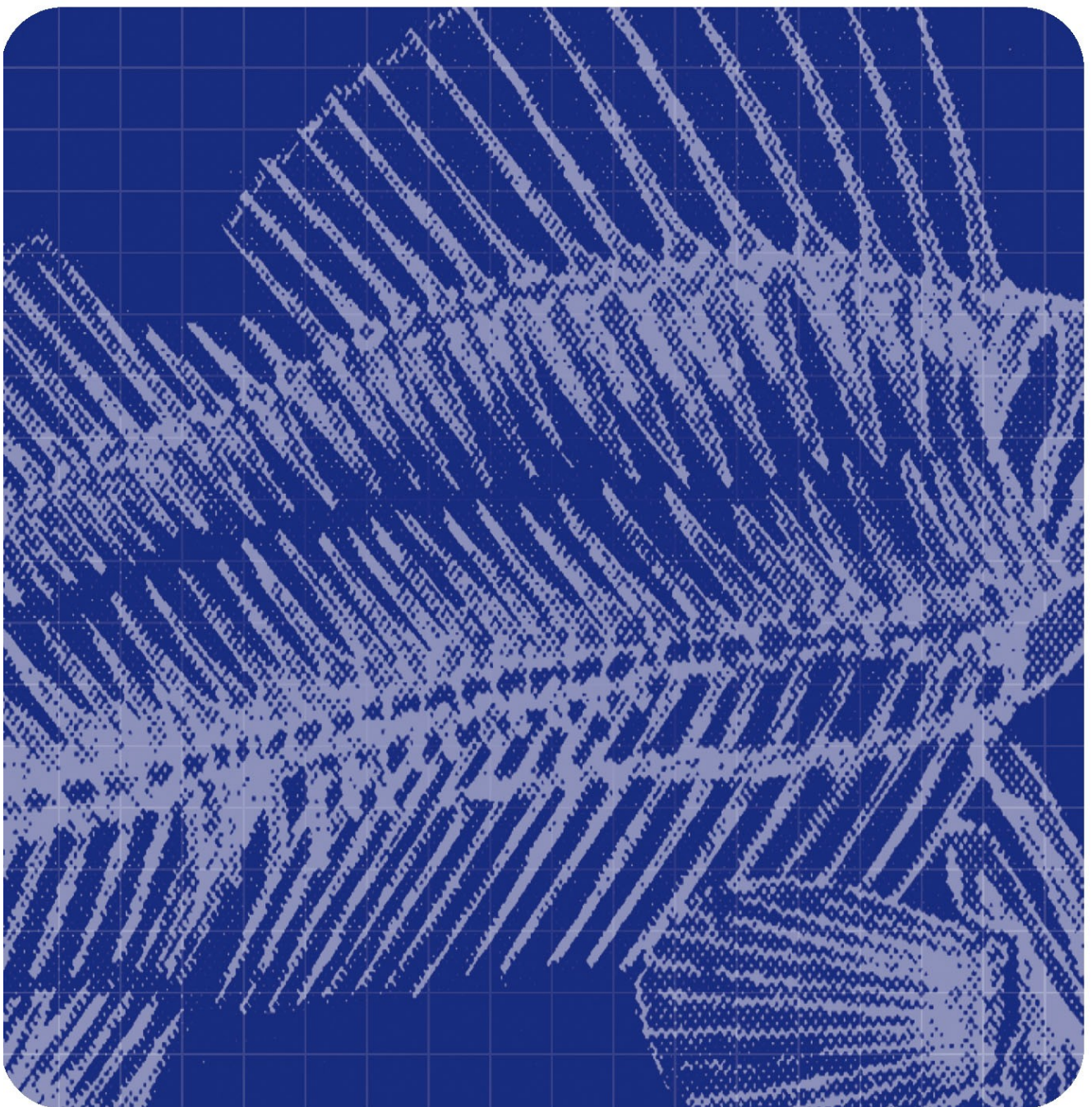




## Effekter av antioksidanter på klippfisk fra sei

Kristin Lauritzen, Bjørn Gundersen, Reidun Dahl, Sjurður Joensen, Ingebrigt Bjørkevoll, Agnar H. Sivertsen, Guro Eilertsen, Jarle Wang-Andersen, Kjetil Pedersen, Trond Ersvær og Grethe Kvåle Dørum





Norut Gruppen er et konsern for anvendt forskning og utvikling og består av morselskap og seks datterselskaper. Konsernet ble etablert i 1992 – fundamentert på daværende FORUTs fire avdelinger og Fiskeriforskning.

Konsernet består i dag av følgende selskaper:

Fiskeriforskning, Tromsø

Norut IT, Tromsø

Norut Samfunnsforskning, Tromsø

Norut Medisin og Helse, Tromsø

Norut Teknologi, Narvik

Norut NIBR Finnmark, Alta

Konsernet har til sammen vel 240 ansatte.



Fiskeriforskning (Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning AS) utfører forskning og utvikling for fiskeri- og havbruksnæringen.

Gjennom strategisk næringsrettet forskning og utviklingsarbeid, i samarbeid med næringsaktører og det offentlige, skal Fiskeriforskningens arbeid bidra til utvikling av

- etterspurt sjømat
  - aktuelle oppdrettsarter
  - bioteknologiske produkter
  - teknologiske løsninger
- for dermed å gi konkurransedyktige virksomheter.

Fiskeriforskning har ca. 170 ansatte fordelt på Tromsø (120) og Bergen (50). Fiskeriforskning har velutstyrte laboratorier og forsøksanlegg i Tromsø og Bergen. Norconserv i Stavanger med 30 ansatte er et datterselskap av Fiskeriforskning.

Hovedkontor Tromsø:  
Muninbakken 9-13  
Postboks 6122  
N-9291 Tromsø  
Telefon: 77 62 90 00  
Telefaks: 77 62 91 00  
E-post: [post@fiskeriforskning.no](mailto:post@fiskeriforskning.no)

Avdelingskontor Bergen:  
Kjerreidviken 16  
N-5141 Fyllingsdalen  
Telefon: 55 50 12 00  
Telefaks: 55 50 12 99  
E-post: [office@fiskeriforskning.no](mailto:office@fiskeriforskning.no)

Internett: [www.fiskeriforskning.no](http://www.fiskeriforskning.no)

# RAPPORT

ISBN-13 978-82-7251-601-6  
ISBN-10 82-7251-601-2

Rapportnr:  
**25/2006**

Tilgjengelighet:  
**Åpen**

Tittel:

**Effekter av antioksidanter på klippfisk fra sei**

Dato:

**21. november 2006**

Antall sider og bilag:

**55**

Forskningssjef:

**Even Stenberg**

Forfatter(e):

Kristin Lauritzsen, Bjørn Gundersen, Reidun Dahl, Sjurður Joensen, Ingebrigt Bjørkevoll, Agnar H. Sivertsen, Guro Eilertsen, Jarle Wang-Andersen, Kjetil Pedersen, Trond Ersvær og Grethe Kvåle Dørum

Prosjektnr.:

**20164**

Oppdragsgiver:

**FHL's Bacalaoforum og Innovasjon Norge**

Oppdragsgivers ref.:

**Arnt Olav Aarseth**

3 stikkord:

**Antioksidanter, klippfisk, sei**

Sammendrag: (maks 200 ord)

Godt betalende europeiske markeder etterspør hovedsakelig klippfisk fra torsk fordi den har en lys farge. Klippfisknæringen ønsker derfor å bedre fargen på dagens seiprodukter for å få tilgang til disse markedene. Målet med prosjektet var å undersøke mulighetene for å produsere hvitest mulig klippfisk fra sei. Det ble gjennomført 20 ulike forsøksserier på ferskt og fryst råstoff hvor man varierte antioksidanttypen, fosfatkonsentrasjonen og produksjonstemperaturen gjennom salteprosessen. Hver forsøksserie bestod av 20 flekte sei. Man klarte ikke å produsere en lysere klippfisk fra sei ved hjelpa av antioksidanttypene, antioksidantmengdene og fosfatkonsentrasjonene som ble undersøkt, sammenlignet med kontrollen som ble saltet med ordinært sjøsalt. Antioksidanttypene påvirket fargen til klippfisk fra både fryst og ferskt råstoff. Sitronsyre ga den lyseste klippfisken, men den ble ikke vesentlig lysere enn kontrollfisken og i tillegg ble den mest harsk. Tocopherol + ascorbat blandingen ga den mørkeste klippfisken, men den ble likevel minst harsk. Innholdet av flyktig nitrogen økte i alle klippfiskprøvene under 8 måneders kjølelagring og spesielt mye i klippfisken framstilt med tocopherol + ascorbat i saltet. Lav produksjonstemperatur (2°C) ga et 3-4% høyere saltfiskutbytte enn høy temperatur (20°C).

English summary: (maks 100 ord)

To be able to deliver cliff fish from saithe to the European high price markets, the Norwegian producers need to improve the colour of the products of today. The aim of the project was to investigate how to make the saithe lighter in colour. Experiments were performed with both fresh and frozen saithe and the antioxidants, phosphate concentrations and production temperature were varied. The project did not succeed in making a lighter colour of the cliff fish compared with the control. However, interesting relations were found between the total volatile nitrogen fraction of the flesh and the colour development of the product.



## Forord

Prosjektet ”Videreføring Klippfisk sei - antioksidanteffekter” ble initiert våren 2005 basert på resultatene fra prosjektet ”Misfarging av klippfisk fra sei” som ble gjennomført ved Fiskeriforskning i 2004-2005. Resultatene fra prosjektet ”Misfarging av klippfisk fra sei” viste at fargen på overflaten til klippfisken har med reaksjoner tilknyttet harskningsprosessen i fiskekjøttet å gjøre. Ved prosjektavslutningen ble man enige om at det var behov for å videreføre prosjektaktivitetene på klippfisk fra sei. Klippfisknæringen har i dag et sterkt ønske om å kunne eksportere klippfisk fra sei til sine europeiske og godt betalende markeder. Disse etterspør hovedsakelig klippfisk fra torsk fordi den har en hvitere farge.

Finansieringen av prosjektet var på plass i juli 2005 og det praktiske arbeidet startet i oktober 2005 og varte fram til oktober 2006. Prosjektet hadde en total økonomisk ramme på 1.04 millioner norske kroner som ble finansiert med 50% fra FHF-fondet, Fiskeri og havbruksnæringens forskningsfond og 50% fra Innovasjon Norge. Arnt Olav Aarseth ved Bacalaoforum i Ålesund, har vært administrativ leder og forsker Kristin Lauritzsen ved Fiskeriforskning i Tromsø, har vært faglig leder av prosjektet. I tillegg har Bjørn Gundersen, Reidun Dahl, Sjurður Joensen, Ingebrigt Bjørkevoll, Agnar H. Sivertsen og Guro Eilertsen ved Fiskeriforskning i Tromsø deltatt aktivt ved planleggingen og gjennomføringen av arbeidet. Jarle Wang-Andersen, Kjetil Pedersen, Trond Ersvær og Grethe Kvåle Dørum ved A-lab, Fiskeriforskning i Bergen, har utført bestemmelsen av totalt fettinnhold og innholdet av omega-3-fettsyrene; EPA og DHA i fiskekjøttet til klippfisken.



# INNHold

<b>1</b>	<b>Problemstilling</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Mål</b>	<b>1</b>
<b>3</b>	<b>Teori</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Gjennomføring av forsøkene</b>	<b>5</b>
4.1	Råstoffer	5
4.1.1	Sei	5
4.1.2	Salt	5
4.1.3	Antioksidant typer og fosfatkonsentrasjoner	5
4.2	Forsøksdesign	6
4.3	Prøveuttak	7
4.4	Registreringer og analyser	8
<b>5</b>	<b>Materialer og metoder</b>	<b>9</b>
5.1	Vekt %, vektutbytte	9
5.2	Preparering av prøver	9
5.3	Fargemålinger	9
5.4	Kjemisk målt harskning (Tiobarbitursyrereaktive forbindelser, TBARS)	9
5.5	Spektroskopisk målt harskning (fluorescens)	10
5.6	Totalt flyktige nitrogenforbindelser (TVN)	10
5.7	Muskel-pH	10
5.8	Vanninnholdet i fiskemuskel	11
5.9	Saltinnholdet og vannaktiviteten i fiskemuskel	11
5.10	Bestemmelse av totalt fettinnhold og omega-3-fettsyrene EPA og DHA	11
5.11	Statistisk dataanalyse	11
<b>6</b>	<b>Resultater</b>	<b>13</b>
6.1	Vektutbytte %	13
6.1.1	Vektutbytte som saltfisk og klippfisk fra ferskt råstoff	13
6.1.2	Vektutbytte som saltfisk og klippfisk fra fryst råstoff	14
6.2	Instrumentelle fargeverdier	15
6.2.1	Instrumentell rødhet, $a^*$ , saltfisk og klippfisk	16
6.2.2	Instrumentell lyshet, $L^*$ , saltfisk og klippfisk	19
6.2.3	Instrumentell gulhet, $b^*$ , saltfisk og klippfisk	21
6.3	Muskel-pH (surhet) til klippfisk	24
6.3.1	Muskel-pH i klippfisk fra ferskt råstoff	24
6.3.2	Muskel-pH i klippfisk fra fryst råstoff	25
6.4	Vanninnhold i klippfisken	26
6.4.1	Vanninnhold i klippfisk fra ferskt råstoff	26
6.4.2	Vanninnhold i klippfisk fra fryst råstoff	27
6.5	Saltinnhold i klippfisk	28
6.5.1	Saltinnhold i klippfisk fra ferskt råstoff	28
6.5.2	Saltinnhold i klippfisk fra fryst råstoff	29
6.6	Kjemisk målt harskning (TBARS-verdier)	29
6.6.1	TBARS-verdi til klippfisk fra ferskt råstoff	29
6.6.2	TBARS-verdi til klippfisk fra fryst råstoff	30
6.7	Spektroskopisk målt harskning (fluorescens spektroskopi)	32
6.7.1	Fluorescensspektra til klippfisk fra ferskt råstoff	32
6.7.2	Fluorescens spektra til klippfisk fra fryst råstoff	33

6.8	Innholdet av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) i klippfisk .....	34
6.8.1	TVN-innhold i klippfisk fra ferskt råstoff .....	34
6.8.2	TVN-innhold i klippfisk fra fryst råstoff .....	35
6.9	Fettinnhold i klippfisk .....	36
6.9.1	Fettinnhold i klippfisk fra ferskt råstoff .....	36
6.9.2	Fettinnhold i klippfisk fra fryst råstoff .....	37
6.10	Innholdet av omega-3-fettsyrene; EPA og DHA i klippfisk .....	37
6.10.1	EPA innholdet i klippfisk fra ferskt råstoff .....	37
6.10.2	EPA innholdet i klippfisk fra fryst råstoff .....	38
6.10.3	DHA-innholdet til klippfisken fra ferskt råstoff .....	39
6.10.4	DHA-innholdet til klippfisken fra fryst råstoff .....	40
<b>7</b>	<b>Diskusjon - multivariat dataanalyse .....</b>	<b>43</b>
7.1	Principal component analyse (PCA) av kjemisk-fysikalske analysedata for klippfisk fra ferskt råstoff .....	43
7.2	Principal component analyse (PCA) av kjemisk-fysikalske analysedata for klippfisk fra fryst råstoff .....	47
7.3	Effekter på klippfisk fra både ferskt og fryst råstoff .....	48
<b>8</b>	<b>Konklusjoner .....</b>	<b>51</b>
<b>9</b>	<b>Referanser .....</b>	<b>53</b>



## **1 Problemstilling**

I 2005 utgjorde norsk eksport av saltet sei og klippfisk fra sei totalt 767 millioner norske kroner. Fram til oktober 2006 har kiloprisen gjennomsnittlig økt med 14% for klippfisken og 21% for saltfisken. Mesteparten av seien eksporteres til Brasil, Den Dominikanske Republikk og Karibia. De godt betalende europeiske markedene etterspør derimot klippfisk fra torsk, fordi den har en hvitere farge. Klippfisknæringen har derfor et sterkt ønske om å bedre fargen på dagens seiprodukter for å få tilgang til nye markeder og høyere pris på produktene.

Fiskekjøttet til sei har et lavt fettinnhold. Mesteparten av fettene ligger i cellemembranene hvor innholdet av umettede fettsyrer er høyt med nærhet til katalytisk aktive forbindelser i cytoplasma. Til tross for det lave fettinnholdet, er fiskekjøttet til seien spesielt utsatt for harskning og misfarging pga lokaliseringen og sammensetningen av fettene. Det var derfor interessant å undersøke effektene av å bruke antioksidanter og fosfater i framstillingsprosessen for om mulig å oppnå en lysere farge på klippfisken.

## **2 Mål**

Å undersøke mulighetene for å produsere hvitest mulig klippfisk fra sei.



### 3 Teori

Vi vet at gulning og brun misfarging av matvarer i stor grad blir påvirket av oksidasjonsreaksjoner (enzymatiske og ikke-enzymatiske). Den ikke-enzymatiske oksidasjonen er den viktigste hos fisk.

Den ikke-enzymatiske harskningen er autokatalytisk. Det betyr at når harskningen først har startet, stimulerer den til ytterligere harskning av fiskekjøttet.

#### Faktorer av betydning for den ikke-enzymatiske fettoksidasjonen :

- 1.) Fryselagring. Selv om nedsatt temperatur reduserer oksidasjonshastigheten, vil den finne sted ved fryseromstemperaturer. Langvarig fryselagring av seiråstoffet før produksjon til klippfisk, kan medføre at fiskekjøttet kan befinne seg i en langt fremskredet fase av oksidasjon (Frankel, 2005).
- 2.) Graden av ytre skader påført fiskekjøttet. Når muskelcellemembranen skades, frigjøres hemjernet i cytoplasma og oksidasjonshastigheten øker. Tøff behandling av fiskemuskelen påført f.eks ved tråling eller garnfangst, kan påføre store skader i muskelcellemembranene. Dersom fisken i tillegg dør under selve fangsten, vil fiskemuskelen inneholde mye blod etter sløyning og dette vil katalysere ytterligere oksidasjon (Olsen, 2005; Frankel, 2005).
- 3.) Fettets sammensetning. Fettsyresammensetningen, graden av umettethet og mengden fosfolipider har betydning for oksidasjonen. Høy grad av umettethet gir et fiskekjøtt som er svært utsatt for oksidasjon. Fôret til seien har betydning for sammensetningen av fett og for villseien vil dette variere gjennom året (Nawar, 1996).
- 4.) Vannfasens pH og vannaktiviteten (Labuza, 1971a,b). Det er påvist at fettsyreoksidasjonen hemmes vesentlig ved pH-verdier over 6 (Frankel, 2005). Muskel-pH til seien etter død, vil være påvirket av fiskens størrelse, grad av kjønnsmodning og fôringsregimet i de siste ukene før død. Normalt ligger muskel-pH hos sei fra 6.3-7.0 (Lauritzsen *et al.*, 2005).

Oksidasjonshastigheten er maksimal ved en vannaktivitet på  $a_w=0.8$  og minimal ved  $a_w=0.2$ . Dette innebærer at fullsaltet sei med vannaktivitet 0.8 eller rett under, harskner raskt. Det samme gjelder ved frysing av fisken, som gir redusert vannaktivitet i den gjenværende (ikke-krystalliserte) vannfasen og dette øker oksidasjonen.

- 5.) Ytre faktorer. De viktigste faktorer vil være lys (særlig kortbølget), oksygentilførsel og temperatur. Høy lyseksponering, rikelig oksygentilførsel og høy temperatur ( $>0^\circ\text{C}$ ) aksellerer fettoksidasjonen i kjøttvarer (Nawar, 1996).
- 6.) Pro-oksideranter og antioksideranter. Stoffer som fremmer oksidasjon (prooksideranter) er for eksempel enverdige og toverdige metallioner ( $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$  og  $\text{Fe}^{2+}$ ) og jern i hemo- og myoglobin. Antioksideranter er for eksempel de naturlig forekommende tokoferol, sitronsyre og askorbinsyre. Disse binder frie radikaler og bryter på den måten oksidasjonskjeden (Frankel, 2005).

Hovedkonklusjonene fra prosjektet ”Misfarging av klippfisk fra sei” som ble gjennomført ved Fiskeriforskning i 2004-2005 var:

- En klar positiv korrelasjon ble påvist mellom gulbrun misfarging og ikke-enzymatisk fettoksidasjon i nyprodusert klippfisk fra sei (1 måneds lagring). Det ble målt som økning av gulfargen, målt instrumentelt, med økende TBARS verdi (kjemisk målt harskning) og fluorescens intensitet (spektroskopisk målt harskning).
- Klippfisken ble misfarget når den ble saltet med et økende kalsiuminnhold i sjøsaltet. Det har sannsynligvis sammenheng med den raske og kraftige reduksjonen av pH som ble påvist i fiskekjøttet.
- Nest etter saltsammensetningen var produksjonstemperaturen den viktigste prosessbetingelsen. Høy produksjonstemperatur ga et lavt vektutbytte som saltfisk og klippfisk. Klippfisken fikk dessuten høy hvithet, et høyt protein og flyktig nitrogeninnhold.
- I løpet av 8 måneders kjølelagring ved +4°C økte gulfargen, innholdet av flyktige nitrogenforbindelser og fluorescens intensiteten samtidig som muskel-pH sank i fiskekjøttet.

## 4 Gjennomføring av forsøkene

### 4.1 Råstoffer

#### 4.1.1 Sei

Det er kjent at man i klippfiskindustrien benytter både ferskt og frosset råstoff til produksjon av klippfisk fra sei. Forsøksoppsettet som er beskrevet i tabell 2. ble gjennomført både på ferskt og fryst-tint råstoff. Seien var trålfanget i kystområdene rundt Tromsø i oktober og november 2005 og hadde sløyd, hodekappet vekt 1-3 kg. Sløyd sei i *postrigor* tilstand (islagret 3-4 døgn) levert fra GPG Norge AS og manuelt flekket ved Fiskeriforskning, ble benyttet som ferskt råstoff. Sløyd sei som var emballert i plastbelagte fryseposer på palle i 3 uker ved -25°C på Nordøya Industriaregg i Tromsø, ble benyttet som fryst råstoff. Den fryste seien ble tint i rennende vann i 2 døgn på kjølerom (+2-4°C), før den ble flekket i en kommersiell flekkemaskin (Ivan Lorentzen Fiskeforretning AS, 9118 Brentsholmen) og produsert til klippfisk ved Fiskeriforskning sin forsøkshall.

#### 4.1.2 Salt

Den kjemiske sammensetningen av sjøsaltet som var basis for innblandinger av ulike antioksidant typer og fosfatmengder, er vist i tabell 1. Det ble ikke framstilt blandinger med flere typer sjøsalt i prosjektet.

Tabell 1. Innholdet av ulike kjemiske komponenter i sjøsaltet. % er angitt som vektandel av totalvekt.

Kjemisk komponent	Sjøsalt
NaCl	99.6 %
H <sub>2</sub> O	2.79 %
Insolubles	0.013 %
Ca (Kalsium)	771 mg/kg (ppm)
Mg (Magnesium)	970 mg/kg (ppm)
Cu (Kopper)	0.046 mg/kg (ppm)
Fe (Jern)	1.7 mg/kg (ppm)
Na <sub>4</sub> Fe(Cn) <sub>6</sub> (antiklumpemiddel)	< 5 mg/kg (ppm)

#### 4.1.3 Antioksidant typer og fosfatkonsentrasjoner

Antioksidant typene som ble undersøkt i forsøkene var:

Sitronsyre Monohydrat (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>7</sub> x H<sub>2</sub>O p.a.) fra Merck (Darmstadt, Germany)

EDTA Disodiumdihydrat (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub> x 2H<sub>2</sub>O p.a.) fra Merck (Darmstadt, Germany)

Natrium-L-ascorbate (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>Na puriss) fra Jingsu Jiangshan Pharmaceutical Co. Ltd., (China), levert via Helm AG, Hamburg, Germany)

dl-  $\alpha$ - Tocopherol (E 307, 1g =1100 i.e. Vitamin E) fra Roche AG Sisseln (Basel, Switzerland)

Fosfattilsetningen som ble brukt i forsøkene var:

Natrium Metaphosphate ( $\text{NaO}_3\text{P}$ )<sub>n</sub> fra Merck (Darmstadt, Germany)

Ulike antioksidanter og fosfatmengder ble veid inn sammen med riktig mengde sjøsalt i henhold til forsøksplanen vist i tabell 2, i en sylindrisk plastbeholder (tønne for salting av sild) med lokk. Beholderen ble deretter lagt i 30 graders vinkel på et maskinelt roterende skråplan i 2 x 5 minutter. Midtveis i elteprosessen ble tønnene snudd opp ned for å sikre tilfredsstillende sammenblandingen av de ulike saltkomponentene. Det ble framstilt 150 kg saltblanding for hver forsøksserie.

Antioksidant typene og konsentrasjonene som ble undersøkt, ble valgt ut fra tidligere erfaringer med fullsalting av torsk ved varierende askorbinsyre konsentrasjoner, og lave EDTA og sitronsyre konsentrasjoner i mettet saltlake (Lauritzsen og Olsen, 2004). EDTA ble anvendt som en referanse på sei, fordi den har vært effektiv ved fullsalting av torsk. Svoveldioksid (E220) og sulfitter (E221-224, 226-228) er i dag de eneste tillatt brukte antioksidanter på tørket fisk av torskefamilien (Tilsetningsstoff-forskriften, Statens Næringsmiddeltilsyn, 2005).

Testnivåene for fosfat ble valgt ut fra normale fosfatkonsentrasjoner ved fryselagring av fisk, hvor konsentrasjonen skal være < 0.1% fosfat i ferdigproduktet (Tilsetningsstoff-forskriften, Statens Næringsmiddeltilsyn, 2005). Dersom vi tar hensyn til ca. 35-40% væskeslipp fra fisken gjennom salte- og tørkeprosessen, bør konsentrasjonen i saltet gi rom for en relativ økning av fosfatinnholdet i fiskekjøttet gjennom prosessen. Fosfatnivåene som ble valgt, vist i tabell 2, hadde gode marginer i så måte.

## 4.2 Forsøksdesign

Forsøksseriene tilsvarte et 2<sup>3</sup> fullfaktor forsøksdesign, hvor antioksidant typen, fosfatkonsentrasjonen og produksjonstemperaturen var designvariablene man ønsket å undersøke effektene av på klippfisk fra sei. De ferdige saltblandingene som er beskrevet i detalj i tabell 2, ble brukt til å fullsalte fersk og fryst sei ved henholdsvis høy (18-20°C) og lav (2-4°C) produksjonstemperatur i totalt 26 døgn. To kontrollgrupper ved henholdsvis høy (18-20°C) og lav (2-4°C) temperatur, ble saltet med rent sjøsalt. Alle forsøksblandingene med salt inklusive rent sjøsalt for kontrollgruppene, ble undersøkt på N = 20 flekte sei som ble merket og veid individuelt gjennom prosessen. Vektforholdet flekket fisk og tørt salt var 1 : 1 de første 5 døgn med picklesalting og deretter 1 : 0.25 de påfølgende 7 og 14 døgn med tørrsalting. Saltfisken ble tørket i en kommersiell klippfisktørke av type SouthWind (Canada) mot ønsket individuell sluttvekt tilsvarende 7/8 tørr (dvs. < 50% vann). Deretter ble klippfisken emballert i standard klippfiskemballasje (Petterson Emballasje, Kongsberg, Norge) og lagret ved stabil relativ fuktighet, 75-80%, og temperatur 2-4°C i inntil 8 måneder. Temperatur og relativ fuktighet ble logget gjennom hele lagringsperioden. Alle forsøkene ble utført ved forsøks- og lagringsfasilitetene til Fiskerforskning i Tromsø samt ved analyselaboratoriene i Tromsø og i Bergen.

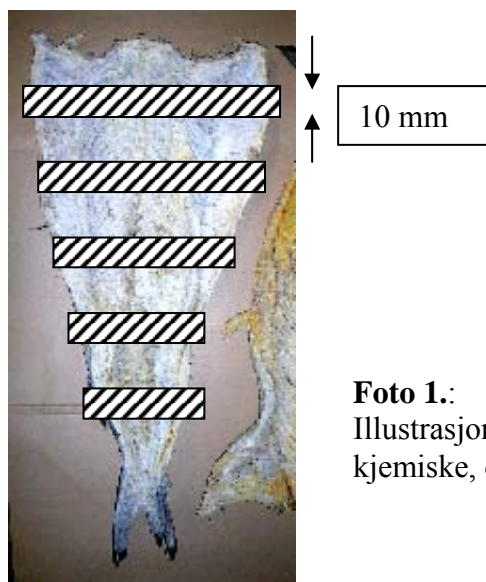
Tabell 2. 2<sup>3</sup> full-faktor forsøksdesign med antioksidant type, fosfatmengde og produksjons-temperatur som kontrollerte designvariable. Hver forsøksserie omfattet 20 stk. flekket sei.

Variabel:	Antioksidant type	Temperatur	Fosfatkonsentrasjon	Lagringstid
Forsøksserie .		(°C)	(%)	(mnd.)
1	EDTA	18-20	0.05	1,4 og 8
2	EDTA	2-4	0	1,4 og 8
3	EDTA	18-20	0.01	1,4 og 8
4	EDTA	2-4	0.05	1,4 og 8
5	EDTA	2-4	0.01	1,4 og 8
6	Tokoferol +askorbat	2-4	0.01	1,4 og 8
7	Tokoferol +askorbat	18-20	0	1,4 og 8
8	Sitronsyre	18-20	0	1,4 og 8
9	Sitronsyre	2-4	0	1,4 og 8
10	Tokoferol +askorbat	18-20	0.05	1,4 og 8
11	Tokoferol +askorbat	18-20	0.01	1,4 og 8
12	Sitronsyre	2-4	0.05	1,4 og 8
13	Tokoferol +askorbat	2-4	0.05	1,4 og 8
14	Sitronsyre	2-4	0.01	1,4 og 8
15	EDTA	18-20	0	1,4 og 8
16	Tokoferol +askorbat	2-4	0	1,4 og 8
17	Sitronsyre	18-20	0.05	1,4 og 8
18	Sitronsyre	18-20	0.01	1,4 og 8
19	Kontroll	2-4	0	1,4 og 8
20	Kontroll	18-20	0	1,4 og 8

Antioksidantkonsentrasjonene i de tørre sjøsaltblandingene var:  
0.2% EDTA, 0.5% Sitronsyre, 0.05% dl- $\alpha$ -tokoferol + 0.5% Askorbat.

### 4.3 Prøveuttak

Det ble tatt prøver av seiråstoffet (ferskt og fryselaagret) og den ferdige klippfisker etter henholdsvis 1, 4 og 8 måneders kjølelagring. Fiskeridirektoratets standard analysemetode for bestemmelse av vanninnholdet i klippfisk ble benyttet ved prøveuttaket av klippfiskene (Snittmetoden etablert ved Fiskeridirektoratets Sentrallaboratorium i Bergen). Ved hvert prøveuttak ble det tatt ut 5 flekket klippfisk fra sei. Hver fisk ble delt på tvers langs lengderetningen for hver 5 cm, vist på illustrasjonen i foto 1. på neste side, og hvor 10 mm brede tværsnitt ble tatt ut. Alle tværsnittene (skraverte områder) fra de 5 fiskene ble slått sammen til en samleprøve (pooled sample) for hver forsøksserie i tabell 2.



**Foto 1:**  
 Illustrasjon av prøveuttakene for fysikalske, kjemiske, og spektroskopiske analyser

#### 4.4 Registreringer og analyser

Vektutbyttet fra salte- og tørkeprosessene ble beregnet ved hjelp av individuelle vektregistreringer innenfor hver forsøksserie. Hver forsøksserie bestod av totalt 20 stk. flekket fisk. Råstoffets flektvekt ble satt til 100% og utbyttet ble beregnet ut fra denne.

Alle homogeniserte prøver av råstoff og klippfisk ble analysert med hensyn på:

- Thiobarbitursyre reaktive forbindelser (TBARS) som er et mål på kjemisk målt harskning
- Fluorescens som er et mål på spektroskopisk målt harskning
- Instrumentell farge, L\*, b\* og a\* (lyshet, gulhet og rødhet) som et objektivt mål på farge
- Muskel-pH ble målt som et mål på surheten til fiskekjøttet
- Totalt flyktig nitrogen (TVN) som er et mål på enzymatisk og bakteriell aktivitet i fiskekjøttet og verdien forteller om smaken og lukten til prøven
- Vann- og askeinnhold for å kontrollere tørkegraden og saltopptaket i fiskekjøttet (< 50% vann, > 22% NaCl)
- Totalt fettinnhold ble målt. I tillegg ble innholdet av de helsemessig gunstige omega-3-fettsyrene EPA og DHA målt. Fettsyrene kunne eventuelt brytes ned ved harskning av fiskekjøttet.



## 5 Materialer og metoder

### 5.1 Vekt %, vektutbytte

Individuelle vektregistreringer ble utført på flekket sei som mål på vektutbyttet i prosessen. Innveid ferskt råstoff før salting ble satt til 100% vekt og utbyttet som salt fisk (SF) og klippfisk (KF) ble beregnet ut fra formelen:

$$\text{Vekt \%} = \frac{\text{Flekket vekt råstoff} \times 100\%}{\text{Vekt SF eller KF}}$$

### 5.2 Preparering av prøver

For hvert uttak ble det tatt ut 5 tilfeldige klippfisk for hver forsøksserie. De første 2-3 cm i nakkeregionen på klippfisken ble skåret ut ved hjelp av båndsag og fjernet. Deretter ble ca. 10 mm brede tverrsnitt, for hver 3-4 cm i fiskens lengderetning skåret ut ved hjelp av båndsag. Skinn og bein ble fjernet manuelt og deretter ble alle tverrsnittene fra de 5 klippfiskene homogenisert sammen i en Dito Sama kjøkkenmaskin (Abusson, Frankrike) på hastighet 1 i ca. 0.5-1 minutt til et pooled sample. De homogeniserte klippfiskprøvene ble emballert i to lag plast (prøvepose med lynlås pluss tykk vakuumpose) og fryselagret ved -80°C i ca. 0.5-7 måneder før fysikalske, spektroskopiske og kjemiske analyser ble utført.

### 5.3 Fargemålinger

Et X-rite CA1 fullspekter fargemåleinstrument ble brukt til å måle farge på råstoff og klippfiskprøver med standard bakgrunnsbelysning i en Salmon Colour Box (Skretting AS, Stavanger, Norge). Fargen ble målt i L,a,b målemoduset og verdier for lyshet (L\*), rød-grønn (a\*) og gul-blå (b\*) ble detektert på homogeniserte prøver emballert i en gjennomsiktig plastpose. For hver prøve ble det gjort 8 replikate deteksjoner og det ble beregnet middelverdier og standardavvik på grunnlag av disse verdiene.

### 5.4 Kjemisk målt harskning (Tiobarbitursyrereaktive forbindelser, TBARS)

Harskningsgraden til fiskekjøttet kan blant annet måles kjemisk ved å bestemme innholdet av tiobarbitursyre reaktive forbindelser (TBARS). Metoden er en av de mest brukte på næringsmidler og benyttes jevnlig ved Fiskeriforskning. Sekundære harskningsprodukter ekstraheres fra prøvene i en trikloreddiksyre som videre danner et fargekompleks (rosa-rødt) med tiobarbitursyre, som til slutt måles spektrofotometrisk (Dulavik *et al.*, 1998). Det ble utført 2 parallelle ekstraksjoner pr. homogeniserte prøve og i tillegg ble det utført to spektrofotometriske avlesninger pr. ekstrakt. Gjennomsnittsverdier og standardavvik ble beregnet på grunnlag av disse.

## 5.5 Spektroskopisk målt harskning (fluorescens)

Fluorescens er definert som et objekts eller en partikkels evne til å sende ut lys (emittere) på høyere bølgelengder enn det objektet/partikkelen blir belyst med (eksitert) (Gunasekaran, 2001). Metoden har vist seg velegnet ved hurtig og ikke destruktiv måling av harskning i fjærkre og meieriprodukter (Wold, 2000; Veberg *et al.*, 2006a,b,c) og klippfisk fra seifilet (Sivertsen *et al.*, 2006). Det man normalt måler er fluorescerende forbindelser som dannes ved reaksjoner mellom sekundære oksidasjonsprodukter (aldehyder o.a.) og ulike aminosyrer og makromolekyler. Noen fluorescerende forbindelser er gule/brune på farge og disse kan være fremtredende i misfarget klippfisk. Fluorescens er en meget sensitiv analysemetode for å måle harskning i meieriprodukter og fjærkre, og vi ønsker å undersøke om metoden også kan brukes til å påvise harskning i klippfisk før misfarging inntreffer.

Spektral fluorescens ble målt ved hjelp av en FP-2150 spektrograf (Acton Research, USA) i kombinasjon med et CCD kamera, type Pixif 400B (Princeton Instruments, USA) med et 380 nm bandpassfilter (CVI F10-380.0-4-1.00) og 420 nm cut-off filter (Melles Griot 03FCG059). Lyskilden som ble brukt var en 300 W Xenon lampe (Oriol 6259). Hver måling ble representert som et lysspekter i bølgelengdeområdet 400 til 800 nm (Sivertsen *et al.*, 2006).

Homogeniserte klippfiskprøver ble tint i kjøleskapet over natten før analysering. Prøvene fra 1, 4 og 8 måneders kjølelagring ble målt en eller to ganger ved romtemperatur.

## 5.6 Totalt flyktige nitrogenforbindelser (TVN)

Mengden flyktige nitrogenforbindelser som dannes i fiskekjøttet etter død, avhenger av bakterieveksten og den enzymatiske aktiviteten (Sikiorski og Kostuch, 1982). Flyktige nitrogenforbindelser som trimetylammin (TMA), trimetylamminoksyd (TMAO) og dimetylamminoksyd (DMAO) vil blant annet bidra til totalt flyktig nitrogen. Slike forbindelser påvirker i stor grad smak og lukt av fiskekjøttet. Ferskheten til fiskeprodukter vil kunne påvirke den videre harskningen og fargeutviklingen av fiskekjøttet under saltingen, tørkingen og lagringen av klippfisk. Innholdet av totalt flyktig nitrogen ble målt ved direkte destillasjon i Tecator instrumenter type Kjeltech 1026 og 1035 (AOAC 920.03). Det ble utført 3 replikate destillasjoner pr. homogeniserte prøve og middelverdier og standardavvik ble beregnet på grunnlag av disse.

## 5.7 Muskel-pH

Muskel-pH er en svært viktig parameter fordi den påvirker farge, filetspalting, smak, konsistens, saftighet og lagringsstabilitet til fiskeprodukter. Normal muskel-pH hos sei varierer fra 6.3-7.0 avhengig av fiskens næringsstatus og grad av kjønnsmodning. Filetspaltingen og væskeslippet øker når muskel-pH nærmer seg det isoelektriske punktet til muskelproteinene (Morrissey *et al.*, 1987). Det er påvist at lav muskel-pH (6.38) før salting, gir økt gulning og misfarging sammenlignet med høy pH (6.95) hos saltmoden villtorsk (Lauritzsen *et al.*, 1999; Lauritzsen og Olsen, 2004; Olsen, 2005) og saltmoden oppdrettstorsk og fóra villtorsk (Olsen, 2005). Muskel-pH ble bestemt ved hjelp av et PHM 80 Radiometer med glasselektrode i en suspensjon av 10 gram homogenisert saltfisk/klippfisk og 80 g destillert vann. pH i fersk sei-muskel ble bestemt i en suspensjon av 20 g homogenisert muskel og 20 g 0.15 M KCl-løsning. Det ble utført 3 parallelle målinger pr. prøve.

## **5.8 Vanninnholdet i fiskemuskelen**

Vanninnholdet til klippfisk er viktig for vektutbyttet fra prosessen og kvalitetsgraderingen. Innholdet bør være lavere enn 50% vann for å ha tørrhetsgraden 7/8 tørr. Betegnelsen lagertørr brukes vanligvis når klippfisk har et vanninnhold under 45% vann. Vanninnholdet ble bestemt ved tørking av prøven ved 105°C til konstant vekt (AOAC 950.46). Det ble utført 2 og 3 parallelle analyser ved vannbestemmelsen pr. homogeniserte prøve og gjennomsnittsverdier og standardavvik ble bestemt på grunnlag av disse.

## **5.9 Saltinnholdet og vannaktiviteten i fiskemuskelen**

Saltinnholdet bestemmer i stor grad vannaktiviteten til klippfiskproduktet som videre er viktig for fargen og den ikke-enzymatiske oksidasjonen (Labuza, 1971). Saltinnholdet i klippfisk bør ligge på 22-25 % salt for at sluttproduktet skal være stabilt. Det ble bestemt indirekte ved å bestemme askefraksjonen (AOAC 937.09). Det ble utført 3 parallelle analyser pr. homogeniserte prøve og gjennomsnittsverdier og standardavvik ble bestemt på grunnlag av disse.

## **5.10 Bestemmelse av totalt fettinnhold og omega-3-fettsyrene EPA og DHA**

De helsemessige aspektene ved å innta sjømat har fått økt fokus de siste årene, og det totale innholdet av de gunstige omega-3 fettsyrene; eicosapentaensyre (20:5n-3, EPA) og docosaheksaensyre (22:6n-3, DHA) i klippfiskhomogenatene ble derfor bestemt. Analysene ble utført på rent fiskefett ekstrahert fra klippfiskprøvene ved hjelp av Bligh & Dyers's ekstraksjonsmetode i chloroform-metanol (1959). Det ble utført 2 parallelle fettekstraksjoner pr. klippfiskprøve. Deteksjon av EPA og DHA-innholdet i fettene ble utført ved hjelp av en gasskromatografisk metode (AOCS Official Method Ce 1b-89) ved Fiskeriforskning's A-lab i Bergen. Gjennomsnittsverdier og standardavvik ble beregnet på grunnlag av de to gjentakene.

## **5.11 Statistisk dataanalyse**

Det ble beregnet gjennomsnittsverdier og standardavvik på grunnlag av gjentatte registreringer og analyser for hver forsøksserie. Effektene av de ulike forsøksvariablene på utbytte, farge og harskningsgrad til klippfisk, ble undersøkt statistisk. Analysedata ble undersøkt ved hjelp av 2-veis variansanalyse og multivariate tester i statistikkprogrammene, SAS Systems versjon 9.1.3 (SAS Institute Inc., NC, USA) og Unscrambler, versjon 9.2 (Camo AS, Norge).

Principal component analysis (PCA) og partial least square regression analysis (PLS) ble utført for å finne systematiske og multivariate kovariasjoner i datasettet mellom spektroskopiske data og kjemiske/fysikalske analysedata. Correlation loadings plott fra analysene ga en fin oversikt over disse. Enkle regresjonsplott mellom to og to variable ble dessuten utført. General linear procedure (GLM) i SAS programmet med Scheffe's og Tukey's multivariate F-tester ble benyttet til å finne signifikante forskjeller mellom gjennomsnitt for ulike undergrupper i datasettet.



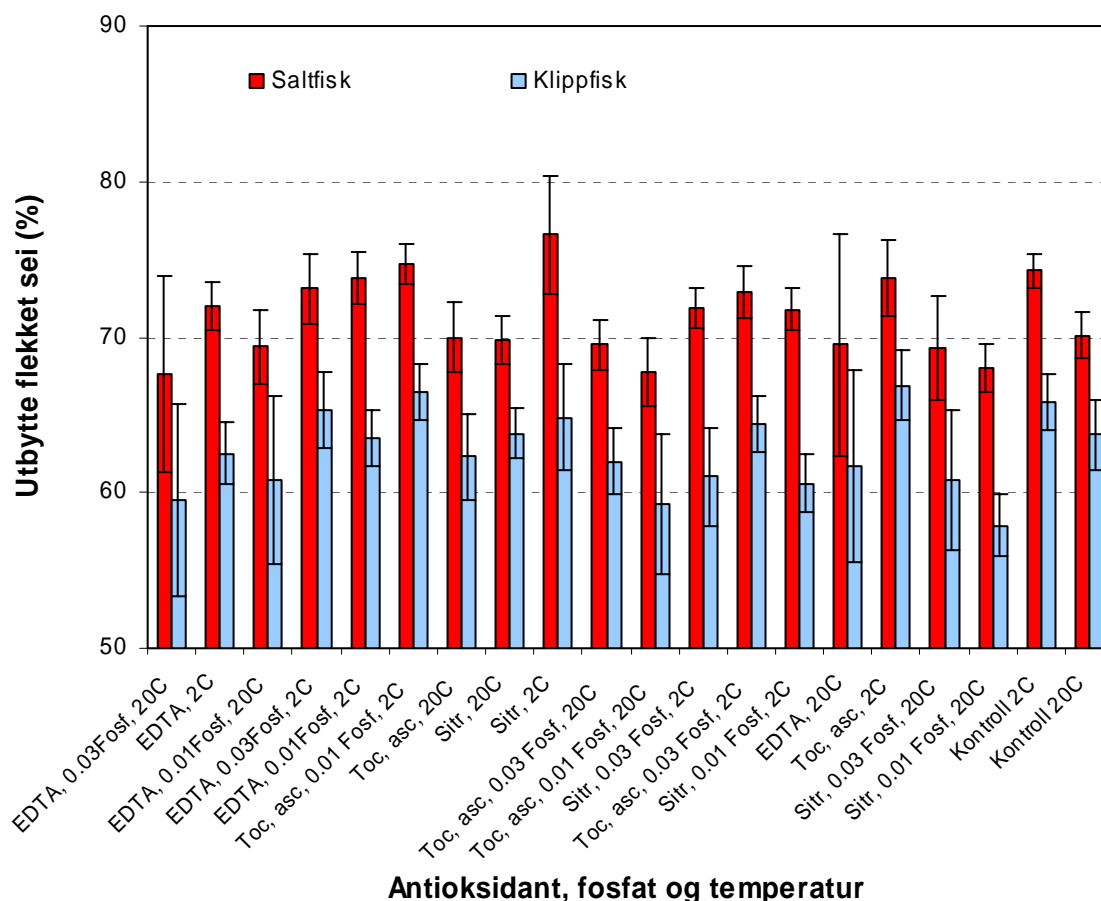
## 6 Resultater

### 6.1 Vektutbytte %

Vekten til flekket seiråstoff før salting ble satt til 100% og vektutbyttet som henholdsvis saltfisk (SF) og klippfisk (KF) ble beregnet utfra den. Antall fisk pr. forsøksserie var gjennomsnittlig  $N = 20$ .

#### 6.1.1 Vektutbytte som saltfisk og klippfisk fra ferskt råstoff

I figur 1 er vektutbyttet presentert som saltmoden fisk og etter tørking fram til klippfisk når ferskt seiråstoff ble brukt (*post rigor*; 3 døgns islagret) til framstillingen. Resultatene viser at salttemperatur 2°C ga generelt et 2-4% høyere vektutbytte enn salting ved 20°C målt som saltmoden fisk, signifikant ( $p < 0.005$ ). Også når saltfisken ble tørket fram til klippfisk, ble vektutbyttet generelt høyere enn for salttemperatur 20°C. Tørketiden ble forsøkt justert mot ønsket sluttvekt på klippfisken, men vi ser at dette ikke har lyktes fullstendig. Fisken saltet ved 20°C tørket så mye raskere enn forventet, at den likevel fikk et generelt lavere vektutbytte enn den saltet ved 2°C.

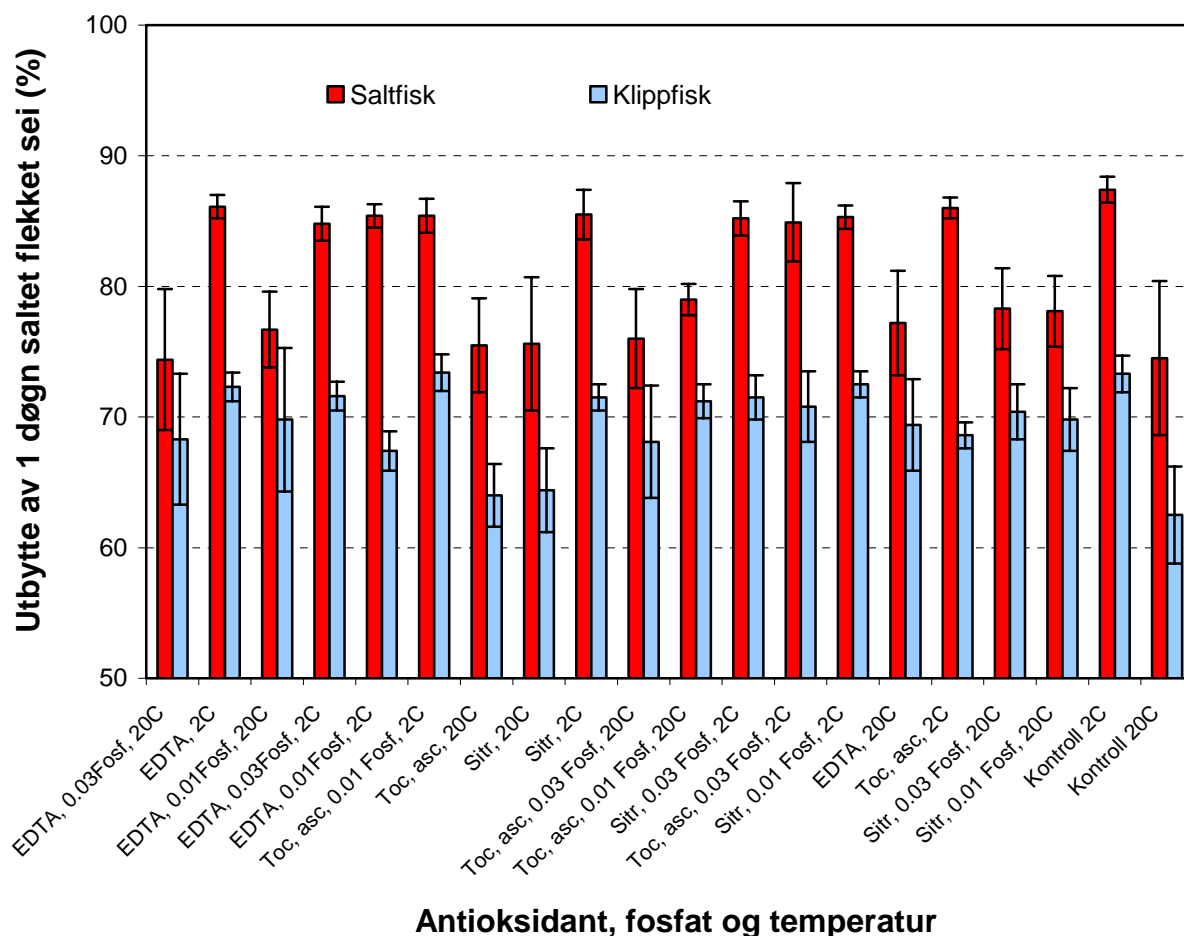


Figur 1. Vektutbyttet som saltfisk og klippfisk for flekket sei i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for  $N=20$  fersk sei i hver forsøksserie.

I figur 3 ser vi at det kun var salttemperaturen av forsøksvariablene som hadde signifikant betydning for vektutbyttet ( $p > 0.05$ ) som saltfisk. Vi så en tendens til at vektutbyttet ble høyere ved bruk av tocoferol + ascorbat i saltet enn ved tilsetning av sitronsyre og EDTA, men den var altså ikke signifikant ( $p > 0.05$ ).

### 6.1.2 Vektutbytte som saltfisk og klippfisk fra fryst råstoff

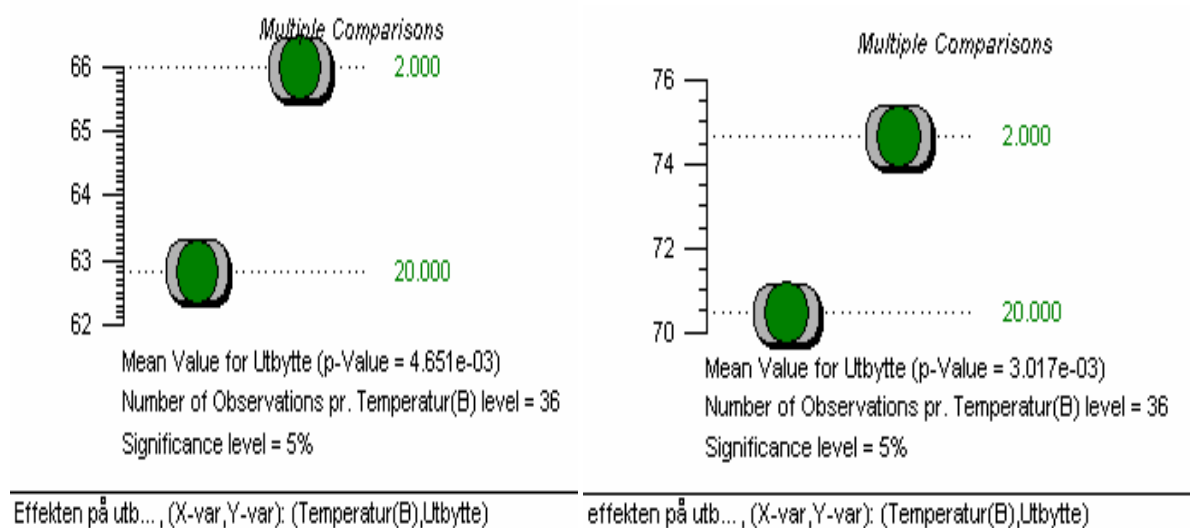
I figur 2 finner vi resultatene for vektutbyttet som henholdsvis saltfisk og klippfisk når man brukte fryst råstoff (3 uker ved  $-25^{\circ}\text{C}$ ) i framstillingen.



Figur 2. Vektutbyttet som saltfisk og klippfisk for flekket sei i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=20 fryst sei i hver forsøksserie.

Ved en feiltagelse mottok vi 1 døgn saltet sei i stedet for ubehandlet flekket sei fra den kommersielle saltfiskprodusenten som vi leide inn til å utføre flekkingen av det fryste seiråstoffet. Vektutbyttet som saltfisk og klippfisk er beregnet ut fra startvekten til fisken etter 1 døgn salting og utbyttetallene ble dermed 5-10 % høyere enn ved bruk av ferskt råstoff. Vi kan dessverre ikke sammenligne verdiene for ferskt og fryst råstoff med hverandre. Figur 3

viser at saltfiskutbyttet ble 4% høyere ved salting ved 2°C enn ved 20°C relativt uavhengig av antioksidanttypen og fosfatkonsentrasjonen i saltet. Etter tørking fram til klippfisk ble utbyttet relativt likt for de fleste forsøksgruppene, med unntak av fisken som ble saltet med tocoferol + ascorbat og sitronsyre i saltet ved 20°C. Verken antioksidant typen eller fosfatkonsentrasjonen hadde statistisk signifikante effekter på saltfiskutbyttet ( $p > 0.05$ ). Effektene av temperaturen på vektutbyttet til saltfisk fra henholdsvis ferskt og fryst råstoff er oppsummert i plottene i figur 3.



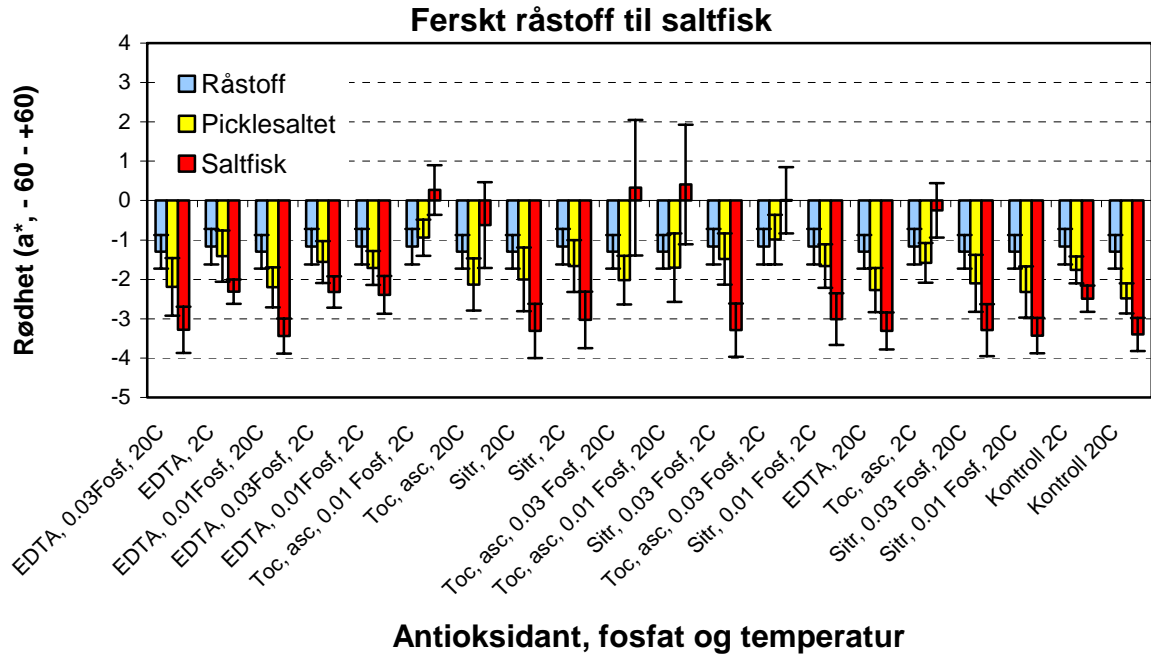
Figur 3. Effekten av produksjonstemperaturen ( 2 og 20°C) på vektutbytte som saltfisk framstilt fra henholdsvis ferskt (venstre plott) og fra fryst seiråstoff (høyre plott) fra 2 veis variansanalyse (ANOVA).

Lav produksjonstemperatur (2°C) ga gjennomsnittlig 3-4% høyere saltfiskutbytte enn ved høy temperatur (20°C), uavhengig av råstofftypen som ble brukt, jfr. figur 3. Resultatene i figur 3 viser dessuten at effekten av temperaturen på saltfiskutbyttet, var noe større på fryst (ca. 4% forskjell i utbyttet) enn på ferskt råstoff (ca. 3% forskjell i utbyttet).

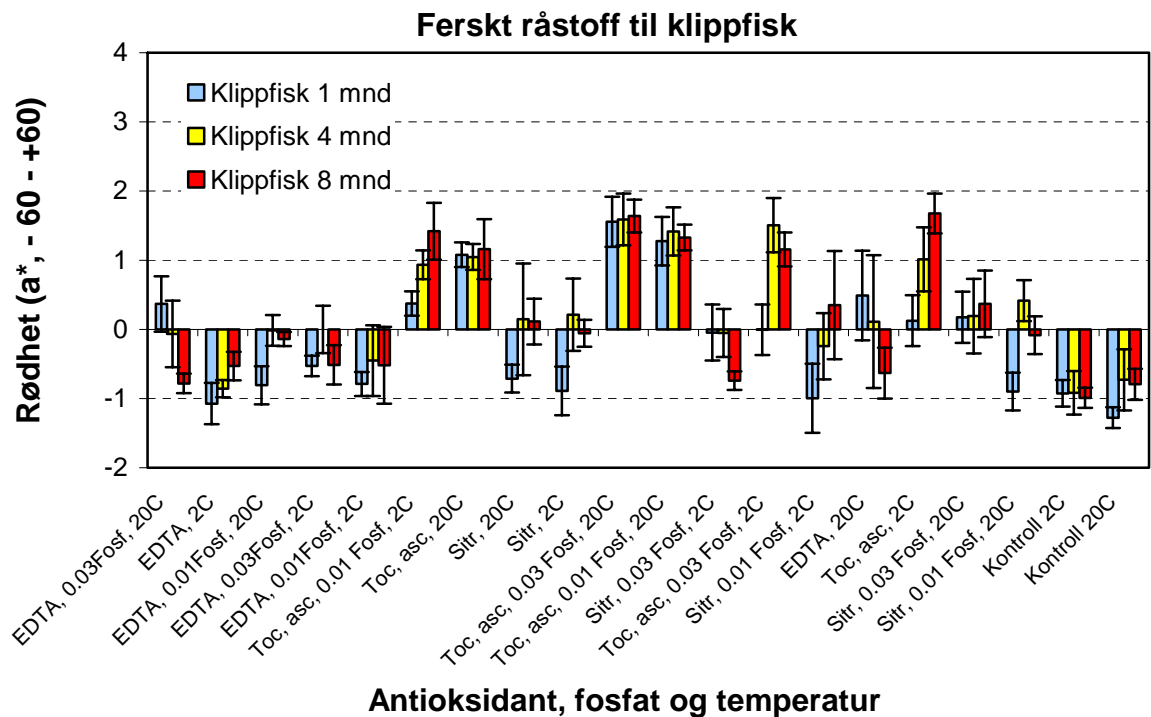
## 6.2 Instrumentelle fargeverdier

Som kjent er fargen på klippfisk avgjørende for prisen på produktet og hovedårsaken til etableringen av prosjektet. Resultatene fra de instrumentelle fargemålingene på hel saltfisk og på homogeniserte klippfiskprøver er presentert i rekkefølgen rødhet ( $a^*$ ), lyshet ( $L^*$ ) og gulhet ( $b^*$ ) for henholdsvis ferskt og fryst råstoff. Når det gjelder designvariablene antioksidanttypen, fosfatkonsentrasjonen og saltetemperaturen, var det kun antioksidanttypen som hadde statistisk signifikante effekter ( $p < 0,05$ ) på fargen til saltfisk og klippfisk. Fargeendringene på en 1 enhet eller større i  $a^*$ ,  $L^*$  og  $b^*$ , var tilstrekkelige til at de kunne observeres visuelt. Økende  $a^*$ -,  $L^*$ - og  $b^*$ - verdier betyr henholdsvis økende rødhet, lyshet og gulhet på fisken.

## 6.2.1 Instrumentell rødhet, $a^*$ , saltfisk og klippfisk



Figur 4. Instrumentell rødhet ( $a^*$ ) målt på hel saltfisk (flekken) i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=20 fersk sei i hver forsøksserie.



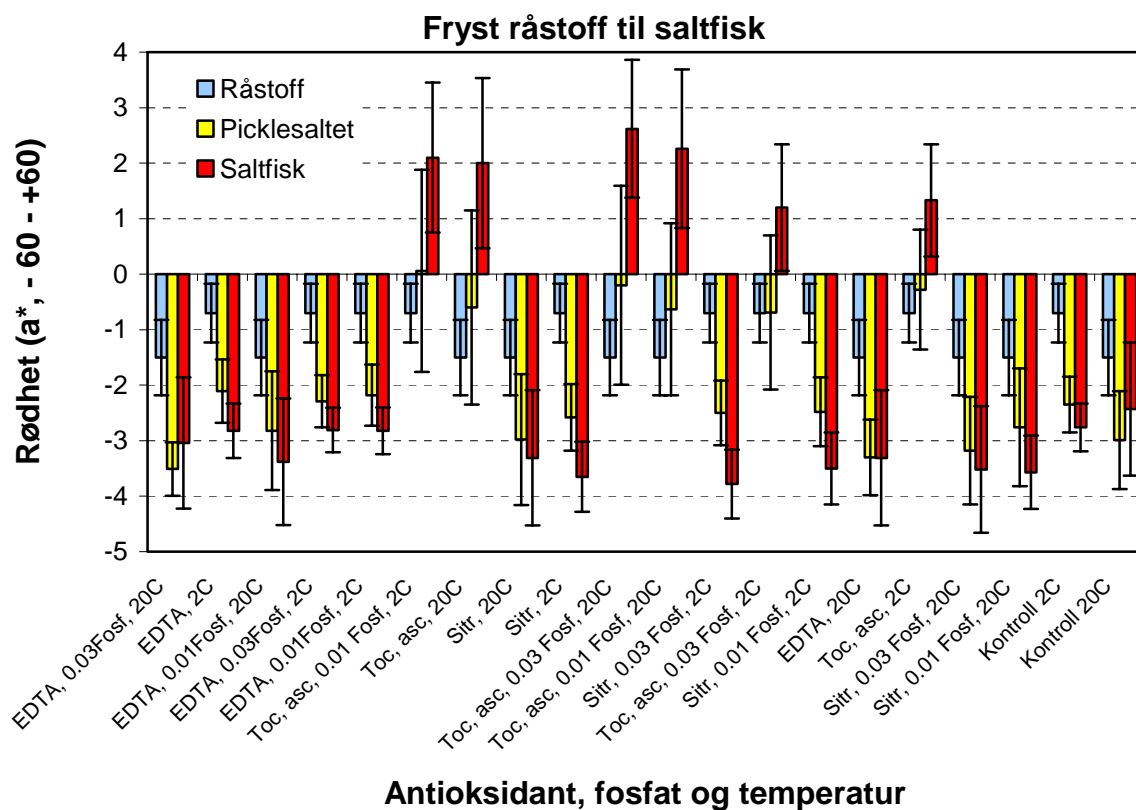
Figur 5. Instrumentell rødhet ( $a^*$ ) målt på homogeniserte klippfiskprøver i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte og hvor klippfisk ble kjølelagret i 8 måneder. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=5 fersk sei i hver forsøksserie.



Figur 4 viser at når tocoferol + ascorbat ble tilsatt saltet, økte  $a^*$ -verdien (rødheten) til saltfisken mens den derimot avtok når sitronsyre og EDTA ble brukt. Forskjellene i rødhet kunne tydelig observeres visuelt allerede etter 5 døgns picklesalting.

Rødheten til saltfisken etter tørking fram til klippfisk og under 8 måneders kjølelagring går fram av figur 5. Når tocoferol + ascorbat var tilsatt saltet, økte rødfargen ytterligere etter tørking av saltfisken fram til klippfisk og under kjølelagringsperioden. Sitronsyre og EDTA i saltet derimot, fikk ikke samme klare effekt på rødfargen til klippfisken under kjølelagringen.

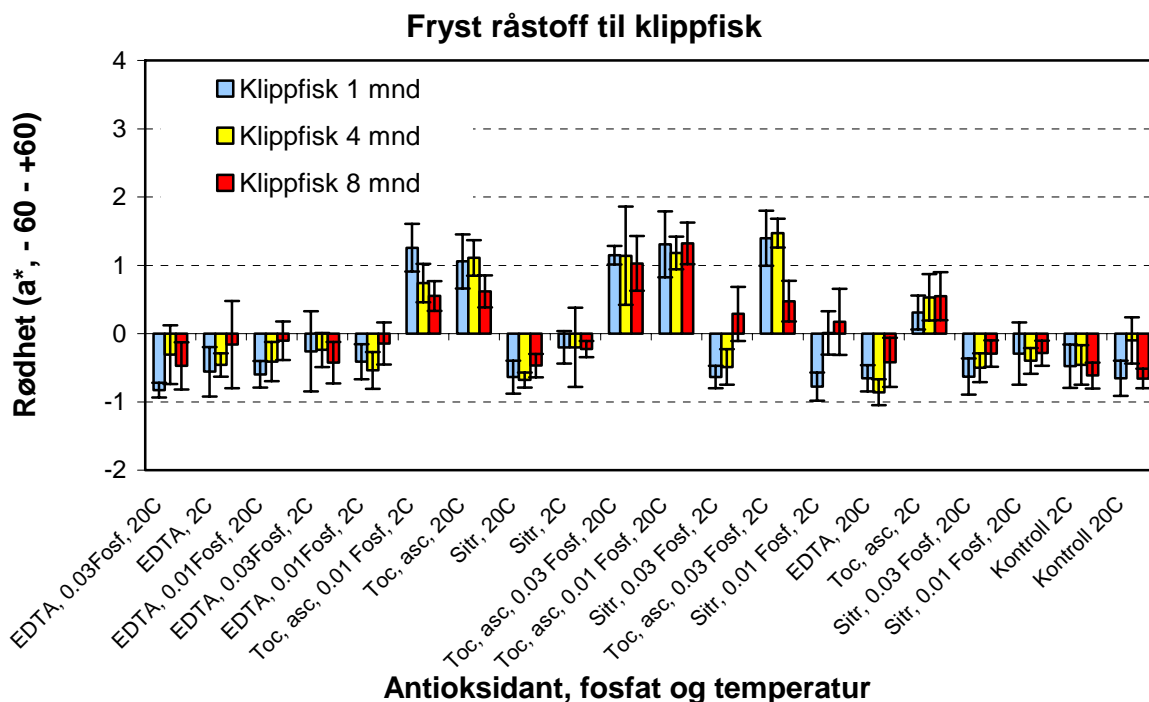
I figur 6 ser vi rødheten,  $a^*$ -verdiene, til saltfisken framstilt fra fryst seiråstoff. Effekten av antioksidanttypen på rødfargen var omtrent den samme på klippfisken fra fryst og ferskt råstoff. Men økningen i rødheten ble enda kraftigere på fryst råstoff som følge av tocoferol + ascorbat i saltet. Resultatene fra målingene utført på saltfisken etter tørking fram til klippfisk og 8 måneders kjølelagring er vist i figur 7. Vi ser her at bruk av tocoferol + ascorbat i saltet ga små forandringer av rødheten fra saltfisk til klippfisk og i kjølelagringsperioden. Sitronsyre og EDTA derimot, ga en svak økning av rødheten fra saltfisk til klippfisk og under kjølelagringen.



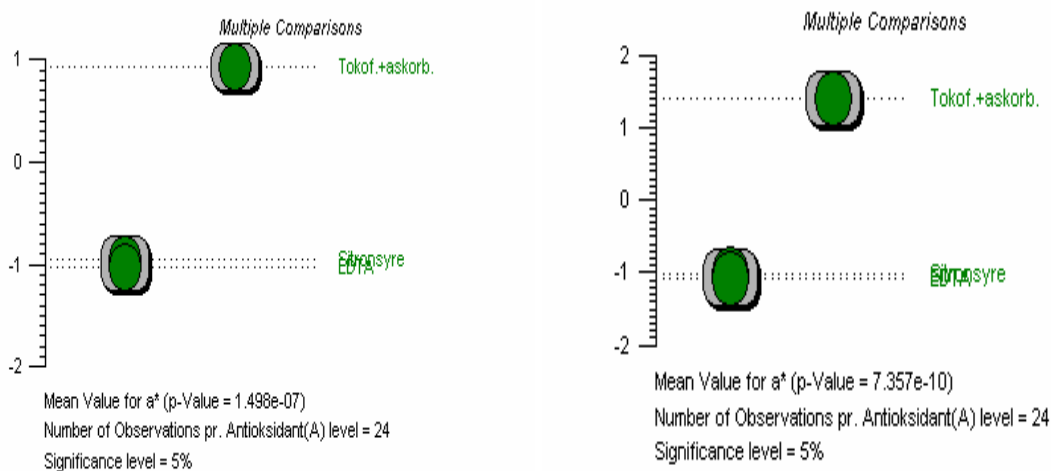
### Antioksidant, fosfat og temperatur

Figur 6. Instrumentell rødhet ( $a^*$ ) målt på hel saltfisk (flekset) i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=20 fryst sei i hver forsøksserie.

Antioksidantenes effekter på rødfargen til klippfisken fra henholdsvis ferskt og fryst råstoff (ANOVA variansanalyse) går fram av plottene i figur 8. Plottene for ferskt og fryst råstoff i figur 8, viser at effektene av ulike antioksidanter på rødfargen til klippfisken, var mest signifikant ved bruk av fryst råstoff i prosessen.



Figur 7. Instrumentell rødhets ( $a^*$ ) målt på homogeniserte klippfiskprøver i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=5 fryst sei i hver forsøksserie.



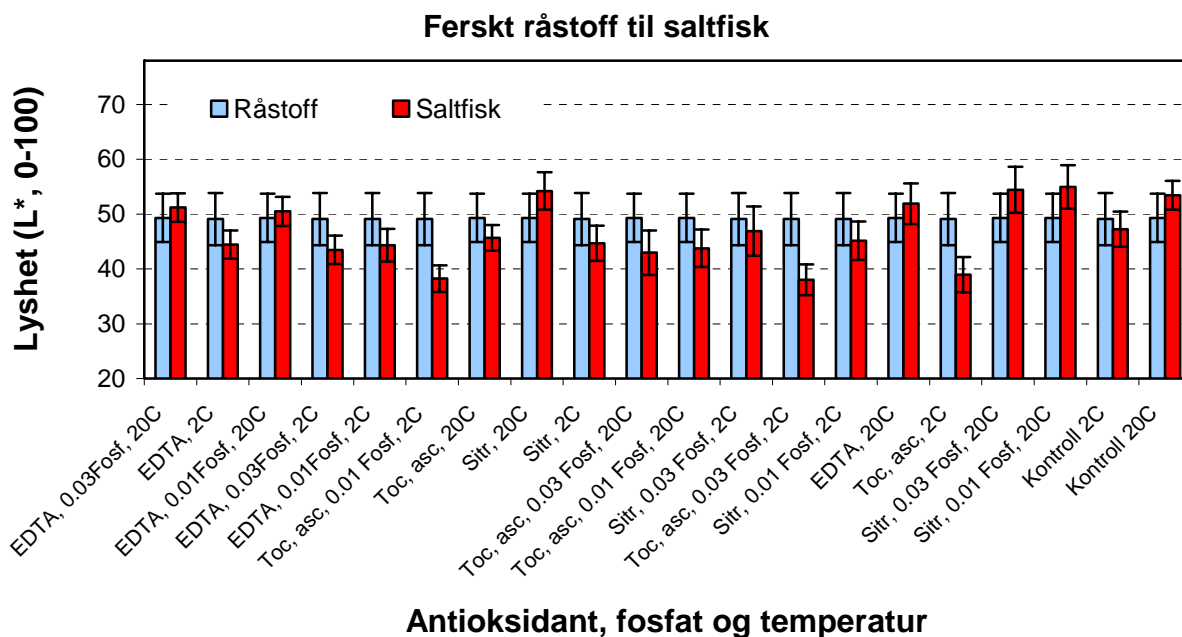
Effekten på  $a, \dots$ , (X-var, Y-var): (Antioksidant(A),  $a^*$ )

effekt på  $a, \text{ fr} \dots$ , (X-var, Y-var): (Antioksidant(A),  $a^*$ )

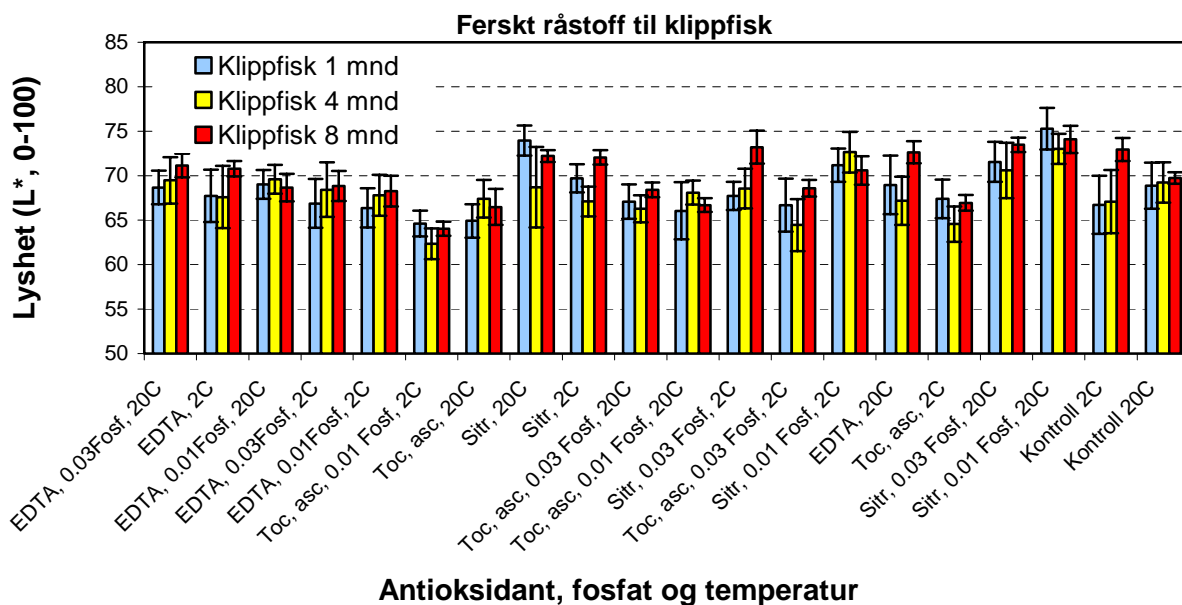
Figur 8. Effektene av antioksidanttypen på rødfargen,  $a^*$ -verdien, til klippfisken fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst-tint råstoff i plottet til høyre gjennom 8 måneders kjølelagring. Resultat fra toveis variansanalyse.

## 6.2.2 Instrumentell lyshet, L\*, saltfisk og klippfisk

Lysheten, L\*-verdien, til saltfisk og klippfisk framstilt fra ferskt seiråstoff er vist henholdsvis i figur 9 og 10.

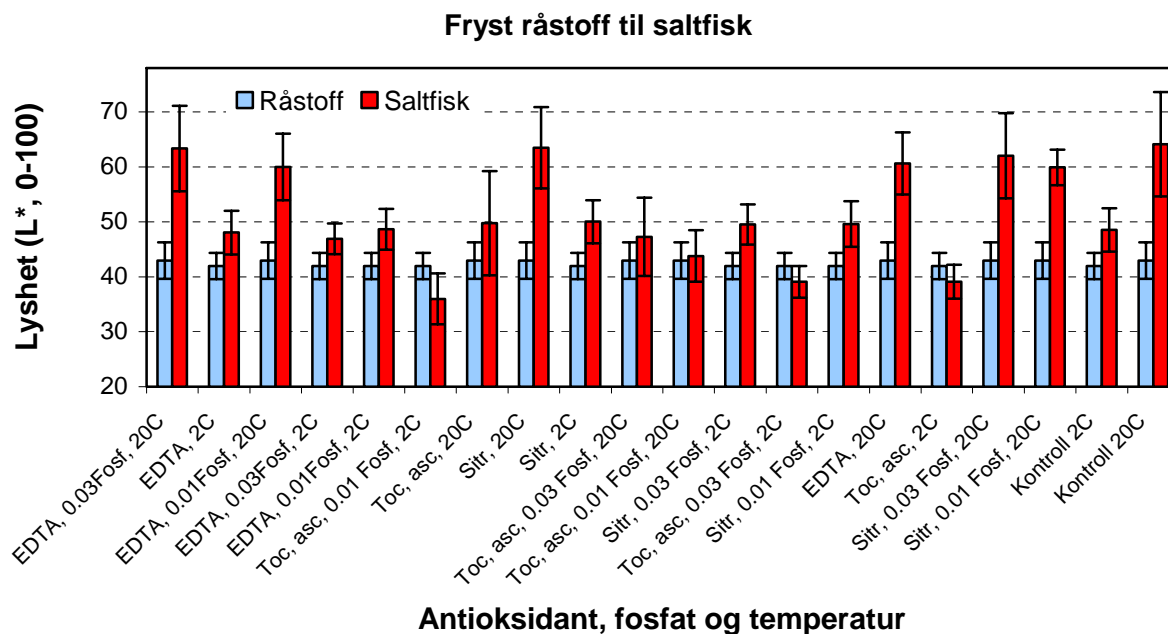


Figur 9. Instrumentell lyshet (L\*) målt på hel saltfisk (flekkt) i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=20 fersk sei i hver forsøksserie.

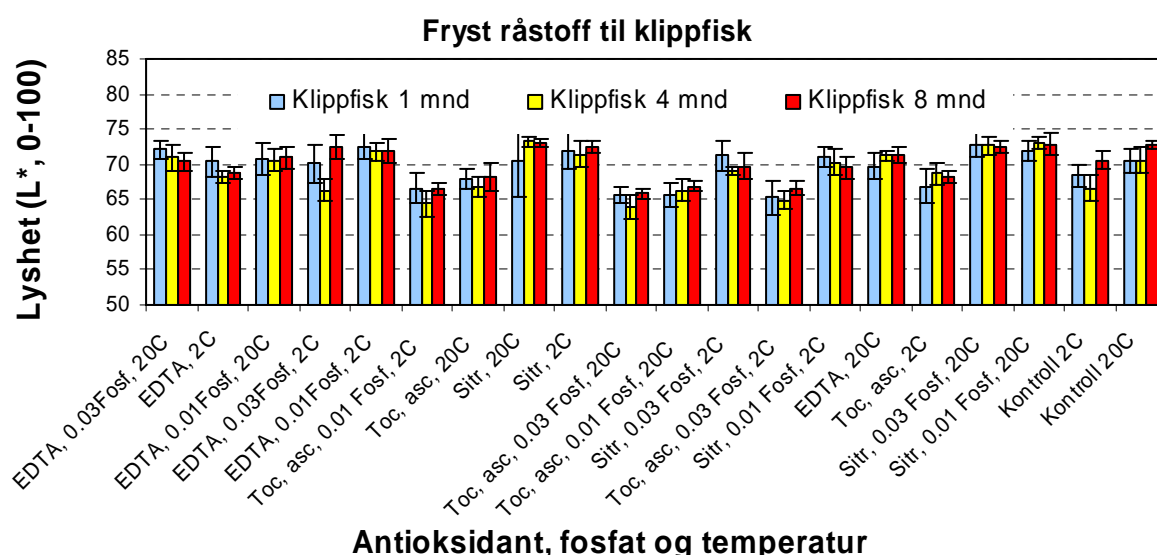


Figur 10. Instrumentell lyshet (L\*) målt på homogeniserte klippfiskprøver i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte og hvor klippfisk ble kjølelagret i 8 måneder. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=5 fersk sei i hver forsøksserie.

Figurene 9 og 10 viser at L\* verdien ble høyest for saltfisk og klippfisk fra ferskt råstoff produsert med sitronsyre i saltet ved 20°C men ikke vesentlig høyere enn for kontrollfisken fra 20°C. Dessuten ser vi at tocoferol + ascorbat + 0.01/0.05% fosfat i saltet ved 2°C, resulterte i en mørk saltfisk og klippfisk. Fisken saltet med EDTA oppnådde en litt lavere lyshet enn lysheten ved bruk av sitronsyre.

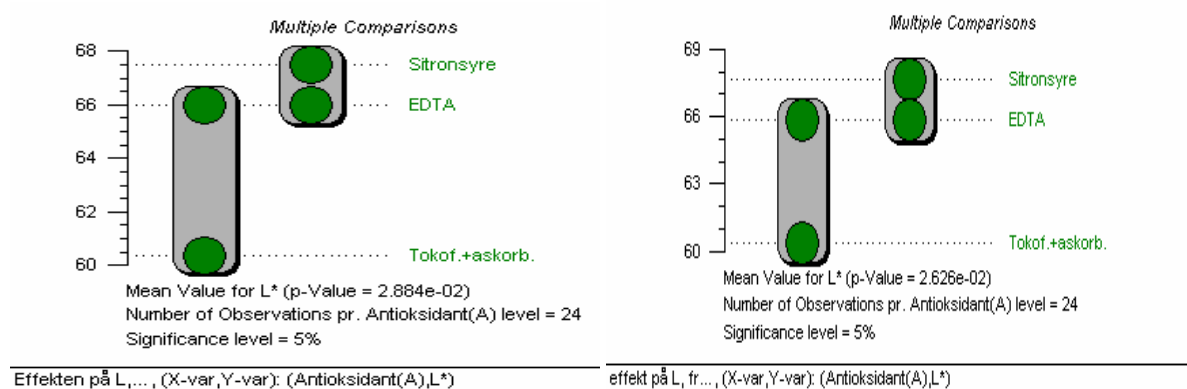


Figur 11. Instrumentell lyshet (L\*) målt på hel saltfisk (flekken) i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=20 fersk sei i hver forsøks-serie.



Figur 12. Instrumentell lyshet (L\*) målt på homogeniserte klippfiskprøver i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte og hvor klippfisken ble kjølelagret i 8 måneder. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N=5 fersk sei i hver forsøks-serie.

Også ved bruk av fryst råstoff ble det påvist at antioksidant typen hadde statistisk signifikante effekter ( $p < 0.05$ ) på lysheten,  $L^*$ , til saltfisken og klippfisken. Effektene på lysheten til klippfisken framstilt fra henholdsvis ferskt og fryst råstoff (ANOVA variansanalyse) er plottet i figur 13.

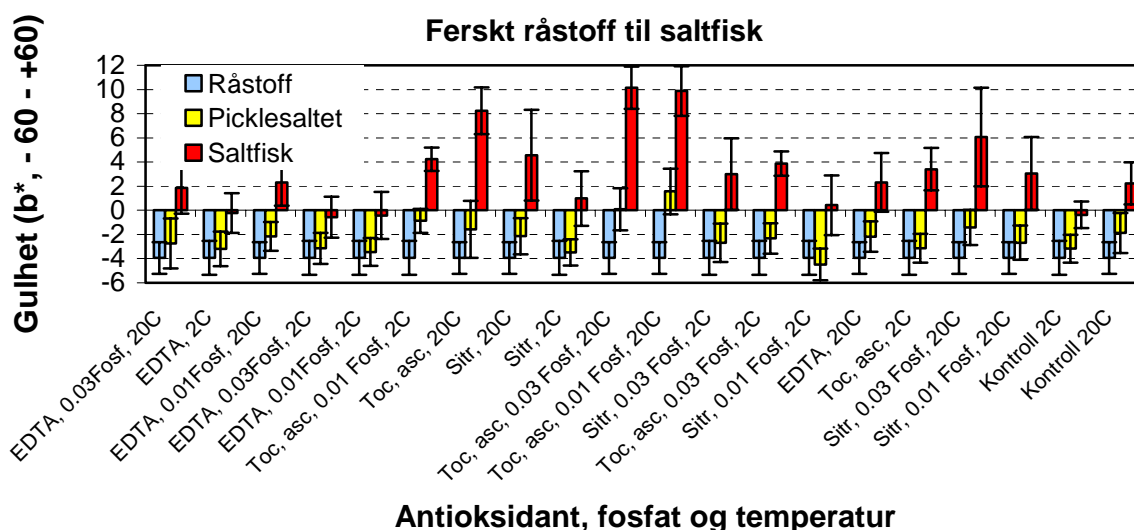


Figur 13. Effektene av antioksidanttypen på lysheten,  $L^*$ -verdien, til klippfisken framstilt fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst råstoff i plottet til høyre under 8 måneders kjølelagring. Resultatet er framkommet ved hjelp av 2-veis variansanalyse (ANOVA).

Ut fra plottet i figur 13 ser vi at antioksidant effekten på lysheten til klippfisken var relativt like for ferskt og fryst råstoff. Ingen av forsøkene ga en klippfisk som var vesentlig lysere enn kontrollen.

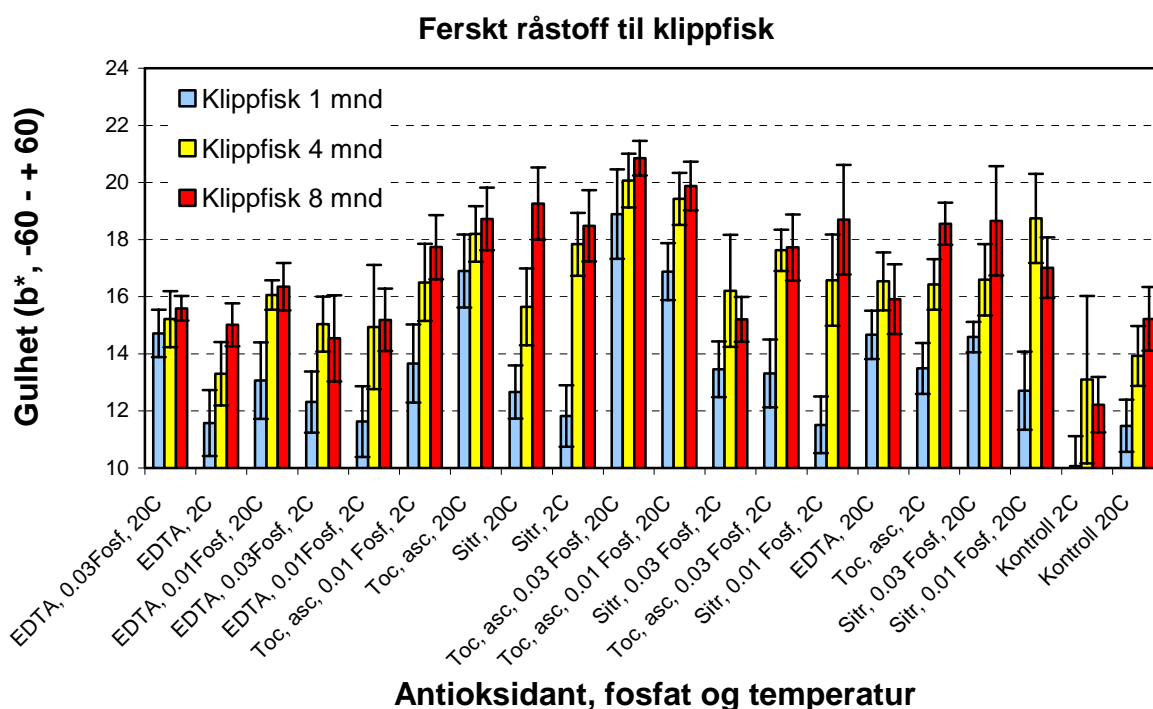
### 6.2.3 Instrumentell gulhet, $b^*$ , saltfisk og klippfisk

Gulheten til hel flekket sei fra ferskt råstoff til saltmoden fisk og til homogeniserte klippfiskprøver gjennom 8 måneders kjølelagring, er framstilt henholdsvis i figur 14 og 15.



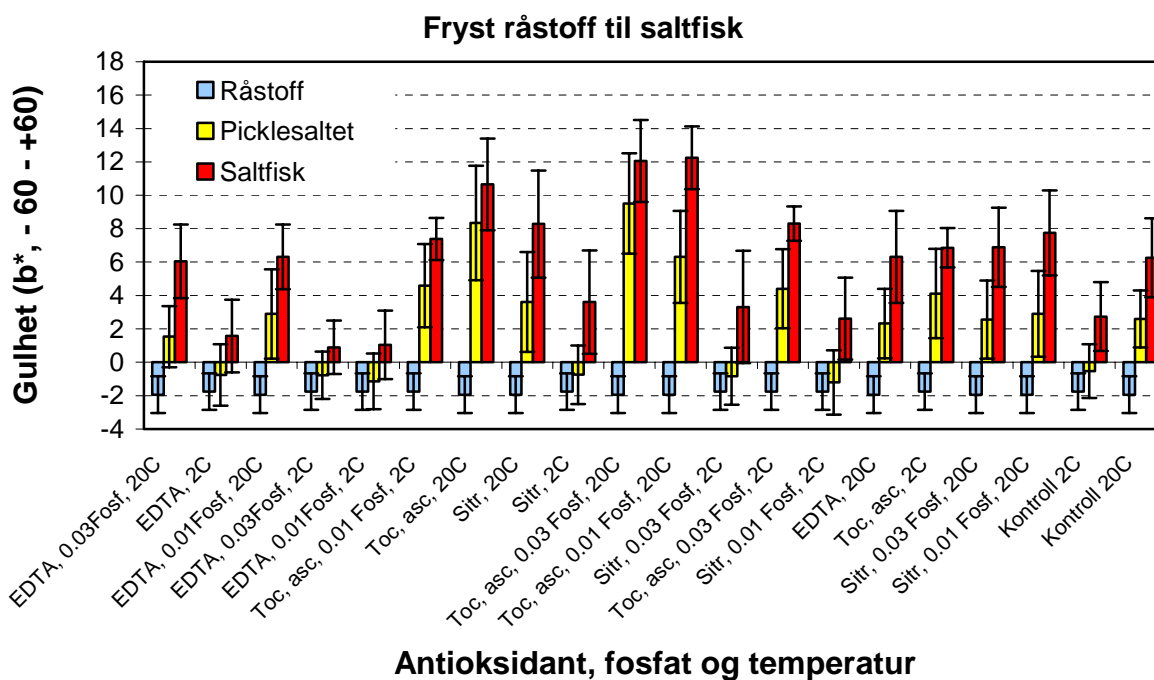
Figur 14. Instrumentell gulhet ( $b^*$ ) målt på hel saltfisk (flekke) i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for  $N=20$  fersk sei i hver forsøks-serie.

Vi ser av figur 14 at gulheten til saltfisk framstilt med tocoferol + ascorbat ble kraftigere i løpet av salteprosessen enn ved bruk av sitronsyre og EDTA i saltet. Forskjellene i gulheten til saltfisk var svært tydelige visuelt. Etter tørking fram til klippfisk, økte gulheten til fisken for alle forsøksseriene, jfr. figur 15. Den største økningen i gulheten fant sted hos klippfisken framstilt med tocoferol + ascorbat i saltet som ble statistisk signifikant ( $p < 0.05$ ) høyere enn for klippfisken saltet med sitronsyre og EDTA.

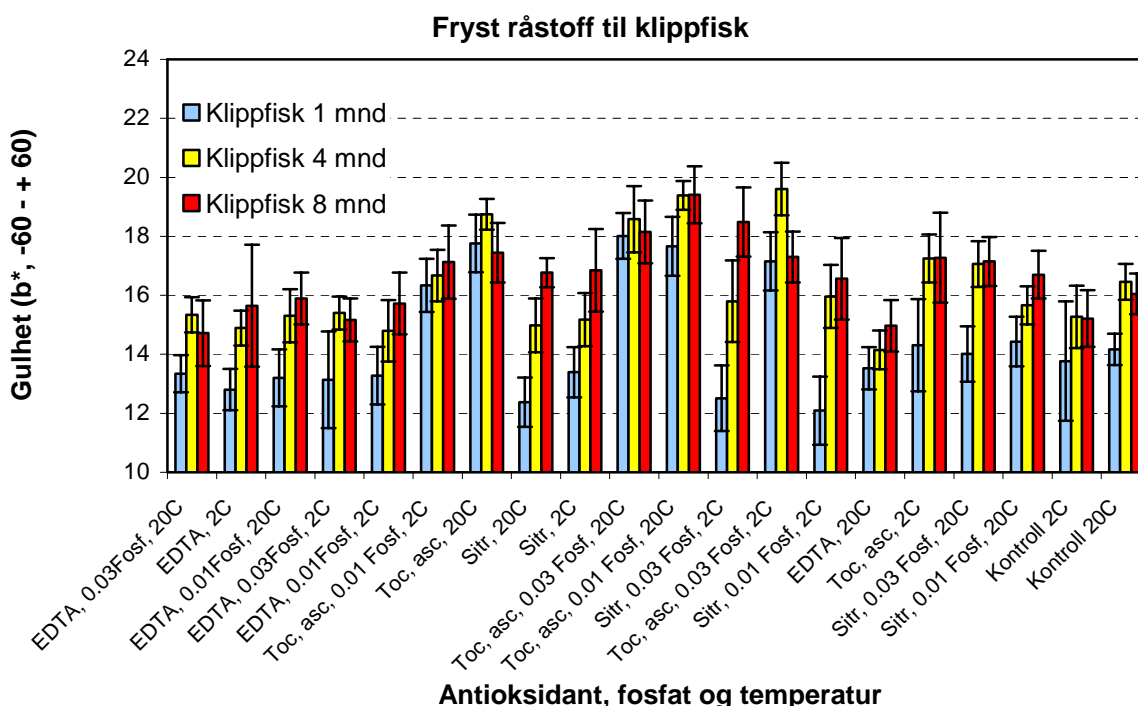


Figur 15. Instrumentell gulhet ( $b^*$ ) målt på homogeniserte klippfiskprøver i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og saltetemperatur varierte og hvor klippfisken ble kjølelagret i 8 måneder. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for  $N=5$  fersk sei i hver forsøksserie.

Gulheten til hel sei fra fryst råstoff i saltmoden fisk og til homogeniserte klippfiskprøver fra 8 måneders kjølelagring, er framstilt henholdsvis i figur 16 og 17. Figur 16 viser at gulheten til saltfisk økte dramatisk når tocoferol og ascorbat var tilsatt i saltet. Sitronsyre i saltet ga en medium gulfarget saltfisk sammenlignet med kontrollgruppene mens EDTA i saltet ga den minst gulfargede fisken, som var mindre gul enn kontrollfisken. Etter tørking fram til klippfisk og gjennom 8 måneders kjølelagring økte generelt gulfargen til samtlige forsøksfisk, som vist i figur 17. Også bruk av fryst råstoff førte til svært gul klippfisk ved bruk av tocoferol + ascorbat i saltet.

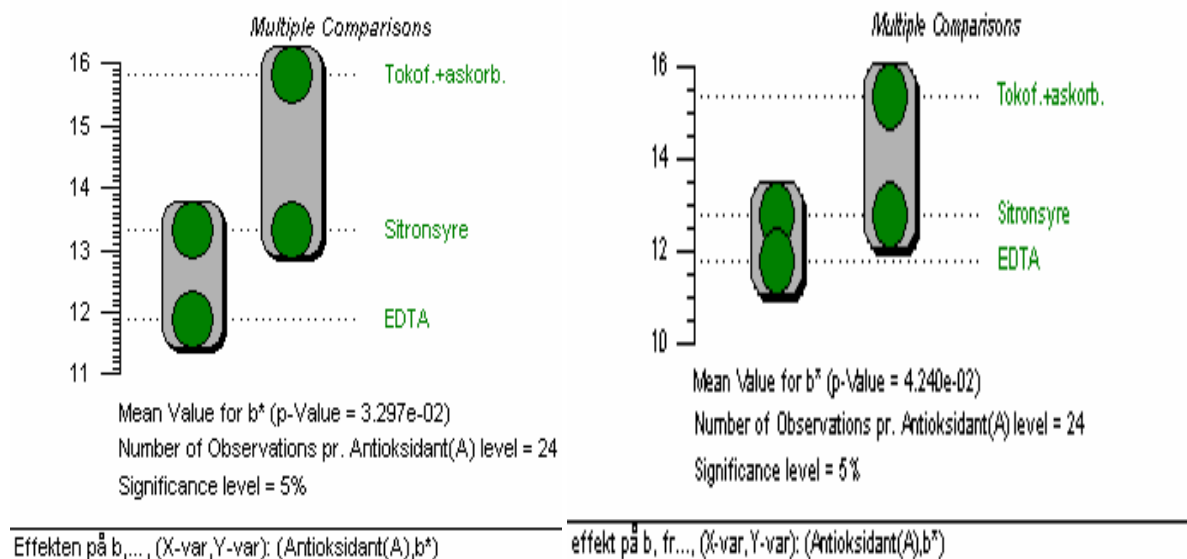


Figur 16. Instrumentell gulhet ( $b^*$ ) målt på hel saltfisk (flekke) i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for  $N=20$  fryst sei i hver forsøksserie.



Figur 17. Instrumentell gulhet ( $b^*$ ) målt på homogeniserte klippfiskprøver i fullfaktorforsøket hvor antioksidanttype, fosfatkonsentrasjon og salttemperatur varierte og hvor klippfisk ble kjølelagret i 8 måneder. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for  $N=5$  fryst sei i hver forsøksserie

Resultatene fra 2-veis variansanalyse av forsøksvariablene med hensyn på effektene på  $b^*$ -verdiene til klippfisk fra fersk og fryst sei gjennom 8 måneders kjølelagring, er oppsummert i plottene i figur 18. Samtlige klippfisk framstilt med antioksidanttilsetning fikk statistisk signifikant ( $p < 0.05$ ) gulere farge enn kontrollgruppen  $2^\circ\text{C}$ .



Figur 18. Effektene av antioksidanttypen på gulheten,  $b^*$ -verdien, til klippfisk fra ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst råstoff til høyre under 8 måneders kjølelagring framkommet ved hjelp av 2-veis variansanalyse (ANOVA).

I figur 18 ser vi at effektene av antioksidant typen på guldfargen til klippfisk i løpet av 8 måneders kjølelagring var uavhengig av råstoff typen.

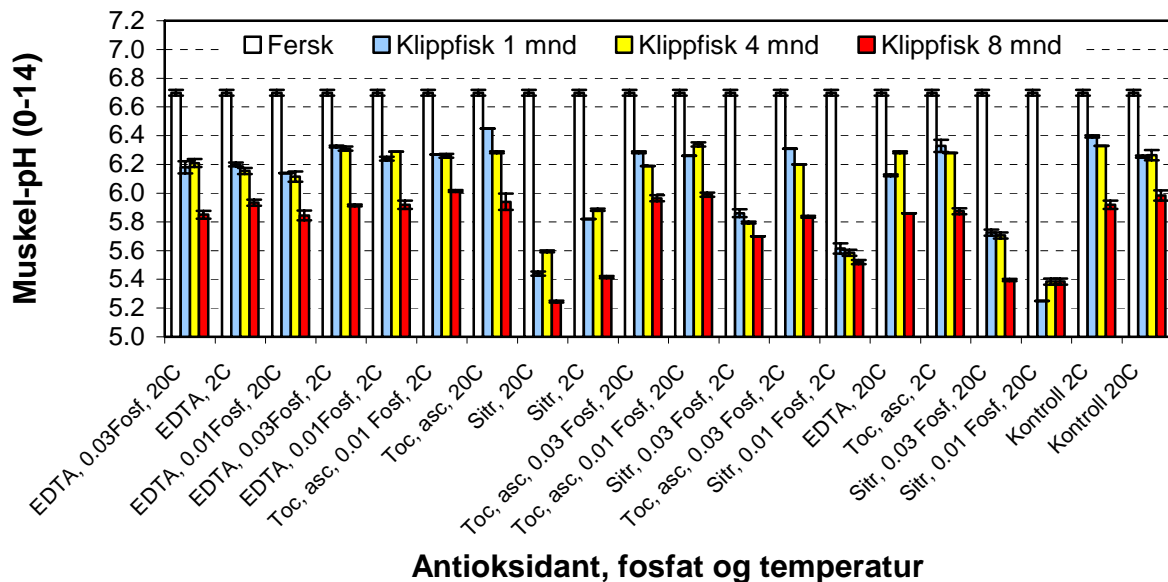
### 6.3 Muskel-pH (surhet) til klippfisk

Muskel-pH er en viktig parameter fordi den påvirker farge, filetspalting, smak, konsistens, saftighet og lagringsstabilitet hos produktet. Normal muskel-pH hos sei som har passert dødsstivhet, varierer fra 6.3-7.0 avhengig av fiskens næringsstatus og grad av kjønnsmodning. Filetspaltingen og væskelippet fra fileten øker jo nærmere muskel-pH ligger det isoelektriske punktet ( $\sim 5.2$ ) til muskelproteinene (Morrissey *et al.*, 1987).

#### 6.3.1 Muskel-pH i klippfisk fra ferskt råstoff

Muskel-pH verdiene målt i usaltet fiskekjøtt og i homogeniserte klippfiskprøver fra ferskt seiråstoff gjennom 8 måneders kjølelagring er framstilt i figur 19. Figur 19 viser at pH til fiskekjøttet gikk ned i løpet av framstillingsprosessen fra ferskt råstoff til klippfisk og under kjølelagringsperioden for alle forsøksseriene. Nedgangen var imidlertid klart avhengig av antioksidant typen som var tilsatt i saltet. Ved bruk av sitronsyre, sank pH dramatisk med 1.0-1.4 pH-enheter fra fersk fisk til klippfisk, mens ved bruk av tokoferol + ascorbat og EDTA var pH-reduksjonen på 0.3-0.5 pH-enheter. Gjennom kjølelagringen av klippfisk sank pH ytterligere ca. 0.2-0.5 pH enheter for de fleste av forsøksgruppene, med unntak av klippfisk saltet med sitronsyre + 0.01%fosfat ved  $20^\circ\text{C}$ , hvor pH derimot økte svakt.

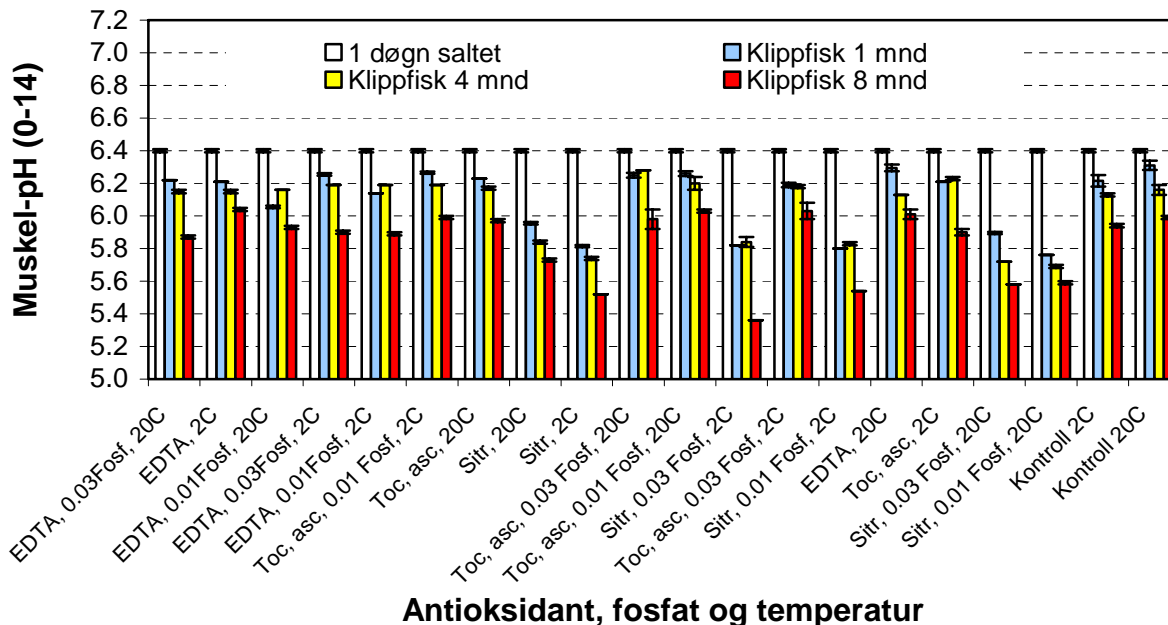




Figur 19. Muskel-pH målt på homogenisert usaltet fiskekjøtt og klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagering. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

### 6.3.2 Muskel-pH i klippfisk fra fryst råstoff

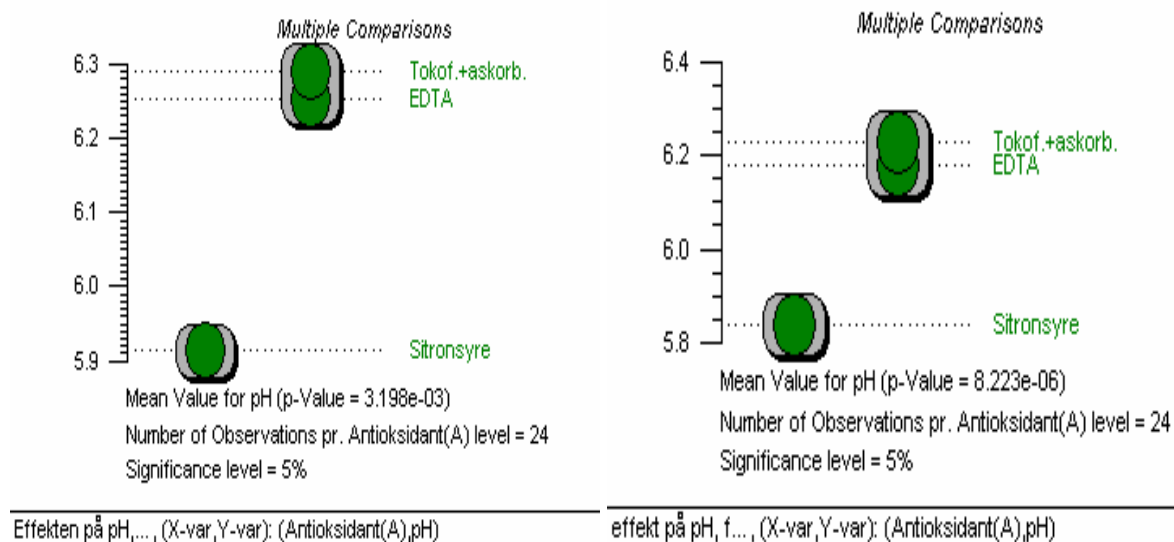
Muskel-pH verdiene målt i usaltet fiskekjøtt og i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst seiråstoff gjennom 8 måneders kjølelagering er framstilt i figur 20.



Figur 20. Muskel-pH målt på homogenisert usaltet fiskekjøtt og klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagering. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

Også ved salting av fryst råstoff, sank muskel-pH i løpet av prosessen fram til klippfisk og pH-reduksjonen var klart avhengig av antioksidant typen som ble brukt. pH falt mest i klippfisken saltet med sitronsyre, dvs. med 0.4-0.7 pH-enheter. For de øvrige forsøksgruppene sank pH med 0.1-0.3 pH-enheter fra 1 døgn saltet fisk til klippfisk. Videre gjennom kjølelagringsperioden sank pH i klippfisken fra samtlige forsøksserier. pH ble lavest ved bruk av sitronsyre i saltet som etter 8 måneders lagring hadde en pH-verdi på 0.5 pH enheter under kontroll gruppene.

Ved 2-veis variansanalyse ble det påvist at antioksidanttypen hadde statistisk signifikante effekter ( $p < 0.05$ ) på muskel-pH til klippfisken gjennom 8 måneders kjølelagring. Det ble ikke påvist tilsvarende for fosfatkonsentrasjonen og temperaturen, jfr. plottene i figur 21.



Figur 21. Effektene av antioksidanttypen på muskel-pH til klippfisken framstilt fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst-tint råstoff i plottet til høyre, gjennom 8 måneders kjølelagring. Effektene ble påvist ved hjelp av 2-veis variansanalyse.

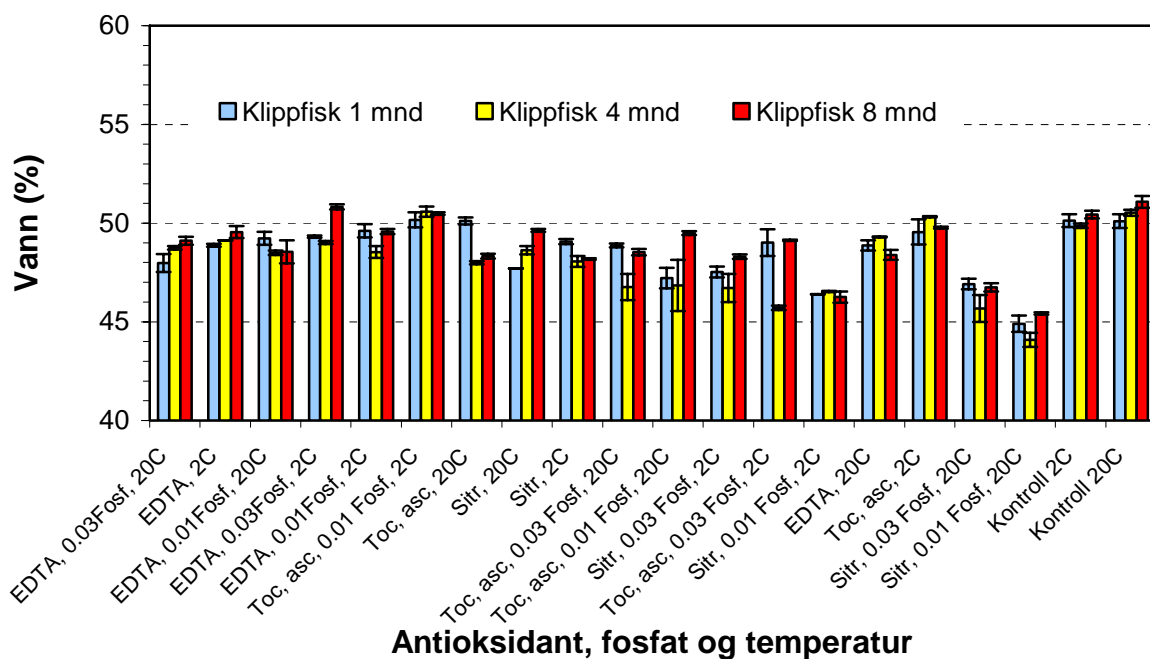
I figur 21 ser vi effektene av antioksidant typen på muskel-pH til klippfisken gjennom 8 måneders kjølelagring. Effektene var statistisk mer signifikante ved bruk av fryst enn ferskt råstoff i prosessen.

## 6.4 Vanninnhold i klippfisken

Vanninnholdet i klippfisken bør ligge på maksimalt 50% for å kunne tilfredsstille kravene til tørkegraden 7/8 tørr. Lagertørket klippfisk ligger normalt på 45% vann eller lavere.

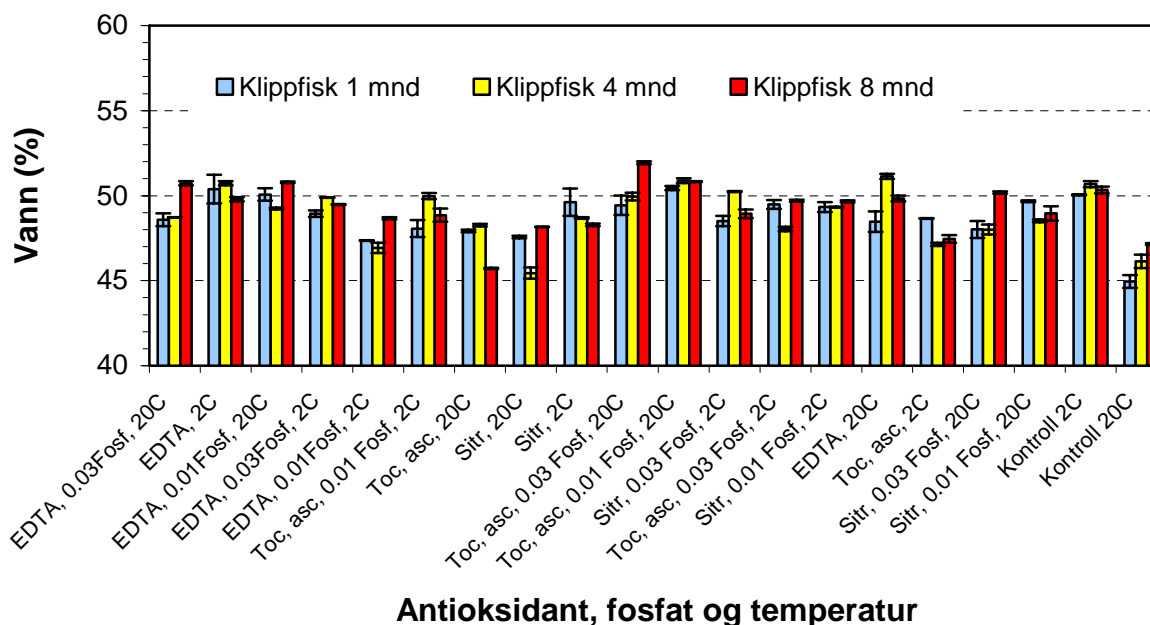
### 6.4.1 Vanninnhold i klippfisk fra ferskt råstoff

Figur 22 viser vanninnholdet til klippfisken produsert fra ferskt seiråstoff. Vi ser at vanninnholdet i klippfiskprøvene fra samtlige forsøksserier varierte fra 45-50% vann, dvs. hadde et akseptabelt vanninnhold i forhold til kravene for 7/8 tørr klippfisk. Det var en tendens til at vanninnholdet i klippfisken tilsatt antioksidant typen sitronsyre ble lavere enn ved bruk av tokoferol + ascorbat eller EDTA i saltet. Forskjellene i vanninnhold til klippfisken fra de ulike forsøksseriene, ble ikke påvist å være statistisk signifikante ( $p < 0.05$ ).



Figur 22. Vanninnholdet (%) målt i homogeniserte klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

#### 6.4.2 Vanninnhold i klippfisk fra fryst råstoff



Figur 23. Vanninnholdet (%) målt i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

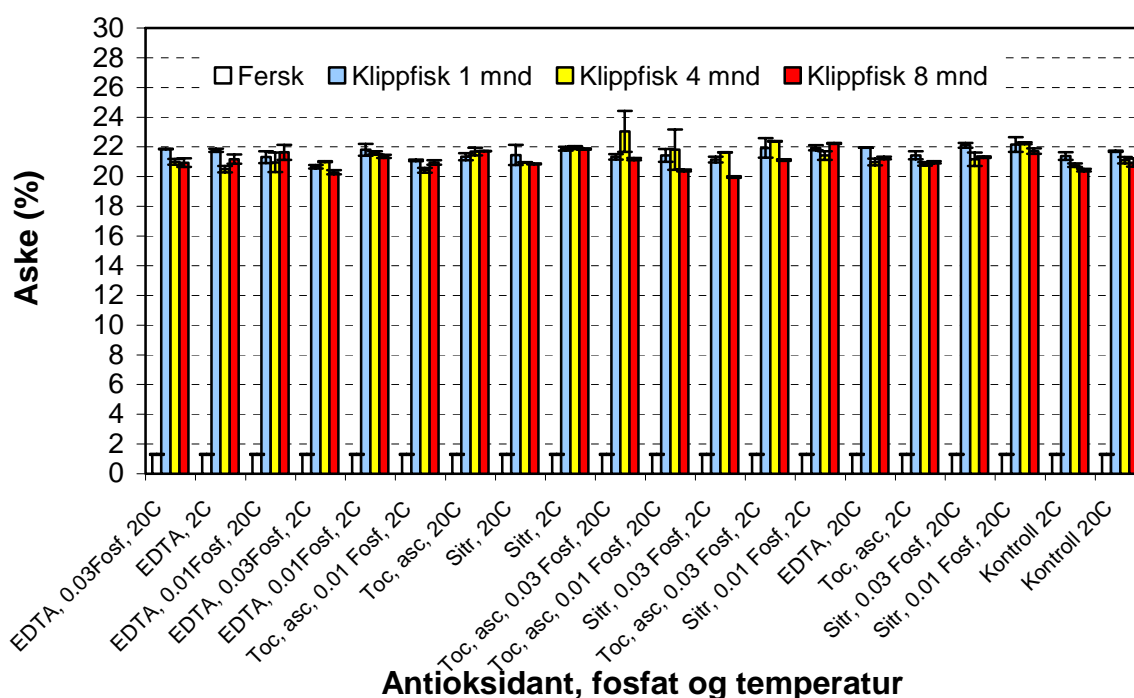
Figur 23 viser vanninnholdet til klippfisker produsert fra fryst seiråstoff. Vi ser at vanninnholdet i klippfiskprøvene fra samtlige forsøksserier varierte fra 45-52% vann. Forsøksserien saltet med tocoferol + ascorbat + 0.01/0.03% fosfat ved 20°C, hadde høyeste vanninnhold i klippfisker, dvs. 52% vann, etter 8 måneders kjølelagring. Ved bruk av EDTA + 0.01/0.03% fosfat, 20°C ble vanninnholdet 51% vann samt at kontrollgruppen, 2°C, også fikk litt mer enn 50% vann i klippfisker etter 8 måneders kjølelagring. Kravene for 7/8 tørr klippfisk var med andre ord ikke innfridd for disse forsøksseriene. Det var en tendens til at vanninnholdet i klippfisker tilsatt antioksidant typen sitronsyre ble lavere enn ved bruk av de andre antioksidant typene i saltet. Forskjellene i vanninnhold til klippfisker fra de ulike forsøksseriene (unntatt kontrollgruppene) framstilt fra fryst råstoff, ble heller ikke påvist å være statistisk signifikante ( $p < 0.05$ ).

## 6.5 Saltinnhold i klippfisk

For at klippfisker skal være en stabilt konservert matvare, bør saltinnholdet tilsvare mettet saltkonsentrasjon i fiskekjøttet, dvs. ca. 22-24% NaCl.

### 6.5.1 Saltinnhold i klippfisk fra ferskt råstoff

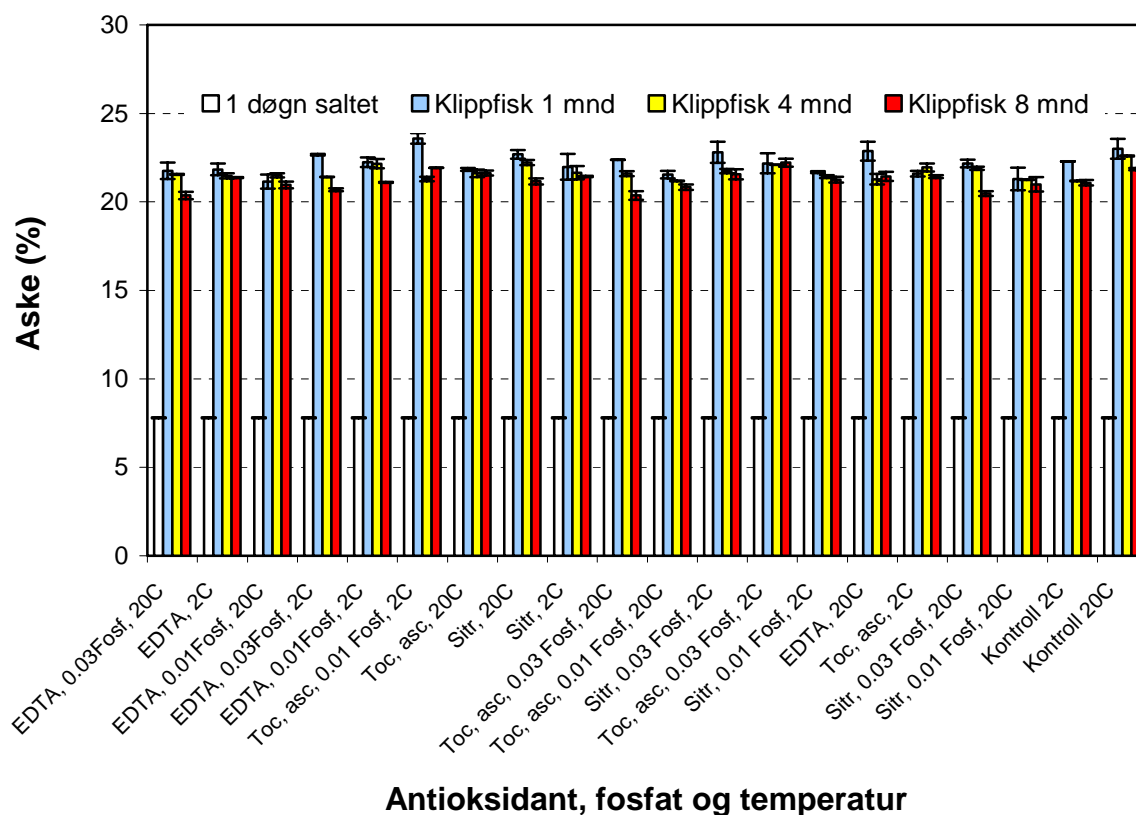
Resultatene fra forsøkene med bruk av ferskt råstoff i framstillingsprosessen er vist i figur 24. Saltinnholdet ble målt indirekte ved at askeinnholdet ble bestemt.



Figur 24. Saltinnholdet (aske %) målt i homogeniserte klippfiskprøver fra ferskt sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

I figur 24 ser vi at saltinnholdet lå som forventet på 22-24% i samtlige forsøksfisk produsert fra ferskt råstoff.

## 6.5.2 Saltinnhold i klippfisk fra fryst råstoff



Figur 25. Saltinnholdet (aske %) målt i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

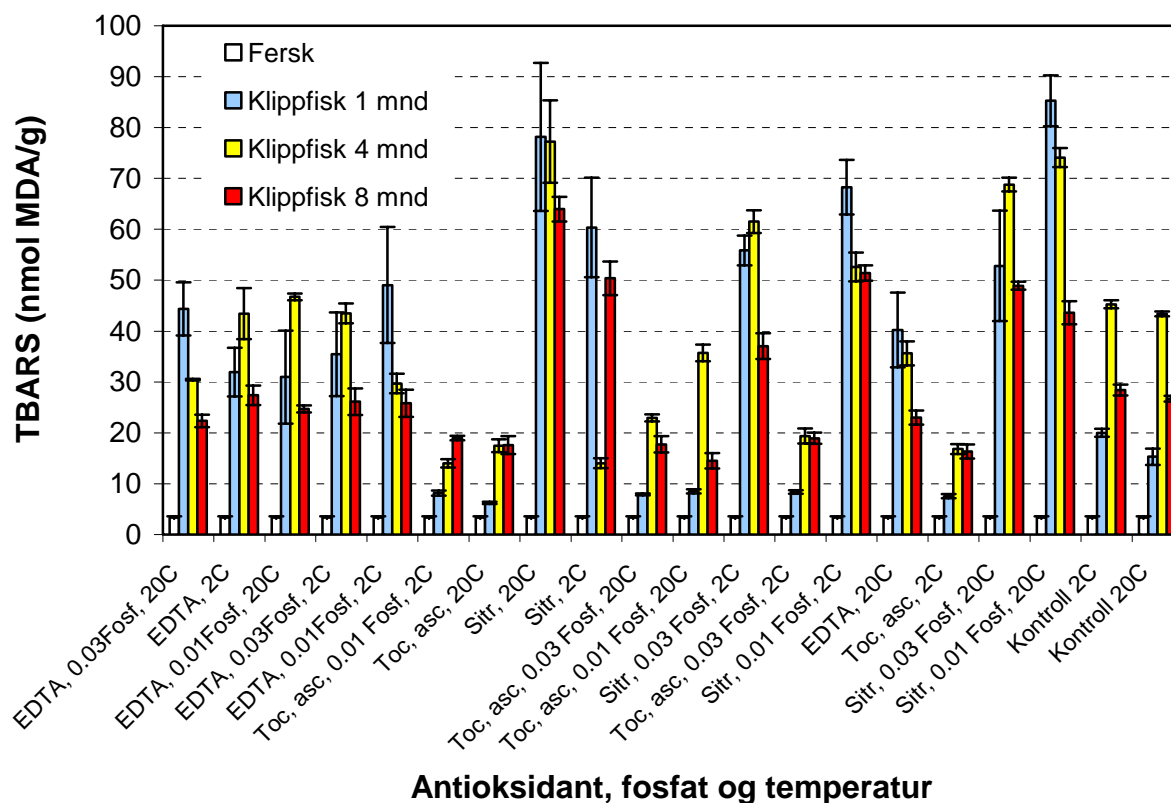
Også fryst råstoff resulterte i et saltinnhold som forventet i klippfisken. Figur 25 viser dessuten at 1 døgn salting av flekket fryst seiråstoff, resulterte i et saltinnhold på ca. 7 % i fiskekjøttet.

## 6.6 Kjemisk målt harskning (TBARS-verdier)

### 6.6.1 TBARS-verdi til klippfisk fra ferskt råstoff

Figur 26. viser TBARS-verdiene til klippfisken produsert fra ferskt råstoff med varierende antioksidant type, temperatur, og fosfatkonsentrasjon under saltingen. TBARS verdiene økte for de fleste forsøksseriene fra ferskt råstoff og fram til klippfisk etter 4 måneders kjølelagring. Deretter avtok TBARS verdiene fram til 8 måneders lagring. Klippfisken framstilt med tocoferol + ascorbat i saltet ble klart mindre harsk enn klippfisken framstilt med sitronsyre og EDTA tilsetninger i saltet. Den ble i tillegg mindre harsk enn klippfisken i kontrollforsøkene. Tocoferol + ascorbat i saltet viste størst hemmende effekt på harskning i

klippfisken. Sitronsyren derimot, økte harskningsgraden til klippfisken sammenlignet med kontrollforsøkene.

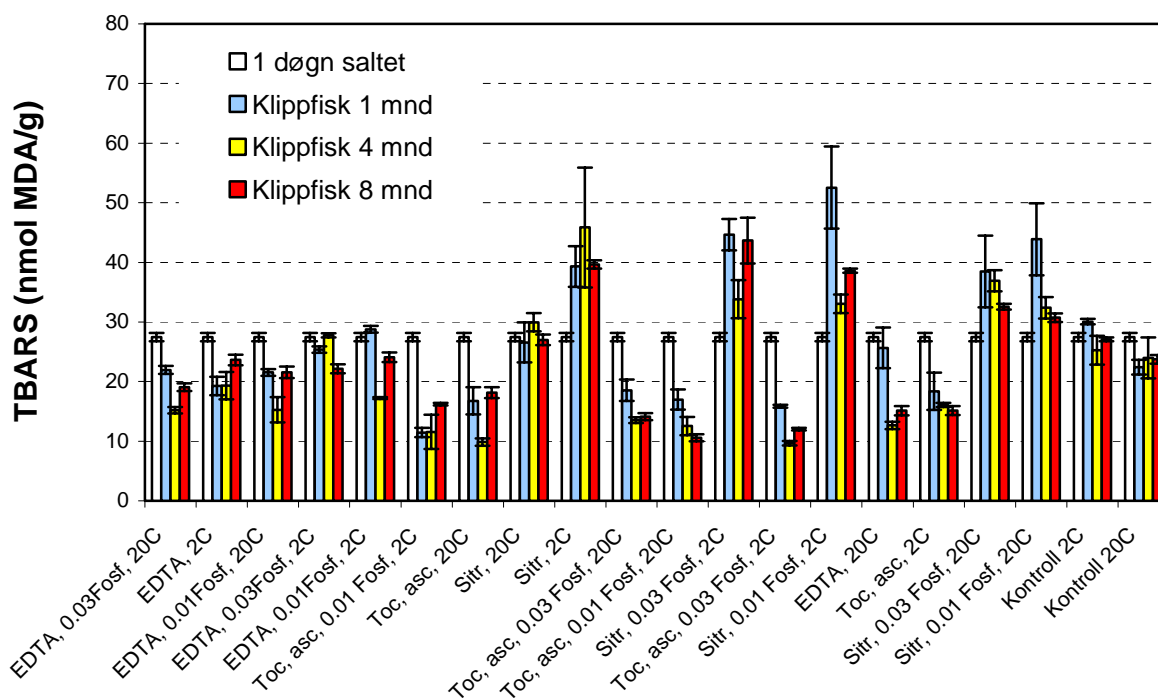


Figur 26. Innholdet av thiobarbitursyre reaktive forbindelser (TBARS) i homogeniserte klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

### 6.6.2 TBARS-verdi til klippfisk fra fryst råstoff

I figur 27 er TBARS-verdiene for klippfisk produsert fra fryst råstoff vist. Vi ser av figur 27 at TBARS verdien var mye høyere etter 1 døgn salting av fryst råstoff ved start enn i ferskt råstoff til klippfiskproduksjon fra figur 26. Siden vi ikke målte TBARS-innholdet i det fryste råstoffet før salting, vet vi ikke om råstoffet var harskt før det først døgnet med salting eller om det ble harskt umiddelbart etter 1 døgn salting. Årsaken til at TBARS ikke ble målt før salting, var at råstoffet som i utgangspunktet bare skulle flekkes hos en kommersielle saltfiskprodusent, ved en feiltagelse ble saltet i tillegg.

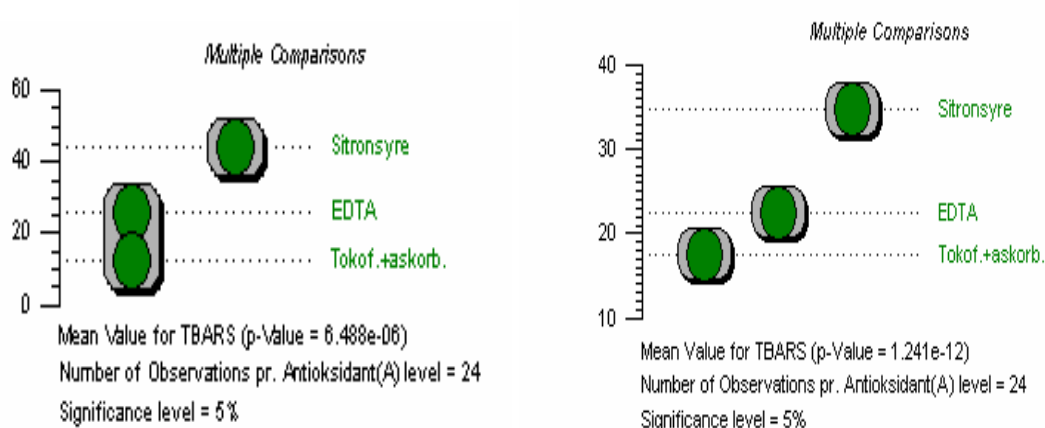
Fryst råstoff viste en annen harskningsutvikling enn ferskt råstoff til klippfiskproduksjon. For de fleste forsøksseriene avtok harskningsgraden eller var stabil fra 1 døgns salting til klippfisk lagret 8 måneder, med unntak av klippfisken produsert med sitronsyre i saltet. Sistnevnte forsøksserie hadde en økning av TBARS-verdiene fra 1 døgn saltet til 1 eller 4 måneder lagret og deretter en reduksjon til 8 måneders lagret. Også ved bruk av fryst råstoff medførte tokoferol + ascorbat i saltet en lavere harskningsgrad enn i kontroll klippfisken. Ved å sammenligne figur 26 og 27 ser vi at harskningsnivået generelt lå høyere for klippfisken fra ferskt enn fra fryst råstoff.



### Antioksidant, fosfat og temperatur

Figur 27. Innholdet av thiobarbitursyre reaktive forbindelser (TBARS) i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfat-konsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

Ved 2 veis variansanalyse av TBARS verdiene til klippfisk fra ferskt og fryst råstoff ble det påvist at antioksidant typen hadde signifikante effekter på TBARS-verdien. Slike effekter ble ikke funnet for temperaturen og fosfatkonsentrasjonen ved salting. Resultatene fra variansanalysen er framstilt i plottene til venstre og høyre for henholdsvis ferskt og fryst råstoff i figur 28.



Effekten på TBA..., (X-var, Y-var): (Antioxiidant(A), TBARS)

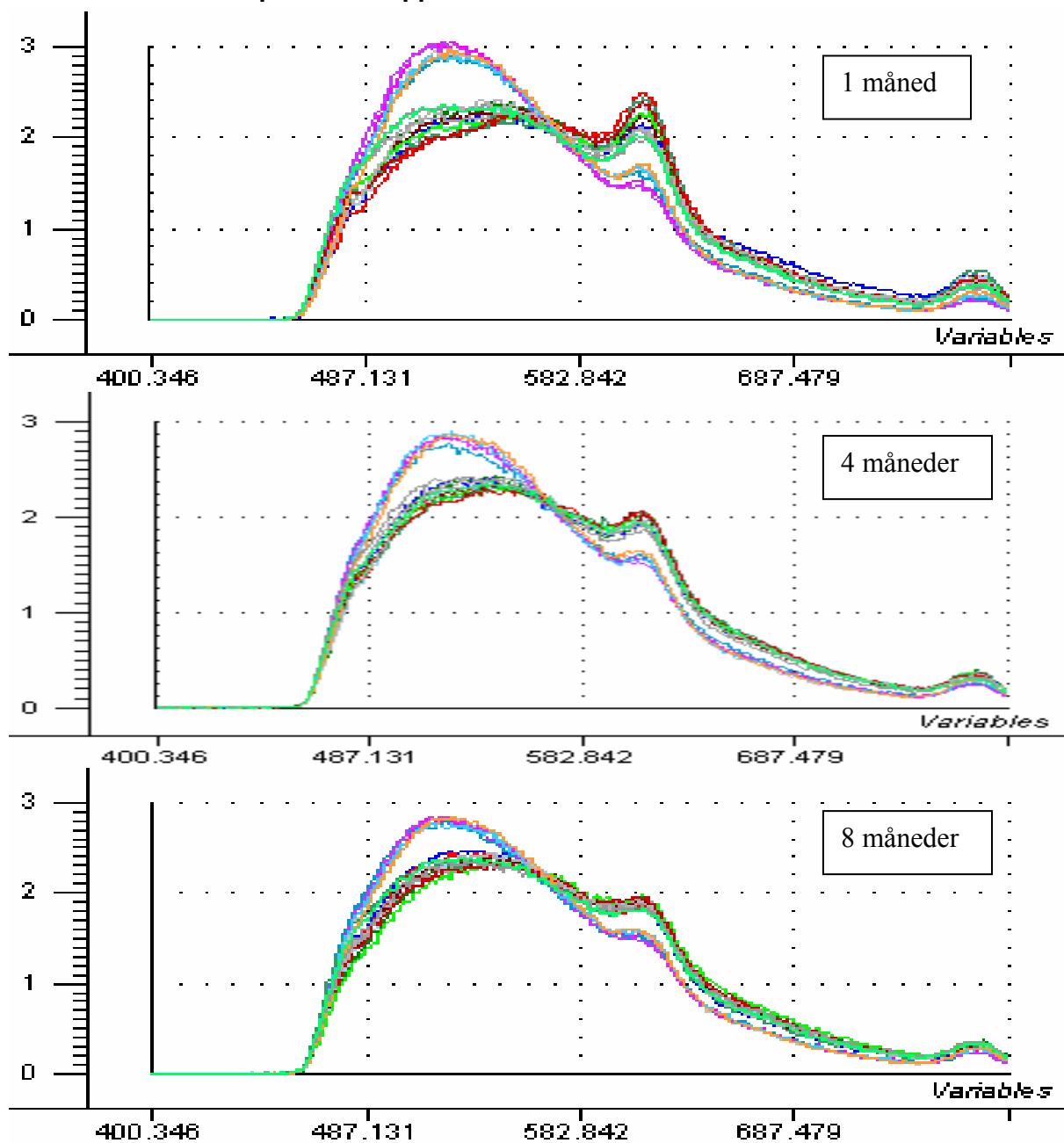
effekten på TBA..., (X-var, Y-var): (Antioxiidant(A), TBARS)

Figur 28. Effektene av antioksidanttypen på TBARS-verdien til klippfisk framstilt fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst-tint råstoff i plottet til høyre, gjennom 8 måneders kjølelagring. Effektene ble påvist ved hjelp av 2-veis variansanalyse.

## 6.7 Spektroskopisk målt harskning (fluorescens spektroskopi)

Det ble utført fluorescens spektroskopiske målinger av klippfiskprøvene framstilt fra både ferskt og fryst råstoff, som ble tatt ut i løpet av 8 måneders kjølelagring.

### 6.7.1 Fluorencensspektra til klippfisk fra ferskt råstoff

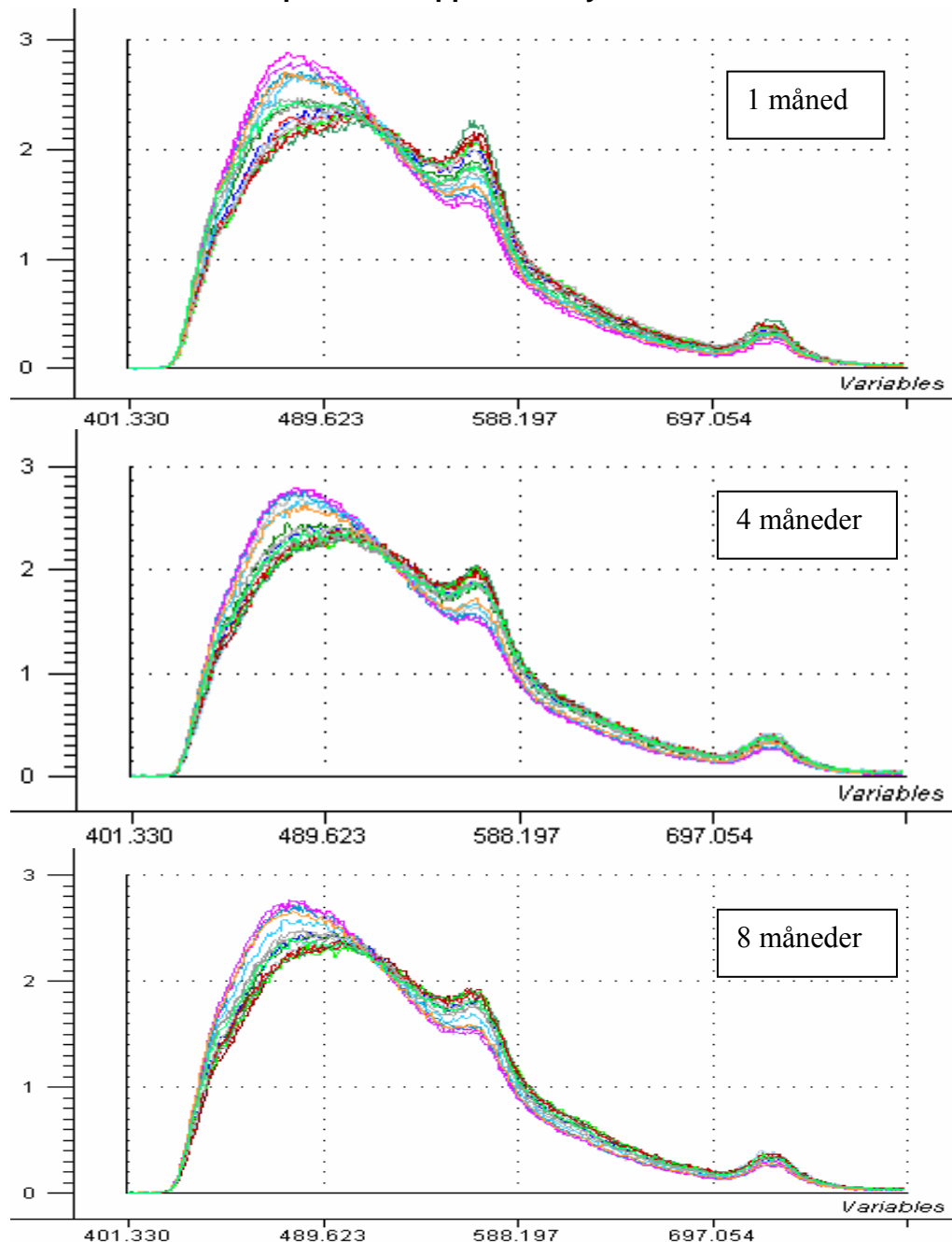


Figur 29. Fluorencensspektra (normaliserte) til klippfisk framstilt fra ferskt råstoff og kjølelagret 1, 4 og 8 mnd. Eksitasjonsbølgelengden var 380 nm og fluorescensdeteksjon fra 400 – 800 nm angitt på x-aksen. Øverste plott er fra 1 måned, midterste plott fra 4 måneders og nederste plott er fra 8 måneders kjølelagring.

Vi ser i figur 29 at fluorescens spektra endret seg for deg fleste klippfiskprøvene fra ferskt råstoff igjennom kjølelagringsperioden. Endringene var størst i bølgelengdeområdet 470-650 nm og 750-800 nm. Fluorencens intensiteten og kurveformen endret seg hos klippfiskprøvene.



## 6.7.2 Fluorescens spektra til klippfisk fra fryst råstoff



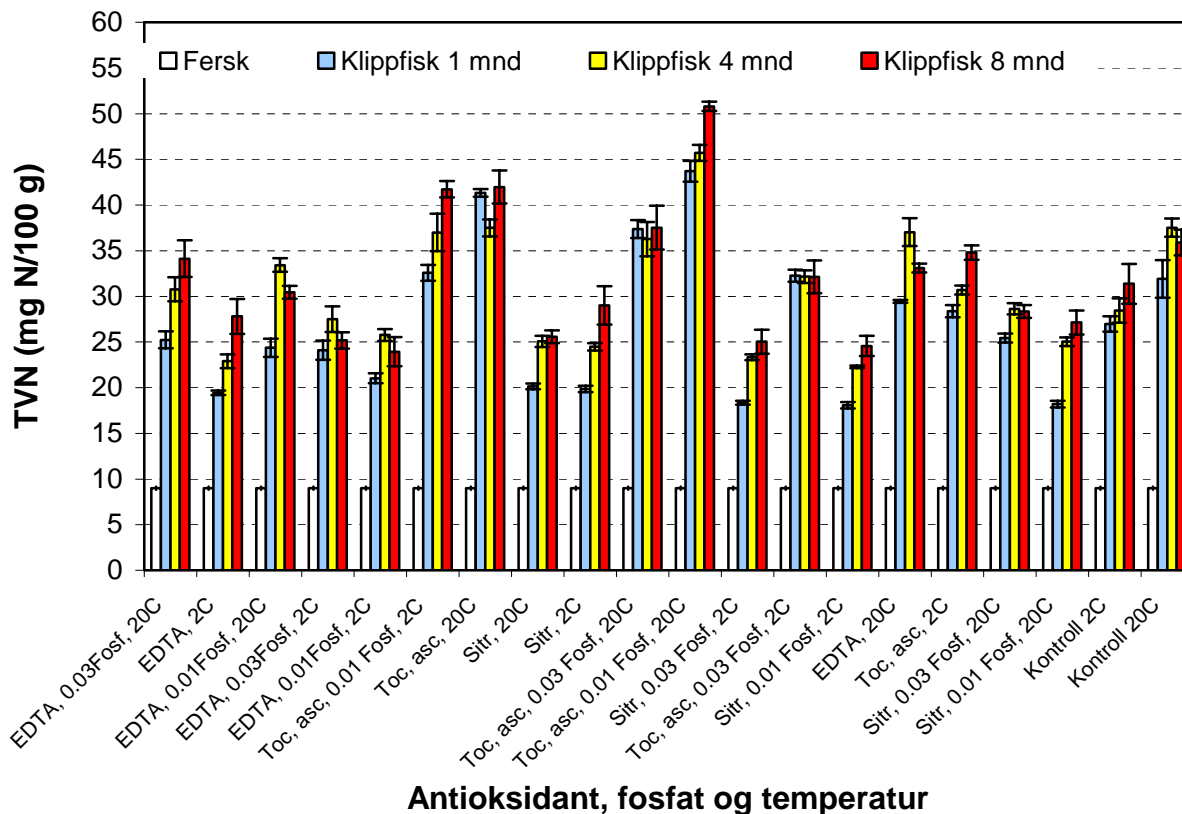
Figur 30. Fluorescensspektra (normaliserte) til klippfisk framstilt fra fryst råstoff og kjølelagret 1, 4 og 8 mnd. Eksitasjonsbølgelengden var 380 nm og fluorescensdeteksjon fra 400 – 800 nm angitt på x-aksen. Øverste plott er fra 1 måned, midterste plott fra 4 måneders og nederste plott er fra 8 måneders kjølelagring.

Ut fra figur 30 ser vi at fluorescens spektra endret seg også for de fleste klippfiskprøvene framstilt fra fryst råstoff igjennom kjølelagringsperioden. Endringene var også størst i bølglengdeområdet 470-650 nm og i tillegg ble det observert endringer i bølglengdeområdet 700-750 nm for disse prøvene. Både fluorescens intensiteten og kurveformen endret seg. Fluorescensdeteksjonen ser ut til å fange opp endringer i fiskekjøttet til klippfisk fra sei under kjølelagring. Ytterligere detaljer er diskutert lengre bak under punktet multivariat dataanalyse.

## 6.8 Innholdet av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) i klippfisk

Innholdet av flyktige nitrogenforbindelser kan bidra til klippfiskens karakteristiske farge, konsistens, smak og lukt.

### 6.8.1 TVN-innhold i klippfisk fra ferskt råstoff



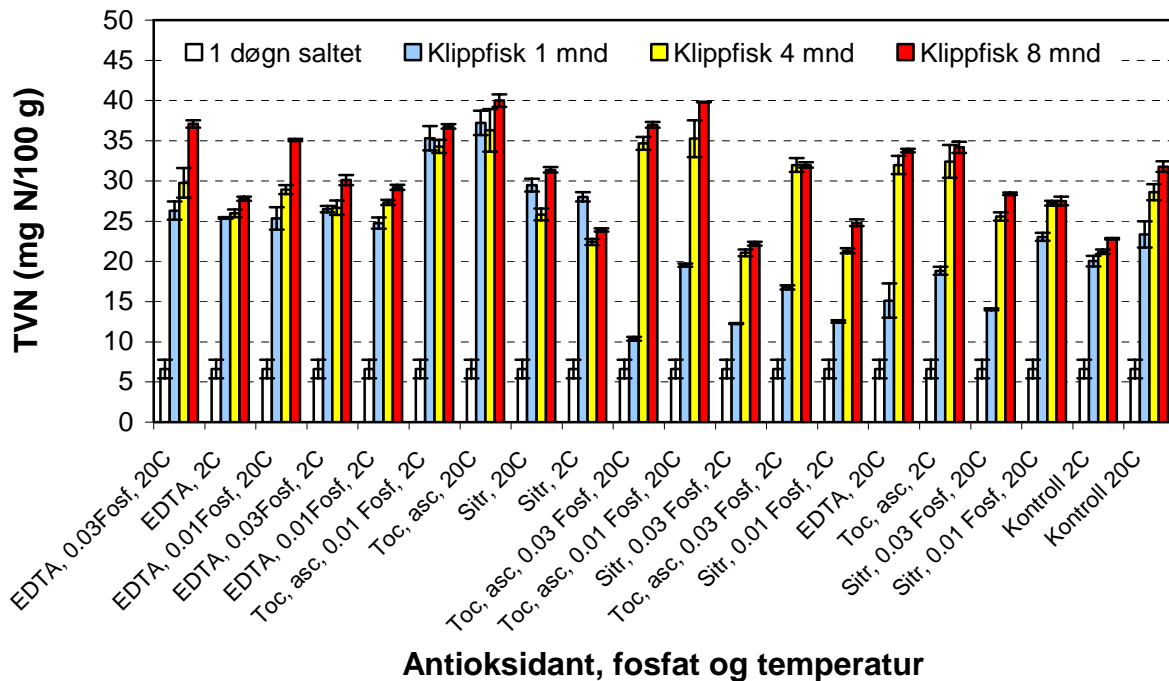
Figur 31. Totalt innhold av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) i homogeniserte klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

I figur 31 vises resultatene for TVN-analysene på klippfisk fra ferskt råstoff gjennom 8 måneders kjølelagring. Flyktig nitrogeninnholdet økte fra fersk fisk til klippfisk og videre under kjølelagringen. Vi ser dessuten at økningen i TVN var avhengig av antioksidant typen som ble brukt i saltet. Klippfisk framstilt med tocoferol + ascorbat i saltet fikk størst økning i TVN innholdet og klippfisken saltet med sitronsyre fikk laveste TVN innhold. Ved hjelp av toveis variansanalyse ble det påvist at antioksidant typen hadde signifikante effekter ( $p < 0.05$ ) på TVN-innholdet til klippfisken gjennom 8 måneders kjølelagring. Det ble ikke påvist at produksjonstemperaturen og fosfatkonsentrasjonen ved salting hadde signifikante effekter på TVN-innholdet til klippfisken fra ferskt råstoff. Resultatene fra variansanalysen er vist i plottet til venstre i figur 33.

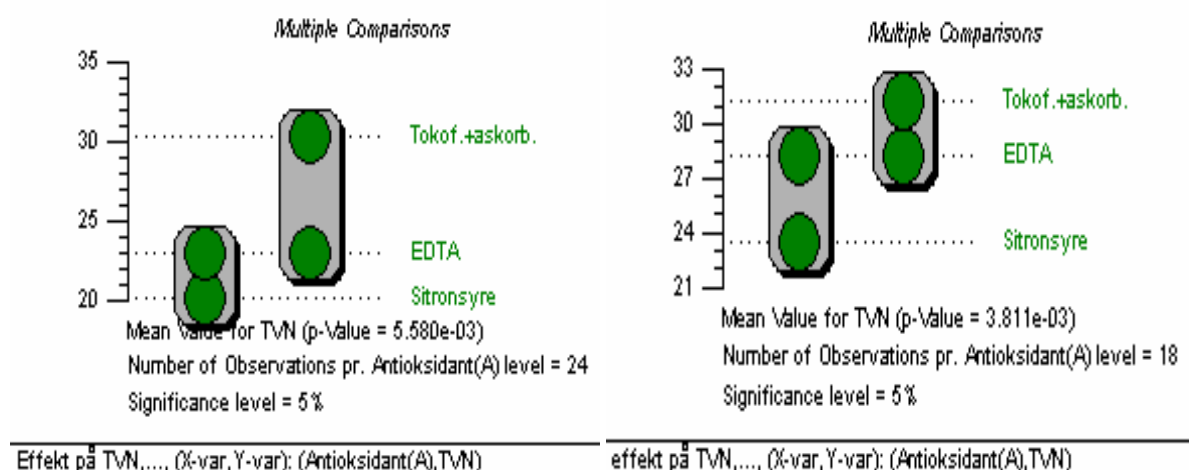
Innholdet av flyktig nitrogen i klippfisken fra fryst råstoff produsert ved varierende antioksidant type, temperatur, og fosfatkonsentrasjon er presentert i figur 32. Samtlige forsøksserier viste en klar økning av de flyktige nitrogenforbindelsene i løpet av 8 måneders kjølelagring. Ved 2-veis variansanalyse ble det påvist at antioksidant typen hadde signifikant

effekt på innholdet av totalt flyktig nitrogen, resultatet er vist i plottet til høyre i figur 33. Tocoferol + ascorbat i saltet ga høyere TVN innhold enn EDTA og sitronsyre i saltet. Det ble ikke påvist signifikante effekter av produksjonstemperaturen og fosfatkonsentrasjonen på TVN innholdet til klippfisken ved 8 måneders kjølelagring.

### 6.8.2 TVN-innhold i klippfisk fra fryst råstoff



Figur 32. Totalt innhold av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

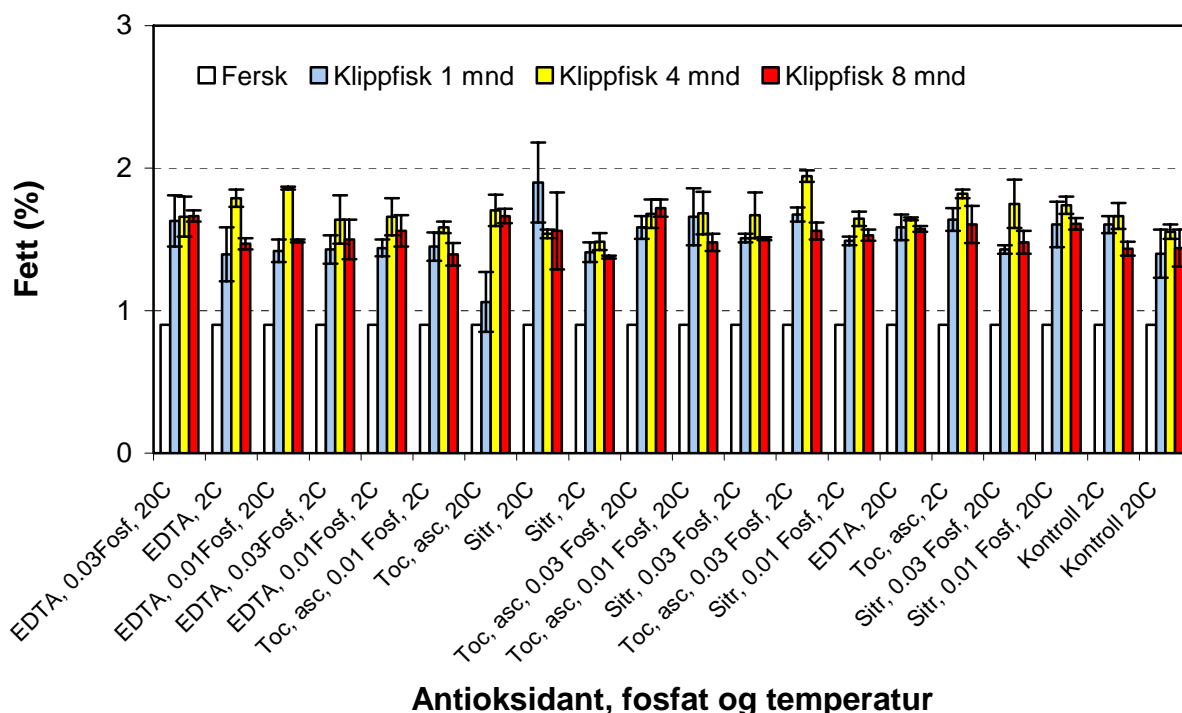


Figur 33. Effektene av antioksidanttypen på TVN-verdien til klippfisken framstilt fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst-tint råstoff i plottet til høyre, gjennom 8 måneders kjølelagring. Effektene ble påvist ved hjelp av 2-veis variansanalyse.

## 6.9 Fettinnhold i klippfisk

Fettinnholdet i seifilet ligger normalt omkring 0.3 % (Den store matvaretabellen, Statens Ernæringsråd og Statens Mattilsyn, 1995). Ved salting og tørking fram til klippfisk vil fettinnholdet i fiskekjøttet øke som følge av det normale vanntapet fra fiskekjøttet i prosessen. Fettinnholdet til klippfisken ble målt ved forsøksstart og gjennom 8 måneders kjølelagring og resultatene for ferskt og fryst råstoff er vist henholdsvis i figur 34 og 35.

### 6.9.1 Fettinnhold i klippfisk fra ferskt råstoff

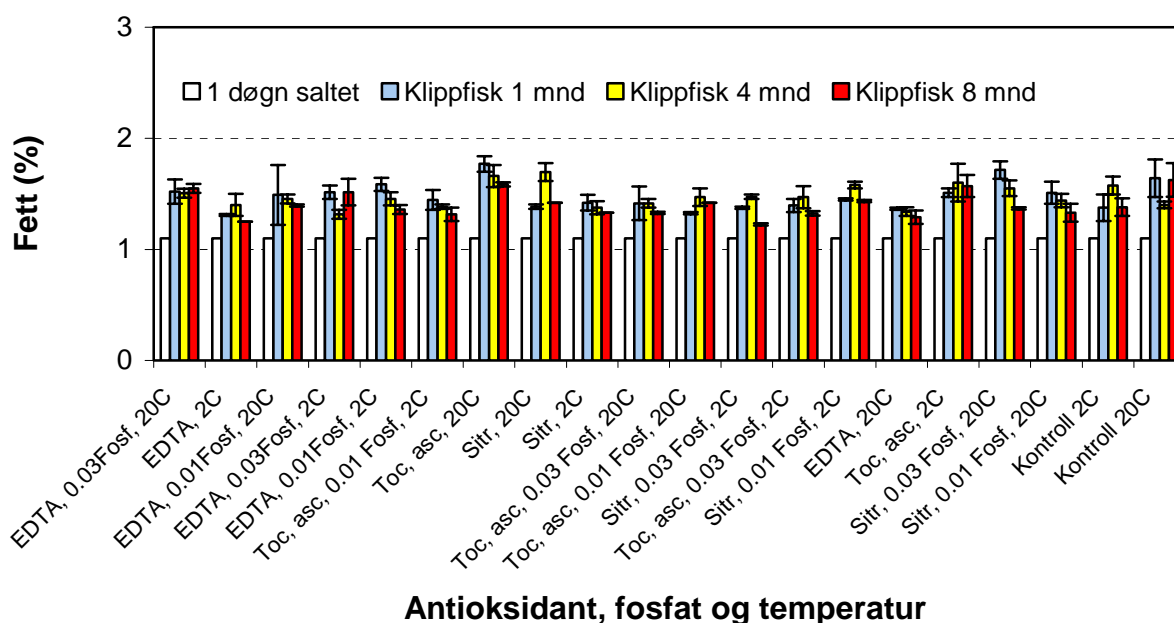


Figur 34. Totalt fettinnhold (%) i homogeniserte klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

Figur 34 viser at det totale fettinnholdet i fiskekjøttet økte for samtlige forsøksserier fra fersk fisk til klippfisk. Økningen var på 30-50% og samsvarer med det store væsketapet fra fiskekjøttet gjennom salte- og tørkeprosessen. Det ble ikke påvist signifikante effekter av antioksidant typen, fosfatkonsentrasjonen eller produksjonstemperaturen på totalt fettinnhold i klippfisk fra ferskt råstoff gjennom 8 måneders kjølelagring.

Ved å sammenholde figur 34 og 35 ser vi at det totale fettinnholdet lå på 1.5-2 % for klippfisken framstilt fra både ferskt og fryst råstoff. Det ble ikke påvist at antioksidant typen, fosfatkonsentrasjonen eller produksjonstemperaturen hadde signifikante effekter på totalt fettinnhold i klippfisk fra fryst råstoff.

## 6.9.2 Fettinnhold i klippfisk fra fryst råstoff



Figur 35. Totalt fettinnhold (%) i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

## 6.10 Innholdet av omega-3-fettsyrene; EPA og DHA i klippfisk

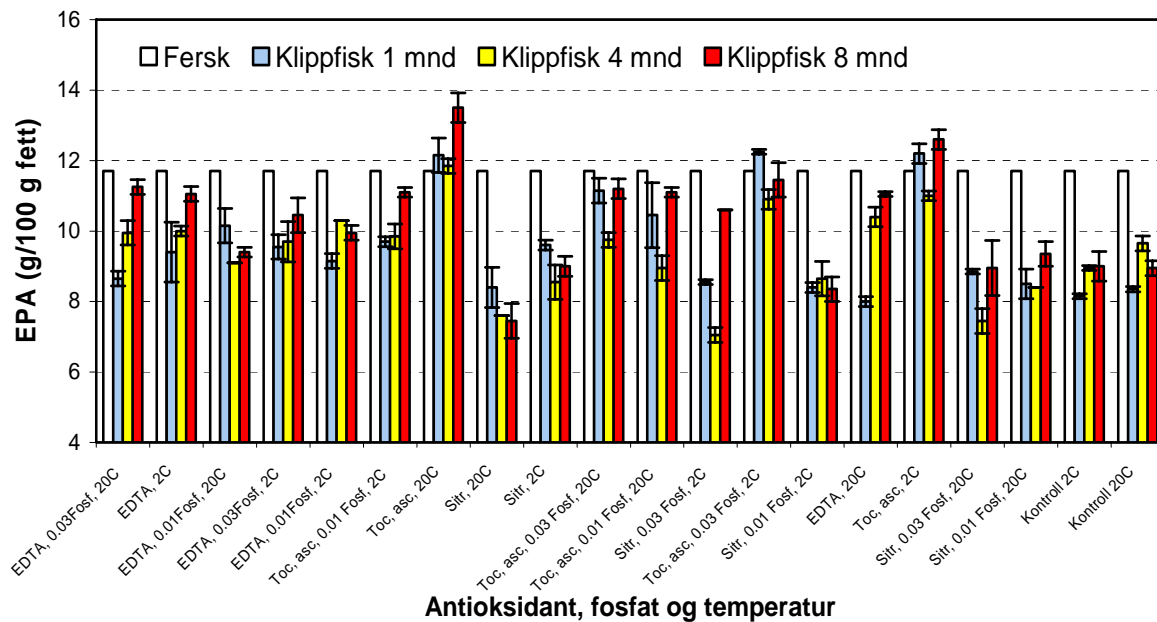
De helsemessige aspektene ved å innta sjømat har fått økt fokus de siste årene, og det totale innholdet av de gunstige omega-3 fettsyrene; eicosapentaensyre (20:5n-3, EPA) og docosaheksaensyre (22:6n-3, DHA) i klippfiskhomogenatene ble derfor bestemt. Seifilet har et gjennomsnittlig EPA-innhold på 10.7 g/100 g fett og DHA-innhold på 29 g/100g fett (Den store matvaretabellen, Statens Ernæringsråd og Statens Mattilsyn, 1995). EPA- og DHA-innholdet i fiskekjøttet antas å øke som følge av vanntapet gjennom salte- og tørkeprosessen fram til klippfisk, men det kan også tenkes å gå ned som følge av harskning av muskelmembranfettet i fiskekjøttet. EPA- og DHA-innholdet ble målt i klippfisken gjennom 8 måneders kjølelagring og resultatene for ferskt og fryst råstoff er vist henholdsvis i figur 36 og 37.

### 6.10.1 EPA innholdet i klippfisk fra ferskt råstoff

I figur 36 ser vi at EPA-innholdet i klippfisken var avhengig av antioksidant typen som ble brukt under saltingen. Tocopherol + ascorbat i saltet ga høyeste EPA innhold i klippfisken. Dersom vi sammenholder figur 34 og 24 (TBARS-verdiene) ser vi at klippfisken med laveste EPA-innhold som ble framstilt med sitronsyre, også ble mest harsk, dvs. fikk høyeste TBARS-verdier.

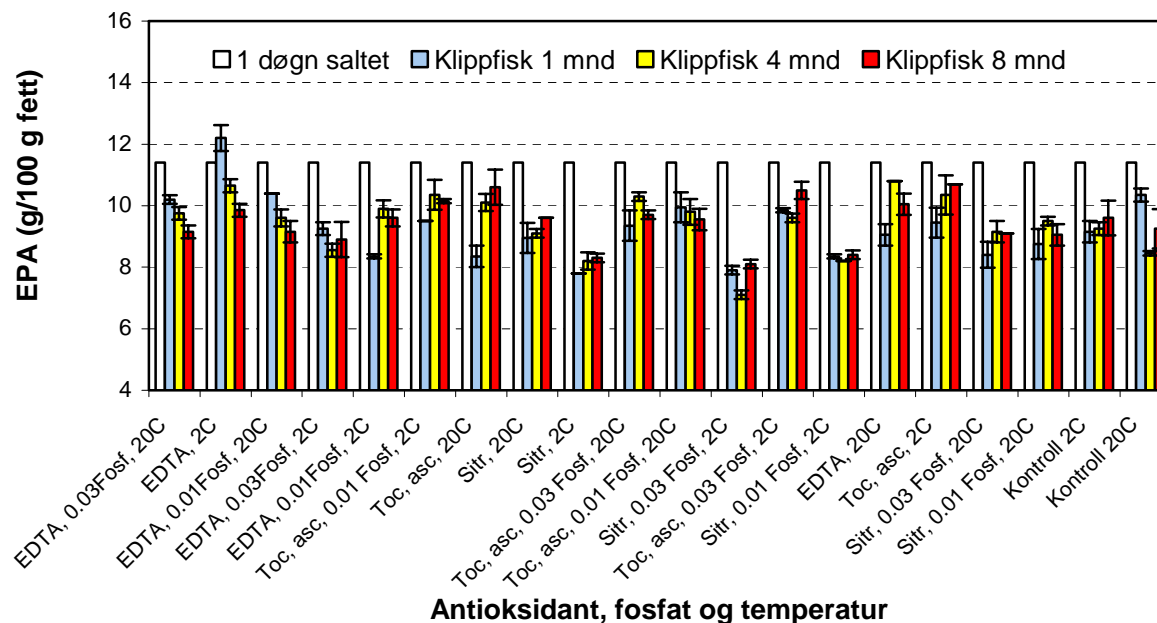
Ved hjelp av toveis variansanalyse ble det påvist at antioksidant typen hadde signifikante effekter på EPA-innholdet til klippfisken gjennom 8 måneders kjølelagring. Resultatene fra

variansanalysen er vist i plottet til venstre i figur 38. Det ble ikke påvist signifikante effekter av temperaturen og fosfatkonsentrasjonen på EPA-innholdet til klippfisken fra ferskt råstoff.



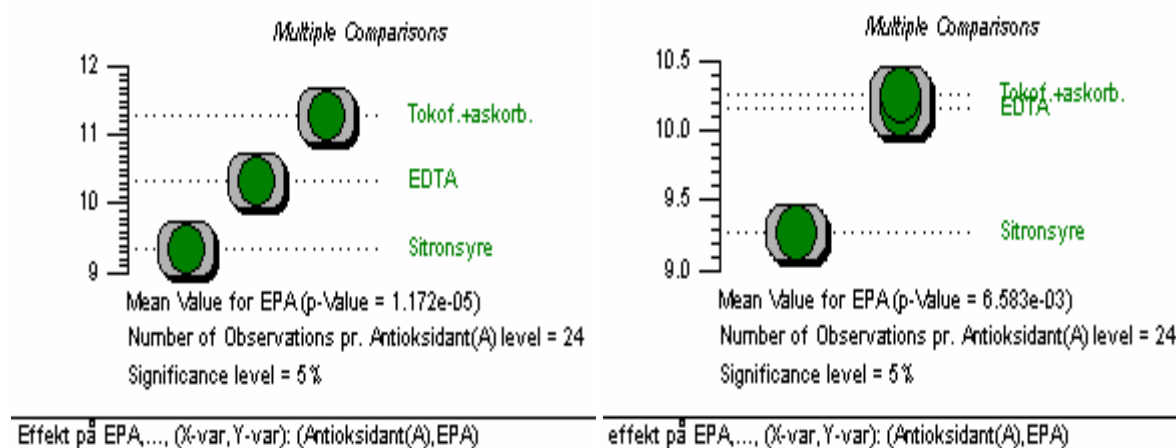
Figur 36. EPA-innholdet (g/100 g fett) i homogeniserte klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

### 6.10.2 EPA innholdet i klippfisk fra fryst råstoff



Figur 37. EPA-innholdet (g/100 g fett) i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.

Figur 37 viser at EPA-innholdet i klippfisken framstilt fra fryst råstoff også var avhengig av antioksidant typen som ble brukt i saltet, men at forskjellene i EPA-innholdet mellom forsøksseriene var mindre enn for klippfisken fra ferskt råstoff. Høyeste EPA-innhold ble funnet i klippfisken framstilt med tokoferol+ascorbat i saltet og laveste EPA-innhold i klippfisken framstilt med sitronsyre. Forskjellene mellom EPA-innholdet til klippfisken framstilt med tokoferol+ascorbat og EDTA i saltet var minimale ved bruk av fryst råstoff. Ved hjelp av to-veis variansanalyse ble det påvist at antioksidant typen og samspillet mellom antioksidant typen og temperaturen hadde signifikante effekter ( $p < 0.05$ ) på EPA-innholdet til klippfisken ved 8 måneders kjølelagring. Resultater fra variansanalysen for det fryste råstoffet er framstilt i plottet til høyre i figur 38. Fosfatkonsentrasjonen i saltet og produksjonstemperaturen, ble ikke påvist å ha signifikante effekter på EPA-innholdet til klippfisken.

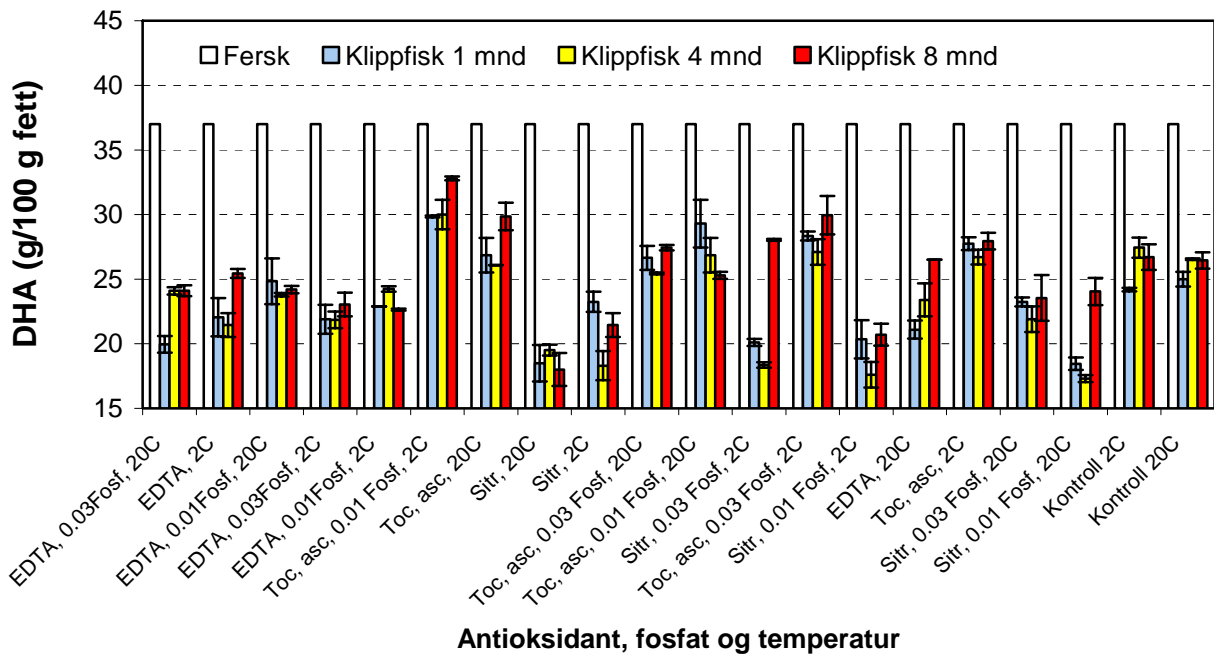


Figur 38. Effektene av antioksidanttypen på EPA-innholdet til klippfisken framstilt fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst-tint råstoff i plottet til høyre, gjennom 8 måneders kjølelagring. Effektene ble påvist ved hjelp av 2-veis variansanalyse.

Siden fettinnholdet økte med ca. 30-50% fra fersk filet og fra 1 døgn saltet filet til klippfisk, var det forventet at EPA-innholdet også ville øke tilsvarende. Sammenligner vi EPA-innholdet i den ferske seifiletten (11.7 g/100 g fett) og innholdet i 1 døgn saltet fryst sei (11.4 g/100g fett) med nivåene vi fant i klippfisken fra henholdsvis ferskt og fryst råstoff, ser vi at EPA-innholdet generelt gikk ned i løpet av 8 måneders kjølelagring.

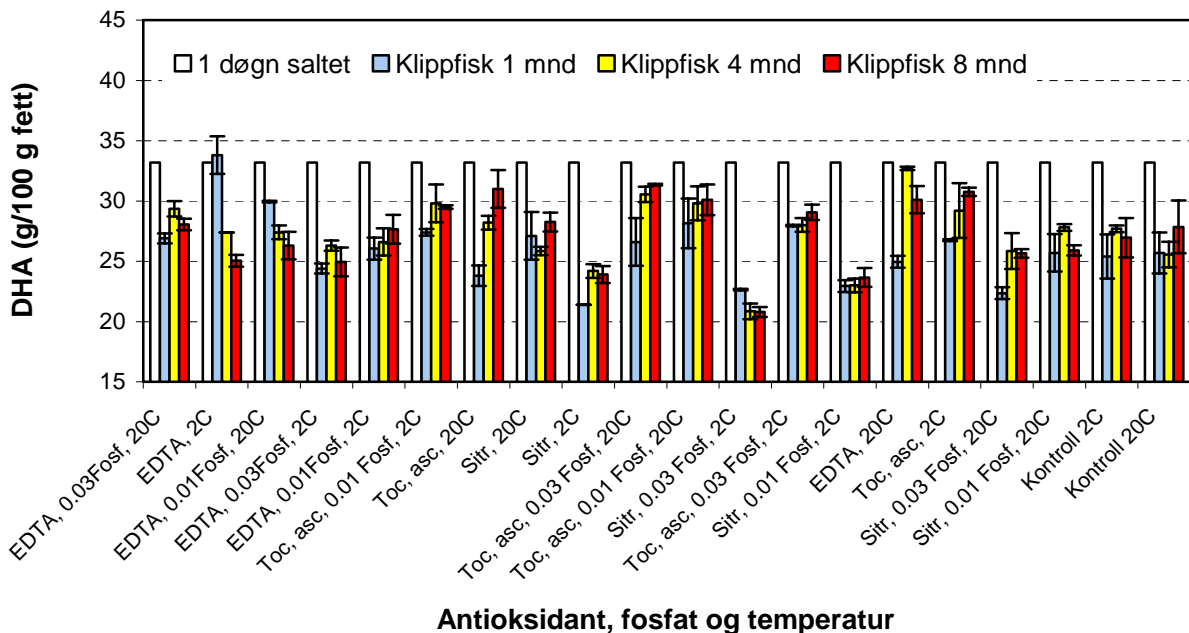
### 6.10.3 DHA-innholdet til klippfisken fra ferskt råstoff

I figur 39 er DHA-innholdet til klippfisken framstilt fra ferskt råstoff presentert. Her ser vi klart at DHA-innholdet til klippfisken var avhengig av antioksidant typen som ble brukt i saltet. Tokoferol + ascorbat ga det høyeste DHA-innholdet i klippfisken mens sitronsyre på den andre siden ga det laveste DHA-innholdet. Generelt gikk DHA-innholdet ned fra fersk filet (33.2 g/100 g fett) til klippfisk gjennom 8 måneders kjølelagring. Sammenholder vi figur 39 med figur 26 (TBARS) ser vi dessuten at prøvene med høyeste DHA-innhold var minst harske og visa versa de med laveste DHA-innhold var mest harske. Ved hjelp av 2-veis variansanalyse ble det påvist at antioksidant typen hadde signifikante effekter ( $p < 0,05$ ) på DHA-innholdet til klippfisken fra ferskt råstoff gjennom 8 måneders kjølelagring. Resultatene er oppsummert i plottet til venstre i figur 41.



Figur 39. DHA-innholdet (g/100 g fett) i homogeniserte klippfiskprøver fra fersk sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standard-avviket for N= 5 forsøksfisk.

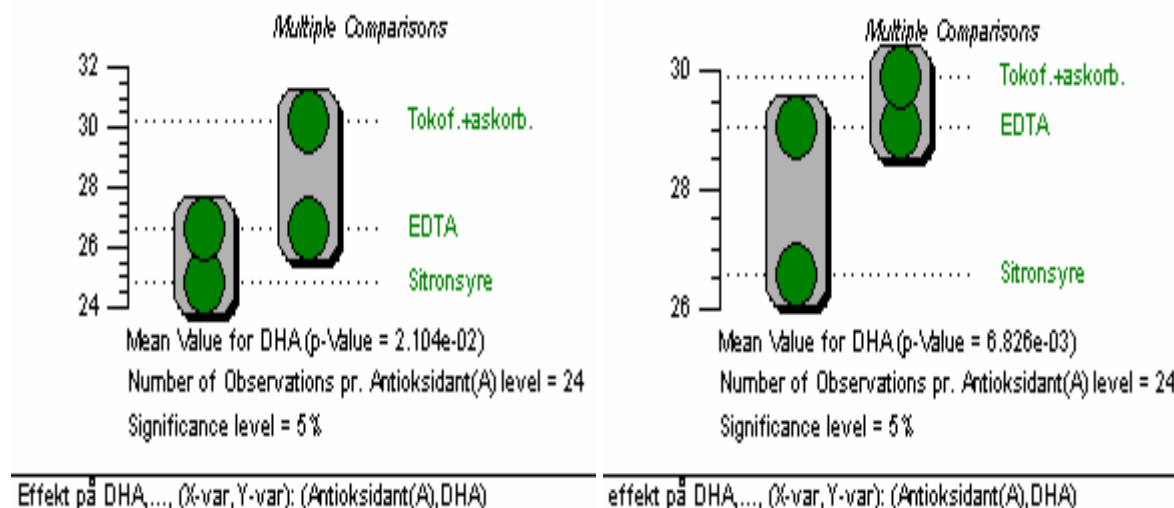
#### 6.10.4 DHA-innholdet til klippfisken fra fryst råstoff



Figur 40. DHA-innholdet (g/100 g fett) i homogeniserte klippfiskprøver fra fryst sei produsert ved varierende antioksidant type, fosfatkonsentrasjon og temperatur gjennom 8 måneders kjølelagring. Hver søyle representerer gjennomsnittsverdien og standardavviket for N= 5 forsøksfisk.



Figur 40 viser at DHA-innholdet til klippfisken framstilt fra fryst råstoff også var avhengig av antioksidant typen som ble brukt i saltet, men at forskjellene i DHA-innholdet mellom forsøksseriene var mindre her enn for klippfisken framstilt fra ferskt råstoff. Høyeste DHA-innhold ble funnet i klippfisken framstilt med tokoferol+ascorbat i saltet og laveste DHA-innhold i klippfisken framstilt med sitronsyre. To-veis variansanalyse påviste at antioksidant typen hadde signifikante effekter på DHA-innholdet til klippfisken fra fryst råstoff gjennom 8 måneders lagring, som vist i plottet til høyre i figur 41.



Figur 41. Effektene av antioksidanttypen på DHA-innholdet til klippfisken framstilt fra henholdsvis ferskt råstoff i plottet til venstre og fra fryst-tint råstoff i plottet til høyre, gjennom 8 måneders kjølelagring. Effektene ble påvist ved hjelp av 2-veis variansanalyse.

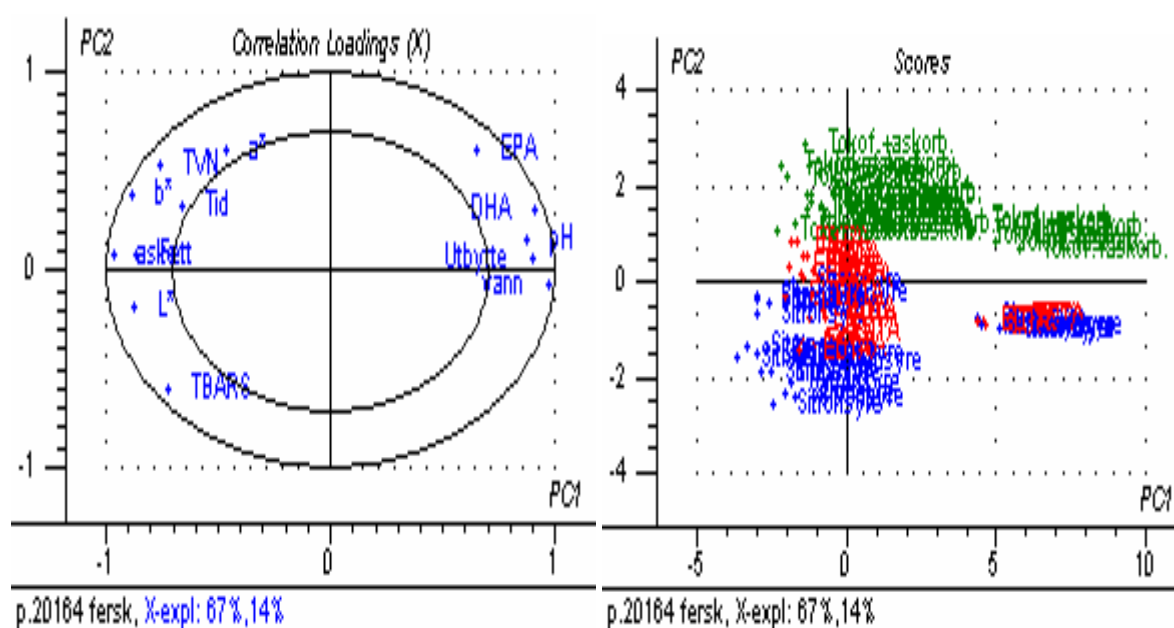
Siden fettinnholdet økte med 30-50% fra fersk filet og fra 1 døgns saltet fryst fisk til klippfisk, var det forventet at DHA-innholdet også ville øke tilsvarende. Sammenligner vi DHA-innholdet i fersk seifilet (37.0 g/100 g fett) og i 1 døgns saltet fryst fisk (33.2 g/100 g fett) med nivåene vi fant i klippfisken fra henholdsvis ferskt og fryst råstoff, ser vi at DHA-innholdet derimot generelt gikk ned.



## 7 Diskusjon - multivariat dataanalyse

Innledningsvis ble det utført to separate multivariat dataanalyser (PCA) ved hjelp av 5 prinsipale komponenter hvor samtlige måledata for klippfiskprøvene fra henholdsvis ferskt og fryst råstoff ble analysert. Dette ble gjort for å lete etter underliggende systematiske sammenhenger i datasettene. Resultatene fra PCA-analysenes loadings og scores plott er presentert i figur 42 for klippfisken fra ferskt råstoff. Utfra informasjonen fra PCA-analysen ble det plukket ut to og to variable og framstilt enkle 2 dimensjonale scatterplott, vist i figur 43 og 44.

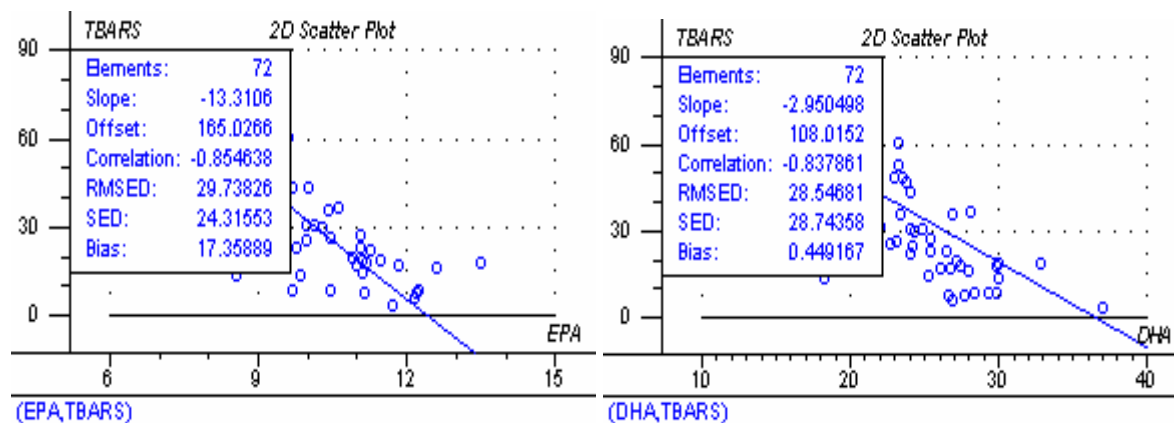
### 7.1 Principal component analyse (PCA) av kjemisk-fysikalske analysedata for klippfisk fra ferskt råstoff



Figur 42. Correlation loadings og scores plott fra en PCA analyse ved hjelp av 5 principale komponenter hvor samtlige kjemiske og fysikalske målinger ble brukt som X-matrise for klippfisken fra ferskt råstoff. PC1 er plottet på X-aksen og PC 2 på Y-aksen.

Figur 42 viser at til sammen 81 % av den totale variasjonen i parametrene som her ble undersøkt på klippfisken fra ferskt råstoff, var systematiske vist i PC 1 og PC 2. Variabler diagonalt/rett overfor hverandre i plottets PC1 er negativt korrelerte, og variabler som ligger nært hverandre i plottets PC1 er positivt korrelerte. Det ble tidligere vist at produksjonstemperaturen hadde signifikante effekter ( $p < 0.05$ ) på vektutbyttet til klippfisken. Correlation loadings plottet over viser at effekten på utbyttet kan forklares utfra aske- og vanninnholdet til klippfisken samt muskel-pH. Et høyt aske- og lavt vanninnhold samt lav muskel-pH i klippfisken, ga lavt vektutbytte og visa versa. Det skyldes sannsynligvis denatureringsprosesser i muskel-proteinene som følge av pH-reduksjon og økt saltkonsentrasjon. Utfra score-plottet ser vi at det var antioksidanten sitronsyre som ga størst denatureringseffekt på klippfisken.

Loading correlation plottet i figur 42 viser dessuten at reduksjonen i DHA- og EPA-innholdet i fiskekjøttet forklarer økningen av TBARS-verdiene. Muskelcellemembranene eksponeres mer og mer for oksygen etter hvert som saltkonsentrasjonen øker når fiskekjøttet tørkes til klippfisk. Disse cellemembranene har normalt et høyt innhold av fettsyrene EPA og DHA hos torskefisk, og de er derfor spesielt utsatt for harskning som påvist i 2D scatter plottene i figur 43.

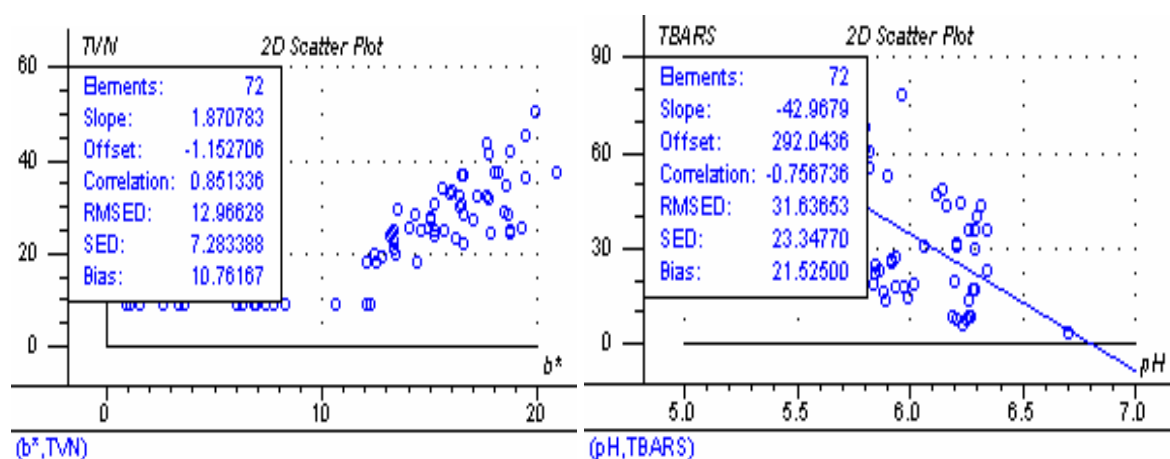


Figur 43. 2D Scatter plot for henholdsvis EPA- og DHA-innholdet versus TBARS-verdien for klippfisken framstilt fra ferskt råstoff og kjølelagret i 8 måneder.

Sitronsyre tilsatt ved høy konsentrasjon i saltet, forårsaket en økning av TBARS-verdien mens tokoferol+ascorbat i saltet forårsaket en reduksjon av TBARS-verdien til klippfisken sammenlignet med kontrollen. Tidligere forsøk med fullsalting av torsk har vist at sitronsyre tilsatt ved lav konsentrasjon i saltlake, kan forårsake økt fettoksidasjon sammenlignet med kontrollen (Lauritzsen og Olsen, 2004). Sitronsyre er altså en ineffektiv antioksidant ved fullsalting av både torsk og sei og kan derfor ikke anbefales brukt til saltfisk og klippfisk produksjon. Tokoferol+ascorbat på den andre siden, inhiberte fettoksidasjonen i fiskekjøttet til seien sammenlignet med kontrollen, men forårsaket en ugunstig dannelse av gul-brune misfargingsforbindelser. Denne blandingen kan derfor heller ikke anbefales brukt ved de konsentrasjonene som her ble undersøkt. Det kan imidlertid ikke utelukkes at andre konsentrasjoner av tokoferol+ascorbat i saltet, kunne ha gitt et heldigere resultat. Utfra det vi vet i dag, er det ikke tidligere rapportert forsøk med tokoferol+ascorbat tilsatt i saltet ved saltfisk- og klippfiskproduksjon fra sei. I tidligere forsøk med EDTA på fullsaltet torsk, var antioksidant effekten god selv ved lav EDTA-konsentrasjon i saltlaken (Lauritzsen og Olsen, 2004). I forsøkene på sei derimot, ble det påvist en svak antioksidanteffekt sammenlignet med kontrollen. Det kan ha sammenheng med suboptimal EDTA-konsentrasjon i saltet. Eventuelle andre konsentrasjoner kunne gitt større antioksidanteffekter på seien.

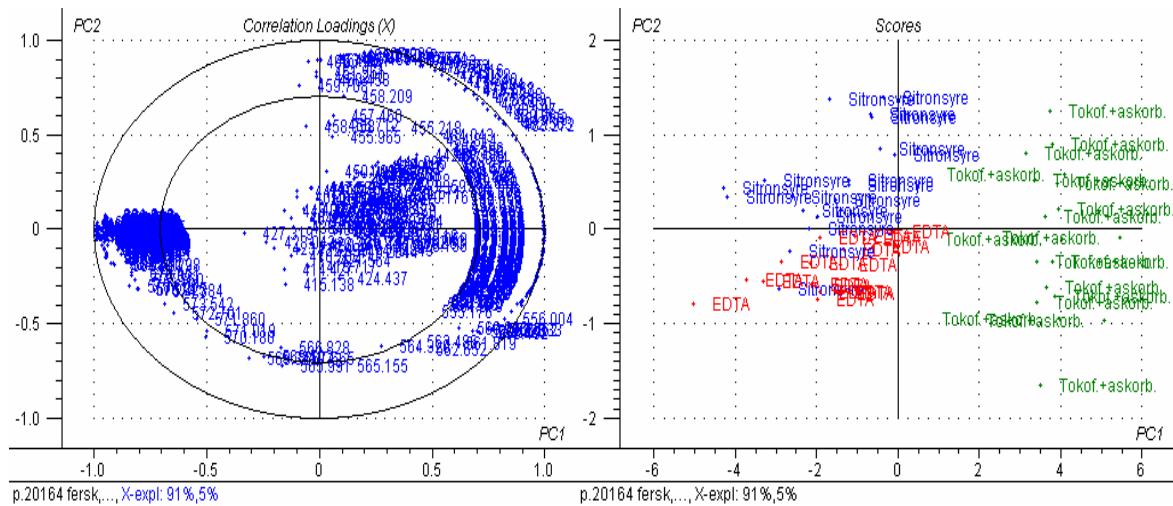
Vi ser i figur 42 og 44 at økningen i TBARS-verdien, kan forklares utfra reduksjonen i muskel-pH og DHA- og EPA-innholdet i klippfisken. Når saltkonsentrasjonen øker og vanninnholdet avtar i fiskekjøttet, denaturerer muskelproteinene. Ved denaturering av muskelproteinene endres ladningsforholdene på overflaten til dem. Saltbroer, Van der Waalske bindinger og hydrogenbindinger i de indre områdene av proteinene endres og noen av dem brytes. En økende andel av sure sidegrupper langs polypeptidkjeden vendes ut mot omgivelsene og pH synker i fiskekjøttet. Under denatureringsprosessen er det rimelig å anta at bundne Fe-ioner delvis blir frigjort fra hemgruppen til proteinene hemoglobin og myoglobin. De frie Fe-ionene kan videre katalyserer fettoksidasjonen av fiskekjøttet.

Figur 42 viser dessuten at det totale flyktige nitrogeninnholdet (TVN) i klippfisken var positivt korrelert med instrumentelt målt gulffarge,  $b^*$ -verdien til klippfisken. Når totalt flyktig nitrogen økte i fiskekjøttet, økte samtidig gulffargen til klippfisken som vist i 2D Scatter plottet i figur 44. Trimetylaminoksyd (TMAO) er naturlig tilstede i fiskekjøttet og i spesielt høye konsentrasjoner i torskefisk (Dyer, 1952; Amano og Yamada, 1964; Tokunaga, 1970; Harada, 1975). Etter at fisken er død brytes TMAO ned til dimetylamin (DMA), ammoniakk og formaldehyd via enzymatiske og/eller ikke-enzymatiske reaksjoner. DMA og ammoniakk bidrar begge til en økning av det totale flyktige nitrogeninnholdet i fiskekjøttet. In vitro modellstudier av nyrevev fra "Hake", har vist at oksidasjonsnivået påvirker enzymaktiviteten til trimetylaminoksidase, dvs. dannelsen av DMA og formaldehyd. Oksiderende forbindelser kan inhibere og reduserende forbindelser kan stimulere TMAO-ase aktiviteten (Joly *et al.*, 1997). I våre forsøk kan Tocoferol + ascorbat i saltet ha virket reduserende og dermed økt DMA, ammoniakk og formaldehyd konsentrasjonene i klippfisken. Videre kan dette ha ført til biokjemiske reaksjoner mellom DMA og ulike fettkomponenter og produksjon av gul-brune polymeriserte sluttprodukter (fluorescerende), såkalte Maillard forbindelser (Frankel, 2005). En annen mulighet er at tocoferol+ascorbat blandingen i saltet påvirket proteinfraksjonen i fiskekjøttet til å delta i kryssbindingsreaksjoner og at gulbrune sluttprodukter ble dannet.



Figur 44. 2D Scatter plot for  $b^*$ -verdien (gulffargen) versus TVN-innholdet og for muskel-pH versus TBARS-verdien for klippfisken framstilt fra ferskt råstoff og kjølelagret i 8 måneder

I figur 45 ser vi correlation loadings plot og score plot fra PCA-analysen av fluorescens spektra til klippfiskprøvene fra ferskt råstoff gjennom 8 måneders kjølelagring. Ut fra figur 45 kan vi lese at 96% av variasjonen i fluorescens spektra til klippfisken gjennom 8 måneders kjølelagring, var systematiske vist i PC1 og PC2. Scores plottet viser at fluorescensen grupperte klippfiskprøvene i 3 grupper; hvor tocoferol+ ascorbat behandlet klippfisk lå langt til høyre i plottet og de to andre gruppene sitronsyre og EDTA behandlet klippfisk delvis overlappet hverandre til venstre i plottet langs PC1. Sammenligner vi figur 44 med figur 47, ser vi at årsaken til grupperingen av klippfisk i 3 grupper kan forklares med endringer i fluorescens spektra i bølgelengdeområdet 469-550 og 637-770 nm samt i instrumentelt målt rødfarge ( $a^*$ -verdien), TBARS-verdien (harskningsgraden) og EPA og DHA innholdet til klippfisken.

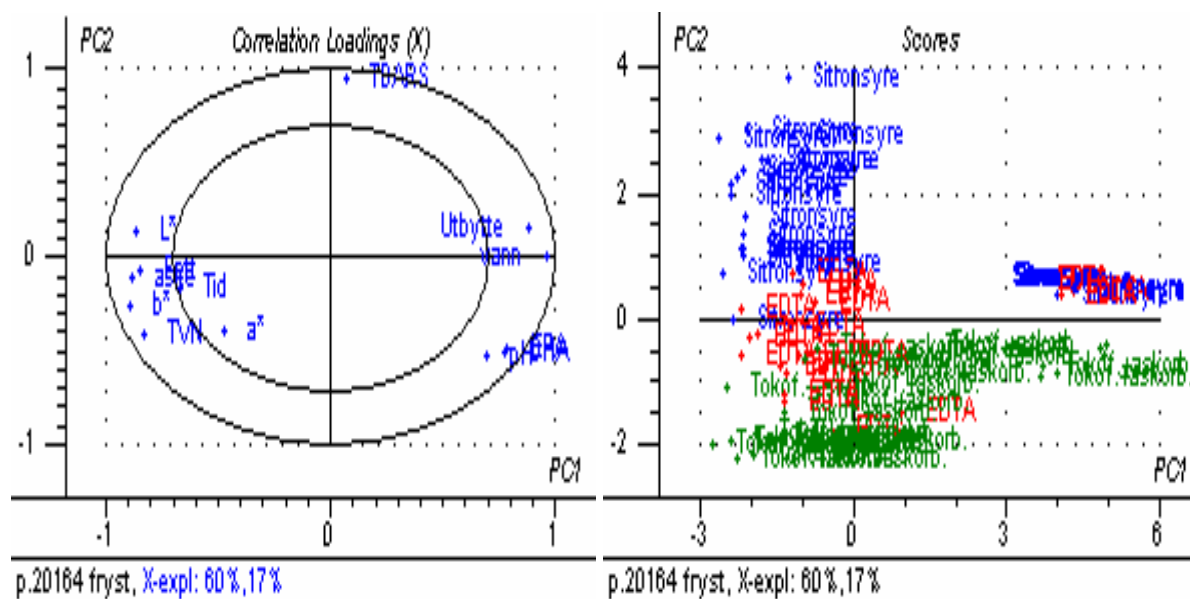


Figur 45. Correlation loadings and scores plott fra PCA analysen av fluorescens spektra til klippfisk fra ferskt råstoff ved hjelp av 3 principale komponenter. PC1 er plottet på X-aksen og PC 2 på Y-aksen.

Det er tidligere rapportert at kromoforer (gul-brune sluttprodukter) fra reaksjonen mellom malonaldehyd og fosfolipider (høyt EPA og DHA-innhold), har sitt fluorescens emisjons maksimum ved 475 nm (Frankel, 2005). Man har tidligere funnet et felles fluorescens emisjons maksimum ved 470 nm for en rekke ulike matvarer som; klippfiskfilet fra sei (Sivertsen *et al.*, 2006), saltet torsk (Veberg *et al.*, 2006a), kalkun (Veberg *et al.*, 2006a,b,c), kyllingkjøtt (Wold og Mielnik, 2000), laksepate (Olsen *et al.*, 2006) og smør (Veberg *et al.*, 2006d), som har sammenheng med fettoksidasjon. Fluorescens resultatene våre på klippfisk fra flekket sei ser altså ut til å samsvare med tidligere arbeider.

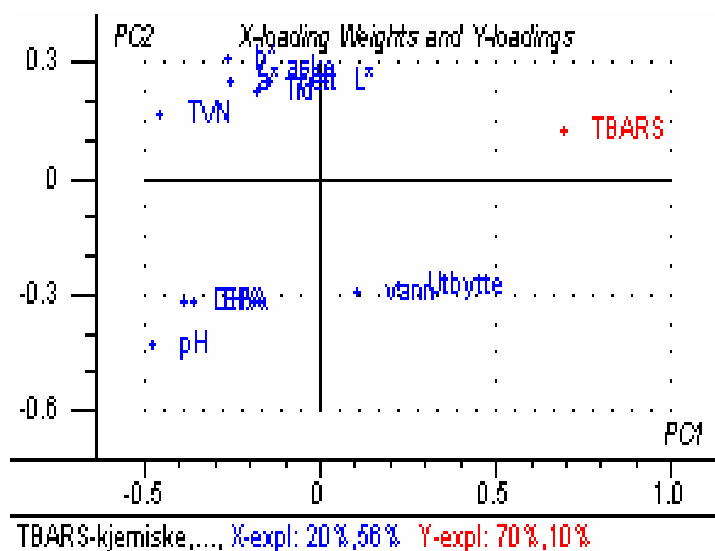
Resultatene fra PCA-analysens loadings og scores plott for klippfisk fra fryst råstoff er framstilt i figur 46. Utfra informasjonen fra PCA-analysen ble det plukket ut enkelt variable og utført multivariate regresjonsanalyser med hensyn på disse som vist i figur 47.

## 7.2 Principal component analyse (PCA) av kjemisk-fysikalske analysedata for klippfisk fra fryst råstoff



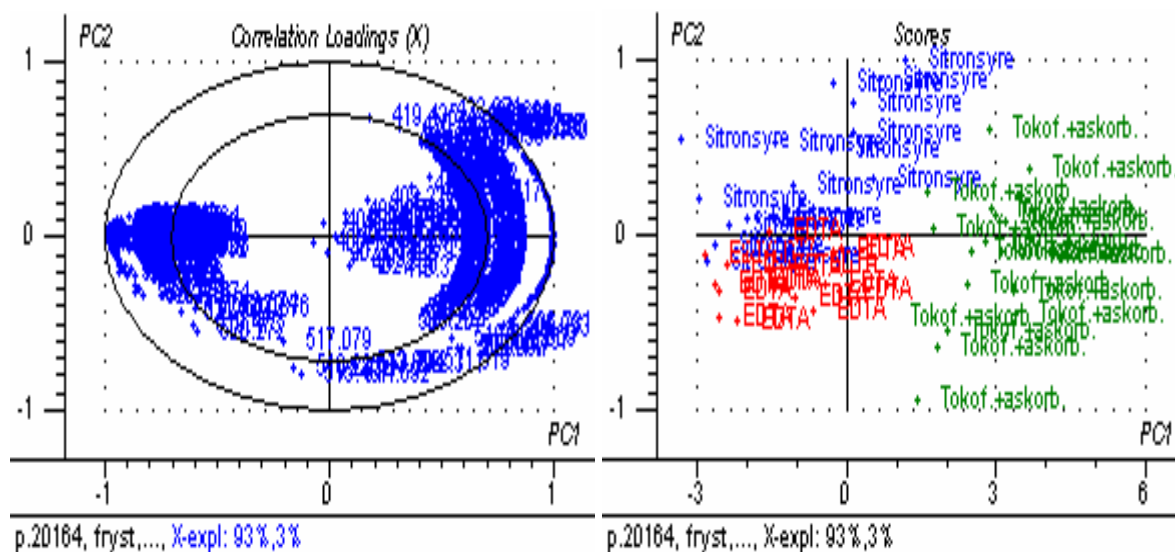
Figur 46. Correlation loadings og scores plott fra en PCA analyse ved hjelp av 5 principale komponenter hvor samtlige kjemiske og fysikalske målinger ble brukt som X-matrise for klippfisken fra fryst råstoff. PC1 er plottet på X-aksen og PC 2 på Y-aksen.

Figur 46 viser at til sammen 77 % av den totale variasjonen i parametrene som her ble undersøkt på klippfisken fra fryst råstoff, var systematiske, vist i PC 1 og PC 2. Variabler diagonalt/rett overfor hverandre i plottets PC1 er negativt korrelerte, og variabler som ligger nært hverandre i plottets PC1 er positivt korrelerte. Harskningsgraden (TBARS) til klippfisken fra fryst råstoff kan hovedsakelig forklares (80% av variasjonen) utfra reduksjonen i muskel-pH og EPA- og DHA-innholdet som vist i den multivariate prediksjonsmodellen (PLS1) i figur 47.



Figur 47. Multivariat prediksjonsmodell (PLS1) med hensyn på TBARS-verdien til klippfisk fra fryst råstoff gjennom 8 måneders fryselagring.

Det ble utført en multivariat principal komponent analyse (PCA) av samtlige fluorescens spektra fra klippfisk fra fryst råstoff gjennom 8 måneders kjølelagring og resultatene er framstilt i figur 48.



Figur 48. Correlation loadings og scores plott fra PCA analysen av fluorescens spektra til klippfisk fra fryst råstoff ved hjelp av 3 principale komponenter. PC1 er plottet på X-aksen og PC 2 på Y-aksen.

I figur 48 ser vi correlation loadings plot og score plot fra PCA-analysen av fluorescens spektra til klippfiskprøvene fra fryst råstoff gjennom 8 måneders kjølelagring. Også for fryst råstoff fikk man en klar gruppering av klippfiskprøvene med hensyn på antioksidant typen som var brukt i prosessen.

### 7.3 Effekter på klippfisk fra både ferskt og fryst råstoff

#### Utbytte

Produksjon av klippfisk fra sei ved 20°C resulterte i et lavt vektutbytte først og fremst på grunn av det lave vanninnholdet i klippfisk. Vi antar det har sammenheng med et raskere saltopptak i fiskemuskelen og økt denaturering av muskelproteinet enn ved produksjon ved lav temperatur (2°C). Det er tidligere påvist lignende temperatureffekter på klippfisk fra fersk seifilet (Lauritzsen *et al*, 2005).

#### Farge

De ulike antioksidantene som var tilsatt i saltet kan ha ført til umiddelbare reaksjoner mellom saltet og råstoffet i starten av prosessen som påvirket rødfargen. Vi antar at endringene i a\*-verdien, skyldes endringer i hemgruppene til hemoglobin og myoglobin i fiskekjøttet og om hvorvidt jernionene i hemgruppene foreligger i fri eller bundet, i redusert eller oksidert form. Utvikling av kryssbundet protein og Maillard type forbindelser i klippfisk, kan også være mulige forklaringer på endringene i rødfargen. Sistnevnte forklaring gjelder også for endringene i b\*-verdien (guldfargen) til klippfisk.

#### Muskel-pH

Muskel-pH sank mest i klippfisk produsert fra ferskt råstoff og som ble saltet med antioksidanten sitronsyre. pH-verdien lå ca. 0.8 enheter lavere enn for kontrollklippfisk



framstilt ved samme temperatur. Sitronsyren ser ut til å binde seg til seimuskelen på en slik måte at de sure sidegruppene i muskelproteinet i større grad blir eksponert for omgivelsene enn ved bruk av de andre antioksidantene. Sannsynligvis har det sammenheng med denaturering av proteinet i fiskekjøttet. Tidligere forsøk på sei har vist muskel-pH verdier på tilsvarende lavt nivå (Lauritzsen *et al.*, 2005).

### **Kjemisk målt harskning (TBARS)**

Harskningsgraden økte dramatisk fra fersk/fryst flekket sei til klippfisk kjølelagret 1 måned og avtok fram til 8 måneders lagring for de fleste forsøksgruppene. Økningen fra ferskt/fryst råstoff til 1 måneds lagret klippfisk, var størst ved bruk av sitonsyre i saltet. Det skyldes sannsynligvis surgjøringseffekten til sitronsyren som kan ha frigjort katalytisk aktive jernioner i fiskekjøttet og dermed fremmet harskning. Tocoferol+ascorbat tilsatt i saltet viste en antioksidativ effekt på klippfisken sammenlignet med kontrollen, men dessverre ble det samtidig dannet uheldige gulrøde fargede forbindelser i fiskekjøttet.

### **EPA og DHA innholdet**

Det ble påvist svært god negativ korrelasjon mellom EPA- og DHA-innholdet i fiskekjøttet og kjemisk målt harskning (TBARS). Med andre ord, nedbrytingsproduktene fra fettsyrene EPA og DHA i fiskekjøttet forklarer økningen av harskningsproduktene. Resultatene viser at klippfisk som er lite harsk, er sunnere å spise med hensyn på å inntaket av EPA og DHA. Det har ikke vært utført lignende undersøkelser tidligere på klippfisk fra sei.

### **Totalt flyktig nitrogen (TVN)**

Bruk av Tocoferol+ascorbat i saltet kan ha bidratt til økt produksjon av flyktig nitrogenforbindelser i fiskekjøttet gjennom framstillings- og kjølelagringsperioden. Enten som følge av økt enzymatisk aktivitet (TMAO ase) eller følge av protein nedbryting og kryssbindingsreaksjoner i fiskekjøttet. Flyktige nitrogenforbindelser kan også kunne påvirke harskningsforløpet og fargeutviklingen til klippfisken (Joly *et al.*, 1992; Joly *et al.*, 1997; Frankel, 2005).

### **Fluorescens spektroskopi**

Det ble framstilt prediksjonsmodeller med hensyn på klippfiskens harskningsgrad (TBARS) og flyktig nitrogen innhold (TVN) utfra klippfiskens fluorescens spektra. Resultatene går fram av tabell 3.

Tabell 3. Partial least squares regression modeller basert på fluorescens spektra med hensyn på harskningsgraden (TBARS) og det totale innholdet av flyktig nitrogen (TVN) i klippfisk fra fersk og fryst sei. Det ble utført full kryssvalidering som valideringsmetode.

<b>Fluorescence spektra versus:</b>	<b>Korrelasjonskoeffisient</b>	<b>RMSEP (N=54)</b>
TBARS (3 PC), fryst	r = 0.92	RMSEP= 3.76
TBARS (5 PC), fersk	r = 0.93	RMSEP= 4.60
TVN (1 PC), fersk	r = 0.74	RMSEP= 5.0
TVN (6 PC), fryst	r = 0.98	RMSEP= 1.20

Tabell 3 viser at fluorescens spektroskopi kan benyttes som en metode for å forutsi hvor harsk klippfisken er og hvor mye totalt flyktig nitrogen den inneholder.



## 8 Konklusjoner

- Man klarte ikke å produsere en lysere klippfisk fra sei ved hjelp av antioksidanttypene, fosfatkonsentrasjonene og temperaturene som ble undersøkt.
- Antioksidanttypene som ble brukt påvirket fargen til klippfisken fra både ferskt og fryst råstoff:
  - Sitronsyre ga den lyseste klippfisken men den ble ikke vesentlig lysere enn kontroll klippfisken.
  - Tocopherol+ ascorbat ga en klippfisk med økende gul- og rødfarge med økende totalt flyktig nitrogeninnhold i løpet av 8 måneders kjølelagring.

Fra ferskt fisk til ferdig klippfisk økte harskningsgraden i fiskekjøttet betraktelig for de fleste forsøksseriene. Dette som følge av redusert muskel-pH og nedbryting av EPA og DHA i fiskekjøttet.

- Sitronsyre ga størst og tocopherol+ascorbat blandingen ga minst tap av EPA og DHA i fiskekjøttet.
- Lav produksjonstemperatur (2°C) ga et 3-4% høyere vektutbytte som både saltfisk og klippfisk enn høy temperatur (20°C).
- Fluorescens spektroskopi er en lovende hurtigmetode for måling av harskning og flyktig nitrogen i klippfisk fra sei.
- Interaksjoner med flyktig nitrogenforbindelser i fiskekjøttet kan ha påvirket utviklingen av gulfarge i klippfisken fra både ferskt og fryst råstoff



## 9 Referanser

- Amano, K. and Yamada, K (1964). Biological formation of formaldehyde in the muscle tissue of gadoid fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 30: 430-435.
- Bligh, E. G. and Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry*.37(8): 911-917.
- Crude protein in Meat, AOAC 981.10. 11: 937 (1990).
- Dulavik, B., Sørensen, N.K., Barstad, H., Horvli, O. & Olsen, RL (1998). Oxidative stability of frozen light and dark muscles of saithe (*Pollachius virens* L.) *J. Food Lipids*, 5: 233-245.
- Dyer, W.J. (1952). Amines in fish muscle. VI. Trimethylamine oxide content of fish and marine invertebrates. *J. Fish. Res. Board Can.* 8: 314-324.
- Fatty Acid Composition by GLC. Marine Oils. AOCS Official Method Ce 1b-89 (1992).
- Frankel, E.N. (2005). Lipid Oxidation. Second edition. The Oily Press, Dundee, UK.
- Gunasekaran, S. (2001). Nondestructive Food Evaluation: Techniques to Analyze Properties and Quality, Marcel Decker, New York, USA.
- Harada, K. (1975). Studies on enzyme catalyzing the formation of formaldehyde and dimethylamine in tissues of fish and shells. *J. Shimonoseki Univ.Fish.* 23: 163-241.
- Joly, A., Cottin, P., Han-Ching, L. and Ducastaing, A. (1992). Trimethylamine N-oxide Demethylase (TMAO-ase) of Saithe (*Pollachius virens*) Kidney: A study of some physiochemical and enzymic properties. *J. Sci. Food Agric.* 59: 261-267.
- Joly, A., Huidobro, A. and Tejada, M. (1997). Influence of lipids on dimethylamine formation in model systems of hake (*Merluccius merluccius*) kidney during frozen storage. *Z Lebensm. Unters. Forsch. A.* 205: 14-18.
- Labuza, T.P. (1971a). Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC in Food Technology*, 355-405.
- Labuza, T.P., Heidelbaugh, N.D., Silver, M. and Karel, M. (1971b). Oxidation at Intermediate Moisture Contents. *J. American Oil Chemists' Society*, 48: 86-90.
- Lauritzsen K., Martinsen G. and Olsen, RL, (1999) Copper induced lipid oxidation during salting of cod (*Gadus morhua* L.). *J. Food Lipids* 6: 299-315.
- Lauritzsen, K. and Olsen, R.L. (2004). Effects of antioxidants on copper induced lipid oxidation during salting of cod (*Gadus morhua* L.). *J. Food Lipids*, 11:105-122.
- Lauritzsen K., Bjørkevold, I., Sivertsen, A. og Gundersen, B.(2005). Misfarging av klippfisk fra sei. Rapport 6. Fiskeriforskning. Mars.
- Moisture in Meat, AOAC 950.46. 11: 931 (1990).
- Morrisey, P.A., Mulvihill, D.M., O'Neill, E.M. (1987) Functional properties of muscle proteins. In: *Developments in Food proteins-5*.Ed: Hudson B.J.F., Applied Sci. Publ., London, UK, 195-256.
- Nawar, W.W. (1996). Lipids. In: *Food Chemistry-3*.Ed: Fennema O.R. Marcel and Dekker, Inc. New York, USA, 225-319.
- Nitrogen (Ammoniacal) in Fertilizers. Magnesium Oxide Method. AOAC 920.03. 1:19 (1990).
- Sikorski, Z. and Kostuch, S. (1982). Trimethylamine N-oxide demethylase: Its occurrence, properties, and role in technological changes in frozen fish. *Food Chemistry*, 9:213-222.
- Sivertsen, A.H., Lauritzsen, K., Veberg, A. and Wold, J.P. (2006). Rapid assessment of storage quality of cliff-fish from saithe by fluorescence spectroscopy. In *Seafood research from fish to dish*. (Eds. J.B. Luten, C.Jacobsen, K. Bekaert, A. Sæbø and Oehlenschläger). Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

- Sodium Chloride in Seafood, AOAC 937.09. 11: 870 (1990).
- Tokunga, T. (1970). Trimethylamine oxide and its decomposition in the blood muscle of fish. I. TMAO, TMA, and DMA contents in ordinary and blood muscles. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 36: 502-509.
- Olsen, T. E. (2005). Kvalitet av saltfisk produsert fra oppdrettet torsk (*Gadus morhua* L.). – Misfarging og effekt av dårlig utbløding. Fiskerikandidatoppgave i marine næringsmidler. Juni. Norges Fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø.
- Olsen, E., Veberg, A., Vogt, G., Tomic, O., Kirkhus, B., Ekeberg, D. and Nilsson, A. (2006). Analysis of early oxidation in salmon pate with cod liver oil and antioxidants. *J. Food Sci.* 71(3), S284-S292.
- Veberg, A., Vogt, G. and Wold, J.P. (2006a). Fluorescence in aldehyde model systems related to lipid oxidation. *LWT-Food Science and Technology*, 39(5), 562-570.
- Veberg, A., Olsen, E., Vogt, G., Mielnik, M., Nilsen, A.N. and Wold, J.P. (2006b). Front face fluorescence spectroscopy- a rapid method to detect early lipid oxidation in frozen stored minced turkey meat. *J. Food Science*, 71(4), S364-S370.
- Veberg, A., Sørheim, O., Moan, J., Iani, V., Juzenas, P., Nilsen, A.N. and Wold, J.P. (2006c). Measurement of lipid oxidation and porphyrins in high oxygen modified atmosphere and vacuum-packed ground turkey and pork meat by fluorescence spectra and images. *Meat Science*, 73(3), 511-520.
- Veberg, A., Olsen, E., Nilsen, A.N. and Wold, J.P. (2006d). Front Face Fluorescence Measurement of Photosensitisers and Lipid Oxidation Products during Photooxidation in Butter. *J. Dairy Science* (submitted July).
- Wold, J. P. (2000). Rapid quality assessment of meat and fish by using near-infrared spectroscopy, auto-fluorescence spectroscopy and image analysis, Ph.D Thesis, Agricultural University of Norway.
- Wold, J.P. and Mielnik (2000). Nondestructive assessment of lipid oxidation in minced poultry meat by autofluorescence spectroscopy. *J. Food Science*, 65(1), 87-95.
- Wold, J.P., Veberg, A., Nilsen, A., Iani, V., Juzenas, P. and Moan, J. (2005). The role of naturally occurring chlorophyll and porphyrins in light-induced oxidation of dairy products. A study based on fluorescence spectroscopy and sensory analysis. *International Dairy Journal*, 14(4), 343-353.



# Fiskeriforskning

Hovedkontor Tromsø:  
Muninbakken 9-13  
Postboks 6122  
N-9291 Tromsø  
Telefon: 77 62 90 00  
Telefaks: 77 62 91 00  
E-post: [post@fiskeriforskning.no](mailto:post@fiskeriforskning.no)

Avdelingskontor Bergen:  
Kjerreidviken 16  
N-5141 Fyllingsdalen  
Telefon: 55 50 12 00  
Telefaks: 55 50 12 99  
E-post: [office@fiskeriforskning.no](mailto:office@fiskeriforskning.no)

Internett: [www.fiskeriforskning.no](http://www.fiskeriforskning.no)

ISBN-13 978 82-7251-601-6  
ISBN-10 82-7251-601-2  
ISSN 0806-6221