

BACHELOROPPGAVE 2022

15 studiepoeng

Oljekvalitet i fiskeensilasje

Oil quality in fish silage



Utført av:

Mia Tobiassen Berge

Tonje Elise Talmo

Veiledere:

Turid Rustad

Monika Kopczyk

Dette arbeidet er gjennomført som ledd i bachelorutdanningen i matvitenskap, teknologi og bærekraft ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU. Bruk av oppgavens innhold skjer på eget ansvar.

Sammendrag

Ofte blir det igjen store mengder restråstoff etter industriell matproduksjon, dette kan utvikles til å bli nye produkter som vil bidra til en bærekraftig industri. Fra fiskeindustrien kan restråstoff benyttes til for eksempel fiskeensilasjer. I denne bacheloroppgaven ble det sett nærmere på oljekvalitet fra fiskeensilasjer, hvor fokuset ble å se på hva som påvirker oksidasjonsprosessene til de ulike fiskeoljene. Dette på bakgrunn av at fiskeoljene inneholder høyt umettede fettsyrer som er svært utsatt for oksidasjon. Hovedmålet til oppgaven var å sammenligne fiskeoljer laget av ulike typer råstoff, kartlegge endringer i oljekvaliteten med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring, og sammenligne hvordan ulike prosessstrinn påvirker sluttkvaliteten til fiskeoljene.

Fiskeoljene ble ekstrahert fra ulike fiskeensilasjer med og uten tilstedeværelse av antioksidant, ved bruk av ulike prosessstrinn (*hydrolysert*, *termisk* og *ingen*) for å kunne skille ut olje fra resterende prøvematerialet. Dette ble gjort etter 1, 4, 7, 14, 21 og 28 dager med lagring. I tillegg ble pH målt i fiskeensilasjene for å følge med på pH-utviklingen under lagringsperioden. Fiskeoljene ble analysert for primære oksidasjonsprodukter (peroksidverdi) og sekundære oksidasjonsprodukter (thiobarbitursyre-reaktive stoffer), for å vurdere oksidasjonsutviklingen.

Resultatene viste at fiskeoljene laget av kategori 3-material (K3) bevarte oljekvaliteten betydelig bedre, og oksidasjonsprosessen gikk langsommere sammenlignet med fiskeolje laget av kategori 2-materiale (K2). K3 er restråstoff fra fisk som er tillatt slaktet for humant konsum, og K2 er fisk som i hovedsak dør før slaktning. Dette samsvarer med resultatene fra pH-utviklingen, hvor pH økte mest i K2. Olje fra både K2 og K3 hadde bedre kvalitet ved tilstedeværelse av antioksidant enn fiskeoljene uten antioksidant. Resultatene viste også at ulike prosessstrinn påvirket oksidasjonsprosessen til fiskeoljene. Ved å utelukke varmebehandling (*ingen*) under prosessering av olje vil kvaliteten i stor grad bli svekket, i tillegg førte dette til at kvaliteten ble betydelig redusert under lagringsperioden. Resultatene fra de to andre prosessstrinnene som inkluderte varmebehandling (*hydrolysert* og *termisk*) viste at disse prøvene bevarte oljekvaliteten bedre. I tillegg hadde utviklingen av disse oljene en mer stabil utvikling under lagringsperioden.

Dermed bevarte fiskeolje laget av kategori 3-materiale, tilsatt antioksidant, oljekvaliteten bedre. Det ble også konkludert med at varmebehandling bør inkluderes under prosessering for å forsinke oksidasjonsprosessen under lagringsperioden.

Abstract

Industrial food production usually generates large quantities of residual raw materials, which can be used to create new products that contribute to a more sustainable industry. From the fish industry, residual raw materials can be used to produce fish silage. In this bachelor's thesis, we studied the oil quality from fish silage with the main focus being the effects of the oxidation processes on various fish oils. This was done because the different fish oils contain marine oils, highly unsaturated fatty acids, and they are very susceptible to oxidation. The main objective of the thesis was to compare fish oils from different types of raw materials, consider changes in oil quality with and without the presence of antioxidants during storage and compare how different process steps affect the final quality of fish oils.

The fish oils were extracted from various fish silages with and without the presence of antioxidants, using various process steps (*hydrolyzed*, *thermal* and *none*) so it would be possible to separate oil from the remaining sample material. This was done after 1, 4, 7, 14, 21 and 28 days of storage. In addition, the pH was measured in the fish silages to monitor pH developments during the storage period. The fish oils were analyzed for primary oxidation products (peroxide value) and secondary oxidation products (thiobarbituric acid-reactive substances), to assess the development of oxidation.

The results showed that the fish oils made from Category 3-material (K3) preserved oil quality significantly better, and the oxidation process was slower compared to fish oil made from Category 2-material (K2). This corresponds to the results from the pH development, where the development in K2 was higher. The oil quality in K2 and K3 were better in the presence of antioxidants than fish oils without antioxidants. The results also showed that different process steps gave different oxidation processes of the fish oils. Excluding heat treatment (*none*) during the processing of oil reduced the quality, the quality was also significantly reduced during the storage period. The results from the other process stages (*hydrolyzed* and *thermal*), which included heat treatment, improved oil quality. In addition, these oils were more stable during the storage period.

In conclusion, fish oil made from category 3-material, with added antioxidants will preserve the oil quality better. It was also concluded that heat treatment should be included during processing to reduce the oxidation process during the storage period.

Forord

Denne oppgaven var en avsluttende del av bachelorprogrammet i matvitenskap, teknologi og bærekraft og ble gjennomført våren 2022 ved Norges teknisk- naturvitenskaplige universitet (NTNU), Institutt for bioteknologi og matvitenskap. Bacheloroppgaven ble utformet av Scanbio Marine Group, og var en åpen oppgave rundt restråstoff fra fiskeindustrien. Dette vakte vår interesse da vi fikk et innblikk innenfor dette temaet under praksisperioden. Etter praksisperioden ønsket vi begge å forske på hvordan man kan optimalisere prosessering av restråstoff til nye produkter.

Oppgaven ble utført ved næringsmiddellaboratoriet hos NTNU Gløshaugen. Fiskeensilasjen ble tillaget og finansiert av Scanbio Marine Group. Annet nødvendig utstyr var tilgjengelig hos NTNU.

Vi ønsker å gi en stor takk til vår veileder Turid Rustad, professor ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, som har bidratt med god veiledning og tilbakemeldinger gjennom bacheloroppgaveskrivingen og veilederen vår fra Scanbio Marine Group, Monika Kopczyk, for god hjelp både teoretisk og praktisk. Vi vil også takke Scanbio Marine Group for omvisningen og Revilija Mozuraityte fra SINTEF Ocean, for hennes bidrag under forberedelsedelen og tillaging av fiskeensilasjen sammen med Monika Kopczyk. En spesiell takk til laboratorieingeniør Siri Stavrum for god støtte og hjelp under gjennomføringen av praktisk arbeid på laboratoriet.

Underskrift:

Dato: 19/05-2022

Hia Tobiassen Berge

Tonje Elise Talmo

Forkortelser

AV - Anisidinverdi

BHA - Butylhydroksyanisol

DHA - Dokosaheksaensyre

EPA - Eikosapentaensyre

FFA - Frie fettsyrer

K2 - Kategori 2-materiale

K3 - Kategori 3-materiale

mEq - Milliekvivalent

PG - Propyl gallate

PV - Peroksidverdi

rpm - Rounds per minutes

TBA - Thiobarbitursyre

TBARS - Thiobarbitursyre-reaktive stoffer

Innholdsfortegnelse

1.0 Innledning	1
2.0 Teoretisk bakgrunn	2
2.1 Fiskeensilasje.....	2
2.2 pH i fiskeensilasje.....	4
2.3 Ekstraksjon av fiskeolje	4
2.4 Marine lipider.....	5
2.5 Fettkvalitet	6
2.5.1 Primære- og sekundære oksidasjonsprodukter	7
2.5.2 Frie fettsyrer.....	10
3.0 Materialer og metode.....	11
3.1 Materialer	11
3.1.1 Ensilering	11
3.2 Metoder.....	15
3.2.1 Måling av pH	15
3.2.2 Peroksidverdi (PV).....	15
3.2.3 Thiobarbitursyre-reaktive stoffer (TBARS).....	16
3.3 Ingredienser, tilsetningsstoffer og kjemikalier	16
4.0 Resultater	18
4.1 pH-utvikling	18
4.2 Peroksidverdi (PV)	19
4.2.1 PV: Råstoff og prosessstrinn	19
4.2.2 PV: Effekt av antioksidanter	22
4.3 Thiobarbitursyre-reaktive stoffer (TBARS)	23
4.3.1 TBARS: Råstoff og prosessstrinn.....	23
4.3.1 TBARS: Effekt av antioksidant	26
5.0 Vurdering/diskusjon	27
5.1 pH-utvikling i fiskeensilasjene	27
5.2 Råstoffene: K2 og K3.....	27
5.3 Antioksidanter.....	28
5.4 Prosessstrinn og lagring	29
5.5 PV- og TBARS-verdier.....	29
Forslag til videre arbeid.....	30
6.0 Konklusjon	31
Referanseliste	32

Forsidebilde er hentet fra: Scanbio Marine Group.

Vedlegg

Vedlegg 1: Metodebeskrivelse for peroksidverdi

Vedlegg 2: Metodebeskrivelse for thiobarbitursyre-reaktive stoffer

Vedlegg 3: Gjennomsnittsverdier med standardavvik for PV

Vedlegg 4: Gjennomsnittsverdier med standardavvik for TBARS

Vedlegg 5: Rådata for PV

Vedlegg 6: Rådata for TBARS

Vedlegg 7: Standardkurve TBARS

Vedlegg 8: Verdier fra pH-målingen av fiskeensilasjene gjennom lagringsperioden

Vedlegg 9: Resterende diagram for effekt av antioksidant, PV

Vedlegg 10: Resterende diagram for effekt av antioksidant, TBARS

Vedlegg 11: Grafer for PV og TBARS

1.0 Innledning

Hovedmålet med denne oppgaven er å sammenligne oljekvalitet laget av fiskeensilasjer med ulike typer råstoff, kartlegge endringer i oljekvaliteten med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring, og sammenligne hvordan ulike prosessstrinn påvirker sluttkvaliteten til fiskeoljene. Oppgaven er en del av et større samarbeidsprosjekt mellom Scanbio Marine Group og SINTEF Ocean. Denne type oppgave er viktig for å kunne forbedre kvaliteten på sluttproduktene som er laget av fiskeensilasje. Fiskeensilasje laget av restråstoff fra fiskeindustrien, og er dermed et bærekraftig tiltak for å kunne nyttiggjøre mest mulig av restråstoffene fra fiskeindustrien.

Det skal undersøkes hvilken effekt antioksidantene har på oljekvaliteten laget av fiskeensilasjene under lagring. I tillegg vil ulike prosessstrinn sammenlignes, for å kunne undersøke om de er med på å bedre sluttkvaliteten i fiskeoljene. Ved å gjennomføre dette prosjektet er det ønskelig å kunne gi svar på hvilke prosessstrinn som er nødvendige, og hvordan antioksidanter påvirker kvaliteten til sluttproduktet. Dette kan i tillegg gi svar på om de ulike parameterne er nødvendige for å oppnå optimal kvalitet eller om noe kan kuttes for å spare ressurser, tid og penger.

Problemstillingen for denne bacheloroppgaven er *“Hvilke endringer skjer i oljekvaliteten laget av fiskeensilasjer med ulike typer råstoff, med og uten tilstedeværelse av antioksidanter under lagring og hvordan ulike prosessstrinn påvirker sluttkvaliteten?”*. Denne og lignende problemstillinger har blitt forsket mer utdypende på i de siste årene. Grunnen til dette kan være at det har blitt et større fokus på utnyttelsen av restråstoff innen matindustrien, som bidrar til utviklingen av en mer bærekraftig industri.

Ut ifra hovedmålet ble det utformet ulike delmål:

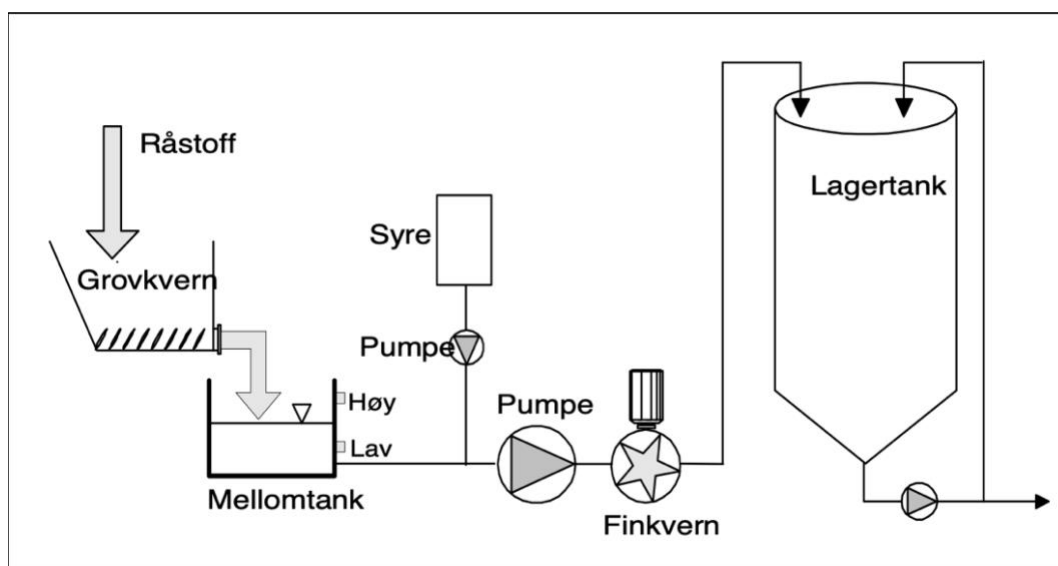
- Utvinne olje fra fiskeensilasje med og uten tilstedeværelse av antioksidanter, ved bruk av ulike prosesseringstrinn; hydrolysering, terminering og sentrifugering.
- Følge pH-utviklingen i fiskeensilasjene under lagring.
- Vurdere hvordan valg av råstoff påvirker oljekvaliteten.
- Vurdere hvordan lagringen påvirker oljekvaliteten.
- Vurdere hvordan ulike prosessstrinn påvirker oljekvaliteten.
- Vurdere hvilken effekt antioksidanter har på oljekvaliteten.

2.0 Teoretisk bakgrunn

2.1 Fiskeensilasje

Ensilasje kan fremstilles av ulike råstoff, for eksempel kan fisk og ulike fiskemateriell benyttes. Under produksjon av fiskeensilasje blir ofte to ulike kategorier av fiskeråstoff benyttet, kategori 2-materiale (K2) og kategori 3-materiale (K3) (Bækken & Bekkevold, 1993). K2 er fisk som i hovedsak dør før slakting, det kan være selvdød eller klinisk syk fisk der det ikke er noe tegn på ytre sykdom. Dette materialet kan ikke benyttes til humant konsum eller fôr til matproduserende dyr, men kan benyttes til for eksempel produksjon av fôrmiddel til pelsdyr eller produksjon til bioenergi. K3 er restråstoff fra fisk som er tillatt slaktet for humant konsum og kan benyttes til fôr til matproduserende dyr, men ikke til humant konsum (Mattilsynet, 2013; Myhre, Richardsen, Nystøyl & Strandheim, 2020).

Fiskeråstoffet blir kvernet og blandet med et konserveringsmiddel slik som vist i figur 1, dette gjør blandingen lagringsstabil over lengre tid. Som oftest blir syre benyttet som konserveringsmiddel for å senke pH-verdien til under 4,5. Denne lave pH-verdien vil stoppe vekst av mikroorganismer i blandingen (Bækken & Bekkevold, 1993; Guneriussen, 2018; R. B. Pedersen, 2010). I Norge blir som oftest maursyre benyttet som konserveringsmiddel under framstilling av ensilasje (Bækken & Bekkevold, 1993). Optimal kverning av fiskeråstoffet og kontinuerlig røring vil føre til at syren trekker raskere inn og fordeler seg jevnt for å unngå forråtnelse av ensilasjen. Syren gjør at proteinene i bindevevet brytes ned og oljen skilles fra resten av ensilasjen (Eide, Børresen & Strøm, 1982; R. B. Pedersen, 2010).



Figur 1: Eksempel på ensileringsprosess (Bækken & Bekkevold, 1993).

I tillegg til syre kan antioksidanter tilsettes i ensilasjen for å hindre oksidasjon av fett og bevare fettkvaliteten (Bækken & Bekkevold, 1993). Tidligere var det vanlig å bruke antioksidanten ethoxyquin. Marint råstoff er svært utsatt for oksidasjon og harskning på grunn av høyt innhold av langkjedede marine fettsyrer. Det har vist seg at ethoxyquin er en meget effektiv syntetisk antioksidant som bidrar til å bevare kvaliteten, i tillegg til å hindre tap av fettløselige vitaminer og karotenoider (Regjeringen, 2018). I 2015 ble det gjort en vurdering om denne antioksidanten hadde negative effekter. Det ble konkludert med at det var for lite kunnskap om effektene til ethoxyquin, men det ble oppdaget en rekke negative effekter knyttet til nedbrytningsprosessen som førte til forurensning under produksjon. Dermed ble det startet en utfasingsprosess slik at produksjonen skulle være uten denne antioksidanten i løpet av året 2020 (Mattilsynet, 2020a). To andre antioksidanter som kan benyttes er propylgallate (PG) og butylhydroksyanisol (BHA). PG er en amfifil antioksidant, denne antioksidanten er mer løselig i fett enn vann og beskytter mot lipidoksidasjon. Antioksidanten fungerer godt mot misfarging av produktet og bevarer hydrolysatene godt (Gjermstad, 2020). Imidlertid er erfaringene fra Scanbio Marine Group at PG løses godt i vann og følger proteinfasen når en separerer ensilasje. Derimot er det også vist at PG beskytter godt mot oksidasjon av cystein og dermed mot proteinoksidasjon (Gjermstad, 2020). BHA er en syntetisk antioksidant som hovedsakelig tilsettes i fiskeoljer for å hemme harskningsprosessen (Havforskningsinstituttet, 2021).

Etter tilsetning av syre(er) og antioksidant(er) har ensilasjen en ganske tyktflytende konsistens, derfor bør den settes til lagring slik at konsistens blir tynnere. Under lagringen skjer det en prosess kalt hydrolyse. Da vil det skje en nedbrytningsprosess hvor enzymene bryter ned muskelvevet og massen blir flytende. Enzymene som bryter ned muskelvevet finnes naturlig i fiskeinnvoller, skinn og fiskekjøtt og er nok til å starte hydrolysen. Hydrolyseprosessen starter når ensilasjen har pH på 3,5-4,5, og når temperaturen er over fem grader, dette vil skje raskere ved høyere temperatur, opptil 40 grader. Denne prosessen blir også kalt autolyse og forteller at den er automatisk. Det kan være utfordrende å opprettholde optimal temperatur under lagringen, spesielt på vinteren når utetemperaturene er lave. Dette vil føre til at prosessen tar lengre tid. En utfordring som kan oppstå under lagring er at tyngre komponenter, som for eksempel fiskebein vil synke til bunnen av tankene som ensilasjen oppbevares i under lagring. Dette kan føre til problemer under tømning av tanken, og risikere kvaliteten på produktet. Et problem kan være at bunnfallet i tanken vil få en høyere pH enn anbefalt, og dermed starte en forråtnelsesprosess. Videre kan dette føre til at hele innholdet i tanken blir bedervet. Derfor er det viktig å ha tilstrekkelig sirkulasjon i massen (Bækken & Bekkevold, 1993).

2.2 pH i fiskeensilasje

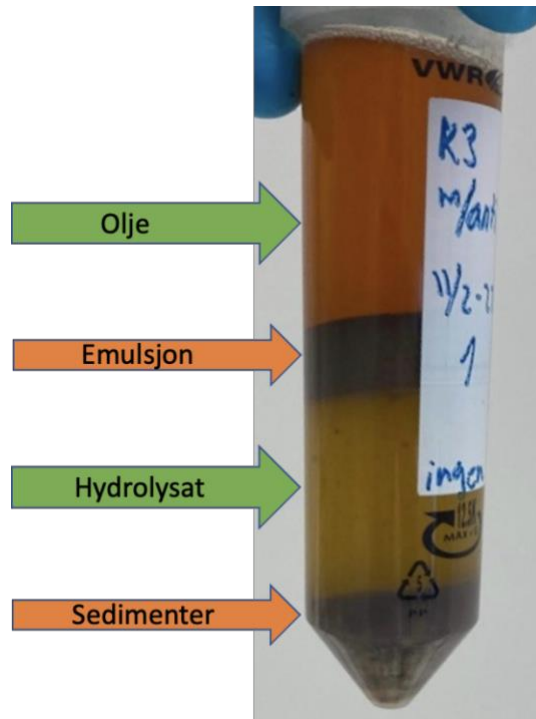
Det er viktig med riktig pH-verdi i fiskeensilasjen, siden dette vil påvirke kvaliteten til produktene som blir laget av ensilasjen. Det er anbefalt å tilsette tilstrekkelig mengde konserveringsmiddel (maursyre) slik at pH-verdien blir under 4. Ved bruk av råstoff med bein i fiskeensilasjeproduksjon, krever det ofte en større mengde syre. Dette er fordi at beinene inneholder kalsium som nøytraliserer syren. Under lagringen vil pH-verdien i ensilasjen jevnlig øke, fordi syren begynner å trenge inn i beinene og massen. Øker pH-verdien for mye vil fiskeensilasjen begynne å råtne. Dette vil føre til enda høyere pH-stigning og i verste fall må hele batchen kasseres. Ved for høye pH-verdier i fiskeensilasjen vil dette påvirke kvaliteten negativt. Ved bruk av for mye syre vil pH-verdien bli lav, dette kan føre til at materialet i lagertankene blir ødelagt på grunn av at det vil skje en korrosjon. pH-verdien bør ikke bli lavere enn 3, da enzymene vil være mindre aktive. Ved bruk av for mye syre, vil dette også påvirke økonomien. Derfor er det viktig å finne en balanse, og tilpasse mengde syre etter behov og basert på tidligere erfaringer (Bækken & Bekkevold, 1993; Guneriussen, 2018; Mattilsynet, 2020b).

2.3 Ekstraksjon av fiskeolje

For å ekstrahere olje ut av fiskeensilasjen er det ulike prosessstrinn som er vanlig å utføre. Hydrolyse fører til at ensilasjen brytes ned, slik at det blir lettere å skille ut proteiner, fett og mineraler som ulike ingredienser (Myhre et al., 2020). Termisk prosessering er en type varmebehandling som vil inaktivere fiskepatogener, enzymer og bakterier i fiskeensilasjen. Ved å gjennomføre varmeinaktivering blir produktets holdbarhet økt, i tillegg er dette et lovpålagt krav (Animaliebibiproduktforskriften, 2020; Mattilsynet, 2019).

Til slutt sentrifugeres ofte fiskeensilasjen, sentrifugeringen skjer ved hjelp av sentrifugalkraft, og under påvirkning av denne kraften vil fasene skilles. De ulike fasene vil separeres basert på deres tetthet (Eppendorf Handling Solutions, u.å; UiO, 2021b). Dermed vil oljefasen legge seg som øverste lag, da denne fasen som oftest er lettest (figur 2). Oljelaget inneholder hovedsakelig forskjellige ikke-polare hydrofobe forbindelser. Laget under kalles emulsjon, emulsjonsfasen er et system som inneholder hydrofobe og hydrofile forbindelser, denne blandingen består av olje og vann. Det er ønskelig at det blir minst mulig mengde av denne fasen. Den tredje fasen er hydrolysat, også kalt vannfase. Hydrolysatfasen inneholder polare hydrofile proteiner og andre vannløselige komponenter. Fasen som legger seg i bunnen er sedimentet også kalt

bunnfall. Denne fasen består av faste partikler og slam som gjerne kommer fra bein, uløselige proteiner og andre komponenter som er uløselige. Det er også ønskelig å oppnå minst mulig mengde av sedimentfasen (Al-Janabi, 2016; Slizyte, Grimsmo & Storrø, 2010).

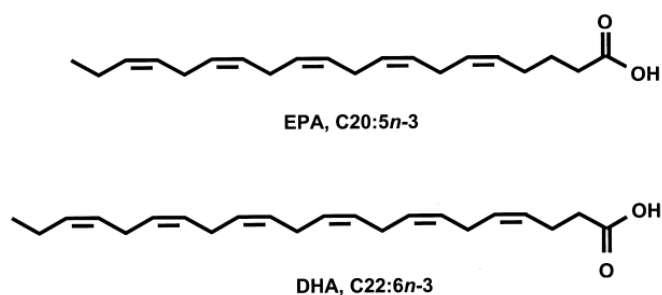


Figur 2: Illustrasjon av de ulike fasene etter sentrifugering av restråstoff fra laks.

2.4 Marine lipider

Lipider er en samlebetegnelse for biologiske fettstoffer og fettlignende stoffer som har til felles at de er uløselige i vann, men løser seg enklere i organiske løsemidler. De kan deles inn i triglyserider, fosfolipider, voks og steroler (Skarpeid, 2019; Vu, 2012).

Fettsyrer består av en hydrokarbonkjede hvor lengden kan variere, den ene enden er bundet til en karboksylgruppe (COOH) og den andre enden en metylgruppe (CH₃) (Skarpeid, 2019; UiO, 2021a). Fettsyrene kan være mettet (ingen dobbeltbindinger mellom karbonatomene), enumettet (en dobbeltbinding) eller flerumettet (to eller flere dobbeltbindinger). Marint fett har en større andel med lange fettsyrer, både mettet, umettede og flerumettede fettsyrer. I tillegg inneholder marint fett lange fettsyrer med mange dobbeltbindinger som fører til at fettene har et lavere smeltepunkt (Skarpeid, 2019; Vu, 2012).



Figur 3: Kjemisk struktur av fettsyrene EPA og DHA (Kamal-Eldin & Yanishlieva, 2002).

Eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) er meget lange flerumettede omega-3 fettsyrer som finnes i marint fett, som vist i figur 3 (J. Pedersen, Hjartåker, Müller & Andressen, 2017). Disse er svært ustabile og er derfor mer utsatt for oksidasjon (harskning). Lys, temperatur, oksygen og stoffer som katalyserer prosessen, eksempelvis prooksidanter som kan komme fra tilstedeværelse av urenheter i produktet. Dette kan være faktorer som fremmer oksidasjonen av lipider under lagring. Antioksidanter kan benyttes for å forhindre denne uønskede prosessen, hvor det dannes harsk lukt og smak i produktet (Bernatek & Ditlefsen, 2021; Hu & Jacobsen, 2016). Oksidasjon er nærmere beskrevet i avsnitt 2.4.1 Primære- og sekundære oksidasjonsprodukter.

2.5 Fettkvalitet

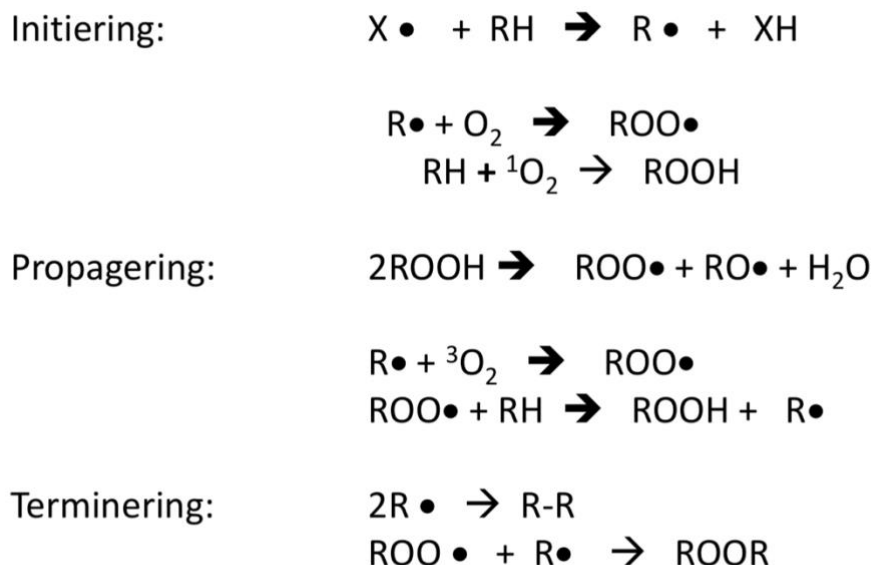
Fiskeoljer bør helst opprettholde en høy kvalitet med lite uønsket smak og lukt, i tillegg er det ønskelig med en lys farge på oljen (Gildberg & Akse, 1992). Fargekvalitet i fiskeolje er det lite publisert forskning på.

Blir fiskeoljen utsatt for faktorer som eksempel oksygen og/eller lys vil den begynne å harskne og dermed utvikle uønskede smak- og luktkomponenter. Som nevnt inneholder fiskeolje lange flerumettede fettsyrer som er svært utsatt for harskning. Grunnen til at den uønskede smaken og lukten dannes er at de flerumettede fettsyrene danner en kompleks blanding av små molekyler under harskningsprosessen (Hægermark, 2013). Andre faktorer som kan være med på å fremme forringelseshastigheten kan være pH, mikrobiell vekst og mekanisk behandling. I tillegg til disse faktorene, vil fettsyresammensetningen i oljen også påvirke hastigheten (R. B. Pedersen, 2010). Det kan både skje enzymatisk og oksidativ harskning. Enzymatisk harskning skyldes enzymer som enten hjelper oksygenet å reagere med de umettede fettsyrene og/eller spalter fett. For å hindre denne type harskning må enzymerne inaktiveres. Oksidativ harskning

kommer av at de flerumettede fettsyrene tar opp oksygen ved tilgang på luft, da vil det dannes peroksider og ubehagelig luktende aldehyder, ketoner og andre spaltningsprodukter. Denne type harskning rammer først og fremst overflaten av oljen da oksygenet angriper der det er kontakt mellom luft og fett. Oksidativ harskning kan unngås eller reduseres ved å fjerne oksygenet fra fett, i tillegg kan det tilsettes antioksidanter. Antioksidantene vil hemme denne type harskning på grunn av at stoffene reagerer raskere med oksygenet enn fett (Bernatek & Ditlefsen, 2021). En annen type forringelse som kan oppstå i fiskeoljer er at triglyseridene brytes ned til frie fettsyrer under hydrolyse eller enzymatisk oksidasjon (R. B. Pedersen, 2010).

2.5.1 Primære- og sekundære oksidasjonsprodukter

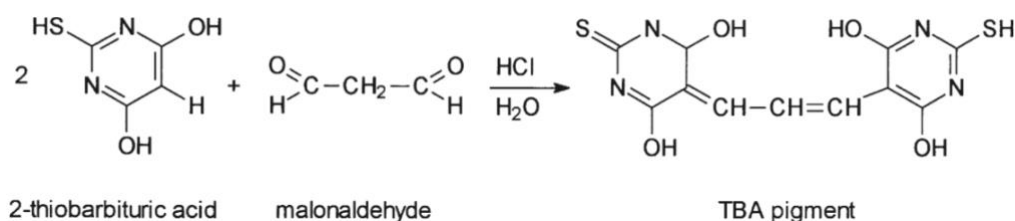
Under oksidasjonsprosessen av fiskeolje dannes ulike oksidasjonsprodukter. Disse produktene vil føre til forringelse av oljen i form av at det dannes harsk smak og lukt (Aursand et al., 2011). Oksidasjonsprosessen deles inn i tre faser, denne mekanismen kalles autooksidasjon og vises skjematisk i figur 4. Første fase kalles initiering, hvor frie radikaler (R^*) dannes. Frie radikaler dannes når lipidmolekylet (RH) reagerer med oksygen ved bruk av en katalysator. Hydrogenatomet blir fjernet fra fettsyren og danner et reaktivt fettsyreradikal. Andre fase kalles propagering, hvor det vil skje en kjedereaksjon av frie radikaler. I denne fasen reagerer frie radikaler med oksygen og peroksyldikaler (ROO^*) blir dannet. Peroksyldikalerne er svært reaktive, dermed vil de reagere videre med andre umettede fettsyrer og danne hydroperoksider ($ROOH$) og et fritt radikal (R^*). Det frie radikale som blir dannet kan gjenta prosessen, som vil føre til en kjedereaksjon. I propageringsfasen dannes primære- og sekundære oksidasjonsprodukter. Terminering er den siste fasen, hvor det er høy konsentrasjon av frie radikaler. I denne fasen starter de frie radikalene å reagere med hverandre og dermed dannes det ikke-radikale stabile sluttprodukter (Brun, 2012; Coultate, Blumenthal & Royal Society of, 2009; Frankel, 2005; Porter, Caldwell & Mills, 1995).



Figur 4: Autooksidasjon. X =radikal (R. L. Olsen, 2007).

Peroksidverdi (PV) er en verdi som viser mengden primære oksidasjonsprodukter som er dannet i fiskeoljen, disse er smak- og luktfrie og gir en indikator på harskningsgraden (Aursand et al., 2011; Brun, 2012; Haugen, Thoresen, Meisland & Oterhals, 2020). For å måle peroksidverdier benyttes ofte standard jodometrisk metode, hvor målingen kan gjennomføres ved titring, kolorometriske eller elektriske metoder. Kaliumjodidet tilsettes som et reduksjonsmiddel i den oksiderte prøven, som er oppløst i en blanding av kloroform og eddiksyre. Jodet fra kaliumjodidet titreres med standard natriumtiosulfat til et stivelsesendepunkt (Frankel, 2005). Verdien fra peroksidmålingen kan defineres som mengde peroksid oksygen per kilo olje eller fett. Verdier under 10 milliekvivalent (mEq) viser at fiskeoljen er fersk, men om verdien er mellom 30-40 mEq regnes den som harsk (Eurolab, u.å.). Peroksider og hydrogenperoksider dannes når frie radikaler kommer i kontakt med oksygen (Bjørneboe, 2020). Sekundære oksidasjonsprodukter som aldehyder og ketoner dannes av nedbrutte primære oksidasjonsprodukter som er ustabile. De flyktige sekundære oksidasjonsproduktene vil i svært små konsentrasjoner gi uønsket smak og lukt (Aursand et al., 2011). Metoder som ofte benyttes for å måle sekundære oksidasjonsprodukter er anisidinverdi (AV) og thiobarbitursyre-reaktive stoffer (TBARS). AV kommer fra nedbrytningen av hydroperoksid i form av aldehyder (A. Ø. Olsen, 2017; Pokorný, Janišlieva & Gordon, 2001; Thorkildsen, 2010). Thiobarbitursyre (TBA) -testen også omtalt som thiobarbitursyre-reaktive stoffer (TBARS) er en metode for å måle sekundære oksidasjonsprodukter og brukes til å måle

harskhet i enkelte matvarer. Testen er basert på den rosa fargeabsorbansen som dannes mellom TBA og oksidasjonsprodukter av flerumettede lipider, dette måles ved en bestemt bølgelengde. Verdien fra metoden defineres ofte som milligram malonaldehyd per kilogram av prøven (Frankel, 2005).

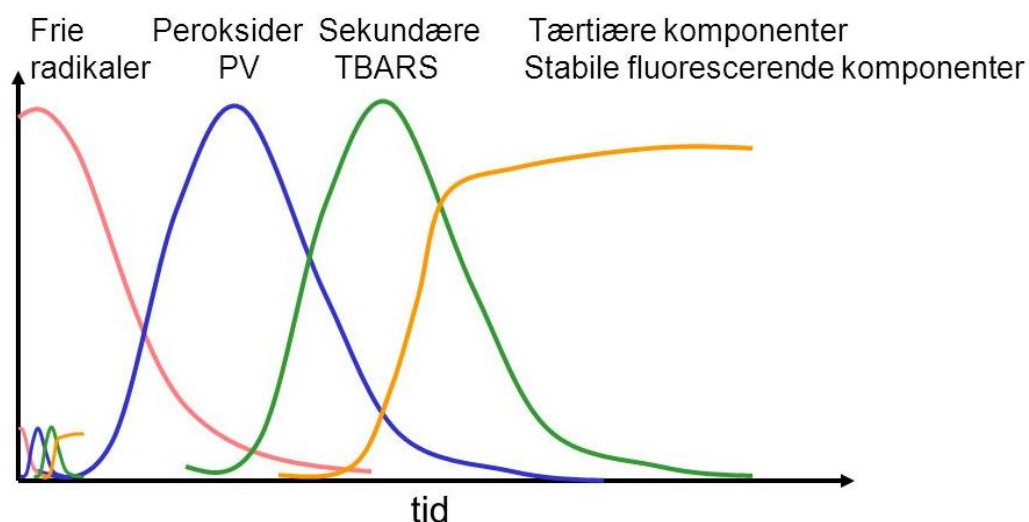


Figur 5: Reaksjonen mellom 2-thiobarbitursyre og malonaldehyd (Sinnhuber, Yu & Yu, 1958).

Det vil skje en reaksjon hvor ett molekyl malonaldehyd (et sekundært oksidasjonsprodukt) kondenseres med to molekyler 2-thiobarbitursyre under oppvarming i sure forhold, dette for å danne et rosa kromogen, figur 5 (Brun, 2012; Oxford Biomedical Research, u.å).

Spesifikke grenseverdier for TBARS er det publisert lite forskning om, men Vitenskapskomiteen for mattrygghet har oppgitt 0,1 til 3,9 mmol/kg (100-3400 µmol/kg) olje som et akseptabelt nivå (Aursand et al., 2011). I annen litteratur oppgis det verdier for fisk, hvor 0,58 mg MDA/kg regnes som ikke harsk, 0,58-1,51 mg MDA/kg som litt harsk og 1,51 mg MDA/kg som harsk (P. Ke, Cervantes & Robles-Martinez, 1984). For å sikre at produktet er innenfor fastsatte grenseverdier, kan AV måles som et alternativ for TBARS. Dette er en metode som Scanbio Marine Group benytter for å måle sekundære oksidasjonsprodukter. Grenseverdier som de benytter for AV når produktet skal benyttes til fôrmiddel, er 10-15.

PV-verdier og TBARS-verdier angir hvor langt olje har kommet i harskningsprosessen. Som vist i figur 6 vil grafen for PV vanligvis stige opp til en viss verdi og deretter avta, videre vil verdien for TBARS øke etter at dannelsen av PV har kommet godt i gang. Dette vil gi en indikator på hvor oljen er i harskningsprosessen.



Figur 6: Standard harskningsprosess for frie radikaler, PV, TBARS og stabile fluorescerende komponenter (Wold, 2004).

2.5.2 Frie fettsyrer

Frie fettsyrer (FFA) kan defineres som fettsyrer, hvor fettsyren ikke er forestret til en alkohol (Guneriusen, 2018). FFA er ikke ønskelig i fiskeoljer da de bidrar til uønsket smak og dårlig holdbarhet, men den ernæringsmessige kvaliteten til oljen vil ikke bli dårligere (Bjugn Industrier A/S, 1996; Hauge, 2020). I tillegg til uønsket smak og dårligere holdbarhet vil oljen få en dårligere kommersiell verdi. En av grunnene til kvaliteten blir redusert er at de frie fettsyrene er mer utsatt for autooksidasjon enn fettsyrer som er forestret i triglyserider (Guneriusen, 2018).

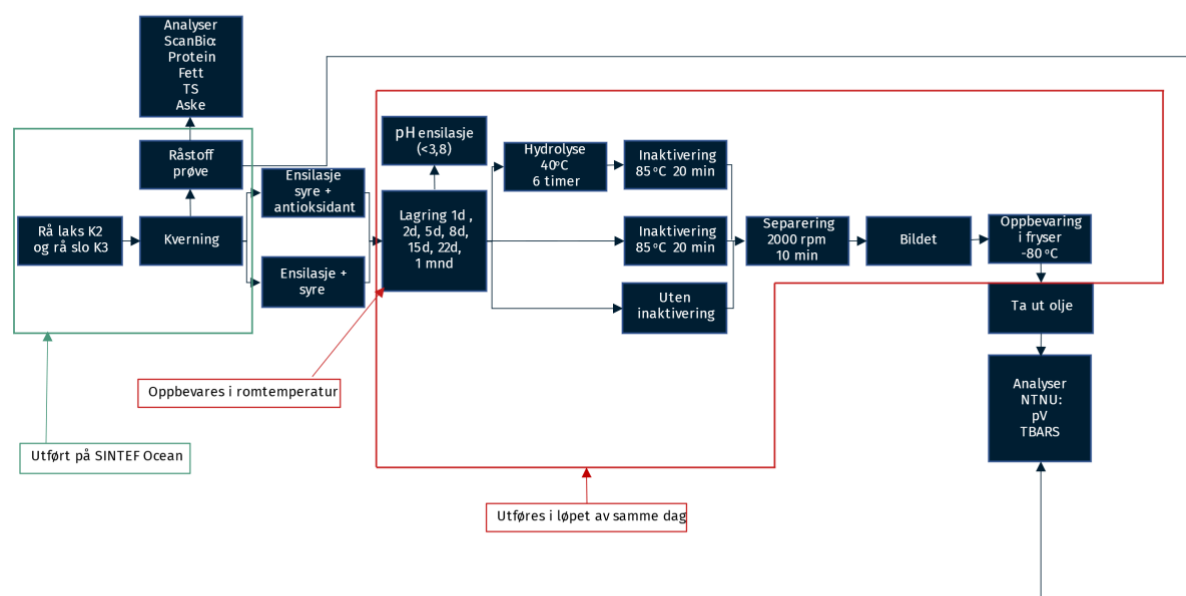
Innholdet av FFA i oljen produsert av fiskeensilasje vil være relativt høy. Dette er fordi fordøyelsesenzymer som for eksempel lipaser er aktive under lagringen av ensilasje. En annen årsak til økning er eksogene lipidspaltede enzymer som enten kan komme fra mikroorganismene som vokser i ensilasjen eller fra fiskens eget fordøyelsessystem. Årsaken til at det vil skje en økning av andel FFA, er at fordøyelsesenzymene bryter ned triglyseridene til FFA. Siden dette er en enzymkatalysert prosess, vil hastigheten påvirkes av temperatur. I tillegg vil bakteriell nedbrytning bidra til at det dannes enda flere FFA (Bjugn Industrier A/S, 1996; Guneriusen, 2018).

3.0 Materialer og metode

3.1 Materialer

Gjennomføring av det praktiske arbeidet ble utført som vist i figur 7. Fiskeensilasjene ble tillaget på forhånd av Scanbio Marine Group og SINTEF Ocean. Fiskeoljene ble ekstrahert fra fiskeensilasjene etter ulike prosessstrinn og videre analysert. Nærmere beskrivelse av gjennomføringen blir beskrevet senere.

Forsøksoppsett



Dette utføres til K2 og K3 dvs. at antall prøver ganges med 2. Det dannes 12 prøver per forsøksdag.



Figur 7: Prosedyre for gjennomføring av forsøket og fordeling av arbeidsoppgavene. Kategori 2-materiale (K2) og kategori 3-materiale (K3) (Scanbio Marine Group).

3.1.1 Ensilering

Råstoff som ble brukt for å lage fiskeensilasjene var hel laks (K2) og slo fra laks (K3) levert av Scanbio Marine Group. Råstoffene ble homogenisert ved bruk av kvern og videre ble begge råstoffene fordelt i to paralleller hvor den ene parallellen ble tilsatt 3 % maursyre med antioksidantene propylgallat (PG), butylert hydroksyanisol (BHA) og sitronsyre, og den andre

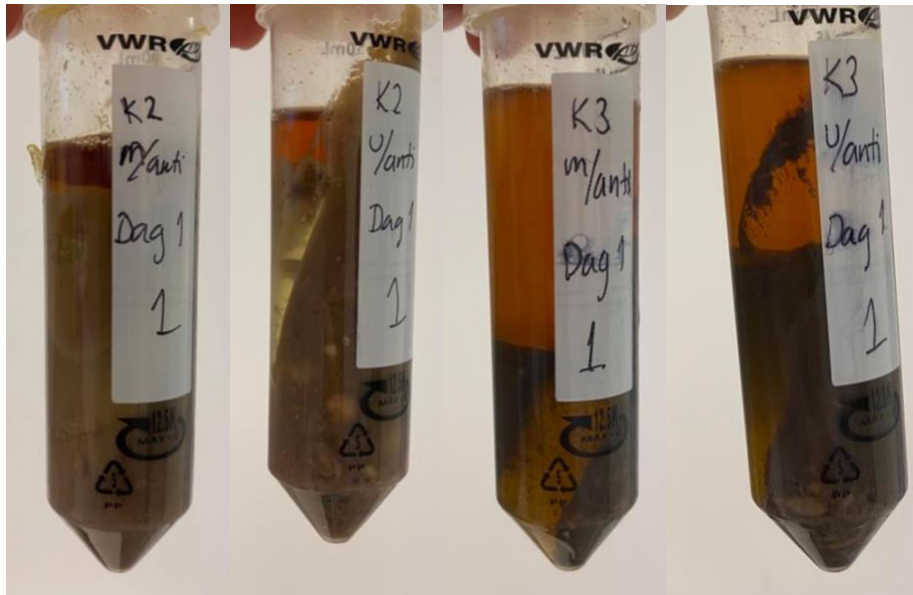
parallellen ble tilsatt 3 % maursyre uten antioksidant. Denne delen av prosessen ble gjennomført av personell fra Scanbio Marine Group og SINTEF Ocean.



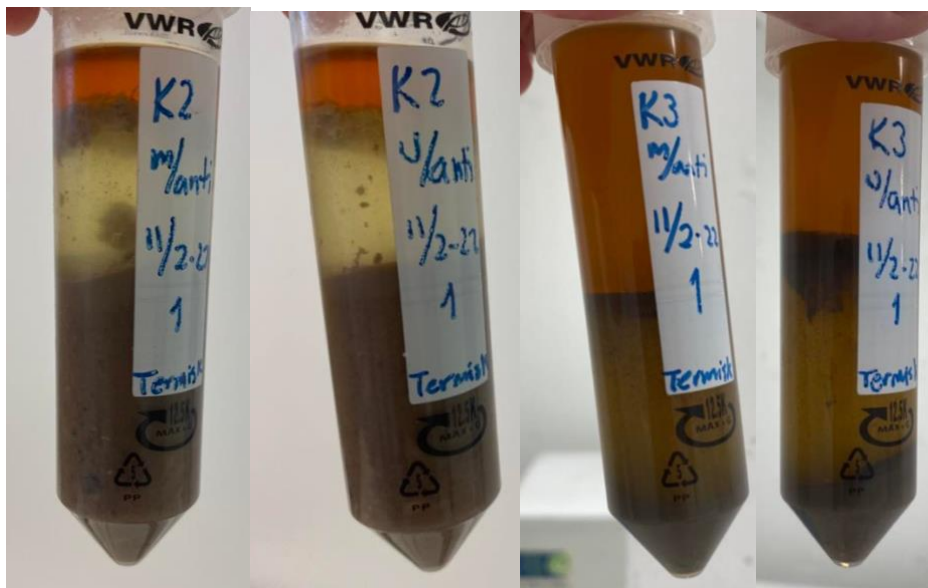
Figur 8: Ensilasje fra K2 første dag sammenlignet med 1,5 måned med lagring (Foto: Mia Tobiassen Berge).

Fiskeensilasjene ble lagret i romtemperatur opptil én måned før siste ekstraksjon av olje ble gjennomført, som vist i figur 8. pH ble målt i fiskeensilasjene etter 0, 1, 4, 7, 14, 21 og 28 dager med lagring før videre prosessering ble gjennomført. To prøveparalleller med 40 gram i hvert prøverør ble veid opp av hver ensilasje. Disse ble hydrolysert i vannbad ved 40 °C i seks timer, inaktivert ved 90 °C i 20 minutter og sentrifugert (2000 rpm i 10 minutter ved 40 °C). Deretter ble to nye prøveparalleller med cirka 50 gram i hvert prøverør veid opp av hver ensilasje, og inaktivert i mikrobølgeovn. Temperaturen under inaktivering skulle holde rundt 80-90 °C i 20 minutter. For å opprettholde temperaturen ble mikrobølgeovnen skrudd på i 15 sekunder, rundt hvert andre minutt. Etter 20 minutter med inaktivering ble de sentrifugert. Til slutt ble to nye prøveparalleller med 45 gram i hvert prøverør av hver ensilasje kun sentrifugert. Ferdig sentrifugerte prøver, som vist i figur 9 til 11, ble lagret i fryser ved –80 °C frem til analysene ble gjennomført.

Første dag av det praktiske arbeidet ble prøvene hydrolysert i varmeskap hvor de ble rotert ved 40 °C i 24 timer. På grunn av at roteringen stoppet, ble alternativet å benytte vannbad for å hydrolysere prøvene. På grunn av at enkelte oljeprøver hadde TBARS-verdier som ble høyere enn standardkurvens verdier, og fortynning ikke ble gjennomført måtte disse analyseres en ekstra gang.



Figur 9: Prøver med tydelige faser etter hydrolysering, inaktivering og sentrifugering (Foto: Mia Tobiassen Berge).

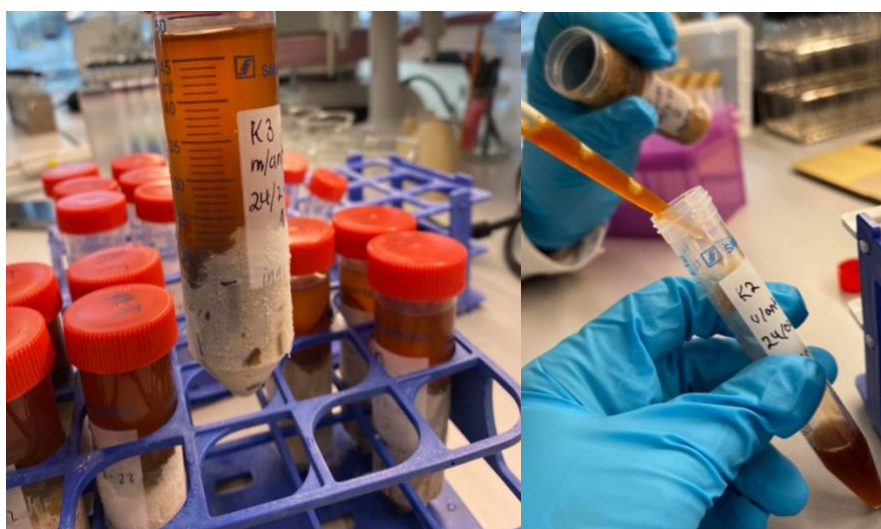


Figur 10: Prøver med tydelige faser etter inaktivering og sentrifugering (Foto: Mia Tobiassen Berge).



Figur 11: Prøver med tydelige faser etter sentrifugering (Foto: Mia Tobiassen Berge).

Prøvene ble tinet før oljen ble separert fra resterende av fasene (figur 12), og overført til egne prøverør klar til analyse.



Figur 12: Tinet olje klar for separering fra resterende av fasene (Foto: Tonje Elise Talmo).

3.2 Metoder

3.2.1 Måling av pH

pH i fiskeensilasjen ble målt ved bruk av pH-meter MP 220, fra Mettler Toledo. Elektroden på pH-metret ble skylt med destillert vann mellom hver måling.

3.2.2 Peroksidverdi (PV)

Peroksidverdien ble bestemt ved jodometrisk titrering med SI Analytics-titrator. Analysen ble gjennomført i henhold til metoden fra AOCS Official Method Cd 8b-90 (AOCS, 2011).

Under gjennomføringen av analysen ble det brukt natriumtiosulfatløsning som titreringsmiddel. Det ble benyttet en konsentrasjon på 0,01M da oljeprøvene var cirka 1 gram. Under titreringen ble ikke kolben dekket med aluminiumsfolie, noe som er avvikende fra prosedyren. Det ble brukt en magnetrører for å kunne røre kontinuerlig i prøven under titreringen. Resten av gjennomføringen ble fulgt nøyaktig slik som i prosedyren (vedlegg 1).

Formel for beregning av PV-verdi:

$$PV = \frac{(V - B) * T * M * F1}{w * F2}$$

V: volum av titrant brukt under titreringen i milliliter

B: volum av titrant brukt under titrering av blank prøve i milliliter

T: Molar av titrator agent (0,01M)

M: Molaritet (1000)

F1: Faktor 1 (1,0000)

F2: Faktor 2 (1,0000)

w: Vekt av oljeprøve i gram

(AOCS, 2011).

3.2.3 Thiobarbitursyre-reaktive stoffer (TBARS)

TBARS ble gjennomført nøyaktig i henhold til prosedyren fra Ke and Woyewoda, 1979. For fullstendig prosedyre, se vedlegg 2 (P. J. Ke & Woyewoda, 1979). Det ble benyttet Pharmacia Biotech Ultrospec 2000 spektrofotometer for å avlese absorbansverdien.

Formel for beregning av TBARS-verdi:

$$\mu\text{M TBARS/g fett} = \frac{A - b}{a * m * 1000}$$

A: målt absorbans i oljeprøve

a: stigningstallet fra standardkurve

b: konstantledd fra standardkurve

m: innveid mengde oljeprøve (g)

1000: for å omregne til $\mu\text{M/g}$

(Hansen, 2013).

3.3 Ingredienser, tilsetningsstoffer og kjemikalier

Oversikt over ingredienser (råstoff og tilsetningsstoffer), samt liste over kjemikalier som er benyttet under det praktiske arbeidet er listet opp i tabell 1 og 2.

Tabell 1: Oversikt over råstoff og tilsetningsstoffer, i tillegg til leverandør.

Navn	Leverandør
K2 (rå laks)	Scanbio Marine Group
K3 (rå slo fra laks)	Scanbio Marine Group
Maursyre (3%)	Scanbio Marine Group
PG	Scanbio Marine Group
BHA	Scanbio Marine Group

Tabell 2: Oversikt over kjemikalier brukt under analysemetodene.

Analyse	Kjemikalier	Formel	Leve- randør	CAS/artikkelnum- mer	Renhets- grad
PV	Natriumthio- sulfat	Na ₂ S ₂ O ₃	Merck	Art. nr.6512	97 %
	Acetic acid glacial (C ₂ H ₄ O ₂)	C ₂ H ₄ O ₂	VWR	64-19-7	99,9 %
	Chloroform	CHCl ₃	VWR	67-66-3	99,0-99,4 %
	Kaliumjodid	KI	Supelco	7681-11-0	----
TBARS	2-thiobarbi- turic acid	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂ S	Sigma- Aldrich	504-17-6	98 %
	Natriumsulfitt	Na ₂ SO ₃	Merck	Art. nr. 6657	98 %
	Trikloreddik- syre (TCA)	CCL ₃ COOH	Merck	76-03-9	99,5 %
	(1,1,3,3-tetra- oksypropan) tetraethoxypro- pane		Sigma- Aldrich	122-31-6	96 %
	Chloroform	CHCl ₃	VWR	67-66-3	99,0-99,4 %
	BHT (butyla- ted hydroxy- toluene)	C ₁₅ H ₂₄ O	Sigma- Aldrich	EEC nr. 204-881-4	99,0 %
	Ethanol	H ₃ CCH ₂ OH	VWR	64-17-5	96,3 %

4.0 Resultater

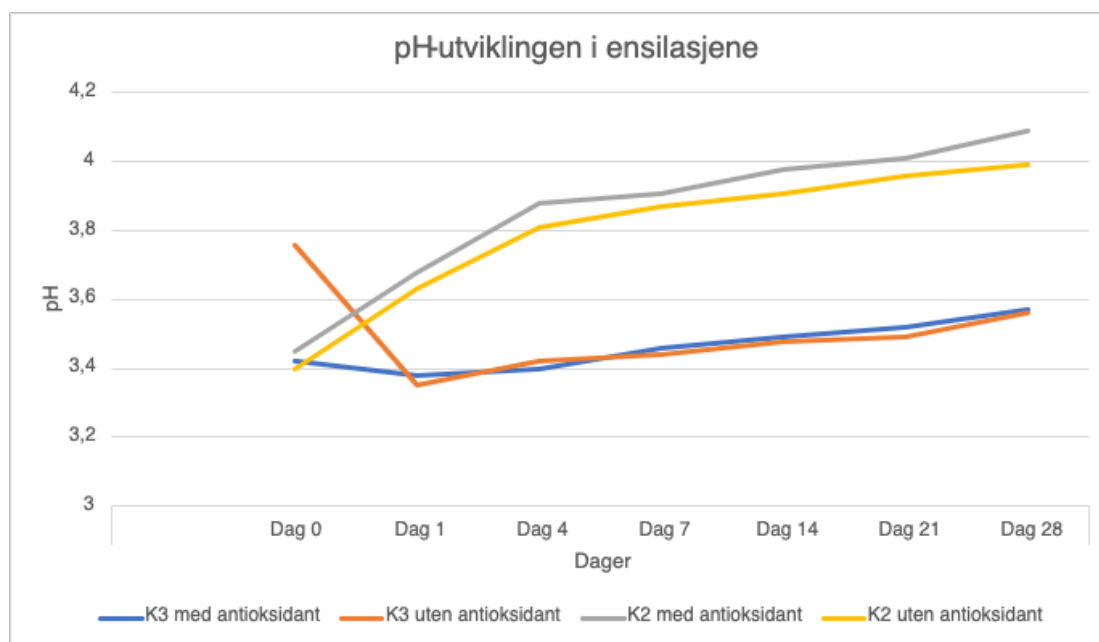
I resultatdelen er det brukt ulike definisjoner:

- Hydrolysert - fiskeensilasje som er hydrolysert i vannbad ved 40 °C i seks timer, deretter inaktivert ved cirka 90 °C i 20 minutter før de ble sentrifugert (2000 rpm i 10 minutter ved 40 °C).
- Termisk - fiskeensilasje som er inaktivert ved cirka 90 °C i 20 minutter før de ble sentrifugert (2000 rpm i 10 minutter ved 40 °C).
- Ingen - fiskeensilasje som kun er sentrifugert (2000 rpm i 10 minutter ved 40 °C).

Gjennomsnittsverdiene med standardavvik som ble brukt for å utforme figurene for PV finnes i vedlegg 3 og for TBARS i vedlegg 4. Rådata (innveid mengde oljeprøve og titreringsvolum) for PV i vedlegg 5 og rådata (absorbansverdi og innveid mengde oljeprøve) for TBARS i vedlegg 6. I tillegg ligger standardkurver for hver analysedag for TBARS i vedlegg 7.

4.1 pH-utvikling

pH-utviklingen av fiskeensilasjen (figur 13) viser at K2 både med og uten antioksidanter har en ganske bratt økning de fire første dagene, deretter en jevn økning. Figuren viser også at K3 med og uten antioksidanter hadde generelt en jevn økning, men noe lavere i forhold til K2 med og uten antioksidant. Verdiene som er brukt i grafen finnes i vedlegg 8.



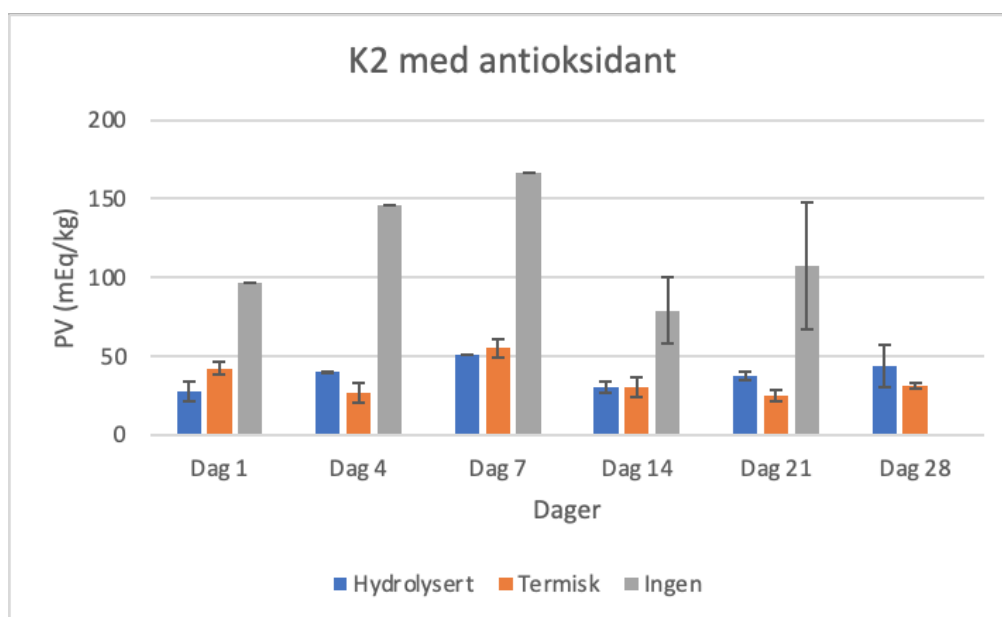
Figur 13: pH-utviklingen av fiskeensilasjene under lagringsperioden.

4.2 Peroksidverdi (PV)

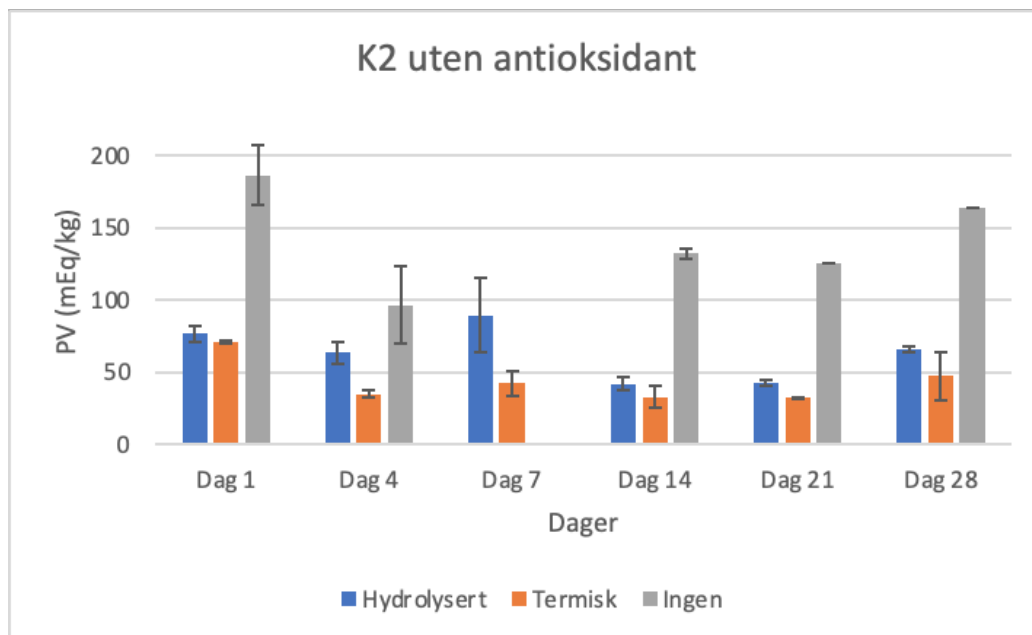
4.2.1 PV: Råstoff og prosessstrinn

Figur 14 viser utviklingen av K2 med antioksidant og figur 15 viser utviklingen av K2 uten antioksidant under lagringsperioden, fra dag 1 til dag 28. Prosessstrinnet, *ingen*, viser noe høyere PV-verdier sammenlignet med de andre prosessstrinnene. PV-verdiene fra *hydrolysert* og *termisk* har tilnærmet lik utvikling under lagringsperioden både for K2 med og uten antioksidant.

PV-verdien fra K2 med antioksidant fra dag 28, *ingen*, og fra K2 uten antioksidant fra dag 7, *ingen*, hadde svært høye verdier og ble dermed fjernet for å kunne presentere de andre verdiene mer tydelig. Verdien fra K2 med antioksidant fra dag 28, *ingen*, ble 511,49 mEq/kg med standardavvik på 215,24 mEq/kg og verdien fra K2 uten antioksidant fra dag 7, *ingen*, ble 2116,87 mEq/kg med standardavvik på 143,85 mEq/kg (vedlegg 3).



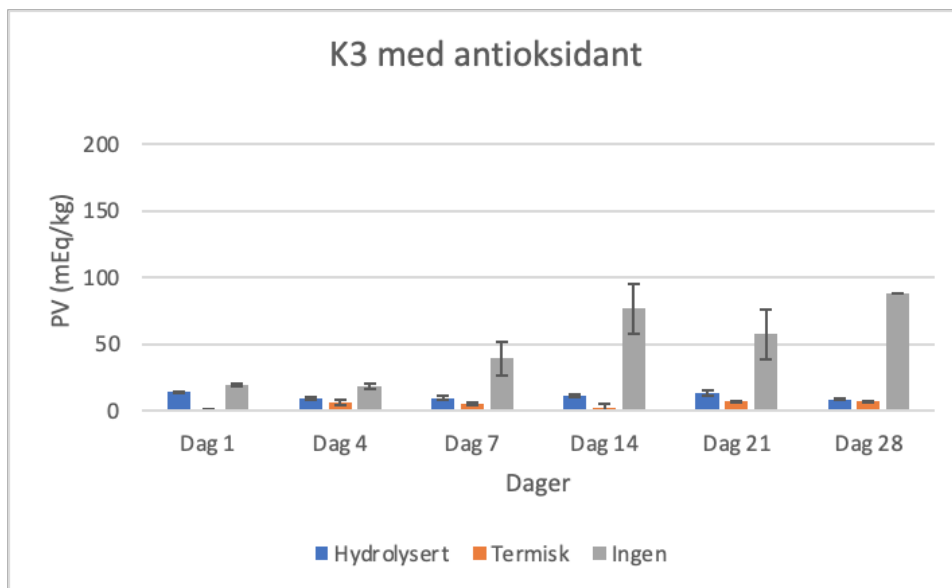
Figur 14: Gjennomsnittlig PV-verdi av K2 med antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosessstrinnene. Gjennomsnittlig PV-verdien fra dag 28, *ingen*, er fjernet på grunn av at verdien ikke er representativ.



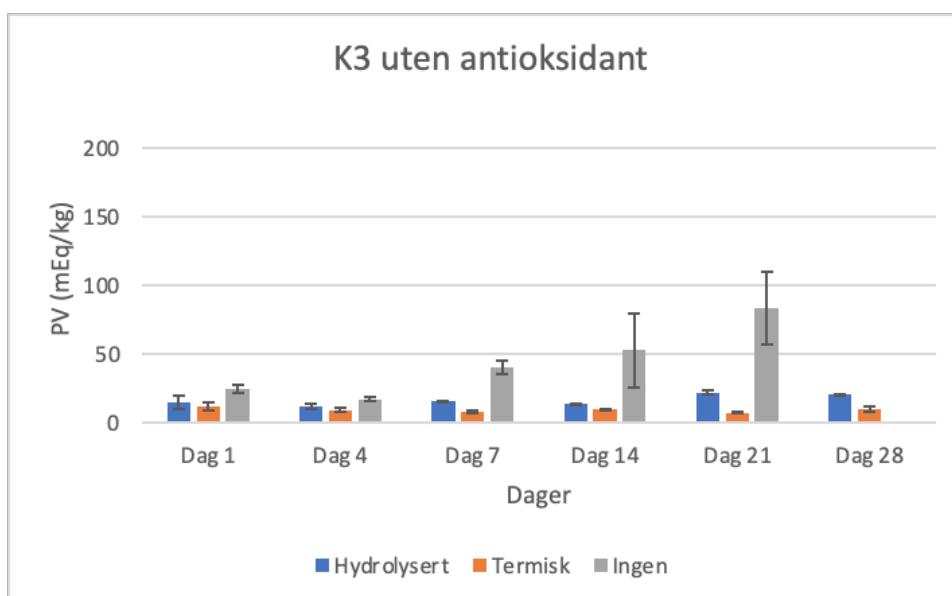
Figur 15: Gjennomsnittlig PV-verdi av K2 uten antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosessstrinnene. Gjennomsnittlig PV-verdi fra dag 7, ingen, er fjernet på grunn av at verdien ikke er representativ.

Figur 16 viser utviklingen av K3 med antioksidant og figur 17 viser utviklingen av K3 uten antioksidant under lagringsperioden, fra dag 1 til dag 28. PV-verdiene fra alle prosessstrinnene ble tilnærmet lik ved dag 1, men PV-verdiene fra *ingen*, stiger under lagringsperioden både for K3 med og uten antioksidant. Prosessstrinnene, *hydrolysert* og *termisk*, holder seg tilnærmet stabil under lagringsperioden både for K3 med og uten antioksidant.

PV-verdien fra K3 uten antioksidant, dag 28 fra prosessetrinnet, *ingen*, hadde veldig høy verdi og ble dermed fjernet for å lettere kunne se forskjellene mellom de andre prøvene. Verdien fra K3 uten antioksidant, dag 28 fra prosessetrinnet, *ingen*, ble 2126,15 mEq/kg med standardavvik på 9,55 mEq/kg (vedlegg 3).



Figur 16: Gjennomsnittlig PV-verdi av K3 med antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosesstrinnene.



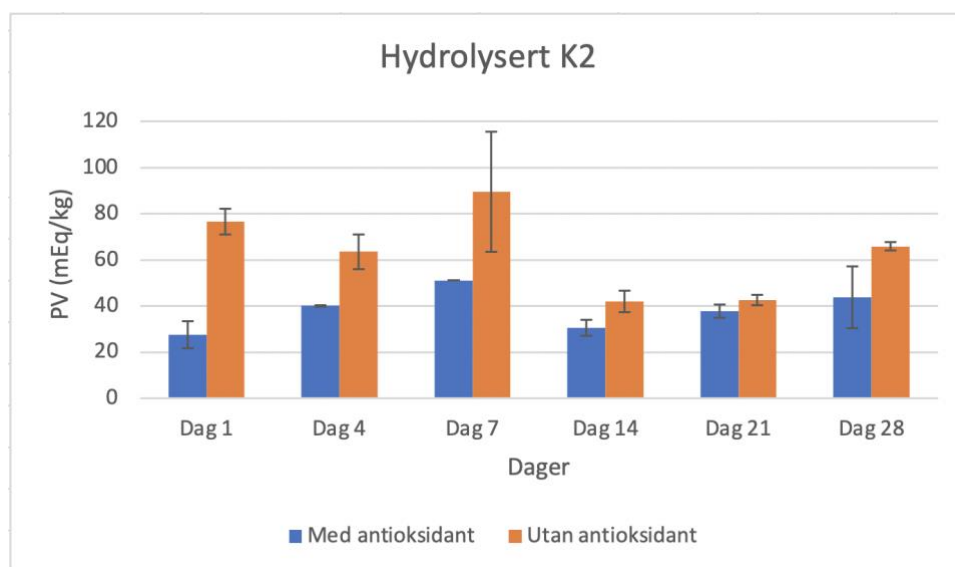
Figur 17: Gjennomsnittlig PV-verdi av K3 uten antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosesstrinnene. Gjennomsnittlig PV-verdi fra dag 28, ingen, er fjernet på grunn av at verdien ikke er representativ.

I figur 16 og 17 vises en tydelig forskjell i PV-verdiene ved bruk av ulikt råstoff, verdiene ble tydelig høyere ved bruk av K2 som råstoff sammenlignet med K3 som råstoff. Denne forskjellen vises uavhengig bruken av antioksidant.

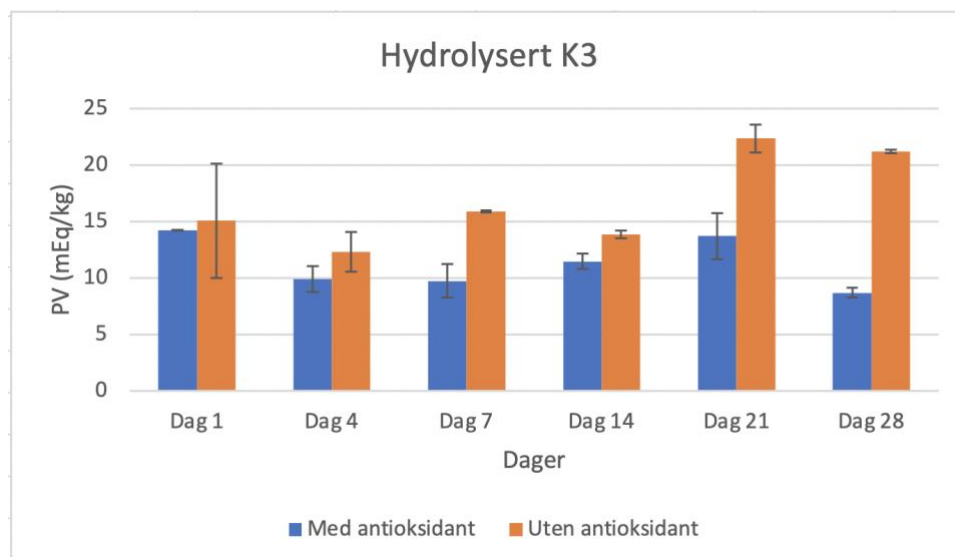
4.2.2 PV: Effekt av antioksidanter

Figur 18 og 19 ble presentert med ulike verdier på y-aksen, dette ble gjort for å tydeligere sammenligne hvilken effekt bruken av antioksidant ga i de ulike råstoffene. I resultatdelen er det kun sett på effekten av antioksidanter i K2 og K3 som er *hydrolysert*, dette ble gjort for å vise et tydelig eksempel. Resterende diagrammer som viser effekten av antioksidanter, finnes i vedlegg 9.

I figur 18 sammenlignes resultatene fra K2 med og uten antioksidant, *hydrolysert*. Og figur 19 sammenlignes K3 med og uten antioksidant, *hydrolysert*. Figurene viser den samme trenden, hvor råstoffet med antioksidant har lavere PV-verdier enn råstoffet uten antioksidant under hele lagringsperioden.



Figur 18: PV-verdier for K2 hydrolysert, med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring (dag 1 til dag 28).

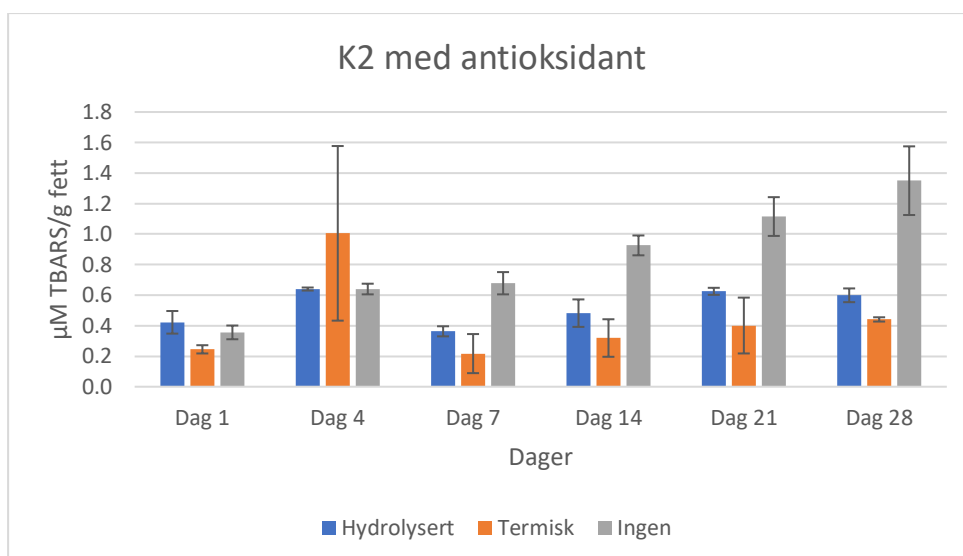


Figur 19: PV-verdier for K3 hydrolysert, med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring (dag 1 til dag 28).

4.3 Thiobarbitursyre-reaktive stoffer (TBARS)

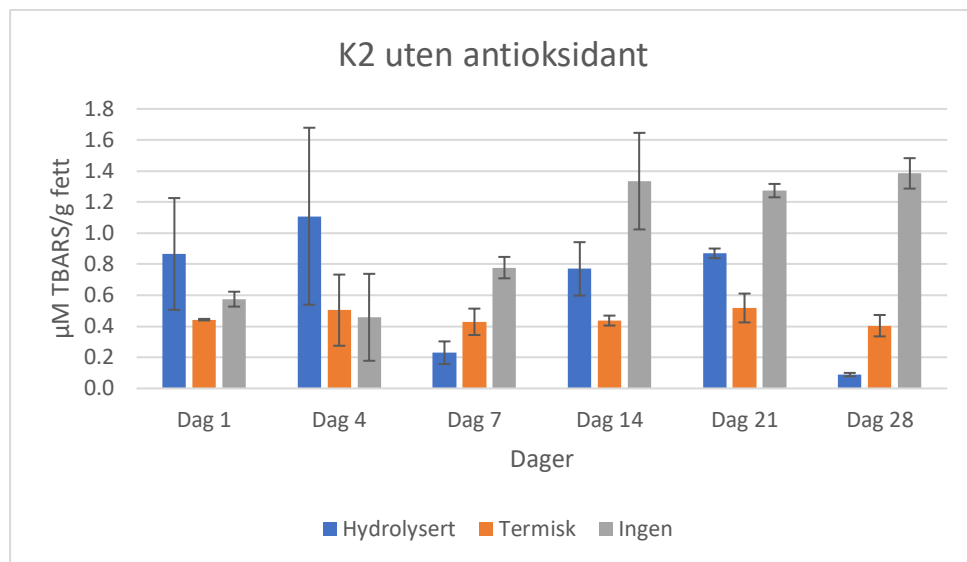
4.3.1 TBARS: Råstoff og prosessstrinn

Figur 20 viser utviklingen av K2 med antioksidant under lagringsperioden for de ulike prosessstrinnene. Utviklingen viser lite endring i TBARS-verdiene gjennom lagringsperioden for prosessstrinnene *hydrolysert* og *termisk*, om en ser bort fra verdien ved dag 4, *termisk*. Ved prosessstrinnet, *ingen*, ble TBARS-verdiene høyere for hver analysedag under lagringsperioden.



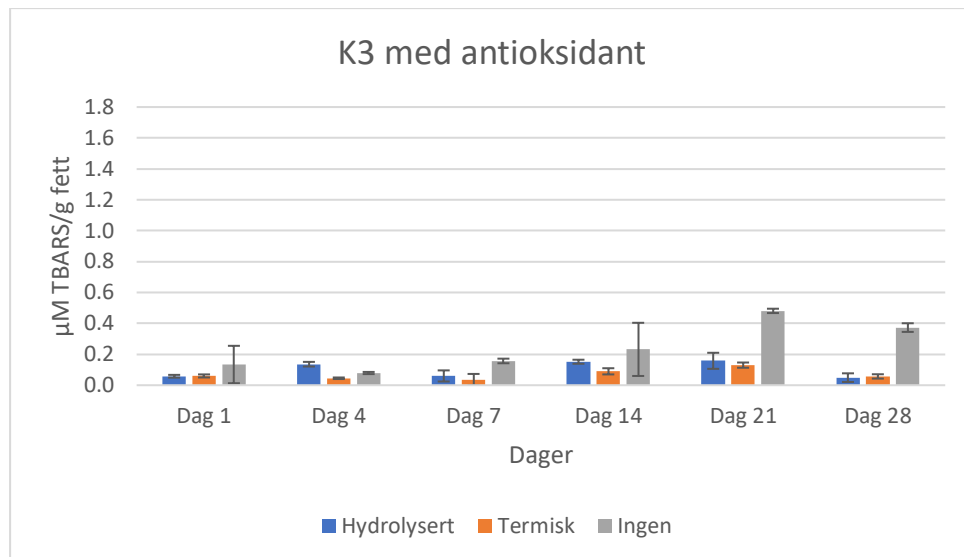
Figur 20: Gjennomsnittlig TBARS-verdi av K2 med antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosessstrinnene.

Figur 21 viser utviklingen av K2 uten antioksidant under lagringsperioden for de ulike prosessstrinnene. Diagrammet viser at prosessstrinnet, *termisk*, holder seg tilnærmet lik under hele lagringsperioden, hvor den laveste verdien ble 0,404 μM TBARS/g fett og høyeste verdien ble 0,518 μM TBARS/g fett. Disse verdiene finnes i vedlegg 4. Utviklingen til prosessstrinnet, *ingen*, viser en stigning under lagringsperioden. For prosessstrinnet, *hydrolysert*, ble det ingen tydelig trend.



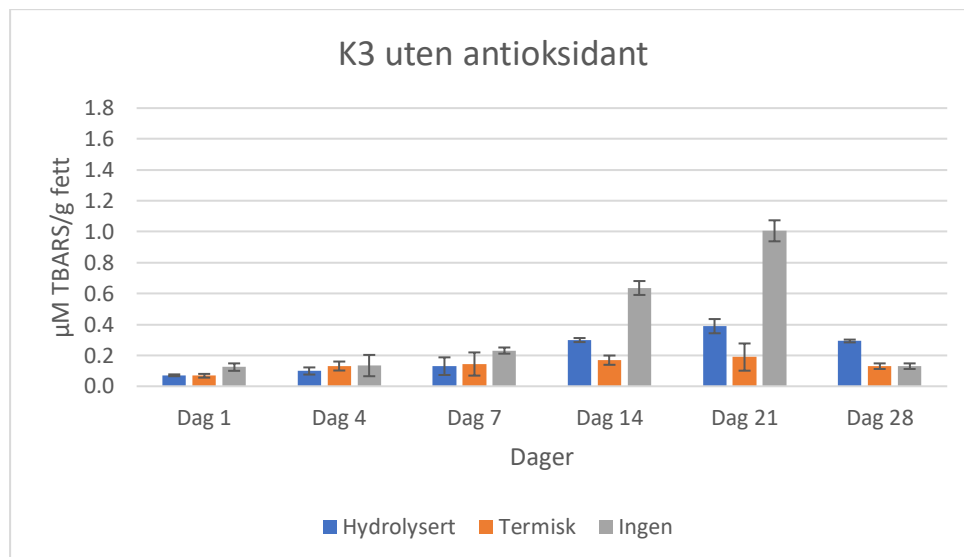
Figur 21: Gjennomsnittlig TBARS-verdi av K2 uten antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosessstrinnene.

Figur 22 viser utviklingen av K3 med antioksidant under lagringsperioden for de ulike prosessstrinnene. Det ble lite endring ved prosessstrinnene, *hydrolysert* og *termisk*, men for utviklingen under lagringsperioden ved prosessstrinnet, *ingen*, ble det noe stigning.



Figur 22: Gjennomsnittlig TBARS-verdi av K3 med antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosessstrinnene.

Figur 23 viser utviklingen av K3 uten antioksidant under lagringsperioden for de ulike prosessstrinnene. Diagrammet viser en jevn økning for alle prosessstrinnene frem til dag 21, fra dag 21 til 28 avtok TBARS-verdiene.

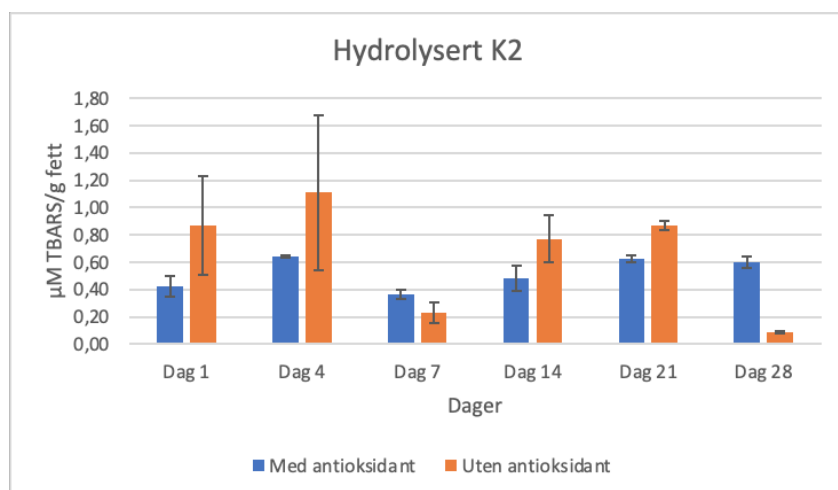


Figur 23: Gjennomsnittlig TBARS-verdi av K3 uten antioksidant fra dag 1 til 28 med standardavvik. Diagrammet viser også sammenligningen mellom de ulike prosessstrinnene.

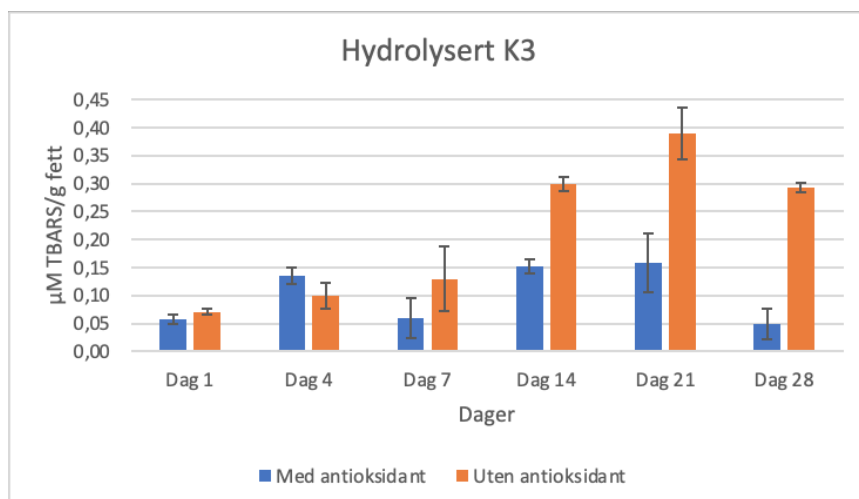
Resultatene for TBARS-analysen viser at verdiene for prøvene hvor K2 ble brukt hadde høyere verdiene enn prøvene hvor K3 ble benyttet. Denne forskjellen vises uavhengig bruken av antioksidant.

4.3.1 TBARS: Effekt av antioksidant

Figur 24 og 25 ble benyttet i resultatdelen for å tydeliggjøre bruken av antioksidant, og dermed har y-aksene ulike verdier. Disse figurene ble brukt som eksempler for å fremheve forskjellene. Resten av diagrammene finnes i vedlegg 10. Figur 24 viser mindre tydelig forskjell mellom K2 med og uten antioksidant, da verdiene varierer mye. Figur 25 viser at K3 med antioksidant gir generelt en lavere TBARS-verdier enn K3 uten antioksidant.



Figur 24: TBARS-verdier for K2 hydrolysert, med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring (dag 1 til dag 28).



Figur 25: TBARS-verdier for K2 hydrolysert, med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring (dag 1 til dag 28).

For å se utviklingen av både PV og TBARS i samme graf ved prosessstrinnene, *hydrolysert*, *termisk* og *ingen*, se vedlegg 11.

5.0 Vurdering/diskusjon

5.1 pH-utvikling i fiskeensilasjene

Som vist i figur 13 ble pH-utviklingen i fiskeensilasjene laget av K2-materiale (hel fisk) med og uten antioksidant høyere enn fiskeensilasjene laget av K3-materiale (slo) med og uten antioksidant. Grunnen til dette kan være at fiskeensilasjen laget av K2 inneholder bein, og dermed mer kalsium. På grunn av kalsiuminnholdet vil syren nøytraliseres og pH-utviklingen vil få en jevn økning på grunn av at syren trekker inn i beinene. Mulig årsak til at begge råstoffene har en jevn pH-økning kan trolig være at massen blir mer nedbrutt under lagringsperioden (Bækken & Bekkevold, 1993).

Årsaken til at pH-utviklingen i fiskeensilasjen, K3 uten antioksidant, var høyere ved dag 1 sammenlignet med de andre, kan trolig være at ensilasjen ikke hadde tilstrekkelig omrøring før pH-målingen. Dermed hadde trolig ikke syren blitt jevnt fordelt i massen, i tillegg til at pH-målingen mulig ble målt hvor massen ikke hadde tilstrekkelig med syre.

Grunnen til at pH-utviklingen ble målt i fiskeensilasjene under lagringsperioden var på grunn av at for høy pH (høyere enn 4) trolig vil føre til dårligere kvalitet i fiskeoljene og det vil muligens starte en forråtnelsesprosess. Det ble valgt å ikke tilsette mer syre i noen av fiskeensilasjene under lagringsperioden, uavhengig av om utviklingen til K2 ble noe høyere enn anbefalt. Dette skyldtes at det var interessant å se utviklingen, samt at råstoffene kunne sammenlignes med samme grunnlag (Bækken & Bekkevold, 1993).

5.2 Råstoffene: K2 og K3

Resultatene som sammenligner hvordan oljekvaliteten mellom de ulike råstoffene, K2 og K3 ble, vises i figur 14 til 17 og 20 til 23. Oljekvaliteten til fiskeoljene hvor K2 ble brukt som råstoff, oksiderte raskere sammenlignet med fiskeoljene hvor K3 ble brukt som råstoff. Dette kan ifølge opplysninger fra Scanbio Marine Group skyldes at K2 (hel laks) inneholder større mengder blod i forhold til K3 (slo). K3-materiale er tenkt til humant konsum slik at det ikke skal være mye rester av blod, da fisken stort sett har blødd ut under slakting. På grunn av at K2 inneholder mer blod som igjen fungerer som en sterk prooksidant, vil dette være en mulig årsak til at oksidasjonsprosessen går raskere ved bruk av K2-materiale (Eilertsen, 2018; Hu & Jacobsen, 2016).

En annen mulig årsak til at oksidasjonsprosessen til K2 ble raskere enn K3, kan være pH-utviklingen. Som vist i figur 13 økte pH til K2 både med og uten antioksidant mer enn K3 med og uten antioksidant. På grunn av høyere pH-verdier kan dette mulig bidra til at forringelseshastigheten øker. I tillegg vil trolig mikrobiell vekst påvirke oksidasjonsprosessen, dette på grunn av at K2 mest sannsynlig inneholder mer mikroorganismer da dette ikke er tenkt til humant konsum (R. B. Pedersen, 2010). En annen tanke om hva som mulig kunne påvirket en raskere oksidasjonsprosess hos K2 kan være innholdet av enzymer fra innvoller, skinn og kjøtt. Dette bidrar til å fremme nedbrytningsprosessen under lagring og dermed muligens hastigheten på oksidasjonen sammenlignet med K3 hvor det kun er enzymer fra slo (Bækken & Bekkevold, 1993). Enzyme hjelper oksygenet til å reagere med de umettede fettsyrene og/eller spalter fett, slik at mulig oksidasjonsprosessen skjer raskere (Bernatek & Ditlefsen, 2021).

5.3 Antioksidanter

Figur 18, 19, 24 og 25 viser effekten av antioksidanter i fiskeoljene. Figurene viser at fiskeoljer med antioksidant har generelt bedre oljekvalitet, enn fiskeoljer uten antioksidant. Forskjellene mellom oljene med og uten antioksidant var mindre enn antatt, da antioksidanter skal forhindre oksidasjon av fett og bevare fettkvaliteten bedre (Bækken & Bekkevold, 1993). Det at fiskeensilasjene og/eller fiskeoljene ikke ble utsatt for store mengder med oksygen under det praktiske arbeidet kan være en mulig årsak til at forskjellene ikke ble like store som forventet. Antioksidantene vil reagere med frie radikaler og ved lite oksygen vil dette føre til lite peroksider/peroksyldradikaler. I følge Scanbio Marine Group sine erfaringer, vil antioksidanten PG følge proteinfasen under separering av ensilasje. Dermed kan dette også være en forklaring på hvorfor forskjellen ikke ble like store som forventet.

Noen av resultatene som sammenligner med og uten tilstedeværelse av antioksidant i oljene viser en varierende utvikling, årsaken til dette kan være avvik som oppstod under gjennomføringen av analysene.

5.4 Prosesstrinn og lagring

Resultatene viser at de ulike prosesstrinnene påvirker oksidasjonsprosessen til fiskeoljene. Figur 14 til 17 og 20 til 23 viser generelt at oksidasjonen i olje fra prosesstrinnet, *ingen*, øker under lagringsperioden, både for K2 med og uten antioksidant og K3 med og uten antioksidant. Grunnen til dette kan være at oljen fra prosesstrinnet, *ingen*, ikke gjennomgikk noe varmebehandling slik at fiskeoljene fortsatt inneholder enzymer og mikroorganismer som kan forårsake en raskere harskningsprosess (Animaliebiproduktforskriften, 2020; Bækken & Bekkevold, 1993; Mattilsynet, 2019). Resultatene fra PV, som vist i figur 14 til 17 viste at oljen fra prosesstrinnene, *termisk* og *hydrolysert*, hadde tilnærmet lik og stabil utvikling gjennom hele lagringsperioden. Dette kan være på grunn av at disse prosesstrinnene ble varmebehandlet, som igjen vil føre til et mer holdbart produkt (Animaliebiproduktforskriften, 2020; Mattilsynet, 2019). Resultatene fra TBARS, vist i figur 20 til 23 viste at olje fra prosesstrinnene, *termisk* og *hydrolysert*, hadde noe ujevn utvikling gjennom lagringsperioden. Dette kan være på grunn av avvik som oppstod under TBARS-analysen, som for eksempel unøyaktighet, mulig kontaminering mellom prøvene, fordamping av prøvene ved vannbad og lignende.

Figur 23 viser en stigende økning for K3 uten antioksidant frem til dag 21, som vil si at kvaliteten synker og oljene blir mer oksiderte. Fra dag 21 til dag 28 avtok TBARS-verdiene, dette kan skyldes at noen av aldehydene kunne ha reagert videre med peptider og proteiner. Siden proteinoksidasjon ikke er beskrevet i denne oppgaven, ble dermed denne vurderingen gjort med lite teoretisk bakgrunn. For å kunne vurdere dette resultatet videre, burde dette blitt nærmere undersøkt.

5.5 PV- og TBARS-verdier

Ifølge Eurolab vil olje med en PV-verdi på over 30 mEq i fiskeolje regnes som harsk. Som vist i vedlegg 3 har alle prøvene fra K3 med og uten antioksidant for prosesstrinnene, *hydrolysert* og *termisk*, en verdi under 30 mEq, dette vil si at de ikke overstiger Eurolab sin grenseverdi. De resterende PV-verdiene er generelt rundt eller over grenseverdiene på 30 mEq, hvis en ser bort i fra enkelttilfeller (Eurolab, u.å.). Under analyse av PV oppstod det ofte utfordringer som ga ujevne resultater. Dette kan skyldes at det er en veldig sensitiv metode, hvor veldig små mengder med lys, temperatur og oksygentilgang påvirket resultatene i stor grad. Dermed ble noen av resultatene for høye, slik at de ikke ble representative. En annen utfordring som oppstod

var at enkelte prøver ikke hadde tilstrekkelig med olje, slik at det ikke ble analysert nok paralleller som førte til at resultatene kan være noe avvikende.

Vitenskapskomiteen har foreslått TBARS-verdier til 100-3400 $\mu\text{mol/kg}$ (0,1 – 3,4 $\mu\text{mol/g}$) som et akseptabelt nivå for olje (Aursand et al., 2011). Alle verdiene fra TBARS var under 3,4 $\mu\text{mol/g}$ olje, grunnen til dette kan trolig være at oksidasjonsprosessen ikke har begynt å danne store mengder med sekundære oksidasjonsprodukter. En utfordring ved å benytte TBARS for å måle de sekundære oksidasjonsprodukter er at den baserer seg på rosa fargeabsorbans. Oljens naturlige farge vil kunne påvirke resultatene fra TBARS.

Forslag til videre arbeid

For å kunne produsere fiskeolje med høy kvalitet er det viktig at de marine oljene unngår oksidasjon. Derfor kan forslag til videre arbeid være å forske på ulike antioksidanter som vil gi bedre virkning mot oksidasjon av fett. Et annet forslag kan være å fokusere mer på å forbedre kvaliteten til oljen som ekstraheres fra kategori 2-materiale.

6.0 Konklusjon

Hovedmålet med oppgaven var å sammenligne kvaliteten til olje laget av fiskeensilasjer med ulike typer råstoff, kartlegge endringer i oljekvaliteten med og uten tilstedeværelse av antioksidant under lagring og sammenligne hvordan ulike prosessstrinn påvirker sluttkvaliteten til fiskeoljene.

Ut ifra oppgavens hovedmål kan det konkluderes med at valg av råstoff ga betydelig effekt på oksidasjonsgraden og at kategori 3-materiale bevarte oljekvaliteten bedre enn kategori 2-materiale. Dette samsvarer med pH-utviklingen til de ulike fiskeensilasje som ble benyttet, hvor kategori 2-materiale hadde en større økning i pH og bevarte oljekvaliteten dårligere. Fiskeoljer med antioksidant bevarte oljekvaliteten bedre enn fiskeoljene uten antioksidant, men forskjellen ble mindre enn forventet. Dermed kan det være hensiktsmessig å forske på antioksidanter som vil kunne hindre oksidasjon av fett og bevare oljekvaliteten bedre. De ulike prosessstrinnene (*ingen*, *termisk* og *hydrolysert*) påvirket også oksidasjonsgraden. Ved å benytte kun sentrifugering (*ingen*) ble oljekvaliteten redusert i stor grad sammenlignet med de oljeprovne som ble hydrolysert og varmeinaktivert. For prøvene som ble hydrolysert (hydrolysert, inaktivert og sentrifugert) og termisk behandlet (inaktivert og sentrifugert) ble oksidasjonsprosessen relativt lik, og stabil under lagringsperioden. Prosessstrinnet, *ingen*, hadde en tydelig økende oksidasjonsprosess under hele lagringsperioden. Dermed kan det konkluderes med at prøvene bør varmebehandles for å bevare oljekvaliteten bedre over en lengre periode.

Referanseliste

- Al-Janabi, Y. (2016). *The Utilization of Mackerel (Scomber scombrus) Rest Raw Material Towards the Production of Oil and Protein* (Masteroppgave). Norges teknisk-naturvitenskaplige universitet. Hentet fra https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/2393944/12333_FULLTEXT.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Animaliebiproduktforskriften. (2020). Forskrift om animalske biprodukter som ikke er beregnet på konsum (FOR-2016-09-14-1064). Hentet fra https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2016-09-14-1064/*#&%23x2a
- AOCS, O. (2011). AOCS Official Method Cd 8b-90: Peroxide value acetic acid-isooctane method, official methods and recommended practices of the AOCS. American Oil Chemists Society Press, Champaign. I: AOCS Press.
- Aursand, M., Mozuraityte, R., Hamre, K., Knutsen, H., Maage, A. & Arukwe, A. (2011). *Beskrivelse av fremstilling og risikovurdering av nedbrytningsstoffer og oksidasjonsprodukter i fiskeoljer* (2011:19). Hentet fra <https://vkm.no/risikovurderinger/allevurderinger/beskrivelseavfremstillingogrisikoveringavnedbrytningsstofferogoksidasjonsprodukterifiskeoljer.4.a665c1015c865cc85bab579.html>
- Bernatek, E. R. & Ditlefsen, A. (2021, 26. juli). *harskning*. Hentet 03.03.2022 fra <https://snl.no/harskning>
- Bjugn Industrier A/S. (1996). *OPPGRADERING AV ENSILASJEPRODUKTER* (312/60). Hentet fra https://www.rubin.no/Rapporter/312_60.PDF
- Bjørneboe, G.-E. (2020, 22. januar). *peroksider*. Hentet 28.02.2022 fra <https://snl.no/peroksider>
- Brun, A. T. (2012). *Oksidativ stabilitet til kommersielle fiskeoljeprodukter* (Masteroppgave). Universitetet i Tromsø, UiT Munin.
- Bækken, Ø. & Bekkevold, S. (1993). *Håndbok i ensilasje* (410/19). Stiftelsen RUBIN. Hentet fra https://www.rubin.no/Rapporter/410_19.PDF
- Coulter, T. P., Blumenthal, H. & Royal Society of, C. (2009). *Food : the chemistry of its components* (5th. utg.). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Eide, O. L. A., Børresen, T. & Strøm, T. (1982). Minced Fish Production From Capelin (*Mallotus villosus*). A New Method for Gutting, Skinning and Removal of Fat from Small Fatty Fish Species. *Journal of food science*, 47(2), 347-349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb10078.x>
- Eilertsen, V. T. (2018). *Restblod i torskemuskel som følge av vasshaling og forsinket bløtting* (Masteroppgave). Universitetet i Tromsø. Hentet fra <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/14195/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Eppendorf Handling Solutions. (u.å). *Basics in Centrifugation*. Hentet 21 mars 2022 fra <https://handling-solutions.eppendorf.com/sample-handling/centrifugation/safe-use-of-centrifuges/basics-in-centrifugation/>
- Eurolab. (u.å.). *Kvalitetstester - Bestemmelse av peroksidverdi*. Hentet 28.02.2022 fra <https://www.eurolab.net/no/testler/gida-testleri/kalite-testleri-peroksid-degeri-tayini/>
- Frankel, E. N. (2005). *Lipid oxidation* (2nd. utg., bd. vol. 18). Bridgewater: Oily Press.
- Gildberg, A. & Akse, L. (1992). *Kvalitetskrav ved utnyttelse av biprodukter fra fiskeriene Del 2 ENSILASJE* (8337). Hentet fra http://www.rubin.no/Rapporter/101_b_6.PDF

- Gjermstad, R. S. (2020). *Hydrolysater av restråstoff fra laks (Salmo salar) - effekten av antioksidanter på kvaliteten under lagring* (Masteroppgave). Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.
- Guneriusen, T. (2018). *Kvalitet av ensilasje og ensilasjeprodukter fra restråstoff etter sløying av torsk og laks* (Masteroppgave). Universitetet i Tromsø. Hentet fra <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/16085/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Hansen, M. H. F. (2013). *Kvalitet og holdbarhet til bearbeidede produkter fra marint råstoff* (Masteroppgave). Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet. Hentet fra https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/246053/690223_FULLTEXT01.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hauge, J. G. (2020, 29. april). *frie fettsyrer*. Hentet 01.03.2022 fra https://snl.no/frie_fettsyrer
- Haugen, J.-E., Thoresen, L., Meisland, A. & Oterhals, Å. (2020). *Foredling av råolje fra makrell restråstoff til høykvalitetsprodukt for human konsum* (17/2020). Hentet fra <https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/bitstream/handle/11250/2655997/Rapport+17-2020+Foredling+av+r%C3%A5olje+fra+makrell+restr%C3%A5stoff+til+h%C3%B8y-kvalitetsprodukt+for+humant+konsum+-+Faglig+sluttrapport.pdf?isAllowed=y&sequence=2>
- Havforskningsinstituttet. (2021, 8. april). *BHA*. Hentet 01.03.2022 fra <https://www.hi.no/hi/temasider/sjomat/sjomaten-inneholder/bha>
- Hu, M. & Jacobsen, C. (2016). *Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats*. Amsterdam, Netherlands: Academic Press.
- Hægermark, W. A. (2013, 2. desember). *Bedre kontroll på fiskeolje*. Hentet 03.03.2022 fra <https://forskning.no/fisk-partner-nofima/bedre-kontroll-pa-fiskeolje/596133>
- Kamal-Eldin, A. & Yanishlieva, N. V. (2002). N-3 fatty acids for human nutrition: stability considerations. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 104,101(12), 825-836. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200212\)104:12<825::AID-EJLT825>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200212)104:12<825::AID-EJLT825>3.0.CO;2-N)
- Ke, P., Cervantes, E. & Robles-Martinez, C. (1984). Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in fish tissue by an improved distillation–spectrophotometric method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(11), 1248-1254.
- Ke, P. J. & Woyewoda, A. D. (1979). Microdetermination of thiobarbituric acid values in marine lipids by a direct spectrophotometric method with a monophasic reaction system. *Analytica chimica acta*, 106(2), 279-284. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)85011-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)85011-X)
- Mattilsynet. (2013, 6. februar). *VKM har risikovurdert bearbeidingsmetode for kategori 2- og 3-materiale av fisk*. Hentet 17.02.2022 fra https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/animaliebiprodukter/vkm_har_risikovurdert_bearbeidingsmetode_for_kategori_2_og_3materiale_av_fisk.7417
- Mattilsynet. (2019, 26 november). *Tilstrekkelig varmebehandling av biprodukter fra oppdrettsfisk gir trygt fiskefôr*. Hentet 21 mars 2022 fra https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/animaliebiprodukter/tilstrekkelig_varmebehandling_av_biprodukter_fra_oppdrettsfisk_gir_trygt_fiskefor.8174
- Mattilsynet. (2020a, 23. november). *Bruk av ethoxyquin (EQ) som tilsetningsstoff i fôr er faset ut*. Hentet 22.02.2022 fra https://www.mattilsynet.no/dyr_og_dyrehold/for/bruk_av_ethoxyquin_eq_som_tilsetningsstoff_i_for_er_faset_ut.25269

- Mattilsynet. (2020b, 14 mai). *Krav til opptak og håndtering av dødfisk i oppdrettsanlegg*. Hentet 25 april 2022 fra https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskehelse/fiske_og_skjellsykdommer/krav_til_opptak_og_haandtering_av_dodfisk_i_oppdrettsanlegg.33039
- Myhre, M., Richardsen, R., Nystøyl, R. & Strandheim, G. (2020). *Analyse marint restråstoff 2019* (2020:00904). Hentet fra https://www.sintef.no/contentassets/6b30fa1babad4d6eba0e243e08192d08/analyse-marint-restrastoff-2019_endelig.pdf/
- Olsen, A. Ø. (2017). *Faktorer som kan ha innvirkninger på lipidoksidasjon i margarin* (Masteroppgave). Norges miljø- og biovitenskapelige universitet. Hentet fra <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/bitstream/handle/11250/2453379/Olsen2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Olsen, R. L. (2007). Lipidkjemi med vekt på fisk. *Norges Fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø*.
- Oxford Biomedical Research. (u.å). *TBARS*. Hentet 31 mars 2022 fra <https://www.oxfordbiomed.com/products/food-science/tbars>
- Pedersen, J., Hjartåker, A., Müller, H. & Andressen, S. (2017). *Grunnleggende ernæringslære* (3. utg. Anette Hjartåker ... [et al.]. utg.). Oslo: Gyldendal akademisk.
- Pedersen, R. B. (2010). *Egenskaper til fett i proteinkonsentrat framstilt ved ensilering av biprodukter fra oppdrettet laks og ørret* (Masteroppgave). Universitetet i Tromsø. Hentet fra <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/5386/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Pokorný, J., Janišlieva, N. & Gordon, M. (2001). *Antioxidants in food : practical applications*. Boca Raton, Fla: CRC Press.
- Porter, N. A., Caldwell, S. E. & Mills, K. A. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30(4), 277-290. <https://doi.org/10.1007/BF02536034>
- Regjeringen. (2018, 3. januar). *Suspansjon av ethoxyquin som førtilsetningsstoff*. Hentet 22.02.2022 fra <https://www.regjeringen.no/no/sub/eos-notatbasen/notatene/2017/mai/suspansjon-av-ethoxyquin-som-fortilsetningsstoff/id2557353/>
- Sinnhuber, R. O., Yu, T. C. & Yu, T. C. (1958). CHARACTERIZATION OF THE RED PIGMENT FORMED IN THE 2-THIOBARBITURIC ACID DETERMINATION OF OXIDATIVE RANCIDITY. *Journal of food science*, 23(6), 626-634. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1958.tb17614.x>
- Skarpeid, M. S. (2019). *Næringsinnhold av mesopelagisk fisk* (Masteroppgave). Universitetet i Tromsø. Hentet fra <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/16809/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Slizyte, R., Grimsmo, L. & Storrø, I. (2010). *Prossesering av biråstoff fra sild til olje og proteinhydrolysat. Laboratorieforsøk med ulike proteaser og pilotforsøk med ultraferskt råstoff*. (SFH80 A105063).
- Thorkildsen, T. (2010). *Oksidasjonsnivå i marine omega-3 produkter tilgjengelig for norske forbrukere* (Masteroppgave). Høgskolen i Akershus. Hentet fra https://oda.oslomet.no/oda-xmlui/bitstream/handle/10642/712/thorkildsen_maeh_10.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- UiO. (2021a, 27. januar). *Fett*. Hentet 10.02.2022 fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/f/fett.html>

- UiO. (2021b, 3 januar). *Sentrifugering*. Hentet 21 mars 2022 fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/s/sentrifugering.html>
- Vu, K. A. T. (2012). *Fettsyresammensetning og kvalitetsaspekter av kommersielle krilloljeprodukter* (Masteroppgave). Universitetet i Tromsø. Hentet fra <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/4326/thesis.pdf?sequence=2>
- Wold, J. P. (2004, 23. januar). Spektroskopi i næringsmiddelindustrien. I *Standard harskningsforløp*. Slideplayer. Hentet 8. april 2022 fra <https://slideplayer.no/slide/3074412/>

Vedlegg

Vedlegg 1: Metodebeskrivelse for peroksidverdi

Peroxide value (PV) – peroksidverdi.

Trenger kolber (100 – 250 mL) egnet til titrering og automatisk titrator.

Reagenter:

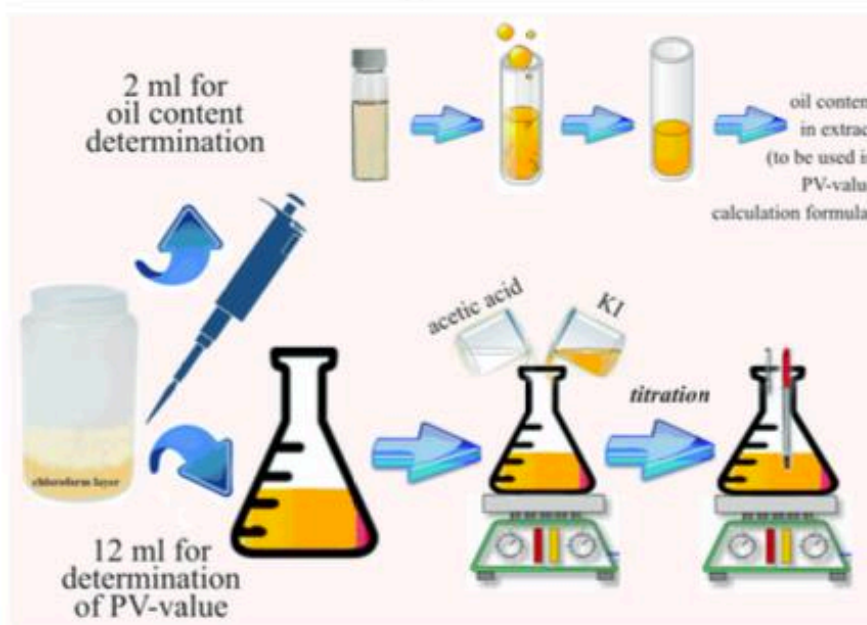
- **Titratør agent: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -løsning (må lagres mørkt)**
 - o Lag 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -løsning for 1 g olje eller mer
 - o Lag 0,001 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -løsning for 0,8 g olje eller mindre
- **Blandingsløsning (1L):**
 - o 600 mL eddiksyre + 400 mL kloroform
- **Kaliumjodid-løsning:**
 - o Må lages "ferskt". 1 g KI løses i 1,3 g destillert vann

Fremgangsmåte for PV-bestemmelse:

- Overfør 1 g olje til glasskolber egnet til titrering
- Tilsett 30 mL av blandingsløsningen
- Tilsett 0,5 mL KI
- Dekk kolber med en aluminiumsfolie, og bland innhold i 60 sek
- Tilsett 30 mL destillert vann
- Begynn titrering med $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -løsningen som ble laget (husk å bruke magnetrører)
- Noter ned mengde titrert

For blank prøve:

- 30 mL av blandingsløsning (eddiksyre og kloroform) blandes med 0,5 mL KI i en erlenmeyer kolbe
- Dekk kolben med aluminiumsfolie og bland i 60 sek.
- 30 mL destillert vann tilsettes og titreres som over



Resultat:

Resultat av PV beregnes i milli-ekvivalent O_2 per kg prøve (meq O_2 / kg olje).

For beregning:

$$PV = (V-B)*T*M*F_1/(w*F_2)$$

Hvor

V – volum av titrant brukt under titreringen i mL

B – volum av titrant brukt under titrering av blank prøve i mL

T – Molar av titrator agent (0,01 eller 0,001 M)

M – Molaritet (1000)

F₁ – Faktor 1 (1,0000)

F₂ – Faktor 2 (1,0000)

w – Vekt av oljeprøve i g.

Vedlegg 2: Metodebeskrivelse for thiobarbitursyre-reaktive stoffer

TBARS (mikrometode) Ke og Woyewoda, 1979 – norsk

Løsninger

- 0,04 M TBA stamløsning: Løs opp 2-tiobarbitursyre (2,88 g) i 50 ml dobbeltdestillert vann i en 500 ml kolbe og fyll opp til merket med iseddik under kraftig omrøring.
- 0,3 M natriumsulfittløsning: Løs opp 3,781 g natriumsulfitt (Na_2SO_3) i 100 ml dobbeltdestillert vann.
- 0,28 M Triklorediksyre (TCA) løsning: Løs opp 4,575 g TCA i 100 ml dobbeltdestillert vann
- 0,02 M TEP-standard stamløsning: Løs opp 0,22 g TEP i 100 ml dobbeltdestillert vann (eller 55 mg i 25 ml vann)
- 0,0001 M TEP: 1 ml 0,01 M TEP + 99 ml dobbeltdestillert vann (eller 250 μl fortynnet til 25 ml)
- TBA-arbeidsløsning (NB – dette må ikke lages mer enn 30 minutter før analysen): 180 ml TBA – stamløsning, 120 ml kloroform, 15 ml natriumsulfittløsning og 9,45 ml 3 % BHT-løsning i etanol.

Fremgangsmåte

Alle mengder ble halvert i forhold til den opprinnelige prosedyren for å kunne bruke kimax-rør til denne prosedyren

1. lipid (olje) (10 mg eller mindre) ble veid i kimex-rørene
2. TBA-arbeidsløsning (5ml) ble tilsatt og blandingen ble blandet på en virvelmikser i 15-20 sek. Rørene ble deretter inkubert i et kokende vannbad i 45 minutter.
3. rørene ble deretter avkjølt i kaldt vann, 2,5 ml TCA-løsning ble tilsatt og blandet ved inversjon. Rørene ble deretter sentrifugert i 5-10 minutter ved 2500 rpm ved romtemperatur (sentrifugeringen bør være god nok til å sikre en god separasjon av den rosa og vannfasen fra kloroformfasen.
4. den optiske tettheten (absorpsjon) av vannfasen ble bestemt ved 538 nm.

Kjør minst to paralleller. Blindprøven ble laget ved å utelate oljen. En standard graf ble laget ved å tilsette kjente konsentrasjoner av TEP (1,1,3,3-tetraoksypropan). Følgende konsentrasjoner ble brukt:

1, 3, 5, 10, 15 og 20 nmol (dette oppnås ved å tilsette 10, 30, 50, 100 og 200 μl av en 0,0001 M TEP-løsning). Ved høye absorpsjonsverdier ble vannfasen fortynnet med dobbeltdestillert vann. Dobbeltdestillert vann ble også brukt som referanse.

(200 μl kan være for mye. Johanna har tilsatt vann slik at alle rørene inneholder 200 μl).

Vedlegg 3: Gjennomsnittsverdier med standardavvik for PV

Enkelte prøver ikke hadde noe standardavvik da det ikke er noen paralleller.

Prøve	Dager	Gj. snitt peroksidverdi [mEq/kg] ± standardavvik		
		Hydrolysert	Termisk	Ingen
K2 med antioksidant	Dag 1	27,66 ± 5,84	42,42 ± 4,43	97,03 ± —
	Dag 4	40,10 ± 0,28	26,90 ± 6,36	145,86 ± —
	Dag 7	51,10 ± —	55,23 ± 5,66	166,46 ± —
	Dag 14	30,45 ± 3,46	30,47 ± 6,47	78,95 ± 21,14
	Dag 21	37,85 ± 2,76	25,22 ± 3,47	107,66 ± 40,36
	Dag 28	43,82 ± 13,46	31,21 ± 1,86	511,49 ± 215,24
K2 uten antioksidant	Dag 1	76,70 ± 5,64	71,09 ± 0,84	186,25 ± 20,72
	Dag 4	63,61 ± 7,50	35,17 ± 2,88	96,59 ± 26,46
	Dag 7	89,55 ± 25,95	42,38 ± 8,26	2116,87 ± 143,85
	Dag 14	42,07 ± 4,71	32,81 ± 7,48	132,07 ± 3,58
	Dag 21	42,65 ± 2,19	32,54 ± 0,23	125,20 ± —
	Dag 28	65,83 ± 1,80	47,55 ± 16,90	163,40 ± —
K3 med antioksidant	Dag 1	14,22 ± 0,03	1,25 ± 0,64	19,24 ± 0,93
	Dag 4	9,90 ± 1,14	6,62 ± 1,66	18,40 ± 1,98
	Dag 7	9,75 ± 1,48	5,93 ± 1,04	39,40 ± 12,33
	Dag 14	11,49 ± 0,69	2,32 ± 3,29	76,73 ± 18,48
	Dag 21	13,73 ± 2,02	7,30 ± 0,28	57,62 ± 18,78
	Dag 28	8,71 ± 0,42	7,11 ± 0,30	87,88 ± —
K3 uten antioksidant	Dag 1	15,10 ± 5,07	11,91 ± 2,70	24,67 ± 2,78
	Dag 4	12,35 ± 1,77	9,50 ± 1,70	17,36 ± 1,64
	Dag 7	15,91 ± 0,07	8,27 ± 1,19	40,53 ± 4,71
	Dag 14	13,88 ± 0,31	10,05 ± 0,49	53,02 ± 26,70
	Dag 21	22,38 ± 1,25	7,69 ± 0,13	83,52 ± 26,41
	Dag 28	21,21 ± 0,15	10,55 ± 2,05	2126,15 ± 9,55

Vedlegg 4: Gjennomsnittsverdier med standardavvik for TBARS

Prøve	Dager	Gj. snitt thiobarbitursyre-reaktive stoffer [µM TBARS/g fett] ± standardavvik		
		Hydrolysert	Termisk	Ingen
K2 med antioksidant	Dag 1	0,422 ± 0,074	0,245 ± 0,027	0,356 ± 0,045
	Dag 4	0,640 ± 0,010	1,005 ± 0,572	0,640 ± 0,035
	Dag 7	0,363 ± 0,033	0,217 ± 0,128	0,678 ± 0,073
	Dag 14	0,482 ± 0,090	0,319 ± 0,123	0,926 ± 0,065
	Dag 21	0,625 ± 0,023	0,401 ± 0,183	1,115 ± 0,127
	Dag 28	0,599 ± 0,045	0,441 ± 0,014	1,350 ± 0,225
K2 uten antioksidant	Dag 1	0,866 ± 0,360	0,443 ± 0,005	0,575 ± 0,048
	Dag 4	1,109 ± 0,570	0,504 ± 0,229	0,458 ± 0,280
	Dag 7	0,230 ± 0,073	0,419 ± 0,085	0,778 ± 0,069
	Dag 14	0,770 ± 0,172	0,437 ± 0,032	1,335 ± 0,311
	Dag 21	0,870 ± 0,031	0,518 ± 0,093	1,274 ± 0,043
	Dag 28	0,089 ± 0,011	0,404 ± 0,069	1,385 ± 0,098
K3 med antioksidant	Dag 1	0,058 ± 0,009	0,060 ± 0,010	0,134 ± 0,121
	Dag 4	0,136 ± 0,015	0,045 ± 0,005	0,079 ± 0,007
	Dag 7	0,060 ± 0,036	0,036 ± 0,037	0,157 ± 0,015
	Dag 14	0,152 ± 0,013	0,090 ± 0,020	0,232 ± 0,172
	Dag 21	0,158 ± 0,052	0,130 ± 0,017	0,481 ± 0,014
	Dag 28	0,049 ± 0,028	0,057 ± 0,014	0,373 ± 0,028
K3 uten antioksidant	Dag 1	0,071 ± 0,006	0,068 ± 0,012	0,124 ± 0,024
	Dag 4	0,099 ± 0,023	0,131 ± 0,029	0,134 ± 0,069
	Dag 7	0,130 ± 0,057	0,144 ± 0,075	0,231 ± 0,020
	Dag 14	0,299 ± 0,013	0,169 ± 0,030	0,636 ± 0,045
	Dag 21	0,389 ± 0,046	0,189 ± 0,088	1,006 ± 0,068
	Dag 28	0,293 ± 0,009	0,130 ± 0,018	0,130 ± 0,018

Vedlegg 5: Rådata for PV

Områder markert med rosa farge, er avvikende og dermed ikke tatt med i utregning av gjennomsnitt.

rører															
Hydrolyser	11.02.2022	Vekt (w)	Volum (titrert)	14.02.2022	Vekt (w)	Volum (titrert)	17.02.2022	Vekt (w)	Volum (titrert)	24.02.2022	Vekt (w)	Volum (titrert)	03.03.2022	Vekt (w)	Volum (titrert)
K2 med antioksidant 1	31,78	1,01	3,31	39,90	1,01	4,05	123,84	0,99	12,32	28,00	1,00	2,89	39,80	1,00	4,03
K2 med antioksidant 2	-0,30	0,99	0,07	40,30	1,01	4,09	15,50	1,00	1,61	32,90	1,00	3,38	35,90	1,00	3,64
K2 med antioksidant 3	23,53	0,68	1,7				51,10	1,00	5,17						
Gjennomsnitt	27,66			40,10			51,10			30,45			37,85		43,82
Standardavvik	5,84			0,28			0,00			3,46			2,76		13,46
K2 uten antioksidant 1	80,69	1,01	8,25	58,30	1,00	5,85	2207,33	1,01	223	48,40	1,00	4,68	100,00	1,01	10,15
K2 uten antioksidant 2	72,71	1,07	7,88	68,91	1,01	6,98	107,90	1,00	10,85	1120,71	0,99	111,04	41,10	1,00	4,16
Gjennomsnitt	76,70			63,61			71,20	0,50	3,62	38,73	0,71	2,84	44,20	0,50	2,26
Standardavvik	5,64			7,50			25,95			4,71			2,19		1,80
K3 med antioksidant 1	14,24	0,99	1,51	9,09	0,99	0,92	10,80	1,00	1,14	11,98	1,01	1,3	15,15	0,99	1,55
K3 med antioksidant 2	14,20	1,00	1,52	10,71	0,99	1,08	8,70	1,00	0,93	11,00	1,00	1,19	12,30	1,00	1,28
Gjennomsnitt	14,22			9,90			9,75			11,49			13,73		8,71
Standardavvik	0,03			1,14			1,48			0,69			2,02		0,42
K3 uten antioksidant 1	11,52	0,99	1,24	13,60	1,00	1,38	15,86	0,99	1,63	13,66	1,01	1,47	23,27	1,01	2,40
K3 uten antioksidant 2	18,69	0,99	1,95	11,10	1,00	1,13	15,96	0,99	1,64	14,10	1,00	1,50	21,50	1,00	2,20
Gjennomsnitt	15,10			12,35			15,91			13,88			22,38		21,21
Standardavvik	5,07			1,77			0,07			0,31			1,25		0,15
Termisk															
K2 med antioksidant 1	39,29	0,99	3,99	31,41	0,99	3,13	67,10	1,00	6,77	35,05	1,01	3,63	22,77	1,01	2,35
K2 med antioksidant 2	45,56	0,99	4,61	22,38	1,01	2,28	23,50	1,00	2,41	25,90	1,00	2,68	27,68	0,99	2,79
Gjennomsnitt	42,42			26,90			71,10			30,47			25,22		31,21
Standardavvik	4,43			6,39			5,66			6,47			3,47		1,86
K2 uten antioksidant 1	70,50	1,00	7,15	33,13	0,99	3,30	36,53	1,01	3,75	38,10	1,00	3,90	32,70	1,00	3,32
K2 uten antioksidant 2	71,68	1,01	7,34	37,20	1,00	3,74	48,22	1,01	4,93	27,52	1,01	2,87	32,38	1,01	3,32
Gjennomsnitt	71,09			35,17			42,38			32,81			32,54		47,55
Standardavvik	0,84			2,88			8,26			7,48			0,23		16,90
K3 med antioksidant 1	1,70	1,00	0,27	7,80	1,00	0,80	6,67	0,99	0,72	0,00	1,00	0,09	7,10	1,00	0,76
K3 med antioksidant 2	0,80	1,00	0,18	5,45	1,01	0,57	5,20	1,00	0,58	4,65	0,99	0,55	7,50	1,00	0,80
Gjennomsnitt	1,25			6,62			5,93			2,32			7,30		7,11
Standardavvik	0,64			1,66			1,04			3,29			0,28		0,30
K3 uten antioksidant 1	10,00	1,02	1,12	8,30	1,00	0,85	9,11	1,01	0,98	10,40	1,01	1,14	7,60	1,00	0,81
K3 uten antioksidant 2	13,82	1,02	1,51	10,70	1,00	1,09	7,43	1,01	0,81	9,70	0,99	1,05	7,78	0,99	0,82
Gjennomsnitt	11,91			9,50			8,27			10,05			7,69		10,55
Standardavvik	2,70			1,70			1,19			0,49			0,13		2,05
Ingen															
K2 med antioksidant 1	1,70	1,00	0,27	145,86	0,99	14,46	166,46	0,99	16,54	158,59	0,99	15,79	104,70	1,00	10,52
K2 med antioksidant 2	97,03	1,01	9,9	69,49	0,99	6,90	2166,63	1,01	218,89	64,00	1,00	6,49	149,41	1,01	15,14
K2 med antioksidant 3				292,10	1,00	29,23				93,90	1,00	9,48	68,89	0,99	6,87
Gjennomsnitt	97,03			145,86			166,46			78,95			107,66		663,68
Standardavvik										21,14			40,34		511,49
K2 uten antioksidant 1	171,60	1,00	17,26	0,40	1,00	0,06	2218,59	0,99	219,7	134,60	1,00	13,55	125,20	1,00	12,57
K2 uten antioksidant 2	200,90	1,00	20,19	77,88	0,99	7,73	2015,15	1,01	203,59	129,54	0,87	11,36			
K2 uten antioksidant 3				115,30	1,00	11,55	3529,41	1,01	356,53						
Gjennomsnitt	186,25			96,59			2116,87			132,07			125,20		163,40
Standardavvik	20,72			26,46			143,85			3,58					
K3 med antioksidant 1	19,90	0,99	2,07	19,80	1,01	2,02	48,12	1,01	4,92	63,66	1,01	6,52	70,90	1,00	7,14
K3 med antioksidant 2	18,59	0,99	1,94	17,00	1,00	1,72	30,69	1,02	3,19	89,80	1,01	9,16	2,12	0,99	0,26
Gjennomsnitt	19,24			18,40			39,40			76,73			57,62		87,88
Standardavvik	0,93			1,98			12,33			18,48			18,78		
K3 uten antioksidant 1	26,63	1,01	2,79	16,20	1,00	1,64	37,20	1,00	3,78	71,90	1,00	7,28	2323,74	0,99	230,1
K3 uten antioksidant 2	22,70	1,00	2,37	18,51	1,01	1,89	43,86	1,01	4,49	34,14	0,99	3,47	64,85	0,99	6,47
Gjennomsnitt	24,67			17,36			40,53			53,02			83,52		2126,15
Standardavvik	2,78			1,64			4,71			26,70			26,41		9,55

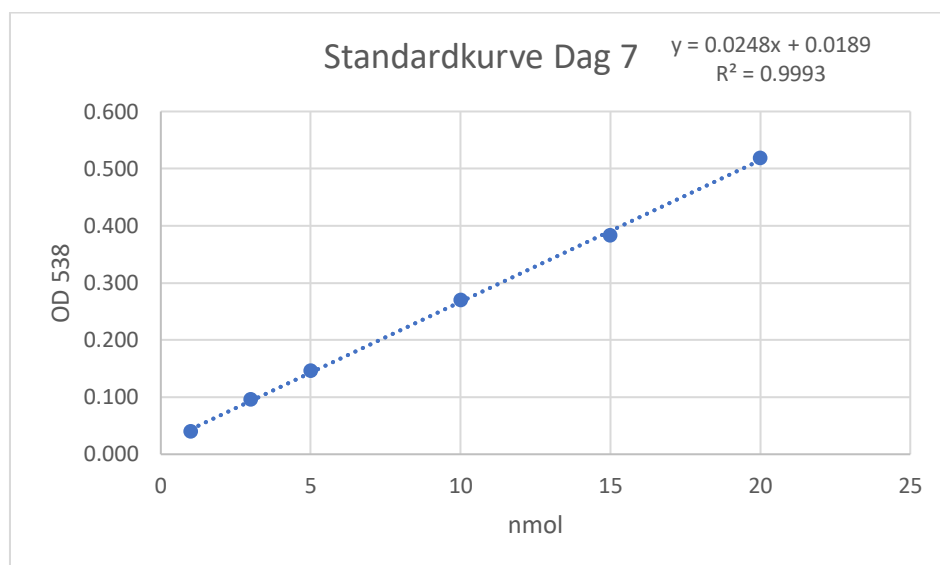
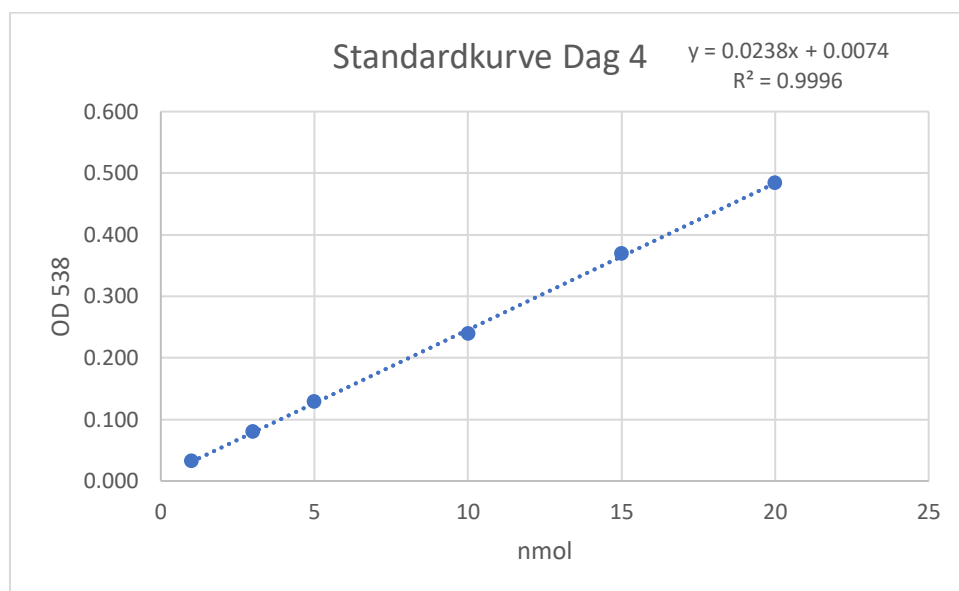
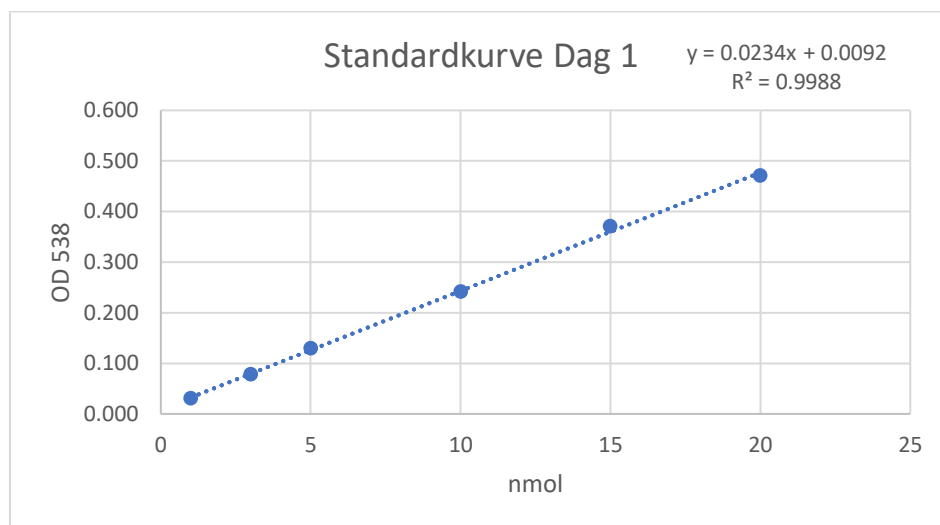
Blankprøver	Volum (mL) 0,01M				
11.02.2022	0,10			Konstantverdier	
14.02.2022	0,02			M - molaritet	1000
17.02.2022	0,06			F1 - Faktor 1	1,0000
24.02.2022	0,09			F2 - Faktor 2	1,0000
03.03.2022	0,05			T - titer	0,01
10.03.2022	0,02				

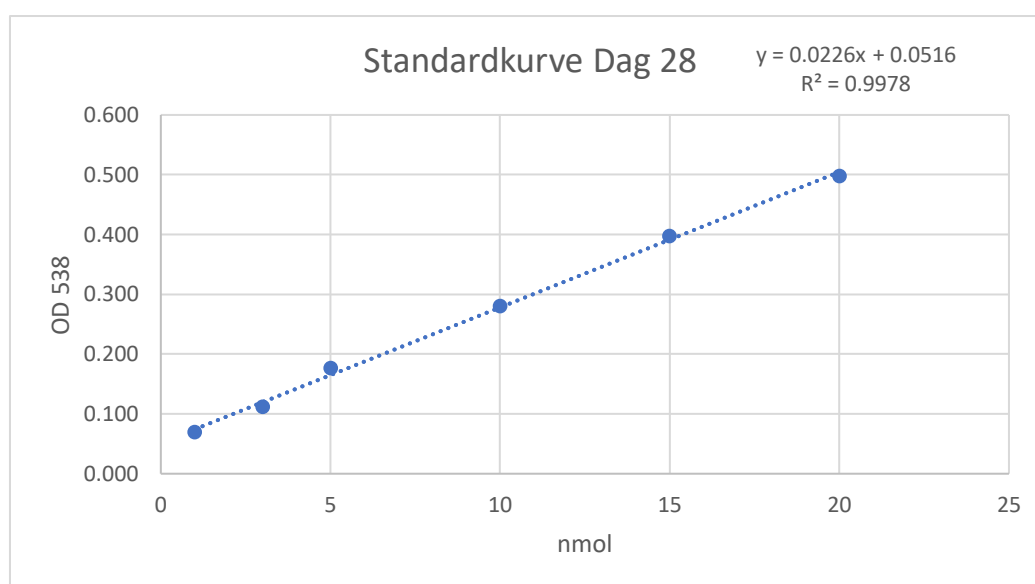
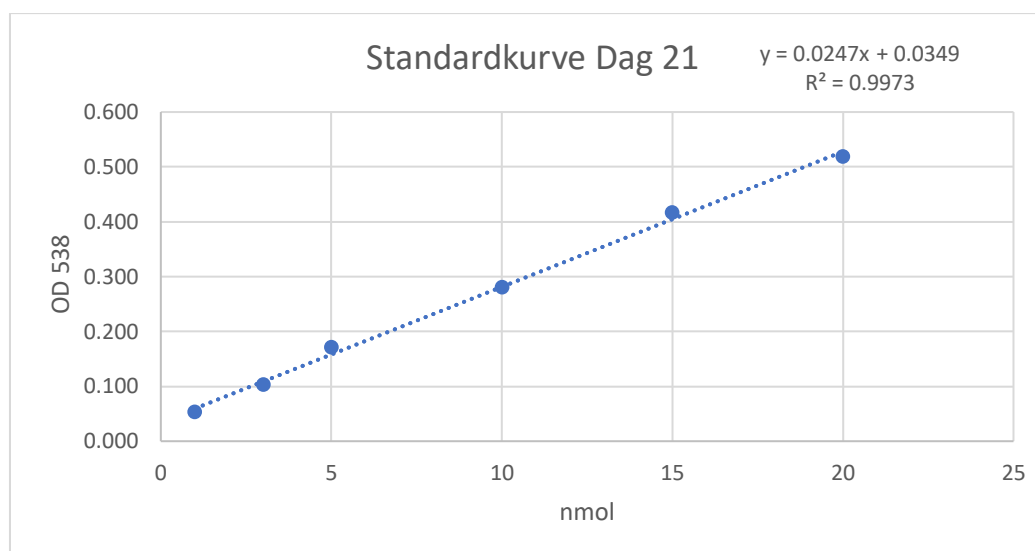
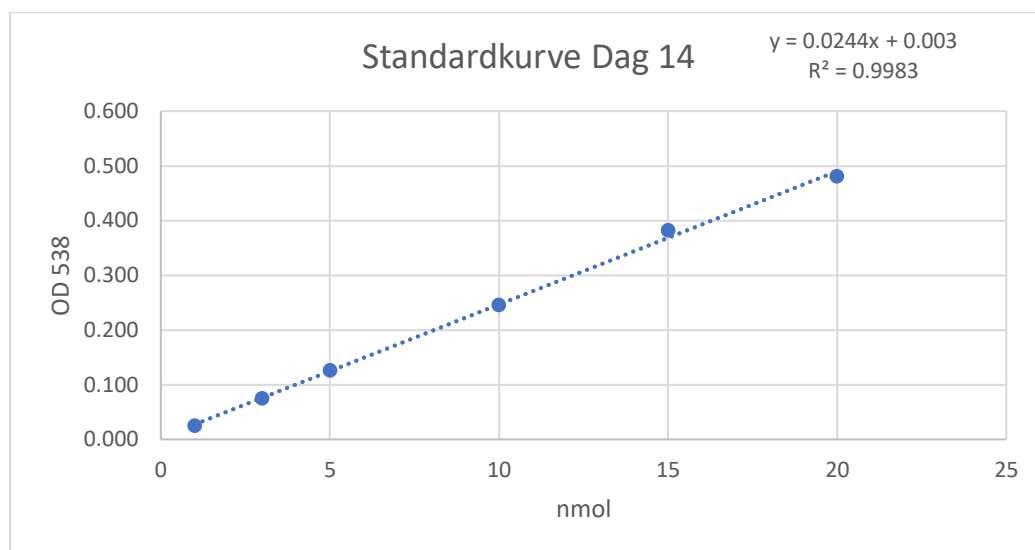
Vedlegg 6: Rådata for TBARS

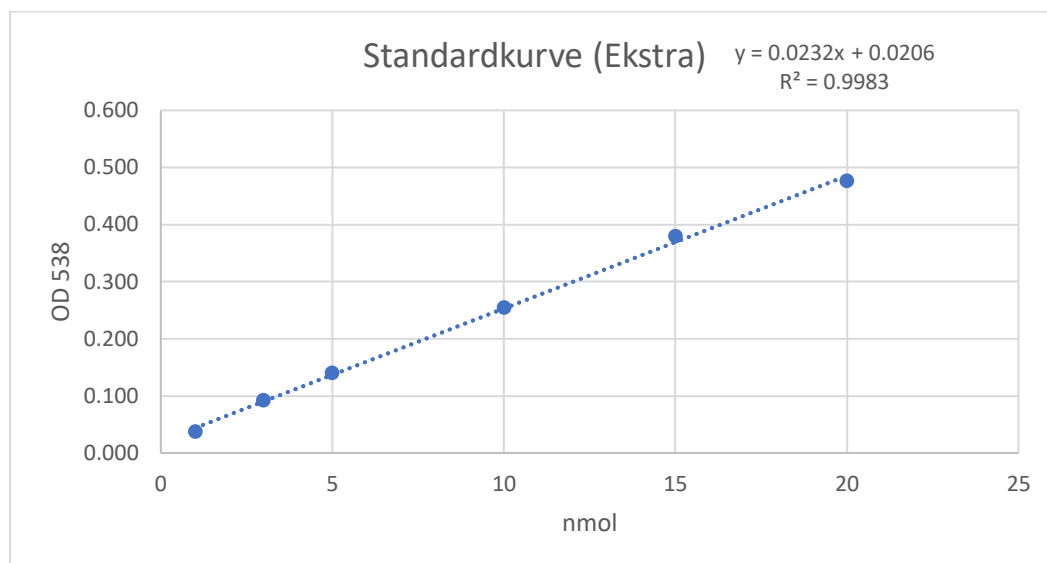
Prøver	11.02.2022		14.02.2022		17.02.2022		24.02.2022		03.03.2022		10.03.2022	
Hydrolysert	nm	Vekt (g)	nm	Vekt (g)	nm	Vekt (g)	nm	Vekt (g)	nm	Vekt (g)	nm	Vekt (g)
K2 med antioksidant 1	0,203	0,0167	0,437	0,0277	0,303	0,0322	0,208	0,0144	0,206	0,0107	0,347	0,0201
K2 med antioksidant 2	0,258	0,0251	0,188	0,0119	0,23	0,0254	0,200	0,0196	0,203	0,0113	0,232	0,0138
K2 med antioksidant 3	0,106	0,0119	0,406	0,0265	0,327	0,0311	0,216	0,0194	0,243	0,0135	0,202	0,0117
K2 uten antioksidant 1	0,387	0,0126	0,477	0,0112	0,871	0,0171	0,271	0,0159	0,359	0,0152	0,245	0,0123
K2 uten antioksidant 2	0,242	0,015	0,179	0,0102	1,043	0,0199	0,221	0,0137	0,416	0,0183	0,316	0,0169
K2 uten antioksidant 3	0,240	0,0151	0,257	0,0122	0,932	0,0174	0,508	0,0214	0,352	0,0142	0,527	0,0262
K3 med antioksidant 1	0,027	0,0147	0,116	0,0298	0,094	0,0297	0,054	0,0138	0,198	0,0304	0,057	0,0121
K3 med antioksidant 2	0,026	0,0134	0,048	0,0131	0,035	0,0161	0,076	0,0124	0,085	0,0152	0,096	0,0259
K3 med antioksidant 3	0,049	0,0251	0,055	0,0159	0,041	0,0233	0,077	0,0184	0,091	0,0186	0,069	0,0154
K3 uten antioksidant 1	0,030	0,0122	0,103	0,0149	0,091	0,0217	0,074	0,0100	0,211	0,0179	0,166	0,0177
K3 uten antioksidant 2	0,030	0,0118	0,49	0,0158	0,114	0,0274	0,102	0,0139	0,159	0,0148	0,132	0,0123
K3 uten antioksidant 3	0,025	0,0105	0,069	0,0119	0,039	0,0114	0,142	0,0181	0,221	0,0175	0,148	0,0141
Termisk												
K2 med antioksidant 1	0,096	0,0136	0,108	0,0114	0,081	0,0232	0,103	0,0102	0,234	0,0148	0,245	0,0188
K2 med antioksidant 2	0,086	0,0134	0,405	0,0144	0,167	0,0167	0,107	0,0113	0,095	0,0125	0,242	0,0191
K2 med antioksidant 3	0,074	0,0127	0,385	0,0107	0,066	0,0102	0,047	0,0102	0,195	0,0140	0,203	0,0157
K2 uten antioksidant 1	0,214	0,0196	0,203	0,0108	0,274	0,0211	0,151	0,0144	0,165	0,0126	0,271	0,0201
K2 uten antioksidant 2	0,136	0,0124	0,117	0,0108	0,178	0,0198	0,137	0,0116	0,188	0,0103	0,146	0,0111
K2 uten antioksidant 3	0,182	0,0166	0,086	0,0102	0,299	0,0253	0,138	0,0133	0,227	0,0146	0,193	0,0177
K3 med antioksidant 1	0,031	0,0156	0,021	0,0114	0,046	0,0198	0,028	0,0119	0,083	0,0166	0,076	0,0206
K3 med antioksidant 2	0,038	0,0176	0,023	0,0159	0,017	0,0117	0,048	0,0165	0,089	0,0178	0,071	0,019
K3 med antioksidant 3	0,027	0,015	0,024	0,0146	0,051	0,0217	0,022	0,0107	0,120	0,0230	0,094	0,026
K3 uten antioksidant 1	0,024	0,0117	0,048	0,0105	0,153	0,0235	0,049	0,0139	0,093	0,0168	0,087	0,0143
K3 uten antioksidant 2	0,03	0,0119	0,048	0,0139	0,1	0,0296	0,098	0,0200	0,101	0,0198	0,098	0,015
K3 uten antioksidant 3	0,037	0,016	0,034	0,0105	0,071	0,0229	0,084	0,0187	0,177	0,0198	0,099	0,0147
Ingen												
K2 med antioksidant 1	0,114	0,0114	0,174	0,0109	0,435	0,0221	0,334	0,0138	0,432	0,0146	0,747	0,0209
K2 med antioksidant 2	0,088	0,011	0,211	0,0127	0,263	0,0150	0,319	0,0138	0,448	0,0168	0,404	0,0143
K2 med antioksidant 3	0,145	0,0157	0,21	0,0141	0,177	0,0103	0,291	0,0138	0,411	0,0122	0,542	0,0146
K2 uten antioksidant 1	0,2	0,0142	0,59	0,0109	0,311	0,0138	0,489	0,0118	0,483	0,0147	0,490	0,0137
K2 uten antioksidant 2	0,33	0,022	0,2	0,0124	0,414	0,0209	0,528	0,0195	0,501	0,0143	0,730	0,0205
K2 uten antioksidant 3	0,134	0,0101	0,193	0,0113	0,334	0,0177	0,764	0,0257	0,423	0,0124	0,455	0,014
K3 med antioksidant 1	0,031	0,0129	0,032	0,0143	0,085	0,0189	0,137	0,0117	0,305	0,0221	0,264	0,0235
K3 med antioksidant 2	0,081	0,0112	0,044	0,019	0,113	0,0239	0,162	0,0152	0,280	0,0206	0,213	0,019
K3 med antioksidant 3	0,025	0,012	0,037	0,0146	0,155	0,0320	0,503	0,0260	0,254	0,019	0,175	0,0159
K3 uten antioksidant 1	0,064	0,0163	0,036	0,0134	0,201	0,0319	0,220	0,0151	0,718	0,0208	1,206	0,0297
K3 uten antioksidant 2	0,046	0,012	0,113	0,0208	0,177	0,0302	0,435	0,0261	0,521	0,0127	0,798	0,0182
K3 uten antioksidant 3	0,043	0,0148	0,031	0,01	0,203	0,0295	0,287	0,0182	0,757	0,0212	0,937	0,0212
Standardkurve	11.02.2022	14.02.2022	17.02.2022	24.02.2022	03.03.2022	10.03.2022						
1 parallell 1	0,025	0,033	0,040	0,024	0,058	0,099						
1 parallell 2	0,035	0,031	0,037	0,022	0,055	0,046						
1 parallell 3	0,032	0,031	0,042	0,028	0,046	0,065						
3 parallell 1	0,072	0,080	0,100	0,072	0,121	0,132						
3 parallell 2	0,085	0,080	0,094	0,076	0,097	0,110						
3 parallell 3	0,075	0,079	0,092	0,075	0,090	0,092						
5 parallell 1	0,128	0,131	0,145	0,124	0,173	0,174						
5 parallell 2	0,129	0,128	0,148	0,129	0,159	0,162						
5 parallell 3	0,129	0,125	0,146	0,126	0,179	0,192						
10 parallell 1	0,238	0,242	0,273	0,254	0,225	0,273						
10 parallell 2	0,236	0,241	0,267	0,239	0,318	0,295						
10 parallell 3	0,249	0,233	0,270	0,244	0,298	0,273						
15 parallell 1	0,357	0,387	0,379	0,380	0,420	0,373						
15 parallell 2	0,382	0,357	0,389	0,378	0,391	0,400						
15 parallell 3	0,372	0,363	0,380	0,387	0,436	0,420						
20 parallell 1	0,450	0,465	0,542	0,507	0,495	0,516						
20 parallell 2	0,486	0,493	0,521	0,472	0,527	0,481						
20 parallell 3	0,474	0,492	0,501	0,463	0,533	0,495						

Ekstra prøver.

	vekt (g)	nm 538	nm fortynnet
K2 u/anti - ingen (14/02-22) 1	0,0186	0,289	
K2 u/anti - ingen (14/02-22) 2	0,0145	0,228	
K2 u/anti - ingen (14/02-22) 3	0,0182	0,276	
K3 u/anti - hydrolysert (14/03-22) 1	0,0122	0,042	
K3 u/anti - hydrolysert (14/03-22) 2	0,0188	0,064	
K3 u/anti - hydrolysert (14/03-22) 3	0,0206	0,079	
K2 u/anti - hydrolysert (17/02-22) 1	0,0124	0,890	0,102
K2 u/anti - hydrolysert (17/02-22) 2	0,0128	0,654	0,064
K2 u/anti - hydrolysert (17/02-22) 3	0,0174	1,318	0,126
K3 m/anti - ingen (24/02-22) 1	0,0131	0,123	
K3 m/anti - ingen (24/02-22) 2	0,0140	0,126	
K3 m/anti - ingen (24/02-22) 3	0,0100	0,098	
K3 u/anti - ingen (03/03-22) 1	0,0175	0,453	
K3 u/anti - ingen (03/03-22) 2	0,0144	0,362	
K3 u/anti - ingen (03/03-22) 3	0,0114	0,267	
K2 u/anti - hydrolysert (10/03-22) 1	0,0117	0,229	
K2 u/anti - hydrolysert (10/03-22) 2	0,0189	0,448	
K2 u/anti - hydrolysert (10/03-22) 3	0,0141	0,328	
K3 u/anti - ingen (10/03-22) 1	0,0168	0,724	0,066
K3 u/anti - ingen (10/03-22) 2	0,0227	0,954	0,085
K3 u/anti - ingen (10/03-22) 3	0,0188	0,836	0,086

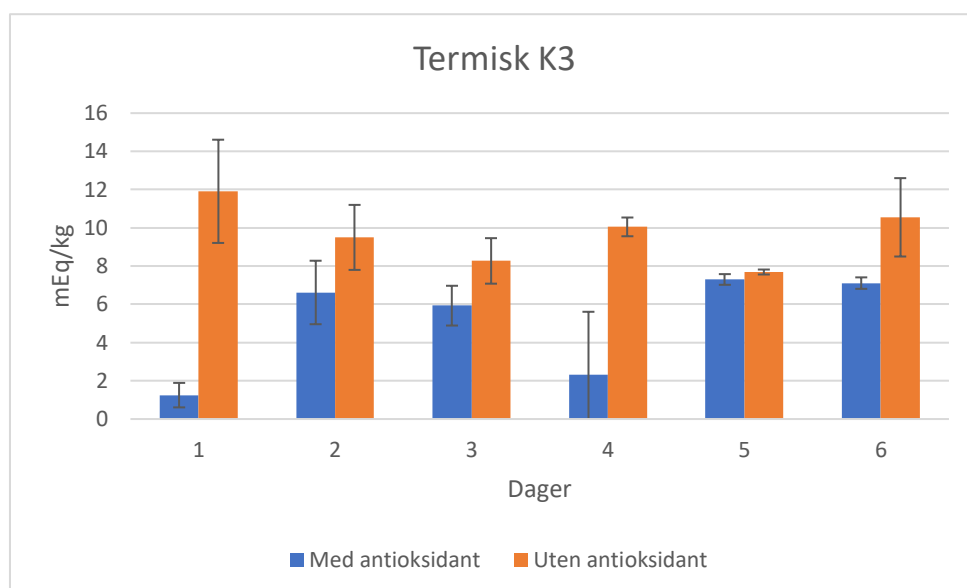
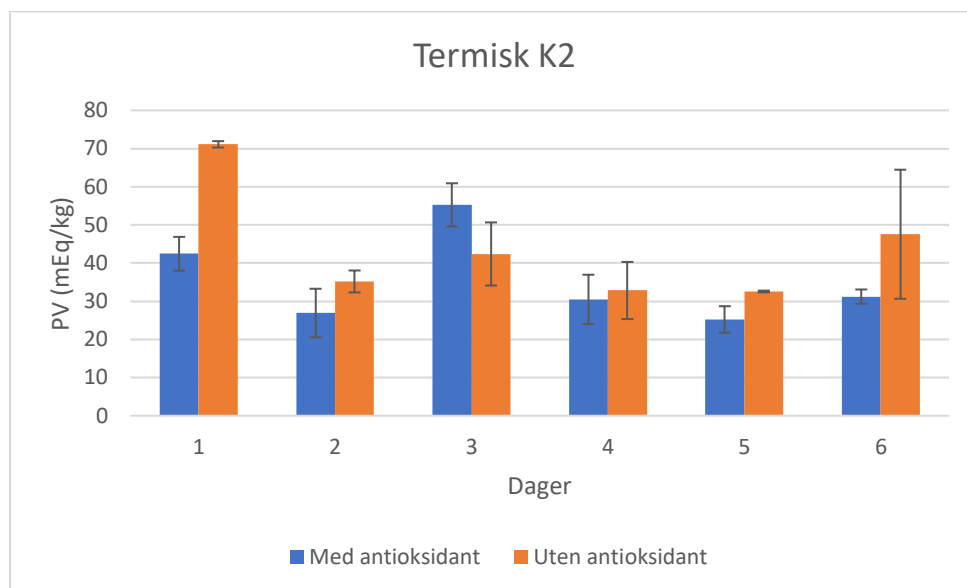
Vedlegg 7: Standardkurve TBARS

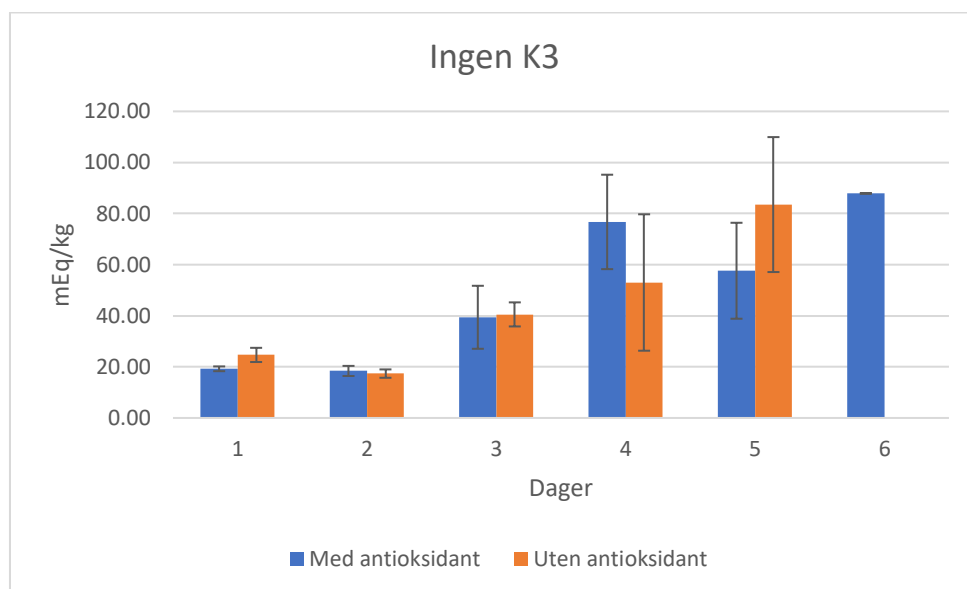
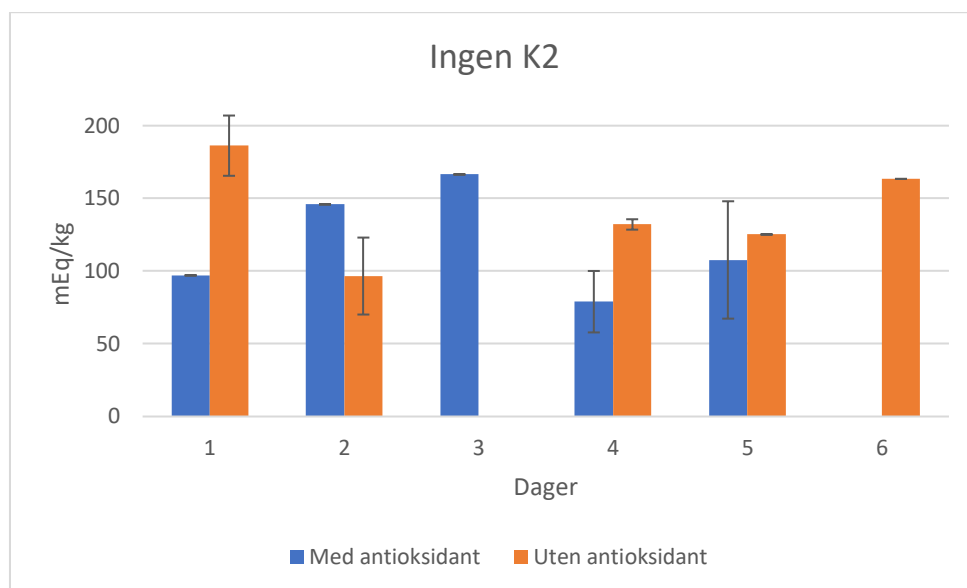


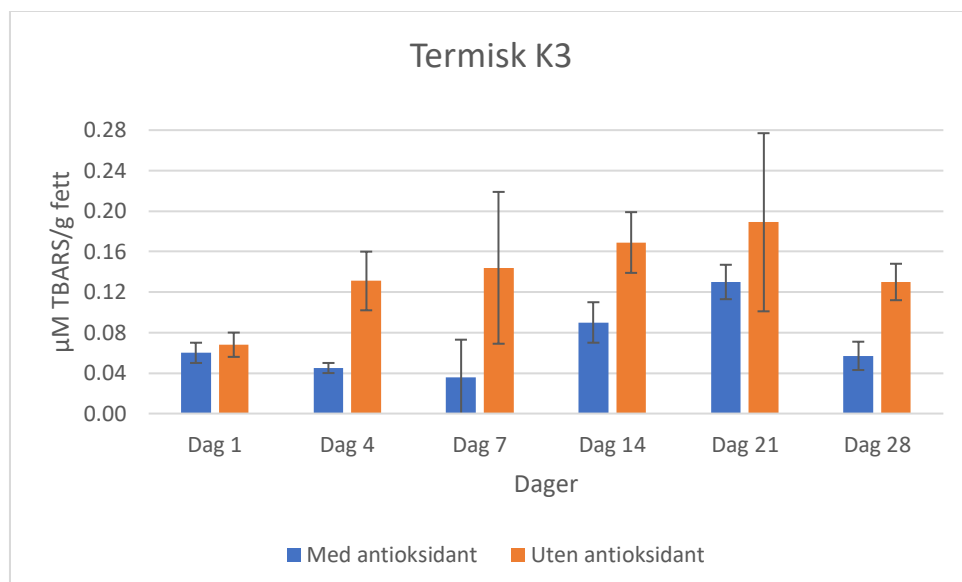
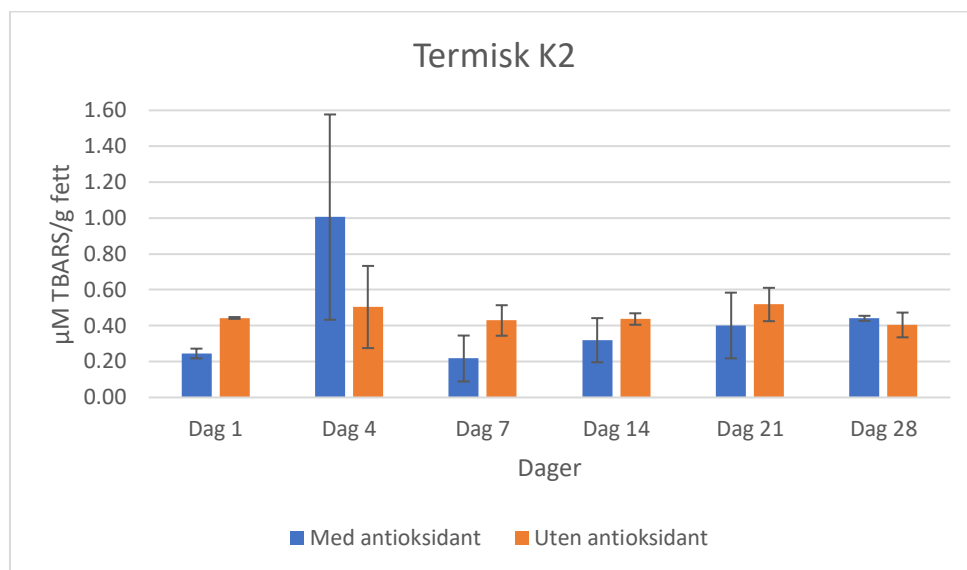


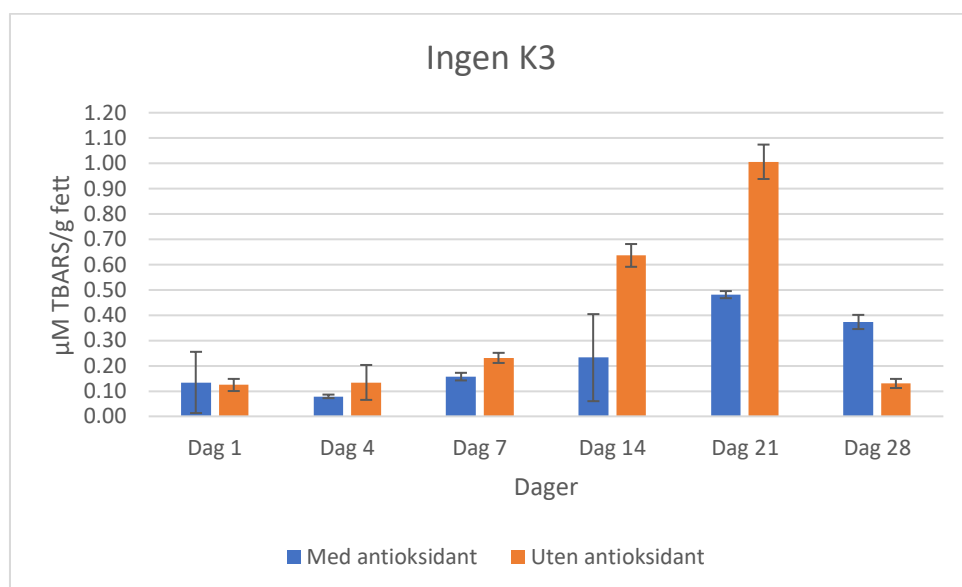
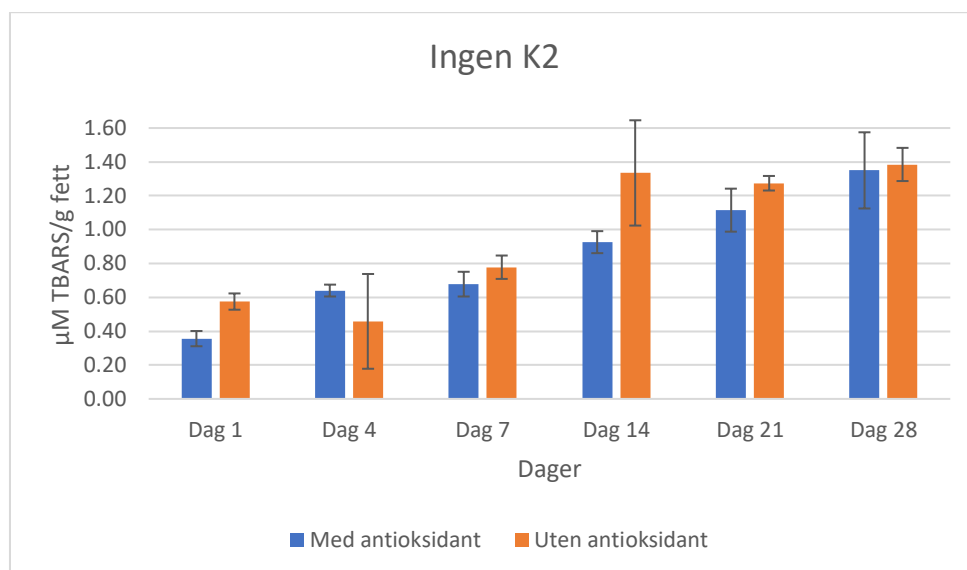
Vedlegg 8: Verdier fra pH-målingen av fiskeensilasjene gjennom lagringsperioden

Dager	K2 med antioksidant	K2 uten antioksidant	K3 med antioksidant	K3 uten antioksidant
Dag 0	3,40	3,45	3,76	3,42
Dag 1	3,63	3,68	3,35	3,38
Dag 4	3,81	3,88	3,42	3,40
Dag 7	3,87	3,91	3,44	3,46
Dag 14	3,91	3,98	3,48	3,49
Dag 21	3,96	4,01	3,49	3,52
Dag 28	4,09	3,99	3,57	3,56

Vedlegg 9: Resterende diagram for effekt av antioksidant, PV



Vedlegg 10: Resterende diagram for effekt av antioksidant, TBARS



Vedlegg 11: Grafer for PV og TBARS

