

Høytrykksprosessering av sjømat

Litteraturgjennomgang

Tone Mari Rode og Maria Befring Hovda





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

Nofima har om lag 420 ansatte.
Hovedkontoret er i Tromsø, og
forskningsevirsomheten foregår på seks
ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen,
Sunndalsøra, Averøy og Tromsø.

Hovedkontor Tromsø
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Rapport

 ISBN: 978-82-8296-034-2 (trykt)
 ISBN: 978-82-8296-035-9 (pdf)

 Rapportnr.:
 39/2012

 Tilgjengelighet:
Åpen

Tittel: Høytrykksprosessering av sjømat Litteraturgjennomgang	Dato: 17.12.12
Forfatter(e): Tone Mari Rode og Maria Befring Hovda	Antall sider og bilag: 72
Oppdragsgiver: Stiftelsen Norconserv	Prosjektnr.: 1211
Tre stikkord: Høytrykksprosessering, sjømat, kvalitet	Oppdragsgivers ref.: Elisabeth Bjordal
Sammendrag: <p>Rapporten gir en oversikt over den relativt nye og skånsomme prosesseringsteknologien høytrykksprosessering (HP); hva som er gjort innen HP av sjømat, hvilken effekt prosessen har på mattrygghet og kvaliteten av produktene. I tillegg til gjennomgang av litteratur om effekten av HP på ulike matprodukter og mikroorganismer, er det inkludert kapitler om metoder som er aktuelle for testing av produkter og matkvalitet i prosjektet. Det er også kort nevnt beskrivelse av mulige kombinasjoner av høytrykk med andre metoder.</p> <p>Høytrykksprosessering er per i dag i mindre grad benyttet på prosesserte sjømatprodukter sammenlignet med landbruksbaserte produkter. Innen sistnevnte kategori finnes en rekke kommersielle produkter av juice, kjøttpålegg og ferdigmat. For sjømat finnes det noen fiskebaserte ferdigmatprodukter hvor HP blir benyttet for å gi økt holdbarhet. Innen sjømat-sektoren har derimot HP vært en suksess for bruk til "shucking"; åpning av skjell og enklere løsne krabbe/hummer-muskel fra skallet. Bruk av HP til f.eks. åpning av østers og inaktivering av patogene virus er en stor industri i USA.</p> <p>Rapporten utgjør en del av arbeidspakke 1 i HPsjømat prosjektet. Det er forsøkt å gi en oversikt over relevant forskning hvor de viktigste hovedlinjene er med, og den vil være med å danne grunnlag for arbeidet som skal utføres i de øvrige arbeidspakkene.</p>	
English summary: (maks 100 ord) <p>This report gives an overview over the relatively new and gentle process technology; high pressure processing (HPP), and what has been done within the field of seafoods, the effect of the process on the food safety and quality of the products. In addition to review the literature of the effects of HPP on seafood products and microbiology. Chapters about methodology, food quality and possible combinations of HPP and other methods are included.</p> <p>HPP is so far to a smaller extent used on processed seafood products compared to agricultural products, where there are a lot of commercial HPP food products. There are some fish-based ready-to-eat meals where HPP has been used to extend the shelf-life. HPP are usually used for shucking of shells, crabs and lobster to increase the yield, and for inactivation of viruses. Inactivation of viruses in shells as in oyster is a big industry in the US.</p> <p>This report is part of work package 1 in the HPsjømat project. An overview over relevant literature and research has been summarised, and this will be used as a basis for the further work in the project.</p>	

Forord

Prosjektet «Høytrykksprosessering av sjømat – nye produkter med forlenget holdbarhet» (HPsjømat) finansiert av Stiftelsen Norconserv har blant annet som formål å opparbeide kunnskap om effekter av høytrykksprosessering på sjømatprodukter når det gjelder holdbarhet, mattrygghet og sensoriske egenskaper. HP kombinert med høy og lav temperatur er også aktuelle kombinasjonsteknologier som vil bli benyttet i prosjektet.

En gjennomgang av tilgjengelig litteratur er foretatt for å få oversikt over hva som er publisert innen høytrykksprosessering (HP) av sjømat, med spesielt fokus på ulike fiskeslag, reker, krabbe og skjell. Det er varierende hvor mye som er publisert innen de ulike feltene, og det har hovedsakelig vært fokusert på arter som enten lever i norske farvann eller på annen måte gir relevant informasjon relatert til norsk sjømat- og næringsmiddelindustri.

Anvendelse av HP for skånsom prosessering av sjømat kan være aktuelt for enkelte produkter, men mindre aktuelt for andre. HP er en teknologi som med økende hell benyttes for å gi forlenget holdbarhet av ferdigmat-produkter. Bruk av HP på rå sjømatprodukter vil nok i hovedsak være knyttet til shucking – åpning og økt utbytte av skjell og skalldyr.

De ulike kapitlene omhandler informasjon som vil være nyttig i prosjektet for valg av arter til forsøk (Kap. 2–3), vurdering av mattrygghet (Kap. 4) og vurdering av produktkvalitet (Kap. 5). I tillegg er kapitler om kombinasjon av høytrykk og andre prosesseringsmetoder (Kap. 6), og kommersielle sjømatprodukter og relevant utstyr (Kap. 7–8) inkludert. Deler av dette arbeidet og resultatene derfra er konfidensielle for andre enn oppdragsgiver da videre arbeid og publisering pågår.

Stavanger, 17.12.2012

Forkortelser

a*:	Rødfarge (til grønnfarge)
b*:	Gulfarge (til blåfarge)
cfu:	Colony forming unit, antall bakterier
DHA:	Docosahexaenoic acid
DSC:	Differential Scanning Calorimetry
EPA:	Eicosapentaenoic acid
H ₂ S:	Hydrogensulfid
HP:	Høytrykksprosessering (HPP – high pressure processing; UHP – ultra high pressure; HHP – high hydrostatic pressure)
HPCD:	Høytrykk med CO ₂
L*:	Lyshet (0 = svart, 100 = hvit)
LAB:	Melkesyrebakterier (lactic acid bacteria)
MAP:	Modifisert atmosfærepakking
MPa:	Mega Pascal (1 MPa = 10 bar)
PATS:	Trykk-assistert varmesterilisering (HPTS – high pressure thermal processing)
PE:	Polyetylen
PET:	Polyetylen terephtale
PUFA:	Flerumettede fettsyrer (Polyunsaturated fatty acids)
TBA:	Thiobarbiturik syre
TBARS:	Tiobarbitursyre reaktive substanser
TMA:	Trimetylamin
TMA-N:	Trimetylamin-nitrogen
TMAO:	Trimetylaminoksid
TVB:	Totalt løselige baser
TVBN:	Flyktige nitrogenforbindelser
TVC:	Totalantall bakterier
WHC:	Water holding capacity, vannbindingsevne

Innhold

1	Høytrykksprosessering (HP) av mat	1
1.1	Bruk og anvendelse av høytrykk	1
1.1.1	Fordeler med HP	3
1.1.2	Utfordringer med HP.....	3
1.2	Anvendelse av HP på ulike matprodukter/kategorier	3
1.3	Fysiokjemiske endringer som følge av høyt trykk	4
1.4	Emballasje.....	6
1.5	Høytrykksutstyret til Nofima i Stavanger	6
2	Høytrykksprosessering av fisk	7
2.1	Fisk generelt.....	7
2.2	Laks (salmon).....	8
2.2.1	Røykelaks.....	9
2.2.2	Regnbueørret (rainbow trout)	12
2.3	Makrell (mackerel).....	13
2.4	Torsk (cod)	13
2.5	Sild (herring).....	16
2.6	Hyse/kolje (haddock).....	17
2.7	Piggvar (turbot)	18
2.8	Havabbor (sea bass).....	18
2.9	Steinbit (catfish)	19
2.10	Utvalg av andre fiskesorter det er gjort HP-studier på	20
3	Høytrykksprosessering av skalldyr	22
3.1	Hummer (lobster)	22
3.2	Krabbe (crab)	23
3.3	Reker (shrimp, prawn).....	23
3.4	Skjell (clam, mussel)	25
3.5	Østers (oyster)	26
3.6	Annen sjømat.....	26
4	Mattrygghet	28
4.1	Bakterier.....	28
4.1.1	Skade på mikroorganismene som følge av HP	28
4.1.2	Mikrobiell resistens mot HP	29
4.1.3	Effekt av matkomponenter på mikrobiell overlevelse	30
4.1.4	Synergistisk effekt av antimikrobielle forbindelser og HP mot mikroorganismer.....	30
4.1.5	Effekt av HP betingelser på inaktivering av mikroorganismer	31
4.1.6	Vegetative celler	31
4.1.7	Spoleringsbakterier.....	32
4.1.8	Patogene bakterier	34
4.1.9	Andre patogener.....	38
4.1.10	Sporer.....	39
4.2	Gjær og mugg	42
4.3	Virus.....	42
4.4	Parasitter.....	43
4.4.1	Anisakis simplex.....	43
4.4.2	Protoza	43
5	Matkvalitet – endringer i matprodukt som følge av HP	44

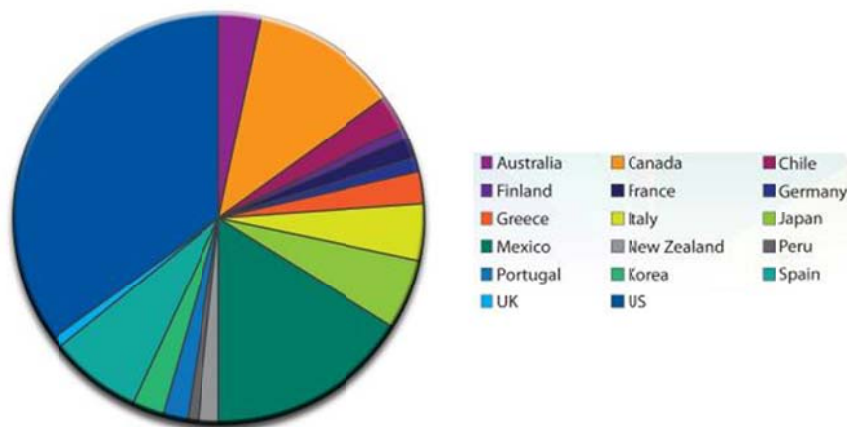
5.1	Tekstur	44
5.1.1	Gelatinisering – gel dannelse	45
5.2	Farge.....	46
5.3	Vannbinding (water holding capacity, WHC).....	47
5.4	Næringsverdi.....	48
5.5	Smak, sensorikk.....	48
5.5.1	Lipidoksidering og fettsammensetning	49
5.5.2	Flyktige nitrogenforbindelser og TMA.....	49
6	Kombinasjon av høytrykk og andre metoder	51
6.1	HP og varme	51
6.2	HP og pakkemetode.....	53
6.2.1	Pakkemateriale.....	54
6.2.2	Modifisert atmosfærepakking (MAP)	54
6.2.3	Aktivt pakkemateriale	55
6.3	HP og antimikrobielle komponenter	56
6.4	HP og frysing/tining	58
7	Kommersielle sjømatprodukter	60
8	Relevant utstyr for industrien	61
9	Referanser.....	62

1 Høytrykksprosessering (HP) av mat

1.1 Bruk og anvendelse av høytrykk

Høytrykk er en teknologi som har vist stort potensial for industriell og skånsom prosessering av mat. Høytrykksprosessering (HP) er en forholdsvis ny teknologi som er lite utviklet og utprøvd i Norge. Per dags dato er det ingen kommersielle anlegg i Skandinavia, men Nofima i Stavanger har et forskningsanlegg. HP som en metode for konservering av mat er i sterk vekst internasjonalt, med en årlig produktomsetning på 2,5 milliarder USD. HP benyttes hovedsakelig til å forlenge holdbarhet og/eller inaktivere mikroorganismer. HP brukes også til å konservere en rekke ulike produkter innen segmentene jus, ferdigretter, salater, påleggskjøtt, puréer og posteier.

Bruk av høytrykk for drap av bakterier ble benyttet allerede på slutten av 1800-tallet, og amerikaneren Bert Hite (1899) var den første til å benytte høytrykk på mat for pasteurisering av melk, frukt og grønnsaker (Knorr, 1995). Bruk av høyt trykk som teknologi for konservering av mat var lite benyttet i mange år, selv om det i 1960 og 70-årene var noe forskning på trykk og bakteriesporer. Først i 1980-årene ble forskning innen feltet høytrykk og mat gjenopptatt, og i 1991 ble de første kommersielle produktene tilgjengelige i Japan, produsert av Meidy-ya (Bermudez-Aguirre & Barbosa-Canovas, 2011). De siste to tiårene har interessen for høytrykksprosessert mat vært sterkt økende. Utstyr for høytrykksprosessering er nå tilgjengelig i en rekke land, Figur 1.1.



Figur 1.1 Bruk av høytrykksprosessering i ulike land pr. juni 2009 (Rogers & Avure, 2010).

Ved HP plasseres produktet i en stålbeholder med vann. Når beholderen er full, blir mer vann presset inn og det høye trykket blir skapt (se Figur 1.2). Trykket overføres umiddelbart og gir en homogen effekt i hele produktet uavhengig av geometri og størrelse. Ved standard kommersiell bruk av høytrykk skjer prosessering vanligvis ved 400–600 MPa i 1–5 min. Tabell 1.1 viser enhetene som brukes for trykk. Ved høyt trykk vil en også få økt temperatur som en følge av adiabatisk oppvarming. Generelt oppnås en økning på ca. 3 °C/100 MPa. Men dersom produktet inneholder store mengder fett kan økningen være på 7–9 °C/100 MPa.

Høytrykksbehandling av mat (eksempler i parentes) kan benyttes for å oppnå produkter med forbedret kvalitet (tekstur av sauser, supper og yoghurt), lengre holdbarhet (guacamole, bønner og kjøtt), økt mattrygghet (spekepølse, kjøttpålegg, røkt laks og kylling), sunnere og friskere mat (næringsstoffene blir godt bevart) og/eller økt ressursutnyttelse (enklere prosessering og økt utbytte fra skjell og skalldyr).

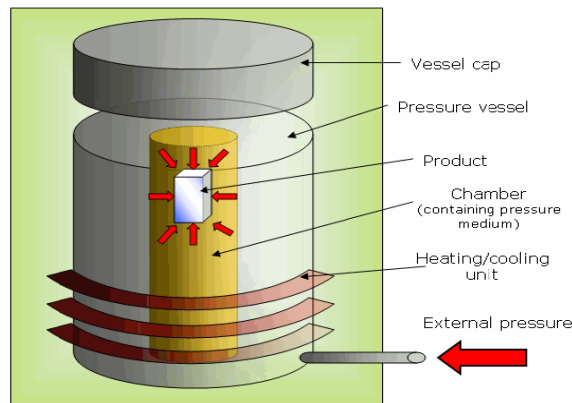
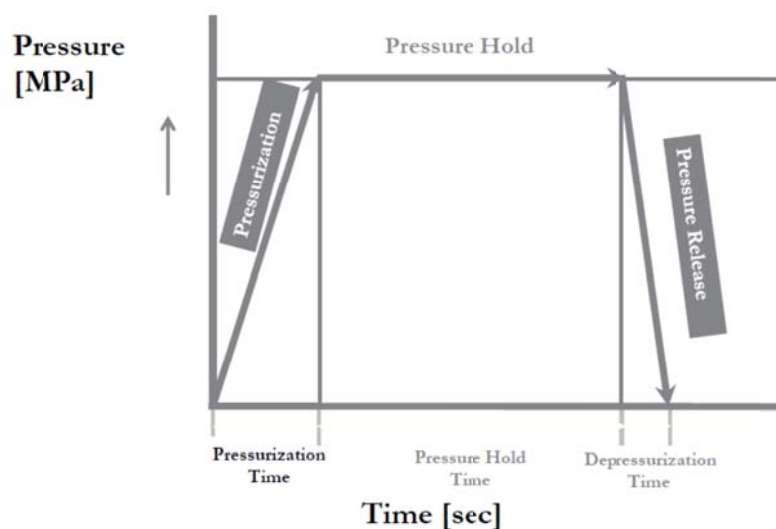


Figure1. Diagram of high pressure processing equipment

Figur 1.2 Skjematisk tegning av høytrykksprosesseringsutstyr (Black et al., 2007).

Tabell 1.1 Omregning av ulike enheter for trykk (Rivalain et al., 2010).

	Atmosphere	Bar	kg/cm ²	MPa	P.S.I. (pounds/inch ²)
Atmosphere	1	0.987	0.968	9.901	0.068
Bar	1.013	1	0.981	10.000	0.069
kg/cm ²	1.033	1.021	1	10.228	0.070
MPa	0.101	0.1	0.098	1	0.00689
P.S.I.	14.696	14.504	14.223	145.038	1



Figur 1.3 Skjematisk fremstilling av en høytrykksprosess hvor trykket bygges opp, holdes og frigis.

For å bygge opp et trykk på flere hundre MPa, tar det ofte noe tid. For nyere maskiner kan det bety rundt 2 min for å komme opp på 600 MPa. Slipp av trykk skjer derimot i løpet av 1–2 sek (Figur 1.3).

1.1.1 Fordeler med HP

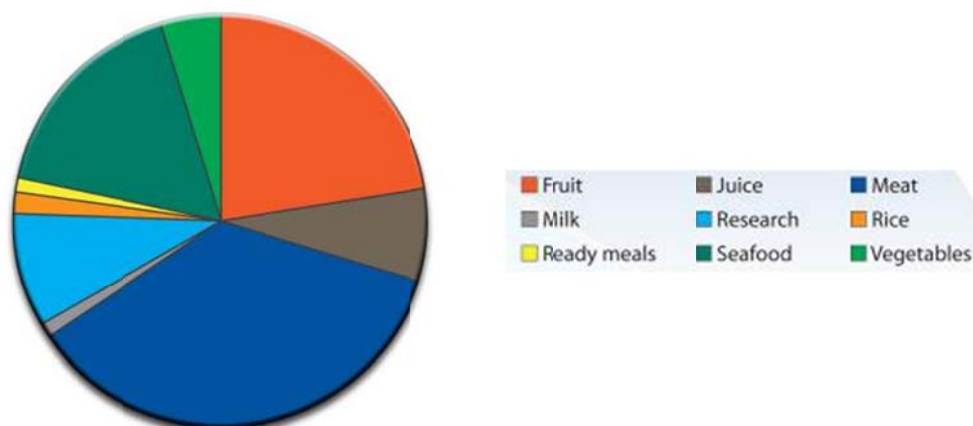
Fordeler med HP er at det muliggjør prosessering ved romtemperatur. Prosessen kan i tillegg kombineres med høy eller mild varmebelastning. Trykket overføres momentant til hele produktet uavhengig av geometri og størrelse, slik at en kan oppnå mikrobiell inaktivering i hele produktet, samtidig som lavmolekylære forbindelse som vitaminer, peptider og sakkarider vil være upåvirket av behandlingen. Prosessen kan gi endringer i større molekyler og dermed gi forandringer i tekstur og smak. Dette kan åpne for innovasjon av nye produkter som ikke er teknisk mulig med tradisjonell prosessering som varmebehandling. I tillegg får en redusert energiforbruk sammenlignet med tradisjonelle konserveringsmetoder, som varmebehandling.

1.1.2 utfordringer med HP

Ulike produkter er i ulik grad egnet for konservering ved bruk av høyt trykk. utfordringen er å finne det optimale skjæringspunkt hvor matsikkerheten er ivaretatt, og man oppnår produkter av god sensorisk kvalitet.

1.2 Anvendelse av HP på ulike matprodukter/kategorier

HP er en teknologi som kan benyttes for industriell skånsom prosessering av mat. HP brukes i økende grad for å konservere matvarer, og egner seg både for flytende og faste produkter. Prosessen er godt egnet for varme-sensitive produkter og produkter med lav pH (mye syre). Mange HP produkter er tilgjengelig på det europeiske og amerikanske markedet som fruktjuice, ferdigretter, salater, påleggskjøtt, puréer og posteier. Figur 1.4 viser fordelingen av HP innen ulike produktgrupper.



Figur 1.4 Anvendelse av høytrykk på ulike produktkategorier (Rogers & Avure, 2010).

Hovedsakelig benyttes HP for å forlenge holdbarhet og/eller inaktivere patogene mikroorganismer. HP benyttes ofte på et utvalg av produkter som selges som høykvalitetsprodukter hvor nettopp bruken av denne skånsomme prosesseringen benyttes som et salgsargument. Fokus er på matsikkerhet og at produktene er rene, naturlige (ikke tilsetnings-

stoffer) og sunne. Figur 1.5 viser et utvalg av kommersielt tilgjengelige produkter som er høytrykksbehandlet. Jusen *Flyt* fra Sunniva/Fellesjuice er det første HP produkt som selges på det norske markedet (lansert februar 2012).



Figur 1.5 Eksempler på kommersielle HP produkter.

Produkter som skal HP må ikke ha indre luftlommer (eks. hele jordbær og marshmallows) eller inneholde luft. Maten må også inneholde vann. Sistnevnte er viktig da tørre produkter ikke har nok fuktighet til å gjøre HP effektiv for å inaktivere mikroorganismer. Produkter med lavt syreinnhold (høy eller nøytral pH) må lagres kjølig pga. fare for vekst fra sporer. Ved kombinasjon med andre prosesser, som varme kan sporer drepes.

1.3 Fysiokjemiske endringer som følge av høyt trykk

Reduksjon av vannvolum er omtrent 4, 12 og 15 % ved henholdsvis 100, 400 og 600 MPa (ved 22 °C). Mat som inneholder mye vann og lite gass har en sammen-trykkbarhet som ligner det for vann. Adiabatisk sammentrykking av vann (eller flytende løsninger) forårsaker en temperaturøkning på mellom 2–3 °C pr 100 MPa. Når trykket slippes får man en tilsvarende nedgang i temperatur.

Trykk øker ioneproduktet $[H^+] \times [OH^-]$ i vann. Som følge av dette kan pH til vann, svake syrer og flere buffere (foruten 'trykkresistente' aminobuffere) synke med 0,2–0,5 pH enheter pr 100 MPa. Men disse endringer i pH (og pOH) er reversible når trykket frigis, men de kan bidra til proteinendringer under trykk (Cheftel & Culioli, 1997).

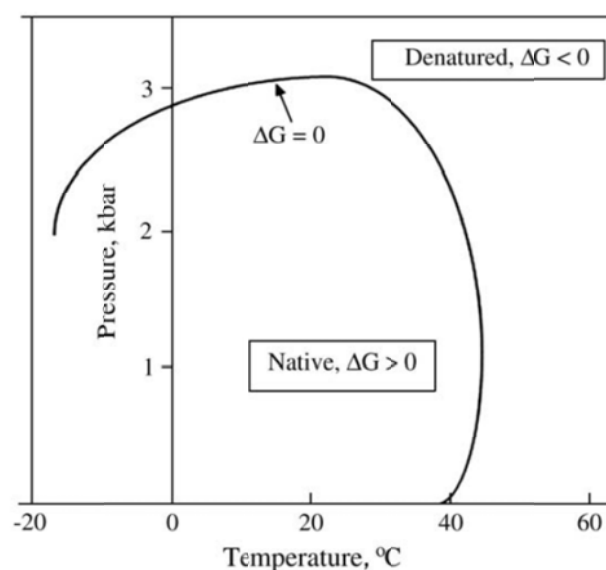
Lipidsystemer er de mest sensitive av biologiske komponentene. Under høyt trykk vil acylkjeder i membranen bli strukket med det resultat at man får lateral krymping, og dermed en økning i tykkelse. Dette fenomenet blir også fulgt av en fase-overgang fra væske-krystall til gelfase (Rivalain *et al.*, 2010). Smeltepunktet til lipider (triglycerider) øker, på en reversibel måte, med mer enn 10 °C per 100 MPa. Det vil si at lipider som er i en flytende tilstand ved romtemperatur vil krystalliseres under trykk. Det er kjent at membranen blir mer rigid ved økende trykk. Både membranproteiner og enzymer kan ha innvirkning på dette. Barotolerante organismer har membraner som er mer flytende, og dette er delvis pga. en økning i forholdet mellom umettede og mettede lipider.

Det er generelt antatt at HP induserer nedbrytning av (1) saltbindinger, som følge av 'electrostriction' og (2) i iallfall delvis hydrofobe interaksjoner. I motsetning til disse, ser det ut til at hydrogenbinder i noen grad blir forsterket under trykk (som følge av økning i volum). Kovalente bindinger har lav sammentrykkbarhet, og er mye mindre sensitive for endringer i trykk (Cheftel & Culioli, 1997). Effekt på ulike kjemiske interaksjoner er oppsummert i Tabell 1.2.

Tabell 1.2 Kjemiske interaksjoner sin følsomhet for høyt trykk (Rivalain *et al.*, 2010).

Type of interaction	$\Delta V_{\text{dissociation}}$ (ml mol ⁻¹)	Pressure effect
Covalent	+ 10	Stabilization
Ionic	- 10	Destabilization
Hydrogen	+ 3 to - 1	Stabilization or low destabilization
Hydrophobic	<0 (- 10 to - 20)	Destabilization

Ulike biokjemiske studier indikerer at trykk over 100-200 MPa, ved romtemperatur, ofte forårsaker (1) separasjon av oligomere strukturer i subenheter, (2) delvis utfolding (unfolding) og denaturering av monomere strukturer (i de fleste tilfeller irreversibelt), (3) proteinaggregering (trolig som en konsekvens av utfolding), og (4) protein gelatinisering når trykk og protein konsentrasjoner er høye nok. pH ionestyrke og tilstedeværelse av polyoler har innvirkning på protein aggregering og gelatinisering under trykk. Dannelsen av intermolekylære disulfidbindinger gjennom SH/SS reaksjoner ser ut til å øke under trykk. Studier gir indikasjoner på at det ikke er noe generelt mønster når det gjelder proteindenaturering som følge av trykk. Utfolding krever f.eks. veldig ulike trykk for ulike proteiner (Mozhaev *et al.*, 1996; Cheftel & Culioli, 1997). Et skjematisk trykk-temperatur diagram for proteindenaturering sees i Figur 1.6. Fasediagrammet for proteindenaturering er elliptisk, og gjelder bare for proteiner i løsning, da proteiner i en tørr tilstand vil være svært stabile for trykk (Rivalain *et al.*, 2010).



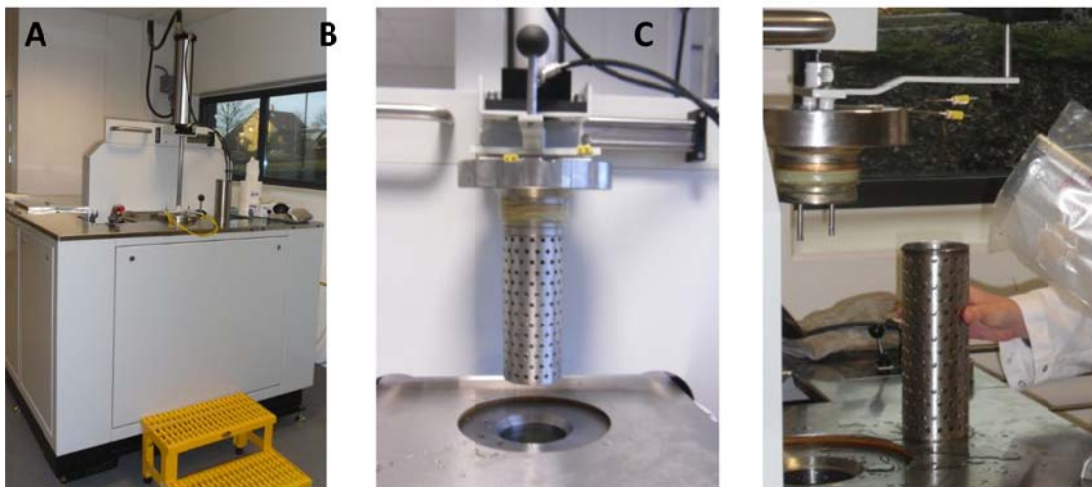
Figur 1.6 Trykk-temperatur overgangsdigram for proteindenaturering (Rivalain *et al.*, 2010).

1.4 Emballasje

Når matprodukter blir utsatt for ekstreme trykk, minker volumet som følge av det trykket som blir påført (korresponderer til kompressibiliteten til produktet). En tilsvarende ekspansjon forekommer når trykket slippes. Det er derfor helt nødvendig at maten pakkes i lufttett forpakning som kan motstå volumendringer. Emballasjen må tåle en reduksjon i volum på opptil 15 %, og videre kunne gå tilbake til sin originale form og størrelse uten endret forsegling eller barriereegenskaper. Sous vide-posere og PET-flasker er godt egnet som HP-emballasje. Glass og metall (hermetikk) er uegnet, men metallfolie som en finner i ulike tuber er egnet. Uansett pakkemateriale er det viktig å ha ingen/minst mulig headspace. Egen emballasje som er ugjennomtrengelig for oksygen og ugjennomsiktig for lys er blitt utviklet for å beholde ferskest mulig farge og smak på visse HP-produkter.

1.5 Høytrykksutstyret til Nofima i Stavanger

Nofima i Stavanger har det eneste forskningsanlegget i Skandinavia som har mulighet for å kombinere høyt trykk (maks 690 MPa) og varme. Høytrykksprosesseringen kan foregå i temperaturintervallet fra 8 til 90 °C. Da trykkøkningen også gir en viss økning i temperatur, er det mulig å oppnå sluttemperaturer på godt over 100 °C. Høytrykksmaskinen (QFP 2L-700) er produsent er Avure, og har et kammer på 2 liter. Oversiktsbilde av maskinen kan sees i Figur 1.7.



Figur 1.7 Oversiktsbilde av høytrykksmaskin (A). 2 L sylindere hvor prøvemateriale legges oppi for HP behandling (B og C) (Foto: Øygunn Skog).

2 Høytrykksprosessering av fisk

Denne litteraturgjennomgangen omhandler effekten av HP med et spesielt fokus på sjømat. Siden det er store ulikheter mellom matvarer og effekten av HP på disse er veldig forskjellig må man selv teste relevante produkter og lagringsbetingelser. Basert på tilgjengelig litteratur som omhandler effekt av HP kan det likevel gis noen indikasjoner på hvilke råvarer som kan egne seg for HP-prosessering og hva man må være oppmerksom på ved prosessering av de ulike råvarene.

Potensialet for bruk av HP rettet mot sjømatprodukter er lite utnyttet, og fokuset har hovedsakelig vært på østers og skjell. Med en stadig økende andel av sjømat som spises rå eller mildt prosessert er det spesielle utfordringer knyttet til holdbarhet og ferskhets til sjømat. HP gir potensiale for betydelig redusert svinn av lettbederlig mat pga. økt holdbarhetstid.

2.1 Fisk generelt

HP har vist seg å være en egnet teknologi for å gjøre sjømat tryggere, men også for å forlenge holdbarheten til produktene. Holdbarheten til sjømat er generelt kort og forringelse skyldes først og fremst autolytisk aktivitet og kjemisk degradering (Huss, 1995). Videre blir sjømat sensorisk ødelagt av Gram-negative bakterier (Gram *et al.*, 1987; Gram & Huss 1996; Gram & Dalgaard, 2002), som er kjent for å være relativt trykksensitive. Dette gjør at HP kan være en egnet teknologi for forlengelse av holdbarheten til sjømatprodukter. Enzymene som bidrar til forringelse vil kunne bli både inaktivert og aktivert under HP, og videre senke eller øke graden av nedbrytning. Proteolytiske enzymer i sjømat er mer utsatt for endring etter trykkbelastning enn tilsvarende enzymer fra varmblodige dyr, fordi fiskeenzymer er tilpasset kaldere omgivelser og derfor har en mer fleksibel struktur (Campus, 2010).

Som kvalitetsparameter er fargen på overflaten til fisk en av de første parametre som forbrukeren benytter for å bedømme om en matvare er bra eller skal forkastes. Fargen til fiskefilet er korrelert med et heme-basert pigment, den fysiske strukturen til muskelen og mengde ubundet vann (har innvirkning på lysbrytning) (Senturk & Alpas, 2012). I tillegg kan modifiseringer av proteinmatriksen, enzymatiske og ikke-enzymatiske reaksjoner som skjer som en konsekvens av myofibrillar-protein degradering og dissosiering av myofibrillar, forårsake farge-endringer under lagring (Cheret *et al.*, 2005). Se Tabell 2.1 for grenseverdier for akseptabel kvalitet hos fisk.

Tabell 2.1 Grenseverdier for akseptabel kvalitet (for originalreferanser, se Senturk & Alpas, 2012).

Kvalitetsparametere	Grenseverdi
TMA-N	<10-15 mg/100 g
TBA	<1-2 mg MDA/kg
Histamin	< 5 mg/100 g (5 ppm)
pH	< 6,8-7,0
Mesofile aerobe bakterier	10^6 - 10^7 cfu/g

HP vil kunne endre teksturen og det visuelle utseende til rå fisk, og endringene vil være annerledes enn de som oppstår ved varmebehandling. Hvilke endringer som skjer er avhengige av mengde trykk som fisken utsettes for, men også type fisk. Generelt vil HP gi en hardere tekstur på fiskekjøttet men også her er det forskjeller mellom ulike fisk. Karpe (Yoshioka & Yamamoto, 1998) og sobelfisk (bluefish) (Ashie *et al.*, 1997) er blitt rapportert å få en mykgjøring av kjøttet etter HP. Forsøk utført ved Nofima i Stavanger har også gitt hardere fiskekjøtt for torsk (Ytterligere opplysninger er konfidensielle fra oppdragsgiver).

Fargen vil også kunne påvirkes av trykkbelastning. Ved trykk >200 MPa er det vist at fisken ofte blir lysere og får et kokt utseende. Denne fargeendringen på rå produkter kan være negativ sett fra et forbruker perspektiv.

Lipider i fisk er mer utsatt for oksidering enn lipider man finner i de fleste typer kjøtt fra dyr. Dette kan forklares med en høy andel flerumettet fett og at de oksidative endringer induisert av HP gir stor effekt. I tillegg vil høyt trykk kunne modifisere strukturen og funksjonen til mange proteiner. Som et eksempel vil myosin fra både kjøtt og fisk bli denaturert av HP, og videre kunne danne en gel-lignende tekstur (Cheftel & Culioli, 1997).

Kap. 5 gir mer inngående informasjon om endringer i fisk relatert til tekstur, farge, næringsverdi og sensorikk.

2.2 Laks (salmon)

Laks er et høykvalitetsprodukt, og fersk laks har en kommersiell holdbarhet på ca. 1 uke ved 2-8 °C. Modifisert atmosfære pakking (MAP) har vært benyttet for å øke holdbarheten på laks, og en høytrykksstudie har også studert effekten av HP på MAP laks (Amanatidou *et al.*, 2000). Kun HP (150 MPa, 10 min ved 5 °C) resulterte i en 2 dagers økt holdbarhet sammenlignet med vanlig vakuumpakket laks. MAP (50 % O₂ + 50 % CO₂) alene økte holdbarheten med 4 dager ved lagring 5 °C. Ved å kombinere HP på laks pakket i MAP nådde man ikke terskel for forringelse (~10⁷ cfu/g) selv etter 18 dager.

Effekten av høytrykksprosessering (150 og 300 MPa, 15 min) og koking (72 °C i kjerne) på kvaliteten til laks (*Salmo salar*) ble undersøkt i en studie av Yagiz *et al.* (2009). HP ved 300 MPa og koking viste høyere L*- og b*-verdier, og lavere a*-verdier sammenlignet med ubehandlet kontroll og prøver kjørt ved 150 MPa. Økning i trykk resulterte i økt hardhet, gummiaktighet og tyggemotstand, og nedgang i sammenklebrighet sammenlignet med kontroll og kokt prøve. Både koking og HP 150 MPa gav tilnærmet lik oksidering, mens behandling ved 300 MPa viste en effektiv reduksjon i oksidasjon. Fettsyreprofilen ble undersøkt, og kokt laksemuskel viste signifikant lavere mengde av total mettet n-3 flerumettede fettsyrer (polyunsaturated fatty acids, PUFA) og n-6 PUFA, og signifikant høyere andel av monoenes enn HP gjennom hele lagringsperioden. Det viktigste som ble funnet i denne studien var at det ikke var signifikante forskjeller mellom kontroll og HP prøver når det gjaldt totalt mettede, monoenes, n-3 PUFA og n-6 PUFA fettsyreprofiler. Dette kan tyde på at HP er en veldig mild prosess med hensyn på fettsyrer.

I en annen studie ble bl.a. effekten av HP ved romtemperatur (~21 °C) og 70 °C på kokt laks og steinbit undersøkt (McKenna *et al.*, 2003). For mer detaljer rundt forsøkene henvises det til Tabell 2.8 senere i kapitlet.

Rå fisk blir stadig mer populært, både i form av sushi, sashimi og carpaccio. Rå laks ble utsatt for 200–300 MPa ved 7 °C i 15 min eller tre pulser à 5 min (Gómez-Estaca *et al.*, 2009). Trykket gav økt skjærkraft, og reduserte vann- og lipid-bindingsegenskapene. I tillegg ble det observert fargeforskjeller. Selv om forskjeller ble observert av et sensorisk panel, fikk likevel produktene god bedømmelse og høy score. Effekten av å utsette produktene for en eller flere pulser var generelt den samme.

Oppdrettsfisk av sølv laks (coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*) (Aubourg *et al.*, 2010) ble utsatt for HP (T1: 135 MPa, 30 s; T2: 170 MPa, 30 s, og T3: 200 MPa, 30 s) og sammenlignet med ubehandlet kontroll gjennom en 20 dagers lagringsperiode. Det ble observert en markant signifikant effekt av HP på mikrobiell aktivitet med økende effekt av økende trykk. Studien av lipidoksidasjon viste høyere peroxide-verdier (dag 10–20 perioden) i kontrollen og T1-fisken sammenlignet med de som ble behandlet ved T2 og T3. På den annen side viste mengden TBA-substanser å være høyere for fiskeprøver korresponderende til T2 og T3.

2.2.1 Røykelaks

Det er gjort flest studier av laks relatert til røykelaks. Kaldrøkt laks når aldri temperaturer >28–32 °C, noe som gir begrenset inaktivering av enzymer i laksevevet (Lakshmanan *et al.*, 2003). Det meste av forringelsen av kaldrøkt laks er knyttet til enzymaktivitet, men også tilstedeværelse av patogener som *Listeria monocytogenes* og *Clostridium botulinum* type E er en viktig bekymring. Siden HP kan benyttes for inaktivering/deaktivering av enzymer relatert til matforringelse, kan HP være en gunstig prosesseringsmetode for å forlenge holdbarhet og øke kvaliteten til flere typer matprodukter.

Vanninnhold i fersk laks ligger på 66–72 %, og blir under salting redusert til 63–67 % ved produksjon av røykelaks. I en studie av Lakshmanan *et al.* (2007) ble HP sin innvirkning på vannbindingsevne (WHC) i laks (*Salmo salar*) og kaldrøkt laks undersøkt ved trykk <200 MPa, 10–20 min. Studien viste at både trykk og tid hadde signifikant effekt på vanninnhold i kaldrøkt laks, men ikke i fersk (Tabell 2.2.A). Fersk laks hadde lavere WHC enn røyket laks (Tabell 2.2.B.), og behandling ved 150 MPa i 10 min gav 2 % økning i WHC til røykelaksen. Low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) undersøkelser viste at spin-spin proton relaxation (T_2) verdiene i stor grad ble påvirket av HP, både i fersk og røyket laks. Som i flere andre studier ble det også vist at trykk >~300 MPa gir hardere tekstur. Studien rapporterte noen ganger om observasjon av «jelly-like» og veldig myk tekstur i røykelaks.

Tabell 2.2 Endringer i (A) vanninnhold (%) og (B) WHC (%) i kontroll og HP-behandlede prøver (gj.snitt \pm SD) (Lakshmanan et al., 2007).

A

Treatment conditions		Sample type	
Pressure (MPa)	Time (min)	Fresh	CSS
0.1	0	70.2 \pm 3.5	63.5 \pm 0.6
100	10	73.6 \pm 0.6	67.7 \pm 2.0
150	10	73.1 \pm 0.3	66.8 \pm 2.2
200	10	74.9 \pm 2.7	67.6 \pm 4.7
100	20	71.5 \pm 0.9	68.6 \pm 3.3
150	20	71.6 \pm 1.5	66.0 \pm 1.3
200	20	69.5 \pm 3.3	70.6 \pm 0.7

B

Treatment conditions		Sample type	
Pressure (MPa)	Time (Min)	Fresh	CSS
0.1	0	90.6 \pm 1.0	95.1 \pm 0.5
100	10	86.5 \pm 0.5	96.1 \pm 0.7
150	10	82.5 \pm 2.1	97.0 \pm 0.9
200	10	85.0 \pm 1.3	94.6 \pm 0.3
100	20	87.6 \pm 0.9	95.8 \pm 0.8
150	20	84.2 \pm 1.3	95.8 \pm 0.5
200	20	89.7 \pm 0.9	94.5 \pm 1.1

Both pressure and process time did not influence moisture content in fresh salmon, but significantly in cold-smoked salmon samples at $p = 0.036$ and 0.035 , respectively.

Det er kjent at HP kan indusere endringer i farge og tekstur hos fisk, med økende effekt ved økende trykk. Det kan være en utfordring å opprettholde god kvalitet på matvarer samtidig som man oppnår inaktivering av mikroorganismer. I en studie av røykelaks utsatte man fisken for høye trykk (opp til 900 MPa), men med veldig kort holdetid, <60 sek (Gudbjornsdottir et al., 2010). Trykk på 700–900 MPa i 10 sek økte inaktiveringen av *Listeria innocua* fra $4,5 \times 10^3$ cfu/g til ikke-detekterbare nivå (<0,3 cfu/g). Det viste seg også at *L. innocua* var mer sensitiv for HP enn bakgrunnsfloraen. Tabell 2.3 viser effekt av HP ved 500 og 900 MPa ved ulike holdetider og under lagring <41 dager.

Tabell 2.3 Mikrobiell evaluering av vakuumpakket kaldrøykt laks (inokulert med *L. innocua*) etter HP ved (A) 500 MPa og (B) 900 MPa. Prøvene ble lagret ved 5,5 °C. Snitt av to prøver (gj.snitt \pm SD) (Gudbjornsdottir et al., 2010).

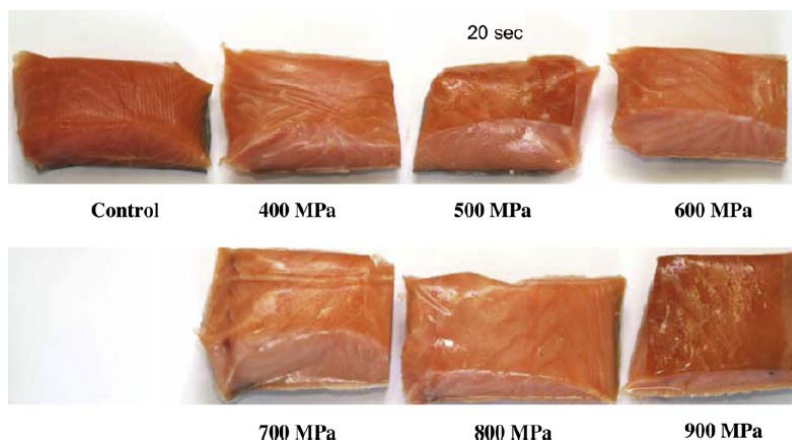
A

Treatment time (s)	Total viable psychrotrophic count on LH (log cfu/g)					Lactic acid bacteria on NAP (log cfu/g)				
	0	10	20	30	60	0	10	20	30	60
Storage time (days)										
5	3.68 \pm 1.21	2.86 \pm 0.64	2.52 \pm 0.04	3.49 \pm 0.96	2.80 \pm 0.12	5.55 \pm 0.77	1.45 \pm 0.64	2.45 \pm 0.04	2.69 \pm 0.56	2.18 \pm 0.04
12	3.47 \pm 0.38	2.27 \pm 0.52	2.48 \pm 0.14	na	3.24 \pm 0.80	5.40 \pm 3.03	3.02 \pm 2.01	2.24 \pm 0.14	3.58 \pm 1.8	3.77 \pm 2.81
26	4.71 \pm 0.56	3.65 \pm 0.04	3.22 \pm 0.71	5.28 \pm 1.44	4.27 \pm 0.18	8.14 \pm 0.09	6.10 \pm 0.72	3.42 \pm 1.43	6.09 \pm 1.54	5.38 \pm 0.18
41	4.80 \pm 0.96	4.60 \pm 1.69	5.20 \pm 0.12	5.22 \pm 0.57	3.56 \pm 0.79	8.78 \pm 0.24	7.58 \pm 0.12	6.44 \pm 1.22	7.79 \pm 0.91	6.30 \pm 0.85

B

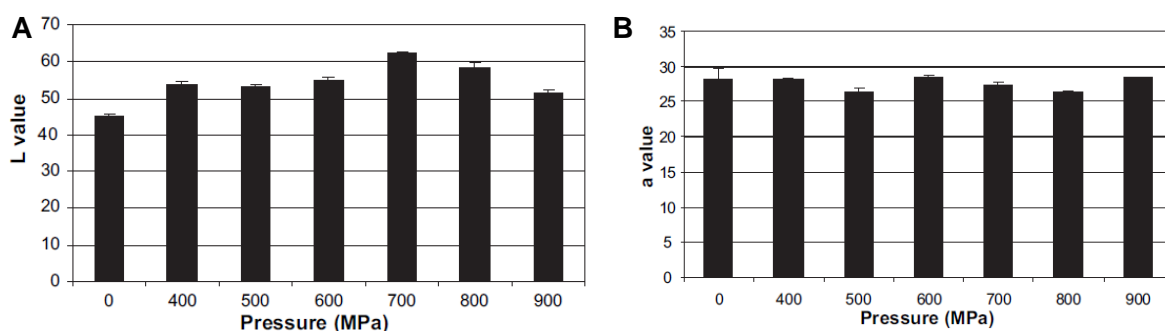
Treatment time (s)	Total viable psychrotrophic count on LH (log cfu/g)					Lactic acid bacteria on NAP (log cfu/g)				
	0	10	20	30	60	0	10	20	30	60
Storage time (days)										
5	3.68 \pm 1.21	1.45 \pm 0.21	1.00 \pm 0	2.11 \pm 1.57	1.79 \pm 1.12	5.55 \pm 0.77	na	1.30 \pm 0	1.57 \pm 0.81	1.00 \pm 0
12	3.47 \pm 0.38	1.45 \pm 0.21	1.30 \pm 0.43	1.00 \pm 0	1.00 \pm 0	5.40 \pm 3.03	4.52 \pm 1.01	1.15 \pm 0.21	1.39 \pm 0.55	1.00 \pm 0
26	4.71 \pm 0.56	2.29 \pm 0.30	2.99 \pm 0.27	1.69 \pm 0.12	1.45 \pm 0.21	8.14 \pm 0.09	3.11 \pm 0.86	4.00 \pm 0.48	2.00 \pm 0	2.37 \pm 0.52
41	4.80 \pm 0.96	na*	na	na	1.00 \pm 0	8.78 \pm 0.24	na	na	na	1.00 \pm 0

Det ble ikke observert lipidoksidasjon og fargen på selve fiskestykkene ble i liten grad påvirket (Figur 2.1).

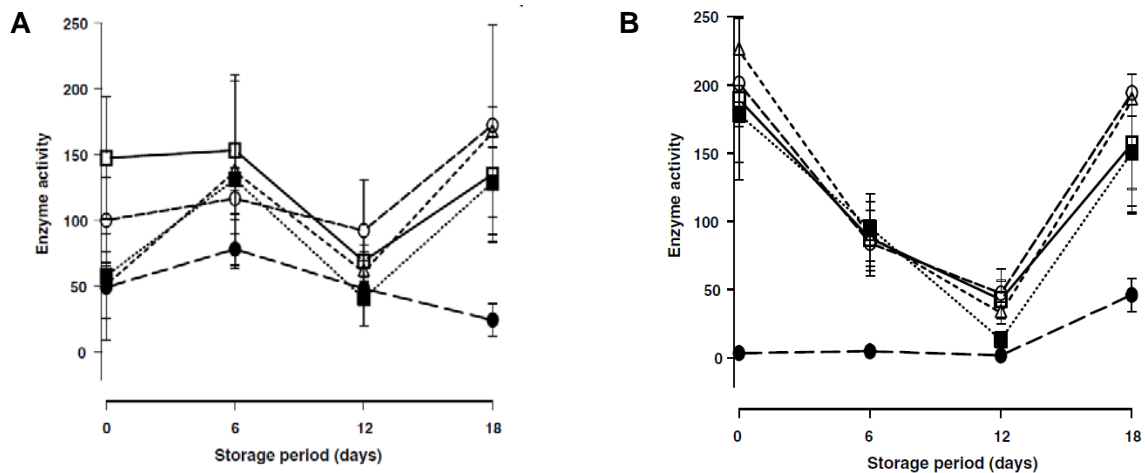


Figur 2.1 Fotografier av røykelaks utsatt for ulike trykk i 20 sek. Foto er tatt to dager etter prosessering (Gudbjornsdottir et al., 2010).

Det ble ikke observert noen effekt av HP på rødhet, men en umiddelbar effekt på lyshet ble observert ved lysere kjøttfarge som en effekt av trykk og tid (Figur 2.2). Andre, som Amanatidou *et al.* (2000) har rapportert signifikant nedgang i rødhet, men i disse studiene har man ofte benyttet lange holdetider, gjerne >10 min. I studien til Gudbjornsdottir *et al.* (2010) var høyeste verdi for lyshet aldri >62 (Figur 2.2). En terskelverdi for akseptabel farge har ikke vært rapportert for røykelaks, men for fersk laks er verdier >70 ansett som ikke-akseptabelt. Mikrostrukturen ble også studert, og effektene her var minimale ved 400 MPa, men mer markant ved høyere trykk, og høyest ved 900 MPa i 60 sek. Effekten på tekstur var ikke helt tydelig. Ved 400 og 500 MPa i 10, 20, 30 og 60 sek fikk man en nedgang i seighet/hardhet (toughness) sammenlignet med kontrollen, mens for prøver utsatt for 700-900 MPa fikk man en seighet/hardhet ganske lik kontrollprøvene. En årsak til disse sprikende resultatene kan være at teksturanalysene i forsøket ble gjort på stykker fra ulike steder på filetene.



Figur 2.2 Måling av (A) lyshet (L^*) og (B) rødhet (a^*) av HP røykelaks (20 sek). Prøvene ble målt med MiniScan fra HunterLab etter 2 dagers lagring. Snitt av tre prøver (gj.snitt \pm SD) (Gudbjornsdottir et al., 2010).

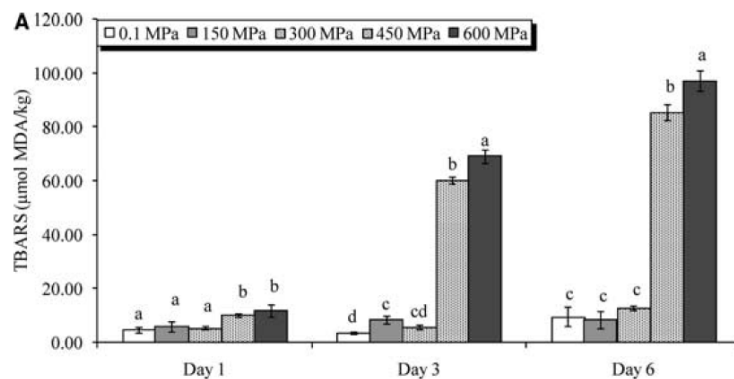


Figur 2.3 Endringer i nivå av (A) cathepsin B+L og (B) calpain i kontroll (\square) og HP kaldrøykt laks utsatt for 100 (\circ), 150 (\triangle), 200 (\blacktriangle) og 300 (\bullet) MPa under lagring. Aktiviteten er gitt som økning i fluorescens intensitet/g våtvekt/10 min (Lakshmanan et al., 2005).

Effekt av HP på aktiviteten til proteolytiske enzymer i røykelaks og i enzymekstrakter ble undersøkt ved trykk <300 MPa (Lakshmanan et al., 2005). Cathepsin B og L har vært funnet å være ansvarlig for mykningen en opplever i moden laksemuskel. Enzymene cathepsin B-like, cathepsin B+L-like og calpain ble redusert ved alle testede trykk (<300 MPa, 20 min ved ~ 9 °C). HP hadde ingen generell påvirkning på proteolytisk aktivitet, men aktiverte enzymer i muskel i HP-prøver lagret opptil 18 dager. En økning i cathepsin B+L-like og calpain ble sett etter 12 dagers kjølelagring (Figur 2.3).

2.2.2 Regnbueørret (rainbow trout)

Ørretfileter ble i en studie utsatt for ulike trykk (150, 300, 450 og 600 MPa) i 15 min, og deretter lagret ved 4 °C (Yagiz et al., 2007). Lipidoksidasjon (målt ved TBARS), totaltall, tekstur og farge ble målt etter 1, 3 og 6 dagers lagring. HP ved >300 MPa gav en 6 log reduksjon, og etter 6 dager så man ingen vekst for prøver utsatt for 450 og 600 MPa. TBARS-verdiene viste en økning med økende trykk (Figur 2.4). De mest optimale betingelsene ble oppnådd ved et trykk på 300 MPa når mikrobiell belastning, lipidoksidasjon og fargeendringer ble tatt i betraktning.



Figur 2.4 Endringer i lipidoksidasjon (sekundære oksidasjonsprodukter) som TBARS for regnbueørret muskel etter HP etterfulgt av lagring i 6 dager. Ulike bokstaver indikerer signifikante forskjeller $P < 0,05$ ved Tukey's HSD (Yagiz et al., 2007).

2.3 Makrell (mackerel)

Makrell er en fisk som er rik på mineraler, vitaminer og flerumettede fettsyrer (Erkan *et al.*, 2011). Rå makrell har litt rødlig kjøtt. En HP-studie viste en merkbar nedgang i a^* -verdi (indeks for å visualisere rødhet) i fiskemuskel (HP opp til 608 MPa, 15 min). Ingen signifikante endringer i gulhet (b^*) ble observert. Samme studie viste også at trykkbehandling i 15-30 min ved 200-600 MPa ga økt lipidoksidasjon, målt som peroksid (Ohshima *et al.*, 1993).

I en annen studie med hestemakrell (*Trachurus trachurus*) ble lavere trykk benyttet (220, 250 og 330 MPa, 5 og 10 min) og i tillegg ble forsøkene kjørt ved ulike temperaturer (7, 15 og 25 °C) (Erkan *et al.*, 2011). Ved studie av fargeendringer observert man ingen signifikante endringer i a^* eller b^* etter HP, men L^* økte. Når det gjelder lipidoksidasjon, ble denne målt som malonaldehyd-innhold (TBA-i). Av alle de testede betingelser ble det ikke funnet signifikante forskjeller mellom ubehandlede og HP-prøver (ett unntak). Dette kan tyde på at HP av fet fisk, ved lave trykk (<330 MPa) ikke gir høyere grad av oksidering enn mindre fete fiskesorter. TMA-N (trimetylamin nitrogen) innhold, som ofte blir benyttet som biokjemisk indeks for vurdering av fiskekvalitet, ble ikke/lite påvirket av HP. Men for noen av betingelsene var HP-prøvene lavere enn de ubehandlede. Disse endringene kan trolig tilskrives hemming av proteolytisk aktivitet. Av de testede betingelsene gav disse fire best resultater: 250 MPa, 7-15 °C i 5 min, 220 MPa, 15-25 °C i 5 min, 250 MPa, 15 °C i 10 min og 330 MPa, 25 °C i 10 min (Erkan *et al.*, 2011).

Effekt av HP (200, 300 og 400 MPa, 5 og 15 min ved 5, 10 og 15 °C) på kvaliteten av atlantisk makrell (*Scomber scombrus*) viste at behandling ved 200 og 400 MPa gav en holdbarhet på henholdsvis 17 og 19 dager sammenlignet med rå makrell, som bare hadde akseptabel kvalitet i 7 dager (Senturk & Alpas, 2012). Prøvene ble da lagret ved 4 °C. Fargeendringer som følge av HP var økning i L^* -verdier og nedgang i a^* med økende trykk, mens for b^* var det ingen signifikante endringer.

2.4 Torsk (cod)

I en studie med fersk torsk (*Gadus morhua*) uten tilsetninger, ble denne utsatt for HP ved 100, 200 og 400 MPa, 10 min og 0 °C. Deretter ble den frosset og lagret ved -20 °C i 0, 3 og 6 måneder (Matser *et al.*, 2000). Etter fryselagring ble prøvene tint og varmet til 60 °C i 30 min og deretter kjølt til romtemperatur. Utseende på de ubehandlede og trykkbehandlede prøvene var likt etter varmebehandling. Vurdering av prosessstap og tekstur (hardhet) viste små forskjeller mellom rå og prøvene utsatt for 100 MPa (Tabell 2.4). Når det gjaldt prosessstap, var den største forskjellen for prøver utsatt for 100 og 200 MPa, hvor tapet var på henholdsvis 10,1 og 17,4 %. For hardhet så man en økning med økende trykk. For prøver utsatt for 200 eller 400 MPa var det liten forskjell for prøver lagret i 3 eller 6 måneder. Selv ikke-trykkede prøver viste bare en liten økning i hardhet under lagring.

Tabell 2.4 Prosesstap som % av ferskvekt (A) og hardhet (B) av kvernet torsk utsatt for HP ved ulik lagringstid ved -20 °C (Matser et al., 2000).

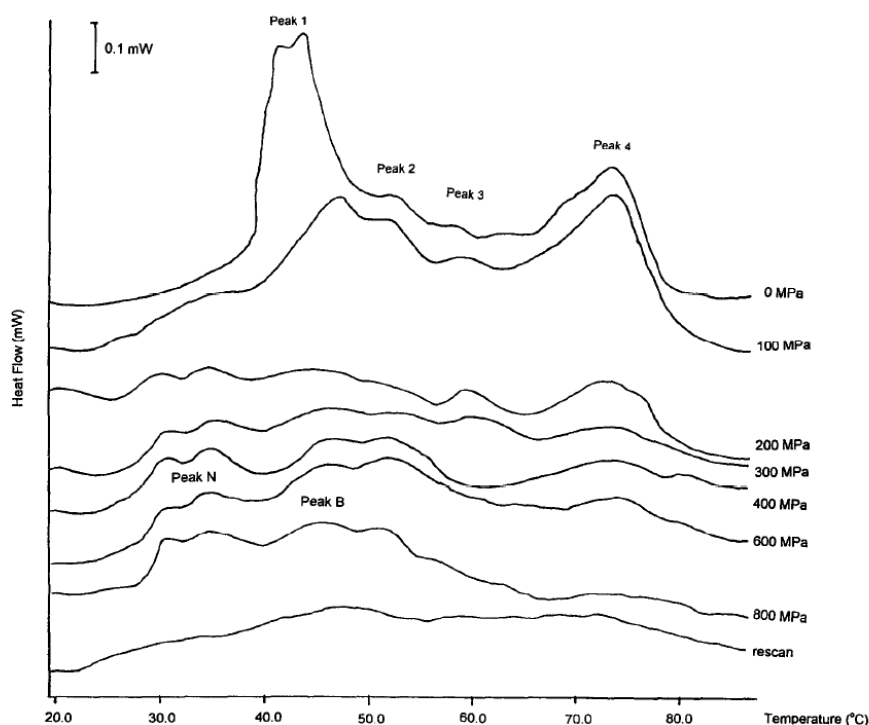
A: Prosesstap

<i>Treatment</i>	<i>0 months</i>	<i>3 months</i>	<i>6 months</i>
raw	8.1 ± 1.6	5.8 ± 2.4	2.9 ± 0.3
100 MPa	9.2 ± 2.0	10.1 ± 0.9	6.1 ± 0.2
200 MPa	19.6 ± 1.0	17.4 ± 0.7	17.8 ± 1.4
400 MPa	18.1 ± 0.3	20.2 ± 0.2	21.5 ± 0.5

B: Hardhet

<i>Treatment</i>	<i>0 months</i>	<i>3 months</i>	<i>6 months</i>
raw	7.7 ± 0.9	8.5 ± 1.3	10.7 ± 1.0
100 MPa	6.4 ± 1.1	8.2 ± 0.2	10.4 ± 0.9
200 MPa	11.3 ± 1.6	14.5 ± 2.5	14.7 ± 1.4
400 MPa	19.4 ± 4.8	19.3 ± 1.0	19.5 ± 0.8

Høytrykksprosessert torsk utsatt for 200-600 MPa i 15-30 min, gav økt lipidoksidasjon, målt som peroksider (Ohshima *et al.*, 1993). I en studie av Angsupanich & Ledward (1998) ble effekt av HP på torsk undersøkt. HP ved 200 MPa, 20 min, gav små endringer i TBA (thiobarbitulsyre, mål på oksidativ stabilitet) sammenlignet med fersk prøve. En økning av trykk til 400 MPa eller høyere, 20 min, gav derimot en betydelig økning i TBA. Etter 7 dagers lagring i luft, 4 °C, så man også en betraktelig økning for prøver utsatt for >400 MPa. Dersom fisken ble pakket i nitrogen så man marginale endringer for prøver utsatt for 400 MPa eller mindre. Mens en stor økning for prøver utsatt for 600 og 800 MPa ble observert. For de samme prøvene så man en liten økning i pH etter trykkbehandling; rå: pH 6,6, og fisk utsatt for 800 MPa: pH 6,8. DSC (Differential scanning calorimetry) av torsken viste at ved 100 MPa i 20 min, fikk man et signifikant tap av myosin-toppen, og ved 200 MPa er den nesten forsvunnet (Figur 2.5). Ved 300 MPa begynner man å få denaturering av flere sarkoplasmatiske proteiner og aktin. Etter denaturering av myosin blir flere topper tydelige rundt 32 °C (peak N). Dette kan være nye strukturer som er dannet, eller de kan ha vært maskert av de høye myosin-toppene. Flere nye topper oppstår også i området 40-60 °C (peak B). Trykk >400 MPa denaturerer både myosin og aktin, men ikke alle sarkoplasmatiske proteiner. Ved tekstur-analyser av samme fiskeprøver, utsatt for både trykk og varme, ser det ut til at gummiaktighet (gumminess), sammenklebrighet (adhesiveness), hardhet (hardness) og tyggemotstand (chewiness) til varmede prøver hadde en nedgang når temperaturen økte til 50 °C, hovedsakelig pga. myosindenaturering (og kollagen) siden aktin og mange sakroplasmatiske proteiner ikke denaturerer under 50 °C. Nedgang i hardhet og tyggemotstand ble ikke funnet ved trykk på 200 MPa. For prøver utsatt for 800 MPa, så man at for egenskaper som gummiaktighet, hardhet, tyggemotstand og sammenklebrighet fikk man en nedgang sammenlignet med prøver utsatt for 400-600 MPa (Angsupanich & Ledward, 1998). Et sammendrag av trykk-induserte endringer i torskemuskel er oppsummert i Tabell 2.5.



Figur 2.5 Termogram av torskemuskel etter behandling ved ulike trykk i 20 min ved ulike temperaturer, varmet 10 °C per min. Topp 1 tilsvarer myosin; 2 og 3: sarkoplasmatiske proteiner og 4: aktin. Topp N og B representerer nye strukturer dannet etter HP (Angsupanich og Ledward 1998).

Tabell 2.5 Trykk-induserte endringer i torskemuskel (Angsupanich & Ledward, 1998).

Pressure range (MPa)	Lipid stability	Protein stability	Protease activity	Texture
0–200	No effect	Myosin, denatured, New gel formed	Slight increase in acid proteases	Decreased adhesiveness, gumminess, cohesiveness
200–400	No effect	Actin plus some sarcoplasmic denatured. New structure formed.	Marked decrease in acid, neutral and alkaline proteases	Increased hardness, adhesiveness, chewiness, gumminess
400–800	Marked decrease	Little further change	Further decreases especially with alkaline protease.	Slight changes including decrease in adhesiveness and hardness

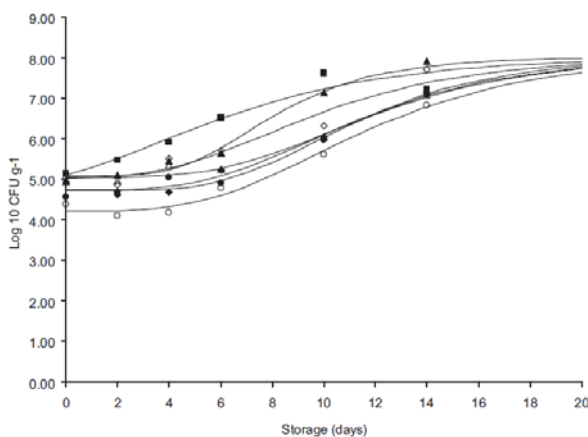
Kaldrøkt torsk ble utsatt for HP ved 400, 500 og 600 MPa i 5 og 10 min (Montiel *et al.*, 2012). Effekten av denne behandlingen på mikrobiologiske, kjemiske, tekstur og sensoriske karakteristika ble undersøkt rett etter HP og etter 60 dagers lagring ved 5 °C. Ingen endringer i lipidoksidasjon (målt ved TBARS) ble observert etter trykkbehandling eller under lagring. Bare mindre verdier av biogene aminer, i form av tryptamine og spermine, ble detektert. Selve fiskemuskel ble lysere, og L* - og b* -verdiene ble høyere som en effekt av HP. For a* så man derimot en nedgang. Økt hardhet, målt med en Kramer-celle, og økt skjærkraft, målt med Warner-Bratzler kniver, ble funnet for HP-prøvene. Men, denne forskjellen sammenlignet med de ubehandlede røkte referanseprøvene ble mindre utover lagringsperioden. Til tross for at endringer i farge og tekstur kan begrense bruk av HP på røkt torsk gav følgende betingelser best resultater relatert til økt holdbarhet: 400 MPa i 10 min eller 500 MPa i 5 min (Montiel *et al.*, 2012).

Carpaccio av «desalted bacalao» torsk (utvannet) ble, sammen med laks og tunfisk, utsatt for HP (200–300 MPa, 7 °C i 15 min) (Gómez-Estaca *et al.*, 2009). Den utvannede torsken viste seg å være mest stabil etter HP, og sensorisk analyse viste at fisken i de fleste tilfeller hadde beholdt de rå egenskapene.

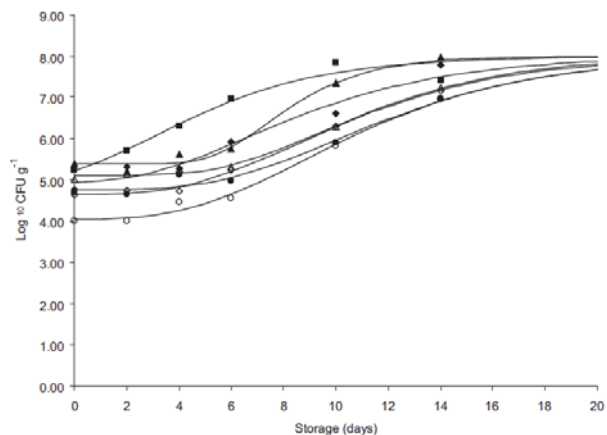
2.5 Sild (herring)

Effekten av HP på fersk og vakuumpakket sild (*Clupea harengus*) utsatt for 200, 250 og 300 MPa ved 10 °C i 1 og 3 min ble undersøkt (Karim *et al.*, 2011). Silden ble deretter lagret på is ved 2 °C i opp til 14 dager. Under lagring ble endringer i mikrobiologisk kvalitet undersøkt. I tillegg ble det gjort målinger av flyktige nitrogen forbindelser (TVBN) og TMA produksjon. Resultatene viste at etter ~4 dager hadde man $>10^6$ cfu/g (satt som grense for akseptabel kvalitet) i kontrollfisken. Ved å utsette silden for 200 MPa/3 min forlenget man holdbarheten til ~14 dager. Figur 2.6 og 2.7 viser effekten av HP på henholdsvis aerobe og psykrotrofe bakterier ved ulike trykk og holdetider.

Ved bruk av kjemiske parametere (TVBN og TMA) for å undersøke kvaliteten til silden, ble det ikke observert uakseptable nivå etter 18 dager (200 MPa/3 min) sammenlignet med 5,5 dager i kontrollene. Tabell 2.6 viser estimering av holdbarhet basert på ulike parametere.



Figur 2.6 Effekt av HP på aerobe bakterier i vakuumpakket sild under lagring på is ved 2 °C. Kontroll (■), 200 MPa 1 min (▲), 200 MPa 3 min (△), 250 MPa 1 min (◆), 250 MPa 3 min (◇), 300 MPa 1 min (●) og 300 MPa 3 min (○). LSD= 0,91 ved 5 % nivå (Karim *et al.*, 2011).



Figur 2.7 Effekt av HP på psykrotrofe bakterier i vakuumpakket sild under lagring på is ved 2 °C. Kontroll (■), 200 MPa 1 min (▲), 200 MPa 3 min (△), 250 MPa 1 min (◆), 250 MPa 3 min (◇), 300 MPa 1 min (●) og 300 MPa 3 min (○). LSD= 0,82 ved 5 % nivå (Karim *et al.*, 2011).

Tabell 2.6 Estimering av holdbarhet i vakuumpakket sildefilet lagret på is ved 2 °C. Basert på verdier fra å tilpasse kurve fra aerobe og psykrotrofe bakterier, TVBN og TMA data (n=3) (Karim et al., 2011).

Treatments	Shelf-life (days) ^a based on curve fitting the aerobic count data	Shelf-life (days) ^a based on curve fitting the psychrotrophic count data (days)	Shelf-life (days) ^b based on curve fitting the TVBN data	Shelf-life (days) ^c based on curve fitting the TMA data	Mean predicted ^d shelf-life (days)
0.1 MPa (Controls)	5.91	4.31	5.50	7.40	5.78
200 MPa/1 min	10.73	11.51	8.40	12.00	10.66
200 MPa/3 min	14.53	12.80	21.90	18.20	16.86
250 MPa/1 min	13.12	11.04	13.20	12.70	12.52
250 MPa/3 min	14.35	13.40	16.90	18.10	15.69
300 MPa/1 min	13.96	14.22	20.10	24.40	18.17
300 MPa/3 min	16.00	14.56	17.90	18.10	16.64

Shelf-life was determined based on the following criteria.

^a Time for counts to reach 10^6 CFU g^{-1} .

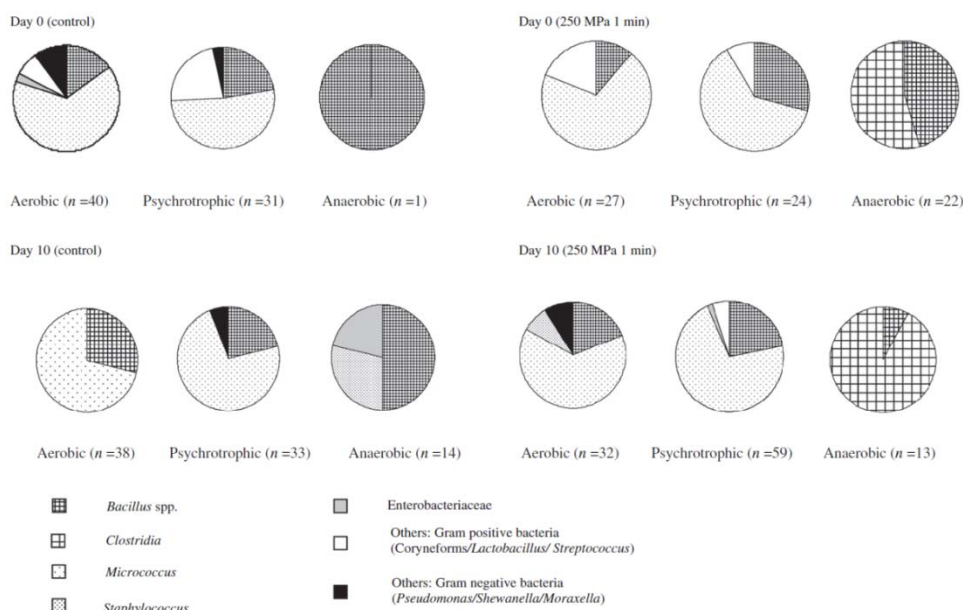
^b Time for TVBN value to reach 35 mg N 100^{-1} .

^c Time for TMA value to reach 15 mg N 100^{-1} .

^d Mean value calculated from other shelf-life estimates for the treatment.

2.6 Hyse/kolje (haddock)

I samme studie som for sild (Karim et al., 2011) ble det også gjort forsøk med hyse som ble utsatt for 200, 250 og 300 MPa ved 10 °C i 1 og 3 min, og videre lagret på is ved 2 °C i 14 dager. Generelt viste undersøkelsene at hyse hadde lenger holdbarhet enn sild. En av grunnene er trolig forskjell i startkonsentrasjon av bakterier. Mens hyse hadde $\sim 10^4$ cfu/g, hadde sild ca. 10^5 . Dette gjorde at ingen av HP hyse-prøvene hadde uakseptable psykrotrofe verdier etter 14 dager. Til sammenligning nådde kontrollprøvene 10^6 etter 10 dager. Både aerobe og psykrotrofe tall ved dag 0 for hyse viste $\sim 10^4$ cfu/g i kontroll og alle HP-prøvene. Dette viser at mikroorganismene var relativt resistente for trykk opp til 300 MPa/3 min. Tallene økte utover lagringsperioden, men de aerobe nådde ikke $>10^6$ etter 14 dager. For de psykrotrofe i kontrollen ble dette nivået nådd etter 10 dager, og for HP-prøvene etter 14 dager. Selv om HP ikke reduserte antallet bakterier, fikk prøvene utsatt for trykk forlenget lag-fase, og dermed tok det lenger tid før HP-hyse oppnådde uakseptabel kvalitet. Anaerobe tellinger viste at bakterietallene var lave og aldri nådde høyere enn $\sim 10^3$ cfu/g. Figur 2.8 viser effekten av HP på mikrofloraen til vakuumpakket hyse.



Figur 2.8 Effekt av HP (250 MPa/1 min) på mikrofloraen til vakuumpakket hyse lagret på is ved 2 °C i 10 dager (Karim et al., 2011).

TMA og TVBN-verdiene viste at kontrollprøvene nådde uakseptabel kvalitet etter 6-10 dagers lagring. For prøvene utsatt for HP var alle under grensen satt for akseptabel kvalitet med unntak av TVBN-verdien til prøven utsatt for 200 MPa/1 min etter 14 dagers lagring.

2.7 Piggvar (turbot)

Effekt av HP (100-200 MPa, 15 og 30 min, 4 °C) på piggvar (*Scophthalmus maximus*) muskel er undersøkt (Chevalier *et al.*, 2001). Både trykk og holdetid hadde en effekt på farge, proteinstabilitet og lipidoksidasjon. Spesielt trykk >180 MPa hadde effekt på den oksidative stabiliteten, målt som TBA. DSC viste full denaturering av myosin ved 200 MPa, og at man fikk dannet nye strukturer ved 100 MPa i 30 min. Et trykk på 140 MPa kan se ut til å være det optimale trykk for konservering uten noen endringer i fysiokjemiske egenskaper.

2.8 Havabbor (sea bass)

Havabbor (*Dicentrarchus labrax*) er det gjort en del HP-studer av. En av grunnene kan være at denne fisken er en fisk det blir drevet oppdrett på i landene rundt Middelhavet. I studien av Erkan *et al.* (2010a) ble effekten av følgende trykk undersøkt: 220, 250 og 330 MPa i 5 og 10 min. Ulike temperaturer ble benyttet: 3, 7, 15 og 25 °C. Farge målt ved L*-verdi viste at den ubehandlede kontrollen hadde lavest verdier. Alle trykkbehandlingene som ble testet gav havabbormuskelen et lysere og mindre transparent utseende. Ingen signifikante endringer ble sett for a*, men fisken som ble utsatt for trykk 250–330 MPa i 10 min, 3 °C fikk en nedgang i a*-verdi sammenlignet med kontrollen. b* viste generelt ingen signifikante endringer, med unntak for enkelte av betingelsene. Ulik trykk, tid og temperatur hadde forskjellig effekt på fargeendringer (Tabell 2.7). TBA verdiene etter HP var i de fleste tilfeller ikke-signifikant eller signifikant lavere enn kontrollprøvene. Av de betingelsene som ble testet viste det seg at havabboren ble best konservert ved 220 MPa i 5 min, 25 °C.

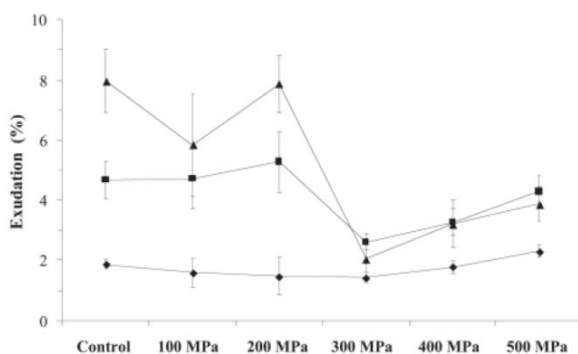
Tabell 2.7 Fargeendringer i kontroll og høytrykket havabbor (Erkan *et al.*, 2010a).

Temperature/Time	3°C/5 min	3°C/10 min	7°C/5 min	7°C/10 min	15°C/5 min	15°C/10 min	25°C/5 min	25°C/10 min
L*								
Untreated	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}	62.05 ± 1.99 ^{Aa}
220 MPa	72.23 ± 4.47 ^{Ba}	70.37 ± 2.65 ^{Ba}	69.12 ± 2.22 ^{Ba}	72.56 ± 2.80 ^{Ba}	65.92 ± 3.10 ^{Ab}	73.76 ± 2.19 ^{Ba}	64.29 ± 0.29 ^{Ab}	71.07 ± 2.56 ^{Ba}
250 MPa	70.34 ± 3.99 ^{Ba}	73.72 ± 3.10 ^{Ba}	76.31 ± 2.44 ^{Ca}	74.68 ± 2.55 ^{Ba}	67.58 ± 5.16 ^{Aa}	74.54 ± 2.28 ^{Ba}	72.25 ± 3.40 ^{Ba}	72.34 ± 4.55 ^{Ba}
330 MPa	74.14 ± 3.81 ^{Ba}	72.38 ± 3.05 ^{Ba}	74.42 ± 5.64 ^{B/Ca}	73.36 ± 3.09 ^{Ba}	74.01 ± 2.07 ^{Ba}	72.82 ± 2.76 ^{Ba}	74.34 ± 5.89 ^{Ba}	75.25 ± 2.90 ^{Ba}
a*								
Untreated	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}	0.71 ± 0.86 ^{Aa}
220 MPa	0.15 ± 1.35 ^{Aa}	-0.26 ± 1.18 ^{Aa}	0.77 ± 0.38 ^{Aa}	-1.36 ± 0.49 ^{Ba}	-0.49 ± 0.98 ^{Aa}	-0.29 ± 0.67 ^{Aa}	0.59 ± 0.16 ^{Aa}	0.10 ± 0.74 ^{Aa}
250 MPa	-0.43 ± 0.43 ^{Aa}	-1.83 ± 0.33 ^{Ba}	0.01 ± 0.35 ^{Aa}	-0.57 ± 0.75 ^{Aa}	0.21 ± 0.63 ^{Aa}	0.56 ± 3.10 ^{Aa}	1.37 ± 1.11 ^{Aa}	0.35 ± 1.17 ^{Aa}
330 MPa	0.32 ± 1.05 ^{Aa}	-1.66 ± 0.80 ^{Ba}	0.35 ± 2.43 ^{Aa}	-0.23 ± 1.34 ^{Aa}	0.40 ± 0.96 ^{Aa}	1.34 ± 2.89 ^{Aa}	0.38 ± 1.88 ^{Aa}	1.25 ± 2.08 ^{Aa}
b*								
Untreated	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}	5.09 ± 1.49 ^{Aa}
220 MPa	9.03 ± 2.13 ^{Ba}	9.01 ± 2.18 ^{Ba}	8.39 ± 0.87 ^{Ba}	5.07 ± 1.07 ^{Ab}	6.09 ± 2.25 ^{Ab}	7.80 ± 2.23 ^{Aa}	6.37 ± 1.55 ^{Ab}	7.96 ± 1.90 ^{Aa}
250 MPa	7.66 ± 1.25 ^{Aa}	6.35 ± 1.24 ^{Aa}	7.11 ± 0.68 ^{Aa}	6.31 ± 1.41 ^{Aa}	7.80 ± 3.56 ^{Aa}	7.62 ± 1.94 ^{Aa}	7.93 ± 1.71 ^{Aa}	8.23 ± 1.69 ^{Ba}
330 MPa	7.68 ± 1.20 ^{Aa}	-1.66 ± 0.80 ^{Cb}	7.11 ± 3.87 ^{Aa}	7.90 ± 2.92 ^{Aa}	7.57 ± 2.69 ^{Aa}	9.82 ± 3.92 ^{Ba}	7.84 ± 2.84 ^{Aa}	6.73 ± 2.33 ^{Aa}
ΔE								
Untreated	-	-	-	-	-	-	-	-
220 MPa	11.79 ± 3.31	10.25 ± 1.89	8.20 ± 1.30	11.10 ± 2.73	5.17 ± 2.77	12.57 ± 2.14	3.06 ± 0.91	9.25 ± 1.76
250 MPa	9.27 ± 3.64	12.39 ± 3.04	15.69 ± 2.63	13.16 ± 2.58	7.87 ± 3.97	12.42 ± 2.56	11.28 ± 2.48	11.32 ± 3.06
330 MPa	12.68 ± 3.57	11.11 ± 3.24	14.04 ± 3.86	12.47 ± 2.52	12.85 ± 1.79	11.81 ± 2.38	13.68 ± 4.71	14.58 ± 2.55

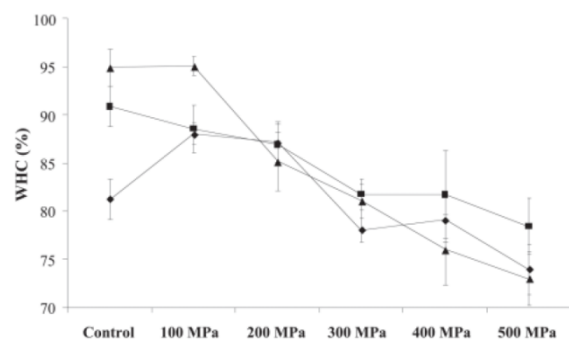
*Standard deviation (n = 3). Different letters (A, B, C) in the same column indicate significant differences (P < 0.05). Different letters (a, b, c) in the same line indicate significant differences (P < 0.05).

Tekstur og mikrostruktur til havabbor utsatt for ulike trykk <500 MPa i 5 min ble undersøkt (Cheret *et al.*, 2005). Som i studien av Erkan *et al.* (2010a) viste også denne studien at HP induserte fargeendringer og økt lyshet. Trykk >300 MPa gav økt hardhet i fisken under

lagring sammenlignet med ubehandlet prøve. Prøver utsatt for 500 MPa hadde etter 7 dagers lagring en total aerob mengde bakterier tilsvarende det man fant i fersk ubehandlet prøve. Mengde exudation var nokså lik for alle prøver på dag 1, uansett om de var ubehandlet eller utsatt for trykk. Deretter kunne man nærmest dele inn i to grupper; som ble utsatt for 300-500 MPa viste små endringer i exudation, mens for den fisken som ble utsatt for 100 og 200 MPa og inkludert kontrollprøven, så man en økning. Figur 2.9 viser endringer under lagring for prøver utsatt for ulike trykk. Denne økningen i exudation kan man relatere til enzymatisk og mikrobiologisk nedbrytning av fiskemuskel. Mål på WHC, viste at lagring av ubehandlet prøve gav signifikant økning i WHC. For prøver utsatt for HP, så man generelt en nedgang i WHC, og økt nedgang korresponderte med økende trykk. Lagringstid hadde liten effekt på sistnevnte prøver (Figur 2.10). Studier av tekstur viste at man fikk økt mykning av havabboren fra dag 1 til 7.



Figur 2.9 Utvikling av sjøabbor filets exudation i prøver utsatt for høytrykk (5 min) etter lagring ved 4 °C etter 0 (◆), 7 (■) og 14 (▲) dager (Cheret *et al.*, 2005).



Figur 2.10 Effekt av lagring ved 4 °C etter 0 (◆), 7 (■) og 14 (▲) dager på vannbindingsevne til sjøabbor filets behandlet ved HP (Cheret *et al.*, 2005).

DSC-bestemmelse av «glass transition» temperatur til havabbor muskelen er undersøkt for kontroll og prøver utsatt for HP; 200, 400 og 600 MPa i 10 min. For resultater henvises det til artikkelen av Tironi *et al.* (2009).

2.9 Steinbit (catfish)

Steinbit er en av de store sjømatproduktene i USA, og står for >70 % av den sjømat som blir produsert og >60 % av salgsinntektene. Effekten av HP ved romtemperatur (~21 °C) og 70 °C på kokt steinbit og laks ble undersøkt (McKenna *et al.*, 2003). En rekke målinger ble gjort på fiskene, men disse ble utført etter at fiskene hadde blitt oppvarmet igjen (spiseklare). Både steinbit og lakseprøver utsatt for HP ved 70 °C hadde høyere skjærkraft enn de som var produsert ved HP i romtemperatur (Tabell 2.8.A). For TBARS var det små forskjeller, og høyest for HP ved 70 °C. HP hadde liten effekt på pakketap, uansett HP-betingelser, og mye lavere for steinbit sammenlignet med laks. Derimot viste økt trykk en betydelig økt mengde tap ved oppvarming. Det totale tapet viste seg dermed å være nokså likt for steinbit og laks (Tabell 2.8.B). Det var forholdsvis små endringer i fett, fuktighet og proteininnhold når man sammenlignet de ulike trykk og temperatur betingelsene (Tabell 2.8.C).

Tabell 2.8 Sammenligning av «least square means» for (A) TBARS, pH og tekstur-verdier; (B) pakketap, oppvarmingstap og total-tap; og (C) fett, fuktighet og proteininnhold i kokt og deretter høytrykksbehandlet og videre varmebehandlet laks og steinbit filet. Utdrag fra tabell fra (McKenna et al., 2003).

Processing Treatment		Salmon			Catfish			
		TBARS (mg/kg)	pH	Kramer Shear (kg of force)	TBARS (mg/kg)	pH	Kramer Shear (kg of force)	
A	HHP (Mpa)	0	5.65	6.52	30.38 ^a	1.04	6.91	13.22 ^a
		414	6.37	6.51	42.95 ^b	0.94	6.92	16.62 ^b
		690	5.58	6.51	61.49 ^c	0.99	7.09	18.54 ^c
		SEM ^d	0.33	0.01	2.31	0.05	0.10	0.65
	Temperature (°C)	Ambient	5.79	6.51	38.48 ^a	0.88 ^a	7.01	14.79 ^a
		70	5.94	6.51	51.40 ^b	1.10 ^b	6.94	17.46 ^b
	SEM ^d	0.27	0.01	1.89	0.04	0.08	0.53	

Processing treatment		Salmon			Catfish			
		Package loss (%)	Reheating loss (%)	Total loss (%)	Package loss (%)	Reheating loss (%)	Total loss (%)	
B	HHP (MPa)	0	5.11 ^a	7.23 ^a	11.98 ^a	1.91	11.66 ^a	13.01 ^a
		414	6.94 ^b	9.31 ^b	15.60 ^b	1.76	13.09 ^b	14.67 ^b
		690	8.05 ^c	10.47 ^c	17.65 ^c	1.87	15.61 ^c	17.28 ^c
		SEM ^d	0.17	0.20	0.20	0.11	0.30	0.40
	Temperature (°C)	Ambient	5.32 ^a	8.14 ^a	13.04 ^a	2.15 ^b	10.46 ^a	12.10 ^a
		70	8.08 ^b	9.88 ^b	17.11 ^b	1.55 ^a	16.45 ^b	17.87 ^b
	SEM ^d	0.14	0.16	0.17	0.09	0.24	0.33	

Processing treatment		Salmon			Catfish			
		Fat (%)	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	Moisture (%)	Protein (%)	
C	HHP (MPa)	0	7.78	60.86 ^b	30.31 ^a	4.31	71.08 ^b	23.72 ^a
		414	7.81	60.24 ^b	30.95 ^a	4.42	70.51 ^b	24.12 ^a
		690	8.08	58.95 ^a	32.09 ^b	4.98	68.69 ^a	25.36 ^b
		SEM ^c	0.29	0.36	0.31	0.30	0.38	0.22
	Temperature (°C)	Ambient	8.16	60.36	30.50 ^a	4.15 ^a	71.17 ^b	23.76 ^a
		70	7.62	59.66	31.72 ^b	4.99 ^b	69.01 ^a	25.04 ^b
	SEM ^c	0.24	0.29	0.26	0.24	0.31	0.18	

^{a-b}Least square mean values within the same column and processing treatment with different superscripts are significant (P < 0.05).
^cSEM is the standard error of the least square means.

2.10 Utvalg av andre fiskesorter det er gjort HP-studier på

Det er gjort HP-forsøk med en rekke andre fiskesorter. Noen nevnes kort her. HP ble brukt i en studie hvor det ble undersøkt om HP kunne forlenge holdbarheten til **sardiner** (*Sardina pilchardus*, sardine) ved å bruke kun HP (300 MPa, 15 min, 20 °C), eller HP i en kombinasjon med en gelatinbasert spiselig film tilsatt oregano, timian ekstrakter, eller chitosan (Gómez-Estaca et al., 2007b). Resultatene viste at den spiselige filmen med planteekstrakter senket lipidoksidasjonsnivået (målt som TBARS), og reduserte i en viss grad mikrobiell aktivitet. En annen studie fra samme institutt undersøkte effekt på proteolytisk degradering og endringer i myofibrillar-proteiner (Hernandez-Andres et al., 2008). Høyest aktivitet ble funnet ved pH 3 ved 55 °C for sild, og studien viste at HP (300 MPa, 20 min, 7 °C) ved disse betingelsene senket aktiviteten i fiskemuskel med 30,8 % og 16,8 % i enzymekstrakter. I samme studie ble også **kolmule/hvitting** (*Micromesistius poutassou*, blue whiting) undersøkt. Høyest enzymaktivitet for denne fisken ble funnet ved pH 8 ved 55 °C. Resultatene her viste at ved de nevnte betingelsene senket HP aktiviteten i fiskemuskel med 9,5 % og 19,4 % i enzymekstrakter.

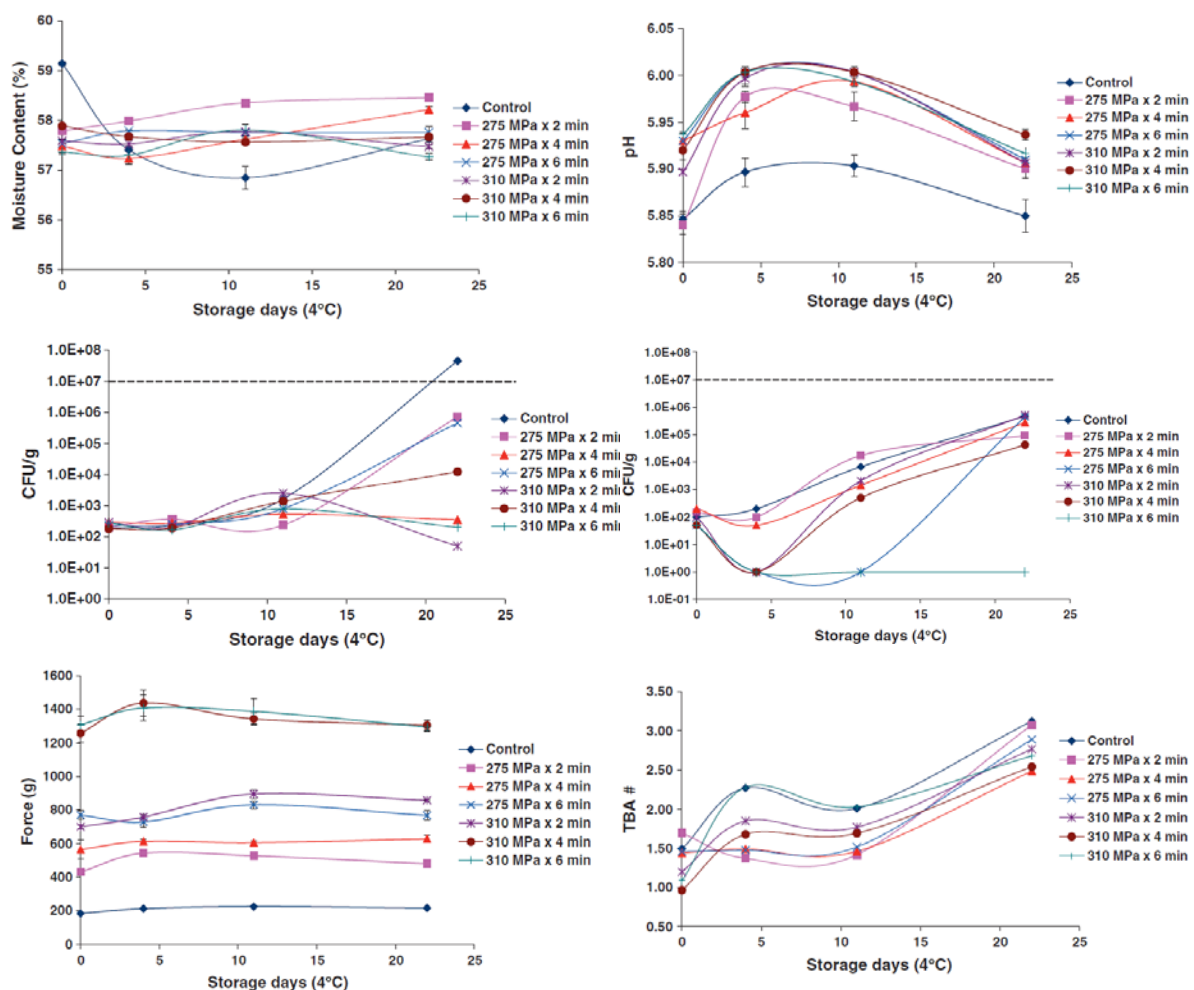
Mulle (*Mullus surmelutus*, red mullet) er en delikatesse i mange Middelhavsland, og er av høy verdi. Den spises helst fersk, og derfor er holdbarheten viktig. Bruk av HP for å oppnå økt holdbarhet ble undersøkt med ulike trykk (220, 250 og 330 MPa), holdetider (5 og 10 min) og temperaturer (3, 7, 15 og 25 °C) (Erkan et al., 2010b). Basert på følgende

kvalitetsparametere; farge, TMA-N og TBA, viste det seg at 220 MPa/5 min/25 °C og 330 MPa/5 min/3 °C var de beste kombinasjonene. Holdbarheten ble forlenget til henholdsvis 12 og 14 dager. Til sammenligning hadde den ubehandlede fisken en holdbarhet på 4 dager. All fisk ble lagret ved 4 °C.

Rå, vakuumpakket karpe (*Cyprinus carpio*, carpe) ble utsatt for HP ved 100, 140, 180 og 200 MPa i 15 og 20 min, 4 °C (Sequeira-Munoz et al., 2006). Deretter ble endringer i farge og lipidfraksjon målt. TBA og FFA (free fatty acids, frie fettsyrer) analysene viste økning i de ulike substansene med økende trykk. Fargeanalysen viste også økning i $L^*a^*b^*$ -verdier med økt trykk og holdetid.

Kvernet tunfisk (*Thunnus alalunga*, albacore tuna) utsatt for 275 og 310 MPa i 2, 4 og 6 min ble undersøkt for effekt på ulike kjemiske og mikrobielle analyser etter lagring ved 4 og -20 °C etter HP (Ramirez-Suarez & Morrissey, 2006). Kort oppsummert viste resultatene at HP gav økt pH, beskyttet mot lipidoksidasjon, opprettholdt lave mikrobielle nivå, endret fargen og induserte dannelse av høymolekylære polypeptider. HP gav forbedret holdbarhet til den kverne tunfiskmuskelen på >22 dager ved 4 °C, og >93 dager ved -20 °C (Figur 2.11).

Figur 2.11 Endringer i (A) vanninnhold og (B) pH; vekstkurver av (C) mesofile og (D) psykrofile; (E) effekt på tekstur; og (F) TBAR endringer i kvernet høytrykksprosessert tunfisk lagret ved 4 °C (Ramirez-Suarez & Morrissey, 2006).



3 Høytrykksprosessering av skalldyr

Bruk av HP for “shucking” har lenge vært benyttet på skalldyr som krabbe og hummer. Når HP utføres på skalldyr fører dette til at kjøttet løsner fra skallet. Denne prosessen gir økning i kjøttutbytte sammenlignet med tradisjonelle kokemetoder. Økt produktvekt som følge av naturlig hydrering av proteiner og økt kvalitet er andre fordeler ved shucking av skalldyr. Trykk mellom 100 til 300 MPa i 1-3 min blir vanligvis benyttet for denne type prosesseringer.

Skalldyr og spesielt østers og musling er utsatte for å gi matbåren sykdom, fordi de filtrerer maten og akkumulerer bakterier som *Vibrio*, *Salmonella*, *Listeria*, *Clostridium* og *E. coli*, og virus fra sjøvannet. I tillegg spises dette enten rått eller etter en mild varmebehandling, og hele skjellet spises, inkludert tarmen. Siden varmebehandling ødelegger smaken og utseende til skalldyr og østers er denne metoden uønsket av forbrukerne. For disse produktene kan HP være et godt alternativ for å fjerne bakterier og virus, beholde smak, tekstur, utseende og ernæringskvaliteter.

3.1 Hummer (lobster)

HP blir med suksess benyttet på hummer, både for å øke utbyttet og bedre den mikrobielle kvaliteten. Figur 3.1. viser en såkalt “naked lobster”. HP har bidratt til å ødelegge bindingen mellom hummermuskelen og skallet, og det er bare å dra kjøttet ut av skallet.

Forsøk med norsk hummer (*Nephrops norvegicus*) viste seg å være svært lovende. Et økt utbytte på opp mot 3 % ble oppnådd ved 270 MPa, 5 min ved 1 °C (Campden, 2008). Det ble også vist en nedgang i TVC på minst 4 log, og i tillegg viste studien at *Pseudomonas* var veldig trykksensitiv, og dermed kan også HP ha en god effekt på forlenging av holdbarhet av hummer. Sensoriske vurderinger viste at sure og skarpe smaker kunne utvikles i produktet sammen med en gummiaktig tekstur. Trykk på rundt 300 MPa gav best sensoriske resultater.



Figur 3.1 “Shucking” av rå hummer for å lett få hummerkjøttet ut av skallet.

Den nevnte studien på norsk hummer gjorde også en studie av “lobster”. Denne viste at utbyttet av hummerkloa var opptil 23 % høyere enn i den kokte kontrollen. Dette selv om ikke koketap ble tatt med i beregningen. Generelt gav trykk >270 MPa best utbytte av halen til hummeren. Ved flere tilfeller ble kvaliteten til HP hummer ansett for å være bedre enn kontrollen.

3.2 Krabbe (crab)

Krabbe blir i varierende grad utnyttet kommersielt. Krabbeklo og bein kan være vanskelig å få ut kjøttet fra, og dermed kan utbyttet variere stort fra art til art.

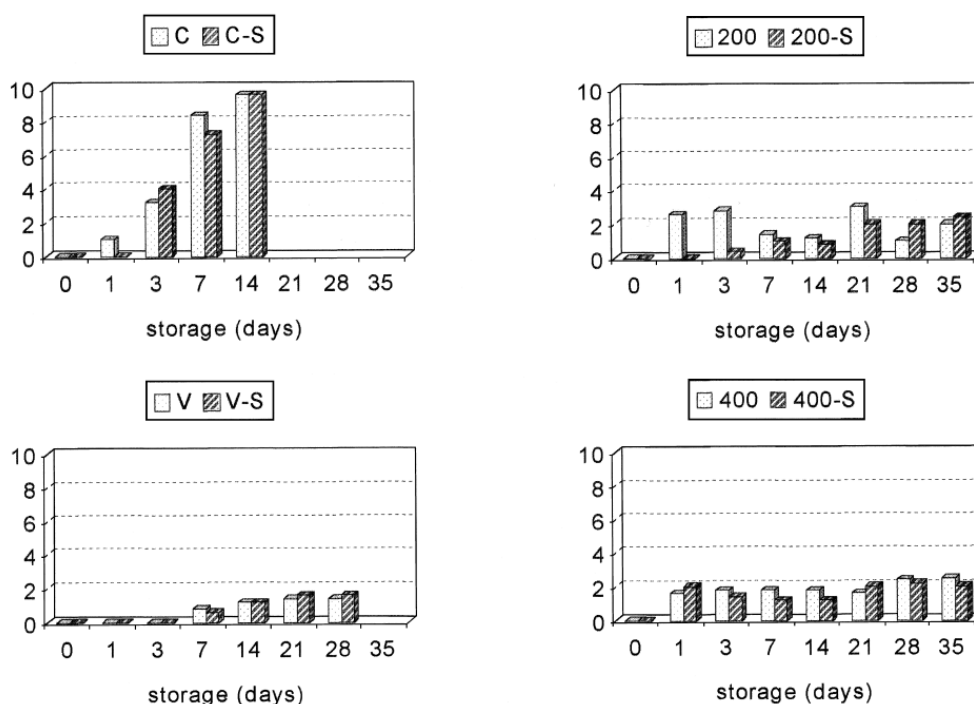
En studie med HP av krabbe og hummer viste at TVC var mye lavere i krabbe, <2 log reduksjon, sammenlignet med 4 log i hummer (Campden, 2008). Årsaken ble forklart med at det var forskjeller i behandling av produktet etter shucking, at råmaterialet var forskjellig, og at der var forskjell i mikrofloraen på de to råvarene. Høyest utbytte for krabbe var på 53 % ved 250 MPa, 2,5 min ved 15 °C eller 300 MPa, 2,5 min ved 16 °C. Men man kunne ikke sammenligne med utbytte fra rå krabbe. Krabbe som ble utsatt for trykk på rundt 300 MPa scoret ofte lavere på sensorisk kvalitet.

En studie med kongekrabbe viste god effekt av HP (Kristoffersen *et al.*, 2009). HP gav fargeforandring i klørne fra grå/hvit til rødlig, sannsynligvis pga. proteindenaturering. Et økt muskelutbytte på 6 % ble funnet. Krabbeklørne burde være tint før prosessering og best resultat ble oppnådd ved bruk av 260 MPa, 90 sek ved 15 °C. Sensorisk vurdering av kjøttet fra HP krabbeklør viste at disse var mer smakfulle og hadde bedre tyggemotstand enn vanlig prosessert krabbe. Konklusjonene var at HP på kongekrabbe er lovende, men at det behøves utvikling av hurtigmetoder for rensing av klør.

3.3 Reker (shrimp, prawn)

Reker inneholder høye mengder av frie aminosyrer, og spesielt mye av nitrogenholdig materiale. Dette gjør dem raskt mottakelige for vekst av forringelsesflora. Melanosis eller «blackening», som er forekomst av svarte prikker/flekker på reker, skjer under lagring. Sulfittderivater er en lovlig substans som benyttes av flere for å bekjempe melanosis.

Høytrykk (200 og 400 MPa) ble i en studie prøvd på reker som var pakket i luft og i vakuum (Lopez-Caballero *et al.*, 2000b). HP av vakuumpakkede reker gav forlenget holdbarhet, og en fargeendring mot mer hvit farge på rekene. Holdbarheten av reker pakket i luft var 1 uke, og denne ble forlenget til 21 dager i vakuumpakket emballasje. HP behandling av vakuumpakkede reker ved 200 MPa økte holdbarheten til 28 dager, og 35 dager for de som var utsatt for 400 MPa. Det viste seg at de rekeprøvene som var blitt utsatt for HP hadde problemer med melanosis, mens vakuumpakking så ut å holde dette i sjakk. For reker pakket i luft, oppnådde man talletall (mikrobiologi) på >6 log cfu/g etter 14 dager, og tilsvarende tall for de som var vakuumpakket. For de rekene som var blitt utsatt for 200 MPa ble tilsvarende talletall nådd etter 21 dager. HP ved 400 MPa gav <5,5 log cfu/g etter 35 dager. Konklusjonen fra studien var at en kombinasjon av vakuumpakking og HP kunne være en god måte å forlenge holdbarheten og forhindre melanosis. Figur 3.2. viser effekt av pakkemetode og HP på melanosis utvikling i reker. Halvparten av testene vist på figuren inneholdt melanosis-hemmer ('-S') i form av natriumbisulfitt.



Figur 3.2 Melanosis-score i reker uten hode. C: kontroll; V: vakuumpakket; 200: HP ved 200 MPa, 10 min, 7 °C; 400: HP ved 400 MPa, 10 min, 7 °C; «-S»: indikerer at bruk av melanosis-hemmer er tilstede (Lopez-Caballero et al., 2000b).

En studie av Montero *et al.* (2001) undersøkte en rekke melanosis-hemmere som: askorbinsyre, sitronsyre, natriumbenzoat, kojic-syre og 4-hexylresorcinol både alene og i kombinasjon for å hemme melanosis i reker (*Penaeus japonicus*). I tillegg ble noen av prøvene utsatt for HP (400 MPa, 10 min, 7 °C). Resultatene viste at HP så ut til å øke melanosis prosessen, men endret ikke effekten til hemmerne. Men, det totale antall mikroorganismer så ut til å være lavere med tilstedeværelse av askorbin- og sitronsyre under HP. For effekter av de ulike hemmerne vises det til den nevnte artikkel.

En studie med bruk av HP ved ulike trykk (200, 330 og 250 MPa), tid (10 og 20 min) og temperatur (25, 30, 40 og 50 °C) viste interessante resultater (Buyukcan *et al.*, 2009). Etter trykkbehandling ble prøvene lagret ved romtemperatur og på kjøll (4 °C). De beste kombinasjonene for reker var 250 MPa, 10 min ved 50 °C. Holdbarheten ved disse betingelsene viste seg å være 12 og 16 dager ved lagring i henholdsvis romtemperatur og på kjøll. Til sammenligning var kontrollen (ikke-HP) bare holdbar i 4 dager på kjøll.

Der er et stort marked for store reker (black tiger shrimp, *Penaeus monodon*), og disse selges ferske, kjølte eller frosne. Ødeleggelse av rekene forekommer under transport og lagring, og i en studie av Kaur *et al.* (2012) ble fysiokjemiske og mikrobiologiske endringer under lagring, etter HP undersøkt. Følgende betingelser ble undersøkt: 100, 270 og 435 MPa i 5 min ved romtemperatur (25 ±2 °C). Lagringsstudiet varte i 35 dager. Rett etter HP så man økt vanninnhold og redusert proteininnhold, men ingen endringer i TVB og TMA nivå. De sistnevnte nivåene steg utover lagringsperioden. Prøvene som var utsatt for HP viste bedre mikrobiell kvalitet enn ubehandlede kontrollreker. HP ved 435 MPa gav en holdbarhet på 15 dager sammenlignet med kontrollen som kun var holdbar i 5 dager. Det nevnte trykk, 435

MPa, var det som var funnet å være mest effektivt for å bevare kvaliteten og forlengelse holdbarheten.

Studien gjort ved Campden på ulike sjømatprodukter inkluderte også kald- og varmtvannsreker (Campden, 2008). Pilleutbyttet fra kaldtvannsrekene varierte fra 39–46 %, men snittet var på 44 %, som var det samme som i kontrollene. En økning på 2 % ville vært av stor kommersiell betydning (44 til 46 %), men det var vanskelig å si om økt utbytte var reelt eller om det var fordi pillingen skjedde manuelt. Det så ut til at den ytterste tippen på reken ble bedre bevart for de reker som ble utsatt for HP. Når det gjaldt varmtvannsreker ble utbyttet betraktelig forbedret for reker utsatt for HP sammenlignet med kontrollen. Utbyttet ble på henholdsvis 55–57 % sammenlignet med 46 % for kontrollen. Høyest utbytte fikk man ved å prosessere ved 237 MPa, 2,5 min ved 11,1 °C. Dette trykket gav også best sensoriske resultater.

3.4 Skjell (clam, mussel)

Skjell har generelt kort holdbarhet. De filtrerer store mengder vann for å ta opp næring og oksygen. Gjennom denne filtreringsprosessen kan det samle seg mikroorganismer, og man kan få akkumulering av både bakterier og virus i skjellene. Mange skjell spises rå, og det kan dermed være en fare for matforgiftning knyttet til dette. Frysing er mye benyttet for konservering av sjømat, men HP kan også være et alternativ.

En studie hvor det var benyttet HP og HP kombinert med varme på kamskjell (*Venus gallina*) viste at holdbarheten kunne forlenges betraktelig sammenlignet med rått produkt lagret på kjøll (Buyukcan *et al.*, 2009). I forsøkene ble det benyttet ulike trykk (200, 330 og 250 MPa), tid (10 og 20 min) og temperatur (25, 30, 40 og 50 °C). Etter trykkbehandling ble prøvene lagret ved romtemperatur (25 °C) og på kjøll (4 °C). De beste kombinasjonene for kamskjell var 220 MPa, 10 min ved 50 °C. Holdbarheten ved disse betingelsene viste seg å være 12 dager for lagring ved romtemperatur og 16 dager på kjøll. Til sammenligning var kontrollen (ikke-HP) bare holdbar i 4 dager ved 4 °C.

Muslinger (mussels, *Mytilus edulis*) ble i en studie undersøkt med fokus på mikrobiell aktivitet før og etter HP (300, 400, 500 og 600 MPa i 2 min ved 20 °C) (Linton *et al.*, 2003). Muslingene ble utsatt for HP mens de var vakuumpakket. Den totale mengden med aerobe bakterier ble redusert, men reduksjonen var ikke signifikant rett etter HP sammenlignet med kontrollen. Det var ingen forskjell mellom trykkene. Etter lagring ved 2 °C var det en signifikant forskjell mellom behandlingene hvor muslingene som var utsatt for høyest trykk hadde lavest mengde aerobe bakterier. Antallet psykrotrofe bakterier ble i høy grad påvirket av trykk med en reduksjon på >2,5 log ved 300 MPa, og ingen deteksjon ved 400 og 500 MPa. Under lagring så man en rask økning for de behandlet med trykk <400 MPa. Etter 21 dager fant man ingen psykrotrofe bakterier i muslinger behandlet ved 500 eller 600 MPa. I tillegg til effekten på mikroorganismer, førte trykket til inaktivering av lukkemuskel, og muslingene kunne enkelt tas ut av skjellet.

3.5 Østers (oyster)

Østers spises som regel rå, og har kort holdbarhet etter fangst. Det er derfor av økonomisk interesse å finne metoder som kan forbedre holdbarheten og minske svinnet, samtidig som sensorisk kvalitet ikke endres. Østers er et skjell som er godt egnet for HP, både fordi problem-virus inaktiveres og fordi lukkemuskelen denatureres slik at en får spontan åpning av skallet. Sistnevnte reduserer behovet for manuell åpning. Utseende av HP østers er funnet å være bedre enn rå. Det er flere kommersielle HP østersprodukter. For å sikre at østersen er lukket under transport og lagring, varmekrympes et bånd rundt østersen før den utsettes for HP. Trykk på mellom 205–275 MPa i 1–3 min ved 10–30 °C blir typisk benyttet for rå østers (Campus, 2010). Men optimumstrykk for østers avhenger både av type og vekstforhold østersen har vokst i.

Der er gjort en rekke studer med inaktivering av *Vibrio vulnificus* i østers. Cook (2003) viste at ved 250 MPa, 2 min oppnådde man en 5 log reduksjon av denne bakterien. For å oppnå tilsvarende reduksjon av *V. parahaemolyticus* måtte man opp i 300 MPa i 2 min, men serotypen (O3:K6) som ble benyttet viste seg å være mer resistent mot HP enn det som er rapportert for andre *V. parahaemolyticus*.

Stillehavsøsters (*Crassostrea gigas*) ble i et forsøk utsatt for trykk på 207-310 MPa i 1 og 2 min, og deretter lagret ved 4 °C i 27 dager (He *et al.*, 2002). HP østers fikk en liten nedgang i pH fra 6,3 til 5,8 under lagring, mens kontrollen (åpnet for hånd) sank til 4,1. Fuktigheten i kontrollen økte litt, mens man så en liten nedgang i de utsatt for HP. Trykkbehandling gav ingen signifikant hemming av lipaseaktivitet under lagringsforløpet. Den mikrobielle belastningen ble redusert med 2-3 log etter HP, og holdt seg på det reduserte nivå hele lagringsperioden.

López-Canallero *et al.* (2000) undersøkte bruk av høytrykk (400 MPa i 10 min, 10 min kontinuerlig trykk og to sykluser à 5 min) ved 7 °C. Resultatene viste at pH og totale løselige baser (TVB) i østers er omtrent konstant etter HP i hele lagringsperioden på 41 dager ved 2 °C. HP reduserte antall mikroorganismer for alle variantene som ble undersøkt (totalt bakterietall, H₂S-produserende bakterier, melkesyrebakterier, *E. coli*, koliforme og *Brochothrix thermosphacta*). Og for noen grupper så mye som 5 log nedgang, rett etter prosessering. Lagring viser at HP forlenger holdbarheten til østers, og at bakteriene får forlenget lag-fase (melkesyrebakterier og total tall) og lavere veksthastighet (koliforme, H₂S produserende- og melkesyrebakterier og total tall). Forsøkene viste også at det ikke så ut til å være noen umiddelbare fordeler å benytte to pulser à 5 min sammenlignet med en behandling på 10 min.

3.6 Annen sjømat

Blekksprut er en av de mest vanlige sjømatrettene i Japan og Korea, og det er også en del benyttet i landene rundt Middelhavet. Rå blekksprut blir svært lett ødelagt av mikroorganismer som produserer dårlig lukt. For å bedre bevare kvalitet og holdbarhet til blekksprut (squid, tiarmet blekksprut, *Todarodes pacificus*) har det blitt gjort forsøk med HP ved 200, 300 og 400 MPa i 20 min (Gou *et al.*, 2010). Mengde psykrotrofe bakterier ble redusert med 0,5, 2,5 og >4,7 log cfu/g for blekksprut behandlet ved 200, 300 og 400 MPa. HP var også effektivt for å forsinke autolytisk aktivitet og TMA dannelsen i rå blekksprut. 400

MPa gav en del høyere inaktivering/lavere mengde av de nevnte komponenter enn HP ved 200 og 300 MPa.

I en studie ble åttearmet blekksprut (octopus, *Octopus vulgaris*) utsatt for 200, 300 og 400 MPa i 15 min ved 7 og 40 °C (Hurtado *et al.*, 2001). Ved 400 MPa ble den utsatt for enten en kontinuerlig puls på 15 min eller tre pulser à 5 min. Autolytisk aktivitet gikk markant ned med trykk over 200 MPa. Skjærkraften økte med trykk, men den var høyere ved 200 enn ved 400 MPa. Morfologiske og ultrastrukturelle endringer ble observert som følge av trykk, hovedsakelig pakking av fibriller og ødelegging av sarcomer mønster. Bindevev var hovedsakelig uberørt av trykk. For flere studier med blekksprut henvises det til: Hurtado, Montero *et al.* 2002; og Hernández-Andrés, Guillén *et al.* 2005.

4 Mattrygghet

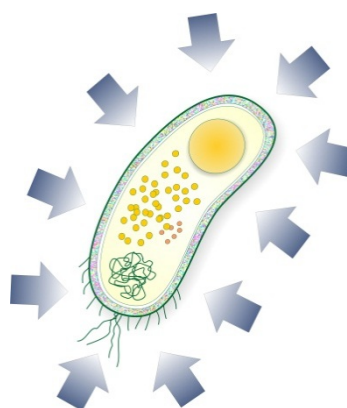
Økt mattrygghet er i tillegg til forlenget holdbarhet er en av hovedgrunnene til bruk av HP på mat. Ulike mikroorganismer, både patogene og forringelsesbakterier, påvirkes ulikt av HP. Generelt kan en si at sporer er de mikroorganismene som tåler HP best: sporer > virus > gjær og mugg > bakterier > parasitter (San Martin *et al.*, 2002; Considine *et al.*, 2008; Kovac, *et al.*, 2010; Rendueles *et al.*, 2011). Hastigheten og inaktiveringen av mikroorganismer under HP avhenger av en rekke parametere som: type mikroorganisme, trykk, tid, temperatur, pH, vanninnhold og mat-sammensetningen. Generelt fås økt inaktivering med økende trykk.

4.1 Bakterier

Ulike typer bakterier (arter og stammer) tåler trykk ulikt, og har ulik overlevelse i mat. Matvare eller matriks rundt mikroorganismene påvirker i hvilken grad trykket inaktiverer, og en illustrasjon av bakterie utsatt for trykk er vist i Figur 4.1. Generelt har bakterier høyere overlevelse i mat sammenlignet med buljong som vekstmedium. Både lav pH og høy vannaktivitet gjør mikroorganismer mer sensitive til HP.

4.1.1 Skade på mikroorganismene som følge av HP

Generelt har Gram-positive bakterier høyere resistens mot høytrykk enn Gram-negative (Knorr *et al.*, 2011). De eksakte mekanismene bak inaktivering av bakterier og andre mikroorganismer under høyt trykk er ikke kjent i detalj. Høytrykk berører ingen spesifikk mekanisme, men har innvirkning på en rekke mekanismer, som blant annet inaktivering av enzymer, ødeleggelse av cellemembran og endringer i cellemorfologi (Patterso, 2005). Generelt vil trykk over 400 MPa bidra til reversibel og irreversibel spalting av inter- og intramolekylære bindinger i cellemembranen hos bakterier. Cellemembranskadene skjer primært ved at permeabiliteten endres som følge av fosfolipidkrystallisering. Andre cellulære funksjoner som er sensitive for trykk er ionebytte-membraner, fettsyresammensetning, cellemorfologi, proteindenaturering og hemming av enzymaktivitet, destabilisering av DNA-replikeringskompleks og vakuoledannelse (Cheftel & Culioli, 1997).



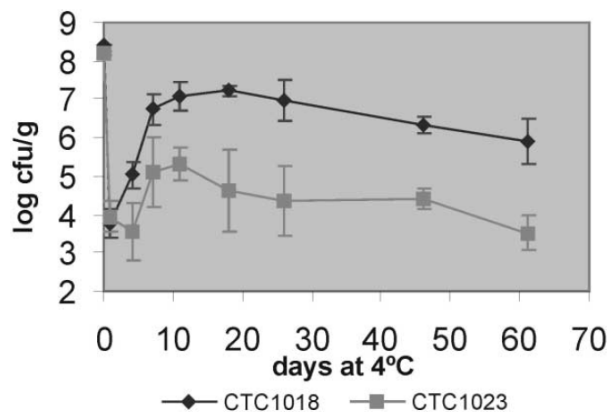
Figur 4.1 Bakterie utsatt for høyt trykk (Illustrasjon: Kjell Merok).

4.1.2 Mikrobiell resistens mot HP

Den mikrobiologiske drapeseffekten som oppnås med HP er antatt å skyldes en kombinasjon av flere skader i cellen, som gjør at mikroorganismen mister sin mulighet til å reproducere og overleve (Considine *et al.*, 2008). Samtidig viser studier at ytre faktorer påvirker effekten høytrykk har på mikroorganismene, dvs. ulike matvarer vil påvirke effekten av HP (Rastogi *et al.*, 2007; Considine *et al.*, 2008). Hvilken temperatur mikroorganismene blir utsatt for under HP vil også påvirke hvor sensitive de er mot høyt trykk (Campus, 1999).

Generelt sees en økende celledød ved økende trykk, men celledøden følger ikke første ordenskinetikk (logaritmisk dødsrate), da det ofte er en hale (tailing) av inaktivering. Celler som har vært utsatt for en eller annen type stress (annen enn trykk, for eksempel varme eller kuldesjokk) blir mer resistente mot trykkpåvirkning. Eksponentielt voksende celler er mer sensitive mot trykk enn celler som er i stasjonær fase. Stress som induseres ved stasjonær fase induseres av sult eller surgjøring (Hugas *et al.*, 2002).

I tillegg til forskjeller mellom ulike arter bakterier (species) for hvor sensitive de er til HP, kan det også være store forskjeller mellom stammer (strains). Det er viktig å ta hensyn til disse forskjellene i overlevelse mellom bakterie arter og stammer slik at man undersøker (screeener) flere stammer når man skal designe regimer for å inaktivere spesielle mikroorganismer. Figur 4.2 viser forskjeller i overlevelse mellom to ulike stammer av *E. coli* i et kjøttmodellsystem. Begge hadde tilnærmet lik sensitivitet til trykk, men viste veldig forskjellig vekstkinetikk under lagring etter trykk-behandling (Hugas *et al.*, 2002). Fenotypiske forskjeller mellom stammer, som for eksempel fettsyreinnholdet i membranen kan være grunnen til forskjellige inaktiveringsrater som følge av høyt trykk.



Figur 4.2 Adferd til to ulike *E. coli* stammer (CTC1018 og CTC1023) i et kjøttmodellsystem etter høytrykksprosessering (400 MPa, 10 min, 17 °C) under kjølelagring (4 °C). Verdiene er gjennomsnitt av triplikater (Hugas *et al.*, 2002).

Nyere forskning har vist at bakterier i ulik grad kan tilegne resistens for HP. I en studie av Valint *et al.* (2012) ble en rekke bakterier undersøkt, og tilegnelse av ekstrem HP resistens ble bare observert hos *E. coli*, noe som kan indikere at en spesifikk genetisk egenskap må være tilstede for å kunne utvikle resistens mot HP. Når resistens var oppnådd viste den seg å være svært stabil, og kunne bli opprettholdt for >80 generasjoner etter eksponering for HP. *L.monoytogenes* LO28 og Scott A kan også tilegne seg trykkresistens, mens *L.*

monocytogenes EGDe ikke viste denne egenskapen (Van Boeijen *et al.*, 2008). Tilsvarende er også vist for *S. aureus* og *E. coli* (Van Boeijen *et al.*, 2008).

4.1.3 Effekt av matkomponenter på mikrobiell overlevelse

I mat vil effekten av matkomponentene under behandling, og etter behandling (under recovery perioden av mikroorganismene) ha betydning for den mikrobielle sikkerheten og stabiliteten til maten. Resultater fra buffere eller syntetiske medier kan ikke direkte overføres til matprodukter. Det er kjent at komplekse matmatrikser med lite syre, slik som kjøtt og spesielt melk (Garcia-Graells *et al.*, 2000), kan beskytte bakterier mot HP inaktivering sammenlignet med fosfatbuffer. Enkelte bakteriers evne til å overleve HP kan i sterk grad øke når mediet inneholder komponenter som karbohydrater, som kan beskytte mot skader (Hoover *et al.*, 1989), eller proteiner (Simpson & Gilmour, 1997). Eksempler på inaktivering av ulike bakterier i buffer og kjøttmodell er vist i Tabell 4.1. Vannaktivitet har betydning for effekten HP har på et produkt. Redusert vannaktivitet vil gi økt resistens av mikroorganismer til HP. Dette ser man både i syntetiske medier og matprodukter (Hugas *et al.*, 2002).

Tabell 4.1 Nedgang i bakterietall etter HP (500 MPa, 10 min, 40 °C) i fosfatbuffer og i inokulert kjøttmodell bestående av kokt skinke homogenisert med vann (3:1). Resultatene er i log cfu/g. Verdiene er gjennomsnitt av triplikater (Hugas *et al.*, 2002).

Strain	Phosphate buffer	Meat model
<i>Carnobacterium piscicola</i> LMG2739	5.79	4.67
<i>Enterococcus faecium</i> CTC492	6.79	4.67
<i>Escherichia coli</i> CTC1007	7.23	3.97
<i>Escherichia coli</i> CTC1018	5.53	5.54
<i>Escherichia coli</i> CTC1023	5.78	4.51
<i>Lactobacillus sakei</i> CTC494	7.01	3.98
<i>Lactobacillus sakei</i> CTC746	6.33	4.22
<i>Leuconostom carnosum</i> CTC747	6.33	3.91
<i>Listeria innocua</i> CTC1014	7.92	4.55
<i>Pediococcus acidilactici</i> F	5.60	3.84
<i>Staphylococcus carnosus</i> LTH2102	4.75	1.29

4.1.4 Synergistisk effekt av antimikrobielle forbindelser og HP mot mikroorganismer

Forskjellige studier har vist at HP alene ofte ikke er tilstrekkelig for å oppnå en sikker prosess under alle forhold. Det kan dermed være nødvendig å kombinere HP med en eller flere faktorer som kan gi en synergi effekt. Dette kan være lav pH (Alpas *et al.*, 2000), forhøyet temperatur eller antimikrobielle peptider (Kalchayanand *et al.*, 1998; Garcia-Graells *et al.*, 1999).

Gram-negative bakterier som *E. coli* og *Salmonella* er vanligvis ikke sensitive mot bakteriosiner til melkesyrebakterier, siden de mangler spesifikke reseptorer. Men de kan bli sensitive mot nisin og andre bakteriosiner når de blir utsatt for stress (Kalchayanand *et al.*, 1994).

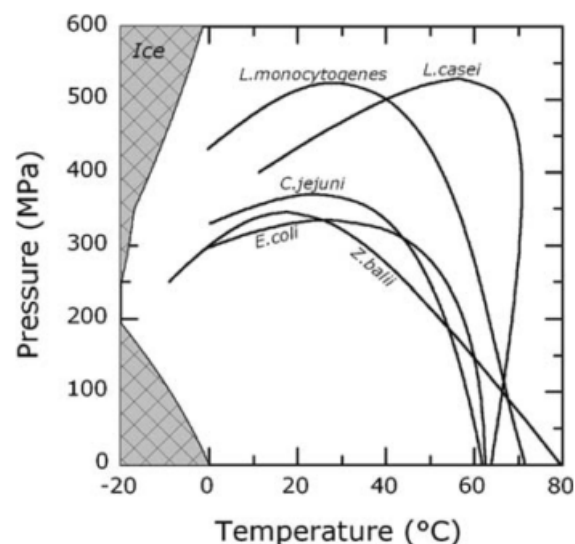
4.1.5 Effekt av HP betingelser på inaktivering av mikroorganismer

Motsatt av det som observeres under varmepasteurisering eller steriliserings-prosesser, er det kritiske kontrollpunktet (kaldeste stedet) lokalisert nær veggen i HP-beholderen. Dette fordi det skjer en varmeoverføring mellom veggen i HP-beholderen og trykkvæsken (i de fleste tilfeller vann). Dette resulterer i en nedgang i temperatur i produktene som ligger nærmest veggen. Effekten av tiden det tar å øke og senke trykket, i tillegg til kontroll av temperatur under selve prosessen er noe som i mindre grad har blitt undersøkt. En sakte økning i trykk vil kunne indusere en stressrespons, og dermed gjøre prosessen mindre effektiv. Det er antatt at en rask fjerning av trykk (depressurization) kan bidra til en høy inaktiveringsrate (Hugas *et al.*, 2002).

Kombinasjonen høyt trykk (i området 200–500 MPa) og økt temperatur ≥ 50 °C vil drastisk kunne redusere antall bakterier i en rekke matprodukter (Wilson *et al.*, 2008). Se også Kap. 6.1.

4.1.6 Vegetative celler

Relativt få studier har rapportert inaktiveringskinetikk for vegetative mikroorganismer over en rekke trykk-temperatur kombinasjoner. Figur 4.3 viser trykk-temperatur kombinasjoner som gir 5 log reduksjon av flere patogene og forringelsesbakterier etter 5 min HP behandling. Det er generelt akseptert at trykk og temperatur har en synergistisk effekt på ødeleggelse av bakterier ved høyere temperaturer. *Lactobacillus casei* ser ut til å være et unntak da motsatte effekter av trykk og tid har blitt observert (inaktivering i HEPES buffer, pH 5,3). Mikroorganismer tåler trykk best i temperaturintervallet 20–40 °C, og stabiliteten synker ved lavere og høyere temperaturer (Heinz & Buckow, 2010).



Figur 4.3 Trykk-temperatur isorate diagram for 5 log inaktivering av *C. jejuni*, *E. coli*, *L. casei*, *L. monocytogenes* 74903 og *Z. bailii* etter 5 min isothermal/isobarisk behandling (Heinz & Buckow, 2010).

Den lave stabiliteten ved synkende temperaturer kan bli forklart med økt kompresjon av vann og cellens cytoplasma, og dermed økt overføring av mekanisk energi til cellene. Dersom man antar at celledød blir initiert når en viss mengde mekanisk energi blir overført til

cellulære systemer, vil man ved lavere temperaturer nå denne dødelige terskelen ved lavere trykk enn det trykket som kreves ved høyere temperaturer (Lori *et al.*, 2007).

Noen studier har rapportert at celler som skades som følge av HP, og ikke vokser rett etter trykkbehandling, kan komme seg og begynne å vokse i matproduktet under lagring. Hvor raskt dette skjer avhenger av produkt/vekstmedium og lagringstemperatur. Men det er vist at HP-skadede celler kan reparere seg selv innen 1–15 dager (Koseki *et al.*, 2007). Dette viser at en må være forsiktig med å bruke konvensjonelle prosedyrer for å detektere skadede celler på selektivt og ikke-selektivt medium rett etter HP, men bør følge HP-produkter over tid og ta ut prøver.

4.1.7 Spoleringsbakterier

Spoleringsbakterier gjør at maten blir forringet og ofte får et lite delikat utseende. Hvilke mikroorganismer som forårsaker forringelse avhenger av produkt. Vanligvis gir ikke denne type forringelse alvorlig sykdom. Spoleringsbakteriene hos fisk er oppsummert i Tabell 4.2, modifisert fra Gram & Huss (1996). Hvilke bakterier som gir forringelse avhenger av opprinnelse til fisken (temperert vs. tropisk vann, og saltvann vs. ferskvann) samt atmosfæren fisken lagres i (luft, vakuum og MAP). I sjømat er det oftest Gram-negative bakterier som ødelegger kvaliteten, og disse er mer utsatt for høytrykksprosessering enn de Gram-positive bakteriene, og HP har ofte en god effekt på å redusere bakteriene i produktet og øke holdbarheten. Melkesyrebakterier (LAB) er Gram-positive, mens de fleste andre er Gram-negative.

Tabell 4.2 Oversikt over spoleringsbakterier i sjø- og ferskvann fra tropiske og tempererte farvann (Gram & Huss, 1986).

Temperert vann		Tropisk vann	
Saltvann	Ferskvann	Saltvann	Ferskvann
<i>Shewanella putrefaciens</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>S. putrefaciens</i>	<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Pseudomonas</i> spp.	Gram-positive bakt.	<i>Pseudomonas</i> spp.	LAB
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	LAB	LAB	TMAO reduserende bakterier
TMAO reduserende bakterier			

Når det gjelder HP brukt på fisk er det for å kontrollere og hemme vekst av patogener, og det er mindre litteratur tilgjengelig som omtaler spoleringsbakterier. Generelt er det i litteraturen lite informasjon om effekten av HP på spesifikke spoleringsbakterier, men mer generelt på totalt bakterietall og på spesifikke patogener.

Laks, både som røykt, fersk og sous-vide, er det jobbet mye med i forhold til HP. I tillegg er det mye forskning på skalldyr og skjell, og spesielt østers. I fersk laks HP prosessert ved 150 eller 300 MPa i 15 min var det etter prosessering en signifikant reduksjon i totalantall bakterier (TVC) (Yagiz *et al.*, 2009). Etter seks dagers lagring ved 4 °C var det fortsatt ingen bakterievekst for prøven behandlet med 300 MPa, mens for 150 MPa behandlingen ble det funnet bakterievekst under lagringen. Picouet *et al.* (2010) undersøkte sous-vide laks som ble HP behandlet ved 310 og 400 MPa og deretter lagret i 11 dager ved 4 °C. De undersøkte *Enterobacteriaceae* og TVC. 310 MPa ble funnet til å gi et mikrobielt stabilt og trygt produkt etter 6 dagers lagring.

Sild (*Clupea harengus*) og hyse (Haddock, *Melanogrammus aeglefinus*), fra irskehavet, har blitt undersøkt med hensyn på totalt bakterietall og psykrotrofe bakterier, samt hvordan bakteriene overlever og begynner å vokse under vakuumpakket lagring ved 2 °C i opptil 2 uker (Karim *et al.*, 2011). Holdbarheten til sild ble fordoblet til 10 dager etter HP-behandling ved 200 MPa i 1 min. Ved å bruke trykkene 200, 250 og 300 MPa ble både totalt antall bakterier og psykrotrofe bakterier signifikant redusert i prøvene. Økt holdbarhet skyldes forlenget lag-fase og lavere veksthastighet av bakteriene. HP av hyse viste at bakteriene på denne fisken var mer resistente mot behandlingen enn bakteriene på sild. Selv etter 300 MPa i 3 min var startkonsentrasjonen $\sim 10^4$ cfu/g. Samtidig var bakterieveksten i hyse lavere enn i sild gjennom lagringstiden. Hovedbakteriene i både sild og hyse var de Gram-positive bakteriene *Micrococcus* sp. og *Staphylococcus* sp., og sporeformerne *Clostridium* sp. og *Bacillus* sp., noe som forble uforandret under lagringstiden (Karim *et al.*, 2011).

HP viste seg også å redusere H₂S-produserende bakterier og *Pseudomonas* sp., i tillegg til mesofile og psykrotrofe bakterier i chilensk Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) og Abalone (*Haliotis rufescens*) (Briones *et al.*, 2010). HP behandlingen på laksen (opptil 200 MPa i 30 sek) var ikke nok til å øke holdbarheten, mens «abalone» som ble utsatt for 500 MPa i 3–8 min ga en signifikant økning i holdbarhet fra 30 til over 65 dager lagret ved 4 °C. I røykt torsk ble TVC og Gram-negative bakterier redusert ved 400-600 MPa høytrykksbehandling i 5 og 10 min (Montiel *et al.*, 2012). Samtidig ble bakterieveksten redusert under 5 °C lagring.

TVC, H₂S-produserende bakterier, koliforme, LAB og *Brochothrix thermosphacta* i østers ble alle redusert med opptil 5 log-enheter etter 2x 5 min ved 400 MPa (Lopez-Caballero *et al.*, 2000a). Videre var det ingen mikrobiologisk vekst etter 41 dagers lagring ved 2 °C.

Shewanella

Shewanella er fakultativ anaerob Gram-negativ bakterier, hvor *S. putrefaciens* og i den senere tid *S. baltica*, *S. hafnienensis* og *S. morhuae* er stammer funnet i bedervet fisk. Bakterien kan vokse ved lave temperaturer og kan produsere H₂S under anaerobe forhold, og bryte ned trimetylaminoksid (TMAO) til trimetylamin (TMA) og dermed forringe fisken (Gram & Huss, 1996).

I fersk laks ble det funnet signifikant reduksjon av *S. putrefaciens* etter HP ved 100 MPa i 30 min. Prosessering ved 200 MPa i 10 min ga også fullstendig inaktivering (Amanatidou *et al.*, 2000).

Pseudomonas

Pseudomonas er en stor og udefinert gruppe med bakterier som er Gram-negative og aerobe. Mange arter er psykrofile (vokse ved lave temperaturer). Spoleringspotensialet til bakterien skyldes produksjon av aldehyder, ketoner, estere og sulfider som kan gi råtten og sur lukt og smak. Noen arter kan være patogener for planter og dyr.

I fersk laks ble det funnet signifikant reduksjon av *Pseudomonas* etter HP ved 150 MPa i 30 min (Amanatidou *et al.*, 2000).

Melkesyrebakterier (LAB – lactic acid bacteria)

Melkesyrebakterier (LAB) omfatter en stor gruppe Gram-positive bakterier som tåler lav pH og som kan være psykrotrofe. Stammer av LAB deltar i naturlig fermentering av mat, og kan produsere både probiotika og bakteriosiner, samt forringe maten og være patogene. I gruppen av melkesyrebakterier er artene *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* og *Streptococcus*, i tillegg til flere andre.

LAB kan variere i mengde avhengig av produkttype og lagringsbetingelser. Typiske starttall av LAB i vakuumpakkede ferdigmat (RTE)-produkter er lav, men øker under kjølelagring og noen typer kan ødelegge produkter når antallet når 7-8 log cfu/g. Produktspolering kan være sur lukt og smak, grønn misfarging, slimdannelse og svelling av pakkematerialet (Patterson *et al.*, 2010).

I kaldrøkt laks er det funnet at LAB og annen psykrotrof bakgrunnsflora er mer trykkresistent enn for eksempel *L. innocua* (Gudbjornsdottir *et al.*, 2010). Studien viste likevel en signifikant nedgang i bakterier i røykelaks prosessert ved 500 og 900 MPa. I fersk laks ga trykk >100 MPa i 30 min en signifikant nedgang i LAB (Amanatidou *et al.*, 2000), og fullstendig inaktivering ved 200 MPa (10 min). I en studie av kaldrøkt laks, ble det funnet at HP (150–250 MPa) hadde liten eller ingen inaktiverings effekt på spoleringsbakteriene (Lakshmanan & Dalgaard, 2004). Spoleringsbakteriene i dette produktet besto for det meste av melkesyre-bakterier.

Andre spoleringsbakterier

Blant andre spoleringsbakterier i fisk er *Photobacterium phosphoreum*, *Brochothrix thermosphacta* de to viktigste artene, videre kan *Achromobacter*, *Acinetobacter* og *Pediococcus* være aktuelle arter. Det er ikke funnet noen spesiell litteratur som spesielt omtaler disse bakteriene i forbindelse med HP.

Andre bakterier kan også bli funnet i fisk og sjømat, men disse skyldes da i hovedsak kontaminering under bearbeidelsen.

4.1.8 Patogene bakterier

Der er generelt små mengder patogene bakterier i fisk. Det er også slik at vekstraten til Gram-negative forringelsesbakterier er høy ved lave temperaturer. Dette gjør at fisken hovedsakelig vil bli ødelagt før eventuelle store mengder patogener eller toksiner har oppstått (Senturk & Alpas, 2012).

L. monocytogenes er den patogene bakterien som er mest utbredt i sjømat og sjømatprodukter (European Food Safety Authority, 2012; Hofshagen, 2012). Patogener i sjømat, annet enn *Listeria* skyldes ofte kontaminering under foredling og prosessering. For skjell er *Vibrio* og virus de mest problematiske mikroorganismene.

Patogene bakterier kan være i en 'viable but non culturable state' (VBNC) etter å ha vært utsatt for ekstreme trykk, eller i kombinasjon med høyt trykk og annen prosessering. Bakteriene kan være levende, men ikke ha mulighet til å vokse og formere seg. Først må bakteriene reparere interne skader, før den begynner å vokse. Selv etter lang tid i en slags

dvaletilstand hvor bakterien reparerer skader etter å ha blitt utsatt for ekstreme stress, har de mulighet til å begynne å vokse igjen dersom forholdene skulle ligge til rette for det.

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes er en Gram-positiv fakultativ anaerob bakterie som overlever i svært mange miljø, ved lave temperaturer (-2 til 50 °C), i et stort pH-område (4,1–9,6) og ved høye saltkonsentrasjoner (opp til 10 %) i tillegg kan de overleve lange perioder i frossen eller tørket mat. Typiske karakteristika ved *L. monocytogenes* kan sees i Tabell 4.3. *Listeria* kan produsere toksiner og gi listeriose og matforgiftning hos mennesker. Bakterien finnes naturlig i naturen og spesielt i kjøtt, fisk, meieriprodukter, jord og kloakk.

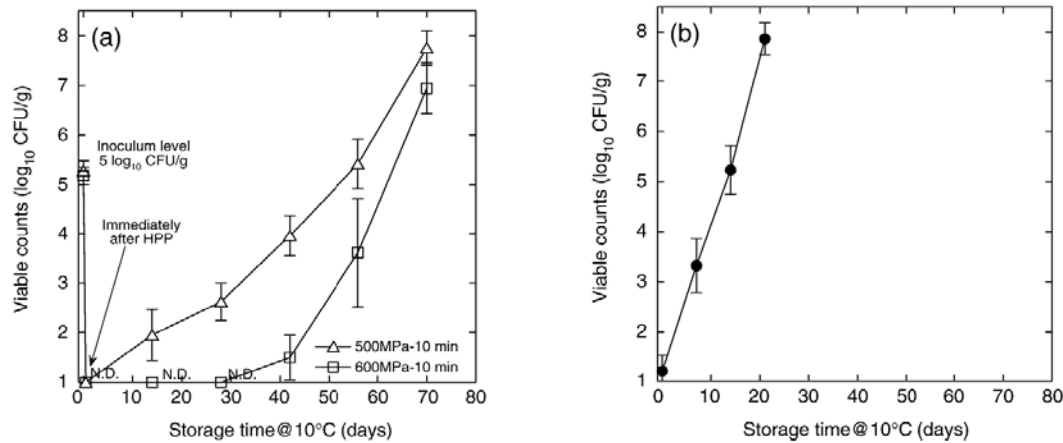
Evnen *L. monocytogenes* har til å kunne vokse ved lave temperaturer og under forhold med lavt oksygennivå gjør at produsenter av spesielt ferdigmat må være oppmerksomme på denne mikroorganismen. Mye tid og penger brukes for å minimere risikoen for rekontaminering under bl.a. kutting og pakking av maten. Flere land har strenge regler for maks antall *Listeria* ved utløpsdato i ferdigprodukter. Noen har nulltoleranse, mens andre, som Norge, har en grense på maksimalt 100 cfu *Listeria*/g ved utløpsdato (EU rapport, 2005).

Tabell 4.3 Typiske karakteristika av *L. monocytogenes*, *B. cereus* og *C. perfringens* (Maukonen et al., 2003).

Characteristic	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. perfringens</i>
Minimum water activity (a _w ; for growth)	0.92	0.94	0.93
Growth temperature	-1.5 °C to 50 °C	4–55 °C	12–50 °C
pH (for growth)	pH 4.1–9.4	pH 4.3–9.3	pH 5.5–9.0
Heat resistance of spores (at 100 °C)	–	3–8 min	0.3–13.0 min
Number of bacteria per gram in food reported in infective cases	< 10–10 ⁴ cfu/g (high risk groups) 10 ⁵ –10 ⁹ cfu/g (normal population)	10 ⁵ –10 ⁷ cfu/g (diarrheal type) 10 ⁵ –10 ⁸ cfu/g (emetic type)	10 ⁶ –10 ⁷ cfu/g
Incubation period	18–20 h (diarrheal type), in other types even 2 months	8–16 h (diarrheal type) 0.5–5.0 h (emetic type)	8–24 h
Symptoms	Diarrhea, fever (healthy adults) Sepsis, meningitis, fecal infection (adult high risk groups) Meningitis, sepsis, pneumonia, fecal infections (new-borns) Fever, preterm delivery, stillbirth (during pregnancy)	Abdominal pain, nausea, vomiting (emetic type) Abdominal pain, diarrhea, nausea (diarrheal type)	Abdominal pain, nausea, acute diarrhea
Food vehicles	Ready-to-eat foodstuffs with long shelf-life (fish, meat products, soft cheeses) and vacuum-packed products	Meat products, soups, vegetables, pudding, milk, and milk products (diarrheal type) Rice, pasta and noodles (emetic type)	Incompletely cooked or slowly cooled food products, meat, poultry, shellfish, fish, and dairy products
Occurrence in food biofilms	Yes (dairy, fish, meat)	ND (dairy)	ND
Occurrence in environmental site biofilms	Yes (plentiful)	Yes (non-food)	ND

HP ved forholdsvis høye trykk er en god måte for å inaktivere *Listeria*. Studier indikerer at trykk <450 MPa har forholdsvis liten inaktiveringseffekt, og at holdetider lenger enn 10 min ikke gir høyere reduksjon sammenlignet med kortere holdetid (Bover-Cid et al., 2011). Utfordringen med denne bakterien er at den har mulighet til å vokse ved kjøleskapstemperatur. Dette gjør at for produkter med lang holdbarhet vil det være en mulighet for vekst dersom ikke alle bakteriene inaktiveres. Ulike studier har vist at bakterier som blir inaktivert som følge av HP, kan ha evne til gjenoppliving (recovery) og reparasjon, og kan komme seg og begynne å vokse under lagring. Figur 4.4 viser at selv etter forholdsvis

lang periode med ikke detekterbare mengder, kan man plutselig få rask vekst av *Listeria*. Det nevnte eksempelet gjelder påvisning av *Listeria* på kokt skinke ved en lagringstemperatur på 10 °C (Koseki *et al.*, 2007).



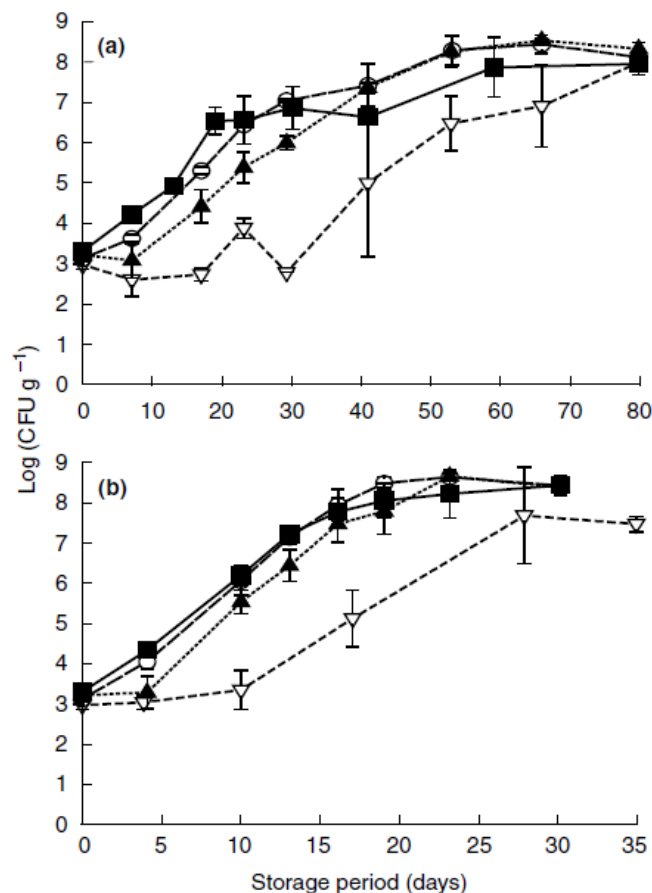
Figur 4.4 Endringer i antall *L. monocytogenes* på oppkuttet kokt skinke behandlet med (a) og uten (b) HP, og lagret ved 10 °C i 70 dager. Dataene er gjennomsnitt ± standardavvik for triplikate prøver (Koseki *et al.*, 2007).

I kaldrøkt laks utsatt for HP ved 150, 200 og 250 MPa i 20 min, ved 5,5 og 9,9 °C så man ingen inaktivering av *L. monocytogenes* i vakuumpakkede produkter (startkonsentrasjon >10³ cfu/g) (Figur 4.5). I et arbeid med makrell (*Scomber scombrus*) ble effekten HP-behandling med ulike trykk (250–400 MPa) og holdetider (0–60 min) undersøkt for både *L. monocytogenes* Scott A og *E. coli* (O157:H7) (Ramaswamy *et al.*, 2008). Resultatene viste at det var signifikant forskjell i inaktivering av bakteriene ved ulike trykk, og mellom de to bakteriene. Økt trykk og holdetid ga lavere overlevelse av bakterier. Resultatene ga en første ordens modell for drapskinetikk. 250 MPa, selv i 60 min, ga mindre enn 1 log reduksjon i *L. monocytogenes*, mens 400 MPa i 6 min ga log 4 reduksjon. Et annet arbeid viser HP behandling (>700 MPa) av kaldrøkt laks tilsatt log 3 cfu/g *L. innocua* ikke ga noe overlevelse av bakterien (Gudbjornsdottir *et al.*, 2010). Ved 900 MPa (60 sek) og 41 dagers lagring ved 5,5 °C var det fortsatt ikke vekst av bakterien i røykelaksen.

Ørret, most masse, som ble tilsatt tre stammer av *L. innocua*, og videre HP behandlet ved 150-517 MPa, 5 min og ved romtemperatur viste at ≥414 MPa ga en log 4 reduksjon i bakteriene (Basaran-Akgul *et al.*, 2010). Det ble også testet effekten av ulike saltkonsentrasjoner (0,1 eller 3 % NaCl) og tilsetning av salt ga en enda høyere inaktivering av bakteriene. Ved 414 og 517 MPa ble det funnet en ekstra log-reduksjon på 2,5. Under 300 MPa var det ingen signifikant effekt av å tilsette salt.

L. monocytogenes har muligheten til å tåle stress, slik som HP. Van Boeijen *et al.* (2008) studerte hvordan 3 stammer av *L. monocytogenes* (EGDe, LO28 og Scott A) ble påvirket av 350 MPa trykk. Av LO28 var det 24 % som utviklet trykkresistens, noe som også ble funnet hos Scott A. EGDe utviklet derimot ikke trykkresistente isolater. Videre ble 24 stammer av *L. monocytogenes* LO28 undersøkt for hvordan 350 MPa trykk i 20 min påvirket vekst under varierende forhold (Van Boeijen *et al.*, 2010). Forfatterne fant at stammene samlet seg i 3

ulike kluster og at det var 10 unike varianter. Den store diversiteten i stress-resistens av *L. monocytogenes* stammene viser at bakterien er genetisk fleksibel og kan overleve i mange ulike miljø.



Figur 4.5 Endring i konsentrasjon av *L. monocytogenes* i kuttet og vakuumpakket kaldrøkt laks (SVP-CSS) ved (a) 5,5 °C og (b) 9,9 °C. Før lagring ble SVP-CSS pakkene HP-prosessert, med kontroll uten trykk (■), 150 MPa (○), 200 MPa (▲) eller 250 MPa (△) (Lakshmanan & Dalgaard 2004).

Vibrio

Vibrio er Gram-negative staver som kan produsere et varmestabilt toksin. Bakterien er halofil, og kan vokse i 1-8 % salt, ved 10-30 °C, men tåler dårlig lav pH. *Vibrio* er spesielt assosiert med rå sjømat, skjell og skalldyr. *Vibrio parahaemolyticus* er en humanpatogen bakterie som er vanlig i kystfarvann, og som gir akutt magesyke. *Vibrio* spp. generelt inkludert den patogene bakterien *Vibrio vulnificus* er relativt sensitive til trykk.

HP blir brukt til å drepe *V. parahaemolyticus* og *V. vulnificus* i østers, uten at den sensoriske kvaliteten forringes. Vanlige betingelser for rå østers er 205-350 MPa i 1-3 min ved 10-30 °C. For en 5 log reduksjon av trykkstabile stammer av *V. parahaemolyticus* er det nødvendig med ≥ 350 MPa i 2 min ved 1-35 °C, eller ≥ 300 MPa i 2 min hvis temperaturen er 40 °C. Økt holdbarhet for rå østers er 10-15 dager med slik behandling (Kural *et al.*, 2008; Campus 2010). Tilsvarende resultater ble funnet for *V. vulnificus* hvor prosessering ved 150 MPa i 4 min ved -2 og 1 °C ga omtrent 5 log reduksjon i bakteriene, sammenlignet med prosessering

ved 20 °C som bare ga 0,5 log bakteriereduksjon (Kural & Chen, 2008). Dersom prosesseringstiden er kortere enn 4 min må trykket økes til over 250 MPa for å få en tilsvarende 5 log reduksjon. Ma & Su (2011) viste at 293 MPa i 2 min ved 8 °C reduserte *V. parahaemolyticus* i Stillehavs østers med over 3,5 log, og at østersen hadde en holdbarhet på 17 dager når den var pakket i plast og lagret på is.

Kombinasjonen av HP og varme ble testet for å se på kombinasjonseffekten for drap av *V. parahaemolyticus* og *V. vulnificus* i østers (Ye *et al.*, 2012). Forsøket viste at HP over 275 MPa i 2 min kombinert med varmebehandling i 20 min ved 45 °C, eller >200 MPa, 2 min og 50 °C varmebehandling i 15 min fullstendig eliminerte begge *Vibrio* artene i østers. Ye og medforfattere anbefaler en slik dobbel behandling av østers for å øke mattryggheten. HP alene ved 200–300 MPa i 2 min ga 0,7–7 log reduksjon av *Vibrio* men store variasjoner. Tilsvarende resultater ble funnet for varmebehandling.

4.1.9 Andre patogener

Escherichia coli

E. coli er Gram-negative staver som kan produsere toksin. Bakterien er vanligvis funnet i den nedre delen av tarmen til varmblodige organismer. *E. coli* kan overleve lagring ved lave temperaturer, høyt saltinnhold, og lav pH.

E. coli er ikke naturlig i fisk og funn av bakterien her skyldes i hovedsak rekontaminering under prosessering. *E. coli* (O157:H7) i makrell (*Scomber scombrus*) ble undersøkt ved ulike trykk (250–400 MPa) og holdetider (0–60 min), jf. avsnitt om *L. monocytogenes* (Ramaswamy *et al.*, 2008). Resultatene viste at det var signifikant forskjell i inaktivering av bakteriene ved ulike trykk, og mellom de to artene (*E. coli* og *L. monocytogenes*). Økt trykk og holdetid ga lavere overlevelse av bakterier. Ved trykk over 350 MPa var *E. coli* mer resistent til trykk enn *L. monocytogenes* Scott A (jf. *Listeria* avsnitt), og 400 MPa i 6 min ga log 2 reduksjon i bakteriene. For å oppnå en log 4 reduksjon måtte prøven behandles i 12 min. Det ble i det samme forsøket undersøkt vekst av *E. coli* under lagring ved 4, 12 og 20 °C. Økende temperatur ga økt mikrobiell aktivitet.

Salmonella

Salmonella er Gram-negative staver, ikke sporedannere og hovedsakelig bevegelige enterobakterier. De er kjemoorganotrofe og fakultative anaerobe. De kan vokse mellom 7–46 °C og innenfor et stort pH område (pH 3,8–9). Det finnes 2 arter *Salmonella*, men rundt 2400 serotyper av bakterien.

Salmonella i forbindelse med sjømat knytter seg til forurensinger fra vann, og det er ikke rapportert om noen tilfeller av *Salmonella* smitte fra sjømat i Europa (European Food Safety Authority, 2012). Bakterien kan derimot være i fiskefôr.

S. enteritidis ble inokulert i kaviar fra stør og ørret, og det ble sett på effekten av HP for overlevelse av bakterien. Prosessering ved både 400 MPa i 15 min og 350 MPa med 3x 5 min ga reduksjon i bakterier (Fioretto *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus

S. aureus er Gram-positive kokker, som kan forekomme enkeltvis, i par eller i klaser. De er ikke-bevegelige, og fakultativt anaerobe. Noen produserer et varmemestabilt enterotoksin. *S. aureus* er en opportunistisk patogen. Bakterien tåler tørke og salt. Funn av denne bakterien i sjømat relateres ofte til forurensinger og kontaminering.

S. aureus ble inokulert i kaviar fra stør og ørret, og det ble sett på effekten av HP for overlevelse av bakterien. Prosessering ved både 500 MPa i 15 min og 350 MPa med 3x 5 min ga reduksjon i bakterier (Fioretto *et al.*, 2005).

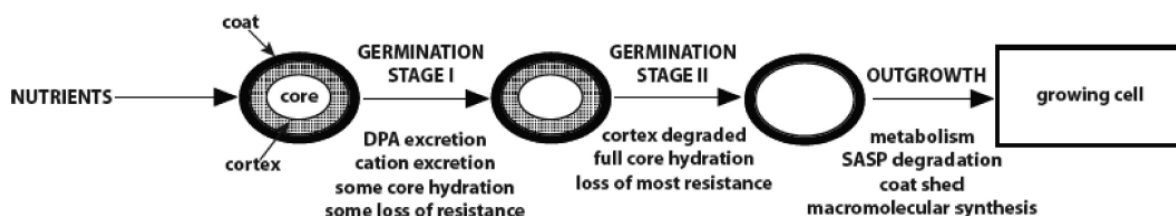
Andre

Yersinia enterocolitica, *Aeromonas* og *Pleisiomonas* er alle patogener som kan finnes i sjømat og skaldyr, inkludert østers. Det er ikke funnet noe litteratur som spesielt omtaler disse bakteriene.

4.1.10 Sporer

Inaktivering av sporer er en utfordring ved alle typer prosessering. Sporer tåler mye mer enn vegetative celler, og førstnevnte er kjent for å være svært trykk resistente, og kan overleve trykk opp til 1200 MPa. For å drepe sporer ved høyt trykk kan man benytte en 2-steps prosess; sporegerminering (spiring) kan gjerne induseres ved lave trykk (50–300 MPa), og ved påfølgende behandling (eksempelvis ved påfølgende høyt trykk og/eller høy temperatur, ved trykk ofte >400 MPa) kan spirede sporer drepes (Rivalain *et al.*, 2010). Det moderate trykket vil trigge germinering ved å aktivere næringsstoff-reseptorene til sporen (Figur 4.6). Et veldig høyt trykk (400–800 MPa) vil ikke trigge germinering via næringsstoff-reseptorene. Et høyt trykk kan derimot trigge germinering på andre måter, men dette vil oftere gi et mer sakte 'outgrowth'-stadium. Stadium-1 germinerte sporer (Figur 4.6) er ikke like sensitive mot varme som stadium-2 germinerte sporer, men de er mer sensitive enn sovende sporer fordi de har et økt vanninnhold (Black *et al.*, 2007).

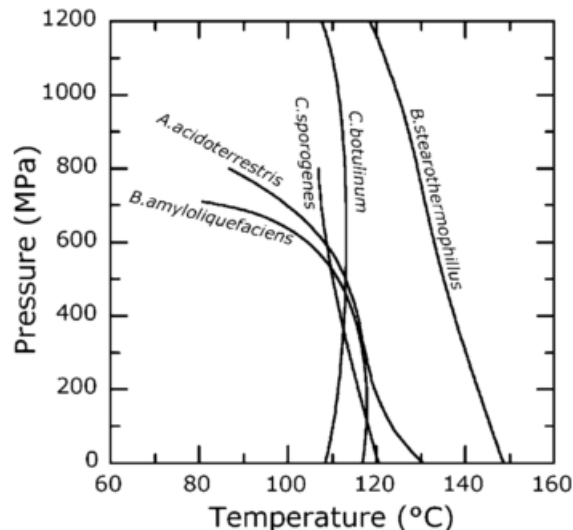
Hvordan høytrykk aktiverer reseptorene som trigger germinering er ikke slått fast. HP kan gi direkte endringer på reseptorene, eller så kan strukturelle endringer i membranen påvirke reseptorene (Black *et al.*, 2007). Figur 4.7 viser en oversikt over hvilke kombinasjoner av trykk og temperatur som gir 5 log inaktivering av ulike sporedannere.



Figur 4.6 Forløp ved næringsstoff-trigget spore germinering (Black *et al.*, 2007).

Sporer fra *Clostridium botulinum* og *Bacillus* arter har vist seg å ha en svært god toleranse for trykk over 1000 MPa ved romtemperatur (Margosch *et al.*, 2006). Mange andre sporer, som er relevant for mat, kan inaktiveres ved 600 MPa eller ved høyere trykk, eller i kombinasjon med temperaturer over 60 °C. Figur 4.7 viser at inaktiveringstemperatur og/eller tid blir senket i kombinasjon med trykk. *Bacillus subtilis* sporer er mottakelig for trykkindusert

germinering ved bruk av trykk mellom 100 og 600 MPa (Wuytack *et al.*, 1998). *C. perfringens* type A er en bakterie som forårsaker alvorlig matforgiftning, og den har vist seg å være ganske trykkresistent. Trykk på 100–200 MPa har hatt svært liten effekt på sporegerminering for denne bakterien.



Figur 4.7 Trykk-temperatur isorate diagram for 5 log inaktivering av *A. acidoterrestriis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. stearothermophilus*, *C. botulinum* og *C. sporogenes* etter 5 min isothermal/isobarisk behandling (Heinz & Buckow, 2010).

Resistensen til sporer mot trykk ser ut til å være knyttet til resistens mot varme. Studier av en rekke *Bacillus* arter har vist at *B. subtilis* IAM12118 sporer er veldig trykkresistent, men deres varmeresistens er mye lavere enn den man ser hos *B. stearothermophilus* sporer, som har lignende trykkresistens. En rekke studier har sammenlignet inaktivering av sporer ved trykk ved ulike temperaturer (Tabell 4.4). Generelt kan en si at om en under HP øker temperaturen >50 °C så vil man få en økt inaktivering av både *Bacillus* og *Clostridium* sporer i både buffer og mat (Black *et al.*, 2007).

Tabell 4.4 Effekt av trykk og temperatur på inaktivering av sporer fra *Bacillus* og *Clostridium* (Black *et al.*, 2007).

Bacterium	Ambient temp. ^a HPP treatment/ elevated temp. HPP treatment	Log reduction lower temp./higher temp.	Substrate	Reference
<i>C. sporogenes</i>	20 °C and 600 Mpa for 30 min/60 °C and 400 MPa for 30 min	No inactivation/3-log ₁₀	Distilled water	Mills and others 1998
<i>Bacillus</i> and <i>Clostridium</i>	20 °C and 400 Mpa for 30 min/50 °C and 400 MPa for 30 min	<1.0 log ₁₀ /1- to 4-log ₁₀	Minced pork	Moerman and others 2001
<i>C. sporogenes</i>	25 °C and 404 Mpa for 30 min/70 °C and 404 MPa for 30 min	2.5-log ₁₀ /6.0-log ₁₀	Citrate phosphate buffer	Stewart and others 2000
<i>B. subtilis</i>	25 °C and 404 Mpa for 15 min/70 °C and 404 MPa for 15 min	<0.5-log ₁₀ /5-log ₁₀	Citrate phosphate buffer	Stewart and others 2000
<i>B. anthracis</i>	20 °C and 500 Mpa for 360 min/75 °C and 500 MPa for 190 min	<2-log ₁₀ /9.0-log ₁₀	Distilled water	Clery-Barraud and others 2004

Prosesstemperaturer

En rekke kombinasjoner med HP og antimikrobielle stoffer og lav pH er blitt testet. Noe har vist seg å øke inaktivering av sporer, mens andre har liten eller ingen effekt. Mediet og maten som sporene er i kan også ha stor innvirkning på deres inaktivering. Bruk av

repeterende trykk er det også forsket en del på. Se review av Black *et al.* (2007) for mer utfyllende informasjon.

Der er flere strategier for å minimere risikoen for sporekontaminering; (1) Full inaktivering ved høye temperaturer eller trykk-temperatur kombinasjoner, (2) Indusere germinering av sporer med temperatur og eller trykk, og deretter inaktivere dem med temperatur eller trykk-temperatur behandling. Dette gir en mildere behandling enn strategi 1. Eller (3) Skade sporene med temperatur eller trykk-temperatur kombinasjoner (mildere enn strategi 1), og forhindre videre germinering eller 'outgrowth' i maten med naturlige 'hurdles' (Heinz & Buckow, 2010).

Det kan se ut som at høytrykk i kombinasjon med varme er det som må til for å inaktivere sporer. Selv om man da må ta i bruk varme så vil høytrykksprosessen likevel kunne være et attraktivt alternativ til konvensjonell varmesterilisering eller bruk av autoklaver da denne typen prosess har vist seg å være vel så effektiv og mindre ødeleggende for smak, tekstur og næringsverdi som det man ser ved varmeprosessering. En rekke studier er gjort på HP og varme sin effekt på sporer, se: Nakayama *et al.* (1996), Igura *et al.* (2003), Oh & Moon (2003), Reddy *et al.* (2003), Van Opstal *et al.* (2004), Islam *et al.* (2006), Margosch *et al.* (2006), Rajan *et al.* (2006), Ahn *et al.* (2007). Mer om HP og varme i Kap. 6.1.

Bacillus

Bacillus er Gram-positive staver. De kan være obligate aerobe eller fakultativt anaerobe (Tabell 4.3). Bakterien kan produsere sporer som kan forbli i en dvalefase i lengre perioder. *B. subtilis*, er en matforgiftningsbakterier som ofte er assosiert med kjøtt eller grønnsaker i paier, og kokt kjøtt eller fjørfeprodukter. *B. cereus* produserer toksiner som enten kan være varmelabile eller varmestabile, men lite er kjent om hvor resistente disse er mot høytrykk (Black *et al.*, 2007).

To ulike stammer av *B. cereus* ble inokulert i krabbekjøtt (10^3 - 10^5 sporer/g) og deretter HP prosessert ved 100–550 MPa, 5–15 min ved 40 °C (Suklim *et al.*, 2008). Det ble funnet forskjeller i trykkindusert sporegerminering mellom de to stammene, og mellom prosessering i buljong eller krabbekjøtt, hvor krabbekjøtt gir germinering ved lavere trykk. Germinering som skjedde ved høye trykk ga sporer som var mer utsatt for inaktivering enn om germineringen skjedde ved moderate trykk (200–300 MPa).

Clostridium

Clostridium er Gram-positive staver. De er obligate aerobe og sporedannere (Tabell 4.3). Proteolytisk *C. botulinum* er en av de mest varmeresistente mat-forgiftningsorganismer. Sporene er trykkresistente, men mekanismen bak er ikke kjent. *C. sporogenes*, som blir ansett for å være et ikke-toksisk motstykke til proteolytisk *C. botulinum*, blir ofte benyttet i forsøk når det av helse og sikkerhetsgrunner ikke tillates å benytte *C. botulinum*. HP kan være et problem i forhold til *C. botulinum* sporer, dersom produkter i MAP eller vakuum lagres over 3 °C. Det vil her ikke være noen spoleringsflora som ødelegger maten, og holdbarheten vil bli forlenget. Men, dersom det er sporer av *C. botulinum* i produktet kan disse potensielt overleve og danne toksiner (Linton, *et al.*, 2003).

Overlevelse av *C. sporogenes* sporer i lakse-slurry ble studert ved 700–900 MPa i 0–24 min og i kombinasjon med varme på 80–100 °C (Ramaswamy & Shaoa, 2010). Høyere trykk i kombinasjon med høyere temperatur ga en hurtigere destruksjon av sporer. Det ble også funnet at denne kombinasjonen ga en bedre effekt på sporedrap enn varmebehandling alene. I tillegg var sporene mindre resistente mot behandling i lakse- og kjøtt-slurry enn i melk (Ramaswamy & Shaoa, 2010).

4.2 Gjær og mugg

Generelt sier man at gjær og mugg er mer sensitive for høyt trykk enn vegetative celler. Inaktiveringsmekanismene for gjær er nesten lik de som ser for bakterier ved at det er cellemembranen permeabiliteten og cellulære strukturer blir berørt, og at man også får proteindenaturering (Perrier-Cornet *et al.*, 1999).

Det er kun muggsopp som kan være assosiert med sjømat. Ascosporer til varmeresistente mugg ser ut til å være trykkresistente og mange av dem blir ikke inaktivert ved trykk fra 300–800 MPa. Studier har vist at HP kan måtte kombineres med temperaturer på 60–70 °C for å inaktivere ascosporene (Raso & Barbosa-Canovas, 2003). Tørrfisk, klippfisk og røkt fisk er de eneste sjømatproduktene som kan være berørt av muggsopp, og da *Sporonema epizoum* (Lynum, 1994).

4.3 Virus

Ulike virus har veldig varierende sensitivitet mot høyt trykk. Virus deles gjerne i to grupper; de med kapsid (proteinkappe) og de uten. Mekanismene er ikke kjent, men det er antatt at årsaken til inaktivering vha. HP ligger i denaturering av kapsid-proteiner som er essensielle for å initiere infeksjon ved binding til vertscellen (Heinz & Buckow, 2010).

De fleste studier på høytrykk er gjort på kapsidvirus, hvor interaksjoner som protein-lipid, protein-protein og protein-nukleinsyre kan påvirkes. Det ser derimot ut til at sistnevnte forblir intakt som følge av høyt trykk (Gaspar *et al.*, 2002). Etter HP er den overordnede strukturen til viruset ikke endret, og den eneste forskjellen man kan se vha. elektronmikroskopi er tilstedeværelse av en kul på overflaten, som kan forklares ved forskyvning av kapsid subenheter (Gaspar *et al.*, 2002). Virus som ikke har kapsid er ofte mer resistente enn de som har. Det er ofte foreslått at under trykk vil kapsidet gå fra hverandre, og når trykket slippes vil det settes sammen igjen til en ikke-infeksiøs partikkel (Rivalain *et al.*, 2010; Rendueles *et al.*, 2011). Effekten av høytrykk er økende med trykk og tid, men en ser varierende resultater ved kombinasjonen høytrykk og varme. Dissosiering og denaturering av enzymer og virus som følge av høyt trykk kan fremmes ved lave temperaturer. Dette er på grunn av eksponering av non-polare sidekjedder til vann. De non-polare interaksjonene er mer sammentrykkbare, og dermed mer påvirket av trykk ved lave temperaturer. Type substrat/matvare virus befinner seg i/på har også påvirkning for hvordan overlevelsen blir etter eksponering for HP. Matkomponenter som fett, proteiner, karbohydrater og temperatur kan ha en beskyttende effekt (Kovac *et al.*, 2010).

Virus som er av interesse innen sjømat og spesielt skjell er norovirus og Hepatitt A. Begge disse virusene har en lav infeksjonsdose (10–100 partikler) og gir kraftig matforgiftning (som diaré). HP brukes til å fjerne Hepatitt A virus i rå skalldyr (Campus, 2010).

Østers og skjell som behandles ved 400 MPa i 1–5 min gir 3 log reduksjon i Hepatitt A og norovirus (Kovac *et al.*, 2010). Behandling ved 300 MPa ga derimot ingen reaksjon. Det er oppsummert i en review artikkel at 400 MPa i 1–5 min er nok til effektivt å senke mengde Hepatitt A og norovirus i østers, referanser i review artikkelen til Rendueles *et al.* (2011). Inaktivering av virus følger en Weibull eller log-logistisk modell, og ofte får man bedre inaktivering ved lave temperaturer.

For mer spesifikk informasjon om HP-inaktivering av virus fra familiene Picornaviridae, Caliciviridae og Reoviridae henvises det til oversiktsartikkelen av Kovac *et al.* (2010).

4.4 Parasitter

Lite informasjon er kjent om effekten av høytrykk på parasitter, og de studiene som er gjort har man fokusert på protozoa parasitter og nematoder. Oocyster er de resistente formene til protozoa parasittene. Oocyster fra parasitter som *Cryptosporidium parvum* og *Toxoplasma gondii* kan enkelt bli inaktivert med trykk mellom 340–550 MPa med kort holdetid (≤ 3 min) (Lindsay *et al.*, 2008; Rivalain *et al.*, 2010). Etter HP ser man ingen morfologiske endringer hos oocyster ved lys- eller transmisjonsmikroskop (Lindsay *et al.*, 2005).

Studier av nematodene *Anisakis simplex* og *Ascaris suum* har vist at relativt lave trykk (ca. 200 MPa) på relativt kort tid (<10 min) er nok til å inaktivere disse parasittene. Observasjoner av larvene i lysmikroskop har ikke vist morfologiske endringer på nematodene etter HP (Rivalain *et al.*, 2010).

4.4.1 Anisakis simplex

Fisk kan inneholde nematoden kveis (*Anisakis simplex*) som er humanpatogen. Varmebehandling eller frysing er tilstrekkelig for å drepe denne, slik at man unngår overføring til mennesker. Ved bruk av rå fisk, til for eksempel sushi vil denne kunne utgjøre et problem. Kveis i Stillehavs kveite (*Hippoglossus stenolepi*) og flyndre (*Oncorhynchus tshawytscha*, arrowtooth flounder) ble drept 100 % ved HP behandling i 30–60 sek og 414 MPa, 90–180 sek og 276 MPa eller 180 sek ved 207 MPa (Dong *et al.*, 2003). Økende trykk førte til kortere holdetid for å drepe kveisen. Makrell som ble HP-prosessert ved 300 MPa i 5 min hadde ingen levende kveis igjen i kjøttet (Brutti *et al.*, 2010). I fisk (uspesifisert) med mye parasitter var 200 MPa i 10 min nok til å inaktivere kveisen (Molina-Garcia & Sanz, 2002).

4.4.2 Protoza

Cryptosporidium er vannbåren og kan finnes i skaldyr, men det største problemet er i vann. Parasitten gir diaré. Det er ikke funnet noe informasjon om bruk av HP for inaktivering av protoza.

5 Matkvalitet – endringer i matprodukt som følge av HP

HP gir økt mattrygghet og produktene får et “ferskhetspreg” i pakningen. I tillegg vil en få inaktivering/aktivering av ulike enzymer som vil påvirke produktet i større og mindre grad. Prosessen vil bl.a. gi mulighet for teksturforbedringer.

Fersk fisk og kjøtt får et generelt kokt ytre utseende etter høytrykks-prosessering, samtidig som smak og indre utseende er som rått produkt. Produktet er fortsatt rått, siden HP ikke endrer på dette, kun på utseende og tekstur. Disse endringene skyldes i hovedsak endringer i proteinstruktur (sekundær, tertiær og kvartærstruktur) (Ahmed, 2010).

HP induuerte kvalitetsendringer i sjømat er svært forskjellig fra endringene man får ved varmebehandling. De er også svært avhengige av type sjømat og mengde trykk som brukes i behandlingen.

5.1 Tekstur

Høytrykksprosessering kan endre tekturen til matvaren grunnet proteindenaturering eller konfirmasjonsendringer. Dette gjelder spesielt for rå fisk og kjøtt, og melkeprodukter. Endring i proteinstruktur kan gi endrede karakteristikker og funksjonalitet for proteinet. Trykk kan endre eller ødelegge ioniske bindinger i proteinstrukturen, samtidig som det kan endre sekundær, tertiær og kvartærstruktur hos proteinet, noe som fører til denaturering (kap. 13 i Ahmed, 2010). Proteiner er i en konstant balanse mellom å stabilisere og destabilisere strukturen og interaksjoner med polypeptider og løsninger. Native proteiner er stabile ved spesielle betingelser som pH, temperatur, fysiokjemiske parametere og kjemiske løsninger. Generelt er tertiærstrukturen til proteinene mest sensitiv til høytrykk, og subenheter i proteiner kan dissosieres ved moderate trykk som 150-200 MPa (kap. 13 i Ahmed, 2010). Sekundærstrukturen til proteiner er mye mer trykkresistent og endres først mellom 300–700 MPa. Disse endringene vil være ikke-reversible og gi denaturering i ulike grad, avhengig av sekundærstrukturen og trykkbelastning.

Calpainer er enzymer som ofte er involvert i *post-mortem* mörning. Calpainer er intracellulære endopeptider som krever kalsium for å oppnå enzymaktivitet (Cheret *et al.*, 2007), samtidig kan disse enzymene reguleres av calpastatin. I havabbor (sea bass) er det funnet at calpain kan aktiveres etter 100 MPa, mens ved 300 MPa ble enzymet denaturert og mistet sin aktivitet. Dette resultatet viser at HP over 300 MPa kan brukes for å bevare kvaliteten av fisk, siden calpain som degraderer tekturen blir inhibert.

Generelt er det vist at HP gir en hardere tekstur og økt skjærkraft i fisk, men enkelte arter som karpe og bluefish (*Pomatomus saltatrix*) har vist å gi bløtere kjøtt (Murchie *et al.*, 2005). Videre er det vist at varmebehandling etter HP kan endre tekturen til kokt utseende, og samtidig reversere en hard tekstur til en mykere. Murchie *et al.* (2005) har oppsummert teksturforandring og visuell endring hos mange fisk.

Tekturen i røykelaks ble noe endret under HP. Hardheten (toughness) økte noe etter 900 MPa sammenlignet med 400 MPa (10–60 sek) og ubehandlet prøve, uten at det var noen signifikant forskjell (Gudbjornsdottir *et al.*, 2010). Høytrykk øker hardhet (hardness), klebrighet (gumminess) og tyggbarhet (chewiness) i mørk muskel fra fersk laks behandlet ved 150 og

300 MPa (15 min) (Yagiz *et al.*, 2009). Økt trykkbelastning gir også hardere fisk. Samtidig avtar klebrigheten (adhesiveness) med trykkbehandling. Dette samsvarer godt med andre studier på laks, samt egne observasjoner (Ytterligere opplysninger er konfidensielle fra oppdragsgiver). Til sammenligning ble det ikke funnet noen forskjeller mellom sous-vide laks med og uten HP behandling når det gjaldt fasthet (firmness) (Picouet *et al.*, 2010). Regnbueørret fikk også hardere tekstur (hardness) ved 450 og 600 MPa i 15 min, mens ved lavt trykk (150 MPa) var det ingen forskjell fra rå fisk (Yagiz *et al.*, 2007). Dette blir forklart med myofibrill denaturering og aggrigering. Det ble i tillegg funnet at tyggheten (chewiness) økte med økende trykk.

Teksturen til torsk endres under fryselagring, til en hardere konsistens. Det ble derfor undersøkt om HP ville bedre teksturen etter fryselagring (Matser *et al.*, 2000). Lave trykk har vist seg å kunne gi nedgang i proteaseaktivitet i fisken. Fryselagring av torsk etter 100 MPa torsk ga en tekstur tilsvarende rå fisk, altså ingen bedring i kvalitet. Høyere HP behandling (200 og 400 MPa) derimot viste ingen teksturendring under lagringen, men selve behandlingen gjorde kjøttet hardere enn rå fisk (Matser *et al.*, 2000).

For økt holdbarhet av østers brukes ofte HP (>350 MPa). López-Caballero *et al.* (2000) fant at under 400 MPa var teksturen til østers god, og hadde noe høyere skjærkraft. Dersom temperaturen ble holdt under 7 °C ble det funnet enda bedre resultater. Kuttstyrken (cutting strength) til østers øker signifikant med økende trykk (Cruz-Romero *et al.*, 2008b). I reker (prawns, *Penaeus japonicus*) ble det funnet en liten, men signifikant teksturendring som følge av HP (200 og 400 MPa) (Lopez-Caballero *et al.*, 2000b).

5.1.1 Gelatinisering – gel dannelse

Store molekyler slik som polysakkarider, inkludert stivelse og proteiner kan bli påvirket av HP og det kan skje endringer i molekylet slik at de danner en gel. Myofibrillar-proteiner har mulighet til å danne geler, og det er dette som blir påvirket under HP. Det er vist at HP polymeriserer aktin og aktomysin, og fremmer løselighet av myofibrillar-proteiner, og dette vil følgelig påvirke geldannelsen etter HP (Colmenero, 2002).

HP stimulerer dannelse av en hydrogenbundet gel, mens varme resulterer i dannelse av et nettverk dominerende av hydrofobe og elektrostatiske bindinger (Angsupanich og Ledward 1998). Det er antatt at denne forskjellen i struktur fremdeles vil eksistere etter varmebehandling av en HP-indusert gel, noe som vil resultere i en større hardhet og prosesstap sammenlignet med en ikke-HP gel (Matser *et al.*, 2000). Geldannelse under HP ved lave temperaturer har vist seg å gi geler med andre egenskaper enn når de er dannet ved varmebehandling (San Martin *et al.*, 2002).

Det er rapportert store forskjeller mellom ulike matprodukt under hvilke betingelser geldannelsen skjer, samtidig påvirker HP behandlingen (tid, temperatur og trykk).

Oppmalt karpe resulterte i geldannelse under HP, men svakere enn ved varmebehandling (Ohshima *et al.*, 1993). Mykofibrillar-proteinenes mulighet til geldannelsen økte dersom det ble tilsatt transglutaminase.

Restavfall av lysing (hake) ble brukt til å lage proteingeler, og dermed ble det økt utnyttelse av råvaren (Cardoso *et al.*, 2010). HP i kombinasjon med MTGase ga bedre tekstur (økt gelstyrke) og vannholdingskapasiteten av gelen økte. Mengde trykk som ble påført viste seg å være den viktigste parameteren i forsøket. Tilsvarende ble det for flyndre (arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*) funnet at tilsetning av MTGase og HP ved 600 MPa, 25 °C, økte og forbedret de mekaniske egenskapene til gelen (Uresti *et al.*, 2006).

Kolmule (blue whiting) muskel gir geldannelse ved 200 MPa i 10 min og ved temperatur under 10 °C, mens for å få best kvalitetsmessig resultat på gelen var prosessering ved 375 MPa i 20 min og 37 °C den beste betingelsen (Pérez-Mateos & Montero, 2000). Temperatur var det som påvirket gelen mest. Økt trykk, tid og temperatur ga bedre elastisitet og vannbindingsevne, men reduserte andre mekaniske egenskaper. Trykk ga en lysere gel, mens varme påvirket fargen (rød og gul) på gelen. Tilsvarende resultater på farge er funnet for flere andre fiskearter, hvor HP påvirker lite i forhold til varmebehandling (San Martin *et al.*, 2002).

Surimi, er vasket og oppmalt fiskekjøtt fra hvitfisk, som brukes til fiskeprodukt som f.eks. crab sticks. Surimi har en høy næringsverdi og det er et rimelig produkt, derfor har dette blitt mer og mer populært til bruk i mat. Høytrykk har vist seg å være en prosess som kan være nyttig å bruke i surimiproduksjonen for å øke gelstyrken (Martín-Sánchez *et al.*, 2009). HP surimi omtales som et høykvalitetsprodukt og beskrives som geler som er glinsende og myke og med en mer uniform og jevn struktur. I tillegg bevares fargen og smaken bedre enn ved varmebehandling (Campus, 2010).

5.2 Farge

Fargen til mat blir vanligvis målt med en spektrofotometrisk reflektansmetode og er basert på bestemmelse av fargekomponentene $L^*a^*b^*$, gjennom CIE systemet. L^* er lyshet (0 = svart og 100 = hvit), a^* har positive verdier for røde farger og negative for grønne, og b^* beskriver gulfarge (positive verdier) og blåfarge (negative verdier). Ut fra verdiene $L^*a^*b^*$ kan total fargeforskjell beregnes (total colour difference, tcd): $tcd^2 = \Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2$. I tillegg bestemmes chroma (C) og fargetone (hue angle, H) mellom en prøve og en standard. Dette vises som ΔC^* og ΔH^* .

Ved trykk >200 MPa er det vist at fisk ofte får et kokt utseende, og at L^* -verdien blir høyere slik at fisken ser lysere ut (Campus, 2010). Torsk og makrell ble mer gjennomsiktig og fikk en høyere L^* -verdi etter HP. Murchie *et al.* (2005) oppsummerer at tilsvarende er vist for mange andre arter som laks, lysing, karpe, rødspette, lyr, ørret og piggvar. Høytrykk gir også lavere rødhet (a^*) noe som er negativt for laks, ørret og annen rød fisk (Campus, 2010). Tilsvarende er funnet i mahi mahi, ørret og laks (Marshall *et al.*, 2006; Yagiz *et al.*, 2007). Også for tunfisk som har rødlig kjøtt er det funnet at a^* synker, og rødfargen blir svakere, L^* øker og gir lysere farge på kjøttet med økende trykk og holdetider (Zare, 2004).

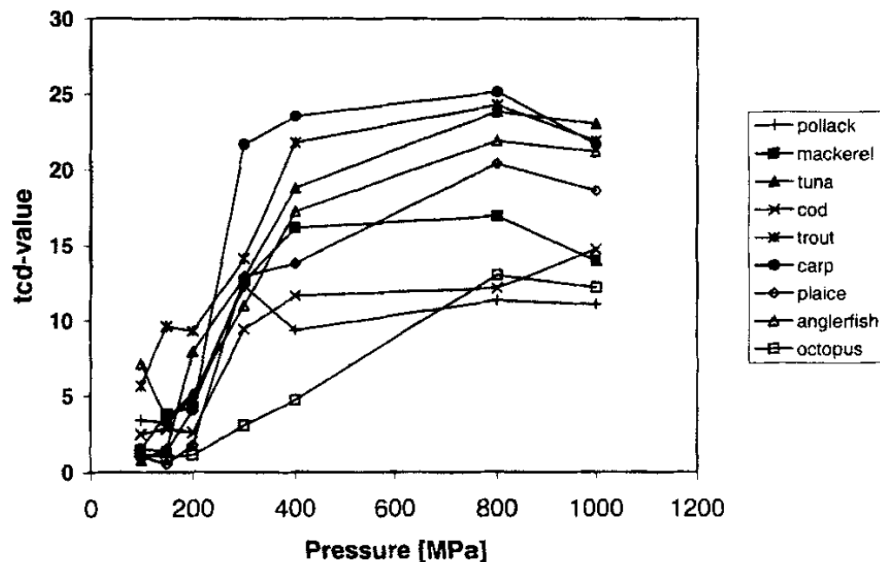
Fargen på mørk muskel fra fersk laks endret seg mot lysere rød (lavere a^*), mer lyshet (L^*) og mer gulfarge (høyere b^*) ved 300 MPa i 15 min, sammenlignet med 150 MPa og ubehandlet prøve. Tilsvarende endringer i farge ble observert for kokt laks (Yagiz *et al.*, 2009). Sous-vide laks som ble HP prosessert (210–400 MPa, 5 min) viste også en lysere

farge, men ellers få fargeforskjeller (Picouet *et al.*, 2010). Dette er også observert i egne forsøk (Ytterligere opplysninger er konfidensielle fra oppdragsgiver).

Røykelaks antas å egne seg godt for HP selv om det ble funnet signifikante fargeforandringer på lyshet (L^*). Rødfargen (a^*) ble ikke påvirket under HP (900 MPa, 10, 30 eller 60 sek) (Gudbjornsdottir *et al.*, 2010).

Matser *et al.* (2000) studerte effekten av HP på fargeendring i ulike fisk. Det ble funnet fargeendring i de fleste fiskene mellom 150–200 MPa (Figur 5.1).

For østers er det funnet at HP over 300 MPa øker hvitheten i kjøttet, og det øker med økende trykk, og best farge var ved 260 MPa (Cruz-Romero *et al.*, 2008a og b). L^* -, a^* - og b^* -verdiene var signifikant forskjellige fra rå østers etter HP ved 400 eller 600 MPa. Denaturering av myofibrillar og sarkoplasma proteiner ga en a^* -verdi mot mer grønnlig farge. HP av reker (prawns, *P. japonicus*) ved 200 og 400 MPa ga litt hvitere kjøtt enn kontrollen. I blekksprut ble det derimot observert rått utseende opptil 400–800 MPa, tilsvarende er funnet for skjell.



Figur 5.1 Forskjeller i totalfarge (tcd) til ulike fiskearter utsatt for ulike trykk (Matser *et al.*, 2000).

5.3 Vannbinding (water holding capacity, WHC)

Vannbindingsevnen til muskel er avhengig av hva som skjer *post-mortem*, og da spesielt påvirket av pH senkning, proteolyse og proteinoksidasjon. Under *rigor* prosessen krymper myofibrillene og plassen hvor vann kan holdes reduseres, dermed blir vannet presset ut i de ytre myofibrillene. Her vil vannet lettere slippe og gi væskeslipp.

Trykk og holdetid har begge signifikante effekter på vannbindingsevnen av kaldrøkt laks, mens dette ikke er tilfelle for fersk laks (Lakshmanan *et al.*, 2007). Fersk laks reduserer vannbindingsevnen med 5 % ved 200 MPa i 10 og 20 min. For røykelaks ble det ikke funnet noen endringer. Det antas at dette kan skyldes denaturering av proteiner under HP. I tunfisk er det også funnet økt vanntap etter HP ved 200 og 220 MPa, 15 og 30 min (Zare, 2004).

Havabbor (sea bass) og sea bream ga begge redusert vannbindingsevne og økt vanntap etter HP ved 300–400 MPa. Det er antatt at dette skyldes inhibering av proteasen calpain (som degraderer myofibrill protein) (Cheret *et al.*, 2005; Campus, 2010). Lopez-Caballero *et al.* (2000) fant noe reduksjon i vannbindingen hos reker (prawns, *P. japonicus*) men det var ikke signifikante forskjeller fra kontrollprøvene.

5.4 Næringsverdi

Næringsverdien i sjømat og skalldyr er mindre påvirket av HP enn tekstur og farge. Enzymer, vitaminer, mineraler og fiber beskriver ofte næringsverdi i et produkt. Det er funnet lite litteratur som omtaler dette når det gjelder fisk og sjømat.

Effekten av HP på enzymer avhenger av type enzym, matmatriks, trykk, tid og temperatur. Samtidig er det funnet at HP kan både øke og senke enzymaktivitet. Samme enzym kan påvirkes ulikt i ulik matriks eller først f.eks. øke enzymaktivitet og deretter avta i aktivitet, eller motsatt, når trykket økes. Hendrickx *et al.* (1998) beskriver to klasser av enzymer. Lave trykk (~100 MPa) vil kunne aktivere enkelte enzymer, gjerne monomere, mens høye trykk generelt inaktiverer enzymer.

Vitaminer påvirkes generelt lite av HP. Barret & Lloyd (2012) har summert opp tilgjengelig litteratur på vitaminer og HP for frukt og bær. De fant generelt ingen eller lite reduksjon i vitamininnhold i prøvene.

5.5 Smak, sensorikk

Smaken til maten bestemmes av mindre smaks- og aromamolekyler, og disse vil i liten grad bli påvirket under HP behandling. De fleste smaks- og aromamolekylene er enzymer, blant annet proteolytiske enzymer som bidrar til nedbrytningen av sjømat. Andre molekyler som bidrar til smak er frie aminosyrer, nukleotider, sukker og mineraler. Generelt sett kan HP gi (1) inaktivering, (2) aktivering, eller (3) ingen effekt på enzymer.

I en større studie med østers er ulike aromakomponenter undersøkt, og effekten av HP på disse studert. Det ble funnet forskjeller i aromastoffer hos rå og HP østers, noe som igjen kan påvirke kvaliteten (Cruz-Romero *et al.*, 2008a). Det ble funnet høyere konsentrasjoner av dimetyl sulfide, 1-penten-3-one, phenol og 1,2,4-trimetylbenzene sammenlignet med rå østers. Lavere konsentrasjoner ble funnet av 1-penten-3-ol, 2,3-pentanedione, (*E,E,Z*)-1,3,5-octatriene og 1,3-octadiene i HP østers enn rå.

HP behandlet tunfisk økte holdbarheten, basert på sensorisk kvalitet, fra 10 dager til 15 dager (150 og 200 MPa, 15 min) og videre til 21 dager for HP behandling ved 200 MPa i 30 min eller 220 MPa, 15 og 30 min (Zare, 2004).

Carpaccio av tunfisk og laks som var HP behandlet (200-300 MPa, 15 min eller 3x 5 min, 7 °C) ble bedømt sensorisk for farge, tekstur og aroma (flavour). Aroma og spesielt farge ble bedømt lavere enn hos rå fisk, mens tekturen var hardere (tougher) (Gómez-Estaca *et al.*, 2009). Selv om det ble gitt lavere sensorisk score på HP carpaccio ble fisken bedømt til å være veldig akseptabel (høy score), og at dette kan være et nytt produkt med nye sensoriske

egenskaper. For carpaccio av utvannet bacalao ble det bare registrert små forskjeller i farge og tekstur, mens aromaen ikke ga noen forskjell fra ubehandlet prøve.

5.5.1 Lipidoksidering og fettsammensetning

Fettsyrer i fisk skiller seg fra landdyr med at de har en høy andel flerumettede fettsyrer (som blant annet omega 3). Dette gjør at sjømat er utsatt for autooksidasjon, og dermed forringelse av kvaliteten.

Oksidering av fiskeolje i fiskemuskel økte som følge av HP behandling (Campus, 2010), og det er antatt at dette kan skyldes metallioner i fisken som kan katalysere oljen. Både for torsk, makrell og sardin ble det funnet økt lipidoksidasjon sammenlignet med kontrollprøven (Campus, 2010).

Sjømat er en god kilde for omega 3 som er flerumettede fettsyrer (PUFA) hvor eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) er de viktigste. I laks kommer mesteparten av EPA og DHA fra mørk muskel. HP kan ikke bryte ned kovalente bindinger, så det er antatt at EPA og DHA forblir intakt i HP prosessert fisk.

I røykelaks er det ikke funnet noen tegn til lipidoksidasjon som følge av HP (500–900 MPa, 10–60 sek) (Gudbjornsdottir *et al.*, 2010). Mengde thiobaritursyre reaktive substanser (TBARS) i prøvene var hele tiden lave på 4,7–7,3 $\mu\text{mol/kg}$. Lipidoksideringen i mørk muskel fra fersk og HP laks øker under lagring ved 4 °C. 300 MPa hadde signifikant lavere oksidering etter 6 dager sammenlignet med 150 MPa og ubehandlet laks (Yagiz *et al.*, 2009). Mengde EPA og DHA var upåvirket av HP og forble uforandret under lagring, sammenlignet med koking som reduserte nivået av fettsyrene (Yagiz *et al.*, 2009). En studie av Marshall *et al.* (2006) viste at i HP laks ved 150 og 300 MPa, i 15 min, var det liten oksidasjon, og heller ingen endring under lagring. Dersom trykket ble økt til 450 og 600 MPa økte lipidoksideringen fra under 10 $\mu\text{mol/kg}$ til 70 $\mu\text{mol/kg}$ etter 6 dagers lagring.

Regnbueørret prosessert over 300 MPa (15 min) ga økt lipidoksidering, og økning i TBARS verdier fra 6 $\mu\text{mol/kg}$ (dag 0) til nesten 70 $\mu\text{mol/kg}$ etter 3 dagers lagring, og videre til 100 $\mu\text{mol/kg}$ etter 6 dager, etter 600 MPa (Marshall *et al.*, 2006; Yagiz *et al.*, 2007). Det ble i dette forsøket ikke sett på fettsyresammensetningen, så om omega 3 blir oksidert må undersøkes videre.

HP behandling av østers resulterte i høyere lipidoksidering under lagring (Cruz-Romero *et al.*, 2008b). Høyere trykk (600 MPa) ga mer oksidering enn ubehandlet østers og 260 MPa behandling. Fettsyresammensetningen ble derimot ikke endret etter HP (Cruz-Romero *et al.*, 2008a). I tilapia og mahi mahi var det ingen endring i lipidoksidering ved HP under 550 MPa, 15 min (Marshall *et al.*, 2006). Ved 550 MPa ble det funnet en svak økning i oksideringen hos tilapia. Lagring av mahi mahi i 6 dager resulterte i økt oksidering, og 300 MPa var den behandlingen som ga mest oksidasjon. 150 MPa ga økt oksidasjon etter 3 dager, men dette avtok etter 6 dager (Marshall *et al.*, 2006).

5.5.2 Flyktige nitrogenforbindelser og TMA

Flyktige nitrogenforbindelser (TVBN) og trimetylamin (TMA) gir opphav til dårlig og råtten lukt i fisk og sjømat og forbindes med forråtnelse av fisk. TMA assosieres med en rekke

bakterier, som kan redusere trimetylaminoksid (TMAO) til TMA. Måling av TMA i fisk er i tillegg til å bestemme forråtnelse en indikator på bakterievekst.

Karim *et al.* (2011) studerte sild (*Clupea harengus*) og hyse (Haddock, *Melanogrammus aeglefinus*) med hensyn på TVBN og TMA. HP reduserte signifikant mengde TVBN i hyse, mens sild ikke fikk en så stor reduksjon etter HP. Holdbarhetstiden, basert på mengde TVBN og TMA, økte signifikant i hyse. HP ved 200 MPa i 1 min ga en holdbarhet på 14 dager, mens kontrollen bare hadde en holdbarhet på 7-8 dager (tilsvarende 35 mg N/100g). Samtidig viste analysene at ingen av de andre HP variantene (200 MPa, 3 min; 250 og 300 MPa, 1 og 3 min) nådde denne grensen i løpet av 14 dager ved 2 °C. Tilsvarende resultater ble funnet for TMA, men her var alle HP prøvene under den sensoriks akseptable grensen på 15 mg N/100 g etter 14 dager, mens kontrollen bare hadde en holdbarhet på 6 dager. I sild ble det ikke funnet like gode resultater. HP viste nedgang i TVBN og TMA, og holdbarheten økte i forhold til kontrollen. Økende trykk (fra 200 til 300 MPa) ble funnet til å gi bedre holdbarhet i sild.

Kaldrøkt dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) økte holdbarheten fra 49 til 75 dager etter 300 MPa i 15 min ved 20 °C basert på TVBN (Gómez-Estaca *et al.*, 2007a). HP med 200–400 MPa og ulike holdetider på torsk, lysing (hake), blekksprut og gilthead bream (*Sparus aurata*) ga alle en økt holdbarhet og reduksjon i TMA (ref. i Karim *et al.*, 2011).

6 Kombinasjon av høytrykk og andre metoder

Høytrykk kan kombineres med en rekke andre konserveringsmetoder. Noen av dem er listet i Tabell 6.1, hvor tilleggseffekt av de ulike kombinasjonsmulighetene også kan sees.

Tabell 6.1 Vanlige kombinasjonsmuligheter med HP (modifisert fra Raso & Barbosa-Canovas, 2003).

	Varme	Lav pH	Lav temp.	Antimikrob. stoff	Modifisert atmosfære	CO ₂
HP	◆◆	◆◆+	+	◆◆+	+	◆◆

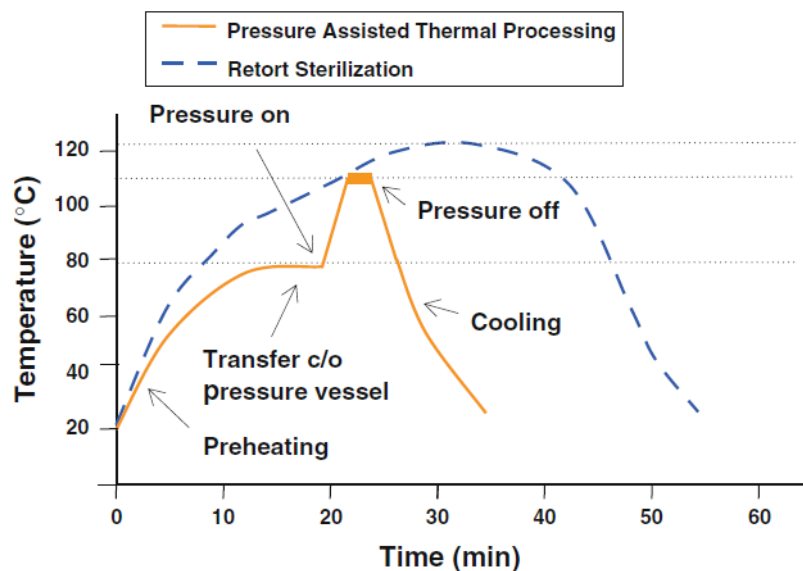
◆ Økt dødelighet av nonthermal prosess

• Reduserer behandlingsintensitet til nonthermal prosess

+ Hemmer mikrobiell vekst etter behandling

6.1 HP og varme

Høytrykk-varmesterilisering (high pressure thermal sterilisering (HPTS), pressure-assisted thermal sterilization (PATS), high-pressure thermal processing (HPT) processing, High pressure high temperature (HPHT)) er en teknologi hvor man bruker høye trykk (i området 600–800 MPa) kombinert med høye temperaturer (60–90 °C) for å oppnå sterile produkter (Matser, Krebbers *et al.* 2004; Bermudez-Aguirre og Barbosa-Canovas 2011). En fordel med denne teknologien er at vha. adiabatisk oppvarming blir produktene raskt eksponert for høye temperaturer. Videre får man en forholdsvis rask kjøling når trykket slippes. Dette gjør at man kan oppnå redusert prosessetid og økt produktkvalitet sammenlignet med tradisjonell varmebehandling (Reineke *et al.*, 2011). Figur 6.1 viser en sammenligning av prosesseringstid ved bruk av autoklaver og PATS.



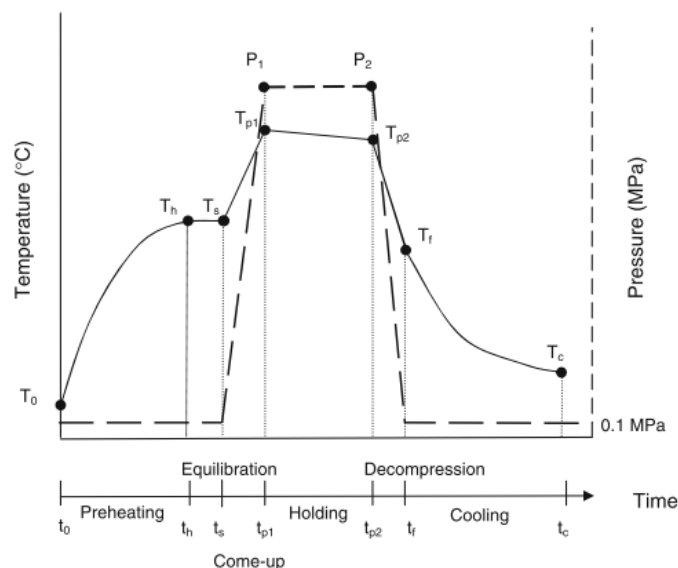
Figur 6.1 Sammenligning av tid og temperatur mellom konvensjonell varmesterilisering og PATS (Bermudez-Aguirre & Barbosa-Canovas, 2011).

For vann ved 20 °C vil man få 2–3 °C temperaturøkning pr 100 MPa. Ved en starttemperatur på 90 °C, vil man få en temperaturøkning på hele 5,3 °C pr 100 MPa med økende trykk. Høyere temperaturøkninger har man rapportert for matprodukter. Ved en starttemperatur på

25 °C vil man for olivenolje få en økning på mellom 6,9–8,7 °C, for majones mellom 5,0–7,2 °C, og for tomatsalsa mellom 2,6–3,0 °C pr 100 MPa (Wilson *et al.*, 2008).

Ønske om å kombinere HP og varme er hovedsakelig for å oppnå en effektiv måte for inaktivering av sporer. Det har vist seg at inaktivering av sporer er temperaturavhengig, og øker med økende temperatur. Sterilisering av produkter vha. PATS mot sporevekst ble i 2009 godkjent av de amerikanske matmyndighetene (FDA) for bruk på kommersielle produkter (Bermudez-Aguirre & Barbosa-Canovas, 2011), men mye forskning trengs likevel på dette feltet. I tillegg til inaktivering av sporer, vil også kombinasjonen av HP og varme kunne inaktivere vegetative bakterier ved lavere trykk. Som et eksempel, viste en studie at *L. monocytogenes* ikke ble inaktivert ved 200 MPa i kombinasjon med varme opp til 45 °C. Dersom temperaturen ble økt til 55 °C, og denne kombinert med 200 MPa i 15 min kunne man oppnå en 6 log reduksjon (Wimalaratne & Farid, 2008). Det er også vist at forskjell i trykkresistens blant bakteriestammer er mye mindre når HP er kombinert med moderat temperatur sammenlignet med romtemperatur (Raso & Barbosa-Canovas, 2003). Studier viser at tailingen som ofte observeres ved HP ved romtemperatur har en tendens til å bli mindre, eventuelt forsvinne når HP kombineres med varme (Kalchayanand *et al.*, 1998).

Ved PATS er det seks hovedproblemstillinger under prosessen man må være oppmerksom på (1) vakuumpakking og pakking i maskinen, (2) forvarming til ønsket temperatur, (3) produktet må nå start-temperaturen, (4) produkttemperaturen øker under trykkbehandling, (5) produkttemperaturen synker når trykket slippes og (6) produktet kjøles til romtemperatur (Figur 6.2) (Bermudez-Aguirre & Barbosa-Canovas, 2011). En rekke faktorer kan påvirke resultatet av PATS, og disse trenger å bli kontrollert og overvåket under prosessen (Tabell 6.2).



Figur 6.2 Typisk temperatur-trykk profil under PATS (Bermudez-Aguirre & Barbosa-Canovas, 2011).

Tabell 6.2 Faktorer som kan ha innvirkning på resultatet av PATS (Bermudez-Aguirre & Barbosa-Canovas, 2011).

Stage of process	Variable	Process factor	Parameters
Preheating	Fluid temperature	Type of system, fluid/product ratio, heat transfer aids	Heat transfer coefficient, heating rate
	Product temperature	Packaging, weight, shape	Package thermal diffusivity, temperature profile
Compression heating	Temperature, pressure	Composition, chamber, fluid/product ratio, thermal system	Heat transfer coefficient, compression heating rate, temperature profile
Cooling system	Temperature	Characteristics of system and cooling system	Heat transfer coefficient, cooling rate
Packaging	Temperature, pressure	Food characteristics (composition, structure, shape, size), packaging material characteristics	Thermal diffusivity, compression rate, temperature and pressure profiles

Høyt trykk i kombinasjon med høye temperaturer kan gi inaktiverting av sporer i mat. Tabell 6.3 gir en oversikt over inaktiverting av *Bacillus* og *Clostridium* i ulike matprodukter. For mer om HP og varme se: Barbosa-Cánovas & Juliano (2008) og Wimalaratne & Farid (2008).

Tabell 6.3 Effekt av HP og temperatur på inaktiverting av *Bacillus* og *Clostridium* i matmatrikser (Wilson et al., 2008).

Organism	Suspending medium/food matrix	Pressure transmission fluid	Pressure (MPa)	Processing temperature (°C)	Initial pressure transmission fluid temperature (°C)	Maximum pressure transmission fluid temperature (°C)	Final pressure transmission fluid temperature (°C)	Pressure holding time (min)	Log reduction	Ref.
<i>Clostridium botulinum</i> Type B, proteolytic	Mashed carrot	80% ethanol 20% rhizinus oil mixture	600 MPa Ramp at 2 MPa/s	80	80	100	80	70	5	Margosch et al., 2004
<i>C. botulinum</i> Type A, proteolytic	Mashed carrot	80% ethanol 20% rhizinus oil mixture	600 MPa ramp at 6 MPa/s	80	80	116	80	6	5	
<i>C. botulinum</i> Type B, proteolytic	Mashed carrot	80% ethanol 20% rhizinus oil mixture	800	80	80	116	80	4	2.3	
<i>C. botulinum</i> Type A, proteolytic	Crabmeat	50% glycol water fluid	827	75	62.0 ± 3.2	95.6 ± 4.4	76.1 ± 1.0	15	3.2	Reddy et al., 2003
<i>C. botulinum</i> Type A, proteolytic	Crabmeat	50% glycol water fluid	827	75	60.3 ± 1.1	92.4 ± 2.3	74.3 ± 0.5	20	2.3	
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Mashed carrot	80% ethanol 20% rhizinus oil mixture	800	70	N/A	N/A	N/A	64	2.1	Margosch et al., 2004
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Mashed carrot	80% ethanol 20% rhizinus oil mixture	800	80	N/A	N/A	N/A	4	1.15	
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Egg patty mince	Propylene glycol	700	105	67	N/A	N/A	3	5	Rajan et al., 2006
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Egg patty mince	Propylene glycol	700	110	73	N/A	N/A	3	7	
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Egg patty mince	Propylene glycol	700	121	84	N/A	N/A	3	ND	

N/A = data not available in the reference cited.

6.2 HP og pakkemetode

HP trenger vann- og lufttett emballasje som kan motstå endringer i volum tilsvarende kompressibiliteten til produktet. Dette tilsvarer for en vakuumpakke ca. 15 % ved 600 MPa. Valg av pakkemateriale er viktig for å oppnå produkter med høy kvalitet. De fleste plastfoliematerialer tåler den fysiske påkjennelsen med volumendringer, men man må være oppmerksom på at materiale som inneholder metallfolie eller coating av ulikt slag kan påvirkes. Selve lukkeflaten på forpakningen er kritisk, eks. i sveisesonen ved vakuumpakking, da det ofte er her lekkasjer forekommer.

Under HP vil man få en temperaturøkning (adiabatisk oppvarming på min. 3 °C/100 MPa), noe som må tas hensyn til ved valg av emballasje, spesielt dersom HP kombineres med oppvarming over romtemperatur.

6.2.1 Pakkemateriale

De aller fleste HP-produkter er høytrykksprosessert i sluttemballasjen. Det er viktig at denne emballasjen har en god barriere mot vann, som ofte er den væsken som benyttes i trykkammeret. Ca. 12 % er sagt å være et akseptabelt avvik for endringer i oksygen og vanddamp-barriere egenskaper etter HP (Min & Zhang, 2007).

Av kommersielle plastmaterialer er polyetylen (PE) og polypropylen (PP) mye benyttet pga. sine evner til «thermosealability» og barriereegenskaper mot vann. Det er ønskelig at pakkematerialene skal bevare det samlede smaksbildet av maten, men plast kan ha innvirkning på matkomponenter, og gi uønskede effekter (Rivas-Canedo *et al.*, 2009). De to pakkematerialene PE og polyetylene terephtale (PET) ble HP-testet og det ble konkludert med at HP kan influere både PE og PET sine filmegenskaper (Hugas *et al.*, 2002).

Permeabiliteten i en rekke fleksible strukturer som PP/EVOH/PP, OPP/EVOH/PE, PVDC-coatet OPP/OPP og PET/Al/OPP har blitt undersøkt. Filmene ble testet ved 400 MPa og 600 MPa i 10 min, og viste at barriereegenskapene i mindre grad ble berørt av HP (Caner *et al.*, 2004). Fleksible laminatfilmer har vist seg å være egnet som pakkemateriale for HP sterilisert mat. Eksempelvis er det vist at vann- og oksygenbarriereegenskaper til polyvinylidene chloride (PVDC)-coated oriented polypropylene (OPP) og polyethylene terephthalate (PET)/aluminium (Al)/cast polypropylene (CPP) ikke var signifikant berørt når materialene ble utsatt for trykk i området 400–600 MPa ved en maks temperatur på 40 °C (Bull *et al.*, 2010).

Schauwecker *et al.* (2002) testet vannfylte poser av PE/nylon/Al/PP og nylon/EVOH/PE etter HP nær 100 °C. Etter 10 min ved 200 og 600 MPa fant de ut at da temperaturen var ≥ 90 °C skjedde det en delaminering av den aluminiuminnholdende filmen mellom PP og aluminiumsfolie laget. Denne delamineringen ble ikke observert under 85 °C eller når posene ble benyttet ved atmosfære trykk ≥ 90 °C.

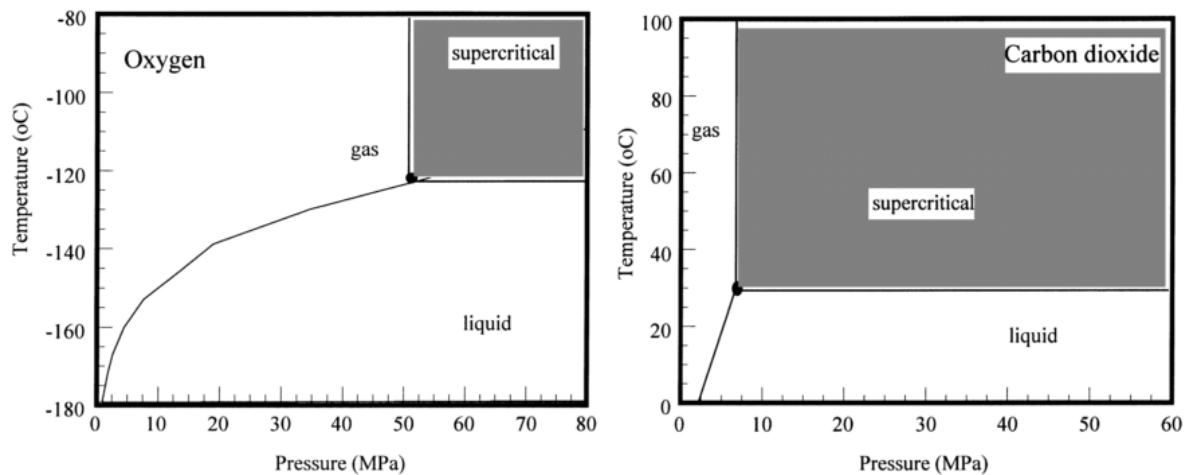
6.2.2 Modifisert atmosfærepakking (MAP)

HP har vært kombinert med MAP for å forlenge holdbarhet til flere sjømatprodukter. Som et eksempel er holdbarheten til (a) vakuumpakket eller (b) MAP (50 % CO₂ + 50 % O₂) laks sammenlignet med (c) vakuumpakket HP-laks, (d) HP-laks som deretter ble pakket i MAP (50 % CO₂ + 50 % O₂) og (e) laks som først ble utsatt for komprimerte gasser (50 % CO₂ + 50 % O₂), og deretter utsatt for HP. HP var ved 150 MPa, 10 min ved 5 °C. Sistnevnte behandling var mest effektivt i å forsinke mikrobiell vekst ved 5 °C (Amanatidou *et al.*, 2000).

High pressure carbon dioxide (HPCD)

Denne metoden benytter CO₂ i kombinasjon med forholdsvis lave trykk (generelt under 50 MPa) sammenlignet med HP (200-600 MPa). Ved bruk av HPCD teknikken, er maten i kontakt med enten sub- eller superkritisk CO₂ i ei viss tid i en batch, semi-batch eller kontinuerlig måte. Superkritisk CO₂ er CO₂ ved en temperatur og trykk over de kritiske verdiene (T_c = 31,1 °C, P_c = 7,38 MPa), og eksisterer i en fase (Garcia-Gonzalez *et al.*, 2007)

(Figur 6.3). Effekten av ulike gasser i mat og medium på inaktivering av ulike mikroorganismer kan sees i Tabell 6.4.



Figur 6.3 Fast, væske og superkritisk tilstand vist i fasediagram for karbondioksid og oksygen (Amanatidou *et al.*, 2000).

Effekten av HPCD har også vært testet på sporer, og ulike *Bacillus* sporer ble først eksponert for 6,5 MPa i 10–60 min ved 35 °C, og deretter varmebehandlet i 30 min ved 90 °C. HPCD-behandlingen viste seg å ha en mye større inaktivering av sporene enn varmebehandling alene (Watanabe *et al.*, 2003). Det er også studier med effekt av HPCD og inaktivering av vegetative celler (Erkmen 2000a og b).

HPCD kan også kombineres med andre metoder, deriblant HP. Tabell 6.5 viser reduksjon av bakterier ved blant annet HPCD og HP.

6.2.3 Aktivt pakkemateriale

Pakking med aktive komponenter er en teknologi hvor man inkorporerer ulike komponenter inn i pakkematerialet som frigis eller absorberes inn i maten eller i headspace som omgir matproduktet. Dette gjøres for å forlenge holdbarhet eller å forbedre forholdene til den pakkede maten.

Antioksidant-aktivt pakkemateriale har vært testet i kombinasjon med HP. Det er kjent at HP av kjøtt kan trigge lipidoksidering, spesielt i området 300–600 MPa. Studier har vist at antioksidanter kan motvirke HP-indusert oksidasjon i kjøtt (Mariutti *et al.*, 2008), se Kap. 6.3. Bolumar *et al.* (2011) gjorde en studie hvor det ble benyttet antioksidanter i pakkematerialet, og gjorde HP (800 MPa, 10 min, 5 °C) av kyllingkjøttdeig. Oksidasjonen var lavere der hvor det var benyttet pakkemateriale med antioksidanter. Studien viste at man hovedsakelig fikk en økning i oksidasjon på overflaten, og at man dermed ved å benytte antioksidantaktiv forpakning kunne forsinke oksidasjonen, og dermed forlenge holdbarheten til produktet.

Tabell 6.4 Effekt av ulike gasser under trykk på mikrobiell inaktivering (Garcia-Gonzalez et al., 2007)

Target microorganism	Solution	Gas	Process conditions	Reduction	References
<i>Escherichia coli</i>	Synthetic medium	CO ₂	3.5 MPa, 37–38 °C, 3 min	1.6D	Fraser (1951)
		N ₂	6.2 MPa, 37–38 °C, 3 min	0.7D	
		N ₂ O	3.5 MPa, 37–38 °C, 3 min	0.4D	
<i>E. coli</i>	Nutrient broth	CO ₂	6.2 MPa, 120 min	6.3D (*) ^a	Haas et al. (1989)
		N ₂	6.9 MPa, 120 min	0D	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Distilled water	CO ₂	6.18 MPa, 35 °C, 120 min	8.9D (*)	Wei et al. (1991)
		N ₂	6.10 MPa, 35 °C, 120 min	0.3D	
	Chicken meat	CO ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	0.7D	
		N ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	0D	
	Shrimp	CO ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	2.5D	
		N ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	0D	
	Orange juice	CO ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	2.3D	
		N ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	0.09D	
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Chicken meat	CO ₂	13.7 MPa, 35 °C, 120 min	
N ₂			13.7 MPa, 35 °C, 120 min	0D	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Growth medium	CO ₂	6.9 MPa, 25 °C, 45 min	4D	Lin et al. (1992a)
		N ₂	6.9 MPa, 25 °C, 40 min	0.05D	
<i>Leuconostoc dextranicum</i>	Growth medium	CO ₂	6.9 MPa, 35 °C, 20 min	9D (*)	Lin et al. (1993)
		N ₂	6.9 MPa, 35 °C	0D	
<i>S. cerevisiae</i>	Distilled water	CO ₂	4 MPa, 40 °C, 180 min	8D (*)	Nakamura et al. (1994)
		N ₂	4 MPa, 40 °C, 240 min	0.04D	
<i>S. cerevisiae</i>	Distilled water	CO ₂	4 MPa, 40 °C, 240 min	6.8D	Enomoto et al. (1997b)
		N ₂ O	4 MPa, 40 °C, 240 min	4.7D	
		N ₂	4 MPa, 40 °C, 240 min	0.03D	
		Ar	4 MPa, 40 °C, 240 min	0.01D	
<i>E. coli</i>	Hydrophilic filter paper disks	CO ₂	5 MPa, RT ^b , 200 min	4D	Debs-Louka et al. (1999)
		80% N ₂ +20% O ₂	8.5 MPa, RT, 240 min	0D	
<i>Enterococcus faecalis</i>	Hydrophilic filter paper disks	CO ₂	5 MPa, RT, 200 min	1D	
		80% N ₂ +20% O ₂	8.5 MPa, RT, 240 min	0D	
<i>S. cerevisiae</i>	Hydrophilic filter paper disks	CO ₂	5 MPa, RT, 200 min	2D	
		80% N ₂ +20% O ₂	8.5 MPa, RT, 240 min	0D	
<i>E. coli</i>	Growth medium	CO ₂	20.5 MPa, 42 °C, 20 min	9D (*)	Dillow et al. (1999)
		N ₂	No data	0D	
		CO ₂	11 MPa, 38 °C, 45 min	8.6D (*)	
		Tetrafluoroethane	11 MPa, 38 °C, 45 min	0D	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Acetate buffer (0.1 M)	CO ₂	6.9 MPa, 30 °C, 60 min, pH=4.5	8.7D	Hong and Pyun (1999)
	Citrate buffer (0.1 M)	N ₂	6.9 MPa, 30 °C, pH=3.5	0D	

^a (*) = total inaktivering

^b RT = romtemperatur

Tabell 6.5 Kombinasjoner av høytrykk CO₂ behandling med ikke-termiske metoder for inaktivering av bakterier i vegetative tilstand (Garcia-Gonzalez et al., 2007).

Treatment Combination	Target microorganism	Solution	Process conditions	Reduction	References
HPCD+HHP	Aerobic flora	Carrot juice	HPCD alone (4.9 MPa, 5 °C, 10 min)	4D	Park et al. (2002)
			HHP alone (300 MPa, 25 °C, 10 min)	3D	
			HPCD (4.9 MPa, 5 °C, 5 min)+HHP (300 MPa, 25 °C, 5 min)	8D (*) ^a	
PEF+HPCD	<i>Escherichia coli</i>	PS ^b	PEF alone (10 pulses at 25 KV/cm)	2.9D	Spilimbergo et al. (2003b)
			HPCD alone (20 MPa, 34 °C, 10 min)	2.5D	
			HPCD (20 MPa, 34 °C, 10 min)+PEF (10 pulses at 25 KV/cm)	8.5D (*)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	PS	PEF alone (10 pulses at 25 KV/cm)	3.3D	
			HPCD alone (20 MPa, 34 °C, 10 min)	3.5D	
		HPCD (20 MPa, 34 °C, 10 min)+PEF (10 pulses at 25 KV/cm)	7.8D (*)		

^a (*) = total inaktivering

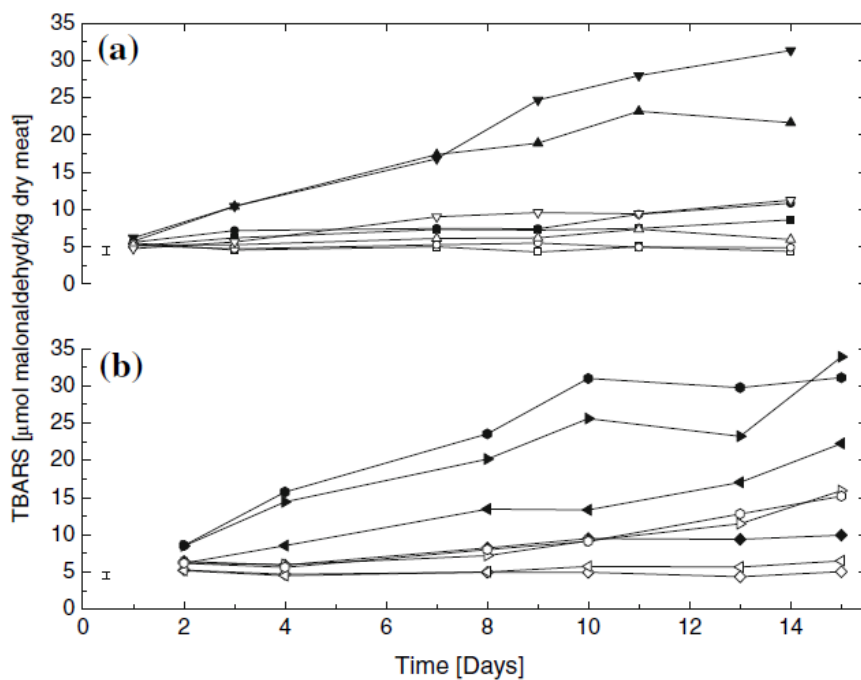
^b PS = fysiologisk saltvann

6.3 HP og antimikrobielle komponenter

En rekke naturlige antimikrobielle komponenter er kjent å ha god effekt på hemming og/eller inaktivering av mikroorganismer. Flere studier er gjort hvor man har testet effekten av nisin, lysosym, laktoperoxidase-system, enterocin, sakacin og pediocin i kombinasjon med HP *in vitro* i melk og i kjøttmodellssystemer (Kalchayanand et al., 1994; Kalichevsky et al., 1995;

Garcia-Graells *et al.*, 1999; Aymerich *et al.*, 2005), men lite er gjort i fisk eller andre sjømatprodukter.

Ulike krydder kan ha antimikrobiell effekt, men også ha andre fordelaktige egenskaper. En studie av Mariutti *et al.* (2008) undersøkte effekten av salvie, hvitløk og en kombinasjon av disse på lipidoksidasjon i kyllingkjøtt. Lipidoksidasjon induseres ofte av HP, så effekten av ulike trykk (300, 600 og 800 MPa) under lagring (5 °C) i opp til 15 dager ble undersøkt ved å bruke TBARS som et mål på økning i lipidoksidasjon (Figur 6.4). Det er sannsynlig at mye av den forskning som er gjort på HP og antimikrobielle komponenter vil være relevant for sjømat, selv om resultatene er fra andre matvarer.

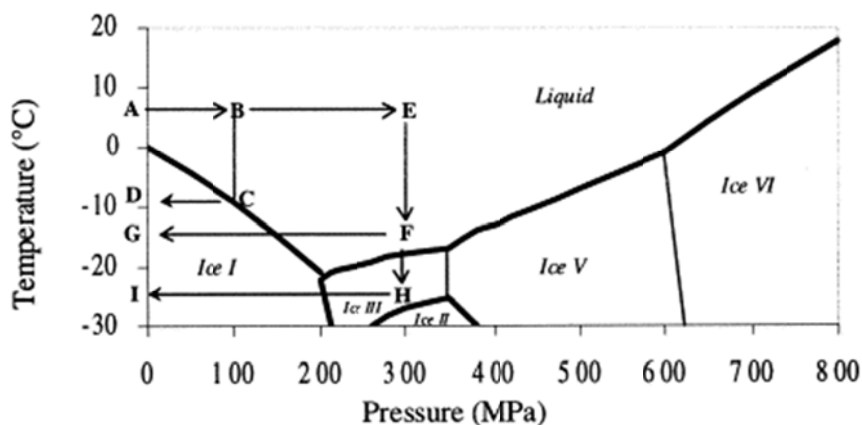


Figur 6.4 Dannelsen av sekundære lipidoksidasjonsprodukter (TBARS) i ubehandlet eller høytrykksprosessert kvernet kyllingkjøtt med eller uten tilsatt krydder under kjølelagring i mørke. (a) (■) ubehandlet uten krydder; (●) 300 MPa uten krydder; (▲) 600 MPa uten krydder; (▼) 800 MPa uten krydder; (□) ubehandlet med salvie; (○) 300 MPa med salvie; (△) 600 MPa med salvie; åpen triangel (spiss ned) - 800 MPa med salvie. (b) Fylt diamant - ubehandlet med hvitløk; (◀) 300 MPa med hvitløk; (▶) 600 MPa med hvitløk; (●) 800 MPa med hvitløk; (◇) ubehandlet med salvie og hvitløk; åpen venstre triangel - 300 MPa med salvie og hvitløk; åpen høyre triangel - 600 MPa med salvie og hvitløk; åpen heksagon - 800 MPa med salvie og hvitløk. Stolpene er standardavvik (Mariutti *et al.*, 2008).

6.4 HP og frysing/tinging

Faseovergangen til vann blir påvirket av trykk. Som fasediagrammet indikerer (Figur 6.5), kan vann forbli som væske ned til $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ved et trykk på 210 MPa. Dette kommer av at trykk motvirker volumøkning pga. dannelse av iskrystaller (type I). Dette fenomenet har viktige praktiske implikasjoner (Kalichevsky *et al.*, 1995): (1) det er mulig å tine biologiske prøver ved lave temperaturer (mellom -20 og $0\text{ }^{\circ}\text{C}$) under trykk. Tiningen er relativt rask og enhetlig; (2) det er mulig å lagre biologiske prøver ved temperaturer mellom 0 og $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ uten at en får iskrystalldannelse, forutsatt at de er lagret under trykk; (3) ultrarask og enhetlig frysing kan oppnås når en biologisk prøve blir utsatt for 200 MPa, og deretter kjølt til $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (uten frysing), for deretter å slippe trykket raskt. Dette vil gi mikrokrystallisering som kan være mindre ødeleggende for mat og tekstur enn tradisjonell frysing (Cheftel & Culioli, 1997).

Det er også mulig å benytte høytrykk for tining av frosne produkter, og en får dermed minimalt med strukturelle skader på produktene. Der finnes flere typer is. 'Ice I' blir dannet under atmosfærisk trykk, og har ca. 10 % større volum enn vann som gjør at strukturelle skader skjer under frysing og tining. Ved frysing og tining under trykk har en observert at kun begrensede endringer i volum kan forekomme, og dermed gi små strukturelle endringer i matprodukter. Ved overgang fra 'ice I' til andre isformasjoner under trykk, som er tyngre enn vann, vil disse volumendringer kunne brukes til å inaktivere patogene mikroorganismer.



Figur 6.5 Mulighetene for høytrykksprosessert frysing og tining basert på fasediagram til vann (ABCD: trykkassistert frysing, DCBA: trykk-assistert tining, ABCEFG: trykk-endret frysing (pressure shift freezing), GFEB: trykkindusert tining, ABEFHI: frysing til 'ice-III', IHFEBA: tining til 'ice-III') (LeBail *et al.*, 2002).

Trykk-assistert frysing (pressure-assisted freezing; PAF), ABCD i Figur 6.5, består i å kjøle en prøve under trykk til dens faseendrings-temperatur til det gitte trykket. På denne måten vil frysingen skje under konstant trykk. Trykk-assistert tining (PAT), DCBA, er tining ved et konstant trykk. Under trykk-endret frysing, PSF, (ABCEFG) får man økt iskjernedannelse. For mer inngående informasjon om tining og frysing relatert til Figur 6.5, se LeBail *et al.* (2002).

Endringer i tekstur og farge til mat som følge av PAF eller PSF har vært mye studert, spesielt med tanke på viktigheten av disse kvalitetsparametere for forbrukerens aksept av frossenmat (Tabell 6.6).

Tabell 6.6 HP frysing studier på PAF (trykk-assistert frysing) og PSF (trykk-endret frysing) (LeBail et al., 2002).

Food system	Process	Analysis	Reference
Tofu	PSF	Microstructure	[17]
Tofu	FUP/PSF	Microstructure	[18]
Carrot	FUP/PSF	Texture Microstructure Pectin content	[19]
Carrot	FUP/PSF	Microstructure	[20]
Potato	PSF	Texture, colour, Microstructure Texture	[22]
Chinese cabbage	FUP/PSF	Microstructure Pectin content	[21]
Eggplant	PSF	Texture Microstructure Drip losses	[23]
Pork	PSF	Microstructure	[26]
Protein gels	FUP/PSF	Texture Microstructure Drip losses	[24]
Norway lobsters	PSF	Protein stability Microstructure	[27]

7 Kommerielle sjømatprodukter

Tabell 7.1. gir en oversikt over et utvalg av kommersielle sjømatprodukter.

Tabell 7.1 Oversikt over ulike høytrykksbehandlede matvarer som er kommersielt tilgjengelig.

Matvare	Produsent	Land	Referanse
"Gold band" østers	Motivatit Seafood	USA	www.motivatit.com, www.theperfectoyster.com
Østers	Goose Point Oysters	USA	www.goosepoint.com
Østers	Joey Oysters	USA	
Hummer	Oceans Choise International	Canada	www.oceanchoice.com
Hummer	Shuck Maine Lobster	USA	
Hummer	Frische Paradies	Tyskland	http://www.frischeparadies.eu
Hummer	Five Degree West	Frankrike	http://www.5do.fr
"Ready-to-cook" torsk og tørrfisk	Ghezzi	Italia	www.ghezziitalia.com
Skalldyr	Mitsunori	Japan	
Ferdigretter torsk og laks	MRM	Spania	http://www.mrm.es
Silver Shell Gourmet Seafood and Lobster Tails		USA	
Skjellpulver (green lipped mussel powder)	MacLab	New Zealand	www.maclab.net
Fisk	Martiko	Spania	www.martiko.com
	Aquafood	Australia	www.aqafood.com.au

8 Relevant utstyr for industrien

Der er flere leverandører av utstyr for høytrykksprosessering av mat. De to største er Avure Technologies Inc. (www.avure.com, USA og Sverige) og Hiperbaric (www.hiperbaric.com, Spania). Tabell 8.1 viser hovedleverandørene av HP-utstyr for matproduksjon. Det henvises til den enkelte leverandørs hjemmeside for oppdatert informasjon relatert til maskintyper og produktspesifikasjoner. Tabellen er fra 2008, så den er ikke helt oppdatert, da det er stor produktutvikling på området. Et eksempel på høytrykksutstyr som brukes i kommersiell drift er vist i Figur 8.1.

Tabell 8.1 Hovedleverandører av høytrykksutstyr og service (Norton & Sun, 2008).

Company	Company specialisation	Services and/or products offered	Pressure capacity of standard machines (MPa)
Resato International http://www.resato.com	This company commercialises laboratory and industrial high pressure hydrostatic machines	The company pressure shift freezing systems. They use single shot or reciprocating intensifiers which are suitable for one or multiple autoclave systems	Up to 1,400
Avure Technologies Inc., http://www.avure.com	Manufactures batch presses that pasteurize prepared ready-to-eat foods, e.g. packaged meats	Have unique pumping systems that enhance product throughput. Continuous systems are not currently being developed	600
Elmhurst Research, Inc., http://www.elmhurstresearch.com	Designs and manufactures batch presses	The company has developed a system which incorporates patent pending vessel technology. The system that was developed exclusively for the food processing industry from scratch	689
Engineered Pressure Systems Inc., http://www.epsi-highpressure.com	Manufactures laboratory and industrial high pressure equipment for many industries	Manufacture hot, cold and warm isostatic presses	100–900
Kobelco, http://www.kobelco.co.jp	Manufactures laboratory and industrial high pressure equipment for many industries	Manufacture many hot and cold isostatic presses, wet and dry-bag processes	98-686
Mitsubishi Heavy Industries, http://www.mhi.co.jp	Manufactures laboratory and industrial high pressure equipment for many industries	Manufacture isostatic pressing system with large operating temperature range as option	686
NC Hyperbaric, http://www.nchyperbaric.com	European leader in manufacture of industrial HPP equipment	Designed a system to work with different volumes, guaranteeing the necessary versatility to process a wide range of products of different sizes and shapes	600
Stansted Fluid Power LTD. http://www.sfp-4-hp.demon.co.uk	Offer a full range of advanced, high pressure equipment for research and development applications	Single and multiple vessels with temperature control from -20 °C to +150 °C. Multiple Telemetry option and variable pressurisation times from 2s	Up to 1,400
Uhde Hockdrucktechnik, http://www.uhde-hpt.com	Uhde develop and build high pressure processes for industry and research purposes	Help in the development of plant processes from initial testing to full scale application	700



Figur 8.1 Eksempel på høytrykksutstyr for kommersiell drift.

9 Referanser

- Ahmed, J.R., S. Hosahalli, S. Kasapis & J.I Boye (2010). *Novel food processing - effects on rheological and functional properties*. CRC Press.
- Ahn, J., VM. Balasubramaniam, *et al.* (2007). Inactivation kinetics of selected aerobic and anaerobic bacterial spores by pressure-assisted thermal processing. *International Journal of Food Microbiology*, **113**: 3, pp. 321–329.
- Alpas, H., N. Kalchayanand, *et al.* (2000). Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, **60**:1, pp. 33–42.
- Amanatidou, A., O. Schlüter, *et al.* (2000). Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh Atlantic salmon., **1**: 2, pp. 87–98.
- Angsupanich, K. & D.A. Ledward (1998). High pressure treatment effects on cod (*Gadus morhua*) muscle. *Food Chemistry*, **630**: 1, pp. 39–50.
- Ashie, I.N.A., B.K. Simpson, *et al.* (1997). Changes in texture and microstructure of pressure-treated fish muscle tissue during chilled storage. *Journal of Muscle Foods*, **8**:1, pp. 13–32.
- Aubourg, S.P., G. Tabilo-Munizaga, *et al.* (2010). Effect of high-pressure treatment on microbial activity and lipid oxidation in chilled coho salmon. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **112**: 3, pp. 362–372.
- Aymerich, T., A. Jofre, *et al.* (2005). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by natural antimicrobials and high hydrostatic pressure in sliced cooked ham. *Journal of Food Protection*, **68**:1, pp. 173–177.
- Barbosa-Cánovas, G.V. & P. Juliano (2008). *Food sterilization by combining high pressure and thermal energy Food Engineering: Integrated Approaches*. Springer, pp. 9–46.
- Barrett, D.M. & B. Lloyd (2012). Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **92**:1, pp. 7–22.
- Basaran-Akgul, N., M. Mousavi-Hesary, *et al.* (2010). High pressure processing inactivation of *Listeria innocua* in minced trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Processing and Preservation*, **34**, pp. 191–206.
- Bermudez-Aguirre, D. & G.V. Barbosa-Canovas (2011). An update on high hydrostatic pressure, from the laboratory to industrial applications. *Food Engineering Reviews* **3**:1, pp. 44–61.
- Black, E.P., P. Setlow, *et al.* (2007). Response of spores to high-pressure processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **6**: 4, pp. 103–119.

- Bolumar, T., M.L. Andersen, *et al.* (2011). Antioxidant active packaging for chicken meat processed by high pressure treatment. *Food Chemistry*, **129**: 4, pp. 1406–1412.
- Bover-Cid, S., N. Belletti, *et al.* (2011). Model for *Listeria monocytogenes* inactivation on dry-cured ham by high hydrostatic pressure processing. *Food Microbiology*, **28**: 4, pp. 804–809.
- Briones, L.S., J.E. Reyes, *et al.* (2010). Microbial shelf-life extension of chilled Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and abalone (*Haliotis rufescens*) by high hydrostatic pressure treatment. *Food Control*, **21**:11, pp. 1530–1535.
- Brutti, A., P. Rovere, *et al.* (2010). Inactivation of *Anisakis simplex* larvae in raw fish using high hydrostatic pressure treatments. *Food Control*, **21**: 3, pp. 331–333.
- Bull, M.K., R.J. Steele, *et al.* (2010). Packaging under pressure: Effects of high pressure, high temperature processing on the barrier properties of commonly available packaging materials. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **11**: 4, 533–537.
- Buyukcan, M., F. Bozoglu, *et al.* (2009). Preservation and shelf-life extension of shrimps and clams by high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**: 8, pp. 1495–1502.
- Campden, C.T.L.C. (2008). Pilot trials to determine the benefits of high pressure processing (HPP) for seafood in the UK. Report on phase 1 studies.
- Campus, M. (1999). Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food-borne pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 9, pp. 4248–4251.
- Campus, M. (2010). High Pressure Processing of Meat, Meat Products and Seafood. *Food Engineering Reviews*, **2**: 4, pp. 256–273.
- Caner, C., R.J. Hernandez, *et al.* (2004). High-pressure processing effects on the mechanical, barrier and mass transfer properties of food packaging flexible structures: A critical review. *Packaging Technology and Science*, **17**: 1, pp. 23–29.
- Cardoso, C.L., R.O. Mendes, *et al.* (2010). Quality characteristics of high pressure-induced hake (*Merluccius capensis*) protein gels with and without MTGase. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **19**: 3-4, pp. 193–213.
- Cheftel, J.C. & J. Culioli (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, **46**: 3, pp. 211–236.
- Cheret, R., C. Delbarre-Ladrat, *et al.* (2007). Effect of high pressure on the calpain-calpastatin system in fish muscle. *Journal of Food Science*, **72**: 6, C313–C316.
- Cheret, R., N. Chapleau, *et al.* (2005). Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets. *Journal of Food Science*, **70**: 8, E477–E483.

- Chevalier, D., A. Le Bail, *et al.* (2001). Effects of high pressure treatment (100–200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. *Food Research International*, **34**: 5, pp. 425–429.
- Colmenero, F.J. (2002). Muscle protein gelation by combined use of high pressure/temperature. *Trends in Food Science Technology* **13**: 1, pp. 22–30.
- Considine, K.M., A.L. Kelly, *et al.* (2008). High-pressure processing - effects on microbial food safety and food quality. *Fems Microbiology Letters*, **281**: 1, pp. 1–9.
- Cook, D. W. (2003). Sensitivity of *Vibrio* species in phosphate-buffered saline and in oysters to high-pressure processing. *Journal of Food Protection*, **66**:12, pp. 2276–2282.
- Cruz-Romero, M.C., J.P. Kerry, *et al.* (2008a). Fatty acids, volatile compounds and colour changes in high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **9**: 1, pp. 54–61.
- Cruz-Romero, M., J.P. Kerry, *et al.* (2008b). Changes in the microbiological and physicochemical quality of high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*) during chilled storage. *Food Control*, **19**: 12, pp. 1139–1147.
- Dong, F.M., A.R. Cook, *et al.* (2003). High hydrostatic pressure treatment of finfish to inactivate *Anisakis simplex*. *Journal of Food Protection*, **66**: 10, pp. 1924–1926.
- Erkan, N., G. Uretener, *et al.* (2010a). Effects of high pressure treatment on physicochemical characteristics of fresh sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety*, **5**, pp. 83–89.
- Erkan, N., G. Uretener, *et al.* (2011). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) treatment on physicochemical properties of horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Food and Bioprocess Technology*, **4**: 7, pp. 1322–1329.
- Erkan, N., G. Üretener, *et al.* (2010b). Effect of high pressure (HP) on the quality and shelf life of red mullet (*Mullus surmelutus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **11**: 2, pp. 259–264.
- Erkmen, O. (2000a). Inactivation of *Salmonella typhimurium* by high pressure carbon dioxide. *Food Microbiology*, **17**: 2, 225–232.
- Erkmen, O. (2000b). Effect of carbon dioxide pressure on *Listeria monocytogenes* in physiological saline and foods. *Food Microbiology*, **17**: 6, pp. 589–596.
- EU rapport (2005). Kommisjonsforordning (EF) nr. 2073/2005 av 15. november 2005 om mikrobiologiske kriterier for næringsmidler. EU.
- European Food Safety Authority (2012). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010,

- EFSA Journal 2012. Parma, Italy, European Food Safety Authority (EFSA). **10**, pp. 442.
- Fioretto, F., C. Cruz, *et al.* (2005). Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in tryptic soy broth and caviar samples by high pressure processing. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **38**: 8, pp. 1259–1265.
- Garcia-Gonzalez, L., A. H. Geeraerd, *et al.* (2007). High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: The past, the present and the future. *International Journal of Food Microbiology*, **117**: 1, pp. 1–28.
- Garcia-Graells, C., B. Masschalck, *et al.* (1999). Inactivation of *Escherichia coli* in milk by high-hydrostatic-pressure treatment in combination with antimicrobial peptides. *Journal of Food Protection*, **62**: 11, pp. 1248–1254.
- Garcia-Graells, C., C. Valckx, *et al.* (2000). Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in milk by combined treatment with high hydrostatic pressure and the lactoperoxidase system. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**:10, pp. 4173–4179.
- Gaspar, L.P., A.C.B. Silva, *et al.* (2002). Hydrostatic pressure induces the fusion-active state of enveloped viruses. *Journal of Biological Chemistry*, **277**: 10, pp. 8433–8439.
- Gómez-Estaca, J., M.C. Gómez-Guillén, *et al.* (2007a). High pressure effects on the quality and preservation of cold-smoked dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) fillets. *Food Chemistry*, **102**: 4, pp. 1250–1259.
- Gómez-Estaca, J., M.E. López-Caballero, *et al.* (2009). High pressure technology as a tool to obtain high quality carpaccio and carpaccio-like products from fish. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **10**: 2, pp. 148–154.
- Gómez-Estaca, J., P. Montero, *et al.* (2007b). Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, **105**: 2, pp. 511–520.
- Gou, J., H. Xu, *et al.* (2010). Application of high pressure processing for extending the shelf-life of sliced raw squid. *Food Science and Biotechnology*, **19**: 4, pp. 923–927.
- Gram, L. & H.H. Huss (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, **33**: 1, pp. 121–137.
- Gram, L., G. Trolle, *et al.* (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, **4**: 1, pp. 65–72.
- Gudbjornsdottir, B., A. Jonsson, *et al.* (2010). Effect of high-pressure processing on *Listeria* spp. and on the textural and microstructural properties of cold smoked salmon. *LWT - Food Science and Technology*, **43**: 2, pp. 366–374.

- He, H., R. M. Adams, *et al.* (2002). Use of high-pressure processing for oyster shucking and shelf-life extension. *Journal of Food Science*, **67**: 2, pp. 640–645.
- Heinz, V. & R. Buckow (2010). Food preservation by high pressure. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety*, **5**: 1, pp. 73–81.
- Hendrickx, M., L. Ludikhuyze, *et al.* (1998). Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science and Technology*, **9**: 5, pp. 197–203.
- Hernández-Andrés, A., C.G. Guillén, *et al.* (2005). Partial characterization of protease activity in squid (*Todaropsis eblanae*) mantle: Modification by high-pressure treatment. *Journal of Food Science*, **70**: 4, C239–C245.
- Hernandez-Andres, A., M. Perez-Mateos, *et al.* (2008). A comparative study of the effects of high pressure on proteolytic degradation of sardine and blue whiting muscle. *Fisheries Science*, **74**: 4, pp. 899–910.
- Hofshagen, M., H. Lange & K. Hauge (2012). Zoonoserapporten 2011. Oslo, Veterinærinstituttet.
- Hoover, D.G., C. Metrick, *et al.* (1989). Biological effects of high hydrostatic-pressure on food microorganisms. *Food Technology*, **43**: 3, pp. 99–107.
- Hugas, M., M. Garriga, *et al.* (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, **62**: 3, pp. 359–371.
- Hurtado, J. L., P. Montero, *et al.* (2002). Properties of proteolytic enzymes from muscle of octopus (*Octopus vulgaris*) and effects of high hydrostatic pressure. *Journal of Food Science*, **67**: 7, pp. 2555–2564.
- Hurtado, J., P. Montero, *et al.* (2001). High-pressure/temperature treatment effect on the characteristics of octopus (*Octopus vulgaris*) arm muscle. *European Food Research and Technology*, **213**: 1, pp. 22–29.
- Huss, H. H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. Rome, FAO.
- Igura, N., Y. Kamimura, *et al.* (2003). Effects of minerals on resistance of *Bacillus subtilis* spores to heat and hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**: 10, pp. 6307–6310.
- Islam, M. S., A. Inoue, *et al.* (2006). Inactivation of *Bacillus* spores by the combination of moderate heat and low hydrostatic pressure in ketchup and potage. *International Journal of Food Microbiology*, **107**: 2, pp. 124–130.
- Kalchayanand, N., A. Sikes, *et al.* (1998). Factors influencing death and injury of foodborne pathogens by hydrostatic pressure-pasteurization. *Food Microbiology*, **15**: 2, pp. 207–214.

- Kalchayanand, N., T. Sikes, *et al.* (1994). Hydrostatic-pressure and electroporation have increased bactericidal efficiency in combination with bacteriocins. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 11, pp. 4174–4177.
- Kalichevsky, M.T., D. Knorr, *et al.* (1995). Potential food applications of high-pressure effects on ice-water transitions. *Trends in Food Science & Technology*, **6**: 8, pp. 253–259.
- Karim, N. U., T. Kennedy, *et al.* (2011). Effect of high pressure processing on the quality of herring (*Clupea harengus*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stored on ice. *Food Control*, **22**: 3–4, pp. 476–484.
- Kaur, B., N. Kaushik, *et al.* (2012). Effect of high-pressure processing on physical, biochemical, and microbiological characteristics of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Food and Bioprocess Technology*, pp. 1–11.
- Knorr, D. (1995). Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. Blackie Academic & Professional, pp. 159–175.
- Knorr, D., K. Reineke, *et al.* (2011). High-pressure-induced effects on bacterial spores, vegetative microorganisms, and enzymes. In *Food Engineering Interfaces*, (eds.) Aguilera, J.M., R. Simpson, J. Welti-Chanes, D. Bermudez-Aguirre & G. Barbosa-Canovas. New York: Springer, pp. 325–340.
- Koseki, S., Y. Mizuno, *et al.* (2007). Predictive modelling of the recovery of *Listeria monocytogenes* on sliced cooked ham after high pressure processing. *International Journal of Food Microbiology*, **119**: 3, pp. 300–307.
- Kovac, K., M. Diez-Valcarce, *et al.* (2010). High hydrostatic pressure as emergent technology for the elimination of foodborne viruses. *Trends in Food Science & Technology*, **21**: 11, pp. 558–568.
- Kristoffersen, S., S. Siikavuopio, *et al.* (2009). Kongekrabbe – Evaluering av metoder for foredling. Kokeprosessen, farse og bruk av høytrykksprosessering. Rapport nr. 32/2009, Nofima, Tromsø.
- Kural, A. G. & H. Chen (2008). Conditions for a 5-log reduction of *Vibrio vulnificus* in oysters through high hydrostatic pressure treatment. *International Journal of Food Microbiology*, **122**: 1–2, pp. 180–187.
- Kural, A.G., A.E.H. Shearer, *et al.* (2008). Conditions for high pressure inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. *International Journal of Food Microbiology*, **127**: 1–2, pp. 1–5.
- Lakshmanan, R. & P. Dalgaard (2004). Effects of high-pressure processing on *Listeria monocytogenes*, spoilage microflora and multiple compound quality indices in chilled cold-smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology*, **96**: 2, pp. 398–408.

- Lakshmanan, R., J.A. Parkinson, *et al.* (2007). High-pressure processing and water-holding capacity of fresh and cold-smoked salmon (*Salmo salar*). *LWT – Food Science and Technology*, **40**: 3, 544–551.
- Lakshmanan, R., J.R. Piggott, *et al.* (2003). Potential applications of high pressure for improvement in salmon quality. *Trends in Food Science & Technology*, **14**: 9, 354–363.
- Lakshmanan, R., M.F. Patterson, *et al.* (2005). Effects of high-pressure processing on proteolytic enzymes and proteins in cold-smoked salmon during refrigerated storage. *Food Chemistry*, **90**:4, pp. 541–548.
- LeBail, A., D. Chevalier, *et al.* (2002). High pressure freezing and thawing of foods: a review. *International Journal of Refrigeration*, **25**, pp. 504–513.
- Lindsay, D.S., D. Holliman, *et al.* (2008). Effects of high pressure processing on *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries. *Journal of Parasitology*, **94**: 3, pp. 757–758.
- Lindsay, D.S., M.V. Collins, *et al.* (2005). Effects of high pressure processing on infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts for mice. *Journal of Parasitology*, **91**: 3, pp. 699–701.
- Linton, M., J.M.J. Mc Clements, *et al.* (2003). Changes in the microbiological quality of shellfish, brought about by treatment with high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Science and Technology*, **38**: 6, pp. 713–727.
- Lopez-Caballero, M.E., M. Perez-Mateos, *et al.* (2000a). Oyster preservation by high-pressure treatment. *Journal of Food Protection*, **63**: 2, pp. 196–201.
- Lopez-Caballero, M.E., M. Perez-Mateos, *et al.* (2000b). Extension of the shelf life of prawns (*Penaeus japonicus*) by vacuum packaging and high-pressure treatment. *Journal of Food Protection*, **63**:10, pp. 1381–1388.
- Lori, S., R. Buckow, *et al.* (2007). Predictive model for inactivation of *Campylobacter* spp. by heat and high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection*, **70**: 9, pp. 2023–2029.
- Lynum, L. (1994). *Fisk som råstoff: Holdbarhet og kvalitetssikring*. Trondheim: Tapir.
- Ma, L. & Y.C. Su (2011). Validation of high pressure processing for inactivating *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *International Journal of Food Microbiology*, **144**: 3, pp. 469–474.
- Margosch, D., M.A. Ehrmann, *et al.* (2006). High-pressure-mediated survival of *Clostridium botulinum* and *Bacillus amyloliquefaciens* endospores at high temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 5, pp. 3476–3481.
- Mariutti, L.R. B., V. Orlien, *et al.* (2008). Effect of sage and garlic on lipid oxidation in high-pressure processed chicken meat. *European Food Research and Technology*, **227**: 2, pp. 337–344.

- Marshall, M.R., H. Kristinsson, *et al.* (2006). *Effect of high pressure treatment on omega-3 fatty acids in fish muscle*. Gainesville: University of Florida, pp. 1–17.
- Martín-Sánchez, A.M., C. Navarro, *et al.* (2009). Alternatives for efficient and sustainable production of surimi: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **8**: 4, pp. 359–374.
- Matser, A. M., B. Krebbers, *et al.* (2004). Advantages of high pressure sterilisation on quality of food products. *Trends in Food Science & Technology*, **15**: 2, pp. 79–85.
- Matser, A.M., D. Stegeman, *et al.* (2000). Effects of high pressure on colour and texture of fish. *High Pressure Research*, **19**: 1–6, pp. 499–505.
- Maukonen, J., J. Matto, *et al.* (2003). Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: a review. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **30**: 6, pp. 327–356.
- McKenna, D.R., K.E. Nanke, *et al.* (2003). The effects of irradiation, high hydrostatic pressure, and temperature during pressurization on the characteristics of cooked-reheated salmon and catfish fillets. *Journal of Food Science*, **68**: 1, pp. 368–377.
- Min, S. & Q.H. Zhang (2007). Packaging for high-pressure processing, irradiation, and pulsed electric field processing. In *Packaging for Non-Thermal Processing of Food*, (ed.) J.H. Han. Oxford: IFT Press, Blackwell Publishing, pp. 67–86.
- Molina-Garcia, A.D. & P.D. Sanz (2002). *Anisakis simplex* larva killed by high-hydrostatic-pressure processing. *Journal of Food Protection*, **65**: 2, pp. 383–388.
- Montero, P., M.E. Lopez-Caballero, *et al.* (2001). The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (*Penaeus japonicus*). *Journal of Food Science*, **66**: 8, pp. 1201–1206.
- Montiel, R., M. De Alba, *et al.* (2012). Effect of high pressure treatments on smoked cod quality during refrigerated storage. *Food Control*, **23**: 2, 429–436.
- Mozhaev, V.V., K. Heremans, *et al.* (1996). High pressure effects on protein structure and function. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, **24**: 1, pp. 81–91.
- Murchie, L.W., M. Cruz-Romero, *et al.* (2005). High pressure processing of shellfish: A review of microbiological and other quality aspects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **6**: 3, pp. 257–270.
- Nakayama, A., Y. Yano, *et al.* (1996). Comparison of pressure resistances of spores of six *Bacillus* strains with their heat resistances. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**:10, pp. 3897–3900.
- Norton, T. & D.W. Sun (2008). Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. *Food and Bioprocess Technology*, **1**: 1, pp. 2–34.

- Oh, S. & M.J. Moon (2003). Inactivation of *Bacillus cereus* spores by high hydrostatic pressure at different temperatures. *Journal of Food Protection*, **66**: 4, 599–603.
- Ohshima, T., H. Ushio, *et al.* (1993). High-pressure processing of fish and fish products. *Trends in Food Science & Technology*, **4**: 11, pp. 370–375.
- Patterson, M.F. (2005). Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of Applied Microbiology*, **98**: 6, pp. 1400–1409.
- Patterson, M.F., A.M. McKay, *et al.* (2010). Effect of high pressure on the microbiological quality of cooked chicken during storage at normal and abuse refrigeration temperatures. *Food Microbiology*, **27**: 2, pp. 266–273.
- Pérez-Mateos, M. & P. Montero (2000). Response surface methodology multivariate analysis of properties of high-pressure-induced fish mince gel. *European Food Research and Technology*, **211**: 2, pp. 79–85.
- Perrier-Cornet, J.M., M. Hayert, *et al.* (1999). Yeast cell mortality related to a high-pressure shift: occurrence of cell membrane permeabilization. *Journal of Applied Microbiology*, **87**: 1, pp. 1–7.
- Picouet, P.A., S. Cofan-Carbo, *et al.* (2011). Stability of sous-vide cooked salmon loins processed by high pressure. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **12**: 1, pp. 26–31.
- Rajan, S., S. Pandrangi, *et al.* (2006). Inactivation of *Bacillus stearothermophilus* spores in egg patties by pressure-assisted thermal processing. *LWT – Food Science and Technology*, **39**: 8, pp. 844–851.
- Ramaswamy, H.S., S.U. Zaman, *et al.* (2008). High pressure destruction kinetics of *Escherichia coli* (O157:H7) and *Listeria monocytogenes* (Scott A) in a fish slurry. *Journal of Food Engineering*, **87**: 1, pp. 99–106.
- Ramaswamy, H.S. & Y. Shaoa (2010). High pressure destruction kinetics of *Clostridium sporogenes* spores in salmon slurry at elevated temperatures. *International Journal of Food Properties*, **13**: 5, pp. 1074–1091.
- Ramirez-Suarez, J.C. & M.T. Morrissey (2006). Effect of high pressure processing (HPP) on shelf life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **7**: 1–2, pp. 19–27.
- Raso, J. & G.V. Barbosa-Canovas (2003). Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **43**: 3, pp. 265–285.
- Rastogi, N.K., K.S.M.S. Raghavarao, *et al.* (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **47**: 1, pp. 69–112.

- Reddy, N.R., H.M. Solomon, *et al.* (2003). Inactivation of *Clostridium botulinum* Type A spores by high-pressure processing at elevated temperatures. *Journal of Food Protection*, **66**, pp. 1402–1407.
- Reineke, K., A. Mathys, *et al.* (2011). The impact of high pressure and temperature on bacterial spores: Inactivation mechanisms of *Bacillus subtilis* above 500 MPa. *Journal of Food Science*, **76**: 3, M189–M197.
- Rendueles, E., M.K. Omer, *et al.* (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT - Food Science and Technology*, **44**: 5, pp. 1251–1260.
- Rivalain, N., J. Roquain, *et al.* (2010). Development of high hydrostatic pressure in biosciences: Pressure effect on biological structures and potential applications in Biotechnologies. *Biotechnology Advances*, **28**: 6, pp. 659–672.
- Rivas-Canedo, A., E. Fernandez-Garcia, *et al.* (2009). Volatile compounds in fresh meats subjected to high pressure processing: Effect of the packaging material. *Meat Science*, **81**: 2, pp. 321–328.
- Rogers, N. & Avure (2010). High Pressure Processing in the Seafood Industry. Presentation.
- San Martin, M.F., G.V. Barbosa-Canovas, *et al.* (2002). Food processing by high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **42**: 6, pp. 627–645.
- Schauwecker, A., V.M. Balasubramaniam, *et al.* (2002). Influence of high-pressure processing on selected polymeric materials and on the migration of a pressure-transmitting fluid. *Packaging Technology and Science*, **15**: 5, pp. 255–262.
- Senturk, T. & H. Alpas (2012). Effect of high hydrostatic pressure treatment (HHPT) on quality and shelf life of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Food and Bioprocess Technology*, pp. 1–13.
- Sequeira-Munoz, A., D. Chevalier, *et al.* (2006). Physicochemical changes induced in carp (*Cyprinus carpio*) fillets by high pressure processing at low temperature. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **7**: 1-2, pp. 13–18.
- Simpson, R.K. & A. Gilmour (1997). The effect of high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and model food systems. *Journal of Applied Microbiology*, **83**: 2, pp. 181–188.
- Suklim, K., G.J. Flick, *et al.* (2008). Pressure-induced germination and inactivation of *Bacillus cereus* spores and their survival in fresh blue crab meat (*Callinectes sapidus*) during storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **17**:3, pp. 322–337.
- Tironi, V., M. Lamballerie-Anton, *et al.* (2009). DSC determination of glass transition temperature on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle: effect of high-pressure processing. *Food and Bioprocess Technology*, **2**: 4, pp. 374–382.

- Uresti, R.M., G. Velazquez, *et al.* (2006). Effects of combining microbial transglutaminase and high pressure processing treatments on the mechanical properties of heat-induced gels prepared from arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). *Food Chemistry*, **94**: 2, pp. 202–209.
- Van Boeijen, I.K.H., A.A.E. Chavarroche, *et al.* (2010). Population diversity of *Listeria monocytogenes* LO28: Phenotypic and genotypic characterization of variants resistant to high hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**: 7, pp. 2225–2233.
- Van Boeijen, I.K.H., R. Moezelaar, *et al.* (2008). Inactivation kinetics of three *Listeria monocytogenes* strains under high hydrostatic pressure. *Journal of Food Protection*, **71**: 10, pp. 2007–2013.
- Van Opstal, I., C.F. Bagamboula, *et al.* (2004). Inactivation of *Bacillus cereus* spores in milk by mild pressure and heat treatments. *International Journal of Food Microbiology* **92**: 2, pp. 227–234.
- Vanlint, D., N. Rutten, *et al.* (2012). Emergence and stability of high pressure resistance in different food-borne pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, **78**: 9, pp. 3234–3241.
- Watanabe, T., S. Furukawa, *et al.* (2003). High pressure carbon dioxide decreases the heat tolerance of the bacterial spores. *Food Science and Technology Research*, **9**: 4, pp. 342–344.
- Wilson, D.R., L. Dabrowski, *et al.* (2008). High pressure in combination with elevated temperature as a method for the sterilisation of food. *Trends in Food Science & Technology*, **19**: 6, pp. 289–299.
- Wimalaratne, S.K. & M.M. Farid (2008). Pressure assisted thermal sterilization. *Food and Bioproducts Processing*, **86**: C4, pp. 312–316.
- Wuytack, E.Y., S. Boven, *et al.* (1998). Comparative study of pressure-induced germination of *Bacillus subtilis* spores at low and high pressures. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**: 9, pp. 3220–3224.
- Yagiz, Y., H.G. Kristinsson, *et al.* (2007). Effect of high pressure treatment on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and mahi mahi (*Coryphaena hippurus*). *Journal of Food Science*, **72**: 9, C509–C515.
- Yagiz, Y., H.G. Kristinsson, *et al.* (2009). Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon. *Food Chemistry*, **116**: 4, pp. 828–835.
- Ye, M., Y. Huang, *et al.* (2012). Inactivation of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in oysters by high-hydrostatic pressure and mild heat. *Food Microbiology* **32**: 1, pp. 179–184.

Yoshioka, K. & T. Yamamoto (1998). Changes of ultrastructure and the physical properties of carp muscle by high pressurization. *Fisheries Science*, **64**: 1, pp. 89–94.

Zare, Z. (2004). High pressure processing of fresh tuna fish and its effects on shelf life. MSc Thesis. http://digitool.library.mcgill.ca/webclient/StreamGate?folder_id=0&dvs=1354108422882~464



ISBN 978-82-8296-034-2 (trykt)
ISBN 978-82-8296-035-9 (pdf)
ISSN 1890-579X