
| S-S-bindinger | Disulfidbindinger |
| TDT-kurve | Termisk dødstidskurve |
| TNB | 2-nitro-5-thiobenzoat |
| T-SH | Totale sulfhydrylgrupper |
| WP1-4 | Arbeidspakke 1-4 |
| WS | Vannløselig (water soluble) |

Innhold

| | |
|--|------------|
| Forord | i |
| Sammendrag | iii |
| Abstract | v |
| Forkortelser og symbolliste | vii |
| Figurer | xiv |
| Tabeller | xv |
| | |
| 1 INNLEDNING | 1 |
| | |
| 2 INTRODUKSJON | 3 |
| 2.1 Generell bakgrunn | 3 |
| 2.1.1 ProHealthPelagic prosjektet | 3 |
| 2.1.2 Håndtering av makrell fra fiskebåt til ferdig produkt | 4 |
| 2.2 Makrell som art | 5 |
| 2.3 Fiskemuskelens sammensetning og oppbygging | 7 |
| 2.3.1 Anatomi | 7 |
| 2.3.2 Vann i fiskemuskel | 8 |
| 2.4 Kvalitet | 9 |
| 2.4.1 Definisjon av kvalitet | 9 |
| 2.4.2 Forhold som påvirker kvalitet | 9 |
| 2.5 Varmebehandling | 12 |
| 2.5.1 Varmebehandling av proteiner | 13 |
| 2.5.2 Mikrobiologiske utfordringer og effekten av varme på mikroorganismer | 17 |
| 2.5.3 Varmebehandlingsmetoder | 20 |
| 2.6 Headspace GC-MS | 21 |
| 2.7 Sensorikk | 23 |
| 2.7.1 Sansene | 23 |
| 2.7.2 Metoder | 24 |
| 2.8 Tidligere arbeid | 26 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 3 | MATERIALER OG METODER | 29 |
| 3.1 | Varmebehandlingsforsøk | 29 |
| 3.1.1 | Kartleggingsforsøk | 29 |
| 3.1.2 | Varmebehandling i vakuumposer | 32 |
| 3.1.3 | Varmebehandling i hermetikkbokser | 35 |
| 3.2 | Headspace GC-MS | 37 |
| 3.3 | Sensorisk analyse | 38 |
| 3.4 | Analysemetoder | 39 |
| 3.4.1 | Vann- og saltløselige proteiner, bestemmelse av proteininnhold | 39 |
| 3.4.2 | Vann- og tørrstoffinnhold | 39 |
| 3.4.3 | Kvantifisering av SH-grupper | 40 |
| 3.4.4 | Headspace GC-MS | 41 |
| 3.4.5 | Sensorikk | 41 |
| 4 | RESULTATER OG DISKUSJON | 43 |
| 4.1 | Kartleggingsforsøk | 43 |
| 4.1.1 | Proteinløselighet | 43 |
| 4.1.2 | Kvantifisering av SH-grupper | 46 |
| 4.2 | Varmebehandling i vakuumposer | 49 |
| 4.2.1 | Temperaturlogg | 49 |
| 4.2.2 | Vanninnhold | 52 |
| 4.2.3 | Proteinløselighet | 53 |
| 4.2.4 | Kvantifisering av SH-grupper | 61 |
| 4.3 | Varmebehandling i hermetikkbokser | 68 |
| 4.3.1 | Headspace GC-MS | 68 |
| 4.3.2 | Sensorikk | 72 |
| 5 | KONKLUSJON | 79 |
| 6 | VIDERE ARBEID | 81 |
| | Referanser | 83 |
| A | Stekeskjema fra varmebehandling i vakuumposer | A.1 |
| B | Stekeskjema fra varmebehandling i hermetikkbokser | B.2 |
| C | Ekstraksjon av vann- og saltløselig protein | C.3 |

| | | |
|----------|--|-------------|
| D | Bio-Rad metoden | D.4 |
| E | Vann- og tørrstoffinnhold | E.5 |
| F | Kvantifisering av SH-grupper | F.6 |
| G | Skjema for sensorikk | G.7 |
| H | Beregningseksempler | H.8 |
| | H.1 Vann- og saltløselig protein | H.8 |
| | H.2 SH-grupper | H.11 |
| | H.3 Vanninnhold | H.13 |
| | H.4 P-verdi | H.14 |
| | H.5 Korrelasjon | H.17 |
| I | Kartleggingsforsøk: Plott av SH-grupper | I.19 |
| J | Headspace GC-MS resultater | J.20 |

Figurer

| | | |
|------|---|----|
| 2.1 | Atlantisk makrell | 6 |
| 2.2 | Tverrsnitt og langsgående snitt av en fisk | 8 |
| 2.3 | Reaksjonsligning for omdannelsen av histidin til histamin | 11 |
| 2.4 | Omega-3 fettsyrer | 12 |
| 2.5 | Myofibrillstruktur | 15 |
| 2.6 | Reaksjonsligning for dannelsen av TNB fra DTNB | 17 |
| 2.7 | Dødsratekurve og termisk dødstidkurve | 19 |
| 3.1 | Kartleggingsforsøk - filetering av makrell | 30 |
| 3.2 | Flytskjema over kartleggingsforsøket | 31 |
| 3.3 | Flytskjema over varmebehandling i vakuumposer | 33 |
| 3.4 | Preparering av prøve til proteinekstraksjon | 34 |
| 3.5 | Prøvepreparering for homogenisering av makrell i tomat fra varmebehandlingsforsøk i hermetikkbokser | 36 |
| 3.6 | Preparering av prøver til headspace GC-MS | 37 |
| 3.7 | Analyse av vanninnhold | 40 |
| 4.1 | Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt - kartleggingsforsøk | 44 |
| 4.2 | Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt - kartleggingsforsøk | 44 |
| 4.3 | Totalt løselig protein i ekstrakt - kartleggingsforsøk | 45 |
| 4.4 | Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/g våtvekt for vann- og saltløselig protein - kartleggingsforsøk | 46 |
| 4.5 | Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein for vann- og saltløselig protein - kartleggingsforsøk | 48 |
| 4.6 | Temperaturkurve for varmebehandling på 60°C og holdetid 10 minutter | 50 |
| 4.7 | Temperaturkurve for varmebehandling på 70°C og holdetid 10 minutter | 50 |
| 4.8 | Temperaturkurve for varmebehandling på 80°C og holdetid 10 minutter | 51 |
| 4.9 | Temperaturkurve for varmebehandling på 90°C og holdetid 10 minutter | 51 |
| 4.10 | Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, 60°C | 54 |
| 4.11 | Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, 70°C | 54 |
| 4.12 | Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, 80°C | 55 |
| 4.13 | Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, 90°C | 55 |
| 4.14 | Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, 60°C | 58 |
| 4.15 | Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, 70°C | 58 |
| 4.16 | Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, 80°C | 59 |
| 4.17 | Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, 90°C | 59 |
| 4.18 | Konsentrasjon av SH-grupper fra vannløselig protein for makrell uten saus | 62 |
| 4.19 | Konsentrasjon av SH-grupper fra vannløselig protein for makrell med tomatsaus | 62 |
| 4.20 | Konsentrasjon av SH-grupper fra saltløselig protein for makrell uten saus | 63 |

| | | |
|------|---|------|
| 4.21 | Konsentrasjon av SH-grupper fra saltløselig protein for makrell med tomatsaus | 63 |
| 4.22 | Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein for vannløselig protein i makrell uten saus | 65 |
| 4.23 | Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein for vannløselig protein i makrell med tomatsaus | 65 |
| 4.24 | Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein for saltløselig protein i makrell uten saus | 66 |
| 4.25 | Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein for saltløselig protein i makrell med tomatsaus | 66 |
| 4.26 | Kromatogram for nyprodusert Stabbur-Makrell | 69 |
| 4.27 | Massespekter for 1-heptanol | 70 |
| 4.28 | Resultat fra sensorisk profilering, uttak 1-4 | 72 |
| 4.29 | Resultat fra sensorisk profilering, gjennomsnitt av alle uttak | 74 |
| 4.30 | ANOVA plott fra sensorisk analyse av egenskapene | 77 |
| 4.31 | ANOVA plott fra sensorisk analyse av egenskapene og prøvene | 78 |
| A.1 | Stekeskjema for varmebehandling av makrell og makrell i tomat | A.1 |
| B.1 | Varmebehandling av makrell i tomat i hermetikkbokser | B.2 |
| G.1 | Skjema for sensorisk analyse av makrell i tomat | G.7 |
| H.2 | t-verdi tabell | H.16 |
| H.3 | Korrelasjonstabell | H.18 |
| I.4 | Konsentrasjonen av SH-grupper som mmol/mg protein for alle prøver i kartleggingsforsøk | I.19 |
| J.5 | Respons plottet etter analyserekkefølge - 28. mai | J.20 |
| J.6 | Respons plottet etter analyserekkefølge - 10. juni | J.21 |

Tabeller

| | | |
|-----|--|-----|
| 2.1 | Gjennomsnittlig sammensetning av den spiselige delen av fisk | 7 |
| 2.2 | Verdier for makrell fra headspace GC-MS analyse | 22 |
| 3.1 | Prøver brukt til headspace GC-MS | 37 |
| 3.2 | Informasjon om prøver til sensorisk analyse | 38 |
| 4.1 | Temperaturlogging fra varmebehandling i vakuumposer | 49 |
| 4.2 | Vanninnhold i råstoff og varmebehandlet makrell og makrell i tomat | 52 |
| 4.3 | Proteininnhold i råstoff | 53 |
| 4.4 | Forbindelser detektert med headspace GC-MS - del 1 | 69 |
| 4.5 | Samlede resultater fra sensorisk analyse | 75 |
| D.1 | Standardkurve | D.4 |

1 INNLEDNING

I november 2012 ble det satt i gang et prosjekt som kalles «Preserving the Positive Health Effects in Innovative Pelagic Fish Products Through the Value Chain» som forkortes til «The ProHealthPelagic Project». Dette er et forskningsprosjekt ledet av SINTEF Fiskeri og havbruk AS i samarbeid med NTNU, DTU og Chalmers som er finansiert av Forskningsrådet. Hovedmålet med dette prosjektet er å bevare de helsefremmende komponentene i tradisjonelle og nyere produkter fra pelagisk fisk gjennom verdikjeden for dermed å øke inntaket av sild og makrell.

Det er anbefalt å spise fisk 2-3 ganger i uken (ca. 200 g/uke). Selv om gjennomsnittsinntaket av fisk er høyt i Norge (ca. 6 g/dag for en voksen), så består 2/3 av mager fisk [1]. Fet fisk er en god kilde til viktige næringsstoffer slik som omega-3 fettsyrer og vitamin D. En måte å øke inntaket av fet fisk hos befolkningen er å oppfordre flere til å spise fiskeprodukter laget av fete fiskeslag på brødskiva. Orkla Foods Norges produkt *Stabbur-Makrell Filet i tomatsaus* er et av de mest spiste fiskeproduktene på brødskiva blant nordmenn. Produkter som ligger kjølig i butikk er mer populære hos forbrukerne sammenlignet med andre typer pålegg som ikke krever kjølelagring. Derfor ønsker Orkla Foods Norge å lage et nytt produkt som passer inn i kjøledisken som er mildere varmebehandlet, men som fortsatt skal ha den gode, velkjente smaken av Stabbur-Makrell.

Et mildere varmebehandlet makrell i tomat produkt vil antagelig ha litt andre egenskaper enn klassisk hermetisert Stabbur-Makrell. Et nyprodusert hermetisert Stabbur-Makrell produkt har en uønsket bismak rett etter produksjon og det må ligge lagret i omtrent 14 dager for å få ønsket smaksprofil. Dette er en av utfordringene som det må tas hensyn til ved produksjon av et ferskt Stabbur-Makrell produkt. Ved mildere varmebehandling lukter produktet mer fisk og mindre tomat enn klassisk Stabbur-Makrell [2]. Produkter som har vært mildere varmebehandlet kunne forventes å ha lavere holdbarhet og det er derfor viktig at slike produkter når butikkhyllene raskt etter produksjon. Det er derfor ønskelig å undersøke nærmere hva som skjer med produktet ved mildere varmebehandling og hva som kan bidra til å skape slik bismak.

Målet med denne masteroppgaven har vært å studere kvalitetsendringer ved varmebehandling av makrell (*Scomber scombrus*), med og uten tomatsaus. Kvalitetsendringene ble målt som endringer i proteinløselighet, oksidasjon (reduksjon i SH grupper), sensorikk og endring i flyktige forbindelser.

2 INTRODUKSJON

2.1 Generell bakgrunn

2.1.1 ProHealthPelagic prosjektet

«The ProHealthPelagic Project» er et forskningsprosjekt ledet av SINTEF Fiskeri og havbruk AS i samarbeid med NTNU, DTU og Chalmers som er finansiert av Forskningsrådet. I tillegg til disse samarbeidspartnerne har også næringslivet tatt del i prosjektet, og bedriftene som er med på dette er: Orkla Foods Norge, Orkla Foods Sverige, Athena Seafoods og Hopen Fisk AS. ProHealthPelagic prosjektet ble startet opp i november 2012 og avsluttes i august 2015.

Hovedmålet med ProHealthPelagic prosjektet har vært å bevare de helsefremmende komponentene i tradisjonelle og nyere produkter fra pelagisk fisk gjennom verdikjeden. Målet med dette er å øke inntaket av sild og makrell i Skandinavia, og særlig i Norge og i den yngre delen av befolkningen. Inntak av større mengder sunn mat vil gi bedre helse. Pelagisk fisk, slik som sild og makrell, har et høyt innhold av omega-3 fettsyrer, verdifulle proteiner samt flere vitaminer. Prosjektet har hatt fire delmål. Det første delmålet har handlet om å kartlegge i hvilke prosesstrinn de største utfordringene for stabiliteten til omega-3 fettsyrer, enumettede fettsyrer, vitamin D, proteiner, dipeptider og aminosyrer ligger, med tanke på håndtering og produksjon av saltede/marinerte og hermetiserte produkter av henholdsvis sild og makrell. Et annet delmål har vært å bestemme hvordan stabiliteten til omega-3 fettsyrer, vitamin D, proteiner, dipeptider og frie aminosyrer påvirkes ved å bruke nyere prosesser hvor det for eksempel brukes frossent råmateriale, en reduksjon av saltinnhold, modifisert varmebehandling og tilsats av naturlige antioksidanter. Et tredje delmål gikk ut på å forstå de biokjemiske endringene som skjer når nyere prosesseringsmetoder benyttes og hvordan disse er relaterte til sensorisk kvalitet. Det fjerde og siste delmålet handlet om hvordan formidling til forbrukerne av helsefremmende egenskaper som produkter laget av pelagisk fisk innehar ville øke etterspørselen av slike produkter, og om dette har medvirket til en økning i forbruket av slike produkter. Den norske og europeiske befolkningen har et svært høyt inntak av salt (natriumklorid, NaCl) og det er et behov for å utvikle produkter som inneholder mindre salt. Derfor kan dette prosjektet bidra til å redusere saltinntaket og samtidig øke konsumet av høykvalitets umettet fett som kommer fra pelagisk fisk.

Prosjektet er delt opp i fire arbeidspakker som har sett på hvert sitt ledd i produksjonen av produktet. Arbeidspakke 1, WP1, har tatt for seg råstoff, kvalitet og helserelaterte aspekter. Hovedmålet har vært å kartlegge sesongvariasjonene i sild og makrell for forskjellige utvalgte helsefremmende komponenter og generelle kvalitetsparametere, samt bestemme lagringsbetingelser for fersk og frossen fisk som skulle studeres i de tre andre arbeidspakkene.

Frysing og tining av råstoff har også blitt studert her. Arbeidspakke 2, WP2, har tatt for seg produksjonen av produkter laget av sild og makrell ved å bruke tradisjonelle og modifiserte metoder. Målet har vært å evaluere hvordan mulige modifikasjoner av salting, marinering og hermetisering påvirker helsefremmende komponenter, sensorisk kvalitet og holdbarheten til saltet, marinert sild og hermetiske makrellprodukter. Arbeidspakke 3, WP3, har tatt for seg markedet og forbruker. Det har blitt sett nærmere på undersøkelser som handler om forbrukerens oppfatning av produktet og sensorisk kvalitet av sild- og makrellprodukter. Arbeidspakke 4, WP4, har omhandlet mekanistiske studier hvor det har blitt studert hvilken effekt nye produksjonsmetoder har på proteiner og lipider i mat. Effekten av fryselagring og tining, marinering med mindre salt, temperaturforandringer under hermetisering og tilsats av antioksidanter har blitt studert for å se hvordan dette påvirker kvaliteten og innholdet av omega-3 fettsyrer, proteiner, vannløselige peptider og aminosyrer i sild- og makrellprodukter.

Denne masteroppgaven har vært en del av WP2 og WP4, hvor målet har vært å studere kvalitetsendringer ved varmebehandling av makrell, med og uten tomatsaus. Kvalitetsendringene ble målt som endringer i proteinløselighet, oksidasjon (reduksjon i SH grupper), sensorikk og endring i flyktige forbindelser.

2.1.2 Håndtering av makrell fra fiskebåt til ferdig produkt

Orkla Foods Norge produserer blant annet produktet «Stabbur-Makrell Filet i tomatsaus». Hovedingrediensen i dette produktet, makrellen, er en råvare som avhenger av sesong og det produseres Stabbur-Makrell fra fersk fisk to perioder i året, om høsten og vinteren. Den frosne makrellen som blir brukt av Orkla Foods Norge lagres ikke på fabrikken i Kungshamn, men hos leverandør mesteparten av lagringstiden. I 2013 ble det fanget omtrent 164 608 tonn atlantisk makrell av norske fiskebåter [3]. Når fisken fanges blir den lagret i tanker på båten med nedkjølt sjøvann (RSW). Disse tankene fungerer slik at de kjøler ned en viss mengde makrell til temperaturen blir omtrent -1°C på vei tilbake til land. Når fisken ankommer land blir den sjekket og enten pakket rund i pappesker som rommer omtrent 20 kg hver eller så blir den runde makrellen filetert og pakket i 2x10 kg vakuumblokker i pappesker, før disse sendes videre for å bli fryst i en frysetunnel. Typisk innfrysingstid ligger på mellom 16 og 20 timer. Etter dette blir makrellen oppbevart på fryselager som holder -30°C eller kaldere [4].

Orkla Foods Norge får levert makrellen i pappesker som inneholder to vakuumblokker (ca. 10 kg pr blokk) med fileter. Disse tines i et opptiningskabinett som har fuktig luft. Temperaturen i fisken blir overvåket, slik at den ikke overstiger 10°C , for å hindre dannelse av histamin. Utfordringen med denne prosessen er å få blokkene gjennomtint uten at temperaturen skal bli for høy i det ytterste laget med fileter. Makrellen bruker omtrent 3,5 timer i opptiningskabinettet for å bli tint, deretter legges fisken på et bufferkjølerom (4°C), der den ligger i maksimalt 24 timer før produksjon.

Når fisken kommer ut i produksjonen går den gjennom en råvarekontroll. Dette er manuell utsortering for å få bort bein og spesielt finner. Makrellfiletene går så gjennom en fyllemaskin og over i hermetikkboksen som allerede har et lag av tomatsaus i bunnen. Når fisken er kommet i boksen legges et lag tomatsaus over før lokket settes på i en falsemaskin. Deretter blir boksene stablet og satt batchvis i autoklaven. Det blir tatt jevnlig stikkprøver av de nyproduserte Stabbur-Makrell boksene for å sjekke at kjernetemperaturen er tilstrekkelig høy.

Det er ønskelig å finne ut mer om hva som skjer med de forskjellige komponentene i makrellen fra den blir fisket til ferdig produkt. Dette er fordi fisken må gjennom mange ledd i produksjonen som kan være med på å redusere kvaliteten på sluttproduktet. For å kunne bevare de helsemessige sunne komponentene er det viktig å både vite hvordan de er bundet og hvordan dette endrer seg i de ulike prosesstrinnene. Et av de kritiske leddene i produksjonen er tining, hvor fisken mister mye væske fra muskelvevet. Proteiner, peptider og aminosyrer som ligger lagret i muskelvevet vil endre struktur som følge av frysedenaturering og denaturering ved varmebehandling. Det er derfor viktig å passe på at tining og varmebehandling skjer under kontrollerte omgivelser slik at kvaliteten på sluttproduktet blir tilfredsstillende.

2.2 Makrell som art

Makrellfamilien *Scombridae* er utbredt fra Finnmark i nord til Nord-Irland i vest og til Middelhavet og nordvestlige Afrika i sør. Den er også å finne i den sørlige delen av Østersjøen og ved østkysten av Amerika. Atlantisk makrell (*Scomber Scombrus*) er en pelagisk fisk som fanges fra april/mai til oktober/november i Nordsjøen fra Skagerrak til Trondheimsfjorden. I denne perioden oppholder fisken seg i de øvre vannmassene blant annet inne i fjorder, mens på vinteren trekker fisken ut mot det åpne havet og oppholder seg på ned mot 200 meters dyp (i farvannet rundt Storbritannia og Irland) hvor temperaturen holder seg stabil. Makrell kan kjennes igjen på sine mørke markeringer på ryggen som er en blanding av skrå og nesten-vertikale striper med relativt lite bølgeform, og magen er ensfarget og kan beskrives som en blanding av sølv og metallisk blå, se Figur 2.1 [5].

Fordelen med å fiske makrellen på høsten er at makrellen på dette tidspunktet inneholder mye fett, opp mot 30%. På våren kan fettinnholdet i makrellen være så lavt som 3% [6]. Når fisken har et høyt fettinnhold inneholder den mye omega-3-fettsyrer, som det anbefales å spise mer av. Makrellens fettinnhold er også en svært god kilde til vitamin D som er gunstig for helsen [7].

Makrellen kan bli opp mot 70 cm lang, men blir sjeldent lenger enn 50 cm. Vekten kan være opptil 3,5 kg. Makrellen gyter i mai-juni og i løpet av høsten kan yngelen ha vokst til ca. 20



Figur 2.1: Atlantisk makrell (*Scomber scombrus*) [6].

cm og da kalles den for pir. Når makrellen blir tre år har fisken blitt kjønnsmoden og den har en lengde på omtrent 30 cm. En makrell kan bli opp mot 20 år gammel [6], [8].

Etter mange år med overfiske i Nordsjøen ble det innført kvotereguleringer på fising av makrell. I 1999 ble det vedtatt en langtids forvaltningsplan for makrellbestanden i Nordsjøen av Norge, EU og Færøyene. I 1995 ble det observert et historisk lavt nivå av makrellbestanden på omtrent 2,3 millioner tonn, så målet med forvaltningsplanen er å holde gytebestanden over denne minimums grensen [6].

2.3 Fiskemuskelens sammensetning og oppbygging

Muskel er en av hovedbestanddelene i fisk og utgjør 40-68% av fisken [9]. Grunnen til at muskelmassen varierer er sammensetningen av forskjellige komponenter i fisken. Variasjoner oppstår som følge av årstid, art, alder, føring, om fisken er tatt før eller etter gyting og hvilken del av fisken som analyseres. Muskelen består av 15-24% protein, 0,1-22% fett, 1-3% karbohydrat, 0,8-2% mineraler og 66-84% vann [10]. Tabell 2.1 viser gjennomsnittlig sammensetning av forskjellige komponenter i den spiselige delen av noen fete fiskeslag, og hvor stor andel av fisken som er spiselig [11]. Det er ikke oppgitt i kilden når på året denne fisken ble fanget.

Tabell 2.1: Gjennomsnittlig sammensetning av forskjellige komponenter i den spiselige delen av fisk for forskjellige fiskeslag [11]. Når på året fisken ble fanget er ikke oppgitt i kilden. Vanninnhold, protein, fett og mineraler er beregnet som % av spiselig andel, mens spiselig andel er beregnet som % av hele fiskens vekt.

| Komponenter | Saltvannsfisk | | Ferskvannsfisk | |
|----------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|
| | Makrell [%] | Sild (atlantisk) [%] | Laks [%] | Elveørret [%] |
| Vanninnhold | 68 | 63 | 66 | 78 |
| Protein | 19 | 17 | 20 | 19 |
| Fett | 12 | 18 | 14 | 2,7 |
| Mineraler | 1,3 | 1,3 | 1,0 | 1,2 |
| Spiselig andel | 62 | 67 | 64 | 50 |

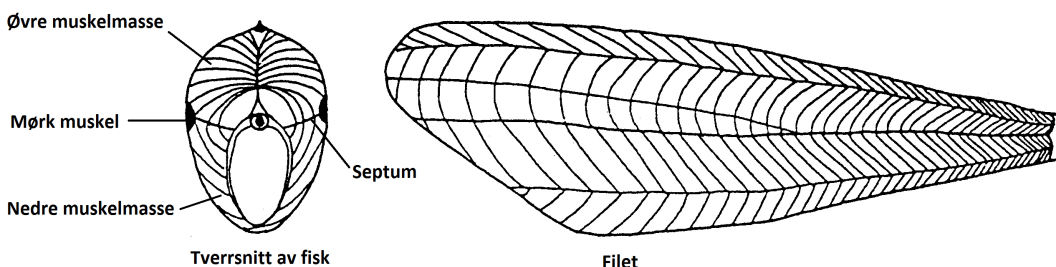
2.3.1 Anatomi

Fisk er en type virveldyr, og virveldyr har tre forskjellige typer muskler. Dette er tverrstripet skjelettmuskulatur, glatt muskulatur (i innvoller og blodkar) og hjertemuskel. Store deler av fiskens muskulatur er samlet i to fileter, disse går fra hodet til halen på hver sin side av ryggraden [12], [13]. Hver av filetene er delt horisontalt av en bindevevshinne (septum) slik at fileten har en øvre og en nedre muskelmasse [14].

Av de tre forskjellige muskeltypene, er det skjelettmuskulaturen som dominerer. Nesten hele fiskens muskelmasse består av skjelettmuskulatur. Dette er en tverrstripet muskel som er viljestyrt, og er ansvarlig for fiskens evne til bevegelse [15].

Skjelettmuskulaturen består av tre forskjellige typer vev. Dette er mørk muskel, lys muskel og bindevev. Figur 2.2 viser blant annet tverrsnittet av en fisk og hvor de forskjellige muskeltype-
ne er plassert [16]. Den øvre og nedre muskulaturen er lyse muskler. Mengden mørk muskel

varierer mellom fiskeslagene, og kan også variere noe i plassering. Mengden mørk muskel forteller noe om hvor aktiv fiskeslaget er fordi denne muskulaturen brukes under langvarig, vedvarende svømming. Mye mørk muskulatur finnes hos fisker som er aktive svømmere, slik som makrell, størje og laks [14]. Energien til denne typen muskelarbeid (aerobt arbeid) hentes fra oksidasjon av fett. Den mørke muskulaturen inneholder mye lipider og oksidative enzymsystemer, samt myoglobin og mitokondrier [16].



Figur 2.2: Tverrsnitt og langsgående snitt (filet) av en fisk [16].

Fisker med størst andel lys muskulatur, slik som torsk og kveite, er dorske bunnfisker og beveger seg på en annen måte enn de fiskene som har mye mørk muskulatur. Den lyse muskulaturen benyttes under kortvarig, og intens muskelbevegelse. Energien til dette hentes hovedsakelig fra glykolysen. Den hvite muskulaturen fungerer bare ved maksimum hastighet i korte perioder da mesteparten av ATP-energien kommer fra nedbrytning av glykogen [16].

2.3.2 Vann i fiskemuskel

Vann er den største bestanddelen i fiskemuskel og mengden vann som er bundet har mye å si for fiskens kvalitet. Fiskens evne til å binde vann avhenger av proteinenes egenskaper. I levende celler vil proteinene ha polare grupper i både peptidbindinger og i sidegrupper, samt positive og negative ladete sidegrupper som binder vann ved hjelp av hydrogenbindinger. Ioniserte grupper med full ladning binder flere vannmolekyler enn de polare gruppene. Styrken på vannbindingene vil også variere med avstanden mellom vannmolekylet og de ladede gruppene [13].

Vannet som er bundet i fiskemuskel kan hovedsakelig deles inn i tre grupper [17], [18], [19]:

1. I de nærmeste lagene rundt makromolekylene finnes vann som er bundet med sekundærbindinger. Dette vannet er forskjellig fra fritt vann på grunn av sitt lave energinivå.

2. Kapillært vann, inkluderer vann i små kapillærer eller i makromolekylære matriser der rommene er så små at vannets damptrykk og frysepunkt er vesentlig lavere enn for rent vann.

3. Vann som er mekanisk immobilisert i et nettverk av proteinfilamenter og cellemembraner. Rommene mellom disse er store nok til at vannet har tilnærmet normale egenskaper med hensyn på frysepunkt, evne til å løse andre stoffer, osv. Dette vannet har størst betydning for muskelens vannbindingsevne fordi dette utgjør hovedmengden av vannet som finnes i muskelvev.

2.4 Kvalitet

2.4.1 Definisjon av kvalitet

Ernæringsmessig, mikrobiologisk, sensorisk og teknologisk kvalitet er med på å karakterisere det totale kvalitetsnivået til et produkt [13]. Hver av disse kvalitetsparameterne er viktig for hvordan kvaliteten til Stabbur-Makrell defineres. Stabbur-Makrell har høy ernæringsmessig kvalitet på grunn av det høye innholdet av proteiner og omega-3 fettsyrer. Det har også fått nøkkelhullsmerket som forteller forbrukeren at produktet inneholder mest mulig protein og fiber, og minst mulig sukker, salt og mettett fett sammenlignet med tilsvarende produkter uten nøkkelhullsmerket [20]. For å sikre at kravene til den mikrobiologiske kvaliteten til Stabbur-Makrell er oppfylt så blir det tatt jevnlig stikkprøver av produktet hos fabrikken. Dette kan fortelle om produksjonen går som den skal og at den teknologiske kvaliteten er tilstrekkelig. For forbrukeren er den sensoriske kvaliteten viktig. Faktorer som utseende, lukt og smak er viktige parametere som avgjør om produktet blir spist eller ikke. Sensorikk er nærmere omtalt i avsnitt 2.7.

For denne oppgaven ble det sett nærmere på ernæringsmessig kvalitet og da spesielt proteinegenskaper. Sensorisk kvalitet og aroma ble også studert. Et mildere varmebehandlet makrell i tomat produkt vil trolig ha litt forskjellige proteinegenskaper sammenlignet med standard Stabbur-Makrell. Ved å varmebehandle ved lavere temperaturer er det mulig at proteinene er denaturert i mindre grad enn ved hermetisering og at fiskemuskelen beholder mer væske, noe som kan gi et saftigere produkt og vil endre de sensoriske egenskapene.

2.4.2 Forhold som påvirker kvalitet

Kvaliteten på fisk varierer med hensyn på flere forhold. Parametere som sesong og tilgang på næring kan for eksempel påvirke fettinnholdet i fisken for de fete fiskeslagene, mens for de magrere fiskeslagene så kan lite næring være en årsak til at det tæres på glykogenlageret

og muskelproteinene noe som, over en lengre periode, gjør at vanninnholdet i fiskekjøttet øker. Og disse variasjonene kan igjen påvirke konsistens og smak, og dermed forbrukerens oppfatning av kvaliteten [13].

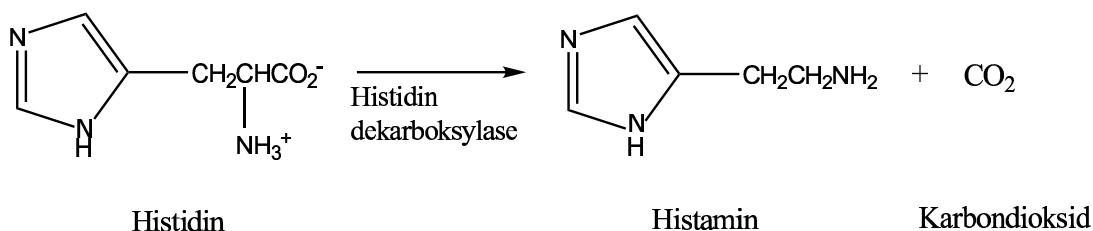
Faktorer som slaktemetode, bearbeiding, lagring og tining vil også i stor grad kunne påvirke produktets kvalitet. Temperaturen i omgivelsene under bearbeiding av fisken samt hvor lang tid dette tar påvirker kvaliteten på produktet (denaturering av proteiner, endret vannbindingsevne, osv.). Kvaliteten på frossen fisk sammenlignet med fersk fisk påvirkes av blant annet emballasjen, lagringstiden og lagringstemperaturen. Tiningen av frossen fisk påvirker også kvaliteten, her er det forskjeller på hvilken tinemetode som benyttes og ved hvilken temperatur tiningen skjer. Eksempler på tinemetoder er langsom tining i kjølerom, tining i romtemperatur, tining i vannbad (med eller uten kontrollerbar varme) eller så kan det brukes en dampovn med 100% fuktighet til tining. Dampovn med 100% fuktighet har blitt benyttet i denne oppgaven (på samme innstillinger, men med høyere temperatur enn ved tining) til å varmebehandle makrell og makrell i tomatsaus.

En del av ProHealthPelagic prosjektet tok for seg tining av makrell og dette ble gjennomført som en prosjektoppgave ved NTNU som denne masteroppgaven bygger videre på. For å bestemme hvordan tining påvirker kvalitet ble flere forskjellige kvalitetsparametere målt, slik som fiskens innhold av vann- og saltløselige proteiner, vann- og tørrstoffinnhold, vannbindingsevne og enzymaktivitet [21]. Måling av enzymaktivitet gir et bilde på hvor store ødeleggelser som har oppstått på cellemembranene under frysing og tining. Enzymer lekker ut av cellene som følge av ødeleggelsene på cellemembranen og det er mulig å måle nivået av enzymer i cellevevsvæsken (CTF). Det finnes flere forskjellige enzymer som kan brukes, og de velges ut i fra hva som er interessant å studere for det oppsatte forsøket. Slike enzymer kalles markørenzymer. Nilsson og Ekstrand (1993) studerte enzymene lysosomal α -glukosidase og β -N-glukosaminidase (NAG) for regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*). Her fant de ut at om fisken var fersk eller hadde vært frossen i et døgn ga store forskjeller i mengde enzymer som hadde lekket ut i CTF. Det var derimot ikke like store forskjeller på fisk som hadde vært frossen i 3-14 dager. Det viste seg også at fisken med tregest fryserate var den med høyest enzymlekkasje [22]. Duflos *et al.* (2002) studerte de samme enzymene for rødspette (*Pleuronectes platessa*), hvitting (*Merlangus merlangus*) og makrell (*Scomber scombrus*). Her ble det undersøkt om fisken hadde vært frossen eller om den var fersk ved å studere lekkasjen av enzymer [23].

En annen parameter som brukes som et mål på fiskens kvalitet er ekstraherbarheten av vann- og saltløselige proteiner, som forteller noe om egenskapene til proteinene i fisken. Den vannløselige fraksjonen består av sarkoplasmaproteiner, mens den saltløselige fraksjonen består av myofibrillproteiner [24]. Frysedenaturering er en viktig faktor som påvirker løseligheten av proteiner og er betegnelsen på kvalitetsforandringene som skjer med fisk ved

fryselagring. Jo lenger fisken er frossen, jo mer øker frysedenatureringen, men hastigheten dette skjer ved avhenger av lagringstemperaturen. Lav temperatur gir lav frysedenatureringshastighet, og omvendt [25]. Saltløselige proteiner begynner å denaturere når vevet fryses, hovedgrunnen til dette er at mengden iskrystaller i fiskemuskelen øker [26]. Frysedenaturering av saltløselige proteiner fører til en reduksjon av løselige proteiner, og innholdet av funksjonelle proteiner kan da finnes ved å måle ekstraherbarheten av proteiner [27]. Vannløselige proteiner vil påvirkes i mindre grad av frysedenaturering enn de saltløselige proteinene.

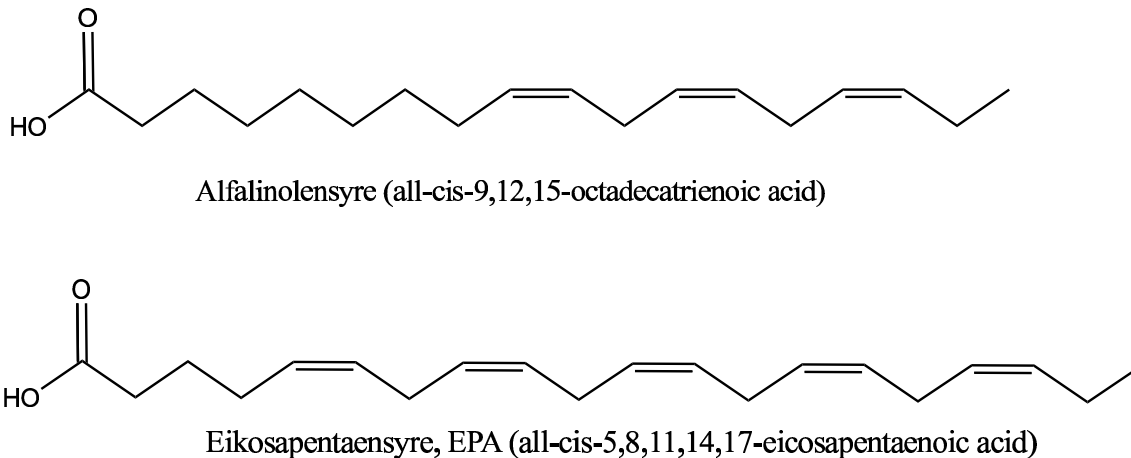
Nivå av histamin i fisken er en indikator på den mikrobiologiske kvaliteten. Histamin dannes fra histidin ved hjelp av enzymet histidin dekarboksylase, slik som vist i Figur 2.3. Dannelse av histamin oppstår hovedsakelig når fisken har vært frossen og blir tint. Når fisken er fersk inneholder den ikke histamin, men dannes når temperaturen i fisken blir for høy ($>10^{\circ}\text{C}$) under tineprosessen og lagring [28], [29], [30]. Høyt innhold av histamin kan føre til matforgiftning ved konsum. Hermetiserte fiskeprodukter som inneholder histamin kommer mest sannsynlig av for høy temperatur under nettopp tining og lagring. Histamin er varmeresistent og vil derfor fortsatt være tilstede i fisken etter varmebehandlingen [31].



Figur 2.3: Reaksjonsligning for dannelsen av histamin og karbondioksid fra histidin ved hjelp av enzymet histidin dekarboksylase [29].

De høye temperaturene under varmebehandling av hermetiserte fiskeprodukter kan føre til negative endringer i lipider og proteiner som kan påvirke den totale kvaliteten til produktet. Proteiner kan bli denaturert og oksidert, mens lipider kan bli oksidert. Som en følge av varmebehandling av fisk kan lipidoksidasjon oppstå. Nedbryting av hydroperoksider som var tilstede i den ferske fisken eller inaktivering av enzymer, slik som lipaser, fosfolipaser og lipoksygenaser, er konsekvenser av varmebehandling. Dette fører til en økning i oksiderte lipider i et hermetisert produkt som er forhåndskokt og som blir lagret [32].

Omega-3 fettsyrer er en fellesbetegnelse for en gruppe av umettede fettsyrer som finnes både i planter og i dyr, se Figur 2.4 [7], [33]. Makrell er en svært god kilde til omega-3 fettsyrer og



Figur 2.4: Omega-3 fettsyrer. α -linolensyre finnes i planter og eikosapentaensyre (EPA) finnes blant annet i makrell [33].

inneholder blant annet eikosapentaensyre (EPA). Stabbur-Makrell inneholder 5,3g omega-3 fettsyrer per 100g produkt, hvorav 1,3 g EPA og 2,2 g dokosaheksaensyre (DHA) [34]. Dette er et høyt innhold av omega-3 fettsyrer sammenlignet med innholdet i produkter laget av andre fiskeslag. Forbedringer av varmebehandlingen kan hjelpe til å bevare næringsinnholdet i fisken. Medina *et al.* (2000) studerte varmebehandling av hermetisert tunfisk, og kom fram til at høy temperatur og kort tid ga de høyeste omega-3 verdiene og lavest degradering av lipider [35].

2.5 Varmebehandling

Varmebehandling er en av de viktigste metodene for prosessering av matvarer. Dette er ikke bare på grunn av spisekvaliteten, men også for preservingseffekten dette har på matvaren ved at mikroorganismer, enzymer, insekter og parasitter blir ødelagt av tilstrekkelig varmebehandling [36].

Vakuumpakkede fiskeprodukter som har blitt mildere varmebehandlet og som må ligge i kjøledisken har vært tilgjengelig i norske matbutikker siden 1997 [37]. Dette er en type matvare som er utfordrende å produsere med hensyn på krav til mikrobiologisk sikkerhet, noe som gjør at varmebehandling må gjøres ved betingelser som ofte kan gå utover egenskaper som beskriver sensorisk kvalitet, slik som mykhet/mørhet og saftighet [38]. Vakuumpakking av varen før varmebehandling kan være fordelaktig med hensyn på produktets smak og

saftighet [39], [40]. Avhengig av mengden mikroorganismer i råstoffet, lagringstemperatur, nødvendig lagringstid, osv., er det vanlig å bruke en varmebehandling som er sterk nok for å inaktivere bakterier som kan skade produktet. Dette gjøres ved å optimalisere kombinasjonen av prosesstiden og temperaturen slik at kvaliteten blir så høy som mulig [41].

Makrell er en type fisk som varierer i næringsinnhold i løpet av året. Som tidligere nevnt fiskes gjerne makrellen mellom april/mai til oktober/november når den har et høyt fettinnhold. Fordi makrell i tomat skal kunne ha samme næringsinnhold gjennom hele året blir det meste av fisken som brukes frosset og lagret over tid hos leverandøren. Dette betyr at fisken som brukes ofte er frossen fisk som har blitt tint, og dette kan bringe med seg ekstra utfordringer som kan påvirke næringsinnholdet i sluttproduktet. Det vil derfor kunne være noen forskjeller mellom produkter som er laget med fersk makrell og makrell som har vært lagret.

2.5.1 Varmebehandling av proteiner

Denaturering

Varmebehandling av fisk gjør at den gjennomsløttede, geleaktige rå muskelen blir ugjennomsløtt, fastere i formen og mer elastisk. Varme fører til endringer i bindevevet i fiskemuskelene. Dette gjør at fisken lett faller fra hverandre, eller flaker seg, og blir velsmakende ved mild varmebehandling [42]. Varmebehandling med temperaturer over 45°C gjør at proteinene denaturerer [43], [44]. Denaturering av proteinene gjør at myofibrillene og kollagenet krymper, noe som igjen gjør at diameteren på muskelfiberen og lengden av sarkomeren også krymper [45]. På grunn av krymping vil væske fra muskelen presses ut, dette har blitt dokumentert for oksekjøtt [45], svinekjøtt [46], torsk og laks [47]. På grunn av denaturering av proteinene og væsketapet som følge av krymping, så vil dette gi fiskemuskelene en hardere tekstur [43], [44], og væsken som har blitt frigjort fra muskelen inneholder proteiner som kan koagulere på muskelens overflate (ser ut som hvit masse). Skipnes *et al.* (2008) studerte kinetikken til denaturering av proteiner fra torsk (*Gadus morhua*) som var blitt varmebehandlet. De fant at ved varmebehandling av torsk så vil proteinene denaturere (35-66°C) før det oppstår et stort koketap (over 80°C). De fant og at torskens evne til å holde på vann ble signifikant redusert allerede ved 35°C, det vil si når temperaturen er høy nok til å denaturere kollagen og myosin [48].

Myosin og aktin er myofibrillproteiner som er direkte involvert i muskelens kontraksjon og avslapning. På grunn av lavt kollageninnhold i fisk spiller myosin og aktin en mye viktigere rolle under geldannelsen og på muskelens tekstur enn de gjør i kjøtt [49], [50], [51]. I kjøtt krymper kollagennettverket ved 60-70°C som følge av denaturering [52]. På grunn av at muskelen krymper så øker trykket og gjør at den vannløselige fraksjonen frigjøres raskere [53], [54]. Kollagen i fisk (3% av muskelproteinene) inneholder mindre prolin og hydroksyprolin

enn kollagen i kjøtt, og på grunn av dette er kollagen i fisk mindre varmemestabilt og lettere løselig enn kollagen i kjøtt. Derfor skjer denaturering av kollagen i fiskemuskel ved lavere temperaturer enn for kjøtt [55]. Deng (1981) observerte forskjellige profiler i skjærkreftene når varmeprofilene for mulle (*Mugli cephalus*) ble endret og foreslo ut i fra dette at teksturen på varmebehandlet fisk er hardere på grunn av proteindenaturering alene, mens en mer langsom eller/og mer stegvis oppvarming ga en mørere/mykere tekstur, noe som blant annet kan forklares av alkalisk proteaseaktivitet [56]. Noen varmemestabile proteaser er mer eller mindre inaktive ved fysiologiske temperaturer, og aktiveres bare ved høyere temperaturer [57], [58]. Stoknes *et al.* (1993) studerte proteolytisk aktivitet i fiskemuskel fra sild og torsk. I torskemuskel var det vanskelig å få målt alkalisk proteolytisk aktivitet ved 60°C. Ved 60°C og pH 8 var den alkaliske proteolytiske aktiviteten fem ganger større enn for torsk, og ved 65°C nesten 60 ganger større. De alkaliske proteasene i torsk blir mindre aktivert av varme enn de alkaliske proteasene i sild [59]. Sammenlignet med kjøtt er ikke fiskemuskelen like alkalisk.

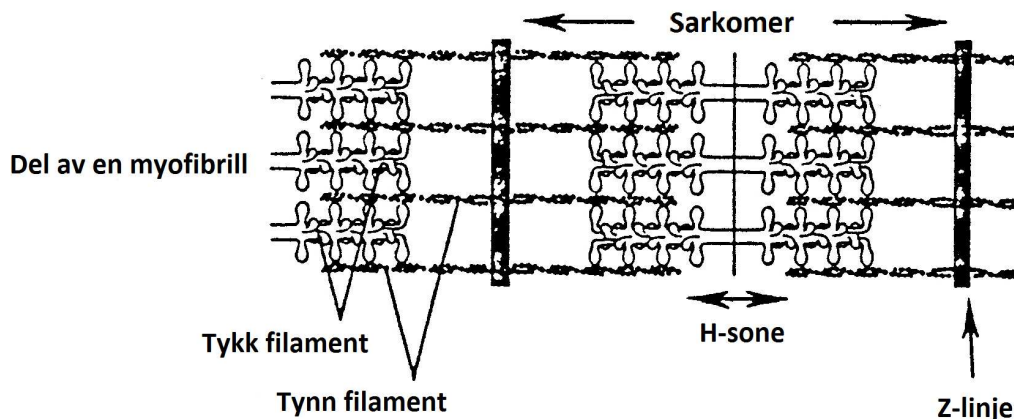
Løselige proteiner og proteinestabilitet

Ekstraksjon av vann- og saltløselige proteiner fra muskel forteller noe om proteinenes egenskaper. Mengden vannløselige proteiner eller sarkoplasmaproteiner det er mulig å ekstrahere fra muskel avhenger av typen muskel. Muskler med raske kontraksjoner, høyt innhold av hvite fiber og som kan benytte anaerob metabolisme har en høyere andel vannløselige proteiner enn muskler med trege kontraksjoner [60]. Aman (1983) studerte hvilken effekt koking i 20 minutter hadde på fiskens evne til å holde på vann for mulle (*Mugli cephalus*). Fiskens innhold av sarkoplasmaproteiner og myofibrillproteiner (som % av totalt nitrogen) ble undersøkt for rå og kokt fisk. Resultatene viste at myofibrillproteinene spilte en stor rolle for fiskens evne til å holde på vann (reduksjon på 14,1% fra rå til kokt fisk) [61]. Dette viser at myofibrillproteinene begynner å endre struktur ved lav varme, slik som Dagbjartsson og Solberg (1972) rapporterte med sin metode for å bestemme fiskens evne til å holde på vann for matvarer basert på muskler [62]. Aman fant også at sarkoplasmaproteinene hadde lite å si for fiskens evne til å holde på vann (reduksjon på 2,8% fra rå til kokt fisk). Det er delte meninger om hvilken rolle sarkoplasmaproteinene faktisk har. Kim *et al.* (2005) studerte sarkoplasmaproteiner fra «rockfish» (*Sebastes flavidus*) og hvordan disse påvirker myofibrillproteiner. Ved å tilsette 2% sarkoplasmaproteiner ble det en signifikant økning i gelstyrken mens verdier for deformering avtok noe, men ikke signifikant. Fra dette kom de fram til at sarkoplasmaproteinene bidro positivt til geldannelsen som oppstår i myofibrillproteiner [63]. Studier gjort av Morioka og Shimizu (1990) viste også at vannløselige sarkoplasmaproteiner fra makrell bidro til å øke gelstyrken [64].

Wang *et al.* (2013) studerte effekten av frysing på sarkoplasmaproteiner og myofibrillproteiner ved å varmebehandle prøver fra karpe (*Cyprinus carpio*) mellom 20 og 85°C i

løpet av 35 minutter. De fant at turbiditeten til sarkoplasmaproteiner hadde en dramatisk økning mellom 48 og 58°C for karpe [65]. En økning i turbiditeten til proteinløsninger ved varmebehandling indikerer at det skjer en aggregering av proteiner [66].

Forskjellige fiskearter lever i vann med forskjellige temperaturer, fra omtrent 0°C opp til 30-35°C. Det er derfor forventet at stabiliteten til proteinene til fisk fra vann med store temperaturforskjeller vil variere [67], [68]. Stabiliteten til proteinene i fisk er viktig for egenskapene til det ferdige fiskeproduktet. Frysing, varmebehandling og tilsats av saltløsning vil også påvirke proteinenes egenskaper enten positivt eller negativt sett fra et sensorisk ståsted. Proteinene til fisk som lever i varmt vann vil ha mer likheter med proteinene til kjøtt enn proteinene til fisk som lever i kaldt vann [69]. Atlantisk makrell er en fisk som lever i kaldt vann, og proteinenes egenskaper og stabilitet er derfor forskjellig fra proteinene i kjøtt. Poulter *et al.* (1985) studerte varmestabiliteten til muskelproteinene i torsk (*Gadus morhua*), kaninfisk (*Siganus oramin*) og tilapia (*Sarotherodon aureus*). Av disse tre er det bare torsk som lever i kaldt vann. Det ble ekstrahert protein fra fersk torsk, og resultatene viste at proteinene begynte å miste ekstraherbarheten sin i saltløsninger ved temperaturer mellom 25 og 30°C, noe som er 10°C lavere enn for de to andre fiskene som lever i varmere vann. Det er endringer i myofibrillproteinene som påvirker ekstraksjonen. For sarkoplasmaproteinene (som er løselig i 0,05M fosfatbuffer) viste resultatene for torsk at endringene i proteinfraksjonen skjer mellom 30 og 50°C [70].



Figur 2.5: Oppbyggingen av en myofibrill [16].

Figur 2.5 viser oppbyggingen av en myofibrill. Den er bygd opp av tynne og tykke filamenter som tilsammen danner en sarkomer hvor tynnfilamentene er forbundet til z-linjer. Ved varmebehandling av fiskemuskel i ørret oppstod tverrgående brudd i myofibrillene ved z-linjene og H-sonen når Ofstad *et al.* (1993) undersøkte strukturelle endringer i fiskemuskel

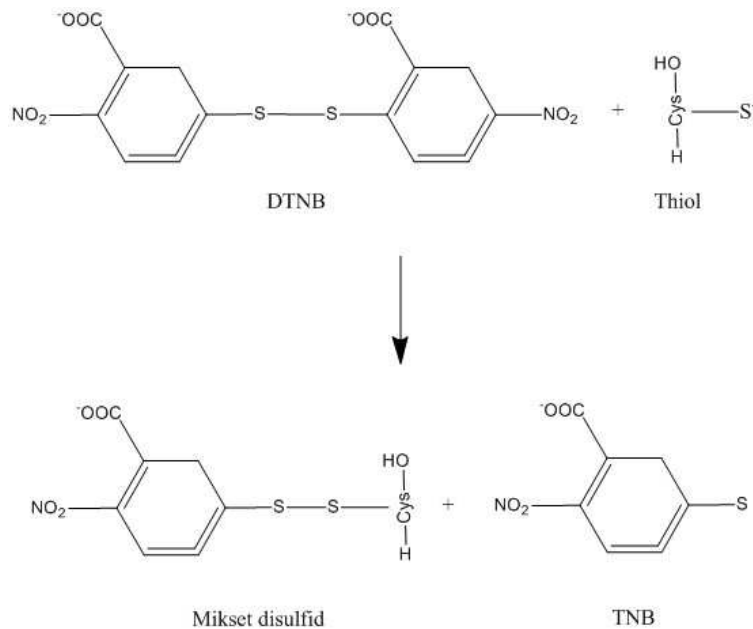
under varmebehandling ved 40°C [52]. Sarkomerene var mye kortere enn for muskel som ikke var blitt varmebehandlet, og ved varmebehandling av tunfisk oppstod det store rom mellom hver strukturelle enhet.

Proteinoksidasjon

Proteinoksidasjon kan blant annet måles ved å bestemme mengden karbonylgrupper eller sulfhydrylgrupper (SH-grupper). Når proteiner oksideres vil mengde SH-grupper avta, mens mengden karbonylgrupper vil øke. Oksidasjon av proteiner fører til tap av essensielle aminosyrer, endring av farge, biologisk aktivitet og funksjonelle egenskaper [71]. I denne oppgaven har proteinoksidasjon blitt målt ved å bruke metoden for kvantifisering av SH-grupper.

Aminosyren cystein inneholder SH-grupper som vil reagere og danne disulfidbindinger (S-S-bindinger) når proteiner denatureres. En økning i reaktive SH-grupper indikerer at aktomyosin foldes ut [72]. Protein-protein vekselvirkninger, slik som aggregering og polymerisering, i aktomyosin er avhengig av temperatur og pH [73]. På grunn av endringene i SH-gruppene (de reaktive og de totale) til aktomyosin, så er det mulig å forstå mer om konformasjonsendringene og dannelsen av disulfidbindinger. Noen av SH-gruppene i aktomyosin sitter dypt inne i molekylet og S-S-bindinger vil dannes både innen en peptidkjede og mellom ulike peptidkjerder i proteiner [74]. Antall SH-grupper eksponert øker antallet S-S-bindinger som kan dannes [75]. Det kan derfor sies at en økning i de reaktive SH-gruppene (R-SH) viser at proteinet foldes ut, mens en nedgang i de totale SH-gruppene (T-SH) viser at S-S-bindinger dannes. Dannelsen av disulfidbindinger påvirkes av betingelsene for varmebehandlingen [76]. Cystein kan reagere med og endres av frie radikaler. Det er hovedsakelig $\cdot\text{OH}$ som er den primære radikalen som står for endringer i aminosyrer, men et unntak er cystein som ødelegges av OH og O_2^- noe som resulterer i reduksjonen av SH-grupper [77]. Slike endringer i aminosyrene gir muligheten til å forstå endringene i den sekundære og tertiære strukturen til proteinene.

Ellman (1959) utviklet en metode for å måle SH-grupper. Ellmans reagent, 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoat) (DTNB), som er en symmetrisk aryl disulfid danner 2-nitro-5-thiobenzoat (TNB) når den reagerer med frie tioler [78]. Figur 2.6 viser reaksjonsligningen for dannelsen av TNB fra DTNB og en tiol [79]. Tioler er analoge med alkoholer, men har en SH-gruppe der alkoholen har en OH-gruppe. Ved oksidasjon av en tiol (2R-S-H) blir det dannet en disulfid (R-S-S-R) [33]. DTNB er tilstede i reaksjonen i overskudd for å sikre at alle SH-grupper reagerer. DTNB egner seg best til reaksjoner hvor pH er nært nøytral fordi den er sensitiv for basisk pH, oksygen og temperatur. I utgangspunktet reagerer DTNB bare med frie tioler, men reduserte Cystein-forbindelser vil også reagere med DTNB når det er denaturerende reagenser tilstede. Ved 412 nm har TNB en intens absorpsjon sammenlignet med resten av reagentene i reaksjonen. DTNB har til sammenligning, maksimal absorpsjon



Figur 2.6: Reaksjonsligning for dannelsen av TNB fra DTNB [79].

ved 324 nm. Forholdet mellom TNB og tioler er 1:1 og derfor kan absorbansen funnet for TNB overføres direkte til mengde tioler tilstede.

Ko *et al.* (2007) studerte endringer i konformasjon og SH-grupper for aktomyosin fra tilapia (*Oreochromis niloticus*) ved varmebehandling. Ellmans reagent ble brukt for å måle SH-grupper og det ble funnet at det var en liten økning av reaktive SH-grupper mellom 25 og 38°C, noe som tydet på at intra-sulphydrylgrupper ble eksponert på overflaten av aktomyosinmolekylet. Innholdet av reaktive SH-grupper økte betraktelig ved 42°C mellom 0 og 30 minutter. Denatureringen av myosin for tilapia ble derfor antatt å være ved 42°C [74].

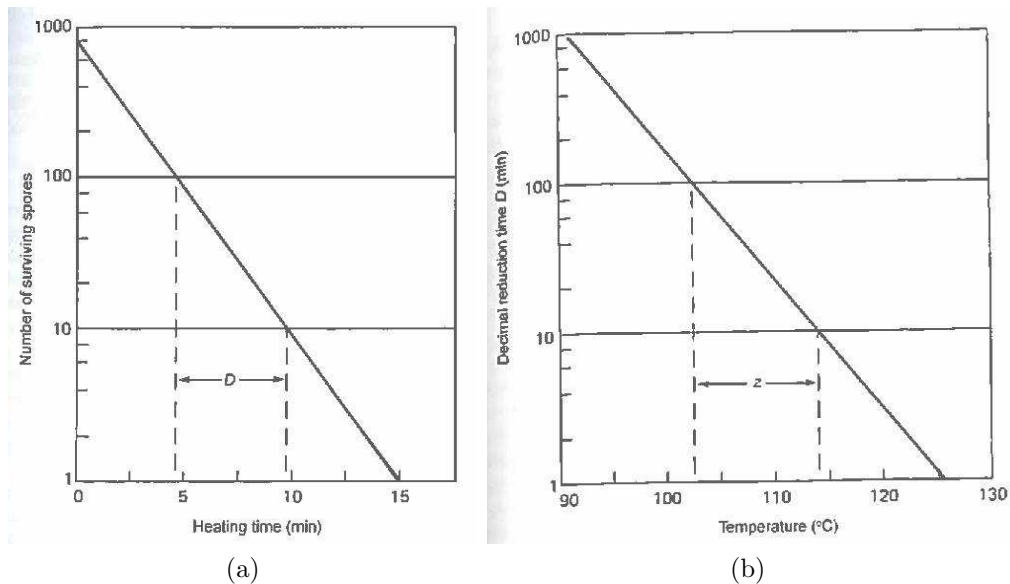
2.5.2 Mikrobiologiske utfordringer og effekten av varme på mikroorganismer

Ved å benytte en mildere varmebehandling av fisk, er det viktig å ta hensyn til behovet for inaktivisering av mikroorganismer. Det vil si at produktet som kan konsumeres av mennesker må være fri for mikroorganismer som kan være helseskadelige. Det finnes to typer mikroorganismer som kan gi bekymringer ved mild varmebehandling, psykrotrofe og mesofile patogener. Psykrotrofe mikroorganismer kan vokse i kjøleskaptemperaturer, mens mesofile patogener kan overleve kjøleprosessen og vokse under hvilken som helst temperatur. Et eksempel på psykrotrofe mikroorganismer er *Listeria monocytogenes*. For å inaktivere *Listeria monocytogenes* må produktet varmebehandles (pasteuriseres) på 70°C i minst 2 minutter [80].

Når en matvare blir varmebehandlet er det denatureringen av proteinene som sørger for preserveringseffekten. Denatureringen av proteinene gjør at enzymer og enzymkontrollert metabolisme i mikroorganismer inaktiveres. Inaktivering av mikroorganismer ved varmebehandling følger førsteordens kinetikk og er en førsteordens reaksjon. Det vil si at når mat varmes opp til en temperatur som er høy nok for å inaktivere mikroorganismer som forurenser maten, så dør en like stor andel av mikroorganismene i det gitte tidsintervallet uansett antall ved start. Dette er kjent som den logaritmiske dødsraten og kan beskrives av en dødsratekurve, se Figur 2.7 (a). Tiden som trengs for å ødelegge 90% av mikroorganismene kalles desimal reduksjonstid (D-verdi, i Figur 2.7 (a) er denne 5 minutter), det vil si hvor lang tid det tar å redusere antall mikroorganismer med en faktor 10. Forskjellige mikroorganismer har forskjellige D-verdier, og en høy D-verdi indikerer at mikroorganismen er mer resistent mot varme [36]. Det er to viktige antydninger som oppstår fra desimal reduksjonstid. For det første så vil det ta lenger tid å redusere antall mikroorganismer i produktet til et lavere akseptert nivå jo flere mikroorganismer som er tilstede i produktet. Under produksjon av makrell i tomat vil hver batch ha forskjellig innhold av mikroorganismer og det brukes derfor en spesifikk kombinasjon mellom tid og temperatur under produksjonen av hver batch. For det andre så skjer inaktivering av mikroorganismer logaritmisk og det vil derfor aldri være mulig å inaktivere alle celler som er tilstede i et produkt. Derfor er målet med produksjonen å senke antall overlevende mikroorganismer til et forhåndsbestemt antall.

Inaktivering av mikroorganismer er også temperaturavhengig, det vil si at jo høyere temperatur jo raskere dør mikroorganismene. Figur 2.7 (b) er en semilogaritmisk termisk dødskurve (TDT-kurve) som er laget av D-verdier ved forskjellige temperaturer. Kurvens stigningstall kalles z-verdien og er definert som antall grader Celsius som må til for å få redusert desimal reduksjonstiden med en faktor 10 [36]. D-verdien og z-verdien brukes henholdsvis til å karakterisere varmemotstanden til en mikroorganisme og dens temperaturavhengighet. Det er flere faktorer som påvirker mikroorganismenes varmemotstand, slik som type mikroorganisme, inkuberings betingelsene under cellevekst (temperatur, medium som brukes og hvor gammel kulturen er) og betingelsene under varmebehandling (pH i matvaren, vannaktiviteten i matvaren og sammensetningen av proteiner, fett, osv.).

Ved varmebehandling er det ikke bare mikroorganismer som inaktiveres eller ødelegges, også mange vitaminer, aromakomponenter og pigmenter blir ødelagt. Disse følger en førsteordens reaksjon nesten lik som den for inaktivering av mikroorganismer. Generelt er z-verdier høyere for andre komponenter enn mikroorganismer og enzymer, og som et resultat av dette vil næringsinnhold og sensoriske egenskaper beholdes bedre dersom det brukes høyere temperaturer og mindre tid under varmebehandlingen. Det er derfor mulig å velge en spesifikk tid-temperatur kombinasjon fra en TDT-kurve for å bevare konserveringen av næringsstoffer eller ønskelige sensoriske kvaliteter [36].



Figur 2.7: (a) Dødsratekurve hvor antall overlevende sporer er plottet som funksjon av tid [min], D-verdien er 5 minutter. D-verdi beskriver mikroorganismens motstand mot varme. (b) Termisk dødstidkurve hvor desimal reduksjonstid [min] er plottet som funksjon av temperatur [°C]. Mikroorganismer dør raskere jo høyere temperaturen er og her er z-verdien 10,5°C. z-verdien beskriver en mikroorganismes biotilgjengelighet [36].

Fordelene ved å varmebehandle matvarer ved lavere temperaturer er, blant annet, at produktet kan oppnå et høyere næringsinnhold. Dette er fordi høy varme kan få komponenter i produktet til å reagere og dermed ødelegge strukturen, noe som endrer komponentens egenskaper. Et eksempel på en metode som bevarer mer av næringsinnholdet i maten og som blir mer og mer populær for varmebehandling av mat er *sous vide*. Metoden er nærmere beskrevet i avsnitt 2.5.3. En mulig fordel med mildere varmebehandling i forhold til hermetisering er energisparing. Det krever mye energi å drive en autoklav med høy temperatur og høyt trykk, og dersom det benyttes lavere temperatur og trykk vil dette spare energi og dermed penger.

2.5.3 Varmebehandlingsmetoder

Hermetisering

Et produkt kan bli hermetisert ved å bruke en forseglet hermetikkboks som forpakning. Når denne hermetikkboksen blir utsatt for en tilstrekkelig intens varmebehandling så blir alle mikroorganismer og sporer inaktivert, og matvaren blir trygg å spise i flere år framover i tid, hvis den lagres under 40°C. Hvis et hermetisert kjøttprodukt inneholder sporer som har overlevd varmebehandlingen så er det en mulighet for at de ikke vil overleve nivået av, for eksempel, NaCl som produktet inneholder fordi dette fungerer også som et konserveringsmiddel [81].

Varmen som tilføres under hermetisering for at maten skal konserveres skal være tilstrekkelig for å drepe mikroorganismer slik som *Clostridium botulinum*. Erfaring viser at dersom matvaren skal lagres ved romtemperatur må den varmebehandles på 121°C i minst 3 minutter for å være sikker på at matvaren kan konsumeres trygt [7].

Varmesterilisering kan gjennomføres på to måter [36]:

- Pakking av næringsmiddel i tett emballasje for deretter å bli varmebehandlet slik at mikroorganismer blir inaktivert eller drept.
- Varmebehandling av næringsmiddel som deretter blir fylt i steril emballasje. Kalles aseptisk pakking.

Stabbur-Makrell Filet i tomatsaus er et hermetisert produkt hvor varmebehandlingen pågår tilstrekkelig lenge til at alle mikroorganismer som kan være skadelige blir inaktivert, og for å gi produktet riktig konsistens og smak. Hermetikkboksen som benyttes til Stabbur-makrell er behandlet på innsiden med en lakk slik at produktet blir beskyttet mot metallet i emballasjen.

Mild varmebehandling

En form for mildere varmebehandling er teknikken kjent som *sous vide*. Dette innebærer at produktet vakuumpakkes og varmebehandles for så å nedkjøles og lagres kjølig [82]. Matvaren som vakuumpakkes kan enten være rå eller bearbeidet. Varmebehandlingen foregår i vann som holder temperaturer under 100°C. Fordelen med *sous vide* tilberedning er at matvaren får økt mørhet og saftighet, den beholder gjerne sin fine farge (grønnsaker) og beholder det originale næringsinnholdet fordi det ikke lekker ut i vannet [83]. Når rå matvarer blir tilberedt med *sous vide* metoden så skjer dette under kontrollerte betingelser hvor temperatur og tid styres ut i fra kjernetemperaturen i vakuumpakningen [84]. Når matvaren har blitt

tilstrekkelig varmebehandlet, blir den raskt nedkjølt (fra 90°C til <3°C innen 90 minutter). For at produktet skal bevare holdbarheten, så må det holdes kjølig helt til produktet varmes opp for konsumering. Holdbarheten begrenses til noen uker, noe som er svært mye kortere enn for hermetiserte produkter.

Å lage et makrell i tomat produkt som er mildere varmebehandlet kan kanskje gi et ferskere og mulig saftigere produkt enn dagens hermetiserte Stabbur-Makrell. Utfordringene er å finne en temperatur og tid som er tilstrekkelig for å inaktivere mikroorganismer slik at produktet vil være trygt å spise, samtidig som det skal smake godt og være næringsrikt. Et mildere varmebehandlet produkt vil også kunne ha et høyere næringsinnhold enn det hermetiserte produktet, da mildere varme ikke vil gjøre like store ødeleggelser på komponenter som er knyttet til næringsinnhold.

2.6 Headspace GC-MS

For å få en bedre forståelse av kvaliteten til matvarer kan forbindelsene som bidrar til smak og bismak måles. Viktige smaksforbindelser i fersk fisk er flyktige forbindelser fra lipider som dannes ved lipoksygenase [85]. I både fersk og frossen lagret torsk, ørret og laks er lipidoksidasjonsprodukter slik som aldehyder med på å sette lukt på fisken [86], [87]. Konsentrasjonen av flyktige forbindelser er veldig lav, spesielt i fersk fisk ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Noen av disse flyktige komponentene har veldig intens lukt og kan til og med i svært lave konsentrasjoner påvirke den sensoriske kvaliteten til produktet. Flyktige forbindelser har polaritet som er svært lik polariteten til triacylglyseroler, som utgjør hoveddelen av lipider i fete fiskeslag. Separering og kvantifisering av flyktige forbindelser i fisk hemmes derfor av kombinasjonen av lav konsentrasjon og likheten i polaritet med lipidets matriks. Klassisk ekstraksjonsmetodikk kan derfor ikke brukes, men headspace teknikker gjør det mulig å separere lipider og flyktige forbindelser på grunn av forskjellen i flyktighet [88].

For å finne ut hvilke flyktige forbindelser et produkt inneholder kan det gjøres analyser med en metode som kalles gasskromatografi med massespektrometri (GC-MS). Denne metoden tar for seg ekstraksjon av aromaforbindelser med separering og deteksjon av forbindelser. Ved å bruke en headspace analyse kan aromaforbindelser som er i gassen over prøven identifiseres. Headspace analyse kan gjøres enten statisk eller dynamisk. Statisk headspace analyse går ut på å injisere et gitt volum fra gassfasen til en prøve i GC-apparatet, mens ved dynamisk headspace analyse blir de flyktige forbindelsene skylt ut, adsorbent og konsentrert i en polymer [2].

Det er varierende terskelverdier for de forskjellige komponentene som kan detekteres med headspace GC-MS. Ved lipidoksidasjon kan det oppstå uønskede aromaer som kan komme fra

alkoholer, aldehyder, ketoner, hydrokarboner og syrer, og disse kan gi en uønsket bismak til produktet. I et innledende forsøk gjennomført av SINTEF Fiskeri og havbruk AS (2014) på mildere varmebehandlet makrell i tomat så ble det blant annet funnet at prøvene inneholdt hexanal, 2-hexenal, (E,E)-2,4-heptadienal, propanal og 1-penten-3-ol [2]. Med utgangspunkt i disse resultatene ble det bestemt at videre i denne masteroppgaven skulle det letes etter hexanal, propanal (propionaldehyd), 1-penten-3-ol og 1-heptanol med headspace GC-MS på prøver av mildere varmebehandlet makrell i tomat og nyprodusert Stabbur-Makrell. Refsgaard *et al.* (1999) brukte dynamisk headspace GC-MS for å isolere og kvantifisere flyktige forbindelser i fisk. De gjorde analyser på fem forskjellige fiskeslag. Metoden ble testet for laks, og deretter prøvd ut på torsk, makrell, sei og uer. Hexanal, heptanal, octanal, (E,E)-2,4-heptadienal, 2-nonanon og nonanal ble funnet i alle fem fiskeslagene. Nivået av disse flyktige forbindelsene var 1-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ med unntak av (E,E)-2,4-heptadienal i makrell der verdien lå på omtrent 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Tabell 2.2 viser noen av resultatene fra Refsgaard *et al.*. Terskelverdien ble funnet for laks ved å ta 3 x støy, som er et mål for usikkerheten [89]. Støyet ble funnet ved å gjøre seks GC-MS analyser av tomme rør, og dette ble så regnet om til konsentrasjon ved hjelp av kalibreringskurver for hver forbindelse.

Tabell 2.2: Verdier fra dynamisk headspace GC-MS analyse for laks, torsk, sei, makrell og uer [88]. Terskelverdiene er funnet for laks. Hvis forbindelsen ikke ble funnet i prøven er feltet i tabellen merket med nd = not detected.

| Flyktig forbindelse | Terskel [$\mu\text{g}/\text{kg}$] | Flyktige komponenter [$\mu\text{g}/\text{kg}$] | | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|--|---------|---------|----------|---------|
| | | Laks | Torsk | Sei | Uer | Makrell |
| (E)-2-pentenal | 0,42 | nd | 12±9,3 | 17±10 | nd | 138±14 |
| Hexanal | 0,37 | 28±18 | 28±14 | 16±15 | 50±18 | 144±55 |
| (E)-2-hexenal | 0,19 | 1,4±2,0 | nd | 10±2,3 | nd | 43±3,6 |
| 3-Heptanon | 0,06 | nd | nd | nd | nd | 13±18 |
| Heptanal | 0,46 | 7,8±3,3 | 7,6±2,2 | 1,6±2,3 | 1,5±0,53 | 5,4±2,2 |
| Octanal | 0,21 | 8,8±7,1 | 15±2,4 | 7,3±1,0 | 9,3±0,89 | 19±0,98 |
| (E,E)-2,4-heptadienal | 0,17 | 11±5,6 | 19±6,2 | 36±15 | 8,1±3,3 | 218±40 |
| 2-nonanon | 0,04 | 0,13±0,28 | 12±0,58 | 16±3,1 | 13±0,79 | 13±0,25 |
| Nonanal | 1,83 | 29±20 | 92±20 | 56±50 | 37±14 | 19±11 |

Det har tidligere blitt utført flere studier hvor flyktige forbindelser har blitt analysert hvor fokuset har vært på aroma og smak i fisk og fiskeoljer. Karahadian og Lindsay (1989) analyserte fiskesmak i fiskeolje med dynamisk headspace GC-MS [90]. Fukami *et al.* (2002) analyserte flyktige forbindelser i fiskesaus med headspace GC-MS [91]. Zhang og Lee (1997) analyserte flyktige smakskomponenter i makrell med GC-MS for å vurdere fiskens kvalitet [92].

Alasalvar *et al.* (1997) analyserte aromaforbindelser i fersk makrell (*Scomber scombrus*) og makrell som var lagret på is i 12 dager med statisk headspace GC-MS [93]. Hancock *et al.* (1989) studerte flyktige biprodukter fra autooksidasjon av umettede fettsyremetylestere. Det ble gjort GC-MS analyser på biproduktene for å finne ut hvilke komponenter som er de viktigste som dannes ved autooksidasjon [94]. Fu *et al.* studerte effekten av lipoksygenase og hemoglobin ved å se på kinetikken til lipidoksidasjon og bilukt dannelse i sølvkarpe. Resultatene viste at lipoksygenase kunne assosieres med en sterk fiskelukt, mens hemoglobin kunne assosieres med en lukt av oksidert olje [95].

Ved å bruke resultatene fra headspace GC-MS og sammenligne de med resultatene fra sensorisk analyse kan det være mulig å finne ut hvilke komponenter som forårsaker endringer i smaks- og luktaromaene i makrell i tomat.

2.7 Sensorikk

De viktigste kvalitetsparameterne til mat sett fra forbrukerens synspunkt er produktets sensoriske egenskaper, slik som tekstur, smak, aroma, form og farge [36]. Sensorisk analyse er en vitenskapelig metode som måler, analyserer og tolker disse egenskapene ved hjelp av sansene syn, lukt, smak, hørsel og følelse av varme, kulde og trykk. Sensoriske analyser brukes gjerne i forbindelse med utvikling av nye produkter, men også for å forbedre allerede eksisterende produkter. Slike metoder ble for alvor tatt i bruk fra ca. midten av 1900-tallet og har blitt mer og mer viktige med tiden. Boggs og Hanson (1949), Girardot *et al.* (1952) og Peryam *et al.* (1954) utviklet metoden som kalles differansetesting [96]. Slike analyser blir gjerne gjennomført av et trent panel, men det kan også gjennomføres forbrukerundersøkelser med utrente deltagere.

For sensoriske analyser som gjøres av makrell i tomat er det stort sett metoden som kalles profilering som benyttes av Orkla Foods Norge. Avsnitt 2.7.2 beskriver denne metoden nærmere. Sensorisk analyse blir benyttet for at produsenten skal ha all informasjon om sitt produkt som det er mulig å få. Det er bare sensorisk analyse som gjør at det er mulig å forstå totalopplevelsen av mat, og sensorikk er derfor en viktig målemetode for matens spisekvalitet [97].

2.7.1 Sansene

Det finnes per i dag ingen maskiner som kan beskrive det samme som et menneske kan, ved å bruke sanser og følelser. Visse egenskaper ved et produkt slik som farge og tekstur kan måles med maskiner, men dette forteller lite om hvordan produktet smaker og hvordan konsistensen føles i munnen. Sansene brukes derfor til å beskrive lukt, smak, utseende og

tekstur på næringsmidler. Resultatene har høy variasjon, da alle mennesker oppfatter ting ulikt og det er mange parametere i menneskets responssystem som ikke kan kontrolleres [98].

Synet gjør det mulig å bestemme farger og former (ved hjelp av dybdesynet) ved at lys slippes inn på hornhinnen som videre transporteres til netthinnen [99], [100]. Lysstimuli trigger en rekke elektriske nerveimpulser og sender signaler opp til hjernen via den optiske nerven [98]. Ved hjelp av synet danner forbrukeren seg et bilde på næringsmiddelets kvalitet ved å bedømme fargeintensitet og utseende. Ved å spørre «Hvor sterk oppfatter du den røde fargen på tomatsausen?», så vil dette kunne danne et godt bilde på hvor forbrukeren ligger i forhold til en standard eller referanseprøve. Dette er da en differensieringstest.

Lukt er en kjemisk sans som stimuleres av flyktige stoffer. Når luktesansen har blitt stimulert over lengere tid vil den ha tapt følsomhet for samme stimuli, dette kalles adaptasjon [101]. Stimuli over en lang periode kan føre til tilvenning av lukten slik at det ikke lenger er mulig å registrere den, noe som kalles habituering [102]. Under sensoriske tester kan det derfor være lurt å ta hensyn til dette under spesielt lange tester.

Smak er satt sammen av grunnsmakene søtt, surt, salt, bittert og umami. Smak oppfattes fra papiller på tunge, gane og munnhule [103]. Smaksløker ligger i epitelet til de store papillene, og det er disse som utfører «kjemisk kontroll» av mat og drikke. Det er store individuelle forskjeller på smakssansen, og såkalte «supertasters» er svært sensitive ovenfor den bitre smaken [104]. Smakssansen er som luktesansen og svekkes hvis den er utsatt for stimuli over en lengre tidsperiode. Derfor er det viktig å gi deltagere i en sensorisk analyse pause mellom prøvene som skal smakes på slik at munnen kan prøve å nullstille seg mellom prøvene.

Følelser av varme, kulde og trykk kan registreres med tungen, huden og munnhulen. Fingertupper, lepper og tunge er spesielt følsomme da disse har svært mange nerveender. Disse kroppsdelene forteller oss om utseende og teksturen til produktet. Hvordan produktet kjennes ut i munnhulen har mye å si for opplevelsen av måltidet, og det er gjerne faktorer slik som mørhet, sprøhet og saftighet som blir vurdert.

2.7.2 Metoder

Det finnes hovedsakelig to grupper sensoriske tester:

- Differanse- eller forskjellstester
- Kvalitative eller kvantitative tester.

Det er flere måter å utføre sensorisk analyse på, og før en analyse kan gjennomføres må det bestemmes hva det er interessant å finne ut og hvilke kvalitetsparametere som skal bedømmes. Det kan være å sammenligne en ny utgave mot en gammel utgave av et produkt, sammenligne lignende produkter fra flere produsenter eller å gradere et produkt i forhold til ønskede egenskaper [105].

Differansetesting er den metoden som er minst omfattende innenfor sensorisk analyse. Her blir det sett på forskjeller mellom to produkter. De vanligste differansetestene er triangel test, duo-trio test og partest. Slike forskjellstester er svært effektive og hvis resultatene blir som ønsket er neste steg å bruke en kvalitativ metode for å finne ut hva forskjellen har å si for produktet [98].

Beskrivende tester, også kalt profilering, gir svar på hva en forskjell består av og i hvor stor grad denne er fremtredende. Profilering kan gjøres på forskjellige måter. I denne masteroppgaven ble det gjennomført en sensorisk delprofil med et delvis trent panel [106]. Egenskapene som skulle bedømmes var valgt ut på forhånd og ble vurdert ut ifra for eksempel hvor intens bismaken var eller hvordan teksturen i produktet var. Dette ble bedømt ved å bruke en tallskala hvor 0 var ingen og 5 var meget sterk. På svarskjemaet var det også et kommentarfelt slik at deltagerne kunne skrive hva de syntes det smakte. Ved bruk av slike kommentarfelt blir det også gjerne lagt ved en liste med beskrivende ord for å hjelpe deltagerne med å uttrykke sin opplevelse av produktet [105].

Forbrukertester er vanligvis det siste som gjennomføres før et produkt skal lanseres. Når en forbrukertest blir gjennomført har produktet blitt justert etter resultatene fra de innledende sensoriske analysene slik at det nærmer seg klart for salg, men det kan være en fordel å lage produktet i en pilotskala og teste markedet før det legges ut for salg for å forsikre seg om at dette er et produkt som kommer til å bli godt mottatt. Innspill fra forbrukertester vil gi produktutviklere enda mer informasjon slik at det kan gjøres enda noen justeringer på produktet sånn at det blir best mulig før lansering [98].

2.8 Tidligere arbeid

For å kunne lage et makrell i tomat produkt som er mildere varmebehandlet er det mange faktorer som må undersøkes. Noen faktorer har blitt sett på tidligere, blant annet gjennom masteroppgaver og prosjekter. Det er viktig å finne ut hvordan kvaliteten til et produkt påvirkes både med tanke på smak og holdbarhet. For å finne ut av dette gjennomførte Løken i 2013 mikrobiologiske analyser og sensoriske analyser av varmebehandlet makrell i tomat i sin masteroppgave [107]. Makrell i tomat ble varmebehandlet ved 80°C med ulike holdetider (1, 10, 20 og 30 minutter). Deretter ble det gjort mikrobiologiske analyser av produktet hvor det ble målt kimtall for å undersøke nivået av psykrotrofe bakterier. Det ble også gjort analyse av histamininnhold i produktet for å sikre at forbruker ikke kom til å få matforgiftning ved konsumering av produktet. Sensorisk analyse ble gjennomført som en beskrivende analyse med et trent panel som testet produktet 9, 15, 30, 60 og 90 dager etter produksjonsdato. De mikrobiologiske undersøkelsene ga tilfredsstillende resultater med nivåer langt under de satte kravene for alle de varmebehandlede prøvene (alle prøvene hadde mindre enn $1,0 \times 10^1$ kolonidannende enheter per gram). Fra de sensoriske analysene kommer det fram at etter 90 dager var det observert lite forskjell mellom prøvene for egenskapene fasthet, saftighet og tyggemotstand. Men prøven som ble varmebehandlet i 20 minutter og modifisert Stabbur-Makrell hadde de høyeste verdiene for bilukt, mens prøvene varmebehandlet i 1 og 10 minutter hadde mest fiskesmak. Prøvene som ble behandlet i 1, 10 og 20 minutter hadde høyest verdi for bilukt.

Hvordan varmebehandlingsprosessen burde foregå har også blitt sett på tidligere. Gjennom et sommerprosjekt Staurem utførte for SINTEF Fiskeri og havbruk i 2014 ble varmebehandling studert ved å benytte forskjellige temperaturer og holdetider [2]. Det ble produsert makrell i tomat i 170g porsjoner i vakuumposer. Disse ble stekt i dampovn med 100% fuktighet ved 50, 70 og 90°C med holdetid på 10 eller 20 minutter. Det ble gjort seks forskjellige varmebehandlinger. Det ble gjennomført sensorisk analyse, måling av farge og tekstur og det ble gjort headspace GC-MS analyse og GC-MS med ekstraksjon og derivatisering. Sensorisk analyse ble gjennomført 1 og 8 dager etter produksjon og makrellen og sausen ble analysert hver for seg. Resultatene for makrellen viste at farge og utseende til alle prøvene skilte seg ut fra standard Stabbur-Makrell som ble brukt som referanse. Lukten ble vurdert som forskjellig fra referansen, men det var ingen forskjell mellom prøvene for fiskelukt og bilukt. For smak var referansen ulik fra de andre prøvene, men bismak og fiskesmak viste ingen forskjell. Bismaken i prøvene med lang holdetid på 50°C og ved kort holdetid ved 90°C økte fra dag 1 til 8. Resultatene for tomatsausen viste at det var en forskjell i smak og utseende mellom referansen og de varmebehandlede prøvene. Referansen viste mindre surhet enn de mildere varmebehandlede prøvene. Headspace GC-MS ble gjennomført 2 og 9 dager etter produksjon. Ved dag 2 ble det observert et lavere antall forbindelser for prøvene med kort holdetid (10 minutter) enn for prøvene med lang holdetid (20 minutter). Det ble funnet

at prøvene med holdetemperatur på 90°C ga et høyere antall forbindelser, mens prøvene med holdetemperatur på 70°C ga et lavere antall forbindelser enn for 50°C. Ved dag 9 ble det observert et høyere antall furanforbindelser i alle prøvene. Fra dag 2 til dag 9 var det noe økning i antall identifiserte forbindelser i alle prøvene, med unntak av prøven som ble varmebehandlet på 90°C i 10 minutter hvor det ble funnet flest forbindelser ved dag 2. Ved dag 9 ble det funnet 62 forbindelser som ikke var tilstede ved dag 2, mens det var 27 forbindelser som var tilstede på dag 2, men ikke på dag 9. Dette viser at det skjer endringer i sammensetningen den første uka etter produksjon.

Det er dette arbeidet som ligger til grunn for gjennomføringen av forsøkene i denne masteroppgaven. Hvordan prøvene skulle prepareres, hvilke temperaturer som skulle benyttes under varmebehandling og hvordan prøvene skulle varmebehandles ble valgt med hensyn på resultatene som foreligger fra disse rapportene.

Målet med denne masteroppgaven har vært å studere kvalitetsendringer ved varmebehandling av makrell, med og uten tomatsaus. Kvalitetsendringene ble målt som endringer i proteinløselighet, oksidasjon (reduksjon i SH grupper), sensorikk og endring i flyktige forbindelser. For å finne ut hva som skjer med løseligheten til proteinene ved mildere varmebehandling ble det laget proteinekstrakter fra varmebehandlet makrell og makrell i tomat som ble analysert med Bio-Rad metoden ved fire forskjellige uttak. For å finne ut hvordan de forskjellige varmebehandlingstemperaturene har påvirket makrell i tomat ble det gjennomført sensorisk analyse 2, 9, 21 og 30 dager etter produksjon. For å tydeligere finne ut hva som faktisk skjer med sammensetningen til produktet ble det gjennomført headspace GC-MS analyser av makrell i tomat som ble homogenisert etter 2, 9, 21 og 30 dager etter produksjon.

3 MATERIALER OG METODER

3.1 Varmebehandlingsforsøk

Det ble gjort tre forskjellige varmebehandlingsforsøk i denne masteroppgaven:

1. Kartleggingsforsøk: makrell ble varmebehandlet i vannbad på 50-90°C.
2. Varmebehandling i vakuumposer: makrell og makrell i tomatsaus ble varmebehandlet i vakuumposer i dampovn på 60-90°C.
3. Varmebehandling i hermetikkbokser: makrell i tomat ble varmebehandlet i hermetikkbokser ved 60 og 85°C i et dampskap, og i tillegg ble makrell i tomat hermetisert i en autoklav på 120°C.

3.1.1 Kartleggingsforsøk

For å finne de optimale varmebetingelsene for makrell ble det først gjennomført et kartleggingsforsøk. Makrell ble varmebehandlet i et vannbad ved forskjellige temperaturer (50, 60, 70, 80 og 90°C) med en holdetid på 10 minutter. Makrellen som ble benyttet i disse forsøkene ble fangstet 19. september 2013 i Nordsjøen og har vært lagret i fryser ved -40°C og ble i januar 2015 flyttet til en fryser på næringsmiddelkjemilaboratoriet som holdt -20°C.

Makrell ble tatt opp fra fryser (-20°C) dagen før kartleggingsforsøkene ble gjennomført og tint på kjølerom (4°C) i ca. 20 timer. Makrellen ble veid og lengden ble målt før den ble filetert. Det ble tilsammen brukt fire makrell i kartleggingsforsøket hvor vekten på disse varierte fra 348,2 - 424,1 g og lengden varierte fra 34,0 - 36,5 cm. Hver filet ble veid før den ble kuttet opp i mindre stykker, endestykkene (ved hale og hode) ble kastet, se Figur 3.1.

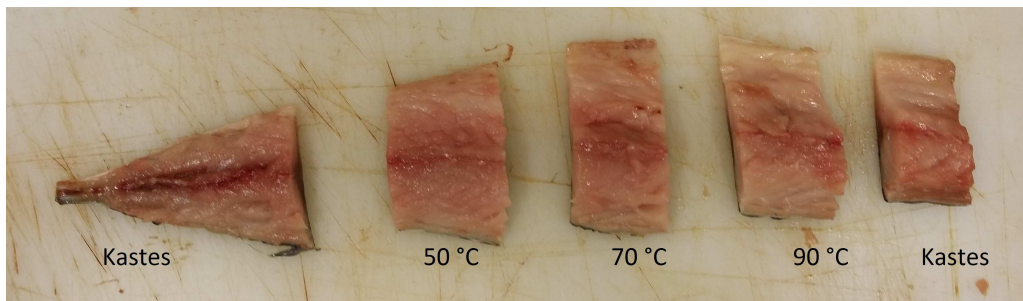
Makrellstykkene ble lagt i små ziplock-poser og luften ble presset ut. Disse ble så varmebehandlet på den ønskede temperaturen i 10 minutter. Etter varmebehandling ble stykkene lagt på is for nedkjøling før det ble tatt prøver til proteinekstraksjon. Bio-Rad metoden ble benyttet for å måle proteininnholdet i de vannløselige og saltløselige proteinekstraktene. Proteinekstraktene ble også benyttet til å kvantifisere SH-grupper. Se Figur 3.2 for flytskjema over arbeidet gjort i kartleggingsforsøket.



(a)

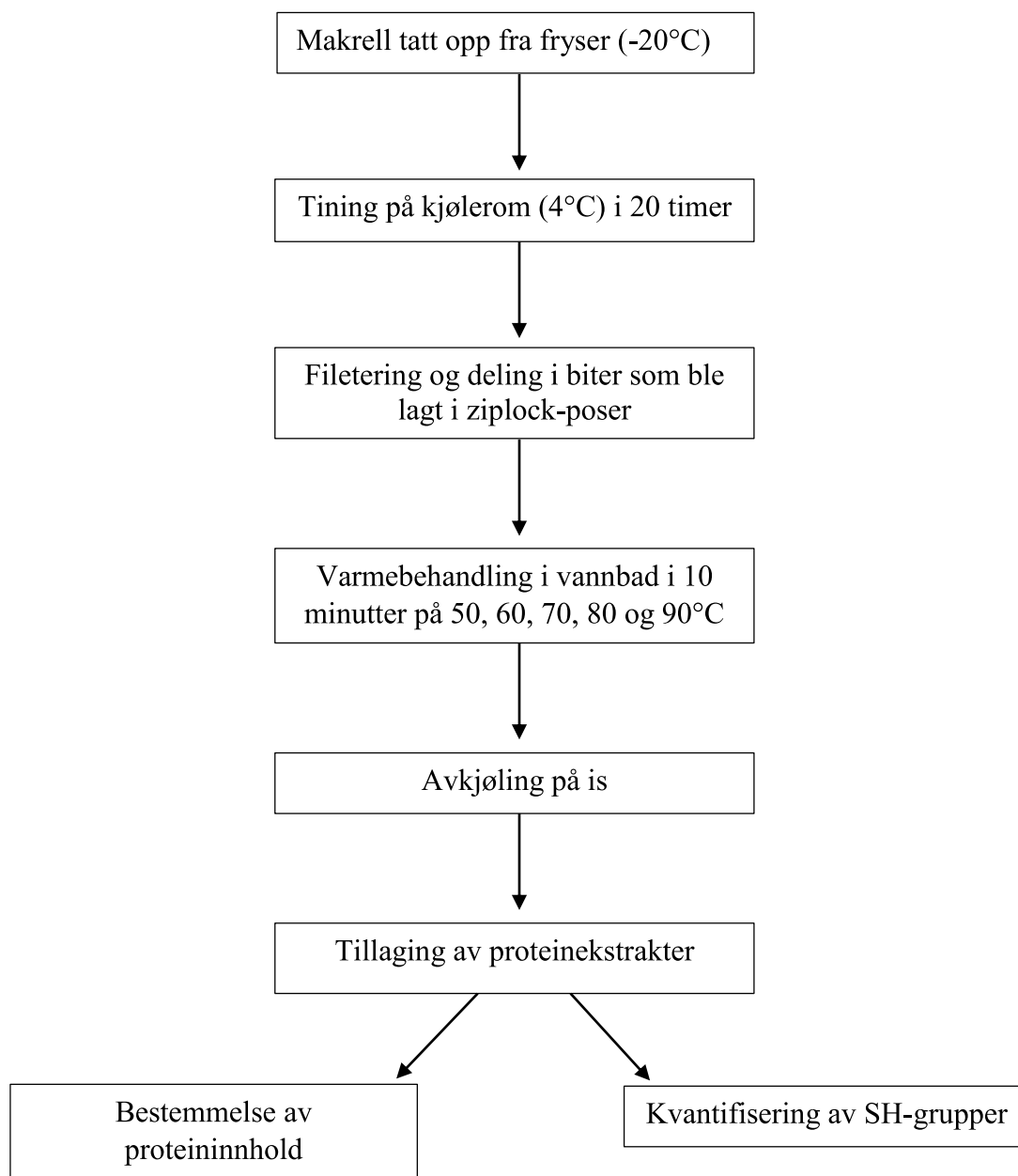


(b)



(c)

Figur 3.1: Kartleggingsforsøk dag 1 - Fisk A og B. (a) Hel makrell ble veid og målt lengde av. (b) Ferdig filetert makrell. (c) Makrellfileten ble delt i fem, endestykkene ble kastet mens midtstykkene ble varmebehandlet i vannbad på henholdsvis 50, 70 og 90°C som vist på bildet. Foto: Christina Grønstad.



Figur 3.2: Flytskjema over kartleggingsforsøket.

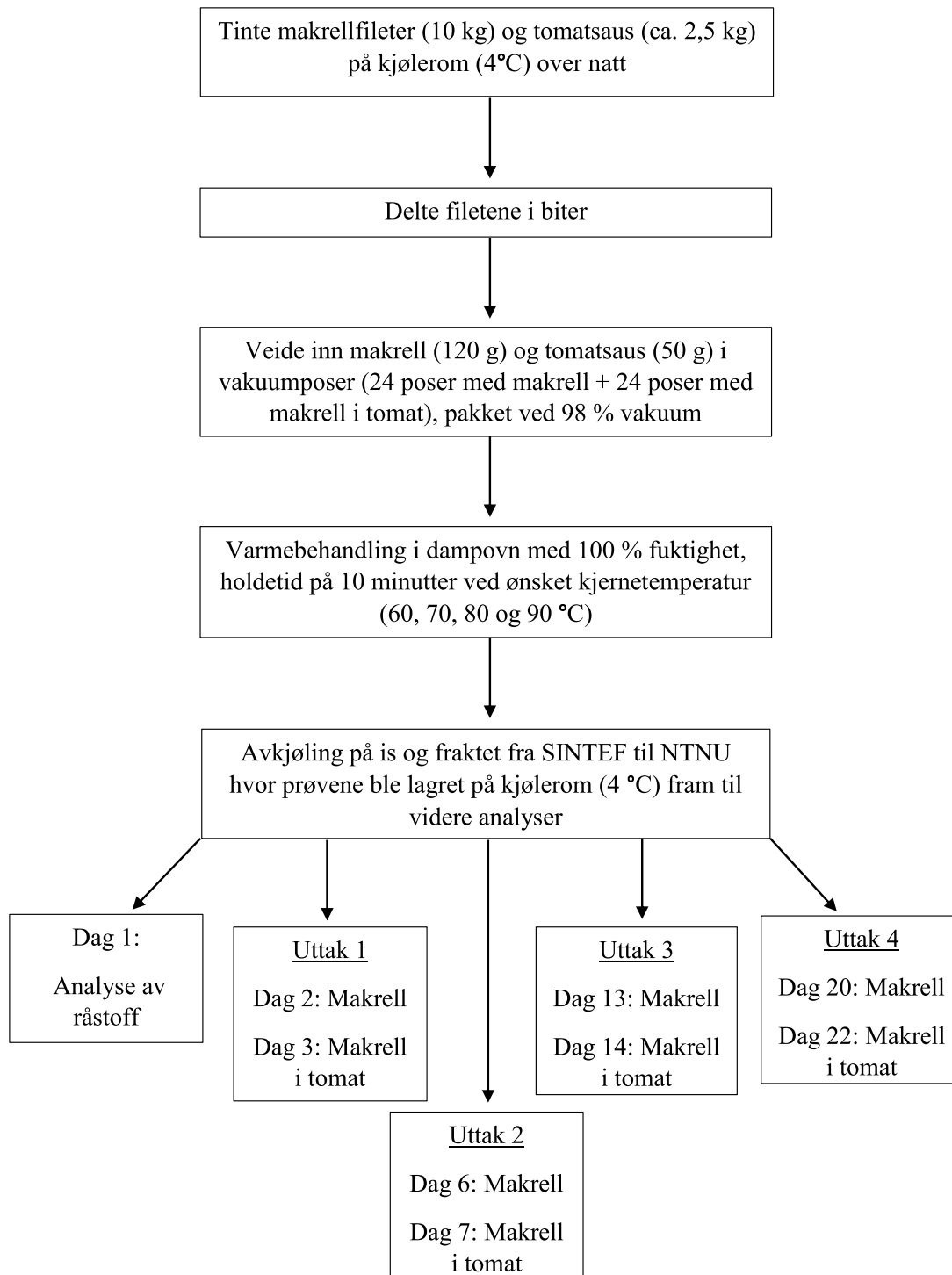
3.1.2 Varmebehandling i vakuumposer

Makrell med og uten tomatsaus ble mildere varmebehandlet i vakuumposer ved ulike temperaturer. Makrellen ble fanget 21. januar 2015 på fangstfelt 4372 Sulisker (Fartøy Altaire) og ble landet 23.01.2015. Fisken ble så fryst ned og lagret. En blokk med makrell (10 kg) og en pose med tomatsaus (ca. 2,5 kg) fra Orkla Foods Norge ble tint på kjølerom (4°C) over natt. Dag 0 (24.02.2015) ble prøvene preparert hos SINTEF Fiskeri og havbruk. Prøvene ble laget i vakuumposer og vakuumert med 98 % vakuum. Posene med makrell uten saus inneholdt ca. 120 gram fisk og posene med makrell i tomatsaus inneholdt ca. 120g fisk og ca. 50g tomat-saus (dette tilsvarer en boks Stabbur-Makrell med et makrellinnhold på 70%). Halvparten av sausen ble lagt i posen først, deretter ble fisken lagt i posen og tilslutt ble resten av sausen lagt på toppen. Det ble laget 24 poser av både makrell og makrell i tomatsaus.

Vakuumposene med makrellfilet med og uten saus ble varmebehandlet i en dampovn med 100 % fuktighet på 60, 70, 80 og 90°C med en holdetid på 10 minutter. For at kjernetemperaturen skulle oppnås raskt ble ovnen stilt inn på 10 grader høyere enn ønsket temperatur. Da kjernetemperaturen i prøven var oppnådd (varierte fra 15-23 minutter) ble ovnen skrudd ned igjen til riktig temperatur og prøvene stod slik i 10 minutter før de ble tatt ut av ovnen. Det ble laget seks poser makrell og makrell i tomat til hver varmebehandlingstemperatur. En av posene inneholdt en logger som logget temperaturene underveis i varmebehandlingsprosessen og en annen pose ble ikke vakuumert slik at steketermometeret i ovnen kunne settes i fisken. Dermed ble det igjen fire poser av hver temperatur, noe som ga muligheten til å gjøre fire uttak over tid. Se Vedlegg A for stekeskjema med plasseringen av logger og steketermometer.

Det ble gjort forsøk på råstoff dag 1. Første uttak av varmebehandlede prøver ble gjort på dag 2 og 3, andre uttak ble gjort på dag 6 og 7, tredje uttak ble gjort på dag 13 og 14, mens det fjerde uttaket ble gjort på dag 20 og 22. På dag 2, 6, 13 og 20 ble det gjort analyser av makrell uten tomatsaus, mens på dag 3, 7, 14 og 22 ble det gjort analyser av makrell med tomatsaus. Se Figur 3.3 for flytskjema over arbeidet som ble gjort.

Posene med makrell og makrell i tomat inneholdt biter med makrell på ca. 20-30 gram. For analyse av innhold av løselige proteiner ble det tatt paralleller fra forskjellige biter i en pose. Det ble veid inn 8g til hver parallell. For prøvene med makrell i tomat ble mesteparten av sausen skrapet bort for å analysere innholdet av løselige proteiner hovedsakelig i fisken, se Figur 3.4. For forsøkene som gikk på å finne vanninnholdet ble det også brukt mest mulig fisk og minst mulig tomatsaus.



Figur 3.3: Flytskjema over varmebehandling i vakuumposer.



(a)



(b)

Figur 3.4: Preparering av prøver til proteinekstraksjon. (a) Varmebehandlet makrell i tomat i vakuumpose. (b) Prøve til ekstraksjon av løselige proteiner hvor tomatsausen er skrapet bort fra makrellen. Foto: Christina Grønstad.

3.1.3 Varmebehandling i hermetikkbokser

Den 17. mars ble det laget hermetisert makrell i tomat og mildere varmebehandlet makrell i tomat hos høgskolen i Sør-Trøndelag (HiST), Campus Tunga (avd. Matteknologi). Det ble benyttet makrellfileter (3x10 kg) som ble tatt opp fra fryserom 16. mars (kl. 08.00), denne ble så tint i romtemperatur i 2 timer før den ble tint 2 timer i vann slik at det gikk an å skjære i fisken. Etter dette ble filetene lagt på kjølerom til dagen etter. Tomatsaus ble også tatt opp 16. mars og ble tint på kjølerom. Fisken har vært lagret i seks måneder hos SINTEF Fiskeri og havbruk. Makrellen ble fisket på Kaster i Nordsjøen lørdag 20. september 2014 (kl. 18.10, posisjon: N63°58' Ø00°40'). Til hermetiseringen ble det benyttet hele fileter kuttet i biter og tomatsaus fra Orkla Foods Norge. Til hermetikkboksene som ble mildere varmebehandlet ble det benyttet fileter hvor pinnebeinene var skåret bort og tomatsaus som var varmebehandlet på forhånd og tilsatt 21g sukker per kilo saus, dette for å gi en mildere smak. Hermetikkboksene inneholdt 170g makrell i tomat, hvor det var ca. 120g makrell og ca. 50g tomatsaus. Halvparten av sausen ble lagt i bunnen av boksen, så ble fisken lagt på og resten av sausen ble lagt på toppen. Lokket på hermetikkboksene ble falset på manuelt, boksene var ikke helt fulle. Det ble laget 26 bokser med makrell i tomat varmebehandlet på 60°C, 26 bokser med makrell i tomat varmebehandlet på 85°C og 34 bokser med makrell i tomat som ble hermetisert.

Hermetiseringen ble gjort hos HiST i en autoklav på 120°C med et trykk på 1,4 bar og en holdetid på 20 minutter. Den mildere varmebehandlingen ble gjort hos SINTEF Fiskeri og havbruk i en dampovn med 100% fuktighet og ved 60 og 85°C med en holdetid på 10 minutter. For at kjernetemperaturen skulle oppnås raskt ble ovnen stilt inn på 10 grader høyere enn ønsket temperatur. Da kjernetemperaturen i prøven var oppnådd (etter ca. 15 minutter for begge temperaturene) ble ovnen skrudd ned til riktig temperatur og prøvene stod slik i 10 minutter før de ble tatt ut av ovnen. Se Vedlegg B for bilder av stekebrettene med plasseringen av loggere.

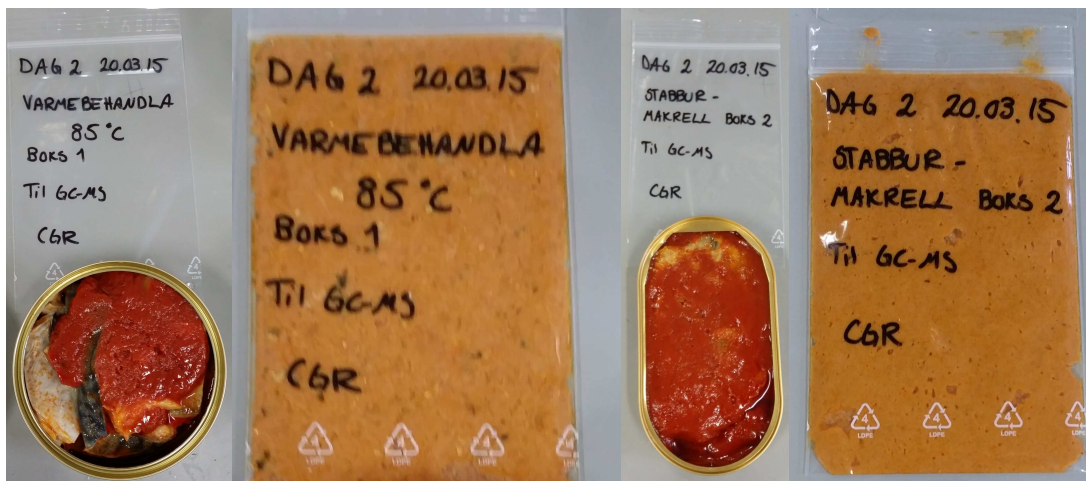
Prøvene ble lagret på kjølerom (4°C) frem til de ble homogenisert. I tillegg til de hermetiserte prøvene som ble laget hos SINTEF ble bokser med Stabbur-Makrell også benyttet. Orkla Foods Norge produserte disse boksene med makrell i tomat den 16. mars 2015. Det ble gjort fire uttak over tid. Uttak 1 var dag 2, uttak 2 var dag 9, uttak 3 var dag 21 og uttak 4 var dag 30. Prøvene ble homogenisert med en foodprosessor og overført til ziplock-posere hvor luften ble klemt ut og innholdet ble klappet flatt. Prøvene ble så fryst ned (-80°C). Fra disse prøvene ble det gjort headspace GC-MS analyser. Figur 3.5 viser forskjellige steg i prosessen med tillaging av prøver. Figur 3.5 (a) viser makrell i tomat før varmebehandling, (b) antall prøver som ble homogenisert per uttak, og (c)-(f) prøvene før og etter homogenisering.



(a)



(b)



(c)

(d)

(e)

(f)

Figur 3.5: (a) Makrell i tomat før varmebehandling og hermetisering. (b) Forsøksoppsett for homogenisering av prøvene. Det ble laget to paralleller. (c)-(f) Boksler med makrell i tomat som har blitt åpnet og homogenisert. Foto: Christina Grønstad.

3.2 Headspace GC-MS

Headspace GC-MS analyser ble gjennomført 28. mai og 10. juni av Anders Brunsvik ved SINTEF Materialer og kjemi. Det ble laget en standard og prøver ble preparert henholdsvis 20. mai og 9. juni. Standarden ble laget av hexanal, 1-penten-3-ol, 1-heptanol og propionaldehyd i blanding (100mM) løst i 2/3 etanol og 1/3 ione-fritt vann. Makrell i tomat ble homogenisert og lagret på -80°C , som beskrevet i avsnitt 3.1.3, og ble flyttet til -20°C dagen før de skulle brukes. Ziplock-posene med makrell i tomat ble tatt opp fra fryser og tint i romtemperatur. Tabell 3.1 viser hvilke prøver som ble brukt.

Tabell 3.1: Prøver bruk til headspace GC-MS.

| Prøve | Uttak |
|--------------------------------------|--------------|
| Stabbur-Makrell, nyprodusert | 1, 2, 3 og 4 |
| Varmebehandling 85°C | 1, 2, 3 og 4 |
| Varmebehandling 60°C | 1 |

Det ble tatt to paralleller av hver prøve slik at det var 18 prøver tilsammen for hver kjøring. Figur 3.6 viser prepareringen av prøvene. Det ble veid ut $(4,0 \pm 0,1)$ gram homogenisert makrell i tomat til hvert prøveglass. De ferdig preparerte prøvene og standard ble satt i kjøleskap hos SINTEF Materialer og kjemi dagen før prøvene skulle analyseres. Prøvene som ble laget 20. mai ble oppbevart i fryser (-20°C) frem til 27. mai.



Figur 3.6: Preparering av prøver til headspace GC-MS. Til venstre: tomt prøveglass og kork, midten: prøveglass med ca. 4g makrell i tomat, til høyre: prøveglass med ferdig påkapslet kork. Foto: Christina Grønstad.

3.3 Sensorisk analyse

Sensorisk analyse ble gjennomført av og hos Orkla Foods Norge. Metoden som ble brukt var profilering og det var fem dommere i panelet. Panelet var delvis trent og bestod av tre dommere fra sensorikkgruppen til Orkla Foods Norge og to dommere fra produktutvikling. Det var fire uttak og de ble gjennomført 20. mars, 27. mars, 8. april og 17. april. Prøvene ble profilert etter en fem punkts skala hvor alternativene var: ingen, svak, tydelig, sterk og meget sterk. Egenskapene som ble testet var: bilukt, hvithet, fasthet, tyggemotstand, saftighet, fiskesmak og bismak. For hvert uttak var det fire prøver som ble testet, se Tabell 3.2.

Tabell 3.2: Informasjon om prøver av makrell i tomat til sensorisk analyse hos Orkla Foods Norge. Nyprodusert = Stabbur-Makrell som ble produsert 16. mars 2015 og referanse = Stabbur-Makrell som ble produsert 8. januar 2015. Standardprosess = standardprosess for produksjon av Stabbur-Makrell.

| Prøver | Hånd-/maskinfiletert | Hånd-/maskinfylt | Varmebehandling | Laget av |
|----------------|----------------------|------------------|-----------------|----------|
| Hermetisert | Håndfiletert | Håndfylt | 120°C | SINTEF |
| Varmebehandlet | Håndfiletert | Håndfylt | 85°C | SINTEF |
| Nyprodusert | Maskinfiletert | Maskinfylt | Standardprosess | Fabrikk |
| Referanse | Maskinfiletert | Maskinfylt | Standardprosess | Fabrikk |

Prøvene som ble testet ved hvert uttak var makrell i tomat som var blitt hermetisert ved 120°C og laget ved HiST, makrell i tomat som var mildere varmebehandlet ved 85°C og laget hos SINTEF, nyprodusert Stabbur-Makrell som ble produsert 16. mars 2015 og Stabbur-Makrell fra ordinær produksjon som ble produsert 8. januar 2015 ved fabrikk i Kungshamn. Ved uttak 1 ble det også testet makrell i tomat som var blitt mildere varmebehandlet ved 60°C og laget hos SINTEF.

3.4 Analysemetoder

3.4.1 Vann- og saltløselige proteiner, bestemmelse av proteininnhold

Mengden vann- og saltløselige proteiner ble bestemt ved først å ekstrahere vannløselig protein fra prøven med fosfatbuffer (0,05 M og pH 7) og deretter ble saltløselig protein ekstrahert fra den samme prøven med fosfatbuffer tilsatt kaliumklorid (0,05 M med 0,6 M KCl og pH 7) som gitt av Hultmann og Rustad (2002) [108]. Metoden for utførelsen er beskrevet i Vedlegg C. Ekstraksjonene foregikk ved 4°C.

Proteininnholdet i homogenisatene ble bestemt ved bruk av et spektrofotometer ved hjelp av Bio-Rad metoden med bovint gamma globulin (BGG) som standard [109]. Metoden for utførelsen er beskrevet i Vedlegg D.

Analyse av proteiner med Bio-Rad metoden er basert på fargeforandringer i Coomassie Brilliantblå G-250. Denne fargereagensen består av to forskjellige farger, rød og blå. Når protein bindes til fargereagensen endres fargen fra rød til blå, dette endrer også fargereagensens absorpsjonsmaksimum fra 465 nm(rød) til 595 nm(blå). Binding av protein til fargen er en relativt rask prosess, det tar ca. 2 minutter å danne et protein-farge-kompleks og dette holder seg stabilt opp mot en time [109].

3.4.2 Vann- og tørrstoffinnhold

Vann- og tørrstoffinnhold ble bestemt ved å tørke 2g oppmalt fisk per prøve ved 105°C i et tørkeskap i 24 timer. Det ble notert ned nøyaktig vekt før og etter tørking, samt av den tomme prøveholderen. Det ble tatt to paralleller av hver prøve. Metoden for utførelsen er beskrevet i Vedlegg E.

Figur 3.7 viser prøvene før og etter varmebehandling for henholdsvis uttak 1 og uttak 2 med tomatsaus fra forsøket med varmebehandling i vakuumposer.



(a)



(b)

Figur 3.7: Vanninnhold. (a) Preparerte prøver før tørking (uttak 1 med tomatsaus), (b) Ferdigtørkede prøver klare for veiing (uttak 2 med tomatsaus). Foto: Christina Grønstad.

3.4.3 Kvantifisering av SH-grupper

For å bestemme konsentrasjonen av SH-grupper i vann- og saltløselige proteinekstrakter ble proteinekstrakt, urea-løsning (8M) og DTNB blandet og inkubert ved romtemperatur i 30 minutter. Prøvene ble deretter sentrifugert og fargen ble målt med et spektrofotometer [78]. Metoden for utførelsen er beskrevet i Vedlegg F.

Urea brukes i denne metoden for å denaturere proteinet og gjøre SH-gruppene mer tilgjengelige.

3.4.4 Headspace GC-MS

2 blanke prøver, 2x5 standarder med forskjellige konsentrasjoner og 18 prøver med makrell i tomat ble analysert med headspace GS-MS. Prøvene ble analysert i serie med en headspace temperatur på 85°C. Det ble kjørt et sett med en blank og fem standarder både før og etter prøvene med makrell i tomat.

Spesifikasjoner for massespektrometeret var følgende:

- Instrument type: quadropole
- Scan direction high to low
- Highest m/z detected = 376
- High m/z setting = 370
- Solvent tailing (m/z 84)
- Run begins at: 0,09 min
- Column bleed (m/z 207)

Resultatene ble analysert med programmene Chemstation og AMDIS (Automatic Mass spectral Deconvolution and Identification System). Chemstation ble brukt til å lage en standardkurve og kvantifisere prøvene. Fra Chemstation ble AMDIS brukt til å identifisere forbindelser i GC-MS spekterene. Dekonvolusjon av GC-MS datafilen ble gjort for å finne de separate komponentene. Hver av disse komponentene ble så sammenlignet mot et bibliotek som består av såkalte target komponenter. Programmet bruker et massespekter bibliotek kalt NIST (National Institute of Standards and Technology Mass Spectral Database), med eller uten retensjonsindekser for å identifisere forbindelsene i en datafil [110].

3.4.5 Sensorikk

Det ble brukt en profilering med et internt, delvis trent panel som inneholdt fem dommere. Prøvene ble bedømt etter en fem punkts skala. Se Vedlegg G for skjemaet som ble brukt.

4 RESULTATER OG DISKUSJON

4.1 Kartleggingsforsøk

I kartleggingsforsøket ble endringer i proteinløselighet bestemt for makrell som var varmebehandlet i vannbad ved temperaturer mellom 50 og 90°C. Proteinløseligheten ble bestemt ved å ekstrahere vann- og saltløselig proteiner. Deretter ble proteinekstraktet brukt til å finne kvantifiseringen av SH-grupper.

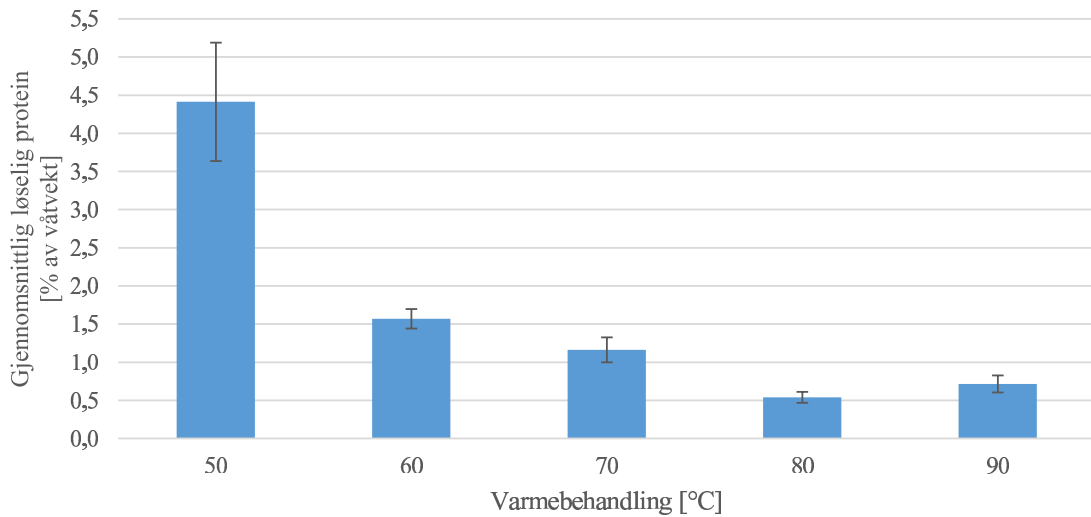
4.1.1 Proteinløselighet

Vann- og saltløselig protein ble ekstrahert fra makrell som var varmebehandlet på 50, 60, 70, 80 og 90°C med en holdetid på 10 minutter. Protein ble ekstrahert fra fiskemuskel hvor mengde innveid muskel ble variert. Metoden benytter vanligvis 4g innveid muskel, men fordi det forventes at proteinløseligheten går ned ved varmebehandling ble også prøver basert på 6 og 8g studert. Forskjellene mengde innveid muskel utgjorde er vist i Figur 4.3.

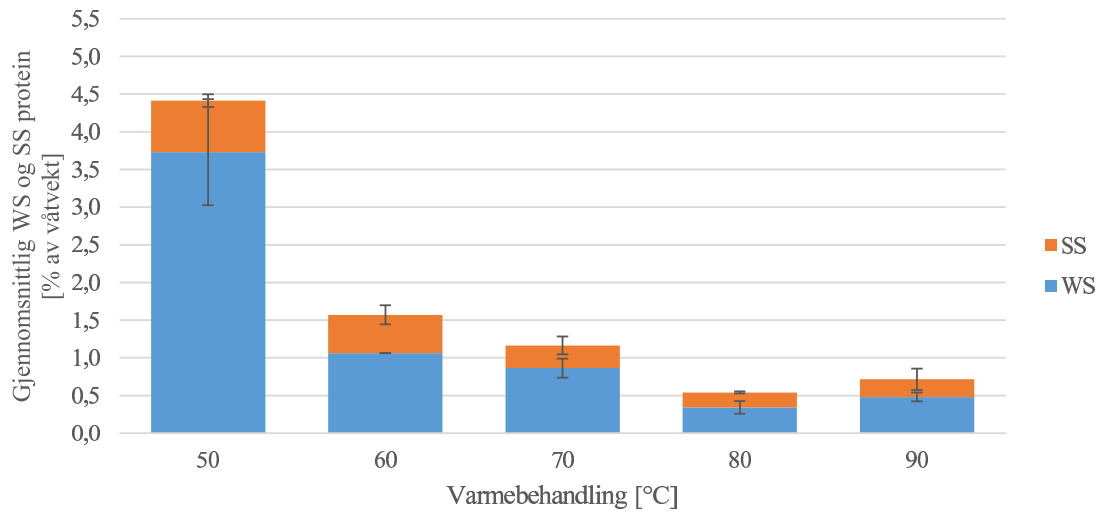
Figur 4.1 viser totalt gjennomsnittlig løselig protein [% av våtvekt]. I figuren representerer en stolpe gjennomsnittet av alle parallellene fra denne temperaturen, det vil si at for 50, 70 og 90°C ble det tatt gjennomsnitt av fire paralleller hvor to av parallellene er basert på 4g innveid makrell, en parallell er basert på 6g og den siste parallellen er basert på 8g, mens for 60 og 80°C ble det tatt gjennomsnitt av to paralleller hvor begge er basert på 8g innveid makrell. Se Vedlegg H for eksempel på beregning av mengde ekstrahert løselig protein.

Figur 4.1 viser at mengde løselig protein avtar med økende temperatur. Ved å dele løselig protein inn i vann- og saltløselig protein kommer det fram at det hovedsakelig er de vannløselige proteinene som avtar, de saltløselige proteinene holder seg forholdsvis stabile, men nivåene er veldig lave. Figur 4.2 viser det samme som Figur 4.1, men er delt opp i vann- og saltløselig protein for å vise forskjellene tydeligere.

Resultatene viser at varmebehandling ved 50°C gir det høyeste innholdet av løselige proteiner (4,4%), det tyder på at det har forekommet mer denaturering av proteiner for varmebehandling fra 60°C og opp til 90°C hvor mengde løselige proteiner er betydelig lavere med nivåer mellom 0,5 - 1,6%. Figurene viser at mengde løselige proteiner er høyere for 90°C enn 80°C, dette kan skyldes at det har vært et stort drypptap fra varmebehandlingen hvor mesteparten av dette ble absorbert tilbake ved nedkjøling etter varmebehandling.

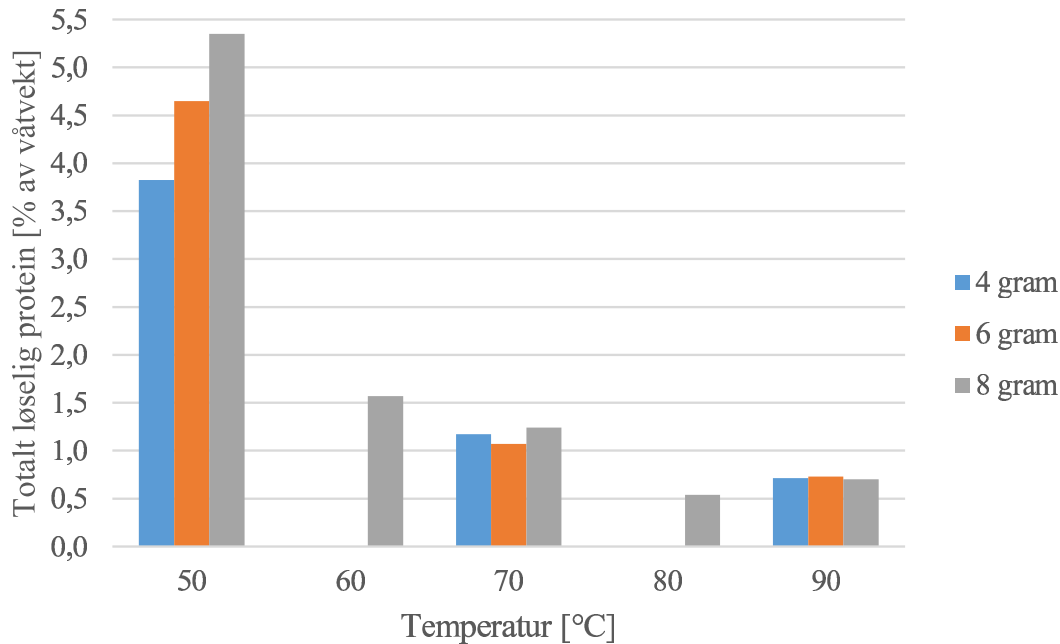


Figur 4.1: Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 50, 60, 70, 80 og 90°C med en holdetid på 10 minutter.



Figur 4.2: Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 50, 60, 70, 80 og 90°C. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.

Figur 4.3 viser resultatene for totalt løselig protein slik som Figur 4.1, men her er parallellene vist hver for seg. Stolpene for 4 gram innveid makrell er basert på gjennomsnittet av to paralleller, det samme gjelder for stolpene for 60 og 80°C. Resten av stolpene er verdier beregnet ut i fra en prøve.



Figur 4.3: Totalt løselig protein i ekstrakt gitt som % av våtvekt for de ulike varmebehandlingstemperaturene (50, 60, 70, 80 og 90°C). Stolpene for 4 gram innveid makrell og stolpene for 60 og 80°C er gjennomsnittet av to paralleller, resterende stolper er basert på en måling.

Resultatene i Figur 4.3 viser at prøvene med 4 gram innveid makrell har minst innhold av løselige proteiner (3,83%) for varmebehandling ved 50°C, mens prøven med 8 gram innveid makrell har høyest innhold av løselige proteiner (5,35%). For varmebehandling ved 70 og 90°C er det nesten ingen forskjell i totalt løselig protein mellom prøvene med 4, 6 og 8 gram innveid makrell, men innholdet av løselige proteiner er litt høyere for 70°C enn for 90°C (ca. 0,5% skiller prøvene med 8 gram innveid makrell).

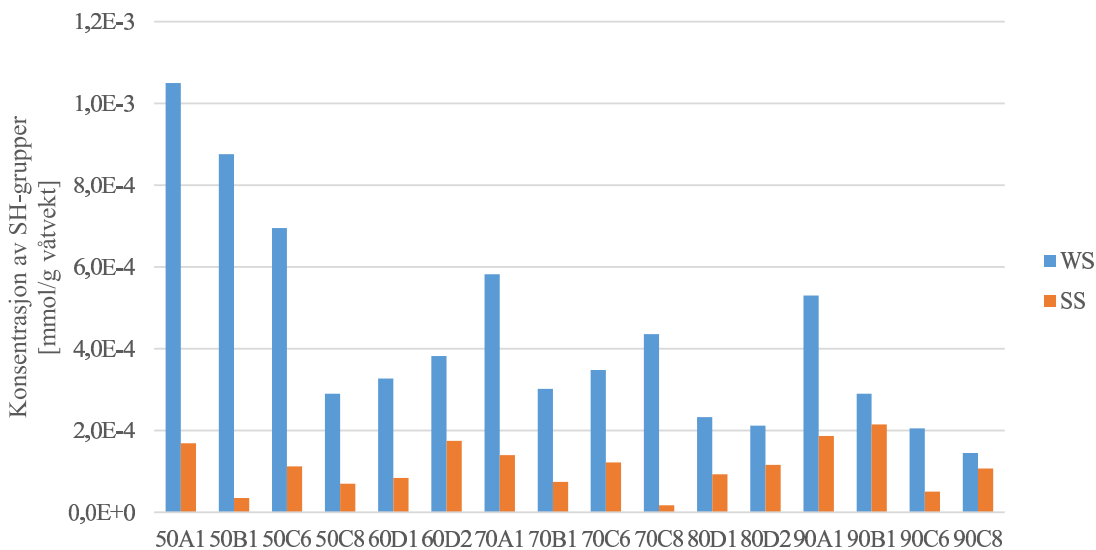
Ved å sammenligne Figur 4.1 og Figur 4.3 så er det tydelig at målingene for 4 gram innveid makrell er med på å trekke ned gjennomsnittet for totalt løselig protein for varmebehandling ved 50°C. Derfor ga Figur 4.3 et bedre grunnlag for å velge hvilke varmebehandlingstemperaturer som var mest interessante å studere i de videre forsøkene.

Det ble valgt å benytte 8g innveid fiskemuskel for ekstraksjon av løselige proteiner i de videre forsøkene. Varmebehandling ved 50°C ga høyest innhold av løselige proteiner, og derfor kunne dette vært en interessant temperatur for videre studier. Ved 50°C blir imidlertid drepingen av mikroorganismer i produktet en større utfordring, da bakteriene ikke blir inaktivert i tilstrekkelig grad. Det må derfor gjøres flere analyser for å sjekke innholdet av mikroorganismer i makrell i tomat for å kunne vite om produktet vil være trygt å spise når det har blitt varmebehandlet ved denne temperaturen. I denne masteroppgaven ble det ikke gjennomført noen mikrobiologiske analyser, dermed ble det valgt å ikke se nærmere på varmebehandling ved 50°C, men heller se på temperaturene 60, 70, 80 og 90°C i de videre forsøkene for varmebehandling av makrell og makrell i tomat i vakuumposer.

4.1.2 Kvantifisering av SH-grupper

Fra proteinekstraktene ble innhold av SH-grupper funnet både for vann- og saltløselige proteiner. Dette ble gjort for å studere graden av proteinoksidasjon ved varmebehandling. Figur 4.4 viser konsentrasjonen av SH-grupper [mmol/g våtvekt] for alle prøvene. Se Vedlegg H for beregning av konsentrasjonen av SH-grupper.

Figur 4.4 viser at det var varierende innhold av SH-grupper for de forskjellige varmebehandlingstemperaturene. Det kan se ut som at graden av oksidasjon for de vannløselige pro-

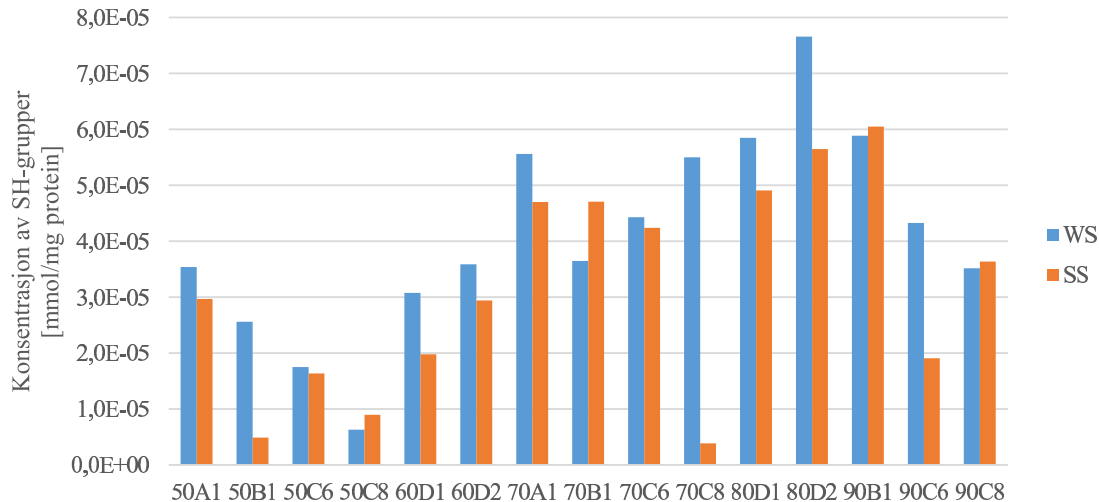


Figur 4.4: Konsentrasjon av SH-grupper gitt i mmol/g våtvekt for vann- og saltløselig protein. 50A1 betyr makrell A, filet 1 ble varmebehandlet på 50°C. 50C6(8) betyr at det ble veid ut 6(8)g fra makrell C som ble varmebehandlet på 50°C. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.

teinene varierte etter som hvor mye fiskemuskel som ble innveid. Prøvene som var ekstrahert fra 4g muskel hadde høyere konsentrasjon av SH-grupper enn prøvene som var ekstrahert fra 6g. Det samme gjelder for prøvene som var ekstrahert fra 6g innveid muskel, som hadde høyere konsentrasjoner av SH-grupper for vannløselige proteiner enn for prøvene som ble ekstrahert fra 8g muskel. Prøvene 50A1 og 50B1 var basert på 4g innveid makrell og har de høyeste konsentrasjonene av SH-grupper for vannløselige proteiner. Prøve 50C6 var basert på 6 g innveid makrell og har en høy konsentrasjon av SH-grupper for vannløselig protein sammenlignet med resten av prøvene. Dette kan tyde på at proteinene ikke var fullstendig denaturert ved denne temperaturen. Skipnes *et al.* (2008) fant at proteinene i torsk denaturerte mellom 35 og 66°C [48].

Prøvene som ble varmebehandlet på 80 og 90°C har mindre konsentrasjon av SH-grupper enn prøvene som ble varmebehandlet på lavere temperaturer. Yongsawatdigul *et al.* (2003) foreslo at disulfidbindinger dannes når oksidering av SH-grupper på myosinhodet skjer ved temperaturer fra 30°C og oppover [72]. Resultatene viser at det kan tyde på at det har vært mest oksidering av proteiner ved 80 og 90°C slik at det har blitt dannet flere disulfidbindinger her enn for prøvene med lavere temperaturer. Redusert løselighet av proteiner som følge av varmebehandlingstemperaturen kan også være en faktor som påvirker konsentrasjonen av SH-grupper i prøvene. Dette ble sett nærmere på i neste forsøk hvor makrell ble varmebehandlet i vakuumposer, se avsnitt 4.2.4.

I tillegg til å studere konsentrasjonen av SH-grupper som mmol/g våtvekt, ble konsentrasjonen av SH-grupper for vann- og saltløselige proteiner plottet som mmol/mg protein for hver av prøvene, dette er vist i Figur 4.5.



Figur 4.5: Konsentrasjon av SH-grupper gitt i mmol/mg protein for vann- og saltløselig protein. 50A1 betyr makrell A, filet 1 ble varmebehandlet på 50°C. 50C6(8) betyr at det ble veid ut 6(8)g fra makrell C som ble varmebehandlet på 50°C. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.

I Figur 4.5 er prøve 90A1 tatt ut fordi konsentrasjonen av SH-grupper i ekstraktet med saltløselige proteiner var mye høyere i denne prøven enn for de resterende prøvene. Dette skyldes at innholdet av saltløselige proteiner i ekstraktet var tilnærmet null (0,03%), og absorbansmålingene lå langt under standardkurven. Figur I.4 i Vedlegg I viser plottet av konsentrasjonen av SH-grupper som mmol/mg protein hvor alle prøvene er tatt med.

Fra Figur 4.5 kan det se ut som at konsentrasjonen av SH-grupper øker med økende varmebehandlingstemperatur fram til og med 80°C, før konsentrasjonen avtar igjen for 90°C. Dette kommer av at ekstraherbarheten av løselige proteiner avtok med økende varmebehandlingstemperatur, og det var generelt lite protein som ble ekstrahert fra alle prøvene. Lav konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein kan indikere at det har vært ekstrahert en større mengde løselige proteiner fra denne prøven. Forholdet mellom innveid muskel og ekstrahert protein er også en faktor som spiller inn på konsentrasjonen av SH-grupper når den er gitt som mmol/mg protein.

4.2 Varmebehandling i vakuumposer

Makrell og makrell i tomat i vakuumposer ble varmebehandlet på 60, 70, 80 og 90°C med en holdetid på 10 minutter. Temperaturen ble logget under varmebehandlingen med en logger og et steketermometer for å finne ut den faktiske temperaturen som ble oppnådd. Deretter ble råstoff, varmebehandlet makrell og varmebehandlet makrell i tomat analysert for å finne vanninnhold, mengde vann- og saltløselige proteiner og kvantifiseringen av SH-grupper.

4.2.1 Temperaturlogg

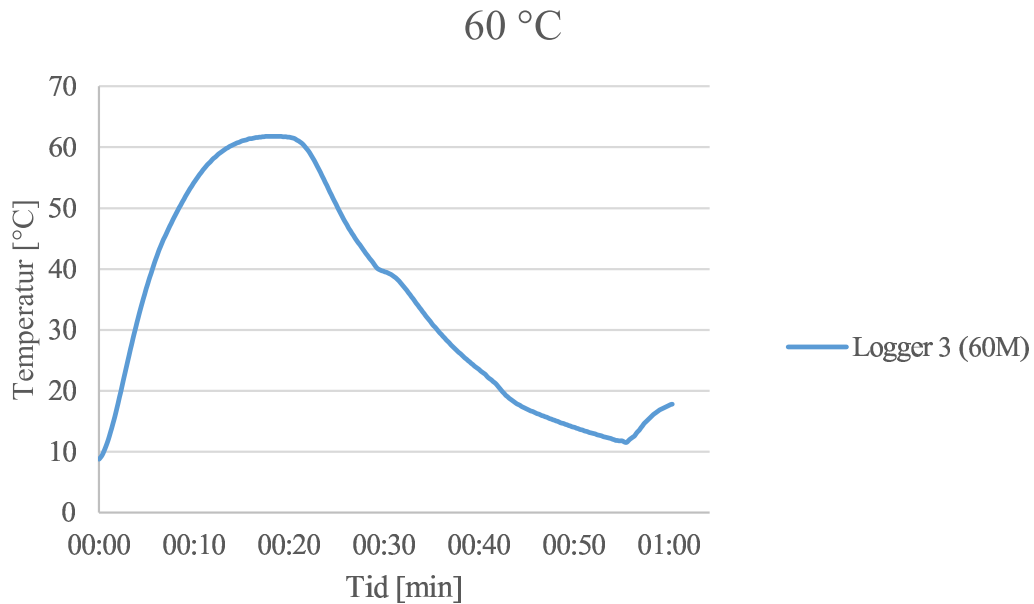
For hver varmebehandling ble det plassert temperaturloggere i tilfeldige vakuumposer med prøve. Posene med loggere var plassert tilfeldig i ovnen under steking. Temperaturen ble logget hvert 10. sekund, med unntak av en logger som logget temperaturen hvert minutt. Figur 4.6-4.9 viser temperaturforløpet for hver av kjernetemperaturene (60, 70, 80 og 90°C). Det ble også plassert et steketermometer i en av de andre posene under varmebehandlingen. Både logger og steketermometer ble plassert mest mulig i midten av hver prøve.

Tabell 4.1 viser maksimumstemperaturen målt med loggere og temperaturen i prøven etter holdetiden på 10 minutter målt med steketermometer. Det mangler to verdier i tabellen, og det kommer av at loggeren som ble brukt for prøven 60U (makrell uten saus, 60°C) ikke var blitt startet. Den andre verdien som mangler er for målingen med steketermometer for prøven 70U (makrell uten saus, 70°C), her ble ikke temperaturen notert ned ved endt holdetid.

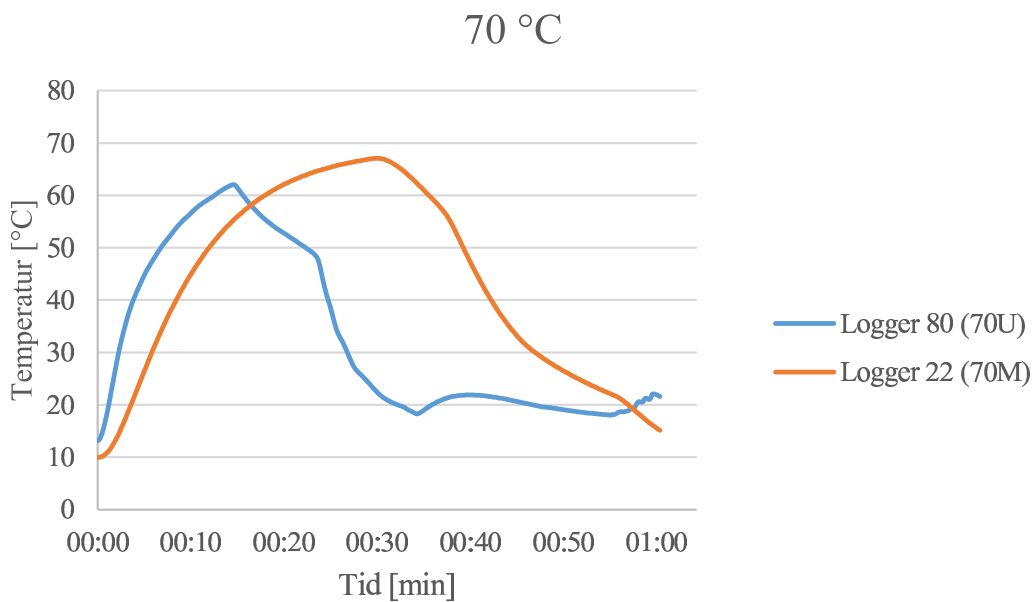
Tabell 4.1: Temperaturer målt med loggere(maksimal temperatur) og med steketermometer(etter holdetiden på 10 minutter) under varmebehandling. 60U = varmebehandling av makrell uten saus ved 60°C og 60M = varmebehandling av makrell med saus ved 60°C.

| Prøve | 60U | 60M | 70U | 70M | 80U | 80M | 90U | 90M |
|----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Logger [°C] | - | 62 | 62 | 67 | 86 | 81 | 87 | 87 |
| Steketermometer [°C] | 61 | 60 | - | 65 | 78 | 78 | 87 | 87 |

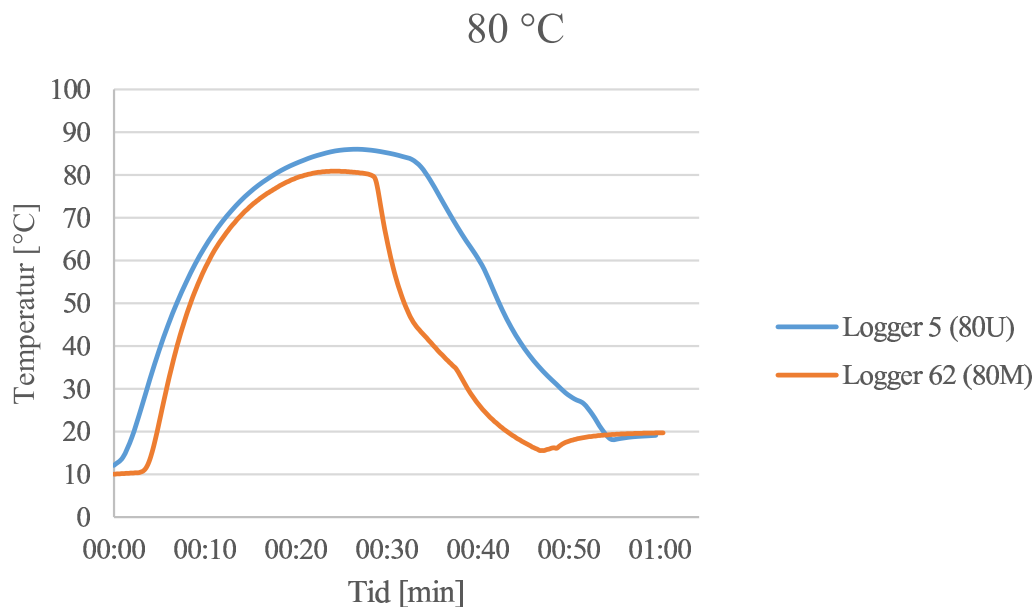
Resultatene viser at målingene for loggerne ligger litt høyere enn for målingene gjort av steketermometeret, med unntak av prøvene på 90°C hvor resultatene er like. Alle temperaturene som ble målt med steketermometer ligger under temperaturen som dampovnen holdt, mens for temperaturloggerne viste det seg at loggerne i prøvene 60M, 80U og 80M lå over dampovnens temperatur og loggerne i prøvene 70U, 70M, 90U og 90M lå under dampovnens temperatur. For prøve 60M og 80M ligger både temperaturen fra loggeren og steketermometeret veldig nært temperaturen dampovnen var stilt inn på.



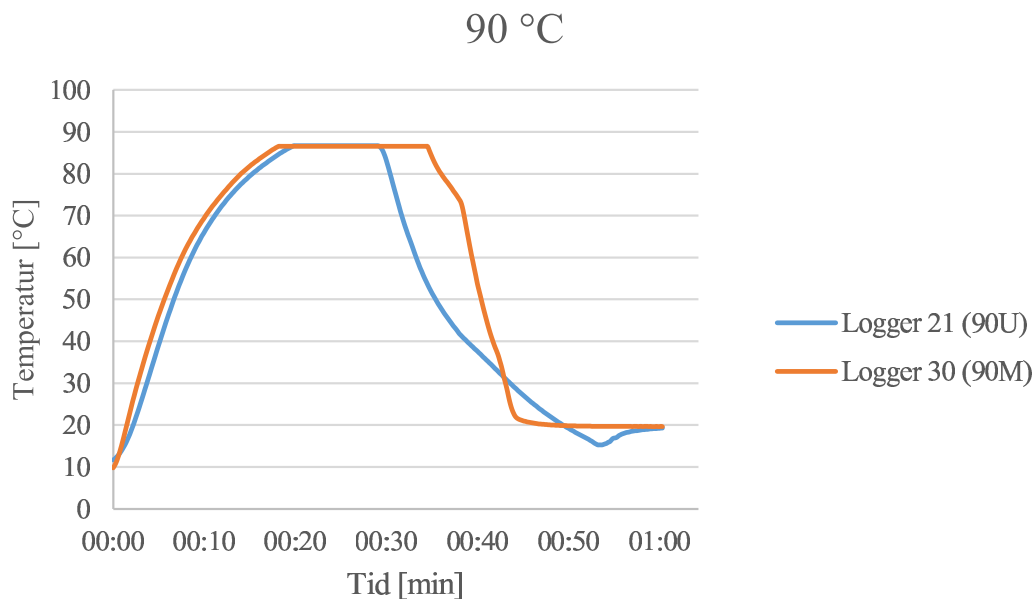
Figur 4.6: Temperaturkurve for varmebehandling på 60°C og holdetid 10 minutter. M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus. Maksimal temperatur som ble oppnådd var 62°C.



Figur 4.7: Temperaturkurve for varmebehandling på 70°C og holdetid 10 minutter. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus. Maksimal temperatur som ble oppnådd var 62°C for makrell og 67°C for makrell i tomat.



Figur 4.8: Temperaturkurve for varmebehandling på 80°C og holdetid 10 minutter. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus. Maksimal temperatur som ble oppnådd var 86°C for makrell og 81°C for makrell i tomat.



Figur 4.9: Temperaturkurve for varmebehandling på 90°C og holdetid 10 minutter. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus. Maksimal temperatur som ble oppnådd var 87°C for både makrell og makrell i tomat.

4.2.2 Vanninnhold

Tabell 4.2 viser vanninnholdet i råstoffet og fra hvert uttak med og uten tomatsaus regnet som gjennomsnittet av alle parallellene fra alle temperaturer. Se Vedlegg H for beregning av vanninnhold.

Tabell 4.2: Vanninnhold i råstoff og varmebehandlet makrell og makrell i tomat gitt i % av innveid makrell.

| Prøve | Uten saus [%] | Med saus [%] |
|---------|---------------|--------------|
| Råstoff | 64,7 | - |
| Uttak 1 | 58,8 | 57,2 |
| Uttak 2 | 60,7 | 56,5 |
| Uttak 3 | 59,3 | 57,3 |
| Uttak 4 | 60,0 | 57,7 |

Råstoffet hadde et vanninnhold på 64,7%, og vanninnholdet til prøvene som bestod av varmebehandlet makrell lå mellom 58,8 - 60,7%, mens vanninnholdet til prøvene som bestod av varmebehandlet makrell i tomat lå mellom 56,5 - 57,7%. Vanninnholdet varierte svært lite med lagringstidentiden etter varmebehandling, det kan ikke ses et tydelig mønster for om vanninnholdet avtar eller øker med lagringstiden, men det holder seg heller tilnærmet konstant. For prøvene med makrell ble det observert et lite drypptap etter varmebehandling, men noe av væsken ble absorbert av fisken igjen ved nedkjøling. Vanninnholdet i prøvene med makrell i tomat var noe lavere enn for prøvene med bare makrell. Dette kan skyldes at noe av vannet i fisken hadde lekket ut i vakuumposen og blandet seg med sausen, og dermed ikke blitt reabsorbert av fisken i like stor grad ved nedkjøling. Prøvene ble veid ut slik at det ble tatt med mest mulig fisk og minst mulig saus.

4.2.3 Proteinløselighet

Vann- og saltløselig protein ble ekstrahert fra råstoff, makrell og makrell i tomat (hvor minst mulig tomatsaus var tatt med). Råstoffet ble analysert dag 1. Det ble tatt seks paralleller av råstoffet fra fem forskjellige makrellfileter. Tabell 4.3 viser resultatene for mengde vann- og saltløselig protein, som % av våtvekt, som ble funnet. Figur 4.10 - 4.13 viser resultatene for gjennomsnittlig totalt løselig protein [% av våtvekt] for makrell og makrell i tomat. I figurene er en stolpe laget ved å ta gjennomsnittet av to paralleller hvor det ble veid ut ca. 8g makrell til hver parallell.

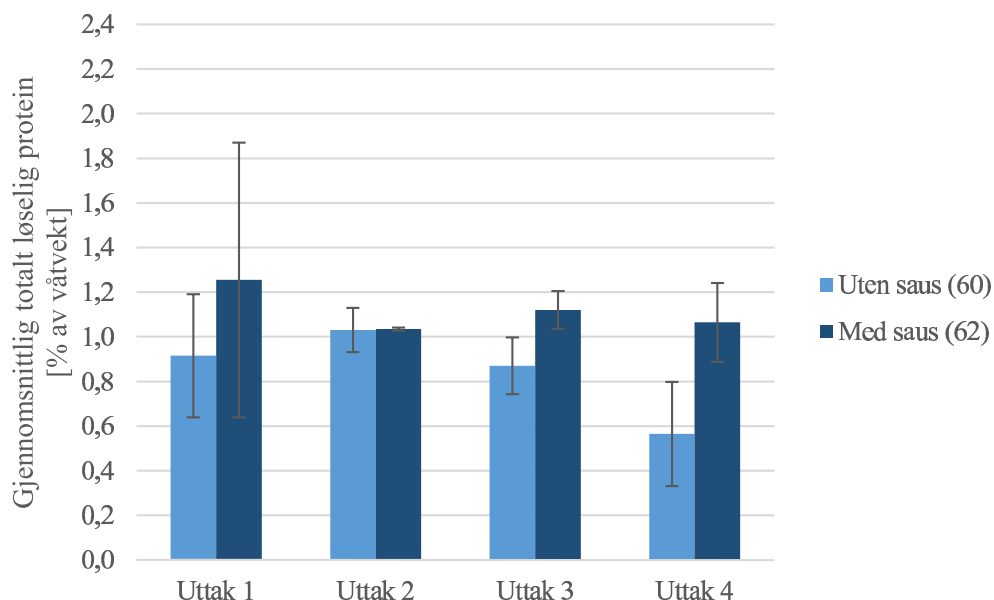
Tabell 4.3: Proteininnhold i råstoff gitt i % av våtvekt. WS = vannløselig protein, SS = saltløselig protein, Totalt = WS og SS lagt sammen.

| Prøve | WS [% av våtvekt] | SS [% av våtvekt] | Totalt [% av våtvekt] |
|--------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| R-1 | 9,70 | 1,57 | 11,27 |
| R-2 | 9,70 | 1,25 | 10,95 |
| R-3 | 8,85 | 1,24 | 10,09 |
| R-4 | 7,54 | 1,39 | 8,93 |
| R-5 | 7,31 | 1,25 | 8,56 |
| R-6 | 6,54 | 1,41 | 7,95 |
| Gjennomsnitt | 8,27 | 1,35 | 9,63 |

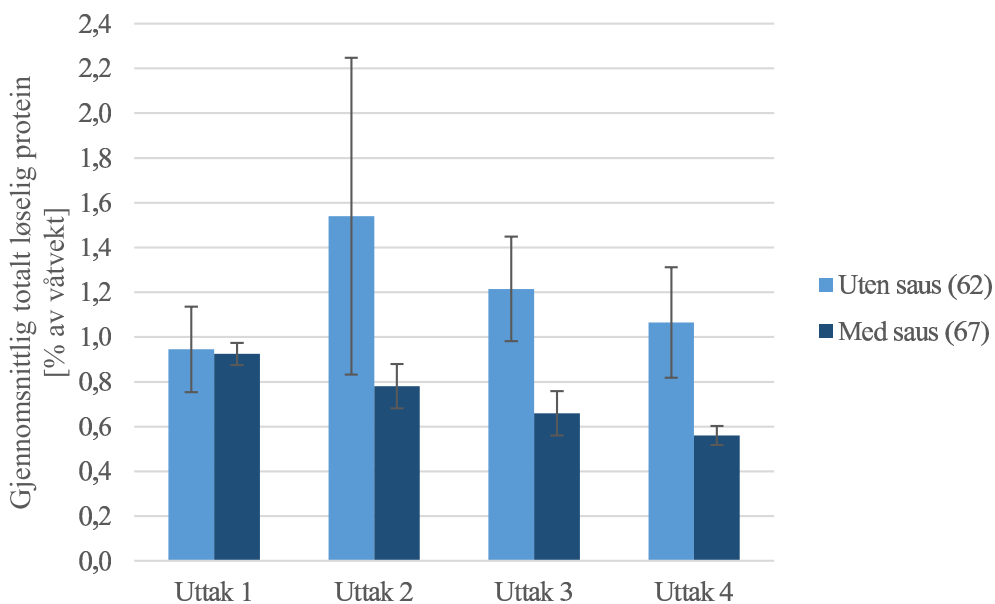
Innholdet av vann- og saltløselig protein er mye høyere for råstoff enn for varmebehandlet makrell og makrell i tomat da det har skjedd en ønskelig denaturering av proteinene ved varmebehandling.

Figur 4.10 viser varmebehandlingen ved 60°C (for prøven med tomatsaus var faktisk temperatur 62°C). Resultatene viser at prøvene med tomatsaus hadde det høyeste innholdet av løselige proteiner sammenlignet med prøvene uten saus. Det var en tydelig forskjell mellom uttak 1, 3 og 4, mens i uttak 2 var det ingen forskjell mellom prøvene. Fra uttak 2, for prøvene med makrell uten saus, var det en nedgang i innholdet av løselige proteiner. For makrell i tomat var det en lignende trend, men her var uttak 2 noe lavere enn uttak 3. Det høyeste innholdet av løselig proteiner hadde prøvene med tomatsaus i uttak 1 (1,26%), mens det laveste innholdet av løselige proteiner hadde prøvene uten tomatsaus i uttak 4 (0,57%).

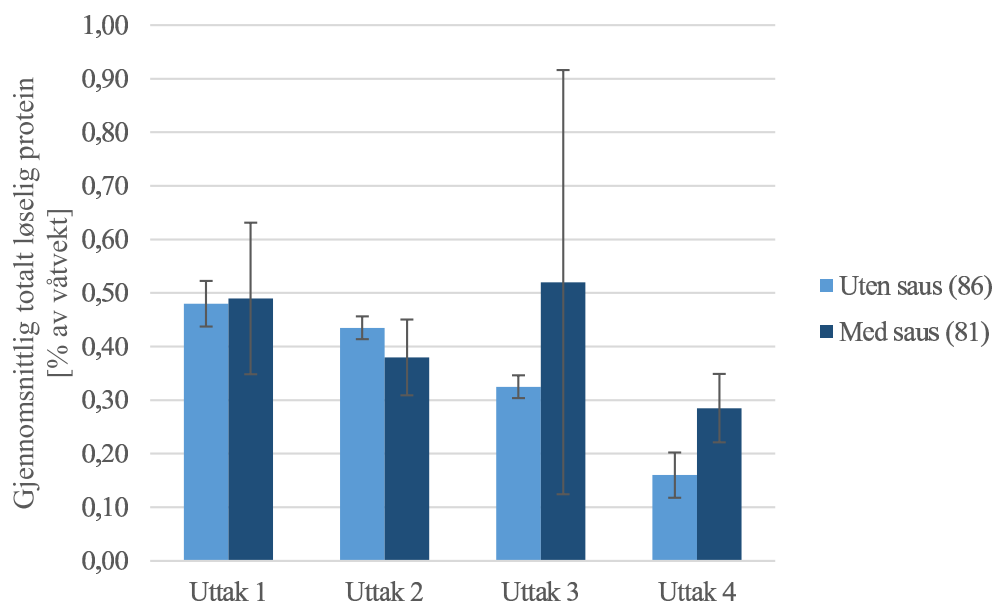
Figur 4.11 viser resultatene av varmebehandlingen ved 70°C. De faktiske temperaturene som ble logget var 62°C for prøvene uten saus og 67°C for prøvene med tomatsaus. Forskjeller mellom varmebehandlingstemperaturen og temperaturen som ble logget kommer av at temperaturjusteringene på dampovnen ble gjort ut ifra hva steketermometeret viste. Dette var



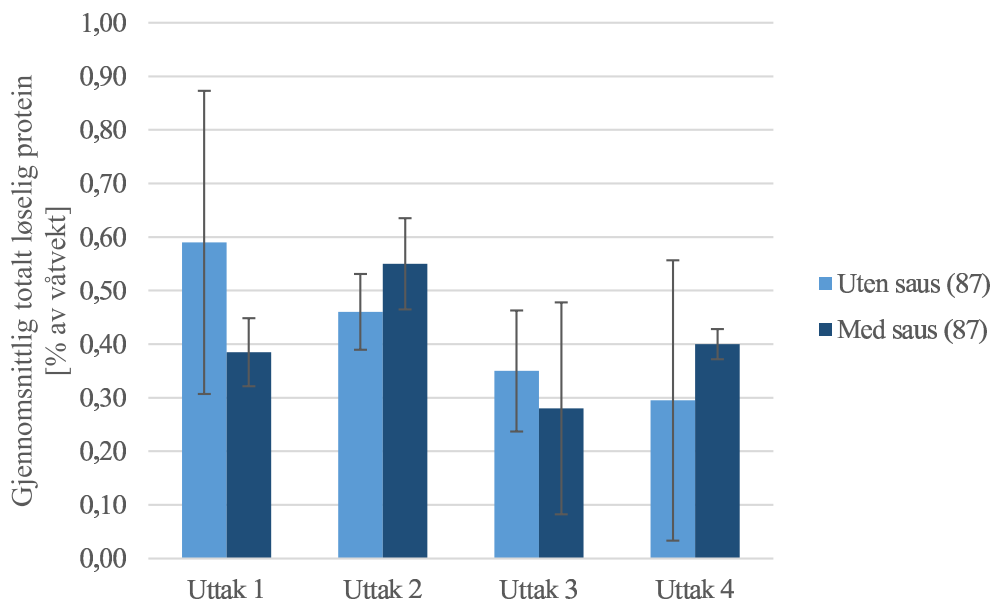
Figur 4.10: Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 60°C. For prøvene uten saus ble ikke temperaturen logget, mens for prøvene med saus ble den faktiske temperaturen 62°C.



Figur 4.11: Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 70°C. For prøvene uten saus ble den faktiske temperaturen 62°C, mens for prøvene med saus ble den faktiske temperaturen 67°C.



Figur 4.12: Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 80°C. For prøvene uten saus ble den faktiske temperaturen 86°C, mens for prøvene med saus ble den faktiske temperaturen 81°C.



Figur 4.13: Gjennomsnittlig totalt løselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 90°C. For prøvene uten og med saus ble den faktiske temperaturen 87°C.

plassert i kjernen i en av de seks prøvene som ble varmebehandlet. Dampovnen, som var stilt inn på 10°C høyere enn for ønsket kjernetemperatur, ble skrudd ned fra 80° til 70° da steketermometeret viste denne temperaturen. Det kan derfor virke som at steketermometeret ikke var plassert ordentlig i midten av prøven. Dette vil da påvirke temperaturen steketermometeret viste fordi prøvene blir raskere varmet opp i overflaten enn i kjernen. Prøvene for makrell uten saus hadde et høyere innhold av løselige proteiner enn prøvene med makrell i tomatsaus. Det var tydelige forskjeller mellom disse for uttak 2, 3 og 4, mens for uttak 1 var det en minimal skilnad. Fra og med uttak 2 så avtok innholdet av løselige proteiner med tiden for makrell i tomat, det samme gjaldt for makrell uten saus. Det høyeste innholdet av løselig protein kom fra uttak 2 og prøven uten saus (1,54%), mens det laveste innholdet av løselige proteiner var fra prøvene i uttak 4 med tomatsaus (0,56%).

Resultatene for løselig protein etter varmebehandling ved 80°C er vist i Figur 4.12. De faktiske temperaturene som ble logget var 86°C for prøvene uten saus og 81°C for prøvene med tomatsaus. Disse temperaturene lå over ønsket kjernetemperatur, noe som kan komme av at loggeren ikke var plassert i kjernen, og har logget temperaturen en annen plass i prøven som ble raskere varmet opp. Prøvene med tomatsaus hadde det høyeste innholdet av løselige proteiner, med unntak av uttak 2 hvor prøvene uten tomatsaus hadde høyest innhold av løselige proteiner. Innholdet av løselig protein avtok med tiden for prøvene med makrell uten saus, det samme gjaldt for prøvene med tomatsaus, med unntak av uttak 3 som hadde det høyeste innholdet av løselig protein (0,52%). Prøven med det laveste innholdet av løselig protein var makrell uten saus i uttak 4 (0,16%).

For varmebehandlingen ved 90°C ble den faktiske temperaturen logget til 87°C for både prøvene med makrell og makrell i tomat. Figur 4.13 viser ingen tydelig trend for om det er prøvene med makrell eller makrell i tomatsaus som hadde høyest innhold av løselige proteiner. Men for prøvene uten saus var det en nedgang i løselig protein med tiden. Det var svært små forskjeller i innholdet av løselig protein, hvor prøven uten saus i uttak 1 hadde høyest innhold av løselige proteiner (0,59%), mens prøven med tomatsaus i uttak 3 hadde lavest innhold (0,28%).

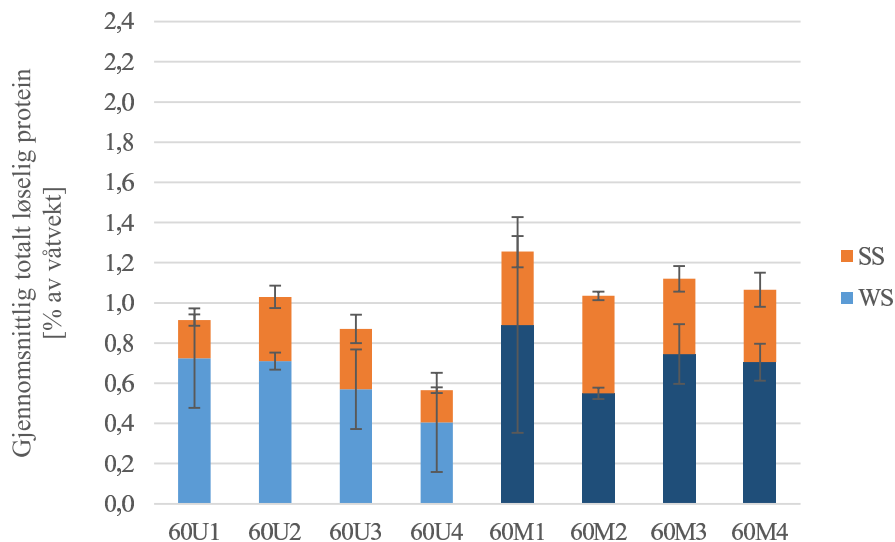
Ved å sammenligne grafene i Figur 4.10 - 4.13 er det varmebehandlingen som ble gjort ved 70°C som hadde de høyeste verdiene for løselig protein. Varmebehandlingen ved 60°C var i samme område, men hadde noe lavere verdier. Når temperaturen oversteg 80°C ble innholdet av løselig proteiner betydelig mindre. Her var innholdet omtrent halvert sammenlignet med temperaturene som lå under 80°C.

Ved å skille mellom vann- og saltløselig protein i figurene ble det tydelig at det hovedsakelig er de vannløselige proteinene som avtok mest med lagringstiden. Nivåene av de saltløselige proteinene er allerede så lave at det ikke skjer noen store endringer. Figur 4.14 - 4.17 viser vann- og saltløselig protein [% av våtvekt] ved de forskjellige varmebehandlingstemperaturene.

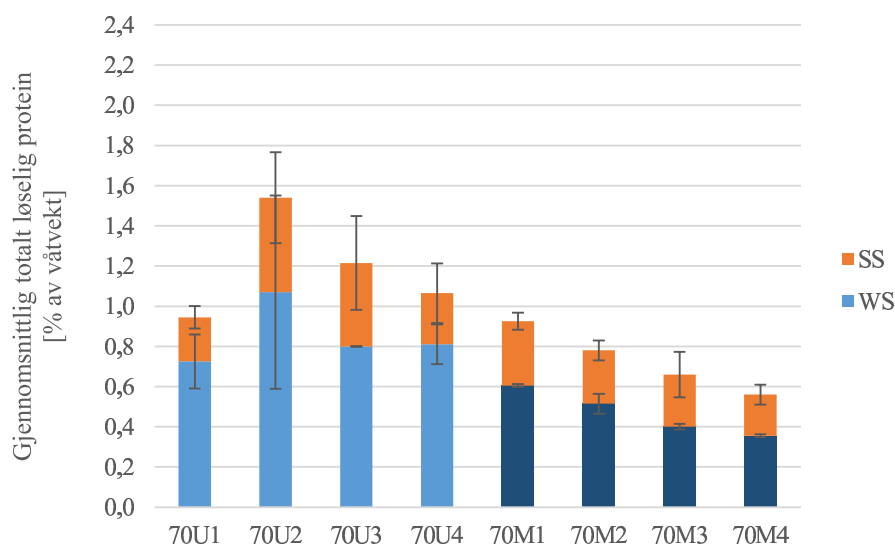
Ved å se nærmere på de vannløselige proteinene, som består av sarkoplasmaproteiner [24], er det mulig å se at mengden avtok med tiden for varmebehandling av makrell uten saus ved 60 og 80°C. For varmebehandling av makrell uten saus ved 70°C var det uttak 2 som hadde det høyeste innholdet av vannløselige proteiner (1,07%), mens uttak 1, 3 og 4 hadde tilnærmet likt innhold av vannløselige proteiner (0,73 - 0,81%). Varmebehandling av makrell uten saus på 90°C viste at uttak 1 og 2 har små forskjeller i innhold av vannløselige proteiner (henholdsvis 0,27% og 0,31%), men fra og med uttak 2 var det en nedgang i mengde vannløselig protein.

Hvor stabile proteinene i fisk er, påvirkes av varmebehandlingen. Poulter *et al.* (1985) fant at for sarkoplasmaproteinene (som var løselig i 0,05M fosfatbuffer) i torsk skjedde det en endring i proteinfraksjonen mellom 30 og 50°C [70]. For prøvene av makrell uten tomatsaus har det skjedd en tydelig endring i proteinløseligheten for alle varmebehandlingstemperaturene, noe som er rimelig med tanke på resultatene Poulter *et al.* fant. Når prøvene ligger lagret vil det skje endringer i hvilke forbindelser som finnes i prøven. Det er mulig at forbindelser som dannes etter en tids lagring kan føre til endringer i proteinstabiliteten. Wang *et al.* (2013) fant at turbiditeten til sarkoplasmaproteiner hadde en dramatisk økning mellom 48 og 58°C for karpe som hadde vært frossen. En økning i turbiditeten til proteinløsninger ved varmebehandling indikerer at det skjer en aggregering av proteiner [66]. At fisken har vært lagret frossen før den varmebehandles påvirker sarkoplasmaproteinene og gjør de mer utsatt for aggregering ved varmebehandling [65]. Makrellen som ble brukt til disse prøvene hadde vært lagret frossen i ca. 1 måned. Ut fra resultatene kan det derfor se ut som at det har skjedd en aggregering av proteinene som videre har påvirket løseligheten.

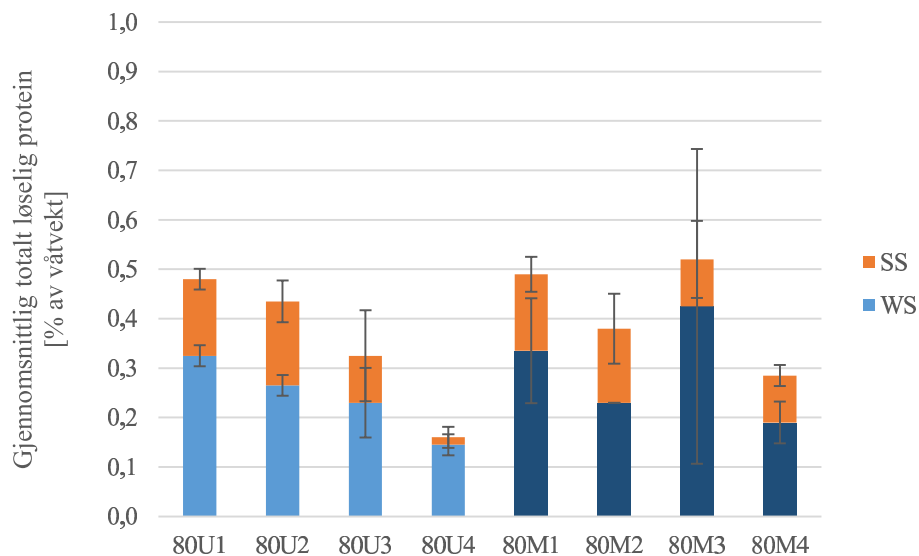
For prøvene med makrell i tomatsaus var det bare varmebehandling ved 70°C som viste en tydelig trend for endringen i vannløselige proteiner. Innholdet av vannløselige proteiner avtok med tiden. For varmebehandling ved 90°C viser Figur 4.17 at innholdet av vannløselige proteiner holder seg tilnærmet konstant med lagringstiden etter varmebehandling (0,25 - 0,29%). Varmebehandlingen av makrell i tomatsaus ved 60°C viste at uttak 1 hadde det høyeste innholdet av vannløselige proteiner (0,89%), mens uttak 2 hadde det laveste innholdet (0,55%). Uttak 3 og 4 hadde derimot tilnærmet likt innhold av vannløselige proteiner (henholdsvis 0,75% og 0,71%). Figur 4.16 viser varmebehandlingen ved 80°C hvor uttak 3 hadde det høyeste innholdet av vannløselige proteiner (0,43%), mens uttak 4 hadde det laveste innholdet (0,19%). Uttak 1 (0,34%) lå nærmere uttak 3, mens uttak 2 (0,23%) lå nærmere uttak 4 i innhold av vannløselige proteiner.



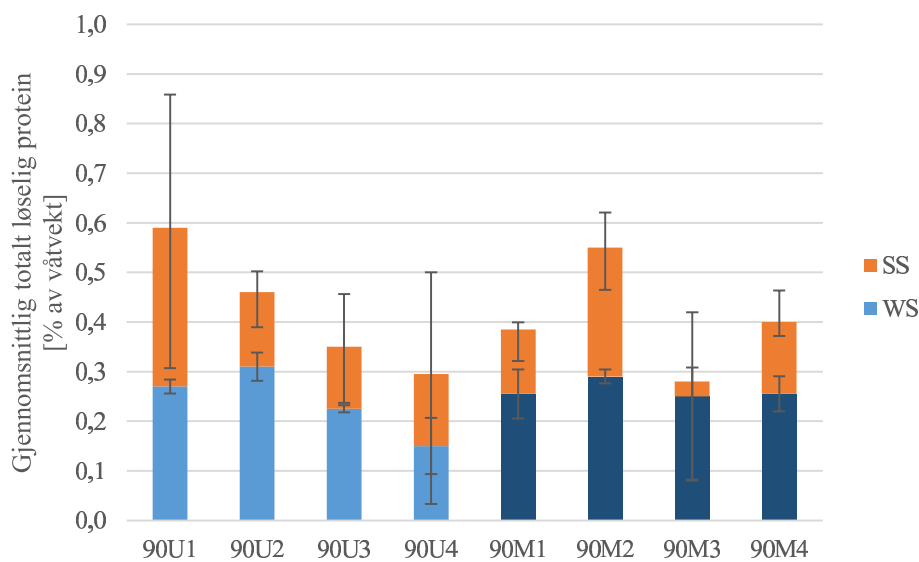
Figur 4.14: Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 60°C. For prøvene uten saus ble ikke temperaturen logget, mens for prøvene med saus ble den faktiske temperaturen 62°C. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus, tallene 1-4 indikerer hvilket uttak prøvene var fra. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.



Figur 4.15: Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 70°C. For prøvene uten saus ble den faktiske temperaturen 62°C, mens for prøvene med saus ble den faktiske temperaturen 67°C. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus, tallene 1-4 indikerer hvilket uttak prøvene var fra. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.



Figur 4.16: Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 80°C. For prøvene uten saus ble den faktiske temperaturen 86°C, mens for prøvene med saus ble den faktiske temperaturen 81°C. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus, tallene 1-4 indikerer hvilket uttak prøvene var fra. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.



Figur 4.17: Gjennomsnittlig vann- og saltløselig protein i ekstrakt, som % av våtvekt, fra makrell som ble varmebehandlet på 90°C. For prøvene uten og med saus ble den faktiske temperaturen 87°C. U betyr at prøven inneholdt makrell, mens M betyr at prøven inneholdt makrell i tomatsaus, tallene 1-4 indikerer hvilket uttak prøvene var fra. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.

Figur 4.14 - 4.17 viser at de saltløselige proteinene varierer i svært mindre grad enn de vannløselige proteinene. Dette kan komme av at disse allerede hadde denaturert ved lavere temperaturer enn varmebehandlingen holdt, slik at det ikke var mulig å få ekstrahert ut disse. Saltløselige proteiner er hovedsakelig myofibrillproteiner [24]. Myofibrillproteiner er viktige for fiskemuskelens evne til å holde på vann. Studier gjort av Aman (1983) bekreftet det. Dagbjartsson og Solberg (1972) hadde rapportert om at myofibrillproteinene endrer struktur ved lav temperatur [61], [62]. Wang *et al.* (2013) fant at det oppstod spesielt mer aggregering av myofibrillproteiner når fisken hadde vært frossen sammenlignet med fersk fisk [65]. Aggregeringen forekom mellom 48 og 58°C, som tidligere nevnt. Dette kan forklare hvorfor nivåene av saltløselige proteiner var så lave for alle prøvene, fordi aggregering av proteinene hadde påvirket løselighetsegenskapene til de saltløselige proteinene ved alle varmebehandlingstemperaturene som ble brukt i disse forsøkene.

For varmebehandling av makrell og makrell i tomat i vakuumposer ble det funnet at det høyeste innholdet av vannløselig protein for råstoff var 9,70% og det høyeste innholdet av saltløselige proteiner var 1,57%. Innholdet av vannløselige proteiner etter varmebehandling var høyest ved 60°C for prøvene med makrell i tomatsaus, mens prøvene med makrell uten saus hadde høyest innhold av vannløselige proteiner ved 70°C. Det samme gjelder for innholdet av saltløselige proteiner etter varmebehandling. Ut i fra resultatene kan det virke som at det er en fordel å varmebehandle makrell i tomat ved en temperatur som er lavere enn 80°C for å unngå for kraftig denaturering av proteinene slik at makrellen beholder noe av sin saftighet og ikke blir tørr.

4.2.4 Kvantifisering av SH-grupper

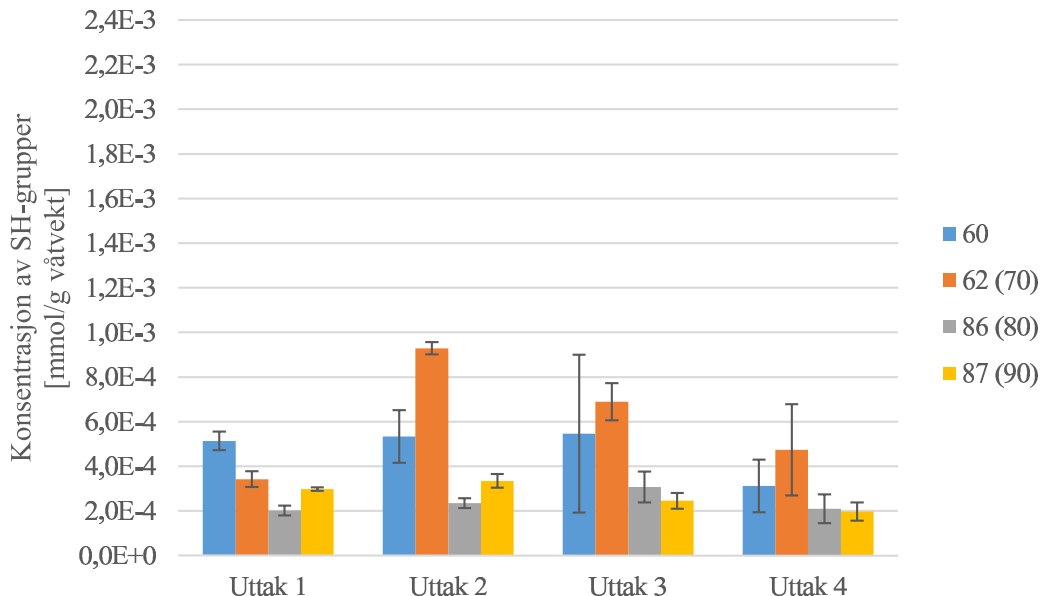
Fra proteinekstraktene ble innhold av SH-grupper funnet både for vann- og saltløselige proteiner. Dette ble gjort for å studere graden av proteinoksidasjon ved varmebehandling. Figur 4.18 - 4.21 viser konsentrasjonen av SH-grupper [mmol/g våtvekt] for vann- og saltløselige proteinekstrakter laget av makrell med og uten tomatsaus.

Figur 4.18 viser konsentrasjonen av SH-grupper for vannløselig protein laget fra makrell uten saus. For uttak 1 var det prøven som ble varmebehandlet på 60°C som hadde høyest konsentrasjon av SH-grupper, mens for uttak 2, 3 og 4 var det prøven som ble varmebehandlet på 70°C som hadde den høyeste konsentrasjonen av SH-grupper. Prøvene som ble varmebehandlet på 80 og 90°C hadde relativt like resultater og dette kan komme av at de faktiske temperaturene som ble registrert med logger i prøvene var henholdsvis 86 og 87°C. Det skjedde heller ingen store endringer i løpet av lagringstiden for disse to prøvene. Mens for prøvene som ble varmebehandlet på 60 og 70°C (faktisk temperatur var 62°C for 70°C-prøven) skjedde det større endringer for konsentrasjonen av SH-grupper over tid. Endringer i proteinoksidasjon kan føre til endringer i smaken på produktet. Dersom det også skjer endringer i konsentrasjonen av fettoksidasjon i løpet av lagringstiden, slik at konsentrasjonene øker, vil dette kunne gi en harskning av fett og dermed en uønsket bismak til produktet. Det er kjent at et nyåpnet Stabbur-Makrell produkt allerede etter en dag har en svært endret aromaprofil.

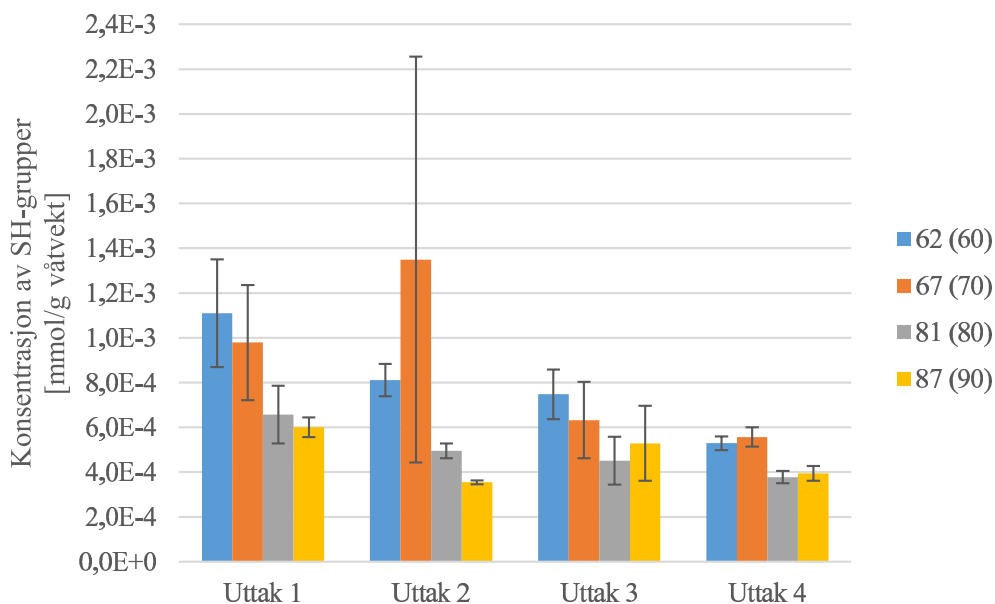
Konsentrasjonen av SH-grupper for vannløselig protein laget fra makrell i tomatsaus er vist i Figur 4.19. Resultatene viste at alle prøvene hadde generelt høyere konsentrasjoner av SH-grupper enn det prøvene laget av makrell uten saus hadde. Dette kan skyldes at tomatsausen inneholder noen stoffer som kan virke som antioksidanter og dermed hindrer proteinoksidasjon. Det var prøvene som ble varmebehandlet på 60 og 70°C som hadde høyest konsentrasjoner av SH-grupper, mens 80 og 90°C hadde lavest konsentrasjoner av SH-grupper. Ved varmebehandling vil dannelsen av kryssbindinger øke etter hvert som temperaturen øker. Kryssbindinger mellom nærliggende proteiner i aktomyosin kan føre til aggregering av disse proteinene [24], [73]. Høyere temperatur gjør at aktomyosin foldes ut og SH-gruppene blir mer tilgjengelig for oksidasjon og det dannes S-S-bindinger.

Figur 4.20 viser konsentrasjonen av SH-grupper for saltløselig protein laget fra makrell uten saus. Resultatene for de saltløselige proteinene varierte mer enn for de vannløselige proteinene. Det var ingen typisk trend for resultatene til konsentrasjonen av SH-grupper over tid for de forskjellige uttakene.

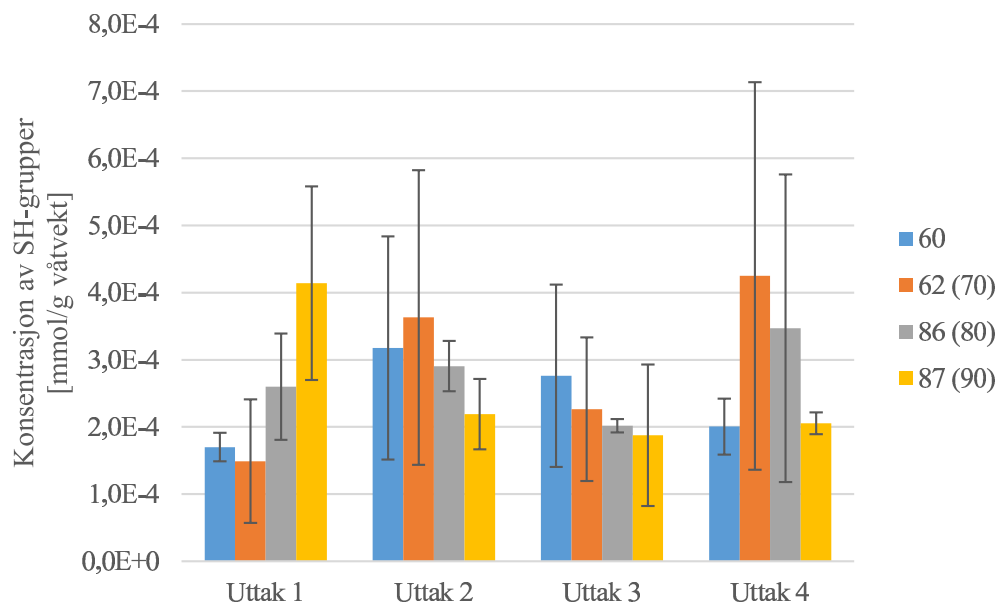
Konsentrasjonen av SH-grupper for saltløselige proteiner laget fra makrell i tomatsaus er vist i Figur 4.21. I uttak 1 var resultatene for prøvene som ble varmebehandlet på 60 og



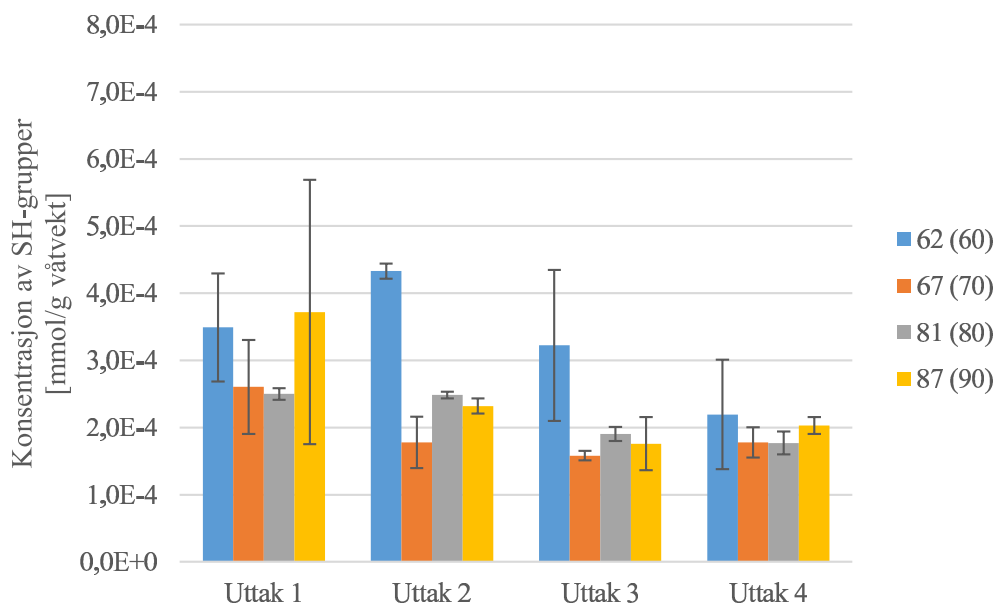
Figur 4.18: Konsentrasjon av SH-grupper fra vannløselig protein for makrell uten saus gitt som mmol/g våtvekt. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.



Figur 4.19: Konsentrasjon av SH-grupper fra vannløselig protein for makrell med tomatsaus gitt som mmol/g våtvekt. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.



Figur 4.20: Konsentrasjon av SH-grupper fra saltløselig protein for makrell uten saus gitt som mmol/g våtvekt. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.



Figur 4.21: Konsentrasjon av SH-grupper fra saltløselig protein for makrell med tomatsaus gitt som mmol/g våtvekt. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.

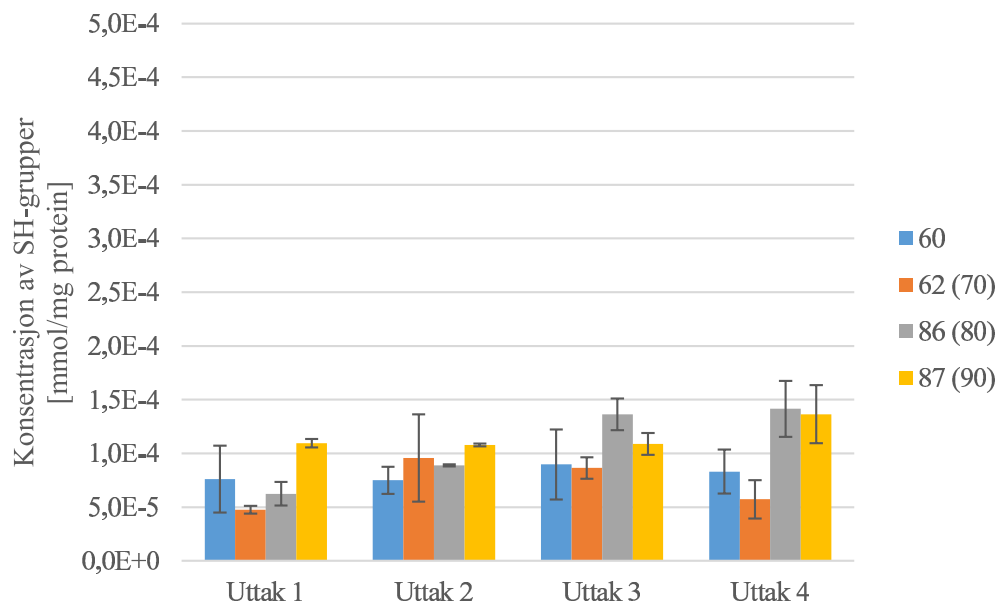
90°C ganske like, mens for uttak 2, 3 og 4 var det prøvene som ble varmebehandlet på 60°C (med faktisk temperatur på 62°C) som hadde høyest konsentrasjon av SH-grupper, men konsentrasjonen avtok med tiden. Resultatene fra uttak 3 og 4 var relativt jevne for prøvene som ble varmebehandlet på 70, 80 og 90°C, og det så ut til at det ikke hadde skjedd store endringer med proteinene mellom uttakene. At konsentrasjonen av SH-grupper [mmol/g våtvekt] avtar med økende varmebehandlingstemperatur kan komme av at løseligheten til proteinene blir redusert etter hvert som de denaturerer i større grad ved høyere temperaturer.

I tillegg til å studere konsentrasjonen av SH-grupper som mmol/g våtvekt, ble konsentrasjonen av SH-grupper for vann- og saltløselige proteiner plottet som mmol/mg protein for hver av prøvene, dette er vist i Figur 4.22 - 4.25.

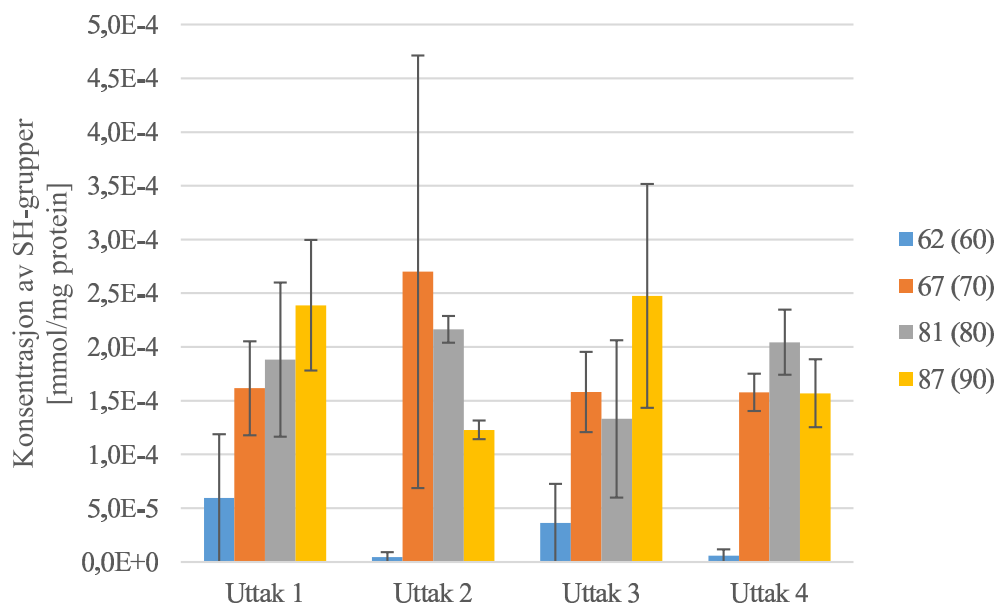
Ved å sammenligne Figur 4.22 og Figur 4.23 er det tydelig at det er en forskjell i løseligheten til vannløselige proteiner når det kommer til om prøven bestod av makrell uten saus eller makrell i tomatsaus. Det er høyere konsentrasjoner av SH-grupper for prøvene med tomatsaus enn for prøvene uten saus. Det kan tyde på at tomatsausen har beskyttet fiskemuskelen under varmebehandlingen slik at det har forekommet mindre oksidasjon av de vannløselige proteinene.

Konsentrasjonen av SH-grupper var omtrent den samme for de saltløselige proteinene som for de vannløselige proteinene. Figur 4.24 og 4.25 viser henholdsvis prøvene med makrell uten saus og makrell med tomatsaus. Det ser ikke ut til at tomatsausen har samme virkningen for saltløselige proteiner som for de vannløselige proteinene. Prøve 80U4 har den høyeste konsentrasjonen av SH-grupper gitt i mmol/mg protein. Dette skyldes at innholdet av saltløselig protein i denne prøven var tilnærmet null (0,02%). Innholdet av saltløselig protein var også svært lavt for prøve 90M3 (0,03%).

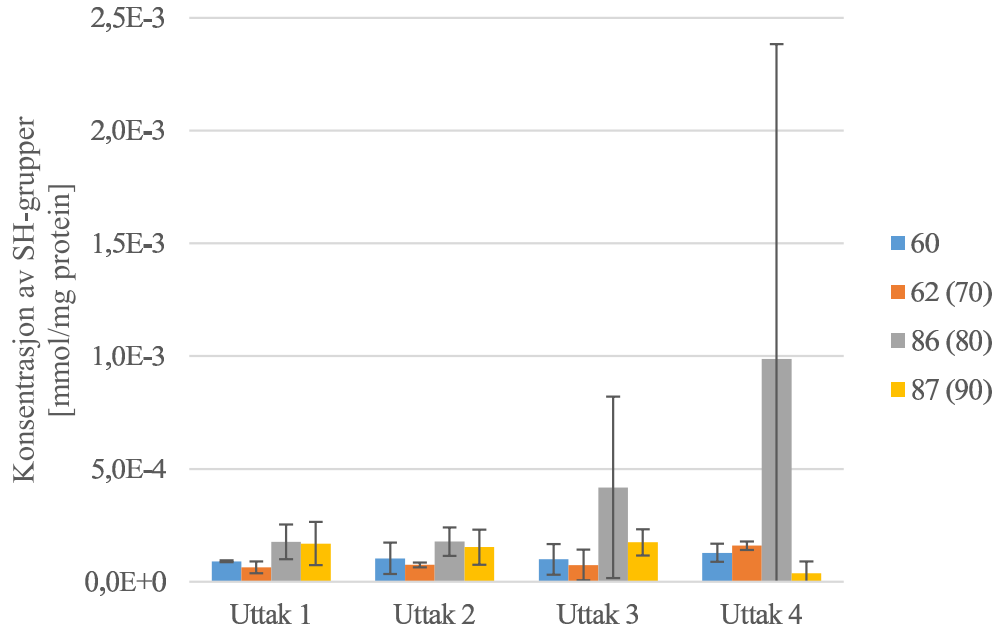
Varmebehandling gjør at proteiner begynner å foldes ut og når dette skjer vil SH-gruppene bli mer tilgjengelige for oksidasjon og det dannes disulfidbindinger [75]. Dannelsen av disulfidbindinger påvirkes av betingelsene for varmebehandlingen [76]. For torsk er det funnet av Skipnes *et al.* (2008) at proteinene denaturerer mellom 35 og 66°C [37]. Fordi denaturering av proteiner begynner ved lavere temperaturer enn det som har blitt studert i denne oppgaven, har mange SH-grupper blitt gjort tilgjengelige noe som har ført til at det har blitt dannet mange disulfidbindinger. Wang *et al.* (2013) fant at det var en signifikant endring i innholdet av SH-grupper når prøvene ble varmebehandlet over 45°C. Yongsawatdigul *et al.* (2003) studerte innholdet av SH-grupper i «threadfin bream» (*nemipterus bleekeri*) og fant konsentrasjoner av SH-grupper i området 5-8 mol/10⁵g protein og konkluderte med at det ble dannet S-S-bindinger fra 30°C og at det er en gradvis nedgang i totale SH-grupper (økning av S-S-bindinger) mellom 40 og 80°C [72]. Resultatene som er presentert i Figur 4.22 - 4.25 har noe høyere konsentrasjoner av SH-grupper enn resultatene Yongsawatdigul



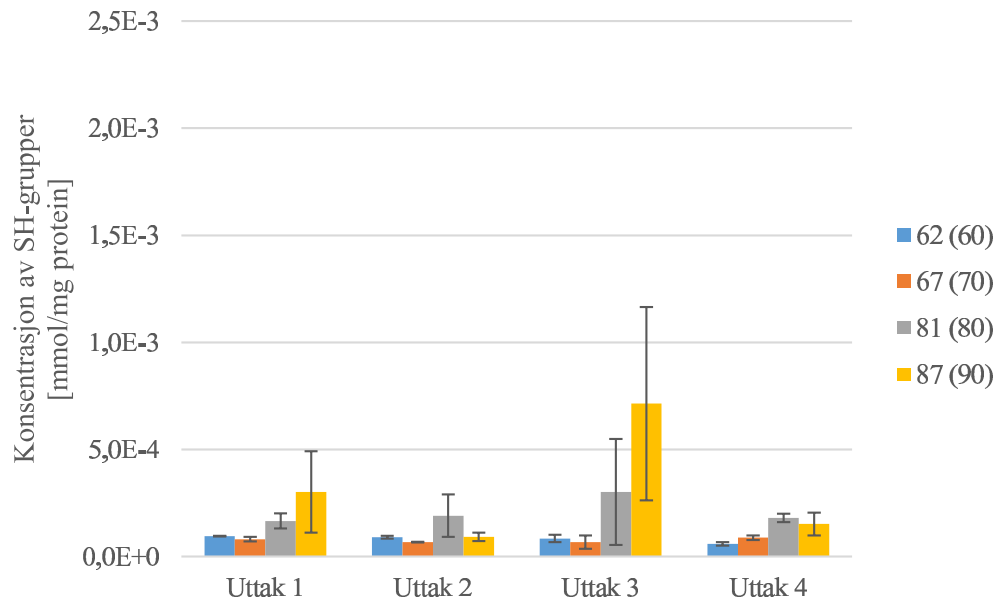
Figur 4.22: Konsentrasjon av SH-grupper gitt som mmol/mg protein for vannløselig protein i makrell uten saus. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.



Figur 4.23: Konsentrasjon av SH-grupper gitt som mmol/mg protein for vannløselig protein i makrell med saus. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.



Figur 4.24: Konsentrasjon av SH-grupper gitt som mmol/mg protein for saltløselig protein i makrell uten saus. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.



Figur 4.25: Konsentrasjon av SH-grupper gitt som mmol/mg protein for saltløselig protein i makrell med tomatsaus. 87 (90) betyr at den faktiske målte temperaturen i prøven under varmebehandling ved 90°C var 87°C.

et al. presenterte. Fordi det er tatt utgangspunkt i forskjellige fiskeslag vil dette gi individuelle forskjeller for konsentrasjonene. På grunn av at denaturering av proteiner i fiskemuskel oppstår allerede fra 30°C og det i dette forsøket ble brukt temperaturer mellom 60 og 90°C, er det rimelig å anta at det har foregått proteinoksidasjon som har gitt mange S-S-bindinger.

Det er trolig ikke ønskelig med en høy grad av proteinoksidasjon ved varmebehandling. Resultatene viser at det skjer mindre proteinoksidasjon for varmebehandlingene som er gjort ved 60 og 70°C (faktisk temperatur 61-67°C) enn ved 80 og 90°C (faktisk temperatur 81-87°C). Dersom det er ønskelig å lage et makrell i tomatprodukt som er saftigere enn standard Stabbur-Makrell kan det være lurt å ikke varmebehandle ved temperaturer som ligger langt over temperaturintervallet hvor muskelproteinene denaturerer. Høye temperaturer kan føre til et stort koketap og gjøre at produktet føles tørt å spise.

4.3 Varmebehandling i hermetikkbokser

I det siste forsøket ble makrellen varmebehandlet i hermetikkbokser. Makrellen var lagret frossen i seks måneder. Noen av prøvene ble mildere varmebehandlet ved 60 og 85°C, her viste temperaturloggere at oppnådd temperatur var henholdsvis ca. 50°C og 80°C. Begge hadde en holdetid på 10 minutter. Resten av prøvene ble hermetisert i en autoklav som holdt 120°C hvor holdetiden var 20 minutter.

4.3.1 Headspace GC-MS

For å finne ut hvilke aromastoffer mildere varmebehandlet makrell i tomat inneholdt ble dette undersøkt med headspace GC-MS analyse hos SINTEF Materialer og kjemi den 28. mai og 10. juni. Resultatene ble behandlet med programmene Chemstation og AMDIS.

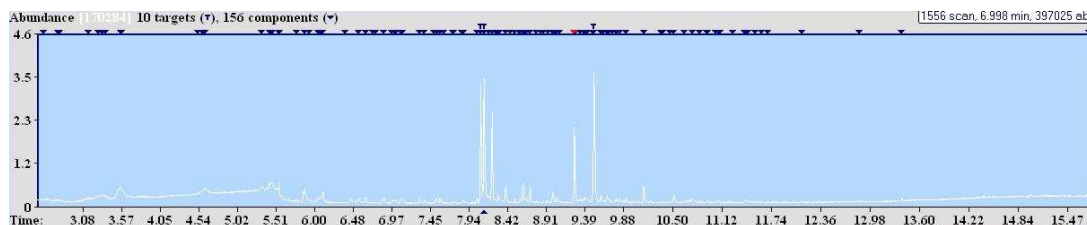
Det var ikke mulig å trekke noen konklusjoner ut i fra resultatene for prøvene som ble kjørt 28. mai. Ved å lage en standardkurve kom det fram at parallellene for standardene ikke var like, det var ingen overlapping mellom standardene og disse burde overlappet hverandre fullstendig. Det var derfor ikke mulig å bruke standardkurven til å kvantifisere prøvene med makrell i tomat. Det ble gjort et forsøk på å studere responsen i prøvene ved å semi-kvantifisere disse. Det ble lagd et plott hvor responsen i prøvene ble vist for analyserekkefølgen. Plottet viste at responsen var proporsjonal med analyserekkefølgen. Responsen var høyest for den første prøven og lavest for den siste prøven. Responskurven fra denne kjøringen er lagt i Vedlegg J.

For prøvesettet som ble kjørt 10. juni var det samme problem med standardene som ved kjøring av det første prøvesettet. Parallellene for de ulike standardkonsentrasjonene var ikke like og kunne derfor ikke brukes til å lage en standardkurve. Det ble gjort et forsøk på å studere respons for semi-kvantifisering av heptanol, men dette viste også at analyserekkefølgen har spilt en rolle for responsen. Responskurven er lagt i Vedlegg J.

AMDIS ble brukt for å finne hvilke stoffer som var synlige på kromatogrammene for de forskjellige prøvene som ble kjørt 10. juni. For prøvene som ble varmebehandlet på 60 og 85°C ble de samme fire forbindelsene detektert i alle prøvene. Dette var 1-heptanol, eddiksyre, pristane og smørsyre. For prøvene med nyprodusert Stabbur-Makrell ble det funnet flere forskjellige forbindelser i de forskjellige prøvene. Tabell 4.4 viser hvilke forbindelser som ble detektert (markert med x) i hvilke prøver. Figur 4.26 viser kromatogrammet forstørret inn på de forskjellige toppene som ble funnet for Stabbur-Makrell fra uttak 1, parallell 2.

Tabell 4.4: Forbindelser som ble detektert med headspace GC-MS i prøver av nyprodusert Stabbur-Makrell. Prøvene ble kjørt i serie med headspace temperatur på 85°C. x indikerer at forbindelsen ble funnet i prøven. Stab1-2 betyr nyprodusert Stabbur-Makrell fra uttak 1 og parallell nummer 2.

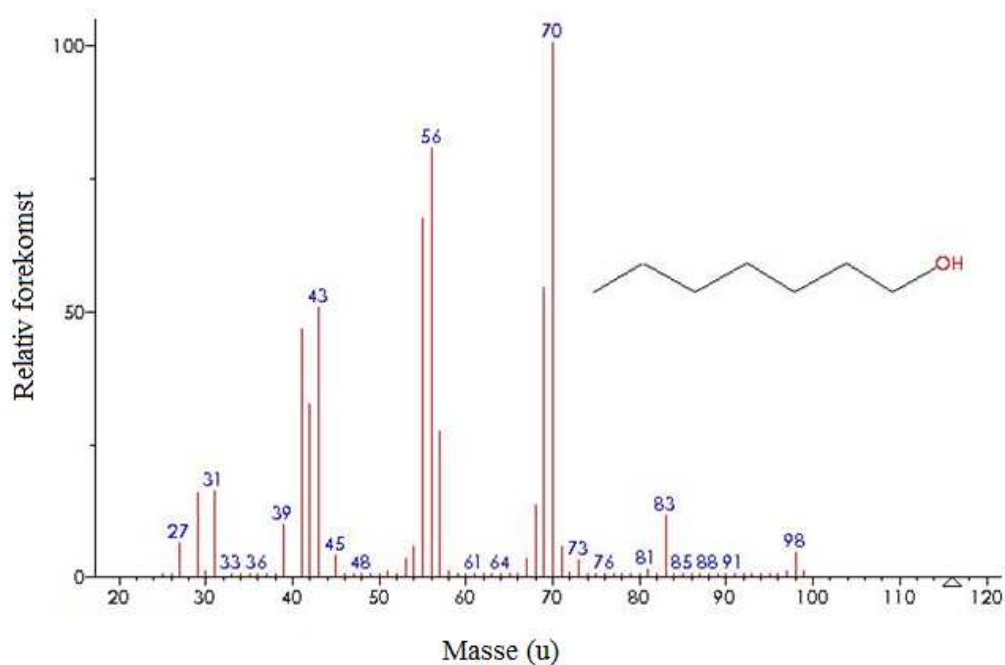
| Forbindelse | Stab1-1 | Stab1-2 | Stab2-1 | Stab2-2 | Stab3-1 | Stab3-2 | Stab4-1 | Stab4-2 |
|-----------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1-Heptanol | x | x | x | x | x | x | x | |
| Eddiksyre | x | x | x | x | x | x | x | x |
| Pristane | | x | x | x | x | x | | x |
| Smørsyre | | x | x | x | x | x | x | x |
| 3-Furaldehyd | x | x | | | x | | | |
| Maursyre | | | | | | | | x |
| Furfural | | | x | x | | x | x | x |
| Isovaleriansyre | | | | | | | x | |



Figur 4.26: Kromatogram for nyprodusert Stabbur-Makrell fra uttak 1, parallell 2.

For prøvene av nyprodusert Stabbur-Makrell ble det totalt funnet åtte forbindelser. Hvilke forbindelser de nyproduserte Stabbur-Makrell prøvene inneholdt varierte, noe som viser at det skjer endringer i produktet over tid når det blir lagret etter varmebehandling.

Av forbindelsene som ble brukt i standarden var det bare 1-heptanol som ble funnet i alle prøvene, med unntak av prøve Stab4-2. Massespekteret til 1-heptanol er vist i Figur 4.27. Grunnen til at bare 1-heptanol ble detektert kan skyldes at standardløsningen ble filtrert, noe som ble gjort fordi det var kommet støv i røret som løsningen ble laget i. Derfor kan det hende at det meste av propanal, 1-penten-3-ol og hexanal ble liggende igjen i filteret. Ved å studere kromatogrammene for de forskjellige prøvene ble propanal funnet, men denne toppen lå i halen på løsemiddeltoppen og det var derfor ikke rimelig å bruke dette som grunnlag for å si om propanal fantes i prøvene. For hexanal var det ikke noen tydelig topp på kromatogrammene.



Figur 4.27: Massespekter for 1-heptanol.

Forbindelsene som ble brukt i standardløsningen var basert på tidligere funn av forbindelser med headspace GC-MS analyse av mildere varmebehandlet makrell i tomat, utført av Staurum (2014) for SINTEF Fiskeri og havbruk. 1-penten-3-ol ble valgt på grunnlag av at denne forbindelsen ble detektert i alle prøvene som ble kjørt etter to dagers lagring, med unntak av en prøve. I kromatogrammene for prøvene i denne oppgaven ble ikke 1-penten-3-ol detektert for noen av prøvene i prøvesett nummer to. Nærmere undersøkelse av prøve 50K (varmebehandlet på 50°C, holdtid 10 minutter) fra SINTEFs prøver viste at det ikke er rimelig å si med sikkerhet at 1-penten-3-ol ble funnet i denne prøven. Hancock *et al.* (1989) rapporterte at heptanal, octanal, etyl aceoacetat, metyl 2-etyl heksanoat og 3-heptanon var de viktigste flyktige komponentene som dannes ved autooksidasjon av metyl oleat ved bruk av ulike promotere. Her ble hexanal funnet som den viktigste promoteren for metyl linoleat, og propanal, 2-pentalen, etanol, 1-penten-3-ol og metyl acetat ble funnet som de viktigste for metyl linolenat [94]. Dersom standardløsningen ikke hadde blitt filtrert, ville antagelig propanal, hexanal og 1-penten-3-ol ha blitt funnet for makrell i tomat. Av forbindelsene som var i standarden, ble hexanal og 1-penten-3-ol funnet i prøvene fra det første prøvesettet.

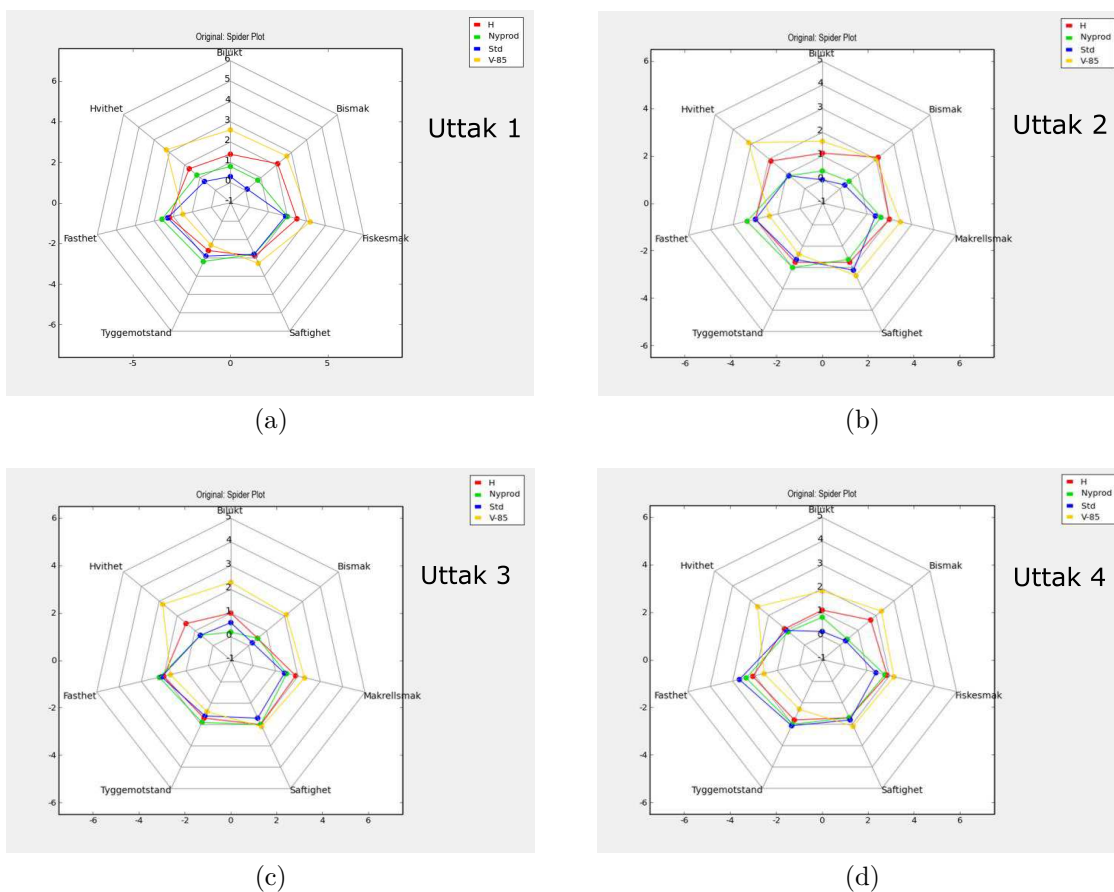
Ved å studere kromatogrammene ble det funnet en topp for blant annet (E,E)-2,4-heptadienol, men denne var så lav at det ikke kan sies med sikkerhet at denne forbindelsen var tilstede

i prøvene. Dette er en forbindelse som har blitt detektert tidligere for makrell. Refsgaard *et al.* (1999) fant at makrell inneholdt (218 ± 40) $\mu\text{g}/\text{kg}$ (E,E)-2,4-heptadienol, noe som er et mye høyere innhold enn det som ble funnet for laks, torsk, sei og uer i samme studie [88]. Fu *et al.* konkluderte med at (E,E)-2,4-heptadienol bidro med fiskelukt og hexanal og nonanal med lukt av oksidert fiskolje da de studerte effekten av lipoksygenase og hemoglobin på oksidasjonsteknikk [95].

Det ble ikke gjort en finkjøring av prøver for å finne ut hva som var optimal mengde makrell i tomat å ha i prøveglasset. Det ble veid ut $(4,0 \pm 0,1)$ g homogenisert makrell i tomat (70% fisk, 30% saus). Dette ble bestemt med grunnlag i Staurems arbeid, hvor det ble brukt 2g makrell og 2g tomatsaus blandet sammen (forhold 1:1) [2]. Fra kromatogrammene var det mulig å se at hvis det hadde blitt gjort en finkjøring, så hadde det ikke vært nødvendig å starte registreringen av forbindelser før etter 1,5 minutter. Da hadde kromatogrammene unngått å få svære topper for etanol, som ble brukt som løsemiddel. Ved å gjøre en finkjøring av noen prøver før hovedprøvene ble analysert, kunne det vært mulig å finne ut om det burde vært brukt en annen mengde av makrell i tomat.

4.3.2 Sensorikk

Det ble gjennomført sensoriske analyser av varmebehandlet makrell i tomat i hermetikkbokser og hermetisert makrell i tomat hos Orkla Foods Norge 20. mars, 27. mars, 8. april og 17. april. Analysen som ble gjort var en profilering. Det ble brukt et panel som skulle bedømme egenskapene bilukt, hvithet, fasthet (redskap), tyggemotstand, saftighet, makrellsmak og bismak med en fem punkts skala hvor alternativene var: ingen (0), svak (1), tydelig (2), sterk (3) og meget sterk (4). Resultatene har blitt behandlet av Orkla Foods Norge.



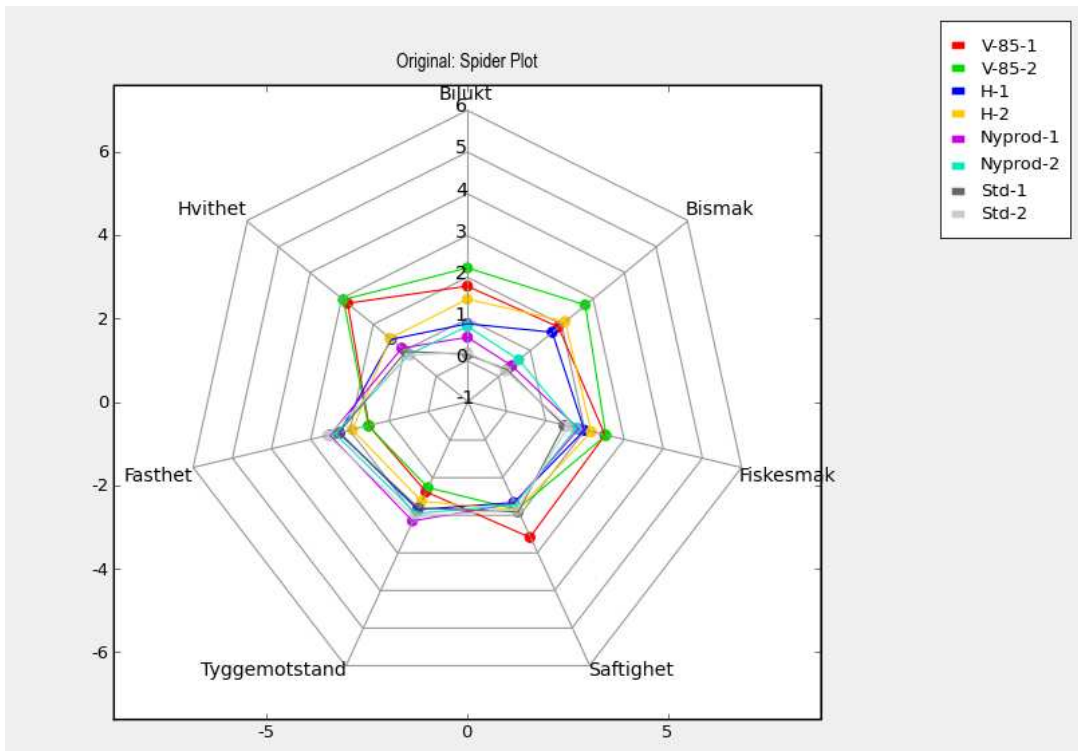
Figur 4.28: Resultater fra sensorisk profilering for uttak 1-4. H = hermetisering gjort av SINTEF, Nyprod = nyproduert Stabbur-Makrell, Std = Stabbur-Makrell fra ordinær produksjon og V-85 = varmebehandling 85°C.

For hvert uttak ble det laget et spindelvevplott som viser gjennomsnittet av dommernes vurderinger av egenskapene som ble analysert. Figur 4.28 (a)-(d) viser plottene for de forskjellige

uttakene. Figur 4.28 (a) viser resultatene fra uttak 1. Prøven som ble varmebehandlet på 85°C (V-85) skilte seg mest ut fra standard Stabbur-Makrell (STD). V-85 var mer saftig, hadde mindre tyggemotstand og hadde mindre fasthet, men hadde mer bismak, fiskesmak og bilukt enn standard Stabbur-Makrell. Hvitheten til V-85 var også høyere enn for standard Stabbur-Makrell. Figur 4.28 (b) viser resultatene fra uttak 2. Uttak 2 hadde de samme trendene som uttak 1, det var V-85 som skilte seg mest ut fra de andre prøvene, men bilukten hadde blitt lavere ved uttak 2 enn ved uttak 1. Den hermetiserte prøven hadde fått mer bismak ved uttak 2 enn den hadde i uttak 1. Nyprodusert Stabbur-Makrell hadde blitt mer lik standard Stabbur-Makrell for egenskapene hvithet, bilukt og bismak ved uttak 2, det vil si at det hadde vært en nedgang for disse egenskapene til nyprodusert Stabbur-Makrell. Figur 4.28 (c) viser resultatene fra uttak 3. Ved uttak 3 hadde V-85 fortsatt samme grad av hvithet som den hadde i både uttak 1 og 2, men det hadde ikke skjedd noen endringer for de andre egenskapene fra uttak 2 til uttak 3. Den hermetiserte prøven hadde en tydelig nedgang i bismak fra uttak 2 til uttak 3. Mens for standard og nyprodusert Stabbur-Makrell hadde det ikke skjedd noen signifikante endringer for noen av egenskapene fra uttak 2 til uttak 3. Figur 4.28 (d) viser resultatene fra uttak 4. For V-85 prøven hadde det ikke skjedd noen store endringer fra uttak 3 til uttak 4. For den hermetiserte prøven har bismaken økt fra uttak 3 til uttak 4, og lå på samme nivå som ved uttak 1 og 2. Bilukten til den nyproduserte Stabbur-Makrell prøven hadde gått noe opp fra uttak 3 til uttak 4.

Ved å sammenligne uttak 1 og uttak 4 så har bilukten og fiskesmaken til V-85 gått ned, de andre egenskapene har holdt seg stabile for denne prøven. For den hermetiserte prøven viste resultatene en nedgang i hvithet og en liten nedgang i fiskesmak. For nyprodusert Stabbur-Makrell har det bare vært en liten nedgang i bismak, de andre egenskapene viser ingen signifikante endringer. For standard Stabbur-Makrell viste resultatene en liten nedgang i fiskesmak fra uttak 1 til uttak 4.

I Figur 4.29 er verdiene fra alle dommere i de fire uttakene lagt sammen for en prøve. Det ble gjort gjentak av alle prøvene som ble smakt på av dommerne. Dette er markert i figuren med tallene 1 og 2, for eksempel V-85-1 og V-85-2. Tabell 4.5 viser verdiene i Figur 4.29 med tilhørende standardavvik. For å finne ut om det var noen signifikante forskjeller mellom prøvene ble p-verdi regnet ut for et utvalg av prøvene (to-utvalgs t-test, $p > 0,05$). Beregning av p-verdi er vist i Vedlegg H.



Figur 4.29: Resultat av alle egenskaper som ble analysert ved profileringen. V-85 = varmebehandling 85°C, H = hermetisering gjort av SINTEF, Nyprod = nyprodusert Stabbur-Makrell og Std = Stabbur-Makrell fra ordinær produksjon. V-85-1 betyr første prøve og V-85-2 betyr gjentak av samme prøve, det samme gjelder for de andre prøvene markert med 1 og 2.

Tabell 4.5: Resultat fra sensorisk analyse. Verdiene er gjennomsnittet av fem dommere fra fire uttak med tilhørende standardavvik. V-85-1 er makrell i tomat varmebehandlet på 85°C parallell nummer 1, H-1 er hermetisert makrell i tomat parallell nummer 1, Std er Standard-Makrell i tomat fra ordinær produksjon parallell 1 og Nyprod-1 er nyprodusert Stabbur-Makrell i Kungshamn parallell 1.

| Egenskap | V-85-1 | V-85-2 | H-1 | H-2 | Std-1 | Std-2 | Nyprod-1 | Nyprod-2 |
|---------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|
| Bilukt | 1,9±0,3 | 2,3±0,6 | 0,8±0,1 | 1,5±0,4 | 0,3±0,3 | 0,3±0,2 | 0,5±0,2 | 0,6±0,4 |
| Hvithet | 2,9±0,4 | 3,0±0,2 | 1,5±0,2 | 1,6±0,5 | 0,9±0,3 | 0,8±0,2 | 1,0±0,4 | 0,8±0,2 |
| Fasthet | 1,5±0,3 | 1,6±0,2 | 2,2±0,2 | 1,9±0,3 | 2,1±0,4 | 2,4±0,3 | 2,4±0,2 | 2,4±0,2 |
| Tyggemotstand | 1,4±0,1 | 1,3±0,1 | 1,9±0,3 | 1,6±0,2 | 1,7±0,2 | 1,9±0,3 | 2,1±0,1 | 2,0±0,2 |
| Saftighet | 2,5±0,2 | 1,9±0,3 | 1,7±0,4 | 2,0±0,3 | 1,9±0,3 | 1,9±0,1 | 1,7±0,1 | 1,8±0,3 |
| Fiskesmak | 2,5±0,6 | 2,6±0,4 | 2,0±0,4 | 2,1±0,3 | 1,5±0,2 | 1,5±0,3 | 1,8±0,2 | 1,7±0,3 |
| Bismak | 2,0±0,3 | 2,6±0,5 | 1,4±0,8 | 1,8±0,7 | 0,2±0,2 | 0,2±0,0 | 0,5±0,2 | 0,6±0,4 |

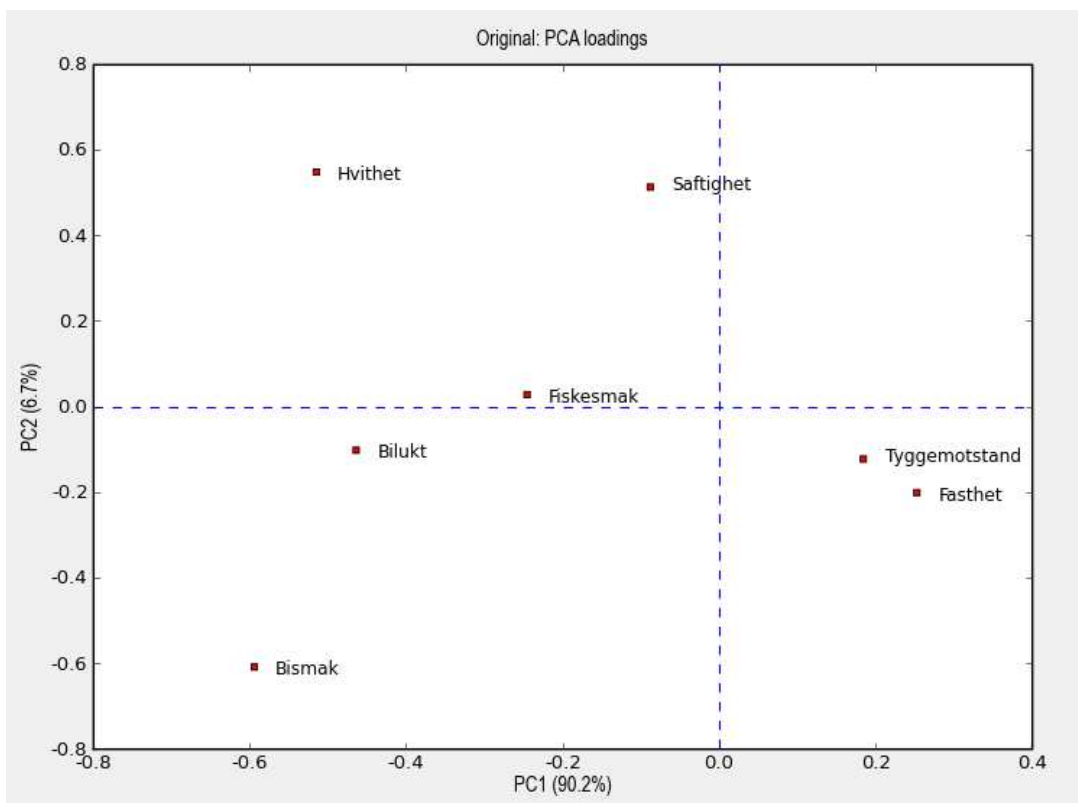
Resultatene viser at for egenskapene hvithet, bilukt og bismak var det prøven V-85-2 som skilte seg mest ut fra de andre prøvene. For egenskapen hvithet var alle prøvene uten om V-85-1 signifikant forskjellige ($p \leq 0,001$). For bilukt var prøvene H-1 ($p=0,011$), Nyprod-1 ($p=0,003$), Std-1, Std-2 og Nyprod-2 (alle tre har $p=0,001$) signifikant forskjellig. For bismak ble det funnet signifikante forskjeller mellom V-85-2 og prøvene Std-1, Std-2, Nyprod-1 (alle tre har $p < 0,001$) og Nyprod-2 ($p=0,003$).

For egenskapen fiskesmak var det standard Stabbur-Makrell som hadde lavest verdier (lite fiskesmak) og varmebehandlet makrell i tomat ved 85°C som hadde høyest verdier (mest fiskesmak). V-85-1 skilte seg betraktelig ut fra de andre prøvene for egenskapen saftighet, og resultatene viste at det var en signifikant forskjell mellom V-85-1 og prøvene Std-2 ($p=0,007$) og Nyprod-1 ($p=0,001$).

Prøvene som ble varmebehandlet ved 85°C hadde minst tyggemotstand og fasthet samt mest fiskesmak og bilukt, i tillegg til å ha det hviteste fiskekjøttet. Ved å sammenligne resultatene fra V-85-1 og V-85-2 kommer det frem at det er en forskjell i hvordan dommerne bedømte prøvene. Dette er to paralleller fra samme prøve som i teorien burde vært like og fått like resultater, men dette kan også vise at det er en variasjon fra prøve til prøve.

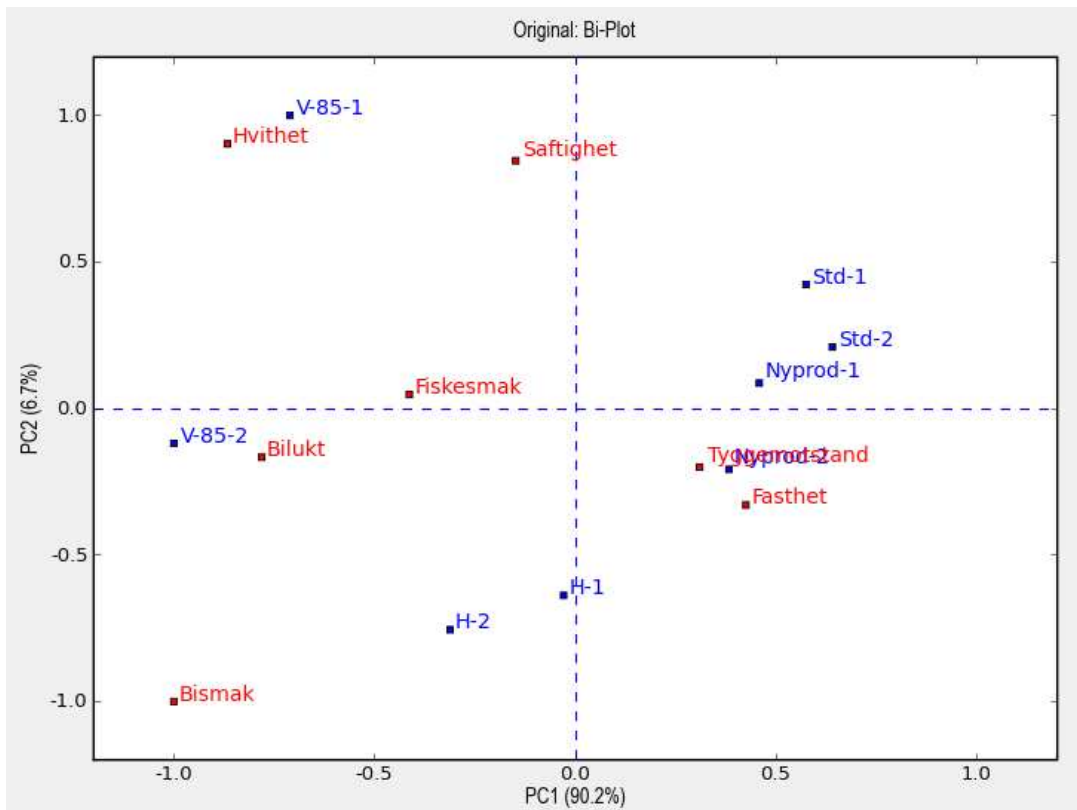
Det er tydelig at varmebehandling av makrell i tomat ved mildere temperaturer utgjør store forskjeller for produktets sensoriske egenskaper. Det kan være interessant å finne ut hvilke komponenter som bidrar til eller er årsaken til at fiskesmaken og bilukten i prøvene som ble varmebehandlet ved 85°C er signifikant forskjellige fra prøver som var blitt hermetisert. Det burde derfor gjøres flere forsøk på å analysere prøvene med headspace GC-MS, for å se om det er mulig å få til en kvantifisering av prøvene, slik at mengden av de forskjellige komponentene i prøvene kan finnes.

For å sjekke de forskjellige egenskapene mot hverandre ble det gjennomført en variansanalyse (ANOVA). Figur 4.30 viser prinsippal komponent analyse (PCA) av de forskjellige egenskapene og Figur 4.31 viser PCA av de forskjellige egenskapene sammen med prøvene.



Figur 4.30: ANOVA plott fra sensorisk analyse som viser hvordan egenskapene korrelerer med hverandre.

Figur 4.30 viser at tyggemotstand og fasthet er motsatt korrelert mot hvithet og fiskesmak. Korrelasjonskoeffisienten (r) ble regnet ut for disse egenskapene, se Vedlegg H for beregninger. Tyggemotstand og hvithet, fasthet og fiskesmak, og fasthet og hvithet var alle signifikant korrelert på 99% signifikansnivå ($p=0,002$), mens tyggemotstand og fiskesmak var signifikant korrelert på 95% signifikansnivå ($p=0,017$). Det ble gjennomført PCA for hvert av de fire uttakene. Resultatene viste at egenskapene tyggemotstand og fasthet var motsatt korrelert med hvithet og fiskesmak i uttak 1, 2 og 3, men for uttak 4 var bare hvithet og tyggemotstand motsatt korrelert.



Figur 4.31: ANOVA plott fra sensorisk analyse som viser hvordan egenskapene korrelerer med hverandre og hvilke prøver som har de sterkeste verdiene for disse egenskapene.

Figur 4.31 viser at det var prøven som ble varmebehandlet på 85°C som hadde høyest verdi for hvithet.

5 KONKLUSJON

Basert på resultater fra kartleggingsforsøket ble det bestemt å bruke varmebehandlingstemperaturene 60, 70, 80 og 90°C videre i forsøket for varmebehandling av makrell og makrell i tomatsaus i vakuumposer.

Varmebehandling av makrell fører til en reduksjon i vanninnholdet. Vanninnholdet til prøvene som bestod av varmebehandlet makrell lå mellom 58,8 - 60,7% og vanninnholdet til prøvene som bestod av varmebehandlet makrell i tomat lå mellom 56,5 - 57,7%. Vanninnholdet reduseres mer i prøvene som inneholdt tomatsaus fordi drypptalet som oppstod under varmebehandling blandet seg med tomatsausen. Når prøvene ble avkjølt kunne ikke væsken reabsorberes av fiskemuskel, slik som den gjorde for prøvene med makrell uten saus. Det var ikke mulig å se et tydelig mønster for om vanninnholdet avtar eller øker med lagringstiden.

Råstoffet inneholdt 9,70% vannløselig protein og 1,57% saltløselig protein. Innholdet av vannløselige proteiner etter varmebehandling var høyest ved 60°C for prøvene med makrell i tomatsaus, mens prøvene med makrell uten saus hadde høyest innhold av vannløselige proteiner ved 70°C. Det samme gjelder for innholdet av saltløselige proteiner etter varmebehandling. Ut i fra resultatene kan det virke som at det er en fordel å varmebehandle makrell i tomat ved en temperatur som er lavere enn 80°C for å unngå for kraftig denaturering av proteinene slik at makrellen beholder noe av sin saftighet og ikke blir tørr.

Ved å se nærmere på varmebehandling av makrell uten saus var det mulig å se at mengden vannløselige proteiner avtok med lagringstiden etter varmebehandling for temperaturene 60 og 80°C. Og for prøvene med makrell i tomatsaus var det bare varmebehandling ved 70°C som viste en tydelig trend hvor innholdet av vannløselige proteiner avtok med lagringstiden.

Resultatene for kvantifisering av SH-grupper viste lave konsentrasjoner av SH-grupper for vannløselige proteiner, noe som indikerer at proteinoksidasjon har forekommet i stor grad. Resultatene for saltløselige proteiner viste lavere konsentrasjoner for SH-grupper enn for vannløselige proteiner, men ved å sammenligne med resultatene for ekstrahert mengde saltløselig protein som i utgangspunktet var svært lave, var resultatene som forventet. Prøvene som ble varmebehandlet ved 60-70°C (faktisk temperatur 60-67°C) har hatt mindre proteinoksidasjon enn prøvene som ble varmebehandlet ved 80-90°C (faktisk temperatur 81-87°C).

1-heptanol, eddiksyre, pristane og smørsyre ble funnet i prøvene av makrell i tomat som ble varmebehandlet på 60 og 85°C ved å analysere disse med headspace GC-MS. For prøvene av nyprodusert Stabbur-Makrell ble disse fire forbindelsene funnet, i tillegg til fire andre forbindelser. Det ble totalt funnet åtte forbindelser. Hvilke forbindelser de nyproduserte

Stabbur-Makrell prøvene inneholdt varierte, noe som viser at det skjer endringer i produktet når det blir lagret etter varmebehandling. Av de åtte forbindelsene ble 1-heptanol funnet i 17 av 18 prøver, og var dermed den forbindelsen som forekom mest.

For de sensoriske analysene ble det gjort fire uttak over 30 dager. Ved å sammenligne uttak 1 og uttak 4 så har bilukten og fiskesmaken til prøven som ble varmebehandlet på 85°C (V-85) gått ned. Den hermetiserte prøven viste nedgang i hvithet og en liten nedgang i fiskesmak. For nyprodusert Stabbur-Makrell var det en liten nedgang i bismak. For standard Stabbur-Makrell viste resultatene en liten nedgang i fiskesmak.

Alle prøvene fra alle uttakene ble lagt sammen og fremstilt i et spindelvevplott. I prøve V-85-2 skilte egenskapene hvithet, bilukt og bismak seg mest ut fra de andre prøvene. For egenskapen fiskesmak var det standard Stabbur-Makrell som hadde minst fiskesmak og prøvene som ble varmebehandlet på 85°C hadde mest fiskesmak. V-85-1 var den saftigste av alle prøvene. Prøvene som ble varmebehandlet ved 85°C hadde også minst tyggemotstand og minst fasthet.

Ved gjennomføringen av variansanalyse på resultatene fra sensorisk analyse kom det fram at tyggemotstand og fasthet var motsatt korrelert mot hvithet og fiskesmak. PCA viste av egenskapene tyggemotstand og fasthet var motsatt korrelert med hvithet og fiskesmak i uttak 1, 2 og 3, men for uttak 4 var bare hvithet og tyggemotstand motsatt korrelert. Prøven som ble varmebehandlet på 85°C hadde høyest verdi for hvithet.

6 VIDERE ARBEID

Ut i fra arbeidet som er gjort i denne masteroppgaven har det kommet fram noen punkter det kan være interessant å studere nærmere. Varmebehandling av makrell ved 50°C ga et høyere innhold av vann- og saltløselig proteiner enn de øvrige temperaturene i kartleggingsforsøket. Det hadde derfor vært interessant å jobbe videre med å lage makrell i tomat som har blitt varmebehandlet ved denne temperaturen. Ved å lage dette produktet burde innholdet av mikroorganismer analyseres. Analyser kan vise om det er mulig å få varmebehandlet produktet tilstrekkelig slik at det blir trygt å spise. Ved å analysere forskjellige parametere som for eksempel fettoksidasjon og vekst av bakterier kan det være mulig å finne ut hvor lang holdbarhet produktet har før det åpnes og etter at produktet har blitt åpnet.

Resultatene i kartleggingsforsøket viste også at det skjedde store endringer i proteinløselighet mellom 50 og 60°C. Det kan derfor vært interessant å studere endringene i proteinløselighet nærmere for å finne ut ved hvilken temperatur de store endringene i løselighet for vann- og saltløselige proteiner skjer, og om det kan være aggregering av proteiner som forårsaker dette.

Fordi vanninnholdet i prøvene med makrell i tomatsaus var lavere enn for prøvene med makrell uten saus, kan det være interessant å gjøre forskjellige analyser av tomatsausen. Vanninnhold, innhold av løselige proteiner og innhold av fett i prøven før og etter varmebehandling er parametere som kan studeres.

Sensorisk analyse av produktene er viktig for å finne ut hvor terskelen til forbrukeren ligger for diverse egenskaper, slik som saftighet, tyggemotsand og fiskesmak. Det er tydelig at varmebehandling av makrell i tomat ved mildere temperaturer utgjør store forskjeller for produktets sensoriske egenskaper. Det vil være interessant å finne ut hvilke komponenter som bidrar til eller er årsaken til, at blant annet fiskesmaken og bilukten i prøvene som ble varmebehandlet ved 85°C er signifikant forskjellige fra prøver som var blitt hermetisert. Det burde derfor gjøres flere forsøk på å analysere prøvene med headspace GC-MS, for å se om det er mulig å få til en kvantifisering av prøvene, slik at mengden av de forskjellige komponentene i prøvene kan finnes. Ved å finne ut hvor store mengder det er av de forskjellige komponentene vil det vær mulig å avgjøre hvilke forbindelser som påvirker de forskjellige sensoriske egenskapene til det mildere varmebehandlede makrell i tomat produktet.

Referanser

- [1] VKM, 2006. *Et helhetssyn på fisk og annen sjømat i norsk kosthold*, forskningsrapport, Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- [2] STAUREM, C.J., 2014. *Sommerprosjekt 2014 - Makrell i tomat*, ProHealthPelagic prosjektet, SINTEF Fiskeri og havbruk AS, Trondheim.
- [3] STATISTISK SENTRALBYRÅ. *Fiskeri, 2013, Førebelse tal*, Link: <http://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/statistikker/fiskeri>, Dato: 13. November 2014.
- [4] HAUGLAND, A., 2002. *Industrial thawing of fish - to improve quality, yield and capacity*, doktorgradsavhandling, institutt for energi- og prosessteknikk, NTNU, Trondheim.
- [5] BARNES, M., 2008. *Atlantic mackerel - Scomber scombrus*, Link: <http://www.marlin.ac.uk/speciesinformation.php?speciesID=4310>, Dato: 13. November 2014.
- [6] PETHON, P., 2014. *Makrell*, i Store Norske Leksikon. Link: <https://snl.no/makrell>, Dato: 13. November 2014.
- [7] COULTATE, T.P og BLUMENTHAL, H., 2009. *Food: the chemistry of its components*, Cambridge, Royal Society of Chemistry.
- [8] NAVARRO, M.R., VILLAMOR, B., MYKLEVOLL, S., GIL, J., ABAUNZA, P. og CANOURA, J., 2012. *Maximum size of Atlantic mackerel (Scomber scombrus) and Atlantic chub mackerel (Scomber colias) in the Northeast Atlantic*, Cybium, vol. 36, utg. 2, s. 406-408.
- [9] BONE, Q., 1978. *Locomotor Muscle*, i *Fish Physiology, volume 7, Locomotion*, Hoar, W.S og Randall, D.J. (ed.), London, Academic Press, Inc., s. 361-424.
- [10] SUZUKI, T., 1981. *Fish and krill protein: processing technology*, London, Applied Science pub.
- [11] BELITZ, H.D, GROSCH, W. og SCHIEBERLE, P., 2004. *Food Chemistry*, Berlin, Springer, s. 619-642.
- [12] DUNAJSKI, E., 1980. *Texture of Fish Muscle*, Journal of Texture Studies, vol. 10, utg. 4, s. 301-318.
- [13] LYNUM, L., 1997. *Fisk som råstoff: holdbarhet og kvalitetssikring*, Rustad, T. (ed.), Trondheim, Tapir.

- [14] RUSTAD, T., 1998. *Muskelvevet i kjøtt og fisk*, Institutt for bioteknologi, NTNU, Trondheim.
- [15] GRØTLI, A.M., 1997. *Effekt av tid/temperatur på tint produkt*, Masteroppgave, institutt for bioteknologi, NTNU, Trondheim.
- [16] RUSTAD, T., PADGET, E. og HALVORSEN, J., 1993. *Vannbinding i fiskemuskel*, forskningsrapport, Institutt for bioteknologi, NTH, Trondheim.
- [17] FENNEMA, O.R., 1985. *Food Chemistry*, New York, Marcel Dekker, s. 23-67.
- [18] MORRISSEY, P.A., MULVIHILL, D.M. og O'NEILL, E.M., 1987. *Functional Properties of Muscle Proteins*, i *Developments in Food Proteins*, Hudson, B.J.F (ed.), London, Applied Science Publishers Ltd., vol. 5, s. 195-256.
- [19] HONICKEL, K.O., 1989. *The Meat Aspects of Water and Food Quality*, i *Water and Food Quality*, Hardman, T.M. (ed.), London, Elsevier Appl. Sci. Publ., s. 277-304.
- [20] NØKKELHULLSMERKET, 2012. *Hvorfor velge nøkkelhullet?*, Mattilsynet og Helsedirektoratet. Link: http://www.nokkelhullsmerket.no/om_nokkelhullet/article12.ece, Dato: 13. Mai 2015.
- [21] GRØNSTAD, C., 2014. *Tining av makrell - Effekt av ulike tinemetoder*, prosjektoppgave, institutt for bioteknologi, NTNU, Trondheim.
- [22] NILSSON, K. og EKSTRAND, B., 1993. *The Effect of Storage on Ice and Various Freezing Treatments on Enzyme Leakage in Muscle Tissue of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss)*, Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung, vol. 197, utg. 1, s. 3-7.
- [23] DUFLOS, G., LE FUR, B., MULAK, V., BECEL, P. og MALLE, P., 2002. *Comparison of Methods of Differentiating Between Fresh and Frozen-Thawed Fish or Fillets*, Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 82, utg. 12, s. 1341-1345.
- [24] SHENOUDA, S.Y.K, 1980. *Theories of Protein Denaturation During Frozen Storage of Fish Flesh*, Advances in Food Research, vol. 26, utg. 275, s. 275-307.
- [25] HELLEBUST, H. og RUSTAD, T., 1985. *Rapport 1 - Frysedenaturering av fisk*, Forskningsprosjekt 3, 301.10 Frysing av fisk, Norges fiskeriforskningsråd, NTH, Trondheim.
- [26] SAEED, S. og HOWELL, N.K., 2002. *Effect of Lipid Oxidation and Frozen Storage on Muscle Proteins of Atlantic Mackerel (Scomber scombrus)*, Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 82, utg. 5, s. 579-586.

- [27] QUARANTA, H.O. og PÉREZ, S.S., 1983. *Chemical Methods for Measuring Changes in Freeze Stored Fish: A Review*, Food Chemistry, vol. 11, utg. 2, s. 79-85.
- [28] ARNOLD, S.H. og BROWN, W.D., 1978. *Histamine (?) Toxicity from Fish Products*, Advances in Food Research, vol. 24, s. 113-154.
- [29] NELSON, D.L, LEHNINHER, A.L og COX, M.M., 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*, New York, Freeman, 5. utgave, s. 878-879.
- [30] TRAN, V.T. og SNYDER, S.H., 1981. *Histidine Decarboxylase. Purification from Fetal Rat Liver, Immunologic Properties, and Histochemical Localization in Brain and Stomach*, Journal of Biological Chemistry, vol. 256, utg. 2, s. 680-686.
- [31] LÓPEZ-SABATER, E.I., RODRÍGUEZ-JEREZ, J.J., ROIG-SAGUÉS, A.X. og MORA-VENTURA, M.A., 1994. *Bacteriological Quality of Tuna Fish (Thunnus thynnus) Destined for Canning: Effect of Tuna Handling on Presence of Histidine Decarboxylase Bacteria and Histamine Level*, Journal of Food Protection, vol. 57, utg. 4, s. 318-323.
- [32] ERICKSON, M.C., 2008. *Lipid Oxidation of Muscle Foods*, i *Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Boca Raton, CRC Press/Taylor & Francis Group, s. 321-364.
- [33] CAREY, F.A., 2008. *Organic Chemistry*, New York, McGraw-Hill, 7. utgave.
- [34] STABBUR-MAKRELL, 2015. *Makrellfilet i tomatsaus 170g*, Link: <http://www.stabbur-makrell.no/Vaare-produkter/Stabbur-Makrell-paa-boks/Makrellfilet-i-tomatsaus-170-g>, Dato: 12. juni 2015.
- [35] MEDINA, I., SACCHI, R. og AUBOURG, S., 2000. *Application of C-13 NMR to the Selection of the Thermal Processing Conditions of Canned Fatty Fish*, European Food Research and Technology, vol. 210, utg. 3, s. 176-178.
- [36] FELLOWS, P.J., 2009. *Food Processing Technology: Principles and Practice*, Cambridge, UK. Boca Raton, Fla., CRC Press., 3. utgave.
- [37] SKIPNES, D., ROSNES, J.T., BERGSLIEN, H., VORRE, A., SØYLAND, K. og VIDVEI, J., 1999. *Development of a Sous Vide Production Facility in Norway-Fjordkjøkken AS*, Belgia, Proceedings of Third European Symposium on Sous Vide, s. 437-455.
- [38] SKIPNES, D., JOHNSEN, S.O., SKARA, T., SIVERTSVIK, M. og LEKANG, O., 2011. *Optimization of Heat Processing of Farmed Atlantic Cod (Gadus morhua) Muscle with respect to Cook Loss, Water Holding Capacity, Color, and Texture*, Journal of Aquatic Food Product Technology, vol. 20, utg. 3, s. 331-340.

- [39] CREED, P.G., 1995. *The Sensory and Nutritional Quality of Sous Vide Foods*, Food Control, vol. 6, utg. 1, s. 45-52.
- [40] GHAZALA, S., 2004. *Development in cook-chill and sous vide processing*, Richardson, P.(ed.), Improving the Thermal Processing of Foods, Boca Raton, FL: CRC Press. s. 152-174.
- [41] SKIPNES, D. og HENDRICKX, M., 2008. *Novel Methods to Optimize the Nutritional and Sensory Quality of in-pack Processed Fish Products*, Richardson, P.(ed.), In-pack Processed Foods: Improving Quality, Cambridge, United Kingdom: Woodhead Publishing Inc., s. 382-402.
- [42] PARRY, D.A, 1970. *Fish as Food*, Lawrie, R.A.(ed.), Proteins of Human Foods, London, United Kingdom: Butterworth, s. 365-387.
- [43] FENNEMA, O.R., 1990. *Comparative Water Holding Properties of Various Muscle Foods*, Journal of Muscle Foods, vol. 1, utg. 4, s. 363-381.
- [44] OFFER, G. og TRINICK, J., 1983. *On the Mechanism of Water Holding in Meat - The Swelling and Shrinking of Myofibrils*, Meat Science, vol. 8, utg. 4, s. 245-281.
- [45] PALKA, K. og DAUN, H., 1999. *Changes in Texture, Cooking Losses, and Myofibrillar Structure of Bovine M-semi-tendinosus During Heating*, Meat Science, vol. 51, utg. 3, s. 237-243.
- [46] BARBERA, S. og TASSONE, S., 2006 *Meat Cooking Shrinkage: Measurement of a New Quality Parameter*, Meat Science, vol73, utg. 3, s. 467-474.
- [47] OFSTAD, R., KIDMAN, S. og HERMANSSON, A.M., 1996. *Ultramicroscopical Structures and Liquid Loss in Heated Cod(Gadus morhua L) and Salmon(Salmo salar) Muscle*, Journal of the Science of Food and Agriculture, vol 72, utg. 3, s. 337-347.
- [48] SKIPNES, D., VAN DER PLANCKEN, I., VAN LOEY, A. og HENDRICKX, M.E., 2008. *Kinetics of Heat Denaturation of Proteins From Farmed Atlantic Cod (Gadus morhua)*, Journal of Food Engineering, vol. 85, utg. 1, s. 51-58.
- [49] BROWN, W.D, 1987. *Fish Muscle as Food*, Bechtel, P.J.(ed.), Muscle as Food, Orlando,FL: Academic Press, Inc. s. 405-451.
- [50] JAFARPOUR, A. og GORCZYCA, E.M., 2012. *Contribution of Sarcoplasmic Proteins to Myofibrillar Proteins Gelation*, Journal of Food Science, vol. 77, utg. 2, s. R73-R81.

- [51] HARTSHORNE, D.J., BARNS, E.M., PARKER, L. og FUCHS, F., 1972. *The Effect of Temperature on Actomyosin*, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, vol. 267, utg. 1, s. 190-202.
- [52] OFSTAD, R., KIDMAN, S., MYKLEBUST, R. og HERMANSSON, A.-M., 1993. *Liquid Holding Capacity and Structural Changes During Heating of Fish Muscle: Cod (Gadus morhua L.) and Salmon (Salmo salar)*, Food Structure, vol. 12, utg. 2, s. 163-174.
- [53] HAMM, R., 1985. *The Effect of Water on the Meat and Meat Products: Problems and Research Needs*, i *Properties of Water in Foods*, Siamtos, D. og Multon, J. L. (ed.), Dordrecht, Nederland, Martinus Nijhoff Publishers, s. 591-602.
- [54] WILDING, P., HEDGES, N. og LILLFORD, P. J., 1986. *Salt Induced Swelling of Meat - The Effect of Storage Time, pH, Ion-Type and Concentration*, Meat Science, vol. 18, utg. 1, s. 55-75.
- [55] SIKORSKI, Z. E., SCOTT, D. N. og BUISSON, D. H., 1984. *The Role of Collagen in the Quality and Processing of Fish*, CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, vol. 20, utg. 4, s. 301-343.
- [56] DENG, J. C., 1981. *Effect of Temperatures on Fish Alkaline Protease, Protein Interaction and Texture Quality*, Journal of Food Science, vol. 46, utg. 1, s. 62-65.
- [57] DAHLMANN, B., RUTSCHMANN, M., KUEHN, L. og REINAUER, H., 1985. *Activation of the Multicatalytic Proteinase from Rat Skeletal Muscle Fatty Acids or Sodium Dodecyl Sulfate*, Biochemical Journal, vol. 228, utg. 1, s. 171-177.
- [58] TOYOHARA, H., NOMATA, H., MAKINODAN, Y. og SHIMIMIZU, Y., 1987. *High Molecular Weight Heat Stable Alkaline Protease from White Croaker and Chum Salmon Muscle: Comparison of the Activating Effects by Heating and Urea*, Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology, vol. 86, utg. 1, s. 99-102.
- [59] STOKNES, I., RUSTAD, T. og MOHR, V., 1993. *Comparative Studies of the Proteolytic Activity of Tissue Extracts From Cod (Gadus morhua) and herring (Clupea harengus)*, Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, vol. 106, utg. 3, s. 613-619.
- [60] McCORMICK, R.J., KROPF, D.H, REECK, G.R., HUNT, M.C og KASTNER, C.L., 1987. *Effect of Heating Temperature and Muscle Type on Porcine Muscle Extracts as Determined by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography*, Journal of Food Science, vol. 52, utg. 6, s. 1481-1485.

- [61] AMAN, M.B., 1983. *Effect of Cooking and Preservation Methods on the Water Holding Capacity (WHC) of Mullet Fish in Relation with Changes Occured in Muscle Proteins*, Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, vol. 177, utg. 5, s. 345-347.
- [62] DAGBJARTSSON, B. og SOLBERG, M., 1972. *Simple Method to Determine Water Holding Capacity of Muscle Foods*, Journal of Food Science, vol. 37, utg. 3, s. 499-501.
- [63] KIM, Y.S., YONGSAWATDIGUL, J., PARK, J.W. og THAWORNCHINSOMBUT, S., 2005. *Characteristics of Sarcoplasmic Proteins and Their Interaction With Myofibrillar Proteins*, Journal of Food Biochemistry, vol. 29, utg. 5, s. 517-532.
- [64] MORIOKA, K. og SHIMIZU, Y., 1990. *Contribution of Sarcoplasmic Proteins to Gel Formation of Fish Meat*, Nippon Suisan Gakkaishi, vol. 56, utg. 6, s. 929-933.
- [65] WANG, H., LUO, Y. og SHEN, H., 2013. *Effect of Frozen Storage on Thermal Stability of Sarcoplasmic Protein and Myofibrillar Protein from Common Carp (Cyprinus carpio) Muscle*, International Journal of Food Science & Technology, vol. 48, utg. 9, s. 1962-1969.
- [66] WANG, H., PATO, M., PIETRASIK, Z. og SHAND, P., 2009. *Biochemical and Physicochemical Properties of Thermally Treated Natural Actomyosin Extracted from Normal and PSE Pork Longissimus Muscle*, Food Chemistry, vol. 113, utg. 1, s. 21-27.
- [67] HAMOIR, G., MCKENZIE, H.A. og SMITH, M.B., 1960. *The Isolation and Properties of Fish Myosin*, Biochimica Et Biophysica Acta, vol. 40, utgave 1, s. 141-149.
- [68] CHENG, C.S., HAMANN, D.D og WEBB, N.B., 1979. *Effect of Thermal-Processing on Minced Fish Gel Texture*, Journal of Food Science, vol. 44, utg. 4, s. 1080-1086.
- [69] JONES, N.R og DISNEY, J.G., 1977. *Technology in Fisheries Development in the Tropics*, Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish, s. 27-31. Tropical Products Institute, London.
- [70] POULTER, R.G., LEDWARD, D.A., GODBER, S., HALL, G. og ROWLANDS, B., 1985. *Heat Stability of Fish Muscle Proteins*, International Journal of Food Science & Technology, vol. 20, utg. 2, s. 203-217.
- [71] HANSEN, M.H.F., 2013. *Kvalitet og holdbarhet til bearbeidede produkter fra marint råstoff*, masteroppgave, institutt for bioteknologi, NTNU, Trondheim.
- [72] YONGSAWATDIGUL, J. og PARK, J.W., 2003. *Thermal Denaturation and Aggregation of Threadfin Bream Actomyosin*, Food Chemistry, vol. 83, utg. 3, s. 409-416.

- [73] DENG, J., TOLEDO, R.T. og LILLARD, D.A., 1976. *Effect of Temperature and pH on Protein-Protein Interaction in Actomyosin Solutions*, Journal of Food Science, vol. 41, utg. 2, s. 273-277.
- [74] KO, W.-C., YU, C.-C. og HSU, K.-C., 2007. *Changes in Conformation and Sulfhydryl Groups of Tilapia Actomyosin by Thermal Treatment*, LWT - Food Science and Technology, vol. 40, utg. 8, s. 1316-1320.
- [75] MONAHAN, F.J., GERMAN, J.B. og KINSELLA, J.E., 1995. *Effect of pH and Temperature on Protein Unfolding and Thiol/Disulfide Interchange Reactions During Heat-Induced Gelation of Whey Proteins*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 43, utg. 1, s. 46-52.
- [76] LI-CHAN, E., 1983. *Heat-Induced Changes in the Proteins of Whey Protein Concentrate*, Journal of Food Science, vol. 48, utg. 1, s. 47-56.
- [77] FAURE, P. og LAFOND, J.-L., 1995. *Measurement of Plasma Sulfhydryl and Carbonyl Groups as a Possible Indicator of Protein Oxidation, i Analysis of Free Radicals in Biological Systems*, Springer, s. 237-248.
- [78] ELLMAN, G.L., 1959. *Tissue Sulfhydryl Groups*, Archives of Biochemistry and Biophysics, vol. 82, utg. 1, s. 70-77.
- [79] RIDDLES, P.W., BLAKELEY, R.L. og ZERNER, B., 1983. *Reassessment of Ellman's Reagent*, Methods in Enzymology, vol. 91, utg. 8, s. 49-60.
- [80] MARTENS, T. og VANHOUTTE, H., 1998. *Harmonization of Safety Criteria for Minimally Processed Foods*, 3rd Karlsruhe Nutrition Symposium European Research Towards Safer and Better Food, Europakommisjonen, s. 82-89.
- [81] MOSSEL, D.A.A., CORRY, J.E.L, STRUIJK, C.B og BAIRD, R.M, 1995. *Essentials of the Microbiology of Foods: A Textbook for Advanced Studies*, Chichester, England, Wiley, s. 217-267.
- [82] CHURCH, I.J. og PARSONS, A.L, 1993. *Sous Vide Cook-Chill Technology*, International Journal of Food Science & Technology, vol. 28, utg. 6, s. 563-574.
- [83] NYATI, H., 2000. *An Evaluation of the Effect of Storage and Processing Temperatures on the Microbiological Status of Sous Vide Extended Shelf-Life Products* Food Control, vol. 11, utg. 6, s. 471-476.

- [84] IBORRA-BERNAD, C., PHILIPPON, D., GARCÍA-SEGOVIA, P og MARTÍNEZ-MONZÓ, J., 2013. *Optimizing the Texture and Color of Sous Vide and Cook Vide Green Bean Pods* LWT-Food Science and Technology, vol. 51, utg. 2, s. 507-513.
- [85] LINDSAY, R.C., 1990. *Fish Flavors*, Food Reviews International, vol. 6, utg. 4, s. 437-455.
- [86] MILO, C. og GROSCH, W., 1995. *Detection of Odor Defects in Boiled Cod and Trout by Gas Chromatography - Olfactometry of Headspace Samples*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 43, utg. 2, s. 459-462.
- [87] MILO, C. og GROSCH, W., 1996. *Changes in the Odorants of Boiled Salmon and Cod as Affected by the Storage of the Raw Material*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 44, utg. 8, s. 2366-2371.
- [88] REFSGAARD, H. H. F., HAAHR, A.-M. og JENSEN, B., 1999. *Isolation and Quantification of Volatiles in Fish by Dynamic Headspace Sampling and Mass Spectrometry*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 47, utg. 3, s. 1114-1118.
- [89] KNOLL, J. E., 1985. *Estimation of the Limit of Detection in Chromatography*, Journal of Chromatographic Science, vol. 23, utg. 9, s. 422-425.
- [90] KARAHADIAN, C. og LINDSAY, R.C, 1989. *Evaluation of Compounds Contributing Characterizing Fishy Flavors in Fish Oils*, Journal of the American Oil Chemists' Society, vol. 66, utg. 7, s. 953-960.
- [91] FUKAMI, K., ISHIYAMA, S., YAGURAMAKI, H., MASUZAWA, T., NABETA, Y., ENDO, K. og SHIMODA, M., 2002. *Identification of Distinctive Volatile Compounde in Fish Sause*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 50, utg. 19, s. 5412-5416.
- [92] ZHANG, H.-Z. og LEE, T.-C., 1997. *Gas Chromotography - Mass Spectrometry Analysis of Volatile Flavor Compounds in Mackerel for Assessment of Fish Quality*, i *Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods*, Shahidi, F. og Cadwallader, K.R. (ed.), Washington, American Chemical Society, vol. 674, s. 55-63.
- [93] ALASALVAR, C., QUANTICK, P.C. og GRIGOR, J.M., 1997. *Aroma Compounds of Fresh and Stored Mackerel (Scomber scombrus)*, i *Flavor and Lipid Chemistry of Seafoods*, Shahidi, F. og Cadwallader, K.R. (ed.), Washington, American Chemical Society, vol. 674, s. 39-54.
- [94] HANCOCK, R.A, LEEVES, N.J. og NICKS, P.F., 1989. *Studies in Autoxidation: Part I. The Volatile by-Products Resulting from the Autoxidation of Unsaturated Fatty Acid Methyl Esters*, Progress in organic coatings, vol. 17. utg. 3, s. 321-336.

- [95] FU, X., XU, S og WANG, Z., 2009. *Kinetics of Lipid Oxidation and off-Odor Formation in Silver Carp Mince: the Effect of Lipoxygenase and Hemoglobin*, Food Research International, vol. 42, utg. 1, s. 85-90.
- [96] STONE, H., Bleibaum, R. og THOMAS, H.A., 2012. *Sensory Evaluation Practices*, Burlington, Elsevier Science, s. 1-21.
- [97] NOFIMA, 2015. *Sensorikk*. Link: <http://nofima.no/forskningsomrade/sensorikk-forbruker-og-innovasjon/sensorikk/>, Dato: 18. Mai 2015.
- [98] LAWLESS, H.T og HEYMANN, H., 2010. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*, New York, Springer.
- [99] ÅBRO, A., 2015. *Øyet*, i Store Norske Leksikon. Link: <https://snl.no/%C3%B8yet>, Dato: 7. Mai 2015.
- [100] HOLTSMARK, T., 2009. *Syn*, i Store Norske Leksikon. Link: <https://snl.no/syn>, Dato: 7. Mai 2015.
- [101] JANSEN, J. og GLOVER, J., 2009. *Sansene*, i Store Medisinsk Leksikon. Link: <https://sml.snl.no/sansene>, Dato: 7. Mai 2015.
- [102] HARRIS, J.D., 1943. *Habitulatory Response Decrement in the Intact Organism*, Physiological Bulletin, vol. 40, utg. 6, s.385.
- [103] HOLCK, P., 2009. *Tunge*, i Store Medisinske Leksikon. Link: <https://sml.snl.no/tunge>, Dato: 7. Mai 2015.
- [104] BARTOSHUK, L.M., DUFFY, V.B. og MILLER, I.J., 1994. *PTC/PROP Tasting: Anatomy, Psychophysics, and Sex Effects*, Physiology & Behavior, vol. 56, utg. 6, s. 1165-1171.
- [105] ASKIM, M., HEMMER, E., KARLSEN, H., LYNUM, L., NORDENG, A. og NYBRAATEN, G., 2001. *Næringsmiddellære: råstoff, produksjon og ferdigvarer*, Yrkeslitteratur, Oslo.
- [106] RØDBOTTEN, M., 1997. *Metoder i sensorisk analyse*, i *Sensorisk analyse*, Universitetsforlaget, Oslo, s. 65-102.
- [107] LØKEN, S.S., 2013. *Varmebehandling av makrell - Effekt på mikrobiologisk og sensorisk kvalitet*, masteroppgave, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås.

- [108] HULTMANN, L. og RUSTAD, T., 2002. *Textural Changes During Iced Storage of Salmon (*Salmo salar*) and Cod (*Gadus morhua*)*, Journal of Aquatic Food Product Technology, vol. 11, utg. 3-4, s. 105-123.
- [109] BRADFORD, M.M, 1976. *Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing Principle of Protein Dye-Binding*, Analytical Biochemistry, vol. 72, utg. 1-2, s. 248-254.
- [110] MALLARD, W.G og REED, J., *AMDIS - User Guide*, i U.S Department of Commerce (ed.). Gaithersburg, Maryland, USA.
- [111] TAYLOR, J.R., 1997. *An Introduction to Error Analysis: The Study of Uncertainties in Physical Measurements*, USA, University Science Books, utg. 2, s. 286-287.

A Stekeskjema fra varmebehandling i vakuumposer

Figur A.1 viser hvordan loggere og steketermometer var plassert på de forskjellige brettene under varmebehandlingen. Det var seks poser per brett.

60°C Makrell uten saus:

Innerst

| | |
|--------------|-----------------|
| | |
| Logger nr. 4 | |
| | Steketermometer |

Dør

60°C Makrell med tomatsaus:

Innerst

| | |
|--|-----------------|
| | |
| | Logger nr. 3 |
| | Steketermometer |

Dør

70°C Makrell uten saus:

Innerst

| | |
|--|-----------------|
| | |
| | Logger nr. 80 |
| | Steketermometer |

Dør

70°C Makrell med tomatsaus:

Innerst

| | |
|---------------|-----------------|
| | |
| Logger nr. 22 | |
| | Steketermometer |

Dør

80°C Makrell uten saus:

Innerst

| | |
|--|-----------------|
| | |
| | Logger nr. 5 |
| | Steketermometer |

Dør

80°C Makrell med tomatsaus:

Innerst

| | |
|---------------|-----------------|
| | |
| Logger nr. 62 | |
| | Steketermometer |

Dør

90°C Makrell uten saus:

Innerst

| | |
|---------------|-----------------|
| | |
| Logger nr. 21 | |
| | Steketermometer |

Dør

90°C Makrell med tomatsaus:

Innerst

| | |
|--|-----------------|
| | |
| | Logger nr. 30 |
| | Steketermometer |

Dør

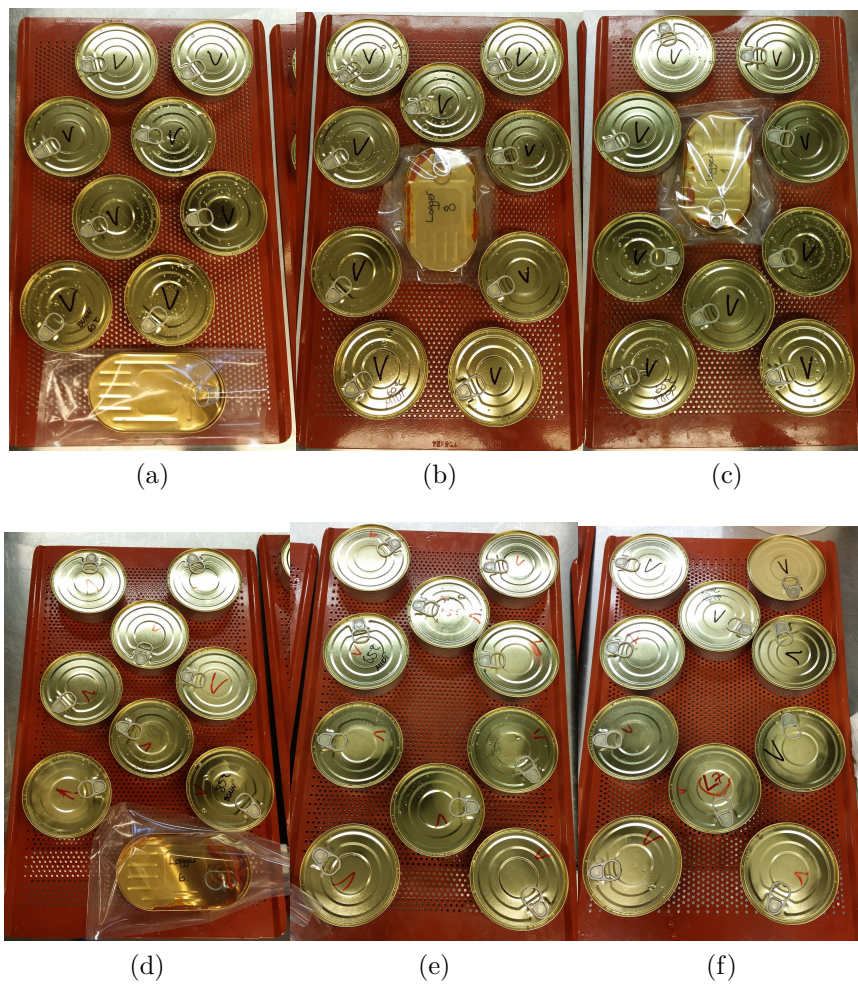
(a)

(b)

Figur A.1: Stekeskjema for varmebehandling av makrell og makrell i tomat i vakuumposer ved 60, 70, 80 og 90°C.

B Stekeskjema fra varmebehandling i hermetikkbokser

Figur B.1 viser hvordan plasseringen av bokser og bok med logger var under varmebehandlingen av prøvene. Figur B.1 (a)-(c) viser henholdsvis brettet i bunnen, i midten og på toppen under varmebehandling på 60°C. Figur B.1 (d)-(f) viser henholdsvis brettet i bunnen, i midten og på toppen under varmebehandling på 85°C.



Figur B.1: Varmebehandling av makrell i tomat. (a)-(c) viser henholdsvis brettet i bunnen, i midten og på toppen under varmebehandling på 60°C. (d)-(f) viser henholdsvis brettet i bunnen, i midten og på toppen under varmebehandling på 85°C.

C Ekstraksjon av vann- og saltløselig protein

Fra fisk kan både vann- og saltløselig protein ekstraheres. Først ekstraheres de vannløselige proteinene, deretter de saltløselige. Fremgangsmåten for dette er som følger:

- Mål ut ca. 4 g fisk i et veieskip og noter ned presis vekt.
- Overfør til en sentrifugeflaske og tilsett 80 ml 0,05M fosfatbuffer (pH 7), bruk litt buffer for å rense veieskipet.
- Homogeniser med Ultra Turrax i 30 sekunder eller til det ikke er noen biter igjen.
- Sentrifuger med 8000 g (ca. 7000 rpm) ved 4°C i 20 minutter.
- Filtrer væsken gjennom glassull ned i en 100 ml volumetrisk flaske og etterfyll med buffer til volumet er 100 ml. Dette er ekstraktet av vannløselig protein.
- Tilsett 80 ml 0,05M fosfatbuffer med 0,6M KCl til den samme sentrifugeringsflasken. Rist flasken litt for å løsne bunnfallet fra flaskeveggen.
- Gjenta samme prosedyre som over, men husk å etterfylle den volumetriske flasken med bufferen som inneholder KCl. Dette er ekstraktet av saltløselig protein.
- Mål protein innhold med Bio-Rad metoden ved å bruke Bovine gamma globulin som standard.

NB: I oppgaven ble det hovedsakelig målt ut ca. 8 g makrell.

D Bio-Rad metoden

Bio-Rad metoden er utviklet av Bradford (1976), og er basert på at maksimum absorpsjon for en sur løsning av Coomassie Brilliantblå G-250 skifter fra 465 nm til 595 nm når fargen bindes til protein.

Løsninger:

- Standard: Bovint gamma globulin (BGG). Konsentrasjonen på stockløsningen er 1,5 mg/ml.
- Fargereagens: bland en del konsentrat med 4 deler destillert vann.

Utførelse:

- Lag en standardkurve slik som Tabell D.1 under viser. Det er kun nødvendig å lage en blank og husk å lage tre paralleller.

Tabell D.1: Standardkurve.

| Standard | Blank | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------|-------|----|----|----|----|-----|
| μl standard | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| μl vann | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0 |

- Pippeter ut 100 μl av passe fortynnede prøver i reagensrør, ta tre paralleller av hver prøve.
- Blank, standard og prøver tilsettes 5,0 ml fortynnet fargereagens. Husk å blande godt rett etter tilsats av fargereagens og før måling av absorpsjon. Fargen er stabil i inntil 60 minutter.

E Vann- og tørrstoffinnhold

Fremgangsmåte:

- Fileter fisk og fjern skinn og bein.
- Fileten males to - tre ganger i kjøttkvern.
- Prøver av fiskemasse veies ut, ca. 2 g, og overføres til et prøveglass som har blitt veid på forhånd.
- Sett prøveholdere med oppmalt fiskemuskel i et varmeskap som holder 105°C i 24 timer.
- Vei så prøveholderen etter 24 timer.

F Kvantifisering av SH-grupper

Metoden er utviklet av Ellman (1959).

Fremgangsmåte:

- 100 μl proteinekstrakt pipetteres ut til et eppendorfrør. Lag tre paralleller.
- Blank lages med Buffer A i stedet for proteinekstrakt.
- Alle rør tilsettes 800 μl urea-løsning (8M) og 100 μl DTNB-løsning (0,1% DTNB i Buffer A).
- Bland godt med whirlmixer.
- Inkuber ved romtemperatur i 30 minutter.
- Sentrifuger i 3 minutter på 12000 rpm ved romtemperatur (20-25°C).
- Absorbansen leses av ved 412 nm nullstilt mot blank.

G Skjema for sensorikk

Figur G.1 viser skjemaet som ble brukt for sensorisk analyse hos Orkla Foods Norge 17. april 2015.

Profilerende analyse Stabbur-Makrell

Dommer: _____

Prøvenr: 287

Bilukt Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Hvithet Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Fasthet(redskap) Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Tyggemotstand Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Saftighet Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Makrellsmak Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Bismak Ingen Svak Tydelig Sterk Meget sterk

Eventuelle kommentarer: _____

Figur G.1: Skjema brukt til sensorisk analyse av makrell i tomat.

H Beregningseksempler

H.1 Vann- og saltløselig protein

For å regne ut ekstrahert mengde protein ble det tatt to paralleller fra hver prøve. Beregningene er gjort for prøve 60U1 og vannløselig protein fra varmebehandlingsforsøket i vakuumpose.

Rådata:

Det ble veid ut ca. 8 g fisk per parallell:

$$m_{\text{våttvekt},60U1-1} = 8,1130g$$

$$m_{\text{våttvekt},60U1-2} = 8,0518g$$

Ekstrahert mengde protein blandes med buffer til $V_{\text{ekstraksjon}} = 100ml$

Det lages en standardkurve og den har følgende ligning: $y = 0,5621x_{OD_{595}} + 0,0275$

Absorbans måles ved 595 nm og parallellene gir:

$$\text{Parallell } 60U1 - 1 : 0.296, 0.267, 0.277$$

$$\text{Parallell } 60U1 - 2 : 0.316, 0.657, 0.327$$

Beregninger:

For å finne mengde protein i den fortynnede prøven settes målt absorbans inn i regresjonslinja for standardkurven. Ved å plote OD (absorbans) som funksjon av P (proteininnholdet) fås standardkurven som er gitt av ligning H.1:

$$P = \frac{1}{B} \cdot x_{OD_{595}} - \frac{A}{B} \left[\frac{mg}{ml} \right] \quad (\text{H.1})$$

hvor B er stigningstallet og A er skjæringspunktet med y-aksen.

Får da:

$$P_{60U1-1-1} = \frac{0,296}{0,5621} - \frac{0,0275}{0,5621} = 0,478 \frac{mg}{ml}$$

$$P_{60U1-1-2} = \frac{0,267}{0,5621} - \frac{0,0275}{0,5621} = 0,426 \frac{mg}{ml}$$

$$P_{60U1-1-3} = \frac{0,277}{0,5621} - \frac{0,0275}{0,5621} = 0,444 \frac{mg}{ml}$$

$$P_{60U1-2-1} = \frac{0,316}{0,5621} - \frac{0,0275}{0,5621} = 0,513 \frac{mg}{ml}$$

$$P_{60U1-2-2} = \frac{0,657}{0,5621} - \frac{0,0275}{0,5621} = 1,120 \frac{mg}{ml}$$

$$P_{60U1-2-3} = \frac{0,296}{0,5621} - \frac{0,0275}{0,5621} = 0,533 \frac{mg}{ml}$$

Beregner gjennomsnittsverdien for hver parallell med ligning H.2:

$$\bar{P} = \frac{\sum P_i}{n} \quad (\text{H.2})$$

$$\bar{P}_{60U1-1} = \frac{0,478 + 0,426 + 0,444}{3} = 0,449 \frac{mg}{ml}$$

$$\bar{P}_{60U1-2} = \frac{0,513 + 1,120 + 0,533}{3} = 0,722 \frac{mg}{ml}$$

Finner proteininnholdet i ufortynna prøve gitt i prosent ut i fra ligning H.3:

$$P_{ufortynna} = \frac{\bar{P} \left[\frac{mg}{ml} \right] \cdot V_{ekstraksjon} [ml] \cdot f_{fortynning}}{m_{\text{v\aa}atvekt} [g] \cdot 1000 \left[\frac{mg}{g} \right]} \cdot 100\% \quad (\text{H.3})$$

$$P_{ufortynna,60U1-1} = \frac{0,449 \cdot 100 \cdot 1}{8,1130 \cdot 1000} \cdot 100\% = 0,55\%$$

$$P_{ufortynna,60U1-2} = \frac{0,722 \cdot 100 \cdot 1}{8,0518 \cdot 1000} \cdot 100\% = 0,90\%$$

Finner tilslutt gjennomsnittlig innhold av ekstrahert vannløselig protein i prøve 60U1:

$$\bar{P}_{ufortynna,60U1} = \frac{\sum P_{ufortynna,i}}{n} = \frac{0,55\%+0,90\%}{2} = \underline{\underline{0,73\%}}$$

H.2 SH-grupper

Beregningene er vist for prøve 60U1-1 for vannløselig protein fra varmebehandlingsforsøket i vakuumpose.

Kjente verdier:

Fortynning: $f_{fortynning} = 1$

Ekstinksjonskoeffisient: $E = 14290 \text{ (} M^{-1} \text{cm}^{-1} \text{)}$

Bredden av kyvetten: $b = 1 \text{ cm}$

Volum av kyvette: $V_{kyvette} = 1 \text{ ml}$

Volum prøve: $V_{prøve} = 0,1 \text{ ml}$

Volum ekstrakt: $V_{ekstrakt} = 100 \text{ ml}$

Målt absorbans ved 412 nm, blank = 0,000:

Parallell 60U1 – 1 : 0.063, 0.066, 0.060

Parallell 60U1 – 2 : 0.057, 0.058, 0.052

Beregninger:

Beregner konsentrasjonen av SH-gruppene som mol/l som vist i ligning H.4:

$$C_{60U1-1} = \frac{Abs. \cdot V_{kyvette} [ml]}{b [cm] \cdot E [M^{-1} cm^{-1}] \cdot V_{prøve} [ml]} \quad (\text{H.4})$$

$$C_{60U1-1} = \frac{\left[\frac{0,063+0,066+0,060}{3} \right] \cdot 1ml}{1cm \cdot 14290 M^{-1} cm^{-1} \cdot 0,1ml}$$

$$C_{60U1-1} = 0,0000441 [M]$$

Ønsker å vite konsentrasjonen av SH-grupper som mmol/g våtvekt (våtvekt er forkortet v.vekt) og finner denne fra ligning H.5:

$$C_{60U1-1} = \frac{C_{60U1-1} [M] \cdot V_{ekstrakt} [ml]}{m [g]} \quad (\text{H.5})$$

$$C_{60U1-1} = \frac{0,0000441 \text{ mol/l} \cdot 100 \text{ ml}}{8,1130 \text{ g}}$$

$$C_{60U1-1} = 0,000543 \left[\frac{\text{mmol}}{\text{g v.vekt}} \right]$$

I videre beregninger har gjennomsnittet av 60U1-1 og 60U1-2 blitt benyttet:

$$C_{60U1} = \frac{C_{60U1-1} + C_{60U1-2}}{2} = \underline{\underline{0,000514 \left[\frac{\text{mmol}}{\text{g v.vekt}} \right]}}$$

Konsentrasjonen av SH-grupper ble også regnet ut som mmol/mg protein fra ligning H.6:

$$C_{60U1-1} = \frac{C_{60U1-1}[M] \cdot V_{ekstrakt}[ml]}{m[g] \cdot 10^3 \left[\frac{mg}{g} \right] \cdot m_{protein \ i \ ekstrakt}[\%]} \quad (\text{H.6})$$

$$C_{60U1-1} = \frac{0,0000441[M] \cdot 100[ml]}{8,1130[g] \cdot 10^3 \left[\frac{mg}{g} \right] \cdot 0,55[\%]}$$

$$C_{60U1-1} = \underline{\underline{0,0000981 \left[\frac{\text{mmol}}{\text{mg protein}} \right]}}$$

H.3 Vanninnhold

Beregningene er vist for prøve 60U1-1 og 60U-2 fra varmebehandlingsforsøket i vakuumpose.

Det ble tatt to paralleller av hver prøve.

$$m_{tom,60U1-1} = 9,2228g$$

$$m_{tom+fisk,60U1-1} = 10,4499g$$

$$m_{tom+fisk,tørket,60U1-1} = 9,7446g$$

$$m_{tom,60U1-2} = 11,0799g$$

$$m_{tom+fisk,60U1-2} = 13,0833g$$

$$m_{tom+fisk,tørket,60U1-2} = 11,8575g$$

Vanninnhold:

Vanninnholdet beregnes ut i fra ligning H.7:

$$Vanninnhold = \frac{m_{tom+fisk} - m_{tom+fisk,tørket}}{m_{tom+fisk} - m_{tom}} \cdot 100\% \quad (\text{H.7})$$

Vanninnholdet i prøve 60U1 blir:

$$Vanninnhold_{60U1-1} = \frac{10,4499 - 9,7446}{10,4499 - 9,2228} \cdot 100\% = 57,48\%$$

$$Vanninnhold_{60U1-2} = \frac{13,0833 - 11,9540}{13,0833 - 11,0799} \cdot 100\% = 56,37\%$$

Det gjennomsnittlig vanninnholdet for prøve 60U1 blir:

$$\overline{Vanninnhold}_{60U1} = \frac{\sum Vanninnhold_i}{n} = \frac{57,48\% + 56,37\%}{2} = \underline{\underline{56,92\%}}$$

Tørrstoffinnhold:

Gjennomsnittlig tørrstoffinnhold beregnes som:

$$\overline{Tørrstof\,finnhold}_{60U1} = 100\% - 56,92\% = \underline{\underline{43,08\%}}$$

H.4 P-verdi

For å finne ut om prøver var signifikant forskjellige fra hverandre ble p-verdien regnet ut ved å bruke to-utvalgs t-test med signifikansnivå på 0,05 eller mindre (tilsvarende signifikans på 95%).

t-verdien ble regnet fra ligning H.8:

$$t = \frac{|a - b|}{\sqrt{SD_a^2 + SD_b^2}} \quad (\text{H.8})$$

hvor a og b er prøvene som skal sammenlignes og SD er empirisk standardavvik for en prøve. Kvadratrottegnet under brøkstreken er usikkerheten i standardavviket av prøvene som skal sammenlignes.

Figur H.2 viser tabellen som brukes for å slå opp t-verdi når p-verdi skal finnes.

Beregningseksempel:

Velger å regne ut p-verdien for egenskapen bismak for prøvene V-85-2 og Nyprod-2 fra sensorisk analyse hvor alle uttakene er lagt sammen, se Figur 4.29 og Tabell 4.5.

Resultatene:

V-85-2: $2,6 \pm 0,5$

Nyprod-2: $0,6 \pm 0,4$

Beregner t-verdi:

$$t = \frac{|V_{85.2} - Nyprod_{2}|}{\sqrt{SD_{V_{85.2}}^2 + SD_{Nyprod_{2}}^2}}$$

$$t = \frac{2,6 - 0,6}{\sqrt{0,5^2 + 0,4^2}} = 3,12$$

Bruker Figur H.2 for å finne p-verdi som er gitt av ligning H.9 [111]:

$$P(\text{within } t\sigma) = P(X - t\sigma \leq x \leq X + t\sigma) = \int_{X-t\sigma}^{X+t\sigma} G_{X,\sigma}(x) dx = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-t}^t e^{-\frac{z^2}{2}} dz \quad (\text{H.9})$$

For $t = 3,0$ gir tabellen:

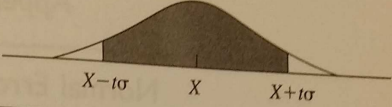
$$P(\textit{within } t\sigma) = 99,73\%$$

p-veriden kan da finnes fra ligning H.10

$$P(\textit{outside } t\sigma) = 100\% - P(\textit{within } t\sigma) \tag{H.10}$$

$$P(\textit{outside } t\sigma) = 100\% - 99,73\% = 0,27\% \approx \underline{\underline{0,003}}$$

Table A. The percentage probability, $Prob(\text{within } t\sigma) = \int_{X-t\sigma}^{X+t\sigma} G_{X,\sigma}(x) dx$, as a function of t .



| t | 0.00 | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.06 | 0.07 | 0.08 | 0.09 |
|-----|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 0.0 | 0.00 | 0.80 | 1.60 | 2.39 | 3.19 | 3.99 | 4.78 | 5.58 | 6.38 | 7.17 |
| 0.1 | 7.97 | 8.76 | 9.55 | 10.34 | 11.13 | 11.92 | 12.71 | 13.50 | 14.28 | 15.07 |
| 0.2 | 15.85 | 16.63 | 17.41 | 18.19 | 18.97 | 19.74 | 20.51 | 21.28 | 22.05 | 22.82 |
| 0.3 | 23.58 | 24.34 | 25.10 | 25.86 | 26.61 | 27.37 | 28.12 | 28.86 | 29.61 | 30.35 |
| 0.4 | 31.08 | 31.82 | 32.55 | 33.28 | 34.01 | 34.73 | 35.45 | 36.16 | 36.88 | 37.59 |
| 0.5 | 38.29 | 38.99 | 39.69 | 40.39 | 41.08 | 41.77 | 42.45 | 43.13 | 43.81 | 44.48 |
| 0.6 | 45.15 | 45.81 | 46.47 | 47.13 | 47.78 | 48.43 | 49.07 | 49.71 | 50.35 | 50.98 |
| 0.7 | 51.61 | 52.23 | 52.85 | 53.46 | 54.07 | 54.67 | 55.27 | 55.87 | 56.46 | 57.05 |
| 0.8 | 57.63 | 58.21 | 58.78 | 59.35 | 59.91 | 60.47 | 61.02 | 61.57 | 62.11 | 62.65 |
| 0.9 | 63.19 | 63.72 | 64.24 | 64.76 | 65.28 | 65.79 | 66.29 | 66.80 | 67.29 | 67.78 |
| 1.0 | 68.27 | 68.75 | 69.23 | 69.70 | 70.17 | 70.63 | 71.09 | 71.54 | 71.99 | 72.43 |
| 1.1 | 72.87 | 73.30 | 73.73 | 74.15 | 74.57 | 74.99 | 75.40 | 75.80 | 76.20 | 76.60 |
| 1.2 | 76.99 | 77.37 | 77.75 | 78.13 | 78.50 | 78.87 | 79.23 | 79.59 | 79.95 | 80.29 |
| 1.3 | 80.64 | 80.98 | 81.32 | 81.65 | 81.98 | 82.30 | 82.62 | 82.93 | 83.24 | 83.55 |
| 1.4 | 83.85 | 84.15 | 84.44 | 84.73 | 85.01 | 85.29 | 85.57 | 85.84 | 86.11 | 86.38 |
| 1.5 | 86.64 | 86.90 | 87.15 | 87.40 | 87.64 | 87.89 | 88.12 | 88.36 | 88.59 | 88.82 |
| 1.6 | 89.04 | 89.26 | 89.48 | 89.69 | 89.90 | 90.11 | 90.31 | 90.51 | 90.70 | 90.90 |
| 1.7 | 91.09 | 91.27 | 91.46 | 91.64 | 91.81 | 91.99 | 92.16 | 92.33 | 92.49 | 92.65 |
| 1.8 | 92.81 | 92.97 | 93.12 | 93.28 | 93.42 | 93.57 | 93.71 | 93.85 | 93.99 | 94.12 |
| 1.9 | 94.26 | 94.39 | 94.51 | 94.64 | 94.76 | 94.88 | 95.00 | 95.12 | 95.23 | 95.34 |
| 2.0 | 95.45 | 95.56 | 95.66 | 95.76 | 95.86 | 95.96 | 96.06 | 96.15 | 96.25 | 96.34 |
| 2.1 | 96.43 | 96.51 | 96.60 | 96.68 | 96.76 | 96.84 | 96.92 | 97.00 | 97.07 | 97.15 |
| 2.2 | 97.22 | 97.29 | 97.36 | 97.43 | 97.49 | 97.56 | 97.62 | 97.68 | 97.74 | 97.80 |
| 2.3 | 97.86 | 97.91 | 97.97 | 98.02 | 98.07 | 98.12 | 98.17 | 98.22 | 98.27 | 98.32 |
| 2.4 | 98.36 | 98.40 | 98.45 | 98.49 | 98.53 | 98.57 | 98.61 | 98.65 | 98.69 | 98.72 |
| 2.5 | 98.76 | 98.79 | 98.83 | 98.86 | 98.89 | 98.92 | 98.95 | 98.98 | 99.01 | 99.04 |
| 2.6 | 99.07 | 99.09 | 99.12 | 99.15 | 99.17 | 99.20 | 99.22 | 99.24 | 99.26 | 99.29 |
| 2.7 | 99.31 | 99.33 | 99.35 | 99.37 | 99.39 | 99.40 | 99.42 | 99.44 | 99.46 | 99.47 |
| 2.8 | 99.49 | 99.50 | 99.52 | 99.53 | 99.55 | 99.56 | 99.58 | 99.59 | 99.60 | 99.61 |
| 2.9 | 99.63 | 99.64 | 99.65 | 99.66 | 99.67 | 99.68 | 99.69 | 99.70 | 99.71 | 99.72 |
| 3.0 | 99.73 | | | | | | | | | |
| 3.5 | 99.95 | | | | | | | | | |
| 4.0 | 99.994 | | | | | | | | | |
| 4.5 | 99.9993 | | | | | | | | | |
| 5.0 | 99.99994 | | | | | | | | | |

Figur H.2: Tabell for å slå opp t-verdi for en to-utvalgs t-test [111].

H.5 Korrelasjon

For å finne ut om korrelasjonen mellom to egenskaper var signifikant ble korrelasjonskoeffisienten, r , regnet ut fra ligning H.11:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (\text{H.11})$$

hvor x og y er verdiene for de egenskapene som ble sammenlignet.

Sannsynligheten for at to egenskaper ikke korrelerer, $\text{Prob}_N(|r| \geq r_0)$, kan leses av i Figur H.3 [111].

Beregning:

Beregner korrelasjonskoeffisienten for tyggemotstand og hvithet:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} = \frac{-1,5}{\sqrt{0,55^2 \cdot 5,7^2}} = -0,9$$

Leser av korrelasjonstabellen for $N=8$ og $r_0=0,9$ for å finne sannsynligheten for at variablene ikke korrelerer:

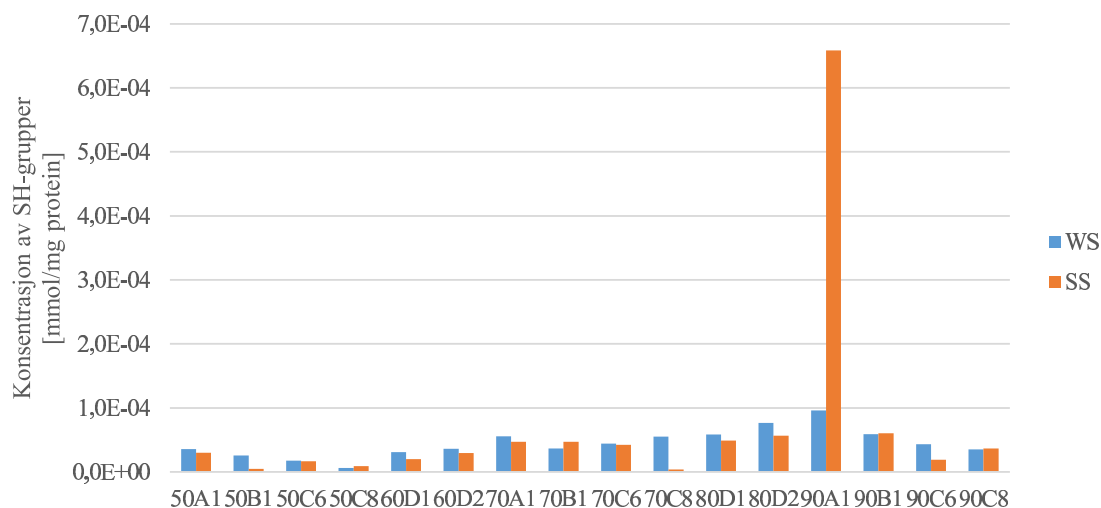
$$\text{Prob}_N(|r| \geq r_0) = \underline{\underline{0,2\%}}$$

| N | r_0 | | | | | | | | | | |
|-----|-------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|---|
| | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | 1 |
| 3 | 100 | 94 | 87 | 81 | 74 | 67 | 59 | 51 | 41 | 29 | 0 |
| 4 | 100 | 90 | 80 | 70 | 60 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 | 0 |
| 5 | 100 | 87 | 75 | 62 | 50 | 39 | 28 | 19 | 10 | 3.7 | 0 |
| 6 | 100 | 85 | 70 | 56 | 43 | 31 | 21 | 12 | 5.6 | 1.4 | 0 |
| 7 | 100 | 83 | 67 | 51 | 37 | 25 | 15 | 8.0 | 3.1 | 0.6 | 0 |
| 8 | 100 | 81 | 63 | 47 | 33 | 21 | 12 | 5.3 | 1.7 | 0.2 | 0 |
| 9 | 100 | 80 | 61 | 43 | 29 | 17 | 8.8 | 3.6 | 1.0 | 0.1 | 0 |
| 10 | 100 | 78 | 58 | 40 | 25 | 14 | 6.7 | 2.4 | 0.5 | | 0 |
| 11 | 100 | 77 | 56 | 37 | 22 | 12 | 5.1 | 1.6 | 0.3 | | 0 |
| 12 | 100 | 76 | 53 | 34 | 20 | 9.8 | 3.9 | 1.1 | 0.2 | | 0 |
| 13 | 100 | 75 | 51 | 32 | 18 | 8.2 | 3.0 | 0.8 | 0.1 | | 0 |
| 14 | 100 | 73 | 49 | 30 | 16 | 6.9 | 2.3 | 0.5 | 0.1 | | 0 |
| 15 | 100 | 72 | 47 | 28 | 14 | 5.8 | 1.8 | 0.4 | | | 0 |
| 16 | 100 | 71 | 46 | 26 | 12 | 4.9 | 1.4 | 0.3 | | | 0 |
| 17 | 100 | 70 | 44 | 24 | 11 | 4.1 | 1.1 | 0.2 | | | 0 |
| 18 | 100 | 69 | 43 | 23 | 10 | 3.5 | 0.8 | 0.1 | | | 0 |
| 19 | 100 | 68 | 41 | 21 | 9.0 | 2.9 | 0.7 | 0.1 | | | 0 |
| 20 | 100 | 67 | 40 | 20 | 8.1 | 2.5 | 0.5 | 0.1 | | | 0 |
| 25 | 100 | 63 | 34 | 15 | 4.8 | 1.1 | 0.2 | | | | 0 |
| 30 | 100 | 60 | 29 | 11 | 2.9 | 0.5 | | | | | 0 |
| 35 | 100 | 57 | 25 | 8.0 | 1.7 | 0.2 | | | | | 0 |
| 40 | 100 | 54 | 22 | 6.0 | 1.1 | 0.1 | | | | | 0 |
| 45 | 100 | 51 | 19 | 4.5 | 0.6 | | | | | | 0 |
| | 0 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 | 0.35 | 0.4 | 0.45 | |
| 50 | 100 | 73 | 49 | 30 | 16 | 8.0 | 3.4 | 1.3 | 0.4 | 0.1 | |
| 60 | 100 | 70 | 45 | 25 | 13 | 5.4 | 2.0 | 0.6 | 0.2 | | |
| 70 | 100 | 68 | 41 | 22 | 9.7 | 3.7 | 1.2 | 0.3 | 0.1 | | |
| 80 | 100 | 66 | 38 | 18 | 7.5 | 2.5 | 0.7 | 0.1 | | | |
| 90 | 100 | 64 | 35 | 16 | 5.9 | 1.7 | 0.4 | 0.1 | | | |
| 100 | 100 | 62 | 32 | 14 | 4.6 | 1.2 | 0.2 | | | | |

Figur H.3: Korrelasjonstabell [111]. Sannsynligheten $\text{Prob}_N(|r| \geq r_0)$ [%] for at N målinger av to ikke korrelerte variabler gitt en korrelasjonskoeffisient med $|r| \geq r_0$ som funksjon av N og r_0 . De tomme plassene indikerer sannsynligheter mindre enn 0,05%

I Kartleggingsforsøk: Plott av SH-grupper

Konsentrasjonen av SH-grupper ble plottet som mmol/mg protein for vann- og saltløselige proteiner for alle prøvene i kartleggingsforsøket slik som vist i Figur I.4.

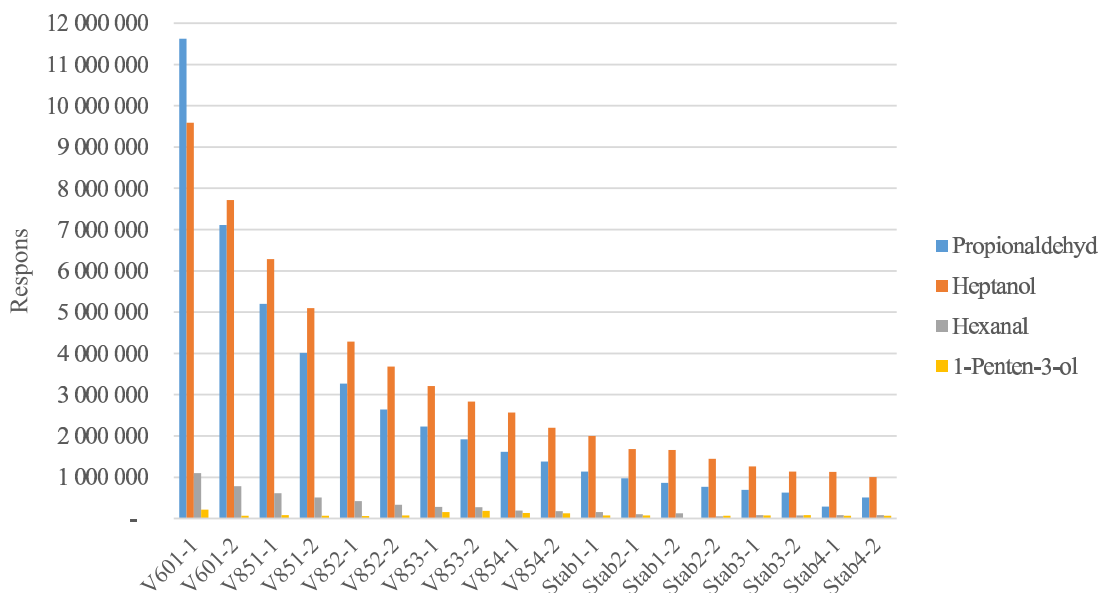


Figur I.4: Konsentrasjon av SH-grupper som mmol/mg protein for vann- og saltløselige proteiner. 50A1 betyr at prøven ble varmebehandlet i vannbad på 50°C og er hentet fra fisk A filet nummer 1. WS = vannløselig protein og SS = saltløselig protein.

Prøve 90A1 hadde mye høyere konsentrasjonen av SH-grupper i ekstraktet med saltløselige proteiner enn for de resterende prøvene. Dette skyldes at innholdet av saltløselige proteiner i ekstraktet var tilnærmet null (0,03%), og absorpsjonsmålingene lå langt under standardkurven.

J Headspace GC-MS resultater

Resultatene fra headspace GC-MS analyse av makrell i tomat 28. mai 2015. Prøvene ble analysert i serie med headspace temperatur på 85°C. Responsen ble funnet for hvert stoff i standarden og Figur J.5 viser respons plottet mot kjørersekkefølgen.

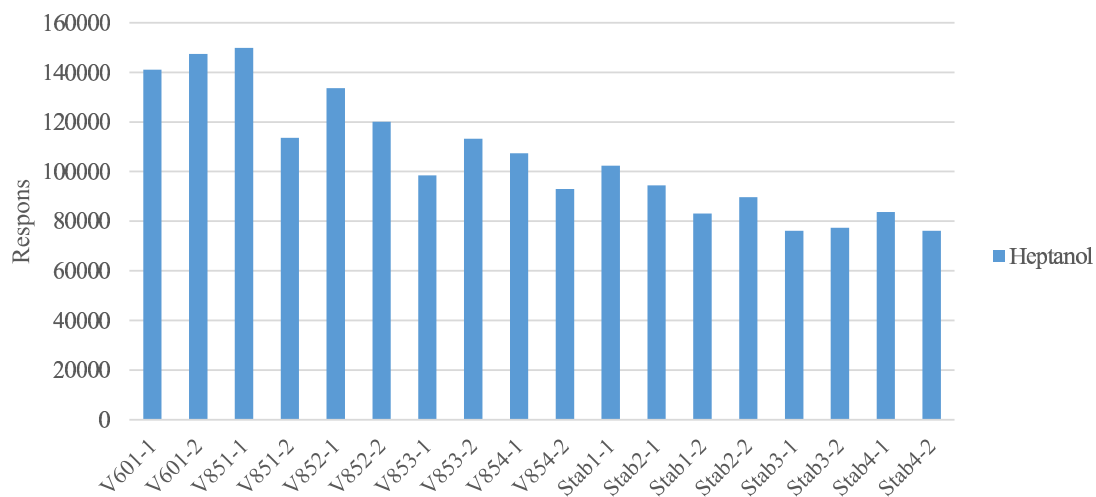


Figur J.5: Respons er plottet for prøvene etter analyserekkefølgen. Prøvene ble analysert i serie med headspace temperatur på 85°C den 28. mai 2015.

Figur J.5 viser at responsen i prøvene har avtatt proporsjonalt med analysetid. Analysetid for en prøve var 26 minutter.

Figur J.6 viser resultatene for kjøringen av makrell i tomatprøvene 10. juni 2015. Prøvene ble analysert i serie med headspace temperatur på 85°C. Responsen ble funnet for hvert stoff i standarden. Analyserekkefølgen var den samme for begge prøvesettene.

J HEADSPACE GC-MS RESULTATER



Figur J.6: Respons er plottet for prøvene etter analyserekkefølgen. Prøvene ble analysert i serie med headspace temperatur på 85°C den 10. juni 2015.

Figur J.6 viser, akkurat slik som Figur J.5, at analyserekkefølgen har vært avgjørende for responsen.