

Emira Ayadi Nilsen

# Tilsats av butare (*Alaria esculenta*) som ingrediens i rå lakseburger for økt lagringsstabilitet

Masteroppgave i Mat og teknologi

Veileder: Anita Nordeng Jakobsen

Mai 2020



Emira Ayadi Nilsen

# **Tilsats av butare (*Alaria esculenta*) som ingrediens i rå lakseburger for økt lagringsstabilitet**

Masteroppgave i Mat og teknologi  
Veileder: Anita Nordeng Jakobsen  
Mai 2020

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Fakultet for naturvitenskap  
Institutt for bioteknologi og matvitenskap



Kunnskap for en bedre verden



## Sammendrag

Marine makroalger, spesielt brunalger, er kjent for å inneholde høye nivåer av polyfenoler med antioksidative og antimikrobielle egenskaper. Disse egenskapene kan utnyttes innen næringsmiddelindustrien som en ingrediens i matprodukter for å oppnå økt lagringsstabilitet. Målet med oppgaven var derfor å undersøke om tilsats av blansjert, frysetørket butare (*Alaria esculenta*) i pulverisert form kunne øke lagringsstabilitet i rå lakseburger (*Salmo salar*). For å finne optimale blansjeringsbetingelser for butare, ble kombinasjoner av temperatur (60, 70, 80 og 90 °) og tid (90, 180 og 900 sekunder) testet ut og optimaliseringen ble basert på kvantifisering av polyfenol- og antioksidantnivå med henholdsvis Folin- Ciocalteu metoden og DPPH- radical scavenging assay. Blansjering ble utført i vann og råstoffet var vakuumpakket under varmebehandlingen. Enzyminaktivering i butare blansjert ved ulike betingelser ble også testet ved katalase- og peroksidasetest. Blansjeringsstudiet ga ingen indikasjon på hvilken blansjeringstemperatur og -holdetid som ga best utbytte av polyfenoler og antioksidativ kapasitet samt enzyminaktivering i butare. I midlertidig viste resultatene at både temperatur og holdetid påvirker antioksidativ kapasitet i butare. Den sterkeste blansjeringsbetingelse, 90 °C i 180 sekunder, ble valgt som optimal for å sikre fullstendig inaktivering av enzymer i butare. Deretter ble lakseburgerne produsert ved kverning av fileten og avskjær fra atlantisk laks og tilsatt pulverisert butare, forbehandlet ved dehydrering og blansjering (90 °C i 180 sekunder), i konsentrasjoner 0 (kontroll), 0,41, 1,66 og 2,91 %. Lakseburgerne ble pakket i modifisert atmosfære (CO<sub>2</sub>:N<sub>2</sub>, 60 %:40 %) og kjølelagret i 4 °C, over 21 dager. Lagringsstabilitet til lakseburgerne ble analysert ved å måle oppvekst av totalt psykotroft kintall (TPK), *Pseudomonas spp.*, melkesyrebakterier (LAB) og *Brochotrix thermosphacta* (*B. thermosphacta*). Det ble påvist oppvekst av TPK, *Pseudomonas spp.* og LAB i lakseburgerne med og uten tilsats av pulverisert butare. Lagringsforsøket viste ikke økt stabilitet da lakseburger tilsatt butare ikke viste antimikrobiell effekt mot TPK og LAB. Resultatene indikerte derimot antimikrobiell effekt mot *Pseudomonas spp.* i lakseburger tilsatt 1,66 og 2,33 % butare, men nivået var lavt. Den hemmende effekten ved tilsats av alge kan ha vært forårsaket av andre faktorer enn antimikrobiell effekt, som saltinnhold i butare eller redusert vannaktivitet grunnet rehydrering av vann fra laksefarse til algen. Videre ble det funnet lave verdier av polyfenoler og antioksidativ kapasitet, sammenlignet med andre studier. Det lave nivået kan ha bidratt til liten antimikrobiell effekt i lakseburgerne og videre arbeid rettet mot inkorporering av butare som et middel for å stabilisere matprodukter er derfor anbefalt.

## Abstract

Marine macroalgae, especially brown algae, are known to contain high levels of polyphenols with antioxidant and antimicrobial properties. These properties can be utilized in the food industry as an ingredient to increase stability of food products. Therefore, the aim of this thesis was to investigate whether the addition of blanched, freeze-dried *Alaria esculenta*, in a powdered form, could increase storage stability in raw salmon burgers (*Salmo salar*). To find optimal blanching conditions for *A. esculenta*, combinations of temperature (60, 70, 80 and 90 °) and time (90, 180 and 900 seconds) were tested and optimization was based on the quantification of polyphenol and antioxidant levels by the Folin-Ciocalteu method and DPPH radical scavenging assay, respectively. *A. esculenta* was vacuum-packed, when blanched with water. Enzyme inactivation in *A. esculenta*, blanched under various conditions, was also tested by catalase- and peroxidase assays. The blanching study gave no indication of which combination of blanching temperature and holding time, that gave the best yield of polyphenols and antioxidant capacity, as well as enzyme inactivation in *A. esculenta*. The results achieved did however indicate that both temperature and holding time affects the yield of antioxidant capacity. The strongest blanching condition, 90 ° C for 180 seconds, was chosen as optimal, to ensure complete inactivation of enzymes in the algae. Salmon burgers were produced by grinding the fillets and trimmings from Atlantic salmon and adding powdered *A. esculenta*, pre-treated by dehydration and blanching (90 ° C for 180 seconds), at concentrations of 0 (control), 0.41, 1.166 and 2.99 %. The salmon burgers were packed in modified atmosphere (CO<sub>2</sub>: N<sub>2</sub>, 60%: 40%) and refrigerated at 4 ° C, over 21 days. Storage stability of salmon burgers were analyzed by measuring the growth of total psychotrophic plate count (TPK), *Pseudomonas spp.*, Lactic acid bacteria (LAB) and *Brochotrix thermosphacta* (*B. thermosphacta*). The growth of TPK, *Pseudomonas spp.* and LAB was detected in salmon burgers, with and without the addition of powdered *A. esculenta*. The storage experiment did however not give an increased stability, as the salmon burgers with the addition of powdered algae did not show antimicrobial effect against TPK and LAB. On the other hand, the results, indicated antimicrobial efficacy against *Pseudomonas spp.* in salmon burgers added 1.66 and 2.33% butare, but the growth levels were low. The inhibitory effect of the addition of *A. esculenta* may have been caused by factors other than the antimicrobial effect, such as salt content of the algae or reduced water activity due to rehydration of the algae. Furthermore, low values of polyphenols and antioxidant capacity were found in *A. esculenta*, compared to other studies. The low level may have contributed to low antimicrobial effect in the salmon burgers and further work aimed at incorporating *A. esculenta* as an agent to stabilize food products is therefore recommended.

## **Forord**

Etter to år ved Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Universitet, Fakultet for Naturvitenskap, Institutt for Bioteknologi og Matvitenskap markerer denne masteroppgaven en avslutning på min masterutdanning i Mat og Teknologi. I forbindelse med utforming av masteroppgaven vil jeg takke hovedveileder, Førsteamanuensis Anita Nordeng Jakobsen og medveileder Førsteamanuensis Jørgen Lerfall for god veiledning og faglige råd gjennom hele perioden. Jeg vil også rette en stor takk til Maren Sæther ved Seaweed Energy Solutions for tiden hun har satt av til å besvare spørsmål.

Til slutt vil jeg takke medstudent Hanna Østvik for et godt samarbeid og et sprudlende humør under store deler av laboratoriearbeidet, samt familie for moralsk støtte og tålmodighet.

# Innholdsfortegnelse

|  |      |
|--|------|
| Sammendrag.....  | I    |
| Abstract.....  | II   |
| Forord .....   | III  |
| Innholdsfortegnelse .....  | IV   |
| Figurliste .....   | VI   |
| Tabelliste.....  | VII  |
| Forkortelser .....   | VIII |
| 1. Introduksjon .....  | 1    |
| 2. Mål for oppgaven .....  | 2    |
| 3. Teoretisk bakgrunn.....   | 4    |
| 3.1 Makroalger.....  | 4    |
| 3.2 Kjemisk sammensetning av makroalger.....   | 4    |
| 3.2.1 Jodinnhold i makroalger.....   | 8    |
| 3.3 Bioaktive komponenter i makroalger .....   | 10   |
| 3.3.1 Florotanniner .....  | 10   |
| 3.3.1.1 Florotanniner sin antioksidative kapasitet .....                             | 11   |
| 3.3.1.2 Florotanniner sin antimikrobielle aktivitet .....                            | 11   |
| 3.3.2 Polyfenolinnhold i makroalger og kvantifiseringsmetoder .....                  | 12   |
| 3.4 Blansjering av makroalger .....  | 14   |
| 3.5 Dehydrering av makroalger.....   | 17   |
| 3.6 Atlantisk laks og holdbarhet.....  | 18   |
| 3.6.1 Mikrobiell forringelse av Atlantisk laks.....                                  | 19   |
| 3.6.2 Økt holdbarhet av atlantisk laks ved MAP-pakking .....                         | 21   |
| 3.6.3 Lipidoksidasjon i Atlantisk laks .....   | 21   |
| 3.7 Makroalgetilsats i sjømatprodukter .....   | 22   |
| 4 Material og metode.....  | 23   |
| 4.1 Råstoff .....  | 23   |
| 4.2 Blansjeringsstudie .....   | 23   |
| 4.2.1 Varmebehandling av butare.....   | 23   |
| 4.2.2 Tillaging av butareekstrakt.....   | 25   |
| 4.2.3 Kvantifisering av TPC i butare blansjert ved ulike betingelser .....           | 25   |
| 4.2.4 Kvantifisering av AO-kapasitet i butare blansjert ved ulike betingelser.....   | 26   |
| 4.2.5 Enzymatisk aktivitet i butare blansjert ved ulike blansjeringsbetingelser..... | 26   |



|         |  |     |
|---------|--|-----|
| 4.3     | Lagringsstudie .....   | 27  |
| 4.3.1   | Tillaging av lakseburger tilsatt butare .....  | 27  |
| 4.3.2   | Bakterievekst i lakseburger tilsatt butare .....   | 30  |
| 4.3.3   | Sensorisk beskrivelse av lakseburger tilsatt butare .....  | 31  |
| 4.3.4   | Effekt av dehydrering for vanntap i butare .....   | 31  |
| 4.4     | Dataprosessering og statistiske analyser .....   | 31  |
| 5       | Resultater .....   | 32  |
| 5.1     | Blansjeringsstudie utført på butare .....  | 32  |
| 5.1.1   | Kvantifisering av TPC i butare blansjert ved ulike betingelser .....                               | 32  |
| 5.1.2   | Kvantifisering av AO-kapasitet i butare blansjert ved ulike betingelser .....                      | 33  |
| 5.1.3   | Effekt av blansjering på enzymaktivitet i butare .....   | 34  |
| 5.1.4   | Fargeendring i butare før og etter blansjering .....   | 35  |
| 5.2     | Lagringsstudie utført for lakseburger .....  | 35  |
| 5.3.1   | Utvikling av resept og sensorisk beskrivelse for rå lakseburger .....                              | 36  |
| 5.3.1.1 | Bestemmelse av butarekonsentrasjon i lakseburger .....   | 36  |
| 5.3.1.2 | Sensorisk beskrivelse av lakseburgere tilsatt ulike konsentrasjoner butare .....                   | 38  |
| 5.3.2   | Bakterievekst i lakseburger tilsatt butare .....   | 39  |
| 5.3.3   | Vanntap ved dehydrering av blansjert butare .....  | 42  |
| 6       | Vurdering .....  | 43  |
| 6.1     | Blansjeringsstudie utført på butare .....  | 43  |
| 6.1.1   | Kvantifisering av TPC i butare blansjert ved ulike betingelser .....                               | 43  |
| 6.1.2   | Kvantifisering av AO-kapasitet i butare blansjert ved ulike betingelser .....                      | 45  |
| 6.1.3   | Effekt av blansjering på enzymaktivitet i butare .....   | 47  |
| 6.2     | Lagringsstudie utført for lakseburger .....  | 48  |
| 6.2.1   | Utvikling av lakseburgerresept .....   | 48  |
| 6.2.2   | Risikovurdering av butarekonsentrasjon i lakseburger .....   | 48  |
| 6.2.3   | Sensorisk beskrivelse .....  | 50  |
| 6.2.4   | Bakterievekst i lakseburgere tilsatt butare .....  | 51  |
| 7       | Konklusjon .....   | 54  |
| 8       | Videre arbeid .....  | 55  |
| 9       | Referanseliste .....   | 56  |
|         | Vedlegg .....  | I   |
|         | Vedlegg A: Standardkurve og formler benyttet for beregning av TPC og AO-kapasitet. ....            | II  |
|         | Vedlegg B: Middelerverdier ved kvantifisering av TPC og AO-kapasitet fra blansjeringsstudiet. .... | III |
|         | Vedlegg C: Gassammensetning i headspace under lagringsstudiet. ....                                | IV  |

## Figurliste

|  |    |
|--|----|
| Figur 1: Kjemisk struktur til floroglucinol.....   | 10 |
| Figur 2: Modifisert illustrasjon av mikrobiologisk forløp i islagret fisk.....   | 20 |
| Figur 3: Flytskjema av blansjeringsstudiet.....  | 24 |
| Figur 4: Flytskjema av tillaging av butareekstrakt.....  | 25 |
| Figur 5: Flytskjema for produksjon av lakseburgere ved tilsats av ulike butarekonsentrasjoner.....                               | 28 |
| Figur 6: Totalt polyfenolinnhold i butare for ubehandlet råstoff og råstoff ved ulike blansjeringsbetingelser.....               | 32 |
| Figur 7: AO-kapasitet (EC <sub>50</sub> ) i butare kvantifisert for ublansjert råstoff og ved ulike blansjeringsbetingelser..... | 34 |
| Figur 8: Rå butare med brun farge og blansjert butare med grønn farge.....   | 35 |
| Figur 9: Ferdigproduserte lakseburgere tilsatt ulike konsentrasjoner av butare.....  | 38 |
| Figur 10: Utvikling av totalt psykotroft kimtall (L & H) for lakseburger tilsatt ulike konsentrasjoner butare.....               | 39 |
| Figur 11: Bildeillustrasjoner viser oppvekst av tilfeldige, ikke-distinkte kolonier på L & H-agar og pseudomonas CFC-agar.....   | 40 |
| Figur 12: Utvikling av <i>Pseudomonas spp.</i> i lakseburger tilsatt ulike konsentrasjoner av butare.....                        | 41 |
| Figur 13: Utvikling av melkesyrebakterier for lakseburgere tilsatt ulike konsentrasjoner av butare.....                          | 42 |

## Tabelliste

|   |    |
|---|----|
| Tabell 1: Litteraturoversikt for kjemisk sammensetning i brun-, rød-, og grønnalger.....  | 5  |
| Tabell 2: Litteraturoversikt for jodinnhold i butare.....   | 9  |
| Tabell 3: Litteraturoversikt for kvantifisering av TPC og AO-kapasitet i butare.....  | 13 |
| Tabell 4: Litteraturoversikt for % reduksjon i enzymaktivitet i grønnsaker ved blansjering...   | 15 |
| Tabell 5: Litteraturoversikt over % reduksjon av TPC og AO-kapasitet i brunalger og grønnsaker ved blansjering.....                         | 16 |
| Tabell 6: Fargereaksjon, forklaring og skalering av enzymaktivitet ved peroksidasetest.....   | 27 |
| Tabell 7: Oversikt for type medium benyttet ved undersøkelse av bakterievekst, inkubasjonstid og -temperatur samt bakteriell deteksjon..... | 30 |
| Tabell 8: Katalase- og peroksidasetest utført på ublansjert og blansjert butare ved ulike blansjeringsbetingelser.....                      | 35 |
| Tabell 9: Litteraturoversikt for makroalgers antimikrobielle effekt ved MIC-metode i korrelasjon med estimert algekonsentrasjon.....        | 36 |
| Tabell 10: Bestemmelse av konsentrasjon butare i lakseburger.....   | 37 |
| Tabell 11: Vekstparametere for totalt psykotroft kimtall estimert fra <i>Baranyi &amp; Roberts-modell</i> .....                             | 39 |
| Tabell 12: % vanntap i butare ved dehydrering i form av frysetørking.....   | 42 |

..

## Forkortelser

|                  |   |
|------------------|---|
| AH               | Antioksidant  |
| AI               | Anbefalt inntak   |
| AO-kapasitet     | Antioksidativ kapasitet                                 |
| DPPH             | 2,2,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl                         |
| EC <sub>50</sub> | Effektiv konsentrasjon                                  |
| FAO              | Food and Agriculture Organization of the United Nations |
| GAE              | Gallic acid equivalents                                 |
| GLM              | General linear model                                    |
| HBK              | Høy butarekonsentrasjon                                 |
| IDD              | Jodmangelforstyrrelser                                  |
| Kde              | Kolonidannende enheter                                  |
| LBK              | Lav butarekonsentrasjon                                 |
| MAP              | Modified Atmosphere Packaging                           |
| MBK              | Middel butarekonsentrasjon                              |
| NG               | Nedre grenseverdi                                       |
| NNR              | Nordic Nutrition Recommendations                        |
| PGE              | Propyl gallate equivalents                              |
| PUFA             | Flerumettede fettsyrer                                  |
| RSC              | Radical scavenging capacity                             |
| SD               | Standardfeil  |
| SE               | Standardavvik   |
| TPC              | Totalt polyfenolinnhold                                 |
| TMAO             | Trimetylaminoksid                                       |
| TMA              | Trimetylamin  |
| WHO              | World Health Organization                               |
| ØG               | Øvre grenseverdi  |

# 1. Introduksjon

I følge FNs bærekraftsmål må klimaendringer reduseres innen 2030, blant annet ved en mer bærekraftig matproduksjon og forbruk (Regjeringen, 2019; FN, 2017). En bærekraftig matproduksjon kan eksempelvis gjennomføres ved å ta i bruk nye ressurser som næringskilde, men også som funksjonell matingrediens for å redusere matsvinn. Mye av fremtidens matforsyning er spådd til å stamme fra havet (Bruhn *et al.*, 2016), da havet står for 50 % av den totale biomasseproduksjonen. Likevel er det bare ca. 2 % av denne biomassen som i dag benyttes til mat (Skjermo *et al.*, 2014). Norge har en lang kystlinje med store potensialer og har Europas største bestander av marine makroalger. Marine makroalger er både bærekraftig og fremtidsrettet, og er spådd til å ha et stort potensial for utvikling av nye og bærekraftige produkter (Kjørsvik, 2017). Sammenlignet med de fleste landplanter har marine makroalger en høyere produktivitet og krever blant annet ikke landareal og ferskvann ved produksjon (Bruhn *et al.*, 2016; Gao og McKinley, 1994). Makroalger, spesielt brunalger, er rapportert til å inneholde lave nivåer av lipider, høye konsentrasjoner av polysakkarider, vitaminer og mineraler samt høye nivåer av bioaktive komponenter, og blir derfor ansett som en god næringskilde (Gupta og Abu-Ghannam, 2011). Samtidig må de økonomiske aspektene ved algeproduksjon tas i betraktning og det er derfor viktig med varierte applikasjoner for at storskalaproduksjon skal være gunstig (Skjermo *et al.*, 2014). Ulike applikasjoner av marine makroalger innen næringsindustrien kan eksempelvis være kosttilskudd og salterstattere (Roohinejad *et al.*, 2017), men kan også være et naturlig alternativ til konvensjonelle konserveringsmidler, grunnet høye nivåer av bioaktive komponenter.

Forbrukere har uttrykt et ønske om naturlige konserveringsmidler i mat og sunne næringskilder, samtidig som kommersielt tilberedte matprodukter har blitt en økende trend (Delaquis *et al.*, 2002). Det var derfor av interesse å undersøke om marine makroalger kunne utnyttes som et middel for å stabilisere rå lakseburger, og dermed bidra til en mer bærekraftig matproduksjon.

Oppgaven ble utført i dialog med Seaweed Energy Solutions AS.

## 2. Mål for oppgaven

### Opprinnelig mål for oppgave:

Hovedmål: Undersøke om tilsats av blansjert butare kan øke lagringsstabilitet i rå lakseburger.

1. Delmål: Finne optimal blansjeringsbetingelse (i form av temperatur- og tid-kombinasjon) for butare, basert på algens innhold av polyfenoler og antioksidative egenskaper.
2. Delmål: Beregne optimal butarekonsentrasjon i rå lakseburger, basert på jodkonsentrasjoner i butare samt algens polyfenolinnhold, antioksidative egenskaper og antimikrobiell effekt.
3. Delmål: Undersøke mikrobiell lagringsstabilitet i rå lakseburger tilsatt pulverisert butare i ulike konsentrasjoner.
4. Delmål: Undersøke de fysiokjemiske egenskapene harskning-, farge- og teksturegenskaper i rå lakseburger tilsatt pulverisert butare i ulike konsentrasjoner.

Grunnet COVID-19 situasjonen som oppstod under utforming av denne masteroppgaven var det ikke mulig å gjennomføre alle opprinnelig planlagte delmål. For å nå delmål 2 skulle mengde butare i rå lakseburger, baseres på jodkonsentrasjon funnet i butare gjennom analyse, samt en agar disc-diffusion metode for å evaluere hvilke konsentrasjoner av butare som ga antimikrobiell effekt. For delmål 3 skulle polyfenol- og saltinnhold måles i rå lakseburger tilsatt ulike konsentrasjoner av pulverisert butare. For delmål 4 skulle det opprinnelig undersøkes om tilsats av pulverisert butare i rå lakseburger ga en antioksidativ effekt rettet mot lipidoksidasjon, over en lagringsperiode på 21 dager. I tillegg skulle fettinnhold samt farge- og teksturendringer under lagringsperioden undersøkes.

**Basert på dette ble oppgavens mål reformulert:**

Hovedmål: Undersøke om tilsats av blansjert butare kan øke lagringsstabilitet i rå lakseburger.

1. Delmål: Finne optimal blansjeringsbetingelse (i form av temperatur- og tid-kombinasjon) for butare, basert på algens innhold av polyfenoler, antioksidative egenskaper.
2. Delmål: Undersøke mikrobiell lagringsstabilitet i rå lakseburger tilsatt pulverisert butare i ulike konsentrasjoner, som beregnes ut ifra jodinnhold og antimikrobiell effekt i butare, funnet gjennom litteraturstudie.
3. Delmål: Sammenligne kjemisk sammensetning av butare med andre marine makroalger, gjennom litteraturstudie.

Kvalitet i denne oppgaven er definert som mikrobiologisk og kjemisk.

### **3. Teoretisk bakgrunn**

#### **3.1 Makroalger**

Makroalger er et samlebegrep for en heterogen gruppe av planter som vokser i havet og elver, så lenge de er i stand til å utføre fotosyntese ved lyseksponering (Gamal, 2011; Hurd *et al.*, 2014). Algene inneholder klorofyll, men i motsetning til landplanter har ikke makroalger røtter, blader eller et vaskulært system. De tar opp næringsstoff gjennom osmose (Gupta og Abu-Ghannam, 2011). Det finnes ulike typer makroalger, kategorisert ved kjemisk sammensetning, pigmentering, celleveggoppbygging og deres reproduktive egenskaper (Gamal, 2011). Algene deles inn i grønnalge (*Chlorophyta*), brunalge (*Phaeophyta*) og rødalge (*Rhodophyta*) (Hurd *et al.*, 2014).

Makroalger er en gunstig ressurs for mange marine arter, men også for menneskelig konsum. Japan er et land som konsumerer makroalger i store mengder og har benyttet seg av råstoffet i over tusen år (Mæhre *et al.*, 2014). Japan er også den tredje største makroalgeprodusenten i verden, grunnet stor produksjon av den høyverdige nori-algen. Land i Øst- og Sørøst Asia dominerer den globale makroalgeproduksjonen, hvor Kina produserer mest (Nayar og Bott, 2014). Utnyttelsen av makroalger til mat, fôr og gjødsel var vanlig i Norge-Europa mellom 900-1700 tallet, men ble et mindre populært råstoff etter industrialiseringen, grunnet bedre levekår (Mæhre *et al.*, 2014). I 2014 ble det i Norge høstet ca. 200 000 tonn vill makroalge og utnyttelsen av algene i næringsmiddelindustrien er begrenset til tykningsmidler som alginat, agar og karragenan, alle ekstrahert fra brunalger (Hannssen, 2016; Mæhre *et al.*, 2014). Likevel har Norge en lang kystlinje og potensialet for dyrking er stort. Klimaforholdene er viktig for vekst og nærings sammensetning av algen og dette vil derfor være med på å bestemme de potensielle områdene hvor algene kan utnyttes, innen næringsmiddelindustrien. Marine makroalger er også en av de rikeste kildene til antioksidanter og antimikrobiell effekt og har av den grunn et stort potensial som en næringskilde i det norske kostholdet (Roohinejad *et al.*, 2017; Gupta og Abu-Ghannam, 2011; Mæhre *et al.*, 2014).

#### **3.2 Kjemisk sammensetning av makroalger**

I et forsøk på å inkorporere makroalger i det norske kostholdet er det en forutsetning å ta hensyn til den kjemiske sammensetningen. Det er verdt å nevne at sammensetningen i makroalger ikke er konstant og vil variere med årstid, geografiske forhold, vanntemperatur, tilgjengelighet på lysmengde og -intensitet samt med individuelle forskjeller innad i samme art (Rajauria *et al.*, 2015; Mæhre *et al.*, 2014; Ingergaard, 2010). Butare (*Alaria esculenta*) er en brunalge som tilhører familien Alariaceae og karakteriseres av sine brun/gule farge. Algen vokser vanligvis i



kalde omgivelser, som er typisk for de fleste brunalger, og er en av de raskest voksende blant brunalger (Kraan, Tramullas og Guiry, 2000). Butare består hovedsakelig av vann, til forskjell fra landplanter, som har et innhold på 20-40 % (Ingergaard, 2010). Makroalger er også rapportert til å være rik på polysakkarider, proteiner, vitaminer og andre spormetaller (Kraan, Tramullas og Guiry, 2000; Skjermo *et al.*, 2014). For å få en bedre forståelse av butarens kjemiske sammensetning, sammenlignet med andre brunalger (*Saccharina latissima* (*S. latissima*), *Laminaria digitata* (*L. digitata*), *Laminaria hyperborea* (*L. hyperborea*)), grønnalger (*Ulva spp.* og *Ulva lactuca* (*U. lactuca*)) og rødalger (*Palmaria palmata* (*P. palmata*), *Porphyra tenera* (*P. tenera*)), er en oversikt av innhentet litteratur samlet i tabell 1.

**Tabell 1:** Litteraturoversikt over kjemisk sammensetning i brunalger (butare, *S. latissima*, *L. digitata*, *L. hyperborea*), grønnalger (*Ulva spp.* og *U. lactuca*) og rødalger (*P. palmata* og *P. tenera*). Verdier er uttrykt i % tørrvekt, foruten vanninnhold som er uttrykt i % våtvekt.

| Referanse   | Makroalge            | Vann  | Protein | Lipid | Karbohydrat | Aske  |
|---|----------------------|-------|---------|-------|-------------|-------|
| (Ingergaard, 2010)  | Butare               | 73-86 | 9-18    | -     | -           | 14-32 |
|   | Butare               | 85,5  | 11,0    | -     | 72,1        | 25,3  |
|   | <i>S. latissima</i>  | 84,9  | 7,1     | -     | 63,1        | 31,7  |
| (Schiener <i>et al.</i> , 2015)                                   | <i>L. hyperborea</i> | 87,2  | 6,8     | -     | 65,5        | 32,0  |
|   | <i>L. digitata</i>   | 84,5  | 6,9     | -     | 70,7        | 31,6  |
|   | Butare               | -     | 10,5    | -     | 40,7        | 24,2  |
| (Stévant <i>et al.</i> , 2017)                                    | <i>S. latissima</i>  | -     | 10,6    | -     | 46,1        | 26,2  |
|   | Butare               | 82,6  | 9,1     | 1,3   | -           | 24,5  |
|   | <i>L. hyperborea</i> | 83,3  | 5,3     | 1,5   | -           | 28,7  |
|   | <i>L. digitata</i>   | 83,9  | 5,0     | 1,1   | -           | 24,4  |
| (Mæhre <i>et al.</i> , 2014)                                      | <i>P. palmata</i>    | 82,0  | 12,3    | 1,3   | -           | 42,2  |
|   | <i>U. lactuca</i>    | 85,4  | 8,7     | 2,6   | -           | 29,3  |
| (Morgan, Wright og Simpson, 1980)                                 | <i>P. palmata</i>    | -     | 8-35    | -     | -           | -     |
| (Holdt og Kraan, 2011)  | <i>P. tenera</i>     | -     | 30-50   | -     | -           | -     |
| (Marsham, Scott og Tobin, 2007; Plaza, Cifuentes og Ibanez, 2008) | <i>Ulva spp.</i>     | -     | 24-44   | -     | -           | -     |

Proteiner er et essensielt næringsstoff for vekst og utvikling i mennesker, og er derfor viktig når det kommer til helsefordeler i matprodukter (Mæhre *et al.*, 2014). Som nevnt tidligere vil kjemisk sammensetning variere, og ut ifra tabell 1 kan det se ut til at det er store forskjeller i proteinnivå for de ulike makroalgene. Marine makroalger er ansett som en alternativ kilde til

proteiner, men samtidig er det få av disse algene som kan nå like høye proteinnivåer som proteinrik mat (eksempelvis bønner) (Fleurence, 1999). Brunalger er rapportert til å ha lavere nivåer av protein sammenlignet med grønn- og rødalger, som vist av Morgan, Wright og Simpson (1980), Holdt og Kraan (2011), Marsham, Scott og Tobin (2007) og Plaza, Cifuentes og Ibanez (2008). Til tross for lavere proteinnivå blir likevel butare, sammen med *S. latissima*, ansett til å kunne ha gode kultiveringsmuligheter, grunnet høy biomasseproduksjon (Skjermo *et al.*, 2014). Lipider er en annen viktig komponent for mennesker og er en god kilde til energi samt essensielle syrer og fettløselige komponenter (som vitaminer og karotenoider) (Narayan, Miyashita og Hosakawa, 2006). Lipidinnholdet i makroalger er lavt sammenlignet med andre marine organismer og representerer opp mot 4,5 % av algene (tørrvekt) (Holdt og Kraan, 2011). Videre blir det vist i tabell 1 at lipidinnholdet i butare er lavere enn for grønn- og rødalger, likevel kan marine makroalger akkumulere flerumettede fettsyrer (PUFA) ved lavere omgivelsestemperaturer (Narayan, Miyashita og Hosakawa, 2006). Marine organismer som lever i kaldere farvann inneholder generelt høyere nivåer av PUFA og høyere lipidinnhold for butare og *Saccharina*-arter, har blitt funnet om vinteren. Basert på akkumulering av PUFA i kaldere farvann kan makroalger (spesielt grønn- og rødalger) ansees som en viktig ernæringskilde (Holdt og Kraan, 2011). Totalt karbohydratnivå ble bare funnet for brunalger og viser til små forskjeller mellom brunalgene (tabell 1). Karbohydratnivået i tabell 1 varierer fordi total mengde karbohydrat har blitt beregnet ut ifra ulike karbohydratkomponenter (Schiener *et al.*, 2015; Stévant *et al.*, 2017). Fra et ernæringsperspektiv er brune makroalger lave i kalorier, men karbohydratinnholdet er derimot høyt (Holdt og Kraan, 2011; Schiener *et al.*, 2015). Karbohydrat i makroalger består av kostfiber og tas ikke opp i kroppen, men kan likevel være med på å produsere et godt miljø i tarmen (Mouritsen O, 2009).

Askeinnholdet gir et omtrentlig anslag av mengde tungmetaller samt makro- og mikromineraler og på grunn av makroalgers omgivelser, har de evnen til å absorbere store mengder mineraler. Mengden askeinnhold i butare (ca. 24 %) er omtrentlig den samme for de andre makroalgene, foruten *P. palmata* med et høyere innhold (42,2 %), rapportert av Mæhre *et al.* (2014) (tabell 1). Askeinnholdet i de fleste landbaserte grønnsaker er vanligvis lavere enn for makroalger og mange av mineralene funnet i algene er essensielle for helsen, men flere av disse kan medføre negative helsekonsekvenser (Schiener *et al.*, 2015). Marine makroalger har evnen til å ta opp, lagre og akkumulere tungmetaller som for eksempel arsen, kadmium og kvikksølv, noe som kan ha negative virkninger på helsen (Mæhre *et al.*, 2014). Ifølge EUs matlovgivning (kommisjonsforordningen (EF) nr.1881/2006) er maksimumsgrenser for kadmium og

kvikksølv i kosttilskudd, som også er gjeldende for makroalger, henholdsvis 3,0 og 0,1 mg/kg våtvekt (Duinker *et al.*, 2016). Det er foreløpig ingen maksimumsgrense satt for arsen i kosttilskudd i Norge, men ifølge Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) og World Health Organization (WHO) er det satt en inntaksgrense på 15 µg/kg kroppsvekt/uke (WHO, 2011). Flere studier har undersøkt mengde tungmetaller i marine makroalger (Mæhre *et al.*, 2014; Holdt og Kraan, 2011). Mengden arsen og spesielt kadmium i butare er rapportert til å være noe høyt i forhold til andre brunalger, med ett innhold på henholdsvis 48 og 3,4 mg/kg tørrvekt. Butare er beskrevet til å akkumulere ti ganger mer kadmium, sammenlignet med *S. latissima* (Stévant *et al.*, 2018; Mæhre *et al.*, 2014). Innhold av kvikksølv ligger på <0,005 mg/kg tørrvekt for butare (Mæhre *et al.*, 2014). Brunalger er rapportert til og generelt sett ha et høyere innhold av arsen, kadmium og kvikksølv, sammenlignet for grønn- og rødalger (Holdt og Kraan, 2011; Mæhre *et al.*, 2014)

Mineraler er naturlig forekommende uorganiske stoffer som finnes i ulike mengder og strukturer. Mineralenes funksjon i kroppen varierer og noen av disse er assosiert med ulike mangelsykdommer (Boy *et al.*, 2009). Anbefalt inntak varierer fra noen få µg/dag til over 1 g/dag (Mæhre *et al.*, 2014). Det skilles mellom makro- og mikromineraler, hvor makromineraler består av blant annet natrium, kalsium, magnesium og fosfor (Annongu *et al.*, 2012). Marine makroalger er rike på makromineraler og har et spesielt høyt innhold av salter (Magnusson *et al.*, 2016). Butare, *S. latissima* og *P. palmata* er rapportert til å ha et natriuminnhold på henholdsvis 36, 39 og 26 mg/g tørrvekt (Stévant, 2019). Kosthold med høye nivåer av natrium (høy Na/K- forhold) er et helseproblem da det kan føre til blant annet høyt blodtrykk (Magnusson *et al.*, 2016). Likevel består makroalger ofte av lave Na/K-forhold og marine alger er derfor ansett som mulige salterstattere i mat (Stévant, 2019). Mikromineralene består av kobber, jern, jod, mangan, selen og sink (Annongu *et al.*, 2012). Blant disse mikromineralene er det selen og jod som skiller seg ut når det gjelder mangelsykdommer. Ifølge Nordic Nutrition Recommendations (NNR) er anbefalt inntak av selen for kvinner er 50 µg/dag og 60 µg/dag for menn (NNR, 2014). Selennivået i butare ligger på 0,041 mg/kg tørrvekt (Mæhre *et al.*, 2014). Jodinnhold i makroalger behandles spesielt i kapittel 3.2.1 på bakgrunn av de høye nivåene som er rapportert.

Videre er makroalger rike på naturlige antioksidanter, som for eksempel polyfenoler, hvor nivåene av disse kan nå opptil 25 % tørrvekt i brunalger (Magnusson *et al.*, 2017). Polyfenolinnhold og dens antioksidative samt antimikrobielle egenskaper vil diskuteres i kapittel 3.3.

### 3.2.1 Jodinnhold i makroalger

Jod (I) er et sporelement som er essensiell for menneskets helse og metabolisme og er nødvendig for syntese av skjoldbruskkjertelens hormoner (Zimmermann, 2011; Roleda *et al.*, 2018). Jod dannes ikke i kroppen, og må derfor inntas gjennom matprodukter som er naturlig rikt på jod eller er tilsatt i form av jodberiket salt. Jod finnes hovedsakelig i sjømat (fisk, makroalger og skalldyr), men også i meieriprodukter (Fuge og Johnson, 2015).

Et jodfattig kosthold kan føre til en rekke ulike helsekonsekvenser, som samlet betegnes som jodmangelforstyrrelser (IDD). (Fuge og Johnson, 2015). Jodmangel har vært et globalt helseproblem, men innføring av jodberiket salt i husholdninger har redusert risikoen for utvikling av IDD (Zimmermann, 2011). På den andre siden kan et inntak av jod ved høye nivåer også ha sine negative effekter på helsen. Et høyt inntak av jod kan føre til forstyrrelser i skjoldbruskkjertelen og rammer oftest spesifikke risikogrupper, som for eksempel eldre, fostre og personer som allerede har problemer med skjoldbruskkjertelen (Roleda *et al.*, 2018). På grunnlag av helseproblemer relatert til både utilstrekkelig og overdrevent inntak av jod, er det satt anbefalte grenseverdier for jodinntak (Duinker *et al.*, 2016). De anbefalte grenseverdiene er avhengig av alder, kjønn og helsestatus. Nedre grenseverdi (NG) (70 µg I/ dag), anbefalt inntak (AI) (150 µg I/ dag) og øvre grenseverdi (ØG) (600 µg I/ dag) er beskrevet av NNR for en voksen, frisk person (som ikke er gravid eller ammende). (NNR, 2014).

Makroalger, spesielt brunalger, akkumulerer jod ved å absorbere jodid fra sjøvann og kan derfor være en potensiell kilde til jod for menneskelig konsum (Roleda *et al.*, 2018). Likevel har mengden jod som akkumuleres i makroalger blitt identifisert som en av risikofaktorene for å overskride ØG, og bør derfor konsumeres i små mengder for å unngå helserisiko (Mæhre *et al.*, 2014). Ulike prosesseringsmetoder, som for eksempel vaske-, tørke- og varmebehandlinger kan derimot redusere jodinnhold (Nitschke og Stengel, 2016). Blant brunalgene er det rapportert et lavere jodinnhold for butare enn andre brunalger (Roleda *et al.*, 2018; Bak, 2019). Blant brunalgene har *L. digitata*, *L. hyperborea* og *S. latissima* jodnivåer på henholdsvis 3100-5204, 3500-10239 og 4855- 6568 mg /kg tørrvekt (Schiener *et al.*, 2015; Stévant *et al.*, 2018). Sammenlignet med brunalger har rød- og grønnalger et mye lavere jodnivå (Holdt og Kraan, 2011), hvor *P. Palmata* har verdier på 10-260 mg I/kg og *Ulva. spp* verdier på 2-24 mg I/kg (Mabeau og Fleurence, 1993; Mæhre *et al.*, 2014). En litteraturoversikt over jodinnhold i butare er vist i tabell 2 og viser til at butare er et bedre alternativ for konsum blant brunalger, når det gjelder jodinnhold og risikoen tilknyttet sporelementet.

**Tabell 2:** Litteraturoversikt for jodinnhold (mg I/kg tørrvekt) i butare

| <b>Referanse</b>                  | <b>Land</b> | <b>Høstemåned</b> | <b>mg I/kg butare tørrvekt</b> |
|-----------------------------------|-------------|-------------------|--------------------------------|
| (Roleda <i>et al.</i> , 2018)     | Norge       | April/mai         | 530                            |
|                                   |             | Juni/august       | 593                            |
| (Maehre <i>et al.</i> , 2014)     | Norge       | Mai/juni          | 220                            |
|                                   |             | September/oktober | 288                            |
| (Biancarosa <i>et al.</i> , 2018) | Norge       | Oktober           | 380                            |
| (Bak, 2019)                       | Færøyene    | Juni/juli         | 317                            |
| (SES, 2016)                       | Norge       | Ikke oppgitt      | 459                            |
| (Schiener <i>et al.</i> , 2015)   | Skottland   | Mars              | 398                            |
|                                   |             | Mai               | 809                            |
|                                   |             | Juli              | 1,238                          |
| (Stévant <i>et al.</i> , 2018)    | Frankrike   | May               | 213                            |
| (Nitschke og Stengel, 2016)       | Irland      | August            | 670                            |

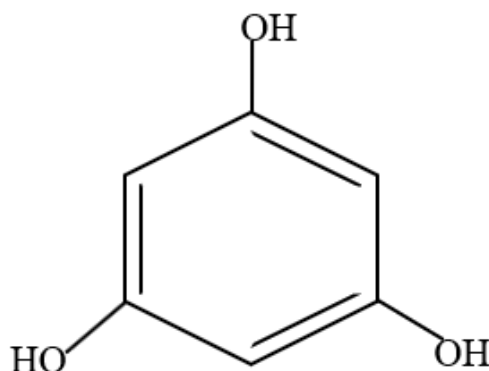
Som tabell 2 viser, varierer jodinnholdet i butare en god del og som tidligere nevnt kan forskjellene komme fra blant annet sesongvariasjoner og geografisk beliggenhet (Roleda *et al.*, 2018). På grunn av dette er det vanskelig å anslå nøyaktig mengde butare som er trygt å konsumere, likevel er foreslått et trygt inntak på 12-35 g butare tørrvekt/dag. (Bak, 2019). Denne inntaksgrensen er basert på sesongvariasjon av jod, akseptable, øvre grenseverdier av jodinntak og en biotilgjengelighet på 17 % (Romarís–Hortas *et al.*, 2011; Bak, 2019). Biotilgjengelighet er definert som et stoffs evne til å nå sitt målorgan (Nasjonalt råd for ernæring, U.Å). Combet *et al.* (2014) rapporterte en biotilgjengelighet på 33 %, mens (Dominguez-Gonzalez *et al.*, 2017) oppga 30 %.

### 3.3 Bioaktive komponenter i makroalger

Makroalger er eksponert for ugunstige miljøforhold i det marine økosystemet, som UV-stråling, omgivende mikroorganismer, stress og høye oksygenkonsentrasjoner (Gupta og Abu-Ghannam, 2011). Eksponering til de overnevnte faktorene kan medføre dannelse av frie radikaler og andre sterke oksidasjonsmidler, men det ser i midlertidig ut til at de ikke har blitt påført fotodynamisk skade *in vivo* (Gupta og Abu-Ghannam, 2011; Hu *et al.*, 2012). Årsaken kan være at makroalger er rike på unike bioaktive komponenter, som vil fungere som kjemisk forsvarsmekanisme (Hu *et al.*, 2012). Disse komponentene har et bredt spekter av biologiske aktiviteter som ikke er funnet i andre organismer. (Gupta og Abu-Ghannam, 2011; Plaza, Cifuentes og Ibanez, 2008). De bioaktive komponentene inkluderer blant annet polyfenoler, pigmenter, proteiner og polysakkarider (Domínguez, 2013). Polyfenoler og pigmenter, spesielt, er rapportert til å ha antioksidative og antimikrobielle egenskaper i brunalger (Lee *et al.*, 2016; Ruocco *et al.*, 2016; Gupta og Abu-Ghannam, 2011; Hu *et al.*, 2012). Xantofyll-pigmentet fucoxanthin, som er ansvarlig for den brune fargen i brunalger, har eksempelvis vist antioksidative egenskaper (Roohinejad *et al.*, 2017).

#### 3.3.1 Florotanniner

Florotanniner, en gruppe polyfenoliske komponenter, er tanninderivater som er sammensatt av floroglucinol-enheter (1,3,5-trihydroksybenzen) (figur 1) og blir syntetisert via acetat-malonat veien (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009). Basert på bindingene mellom floroglucinol-enheter er de gruppert etter fire undergrupper; fucoler (fenybinding), fuhaloler og floretholer (eterbinding), fucofloroetholer (eter og fenyl binding) og eckoler (dibenzodioxinbinding) (Magnusson *et al.*, 2017).



**Figur 1:** Kjemisk struktur til floroglucinol (1,3,5-trihydroksybenzen) (Li *et al.*, 2011).

Florotanniner i brunalger akkumulerer i de vegetative cellene, i alle type vev og organ (Imbs og Zvyagintseva, 2018). Deres primære- og sekundære funksjon er henholdsvis oppbygging av celleveggen og fungerende forsvarskomponenter (Magnusson *et al.*, 2017). Konsentrasjonen av florotanniner i brunalger har geografiske variasjoner, men brunalger lokalisert i Atlanterhavet er rapportert til å ha høye konsentrasjoner av komponentene (Targett og Arnold, 1998; Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009).

### **3.3.1.1 Florotanniner sin antioksidative kapasitet**

Florotanniner er rapportert til å ha antiallergiske-, antiinflammatoriske-, antioksidative- og antimikrobielle egenskaper (Noreen *et al.*, 2017). Den multifunksjonelle antioksidantaktiviteten til florotanniner er høyt relatert til fenolringer som vil operere som elektronfangere som nøytraliserer peroksy- og superoksidanioner samt hydroksylradikaler. Florotanniner har opptil åtte sammenkoblede fenolringer. De er derfor bedre til å nøytralisere frie radikaler enn landplanter, som bare har tre til fire fenolringer (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009). Den meste interessante egenskapen når det kommer til næringsmiddelindustrien, vil være den antioksidative og antimikrobielle aktiviteten, som har evnen til å redusere og nøytralisere frie radikaler (Noreen *et al.*, 2017). Naturlige antioksidanter med et multifunksjonelt potensial er av høy interesse som et alternativ til syntetiske antioksidanter, som forhindrer oksidasjon i matprodukter (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009).

### **3.3.1.2 Florotanniner sin antimikrobielle aktivitet.**

Marine florotanniner har vist en bedre antimikrobiell aktivitet, sammenlignet med landplanter (Gupta og Abu-Ghannam, 2011; Wang *et al.*, 2009). Mekanismene bak den antimikrobielle aktiviteten til florotanniner er lite kjent, men kan komme av interaksjon med bakterienes proteiner og enzymer og ifølge Nagayama *et al.* (2002) har den antimikrobielle effekten en tendens til å øke med polymeriseringen av floroglucinol (Schultz, Hunter og Appel, 1992). Det er få som har studert den antimikrobielle effekten i butare, men studier har blitt utført på andre brunalger og disse viste en antimikrobiell effekt mot ulike typer bakterier. (Gupta, Rajauria og Abu-Ghannam, 2010) viste opp mot 100 % inhibering av *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) ved å eksponere bakterien for ekstrakt av rå *Himanthalia elongata* (*H. elongata*) samt 98 og 93 % inhibering av *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ved benyttelse av *Laminaria saccharina* (*L. saccharina*). Alghazeer *et al.* (2013) undersøkte antimikrobiell aktivitet i åtte brunalgeekstrakter høstet fra den vestlige kysten av Libya og fant effekt mot de gram-positive bakteriene; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* og *Bacillus spp.* samt gram-negative bakterier; *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella typhi* (*S. typhi*) og *P. aeruginosa*.

### 3.3.2 Polyfenolinnhold i makroalger og kvantifiseringsmetoder

Totalt polyfenolinnhold (TPC) varierer i rød-, grønn- og brunalger, men det er også funnet forskjeller innad i artene (Mabeau og Fleurence, 1993; Schiener *et al.*, 2015). I følge Mabeau og Fleurence (1993) har rød- og grønnalger et lavere innhold av polyfenoler, sammenlignet med brunalger. For grønnalger har det blitt rapportert et innhold på >4 og 0,9 % for henholdsvis *Ulva spp.* og *Porphyra spp.* (Rupérez og Saura-Calixto, 2001; Wong, K., H og Cheung, P., C, K, 2001), mens Rupérez og Saura-Calixto (2001) samt Ganesan, Kumar og Bhaskar (2008) fant grønnalgene *Chondrus crispus* og *Gracilaria* til å ha et innhold på henholdsvis >4 og 1,6 %. Brunalgene *Fucus* (8-3 %) og *Ascophyllum* (4-13 %) er rapportert til å ha det høyeste nivået av polyfenoler blant marine makroalger, men også blant brunalger (Pavia og Åberg, 1996; Ragan og Jensen, 1978). Videre har brunalgene *L. digitata* (0,15 %) og *L. hyperborea* (0,15 %) (Schiener *et al.*, 2015) vist til å ha lavere polyfenolnivå enn for *S. latissima* (0,46-0,44 %) (Stévant *et al.*, 2018) og for butare (tabell 3). Schiener *et al.* (2015) studerte sesongvariasjoner i kjemisk sammensetning av brunalger og fant at polyfenolinnholdet var høyest i mai/juli for brunalgene butare, *L. digitata*, *L. hyperborea* og *S. latissima*, mens innholdet var lavest for butare og *S. latissima* i mars. Roleda *et al.* (2019) viste derimot at innholdet var høyere om vintermånedene for butare og *S. latissima*, men at nivåene ikke var varierte med geografisk lokasjon (Trondheim, Bodø og Frankrike). Roleda *et al.* (2019) og Schiener *et al.* (2015) sine motstridende resultater viser til at det kan være andre faktorer enn sesongvariasjoner som kan påvirke mengde polyfenoler i de ulike artene.

Tabell 3 gir en litteraturoversikt over kvantifisert TPC funnet for butare, men også antioksidativ kapasitet (AO-kapasitet). Det påpekes at ekstraksjonsmetode og -middel vil variere for de oppnevnte referansene (tabell 3).



**Tabell 3:** Litteraturoversikt for kvantifisering av TPC og AO-kapasitet i butare ved henholdsvis kolometrisk metode med Folin-Ciocalteu reagens og DPPH-assay. Mengde TPC er uttrykt i g PGE/100 g ekstrakt tørrvekt (\*) og g GAE/100 g ekstrakt tørrvekt. AO-kapasitet er uttrykt i EC<sub>50</sub>-verdi.

| Komponent           | Mengde komponent | Analysemetode    | Ekstraksjons-middel                      | Referanse                               |
|---------------------|------------------|------------------|--|---|
| <b>TPC</b>          | 4,00*            | Folin- Ciocalteu | Aceton: vann (70:30)                     | (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009) |
|                     | 0,37*            | Folin- Ciocalteu | Aceton: vann (80:20)                     | (Roleda <i>et al.</i> , 2019)           |
|                     | 3,43*            | Folin-Ciocalteu  | Aceton/vann (80:20)                      | (Stévant <i>et al.</i> , 2018)          |
|                     | 1,17             | Folin- Ciocalteu | Aceton: vann: HCl (80:19:1)              | (Tibbetts, Milley og Lall, 2016)        |
|                     | 1,50             | Folin-Ciocalteu  | Etanol: vann (50:50)                     | (Kopperud, 2018)                        |
|                     | 2,00             | Folin-Ciocalteu  | Metanol: vann (60:40)                    | (Skadal, 2018)                          |
|                     | 0,87             | Folin-Ciocalteu  | Acetonitril:vann: maursyre (50:49,8:0,2) | (Schiener <i>et al.</i> , 2015)         |
| <b>AO-kapasitet</b> | 0,1              | DPPH (RSC)-assay | Aceton: vann (70:30)                     | (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009) |
|                     | 4,7              | DPPH (RSC)-assay | Etanol: vann (50:50)                     | (Kopperud, 2018)                        |
|                     | 6,4              | DPPH (RSC)-assay | Diklormetan: metanol (50:50)             | (Zubia <i>et al.</i> , 2009)            |

Folin-Ciocalteu metoden blir mye brukt ved kvantifisering av TPC i mat- og planteekstrakter (tabell 3) og er en kolometrisk metode. Metoden er en elektronoverføringsmetode og baserer seg på dannelsen av et blått kompleks ((PMoW<sub>11</sub>O<sub>4</sub>)<sup>4-</sup>) i alkalisk miljø, ved tilstedeværelse av reduksjonskomponenter som vil redusere molybden og wolfram i Folin-Ciocalteu reagenset. Fargeintensiteten av reaksjonen er lineært korrelert med mengde reduksjonsmidler i mat og drikke (Margraf *et al.*, 2015) og reduksjonsmidlene kan blant annet være polyfenoler, sukre (fruktose og sukrose), askorbinsyre og noen aminosyrer (Margraf *et al.*, 2015; Everette *et al.*, 2010). Metoden er rask og enkel, men har noen ulemper. Da det benyttes spektrofotometrisk målemetode, sammen med Folin-Ciocalteu reagens, vil innhold av polyfenoler bare være et

estimat av TPC i prøven, da reduksjonsmidlene er til stede i nesten all mat, og vil interferere (Prior, Wu og Schaich, 2005; Margraf *et al.*, 2015). Likevel er denne metoden brukt av de fleste ved undersøkelse av TPC i mat- og drikkeprodukter (Margraf *et al.*, 2015).

Antioksidantkapasiteten (AO-kapasitet) i ulike råvarer kan analyseres ved 2,2- difenyl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity (RSC) assay. DPPH er et stabilt organisk nitrogenradikal. Metoden er blant de mest brukte, for evaluering av proton-donerende antioksidanter, som for eksempel fenoliske komponenter. DPPH-metoden har sine fordeler ved at den er enkel, sensitiv og rask (Noreen *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2008; Sharma og Bhat, 2009). Flere publikasjoner viser til stor variasjon i EC50- (effektiv konsentrasjon) og IC50- (Inhiberingskonsentrasjon) verdier, som følge av store forskjeller i fremgangsmåte. DPPH-konsentrasjon, reaksjonsmiddel og pH i standard og prøve er eksempler som kan føre til store variasjoner. Lys, oksygen og pH vil også påvirke prøveresultatene og det er dermed ikke mulig og direkte sammenligne resultater (Sharma og Bhat, 2009).

### **3.4 Blansjering av makroalger**

Blansjering er en mild varmebehandling som har til hensikt å inaktivere enzymer, endre tekstur, bevare farge, smak eller næringsinnhold, i grønnsaker og frukt (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004). Prosess i denne sammenheng defineres ifølge Holdsworth og Simpson (2016), som en temperatur-tid-kombinasjon, hvor temperatur relateres til oppvarmingsmediet og den tiden som anvendes. Blansjering blir ofte benyttet som en forbehandling før frysing, hermetisering eller tørking av et produkt. Hensikten med forbehandlingen (blansjering) er å inaktivere enzymer som kan forårsake dannelse av uønsket smak og farge samt forandringer i næringsinnholdet (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004). Blansjering vil også kunne redusere antall vegetative mikroorganismer som vokser på overflaten av produktet og dermed bidra til forbedret kvalitet i produktet (Fellows, 2017). I rå matprodukter som ikke har gjennomgått blansjering er det større sannsynlighet for mikrobiell vekst ved tining og rehydrering (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004; Fellows, 2017).

Varmt vann og damp er de mest brukte oppvarmingsmediene for blansjering og det vil videre fokuseres på blansjering med vann. Vannblansjering blir utført med varmt vann ved temperaturer rundt 70 til 100 °C. Vannblansjering kan også utføres ved lavere eller høyere temperaturer, men da med henholdsvis lengre og kortere prosesseringstid, hvor prosesseringstiden kan variere fra 1 til 15 min (Fellows, 2017). Vannblansjering vil resultere i

en mer uniform behandling av produktet, noe som muliggjør prosessering ved lavere temperaturer. Likevel må det tas i betraktning at blansjering ved lavere temperaturer, og dermed lengre prosesseringstid, kan føre til lekkasje av komponenter som for eksempel mineraler og vitaminer (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004). Graden av komponentlekkasje er avhengig av flere faktorer; temperatur-tid-kombinasjon, blansjeringsmetode, nedkjøling etter endt prosessering samt overflateområde i forhold til volum av produktet og forholdet mellom mengde vann og produkt. En fullstendig blansjering er viktig siden underblansjering kan føre til mer skade på matprodukter da underblansjering vil ødelegge vev i en slik grad at enzymer frigjøres og vil ikke inaktiveres. Nedbrytningen av produktet vil dermed akselerere (Fellows, 2017). For å undersøke om blansjeringsbetingelsene har vært tilfredsstillende kan det analyseres for aktivitet av enzymene peroksidase og katalase (Fellows, 2017). Disse er mer motstandsdyktige mot varme sammenlignet med andre enzymer (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004). Enzyminaktivering ved varmebehandling av makroalger er lite studert og dermed er litteraturoversikten, vist i tabell 4, basert på reduksjon i enzymaktivitet i ulike grønnsaker.

**Tabell 4:** Litteraturoversikt over % reduksjon i enzymaktivitet i grønnsaker (gulrot, hvitløk og grønne bønner) ved ulike blansjeringsbetingelser. Vannblansjering er utført for alle studier, foruten grønne bønner som er varmebehandlet i mikrobølgeovn ved 750 W (\*).

| Enzym              | Produkt         | Blansjeringsbetingelse | % reduksjon i enzymaktivitet | Referanse                        |
|--------------------|-----------------|------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| <b>Peroksidase</b> | Gulrot          | 70 °C i 10 min         | 60                           | (Gonçalves <i>et al.</i> , 2010) |
|                    | Gulrot          | 80 °C i 6 min          | 90                           |                                  |
|                    | Gulrot          | 90 °C i > 2 min        | 100                          |                                  |
|                    | Hvitløk         | 80 °C i 6 min          | 89                           | (Fante og Noreña, 2012)          |
|                    | Gulrot          | 90 °C i 7 min          | 100                          | (Shivhare <i>et al.</i> , 2009)  |
|                    | Grønne bønner * | 90 °C i > 150 sek      | 100                          | (Ruiz-Ojeda og Peñas, 2013)      |
| <b>Katalase</b>    | Gulrot          | > 70 °C i > 2 min      | > 90                         | (Baardseth og Slinde, 1983)      |
|                    | Gulrot          | 90 °C i 4 min          | 100                          | (Shivhare <i>et al.</i> , 2009)  |
|                    | Gulrot          | 80 °C i 5 min          | 100                          |                                  |
|                    | Grønne bønner * | 90 °C i 150 sek        | 100                          | (Ruiz-Ojeda og Peñas, 2013)      |

Lekkasje av TPC og AO-kapasitet ved blansjering har blitt undersøkt på ulike makroalger (tabell 5). Cox, Gupta og Abu-Ghannam (2012) studerte tap av TPC i brunalgen *H. elongata*, hvor algen ble forbehandlet ved dehydrering og deretter rehydrert ved økende prosesseringstid i kokende vann. Resultatene viste et tap på 83 % av TPC ved blansjering i 80 °C i 40 min (Cox, Gupta og Abu-Ghannam, 2012). Wirenfeltdt (2017) fant et signifikant tap av TPC i *S. latissima* på 44 % og 49 % ved 60 °C i henholdsvis 0,5 og 2 min. Det har også blitt funnet nedgang i TPC og AO-kapasitet ved lavere blansjeringstemperatur (40 °C-15 min), hvor tapet lå på henholdsvis 10 % og 33 % i brunalgen *Sargassum ilicifolium* (*S. ilicifolium*) (Susanto *et al.*, 2017). En bredere litteraturoversikt er vist i tabell 5 og inkluderer grønnsaker, da litteratur angående marine makroalger er få.

**Tabell 5:** Oversikt over % reduksjon av TPC og AO-kapasitet i brunalgene *S. latissima*, *H. elongata* og *S. ilicifolium* samt grønnsakene kål, kinesisk kål og blomkål ved ulike blansjeringsbetingelser (temperatur (°C)-tid (min)). Alle studiene har utført blansjering i vann.

| Komponent                     | Produkt               | Blansjerings-betingelse | % Reduksjon       | Referanse                             |                                       |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| TPC                           | <i>S. latissima</i>   | 60 °C i 0,5 min         | 44                | (Wirenfeltdt, 2017)                   |                                       |
|                               | <i>S. latissima</i>   | 60 °C i 2 min           | 49                |                                       |                                       |
|                               | <i>H. elongata</i>    | 80 °C i 40 min          | 83                | (Cox, Gupta og Abu-Ghannam, 2012)     |                                       |
|                               | <i>S. ilicifolium</i> | 40 °C i 15 min          | 10                | (Susanto <i>et al.</i> , 2017)        |                                       |
|                               | Kål<br>(York cabbage) |                         | 80-90 °C i 2 min  | 44-45                                 | (Jaiswal, Gupta og Abu-Ghannam, 2012) |
|                               |                       |                         | 95-100 °C i 2 min | 47 -50                                |                                       |
|                               | Kinesisk kål          |                         | 98 °C i 5 min     | 52                                    | (Amin og Lee, 2005)                   |
| Blomkål                       |                       | 100 °C i 3min           | 38                | (Ahmed og Ali, 2013)                  |                                       |
|                               | <i>S. ilicifolium</i> | 40 °C i 15 min          | 33                | (Susanto <i>et al.</i> , 2017)        |                                       |
| AO-kapasitet<br>(DPPH<br>RSC) | Kål (York cabbage)    | 80-90 °C opptil 6 min   | 60- 65            | (Jaiswal, Gupta og Abu-Ghannam, 2012) |                                       |
|                               | Kinesisk kål          | 98 °C i 5 min           | 17                | (Amin og Lee, 2005)                   |                                       |
|                               | Blomkål               | 100 °C i 3min           | 30                | (Ahmed og Ali, 2013)                  |                                       |

Brunalger karakteriseres for sin brune farge i rå tilstand (Kraan, Tramullas og Guiry, 2000) grunnet deres innhold av fargepigmentet fucoxanthin (Roohinejad *et al.*, 2017). Ved varmebehandling vil derimot brunfargen i brunalgene forandres til en lys grønn farge (Blikra *et al.*, 2019). Varmebehandling vil kunne forårsake en nedbrytning av fucoxanthin og dermed vil en grønn farge framtrede fra klorofyll i algene (Blikra *et al.*, 2019; Stévant, 2019; Bonazzi og Dumoulin, 2011). Fargeendringen i brunalgene butare og *S. latissima* ble vist allerede etter en varmebehandling i ett sekund ved 60-95 °C av Blikra *et al.* (2019). Videre økte fargeutviklingen med holdetid på opptil 5 minutter. Etter denne holdetiden ble derimot grønnfargen redusert tilbake til en brun farge. Denne reduksjonen kan være forårsaket av en nedbrytning i klorofyll og andre fargekomponenter i brunalger (Blikra *et al.*, 2019). Rajauria *et al.* (2010) beskrev en temperaturavhengig fargeforandring ved blansjering av brunalger og fant en sterkere fargeendring, jo høyere temperaturer brunalgene ble påført. Farge er kritisk for forbrukeraksept av matprodukter og grønn farge har blitt vurdert som en attraktiv farge for vestlige konsumenter. Alger med en lys grønnfarge kan assosieres med grønne vegetabilier og kan derfor være mer akseptabelt for konsum (Stévant, 2019; Bonazzi og Dumoulin, 2011).

Mikrobiota på overflaten av makroalger kan reduseres ved varmebehandling, men vanlige pasteuriseringsbetingelser er ofte ikke tilstrekkelig (Fellows, 2017). Blikra *et al.* (2019) studerte mikrobiota i vakuumpakket butare og *S. latissima* før og etter blansjering. Butare ble påført en varmebehandling på 80 °C i 30 minutter, mens *S. latissima* ble blansjert i 80 °C i 15 minutter. Mellom 1-3 log kde/g ble funnet for total aerobe kimtall, psykotrofe og sporedannende *Bacillus spp.* i begge algene og forskjeller i kimtall ble ikke funnet mellom rå og blansjert tilstand. Det var derimot ikke tilstedeværelse av *enterococci*, koliforme bakterier, *L. monocytogenes* og patogene *vibrio*. Det ble også vist at blansjeringsbetingelsene som ble benyttet ikke var effektive for reduksjon av de varmetolerante sporedannende bakteriene. Disse bakteriene er assosiert med høy helserisiko i makroalger i Norge og er kjent for å forårsake sykdom (Blikra *et al.*, 2019).

### **3.5 Dehydrering av makroalger**

Dehydrering kan defineres som en prosess hvor fukt fjernes fra en substans og er i dag den vanligste conserveringsmetoden som benyttes for makroalger, tiltenkt konsum (Blikra *et al.*, 2019; Ratti, 2001). Med konvensjonell dehydrering (varmluft) kan produkter oppnå økt holdbarhet ved at mikrobiell aktivitet reduseres ved en lavere vannaktivitet. Likevel har de konvensjonelle dehydreringsmetodene sine ulemper ved at de fysiske og kjemiske egenskapene

i matprodukter påvirkes negativt. I senere tid er det utviklet tørkemetoder som gir en bedre bevaring av disse egenskapene (Ratti, 2001).

Frysetørking ble utviklet for å unngå tap av komponenter i mat og er rapportert til å være den beste metoden for å opprettholde næringsinnhold og minimalisere kjemiske endringer. Ved frysetørking vil makroalger bli tørket ved direkte sublimasjon av is under redusert trykk (vakuum) (Chan, Cheung og Ang, 1997). Sublimasjon er overgangen fra fast form til gassform, uten at det dannes en flytende form (Adams, 2007). Denne prosessen minimaliserer fysiske skader av plantematerialer samt forekomst av oksidasjon og termale reaksjoner (Chan, Cheung og Ang, 1997). Tørking kan være en viktig faktor som påvirker næringsinnholdet i makroalger, enten ved kjemiske endringer eller direkte tap av innhold. Wong, K. og Cheung, C., P (2001) undersøkte effekten av ovn-dehydrering, sammenlignet med frysetørking av *Sargassum* arter og fant et signifikant lavere innhold av fenoliske komponenter ved ovn-dehydrering (Wong, K. og Cheung, C., P, 2001). Selv om frysetørking er rapportert til å være en mer gunstig metode for å bevare fenoliske komponenter er det viktig å være oppmerksom på at metoden vil gi en viss påvirkning på makroalgenes komponenter. Frysetørking av makroalger vil gi et visst tap av polyfenoler og antioksidantaktivitet, i forhold til makroalger i rå tilstand. Mengde tapte komponenter vil avhenge av type råstoff (Le Lann, Jégou og Stiger-Pouvreau, 2008).

### **3.6 Atlantisk laks og holdbarhet**

I dag er det et stort fokus på matsvinn da en tredjedel av maten som produseres i verden kastes (Lassen, 2017). Et tiltak for å redusere matsvinnet kan være å øke holdbarheten på matprodukter slik at mindre blir kastet, på bakgrunn av kort holdbarhetsdato. Blant annet kan tilsetningsstoffer redusere lipidoksidasjon i råstoffet laks, og dermed bidra til lengre holdbarhet på produktet (Frankel, 1980). Atlantisk laks (*Salmo salar*) er en økende populær art innen det globale fiskemarkedet, grunnet markedsverdien. Norge er en av de største produsentene av oppdrettslaks i verden og ved utgangen av 2019 ble det eksportert i underkant av 1 million tonn fersk oppdrettslaks (Sprague, Dick og Tocher, 2016; SSB, 2020). Generelt sett har hel atlantisk laks, lagret på is, en holdbarhet på ca. 20 dager (Sveinsdottir *et al.*, 2002), mens MAP-pakket (Modified Atmosphere Packaging) atlantisk laksefilet som er lagret (2 °C til 4 °C) en holdbarhet på 14 - 21 dager (Pastoriza *et al.*, 1996).

Forbrukere har uttrykt et ønske om å redusere benyttelsen av syntetiske konserveringsmidler i mat (Delaquis *et al.*, 2002) og en kombinasjon av naturlige tilsetninger som konserveringsmiddel i lakseprodukter kan derfor bidra til å redusere matsvinn. I tillegg har

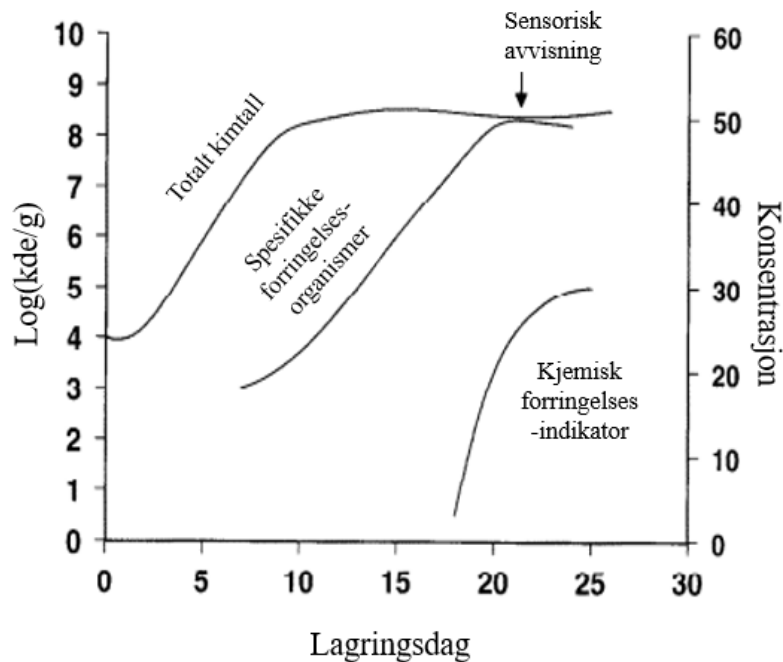
«Convenience foods», eller tertiær bearbeidet mat blitt en stor trend innen matindustrien (de Boer *et al.*, 2004). Tertiær bearbeidet mat kan defineres som; fullstendig eller delvis tilberedte matprodukter der forberedelsestiden, kulinariske ferdigheter og/eller energiinnsats utøves av matdistributør (Capps, Tedford og Haclicek, 1983). Etterspørselen av matprodukter som sparer tid og innsats er økende (Brunner, van der Horst og Siegrist, 2010) og i dag er allerede kommersielt tilberedte, rå lakseburgere på markedet, produsert av SALMA® (2020). Det oppgis en holdbarhet på ca. 8 dager for disse lakseburgerne, fra slakt til siste forbruksdag (SALMA®, 2020). Rå lakseburger i kombinasjon med naturlige konserveringstilsetninger, kan derfor bidra til å oppfylle krav om økt holdbarhet og tertiær bearbeidet mat.

### **3.6.1 Mikrobiell forringelse av Atlantisk laks**

Foringelse av mat kan defineres som enhver endring som fører til at produktet er uakseptabelt for konsum. Fisk er et svært bederelig produkt, grunnet høy vannaktivitet, nøytral pH og tilstedeværelse av autolytiske enzymer. Forringelsen kan forårsakes av en rekke faktorer som lipidoksidasjon, mikroorganismers metabolske aktivitet og fiskens egen enzymaktivitet (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Kjemiske endringer som autooksidasjon eller enzymatisk hydrolyse av lipidfraksjon kan føre til en harskningslukt og -smak samt teksturendringer (Frankel, 1980). Forringelsesraten er temperaturavhengig, men kan reduseres ved lave temperaturer. Graden av prosessering og preservering, sammen med lagringstemperatur vil bestemme om fisken vil bli forringet ved mikrobiell- eller biokjemisk nedbrytning, eller i en kombinasjon av disse (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Faktorer som vil bidra til mikrobiell forringelse i fisk, og hvilke mikroorganismer som vil dominere, bestemmes hovedsakelig av de indre faktorene; pH i muskelen post-mortem, tilstedeværelse av trimetylaminoksid (TMAO) og andre ikke-protein-nitrogen komponenter, men også de ytre parameterne; temperatur, prosessering og pakkeatmosfære (Gram og Huss, 1996; Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Den mikrobielle forringelsen kan også komme fra fiskens egen mikrobiota. Mikroorganismer finnes på alle ytre overflater av fisken (skinn og gjeller) samt i innvoller. Mengde mikrobiota på fisken varierer mellom 2-9 log kde/g, avhengig av hvor på fisken det undersøkes. Fiskemuskel er steril ved fangst, men kan fort bli kontaminert av bakteriefloraen i innvollene eller fra overflaten av fisken, samt prosesseringsutstyr og mennesker som utfører prosesseringen (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002).

Laksefarse vil prosesseres i større grad enn hel og filet av laks. Risikoen for mikrobiell kontaminasjon av produktet vil derfor være større. Den bakterielle populasjonen i farse er avhengig av tre hovedfaktorer ved prosessering; utstyr, tid og temperatur samt renhet.

Prosessering utført under rene omgivelser, med sterilt utstyr vil kontrollere oppvekst av mikroorganismer på produktet (Moretro *et al.*, 2016; Narasimha og Ramesh, 1988; Gram og Huss, 1996). Prosesseringstemperatur og -tid ved produksjon av fiskefarse anbefales å være lave (FAO, 2012; Gasthi, 2002).



**Figur 2:** Modifisert illustrasjon av mikrobiologisk forløp. Vekst av totalt kimtall, spesifikke og kjemiske forringelsesbakterier i islagret fisk (Gram og Huss, 1996).

Mikrobiota i fisk som finnes i kalde omgivelser vil domineres av psykotrofe, aerobe og fakultative anaerobe samt gram-negative bakterier (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobakter*, *Shewanella putrefaciens* (*S. putrefaciens*), *Flavobacterium*, *Cytophaa*, *Vibrio*, *Photobacterium* og *Aeromonas*) (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Laks domineres ofte av psykotrofe *S. putrefaciens* og *Pseudomonas spp.*, også etter én til to ukers lagring (Sivertsvik, Rosnes og G.H, 2003). *S. putrefaciens* og *P. aeruginosa* kan forårsake forringelse ved å redusere TMAO i fiskemuskel til trimetylammin (TMA) (Sveinsdottir *et al.*, 2002). TMA gir den karakteristiske «fiskelukten» ved forringet fisk (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Det benyttes en grenseverdi for mengde mikroorganismer i sammenheng med forringelse av fisk og forbrukeraksept. Grenseverdien er satt til 7 log kde/g (Stannard, 1997; FSAI, 2016).



### 3.6.2 Økt holdbarhet av atlantisk laks ved MAP-pakking

MAP er en veletablert emballeringsmetode som muliggjør forlengelse av holdbarhet på ferske fiskeprodukter (Fernández, Aspe og Roeckel, 2009). Prinsippet for MAP er å erstatte luft i pakningen med en gassmikstur. CO<sub>2</sub> er den viktigste gassen som benyttes i MAP ved emballering av fiskeprodukter. På grunn av CO<sub>2</sub> sin bakteriostatiske egenskap vil gassen inhiberer vekst av mange forringelsesbakterier. Inhiberingseffekten øker ved økt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i atmosfæren. CO<sub>2</sub> er løselig i fett og vann, og løseligheten øker ved en reduksjon i lagringstemperatur. Løseligheten av denne gassen gir oppløst CO<sub>2</sub> i produktet (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002) og vil videre gi en endring i pH. Denne pH-endringen vil virke som en barriere mot noen forringelsesbakterier. CO<sub>2</sub> inhiberer vekst av normal forringelsesflora i luft, som *Pseudomonas spp.* og *S. putrefaciens*, men likevel vil mikroorganismer som er CO<sub>2</sub>-tolerante kunne dominere mikroflora (Fernández, Aspe og Roeckel, 2009). Av disse er vanligvis gram-positive *Lactobacillus spp.*, *Brochotrix thermosphacta* (*B. thermosphacta*) og *Photobacterium phosphoreum* (*P. phosphoreum*) dominerende. Disse har også blitt isolert fra sjømat (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Rudi et al. (2004) studerte mikrobiota av MA-pakket laks (60 % CO<sub>2</sub>:40 % N<sub>2</sub>), hvor det ble vist en dominans av *B. thermosphacta* og *Carnobacterium spp.*, etter en lagringstid på 12 og 18 dager ved lagringstemperaturer på henholdsvis 5 og 1 °C. *P. phosphoreum* ble identifisert som den dominerende forringelsesbakterien i fersk, MA-pakket (60 % CO<sub>2</sub>:40 % N<sub>2</sub>) laks i en studie utført av Emborg et al. (2002). *P. phosphoreum* ble videre identifisert av Mace et al. (2012) i atlantisk laks, men med en gassblanding av 50 % CO<sub>2</sub>: 50 % N<sub>2</sub>.

### 3.6.3 Lipidoksidasjon i Atlantisk laks

Høye nivåer av flerumettede lipider i fisk gjør at produktet er svært utsatt for forringelse ved oksidasjonsprosesser (Refsgaard, Brochhoff og Jensen, 1998). Oksidativ forringelse gir blant annet et økonomisk problem for lipidinnholdende matprodukter. Lipidoksidasjon kan resultere i harskningslukt og -smak, men også tap av kvalitet og mattrygghet ved at det dannes sekundære reaksjonsprodukter etter prosessering (Frankel, 1980). Lipidoksidasjon er et resultat av frie radikaler. Flerumettede lipider, som er en nødvendig komponent av cellulære membraner, er spesielt utsatt for angrep av reaktive oksygenradikaler (Bell et al., 2000; Frankel, 1980).

Oksygen reagerer med organiske substrater for å danne hydroperoksider og andre oksygenrike forbindelser. Produksjonen av disse frie radikaler kan komme av blant annet hydroperoksid dekomponering, metallkatalyse eller ved eksponering av lys. Lipidoksidasjon kan i midlertidig bli hindret eller forsinket ved å tilføre små konsentrasjoner av antioksidanter. Disse

antioksidantene inkluderer fenoler og aromatiske komponenter (Frankel, 1980). Makroalgeekstrakt og -pulver er derfor en mulig kilde til redusert lipidoksidasjon, og dermed kunne gi en økt lagringsstabilitet og kvalitet i matprodukter.

### 3.7 Makroalgetilsats i sjømatprodukter

På bakgrunn av den kjemiske sammensetningen tidligere beskrevet, så har marine makroalger potensialet for å bli brukt som en funksjonell matingrediens. Høy akkumulering av PUFA i makroalger som lever i kaldere farvann og det høye innholdet av makromineraler, med lave Na/K-forhold, bidrar til at råstoffet kan benyttes som en kilde til næringsrik mat (Narayan, Miyashita og Hosakawa, 2006; Stévant, 2019). Samtidig må høye nivåer av potensielt toksiske komponenter som, jod og kadmium i henholdsvis *S. latissima* og butare, tas i betraktning og prosessering som kan bidra til å redusere disse toksiske komponentene bør implementeres, ved inkorporering av alger i mat (Roleda *et al.*, 2018; Stévant *et al.*, 2018; Wirenfeldt, 2017).

Det som kanskje er av større interesse når det gjelder tilsats av marine makroalger som en ingrediens i mat, er de høye nivåene av polyfenoler med multifunksjonelle egenskaper, spesielt i butare (tabell 3). Utnyttelse av disse naturlige antioksidantene i komplekse matprodukter, som for eksempel en fiskemuskel, kan være aktuelt for å forlenge holdbarhet og dermed redusere matsvinn. Sammen med mikrobiell forringelse er også lipidoksidasjon en hovedårsak til kvalitetsforringelse i ulike typer kjøttmuskel under prosessering og lagring. Potensialet for å utnytte de antioksidative egenskapene ved å benytte enten algepulver eller -ekstrakt mot lipidoksidasjon, er derfor stort (Jittrepotch, Ushio og Ohshima, 2006; Roohinejad *et al.*, 2017).

Ingen litteratur ble funnet for tilsats av pulverisert butare i sjømatprodukter, men flere studier har undersøkt lipidoksidasjon i sjømat ved inkorporering av andre makroalger, i form av ekstrakt. Blant annet har tilsats av *Fucus vesiculosus*-ekstrakt i torskefarse vist en høy AO-kapasitet rettet mot lipidoksidasjon i fiskemuskel (Jonsdottir *et al.*, 2016). Den samme antioksidanteffekten ble vist i studiet utført av Wang *et al.* (2010), hvor lipidperoksidasjonen i torskefilet ble hemmet ved tilsats av florotannin-fraksjoner fra *F. vesiculosus*. Ortiz, Vivanco og Aubourg (2014) testet tilsats av ulike makroalgeekstrakter (*Durvillaea antarctica*, *U. lactuca* og *Pyropia columbina*) i hermetisert atlantisk laks og fant signifikante forskjeller i både primær og sekundær lipidoksidasjon. Det er derimot viktig å påpeke at i kontrast med de overnevnte studiene er det litteratur som ikke har funnet antioksidative effekter mot lipidoksidasjon eller sensoriske egenskaper (harskningsaroma) ved tilsats av makroalgeekstrakt i fiskeprodukter (Dellarosa *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2014).

## **4 Material og metode**

### **4.1 Råstoff**

Frossen butare benyttet i denne masteroppgaven ble gitt av Seaweed Energy Solutions AS (SES) og ble hentet fra dyrkningsområdet deres på Frøya, Norge. Butaren var dyrket på rep i åpent vann og høstet 05.06.2019. Ferdig vakuumpakket butare ble oppbevart i fryser (-20 °C) hos SES, og råstoffet ble derfor oppbevart ved samme temperaturbetingelse (-20 °C) ved instituttet, frem til bruk.

En blanding av laksefilet og avskjær ble benyttet ved tillaging av lakseburgere. Hel atlantisk laks ble gitt av SalmoSea AS med slaktedato fire dager før produksjon av burger. Tillaging av lakseburgere ble utført én dag etter filetering av hel laks.

### **4.2 Blansjeringsstudie**

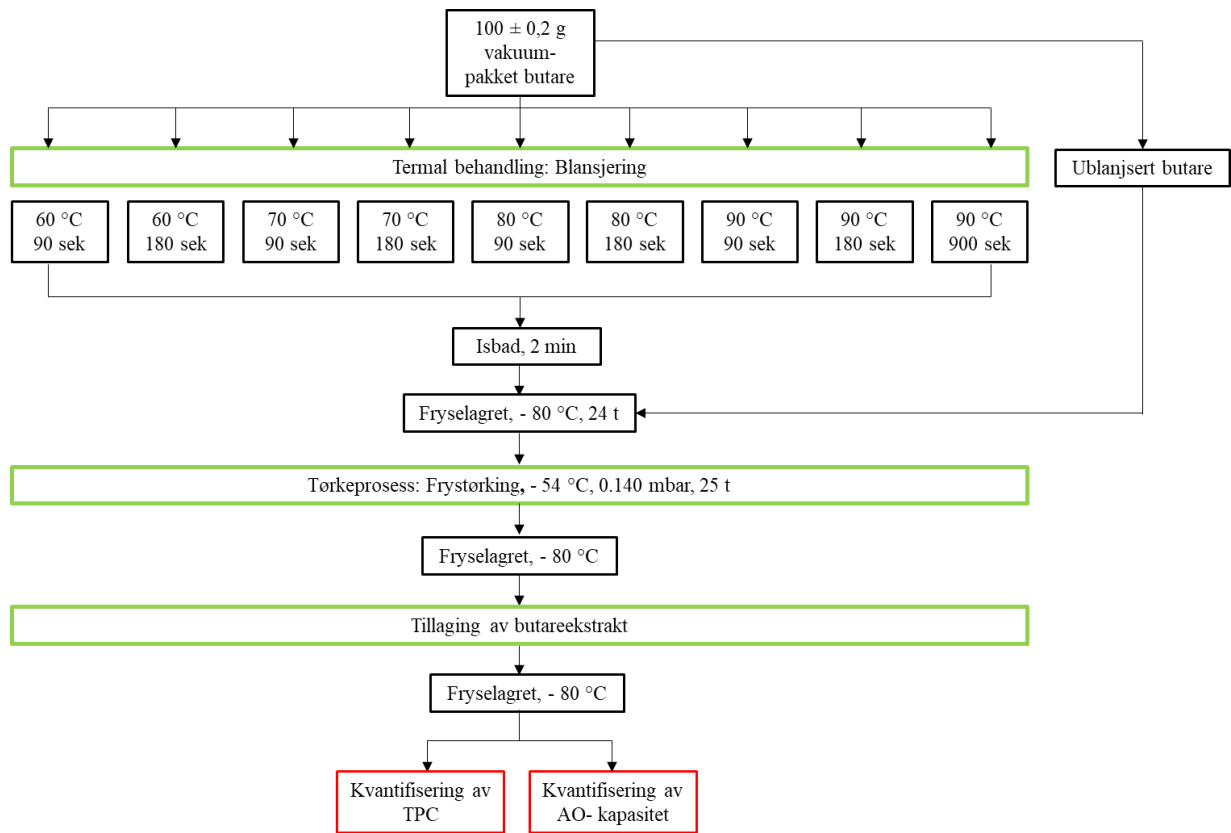
Effekt av blansjeringsbetingelser ble undersøkt for å studere hvordan betingelsene påvirket tap av bioaktive komponenter samt enzymatisk aktivitet i butare (figur 3). Kvantifisering av TPC og AO-kapasitet ble utført med metodene Folin-Ciocalteu og DPPH-assay (kapittel 4.2.3 og 4.2.4). Blansjeringsens inaktiveringsevne av enzymatisk aktivitet, ved ulike blansjeringsbetingelser, ble analysert ved katalase- og peroksidasetest (kapittel 4.2.5).

#### **4.2.1 Varmebehandling av butare**

Et blansjeringsstudie ble utført ved ulike temperatur-tid-kombinasjoner for å finne optimal blansjeringsbetingelse for butare. Prosesseringstemperaturene 60, 70, 80 og 90 °C, i en kombinasjon med prosesseringstidene 90 og 180 sekunder, ble testet ut. Samtidig ble en ekstrembetingelse (90 °C-900 sek) undersøkt for å gi en indikasjon på hvor stor effekt en lang holdetid har på tap av TPC i råstoffet. Ublansjert butare ble benyttet som referanse. Blansjeringsbetingelsene, som vist figur 3, ble basert på litteraturfunn (tabell 5) samt ved dialog med Seaweed Energy Solutions AS.

For hver blansjeringsbetingelse ble  $100 \pm 0,2$  g hel butare (våtvekt) tint og pakket i vakuumposer (Kochbeutel 121 °). For å oppnå homogen varmetilførsel gjennom råstoffet ble oppveid butare distribuert til et tynt lag i posene. Blansjering ble utført emballert for å unngå lekkasje av bioaktive komponenter til blansjeringsvann. Varmebehandling av blansjeringsbetingelsene ble utført i tripletter (n=3) og varmebehandling foregikk i Sous vide-maskin (Metos No 502493 Fusion shef, Jylaba) med avionisert vann som blansjeringsvann. Vannbadet ble forvarmet til riktig temperaturbetingelse før blansjeringsprosessen ble utført. Etter endt prosessering ble

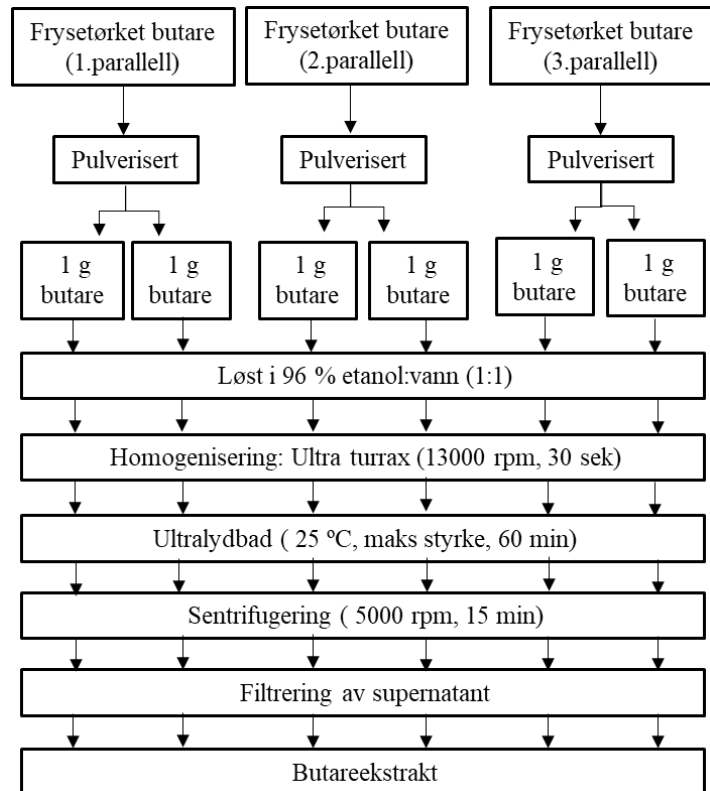
butare umiddelbart overført fra vannbadet til isvann i to min. Prosessert butare samt ublansjert tare (vakuumpakket, n=3) ble fryst ned (-80 °C) til videre analysering.



**Figur 3:** Flytskjema av blansjeringsstudie.  $100 \pm 0,2$  g vakuumpakket butare (n=3) ble påført ulike temperatur-tid-kombinasjoner (60 °C-90 sek, 60 °C-180 sek, 70 °C-90 sek, 70 °C-180 sek, 80 °C-90 sek, 80 °C-180 sek, 90 °C-90 sek, 90 °C-180 og 90 °C-900 sek). Ublansjert butare ble benyttet som referanse. Etter endt blansjeringsprosess ble taren overført i isvann (to min) og videre fryselagret (-80 °C) i 24 timer. Videre ble prosessert og ublansjert butare frysetørket (-54 °C, 0,140 mbar) i 25 timer. Tillaging av butareekstrakt ble utført for å kvantifisere totalt polyfenolinnhold (TPC) og antioksidativ kapasitet (AO-kapasitet).

#### 4.2.2 Tillaging av butareekstrakt

Tap av TPC og AO-kapasitet, ved ulike blansjeringsbetingelser, ble undersøkt i butareekstrakt (figur 4). Blansjert og ublansjert butare ble frysetørket (Freezone 12, Labconco, (-54 °C, 0,140 mbar, 25 timer) og manuelt pulverisert med morter og pistill. Pulverisert butare ble veid opp til  $1,0 \pm 0,0005$  g og tilsatt 9,0 ml løsemiddel (96 % etanol: avionisert vann, (1:1), Ethanol absolute, VWR Chemicals, cas: 64-14-5) Det ble laget dubletter (n=2) for hver blansjerings-parallell. Prøvene ble homogenisert med Ultra turrax (IKA® T25 ULTRA TURRAX, 13000 rpm, 30 sek) og satt i ultralydbad (Branson 5800, 25 °C, maksimum styrke, 60 min). Prøvene ble deretter sentrifugert (Eppendorf Centrifuge 5804, 5000 rpm, 15 min) og supernatant ble filtrert gjennom et sprøytefilter (Sterile syringe filter, 0,2 µm cellulose acetate membrane, VWR Chemicals). De ferdige ekstraktene ble oppbevart nedfrost (-80 °C) i kimaxrør til videre bruk.



**Figur 4:** Flytskjema for tillaging av butareekstrakt. Frysetørket butare (n=3) ble pulverisert manuelt og ca. 1 g ble løst i 9 ml løsemiddel (96 % etanol: vann (1:1) (n=2). Prøvene ble homogenisert ved ultra turrax samt ultralydbad. Videre ble prøvene sentrifugert og supernatant ble filtrert gjennom sprøytefilter.

#### 4.2.3 Kvantifisering av TPC i butare blansjert ved ulike betingelser

Totalt fenolinnhold ble kvantifisert med Folin-Ciocalteu metoden som beskrevet av Margraf *et al.* (2015) med noen modifikasjoner.

Gallussyre (100 mg/l) (Gallic acid monohydrate, Sigma Aldrich, cas: 5995-86-8) ble benyttet som standard ved tillaging av stamløsning til standardkurve. En rekke med seks stamløsninger ble laget ved å tilsette 5,0 ml avionisert vann, gallussyre ved konsentrasjoner 0,0-5,0 mg/l og 1,0 ml Folin-Ciocalteu reagens (VWR Chemicals, cas:U3264). Stamløsningene ble forsiktig blandet før de ble satt i ro på benk, i ca. åtte min. 10,0 ml 7 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sodium carbonate anhydrous, VWR Chemicals, cas: 497-19-8) ble tilsatt løsningene og etterfylt med avionisert vann, til et totalvolum på 100 ml var oppnådd. Løsningene stod i ro på benk i to timer før absorbans ble målt spektrofotometrisk ved 750 nm (Shimadzu UV-1800). Avionisert vann ble

benyttet som referanse ved måling av absorpsjon. Fremgangsmåten for tillaging av stamløsninger var den samme for kvantifisering av TPC i butarekstrakt, men gallussyre ble erstattet med 0,5 ml butarekstrakt. Analysing av TPC i butarekstrakt ble utført i tripler (n=3) og resultatene blir uttrykt som g gallic acid equivalent (GAE)/ 100 g butare tørrvekt. Resultater, funnet ved analysing av stamløsninger, ble plottet inn i en standardkurve hvor stigningstallet ble benyttet til videre beregning av TPC i butarekstrakt (vedlegg A, figur 1, formel 1).

#### **4.2.4 Kvantifisering av AO-kapasitet i butare blansjert ved ulike betingelser**

Kvantifisering av AO-kapasitet i butarekstrakt ble utført med DPPH-assay som beskrevet av HIST (2019) for kolorimetrisk analyse, med noen modifikasjoner. Analysen ble utført i romtemperatur (ca. 22 °C) i åpent lys, så fremst annet blir beskrevet.

Butarekstrakt ble fortynnet med 96 % etanol fortynnet i vann (1:1) til konsentrasjoner mellom 102,0-108,0 ± 0,9 g antioksidant (AH)/ g DPPH. Det ble laget tripler (n=3) for alle prøvefortynningene. Videre ble 200 µl prøvefortynning blandet med 800 µl Tris-HCl buffer (100 mM, pH 7,4) og 1,0 ml DPPH-løsning (500 µM, 0,2 mg/l, løst i 96 % etanol, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma Aldrich, cas: 1898-66-4). Prøvene ble blandet på vortexmixer (ca. 5 sek) før de ble satt mørkt i ca. én time. AO-kapasitet ble målt spektrofotometrisk ved 520 nm med Tris-HCl buffer som referanse og Tris-HCl buffer samt DPPH-løsning som blankprøve. AO-kapasitet blir målt ved konsentrasjon AH som er nødvendig for å redusere 1,0 g DPPH, med 50 % «steady state». Resultatene blir uttrykt som EC<sub>50</sub> (effektiv konsentrasjon).

DPPH-løsningens reduksjonseffektivitet ble testet ved tillaging av Trolox-standardkurve. 97 % Trolox-løsning (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chromane-2-carboxylic acid, Acros Organics, cas: 53188-07-1, løst i 96 % EtOH) ble tilberedt og fortynnet til seks ulike konsentrasjoner (0,025- 0,4 g AH/g DPPH). Videre ble samme framgangsmåte som beskrevet for kvantifisering av AO-kapasitet utført. Trolox-standardkurve er presentert i vedlegg A, figur 2.

#### **4.2.5 Enzymatisk aktivitet i butare blansjert ved ulike blansjeringsbetingelser**

Enzymaktivitet i butare ble analysert for å undersøke eventuell inaktivering ved ulike blansjeringsbetingelser (ublansjert, 60 °C-90 sek, 70 °C-90 sek og 80 °C-90 sek). Til analysing av enzyminaktivering ble peroksidase- (NTNU, 2017) og katalasetest (Fellows, 2017) benyttet, men det er viktig å påpeke at det ble ikke funnet studier som har undersøkt enzymaktivitet med de overnevnte testene. Det ble ikke utført dehydrering i form av frysetørring før analysing.

Enzymaktivitet i butare ble analysert ved katalasetest i 4 paralleller (n=4). Butare ble delt i biter (ca. 2 x 2 cm) og tilsatt en dråpe 5 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Resultater blir uttrykt som + (svakt katalase-positiv) og ++ (katalase-positiv) ved O<sub>2</sub>-dannelse og ÷ (katalase-negativ) ved ingen O<sub>2</sub>-dannelse.

Peroksidasetesten ble utført som beskrevet i (NTNU, 2017) og utført i duplikater (n=2). Testen er beregnet for gulrøtter og har hittil ikke blitt testet på makroalger. Ca. 1 ml grovhakket butare ble tilsatt avionisert vann til det dekket råstoffet. Grunnet butarens rehydreringsevne ved tilsatt av vann, ble prøvene tilsatt mer avionisert vann etter 5 min for å kompensere for absorbert vann. Prøvene ble deretter tilsatt 0,5 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (fortynnet i avionisert vann, hydrogenperoksid, Sigma Aldrich, cas: 7722-84-1) og 0,1 % guajakol (fortynnet i 96 % etanol, Sigma Aldrich, cas: 90-05-1). Prøvene ble blandet ved å benytte en glasstav. Fargeforandringer i prøvene ble fulgt i 10 min og resultater blir illustrert som vist i tabell 6.

**Tabell 6:** Tabell viser fargereaksjon og forklaring av enzymaktivitet samt tilhørende skalering av disse ved peroksidasetest.

| Skala | Fargereaksjon         | Forklaring             |
|-------|-----------------------|------------------------|
| ÷     | Ingen reaksjon        | Ingen enzymaktivitet   |
| +     | Brune flekker         | Spor av enzymaktivitet |
| ++    | Brune lekker og soner | Noe enzymaktivitet     |

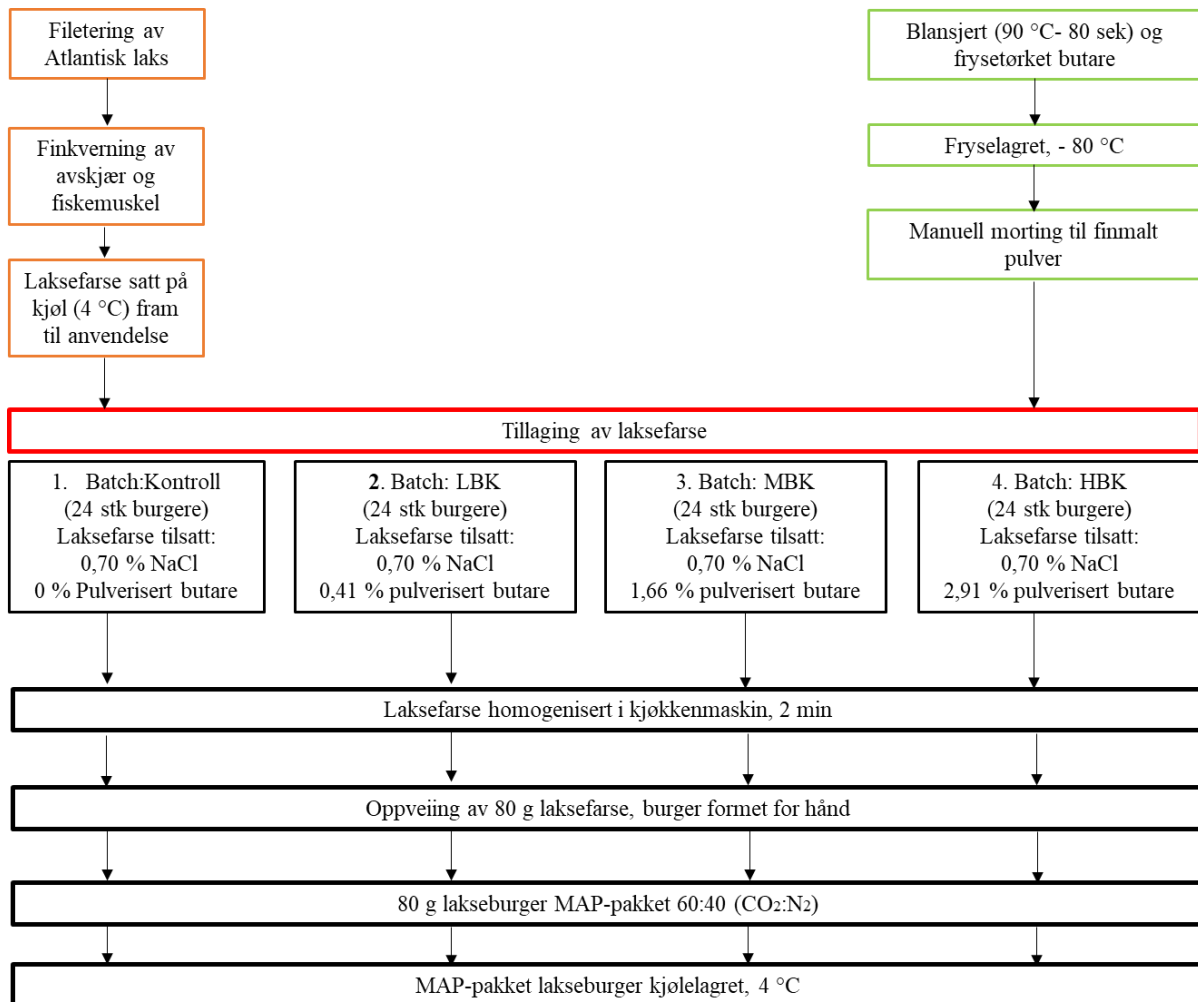
### 4.3 Lagringsstudie

Rå lakseburgere (80 g) tilsatt ulike konsentrasjoner av blansjert (90 °C-180 sek) og frysetørket butare ble undersøkt for mikrobiell vekst i en lagringsstudie (kapittel 4.3.2). Butare ble frysetørket for å opprettholde like betingelser som ved utførelse av blansjeringsstudiet (kapittel 4.2) samt for å unngå ekstra tilførsel av vann i burgerne. Rå lakseburgere (MAP-pakket, 60 % CO<sub>2</sub>: 40 % N<sub>2</sub>) ble kjølelagret (4 °C) i 21 dager, hvor uttak ble utført hver tredje dag. I tillegg ble en sensorisk beskrivelse av lakseburger utført (kapittel 4.3.3) samt vanntap i butare ved dehydrering testet (kapittel 4.3.4).

#### 4.3.1 Tillaging av lakseburger tilsatt butare

Produksjon av 80 grams lakseburgere tilsatt fire ulike butarekonsentrasjoner ble utført i fire batcher; kontroll, lav- (LBK), middel- (MBK) og høy (HBK) butarekonsentrasjon (figur 5). En blanding av fiskemuskel og avskjær ble benyttet for produksjon og alt råstoff ble kvernet samtidig i en kjøttkverner (Omas Food Machinery). Laksefarsen ble deretter delt i fire batcher og satt på kjøll (4 °C) til videre prosessering av hver batch. Blansjert og frysetørket butare ble pulverisert manuelt, ved morter og pistill.

For å oppnå god bindingsevne i burgerne ble lakseavskjær benyttet og NaCl tilsatt (natriumklorid, VWR Chemicals, cas: 7647-14-5). Konsentrasjon NaCl ble bestemt i henhold til produktet SALMA BRG produsert av SALMA® (0,7 g NaCl/100 g burger) (SALMA®, 2020). Da saltinnhold i anvendt butare var ukjent, ble dette ikke tatt hensyn til og tilsatt NaCl-konsentrasjon var dermed lik for alle lakseburgerne.



**Figur 5:** Flytskjema for produksjon av lakseburgerer ved tilsats av ulike butarekonsentrasjoner. Avskjær og fiskemuskel fra filetert atlantisk laks ble finkjernet og satt på kjøøl (4 °C) til videre bruk. Blansjert (90 °C-180 sek) og frysetørket butare ble pulverisert manuelt. Laksefarsen ble delt i fire batcher (24 stk 80 grams lakseburger i hver batch) og tilsatt NaCl samt ulike konsentrasjoner av butare; kontroll (0,70 % NaCl, 0 % butare), lav butarekonsentrasjon (LBK) (0,70 % NaCl, 0,41 % butare), middel butarekonsentrasjon (MBK) (0,70 % NaCl, 1,66 % butare) og høy butarekonsentrasjon (HBK) (0,70 % NaCl, 2,91 % butare). Hver batch ble homogenisert i kjøkkenmaskin i 2 min. Laksefarse ble videre veid opp (80 g) og burgerer ble formet for hånd. 80 g lakseburger ble MAP-pakket i en gassblanding av CO<sub>2</sub>:N<sub>2</sub> (60 %:40 %) og lagret ved 4 °C.

Som vist i figur 5 ble alle batchene tilsatt lik konsentrasjon NaCl (0,70 %). Kontroll, LBK, MBK og HBK ble tilsatt butarekonsentrasjoner på henholdsvis 0 %, 0,41 %, 1,66 % og 2,91 %. Overnevnte butarekonsentrasjoner ble bestemt ut ifra jodmengde i butare, funnet ved litteraturfunn. Etter tilsats av pulverisert butare og NaCl ble hver batch homogenisert i kjøkkenmaskin (middel hastighet, 2 min, Metos). Videre ble 80 g lakseburger veid opp og



formet for hånd. Lakseburgerne ble MAP-pakket (Webomatic®, Tray Sealing Machine TL 250) ved en gassblanding av CO<sub>2</sub>:N<sub>2</sub> (60 %:40 %) i plastbegere (230 ml, Faerch HIPET). Ferdigpakkede lakseburgere ble kjølelagret ved 4 °C, frem til uttak. Det ble produsert 24 burgere for hver batch, altså tre paralleller per uttaksdag (n=3). Tillaging av lakseburger ble utført under steriliserte omgivelser og med sterilt utstyr.

For å kontrollere lakseburgerens emballering under lagringsstudie ble gassammensetning i headspace (%) målt for hver MAP-pakket lakeburger, ved hver uttaksdag (n=3). Instrumentet som ble benyttet for dette var PBI Dansensor Checkmate 9900.

### 4.3.2 Bakterievekst i lakseburger tilsatt butare

Under lagringsstudie ble lakseburgerne testet for bakterievekst hver tredje dag (henvist som 0, 3, 6, 9, 15, 18 og 21.uttak i resultater (kapittel 5.3.2)). Kontroll, LBK, MBK, og HBK ble undersøkt for total psykotroft kimtall (TPK), melkesyrebakterier (LAB), *Pseudomonas spp.* og *B. thermosphacta* på henholdsvis Long & Hammer-agar (L & H), MRS-agar, Pseudomonas CFC-agar og STAA-agar (tabell 7). Oppveid prøve ( $10,0 \pm 2,0$  g) ble homogenisert i stomacher (1 min, Masticator Homogenizator IUL) med  $90,0 \pm 2,0$  g sterilt peptonvann (Neutralised bacteriological peptone, Oxoid, LP0034). En fortynningsrekke med fortynningsforholdet 1:10 ble satt opp. Platespredning av fortyningene ble utført i henhold til (Oxoid, 2016b) og ferdigutsådde plater ble inkubert som vist i tabell 7. Kvantifiseringsgrensene benyttet i denne oppgaven for L & H-agar, MRS-agar, Pseudomonas CFC-agar var på henholdsvis 25-250 kde (NMKL, 2006), 15-150 kde (NMKL, 2007) og 10-100 kde (FisherScientific, 2011). Kvantifiseringsgrense for STAA-agar var ikke oppgitt i referanse. Prøvene ble testet for bakterievekst i tripletter (n=3). Undersøkelse av bakterievekst ble utført med steril teknikk og resultater blir uttrykt som log kde/g.

**Tabell 7:** Oversikt over type medium som ble benyttet ved undersøkelse av bakterievekst i rå lakseburgere, deres inkubasjonstid og -temperatur samt bakteriell deteksjon.

| Medium  | Supplement                                     | Inkubasjonstid<br>og<br>temperatur | Deteksjon                                      | Referanse         |
|---|--|------------------------------------|--|-------------------|
| L & H   | 0,025 % (w/v)<br>Fe(III)NH <sub>4</sub> Citrat | 5 døgn, 15 °C                      | Aerobe kimtall,<br>kulde- og<br>varmetolerante | (NMKL,<br>2006)   |
| MRS<br>(De Man, Rogosa and<br>Sharpe agar, Oxoid<br>CM0361) | -  | Anaerobt<br>5 døgn, 25 °C          | LAB  | (NMKL,<br>2007)   |
| Pseudomonas CFC agar<br>base<br>(Oxoid, CM0559)             | Pseudomonas<br>CFC<br>supplement<br>SR0103E    | 8 t, 25 °C                         | <i>Pseudomonas</i><br><i>spp.</i>              | (Oxoid,<br>2016b) |
| STAA<br>(STAA agar base,<br>Oxoid CM0881)                   | STA selective<br>supplement<br>SR0162E         | 48 t, 22 °C                        | <i>B. thermosphacta</i>                        | (Oxoid,<br>2016a) |

For å kontrollere mikrobiota i butare før tilsats i lakseburger, ble råstoffet (rå tilstand) også testet for oppvekst av TPK. Samme fremgangsmåte som for analysering av lakseburgerne ble benyttet.

### **4.3.3 Sensorisk beskrivelse av lakseburger tilsatt butare**

De sensoriske beskrivelsene for farge og tekstur i rå lakseburgere ble basert på observasjoner utført ved tillaging av produkt og under lagringsstudiet (21 dager).

### **4.3.4 Effekt av dehydrering for vanntap i butare**

Vanntap ved dehydrering av butare ble utført for å få en indikasjon på rehydreringskapasiteten til butare ved tilsats i lakseprodukt. Blansjeringsbetingelse 90 °C-900 sekunder ble benyttet og undersøkelse av vanntap ble utført i triplett (n=3). Frysetørket butare ble veid og subtrahert med innveid mengde butare før blansjering. Det ble tatt hensyn til vakuum-posens vekt ved beregning.

## **4.4 Dataprosessering og statistiske analyser**

Behandling av rådata samt illustrering av resultater ble utført i Microsoft Excel (versjon 2001) og IBM SPSS Statistics (versjon 25). Statistiske analyser ble utført i IBM SPSS Statistics. General Linear Model (GLM), ved hjelp av post hoc Duncan analyse, ble benyttet for analysing av signifikante forskjeller mellom gjennomsnitt av gruppene samt blansjeringstemperatur og -tid. Gjennomsnitt av gruppene ble betraktet som signifikant forskjellig ved  $p < 0,05$ . Korrelasjonsanalysen bivariat, Pearson tosidig test ble gjennomført mellom TPC og AO-kapasitet for gruppene. Sterk korrelasjon gir en koeffisient på  $\geq \pm 0,8$ , middels korrelasjon gir koeffisient mellom  $\pm 0,4-0,7$  og svak korrelasjon gir koeffisient  $< \pm 0,4$  (Ratnasari *et al.*, 2016). Resultatene er beskrevet som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik (SD) for blansjeringsstudiet og gjennomsnitt  $\pm$  standardfeil (SE) for lagringsstudiet, med mindre annet er beskrevet.

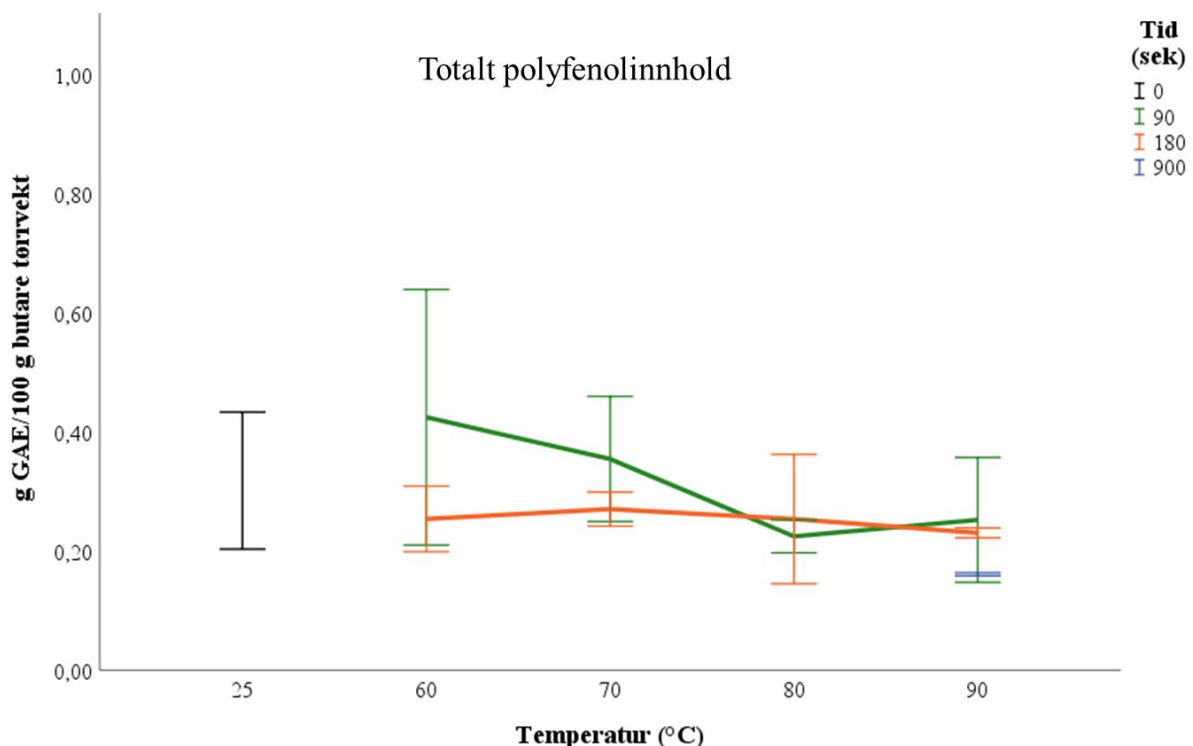
## 5 Resultater

### 5.1 Blansjeringsstudie utført på butare

Butare ble påført ulike blansjeringsbetingelser (temperatur-tid-kombinasjon) og kvantifisering av TPC og DPPH ble utført for å undersøke blansjeringseffekt på tap av henholdsvis polyfenoler og antioksidativ kapasitet (kapittel 5.1.1 og 5.1.2). I tillegg ble enzymaktivitet målt ved utvalgte blansjeringsbetingelser (kapittel 5.1.3). Fargeendring observert under blansjeringsstudiet er beskrevet i kapittel 5.1.4.

#### 5.1.1 Kvantifisering av TPC i butare blansjert ved ulike betingelser

TPC i butare ble testet ved å benytte Folin-Ciocalteu metoden (Margraf *et al.*, 2015) for blansjeringstemperaturene 60, 70, 80 og 90 °C, i kombinasjon med blansjeringsstid 90 og 180 sekunder. En ekstrembetingelse på 90 °C i 900 sekunder ble også påført råstoffet. Ublansjert butare ble analysert og benyttet som referanse. Resultater er vist i figur 6 og er uttrykt i g GAE/100 g butare i tørrvekt (figur 6). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom blansjeringsbetingelsene (GLM,  $p=0,150$ ) og det ble heller ikke vist signifikante forskjeller mellom temperatur (GLM,  $p=0,143$ ) eller holdetid (GLM,  $p=0,113$ ).

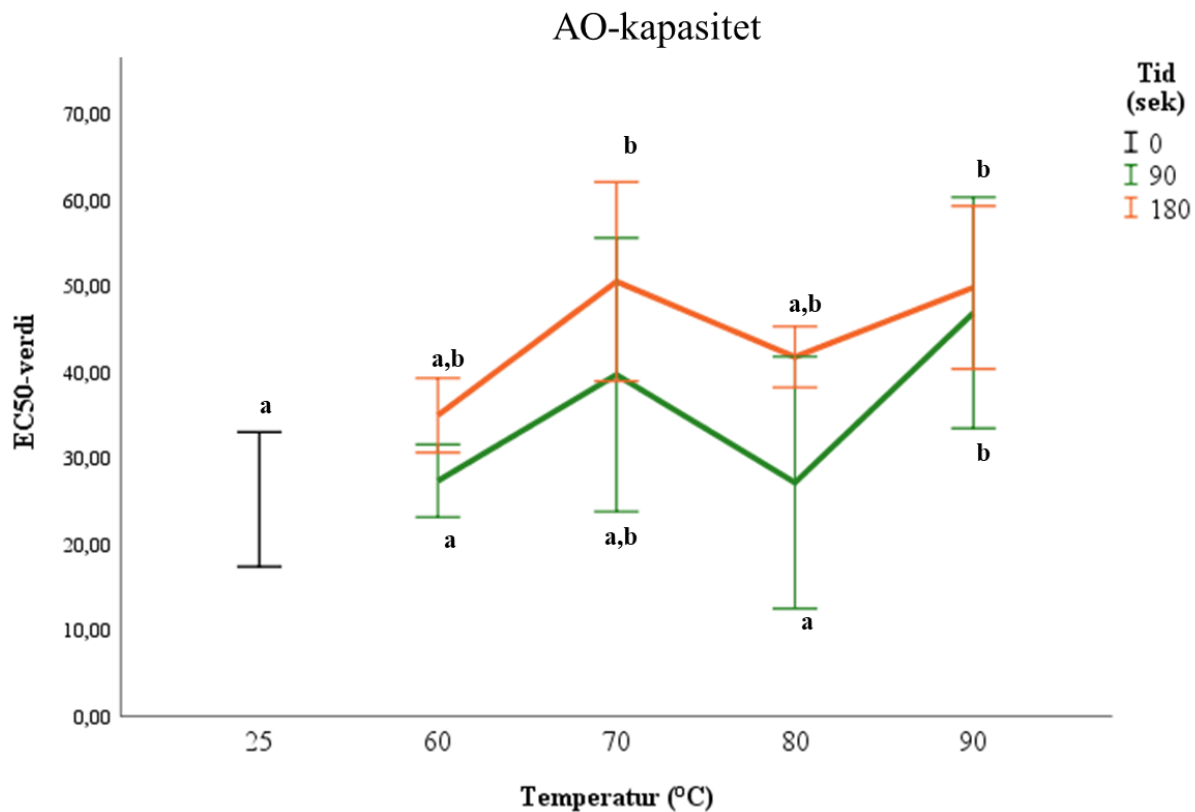


**Figur 6:** Totalt polyfenolinnhold (g GAE/100 g butare tørrvekt) i butare for ubehandlet råstoff og ved ulike blansjeringsbetingelser (60, 70, 80 og 90 °C i 90 og 180 sek samt 90 °C i 900 sek). Ingen signifikante forskjeller ble funnet mellom de ulike blansjeringsbetingelsene (GLM,  $p=0,150$ ), temperatur (GLM,  $p=0,143$ ) eller holdetid (GLM,  $p=0,113$ ).

Høyest numerisk verdi for polyfenoler ble funnet ved blansjeringsbetingelse 60 °C-90 sekunder (n=3) og ikke i ublansjert butare (n=3) (figur 6). Blansjeringsbetingelse 60 °C-90 sekunder hadde et innhold på  $0,43 \pm 0,21$  g GAE/ 100 g butare tørrvekt, mens ublansjert butare hadde et innhold på  $0,32 \pm 0,11$  g GAE/100 g butare tørrvekt. Blansjeringsbetingelsen 90 °C-180 sekunder (n=3) hadde en numerisk verdi på  $0,23 \pm 0,01$  g GAE/100 g butare tørrvekt, mens ekstrembetingelsen (90 °C-900 sek) (n=3) hadde som forventet, lavest numerisk verdi med  $0,16 \pm < 0,01$  g GAE/100 g butare tørrvekt. TPC-innhold for de resterende blansjeringsbetingelsene er vist i vedlegg B, tabell 1.

### **5.1.2 Kvantifisering av AO-kapasitet i butare blansjert ved ulike betingelser**

DPPH-assay (Yamaguchi *et al.*, 1998) ble benyttet for å kvantifisere AO-kapasitet i ublansjert butare og butare blansjert ved de ulike betingelsene (60, 70, 80 og 90 °C i kombinasjon med blansjeringstid 90 og 180 sekunder). AO-kapasitet ble målt ved konsentrasjon AH som er nødvendig for å redusere 1,0 g DPPH og blir uttrykt som EC<sub>50</sub> (figur 7). EC<sub>50</sub>-verdi er dermed omvendt proporsjonal med AO-kapasitet. Det ble funnet signifikante forskjeller mellom blansjeringsbetingelsene (GLM, p=0,036). De signifikante forskjellene ble funnet ved GLM, Duncan post hoc testing og er anvist med bokstaver over feilfeltene i figur 7. Ublansjert butare (n=3) viste høyest AO-kapasitet med en EC<sub>50</sub>-verdi på  $25,2 \pm 7,8$ , etterfulgt av blansjeringsbetingelse 80 °C-90 sekunder (n=3) (EC<sub>50</sub>= $27,2 \pm 14,6$ ), 60 °C-90 sekunder (n=3) (EC<sub>50</sub>= $27,4 \pm 4,2$ ) og 90 °C-90 sekunder (n=3) (EC<sub>50</sub>=  $46,9 \pm 13,4$ ). Blansjeringsbetingelsene 70 °C-180 sekunder (n=3) og 90 °C-180 sekunder (n=3) hadde lavest AO-kapasitet med henholdsvis EC<sub>50</sub>-verdi på  $50,5 \pm 11,6$  og  $49,8 \pm 9,5$ . Det ble også utført en hovedeffektsanalyse av temperatur og holdetid. Det ble funnet signifikante forskjeller mellom de ulike temperaturene (GLM, p=0,016); 25 (ublansjert), 70 og 90 °C samt holdetidene (GLM, p=0,036); 0 (ublansjert) og 180 sekunder. AO-kapasitet for de resterende blansjeringsbetingelsene er vist i vedlegg B, tabell 2.



**Figur 7:** AO-kapasitet (EC<sub>50</sub>) i butare kvantifisert for ublansjert råstoff og ved ulike blansjeringsbetingelser (60, 70, 80 og 90 °C i kombinasjon med 90 og 180 sek). Signifikante forskjeller ble funnet mellom ulike blansjeringsbetingelser ( $p=0,036$ , markert med bokstaver over feilfelt), temperatur (GLM,  $p=0,016$ ) samt holdetid (GLM,  $p=0,036$ ).

Korrelasjon mellom polyfenolinnhold og AO-kapasitet ble undersøkt statistisk ved å benytte Pearson korrelasjon. Det ble funnet svært liten korrelasjon mellom polyfenolinnhold og AO-kapasitet for blansjeringsbetingelsene ( $r = -0,193$ ).

### 5.1.3 Effekt av blansjering på enzymaktivitet i butare

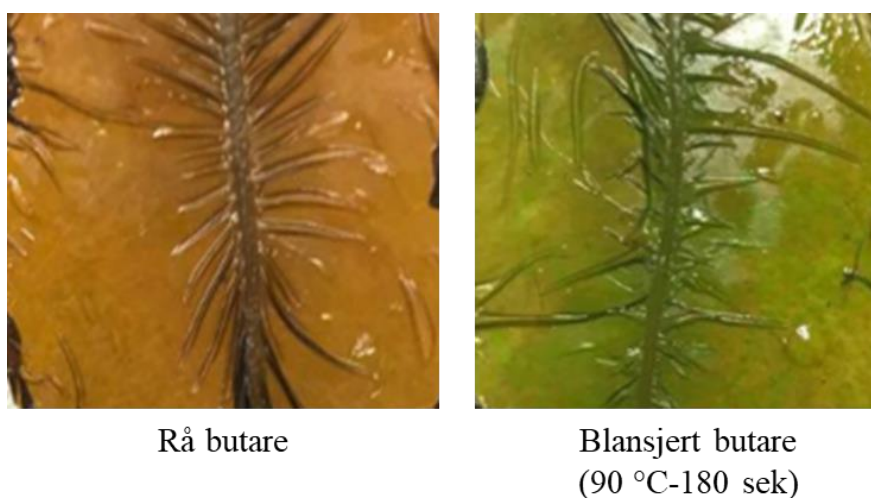
Effekten de ulike blansjeringsbetingelser (60, 70 og 80 °C, kombinasjon med holdetid 90 sek) hadde på enzymaktivitet i butare ble undersøkt. Det ble utført to tester; katalase- og peroksidasetest. Det ble ikke gjennomført dehydrering av prøvene i forkant av analysering. Resultater funnet ved katalasetest ( $n=4$ ) er uttrykt i symbolene ÷ (katalase-negativ), + (svakt katalase-positiv) og ++ (katalase-positiv) og er vist i tabell 8. En svak O<sub>2</sub>-dannelse ble funnet for alle paralleller i ublansjert butare. Ingen O<sub>2</sub>-dannelse ble oppnådd for noen av blansjeringsbetingelsene. Peroksidasetest ( $n=2$ ) var ikke optimal for butare som råstoff og resultater for denne testen ble derfor ikke oppnådd.

**Tabell 8:** Katalase- og peroksidasetest utført på ublansjert og blansjert butare ved blansjeringsbetingelsene 60 °C-90 sek, 70 °C-90 sek og 80 °C-90 sek. + og ÷ indikerer henholdsvis O<sub>2</sub>-dannelse og ingen O<sub>2</sub>-dannelse for katalasetest (n=4). \* viser til at peroksidasetesten (n=2) ikke var suksessfull og at resultater ble derfor ikke oppnådd.

|                        | Ublansjert butare | 60 °C-90 sek | 70 °C-90 sek | 80 °C-90 sek |
|------------------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Katalasetest</b>    | +                 | ÷            | ÷            | ÷            |
| <b>Peroksidasetest</b> | *                 | *            | *            | *            |

#### 5.1.4 Fargeendring i butare før og etter blansjering

Under blansjeringsforsøket ble det vist en fargeendring i butare. Rå butare ble observert til å være brun. Etter blansjering (90 ° C-180 sekunder) ble det observert et fargeomslag til grønn (figur 8).



**Figur 8:** Bilder viser rå butare med brun farge (venstre) og blansjert (90 °C-180 sek) butare med grønn farge (høyre).

#### 5.2 Lagringsstudie utført for lakseburger

Lagringsstudiet ble utført med butare blansjert ved 90 °C-180 sekunder. Betingelsen ble bestemt på bakgrunn av enzyminaktivering (kapittel 3.4) samt resultater funnet og framvist i kapittel 5.1.1 og 5.1.2. Bestemmelsen av denne blansjeringsbetingelsen, som den mest gunstige, blir videre understøttet i kapittel 6.1. Under lagringsstudiet ble det produsert 80 g lakseburgere tilsatt fire ulike konsentrasjoner (kontroll, LBK, MBK og HBK) av pulverisert butare (forbehandlet ved blansjering (90 °C-180 sekunder) og frysetørking), samt en kontroll uten tilsats av tare. Lakseburgerne ble MAP-pakket med en gassammensetning av CO<sub>2</sub>:N<sub>2</sub> (60 %:40%). Butarekonsentrasjonene ble beregnet ut ifra litteratur funnet for jodinnhold i butare og grenseverdier satt for daglig inntak av jod (NNR, 2014) (kapittel 5.3.1.1). Videre ble de produserte lakseburgerne testet for bakteriell vekst, hver tredje dag, i en studie med en varighet på 21 dager. Bakteriell vekst ble testet for TPK (L & H), *Pseudomonas spp.* (*Pseudomonas*

CFC), LAB (MRS) og *B. thermosphacta* (STAA) (kapittel 5.3.2). Siden frysetørket butare ble benyttet ved produksjon av lakseburgere, ble også vanntap ved dehydrering av butare kalkulert (kapittel 5.3.3).

### 5.3.1. Utvikling av resept og sensorisk beskrivelse for rå lakseburger

#### 5.3.1.1 Bestemmelse av butarekonsentrasjon i lakseburger

Ved bestemmelse av butarekonsentrasjon i lakseburgere ble det i første omgang bestemt å ta hensyn til antimikrobielle egenskaper, rapportert i butare. Det var derfor av interesse å undersøke makroalgekonsentrasjon i korrelasjon med antimikrobiell effekt. Det ble ikke funnet studier som fokuserte på denne korrelasjonen og derfor ble artikler som satte søkelys på makroalgenes antimikrobielle aktivitet gjennom MIC-metode, for så å utføre en estimering av tilsatt algemengde (Kopperud, 2018; Alghazeer *et al.*, 2013; Jaswir *et al.*, 2014). Litteraturoversikt over makroalgenes antimikrobielle effekt er vist i tabell 9.

**Tabell 9:** Litteraturoversikt funnet for makroalgenes antimikrobielle effekt ved MIC-metode i korrelasjon med estimert algekonsentrasjon.

| Type brunalge                  | Algeekstrakt<br>(mg/ml) | Bakterie                     | Antimikrobiell<br>effekt (ja/nei) | Inhiberings-<br>sone (mm) | Referanse                        |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| <b>Butare</b>                  | 100                     | <i>Aeromonas salmonicida</i> | Ja                                | Ikke oppgitt              | (Kopperud, 2018)                 |
|                                |                         | <i>Listeria innocua</i>      | Ja                                | Ikke oppgitt              |                                  |
|                                |                         | <i>S. aureus</i>             | Ja                                | Ikke oppgitt              |                                  |
|                                |                         | <i>Pseudomonas spp</i>       | Nei                               | Ikke oppgitt              |                                  |
|                                |                         | <i>B. thermosphacta</i>      | Nei                               | Ikke oppgitt              |                                  |
| <b>Cystoseira stricta</b>      | 50                      | <i>S. typhi</i>              | Ja                                | 15                        | (Alghazeer <i>et al.</i> , 2013) |
|                                |                         | <i>E. coli</i>               | Ja                                | 12                        |                                  |
|                                |                         | <i>P. aeruginosa</i>         | Ja                                | 12                        |                                  |
|                                |                         | <i>S. aureus</i>             | Ja                                | 15                        |                                  |
| <b>Sargassum plagyophillum</b> | 100                     | <i>Bacillus subtilis</i>     | Ja                                | 12                        | (Jaswir <i>et al.</i> , 2014)    |
|                                |                         | <i>P. aeruginosa</i>         | Nei                               | -                         |                                  |
|                                |                         | <i>S. aureus</i>             | Ja                                | 9                         |                                  |

Bestemmelse av konsentrasjon butare som ville gi en antimikrobiell effekt i lakseburger, basert på litteraturfunn, ble vurdert til å være lite pålitelig. Årsaken til dette var fordi at beregning av konsentrasjon alge måtte baseres på artiklens ekstraksjonsmetode og artiklene brukte ulike metodikk ved måling av antimikrobiell effekt samt at litteraturfunn som omhandler butarens



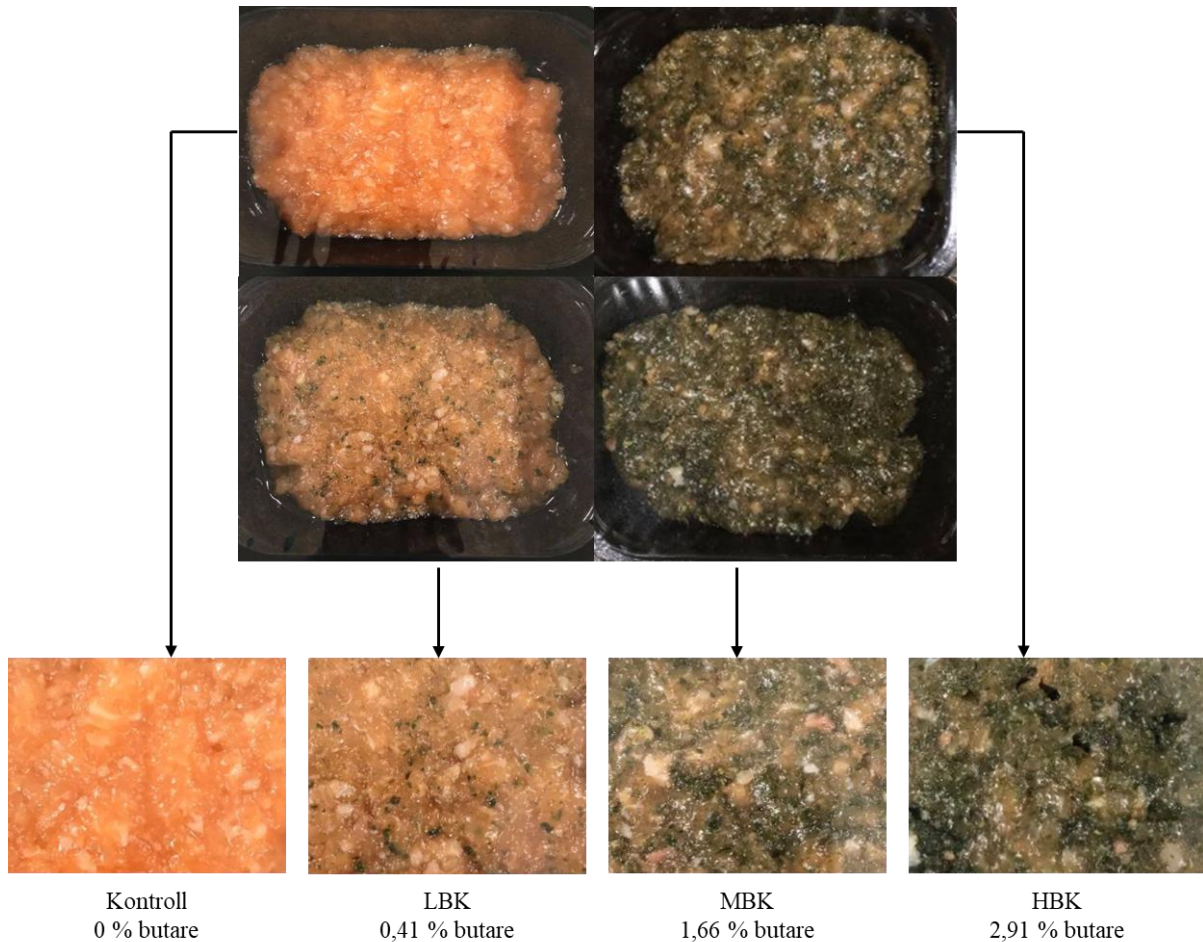
antimikrobielle effekt var få (Kopperud, 2018; Alghazeer *et al.*, 2013; Jaswir *et al.*, 2014). Konsentrasjonsestimeringene var derfor ansett som usikre. I tillegg var artiklene basert på ekstrakter og ikke hel alge. Skadal (2018) var eneste publikasjon funnet, hvor hel alge ble benyttet, men det ble ikke oppgitt mengdeforhold. Butarekonsentrasjon i lakseburgerne ble derfor basert på litteratur om butarens jodinnhold og NNR sine anbefalte grenseverdier for jodinntak/dag ( $\mu\text{g I/dag}$ ) (tabell 2). NNR har anbefalt et daglig jodinntak (AI) for en voksen person til å være  $150 \mu\text{g I/dag}$  og øvre anbefalt grenseverdi (ØG) til å være  $600 \mu\text{g I/dag}$ . Det ble tatt utgangspunkt i AI og ØG ved beregning av butarekonsentrasjoner for LBK og MBK. Butarekonsentrasjonen i HBK ble valgt for å forhåpentligvis observere en betydelig antioksidativ- og antimikrobiell effekt. Fra tabell 2 ble det tatt utgangspunkt i Seaweed Energy Solutions sin oppgitte jodkonsentrasjon ( $450 \text{ mg I/kg butare}$ ). Tabell 10 viser beregnede konsentrasjoner av butare i lakseburger for kontroll (0 %), LBK (0,41 %), MBK (1,66 %) og HBK (2,91 %), basert på jodinnhold.

**Tabell 10:** Bestemmelse av konsentrasjon butare i lakseburger (g tørrvekt/ 80 g lakseburger) for kontroll, lav butarekonsentrasjon (LBK), middel butarekonsentrasjon (MBK) og høy butarekonsentrasjon (HBK). Konsentrasjon butare i lakseburger ble basert på jodkonsentrasjon i butare ( $\text{mg I/kg tørrvekt}$ ) og oppnådd jodkonsentrasjon i lakseburger ( $\mu\text{g I/g}$ ).

| <b>Prøve</b>    | <b>Jodkonsentrasjon i butare (mg I/kg tørrvekt)</b> | <b>Ønsket jodkonsentrasjon i lakseburger (<math>\mu\text{g I/80 g}</math>)</b> | <b>Mengde tilsatt butare (g tørrvekt/ 80 g lakseburger)</b> |
|-----------------|---|--|---|
| <b>Kontroll</b> | 450   | 0  | 0 (0 %)   |
| <b>LBK</b>      | 450   | 150  | 0,33 (0,41 %)   |
| <b>MBK</b>      | 450   | 600  | 1,33 (1,66 %)   |
| <b>HBK</b>      | 450   | 1049   | 2,33 (2,91 %)   |

### 5.3.1.2 Sensorisk beskrivelse av lakseburgere tilsatt ulike konsentrasjoner butare

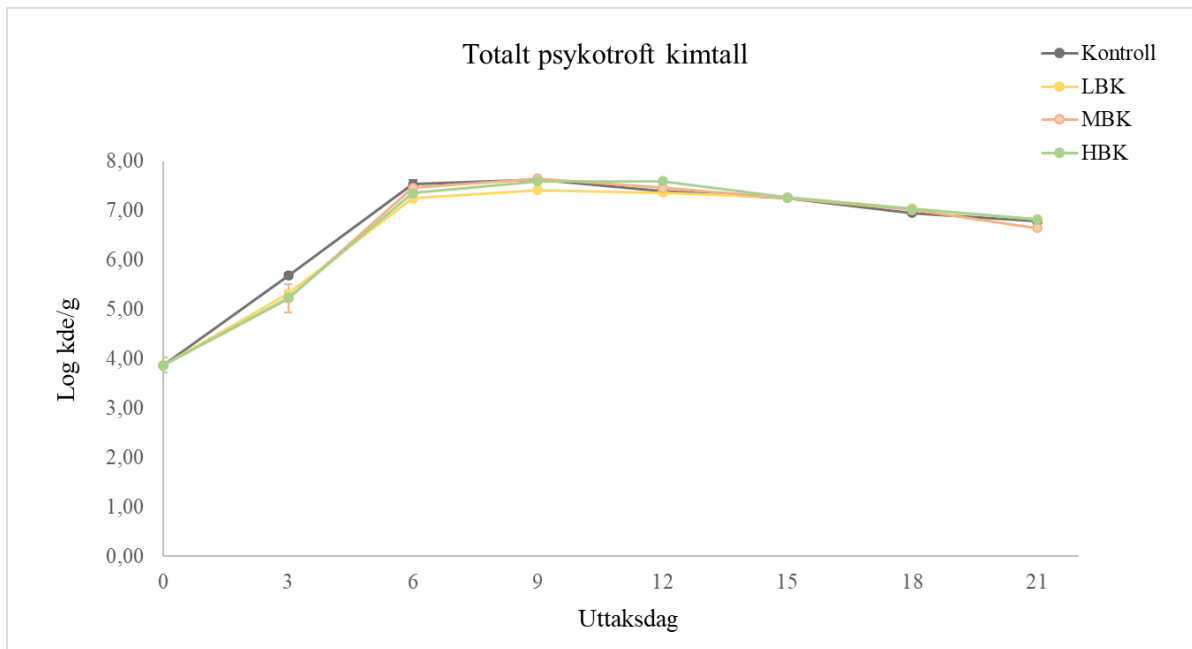
Tilsetning av de ulike butarekonsentrasjonene i lakseburgerne resulterte i farge- og teksturforandringer av laksefarsen. Disse resultatene er ikke basert på analyser, men observasjoner gjort under tillagning av burgerne og under lagringsforsøket (21 dager). Laksefarsen ble betydelig mer mørk grønn/brun, med økende butarekonsentrasjon. I tillegg ga MBK og HBK en hardere tekstur på laksefarsen samt mindre væsketap. Figur 9 viser ferdigproduserte lakseburgere, MAP-pakket.



**Figur 9:** Ferdigproduserte lakseburgere tilsatt ulike konsentrasjoner av butare; kontroll: 0 %, lav butarekonsentrasjon (LBK): 0,41 %, middel butarekonsentrasjon (MBK): 1,66 %, høy butarekonsentrasjon (HBK): 2,91 %.

### 5.3.2 Bakterievekst i lakseburger tilsatt butare

TPK ble testet i alle lakseburgere tilsatt butare samt kontroll (n=3), hver tredje dag. Resultatene er vist i figur 10 og er uttrykt i log kde/g. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene (butarekonsentrasjoner og kontroll) (GLM, p=0,995). Gjennomsnittlig TPK i rå lakseburger ved alle konsentrasjonene (kontroll, LBK, MBK og HBK) etter endt prosessering var  $3,87 \pm 0,15$  log kde/g. TPK økte til ca.  $7,50 \pm 0,05$  log kde/g i løpet av 6 dager ved kjølelagring (4°C) for alle gruppene.



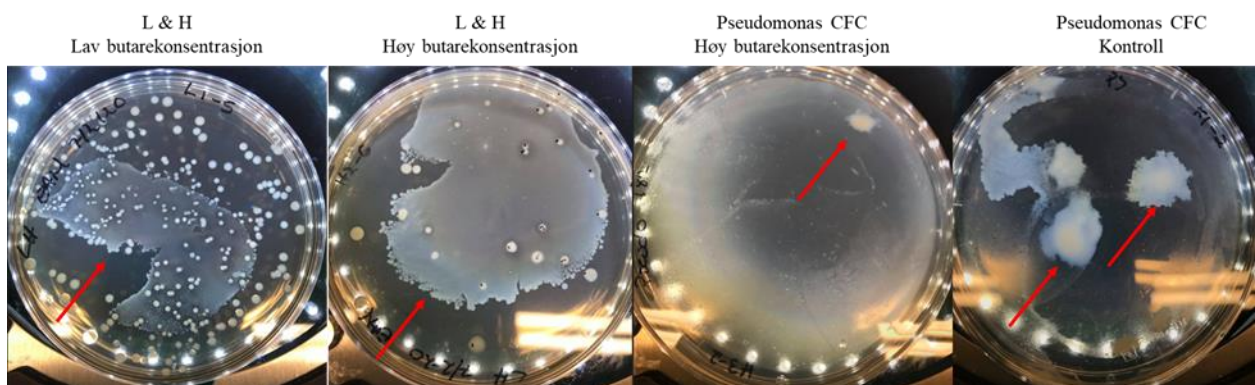
**Figur 10:** Utvikling av totalt psykotroft kintall for lakseburger tilsatt ulike konsentrasjoner av butare (kontroll, lav butarekonsentrasjon (LBK), middel butarekonsentrasjon (MBK) og høy butarekonsentrasjon (HBK)). Kintall ble avlest hver tredje dag, over en periode på 21 dager. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene (p=0,995). Resultatene er uttrykt i log kde/g.

Gjennomsnittlig TPK stabiliserte seg på ca. 7,3 log kde/g for alle gruppene som systemets bæreevne (tabell 11). Veksthastigheten,  $\mu_{maks}$ , for TPK varierte mellom 0,59 og 0,66 1/d. Lagfase for TPK ble ikke detektert.

**Tabell 11:** Vekstparametere (maksimum veksthastighet ( $\mu_{maks}$  (1/d) og bærekapasitet ( $Y_{maks}$  (log kde/g)) for totalt psykotroft kintall estimert fra Baranyi & Roberts-modell for kontroll, lav butarekonsentrasjon (LBK), middel butarekonsentrasjon (MBK) og høy butarekonsentrasjon (HBK).  $R^2$  er korrelasjonskoeffisienten av modellen og SE er standardfeil av  $R^2$ . Lagfase ble ikke detektert.

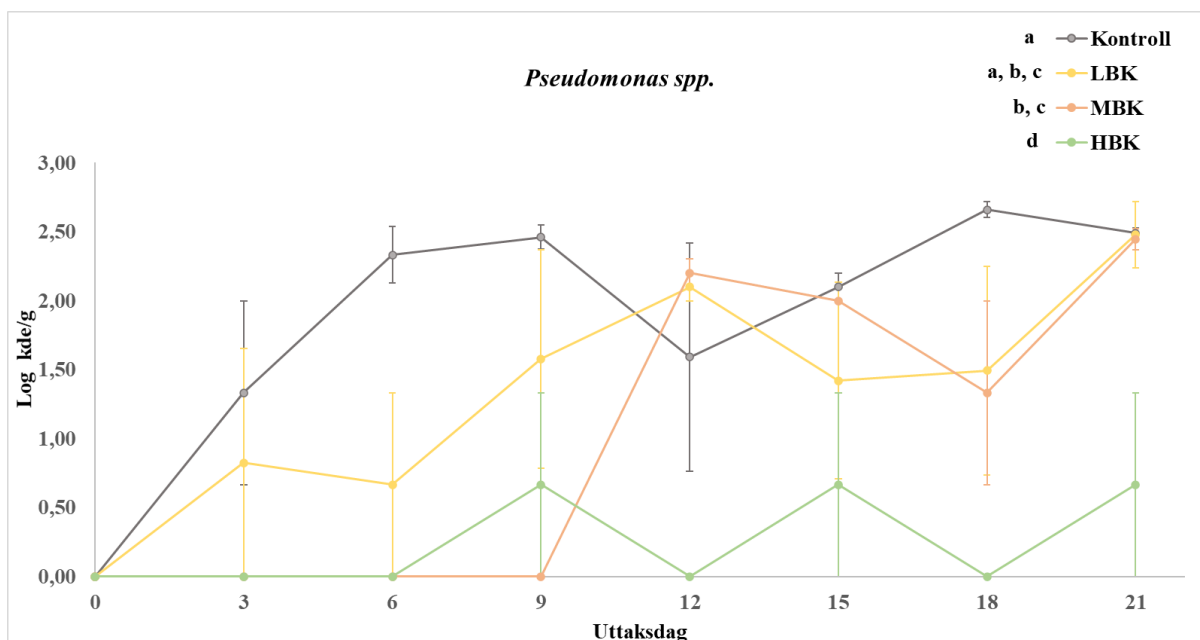
| Prøve           | $\mu_{maks}$ (1/d) | $Y_{maks}$ (log kde/g) | $R^2$ | SE   |
|-----------------|--------------------|------------------------|-------|------|
| <b>Kontroll</b> | $0,66 \pm 0,15$    | $7,25 \pm 0,15$        | 0,93  | 0,35 |
| <b>LBK</b>      | $0,59 \pm 0,10$    | $7,20 \pm 0,12$        | 0,96  | 0,27 |
| <b>MBK</b>      | $0,61 \pm 0,16$    | $7,25 \pm 0,20$        | 0,90  | 0,43 |
| <b>HBK</b>      | $0,60 \pm 0,13$    | $7,29 \pm 0,16$        | 0,92  | 0,37 |

Det ble funnet tilfeldig oppvekst av ikke-distinkte og svermende kolonier på L & H-agar og Pseudomonas CFC-agar. Disse koloniene hadde en glatt, slimlignende konsistens og varierte i størrelse og form. De ikke-distinkte koloniene ble ikke identifisert ved videre analyser, og ble heller ikke tatt med i beregning av kimtall da de var vanskelige å telle. Koloniene ble funnet i alle typer lakseburgere, inkludert kontroll. Antall ikke-distinkte kolonier varierte og oppveksten av disse var tilfeldig når det gjaldt uttaksdag, type agar (L & H og pseudomonas CFC) og prøve. De svermende koloniene er vist i figur 11.



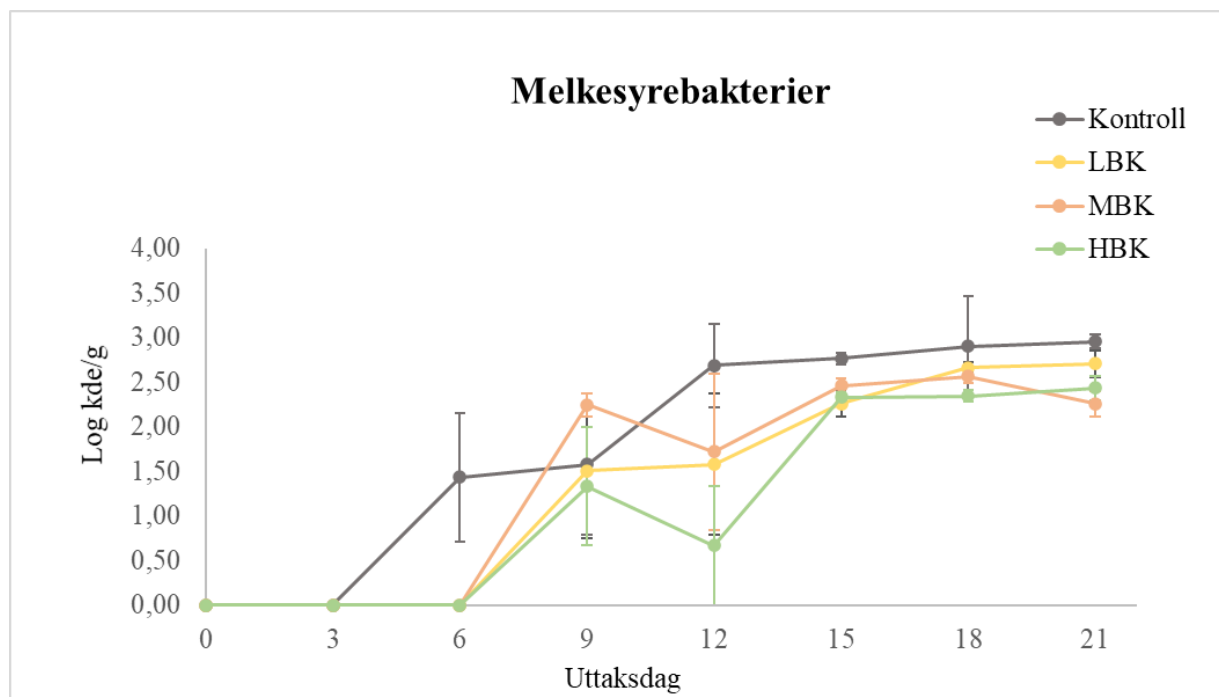
**Figur 11:** Bildeillustrasjoner viser oppvekst av tilfeldige, ikke-distinkte kolonier for kontroll, høy- og lav butarekonsentrasjon på L & H- agar og pseudomonas CFC-agar. Oppvekst Koloniene er vist med rød pil.

*Pseudomonas spp.* ble sporadisk påvist i alle gruppene gjennom lagringsforsøket. Kimtall for prøvene ble beregnet og resultatene er uttrykt i log kde/g (figur 12). Det presiseres at alle målingene er under metodens anbefalte kvantifiseringsgrense på 3 log kde/g (FisherScientific, 2011). De statistiske beregningene må derfor tolkes med forsiktighet. Det ble funnet signifikante forskjeller mellom gruppene (GLM,  $p < 0,001$ ) og disse er markert med små bokstaver ved serieforklaring. Rett etter prosessering ble det ikke funnet oppvekst av *Pseudomonas spp.* i noen av gruppene. Ved dag 3 ble det påvist oppvekst av *Pseudomonas spp.* for kontroll ( $1,33 \pm 0,67$  log kde/g) og LBK ( $0,83 \pm 0,83$  log kde/g), etterfulgt av oppvekst i MBK ( $0,67 \pm 0,10$  log kde/g) ved dag 12 og HBK ( $0,67 \pm 0,67$  log kde/g) ved dag 9. HBK hadde oppvekst under 1 log kde/g ved tre uttaksdager og det kan derfor antas til å ha vært nært null i oppvekst av *Pseudomonas spp.* gjennom lagringsstudiet (21 dager) (figur 12).



**Figur 12:** Utvikling av *Pseudomonas spp.* i lakseburger tilsatt ulike konsentrasjoner av butare (kontroll, lav butarekonsentrasjon (LBK), middel butarekonsentrasjon (MBK) og høy butarekonsentrasjon (HBK)). Kimtall ble avlest hver tredje dag, over en periode på 21 dager. Det ble funnet signifikante forskjeller mellom gruppene og er markert med små bokstaver ved serieforklaring (GLM,  $p < 0,001$ ). Resultatene er uttrykt i log kde/g.

Oppvekst av kimtall for melkesyrebakterier er vist i figur 13 og er uttrykt i log kde/g. Ved vurdering av resultater må det tas høyde for at alle målingene er under metodens anbefalte kvantifiseringsgrense på 3,2 log kde/g (NMKL, 2007). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene (GLM,  $p = 0,349$ ). Det ble heller ikke påvist LAB i noen av lakseburgerne, etter endt prosessering (dag 0). Oppvekst av LAB ble funnet i kontroll på  $1,43 \pm 0,72$  log kde/g ved dag 6. LBK, MBK og HBK ble ikke påvist før dag 9 med henholdsvis på  $1,51 \pm 0,75$  log kde/g,  $2,25 \pm 0,13$  log kde/g og  $1,33 \pm 0,67$  log kde/g.



**Figur 13:** Utvikling av melkesyrebakterier for lakseburgere tilsatt ulike konsentrasjoner av butare (kontroll, lav butare konsentrasjon (LBK), Middel butare konsentrasjon (MBK) og høy butarekonsentrasjon (HBK)). Kimtall ble avlest hver tredje dag, over en periode på 21 dager. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene ( $p=0,349$ ). Resultatene er uttrykt i log kde/g.

Det ble ikke påvist *B. thermosphacta* for noen av gruppene. Pulverisert butare benyttet ved tillaging av lakseburger ble også testet for TPK, men ble heller ikke påvist.

For å kontrollere pakkemetoden (MAP, 60 % CO<sub>2</sub>:40 % N<sub>2</sub>), benyttet for lakseburgerne under lagringsforsøket, ble gassammensetning for hver pakke testet ved hver uttaksdag, foruten uttaksdag 1. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene ( $p=0,230$ ). Resultatene er vist i vedlegg C, figur 1.

### 5.3.3 Vanntap ved dehydrering av blansjert butare

Vanntap ved dehydrering ble undersøkt ved å veie butare før og etter frysetørking. Det ble benyttet blansjert butare (90 °C-900 sek) og ble utført i tripllett ( $n=3$ ) (tabell 12).

**Tabell 12:** % vanntap i butare (blansjert ved 90 °C-900 sek) ved dehydrering i form av frysetørking ( $n=3$ ).

| g butare før frysetørking | g butare etter frysetørking | % vanntap |
|---------------------------|-----------------------------|-----------|
| 90,9                      | 13,8                        | 84,8      |

## 6 Vurdering

### 6.1 Blansjeringsstudie utført på butare

#### 6.1.1 Kvantifisering av TPC i butare blansjert ved ulike betingelser

Polyfenoler med sine antioksidative og antimikrobielle egenskaper (Gupta og Abu-Ghannam, 2011), har vist og kunne gå tapt ved varmeprosessering. Mengde komponenter som går tapt vil avhenge av om råstoffet er i direkte kontakt med blansjeringsvann eller ikke, men også hvilke tid- og temperaturkombinasjoner råstoffet påføres (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004; Wen *et al.*, 2010; Jaiswal, Gupta og Abu-Ghannam, 2012).

Blansjeringsstudiet utført på vakuumpakket butare viste ingen signifikante forskjeller i TPC ( $p = 0,150$ ) mellom de ulike betingelsene som ble testet (ublansjert, 60, 70, 80 og 90 °C i kombinasjon med holdetid 90 og 180 sek samt 90 °C-900 sek) (figur 6). Reduksjonsnivået av TPC lå på 28 % ved 90 °C-180 sekunder, 22 % for 80 °C-180 sekunder og 90 °C-90 sekunder (figur 6). Disse reduksjonsnivåene stemmer best overens med blansjeringsstudiet utført av Ahmed og Ali (2013) som fant en TPC-reduksjon i blomkål på 38 % ved blansjeringsbetingelse 100 °C-180 sekunder. Det er derimot viktig å påpeke at råstoffet benyttet i alle blansjeringsstudiene, vist i tabell 5, ble tilsatt direkte i blansjeringsvannet, mens blansjering utført i denne oppgaven ble utført vakuumpakket. Vakuumpakking av råstoff, ved varmeprosessering, har vist å hindre lekkasje av komponenter (Baardseth *et al.*, 2010; Patras, Brunton og Butler, 2010) og TPC-reduksjoner i tabell 5 er dermed ikke direkte sammenlignbare med resultater oppnådd i denne oppgaven. Videre kan det antas at TPC-reduksjoner funnet for makroalgene *H. elongata* (80 °C-40 min), *S. latissima* (60 °C-120 sek) og *S. ilicifolium* (40 °C-900 sek) med TPC-reduksjoner på henholdsvis 83 % (Cox, Gupta og Abu-Ghannam, 2012), 49 % (Wirenfeltdt, 2017) og 10 % (Susanto *et al.*, 2017) skyldes at de oppnevnte algene ble blansjert direkte i vann. Samtidig har disse algene blitt blansjert ved andre betingelser og en sammenligning er dermed ikke mulig.

Videre kan vakuumpakking av blansjert butare ha hatt en innvirkning på store standardavvik funnet for gjennomsnittlig TPC av de ulike blansjeringsbetingelsene ((figur 6, (vedlegg B, tabell 1)). Vakuumpakking kan ha bidratt til ujevn varmetilførsel på råstoffet ved varmebehandling. Homogen oppvarming av råstoff vil avhenge av blant annet råstoffets geometri (størrelse og form) (Tung, Morello og Ramaswamy, 1989). Selv om butaren ble distribuert til et tynt lag i vakuumposene, kan det hende at varmetilførselen ikke var homogen nok for hele butaren og dermed ha ført til at deler av råstoffet ble underprosessert. Videre ble butaren tint før blansjering, men optiningen av råstoffet kan ha vært inhomogent og ufullstendig gjennom

deler av råstoffet, og dermed bidratt til høye standardavvik. Ublansjert butare samt blansjeringsbetingelsene 60 °C-90 sekunder og 80 °C-180 sekunder var blant de med spesielt store standardavvik på henholdsvis 0,11, 0,21 og 0,11 g GAE/100 g butare tørrvekt. Standardavvik for 60 °C-90 sekunder ( $0,43 \pm 0,11$  g GAE/100 g butare tørrvekt) kan bidra til å forklare et høyere polyfenolnivå, sammenlignet med ublansjert, rå butare ( $0,32 \pm 0,11$  g GAE/100 g butare tørrvekt). Videre ble standardavvikene lavere, ved høyere temperaturbehandling (figur 6). Blansjeringsbetingelse 90 °C-180 sekunder ( $SD=0,01$ ) og 90 °C-900 sekunder ( $SD = <0,01$ ) hadde lavere standardavvik og er dermed mer pålitelig. Samtidig kan disse betingelsene (90 °C-180 sek og 90 °C-900 sek) gi en indikasjon på at homogen varmetilførsel har vært tilstrekkelig ved høyere temperaturer, men dette ble ikke bevist ved statistiske analyser for temperatur ( $p=0,143$ ). Det er også viktig å påpeke at polyfenoler er ustabile komponenter som kan påvirkes av en rekke faktorer (lys, temperatur, oksygen, proteiner, pH og enzymatisk aktivitet). Disse faktorene kan også ha bidratt til de store standardavvikene (Bałowska, Kucharska og Oszmiański, 2003; Volf *et al.*, 2014). Polyfenolers ustabilitet kan videre ha hatt en innvirkning på det lave polyfenolutbyttet funnet for ublansjert butare.

Ublansjert butare ble vist til å ha et innhold på  $0,32 \pm 0,11$  g GAE/100 G butare tørrvekt ((figur 6, (vedlegg B, tabell 1)), ett innhold som er lavt sammenlignet med andre studier, som fant et TPC-innhold mellom 0,37 og 4,0 % (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009; Stévant *et al.*, 2018; Tibbetts, Milley og Lall, 2016; Kopperud, 2018; Skadal, 2018; Schiener *et al.*, 2015) (tabell 3). Polyfenolnivå funnet for ublansjert butare stemte best overens med en studie utført av Roleda *et al.* (2019) som fant et nivå på 0,37 %. Likevel er TPC funnet i denne oppgaven lavere enn majoriteten av litteraturen som ble funnet og variasjonene i nivå er derfor verdt å diskutere. Blant annet ble butare benyttet i denne oppgaven fryselaagret og tint før blansjering. Wirefeldt (2017) fant signifikant tap av polyfenolinnhold i fryst *S. latissima* sammenlignet med fersk alge. Dette kan indikere at butarens lave polyfenolnivå kan stamme fra drypptap, ved fryselaagring samt opptining, og dermed ha ført til lekkasje av polyfenoler. Videre vil de rapporterte TPC-nivåene (0,37- 4,0 %) være avhengig av anvendte ekstraksjonsmetoder og -midler. I litteraturen er det lite standardisert metodikk og det er derfor vanskelig å direkte sammenligne nivåene. Samtidig har Folin-Ciocalteu metoden sine ulemper ved at andre reduksjonsmidler kan interferere med målt mengde polyfenoler (Margraf *et al.*, 2015). De refererte studiene har alle benyttet seg av Folin-Ciocalteu metoden, men brukt ulike ekstraksjonsmidler (acetone, vann, etanol og metanol) samt ulike blandingsforhold av disse (tabell 3). Kopperud (2018) studerte



TPC-utbytte ved ulike blandingsforhold av etanol og vann, og fant et høyere polyfenolutbytte ved 30 % etanol, sammenlignet med 50 %, som ble benyttet i denne oppgaven. Ved å benytte ekstraksjonsmiddel med et annet blandingsforhold kan kanskje polyfenolutbyttet ha vært høyere i dette studiet.

Kopperud (2018) sine resultater på 1,5 g GAE/100 g ekstrakt tørrvekt med samme ekstraksjonsmiddel (etanol:vann, 1:1) skal være sammenlignbare med resultater funnet for ublansjert butare i denne oppgaven ( $0,32 \pm 0,11$  g GAE/ 100 g butare tørrvekt) da ekstraksjonsmiddel, ekstraksjonsmetode, høstedata (mai) og dyrkested (Frøya, Norge) var de samme. Det lave polyfenolinnhold i denne oppgaven er overraskende, da polyfenoler er rapportert til å være høye i mai, selv om ulike studier har rapportert høyest TPC-nivå ved ulike årstider (både om våren og vinteren) (Roleda *et al.*, 2019; Stévant *et al.*, 2018; Schiener *et al.*, 2015). Likevel må det tas i betraktning at eksterne faktorer som vanntemperatur samt tilgjengelighet på lysmengde og -intensitet (Rajauria *et al.*, 2015; Maehre *et al.*, 2014; Ingergaard, 2010) fra år til år kan ha bidratt til forskjellen funnet mellom denne oppgaven og Kopperud (2018). Denne påstanden kan understøttes med resultater funnet av Gager *et al.* (2020) som viste signifikant forskjell i TPC-innhold i butare (høstet om våren fra samme sted) fra år til år (2015 og 2016).

Frysetørking av ublansjert butare ble utført før tillaging av algeekstrakt. Frysetørking kan ha bidratt til det lave polyfenolutbyttet funnet i ublansjert butare da tørkemethoden vil gi et visst tap av TPC (Le Lann, Jégou og Stiger-Pouvreau, 2008). Likevel vil ikke frysetørking av algen forklare forskjellene funnet i TPC for denne oppgaven sammenlignet med litteratur, da studiene referert i tabell 3 også har benyttet seg av frysetørking.

### **6.1.2 Kvantifisering av AO-kapasitet i butare blansjert ved ulike betingelser**

Det ble vist signifikante forskjeller i AO-kapasitet (AO-kapasitet er omvendt proporsjonal med  $EC_{50}$ -verdi) mellom blansjeringsbetingelsene ( $p=0,036$ ) (figur 7). Ublansjert butare ( $EC_{50}= 25,2 \pm 7,8$ ) hadde signifikant bedre AO-kapasitet enn butare blansjert ved 70 °C-180 sekunder ( $EC_{50}= 50,5 \pm 11,6$ ), 90 °C-90 sekunder ( $EC_{50}= 46,9 \pm 13,4$ ) og 90 °C-180 sekunder ( $EC_{50}= 49,8 \pm 9,6$ ). Betingelsen 90 °C-180 sekunder hadde en reduksjon på 49 % og var blant de med lavest AO-kapasitet. En reduksjon på 49 % i AO-kapasitet er delvis i samsvar med Jaiswal, Gupta og Abu-Ghannam (2012) sine funn, med en reduksjon på 60-65 % i kål (80-90 °C, opptil 6 min) (tabell 5). Det ble funnet få studier som omhandlet reduksjon i AO-kapasitet i makroalger som følge av blansjering, foruten Susanto *et al.* (2017) som fant en reduksjon på 33 % ved 40 °C i 15 min for *S. ilicifolium*. Reduksjon i AO-kapasitet i kål og for *S. ilicifolium* er

derimot ikke direkte sammenlignbart med resultater funnet i denne oppgaven, da det ble benyttet ulike blansjeringsbetingelser. Videre ble det funnet signifikante forskjeller mellom temperaturene ( $p=0,016$ ) og holdetidene ( $p=0,036$ ). Dette tyder på at både en økning i temperatur og holdetid påvirker tap av AO-kapasitet i butare.

Det er vanskelig å vurdere hvor vidt forholdene mellom blansjeringsbetingelsene er korrekte. Det var forventet en gradvis nedgang i AO-kapasitet ved høyere temperatur- og tid-kombinasjoner. Blansjeringsbetingelse 70 °C-180 sekunder ( $EC_{50}=50,5 \pm 11,6$ ) og 80 °C-90 sekunder ( $EC_{50}=27,2 \pm 14,6$ ) er de som avviker mest i reduksjonen av  $EC_{50}$ -verdi ((figur 7), (vedlegg C, tabell 2)). Grunnet begrenset med tid ble ikke disse betingelsene analysert på nytt, men da disse har høye standardavvik kan det antas at årsakene er de samme som beskrevet for TPC (inhomogen oppvarming av råstoff) (kapittel 6.1.1), men den samme nedgangen i standardavvik ved økende temperatur ble ikke vist for AO-kapasitet.

Kvantifisering av AO-kapasitet i ublansjert butare ( $EC_{50}$ -verdi på  $25,2 \pm 7,8$ ) i denne oppgaven var lavere sammenlignet med flere andre studier som har rapportert  $EC_{50}$ -verdier i området 0,1-6,4 (Wang, Jónsdóttir og Ólafsdóttir, 2009; Kopperud, 2018; Zubia *et al.*, 2009). Disse nivåene varierer en god del og kan skyldes ulike fremgangsmåter (når det gjelder pH, reaksjonsmiddel og DPPH-konsentrasjon i standard og prøve), men også ytre faktorer som oksygen, pH og lys (Sharma og Bhat, 2009). Som nevnt i kapittel 6.1.1 vil ekstraksjonsmidler, benyttet av ulike studier, variere og dermed føre til ulike resultater blant publikasjonene (tabell 3).

Fremgangsmåten som ble benyttet henviste til en absorbans som burde ha vært mellom 0,2-0,8 (HIST, 2019). Dette området ble ikke oppnådd under analysering av AO-kapasitet i oppgaven, da DPPH-løsningen og prøvene hadde en absorbans på henholdsvis 2,3-2,9 og 0,5-2,8. Kopperud (2018) rapporterte også absorbansverdier over 0,8 ved kvantifisering av AO-kapasitet med samme fremgangsmåte. For å kunne oppnå en absorbans mellom 0,2 og 0,8 bør DPPH-løsningen ha en konsentrasjon på 50-100  $\mu\text{M}$  (Molyneux, 2004). Resultatene funnet i denne oppgaven kan derfor være usikre med tanke på studiesammenligning. Samtidig ble dette oppdaget etter COVID-19 situasjonen og det var derfor ikke mulig å verifisere påstanden om at absorbansverdiene funnet for denne studien ikke kan sammenlignes med andre, da det ikke ble utført en absorpsjonsgradient.

Pearson korrelasjonstest ble utført i blansjeringsstudiet og viste svært liten korrelasjon ( $r= -0,193$ ) mellom polyfenolinnhold og AO-kapasitet. Dette stemmer ikke med Dudonné *et al.* (2009), som fant en høy korrelasjon mellom disse ( $R=0,939$ ). Liten korrelasjon stammer mest

sannsynlig fra signifikante forskjeller funnet mellom ulike blansjeringsbetingelser i AO-kapasitet og ingen funnet i polyfenolinnhold. Dette kan komme av at det er andre bioaktive komponenter, som for eksempel fucoxanthin, som kan ha gitt utslag i kvantifisert AO-kapasitet (Lee *et al.*, 2016; Gupta og Abu-Ghannam, 2011).

### **6.1.3 Effekt av blansjering på enzymaktivitet i butare**

Hensikten med blansjering var i hovedsak å inaktivere enzymaktivitet i butare. Det er få publikasjoner som omhandler måling av enzyminaktivering i makroalger og det er heller ingen standardisert metodikk. I vegetabilier er det vanlig å teste restaktivitet av enzymene peroksidase og katalase for å kontrollere at blansjeringsbetingelsene har vært tilfredsstillende (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004). Derfor ble dette også testet for blansjering av butare selv om metodene for katalase (kapittel 4.2.5) og peroksidase NTNU (2017) ikke er direkte utformet for analysering av makroalger.

Katalasetest ble utført på ublansjert butare og blansjeringsbetingelsene 60 °C-90 sekunder, 70 °C-90 sekunder og 80 °C-90 sekunder. Det ble observert svak O<sub>2</sub>-dannelse (brusing) for ublansjert butare og ingen O<sub>2</sub>-dannelse for de resterende blansjeringsbetingelsene (tabell 8). Resultatene indikerte at ublansjert butare (n=4) viste en svak restaktivitet av enzym. Likevel er det viktig å påpeke at observert O<sub>2</sub>-dannelse var meget svak og oppstod flere sekunder etter tilsats av 5 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Siden det ikke ble funnet studier som har benyttet samme analysemetode er derfor store usikkerheter rundt hvor vidt metoden kan benyttes for makroalger. Det er dermed vanskelig å konkludere med en enzyminaktivering ved 60 °C-90 sekunder.

Peroksidasetesten ble vist til å være lite optimal for makroalge som råstoff og det ble derfor ikke oppnådd resultater. Ved utførsel av testen ble det ikke observert fargeomslag (tabell 8). Metoden NTNU (2017) beskriver forskjellig grad av fargeomslag til brun. Ved tilsats av vann til råstoffet ble det observert lekkasje av råstoffets brun/grønne farge ut i vannet. Det var dermed vanskelig å observere om et fargeomslag, ved tilsats av reagensene, fant sted.

Da enzyminaktivering ved de ulike blansjeringsbetingelsene ikke kunne bevises ved peroksidase- og katalasetest, måtte valg av optimal blansjeringsbetingelse baseres på resultatene funnet for kvantifisering av polyfenolinnhold og AO-kapasitet samt en blansjeringsbetingelse som mest sannsynlig ga enzyminaktivering. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom blansjeringsbetingelsene for polyfenolinnhold og standardavvikene til de fleste blansjeringsbetingelsene var høye, foruten betingelsene 90 °C ved 180 og 900 sekunder. Det ble derimot funnet signifikante forskjeller mellom

blansjeringsbetingelsene for AO-kapasitet, hvor ublansjert butare var signifikant forskjellig fra 70 °C-180 sekunder, 90 °C-90 sekunder og 90 °C-180 sekunder. Det var et ønske å bevare polyfenoler, og dermed AO-kapasitet i butare og valget av optimal blansjeringsbetingelse ville statistisk sett ha vært en av blansjeringsbetingelsene som ikke viste signifikante forskjeller fra ublansjert butare, for AO-kapasitet. Likevel var det viktig å sørge for tilstrekkelig blansjering da ufullstendig varmebehandling kan føre til enzymfrigjørelse og er dermed mer skadelig sammenlignet med rå produkt (Reyes De Corcuera, Cavalieri og Powers, 2004; Fellows, 2017). Gonçalves *et al.* (2010), Shivhare *et al.* (2009) og Ruiz-Ojeda og Peñas (2013) fant 100 % reduksjon i peroksidase- og katalaseaktivitet, ved blansjeringsbetingelse 90 °C i >2 min i gulrot og grønne bønner og blansjeringsbetingelsen som var mest lik med 90 °C i >2 min var høyeste temperatur-tid-kombinasjon; 90 °C-180 sekunder. Blansjeringsbetingelsen 90 °C-180 sekunder ble derfor valgt som mest gunstig og ble derfor benyttet videre i lagringsforsøket.

## **6.2 Lagringsstudie utført for lakseburger**

### **6.2.1 Utvikling av lakseburgerresept**

Tilsats av butare ble bestemt til å utføres i frysetørket form, på bakgrunn av et høyt vanninnhold (75- 90 %) i butare (Ingergaard, 2010; Schiener *et al.*, 2015; Maehre *et al.*, 2014). Frysetørring er rapportert til å gi redusert mikrobiell aktivitet, grunnet lavere vannaktivitet i produktet (Ratti, 2001) og tilsats av frysetørket butare ble derfor vurdert som en mindre risiko for økt mikrobiell vekst i lakseburgerne. Når det gjelder tekstur av lakseburgerne, ble en eventuell tilsats av butare, som ikke hadde gjennomgått en dehydreringsprosess, vurdert til å gi lakseburgerne en bløtere konsistens. I tillegg ble det antatt at burgerne ikke ville holde sin opprinnelige form.

Lakseburgerne (80 g) ble tilsatt blansjert (90 °C-180 sekunder), pulverisert butare i konsentrasjoner; 0,41 % butare i LBK, 1,66 % i MBK og 2,99 % i HBK. Bestemmelse av konsentrasjon butare skulle i første omgang baseres på konsentrasjon butare i korrelasjon med antimikrobiell aktivitet. Grunnet manglende litteratur som setter søkelys på mengde pulverisert butare som gir en bestemt antimikrobiell effekt, samt at estimering av mengde alge tilsatt viste seg å være vanskelig (tabell 9), ble det valgt å fokusere på jodinnhold i butare, fra et mattrygghetsperspektiv.

### **6.2.2 Risikovurdering av butarekonsentrasjon i lakseburger**

Jodmangel er ansett som et globalt helseproblem, da jod er essensielt for kroppens utvikling (Fuge og Johnson, 2015; Zimmermann, 2011). Butare er rapportert til å akkumulere store mengder jod (Maehre *et al.*, 2014) og kan derfor være en potensiell kilde. Likevel kan butare

være en av risikofaktorene for overdrevent inntak og kan overskride NNR sine anbefalte grenseverdier for en voksen person (NNR, 2014).

Butarekonsentrasjoner i de ulike lakseburgerne (kontroll, LBK, MBK og HBK) ble beregnet ut ifra rapporterte jodkonsentrasjoner i butare (tabell 2). Flere publikasjoner har undersøkt jodinnhold i butare, men innholdet varierer i stor grad (220- 1,238 mg I/kg butare tørrvekt). Det ble valgt å ta utgangspunkt i SES (2016) sin oppgitte jodkonsentrasjon (450 mg I/kg butare tørrvekt), da butaren var hentet fra Seaweed Energy Solutions AS og det ble antatt at jodinnhold var omtrent den samme.

Konsentrasjoner i LBK og MBK (per 80 g lakseburger) ble beregnet for å kunne oppnå AI (150  $\mu\text{g I/ dag}$ ) og ØG (600  $\mu\text{g I/ dag}$ ) (NNR, 2014). Konsentrasjon i HBK overskrider ØG (1049  $\mu\text{g I/80 g}$ ), men her var det et fokus på å kontrollere en eventuell antimikrobiell effekt. Jodkonsentrasjonene som ble beregnet var tatt på bakgrunn av at én person inntar én 80 grams burger. Likevel er det reelt å anta at personen vil konsumere jod fra andre kilder eller flere 80 grams burgere, og vil i så fall overskride anbefalt jodinntak.

Det ble derimot ikke tatt hensyn til biotilgjengeligheten for jod. Dermed vil jodkonsentrasjoner for LBK, MBK og HBK være lavere enn tidligere beregnet. Romarís–Hortas *et al.* (2011) har rapportert en biotilgjengelighet på 17 %, mens Dominguez-Gonzalez *et al.* (2017) og Combet *et al.* (2014) beskrev en biotilgjengelighet på henholdsvis 30 og 33 %. Ved å ta utgangspunkt i en biotilgjengelighet på 17 % vil kroppen ta opp 26  $\mu\text{g I/ 80 g}$  lakseburger for LBK, 102  $\mu\text{g I/ 80 g}$  lakseburger for MBK og 178  $\mu\text{g I/ 80 g}$  lakseburger for HBK. HBK vil da være mest aktuell for å oppnå AI, mens LBK og MBK vil ligge nær NG. Ved en biotilgjengelighet på 30 % vil kroppen ta opp 45, 180 og 315  $\mu\text{g I/ 80 g}$  lakseburger for henholdsvis LBK, MBK og HBK og dermed vil MBK være mest aktuell for å oppnå AI. Samtidig har det blitt foreslått et trygt inntak på 12-35 g butare tørrvekt/ dag (Bak, 2019), noe som ikke stemmer overens med beregnede verdier funnet i denne oppgaven. Et trygt inntak på 12-35 g butare tørrvekt/dag er basert på sesongvariasjon av jod, akseptable, øvre grenseverdier av jodinntak og en biotilgjengelighet på 17 % (Bak, 2019). Forskjellen funnet i denne oppgaven, sammenlignet med inntak av butare beskrevet av Bak (2019), kan stamme fra at referansen mest sannsynlig har benyttet seg av et jodinnhold i butare på 248 mg I/kg, noe som er lavere enn benyttet i denne oppgaven (450 mg I/kg). Samtidig er det viktig å påpeke at det beregnede inntaket (12-35 g butare tørrvekt/dag) funnet i Bak (2019) egentlig stammer fra publikasjonen; *Seasonal, site and depth variation and chemical risk evaluation of total iodine in offshore commercially cultivated Faroese Saccharina latissima, Alaria esculenta and Laminaria digitata* (2019), med hovedforfatter Urd Grandorf

Bak, men denne ble ikke funnet tilgjengelig. Det er derfor vanskelig å vurdere hvilke grenseverdier av inntak I/dag som ble benyttet ved beregning av 12-35 g butare tørrvekt/dag og disse grenseverdiene kan være forskjellige fra hva NNR (2014) har oppgitt.

Samtidig er det flere faktorer som kan ha en påvirkning på lavere jodkonsentrasjon enn opprinnelig beregnet. Jodkonsentrasjonen kan påvirkes av ulike prosesseringsmetoder som vaske, tørke og varmebehandlinger (Nitschke og Stengel, 2016). Jodkonsentrasjonen benyttet i denne oppgaven kan derfor antas til å være lavere, da butaren ble påført frysetørking og blansjering.

### **6.2.3 Sensorisk beskrivelse**

Oppgavens hovedmål var å undersøke om tilsats av butare kan gi økt lagringsstabilitet i lakseburger ved antioksidative- og antimikrobielle egenskaper i butare. Likevel er forbrukeraksept en forutsetning ved produktutvikling. Ingen tekstur-, smak- og fargeanalyser ble utført på lakseburgerne, men det ble gjort observasjoner av tekstur- og fargeendringer under lagringsforsøket. Vurderingene som blir beskrevet videre blir derfor basert på observasjonene.

Under blansjeringsstudiet ble det observert fargeendring i butare. Rå butare med en brun farge ble forandre til en grønn farge ved blansjering (90 ° C-180 sek) (figur 8). En grønn farge kan assosieres med grønne vegetabilier og kan derfor gi en større aksept hos vestlige forbrukere, enn brun farge (Stévant, 2019; Bonazzi og Dumoulin, 2011). Den grønne fargen ble derimot observert til å endres til en mørkere grønnfarge ved frysetørking av butaren, som videre ble tilsatt lakseburgerne. Fargeendringen observert etter dehydrering må derfor vurderes i sammenheng med tilsats av butare i laksefarsen da dette er endelig produkt. Det ble observert tydelige fargeendringer på laksefarsen, jo høyere butarekonsentrasjon som var tilsatt (figur 9). Fargeforandringen kunne spesielt sees i MBK og HBK, med en grønn/brun farge. Farge på produktet kan være årsak til liten forbrukeraksept, spesielt med et fargeomslag fra oransje laksefarge til mørk grønn/brun farge, da denne fargen kan forbindes med fordervet produkt (Hutchings, 1994). Kumarathunge, Jayasinghe og Abeyrathne (2016) utførte et forsøk med fiskeburger, produsert fra lysrød fisk (Catla), tilsatt makroalgen *Ulva lactuca*. Det ble funnet en signifikant forskjell i forbrukeraksept av fiskeburger tilsatt 0,5 %, når det gjaldt fargeendring. En videre økning i algekonsentrasjon førte til en nedgang i aksept. I tillegg ble tekstur og smak akseptert ved tilsats av alge ved konsentrasjon 0,5 % (Kumarathunge, Jayasinghe og Abeyrathne, 2016). Basert på denne studien kan det antas at LBK, med 0,41 % butare, hadde blitt akseptert blant forbrukerne.

Det ble også observert teksturendring i laksefarsen, med økende butarekonsentrasjon. Teksturen endret seg fra en myk og bløtlignende konsistens, til en tørrere og fastere konsistens. Kontrollfarsen falt fra hverandre under de mikrobiologiske analysene, mens HBK hadde en fastere form. Da butare ble frysetørket før tilsats i lakseburger kan det antas at det har foregått en rehydreringsprosess, hvor vann fra farsen ble absorbert av algen. For å kunne konkludere for en eventuell rehydreringsprosess, burde en vannaktivitetsanalyse ha blitt utført for alle lakseburgere, men dette ble ikke utført. Vanntap ved dehydrering av butare ble derimot undersøkt og det ble funnet et tap på 84 % (tabell 12). Skadal (2018) testet rehydreringskapasitet i butare og fant den til å være 7,4 g vann/g butare for 100 % rehydrering. Stévant (2019) rapporterte en svellingskapasitet på 10,2 ml/ g alge tørrvekt for *S. latissima*. Disse resultatene kan tyde på at observasjonene er korrekte. Teksturanalyse på fiskeburger tilsatt rødalgen *Kappaphycus alvarezii* ble studert av Senthil, Mamatha og Mahadevaswamy (2005). Det ble funnet signifikante forskjeller i hardhet mellom kontroll (uten algetilsats) og 5 % algetilsats (Senthil, Mamatha og Mahadevaswamy, 2005). Makroalgenes rapporterte svellingsevne er interessant da alger kan bidra til en potensielt forbedret tekstur ved inkorporering i matprodukter.

#### **6.2.4 Bakterievekst i lakseburgere tilsatt butare**

Antimikrobiell effekt av butaretilsats i rå, kjølelagret (4 °C) lakseburger (MA-pakket i CO<sub>2</sub> 60 %: N<sub>2</sub> 40 %) ble testet over 21 dager for påvisning av TPK, *Pseudomonas spp.* LAB og *B. thermosphacta*.

Ingen signifikante forskjeller i TPK mellom gruppene (p=0,995) ble funnet (figur 10). Gjennomsnittlig TPK for alle gruppene var  $3,87 \pm 0,26$  log kde/g ved dag 0. Ved sammenligning av kimtall med andre studier, utført på laksefilet, er initiell TPK omtrentlig på samme nivå (2-4,24 log kde/g) (Hansen *et al.*, 2009; Sallam, 2007; Fernández, Aspe og Roeckel, 2009). Videre fant Hansen *et al.* (2009) en TPK-verdi på >3 log kde/g ved dag 10 i rå laksefilet pakket i MA under samme gassbetingelser, som for lakseburgerne. En annen publikasjon med samme pakkemetode, i kombinasjon med superkjøling, beskrev en TPK-verdi 3,5 log kde/g ved dag 7 (Fernández, Aspe og Roeckel, 2009), mens Mace *et al.* (2012) viste til TPK-verdi på 5 log kde/g ved dag 3 ved MA-pakking (50 % CO<sub>2</sub>:50 % N<sub>2</sub>). Det er derimot viktig å presisere at studienes resultater er basert på laksefilet og høyere TPK-verdi for laksefarse kan forventes. Ved dag seks økte TPK for alle lakseburgerne til ca.  $7,5 \pm 0,1$  log kde/g, som er over maksimum grenseverdi på 7 log kde/g for rå, fersk fisk (Stannard, 1997). Sammenlignet med refererte studier viste TPK en høyere utvikling av veksthastighet (tabell

11). Laksefarse vil prosesseres i større grad enn laksefilet og risikoen for krysskontaminasjon fra utstyr, mennesker og fra selve produktet, vil derfor være større (Gram og Huss, 1996). Selv om produksjon av lakseburgerne ble utført under sterile betingelser og ved lave temperaturer, kan ikke produktet garanteres til å være fri for kontaminasjon.

*Pseudomonas spp.* og LAB ble påvist i alle gruppene, men alle målingene var under metodenes anbefalte kvantifiseringsgrenser (FisherScientific, 2011; NMKL, 2007) og skal derfor tolkes med forsiktighet. Det ble påvist signifikante forskjeller i oppvekst av *Pseudomonas spp.*, hvor kontroll viste signifikant mer vekst av *Pseudomonas spp.* enn i MBK og HBK (figur 12). Sallam (2007) påviste at nivået av *Pseudomonas spp.* i rå laks (emballert i polyvinyllidenfilm) økte fra 3,2 log kde/g ved dag 0 til 8,73 log kde/g i løpet av 15 dager. Under aerobe forhold vil mikroflora i fisk ofte domineres av *Pseudomonas spp.* (Gram og Huss, 1996; Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002), men pakking under CO<sub>2</sub>-betingelser vil inhibere disse bakteriene i fiskeprodukter (Gram og Huss, 1996). Lakseburgerne i denne studien ble pakket i 60 % CO<sub>2</sub>, noe som kan ha bidratt til at nivået generelt var lavt. Forskjellen i kimtall ved dag 21 (2,49 log kde/g) og 15 (8,73 log kde/g), funnet i denne oppgaven sammenlignet med Sallam (2007), er mest sannsynlig på grunn av ulike pakkeatmosfærer.

LAB ble påvist ved dag 6 for kontroll og dag 9 for LBK, MBK og HBK, men ingen signifikante forskjeller ble funnet i noen av gruppene (figur 13). Etter 21 dager hadde kontroll økt til 2,96 ± 0,13 log kde/g, noe som er relativt lavt, sammenlignet med 5,23 log kde/g etter 15 dager, funnet av Sallam (2007). Vekst av *B. thermosphacta* ble også analysert, men ble ikke påvist under lagringsstudiet for noen av lakseburgerne. Oppvekst av TPK i butare ble også testet, men ikke påvist.

Det ble observert sporadisk oppvekst av ikke-distinktive kolonier på L & H-agar og *Pseudomonas* CFC-agar (figur 11) og må tas hensyn til ved vurdering av oppvekst av *Pseudomonas spp.* og TPK. Oppvekst var uavhengig av uttaksdag og prøve, samtidig som at koloniene varierte i størrelse og form. Det ble valgt å utelate identifisering av disse koloniene da det var begrenset med tid på laboratoriet. De svermende koloniene ble ikke tatt med ved telling av kolonier da form, størrelse og utseende varierte i stor grad.

Det er vanskelig å vurdere hvor vidt antimikrobiell effekt i lakseburgerne ble oppnådd ved butaretilsats. Kumarathunge, Jayasinghe og Abeyrathne (2016) fant et lavere totalt kimtall for burgere tilsatt makroalge sammenlignet med kontroll. Dette tilsier at pulveriserte makroalger kan ha en antimikrobiell effekt i fiskeburgere, selv om det ikke ble funnet signifikant forskjell



i oppvekst av TPK og LAB mellom kontroll og burgere tilsatt butare. Påvist *Pseudomonas spp.* og LAB hadde verdier under kvantifiseringsgrensene og resultatene er dermed usikre. Det er derfor viktig å påpeke at det er flere faktorer enn tilsats av algen som kan ha hatt en innvirkning på høyere oppvekst i kontroll, sammenlignet med burgere tilsatt butare. Eksempelvis kan de lave nivåene av polyfenoler og AO-kapasitet, funnet i blansjeringsstudiet, forklare hvorfor det ikke ble vist en tydelig antimikrobiell effekt. Det kan tenkes at butaren som ble benyttet ikke hadde tilstrekkelig med innhold av polyfenoler for å oppnå antimikrobiell effekt. Videre kan observert hardhet i tekstur for HBK hatt en innvirkning på lavere oppvekst av *Pseudomonas spp.* i HBK, sammenlignet med kontroll. Det kan antas at vannaktivitet i farsen for LBK, MBK og HBK har blitt redusert, grunnet svelling av butare og en reduksjon i vannaktivitet kan redusere oppvekst av bakterier (Ratti, 2001). Saltinnholdet i butaren kan også ha hatt en innvirkning på lavere oppvekst i burger med alge. Saltinnhold ble ikke analysert, men butare er rike på salter og det er rapportert et høyt saltnivå på 36 mg/kg tørrvekt (Stévant *et al.*, 2017; Stévant, 2019). Det er velkjent at salt har evnen til å redusere vannaktivitet (Albarracín *et al.*, 2011). Det kan derfor antas at økt butarekonsentrasjon kan ha ført til at saltene i algen har gitt redusert vannaktiviteten, men også bidratt til LBK, MBK og HBK sin tekstur, ved økende grad av hardhet. Ingen signifikante forskjeller funnet for TPK, mellom kontroll og lakseburger tilsatt butare, kan være forårsaket av oppvekst av salttolerante bakterier, som for eksempel *P. phosphoreum*, som også er CO<sub>2</sub>-tolerant (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002; Waters og LLoyd, 1985; Manivasagan, Venkatesan og Kim, 2015). Likevel vil denne påstanden avhenge av mengde salt som er til stede i lakseburgerne, noe som er uvisst, i forhold til hvor nye salt bakterien tåler.

Lipidoksidasjon i lakseburgerne ble ikke studert i denne oppgaven grunnet begrenset med tid, men det har blitt utført studier hvor antioksidativ effekt mot lipidoksidasjon har blitt påvist i fiskeburgere tilsatt makroalgeekstrakt (Jonsdottir *et al.*, 2016; Ortiz, Vivanco og Aubourg, 2014; Wang *et al.*, 2010). Det hadde vært interessant å undersøke hvilken effekt tilsats av pulverisert butare hadde hatt på lipidoksidasjon i laksefarse, da produksjon av farse vil introdusere høye nivåer av oksygen og dermed bidra til cellulære forstyrrelser i laksen, noe som fører til at lipidene er mer eksponert for oksidasjon (Undeland, Ekstrand og Lingnert, 1998).

## 7 Konklusjon

Resultatene viste ingen indikasjon på hvilken kombinasjon av blansjeringsstemperatur og -holdetid som ga best utbytte av både polyfenoler og antioksidativ kapasitet, samt enzyminaktivering i butare. Ingen forskjeller i tap av polyfenoler ble vist ved noen av de undersøkte blansjeringsbetingelsene. Det ble derimot funnet forskjeller for antioksidativ kapasitet i butare, men det ligger usikkerheter om hvor vidt resultatene er reelle da ble funnet store standardavvik ved flere av betingelsene, som trolig oppstod fra inhomogen oppvarming av vakuumpakket butare. Metodikk benyttet i oppgaven for måling av enzymaktivitet i butare var ikke optimal og det var derfor vanskelig å konkludere med hvilke blansjeringsbetingelser som oppnådde enzyminaktivering. Det var dermed vanskelig å vurdere optimal blansjeringsbetingelse for butare. Likevel kan det konkluderes med at økende temperatur og holdetid påvirker reduksjon av antioksidativ kapasitet i butare, ved blansjering.

Lakseburgere tilsatt pulverisert butare indikerte ikke en økt lagringsstabilitet, da det ikke funnet lavere oppvekst av totalt psykotroft kimtall og melkesyrebakterier i rå lakseburger tilsatt butare, sammenlignet med lakseburger uten tilsats. Det ble derimot funnet lavere oppvekst av *Pseudomonas spp.* i lakseburgere tilsatt 1,66 og 2,33 % pulverisert butare enn for lakseburger uten tilsats. Likevel er det vanskelig å vurdere om redusert oppvekst av *Pseudomonas spp.* skyldes antimikrobiell effekt fra algen, da tilsats av salt fra algen eller en eventuell rehydrering av vann fra laksefarse til alge (en hardhet i tekstur ble observert ved økende butarekonsentrasjon) kan ha vært årsaken til forskjell i lavere oppvekst av *Pseudomonas spp.* ved tilsats av butare. I tillegg var oppvekst av *Pseudomonas spp.* relativt lavt i lakseburger, både med og uten butare. Lav oppvekst av *Pseudomonas spp.* kan antas å skyldes MA-pakking av lakseburgerne under CO<sub>2</sub>-betingelser. Samtidig ble det funnet lave nivåer av polyfenoler samt antioksidativ kapasitet, sammenlignet med litteratur, som videre kan gi en mulig forklaring hvorfor det ikke ble vist en økt lagringsstabilitet. Videre arbeid rettet mot blansjeringeffekt på TPC og enzyminaktivering for bevaring av antimikrobielle og antioksidative egenskaper i algen, er derfor av interesse da brunalger er rapportert til å ha høye nivåer av polyfenoler og har potensialet som et eventuelt middel for å stabilisere matprodukter.

## 8 Videre arbeid

Bruk av butare som en stabiliseringsingrediens i næringsmiddelindustrien har et potensiale, men det er en forutsetning å kunne etablere en blansjeringsmetodikk som både beholder de bioaktive komponentene, men også sikrer enzyminaktivering. Blansjering av vakuumpakket butare i denne oppgaven ble utført ved temperaturer mellom 60 og 90 °C ved 90 og 180 sekunder og viste ingen forskjeller i innhold av polyfenoler blant betingelsene. Det hadde vært interessant å undersøke om polyfenolutbyttet hadde vært høyere ved å blansjere ved mildere betingelser, men da kan ufullstendig enzyminaktivering oppstå. Hovedmålet med blansjering er å hemme enzymaktivitet og metodikken benyttet i denne oppgaven ble ikke funnet til å være optimal. En etablert metodikk for å måle enzyminaktivering i makroalger er derfor av interesse, spesielt hvis det er ønskelig å inkorporere hel alge i matprodukter. Vakuumpakking av butare ved blansjering ble nevnt som mulig årsak til høye standardavvik ved kvantifisering av polyfenolinnhold og AO-kapasitet. Det hadde derfor vært interessant å undersøkes hvordan blansjering av råstoff direkte i kontakt med vann påvirker polyfenolutbyttet i forhold til vakuumpakking. Blansjering direkte i vann kan antas til å være gunstigere i kommersiell skala da metoden både kan være tid- og kostnadsbesparende.

Tilsatt av pulverisert butare i lakseburgerne ga ikke forventet antimikrobiell effekt, men konsentrasjonene som ble tilsatt var heller ikke beregnet ut ifra butarens antimikrobielle egenskap. På grunn av lite litteratur som viser til korrelasjonen mellom mengde pulverisert alge som vil gi en gitt antimikrobiell effekt mot visse forringelsesbakterier, kan videre arbeid rettet mot akkurat dette bidra til å etablere alger som stabilisatorer i matprodukter. Selv om lipidoksidasjonen ikke ble testet i denne oppgaven gjelder også dette for den antioksidative effekten av makroalger, da studier har vist en effekt mot lipidoksidasjon i sjømatprodukter, men det er også studier som ikke funnet en antioksidativ effekt mot lipidoksidasjon.

Samtidig er forbrukeraksept av disse produktene viktig. Hvordan vil forbrukere akseptere marine makroalger som ingrediens i allerede etablerte matprodukter, som for eksempel lakseburger eller kjøttkaker? Videre arbeid rettet mot tekstur-, farge- og smakaksept fra forbrukere er anbefalt da inkorporering av marine alger i matindustrien er avhengig av konsumentene.

## 9 Referanseliste

- Adams, G. (2007) The principle of Freeze-Drying, i Day, J. G. og Stacey, G. N. (red.) *Cryopreservation and Freezedrying Protocols*. Totowa, NJ: Humana Press Inc.
- Ahmed, F. A. og Ali, R. F. (2013) Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower, *Biomed Res Int*, 2013, s. 367819. doi: 10.1155/2013/367819.
- Albarracín, W. *et al.* (2011) Salt in food processing; usage and reduction: a review, *International Journal of Food Science & Technology*, 46(7), s. 1329-1336. doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02492.x.
- Alghazeer, R. *et al.* (2013) Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the western coast of Libya, *Natural Science*, 05(01), s. 7-14. doi: 10.4236/ns.2013.51002.
- Amin, I. og Lee, W. Y. (2005) Effect of different blanching times on antioxidant properties in selected cruciferous vegetables, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(13), s. 2314-2320. doi: 10.1002/jsfa.2261.
- Annonu, A. A. *et al.* (2012) Bioavailability of micro and macro-minerals in cockerels fed processed ackee apple seeds in diets, *International Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1, s. 190-193.
- Baardseth, P. og Slinde, E. (1983) Peroxidase, Catalase and Palmitoyl-CoA Hydrolase Activity in Blanched Carrot Cubes after Storage at -20°C, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, s. 1257-1262
- Baardseth, P. *et al.* (2010) Vitamin C, total phenolics and antioxidative activity in tip-cut green beans (*Phaseolus vulgaris*) and swede rods (*Brassica napus* var. *napobrassica*) processed by methods used in catering, *J Sci Food Agric*, 90(7), s. 1245-1255. doi: 10.1002/jsfa.3967.
- Bak, U., G (2019) *Seaweed cultivation in the Faroe Islands: An investigation of the biochemical composition of selected macroalgal species, optimised seeding techniques, and openocean cultivation methods from a commercial perspective*, Technical University of Denmark.
- Bąkowska, A., Kucharska, A. Z. og Oszmiański, J. (2003) The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex, *Food Chemistry*, 81(3), s. 349-355. doi: 10.1016/s0308-8146(02)00429-6.

- Bell, G., J *et al.* (2000) Depletion of  $\alpha$ -Tocopherol and Astaxanthin in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Autoxidative Defense and Fatty Acid Metabolism, *American Society for Nutritional Sciences*, 130, s. 1800–1808.
- Biancarosa, I. *et al.* (2018) Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: benefits of and limitations to their potential use in food and feed, *J Sci Food Agric*, 98(5), s. 2035-2042. doi: 10.1002/jsfa.8798.
- Blikra, M. J. *et al.* (2019) Assessment of food quality and microbial safety of brown macroalgae (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*), *J Sci Food Agric*, 99(3), s. 1198-1206. doi: 10.1002/jsfa.9289.
- Bonazzi, C. og Dumoulin, E. (2011) Quality Changes in Food Materials as Influenced by Drying Processes, *Modern Drying Technology*, 3(1), s. 1-20.
- Boy, E. *et al.* (2009) Achievements, challenges, and promising new approaches in vitamin and mineral deficiency control, *Nutr Rev*, 67 Suppl 1, s. S24-30. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00155.x.
- Bruhn, A. *et al.* (2016) Impact of environmental conditions on biomass yield, quality, and bio-mitigation capacity of *Saccharina latissima*, *AQUACULTURE ENVIRONMENT INTERACTIONS*, 8, s. 619–636.
- Brunner, T. A., van der Horst, K. og Siegrist, M. (2010) Convenience food products. Drivers for consumption, *Appetite*, 55(3), s. 498-506. doi: 10.1016/j.appet.2010.08.017.
- Capps, O., Tedford, J. og Haclicek, J. (1983) Impacts of Household Composition on Convenience and Nonconvenience Food Expenditures in the South, *Journal of Agricultural and Applied Economics*, 15(2), s. 111-118.
- Chan, J., C,C, Cheung, P., C,K og Ang, P., O (1997) Comparative Studies on the Effect of Three Drying Methods on the Nutritional Composition of Seaweed *Sargassum hemiphyllum* (Turn.) C. Ag., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, s. 3056-3059.
- Chen, Y. *et al.* (2008) Spectroscopic, stability and radical-scavenging properties of a novel pigment from gardenia, *Food Chem*, 109(2), s. 269-277. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.023.
- Combet, E. *et al.* (2014) Low-level seaweed supplementation improves iodine status in iodine-insufficient women, *British Journal of Nutrition*, 112(5), s. 753-761.
- Cox, S., Gupta, S. og Abu-Ghannam, N. (2012) Effect of different rehydration temperatures on the moisture, content of phenolic compounds, antioxidant capacity and textural

- properties of edible Irish brown seaweed, *Lwt*, 47(2), s. 300-307. doi: 10.1016/j.lwt.2012.01.023.
- de Boer, M. *et al.* (2004) The influence of lifestyle characteristics and beliefs about convenience food on the demand for convenience foods in the Irish market, *Food Quality and Preference*, 15(2), s. 155-165. doi: 10.1016/s0950-3293(03)00054-5.
- Delaquis, P., J *et al.* (2002) Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils, *International Journal of Food Microbiology*, 74, s. 101–109.
- Dellarosa, N. *et al.* (2015) Enrichment of convenience seafood with omega-3 and seaweed extracts: Effect on lipid oxidation, *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), s. 746-752. doi: 10.1016/j.lwt.2014.09.032.
- Dominguez-Gonzalez, M. R. *et al.* (2017) Evaluation of Iodine Bioavailability in Seaweed Using in Vitro Methods, *J Agric Food Chem*, 65(38), s. 8435-8442. doi: 10.1021/acs.jafc.7b02151.
- Domínguez, H. (2013) *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals*. Woodhead Publishing.
- Dudonné, S. *et al.* (2009) Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), s. 1768–1774.
- Duinker, A. *et al.* (2016) *Potential risks posed by macroalgae for application as feed and food: A Norwegian perspective*. Mattilsynet: National Institute of Nutrition and Seafood Research (NIFES).
- Emborg, J. *et al.* (2002) Microbial spoilage and formation of biogenic amines in fresh and thawed modified atmosphere-packed salmon (*Salmo salar*) at 2 °C, *Journal of Applied Microbiology*, 92, s. 790-799.
- Everette, J., D *et al.* (2010) Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin-Ciocalteu Reagent, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, s. 8139–8144
- Fante, L. og Noreña, C. P. Z. (2012) Enzyme inactivation kinetics and colour changes in Garlic (*Allium sativum* L.) blanched under different conditions, *Journal of Food Engineering*, 108(3), s. 436-443. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.08.024.
- FAO (2012) *Code of practice for fish and fishery products*.

- Fellows, P. J. (2017) Blanching, i Ltd, E. (red.) *Food Processing Technology*. Fourth Edition. utg. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, s. 525-538.
- Fernández, K., Aspe, E. og Roeckel, M. (2009) Shelf-life extension on fillets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using natural additives, superchilling and modified atmosphere packaging, *Food Control*, 20(11), s. 1036-1042. doi: 10.1016/j.foodcont.2008.12.010.
- FisherScientific (2011) *OXOID QUALITY ASSURANCE PRODUCT SPECIFICATION; PSEUDOMONAS CFC SELECTIVE SUPPLEMENT*. Tilgjengelig fra: <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/MBD/Specification-Sheets/BT-SPEC-0469.pdf> (Hentet: 23.02 2020).
- Fleurence, J. (1999) Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses, *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), s. 25-28.
- FN (2017) *FNs bærekraftsmål*. Tilgjengelig fra: <https://www.fn.no/Om-FN/FNs-baerekraftsmaal> (Hentet: 29.03 2020).
- Frankel, E., N (1980) Lipid Oxidation, *Prog. Lipid Research*, 19, s. 1-22.
- FSAI (2016) *Guidance Note No. 3: Guidelines for the Interpretation of results of microbiological testing of ready-to-eat foods placed on the market (Revision 2)*". Tilgjengelig fra: [https://www.fsai.ie/food\\_businesses/micro\\_criteria/guideline\\_micro\\_criteria.html](https://www.fsai.ie/food_businesses/micro_criteria/guideline_micro_criteria.html) (Hentet: 03.05 2020).
- Fuge, R. og Johnson, C. C. (2015) Iodine and human health, the role of environmental geochemistry and diet, a review, *Applied Geochemistry*, 63, s. 282-302. doi: 10.1016/j.apgeochem.2015.09.013.
- Gager, L. *et al.* (2020) Active phlorotannins from seven brown seaweeds commercially harvested in Brittany (France) detected by 1H NMR and in vitro assays: temporal variation and potential valorization in cosmetic applications, *Journal of Applied Phycology*.
- Gamal, A. A. E. (2011) Biological Importance of Marine Algae, i Kim, S.-K. (red.) *Handbook of marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*. John Wiley & Sons, Ltd, s. 35.
- Ganesan, P., Kumar, C. S. og Bhaskar, N. (2008) Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds, *Bioresour Technol*, 99(8), s. 2717-2723. doi: 10.1016/j.biortech.2007.07.005.

- Gao, K. og McKinley, R. (1994) Use of macroalgae for marine biomass production and CO<sub>2</sub> remediation: a review, *Journal of Applied Phycology*, 6, s. 45-60.
- Gasthi, G., Z (2002) *Estimation of microbiological and chemical variations in minced fish processing of Atlantic pollock (Pollachius vireos)* Sturgeon International Research Institute
- Gonçalves, E. M. *et al.* (2010) Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching, *Journal of Food Engineering*, 97(4), s. 574-581. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.12.005.
- Gram, L. og Huss, H., H (1996) Microbiological spoilage of fish and fish products *International Journal of Food Microbiology*, 33, s. 121-137.
- Gupta, S., Rajauria, G. og Abu-Ghannam, N. (2010) Study of the microbial diversity and antimicrobial properties of Irish edible brown seaweeds, *International Journal of Food Science & Technology*, 45(3), s. 482-489. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02149.x.
- Gupta, S. og Abu-Ghannam, N. (2011) Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds, *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), s. 315-326. doi: 10.1016/j.tifs.2011.03.011.
- Hannssen, T., M (2016) *Current Status of Global Cultivated Seaweed Production and Markets*. Tilgjengelig fra: <https://forskning.no/oppdrett-hav-og-fiske-partner/bor-kunne-20-doble-produksjonen-av-tang-og-tare/424133> (Hentet: 12.04 2020).
- Hansen, A. A. *et al.* (2009) Quality changes of prerigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) packaged in modified atmosphere using CO<sub>2</sub> emitter, traditional MAP, and vacuum, *J Food Sci*, 74(6), s. M242-249. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01233.x.
- HIST (2019) Antioksidativkapasitet i frukt og bær *Prosedyresamling Doknr: PS 10* (s. 6): NTNU.
- Holdsworth, S., D og Simpson, R. (2016) Thermal Processing of Packaged Foods iBarbosa-Cánovas, G., V (red.) *Food Engineering Series*. 3. utg.
- Holdt, S. L. og Kraan, S. (2011) Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation, *Journal of Applied Phycology*, 23(3), s. 543-597. doi: 10.1007/s10811-010-9632-5.
- Hu, J. *et al.* (2012) Bioactive Metabolites from Seaweeds, i Kim, S.-K. (red.) *Handbook of Marine Macroalgae: Biotechnology and Applied Phycology*. 1. utg. John Wiley & Sons, Ltd, s. 262-281.
- Hurd, C. L. *et al.* (2014) Life histories, reproduction, and morphogenesis *Seaweed Ecology and Physiology*. 2. utg. Cambridge University Press, s. 48-99.



- Hutchings, J., B (1994) *Food Colour and Appearance*. 1. utg. Chapman & Hall.
- Imbs, T. I. og Zvyagintseva, T. N. (2018) Phlorotannins are Polyphenolic Metabolites of Brown Algae, *Russian Journal of Marine Biology*, 44(4), s. 263-273. doi: 10.1134/s106307401804003x.
- Ingergaard, M. (2010) *Tang og tare – i hovedsak norske brunalger: Forekomster, forskning og anvendelse*. Trondheim.
- Jaiswal, A. K., Gupta, S. og Abu-Ghannam, N. (2012) Kinetic evaluation of colour, texture, polyphenols and antioxidant capacity of Irish York cabbage after blanching treatment, *Food Chemistry*, 131(1), s. 63-72. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.032.
- Jaswir, I. *et al.* (2014) Study on anti-bacterial potentials of some Malaysian brown seaweeds, *Food Hydrocolloids*, 42(2), s. 275-279.
- Jittrepotch, N., Ushio, H. og Ohshima, T. (2006) Effects of EDTA and a combined use of nitrite and ascorbate on lipid oxidation in cooked Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*) during refrigerated storage, *Food Chemistry*, 99(1), s. 70-82. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.021.
- Jonsdottir, R. *et al.* (2016) The ability of in vitro antioxidant assays to predict the efficiency of a cod protein hydrolysate and brown seaweed extract to prevent oxidation in marine food model systems, *J Sci Food Agric*, 96(6), s. 2125-2135. doi: 10.1002/jsfa.7328.
- Kjørsvik, A., G (2017) *Dyrking av makroalger – en ny vekstnæring?*, Norges arktiske universitet.
- Kopperud, S. (2018) *Utnyttelse av bioaktive komponenter fra butare (Alaria esculenta) for økt kvalitet i et filetprodukt av Atlantisk laks (Salmo salar L) pakket i modifisert atmosfære*, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.
- Kraan, S., Tramullas, A., V og Guiry, M., D (2000) The edible brown seaweed *Alaria esculenta* (Phaeophyceae, Laminariales): hybridization, growth and genetic comparisons of six Irish populations, *Journal of Applied Phycology*, 12, s. 577-583.
- Kumarathunge, N., C, Jayasinghe, J., M, P og Abeyrathne, E., D, N, S (2016) Development of Sea Lettuce (*Ulva lactuca*) and Catla (*Catla catla*) Incorporated Protein and Fiber Rich Fish Burger
- International Journal of Research in Agricultural Sciences*, 3(4), s. 2348 – 3997
- Lassen, K. (2017) *Storinnkjøp en gang i uka gir mer matsvinn*. Tilgjengelig fra: <https://forskning.no/forbruk-mat-oslomet/storinnkjop-en-gang-i-uka-gir-mer-matsvinn/321696> (2020).

- Le Lann, K., Jégou, C. og Stiger-Pouvreau, V. (2008) Effect of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassacean species: Comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross, *Phycological Research*, 56(4), s. 238-245. doi: 10.1111/j.1440-1835.2008.00505.x.
- Lee, S. H. *et al.* (2016) Octaphloretol A, a marine algae product, exhibits antidiabetic effects in type 2 diabetic mice by activating AMP-activated protein kinase and upregulating the expression of glucose transporter 4, *Food Chem Toxicol*, 91, s. 58-64. doi: 10.1016/j.fct.2016.02.022.
- Li, Y.-X. *et al.* (2011) Phlorotannins as bioactive agents from brown algae, *Process Biochemistry*, 46(12), s. 2219-2224. doi: 10.1016/j.procbio.2011.09.015.
- Mabeau, S. og Fleurence, J. (1993) Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects, *Trends in Food Science & Technology*, 4, s. 103-107.
- Mace, S. *et al.* (2012) Characterisation of the spoilage microbiota in raw salmon (*Salmo salar*) steaks stored under vacuum or modified atmosphere packaging combining conventional methods and PCR-TTGE, *Food Microbiol*, 30(1), s. 164-172. doi: 10.1016/j.fm.2011.10.013.
- Maehre, H. K. *et al.* (2014) Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed, *J Sci Food Agric*, 94(15), s. 3281-3290. doi: 10.1002/jsfa.6681.
- Magnusson, M. *et al.* (2016) Seaweed salt from *Ulva*: A novel first step in a cascading biorefinery model, *Algal Research*, 16, s. 308-316.
- Magnusson, M. *et al.* (2017) A comparative assessment of microwave assisted (MAE) and conventional solid-liquid (SLE) techniques for the extraction of phloroglucinol from brown seaweed, *Algal Research*, 23, s. 28-36. doi: 10.1016/j.algal.2017.01.002.
- Manivasagan, P., Venkatesan, J. og Kim, S.-K. (2015) Lactic Acid Bacteria in Seafood Products: Current Trends and Future Perspectives, i Kim, S.-K. (red.) *Seafood Science: Advances in Chemistry, Technology and Applications*. Taylor Francis Group, LLC, s. 182-202.
- Margraf, T. *et al.* (2015) Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates, *J Food Sci*, 80(11), s. C2397-2403. doi: 10.1111/1750-3841.13077.
- Marsham, S., Scott, G., W og Tobin, M., L (2007) Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds, *Food Chemistry*, 100, s. 331-336.

- Molyneux, P. (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), s. 211-219.
- Moretro, T. *et al.* (2016) Contamination of salmon fillets and processing plants with spoilage bacteria, *Int J Food Microbiol*, 237, s. 98-108. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.016.
- Morgan, C., K, Wright, J., L, C og Simpson, F., J (1980) Review of Chemical Constituents of the Red Alga *Palmaria palmata* (Dulse) *Economic Bany*, 34(1), s. 27-50.
- Mouritsen O, G. (2009) *Tang-grøntsager fra havet*. Copenhagen: Nyt Nordisk Forlag.
- Nagayama, K. *et al.* (2002) Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*, *J Antimicrob Chemother*, 50(6), s. 889-893. doi: 10.1093/jac/dkf222.
- Narasimha, R. og Ramesh, B., S (1988) Microbial Profiles of Minced Meat, *Meat Science*, 23, s. 279-291.
- Narayan, B., Miyashita, K. og Hosakawa, M. (2006) Physiological Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic Acid (DHA)—A Review, *Food Reviews International*, 22(3), s. 291-307
- Nasjonalt råd for ernæring (U.Å) *Risiko for jodmangel i Norge*. Helsedirektoratet.
- Nayar, S. og Bott, K. (2014) Current Status of Global Cultivated Seaweed Production and Markets, *world Aquaculture*, 45(2), s. 32-37.
- Nitschke, U. og Stengel, D. B. (2016) Quantification of iodine loss in edible Irish seaweeds during processing, *Journal of Applied Phycology*, 28(6), s. 3527-3533. doi: 10.1007/s10811-016-0868-6.
- NMKL (2006) Kimtall og spesifikke fordærvelsesbakterier i fisk og fiskevarer (b. 184): Nordic Committee on food Analysis.
- NMKL (2007) Melkesyre bakterier. Bestemmelse i næringsmidler i forbindelse med bederving (b. 140): Nordic Committee on food analysis.
- NNR (2014) *Nordic Nutrition Recommendations 2012- Integrating nutrition and physical activity*. Copenhagen: Nordic Council of Ministers.
- Noreen, H. *et al.* (2017) Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*, *Asian Pac J Trop Med*, 10(8), s. 792-801. doi: 10.1016/j.apjtm.2017.07.024.
- NTNU (2017) Tørking: Blansjering, flowtørking og frysetørking av gulrøtter *Peroksidastest* (s. 62-74): Studieprogram for matteknologi.

- Ortiz, J., Vivanco, J. P. og Aubourg, S. P. (2014) Lipid and sensory quality of canned Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effect of the use of different seaweed extracts as covering liquids, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(5), s. 596-605. doi: 10.1002/ejlt.201300239.
- Oxoid (2016a) Dehydrated Culture Media, STAA Agar Base: Oxoid.
- Oxoid (2016b) Dehydrated Culture Media Pseudomonas agar base: Oxoid.
- Pastoriza, L. *et al.* (1996) Effect of Carbon Dioxide Atmosphere on Microbial Growth and Quality of Salmon Slice, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(3), s. 348-352.
- Patras, A., Brunton, N. P. og Butler, F. (2010) Effect of Water Immersion and Sous-Vide Processing on Antioxidant Activity, Phenolic, Carotenoid Content and Color of Carrot Disks, *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(6), s. 1009-1023. doi: 10.1111/j.1745-4549.2009.00434.x.
- Pavia, H. og Åberg, P. (1996) Spatial variation in polyphenolic content of *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyta) *Hydrobiologia*, 326/327, s. 199-203.
- Plaza, M., Cifuentes, A. og Ibanez, E. (2008) In the search of new functional food ingredients from algae, *Trends in Food Science & Technology*, 19(1), s. 31-39. doi: 10.1016/j.tifs.2007.07.012.
- Prior, R., L, Wu, X. og Schaich, K. (2005) Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplement, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, s. 4290-4302.
- Ragan, M., A og Jensen, A. (1978) Quantitative studies on brown algal phenols. II. Seasonal variation in polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* (L.), *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 34(3), s. 245-258.
- Rajauria, G. *et al.* (2010) Effect of hydrothermal processing on colour, antioxidant and free radical scavenging capacities of edible Irish brown seaweeds, *international journal of food & Technology*, 45(12), s. 2485–2493.
- Rajauria, G. *et al.* (2015) Seaweed Sustainability: Food and Non-Food Applications, i Brijesh, K., T og Declan, J., T (red.). Elsevier, s. 315-342.
- Ratnasari, D. *et al.* (2016) The correlation between effective renal plasma flow (ERPF) and glomerular filtration rate (GFR) with renal scintigraphy<sup>99m</sup>Tc-DTPA study, *Journal of Physics: Conference Series*, 694, s. 012062. doi: 10.1088/1742-6596/694/1/012062.

- Ratti, C. (2001) Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review, *Journal of Food Engineering*, 49(4), s. 311-319. doi: 10.1016/s0260-8774(00)00228-4.
- Refsgaard, H., H.F, Brochhoff, P., B og Jensen, B. (1998) Sensory and Chemical Changes in Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) during Frozen Storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, s. 3473–3479.
- Regjeringen (2019) *Mat, mennesker og miljø* (Hentet: 20.03 202).
- Reyes De Corcuera, J., I, Cavalieri, R., P og Powers, J., R (2004) Blanching of Foods, *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*, s. 1-5.
- Ribeiro, I. S. *et al.* (2014) Shelf life and quality study of minced tilapia with Nori and Hijiki seaweeds as natural additives, *ScientificWorldJournal*, 2014, s. 485287. doi: 10.1155/2014/485287.
- Roleda, M. Y. *et al.* (2018) Iodine content in bulk biomass of wild-harvested and cultivated edible seaweeds: Inherent variations determine species-specific daily allowable consumption, *Food Chem*, 254, s. 333-339. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.02.024.
- Roleda, M. Y. *et al.* (2019) Variations in polyphenol and heavy metal contents of wild-harvested and cultivated seaweed bulk biomass: Health risk assessment and implication for food applications, *Food Control*, 95, s. 121-134.
- Romarís–Hortas, V. *et al.* (2011) Bioavailability study using an in-vitro method of iodine and bromine in edible seaweed, *Food Chemistry*, 124(4), s. 1747-1752. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.07.117.
- Roohinejad, S. *et al.* (2017) Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties, *Food Res Int*, 99(Pt 3), s. 1066-1083. doi: 10.1016/j.foodres.2016.08.016.
- Rudi, K. *et al.* (2004) Explorative multivariate analyses of 16S rRNA gene data from microbial communities in modified-atmosphere-packed salmon and coalfish, *Appl Environ Microbiol*, 70(8), s. 5010-5018. doi: 10.1128/AEM.70.8.5010-5018.2004.
- Ruiz-Ojeda, L. M. og Peñas, F. J. (2013) Comparison study of conventional hot-water and microwave blanching on quality of green beans, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, s. 191-197. doi: 10.1016/j.ifset.2013.09.009.
- Ruocco, N. *et al.* (2016) Polysaccharides from the Marine Environment with Pharmacological, Cosmeceutical and Nutraceutical Potential, *Molecules*, 21(5). doi: 10.3390/molecules21050551.
- Rupérez, P. og Saura-Calixto, F. (2001) Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish

- seaweeds, *European Food Research and Technology*, 212 s. 349–354.
- Sallam, K. I. (2007) Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, *Food Control*, 18(5), s. 566-575. doi: 10.1016/j.foodcont.2006.02.002.
- SALMA® (2020) SALMA BRG. Tilgjengelig fra: <https://www.salma.no/produkter/salma-burger/> (Hentet: 13.02 2020).
- Schiener, P. *et al.* (2015) The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*, *Journal of Applied Phycology*, 27(1), s. 363-373.
- Schultz, J. C., Hunter, M. D. og Appel, H. M. (1992) Antimicrobial activity of polyphenols mediates plant-herbivore interactions, *Plenum Press Div Plenum Publishing Corp.*
- Senthil, A., Mamatha, B., S og Mahadevaswamy, M. (2005) Effect of using seaweed (eucheuma) powder on the quality of fish cutlet, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(5), s. 327-335.
- SES (2016) Raw material specification: *Alaria esculenta* (Atlantic wakame)
- Sharma, O. P. og Bhat, T. K. (2009) DPPH antioxidant assay revisited, *Food Chemistry*, 113(4), s. 1202-1205. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.008.
- Shivhare, U. S. *et al.* (2009) Optimization of Blanching Process for Carrots, *Journal of Food Process Engineering*, 32(4), s. 587-605. doi: 10.1111/j.1745-4530.2007.00234.x.
- Sivertsvik, M., Jeksrud, W., K og Rosnes, T. (2002) A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety, *International Journal of Food Science and Technology*, 37(2), s. 107-127.
- Sivertsvik, M., Rosnes, T. J. og G.H, K. (2003) Effect of Modified Atmosphere Packaging and Superchilled Storage on the Microbial and Sensory Quality of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fillets, *Journal of Food Science*, 68, s. 1467-1472.
- Skadal, L., M (2018) *Antimikrobielle og antioksidative egenskaper ved butare (A. Esculenta), og bruk av butare som absorbent ved modifisert atmosfære pakking (MAP) av atlantisk laks (Salmo salar L.)*, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.
- Skjermo, J. *et al.* (2014) *A new Norwegian bioeconomy based on cultivation and processing of seaweeds: Opportunities and R&D needs*. SINTEF Fisheries and Aquaculture.
- Sprague, M., Dick, J. R. og Tocher, D. R. (2016) Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006-2015, *Sci Rep*, 6, s. 21892. doi: 10.1038/srep21892.

- SSB (2020) *Eksport av laks*. Tilgjengelig fra:  
<https://www.ssb.no/statbank/table/03024/tableViewLayout1/> (Hentet: 02.02 2020).
- Stannard, C. (1997) Development and use of microbiological criteria for foods: Guidance for those involved in using and interpreting microbiological criteria for foods, *Food Science and Technology Today*, 11(3), s. 139-177.
- Stévant, P. *et al.* (2017) Nutritional value of the kelps *Alaria esculenta* and *Saccharina latissima* and effects of short-term storage on biomass quality, *Journal of Applied Phycology*, 29(5), s. 2417-2426. doi: 10.1007/s10811-017-1126-2.
- Stévant, P. *et al.* (2018) Biomass soaking treatments to reduce potentially undesirable compounds in the edible seaweeds sugar kelp (*Saccharina latissima*) and winged kelp (*Alaria esculenta*) and health risk estimation for human consumption, *Journal of Applied Phycology*, 30(3), s. 2047-2060.
- Stévant, P. (2019) *Seaweeds in food applications: Effects of processing on product quality*, Norwegian University of Science and Technology Faculty of Natural Sciences.
- Susanto, E. *et al.* (2017) Effects of Different Heat Processing on Fucoxanthin, Antioxidant Activity and Colour of Indonesian Brown Seaweeds, *Earth and Environmental Science*, 55(2).
- Sveinsdottir, K. *et al.* (2002) Application of Quality Index Method (QIM) Scheme in Shelf-life Study of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) *Journal of Food Science*, 67(4), s. 1570-1578.
- Targett, N., M og Arnold, T., M (1998) Predicting the effects of brown algal phlorotannins on marine herbivores in tropical and temperate oceans, *Journal of Phycology*, 34, s. 195-205.
- Tibbetts, S. M., Milley, J. E. og Lall, S. P. (2016) Nutritional quality of some wild and cultivated seaweeds: Nutrient composition, total phenolic content and in vitro digestibility, *Journal of Applied Phycology*, 28(6), s. 3575-3585. doi: 10.1007/s10811-016-0863-y.
- Tung, M., A, Morello, G., F og Ramaswamy, H., S (1989) Food properties, heat transfer conditions and sterilization considerations in retort processes, i Singh, R., P og Medina, A., G (red.) *Food Properties and Computer- Aided Engineering of Food Processing Systems*. NATO Scientific Affairs Division: Kluwer Academic Publishers, s. 49-71.

- Undeland, I., Ekstrand, N. og Lingnert, H. (1998) Lipid Oxidation in Minced Herring (*Clupea harengus*) during Frozen Storage. Effect of Washing and Precooking, *J. Agric. Food Chem*, 46, s. 2319–2328.
- Volf, I. *et al.* (2014) Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols, *Chemical Papers*, 68(1). doi: 10.2478/s11696-013-0417-6.
- Wang, T., Jónsdóttir, R. og Ólafsdóttir, G. (2009) Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds, *Food Chemistry*, 116(1), s. 240-248. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.041.
- Wang, T. *et al.* (2010) Inhibition of haemoglobin-mediated lipid oxidation in washed cod muscle and cod protein isolates by *Fucus vesiculosus* extract and fractions, *Food Chemistry*, 123(2), s. 321-330. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.04.038.
- Wang, Y. *et al.* (2009) Sensitivity of *Escherichia coli* to Seaweed (*Ascophyllum nodosum*) Phlorotannins and Terrestrial Tannins *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 22, s. 238-245.
- Waters, P. og Lloyd, D. (1985) Salt, pH and Temperature Dependencies of Growth and Bioluminescence of Three Species of Luminous Bacteria Analysed on Gradient Plates *journal of General Microbiology*, 131(2865-2869).
- Wen, T. N. *et al.* (2010) Bioactive substance contents and antioxidant capacity of raw and blanched vegetables, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(3), s. 464-469. doi: 10.1016/j.ifset.2010.02.001.
- WHO (2011) *Evaluation of certain contaminants in food.* (WHO Technical Report 959).
- Wirenfeldt, C. (2017) *Effect of hydrothermal processing on chemical composition and quality of *Saccharina latissima* cultivated in Norway for human consumption* Norwegian University of Science and Technology
- Wong, K. og Cheung, C., P (2001) Influence of drying treatment on three *Sargassum* species 2. Protein extractability, in vitro protein digestibility and amino acid profile of protein concentrates, *Journal of Applied Phycology*, 13, s. 51-58.
- Wong, K., H og Cheung, P., C, K (2001) Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds Part II. In vitro protein digestibility and amino acid profiles of protein concentrates, *Food Chemistry*, 72, s. 11-17.
- Yamaguchi, T. *et al.* (1998) HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, *Biosci Biotechnol Biochem*, 62(6), s. 1201-1204. doi: 10.1271/bbb.62.1201.



Zimmermann, M. B. (2011) The role of iodine in human growth and development, *Semin Cell Dev Biol*, 22(6), s. 645-652. doi: 10.1016/j.semcdb.2011.07.009.

Zubia, M. *et al.* (2009) Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts, *Food Chemistry*, 116(3), s. 693-701. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.03.025.

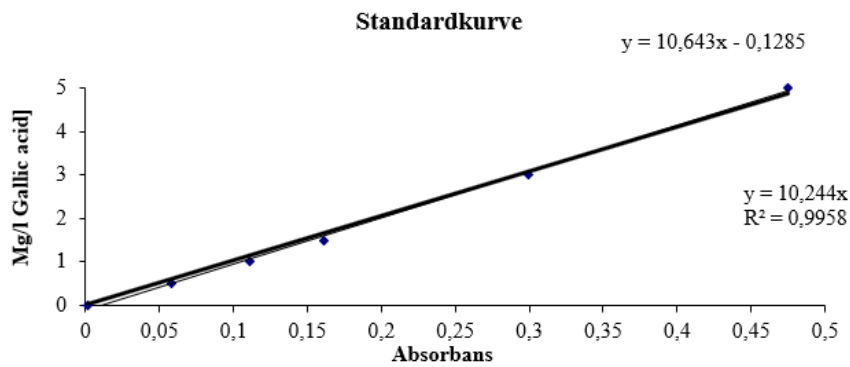
## **Vedlegg**

Vedlegg A: Standardkurve og formler benyttet for beregning av TPC og AO-kapasitet.

Vedlegg B: Middelerverdier ved kvantifisering av TPC og AO-kapasitet fra blansjeringsstudiet.

Vedlegg C: Gassammensetning i headspace under lagringsstudiet.

## Vedlegg A: Standardkurve og formler benyttet for beregning av TPC og AO-kapasitet.



**Figur 1:** Standardkurve utformet ved analysering av stamløsninger for kvantifisering av TPC.  $a=10,244$

$$GAE = a * Absorbans$$

$$\frac{GAE}{l} \text{ ekstrakt} = GAE * \text{fortynning}$$

$$\frac{GAE}{100 \text{ g}} \text{ butare tørrvekt} = \frac{GAE/l \text{ ekstrakt}}{\text{Konsentrasjon i ekstrakt g/l}} * 100$$

**Formel 1:** Formler for beregning av TPC (g GAE/100 g butare tørrvekt) i butare.  $a$  = stigningstall til standardkurve utformet ved analysering av standardløsninger. Absorbansen målt ved 750 nm.

$$\text{Radical scavenging effect (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{absorbans prøve}}{\text{absorbans blank}} \right) * 100$$

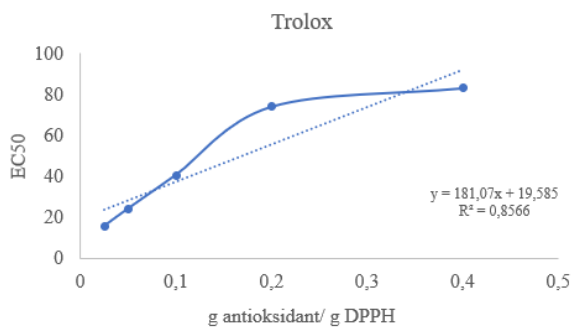
**Formel 2:** Beregning av radical scavenging effect (%) ved kvantifisering av AO-kapasitet.

$$EC50 = x = \frac{y - b}{a}$$

$$y = 50 \% (y = ax + b)$$

$$x = EC50$$

**Formel 3:** Beregning av  $EC_{50}$ -verdi ved kvantifisering av AO-kapasitet



**Figur 2:** Trolox-standardkurve for testing av DPPH-løsning.

**Vedlegg B:** Middelerverdier ved kvantifisering av TPC og AO-kapasitet fra blansjeringsstudiet.

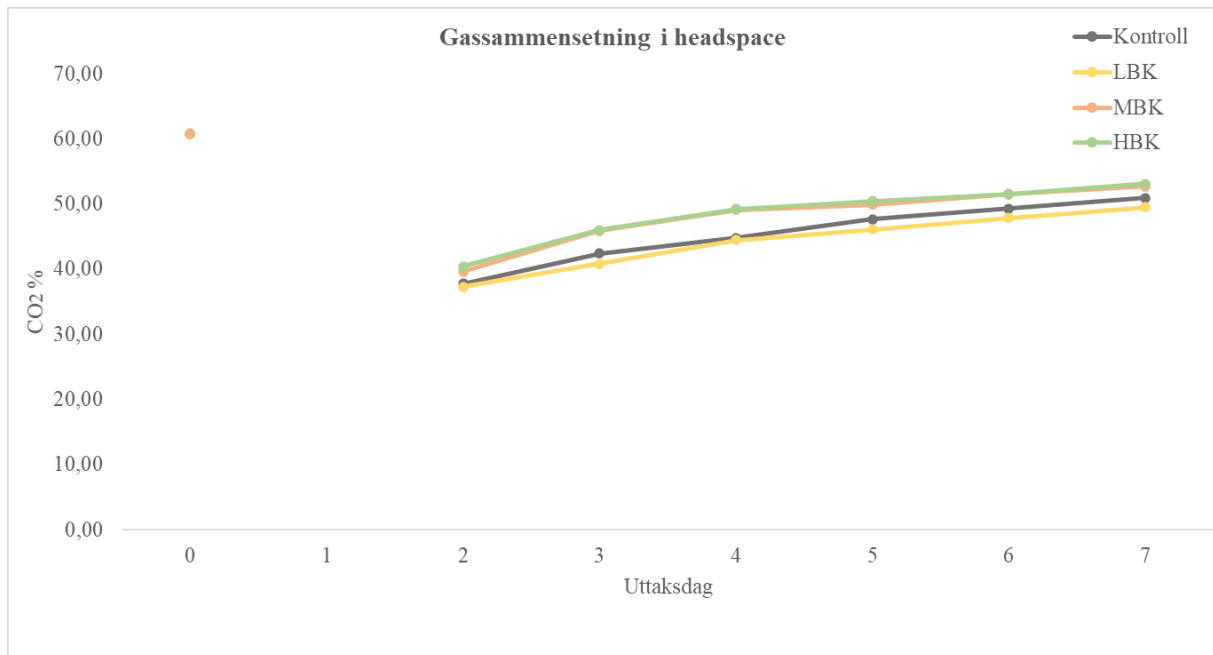
**Tabell 1:** Middelerverdier  $\pm$  standardavvik (n=3) for TPC (g GAE/100 g butare tørrvekt) i butare behandlet ved ulike blansjeringsbetingelser (60 °C, 70 °C, 80 °C og 90 °C i kombinasjon med blansjeringstid 90 og 180 sek samt 90 °C-900 sek).

| <b>Blansjeringsbetingelse</b> | <b>Totalt polyfenolinnhold<br/>(g GAE/100 g butare tørrvekt)</b> |
|-------------------------------|--|
| Ublansjert                    | 0,32 $\pm$ 0,11  |
| 60 °C - 90 sek                | 0,43 $\pm$ 0,21  |
| 60 °C - 180 sek               | 0,25 $\pm$ 0,06  |
| 70 °C - 90 sek                | 0,35 $\pm$ 0,10  |
| 70 °C - 180 sek               | 0,27 $\pm$ 0,03  |
| 80 °C - 90 sek                | 0,22 $\pm$ 0,03  |
| 80 °C - 180 sek               | 0,25 $\pm$ 0,11  |
| 90 °C - 90 sek                | 0,25 $\pm$ 0,10  |
| 90 °C - 180 sek               | 0,23 $\pm$ 0,01  |
| 90 °C - 900 sek               | 0,16 $\pm$ 0,00  |

**Tabell 2:** Middelerverdier  $\pm$  standardavvik (n=3) for AO-kapasitet (EC<sub>50</sub>-verdi) i butare behandlet ved ulike blansjeringsbetingelser (60 °C, 70 °C, 80 °C og 90 °C i kombinasjon med blansjeringstid 90 og 180 sek).

| <b>Blansjeringsbetingelse</b> | <b>AO-kapasitet<br/>(EC<sub>50</sub>-verdi)</b> |
|-------------------------------|---|
| Ublansjert                    | 25,2 $\pm$ 7,8                                  |
| 60 °C - 90 sek                | 27,4 $\pm$ 4,2                                  |
| 60 °C - 180 sek               | 35,0 $\pm$ 4,3                                  |
| 70 °C - 90 sek                | 39,7 $\pm$ 15,9                                 |
| 70 °C - 180 sek               | 50,5 $\pm$ 11,6                                 |
| 80 °C - 90 sek                | 27,2 $\pm$ 14,6                                 |
| 80 °C - 180 sek               | 41,8 $\pm$ 3,5                                  |
| 90 °C - 90 sek                | 46,9 $\pm$ 13,4                                 |
| 90 °C - 180 sek               | 49,8 $\pm$ 9,5                                  |

## Vedlegg C: Gassammensetning i headspace under lagringsstudiet.



**Figur 1:** Gassammensetning i headspace ved MAP-pakking av lakseburgere under lagringsstudie. Figur viser middelverdi av CO<sub>2</sub> % for kontroll, lav butarekonsentrasjon (LBK), middel butarekonsentrasjon (MBK) og høy butarekonsentrasjon (HBK) ved hver uttaksdag, foruten uttaksdag 1. Det ble ikke vist signifikante forskjeller mellom gruppene (p= 0,230).

