

Elena Marie Johnsen

# Økt kunnskap om innløsning av CO<sub>2</sub> i filet av Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) og fiskekaker

Masteroppgave i mat og teknologi

Veileder: Førsteamanuensis Jørgen Lerfall og Dr. Bjørn Tore

Rotabakk

Mai 2020



Elena Marie Johnsen

# **Økt kunnskap om innløsning av CO<sub>2</sub> i filet av Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) og fiskekaker**

Masteroppgave i mat og teknologi

Veileder: Førsteamanuensis Jørgen Lerfall og Dr. Bjørn Tore Rotabakk  
Mai 2020

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



Kunnskap for en bedre verden





# Sammendrag

Denne masteroppgaven er skrevet som en del av prosjektet «*Concept Development of Full-scale Soluble Gas Stabilization Technology for Seafood*» (prosjekt nr. 294 641) og er et samarbeid mellom Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet og Nofima. Prosjektet er finansiert av Norges forskningsråd for å løse problemstillinger knyttet til bærekraftige emballaseløsninger som ivaretar produktets kvalitet. «*Soluble gas stabilization*» (SGS) teknologi er en videreutvikling av tradisjonell pakking i modifisert atmosfære (MA). SGS innebærer å behandle matproduktet med 100 % karbondioksidgass (CO<sub>2</sub>) før det pakkes om i ønsket MA. Med SGS er det mulig å oppnå en høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktet sammenlignet med tradisjonell pakking i MA. SGS-teknologi har vist holdbarhetsforlengende effekt på animalske produkter som sjømat og kylling.

Gjennomføringen av masteroppgaven var todelt, og omfattet innløsning av CO<sub>2</sub> i to ulike produkt; filet av Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) og fiskekaker. Ved utførelse av forsøkene ble produktprøver først behandlet med SGS etterfulgt av pakking i MA. For å oppnå likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom gassfase og produkt i pakkene ble disse lagret ved 2°C i 4 døgn. Virkningen av SGS-behandling ble sammenlignet med kontrollprøver pakket i MA. CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktene ble beregnet på bakgrunn av endring i pakkens gassvolum og etter analyse av pakkens gassammensetning.

I del 1 ble det undersøkt om innløsning av CO<sub>2</sub> i SGS-behandlede laksefileter var ulik for fileter behandlet *pre-rigor* versus *post-rigor*. Dette ble undersøkt ved SGS-behandlingstidene 2, 12, 18 og 24 timer.

Del 2 bestod av å undersøke om innløsning av CO<sub>2</sub> var ulik for fiskekaker behandlet med SGS under nedkjøling versus SGS-behandling av tilsvarende kalde fiskekaker. Også i disse forsøkene ble ulike SGS-behandlingstider (0,5, 1 og 2 timer) benyttet for å se hvilken effekt dette hadde på mengde innløst CO<sub>2</sub> i produktet.

Resultatene fra del 1 indikerer at laks behandlet med SGS *pre-rigor* har et like stort potensiale til å løse CO<sub>2</sub> som laks behandlet *post-rigor*. Et unntak ble observert for laks med 12 timers SGS-behandlingstid, hvor det ble påvist en signifikant lavere innløsning av CO<sub>2</sub> i laks behandlet *pre-rigor* sammenlignet med *post-rigor*. Differansen som ble observert var liten og det antas at den ikke hadde signifikant påvirkning på produktets kvalitet og holdbarhet. Dermed antas det at det er fullt mulig å SGS-behandle laks i en tidlig fase før *rigor-mortis* inntreffer.

I del 2 ble det vist at selv varme fiskekaker under nedkjøling løste inn en betydelig mengde CO<sub>2</sub>. Fiskekaker behandlet med SGS under nedkjøling i 0,5 timer løste mindre CO<sub>2</sub> enn tilsvarende fiskekaker behandlet kalde. Denne forskjellen ble ikke observert ved 1 og 2 timer SGS-behandlingstid. Det betyr i praksis at det kan være mulig å SGS-behandle fiskekaker under nedkjøling og oppnå fordeler knyttet til SGS-behandling uten å redusere dagens produksjonseffektivitet.

Generelt viste resultatene som forventet at økt SGS-behandlingstid førte til en større mengde innløst CO<sub>2</sub> i produkt både for laks og fiskekaker. Likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom gassfase og produkt ble for alle prøver oppnådd innen 72 timer lagring i MAP.

# Abstract

This study is a part of the project «Concept Development of Full-scale Soluble Gas Stabilization Technology for Seafood» (project no. 294 641) funded by the Norwegian Research Council. It is a collaborative project with Norwegian University of Science and Technology and Nofima as main partners. The project aims to solve problems related to sustainable packaging solutions with emphasis on maintaining the products quality. Soluble gas stabilization (SGS) technology is a further development of conventional packaging in modified atmosphere (MA). SGS involves dissolving carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) into the product before repackaging in a desired MA. A higher CO<sub>2</sub>-concentration in the product is possible with SGS compared to conventional packaging in MA. SGS technology has been proven beneficial for prolonging shelf-life of muscle foods such as seafood and poultry.

The project was conducted as a two-part study where the amount of CO<sub>2</sub> dissolved in SGS treated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets and fish cakes has been investigated. The experiments were performed by treating the samples with SGS before repackaging into MA. The samples were stored chilled in MAP at 2°C for 4 days in order to achieve equilibrium CO<sub>2</sub> concentration between the headspace and the product in each package. The effect of SGS treatment was compared to control samples packaged in MA. The product's CO<sub>2</sub> concentration was calculated based on changes in the headspace gas volume and on headspace gas analysis performed after equilibrium was reached.

The aim of Part 1 was to investigate if CO<sub>2</sub> concentration in salmon fillets after SGS treatment was different for fillets treated *pre-rigor* versus *post-rigor*. SGS treatment was conducted for 2, 12, 18 and 24 hours.

Part 2 involved trials with fish cakes, where CO<sub>2</sub> absorption for SGS-treated fish cakes under cooling were investigated and compared to fish cakes SGS treated in a chilled state. The effect of different SGS treatment times (0.5, 1 and 2 hours) were investigated.

Results from Part 1 indicated that salmon treated with SGS prior to *rigor-mortis* had the same potential to dissolve CO<sub>2</sub> as salmon treated *post-rigor*. An exception was found for salmon treated 12 hours with SGS where *pre-rigor* treated fillets dissolved significant less CO<sub>2</sub> compared to fillets treated *post-rigor*. However, the observed difference was minor, and not expected to have significant impact on the products quality and shelf-life. Hence SGS treatment of salmon fillets prior to *rigor-mortis* is possible.

Trials carried out on fish cakes revealed that samples treated with SGS while cooling dissolved sufficient amount of CO<sub>2</sub>. The amount of dissolved CO<sub>2</sub> was less for fish cakes SGS treated under cooling for 0.5 hours compared to those SGS treated cold. This difference was not observed in the samples treated with SGS for 1 and 2 hours. These results support a possible industrial implementation of SGS technology in combination with cooling in a processing line of fish cakes without compromising production efficiency.

As expected, increased SGS treatment time lead to a higher amount of CO<sub>2</sub> dissolved in the product for both salmon and fish cakes. Equilibrium CO<sub>2</sub> concentration between headspace gas and product were reached within 72 hours of storage in MAP for all samples.

# Forord

Denne masteroppgaven er utført som avsluttende oppgave ved det 2-årige masterprogrammet mat og teknologi ved institutt for bioteknologi og matvitenskap ved fakultet for naturvitenskap ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU) i Trondheim. Arbeidet er utført over en periode på ett år, høsten 2019 og våren 2020, og utgjør til sammen 45 studiepoeng. Masteroppgaven ble utført i samarbeid med NTNU og Nofima og inngår som en del av forskningsprosjektet «*Concept development of full-scale soluble gas stabilization technology for seafood*».

Oppgaven er skrevet i en spesiell tid hvor verden er i unntakstilstand grunnet spredning av Covid-19-viruset. Situasjonen har preget oss alle.

Jeg vil takke hovedveileder førsteamanuensis Jørgen Lerfall ved NTNU for den gode oppfølgingen og veiledningen jeg har fått gjennom prosessen fra planlegging og utførelse av forsøk til resultatbehandling og ferdigstillelse av oppgaven. En stor takk rettes til Dr. Bjørn Tore Rotabakk som var min veileder ved Nofima. Jeg setter pris på den tiden han har viet til mitt arbeid. Han har vært en viktig faglig støtte og diskusjonspartner både under mitt forsøksopphold i Stavanger og i ettertid. Bjørn Tore fortjener mye av æren for den kunnskapen jeg har tilegnet meg og for den interessen jeg har utviklet for innløsning av CO<sub>2</sub> i matprodukter!

Mitt forsøksopphold ved Nofima i Stavanger var lærerikt og spennende. Jeg vil takke Nofima for at jeg fikk denne muligheten.

Takk for støtte og motivasjon fra familie og kjæreste.

Trondheim, mai 2020

Elena Marie Johnsen

# Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon .....	1
1.1	Laks som råstoff .....	3
1.1.1	Kjemisk sammensetning .....	3
1.1.2	Fiskens muskelstruktur .....	3
1.1.3	Muskelproteiner .....	5
1.1.4	Muskelkontraksjon .....	7
1.1.5	Lipider .....	8
1.2	Lagringsstabilitet.....	9
1.2.1	Autolytisk nedbrytning .....	10
1.2.2	Mikrobiologisk nedbrytning .....	13
1.3	Farseprodukter .....	14
1.4	Modifisert atmosfære pakking (MAP).....	14
1.4.1	Prinsipp for MAP.....	15
1.4.2	Gasser benyttet i MAP.....	15
1.4.3	Bakteriostatisk effekt av CO <sub>2</sub> .....	16
1.4.4	Faktorer som påvirker innløsning av CO <sub>2</sub> .....	16
1.4.5	<i>Soluble gas stabilization</i> (SGS) teknologi.....	19
1.4.6	Pakkematerialer .....	20
2	Material og metode.....	21
2.1	Forsøksoppsett .....	21
2.1.1	Laks .....	21
2.1.2	Fiskekaker.....	24
2.1.3	Laks som råstoff .....	27
2.1.4	Fiskekaker som råstoff.....	27
2.2	Prosessering .....	28
2.2.1	Oppvarming av fiskekaker.....	28
2.2.2	SGS-behandling .....	28
2.2.3	Pakking i modifisert atmosfære.....	29
2.2.4	Lagring .....	29
2.3	Måling av gassvolum .....	30
2.4	Henrys konstant.....	31
2.5	Analyse av gassfase .....	31
2.6	Råstoffanalyser .....	31
2.6.1	Tørrstoffanalyse .....	31
2.6.2	Fettekstraksjon .....	32
2.7	Statistiske analyser .....	32
3	Resultat .....	33

3.1	Råstoff .....	33
3.2	Sammensetning av gassfase i prøvepakker.....	34
3.2.1	Gassammensetning i pakker med laksefilet .....	34
3.2.2	Gassammensetning i pakker med fiskekaker.....	35
3.3	CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i prøver.....	36
3.3.1	CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i kontrollprøver ved likevekt .....	36
3.3.2	Beregnet Henrys konstant for laksefilet og for fiskekaker .....	37
3.3.3	CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i laksefileter .....	37
3.3.4	CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i fiskekaker .....	43
4	Diskusjon .....	47
4.1	Kvalitet på benyttet råstoff .....	47
4.2	Kvalitet på SGS-behandling og pakking i MA .....	48
4.3	Effekt av SGS-behandling på innløst CO <sub>2</sub> i <i>pre-rigor</i> versus <i>post-rigor</i> behandlet laksefilet .....	48
4.4	Effekt av SGS-behandling på innløst CO <sub>2</sub> i fiskekaker behandlet under nedkjøling sammenlignet med fiskekaker behandlet kalde .....	50
4.5	Volumetrisk metode benyttet til å beregne CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt .....	51
4.6	Effekt av fyllingsgrad og partialtrykk til CO <sub>2</sub> .....	52
4.7	Endring i CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt over tid.....	53
4.8	Kontrollprøver som grunnlag for å beregne Henrys konstant.....	54
4.9	Effekt av ulike SGS-behandlingstider på CO <sub>2</sub> -konsentrasjon.....	56
4.10	Betydning for industrien .....	56
5	Konklusjon .....	59
6	Videre arbeid .....	60
	Referanser.....	61

# 1 Introduksjon

Norge besitter noen av verdens rikeste marine ressurser. Den lange kystlinjen legger til rette for næringsvirksomhet basert på marine ressurser, deriblant fiskeri og akvakultur, i tillegg til en sjømatindustri på land for bearbeiding og videreforedling av sjømat. Fiskeri og havbruk spiller en viktig rolle for verdens matsikkerhet og ernæring, og havets ressurser vil være viktige for å imøtekomme et økende behov for mat som følge av en voksende verdensbefolkning (Regjeringen, 2017).

Fram mot 2050 forventes det at verdens befolkning vil øke til 9,7 milliarder. Med den forventede befolkningsveksten og med klimaendringer i fremmarsj, vil en bærekraftig utvikling være avgjørende for å ivareta kloden og dens ressurser (FN, 2019a). Bærekraftig utvikling er et begrep som først ble kjent i 1983 da det ble brukt i Verdenskommisjonen for miljø og utvikling sin rapport. Det er definert som «*Utvikling som imøtekommer dagens behov uten å ødelegge mulighetene for at kommende generasjoner skal få dekket sine behov*». Bærekraftig utvikling består av dimensjonene økonomi, klima og miljø, og sosiale forhold. De tre dimensjonene må være tilstede samtidig for å oppnå bærekraft (FN, 2019b).

I 2015 ble 17 mål for bærekraftig utvikling vedtatt av FNs medlemsland. Disse inkluderer blant annet å sikre verdensbefolkningen tilgang på trygg og ernæringsriktig mat for å utrydde sult. Det ligger i målene at naturressursene må brukes effektivt samtidig som de forvaltes på en bærekraftig måte. Et viktig delmål for en bærekraftig utvikling innebærer at matsvinnet per innbygger på verdensbasis skal halveres og avfallsmengden skal reduseres. For å oppnå disse målene må det utvikles systemer for mat og matproduksjon som ivaretar klima, miljø, helse og en rettferdig fordeling (NFR, 2017; FN, 2020).

Matsvinnet i Norge i 2017 tilsvarte 73 kg/innbygger. I tillegg til økonomiske tap medførte dette et klimafotavtrykk på 1,3 millioner CO<sub>2</sub>-ekvivalenter (Stensgård, 2019). Ifølge SSB (2019) ble det i 2018 kastet noe mindre enn i 2017, men det ble likevel kastet totalt 421 kg avfall per innbygger. Den største andelen matsvinn i forsyningskjeden for mat til private husholdninger ses i forbrukerleddet, ifølge Stensgård (2019). Avfall fra tidligere ledd i forsyningskjeden holdes lavt som følge av god teknologi og kontroll i leddene fra høsting til emballering (Stensgård, 2019).

En måte å redusere matsvinn på er å holde maten fersk lenger. Det kan gjøres ved å øke emballasjefunksjonalitet og brukervennlighet som ved å tilby pakker med åpne- og lukkefunksjon og forskjellige forpakkingsstørrelser slik at forbruker ikke kjøper mer mat enn nødvendig (Williams, 2011). Andre tiltak fra matbransjen som kan redusere matsvinn er økt holdbarhet på produktene, bruk av supplerende holdbarhetsmerking og informasjon om produktets holdbarhet og oppbevaring før og etter åpning (Matvett, u.å.).

I et klimaperspektiv står produksjon av mat for 26 % av de totale globale utslippene. For å redusere belastningen på klima og miljø er det i tillegg til å redusere matsvinn også et potensiale til utslippsreduksjon innen transport, energibruk, produksjon og bruk av landbruksareal (Ritchie, 2019).

Emballasje og pakketeknologi inngår som en viktig del av matindustrien. Flere tilberedings- og konserveringsmetoder avhenger av gode pakke- og emballasjeløsninger. Dagens emballering av matvarer har ikke lenger bare en passiv rolle for å beskytte og markedsføre produkter. Den har en aktiv rolle i prosessering, konservering og bevaring

av kvalitet og mattrygghet til produktet gjennom distribusjonskjeden (Han, 2014). Økt krav til mattrygghet, holdbarhet, kostnadseffektivitet, klima- og miljøproblematikk og forbrukervennlighet har ført til en utvikling innen pakketeknologi for matvarer (Kerry, 2014). For å imøtekomme slike krav fra markedet har innovative pakketeknologier innen blant annet modifisert atmosfære pakking (MAP) blitt videreutviklet (Ahvenainen, 2003). MAP-teknologi innebærer at luft fjernes fra pakken og erstattes med en bestemt gass eller gassblanding av gasser som eksempelvis oksygen (O<sub>2</sub>), karbondioksid (CO<sub>2</sub>) eller nitrogen (N<sub>2</sub>). MAP i kombinasjon med kjølelagring forlenger holdbarhet til ulike typer matprodukter ved å skape suboptimale forhold for uønsket mikrobiologisk vekst og tilhørende mikrobiologiske og kjemiske forringelsesprosesser (Nosedá *et al.*, 2013).

«*Soluble gas stabilization*» (SGS) teknologi er en videreutvikling av MAP-teknologi. SGS innebærer å behandle matproduktet med 100 % CO<sub>2</sub> gass før det pakkes om i ønsket modifisert atmosfære (MA). Målet er å oppnå høyere konsentrasjon av CO<sub>2</sub> i produktet før pakking i MA, og om mulig redusere mengde gassvolum per pakke sammenlignet med tradisjonell MAP (Sivertsvik og Birkeland, 2006). Studier har vist at SGS-teknologi kan virke holdbarhetsforlengende på animalske produkter som sjømat (Sivertsvik, 2000; Sivertsvik og Birkeland, 2006; Rotabakk *et al.*, 2008) og kylling (Rotabakk *et al.*, 2006; Al-Nehlawi *et al.*, 2013).

For å løse problemstillinger knyttet til bærekraftige emballaseløsninger som ivaretar produktets kvalitet har Norges forskningsråd (NFR) bevilget penger til prosjektet «*Concept Development of Full-scale Soluble Gas Stabilization Technology for Seafood*» (SGS-Concept, NFR prosjekt nr. 294 641). Dette er et samarbeidsprosjekt mellom Norges teknisk-naturvitenskapelig Universitet (NTNU) og forskningsinstitusjon Nofima. Prosjektet har som mål å utvikle et innovativt konsept for fullskala SGS-prosesserings-teknologi for sjømat som kan føre til redusert matsvinn og gjøre sjømatkonsum mer bærekraftig gjennom tverrfaglig forskning med fundament i både ingeniør- og naturvitenskap. Denne masteroppgaven er en del av dette prosjektet og skal bidra til å øke forståelsen av innløsning av CO<sub>2</sub> i både ren fiskemuskel og i farseprodukt av fisk. Oppgaven skal kartlegge om det er forskjeller knyttet til CO<sub>2</sub>-innløsning i *pre-rigor* sammenlignet med *post-rigor* filet av Atlantisk laks (*Salmo salar* L.), samt se på innløsning av CO<sub>2</sub> under nedkjøling av fiskekaker sammenlignet med allerede nedkjølte fiskekaker. Masteroppgaven består av følgende to deler:

Del 1: Undersøke og sammenligne innløsning av CO<sub>2</sub> i laksefilet behandlet med SGS før *rigor-mortis* inntreffer (*pre-rigor*) versus etter *rigor-mortis* (*post-rigor*).

Del 2: Undersøke og sammenligne innløsning av CO<sub>2</sub> i fiskekaker behandlet med SGS under nedkjøling versus fiskekaker behandlet kalde. Det skal også undersøkes hvordan ulike SGS-behandlingstider påvirker CO<sub>2</sub>-løselighet i fiskekaker SGS-behandlet under nedkjøling.

Det er i denne oppgaven fokusert på en noe bredere teoriplattform, da NTNU og Nofima måtte stenge ned sine lokaler grunnet fare for smittespredning av Covid-19-viruset.

## 1.1 Laks som råstoff

### 1.1.1 Kjemisk sammensetning

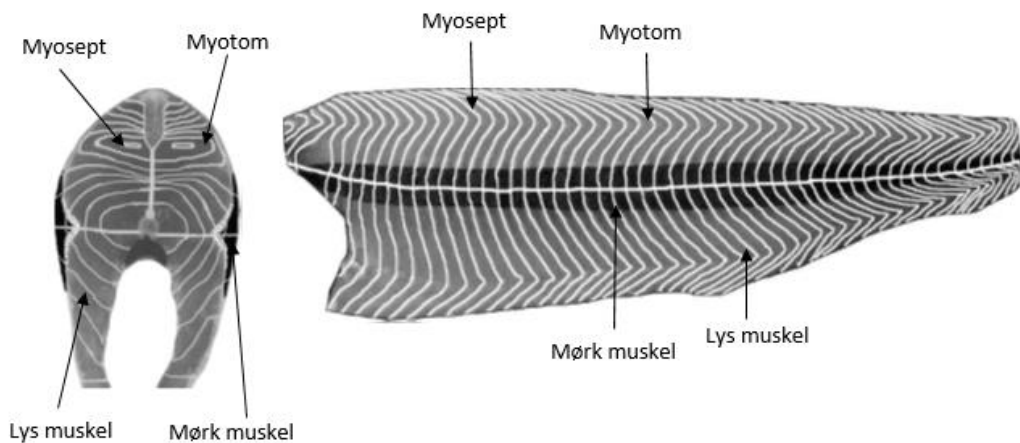
Den kjemiske sammensetningen til fisk varierer (Shearer, 1994; Huss, 1995), og flere studier har vist at i tillegg til art påvirkes den av førsammensetning (Lerfall *et al.*, 2016), sesong og geografisk lokasjon (Mørkøre og Rørvik, 2001; Ørnholt-Johansson, Frosch og Jørgensen, 2017; Rotabakk, Melberg og Lerfall, 2018), kjønn, gyting og migrasjon (Huss, 1995), salinitet (Shearer, 1994) samt temperatur (Kepshire, Tinsley og Lowry, 1983). I tillegg påvirker genetiske variasjoner vekst, fôrintak og -utnyttelse og alder ved kjønnsmodning (Thodesen *et al.*, 2001; Vieira, Norris og Johnston, 2007).

Det er størst variasjon i fett- og vanninnhold og disse er omvendt korrelert med hverandre (Shearer, 1994; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008), mens proteininnholdet er relativt konstant. For feite fiskearter vil fettinnholdet variere i større grad enn for magre fiskearter. Karbohydratnivået er vanligvis lavt  $<0,3\%$  og består i hovedsak av glykogen (Belitz, Grosch og Schieberle, 2009). Fersk fisk har pH som ligger rundt nøytral (Huss, 1995; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Lerfall *et al.* (2015) har i sin studie vist at muskel pH i laks er avhengig av *pre-mortem* stress. En pH på  $7,35 \pm 0,09$  ble målt på ustresst laks fra merd ( $n=24$ ), mens trengt laks fra merd hadde en pH på  $6,99 \pm 0,26$  ( $n=24$ ). Etter fire dager lagring på is var pH henholdsvis  $6,27 \pm 0,03$  og  $6,24 \pm 0,03$ . Rotabakk, Melberg og Lerfall (2018) målte i sin studie pH i *pre-rigor* laks til å være  $6,9 \pm 0,3$  ( $n=80$ ) for fisk trengt i merd før pumping til slakt. *Post-rigor* pH i laks fra samme studie var  $6,29 \pm 0,06$ .

### 1.1.2 Fiskens muskelstruktur

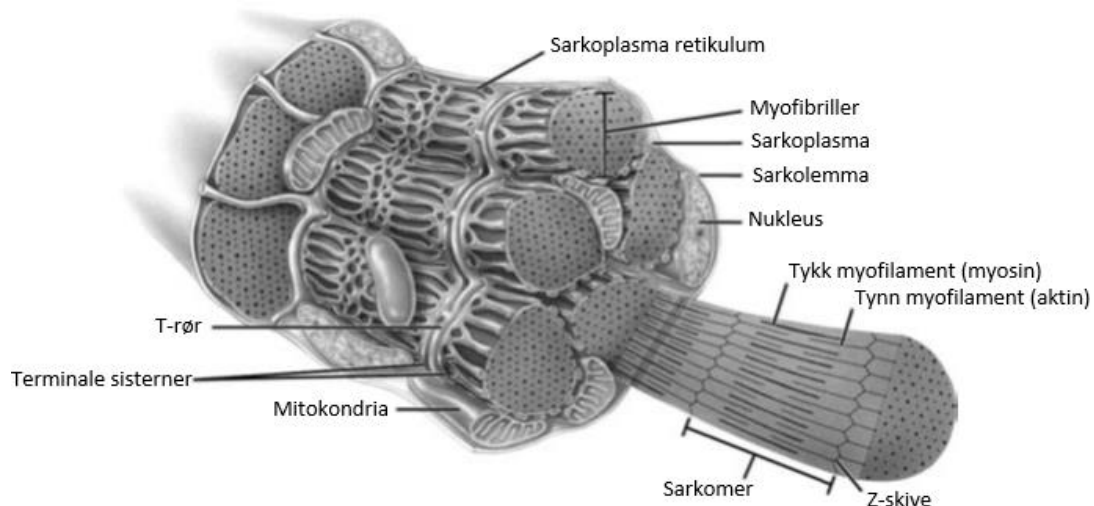
Fiskemuskel er bygd opp av muskelceller (muskelfibre) og bindevev. Muskulatur deles inn i tre hovedgrupper; tverrstripet skjelettmuskulatur, glatt muskulatur og hjertemuskel. Glatt muskulatur finnes rundt indre organer og i blodkar, mens den tverrstripede skjelettmuskulaturen utgjør fiskens filet (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Muskelmassen består i hovedsak av lys muskulatur, men også en andel mørk muskulatur med høyere nivåer av lipider og myoglobin. Den mørke muskulaturen ligger under skinnen langs siden på fisken, se Figur 1 (Huss, 1995). Muskelmassen består av muskelceller som er strukturert i parallelle muskelsegmenter (myotomer) og er bundet sammen av intramuskulært bindevev (myosepter) som vist i Figur 1 (Huss, 1995; Listrat *et al.*, 2016). Bindevev sørger for overføring av sammentrekningskrefter mellom muskelsegmenter, skjelett og skinn. Muskelsegmenter og bindevev er strukturert i en W-form som vist til høyre i Figur 1. Bindevevet som omslutter en hel muskel heter epimysium. Endomysium omslutter de individuelle muskelfibrene, mens perimysium omslutter bunter av muskelfibre (Listrat *et al.*, 2016).





Figur 1: Til venstre vises et tverrsnitt av muskelmasse til laks. Fileten til høyre viser hvordan myomerer danner en W-form. Mørk og lys muskelmasse kommer også frem i begge snittene. Modifisert fra Listrat et al. (2016).

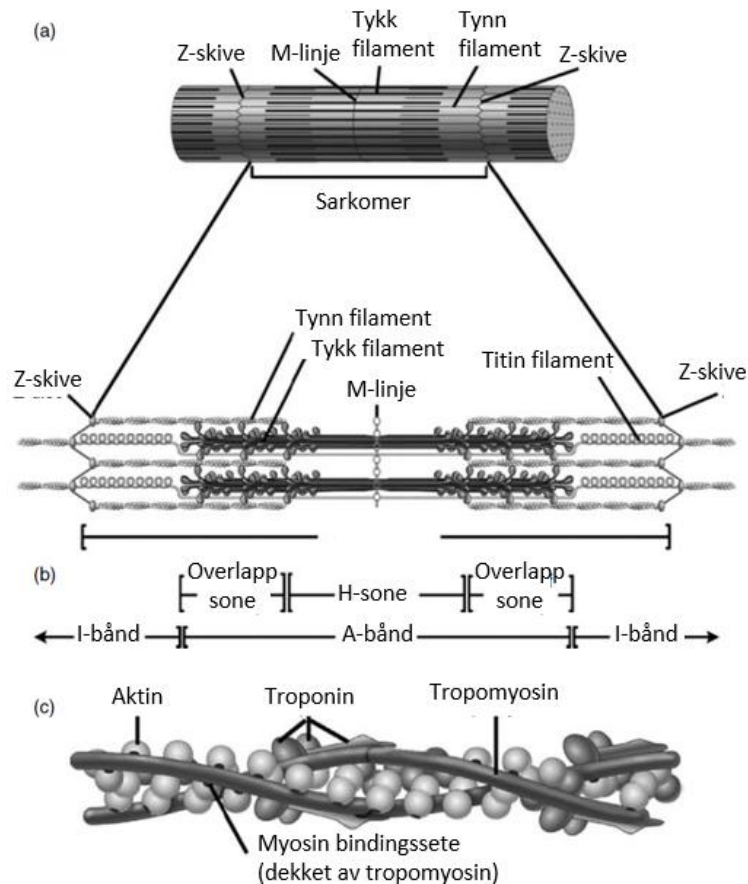
En muskelcelle inneholder mange myofibriller. Disse er bygd opp av myofilamenter som er proteintråder av myosin og aktin som er henholdsvis tykke og tynne filamenter. Figur 2 viser hvordan en muskelfiber er bygd opp. Hver myofibrill består av en kjede med sarkomerer, som er den minste funksjonelle enheten i en muskelcelle. Myofibrillene omslutes av sarkoplasmatiske retikulum hvor  $\text{Ca}^{2+}$ -ioner ( $\text{Ca}^{2+}$ ) lagres og frigis til sarkoplasma. Frigivelse av  $\text{Ca}^{2+}$  trigger muskelsammentrekning. T-rør ligger utenpå sarkoplasmatiske retikulum som vist i Figur 2, og er en del av sarkolemma. Sarkomerer mottar elektriske impulser som ledes gjennom T-rørene. Muskelceller har som andre celler også mitokondrier, nukleus og lysosomer (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008).



Figur 2: Viser strukturell oppbygning av en muskelfiber. Modifisert fra Strasburg, Xiong og Chiang (2008).

Figur 3 viser oppbygningen til en sarkomer. I sarkomerer festes aktinfilamenter til en Z-skive, mens myosinfilamenter strekker seg ut fra M-linjen mot en Z-skive i hver retning. Fra Z-skiven dannes I-bånd av aktinfilamenter, mens myosinfilamentene utgjør A-båndet. Det oppstår to overlappingssoner mellom aktin og myosin og en H-soner i mellom

bestående av myosinfilamenter (Alberts *et al.*, 2008; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Ved en muskelsammentrekning forkortes sarkomeren ved at myosinfilamentene glider over aktinfilamentene og overlappingsområdet øker i forhold til når muskelen er avslappet (Alberts *et al.*, 2008).



Figur 3: Viser strukturell oppbygning av en sarkomer. (a) viser en sarkomerenhet som starter ved en Z-skive og strekker seg til neste Z-skive. I senter dannes en M-linje. (b) viser skjematisk hvordan de ulike hovedkomponentene i sarkomeren overlapper hverandre. (c) viser hvordan aktinfilament er strukturert med reguleringsproteinene tropomyosin og troponin, hvor bindingssetet til myosin ved avslappet muskel dekkes av tropomyosin. Modifisert fra Strasburg, Xiong og Chiang (2008).

### 1.1.3 Muskelproteiner

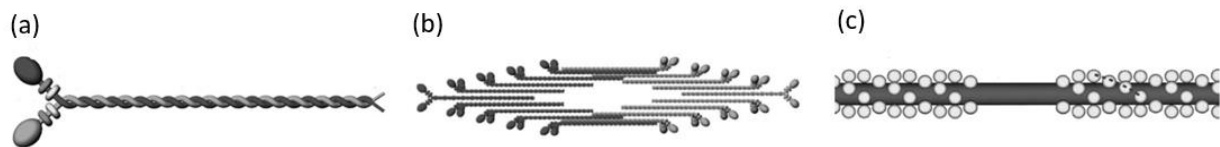
Muskelproteiner klassifiseres som sarkoplasmiske, myofibrille eller stromale proteiner. Sarkoplasmiske protein består i hovedsak av albuminer og proteiner komponert av hemoproteiner, denne gruppen utgjør cirka 30 % av muskelproteinene. Myofibrille proteiner er blant annet aktin, myosin, aktomyosin og troponin. Disse utgjør omtrent 50-60 % av proteinene i fiskemuskel. De resterende proteinene klassifiseres som stromale proteiner og består i hovedsak av kollagen (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Hui *et al.*, 2012).

Sarkoplasmiske proteiner finnes i sarkoplasma og omtales ofte som vannløselige på grunn av sin lave ionestyrke. Myoglobin, enzymer og albuminer utgjør en stor del av de sarkoplasmiske proteinene. Sarkoplasmiske enzymer bidrar til kvalitetsforringelse i muskel etter død, før bakteriell nedbrytning. Viktige enzymgrupper er hydrolaser,

oksidoreduktaser og transferaser. Flere av enzymene er involvert i glykolysen, syntese av glykogen og glykogenolysen. Enzymene kalpainer og kreatin kinase tilhører også denne proteingruppen (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Hui *et al.*, 2012).

De vanligste myofibrille proteinene i sjømat er aktin, myosin og reguleringsproteinene tropomyosin og troponin C, I og T (Hui *et al.*, 2012). Disse proteinene omtales også som den saltløselige-fraksjonen av muskelproteinene. Lav saltkonsentrasjon i muskelvev gjør at den komplekse kvarternærstrukturen i myofilamentene opprettholdes. (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008).

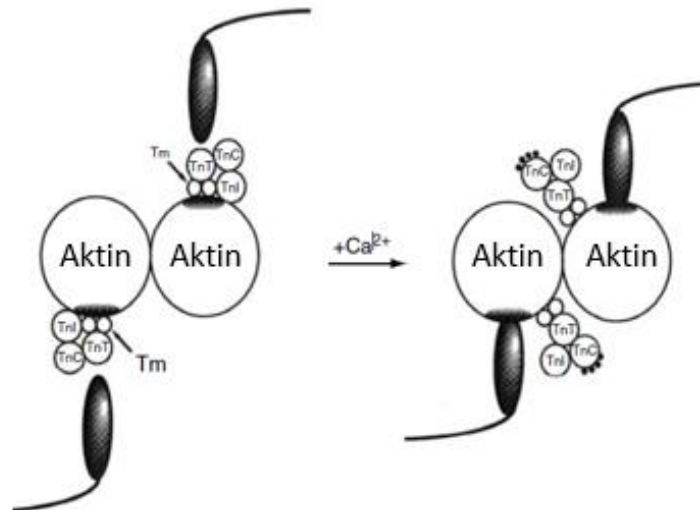
*Myosin*-proteinet er bygd opp av to globulære hoder med en  $\alpha$ -heliks som hale (Figur 4 (a)). Det er det mest dominerende proteinet i myosinfilamentene. Myosinfilamentene, de tykke filamentene, har en bipolar oppbygning med de globulære hodene pekende ut fra den sentrerte M-linjen og hvor halene binder filamentene sammen (Figur 4 (b) og (c)). Toppen av myosinhodene har bindingssete til aktin. Det er også et bindingssete for adenosintrifosfat (ATP) som fungerer som molekylærmotor ved muskelsammentrekning (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008).



Figur 4: Viser oppbygning av myosin, der (a) viser en enkelt myosinstruktur. (b) viser hvordan myosin er bipolar og bygges ut fra M-linjen. (c) viser heliksstrukturen der myosinhaler utgjør de tykke filamentene og myosinhodene stikker ut. Modifisert fra Strasburg, Xiong og Chiang (2008).

*Aktin*-proteinet utgjør omtrent 20 % av de myofibrille proteinene. Aktinmonomeren kalt globulær-aktin danner en dobbel heliksstruktur og blir kalt fiber-aktin (F-aktin) som utgjør størstedelen av aktinfilamentene. Den ene enden til F-aktinet er forankret i Z-skiven, mens den andre går mot M-linjen. I hver sarkomer vil det være to sett med F-aktin som peker mot hverandre fra hver sin Z-skive (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Aktin binder myosin ved muskelsammentrekning og danner aktomyosin kryssbroer. I tillegg danner aktin kjernestrukturen til binding av reguleringsproteinene tropomyosin og troponin slik som Figur 3(c).

*Reguleringsproteinene* troponin og tropomyosin er bundet til aktinfilamentene. De utgjør reguleringsmekanismen som aktiverer og deaktiverer muskelsammentrekninger i sarkomerene. Tropomyosin vil blokkere bindingssetet til myosin og forhindre interaksjoner mellom aktin- og myosinfilamentene ved avslappet muskel Figur 3(c). Troponin er bundet til tropomyosin og responderer på endringer i konsentrasjon av  $\text{Ca}^{2+}$  og for å kontrollere aktin-myosin interaksjoner. I troponinkomplekset vil troponin-T binde seg til tropomyosin, mens troponin-I inhiberer aktomyosin ATPase-aktivitet og troponin-C binder  $\text{Ca}^{2+}$  slik som Figur 5 viser (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008).

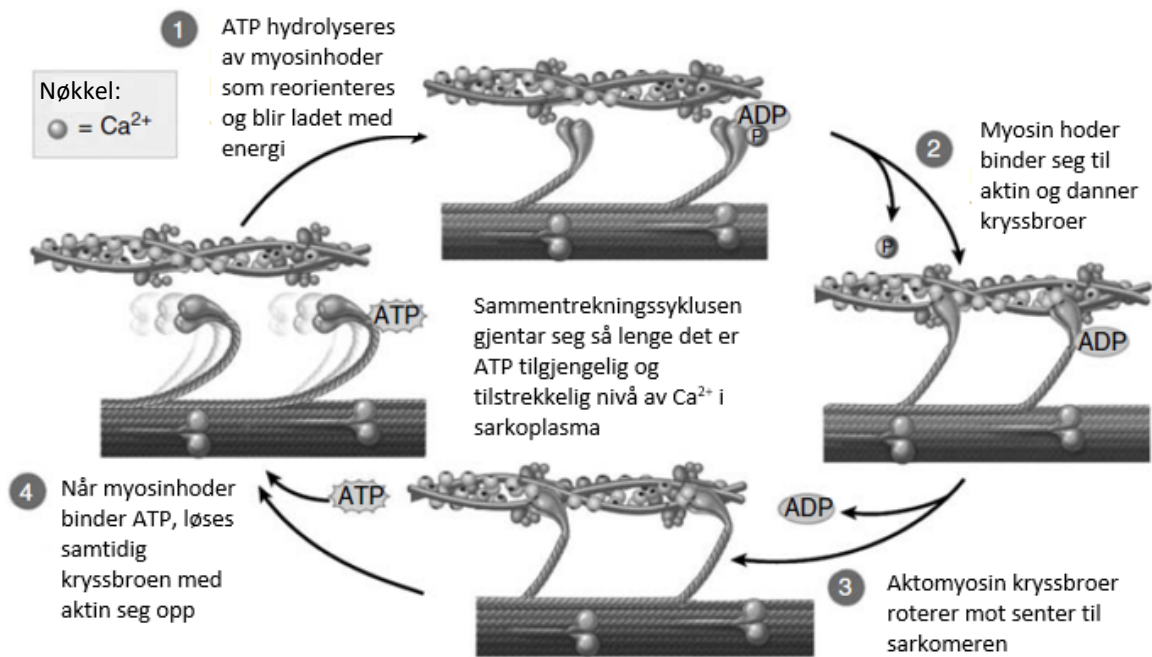


Figur 5: Viser hvordan reguleringsproteiner responderer til endring i  $Ca^{2+}$  og gir myosin mulighet til å feste seg til aktin. Modifisert fra Strasburg, Xiong og Chiang (2008).

Bindevev og stromale proteiner er de gjenstående proteinene etter at sarkoplasmiske og myofibrille proteiner er fjernet. Disse består stort sett av kollagen og elastin fra bindevev (Hui *et al.*, 2012). Denne gruppen proteiner omtales ofte som uløselige ved normale betingelser, som tilnærmet nøytral pH og kalde temperaturer. Bindevev gjennomtrenger muskelen i form av epimysium, perimysium og endomysium. Disse strukturene gir sterke matrikser som er nødvendig for å støtte muskelfunksjonen og samtidig bevare elastisiteten (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008).

#### 1.1.4 Muskelkontraksjon

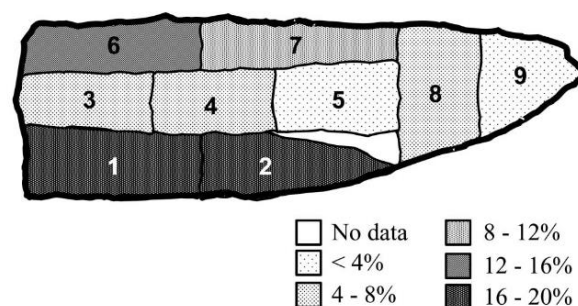
Muskelsammentrekning initieres ved at  $Ca^{2+}$  sendes fra sarkoplasmatiske retikulum til myofibrillene via  $Ca^{2+}$ -proteinpumper. Den økte konsentrasjonen av  $Ca^{2+}$  vil aktivere enzymet ATPase i myosinhodene. Det vil igjen hydrolyserer ATP som sitter mellom aktin- og myosinfilamentene til adenosindifosfat (ADP) og uorganisk fosfat (P). Den økte konsentrasjonen av  $Ca^{2+}$  vil også føre til at troponinkomplekset vil endre posisjon og frigjøre bindingssete til myosinhodene. Myosinhodene tar opp energi og endrer posisjon slik at de møter aktinfilamentene og danner aktomyosin-kryssbroer. Kryssbroene med energirike myosinhoder trekkes mot M-linjen i sarkomeren. Det fører til at filamentene glider mot hverandre og muskelen trekker seg sammen. ATP vil feste seg til myosinhodene og kryssbroene vil oppheves. Så lenge det er  $Ca^{2+}$  og ATP tilstede vil denne syklusen gjenta seg. Når  $Ca^{2+}$  nivåer synker vil muskelen strekke seg ut (Alberts *et al.*, 2008; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Figur 6 illustrerer denne syklusen.



Figur 6: Viser sammentrekningszyklus for aktin og myosin, der kryssbroer mellom aktin og myosin dannes og slippes opp. ATP og  $\text{Ca}^{2+}$  spiller en viktig rolle. Modifisert fra Strasburg, Xiong og Chiang (2008).

### 1.1.5 Lipider

I sjømat er det som tidligere nevnt variasjon i lipidinnhold og -sammensetning både mellom arter og mellom individ innad i samme art (Hui *et al.*, 2012). Dette påvirkes blant annet av førtilgang og førtype (Aursand *et al.*, 1994; Hamilton *et al.*, 2005; Hui *et al.*, 2012; Lerfall *et al.*, 2016) og sesong (Mørkøre og Rørvik, 2001; Shearer, 1994). Triglyserider og fosfolipider utgjør hovedklassene av lipid i fisk. Triglyserider er nøytrale, og eksisterer som store dråper i bindevev eller som mindre dråper mellom eller inne i muskelceller. Disse lipidene fungerer som energilagrer for fisken. Fosfolipider er polare lipider og er en viktig byggstein i muskelcellemembranen (Aursand *et al.*, 1994; Huss, 1995; Hui *et al.*, 2012). Katikou, Hughes og Robb (2001) har i sin studie vist at distribusjon av lipider i laksefilet varierer slik som Figur 7 viser. Høyest lipidinnhold finnes i region 1 og 2, mens lavest lipidinnhold finnes i region 5 og 9.



Figur 7: Viser distribusjon av lipid i lys muskulatur i laksefilet. Ulik gråfarge indikerer ulik lipidinnhold for ulike regioner (Katikou, Hughes og Robb, 2001).

Lipidfraksjonen i laks består av en rekke ulike fettsyrer som kan klassifiseres som mettede, umettede og flerumettede fettsyrer. Lerfall *et al.* (2016) har i sin studie funnet at fettsyresammensetningen til konvensjonell oppdrettslaks var  $15,2 \pm 0,66$  % mettede fettsyrer,  $51,0 \pm 0,85$  % umettede fettsyrer og  $33,8 \pm 0,93$  % flerumettede fettsyrer. Rotabakk (2013) har i sin studie benyttet lakseolje sammensatt av 21,7 % mettede fettsyrer, 37,2 % umettede fettsyrer og 38,1 % flerumettede fettsyrer. Denne profilen ligner mer på fettsyreprofilen Lerfall *et al.* (2016) fant for økologisk laks, noe som viser at lipid-sammensetning påvirkes av blant annet førsammensetning som tidligere nevnt.

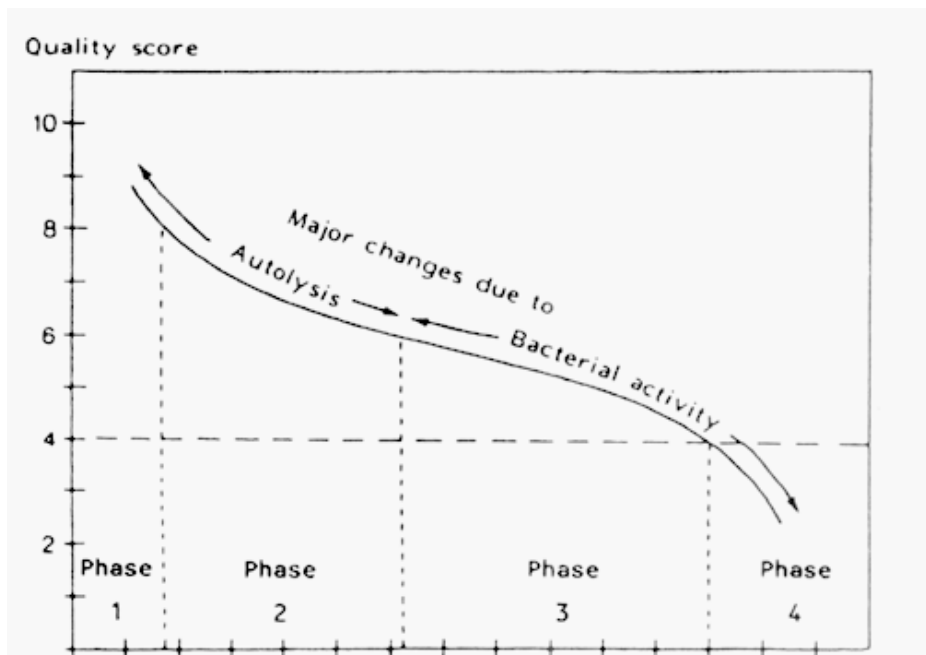
Umettede fettsyrer er ofte flytende ved romtemperatur. Flerumettede fettsyrer har på grunn av flere dobbeltbindinger ofte et lavere smeltepunkt enn enumettede fettsyrer. Lengden på fettsyrene påvirker også smeltepunkt. Korte fettsyrer har lavere smeltepunkt. Mettede fettsyrer har høyere smeltepunkt enn umettede fettsyrer og er ofte faste ved romtemperatur. Smeltepunktet er ikke en spesifikk temperatur, men opptrer i et temperaturområde (Vaclavik og Christian, 2008). Lakseoljen benyttet i studien til Rotabakk (2013) var flytende, og analyser viste at krystallisering startet ved en temperatur på  $-14,25 \pm 0,74$  °C. Abel *et al.* (2018) undersøkte sin studie hvordan ulik fettsyresammensetning av mettede og umettede fettsyrer i et modellprodukt av fisk påvirket innløsning av CO<sub>2</sub> ved ulike temperaturer. Høyere andel umettede fettsyrer førte til høyere andel flytende fett i produktet og dermed høyere CO<sub>2</sub>-innløsning.

## 1.2 Lagringsstabilitet

Sjømat er et lettbederverlig produkt og forringes raskt grunnet rik tilgang til lettomssettelige næringsstoffer (Gram og Huss, 1996) og en naturlig kuldetolerant forringelsesflora (Nosedá *et al.*, 2013). Det er mange faktorer som påvirker holdbarhet til fisk. Blant de viktigste er skånsom behandling av fisk *pre-mortem* for å unngå stress og fysiske anstrengelser som fører til utarming av energilagre (Lerfall *et al.*, 2015) samt god hygiene og lav temperatur ved prosessering og lagring for å senke metabolsk aktivitet (Lerfall og Rotabakk, 2016; Hong, Regenstein og Luo, 2017; Lerfall, u.å.). Ved høyere temperatur observerte Lerfall og Rotabakk (2016) et hurtigere fall i pH i muskel og raskere utvikling av *rigor-mortis*. Lerfall *et al.* (2015) fant i sin studie at stresset fisk hadde en lavere muskel pH som beskrevet i kapittel 1.1, det ble også observert høyere aktivitet av katepsin L og en mykere muskel. Fiskemuskelens biokjemi før død og biokjemiske prosesser *post-mortem* er direkte knyttet til endelige kvalitetsegenskaper hos fisk (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006). Det er derfor viktig at fisken bløgges og sløyes direkte etter avlivning for å hindre at enzymer fra innvoller emigrerer til muskel (Hong, Regenstein og Luo, 2017; Lerfall, u.å.).

Figur 8 illustrerer på generelt grunnlag hvordan fiskens kvalitet synker som funksjon av tid. Ved kvalitetspoeng under 4 regnes fisken som forringet. Figuren viser at degradering går raskere i fase 1 og 4 enn i fase 2 og 3 (Huss, 1995). Fase 1 og 2 er styrt av autolytiske prosesser som initieres av fiskens endogene enzymer, mens bakteriell aktivitet tar over i fase 3 og 4 (Huss, 1995; Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006; Nielsen og Nielsen, 2012). I fase 4 karakteriseres fisken som bedervet og uspiselig (Huss, 1995).





Figur 8: Viser endring i kvalitet over tid på fersk fisk lagt på is. Fase 1 og 2 styres av autolytiske prosesser, mens bakteriell aktivitet overtar i fase 3 og 4. Tiden for hver fase avhenger av flere faktorer, der temperatur er spesielt viktig (Huss, 1995).

### 1.2.1 Autolytisk nedbrytning

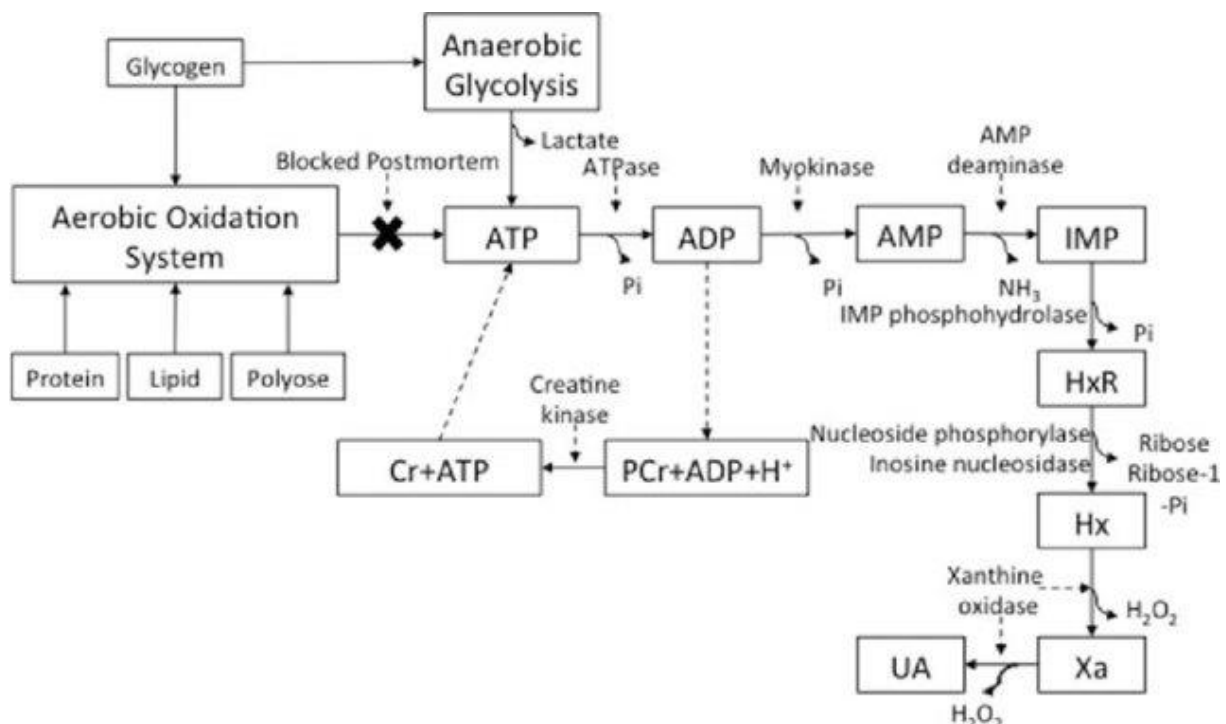
Den autolytiske nedbrytningen er i stor grad påvirket av temperatur. Høye temperaturer fører til raskere og kraftigere utvikling av *rigor-mortis*. Dette er ikke ønskelig da det øker faren for filetspalting, svekking av bindevev og at selve muskelen revner (Huss, 1995; Jessen, Nielsen og Larsen, 2013).

Levende muskelvev har et utviklet metabolsk system for å konvertere kjemisk energi til mekanisk energi hvor ATP er umiddelbar kilde til kjemisk energi. Det er tre metabolske støttesystemer for å ivareta nødvendige ATP-nivåer for muskelsammentrekning og cellulær homeostase. Disse er kreatinfosfat-systemet (ATP-PCr), det glykolytiske systemet og det aerobe oksidasjonssystemet. Blodsirkulasjon er essensielt for å levere oksygen og energisubstrat og for å fjerne karbondioksid og andre metabolske produkter (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Hong, Regenstein og Luo, 2017). Når død inntreffer stopper blodsirkulasjon og autolytiske prosesser starter. Autolyse betyr selvoppløsning og initieres av endogene enzymer ved synkende pH. Etter fisken er avlivet, starter reservemekanismer i ulike organer, inkludert muskler, for å opprettholde cellulær homeostase samtidig som enzymatisk nedbrytning starter (Huss, 1995; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Lerfall, u.å.).

Behovet for ATP i levende fisk dekkes normalt av det aerobe oksidasjonssystemet også kalt aerob glykolyse. Det første steget er glykolyse som konverterer glykogenlagre i muskelen til glykose. Videre spaltes glykose i flere trinn til to pyruvatmolekyler som vil gå inn i Krebs-syklus. Det glykolytiske systemet tas i bruk ved anaerobe forhold, som ved død. Enzymet laktat dehydrogenase vil da spalte pyruvatmolekylene til melkesyre. Opphopning av melkesyre vil bidra til pH-senkning i muskel og pH-fallet vil være avhengig av glykogennivå i muskel når død inntreffer (Huss, 1995; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Nielsen og Nielsen, 2012; Hong, Regenstein og Luo, 2017; Lerfall, u.å.).

Hos fisk er *post-mortem* pH høyere enn i andre typer kjøtt og varierer som nevnt tidligere i kapittel 1.1.1. *Post-mortem* pH avhenger også av bufferkapasitet i muskelvevet i tillegg til tidligere nevnte faktorer (Nielsen og Nielsen, 2012). *Post-mortem* pH er for laks beskrevet i kapittel 1.1.1.

Det aerobe oksidasjonssystemet genererer 36 mol ATP per mol oksidert glukose mot 2 mol ATP via det anaerobe glykolytiske systemet, dermed vil ATP-nivået raskt reduseres ved anaerobe forhold (Huss, 1995). I ATP-PCr systemet konverteres ADP og fosfatkreatin (PCr) til ATP og kreatin (Cr) ved hjelp av enzymet kreatinkinase (Huss, 1995; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Nielsen og Nielsen, 2012; Hong, Regenstein og Luo, 2017). Figur 9 viser de ulike metabolske systemene og videre ATP-degradering.

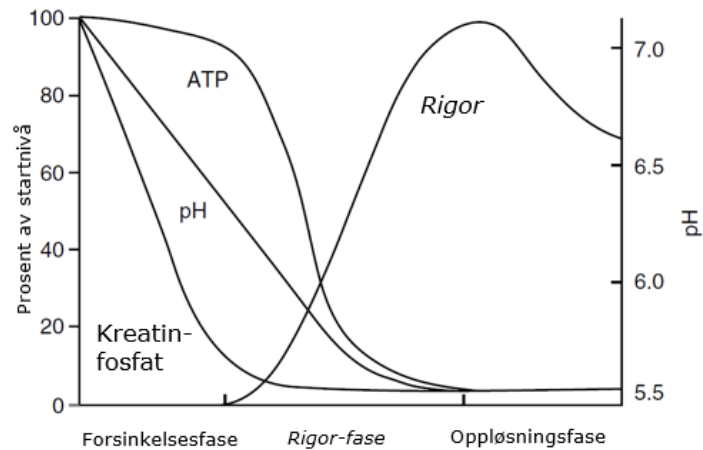


Figur 9: *Post-mortem* ATP-metabolisme i fiskemuskel (Hong, Regenstein og Luo, 2017).

Gradvis utarming av PCr og glykogen vil føre til hurtig degradering av ATP. Enzymgruppen ATPaser katalyserer nedbrytning av ATP og det dannes ADP, inosinmonofosfat (IMP), inosin (Ino) og hypoxanthin (Hx). Til slutt omdannes Hx til xantin (Xa), urinsyre (UA). Lave konsentrasjoner av IMP indikerer tap av ferskhet i noen fiskearter (Huss, 1995; Hong, Regenstein og Luo, 2017).

Dødsstivhet, eller *rigor-mortis* er delt inn i tre faser; *pre-rigor*, *rigor-mortis (in-rigor)* og *post-rigor*. Når muskelen er i *pre-rigor* opprettholdes et nivå av ATP, og som Figur 10 viser vil synkende ATP-nivåer og pH som følge av opphopning av melkesyre føre til start av *rigor-mortis*. Ifølge Huss (1995) entrer muskelen *rigor-mortis* når ATP-nivået blir lavere enn 1,0  $\mu$  mol/g vev. Senkning i pH fører også til at muskelproteinenes nettoladning reduseres som igjen vil føre til delvis denaturering og lavere vannbindingsevne (Huss, 1995).





Figur 10: Presentasjon av post-mortem endringer i ATP-nivå, kreatinfosfatnivå, pH og rigor-utvikling som funksjon av tid. Modifisert fra Strasburg, Xiong og Chiang (2008).

ATP-nivået vil etter hvert falle raskere da forbruket overskrider syntesehastigheten og *rigor* fasen utvikles i takt med dette. *Rigor*-utvikling måles i økt motstand i muskel ved utstrekning. Utarming av ATP reduserer også kalsiumpumpeproteinets evne til å opprettholde sarkoplasmisk konsentrasjon av  $\text{Ca}^{2+}$  innenfor nødvendige nivå for muskelavslapning. Dette vil føre til en gradvis økning i antall kryssbroer mellom myosin og aktin. Disse vil forbli låst på grunn av mangel på ATP. Til slutt vil muskelen nå maksimal låsing og muskelen er helt stiv. Etter full muskellåsing vil *rigor-mortis* oppløses og fisken går inn i *post-rigor* fasen. Muskelen vil da mykne, men miste elastisitet (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Oppmykning av muskelens hardhet knyttes til brudd mellom myofiberbindinger, mens oppløsning av *rigor-mortis* relateres til brudd i myofiber-myosepter bindinger. En kombinasjon av disse to antas å forårsake teksturendringer i fisk (Taylor, Fjaera og Skjervold, 2002).

*Post-mortem* proteolyse er en viktig faktor i flere kvalitetsendringer i sjømat. De første endringene som skjer *post-mortem* som initiert av endogene enzymer promoterer proteolyse av muskelprotein og bindevev samt hydrolyse av lipider (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006). Gjennom *rigor-mortis* fasen endres det osmotiske trykket seg og dermed øker ionestyrken som kan bli høy nok til å svekke myofibrille strukturer. Som følge av proteolyse av myofibriller og bindevevsproteiner vil tekstur av muskel endres og bli mykere. Myosepter vil svekkes som følge av proteolyse og faren for filetspalting øker (Nielsen og Nielsen, 2012). Proteolyse fører til mer tilgjengelige proteinfraksjoner som fungerer som substrat til økt mikrobiell aktivitet.

*Katepsiner* er lysosomale proteaser som oppnår full aktivitet ved lavere pH. *Post-mortem* vil katepsinene frigjøres fra lysosomene. Ulike katepsiner kan skilles på bakgrunn av deres aktive bindingssete (aspartisk-, cystein-, serinproteaser), substratspesifisitet og følsomhet for inhibitorer. Lysosomene inneholder minst 13 ulike katepsiner. Type B, D, H og L antas å spille en viktig rolle i *post-mortem* proteolyse av myofibriller og bløtgjøring av muskelvev (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006; Nielsen og Nielsen, 2012; Ahmed *et al.*, 2015). Den endogene inhibitoren cystatin regulerer katepsinaktiviteten. Høy aktivitet av katepsiner i *post-mortem* fiskemuskel øker proteolyse av myofibriller i blant annet laks. Katepsinaktivitet fører til degradering av strukturelle proteiner som brytes ned til peptider, oligopeptider og mindre polypeptidfragmenter (Ahmed *et al.*, 2015).

*Kalpainer* er en kalsium-aktivert cystein-protease med høyest aktivitet ved nøytral pH. Kalpain reguleres av faktorer som kalsium, fosfolipider og kalpastatin, som er en kalpainspesifikk protein inhibitor. Når konsentrasjon av  $Ca^{2+}$  øker *post-mortem* aktiveres kalpainene og initierer degradering av muskelproteiner som troponin-T og andre proteiner direkte knyttet til eller nært relatert med myofibrille Z-skiver. Når Z-skiver blir forstyrret vil aktin og myosin løsne sammen med andre proteiner fra sarkomeren og blir til substrat for andre proteolytiske proteaser.

### 1.2.2 Mikrobiologisk nedbrytning

Den første kvalitetsforringelsen i fersk fisk skjer som følge av autolytiske prosesser (Figur 8). Fisk er utsatt for bakteriell forringelse av flere årsaker. ATP-forbindelser brytes ned og katabolitter blir tilgjengelig som substrat for bakterier. Fiskemuskel er også rik på nonprotein-nitrogen (NPN). Dette er nitrogenforbindelser med lav molekylvekt som metaboliseres raskt av bakterier. Disse forbindelsene inkluderer frie aminosyrer, kreatin nukleotider, urea og trimetylamin N-oxid (TMAO). Høy pH i fisk *post-mortem* gir også vekstvilkår for pH-sensitive bakterier (Gram og Huss, 1996; Leroi og Joffraud, 2011; Hui *et al.*, 2012; Boziaris og Parlapani, 2017; Comi, 2017).

Fisk fra kalde farvann har flere kuldetolerante forringelsesbakterier i sin naturlige mikroflora. Gram-negative bakterier fra slektene *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Moraxella*, *Achinetobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Vibrio* og *Enterobacteriaceae* er vanlige i marin fisk fanget i kalde farvann, men også noen gram-positive bakterier fra slektene *Bacillus* og *Micrococcus* forekommer. Melkesyrebakterier og *Clostridium* finner man også blant fiskens mikroflora (Boziaris og Parlapani, 2017; Lerfall, u.å.)

Når bakteriell forringelse overtar bidrar bakteriene til utvikling av vond lukt og smak i fisken, dannelse av slim forekommer også. Forringelsesforløpet påvirkes av faktorer som temperatur og grad av bakteriellkontaminasjon. Fiskemuskel er i utgangspunktet steril, men den blir utsatt for bakteriell kontaminasjon ved slakting og foredling. Skinnet, gjellene og slo er også kilde til bakteriell smitte. Den bakterielle veksten er avhengig av den enkelte bakterietypes nølefase og generasjonstid samt lagringstemperatur (Gram og Huss, 1996; Boziaris og Parlapani, 2017).

Vekst av bakterier kan hemmes eller inhiberes ved å endre på omgivelsesbetingelser. Endring i pH, salinitet eller vannaktivitet, kontrollering av lagrings atmosfære og temperatur er faktorer som vil påvirke vekst. Temperatursenkning er kanskje den viktigste faktoren for å forlenge holdbarhet. Lave temperaturer vil selektere og hemme bakterievekst samt forlenge bakterienes nølefase. Vakuum eller MAP med forhøyede nivå av  $CO_2$  og redusert  $O_2$  nivå vil hemme vekst av gram-negative bakterier som *Shewanella* og *Pseudomonas*. Bakteriene *Photobacterium phosphoreum* og melkesyrebakterier som blant annet *Carnobacterium* og *Brochothrix thermospacta* vil dominere i MAP og vakuum (Church og Parsons, 1995; Gram og Dalgaard, 2002; Leroi og Joffraud, 2011; Nosedá *et al.*, 2013; Boziaris og Parlapani, 2017; Abel, Rotabakk og Lerfall, 2019).

### 1.3 Farseprodukter

Fiskefarse er malt eller hakket fiskefilet tilsatt salt og deretter spedd med væske. Hakkeprosessen må skje ved lav temperatur (-5°C - 3°C) for å forhindre at proteiner denaturer. Prosessen bør også starte på lav hastighet for å fordele saltet og la det virke på proteinene. Muskelproteiner folder seg ut under hakkeprosessen noe som øker vannbindingsevnen. Det er i hovedsak faktorene salt og temperatur som påvirker proteinenes vannbindingsevne, salt fører til svelling av proteinene. Etter hakking og tilsats av salt skal farsen spes med væske. Dette skjer ved høy hastighet på hakka og ved en temperatur på mellom 1°C - 12°C. Melk er ofte brukt til speing for å oppnå ønsket tekstur og saftighet. Når fiskefarsen stekes vil proteiner denaturere og slippe vann, for å binde vannet tilsettes farsen stivelse, ofte potetmel eller hvetemel. Varmebehandling fører også til geldannelse som består av et nettverk av proteiner som binder vann (Vatland *et al.*, 1991; Lynum, 2005).

Gelering av proteiner er en fysiokjemisk prosess som skjer i tre steg. Første steg innebærer denaturering av enkelt-proteiner etterfulgt av aggregering gjennom hydrofobiske interaksjoner og til slutt skjer en krysslinking mellom små proteinaggregater og oligomerer som danner et kontinuerlig viskøst og elastisk produkt som kalles en gel. Blant geldannende proteiner er myofibrille proteiner de viktigste for dannelse av gel i muskelprodukter. Disse sørger for at ønsket tekstur oppnås. Tilsats av salt og eventuelt fosfat vil føre til en depolymerisering av myofibrille proteiner som igjen fører til dannelse av gel ved oppvarming. Ionestyrke, pH og varmebehandling vil påvirke gelstrukturen som dannes av myofibrille proteiner, og dermed ha en innvirkning på vannbindingsevne (Strasburg, Xiong og Chiang, 2008).

Vannbindingsevne er en viktig egenskap til råstoff benyttet til farseproduksjon. Ulikt råstoff har ulik vannbindingsevne. Hvitlaks (*Argentina silus*) er et frysestabil råstoff som bevarer vannbindingsevnen også etter frysing og er derfor ofte brukt i fiskefarse. Torsk (*Gadus morhua*), hyse (*Melanogrammus aeglefinus*), lange (*Molva molva*) og brosme (*Brosme brosme*) er også vanlige fiskeslag. Fiskekaker stekes som regel før de vakuumpakkes. Deretter varmes de opp igjen og pasteuriseres i en halvtime ved en kjernetemperatur på 80°C. Dette gir en holdbarhet på rundt 3 måneder (Vatland *et al.*, 1991; Lynum, 2005). Flere produsenter pakker stadig flere produkter i MAP og pasteuriserer dermed ikke produktet etter steking. «Fiskeriet Bestemors fiskekaker» fra Insula Production pakkes i MA (40 % CO<sub>2</sub> / 60 % N<sub>2</sub>) og har en holdbarhet på 42 dager etter pakketidspunkt.

### 1.4 Modifisert atmosfære pakking (MAP)

Allerede i 1930 ble det rapportert at holdbarhet til muskelprodukter kunne økes ved å eksponeres for en CO<sub>2</sub>-rik atmosfære (Farber, 1991; Lampila og McMillin, 2012). En stadig minkende bruk av tilsetningsstoffer i mat og mildere prosesseringsteknikker øker behovet for pakketeknikker med konserverende effekt på matvaren for å ivareta kvalitet og mattrygghet. På bakgrunn av dette har bruken av vakuum og MAP økt for å forlenge holdbarhet til blant annet sjømat (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002; Nosedá *et al.*, 2013).

### 1.4.1 Prinsipp for MAP

MAP er en kjent pakketeknikk for å øke holdbarhet til lett bederverlige matprodukter. Prinsippet bak MAP er at matproduktet pakkes i en lukket emballasje hvor luften i pakken erstattes av en bestemt gassmiks. Gassmiksen gir en atmosfære som forsinker mikrobiologisk vekst på produktet og tilhørende forringende mikrobiologiske og kjemiske prosesser. Den modifiserte atmosfæren består av en sammensetning av en eller flere av gassene CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> eller N<sub>2</sub>. For fiskeprodukter er det vanligvis mikrobiell aktivitet som begrenser holdbarhet. Ved å benytte MAP forsøkes det å utsette denne aktiviteten (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002; Nosedá *et al.*, 2013). Suksessfaktorer for MAP inkluderer bruk av råstoff av god kvalitet, god hygiene fra slakting til pakking, riktig valg av pakkemateriale og gassmiks for produktet, pålitelig pakkeutstyr samt lav lagringstemperatur. Det er viktig å forstå at MAP ikke kan forbedre produktkvalitet, men pakketeknologien kan redusere hastigheten til produktets forringelsesforløp (Farber, 1991; Rotabakk og Sivertsvik, 2012; Dewitt og Oliveira, 2016).

MAP øker holdbarhet på sjømatprodukter sammenlignet med å pakke i luft, men det ses liten eller ingen økning i holdbarhet sammenlignet med pakking i vakuu (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Vakuumpakking (VP) kan ses på som en variant av MAP der luft fjernes og pakken forsegles uten tilstrømming av luft. En variant av VP som brukes er «*vacuum-skin*» pakking der emballasjen legger seg som et skinn over produktet (Fellows, 2017). VP vil i denne oppgaven ikke være inkludert når begrepet MAP benyttes.

Den mest åpenbare fordelen ved å velge MAP er muligheten for å øke holdbarhet på matproduktet. Andre positive sider ved å velge denne pakketeknikken er muligheten for å sentralisere pakking og i tillegg dekke et større distribusjonsområde. Behovet for konserverende tilsetningsstoffer kan reduseres eller fjernes helt, og forseglede pakker fungerer som barriere mot videre kontaminering i distribusjonskjeden. Ulemper knyttet til MAP er viktigheten av temperaturkontroll og behov for tilpasset gassblanding til ulike produkt. Økt pakkevolum er også en negativ konsekvens som fører til økte transportkostnader og behov for større hylleplass i butikk. Fordeler knyttet til MAP forsvinner også idet pakken åpnes. Det kan også forekomme uønsket deformasjon av pakken som følge av at CO<sub>2</sub> løses inn i produktet (Rotabakk og Sivertsvik, 2012; Fellows, 2017).

### 1.4.2 Gasser benyttet i MAP

Ved MAP benyttes det ulike gassblandinger for ulike produkter. De ulike gassene som brukes til MAP har ulike egenskaper og innløsningsevne. CO<sub>2</sub> er den viktigste gassen ved MAP av fiskeprodukter. Den har høy løselighet i produktets vann- og fettfase, og er hovedårsaken til den bakteriostatiske og fungistatiske effekten som oppnås ved bruk av MAP (Dixon og Kell, 1989; Farber, 1991; Church og Parsons, 1995; Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002; Nosedá *et al.*, 2013).

N<sub>2</sub> er en inert og smakløs gass som i hovedsak benyttes fordi den har lav løselighet i vann og fett. Den fungerer som fyllgass for å unngå deformasjon og kollaps i pakken. Den benyttes ofte i kombinasjon med andre gasser og kan brukes til å fortrenge O<sub>2</sub>. N<sub>2</sub> er ikke bakteriostatisk og det er ikke vist noen effekt på verken kjemiske eller biokjemiske reaksjoner i fisk (Farber, 1991; Church og Parsons, 1995; Nosedá *et al.*, 2013).

Nivå av O<sub>2</sub> holdes generelt lavt i MAP for å inhibere vekst av aerobe forringelsesbakterier og for å hindre oksidativ harskning. O<sub>2</sub> benyttes likevel i noen tilfeller; hvis det pakkes levende organismer, eksempelvis skjell, for å bevare sensoriske kvaliteter som farge eller lukt. O<sub>2</sub> benyttes ofte ved pakking av mager fisk for å inhibere reduksjon av trimetylaminoksid (TMAO) til trimetylamin (TMA). Noen ganger benyttes også O<sub>2</sub> i kombinasjon med CO<sub>2</sub> for å inhibere visse psykrotrofe forringelsesbakterier. Karbonmonoksid (CO) kan benyttes ved pakking av rødt fiskekjøtt som tunfisk for å gi en stabil rødfarge, men i EU er det ikke lov å benytte CO i MAP (Farber, 1991; Church og Parsons, 1995; Nosedá *et al.*, 2013).

#### 1.4.3 Bakteriostatisk effekt av CO<sub>2</sub>

CO<sub>2</sub> virker bakteriostatisk ved å forlenge bakterienes nølefasen og redusere veksthastighet under den logaritmiske vekstfasen til bakteriene (Farber, 1991). Enkeltfaktorer som endring i pH som følge av CO<sub>2</sub> løst i produkt eller av at CO<sub>2</sub> fortrenger tilgjengelig oksygen som er nødvendig for bakteriers metabolisme, kan ikke alene forklare den konserverende effekten av CO<sub>2</sub> (Coyne, 1933; Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002; Dewitt og Oliveira, 2016). Den bakteriostatisk effekten til CO<sub>2</sub> er kompleks og knyttes til følgende fire hovedmekanismer:

- Cellemembranens funksjon forandres, noe som fører til en effekt på næringsopptak og -absorpsjon.
- Direkte inhibering av enzymer eller senkning av reaksjonsraten til enzymer.
- Gjennomtrengning av bakteriemembraner og påfølgende endring i intracellulær pH.
- Direkte endre fysiokjemiske egenskaper til proteiner.

(Daniels, Krishnamurthi og Rizvi, 1985; Dixon og Kell, 1989; Farber, 1991; Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002).

Sannsynligvis oppstår effekten som en kombinasjon av disse mekanismene (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). I tillegg spiller initialt bakterietall i produktet en rolle i observert effekt av CO<sub>2</sub> (Farber, 1991; Church og Parsons, 1995; Dewitt og Oliveira, 2016). Studier har vist at høyere konsentrasjon av innløst CO<sub>2</sub> i produkt øker den bakteriostatisk effekten av CO<sub>2</sub> i MA (Devlieghere, Debevere og Van Impe, 1998a; 1998b).

#### 1.4.4 Faktorer som påvirker innløsning av CO<sub>2</sub>

Faktorer som påvirker innløsning av CO<sub>2</sub> i fisk er blant annet produktets vann- og fettinnhold, lagringstemperatur, partialtrykk til CO<sub>2</sub> i pakken og forholdet mellom gassvolum til produktvolum i pakken (Farber, 1991; Church og Parsons, 1995; Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002; Dewitt og Oliveira, 2016).

Temperatur er kanskje den viktigste faktoren som påvirker innløsning av CO<sub>2</sub> i et produkt, og det er utført flere studier som undersøker denne effekten blant annet av Gill (1988), Mendes *et al.* (2011) og Rotabakk (2013). Generelt samsvarer resultatene med at CO<sub>2</sub>-løslighet er omvendt proporsjonal med temperatur og at høyere temperaturer gir lavere løselighet av CO<sub>2</sub> i muskelvev. Dette er også tilfelle for rent vann (Carroll, Slupsky og Mather, 1991). Løseligheten til CO<sub>2</sub> i vann ved 100 % CO<sub>2</sub>-atmosfære ved 0°C er 3380 mg CO<sub>2</sub>/kg H<sub>2</sub>O, ved 20°C reduseres denne til 1730 mg CO<sub>2</sub>/kg H<sub>2</sub>O, ifølge Knoche (1980, som sitert i Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002).

CO<sub>2</sub> har som tidligere nevnt høy løselighet i vann- og fettfase i fiskeprodukter. Studier har tidligere konkludert med at løselighet av CO<sub>2</sub> i muskelprodukter kan estimeres på bakgrunn av vanninnhold for blant annet kylling (Rotabakk, Lekang og Sivertsvik, 2010) og kjøtt (Gill, 1988; Sivertsvik og Jensen, 2005). Andre studier tyder på at CO<sub>2</sub>-løselighet basert på vanninnhold alene kan være misvisende. Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud (2004) konkluderte med at løselighet i rå fisk kunne beregnes på bakgrunn av løselighet i vann, korrigert for vann- og fettinnhold i fisken. Rotabakk (2013) fant at CO<sub>2</sub>-løselighet i flytende lakseolje ikke var ulik den for vann. Abel *et al.* (2018) fant i sin studie at innløsning av CO<sub>2</sub> avhenger av total mengde vann og flytende fett, ikke bare vanninnhold. Salter og karbohydrater fører til redusert løselighet av CO<sub>2</sub> sammenlignet med rent vann. Det kan likevel ses et unntak for alkoholer med korte karbonkjeder hvor løselighet har økt (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982).

Konsentrasjon av CO<sub>2</sub> i et produkt er i tillegg til temperatur og vann- og fettinnhold avhengig av partialtrykket til CO<sub>2</sub> i pakken (Ho *et al.* sitert i Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Henrys lov (Formel 1) sier at løseligheten til en gass (CO<sub>2</sub>) ved likevekt i et produkt er proporsjonal med partialtrykket til gassen i atmosfæren (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982).

Formel 1

$$P_{CO_2}^{t=\infty} = H_{CO_2,p} \cdot C_{CO_2}^{t=\infty}$$

Der  $P_{CO_2}^{t=\infty}$  er partialtrykk for CO<sub>2</sub> ved likevekt i gassfase [Pa],  $H_{CO_2,p}$  er Henrys konstant for CO<sub>2</sub> i produktet [Pa/ppm]. Det finnes en Henrys konstant for hver gass med tilhørende produkt den løses inn i. Denne konstanten er også temperaturavhengig. Innløsning av CO<sub>2</sub>, og da Henrys konstant, er avhengig av sammensetning til produktet, da ulike komponenter har ulikt innløsningspotensial. Tabell 1 viser ulike Henrys konstanter funnet for ulike produkter, en lavere konstant betyr høyere løselighet av CO<sub>2</sub>.

Tabell 1: Henrys konstant (Pa/ppm) for ulike matprodukt modifisert fra Rotabakk og Sivertsvik (2012).

Produkt	Temperatur (C°)	Henrys konstant (Pa/ppm)	Referanse
Kyllingfilet	2	42,8 ± 3,7	Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2010)
Oppdrettstorsk	3	43,3	Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007)
Torsk	2	46,1 ± 9,6	Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud (2004)
Opprettslaks	2	47,8 ± 2,3	Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud (2004)
Kokt skinke	4	64,9 ± 6,5	Sivertsvik og Jensen (2005)
Lam	2	44,5	Gill (1988)
Lysing	0	29	Simpson, Almonacid og Acevedo (2001)
Vann	0	30,41	Caroll, Slupsky og Mather (1991)

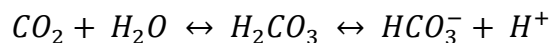
CO<sub>2</sub> reagerer med vann ved innløsning i produkt og danner hydrogenkarbonationer som Formel 2 viser (Knoche 1980, som sitert i Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002).

Formel 2



Ved pH mindre enn 8, som er tilfelle for de fleste sjømatprodukter, vil konsentrasjon av karbonationer være neglisjerbar. Innløsning av CO<sub>2</sub> i produktet vil dermed skje som i Formel 3 (Dixon og Kell, 1989).

Formel 3



Mer enn 99 % av innløst CO<sub>2</sub> i rent vann eller i saltløsninger uten bufferkapasitet eksisterer i ubundet form. For temperaturer mellom 0-50°C eksisterer mindre 1 % av innløst CO<sub>2</sub> som karbonsyre, det inkluderer hydrogenkarbonat og karbonationer (Mitz, 1979). CO<sub>2</sub> kan reagere med aminer og danne karbamidsyre, men denne reaksjonen er reversibel og skjer mange ganger raskere enn reaksjonen mellom CO<sub>2</sub> og vann (Rotabakk og Sivertsvik, 2012).

Mengde innløst CO<sub>2</sub> i et produkt er avhengig av gassens løselighet, mens overføringshastigheten for gass til væskefasen i produktet styres av diffusjonskoeffisienten til gassen og er konsentrasjonsdrevet. Ficks andre lov beskriver endring av konsentrasjon over tid og kan brukes til å beskrive gassens diffusjonsfluks inn eller ut av produktet [mol/m<sup>2</sup>s] (Cussler, 2009).

Formel 4

$$\frac{dC}{dt} = D \cdot \frac{d^2C}{dx^2}$$

I Formel 4 er C gasskonsentrasjonen i produktet [mol/m<sup>2</sup>], x er diffusjonsavstanden i produktet [m] og D er diffusjonskoeffisienten for gassen [m<sup>2</sup>/s]. Diffusjonskoeffisienten for CO<sub>2</sub> i vann er 1,05 · 10<sup>-9</sup> m<sup>2</sup>/s ved 277,15 K (4°C). Arrhenius formelen (Formel 5) gir korrelasjonen mellom diffusjonskoeffisienten og temperatur, R er gasskoeffisient og T er temperatur i Kelvin [K] (Rotabakk og Sivertsvik, 2012). Høyere temperatur fører til en raskere diffusjon.

Formel 5

$$D_{CO_2,H_2O} = 0,05019e^{\frac{-19510}{RT}}$$

I tillegg legger kjemiske reaksjoner til rette for transport av CO<sub>2</sub> slik at den faktiske diffusjonshastigheten er ofte høyere sammenlignet med den beregnede diffusjonshastigheten (Rotabakk og Sivertsvik, 2012).

Det er en tidkrevende prosess å løse CO<sub>2</sub> i et produkt. Studier utført av Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) og Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud (2004) har vist at det tar omtrent 3 dager før det oppnås likevekt mellom CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt og i atmosfære for laks og torsk. De viste også at 50 % likevekt ble oppnådd etter 3,5 – 4,6 timer. Likevekt ble oppnådd innen fire dager i Abel *et al.* (2018) sin studie. Desorpsjon av CO<sub>2</sub> er også konsentrasjonsdrevet, og er dermed en tidkrevende prosess på lik linje som innløsningsprosessen, dette viste Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2010) i sin studie utført på kyllingfileter.

En annen viktig faktor som påvirker mengde innløst CO<sub>2</sub> i et produkt pakket i MA som enda ikke er beskrevet er pakkens fyllingsgrad. Det er forholdet mellom gassvolum og produktvolum i pakken. I tillegg til partialtrykket til CO<sub>2</sub> avgjør også fyllingsgraden hvor mye CO<sub>2</sub> som er tilgjengelig i pakken og som dermed kan løses inn i produktet. For sjømat er fyllingsgrad mellom 2:1 og 3:1 (gass:produkt) anbefalt for å sikre bakteriostatisk effekt og for å unngå pakkekollaps. Pakkekollaps, på engelsk kalt «*snug down*» effekt, oppstår fordi løst CO<sub>2</sub> tar opp mindre volum enn i gassform og dermed oppstår det en volumreduksjon i pakken. Denne effekten kan reduseres ved å redusere det partielle trykket til CO<sub>2</sub> og benytte en fyllgass i tillegg, som nevnt tidligere benyttes ofte N<sub>2</sub> til dette formålet (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Sivertsvik *et al.* (2004) fant at CO<sub>2</sub>-løslighet økte lineært med økende partialtrykk av CO<sub>2</sub>, og en kvadratisk økning av løselighet ble observert ved lavere fyllingsgrad.

#### 1.4.5 Soluble gas stabilization (SGS) teknologi

Det er utviklet innovative teknologier for å oppnå høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt ved likevekt og for å øke fyllingsgrad ved pakking i MA. *Soluble gas stabilization* (SGS) er en slik teknologi. I vanlig MAP introduseres CO<sub>2</sub> ved å evakuere eksisterende luft i pakken og deretter erstatte den med ønskelig gassblanding før pakken forsegles. SGS er en utvikling av denne teknologien der CO<sub>2</sub> løses inn i produktet før det deretter pakkes i konvensjonell MA (Sivertsvik, 2003). Ved å benytte denne forbehandlingen av produkter før eksempelvis MAP vil CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktet være nærmere ønsket likevektskonsentrasjon i forkant av pakking. Dette fører til at mindre CO<sub>2</sub> fra pakkens gassfase vil løse seg i produktet som resulterer i mindre tap av gassvolum og dermed mindre endring i partialtrykket til CO<sub>2</sub>. Følgelig kan det oppnås en høyere bakteriostatisk effekt eller høyere fyllingsgrad (Sivertsvik og Birkeland, 2006; Fletcher, 2012).

Sivertsvik (2000) viste lovende resultater på holdbarhetsforlengelse på laks ved bruk av SGS-teknologi. Det ble også konkludert med at SGS-behandling alene ikke gir en holdbarhetsforlengende effekt, den må benyttes i kombinasjon med VP eller MAP. SGS-behandling har også vist seg fordelaktig ved bruk på meieriprodukter før pakking (Chen og Hotchkiss, 1991; Loss, Hotchkiss og Loss, 2002), Rotabakk *et al.* (2006) viste at bruk av SGS-behandling forlenget holdbarhet på kyllingfileter sammenlignet med tradisjonell MAP. Samme studie viste også at ved å benytte SGS-behandling i forkant av MAP kunne fyllingsgrad økes uten å redusere verken den mikrobielle eller sensoriske kvaliteten på produktet og samtidig unngå pakkekollaps. Økt SGS-behandlingstid ga mulighet for økt fyllingsgrad og for denne studien kunne det observeres en reduksjon i pakkevolum på 44%. Andre studier har vist resultater som peker i samme retning på eksempelvis spiseklare reker (*Pandalus borealis*) (Sivertsvik og Birkeland, 2006), sardiner (*Sardina*



*pilchadus*) (Mendes, Pestana og Gonçaves, 2008), oppdrettsdorader (*Sparus aurata*) og havabbor (*Dicentrarchus labrax*) (Mendes og Gonçaves, 2008), kyllingklubber (Al-Nehlawi *et al.*, 2013) og atlantisk oppdrettskveite (*Hippoglossus hippoglossus*) (Rotabakk *et al.*, 2008).

#### 1.4.6 Pakkematerialer

Ved valg av pakkematerialer til bruk i MAP er gasspermeabilitet og vanddampgjennomgang viktige egenskaper å ta hensyn til. Materialer klassifiseres etter barriereegenskaper mot oksygen. Dette måles ved 90 % relativ luftfuktighet ved 23°C over en periode på 24 timer. De ulike barriereklassene er lav ( $>300$  ml/m<sup>2</sup>), medium (50-300 ml/m<sup>2</sup>), høy (10-50 ml/m<sup>2</sup>) og ultrahøy ( $<10$  ml/m<sup>2</sup>) og betegnes som oksygenoverføringsrate (OTR) (Fellows, 2017). Graden av barriere nødvendig for pakking i MA avhenger av faktorer som oksygensensitivitet og ønsket holdbarhet. Ved pakking av sjømatprodukter regnes materialer som polyamid (PA) og polyetylentereftalat (PET) som moderat og etylenvinylalkohol (EVOH) som gode gassbarrierer. Økt relativ fuktighet kan gi svekket barriereegenskaper hos disse materialene (Noseda *et al.*, 2013). Dette løses ved å lage laminater av vanntett høydensitetspolyetylen (HDPE) ytterst og høybarrierematerialer mot gass i midten. HDPE er også et materiale godt egnet for plastsveising (Fellows, 2017).

## 2 Material og metode

### 2.1 Forsøksoppsett

Som beskrevet i innledningen er denne oppgaven todelt, hvor to ulike råstoff ble benyttet. For hvert råstoff, laksefilet og fiskekaker, ble det utført to forsøk. Det ble utført ett forsøk med hvert råstoff både ved NTNU i Trondheim og ved Nofima i Stavanger.

Ved utførelse av forsøkene ble prøver først behandlet med SGS etterfulgt av pakking i MA. Pakkene ble deretter lagret kjølig for å oppnå likevekt mellom gassfase og produkt. Virkningen av SGS-behandling ble sammenlignet med kontrollprøver pakket i MA.

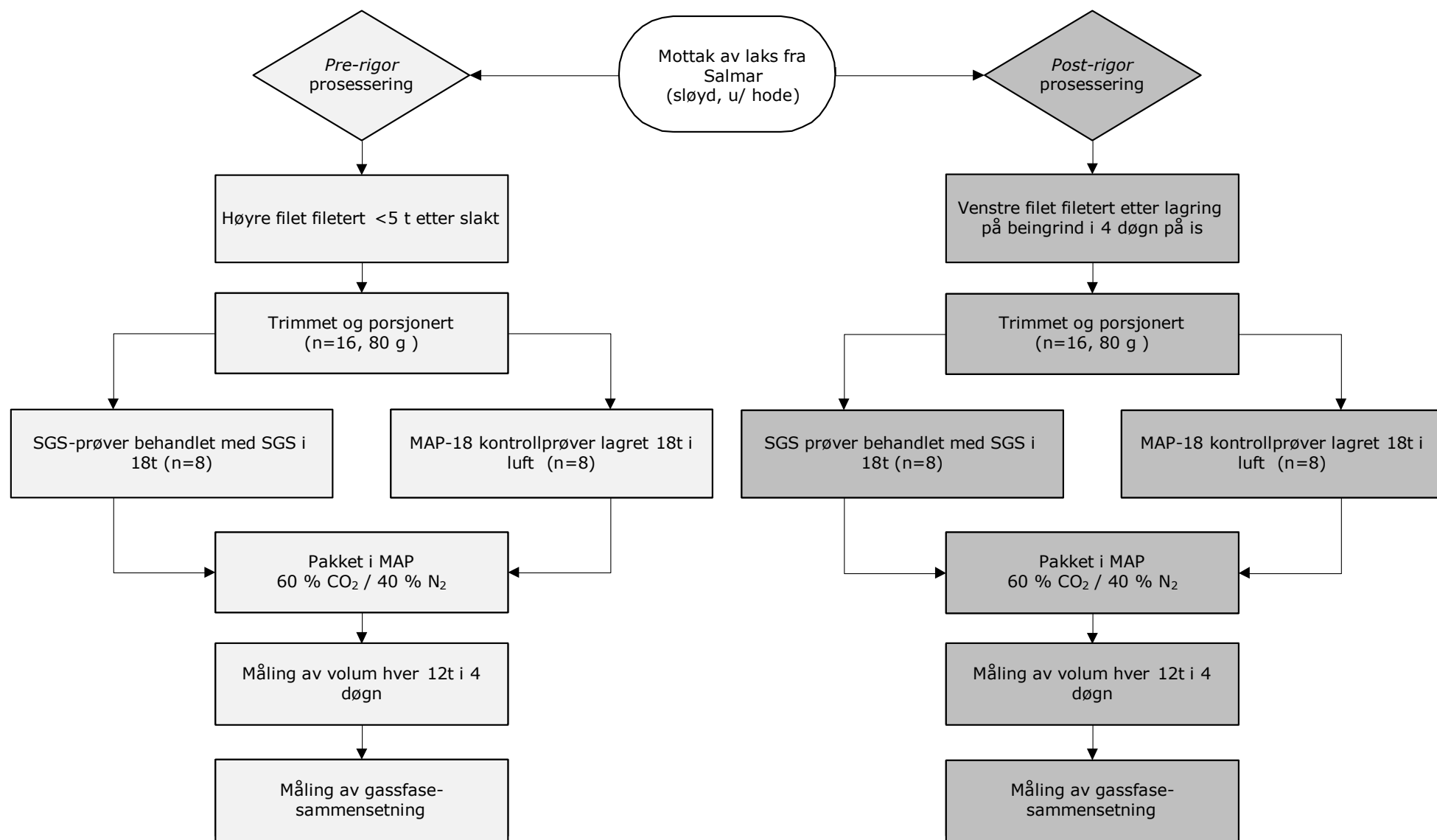
I lakseforsøkene ble det undersøkt om innløsning av CO<sub>2</sub> i SGS-behandlede laksefileter var ulik for fileter behandlet *pre-rigor* versus *post-rigor*. Det ble også undersøkt hvordan ulik SGS-behandlingstid påvirket disse resultatene.

Det ble i forsøkene med fiskekaker undersøkt om innløsning av CO<sub>2</sub> var ulik for fiskekaker behandlet med SGS under nedkjøling versus SGS-behandling av tilsvarende kalde fiskekaker (kjernetemperatur 4-6°C). Også i disse forsøkene ble ulike SGS-behandlingstider benyttet for å se hvordan mengde innløst CO<sub>2</sub> i produktet ble påvirket av dette.

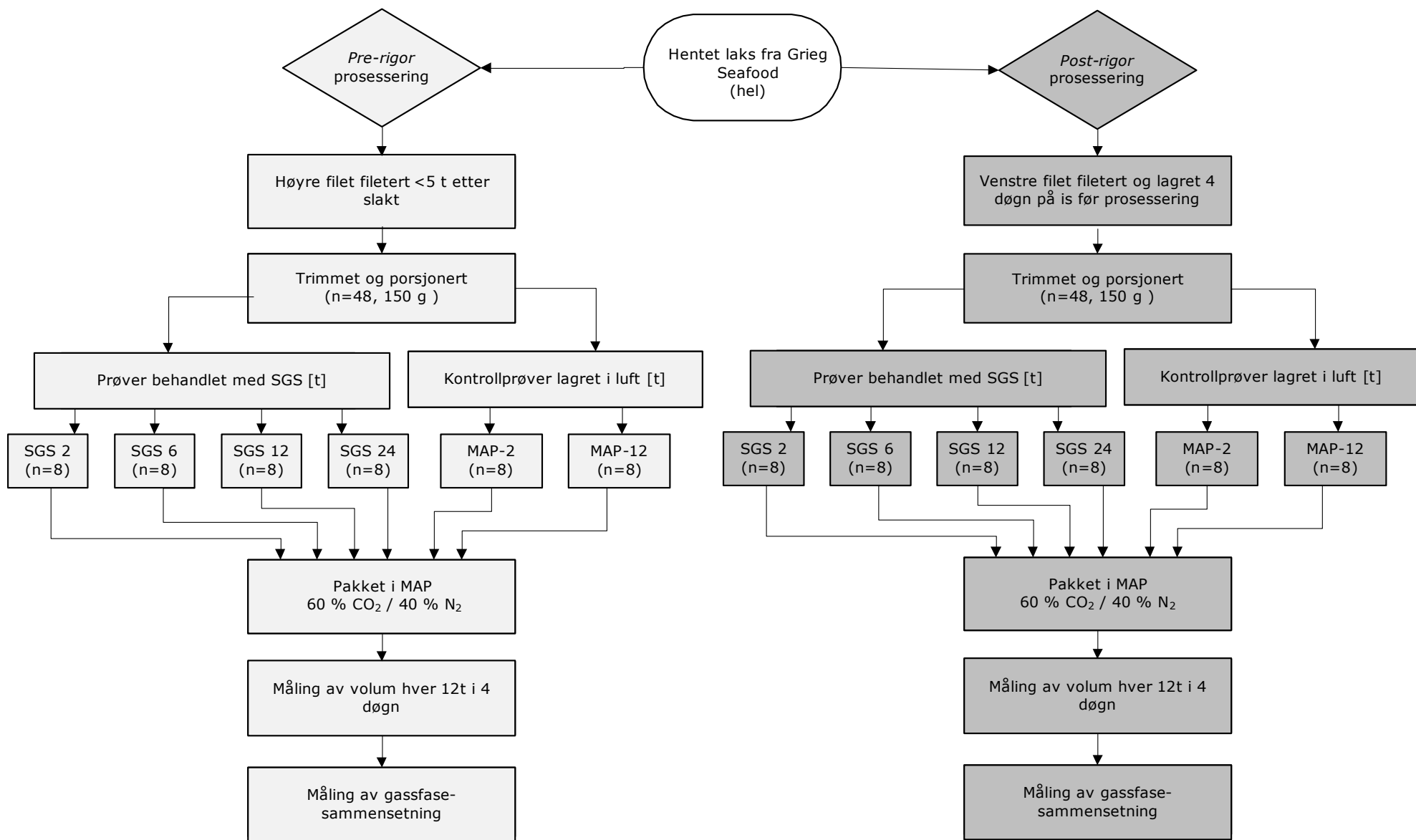
#### 2.1.1 Laks

Lakseforsøk 1 (L1) ble utført ved NTNU i Trondheim. Figur 11 viser en skjematisk fremstilling over forsøksoppsettet. Identiske forsøk ble gjennomført på filet prosessert henholdsvis *pre-rigor* og *post-rigor*. I hvert delforsøk ble 8 prøver behandlet med SGS i 18 timer etterfulgt av pakking i MA, bestående av 60 % CO<sub>2</sub> og 40 % N<sub>2</sub>. En kontrollgruppe ble pakket i MA med lik gassblanding. Etter pakking i MA ble alle prøvene lagret kaldt i 4 døgn for å oppnå likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom gassfase og produkt. Det ble underveis tatt jevnlig volummålinger av prøvene (cirka hver 12. time). 96 timer etter pakking i MA ble det foretatt en analyse av gassammensetning i hver pakke.

Lakseforsøk 2 (L2) ble utført ved Nofima i Stavanger. Forsøket ble utført etter samme prosedyre som L1, men her ble det benyttet ulike behandlingstider med SGS (2, 6, 12, og 24 timer) før pakking i MA. Det ble pakket to kontrollgrupper i MA for dette forsøket. Forsøksoppsettet er gjengitt i Figur 12.



Figur 11: Flytskjema for lakseforsøk 1 utført ved NTNU, Trondheim. Laks ble mottatt fra Salmar. Høyre filet ble filetert pre-rigor, venstre filet ble prosessert post-rigor. En gruppe ble behandlet med SGS<sup>1</sup> i 18 timer, mens en kontrollgruppe ble pakket i MA. Det ble utført volummålinger på pakkene 2 ganger i døgnet i 4 døgn før det ble målt gassammensetning i gassfase. MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization



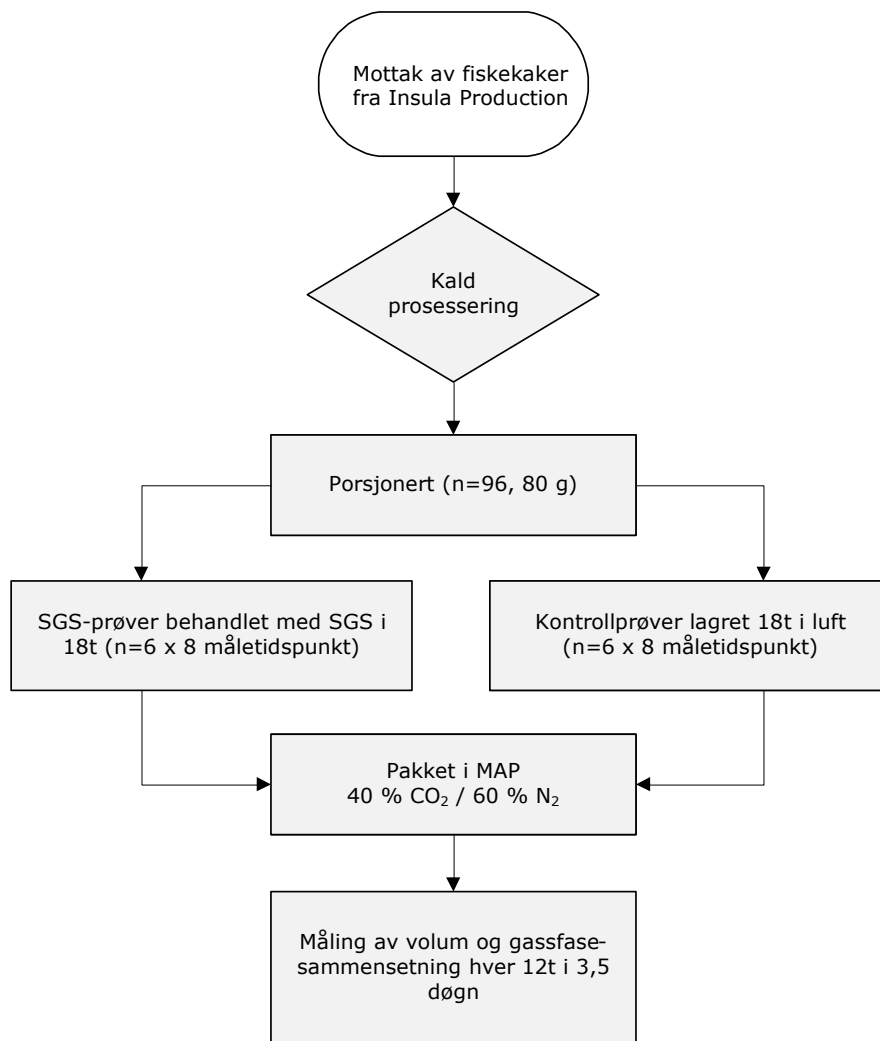
Figur 12: Flytskjema for lakseforsøk 2 utført ved Nofima, Stavanger. Laks ble mottatt fra Grieg Seafood. Høyre filet ble filetert pre-rigor, venstre filet ble prosessert post-rigor. Det ble utført behandling med SGS i 2, 6, 12, og 24 timer, mens det også ble pakket to kontrollgrupper i MA. Det ble utført volummålinger på pakkene 2 ganger i døgnet i 4 døgn før det ble målt gassammensetning i gassfase. MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization

### 2.1.2 Fiskekaker

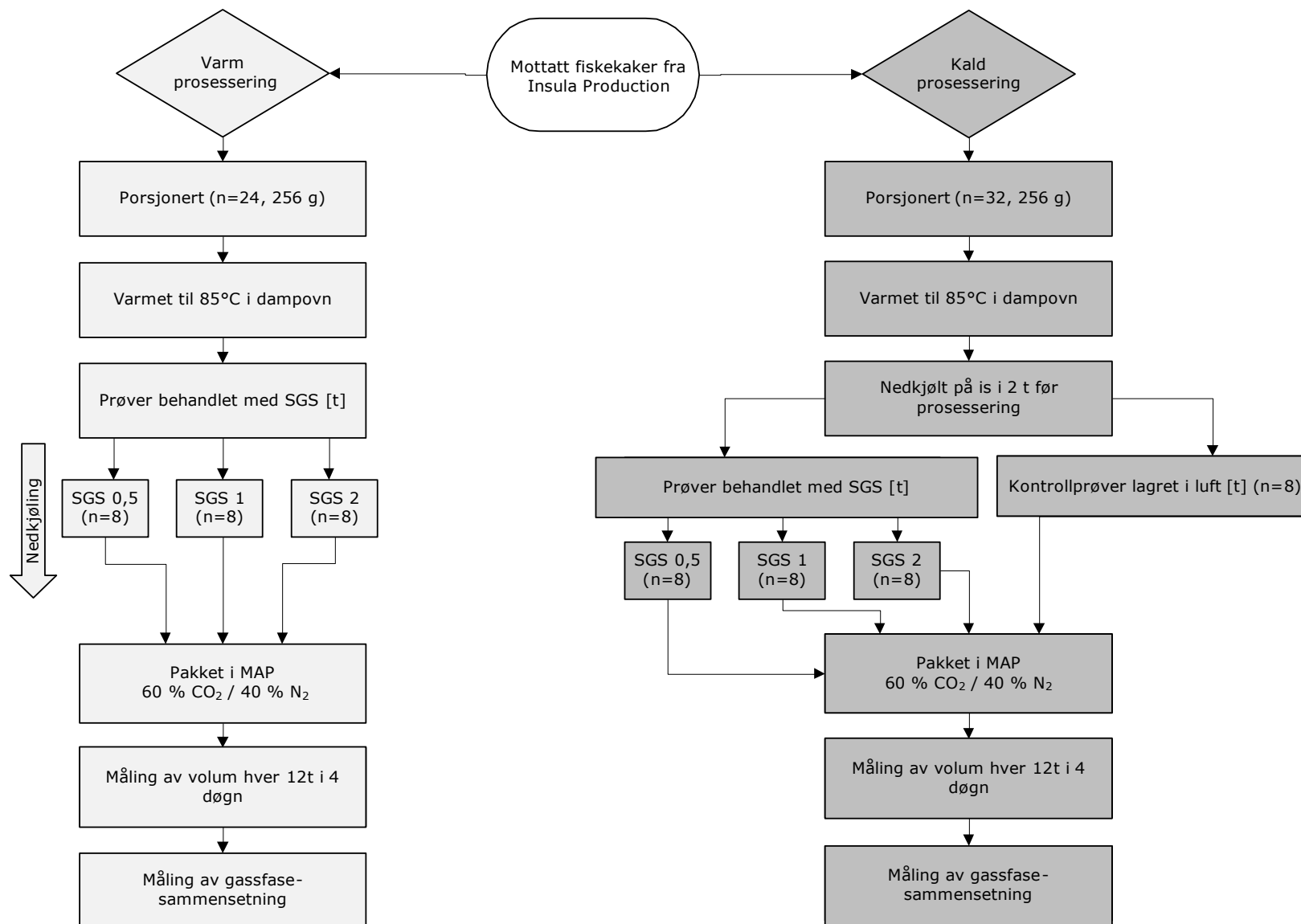
Som for laks ble det også utført to forsøk med fiskekaker. Fiskekakeforsøk 1 (F1) ble utført ved NTNU i Trondheim, og var et innløsningsforsøk av CO<sub>2</sub> i fiskekaker. Fiskekaker pakket i MA ble sammenlignet med fiskekaker som først ble SGS-behandlet i 18 timer og deretter pakket i MA. Gassblanding for MAP i F1 var 40 % CO<sub>2</sub> og 60 % N<sub>2</sub>, slik som Insula Production kommersielt pakker sine produkter. Figur 13 viser en skjematisk fremstilling over forsøksoppsett F1.

Fiskekakeforsøk 2 (F2), som vist i Figur 14, ble gjennomført ved Nofima i Stavanger. Forsøket var som F1 et innløsnings forsøk av CO<sub>2</sub> i fiskekaker. Innløsning av CO<sub>2</sub> i varme fiskekaker under nedkjøling ved ulike SGS-behandlingstider (0,5, 1 og 2 timer) ble sammenlignet med innløsning i kalde fiskekaker med tilsvarende SGS-behandling. Etter SGS-behandling ble samtlige prøver pakket om i MA bestående av 60 % CO<sub>2</sub> og 40 % N<sub>2</sub>. Det ble også i dette forsøket pakket en kontrollgruppe i MA.

For forsøk utført på fiskekaker ble det tatt jevnlig volummålinger (cirka hver 12. time) etter pakking i MA. For F1 ble det tatt analyse av gassammensetning ved hver volummåling, og forsøket ble avsluttet etter 3,5 døgn. For F2 ble det etter 4 døgn tatt analyse av gassammensetningen i pakkene.



Figur 13: Flytskjema for fiskekakeforsøk 1 utført ved NTNU, Trondheim. Fiskekaker ble mottatt fra Insula Production. Det ble utført behandling med SGS i 18 timer på en gruppe, mens det også ble pakket en kontrollgruppe i MA. Det ble utført volummålinger på pakkene 2 ganger i døgnet i 3,5 døgn, det ble ved hvert måletidspunkt tatt måling av gassammensetning i gassfase. MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization.



Figur 14: Flytskjema for fiskekakeforsøk 2 utført ved Nofima, Stavanger. fiskekaker ble mottatt fra Insula Production. En gruppe ble behandlet med SGS under nedkjøling og en gruppe ble kjølt ned før behandling med SGS. SGS-behandling ble utført i 0,5, 1 og 2 timer. Det ble også pakket en kontrollgruppe i MA. Det ble utført volummålinger på pakkene 2 ganger i døgnet i 4 døgn før det ble målt gassammensetning i gassfase. MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization.

### 2.1.3 Laks som råstoff

I L1 ble oppdrettslaks anskaffet fra Salmar (Frøya, Norge). Fisken ble avlivet med slag mot hodet og sløyd i Salmars kommersielle produksjonslinje før den ble fraktet på is til NTNU. Høyre filet ble filetert innen 5-6 timer etter slakting for å sikre *pre-rigor* tilstand før videre prosessering. Venstre filet ble liggende på beingrind, på is og lagret i kjølerom ( $3,8 \pm 1,6^\circ\text{C}$ ) i fire døgn før *post-rigor* filetering og videre prosessering. Filetene ble trimmet og porsjonert i like størrelser ( $81,4 \pm 0,8$  g) (L08401P, Sartorius AG Göttingen, Tyskland). Hale, nakkestykke og fettrand på rygg og mage ble fjernet.

I L2 ble oppdrettslaks hentet fra ventemerdd ved Grieg Seafood (Sjernerøy, Norge). Den ble avlivet med slag mot hodet og bløgget før den ble lagt til utblødning i sjøvann i 30 minutter. Den ble fraktet på is til Nofima. Laksens lengde og vekt ble målt (SB24001DR, Mettler Toledo AS, Oslo, Norge) og Fultons kondisjonsfaktor, hepatosomatisk indeks (HSI) ble beregnet ved hjelp av Formel 6 (Fulton, 1902).

Formel 6

$$\text{Fultons kondisjonsfaktor} = \frac{\text{Total kroppsvekt [g]}}{\text{Fiskens lengde [cm]}^3} \cdot 100$$

Laksen ble sløyd og filetert med filetsplitter (Carnitech CT2611, Carnitech AS, Danmark) innen 5-6 timer etter slakt. Høyre filet ble avskinnert, trimmet og porsjonert i like størrelser ( $151,1 \pm 1,5$  g) (SB24001DR, Mettler Toledo AS, Oslo) umiddelbart. Venstre filet ble lagret på is i kjølerom ( $0,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) i fire døgn før videre prosessering *post-rigor*. I begge forsøk ble hvert individ inspisert før *pre-rigor* prosessering for å kontrollere at det var i *pre-rigor* tilstand.

Det ble tatt ut prøver til tørrstoffanalyser under porsjonering for begge forsøk. Prøver til analyse av fettinnhold ble fryst og deretter analysert.

### 2.1.4 Fiskekaker som råstoff

«Fiskeriet Bestemors fiskekaker» produsert av Insula Production (Leknes, Norge) ble benyttet til F1 og F2. Fra produsent var det oppgitt at fiskekakene bestod av 51 % hvitlaks, helmelk, vann, tapiokativelse, rapsolje, 2 % hyse, løk, muskatnøttekstrakt, muskatblommeekstrakt, salt, gjærekstrakt, dekstrose og krydder. Enhetsvekt var oppgitt til å være på cirka 64 gram.

Til F1 ble fiskekaker produsert 28.10.20 av Insula Production sendt til NTNU, hvor de ble prosessert påfølgende dag. De ble porsjonert til 1,5 fiskekaker til hver prøve ( $80,2 \pm 0,9$  g). Til F2 ble fiskekaker produsert den 04.03.2020 prosessert påfølgende dag hos Nofima. I dette forsøket ble det benyttet 4 fiskekaker til hver prøve ( $262,9 \pm 0,003$ ). Det ble utført tørrstoffprøver fra begge forsøk.



## 2.2 Prosessering

### 2.2.1 Oppvarming av fiskekaker

I F2 ble alt prøvemateriale varmet til 85°C i mettet vanndamp (1 atm). Prøver som skulle SGS-behandles under nedkjøling ble behandlet direkte fra ovn og deretter lagt på kjølerom. Kjernetemperatur i fiskekaker under oppvarming og nedkjøling ble kontrollert med temperaturmålere (TrackSense Pro, Double sensor, Ellab AS, Hillerød, Danmark) for hver SGS-behandlingstid (n=4). Prøver som skulle SGS-behandles kalde ble lagt på brett tildekket med plast og deretter lagt på is på kjølerom i 2 timer i påvente av SGS-behandling. Kontrollprøver ble tildekket og lagt på kjølerom.

### 2.2.2 SGS-behandling

SGS-behandling av prøver ved NTNU (L1 og F1) ble utført ved at prøver ble fordelt på brett og lagt i høybarriereposer (425x650 mm polyamid/polyetylen (PA/PE) sous vide pose, Maske AS, Trondheim, Norge) og deretter pakket i 100 % CO<sub>2</sub>-atmosfære ved hjelp av en kammermaskin (Webomatic SuperMax s3000, Webomatic, Bochum, Germany). Det ble trukket vacuum til 99,9 % og deretter flushet med 100 % CO<sub>2</sub>. Det ble benyttet næringsmiddelgodkjent gass (Linde gass, Trondheim, Norge). Prøvene ble behandlet på kjølerom i 18 timer. For laks (L1) ble 8 paralleller SGS-behandlet. For fiskekaker (F1) ble 6 paralleller for hvert måletidspunkt (8 stk) SGS-behandlet. Ved endt SGS-behandling ble det tatt gass sammensetningsanalyse for å sikre tilstrekkelig mengde CO<sub>2</sub> (99,9 ± 0,4 %) i pakkene.

Kontrollprøver ble tildekket og deretter lagt på kjølerom i 18 timer i påvente av pakking i MA. For L1 var det 8 prøver i gruppen og vil omtales som MAP-18. For F1 var det 6 prøver for hvert måletidspunkt (8 punkt).

SGS-prøver fra L2 ved Nofima ble singelpakket i 100% CO<sub>2</sub>. Det ble benyttet en semi-automatisk pakkemaskin (Dyno VGA 462, RPC Promens, Kristiansand, Norge) og HDPE semi-rigide skåler (nr. 526, volum: 1000 ml, Dynopack, RPC Promens, Kristiansand, Norge, OTR = 3,2 cm<sup>3</sup>/ 24 t/ atm, CO<sub>2</sub> overføringsrate = 14,0 cm<sup>3</sup>/ 24 t/ atm, ved 23 °C, 0% relativ fuktighet). Atmosfærisk luft ble evakuert under pakking til 97% vakuum før pakkene ble flushet med 100% CO<sub>2</sub> gass, godkjent for næringsmiddel (Linde Gass, Stavanger, Norge). Deretter ble pakkene varmeforseglet med en overfilm med 15 µm orientert PA og 70 µm lineært medium densitet PE (RPC Promens, Kristiansand, Norge, OTR = 30 cm<sup>3</sup>/ m<sup>2</sup>/ 24t/ atm.). En gassblander (Witt KM 100-2 m, Witt Gasetechnik, Witten, Tyskland) ble brukt for å dosere riktig gassmiks.

SGS-behandlingstid for de ulike gruppene (n=8) var satt til 2, 6, 12 og 24 timer. Under behandling ble prøvene lagret på kjølerom (0,7 ± 0,5°C). Kontrollprøver ble dekket med plastfolie og oppbevart i samme kjølerom. Den ene kontrollgruppen, MAP-2 (n=8), ble oppbevart i 2 timer parallelt med at SGS-2 ble SGS-behandlet. Den andre kontrollgruppen, MAP-12 (n=8), ble oppbevart i 12 timer parallelt med SGS-behandling av SGS-12. Deretter ble kontrollgruppene pakket i MA samtidig med sine tilhørende SGS-grupper.

Fiskekaker (F2) ble behandlet med SGS på brett med seks fiskekaker på hvert brett, og lagt i en varmeforseglet 20 µm polyamid-/ 70 µm polyetylenpose (700 x 500 mm, Star-pack produktie B.V., Waalwijk, Nederland). En posepakker (5000 Pa vacuum, CVP Fresh Vac Model A-600, Downers Grove, IL, USA) ble benyttet, atmosfæren ble evakuert og

flushet med 100 % CO<sub>2</sub> i to omganger. OTR for posene var 30 cm<sup>3</sup>/ m<sup>2</sup>/ 24 t/ atm. Forholdet mellom posenes volum og mengde produkt var regnet som tilstrekkelig for å sikre en tilstrekkelig mengde CO<sub>2</sub> tilgjengelig under hele behandlingstiden. For prøver som ble SGS-behandlet under nedkjøling ble det tilsatt 15 gram tørris i posene for å oppnå en hurtigere nedkjøling.

Ved endt SGS-behandling ble det utført gassammensetningsanalyse for å sikre tilstrekkelig mengde CO<sub>2</sub> (99,3 ± 0,5 %) i hver pakke.

### 2.2.3 Pakking i modifisert atmosfære

Etter SGS-behandling ble SGS-prøver og kontrollprøver pakket over i porsjonsskåler av semi-rigid krystallinsk PET (L1 og F1: 230 ml, C2125-1A, Færch Plast, Holstebro, Danmark, L2 og F2: 680 ml, C2187-1F, Færch Plast, Holstebro, Danmark) med en semi-automatisk, skål-forseglingss maskin (L1 og F1: TL250, Webomatic, Bochum, Tyskland, L2 og F2: T200, Multivac, Sepp Haggenmüller SE & Co. KG, Wolfertschwenden, Tyskland). Ved pakking ble atmosfærisk luft evakuert til henholdsvis 25 og 20 mBar og deretter flushet med forhåndsinnstilt gassmiksblanding, for T200 Multivac til 960 mBar. Skålene ble for L1 og F1 forseglet med en overfilm med tykkelse 40 µm, bestående av en kombinasjon av polyetylen (PE), EVOH PA og PET (Topaz B-440 AF, Plastopil, Almere, Nederland). For L2 og F2 ble skålene forseglet med en overfilm med tykkelse 33 µm, bestående av PE sveisebelegg på 1 % og en kombinasjon av PET og resirkulert PET med sammenføyende lag (Cryovac® OSF33ZA, Sealed Air Food Care, Charlotte, NC, USA). OTR til skålene var 66-78 cm<sup>3</sup> x 25 µm/ m<sup>2</sup>/ 24 t/ atm ved 23°C, og for forseglingsfilmen til F1 og L1 var OTR 2,5 cm<sup>3</sup> x 40 µm/ m<sup>2</sup>/ 24 t/ atm ved 23°C. For L2 og F2 var OTR for forseglingsfilmen 60 cm<sup>3</sup>/ m<sup>2</sup>/ 24 t/ bar ved 23°C, 0 % relativ fuktighet.

Fyllingsgrad og benyttet gassblanding for de ulike forsøkene vises i Tabell 2. Gassblanding ble blandet med gassmikser (L1 og F1: MAP Mix 9000, Dansensor, Ringsted, Danmark, L2 og F2: Witt KM 100-2 m, Witt Gasetechnik, Witten, Tyskland). Faktisk CO<sub>2</sub> % ble kontrollert og var på 61,5 ± 0,2, 60,3 ± 0,3, 40,9 ± 0,1 og 60,3 ± 0,4 for henholdsvis L1 (n=18), L2 (n=38), F1 (n=6) og F2 (n=17).

Tabell 2: Oversikt over fyllingsgrad (DF) for de ulike forsøkene basert på målt volum av skåler og benyttet gassblanding.

Forsøk	Fyllingsgrad	Innstilt gassblanding
Lakseforsøk 1	34,9 %	60 % CO <sub>2</sub> / 40 % N <sub>2</sub>
Lakseforsøk 2	21,5 %	60 % CO <sub>2</sub> / 40 % N <sub>2</sub>
Fiskekakeforsøk 1	36,3 %	40 % CO <sub>2</sub> / 60 % N <sub>2</sub>
Fiskekakeforsøk 2	37,3 %	60 % CO <sub>2</sub> / 40 % N <sub>2</sub>

### 2.2.4 Lagring

Etter pakking ble prøver lagret mørkt i kjøleskap (2,2 ± 1,4°C ved NTNU, Trondheim og 1,83 ± 0,34 °C ved Nofima, Stavanger). Tabell 3 viser volummålinger tatt av prøvene til oppnådd likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom gassfase og produkt. Deretter ble det tatt gassammensetningsanalyse av gassfase i hver prøve.

Tabell 3: Oversikt over måletidspunkt etter pakking i MA<sup>1</sup> for volum for hver gruppe, både MAP og SGS i hvert forsøk.

Forsøk		Måletidspunkt [t]	
		SGS-behandlet <i>pre-rigor</i>	SGS-behandlet <i>post-rigor</i>
L1	MAP-18, SGS-18	2, 7, 11, 23, 35, 47, 60, 71, 83, 95	2, 7, 11, 23, 35, 47, 59, 71, 83, 95
L2	MAP-2, SGS-2	2, 4, 16, 28, 40, 52, 64, 76, 88, 96	2, 4, 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80, 92, 96
L2	MAP-12, SGS-12	2, 4, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96	2, 4, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96
L2	SGS-6	2, 4, 14, 26, 38, 50, 62, 74, 86, 96	-
L2	SGS-24	2, 4, 6, 18, 30, 42, 54, 66, 78, 90, 96	2, 4, 11, 22, 34, 46, 58, 70, 81, 94, 96

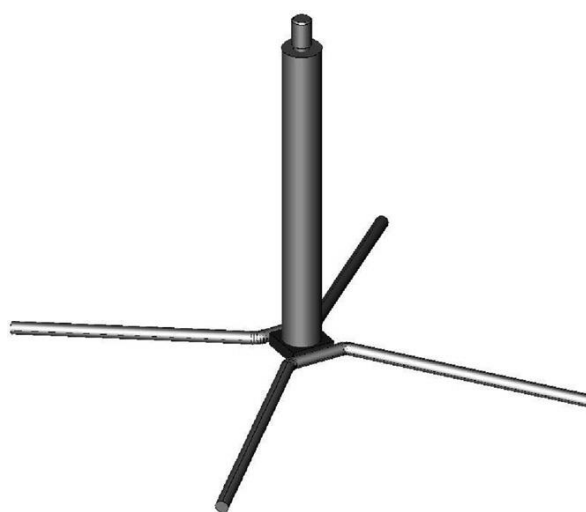
Forsøk		SGS-behandlet under nedkjøling	SGS-behandlet kalde
F1	MAP, SGS-18	-	2, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84
F2	MAP	-	2, 4, 16, 28, 41, 52, 66, 76, 88, 96
F2	SGS-0,5	2, 4, 17, 29, 42, 53, 66, 77, 89, 96	2, 4, 17, 29, 42, 53, 66, 77, 89, 96
F2	SGS-1, SGS-2	2, 4, 9, 22, 33, 46, 56, 69, 81, 93, 96	2, 4, 6, 19, 30, 44, 54, 66, 78, 90, 96

<sup>1</sup> MA= Modifisert atmosfære; MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization.

## 2.3 Måling av gassvolum

Volum av prøvenes gassfase ble undersøkt to ganger per døgn gjennom forsøksperioden (4 døgn for L1, L2 og F2 og 3,5 døgn for F1). Dette ble gjort ved å senke prøvepakken under vann og måle oppdrift [N] ved hjelp av en teksturmåler (Stable Micro System Ltd, TA-XT plus, Godalming, Storbritannia) som beskrevet i Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007). For produkter pakket i MA kan metoden fastsette løselighet og adsorpsjonsrate av CO<sub>2</sub> på bakgrunn av volumendring i gassfase over tid. Legemer senket ned i vann vil oppleve en oppdriftskraft. Endringer i oppdriftskraft kan relateres til endring i pakkens gassvolum. Endringer i oppdrift [N] kan derfor brukes som en metode for å måle løselighet av CO<sub>2</sub> i et produkt.

I forsøkene ble pakkene senket ned i vann med en spesialdesignet måleprobe (Figur 15) utviklet av Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007). Den ble senket med en hastighet på 2 mm/s til hele skålen var neddykket. For å minimalisere effekt av bølger oppstått under nedsenkning ble systemet holdt stabilt i 30 sekunder. Deretter ble oppdrift registrert hvert sekund og i alt 10 ganger. En gjennomsnittskraft for oppdrift ble benyttet til videre beregninger. Alle målinger ble korrigert i henhold til faktisk atmosfærisk trykk ved måletidspunktet. Produkttetthet ble målt for de ulike forsøkene ved å senke forhåndsveide prøver i vann og registrere hvor mye vann hver prøve fortrenget. Konsentrasjon av absorbert CO<sub>2</sub> i produkt ble regnet ut ved hjelp av Formel 7.



Figur 15: Spesialdesignet måleprobe for nedsenkning av prøvepakke i vann (Rotabakk, Lekang og Sivertsvik, 2007).

$$C_{CO_2}^{t=\infty} = \frac{1000 \cdot ((P_{atm}^{t=0} \cdot V_g^{t=0}) - ((P_{atm}^{t=\infty} - P_w) \cdot V_g^{t=\infty})) \cdot M_{wCO_2}}{R \cdot T \cdot W_f}$$

Hvor  $C_{CO_2}^{t=\infty}$  er total mengde CO<sub>2</sub> [ppm] absorbert av produktet.  $P_{atm}$  er absolutt trykk [Pa] ved start ( $t = 0$ ) og ved likevekt ( $t = \infty$ ). Ved likevekt trekkes vanndamptrykket ( $P_w$ ) fra.  $V_g$  er gassvolum [m<sup>3</sup>] ved start og ved likevekt.  $M_{wCO_2}$  er molekylvekt til CO<sub>2</sub> (44,01 g/mol),  $R$  er gasskonstant,  $T$  er absolutt temperatur [K] og  $W_f$  er vekten til prøven [kg].

Det antas at observerte volumendringer oppstår som følge av absorpsjon eller desorpsjon av CO<sub>2</sub>, da produksjon eller konsumpsjon av CO<sub>2</sub> fra mikroorganismer, samt endring i partialtrykk for N<sub>2</sub> og O<sub>2</sub> antas å være neglisjerbar (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Metoden er også basert på at den ideelle gasslov er gjeldende, da hver prøve ses på som et lukket system der mengde CO<sub>2</sub> er konstant.

## 2.4 Henrys konstant

Ifølge Henrys lov vil mengde CO<sub>2</sub> i gassfase være proporsjonal med mengde CO<sub>2</sub> absorbert i prøven når prøven har oppnådd likevekt med omgivelsesgass (Formel 1). Beregnet CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt fra volumålinger ( $C_{CO_2}^{t=\infty}$ ) og målt partialtrykk av CO<sub>2</sub> ( $P_{CO_2}^{t=\infty}$ ) for kontrollprøver ble benyttet for å beregne Henrys konstant for prøvematerialet.

## 2.5 Analyse av gassfase

Den modifiserte atmosfærens gassammensetning ble målt ved hjelp av en gassmåler (Checkmate 9900 analyzer, PBI Dansensor, Ringsted, Danmark). Instrumentet måler atmosfærens innhold av CO<sub>2</sub> og O<sub>2</sub>, mens innhold av N<sub>2</sub> beregnes til å være restinnholdet i gassfasen (N<sub>2</sub> = 100 % - % CO<sub>2</sub> - % O<sub>2</sub>). En mengde (20 ml) av gassfasen ble trukket ut med en kanyle etter å ha gjennomtrengt overfilmen. Før overfilmen ble brutt med nålen ble et skumgummiseptum (Nordic Supply Skodje, Norge) satt på overfilmen for å unngå innsug av falsk atmosfære i gassmåleren. Etter endt SGS-behandling ble gassfasens sammensetning målt. Dette ble også gjort på alle prøvepakker etter siste volummåling.

## 2.6 Råstoffanalyser

### 2.6.1 Tørrstoffanalyse

ISO 6496 for bestemmelse av vanninnhold og annet flyktig materiale ble benyttet (ISO.6496, 1983) for å måle produktets innhold av tørrstoff. Prøvemateriale (5,2 ± 0,2 g) ble veid (BP221S, Sartorius, Tyskland) opp i forhåndsveide aluminiumskåler og satt i et tørkeskap (TS8056, Termaks AS, Bergen, Norge) ved 105 °C i 24 timer. Deretter ble prøvene avkjølt og veid på nytt. Innhold av tørrstoff ble deretter beregnet som vist i Formel 8.

$$Tørrstoff [\%] = 1 - \frac{Våtvækt [g] - Tørrvækt [g]}{Våtvækt [g]} \cdot 100\%$$

## 2.6.2 Fettekstraksjon

En modifisert versjon av Bligh & Dyers metode for ekstraksjon av fett (Bligh og Dyer, 1959) ble benyttet. Fett ble ekstrahert ved å benytte en blanding av kloroform og metanol. Metoden ekstraherer både polare og ikke-polare lipider.

Prøvematerialet fra L1 ble raspet av en frosset filet og veid inn i kloroformbestandige plastsentrifugerør. Det ble tatt ut prøver ( $1,56 \pm 0,09$  g) fra fem prøvebiter med to paralleller fra hver bit. Prøvene ble sentrifugert ved 1800 rpm i 15 minutter for å sikre at prøvematerialet la seg på bunn i rørene (Rotina 420R, Hettich Zentrifugen, Tyskland).

Deretter ble 4,0 ml ionebyttet vann, 10,0 ml metanol og 5,0 ml kloroform tilsatt ved bruk av automatpipette før prøvene ble homogenisert i 1 minutt ved 1300 rpm (T25D Ultra Turrax, IKA, Tyskland). Videre ble 5,0 ml kloroform tilsatt og løsningen ble igjen homogenisert i 20 sekunder. Deretter ble det tilsatt 4 ml ionebyttet vann og prøvene ble homogenisert en siste gang i 20 sekunder. Prøvene ble til slutt sentrifugert i 15 minutter ved 4°C og 1800 rpm (Rotina 420R, Hettich Zentrifugen, Tyskland).

Etter sentrifugering bestod prøvene av 3 faser, metanol- og vannfase, fastfase og kloroformfase. Kloroformfasen ble overført til et kort reagensrør med en pasteurpipette. Videre ble 1 ml av kloroformfasen pipettert over i forhåndsveide klimaxrør ved hjelp av en fullpipette. Det ble laget 2 paralleller per prøve. Disse ble satt til avdamping under nitrogen i 15 minutter på 60 °C (18790, Reacti-therm heating module, Pierce, Rockford, Illinois, USA). Klimaxrør med innhold ble deretter veid etter avdamping og fettinnhold per prøve ble beregnet (Formel 9).

$$Fettinnhold \% = \frac{Rør\ med\ ekstrahert\ fett [g] - vekt\ av\ rør [g] \cdot V_{tilsatt\ CHCl_3}}{Prøvevekt [g] \cdot V_{CHCl_3\ tatt\ ut}} \cdot 100\%$$

## 2.7 Statistiske analyser

Databehandling og statistiske analyser ble utført i henholdsvis Microsoft Excel 2016 (Microsoft Office, Norge) og Minitab 19 (Minitab, Coventry, UK). Alle statistiske beregninger ble utført med flere paralleller (minimum 6). Dersom ikke annet er opplyst presenteres data som gjennomsnittverdier med tilhørende standardavvik. Variansanalyse (ANOVA) ble utført ved hjelp av generell lineær modellering (GLM) for å detektere signifikante forskjeller mellom grupper med signifikansnivå satt til  $p < 0,05$ . Tukeys *honestly significant difference* test (Tukey HSD) ble brukt for å detektere signifikante forskjeller mellom ulike grupper med signifikansnivå på  $p < 0,05$ .

## 3 Resultat

### 3.1 Råstoff

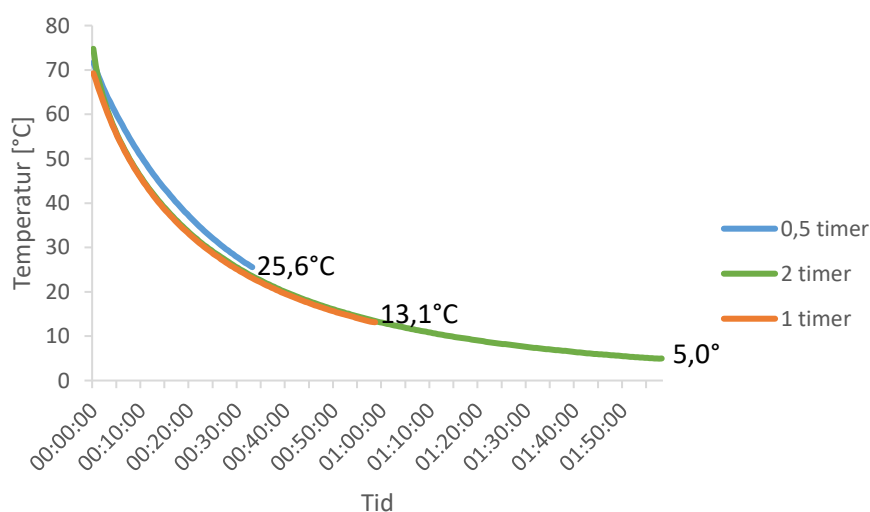
I denne oppgaven ble det utført tetthetsmålinger og analyse av tørrstoffinnhold i råstoff, samt fettinnhold i laks benyttet i L1. For F2 ble det målt kjernetemperatur i prøvene som ble behandlet med SGS under nedkjøling.

Vanninnhold i laks fra L1 var på  $67,6 \pm 3 \%$  ( $n=11$ ). Dette var signifikant (GLM,  $p=0,004$ ) høyere enn vanninnholdet i L2, som var  $62,3 \pm 0,9 \%$  ( $n=11$ ). Det ble derimot ikke funnet signifikante (GLM,  $p=0,351$ ) forskjeller mellom *pre-rigor*, *post-rigor* eller *in-rigor* (2 dager) prøver for L2. Fettinnholdet i laks benyttet i L1 ble målt til  $12,1 \pm 2,3 \%$  ( $n=20$ ) og resterende  $20,3 \%$  antas da å være protein og aske. Det var planlagt å analysere fettprosent i laks benyttet i L2, men på grunn av Covid-19-viruset ble universitetet nedstengt, og det var ikke mulig å gjennomføre denne analysen. Fultons kondisjonsfaktor ble beregnet til å være  $1,4 \pm 0,2$  ( $n=14$ ) for fisk benyttet i L2.

Vanninnhold i fiskekaker fra F1 og F2 ble målt til å være  $70,5 \pm 1,0 \%$  ( $n=44$ ). Det ble ikke funnet signifikante (GLM,  $p=0,373$ ) forskjeller i vanninnhold mellom F1 og F2. Vanninnhold i kalde versus varmede fiskekaker i F2 var heller ikke signifikant (GLM,  $p=0,150$ ) forskjellig.

For laks ble tetthet målt til å være  $1059,1 \pm 4,2 \text{ kg/m}^3$  ( $n=9$ ). Tetthet til fiskekakene var  $1030,8 \pm 52,2 \text{ kg/m}^3$  ( $n=33$ ). Som for vanninnhold ble det heller ikke her påvist signifikante (GLM,  $p>0,445$ ) forskjeller i tetthet mellom verken F1 og F2, eller mellom kalde og varmede fiskekaker i F2.

Ved start av SGS-behandling var gjennomsnittlig kjernetemperatur i fiskekakene  $71,9 \pm 2,3^\circ\text{C}$ . Den høyest målte temperaturen ved endt SGS-behandling var  $25,6^\circ\text{C}$  for 0,5 timer behandling,  $13,1^\circ\text{C}$  for 1 time behandling og  $5,0^\circ\text{C}$  for 2 timer behandling. Grafene i Figur 16 viser endring i kjernetemperaturen under SGS-behandling for prøvene som ble behandlet under nedkjøling.



Figur 16: Grafer over kjernetemperatur i fiskekaker behandlet med SGS under nedkjøling i 0,5 (blå), 1 (oransje) og 2 (grønn) timer. Sluttemperatur ved SGS-behandling viser ved enden av hver graf. SGS = Soluble gas stabilization.

## 3.2 Sammensetning av gassfase i prøvepakker

Analyse av pakkenes gassfase ble utført for de ulike forsøkene etter lagring i MAP for å oppnå likevekt (3,5 døgn for F1 og 4 døgn for L1, L2 og F2). For F1 ble det tatt ut prøver til gassfaseanalyse ved hvert måletidspunkt gjennom hele lagringsperioden.

### 3.2.1 Gassammensetning i pakker med laksefilet

Målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i pakkens gassfase for L1 og L2 etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase i MA er presentert i henholdsvis Tabell 4 og Tabell 5. Som forventet hadde kontrollprøvene signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) lavere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase enn SGS-behandlede prøver i begge forsøk, da mer CO<sub>2</sub> fra pakkens gassfase absorberes av produktet for å oppnå likevekt. I L1 hadde prøvene behandlet med SGS *pre-rigor* signifikant (GLM,  $p = 0,008$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase enn prøver behandlet *post-rigor*.

Tabell 4: CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i gassfase målt etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase i pakker med laks behandlet med SGS<sup>2</sup> *pre-rigor* og *post-rigor* i 18 timer. MAP-18 er kontrollgruppe<sup>1</sup>.

		CO <sub>2</sub> [%] i gassfase ved likevekt	
	SGS tid [t]	<i>Pre-rigor</i> (n=8)	<i>Post-rigor</i> (n=8)
MAP-18	0	41,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	38,2 ± 0,2 <sup>b</sup>
SGS	18	60,7 ± 0,9 <sup>c</sup>	58,0 ± 0,5 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD.

<sup>2</sup> MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization.

I L2 ble det påvist signifikante (GLM,  $p < 0,001$ ) forskjeller i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase etter oppnådd likevekt mellom de ulike SGS-behandlingstidene, med unntak av 6 og 12 timer behandlingstid. Lengre SGS-behandlingstid viste som forventet en høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i pakkenes gassfase. I prøver behandlet med SGS *pre-rigor* ble det påviste signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase for SGS-behandlingstidene 2 (GLM,  $p < 0,001$ ) og 24 (GLM,  $p < 0,001$ ) timer sammenlignet med tilsvarende prøver behandlet *post-rigor*. Etter 12 timers behandlingstid ble det ikke observert signifikant (GLM,  $p = 0,340$ ) forskjell i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase mellom prøver SGS-behandlet *pre-rigor* og *post-rigor*.

I MAP-2 ses det signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i pakkenes gassfase i prøver behandlet med SGS *pre-rigor* sammenlignet med *post-rigor* behandlede prøver. I MAP-12 viser det derimot ikke signifikant (GLM,  $p = 0,776$ ) ulik CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i pakkenes gassfase.

Tabell 5: Målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i gassfase etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase for pakker med pre-rigor og post-rigor laks behandlet med SGS<sup>2</sup> i 0, 2, 6 (kun pre-rigor), 12 og 24 timer. MAP-2 og MAP-12 er kontrollprøver<sup>1</sup>.

	SGS tid [t]	CO <sub>2</sub> [%] i gassfase ved likevekt	
		Pre-rigor (n=8) <sup>3</sup>	Post-rigor (n=8)
MAP-2	0	49,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	48,1 ± 0,2 <sup>b</sup>
MAP-12	0	47,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	47,4 ± 0,3 <sup>b</sup>
SGS	2	53,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	51,5 ± 0,9 <sup>d</sup>
SGS	6	55,9 ± 0,3 <sup>e</sup>	-
SGS	12	56,6 ± 0,7 <sup>e</sup>	56,3 ± 0,5 <sup>e</sup>
SGS	24	59,0 ± 0,5 <sup>f</sup>	56,3 ± 0,7 <sup>e</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD.

<sup>2</sup>MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization

<sup>3</sup>n=7 for pre-rigor -2t SGS, -6t SGS og -MAP-12.

Prøvene med *post-rigor* råstoff som skulle SGS-behandles i 6 timer kunne ikke fullføres da det ble avdekket gasslekkasje i pakker under SGS-behandling. På grunn av ufullstendig SGS-behandling av *post-rigor* prøver vil ikke gruppen med *pre-rigor* prøver behandlet med SGS i 6 timer inkluderes videre i oppgaven.

### 3.2.2 Gassammensetning i pakker med fiskekaker

Målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i gassfase for F1 og F2 etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase i MAP er presentert i henholdsvis Tabell 6 og Tabell 7. SGS-behandlede prøver har i begge forsøk signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase enn tilhørende kontrollprøver, slik som det også ble vist for lakseforsøkene. Også for fiskekaker viste en lengre SGS-behandlingstid signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase.

Tabell 6: Målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i gassfase etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase i pakker med fiskekaker som ble SGS<sup>2</sup>-behandlet i 0 og 18 timer (F1)<sup>1</sup>.

	SGS tid [t]	CO <sub>2</sub> [%] i gassfase ved likevekt (n=8)
MAP	0	19,5 ± 0,1 <sup>a</sup>
SGS	18	45,6 ± 0,3 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved ANOVA (GLM).

<sup>2</sup>MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization

Fiskekakene som ble SGS-behandlet kalde i 0,5 timer hadde en signifikant (GLM,  $p = 0,001$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase enn prøver som ble behandlet under nedkjøling, se Tabell 7. Målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i pakkens gassfase etter en SGS-behandlingstid på 1 og 2 timer viste ikke signifikant (GLM,  $p > 0,364$ ) forskjell mellom prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde.



Tabell 7: Målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i gassfase etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase i pakker med fiskekaker som ble behandlet med SGS<sup>2</sup> under nedkjøling og pakker med fiskekaker som ble SGS-behandlet kalde i 0, 0,5, 1 og 2 timer (F2)<sup>1</sup>.

		CO <sub>2</sub> [%] i gassfase ved likevekt	
		SGS-behandling under nedkjøling (n=8)	SGS-behandling kalde (n=8)
	SGS tid [t]		
MAP	0	-	30,2 ± 0,1 <sup>a</sup>
SGS	0,5	35,0 ± 0,5 <sup>b</sup>	36,4 ± 0,5 <sup>c</sup>
SGS	1	38,7 ± 0,9 <sup>d</sup>	38,3 ± 0,6 <sup>d</sup>
SGS	2	42,0 ± 0,4 <sup>e</sup>	42,0 ± 0,4 <sup>e</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD.

<sup>2</sup>MAP=Modifisert atmosfære pakket; SGS=Soluble gas stabilization

### 3.3 CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i prøver

For kontrollprøvene ble CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt beregnet ved hjelp av Formel 7. Beregnet CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter oppnådd likevekt for kontrollprøver ble benyttet for å beregne Henrys konstant for de ulike råstoffene. Beregnet Henrys konstant ble deretter brukt til å bestemme CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i prøvene som ble behandlet med SGS. Det ble beregnet to ulike CO<sub>2</sub>-konsentrasjoner for SGS-prøver. En CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter behandling med SGS, før pakking i MA og en CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase etter lagring i MA.

#### 3.3.1 CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i kontrollprøver ved likevekt

Tabell 8 viser beregnet CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt for kontrollprøvene i L1 og L2. Overordnet ses en signifikant (Tukey HSD,  $p < 0,05$ ) lavere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon for L1 enn for L2. Pre-rigor kontrollprøver i L1 (MAP-18) hadde en signifikant (GLM,  $p = 0,015$ ) lavere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon enn *post-rigor* kontrollprøver. Denne forskjellen var på kun 46,3 ppm, og det kan forventes at begge gruppene var *post-rigor* ved likevekt. For L2 ses det ikke signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) forskjell mellom de ulike gruppene, med unntak av *post rigor* prøver i MAP-12, som hadde en signifikant (Tukey HSD,  $p < 0,05$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt enn samtlige av de andre gruppene.

Tabell 8: CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt ved likevekt for kontrollprøver, prøver med både pre-rigor og post-rigor laks for lakseforsøk 1 og lakseforsøk 2<sup>1</sup>.

		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt ved likevekt [ppm]	
		Pre-rigor (n=8)	Post-rigor (n=8)
Forsøk	Kontrollgruppe		
Lakseforsøk 1	MAP-18	1014 ± 29,1 <sup>a</sup>	1060,4 ± 33,4 <sup>b</sup>
Lakseforsøk 2	MAP-2	1458,8 ± 105,9 <sup>x</sup>	1425,2 ± 116,0 <sup>x</sup>
Lakseforsøk 2	MAP-12	1528,9 ± 108,0 <sup>x</sup>	1721,9 ± 144,1 <sup>y</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. Bokstavene a-b beskriver forskjeller i L1, bokstavene x-y beskriver forskjeller i L2.

I fiskekakeforsøkene ble det i kontrollprøver for F1 målt  $846,5 \pm 27,9$  ppm CO<sub>2</sub> innløst i produkt. Det var som forventet signifikant (GLM,  $p < 0,01$ ) lavere enn for kontrollprøver i F2 på grunn av lavere partialtrykk av CO<sub>2</sub>. F2 var beregnet til  $1101,2 \pm 30,3$  ppm CO<sub>2</sub> innløst i produkt.

### 3.3.2 Beregnet Henrys konstant for laksefilet og for fiskekaker

Tabell 9 viser beregnet Henrys konstant for laks basert på volummålinger utført på kontrollprøver i L1 og L2. Resultatene viser at Henrys konstant for *pre-rigor* prøver i L1 var signifikant (GLM,  $p < 0,01$ ) høyere enn for *post-rigor* prøver i samme forsøk. Den var også signifikant (GLM,  $p < 0,01$ ) høyere enn samtlige verdier for Henrys konstant funnet i L2. I L2 ble det derimot ikke funnet signifikant (GLM,  $p > 0,621$ ) forskjell mellom *pre-rigor* og *post-rigor* prøver, verken for gruppene MAP-2 eller MAP-12.

Tabell 9: Oversikt over Henrys konstant for laks beregnet for de ulike kontrollgruppene, MAP-18 (L1), MAP-2 (L2) og MAP-12 (L2). Det er beregnet en Henrys konstant for *pre-rigor* og en *post-rigor* råstoff<sup>1</sup>.

Forsøk	Kontrollgruppe	Henrys konstant [Pa/ppm]	
		<i>Pre-rigor</i> (n=8) <sup>2</sup>	<i>Post-rigor</i> (n=8)
Lakseforsøk 1	MAP-18	$40,3 \pm 1,7^a$	$36,5 \pm 1,5^b$
Lakseforsøk 2	MAP-2	$33,8 \pm 2,8^{bc}$	$34,6 \pm 2,9^{bc}$
Lakseforsøk 2	MAP-12	$31,0 \pm 2,2^{cd}$	$28,1 \pm 2,4^d$

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD.

<sup>2</sup> n=7 for *pre-rigor* MAP-12.

Som grunnlag i de videre beregningene vil Henrys konstant for *pre-rigor* prøver i L1 benyttes. Avgjørelsen baseres på at denne verdien samsvarer best med tidligere rapporterte Henrys konstanter for fisk generelt (Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004; Abel *et al.*, 2018) og laks spesifikt (Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004; Abel, Rotabakk og Lerfall, 2020).

Henrys konstant funnet for fiskekaker var signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) lavere for F1 ( $22,8 \pm 0,8$  Pa/ppm) enn for F2 ( $27,3 \pm 1,1$  Pa/ppm).

### 3.3.3 CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i laksefileter

Det er som beskrevet i 3.3 beregnet to ulike CO<sub>2</sub>-konsentrasjoner for SGS-behandlede prøver. En CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i prøver etter behandling med SGS, før pakking i MA og en CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i prøver etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase etter lagring i MA. Disse er presentert for L1 og L2 i henholdsvis Tabell 10 og Tabell 11. I likhet med målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase vises det en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i prøver som ble SGS-behandlet før pakking MA enn i kontrollprøver.

I L1 var det etter SGS-behandling funnet en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i *pre-rigor* prøver enn i *post-rigor* prøver. Denne forskjellen var mindre etter oppnådd likevekt i MAP, men fremdeles signifikant (GLM,  $p = 0,006$ ) høyere. Forskjellen var på kun 27,8 ppm, og ved likevekt kan det også her forventes at begge gruppene var *post-rigor*.

Tabell 10: CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter SGS<sup>2</sup>-behandling og etter oppnådd likevekt mellom produkt og gassfase for prøver behandlet med SGS i 18 timer og for kontrollprøver i L1. Samme behandling ble utført for *pre-rigor* og *post-rigor* prøver<sup>1</sup>.

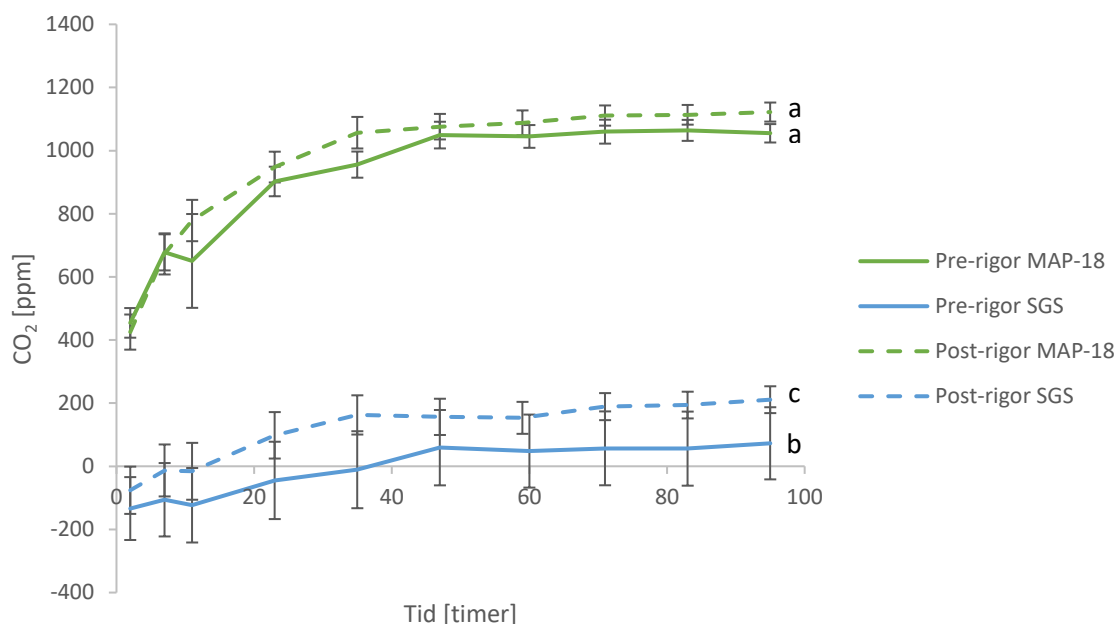
		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt etter SGS-behandling [ppm]		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt ved likevekt i MAP [ppm]	
		<i>Pre-rigor</i>	<i>Post-rigor</i>	<i>Pre-rigor</i>	<i>Post-rigor</i>
SGS tid [t]		(n=8)	(n=8)	(n=8)	(n=8)
SGS	18	1479,0 ± 135,5 <sup>a</sup>	1224,2 ± 45,7 <sup>b</sup>	1486,8 ± 20,7 <sup>x</sup>	1459,0 ± 10,5 <sup>y</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved ANOVA (GLM). Bokstavene a-b beskriver signifikante forskjeller etter SGS-behandling, bokstavene x-y beskriver signifikante forskjeller ved likevekt.

<sup>2</sup>SGS=Soluble gas stabilization; MAP=Modifisert atmosfære pakket

Figur 17 viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt over tid basert på registrert endring i gassvolum for de ulike gruppene i L1. Grafene over prøvene behandlet med SGS (blå) hadde som forventet en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) mindre endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon enn grafene over kontrollprøvene (grønn). Det vil si at i kontrollprøvene var det mer CO<sub>2</sub> i gassfase som ble absorbert av produktet enn i SGS-behandlede prøver før likevekt ble oppnådd. Dette viser at de allerede under SGS-behandling ble løst inn CO<sub>2</sub> i produktet og at prøvene var nærmere likevekt ved pakking i MA. Diagrammet viser også at 50 % av likevektskonsentrasjonen ble oppnådd etter mellom 4 og 7 timer for kontrollprøvene.

I kontrollprøvene var endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon ikke signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) forskjellig mellom *pre-rigor* (grønn hel linje) og *post-rigor* (grønn stiplet linje) prøver ved samtlige måletidspunkter. Etter 47 timer ble det ikke observert ytterligere signifikante (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endringer i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom måletidspunktene for kontrollprøvene. Det samme ble observert etter 35 timer for SGS-behandlede prøver. Dette indikerer at likevekt var oppnådd mellom gassfase og produkt. For SGS-behandlede prøver ble det observert signifikant (Tukey HSD,  $p < 0,05$ ) større endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i *post-rigor* prøver (blå stiplet linje) enn i *pre-rigor* prøver (blå hel linje).



Figur 17: Diagrammet viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid (96t) for prøver behandlet 18 timer med SGS før MAP. En graf for prøver behandlet med SGS pre-rigor (blå hel linje) og en for post-rigor (blå stiplet linje) behandlede prøver, for lakseforsøk 1. Kontrollgrupper prosessert pre-rigor (grønn hel linje) og post-rigor (grønn stiplet linje) vises også. Endring i konsentrasjon er basert på endring i gassvolum i pakke. Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Ulike bokstaver bak grafenes endepunkt betyr at grafene er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

I L2 (Tabell 11) ses det som forventet en signifikant (GLM,  $p < 0,01$ ) høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt ved økt behandlingstid med SGS uavhengig av om prøvene var *pre-rigor* eller *post-rigor* ved behandling. Økningen i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon avtok derimot ved økt SGS-behandlingstid. En SGS-behandling i 12 timer ga gi en betydelig høyere innløsning enn etter to timer behandling. En videre økning til 24 timer SGS-behandling ga derimot ikke stor endring i innløst mengde CO<sub>2</sub> i produktet.

Ved å sammenligne *pre-rigor* SGS-behandlede prøver med *post-rigor* behandlede prøver påvises det overordnet ikke signifikante forskjeller (GLM,  $p > 0,302$ ), verken etter SGS-behandling eller etter oppnådd likevekt (Tabell 11). Ett unntak ses likevel for prøvene behandlet *post-rigor* med SGS i 12 timer, som hadde en signifikant (GLM,  $p = 0,02$ ) høyere innløsning av CO<sub>2</sub> enn tilsvarende *pre-rigor* behandlede prøver ved likevekt. Her forventes det også at prøvene var *post-rigor* ved likevekt.

Tabell 11: CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter SGS<sup>2</sup>-behandling og etter oppnådd likevekt for prøver behandlet med SGS i 2, 12, og 24 timer, både prøver med pre-rigor og post-rigor behandlet råstoff, for lakseforsøk 2<sup>1</sup>.

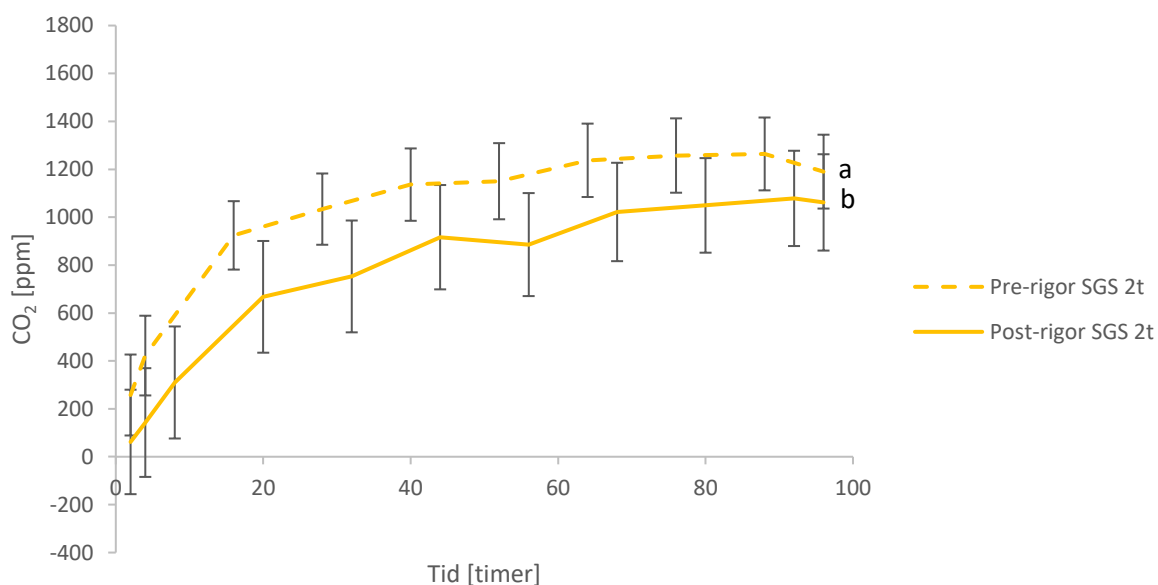
		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt etter SGS-behandling [ppm]		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt ved likevekt i MAP [ppm]	
		Pre-rigor	Post-rigor	Pre-rigor	Post-rigor
SGS tid [t]		(n=8) <sup>3</sup>	(n=8)	(n=8)	(n=8)
SGS 2		173,5 ± 153,4 <sup>a</sup>	229,0 ± 220,8 <sup>a</sup>	1315,7 ± 4,0 <sup>x</sup>	1300,6 ± 20,5 <sup>x</sup>
SGS 12		1023,4 ± 161,2 <sup>b</sup>	915,1 ± 182,8 <sup>b</sup>	1389,7 ± 16,4 <sup>y</sup>	1418,7 ± 11,2 <sup>z</sup>
SGS 24		1127,4 ± 231,5 <sup>bc</sup>	1313,0 ± 87,7 <sup>c</sup>	1444,2 ± 11,7 <sup>æ</sup>	1421,8 ± 17,2 <sup>zæ</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. Bokstavene a-c beskriver signifikante forskjeller etter SGS-behandling, bokstavene x-æ beskriver signifikante forskjeller ved likevekt.

<sup>2</sup>SGS=Soluble gas stabilization; MAP=Modifisert atmosfære pakket

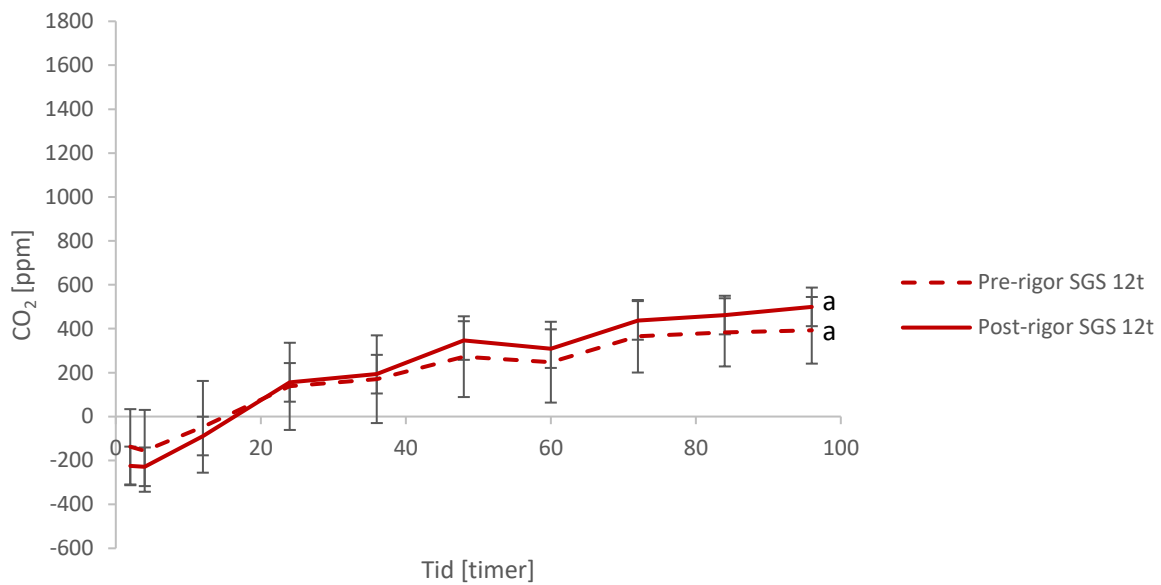
<sup>3</sup> n=7 for pre-rigor -SGS-2t.

Figur 18 viser hvordan CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen i produkt pakket i MA endret seg over tid for prøver behandlet med SGS i to timer. Den viser prøver som ble behandlet med SGS *pre-rigor* (stiplet linje) og *post-rigor* (hel linje). Overordnet var endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i *pre-rigor* prøver signifikant (GLM,  $p < 0,01$ ) større enn for *post-rigor* prøver. Innløsning av CO<sub>2</sub> avtok som forventet over tid og etter 28 timer viser resultatene ingen ytterligere signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon for prøver behandlet med SGS *pre-rigor*. Det samme gjaldt for *post-rigor* behandlede prøver etter 30 timer.



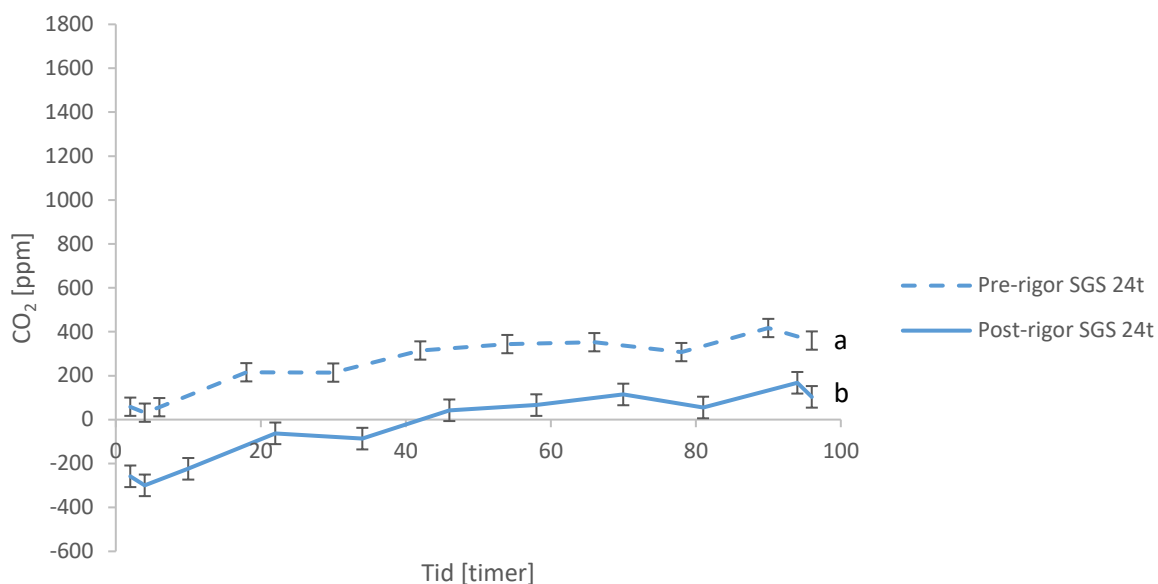
Figur 18: Diagrammet viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid (96t) for prøver behandlet 2 timer med SGS før MAP. En graf for prøver behandlet pre-rigor (stiplet linje) og en for post-rigor behandlede prøver, for lakseforsøk 2. Endring i konsentrasjon er basert på endring i gassvolum i pakke. Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Ulike bokstaver bak grafenes endepunkt betyr at grafene er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

Figur 19 viser hvordan CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen i produkt pakket i MA endret seg over tid for prøver behandlet med SGS i 12 timer. Den viser både *pre-rigor* (stiplet linje) og *post-rigor* (hel linje) behandlede prøver. Ingen signifikante (GLM,  $p=0,444$ ) forskjeller ble påvist mellom *pre-rigor* og *post-rigor* behandlede prøver. Endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt var avtagende med økende tid og etter 48 timer ble det ikke påvist signifikante (Tukey HSD,  $p>0,05$ ) endringer. Figuren viser også at endringen i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon først var negativ før den igjen ble positiv.



Figur 19: Diagrammet viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid (96t) for prøver behandlet 12 timer med SGS før MAP. En grad for prøver behandlet med SGS *pre-rigor* (stiplet linje) og en for *post-rigor* (hel linje) behandlede prøver, for lakseforsøk 2. Endring i konsentrasjon er basert på endring i gassvolum i pakke. Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Ulike bokstaver bak grafenes endepunkt betyr at grafene er funnet signifikant forskjellig ( $p<0,05$ ) ved Tukey HSD. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

Figur 20 viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen i produkt pakket i MA for prøver behandlet med SGS i 24 timer. Stiplet linje viser til prøver behandlet med SGS *pre-rigor*, mens hel linje viser til *post-rigor* behandlede prøver. *Pre-rigor* behandlede prøver hadde signifikant (GLM,  $p<0,01$ ) større endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon enn prøver behandlet *post-rigor*. Det ble ikke påvist signifikante (Tukey HSD,  $p>0,05$ ) forskjeller i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon for *pre-rigor* prøver utover 8 timer. For prøvene behandlet med SGS *post-rigor* var det endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon de første 46 timene. Etter 46 timer ble det ikke målt signifikante (Tukey HSD,  $p<0,05$ ) endringer i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt.



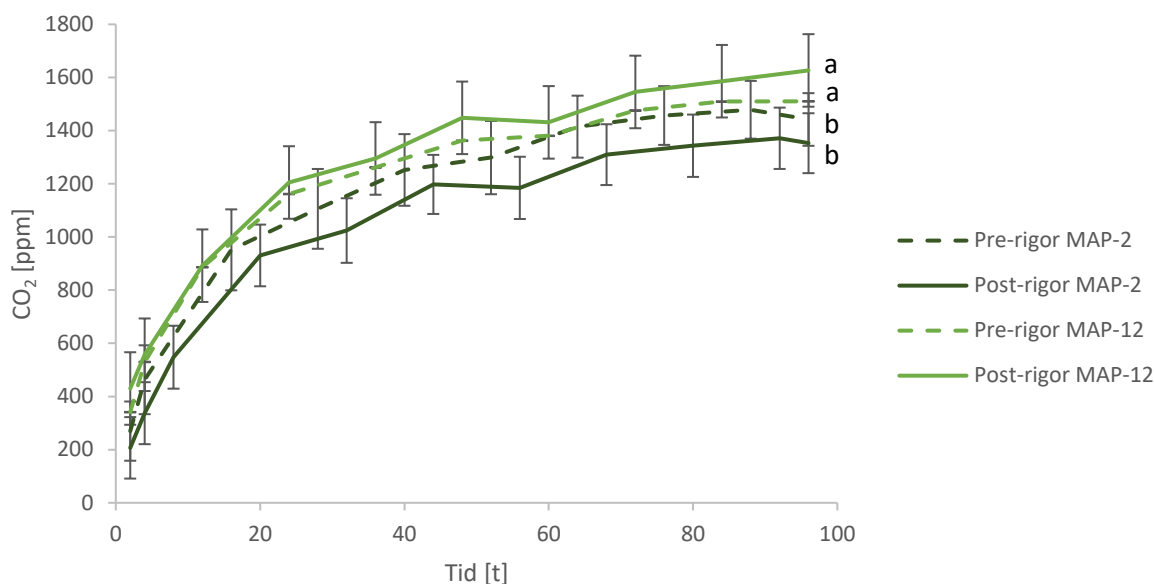
Figur 20: Diagrammet viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid (96t) for prøver behandlet 24 timer med SGS før MAP. En graf for prøver behandlet med SGS pre-rigor (stiplet linje) og en for post-rigor (hel linje) behandlede prøver, for lakseforsøk 2. Endring i konsentrasjon er basert på endring i gassvolum i pakke. Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Ulike bokstaver bak grafenes endepunkt betyr at grafene er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

Figur 21 viser hvordan CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen endrer seg over tid for kontrollgruppene MAP-2 (mørk grønn) og MAP-12 (lys grønn) i L2. Stiplet linje viser til *pre-rigor* prøver, mens hel linje viser til *post-rigor* prøver. Disse ble som nevnt tidligere ikke brukt som grunnlag til Henrys konstant og beskrives derfor for seg selv.

Mellom de to kontrollgruppene ble det påvist signifikant (GLM,  $p = 0,007$ ) høyere innløsning av CO<sub>2</sub> i MAP-12 enn i MAP-2, uavhengig av tilstand til råstoff. Ingen signifikante (GLM,  $p = 0,384$ ) forskjeller ble påvist mellom *pre-rigor* og *post-rigor* prøver i kontrollgruppene sett under ett. Ved å se spesifikt på MAP-2 påvises det en signifikant (GLM,  $p = 0,049$ ) høyere innløsning i *pre-rigor* prøver enn i *post-rigor* prøver. For MAP-12 ses det ikke signifikant (GLM,  $p = 0,444$ ) forskjell mellom prøver pakket *pre-rigor* og *post-rigor*.

For MAP-2 ble 50 % av likevektskonsentrasjonen oppnådd mellom 8 og 16 timer for *pre-rigor* prøver. For *post-rigor* prøver skjedde dette mellom 4 og 20 timer. Etter 64 og 44 timer for henholdsvis *pre-rigor* og *post-rigor* prøver ble det ikke registrert ytterligere signifikante (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endringer i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom måletidspunktene.

50 % av likevektskonsentrasjon for MAP-12 ble oppnådd mellom 4 og 12 timer uavhengig av tilstand til råstoff. For denne gruppen var det ikke signifikante (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endringer i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon etter 72 timer for *pre-rigor* prøver og etter 36 timer for *post-rigor* prøver.



Figur 21: Diagrammet viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid (96t) for kontrollgruppene MAP-2 (mørk grønn) og MAP-12 (lys grønn), både pre-rigor (stiplet linje) og post-rigor (hel linje) prosessert råstoff, for lakseforsøk 2. Endring i konsentrasjon er basert på endring i gassvolum i pakke. Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Ulike bokstaver bak grafenes endepunkt betyr at grafene er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

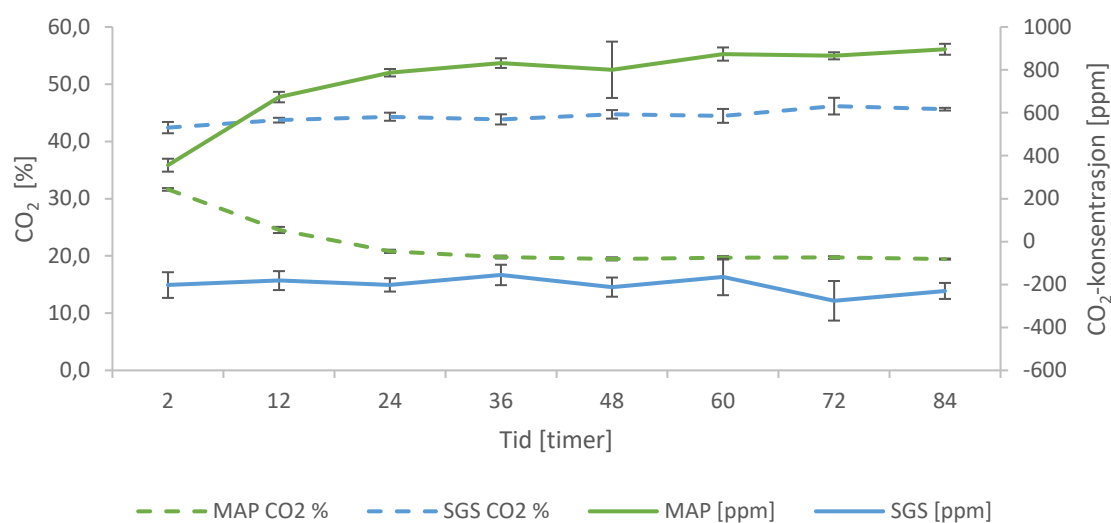
### 3.3.4 CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i fiskekaker

I prøver fra F1 ble det etter SGS-behandling beregnet en CO<sub>2</sub>-konsentrasjon på  $2290,1 \pm 49,9$  ppm CO<sub>2</sub> i produktet ( $n=6$ ). Etter at prøvene ble pakket om i MA og lagret til oppnådd likevekt med gassfasen ble det beregnet en CO<sub>2</sub>-konsentrasjon på  $1984,2 \pm 11,2$  ppm i produktet. Dette var signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere enn for kontrollprøvene. En reduksjon i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon fra SGS-behandling til likevekt betyr at det under lagring gikk CO<sub>2</sub> fra produkt til gassfase for å oppnå likevekt ( $\Delta 305,9$  ppm CO<sub>2</sub>). Dette illustreres også i Figur 22. Figuren viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid for F1 (sekundær Y-akse og grafer med hel linje). Den viser også endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] målt i gassfase ved hvert måletidspunkt ( $n=6$ ) (primær Y-akse og grafer med stiplede linjer).

CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase hadde en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) økning fra 42,4 % målt ved 2 timer til  $45,6 \pm 0,3$  % målt etter oppnådd likevekt (84 timer) for SGS-behandlede prøver (blå stiplet linje). Beregnet CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt basert på volumendringer for SGS-behandlede prøver (blå hel linje) viste overordnet ikke signifikante (GLM,  $p = 0,65$ ) forskjeller. Heller ikke ved å sammenligne første måletidspunkt (2 timer) mot siste måletidspunkt (84 timer) ble det funnet signifikante (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) forskjeller.

CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt i kontrollprøvene viste som forventet en signifikant (Tukey HSD,  $p < 0,05$ ) økning mellom de tre første måletidspunktene (grønn hel linje), samtidig som CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [%] i pakkens gassfase (grønn stiplet linje) var signifikant (Tukey HSD,  $p < 0,05$ ) synkende fra det første til det fjerde måletidspunktet.





Figur 22: Diagrammet viser CO<sub>2</sub> [%] i gassfase på primær Y-akse for fiskekakeforsøk 1, mens sekundær Y-akse viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt over tid (84t). Det er grafer for kontrollprøver (stiplet grønn [%] og hel grønn [ppm]) og SGS-behandlede prøver før MAP (stiplet blå [%] og hel blå [ppm]). Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

I F2 ble det undersøkt om fiskekaker som ble SGS-behandlet under nedkjøling løste CO<sub>2</sub> likt som tilsvarende fiskekaker SGS-behandlet kalde. Det ble testet ved 3 ulike SGS-behandlingstider; 0,5, 1 og 2 timer. Resultatene er presentert i Tabell 12. Også her ble det løst signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) mer CO<sub>2</sub> i fiskekakene behandlet med SGS enn i kontrollprøvene. Videre løste kalde fiskekaker behandlet med SGS i 0,5 timer signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) mer CO<sub>2</sub> enn fiskekaker under nedkjøling med samme SGS-behandling. Denne forskjellen kan ses både etter endt SGS-behandling og etter lagring til oppnådd likevekt i MAP. For behandlingstidene 1 og 2 timer ble det ikke påvist signifikante (GLM,  $p > 0,203$ ) forskjeller mellom fiskekaker under nedkjøling og kalde fiskekaker, verken etter endt SGS-behandling eller etter lagring til oppnådd likevekt i MAP. Lengre behandlingstid med SGS førte til signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) høyere konsentrasjon av innløst CO<sub>2</sub>.

Tabell 12: CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter SGS<sup>2</sup>-behandling og ved likevekt for SGS tid 0,5, 1, og 2 timer, både for prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde for fiskekakeforsøk 2<sup>1</sup>.

		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt etter SGS-behandling		CO <sub>2</sub> -konsentrasjon i produkt ved likevekt i MAP	
		Under nedkjøling (n=8) <sup>3</sup>	Kalde (n=8)	Under nedkjøling (n=8)	Kalde (n=8)
SGS tid [t]					
SGS 0,5		268,8 ± 50,1 <sup>a</sup>	408,8 ± 49,0 <sup>b</sup>	1274,6 ± 19,6 <sup>x</sup>	1324,0 ± 19,3 <sup>y</sup>
SGS 1		430,1 ± 110,5 <sup>c</sup>	487,2 ± 49,1 <sup>c</sup>	1384,6 ± 33,7 <sup>z</sup>	1365,6 ± 22,3 <sup>z</sup>
SGS 2		721,9 ± 49,7 <sup>d</sup>	751,2 ± 62,5 <sup>d</sup>	1503,2 ± 12,6 <sup>æ</sup>	1498,4 ± 15,3 <sup>æ</sup>

<sup>1</sup>Resultat presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Snitt med ulike opphøyde bokstaver er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. Bokstavene a-d beskriver signifikante forskjeller etter SGS-behandling, bokstavene x-æ beskriver signifikante forskjeller ved likevekt.

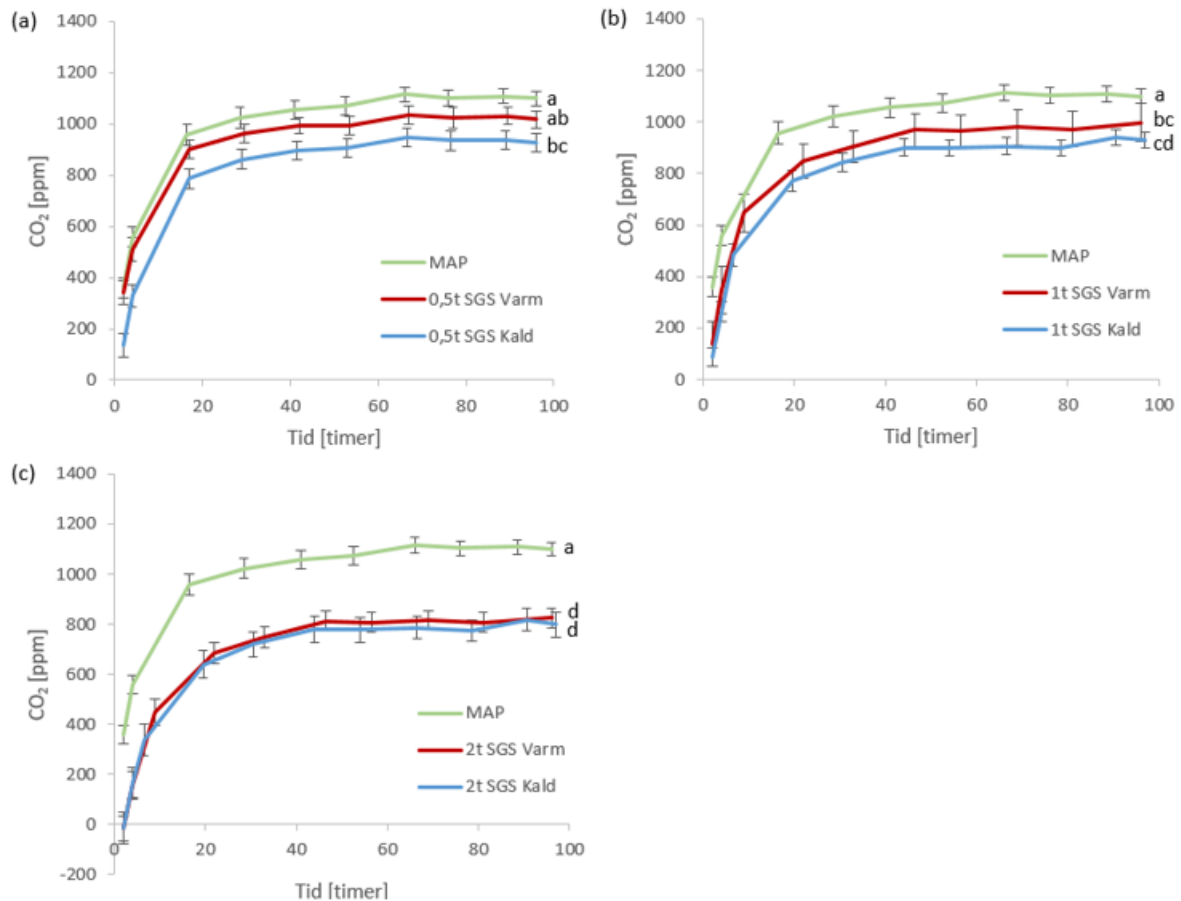
<sup>2</sup>SGS=Soluble gas stabilization; MAP=Modifisert atmosfære pakket

<sup>3</sup> n=7 for Under nedkjøling 0,5t SGS

Figur 23 (a), (b) og (c) viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt pakket i MAP med SGS-behandling i henholdsvis 0,5, 1 og 2 timer. Det er i hvert diagram presentert en graf over prøver behandlet under nedkjøling (rød), prøver behandlet kalde (blå) samt en graf for kontrollprøver (grønn). Kontrollgruppen er lik for alle behandlingstider. Med beskrivelsen «varm» menes prøver behandlet med SGS under nedkjøling. Figurene viser overordnet at lengre SGS-behandlingstid fører til signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) mindre endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter pakking MA sammenlignet med kontrollprøvene. Det kan også ses at forskjellen mellom prøvene behandlet under nedkjøling og prøvene behandlet kalde ble mindre ved økt SGS-behandlingstid.

Kontrollgruppen hadde overordnet en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) større endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt over tid enn det de SGS-behandlede gruppene samlet hadde. Mellom prøvene behandlet med SGS i 0,5 time under nedkjøling og kontrollgruppen fremkom det ikke en signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon. Resultatene viser derimot en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) mindre endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon for prøvene behandlet kalde med SGS i 0,5 time enn prøvene som fikk samme behandling under nedkjøling. For prøver behandlet med SGS i 1 time ble det ikke påvist signifikant (Tukey,  $p > 0,05$ ) endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom prøvene behandlet under nedkjøling og prøvene behandlet kalde. Prøver behandlet med SGS i 2 timer, både under nedkjøling og kalde, var ikke signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) forskjellig fra prøver behandlet kalde med SGS i 1 time, men de var signifikant (Tukey HSD,  $p < 0,05$ ) forskjellig fra alle de andre gruppene. Det var ikke signifikant (GLM,  $p = 0,797$ ) forskjell mellom prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde med SGS i 2 timer.

I kontrollprøver vises det ikke signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom måletidspunktene etter 41 timer. 50 % av CO<sub>2</sub>-likevektskonsentrasjonen ble oppnådd etter 4 timer. For SGS-prøvene ble det etter 46 timer ikke påvist signifikant (Tukey HSD,  $p > 0,05$ ) endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom måletidspunktene.



Figur 23: Diagrammene viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon [ppm] i produkt over tid. (a), (b) og (c) viser henholdsvis grafer for prøver som var SGS-behandlet i 0,5t, 1t og 2t før MAP. I hvert diagram er det en graf for MAP (grønn), denne er den samme for (a), (b) og (c). En gruppe ble behandlet med SGS under nedkjøling (rød), mens en annen gruppe ble behandlet kald (blå). Resultatene er presentert som snitt med tilhørende standardavvik. Ulike bokstaver (a-d) bak grafenes endepunkt betyr at grafene er funnet signifikant forskjellig ( $p < 0,05$ ) ved Tukey HSD. Testen er utført på alle gruppene samlet og figur (a), (b) og (c) må derfor ses under ett. Med varm menes det i disse diagrammene prøver som ble SGS-behandlet under nedkjøling. MAP = Modifisert atmosfære pakket; SGS = Soluble gas stabilization.

## 4 Diskusjon

I dette kapittelet drøftes resultatene presentert i kapittel 3. Først vil kvaliteten på råstoffet benyttet vurderes, før utførelsen av SGS-behandling og pakking i MA drøftes. Deretter vil hovedresultater knyttet til innløsning av CO<sub>2</sub> i laks behandlet med SGS *pre-rigor* og *post-rigor* og resultater knyttet til SGS-behandling av fiskekaker under nedkjøling sammenlignet med fiskekaker behandlet kalde diskuteres. Valg av metodikk for beregning av CO<sub>2</sub>-konsentrasjon og hvilke faktorer som kan ha påvirket resultatene vil også vurderes. Avslutningsvis diskuteres resultatenes nytteverdi og industrielle betydning.

### 4.1 Kvalitet på benyttet råstoff

Kjemisk sammensetning i fisk varierer og påvirkes av flere faktorer (Huss, 1995; Kepshire, Tinsley og Lowry, 1983; Lerfall *et al.*, 2016; Mørkøre og Rørvik, 2001; Rotabakk, Melberg og Lerfall, 2018; Shearer, 1994). Dette kunne også observeres i denne oppgaven hvor vanninnhold i laks benyttet i henholdsvis L1 og L2 var ulikt. Råstoffet som ble benyttet hadde ulik opprinnelse og kom fra to ulike geografiske lokasjoner og produsenter. I tillegg ble råstoffet hentet ved ulike årstider. L1 ble utført på høst, mens L2 ble utført på vårrparten. Alle disse faktorene har tidligere vist å ha en innvirkning på kjemisk sammensetning til fisk (Ørnholt-Johansson, Frosch og Jørgensen, 2017; Rotabakk, Melberg og Lerfall, 2018). Det ble som nevnt ikke mulig å analysere fettinnhold i råstoffet benyttet i L2. Det antas likevel at denne laksen hadde en høyere fettprosent enn laksen benyttet i L1 på bakgrunn av lavere vanninnhold, da vann- og fettinnhold er omvendt korrelert (Shearer, 1994; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008; Ørnholt-Johansson, Frosch og Jørgensen, 2017).

For å sikre sen inntreden av *rigor-mortis* er det flere hensyn som må ivaretas. Skånsom behandling og avlivning (Mørkøre *et al.*, 2008; Lerfall *et al.*, 2015) og lav temperatur (Jessen, Nielsen og Larsen, 2013; Lerfall *et al.*, 2015) er eksempler på faktorer som kan forlenge tiden før *rigor-mortis* inntreffer. For å muliggjøre *pre-rigor* prosessering av råstoffet i forsøkene utført i denne oppgaven, ble råstoffet oppbevart kjølig og prosessert så raskt som praktisk mulig etter slaktetidspunktet. I L2 ble fisken hentet direkte fra ventemerde for å unngå stresset fisk som følge av trenging og pumping (Mørkøre *et al.*, 2008; Roth, Birkeland og Oyarzun, 2009; Roth *et al.*, 2012; Lerfall *et al.*, 2015). Fiskens stressnivå ved slaktetidspunkt har en innvirkning på når *rigor-mortis* inntreffer (Mørkøre *et al.*, 2008). Ved fysisk utmattelse eller ved avlivning vil muskelceller gå over til en anaerob energimetabolisme. Det vil føre til en lavere produksjon av ATP og en økt produksjon av melkesyre, samtidig som fiskens glykogenlagre utarmes. Lave ATP-nivåer ved slakt medfører at *rigor-mortis* inntreffer raskere da muskelkontraksjoner låses ved mangel på ATP (Delbarre-Ladratt *et al.*, 2006; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Anaerob metabolisme før død kan også føre til et hurtig pH fall i muskel grunnet opphopning av melkesyre og dermed en raskere initiering av enzymatiske nedbrytningsprosesser (Delbarre-Ladratt *et al.*, 2006; Strasburg, Xiong og Chiang, 2008). Ved uttak av fisk til forsøkene ble ikke stressmarkører undersøkt. I etterkant vurderes det at pH- og eventuelt laktatmåling kunne gitt et bedre mål på råstoffets tilstand ved prosessering (Roth, Slinde og Arildsen, 2006; Roth, Birkeland og Oyarzun, 2009; Roth *et al.*, 2012; Lerfall *et al.*, 2015). Det ble utført en subjektiv vurdering av hver fisk før filetering for å sikre at råstoffet ikke var på vei inn i *rigor-mortis* og dermed kunne betraktes som i *pre-rigor* tilstand. Noen fisker ble fjernet fra forsøket på grunn av

begynnende *rigor-mortis*. Råstoffet ble lagret kaldt både før og etter prosessering for å ivareta en god kjølekjede.

Fiskekakene tilsendt fra Insula Production ble tatt ut av produksjonslinjen før pakking og levert til forsøkslaboratorium neste dag. Dette sikret ferskt råstoff som ikke var utsatt for MA før prosessering. I F2 ble alt råstoff varmet opp til 85°C for å etterligne produksjonsprosessen til Insula Production før fiskekakene ble SGS-behandlet. Oppvarmingen foregikk i mettet vanndamp for å sikre lavest mulig innvirkning på råstoffets vanninnhold. Analyser bekreftet at oppvarmingen som ble utført ikke påvirket produktets vanninnhold. I forsøkene ble det benyttet kommersielt produserte fiskekaker og det ble som forventet ikke funnet signifikante forskjeller i vanninnhold mellom råstoff benyttet i F1 og F2.

## 4.2 Kvalitet på SGS-behandling og pakking i MA

En tilstrekkelig SGS-behandling ble sikret ved at prøvene ble plassert med avstand mellom hverandre for å sørge for lik og god tilgang på CO<sub>2</sub>. Ved endt behandling viste gassanalysene at det var mer enn 97 % CO<sub>2</sub> i alle pakkene. Dette bekrefter at SGS-behandlingene var vellykket.

I forsøkene ble tiden mellom SGS-behandling og pakking i MA holdt så kort som mulig for å unngå desorpsjon av CO<sub>2</sub>. Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2010) fant i sin studie at desorpsjon av CO<sub>2</sub> er en tidkrevende prosess. Desorpsjon etter SGS-behandling kan ta lenger tid enn absorpsjon på grunn av diffusjonen av CO<sub>2</sub> drives både fra overflaten og innover i produktet og fra overflaten til omgivelsene, forutsatt at produktet ikke har oppnådd likevekt med CO<sub>2</sub> under SGS-behandling. Studien viste at mer enn 2/3 av innløst CO<sub>2</sub> i produktet var gjenværende i produktet etter 60 minutter desorpsjon og gir dermed rom for å repakke SGS-behandlede produkt uten å tape særlig mengde innløst CO<sub>2</sub>. Ettersom prøver i denne studien ble pakket om i MA umiddelbart, anses tapet av CO<sub>2</sub> mellom SGS-behandling og pakking i MA som neglisjerbart. Under pakking i MA forventes det også et tap av CO<sub>2</sub> under vakuumeringssteget. Det eventuelle tapet knyttet til vakuumering ble i denne studien ikke kvantifisert. Disse tapene vil være like i hvert forsøk forutsatt at prøvene har tilnærmet lik overflate.

Denne oppgaven ble både utført ved NTNU og hos Nofima Stavanger. Det ble derfor benyttet ulike pakkemaskiner for pakking i MA noe som kan ha påvirket resultatene. For å sikre riktig gassammensetning i pakkene ble det underveis pakket tomme skåler hvor pakkegassen ble kontrollert, denne var stabil innenfor  $\pm <1$  %. Begge typer skåler og overfilm benyttet i denne oppgaven vurderes å ha tilstrekkelig barriere mot gass og vann, og det antas dermed at massebalansen i pakken var ivaretatt gjennom hele forsøket.

## 4.3 Effekt av SGS-behandling på innløst CO<sub>2</sub> i *pre-rigor* versus *post-rigor* behandlet laksefilet

Forsøk utført på laks (L1 og L2) ble gjennomført med råstoff behandlet med SGS før inntreden i *rigor-mortis* (*pre-rigor*) og råstoff behandlet etter oppløsning av *rigor-mortis* (*post-rigor*). Bakgrunnen var å undersøke om råstoffets ferskhets påvirket innløsning av CO<sub>2</sub> ved SGS-behandling. Resultater fra L1 viste en signifikant høyere innløsning av CO<sub>2</sub> i prøver behandlet *pre-rigor* etter endt SGS-behandling enn for prøver behandlet *post-rigor*. Etter oppnådd likevekt i MAP var den observerte forskjellen mindre, men fremdeles signifikant. Gassfaseanalysen viste også signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon ved

likevekt for *pre-rigor* prøver. Dette er i overenstemmelse med Henrys lov (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982). Ved SGS-behandling av *pre-rigor* prøver antas det at råstoffet var i *pre-rigor* tilstand og at det mest sannsynlig gikk inn i *rigor* i løpet av behandlingstiden eller kort tid etter. Ved oppnådd likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom gassfase og produkt i pakken antas det at *pre-rigor* behandlede prøver var *post-rigor*, som støttes av Mørkøre *et al.* (2008) som rapporterte i sin studie at ustresset laks oppnådde full *rigor* innen 36 timer, Wang, Tang og Correia (2000) rapporterte fra sin studie at *rigor-mortis* startet 8 timer etter død og at den oppnådde full *rigor* etter 24-60 timer før *rigor* var helt oppløst etter 72 timer. Fiskens inngang i *rigor-mortis* er derimot sterkt avhengig av behandling *pre-mortem* (Mørkøre *et al.*, 2008; Lerfall *et al.*, 2015) og temperatur (Jessen, Nielsen og Larsen, 2013; Lerfall *et al.*, 2015).

I L2 ble det benyttet ulike behandlingstider med SGS; 2, 12 og 24 timer. Etter endt SGS-behandling ble det ikke observert signifikante forskjeller i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom *pre-rigor* og *post-rigor* behandlede prøver. Etter pakking i MA og lagring til oppnådd likevekt ble det observert noen variasjoner mellom prøvene behandlet med SGS *pre-rigor* og prøvene behandlet *post-rigor*. En behandlingstid på 12 timer viste signifikant høyere innløsning av CO<sub>2</sub> i prøver behandlet med SGS *post-rigor* sammenlignet med prøver behandlet *pre-rigor*. Det antas at denne forskjellen hadde liten effekt på kvalitet og holdbarhet til laks da den var på kun 29 ppm CO<sub>2</sub>. Analyse av gassfase ved likevekt viste ikke signifikant forskjell mellom *pre-rigor* og *post-rigor* prøver behandlet med SGS i 12 timer. 2 og 24 timer SGS-behandling viste ikke ulik innløsning av CO<sub>2</sub> mellom *pre-rigor* og *post-rigor* behandlede prøver, men gassfaseanalyse for disse behandlingstidene viste en signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i prøver behandlet med SGS *pre-rigor* enn *post-rigor* behandlede prøver. Årsak til variasjon i resultater kan være som følge av usikkerheter knyttet til metode og beregninger som drøftes i kapittel 4.5.

Resultatene fra denne oppgaven tyder på at laks behandlet med SGS før *rigor-mortis* inntreffer løser inn CO<sub>2</sub> tilsvarende laks behandlet *post-rigor*. Det er likevel et interessant resultat at prøvene behandlet *pre-rigor* i L1 løste en så stor andel mer CO<sub>2</sub> enn *post-rigor* prøver under SGS-behandling. For *pre-rigor* behandlede prøver ses det også at CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen ved likevekt i MAP ikke var signifikant forskjellig fra mengden CO<sub>2</sub> som ble innløst under SGS-behandling. Figur 17 viser derimot en endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt fra pakketidspunkt og til oppnådd likevekt. Det er uklart hva som kan være årsaken til dette.

Det er tidligere utført studier på salting og røyking av laks i ulike faser *post-mortem* for å kartlegge saltdiffusjon ved *pre-rigor*, *in-rigor* og *post-rigor* (Wang, Tang og Correia, 2000; Rørå *et al.*, 2004; Akse *et al.*, 2008). Det ble rapportert en lavere saltkonsentrasjon i prøver saltet *pre-rigor* sammenlignet med tradisjonell *post-rigor* prosessering (Wang, Tang og Correia, 2000; Rørå *et al.*, 2004), Wang, Tang og Correia (2000) fant også at saltkonsentrasjon i prøver saltet *in-rigor* var noe lavere enn for prøver saltet *post-rigor*. Samme studie viste også at diffusjonsevnen til salt med en økt saltkonsentrasjon var størst i *in-rigor* prosesserte fileter. For *pre-rigor* fileter ble det registrert signifikante mengder ATP tilstede i muskelen som førte til ATP-drevne pumper fremdeles kunne opprettholde konsentrasjonsgradienter over cellemembraner, og det rapporteres at dette kan være årsak til høyere resistans mot salt-distribusjon i muskelen (Wang, Tang og Correia, 2000). Studier som disse ga grunnlag til å mistenke at SGS-behandling av *pre-rigor* laks skulle påvirke CO<sub>2</sub>-diffusjon negativt sammenlignet med laks behandlet med SGS *post-rigor*. Resultatene fra forsøkene i denne oppgaven bekrefter

ikke denne påstanden. Det kan heller tyde på at CO<sub>2</sub> diffunderer over cellemembraner uavhengig av ATP-nivå tilgjengelig i cellen.

#### 4.4 Effekt av SGS-behandling på innløst CO<sub>2</sub> i fiskekaker behandlet under nedkjøling sammenlignet med fiskekaker behandlet kalde

Forsøkene utført på fiskekaker hadde til hensikt å undersøke om SGS-behandling hadde ulik effekt på fiskekaker behandlet under nedkjøling sammenlignet med fiskekaker behandlet kalde. Dette ble undersøkt ved å benytte ulike SGS-behandlingstider for å se om behandlingstid var en påvirkende faktor.

Både Abel, Rotabakk og Lerfall (2019) og Birkeland og Rotabakk (2014) har for SGS-behandlede farseprodukter av fisk vist at en høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase vil reflekteres i en høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt. Dette ble også observert i forsøkene F1 og F2 presentert i denne oppgaven.

Det var kun i F2 at det ble undersøkt om fiskekaker som ble behandlet med SGS under nedkjøling hadde en lavere innløsning av CO<sub>2</sub> enn fiskekaker behandlet med SGS kalde. Det ble observert noen interessante resultater. En behandling med SGS i 0,5 timer ga en signifikant lavere innløsning av CO<sub>2</sub> i produkt i fiskekakene behandlet under nedkjøling enn for tilsvarende fiskekaker behandlet kalde. CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i pakkens gassfase viste også at pakker med fiskekaker behandlet under nedkjøling hadde en signifikant lavere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase enn pakker med fiskekaker behandlet kalde. Denne sammenhengen støttes av Henrys lov og andre studier, deriblant Abel, Rotabakk og Lerfall (2019) og Birkeland og Rotabakk (2014).

Sammenhengen mellom konsentrasjon av CO<sub>2</sub> i produkt og konsentrasjon av CO<sub>2</sub> i pakkens gassfase ses også for prøver behandlet med SGS i 1 og 2 timer, både for prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde. Der vises det økt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon, både i produkt og i pakkens gassfase. Videre ses det at lengre SGS-behandlingstid gir økt mengde innløst CO<sub>2</sub>, som støttes av tidligere studier (Rotabakk *et al.*, 2006; Mendes, Pestana og Gonçalves, 2008; Rotabakk *et al.*, 2008; Rotabakk, Lekang og Sivertsvik, 2010). Det ses derimot ikke forskjell mellom prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde med SGS for 1 og 2 timer behandlingstid, noe som er et interessant resultat i denne oppgaven.

Temperaturmålingene ved endt SGS-behandlingstid viste at det var en temperaturforskjell i fiskekakenes kjerne mellom behandlingstidene (Figur 16). Dermed var det forventet å se en forskjell mellom prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde da høyere temperatur gir mindre innløst CO<sub>2</sub> (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982; Gill, 1988; Carroll, Slupsky og Mather, 1991; Mendes *et al.*, 2011; Rotabakk, 2013). Ved nedkjøling vil overflaten til produktet kjøles ned raskere enn kjernen, og innløsning av CO<sub>2</sub> skjer også først i overflaten til produktet ved konvektiv transport fra gassfase til produkt (Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004). Det tyder på at temperaturen i produktoverflaten nærmer seg temperaturen til det nedkjølte produktet et sted mellom 0,5 og 1 timer etter behandlingsstart med betingelsene i dette forsøket. Det forklarer hvorfor det ikke ses forskjell i innløsning av CO<sub>2</sub> i prøver behandlet under nedkjøling og prøver behandlet kalde etter 1 og 2 timer behandlingstid. Det betyr at SGS-behandling av fiskekaker under nedkjøling kan være hensiktsmessig så fremt behandlingstiden er lang nok til at fiskekakenes overflate blir kjølt tilstrekkelig til å løse ønsket mengde CO<sub>2</sub>. Denne oppgaven viser at CO<sub>2</sub>-innløsning er mulig selv for fiskekaker

som SGS-behandles under nedkjøling. Dette viser også at teknologien har et industrielt potensial som blir diskutert i kapittel 4.10.

## 4.5 Volumetrisk metode benyttet til å beregne CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt

I denne oppgaven ble det benyttet en volumetrisk metode utviklet av Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) for å bestemme løselighet av CO<sub>2</sub> i matprodukter pakket i fleksibel eller semi-rigid emballasje. Den er basert på at endringer i gassvolum kan relateres til endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktet (Rotabakk, Lekang og Sivertsvik, 2007). En annen metode som brukes til å bestemme CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i et produkt er titrering med barium (Gill, 1988). En ulempe knyttet til denne metoden er at den er destruktiv. Det er derfor ikke mulig å måle innløsning av CO<sub>2</sub> over tid på samme prøve. På bakgrunn av dette ble den volumetriske metoden valgt.

Selv om den valgte metoden er ikke-destruktiv, er det svakheter knyttet også til denne metoden. Som Formel 7 (kapittel 2.3) viser er metoden avhengig av et startvolum på prøvepakken ved pakking og et sluttvolum ved likevekt for å kunne beregne CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktet. Man er også avhengig av å kjenne eksakt atmosfærisk trykk ved pakketidspunkt og ved måling av volum ved likevekt. Dersom startvolumet ikke er korrekt, vil det påvirke den beregnede CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen i produktet ved likevekt som igjen vil påvirke beregning av Henrys konstant. Usikkerhet i metoden knyttet til startvolum er også diskutert i Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) sin studie. Der trekkes det også frem at pakkemaskiner ikke pakker til likt volum hver gang, og at dette kan være en feilkilde i beregning av startvolum.

For å bestemme gassvolum ved pakketidspunkt er det nødvendig å beregne et startvolum på forhånd, da diffusjon av CO<sub>2</sub> skjer umiddelbart etter pakking, noe som påvirker volumet. Startvolumet representerer gassvolumet i pakken før gassutveksling med produkt inntreffer. Startvolumet kan beregnes ved å pakke tomme skåler med 100 % nitrogen eller skåler med vann og 100 % nitrogen. Nitrogen er som nevnt tidligere sett på som en inert gass i denne sammenhengen og reagerer ikke med produktet og vil dermed ikke diffundere. Det er denne metoden som er benyttet i denne oppgaven for å bestemme startvolumet til de ulike skålene.

En viktig faktor som påvirker beregning av startvolumet til en fleksibel eller semi-rigid pakke med gass er det atmosfæriske trykket ved pakking, eller trykket pakkemaskinen pakker til før den forseglar pakken, som også Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) har presisert. Dette påvirker gassens tetthet og er med på å avgjøre hvor mange gassmolekyler som er tilstede i pakken og dermed hvor mange molekyler som potensielt kan løses inn i produktet. Her spiller også temperatur en rolle, men det antas at pakketemperatur har vært tilnærmet konstant. Det har ikke vært mulig å kontrollere om pakkemaskinene pakker til eksakt likt trykk hver gang, og dette ses på som en mulig kilde til variasjoner i beregnet mengde innløst CO<sub>2</sub> i produktet i denne oppgaven.

Alle volummålinger ble korrigerert med hensyn til atmosfæriske trykk ved faktisk måletidspunkt. Trykkendring mellom måletidspunkt ville føre til at gassvolumet også endres. Dersom dette ikke ble korrigerert for ville en trykkreduksjon for eksempel ført til en ekspansjon av gassfasen og gitt et høyere målt volum. Det ville gitt en for lav CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktet. En økning i trykk ville gitt motsatt effekt. Med utgangspunkt i at atmosfærisk trykk kan variere med 10 % beregnet Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) at usikkerhet knyttet til atmosfæretrykket i deres studie kunne føre til en



feilberegning av innløst CO<sub>2</sub> i produkt med 100 ppm. En trykkendring påvirker også partialtrykket til CO<sub>2</sub>. Ved en hurtig endring i atmosfærisk trykk vil pakken måtte gå til en ny likevekt noe som vil kreve tid.

Som oppgitt fra produsent var teoretisk startvolum til skålene benyttet i disse forsøkene på 230 ml (L1 og F1) og 680 ml (L2 og F2). Det beregnede startvolumet for skåler benyttet i L1 og F1 var beregnet til å være  $228,8 \pm 1,8$  ml. Startvolumet for skåler benyttet i L2 og F2 var beregnet til å være  $680,3 \pm 4,5$  ml. En annen metode for å finne startvolum, er å utnytte at N<sub>2</sub> er en inert gass med konstant mengde molekyler i gassfasen og regne seg tilbake med bruk av prøvevolum og med verdier fra siste volummåling og fra gassfaseanalyser. Denne metoden ble brukt for å verifisere startvolumet som er lagt til grunn i forsøkene i denne oppgaven. Resultatet fra disse beregningene viste at skåler benyttet i L1 og F1 hadde et estimert volum på  $230,6 \pm 4,7$  ml, mens skåler benyttet i L2 og F2 hadde et estimert volum på  $696,0 \pm 19,4$  ml. Dette viser en signifikant (GLM,  $p < 0,001$ ) forskjell mellom beregnet volum for skåler benyttet til L2 og F2, men ikke for skåler benyttet i L1 og F1 (GLM,  $p = 0,161$ ). Startvolumet benyttet i forsøkene avviker lite fra teoretisk oppgitt volum fra produsent, men forskjellene i beregnet startvolum kan tyde på at det er en usikkerhet knyttet særlig til startvolum benyttet i L2 og F2. Som diskutert tidligere er det ikke kontrollert at pakkemaskin fyller til likt trykk hver gang, noe som kan være årsak til variasjonen i startvolum som ble beregnet.

#### 4.6 Effekt av fyllingsgrad og partialtrykk til CO<sub>2</sub>

Ved MAP vil fyllingsgrad (forholdet mellom gassvolum og produktvolum i pakken) sammen med partialtrykket til CO<sub>2</sub> bestemme hvor mye CO<sub>2</sub> som er tilgjengelig og dermed hvor mye som kan løses inn produktet (Rotabakk og Sivertsvik, 2012). I litteraturen er det funnet at anbefalt fyllingsgrad ved pakking i MA for å ivareta bakteriostatisk effekt av CO<sub>2</sub> og for å unngå at pakkene kollapser er mellom 25 % - 33 % (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Studier har vist at redusert fyllingsgrad fører til en kvadratisk økning i CO<sub>2</sub>-løslighet (Sivertsvik *et al.*, 2004). Skålene benyttet i L2 og F2 (680 ml) var større enn for L1 og F1 (230 ml). Dette ble kompensert for ved at prøvevekten for L2 og F2 ble økt for å oppnå høyere fyllingsgrad. Prøvevekten til L2 ble satt til å være 150 gram, noe som gav en fyllingsgrad på 21,5 %. Dette var 13,4 prosentpoeng lavere fyllingsgrad enn i L1, noe som kan forklare hvorfor kontrollgrupper løste mer CO<sub>2</sub> i L2 enn i L1. Rotabakk og Sivertsvik (2012) har laget en teoretisk modell for forventet innløst CO<sub>2</sub> [ppm] i produkt pakket i MA basert på fyllingsgrad og CO<sub>2</sub>-prosent i gassfase ved pakking. Den viser at med 60 % CO<sub>2</sub> i gassfase ved pakking vil en fyllingsgrad på 20,5 % løse omtrent 1400 ppm i produkt etter oppnådd likevekt, mens en fyllingsgrad på 34,9 % vil løse omtrent 1200 ppm i produkt etter oppnådd likevekt. Ikke alle resultatene fra forsøkene fulgte denne modellen, men de viste tydelig mindre mengde innløst CO<sub>2</sub> i produkt i L1 enn i L2.

Et annet moment knyttet til fyllingsgrad er at en lavere fyllingsgrad vil gi relativt mindre endring i volum og i gassammensetning fra pakketidspunkt til likevekt er oppnådd. Dette kan observeres mellom L1 og L2, hvor det ble brukt ulik fyllingsgrad som medførte signifikant ulik gassammensetning i pakkens gassfase ved likevekt. I L1 ble det fra pakketidspunkt til oppnådd likevekt målt en reduksjon i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon på 20,1 (*pre-rigor*) og 23,3 (*post-rigor*) prosentpoeng for kontrollprøver. L2 hadde en lavere fyllingsgrad og det største fallet i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon ble for dette forsøket observert for kontrollprøver og var til sammenligning på kun 12,9 prosentpoeng.

Fyllingsgrad til fiskekaker var på henholdsvis 36,3 % for F1 og 37,3 % for F2. Det ble ikke benyttet gassblanding med lik CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i forsøkene. Det var dermed forventet ulik mengde CO<sub>2</sub> innløst i produkt. Sammenheng mellom økt CO<sub>2</sub>-løselighet i produkt ved økt partialtrykk av CO<sub>2</sub> er også observert i Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) sin studie. Dette samsvarer med resultatene fra disse forsøkene, som viste at F2 hadde høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt ved likevekt enn F1. F1 og F2 var pakket med henholdsvis 40 % CO<sub>2</sub> og 60 % CO<sub>2</sub>. Mengde innløst CO<sub>2</sub> i produkt beregnet i denne oppgaven samsvarer også med modellen til Rotabakk og Sivertsvik (2012). Det kan likevel være noe usikkerhet i hvor godt fiskekaker passer inn i denne modellen.

Fiskekaker er et ikke-respirerende produkt, men det har en annen kjemisk sammensetning enn ren fiskemuskel. Produktet er også tilsatt salt og karbohydrater, som har negativ effekt på innløsning av CO<sub>2</sub> (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982). Det er heller ikke kjent hvilke fettsyrer fettfasen til fiskekakene består av, og om disse har lik CO<sub>2</sub>-løselighet som vist for flytende fett (Rotabakk, 2013; Abel *et al.*, 2018).

Ved å SGS-behandle et produkt i forkant av MAP kan fyllingsgrad økes og fremdeles ivareta CO<sub>2</sub> sin bakteriostatisk effekt og unngå pakkekollaps (Rotabakk *et al.*, 2006; Sivertsvik og Birkeland, 2006; Mendes og Gonçalves, 2008; Mendes, Pestana og Gonçalves, 2008; Rotabakk *et al.*, 2008; Al-Nehlawi *et al.*, 2013). Det ble ikke observert pakkekollaps for verken SGS-behandlede prøver eller for kontrollprøver i denne oppgaven. Det ble derimot observert antydning til at pakker med SGS-behandlet prøver i F1 bulte. Det kan tyde på en overmetning av CO<sub>2</sub> i prøvene i forhold til pakkegassen de ble pakket med. Målinger av gassammensetning tatt ved likevekt i disse prøvepakkene bekreftet også dette, da CO<sub>2</sub>-konsentrasjon ved likevekt var høyere enn ved pakketidspunkt. Beregnet CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt basert på volummålinger viste også en nedgang i konsentrasjon mellom SGS-behandling og oppnådd likevekt i produktet pakket i MA. Gassmiksen i F1 var tilsvarende den Insula Production benytter for sine produkter (40 % CO<sub>2</sub> : 60 % N<sub>2</sub>).

Sammenlignet med tradisjonell MAP vil en behandling med SGS tilføre produktet CO<sub>2</sub> før produktet pakkes i en MA. Det vil føre til at mindre CO<sub>2</sub> fra pakkens gassfase løser seg i produktet før likevekt oppnås (Sivertsvik og Birkeland, 2006; Fletcher, 2012). Av den grunn vil det kunne oppnås en høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase ved likevekt, som i henhold til Henrys lov fører til en høyere innløsning av CO<sub>2</sub> i produktet (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982). Resultatene fra analyse av pakkens gassfase viste som forventet at SGS-behandlede prøver hadde signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase enn kontrollprøver ved likevekt. Beregnede verdier for CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt basert på volummålinger underbygger også dette, da det ble observert høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i SGS-behandlede prøver enn i kontrollprøver. Som vist i andre studier (Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004; Rotabakk *et al.*, 2006; Rotabakk *et al.*, 2008; Sivertsvik og Birkeland, 2006) kan det også for forsøk i denne oppgaven antas at SGS-behandlede prøver kunne hatt en høyere fyllingsgrad og fremdeles oppnådd lik mengde innløst CO<sub>2</sub> som kontrollprøvene og samtidig unngått pakkekollaps. Det presiseres at denne oppgaven ikke handlet om å optimalisere fyllingsgrad.

#### 4.7 Endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt over tid

Det ble i forsøkene utført volummålinger av prøvepakkene over tid. Det har gitt underlag til å lage grafer som viser hvordan innløsning av CO<sub>2</sub> i produktet endret seg over tid. Grafer for de ulike forsøkene er presentert i kapittel 3.3.3 og kapittel 3.3.4 for henholdsvis laks og fiskekaker. Grafene over kontrollprøvene representerer faktisk

innløst CO<sub>2</sub> i produktet. Grafene over SGS-prøvene viser endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produktet etter pakking i MA. Prøver i samme forsøk ble pakket med lik gassblanding, derfor vil endringen i gassammensetningen si noe om forskjell i innløst CO<sub>2</sub> under de ulike SGS-behandlingene.

Resultatene fra gassfaseanalysene tatt ved hvert måletidspunkt i F1 viser at en økt endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt skjedde samtidig som CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase minket (Figur 22, kapittel 3.3.4) for kontrollprøver. Det viser en sammenheng mellom volummålinger og gassfaseanalyser som er i tråd med andre studier (Hansen *et al.*, 2009).

Det er tidligere rapportert at det oppnås likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom gassfase og produkt innen 3-4 døgn (Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004; Abel *et al.*, 2018; Abel, Rotabakk og Lerfall, 2020). Dette er i overenstemmelse med resultatene for alle forsøkene i denne oppgaven. Gruppen som tok lengst tid for å oppnå likevekt var MAP-12 i L2 hvor likevekt ikke ble observert før etter 72 timer.

SGS-behandlede prøver kan det observeres en negativ endring i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon før endringen igjen blir positiv. For laks vises dette i Figur 17, Figur 19, Figur 20 og Figur 21 (kapittel 3.3.3). Dette skyldes at absorpsjon og desorpsjon av CO<sub>2</sub> følger Ficks andre lov (Cussler, 2009) som sier at diffusjon drives av forskjell i konsentrasjonsgradienter. Ved SGS-behandling drives diffusjon av CO<sub>2</sub> i en retning. Når produktet pakkes om i MA vil konsentrasjonsgradienten mellom produktets overflate og den nye atmosfæren drive CO<sub>2</sub> ut av produktet, samtidig som CO<sub>2</sub> fremdeles drives innover i produktet, forutsatt at produktet ikke har oppnådd likevekt med CO<sub>2</sub> under SGS-behandling. Deretter vil diffusjonen igjen drives en vei, enten fra gassfasen til produkt eller fra produkt til gassfase, til likevekt oppnås (Rotabakk, Lekang og Sivertsvik, 2010).

#### 4.8 Kontrollprøver som grunnlag for å beregne Henrys konstant

De beregnede verdiene for innløst CO<sub>2</sub> i kontrollprøver var basert på den volumetriske metoden (Rotabakk, Lekang og Sivertsvik, 2007) med startvolum beregnet ut ifra pakker pakket med vann og 100 % N<sub>2</sub>. Det er som beskrevet tidligere den beregnede CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt i kontrollprøver og målt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase i de samme prøvene som ble benyttet til å beregne Henrys konstant for råstoffet.

Som beskrevet tidligere var det grunnet ulik fyllingsgrad forventet å se en høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt for L2 enn for L1, som også resultatene viser. Det ble også observert en forskjell mellom kontrollprøvene prosessert *pre-rigor* og *post-rigor* i L1, men denne forskjellen vurderes å være så liten at den ikke påvirker kvalitet og holdbarhet til produktet betydelig. Det var derimot ikke ventet å se en signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i *post-rigor* prøver i MAP-12 sammenlignet *pre-rigor* prøver i samme gruppe og MAP-2 (Tabell 8, kapittel 3.3.1). Den samme forskjellen ses ikke i gassfaseanalysen. Hva som er den underliggende årsaken til dette er derimot uvisst. Det ikke er noe i råstoffanalysene som tilsier at det skulle være noen forskjeller. MAP-18 (L1) og MAP-2 (L2) viste ikke ulik innløsning av CO<sub>2</sub> i produkt mellom *pre-rigor* og *post-rigor* prøver. Gassfaseanalyse viste likevel en signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i *pre-rigor* prøver for begge gruppene, noe som tyder på en lavere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt. For MAP-18 kan det også tenkes at disse prøvene var enten *in-rigor* eller *post-rigor* allerede ved pakking i MA. Det begrunnes med at prøvene ble oppbevart i kjølerom parallelt med at SGS-18 prøver ble behandlet før de samtidig ble pakket i MA.

Henrys konstant for de ulike kontrollprøvene for laks er presentert i Tabell 9. Tabell 1 viser ulike Henrys konstanter for matprodukter pakker i MAP fra tidligere studier. Henrys konstant for laks er tidligere funnet til å være  $47,8 \pm 2,3$  Pa/ppm ved 2°C. Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud (2004) har rapportert Henrys konstanter for ulike fiskefileter til å variere mellom  $41,8 \pm 4,7$  og  $49,1 \pm 5,2$  ved 0°C, og for laks spesifikt mellom  $44,1 \pm 2,3$  og  $49,1 \pm 5,2$  ved 0°C. Henrys konstant for laks i denne oppgaven er beregnet lavere enn det som er rapportert tidligere. Forsøkene er utført ved 2°C som ifølge teorien burde resultert i en høyere Henrys konstant enn for forsøk utført ved 0°C. Henrys konstant for *pre-rigor* prosessert laks funnet i L1 er den verdien som stemmer best med de tidligere rapporterte konstantene og er på  $40,3 \pm 1,7$  Pa/ppm. Det er denne som er benyttet i oppgaven for å beregne løst CO<sub>2</sub> i prøver som er behandlet med SGS for begge lakseforsøkene.

Med bakgrunn i at CO<sub>2</sub> løses inn i produktets vann- og flytende fettfase kan en teoretisk Henrys konstant for råstoffet beregnes. Det antas at alt fettinnholdet i laksen er flytende, som også Rotabakk (2013) konkluderte med. For L1 er det funnet at råstoffet bestod av 79,7 % vann og fett. Henrys konstant for vann ved 2°C er 32,5 Pa/ppm (Caroll, Slupsky og Mather, 1991). Dette gir en teoretisk beregnet Henrys konstant for råstoffet i L1 til å være 40,9 Pa/ppm noe som tyder at den beregnede verdien for *pre-rigor* MAP-18 funnet på bakgrunn av innløst CO<sub>2</sub> i MAP stemmer. For L2 ble det som nevnt ikke gjennomført analyse på fettinnhold, men det antas at dette råstoffet skulle hatt tilsvarende innhold av vann og fett og dermed lik Henrys konstant. På grunn av lavere vanninnhold i L2 antas det en høyere fettprosent i L2 sammenlignet med L1. Det er ikke påvist andre forskjeller mellom råstoffene, likevel er det beregnet en lavere Henrys konstant for L2 enn for L1. Lövenadler og Rönner (1994 som sitert i Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004) beskrev at umettet fett i laks kanskje kunne ha en litt høyere løselighet enn vann, noe som kunne forklart en lavere beregnet Henrys konstant. Dette er derimot motstridende til funn i andre studier som generelt konkluderer med at flytende fett har lik løselighet som vann (Rotabakk, 2013; Abel *et al.*, 2018).

Henrys konstant beregnet for fiskekaker ( $22,8 \pm 0,8$  Pa/ppm for F1 og  $27,3 \pm 1,1$  Pa/ppm for F2) i denne oppgaven er lavere enn noen Henrys konstanter rapportert i Tabell 1, den laveste var for lysing (*Merluccius merluccius*) på 29 Pa/ppm. Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2010) stilte spørsmål ved denne verdien i sin studie da den er lavere enn den for vann. Studier har vist at produkter kan ha ulik bufferkapasitet og dette kan påvirke løselighet til CO<sub>2</sub> (Lövenadler og Rönner som sitert i Sivertsvik, Rosnes og Jeksrud, 2004). En hypotese som ble vurdert var om fiskekakene hadde en pH høy nok til at innløst CO<sub>2</sub> løste seg i form av karbonsyre (inkludert hydrogenkarbonat og karbonationer) i tillegg til den mengden CO<sub>2</sub> som løses inn i form av CO<sub>2</sub> i vann- og fettfase. En annen masteroppgave ved NTNU som arbeidet med fiskekaker fra samme produsent fant at pH i fiskekakene var på  $6,84 \pm 0,02$  (Haider, 2020, under arbeid). Denne pH-verdien fører ifølge Dixon og Kell (1989) ikke til at karbonationer dannes. Ifølge Mitz (1979) vil 99 % av innløst CO<sub>2</sub> eksistere som CO<sub>2</sub> i temperaturer mellom 0 og 50 °C og ikke i form av karbonsyre. Dermed forkastes denne hypotesen. Med viten om at salt (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982; Rumpf *et al.*, 1994) og karbohydrater (Schumpe, Quicker og Deckwer, 1982) fører til en lavere CO<sub>2</sub>-løselighet er det uvisst hva som er den underliggende årsaken til så lave Henrys konstanter.

## 4.9 Effekt av ulike SGS-behandlingstider på CO<sub>2</sub>-konsentrasjon

Generelt viste resultatene at økt SGS-behandlingstid gav høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase ved likevekt i MAP og dermed høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt, som samsvarer med Henrys lov og tidligere studier av Rotabakk *et al.* (2006), Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2007) og Rotabakk, Lekang og Sivertsvik (2010).

I L2 vises det signifikant høyere CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt ved lenger SGS-behandlingstid (Tabell 11). Det ses en tydelig større mengde innløst CO<sub>2</sub> i produkt mellom 2 og 12 timer SGS-behandling enn mellom 12 timer og 24 timer behandling med SGS. Videre viser gassfaseanalysene at det kun er prøver behandlet med SGS *pre-rigor* i 24 timer som skiller seg fra de andre prøvene ved en SGS-behandling på 12 og 24 timer. Det tyder på at det ikke oppnås særlig effekt av å øke behandlingstiden fra 12 til 24 timer. Dette bekreftes også av Sivertsvik *et al.* (2004) som i sin studie fant at vann oppnådde 50 % likevekt med gassfase etter i underkant av 3 timer. Innen 12 timer ble 90 % likevekt oppnådd, mens det ble beregnet at 100 % likevekt i CO<sub>2</sub>-konsentrasjon mellom produkt og gassfase ikke ble oppnådd før etter 48 timer.

I F2 ble det som forventet observert en gradert CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i gassfase fordelt på de ulike SGS-behandlingstidene. Det var som nevnt kun med 0,5 time SGS-behandling at det ble påvist signifikant forskjell mellom behandling av prøver under nedkjøling og behandling av kalde prøver. Disse resultatene reflekteres også i de beregnede verdiene for innløst CO<sub>2</sub> i produkt ved likevekt.

## 4.10 Betydning for industrien

Det er allerede kjent at SGS med påfølgende lagring i MAP virker holdbarhetsforlengende på matprodukter (Sivertsvik, Jeksrud og Rosnes, 2002). Industrien viser en økt interesse for å prosessere oppdrettsfisk *pre-rigor* og dermed kunne levere ferskere fiskeprodukt med lenger holdbarhet til markedet (Hansen *et al.*, 2009). Det er utført studier som har undersøkt hvordan utbytte, filetspalting, farge og andre kvalitetsparametere ble påvirket av fileteringstidspunkt (*pre-rigor* versus *post-rigor*) (Skjervold *et al.*, 2001). Akse *et al.* (2008), Rørå *et al.* (2004) og Wang, Tang og Correia (2000) har undersøkt hvordan ulike faser av *rigor-mortis* påvirker saltdiffusjon. Det er ikke funnet studier som har fokusert på om innløsning av CO<sub>2</sub> påvirkes av råstoffets ferskhet (*pre-rigor* versus *post-rigor* prosessering av råstoff).

Det er flere fordeler knyttet til å prosessere laks *pre-rigor*. Tidsvinduet til *pre-rigor* filetering argumenterer for mer lokal videreforedling og dermed en økt verdiskaping i Norge. Det vil kunne redusere transportvolum sammenlignet med frakt av sløyd fisk. Lavere transportvolum vil redusere transportkostnader, samt det vil ha en positiv effekt på næringens klimagassutslipp (PwC, 2019). Ved å behandle filetene med CO<sub>2</sub> før transport, kan i tillegg produktenes kvalitet og holdbarhet forbedres.

Problematikk knyttet til melaninflekker er noe laksenæringen jobber med. Ifølge Svanstrøm (2016) kjøper enkelte produsenter av røykelaks opp mot 20 % mer laks enn nødvendig for å kompensere for kvalitetsfeil som melaninflekker og blodflekker som avdekkes ved filetering og som må skjæres bort. Ved å øke fileteringsgraden i Norge kan fileter sorteres etter ulike kvaliteter før laksen forlater landet. Det vil kunne gi norsk laks et bedre omdømme. En utfordring knyttet til *pre-rigor* prosessering som gjenstår å finne en god løsning på er fjerning av pinnebein (Thielemann *et al.*, 2007). Ved å videreforedle

mer av fisken i Norge, vil også restråstoffet kunne utnyttes i Norge og dermed bidra til verdiskaping (PwC, 2019).

Resultatene fra forsøkene er ikke entydige, men hovedvekten av resultatene viser at SGS-behandling av *pre-rigor* råstoff ikke har en negativ effekt på innløsning av CO<sub>2</sub>. Denne oppgaven viser derfor at det er fullt mulig å SGS-behandle laks før *rigor-mortis* inntreffer. Den viser også at lenger SGS-behandlingstid fører til større mengde innløst CO<sub>2</sub>, men den viser også at en behandlingstid utover 12 timer ikke øker effekten betydelig.

Resultater fra en annen masteroppgave ved NTNU som arbeidet med fiskekaker produsert på samme prosesslinje viste en stor postkontaminering av forringende mikrobiota før pakking i MA (Haider, 2020, under arbeid). SGS-behandling før pakking i MAP kan hemme bakterievekst som følge av kontaminering etter steking. Etter stekelinje er produktet teoretisk tilnærmet sterilt som følge av varmebehandlingen. Ved å SGS-behandle produktet direkte etter steking vil vekst av bakterier i produktet kunne hemmes ved hjelp av CO<sub>2</sub> som en tidlig barriere i prosessen. Dersom det påvises redusert bakterievekst i produktet, kan lengre holdbarhet på produktet forsvares. Birkeland og Rotabakk (2014) fant i sin studie at SGS-behandling etterfulgt av MAP av mildt varmebehandlet fiskefarse reduserte bakterievekst sammenlignet med pakking i vakuum og MA, og spesielt vekst av aerobe bakterier som samsvarer med funn for laks (Sivertsvik, 2000), spiseklare reker (Sivertsvik og Birkeland, 2006), kylling (Rotabakk *et al.*, 2006), oppdrettskveite (Rotabakk *et al.*, 2008), sardiner (Mendes, Pestana og Gonçalves, 2008) og dorader og havabbor (Mendes og Gonçalves, 2008). En observert reduksjon i psykrotrofe bakterier ved SGS-behandling i samme studie skyldes trolig en høyere innløst mengde CO<sub>2</sub> som også er vist for oppdrettskveite (Rotabakk *et al.*, 2008).

En del av målet for prosjektet «SGS-Concept», som denne oppgaven er en del av, er å utvikle et konsept hvor dagens produksjonseffektivitet ivaretas samtidig som det implementeres SGS-behandling av produktene før pakking i MAP. Produsenten av fiskekaker oppgir at de i dag bruker omtrent 40 minutter på å kjøle fiskekaker ned til under 3°C etter steking. Det vil si at industrien har en hurtigere nedkjøling enn den som er benyttet i dette forsøket. Resultatene viser at selv om produktet var varmt ved behandlingsstart hadde SGS-behandling en betydelig effekt på innløst CO<sub>2</sub>. Etter 1 time SGS-behandling i kombinasjon med nedkjøling ses det ikke lenger forskjell mellom fiskekaker behandlet under nedkjøling og fiskekaker SGS-behandlet kalde. Med raskere nedkjøling vil effekten av SGS-behandlingen trolig påvirkes mindre av produktets temperatur ved behandlingsstart. Potensielt kan det bety at SGS-behandlingstiden er den begrensende faktoren knyttet til mengde innløst CO<sub>2</sub>. Det betyr i praksis at det er mulig å SGS-behandle fiskekaker, samtidig som de kjøles ned. Dermed kan fordeler relatert til SGS oppnås uten å redusere dagens produksjonseffektivitet.

For industrien er det flere fordeler med å SGS-behandle råstoffet før pakking i MA. Disse er nevnt tidligere, men inkluderer blant annet at fyllingsgrad kan økes uten å redusere bakteriostatisk effekt oppnådd ved tradisjonell MAP. En økt fyllingsgrad vil kunne føre til reduksjon i emballasjevolum per mengde produkt emballert og dermed gi bedre volumutnyttelse både ved distribusjonslager, transport og i butikk. I tillegg er det rapportert om økt produktholdbarhet som følge av SGS-behandling, noe som potensielt kan redusere matsvinn ved at varen kan ligge lenger både i butikkledet og hos forbruker før utløpsdato.

I ett større bilde er tilgang på trygg mat en av verdens hovedutfordringer ettersom kloden stadig påvirkes av klimaendringer, urbanisering og befolkningsvekst. For å redusere matsvinn i både produksjonskjeden og hos forbruker vil det være viktig å finne løsninger som muliggjør frakt av mat over lenger avstander og fremdeles bevare kvalitet og holdbarhet (Parfitt, Barthel og Macnaughton, 2010). Dette er i tråd med flere av FNs mål for bærekraftig utvikling; nr. 2. Utrydde sult, nr. 9. Innovasjon og infrastruktur og nr. 12. Ansvarlig forbruk og produksjon (FN, 2020). I dette perspektivet vil et redusert emballasjeforbruk og forlenget holdbarhet på produkt være et positivt bidrag fra industrien. Resultatene i denne oppgaven tyder på at SGS-behandling i forkant av MAP gir mulighet til å øke fyllingsgrad samtidig som den holdbarhetsforlengende effekten av CO<sub>2</sub> opprettholdes. En økt fyllingsgrad gir mulighet for å redusere emballasjeforbruk og –volum. Det er i denne oppgaven derimot ikke utført analyser knyttet til holdbarhet, men dette er antakelsene basert på kjent litteratur.

## 5 Konklusjon

Et av delmålene i denne masteroppgaven var å undersøke innløsning av CO<sub>2</sub> i laks SGS-behandlet *pre-rigor* og sammenligne dette med *post-rigor* behandlet laks. Resultatene viste at CO<sub>2</sub> løste seg likt eller bedre i laksefilet behandlet med SGS *pre-rigor* sammenlignet med *post-rigor* behandlet fileten for SGS-behandlingstider 2, 18 og 24 timer. En behandlingstid på 12 timer viste en signifikant lavere innløsning av CO<sub>2</sub> i laks behandlet *pre-rigor*. Denne reduserte CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen ble vurdert til å være så liten at den trolig ikke medfører endring i kvalitet og holdbarhet til laksen. Med dette viser resultatene fra denne oppgaven at det er fullt mulig å SGS-behandle laks før *rigor-mortis* inntreffer.

Det andre delmålet i denne oppgaven var å undersøke innløsning av CO<sub>2</sub> i SGS-behandlede fiskekaker. Fiskekaker behandlet med SGS under nedkjøling ble sammenlignet med fiskekaker behandlet kalde. Effekt av ulike SGS-behandlingstider ble også undersøkt. Resultatene fra fiskekakeforsøkene viste at varme fiskekaker under nedkjøling behandlet med SGS i 0,5 time løste inn mindre CO<sub>2</sub> sammenlignet med tilsvarende fiskekaker behandlet kalde. Lengre SGS-behandlingstid viste derimot at mengde innløst CO<sub>2</sub> i fiskekaker under nedkjøling tilsvarte den for fiskekaker behandlet kalde. Det betyr at den observerte negative effekten på CO<sub>2</sub>-innløsning knyttet til høy produkttemperatur forsvant et sted mellom 0,5 og 1 time behandlingstid med nedkjølingsbetingelsene i dette forsøket. Denne oppgaven viser at SGS-behandling kan starte med høy produkttemperatur og fremdeles løse CO<sub>2</sub> i produktet. Dette åpner opp for at industrien kan implementere SGS-behandling av fiskekaker under nedkjøling og oppnå fordeler knyttet til SGS-behandling uten å redusere dagens produksjonseffektivitet.



## 6 Videre arbeid

Fra resultatene i denne masteroppgaven er det etablert kunnskap som viser at SGS-behandling av laks *pre-rigor* løser CO<sub>2</sub> tilsvarende som *post-rigor* behandlet laks. I forlengelse av dette arbeidet vil det være naturlig med et lagringsforsøk som sammenligner råstoffkvalitet over tid på laks som er SGS-behandlet *pre-rigor* med laks som er behandlet med SGS *post-rigor*.

Den andre delen av denne oppgaven omhandler fiskekaker og innløsning av CO<sub>2</sub> etter SGS-behandling av fiskekaker under nedkjøling, som viste lovende resultater. Et steg videre er å SGS-behandle fiskekaker under nedkjøling med like betingelser som det kan forventes at industrien kan tilby. Det vil samtidig være nyttig å utføre et lagringsforsøk, hvor effekt av SGS-behandling på holdbarhet blir undersøkt.

Ved beregning av mengde innløst CO<sub>2</sub> i produkt er det viktig å ha kontroll på systemets massebalanse. Det er blant annet avgjørende å kjenne mengde CO<sub>2</sub> tilført pakken ved pakketidspunkt for å beregne riktig CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt etter oppnådd likevekt i MAP. Videre arbeid knyttet til å eliminere usikre faktorer relatert til beregning av CO<sub>2</sub>-konsentrasjon i produkt ville økt nøyaktigheten til fremtidige forsøk.

Som beskrevet i innledningen inngår denne masteroppgaven som ett ledd i arbeidspakke 2 i prosjektet «*SGS-Concept*». Denne arbeidspakken skal undersøke problemstillinger knyttet til fullskala SGS-prosessering av animalske råstoff. Resultatene fra denne masteroppgaven som omhandler SGS-behandling av *pre-rigor* og *post-rigor* råstoff, samt SGS-behandling av fiskekaker under nedkjøling versus kalde fiskekaker vil inngå som grunnlag for å besvare noen av disse problemstillingene i hovedprosjektet. Videre faser i prosjektet innebærer å utvikle en hygienisk prosesslinje som kan implementeres i industrien. Forslag til videre arbeid beskrevet i avsnittene over vil naturlig inngå i dette prosjektet, hvor effekt på kvalitet, holdbarhet og mattrygghet til fiskefarse og lakseråstoff prosessert *pre-rigor* og *post-rigor* vil undersøkes. Konseptet vil også vurderes i et bærekraftperspektiv hvor blant annet emballasje- og hygienisk design vil være sentralt.

## Referanser

- Abel, N. *et al.* (2018) The influence of lipid composition, storage temperature, and modified atmospheric gas combinations on the solubility of CO<sub>2</sub> in a seafood model product, *Journal of Food Engineering*, 216, s. 151-158. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.08.020.
- Abel, N., Rotabakk, B. T. og Lerfall, J. (2019) Effect of heat treatment and packaging technology on the microbial load of lightly processed seafood, *LWT- Food Science and Technology*, 101, s. 123-129. doi: 10.1016/j.lwt.2018.11.025.
- Abel, N., Rotabakk, B. T. og Lerfall, J. (2020) Effect of salt on CO<sub>2</sub> solubility in salmon (*Salmo salar* L.) stored in modified atmosphere, *Journal of Food Engineering*, 278. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2020.109946.
- Ahmed, Z. *et al.* (2015) Calpains- and cathepsins-induced myofibrillar changes in post-mortem fish: Impact on structural softening and release of bioactive peptides, *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), s. 130-146. doi: 10.1016/j.tifs.2015.04.002.
- Ahvenainen, R. (2003) Introduction, i Ahvenainen, R. (red.) *Novel food packaging techniques*. Cambridge, U.K.: Woodhead Publishing, s. 1-2.
- Akse, L. *et al.* (2008) Injection-Salting and Cold-Smoking of Farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) and Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) at Different Stages of Rigor Mortis : Effect on Physical Properties, *Journal of Food Science*, 73(8), s. 378-382. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00917.x.
- Al-Nehlawi, A. *et al.* (2013) Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks, *Meat Science*, 94(1), s. 1-8. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.12.008.
- Alberts, B. *et al.* (2008) The Cytoskeleton, i Alberts, B., *et al.* (red.) *Molecular biology of the cell*. 5th ed. utg. New York: Garland Science Taylor & Francis Group, s. 965-1052.
- Aursand, M. *et al.* (1994) Lipid distribution and composition of commercially farmed atlantic salmon (*salmosalar*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64(2), s. 239-248. doi: 10.1002/jsfa.2740640214.
- Belitz, H.-D., Grosch, W. og Schieberle, P. (2009) Fish, Whales, Crustaceans, Mollusks, i Belitz, H.-D., Grosch, W. og Schieberle, P. (red.) *Food Chemistry*. 4. utg. Springer-Verlag Berlin Heidelberg s. 617-639. doi: 10.1007/978-3-540-69934-7\_14.
- Birkeland, S. og Rotabakk, B. T. (2014) Effects of Additives and Packaging Method on Quality and Microbiological Characteristics in Mild Thermal Processed Fish Mince, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 23(4), s. 368-384. doi: 10.1080/10498850.2012.720004.
- Bligh, E. G. og Dyer, W. J. (1959) A rapid method of total lipid ekstraktion and purification, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, s. 911-917.
- Boziaris, I. S. og Parlapani, F. F. (2017) Specific Spoilage Organisms (SSOs) in Fish, i Bevilacqua, A., Corbo, M. R. og Sinigaglia, M. (red.) *The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers*. Woodhead Publishing, s. 61-98. doi: 10.1016/B978-0-08-100502-6.00006-6.
- Caroll, J. J., Slupsky, J. D. og Mather, A. E. (1991) The Solubility if Carbon Dioxide in Water at Low Pressure, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 20(6), s. 1201-1209. doi: 10.1063/1.555900.
- Chen, J. H. og Hotchkiss, J. H. (1991) Effect of Dissolved Carbon Dioxide on the Growth of Psychrotrophic Organisms in Cottage Cheese, *Journal of Dairy Science*, 74(9), s. 2941-2945. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78478-6.
- Church, I. J. og Parsons, A. L. (1995) Modified atmosphere packaging technology: A review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(2), s. 143-152. doi: 10.1002/jsfa.2740670202.
- Comi, G. (2017) Spoilage of Meat and Fish, i Bevilacqua, A., Corbo, M. R. og Sinigaglia, M. (red.) *The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers*. Woodhead Publishing, s. 179-210. doi: 10.1016/B978-0-08-100502-6.00011-X.
- Coyne, F. P. (1933) The Effect of Carbon Dioxide on Bacterial Growth, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character (1905-1934)*, 113(782), s. 196-217. doi: 10.1098/rspb.1933.0041.
- Cussler, E. L. (2009) Diffusion in Dilute Solutions, i Cussler, E. L. (red.) *Diffusion : mass transfer in fluid systems*. 3rd ed. utg. Cambridge University Press, s. 13-55. doi: 10.1017/CBO9780511805134.
- Daniels, J. A., Krishnamurthi, R. og Rizvi, S. S. H. (1985) A Review of Effects of Carbon Dioxide on Microbial Growth and Food Quality, *Journal of food protection*, 48(6), s. 532. doi: 10.4315/0362-028X-48.6.532.

- Delbarre-Ladrat, C. *et al.* (2006) Trends in Postmortem Aging in Fish: Understanding of Proteolysis and Disorganization of the Myofibrillar Structure, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(5), s. 409-421. doi: 10.1080/10408390591000929.
- Devlieghere, F., Debevere, J. og Van Impe, J. (1998a) Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms, *International Journal of Food Microbiology*, 43(1-2), s. 105-113. doi: 10.1016/S0168-1605(98)00101-9.
- Devlieghere, F., Debevere, J. og Van Impe, J. (1998b) Effect of dissolved carbon dioxide and temperature on the growth of *Lactobacillus sake* in modified atmospheres, *International Journal of Food Microbiology*, 41(3), s. 231-238. doi: 10.1016/S0168-1605(98)00052-X.
- Dewitt, C. og Oliveira, A. (2016) Modified Atmosphere Systems and Shelf Life Extension of Fish and Fishery Products, *Foods*, 5(3), s. 48. doi: 10.3390/foods5030048.
- Dixon, N. M. og Kell, D. B. (1989) The inhibition by CO<sub>2</sub> of the growth and metabolism of microorganisms, *Journal of Applied Microbiology*, 67, s. 109-136. doi: 10.1111/j.1365-2672.1989.tb03387.x.
- Farber, J. M. (1991) Microbiological Aspects of Modified-Atmosphere Packaging Technology - A Review, *Journal of food protection*, 54(1), s. 58. doi: 10.4315/0362-028X-54.1.58.
- Fellows, P. (2017) Packaging, i Fellows, P. (red.) *Food processing technology : principles and practice*. 4th ed. utg. Duxford: Woodhead, s. 949-1044.
- Fletcher, G. C. (2012) Advances in vacuum and modified atmosphere packaging of fish and crustaceans, i Kerry, J. P. (red.) *Advances in meat, poultry and seafood packaging*. Cambridge: Woodhead Publishing s. 261-297.
- FN (2019a) *Befolkning, migrasjon og urbanisering*. Tilgjengelig fra: <https://www.fn.no/Tema/Fattigdom/Befolkning> (Hentet: 19.02.2020).
- FN (2019b) *Bærekraftig utvikling*. Tilgjengelig fra: <https://www.fn.no/Tema/Fattigdom/Baerekraftig-utvikling> (Hentet: 19.02.2020).
- FN (2020) *FNs bærekraftsmål*. Tilgjengelig fra: <https://www.fn.no/Om-FN/FNs-baerekraftsmaal> (Hentet: 08.03.2020).
- Fulton, T. W. (1902) The rate of growth of fishes (b. 3, s. 326-446). 20th Annual Report of the Fishery Board of Scotland 1902.
- Gill, C. O. (1988) The solubility of carbon dioxide in meat, *Meat Science*, 22(1), s. 65-71. doi: 10.1016/0309-1740(88)90027-7.
- Gram, L. og Huss, H. H. (1996) Microbiological spoilage of fish and fish products, *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), s. 121-137. doi: 10.1016/0168-1605(96)01134-8.
- Gram, L. og Dalgaard, P. (2002) Fish spoilage bacteria – problems and solutions, *Current Opinion in Biotechnology*, 13(3), s. 262-266. doi: 10.1016/S0958-1669(02)00309-9.
- Haider, M. (2020) *Under arbeid*. Masteroppgave, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet.
- Hamilton, M. C. *et al.* (2005) Lipid composition and contaminants in farmed and wild salmon, *Environmental science & technology*, 39(22), s. 8622-8629. doi: 10.1021/es050898y.
- Han, J. H. (2014) A Review of Food Packaging Technologies and Innovations, i Han, J. H. (red.) *Innovations in food packaging*. Second Edition. utg. Academic Press, s. 3-12. doi: 10.1016/B978-0-12-394601-0.00001-1.
- Hansen, A. Å. *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, *Journal of Food Science*, 74(6), s. 242-249. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01233.x.
- Hong, H., Regenstein, J. M. og Luo, Y. (2017) The importance of ATP-related compounds for the freshness and flavor of post-mortem fish and shellfish muscle: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), s. 1787-1798. doi: 10.1080/10408398.2014.1001489.
- Hui, Y. H. *et al.* (2012) Biochemistry of Seafood Processing, i Simpson, B. K., *et al.* (red.) *Food Biochemistry and Food Processing*. John Wiley & Sons, Inc., s. 344-364. doi: 10.1002/9781118308035.ch19.
- Huss, H. H. (1995) *Quality and quality changes in fresh fish*. Rome: FAO.
- ISO.6496 (1983) Determination of moisture and other volatile matter content *International Organization for Standardization*. Genf. Switzerland.
- Jessen, F., Nielsen, J. og Larsen, E. (2013) Chilling and Freezing of Fish, i Boziaris, I. S. (red.) *Seafood processing: Technology, Quality and Safety*. John Wiley & Sons, Ltd, s. 33-59. doi: 10.1002/9781118346174.ch3.
- Katikou, P., Hughes, S. I. og Robb, D. H. F. (2001) Lipid distribution within Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets, *Aquaculture*, 202(1), s. 89-99. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00562-2.
- Kepshire, B. M., Tinsley, I. J. og Lowry, R. R. (1983) Effect of temperature on the chemical composition of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) muscle, *Aquaculture*, 32(3), s. 295-301. doi: 10.1016/0044-8486(83)90226-0.

- Lampila, L. E. og McMillin, K. W. (2012) Major microbial hazards associated with packaged seafood, i Kerry, J. P. (red.) *Advances in Meat, Poultry and Seafood Packaging*. Cambridge: Woodhead Publishing, s. 59-85.
- Lerfall, J. et al. (2015) Pre-mortem stress and the subsequent effect on flesh quality of pre-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during ice storage, *Food Chemistry*, 175, s. 157-165. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.111.
- Lerfall, J. et al. (2016) A comparative study of organic- versus conventional farmed Atlantic salmon. I. Pigment and lipid content and composition, and carotenoid stability in ice-stored fillets, *Aquaculture*, 451, s. 170-177. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.09.013.
- Lerfall, J. og Rotabakk, B. T. (2016) Muscle temperature at the point of filleting—Subsequent effect on storage quality of prerigor filleted raw- and cold-smoked Atlantic salmon, *Food Science and Technology International*, 22(2), s. 153-163. doi: 10.1177/1082013215577737.
- Lerfall, J. (u.å.) Fisk- råstoff og bearbeiding, i Karlsen, H. (red.) *Mat, råstoff og bearbeiding* Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Universitet (NTNU) og Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet (NMBU), s. 10-55.
- Leroi, F. og Joffraud, J.-J. (2011) Microbial degradation of seafood *Aquaculture microbiology and biotechnology*. CRC Press, Taylor and Francis group, s. 47-72. Tilgjengelig fra: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00059/16976/14471.pdf>.
- Listrat, A. et al. (2016) How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality, *The Scientific World Journal*, 2016(3182746), s. 1-14. doi: 10.1155/2016/3182746.
- Loss, C. R., Hotchkiss, J. H. og Loss, C. R. (2002) Effect of dissolved carbon dioxide on thermal inactivation of microorganisms in milk, *Journal of food protection*, 65(12), s. 1924-1929. doi: 10.4315/0362-028X-65.12.1924.
- Lynum, L. (2005) Fiskefarse, i Lynum, L. (red.) *Videreforedling av fisk*. Trondheim: Tapir akademisk forl., s. 91-116.
- Matvett (u.å.) *Tall og fakta*. Tilgjengelig fra: <https://www.matvett.no/bransje/tall-og-fakta> (Hentet: 20.02.2020).
- Mendes, R. og Gonçalves, A. (2008) Effect of Soluble CO<sub>2</sub> Stabilization on the Quality of Fillets from Farmed Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) and European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*), *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 17(4), s. 342-366. doi: 10.1080/10498850802369187.
- Mendes, R., Pestana, C. og Gonçalves, A. (2008) The effects of soluble gas stabilisation on the quality of packed sardine fillets (*Sardina pilchardus*) stored in air, VP and MAP, *International Journal of Food Science & Technology*, 43(11), s. 2000-2009. doi: 10.1111/j.1365-2621.2008.01809.x.
- Mendes, R. et al. (2011) Effect of CO<sub>2</sub> dissolution on the shelf life of ready-to-eat Octopus vulgaris, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 12(4), s. 551-561. doi: 10.1016/j.ifset.2011.07.003.
- Mitz, M. A. (1979) CO<sub>2</sub> biodynamics : A new concept of cellular control, *Journal of Theoretical Biology*, 80(4), s. 537-551. doi: 10.1016/0022-5193(79)90092-4.
- Mørkøre, T. og Rørvik, K.-A. (2001) Seasonal variations in growth, feed utilisation and product quality of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) transferred to seawater as 0+smolts or 1+smolts, *Aquaculture*, 199(1), s. 145-157. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00524-5.
- Mørkøre, T. et al. (2008) Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L), *Aquaculture*, 277(3), s. 231-238. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.036.
- NFR (2017) Forskningsrådets strategi for bærekraft 2017-2020: Norges Forskningsråd. Tilgjengelig fra: <https://www.forskningsradet.no/siteassets/publikasjoner/1254028329452.pdf> (Hentet: 27.04.2020).
- Nielsen, M. K. og Nielsen, H. H. (2012) Seafood Enzymes, i Simpson, B. K., et al. (red.) *Food Biochemistry and Food Processing*. John Wiley & Sons, Inc., s. 247-262. doi: 10.1002/9781118308035.ch13.
- Nosedá, B. et al. (2013) Packaging of Fish and Fishery Products, i Boziaris, I. S. (red.) *Seafood Processing: Technology, Quality and Safety*. John Wiley & Sons, Ltd, s. 237-261. doi: 10.1002/9781118346174.ch10.
- Parfitt, J., Barthel, M. og Macnaughton, S. (2010) Food waste within food supply chains: quantification and potential for change to 2050, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 365(1554), s. 3065-3081. doi: 10.1098/rstb.2010.0126.
- PwC (2019) *Sjømatbarometeret*. Tilgjengelig fra: [https://www.pwc.no/no/publikasjoner/Sjomatbarometer\\_WEB\\_V01.pdf](https://www.pwc.no/no/publikasjoner/Sjomatbarometer_WEB_V01.pdf) (Hentet: 29.04.2020).
- Regjeringen (2017) Regjeringens havstrategi; Ny vekst, stolt historie. regjeringen.no: Nærings- og fiskeridepartementet og Olje- og energidepartementet. Tilgjengelig fra: [https://www.regjeringen.no/contentassets/097c5ec1238d4c0ba32ef46965144467/nfd\\_havstrategi\\_uu.pdf](https://www.regjeringen.no/contentassets/097c5ec1238d4c0ba32ef46965144467/nfd_havstrategi_uu.pdf) (Hentet: 25.04.2020).

- Ritchie, H. (2019) *Food production is responsible for one-quarter of the world's greenhouse gas emissions*. Tilgjengelig fra: <https://ourworldindata.org/food-ghg-emissions> (Hentet: 26.03.20).
- Rotabakk, B. T. et al. (2006) Effect of Modified Atmosphere Packaging and Soluble Gas Stabilization on the Shelf Life of Skinless Chicken Breast Fillets, *Journal of Food Science*, 71(2), s. 124-131. doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb08915.x.
- Rotabakk, B. T., Lekang, O. I. og Sivertsvik, M. (2007) Volumetric method to determine carbon dioxide solubility and absorption rate in foods packaged in flexible or semi rigid package, *Journal of Food Engineering*, 82(1), s. 43-50. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.01.013.
- Rotabakk, B. T. et al. (2008) Enhancement of Modified Atmosphere Packaged Farmed Atlantic Halibut (*Hippoglossus Hippoglossus*) Fillet Quality by Soluble Gas Stabilization, *Food Science and Technology International*, 14(2), s. 179-186. doi: 10.1177/1082013208092051.
- Rotabakk, B. T., Lekang, O.-I. og Sivertsvik, M. (2010) Solubility, absorption and desorption of carbon dioxide in chicken breast fillets, *LWT - Food Science and Technology*, 43(3), s. 442-446. doi: 10.1016/j.lwt.2009.09.009.
- Rotabakk, B. T. og Sivertsvik, M. (2012) Solubility of carbon dioxide in muscle foods and its use to extend the shelf life of packaged products, i Kerry, J. P. (red.) *Advances in Meat, Poultry and Seafood Packaging*. Cambridge: Woodhead Publishing, s. 314-330.
- Rotabakk, B. T. (2013) Solubility of carbon dioxide in a seafood model product with fish oil, *European Food Research and Technology*, 237(4), s. 541-545. doi: 10.1007/s00217-013-2024-8.
- Rotabakk, B. T., Melberg, G. L. og Lerfall, J. (2018) Effect of Season, Location, Filleting Regime and Storage on Water-Holding Properties of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.), *Food Technology and Biotechnology*, 56(2), s. 238-246. doi: 10.17113/ftb.56.02.18.5346.
- Roth, B., Slinde, E. og Arildsen, J. (2006) Pre or post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh, *Aquaculture*, 257(1-4), s. 504-510. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.10.021.
- Roth, B., Birkeland, S. og Oyarzun, F. (2009) Stunning, pre slaughter and filleting conditions of Atlantic salmon and subsequent effect on flesh quality on fresh and smoked fillets, *Aquaculture*, 289(3), s. 350-356. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.01.013.
- Roth, B. et al. (2012) Crowding, pumping and stunning of Atlantic salmon, the subsequent effect on pH and rigor mortis, *Aquaculture*, 326-329, s. 178-180. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.11.005.
- Rumpf, B. et al. (1994) Solubility of carbon dioxide in aqueous solutions of sodium chloride: Experimental results and correlation, *Journal of Solution Chemistry*, 23(3), s. 431-448. doi: 10.1007/BF00973113.
- Rørå, A. M. B. et al. (2004) Salt diffusion in pre-rigor filleted Atlantic salmon, *Aquaculture*, 232(1-4), s. 255-263. doi: 10.1016/S0044-8486(03)00460-5.
- Schumpe, A., Quicker, G. og Deckwer, W.-D. (1982) Gas Solubilities in Microbial Culture Media, *Advances in Biochemical Engineering*, 24, s. 1-38.
- Shearer, K. D. (1994) Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids, *Aquaculture*, 119(1), s. 63-88. doi: 10.1016/0044-8486(94)90444-8.
- Simpson, R., Almonacid, S. og Acevedo, C. (2001) Development of a Mathematical Model for MAP Systems Applied to Nonrespiring Foods, *Journal of Food Science*, 66(4), s. 561-567. doi: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb04602.x.
- Sivertsvik, M. (2000) Use of soluble gas stabilisation to extend shelf-life of salmon, i *Proceedings of 29th WEFTA-meeting, Leptocarya, Pieria, Greece, 1999 Oct 10-4*. Thessaloniki, Greece: Greek Society of Food Hygienists and Technologists. p 79-91.
- Sivertsvik, M., Jeksrud, W. K. og Rosnes, J. 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 & Technology*, 37(2), s. 107-127. doi: 10.1046/j.1365-2621.2002.00548.x.
- Sivertsvik, M. (2003) Active packaging in practice: fish, i Ahvenainen, R. (red.) *Novel food packaging techniques*. Cambridge: Woodhead Publishing, s. 384-400.
- Sivertsvik, M. et al. (2004) Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods: Part 1: Development and validation of experimental apparatus using a manometric method, *Journal of Food Engineering*, 61(3), s. 449-458. doi: 10.1016/S0260-8774(03)00167-5.
- Sivertsvik, M., Rosnes, J. T. og Jeksrud, W. K. (2004) Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 2: Raw fish fillets, *Journal of Food Engineering*, 63(4), s. 451-458. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2003.09.004.

- Sivertsvik, M. og Jensen, J. S. (2005) Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 3: Cooked meat products, *Journal of Food Engineering*, 70(4), s. 499-505. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.10.005.
- Sivertsvik, M. og Birkeland, S. (2006) Effects of Soluble Gas Stabilisation, Modified Atmosphere, Gas to Product Volume Ratio and Storage on the Microbiological and Sensory Characteristics of Ready-to-Eat Shrimp (*Pandalus borealis*), *Food Science and Technology International*, 12(5), s. 445-454. doi: 10.1177/1082013206070171.
- Skjervold, P. O. *et al.* (2001) Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon, *Aquaculture*, 194(3), s. 315-326. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00531-7.
- SSB (2019) *Avfall frå hushalda*. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/avfkomm> (08.03.2020).
- Stensgård, A. E. (2019) *Matsvinn i Norge – Hvem, hva, hvor?* Tilgjengelig fra: <https://www.ntfe.no/i/2019/2/tfe-2019-02b-1395> (Hentet: 20.02.2020).
- Strasburg, G. M., Xiong, Y. L. og Chiang, W. (2008) Physiology and Chemistry of Edible Muscle Tissues, i Damodaran, S., Parkin, K. L. og Fennema, O. R. (red.) *Fennema's Food Chemistry*. 5. utg. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, s. 923-969.
- Svanstrøm, C. (2016) *Slik kan de se inn i fisken*. Tilgjengelig fra: <https://nofima.no/nyhet/2016/01/slik-kan-de-se-inn-i-fisken/> (Hentet: 04.05.20).
- Taylor, R. G., Fjaera, S. O. og Skjervold, P. O. (2002) Salmon Fillet Texture is Determined by Myofiber-Myofiber and Myofiber-Myocommata Attachment, *Journal of Food Science*, 67(6), s. 2067-2071. doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb09502.x.
- Thielemann, J. T. *et al.* (2007) System for estimation of pin bone positions in pre-rigor salmon, i Blanc-Talon, J., *et al.* (red.) *Advanced Concepts for Intelligent Vision Systems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, s. 888-896. Tilgjengelig fra: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-3-540-74607-2.pdf>.
- Thodesen, J. *et al.* (2001) Genetic variation in feed intake, growth and feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*), *Aquaculture*, 194(3), s. 273-281. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00527-5.
- Vaclavik, V. A. og Christian, E. W. (2008) *Essentials of Food Science Food Science Texts Series*. New York: Springer Science, s. 280-284.
- Vatland, A. I. *et al.* (1991) *Produksjon av fiskefarse*. (Rapport / NORCONSERV 12/1991). Stavanger: NORCONSERV.
- Vieira, V. L. A., Norris, A. og Johnston, I. A. (2007) Heritability of fibre number and size parameters and their genetic relationship to flesh quality traits in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquaculture*, 272(1), s. S100-S109. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.08.028.
- Wang, D., Tang, J. og Correia, L. R. (2000) Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis, *Journal of Food Engineering*, 43(2), s. 115-123. doi: 10.1016/S0260-8774(99)00140-5.
- Williams, H. (2011) *Food Packaging for Sustainable Development*. Dr. avhandling, Karlstad University.
- Ørnholt-Johansson, G., Frosch, S. og Jørgensen, B. M. (2017) Variation in some quality attributes of Atlantic salmon fillets from aquaculture related to geographic origin and water temperature, *Aquaculture*, 479, s. 378-383. doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.06.016.

