

Fiskefarse med redusert innhold av salt (NaCl) og tilsatt natriumalginat

Lise Merete Sitter Bersmo

Bioteknologi (5 årig)

Hovedveileder: Turid Rustad, IBT

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for bioteknologi

Forord

Masteroppgaven i BIOBT3900 ble utført ved Institutt for bioteknologi ved Norges Teknisk-naturvitenskapelige Universitet og er avslutningen på det 5-årige masterprogrammet i bioteknologi.

Jeg vil spesielt takke Professor Turid Rustad og doktorgradsstipendiat Kirsti Greiff for god veiledning både i forhold til gjennomføring av forsøk, faglig og at dere alltid har vært behjelpelige da jeg hadde spørsmål eller trengte hjelp. Jeg har lært utrolig mye dette året takket være dere.

Takk til forsker Kurt I. Draget for veiledning og hjelp til reologiforsøkene.

Jeg vil også takke Marte Schei og Merethe Selnes ved SINTEF Fiskeri og havbruk for opplæring i ulike metoder.

Jeg vil også takke familien min og vennene mine som har vært her for meg dette semesteret. Takk til Siv-Lena for korrekturlesing.

NTNU, Trondheim 15. Mai 2012

Lise Merete Sitter Bersmo

Sammendrag

Flere studier har vist at saltinntaket til mennesker er for høyt, noe som kan føre til økt risiko for blant annet høyt blodtrykk og hjerte- og karsykdommer. Den største delen av saltinntaket kommer fra mat som er bearbeidet. En reduksjon i saltinnholdet i bearbeidede næringsmidler vil ikke bare påvirke smak, men også funksjonelle egenskaper som vannbindingsevne, koketap, geldanning, proteinløselighet og tekstur. Disse egenskapene påvirker også de sensoriske egenskapene. Det er derfor nødvendig med kunnskap om tilsetninger som kan brukes ved lavere saltkonsentrasjoner for å opprettholde både funksjonelle og sensoriske egenskaper i produktet.

Hensikten med denne oppgaven var å studere de fysiokjemiske egenskapene til et modellprodukt av fiskepudding tilsatt en lav saltkonsentrasjon (NaCl), natriumalginat (NA) (1,1%) og disse i kombinasjon. Det ble også målt reologi for fiskefarse tilsatt NA og for et gelet system tilsatt NA, CaCO₃ og glukono- δ -lakton (GDL).

Tilsats av NA (1,1 %), CaCO₃ (0,2 %) og GDL (0,6 %) til fiskefarse ga signifikant økt vannbinding og redusert koketap i fiskepudding sammenliknet med fiskepudding av farse som kun var tilsatt NaCl (0,4 %). Det var også tendenser til at fiskepudding tilsatt NA dannet en sterkere gel for varmebehandlet fiskepudding sammenliknet med fiskepudding tilsatt NaCl. Dette var tilfellet både for fiskepudding laget av ferskt og av fryst råstoff av hyse. Proteinløseligheten til fiskefarsen tydet på at tilsats av NA bidro i større grad til dannelsen av gel enn gelingen av myofibrillproteiner.

Ved å tilsette NA (1 %), CaCO₃ og GDL til fiskemasse (fisk og vann) ble det dannet en gel uten varmebehandling av fiskefarsen, reologiske målinger viste at gelen økte i styrke i løpet av 20 timer.

Dette tyder på at tilsats av NA, CaCO₃ og GDL til fiskefarse bedrer de fysiokjemiske egenskapene til varmebehandlet fiskefarse både av fryst og ferskt råstoff, samt danner en gel i fiskefarse ved lave temperaturer.

Abstract

Research has revealed that the salt intake among human beings is higher than the recommended daily intake. A high intake of salt increases the risk of elevated blood pressure and cardiovascular diseases. The major part of the salt intake results from processed food. A reduction in the salt content of processed food would not only influence the taste, salt is also important for physico-chemical properties like water-binding capacity (WHC), cooking loss, gelation, solubility of proteins and texture. To maintain the functional properties it is necessary to acquire knowledge about additives that can be used in addition to low salt concentrations.

The purpose of this assignment was to study the functional properties in a model of fish pudding (heat treated fish mince) where NaCl (0,4 %) or sodium alginate (SA) (1,1 %) and these two in combination were added. For minced fish with SA added in a gel system together with CaCO₃ and glucono-δ-lactone (GDL) a rheological analysis was carried out.

Addition of SA (1,1 %), CaCO₃ (0,2 %) og GDL (0,6 %) to minced fish showed a significant increase in WHC and reduced cooking loss in minced fish where SA was added compared to minced fish where only NaCl was added.

The tendency was also that minced fish where SA was added formed a stronger gel than minced fish where only NaCl was added.

According to the protein solubility there was an indication that SA had a stronger contribution to the gel formation than the myofibrillar proteins. By adding SA (1 %), CaCO₃ og GDL to minced fish (fish and water) a gel that increased in strength over the 20 hours of measuring time, was formed.

This suggests that addition of SA CaCO₃ and GDL to minced fish can enhance the functional properties of heat-treated fish mince both for fresh and frozen raw materials.

Innhold

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Innledning..... | 2 |
| 1.1 | Bakgrunn for oppgaven | 2 |
| 1.2 | Fiskemuskel | 5 |
| 1.3 | Proteiner | 5 |
| 1.3.1 | Muskelproteiner | 7 |
| 1.3.2 | Geling av proteiner..... | 7 |
| 1.3.3 | Bearbeidede produkter fra muskelvev | 9 |
| 1.3.4 | Salt i fiskeprodukter..... | 10 |
| 1.3.5 | Effekt av temperatur på proteiner | 10 |
| 1.3.6 | Fryselagring av fisk..... | 11 |
| 1.4 | Polysakkarider | 11 |
| 1.4.1 | Alginat..... | 12 |
| 1.4.2 | Geling av alginat med glukono- δ -laktone (GDL)..... | 14 |
| 1.5 | Salt som mikrobielt hinder i næringsmidler | 15 |
| 1.6 | Vannbinding i muskelvev..... | 18 |
| 1.6.1 | Vannbinding i næringsmidler | 18 |
| 1.6.2 | Vannbindingsevne i muskelvev | 18 |
| 1.6.3 | Endringer i muskelvevet <i>postmortem</i> | 19 |
| 1.7 | Reologi | 22 |
| 1.7.1 | Viskoelastiske materialer | 23 |
| 1.7.2 | Viskositet | 23 |
| 1.7.3 | Dynamisk reologi (oscillerende)..... | 24 |
| 1.7.4 | Geler..... | 25 |
| 1.7.5 | Overgang fra uorden til orden | 25 |
| 1.7.6 | Isotrope/anisotrope materialer..... | 25 |
| 1.7.7 | Tekstur | 26 |
| 1.8 | Tilsats av biopolymerer i næringsmidler | 26 |
| 2 | Materialer og Metoder | 29 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.1 | Modellprodukt av fiskefarse | 29 |
| 2.1.1 | Fisk..... | 29 |
| 2.1.2 | Prosedyre for hakking av fisk | 29 |
| 2.1.3 | Varmebehandling av fiskepudding | 31 |
| 2.1.4 | Koketap | 32 |
| 2.1.5 | Vannbindingsevne (VBE)..... | 33 |
| 2.1.6 | Drypptap | 33 |
| 2.1.7 | Tekstur | 34 |
| 2.1.8 | pH | 35 |
| 2.2 | Reologi | 35 |
| 2.3 | Statistikk | 38 |
| 3 | Resultater og Diskusjon | 39 |
| 3.1 | Koketap | 39 |
| 3.2 | Vannbindingsevne | 41 |
| 3.3 | Drypptap | 42 |
| 3.4 | Tekstur | 44 |
| 3.5 | Natriumalginats påvirkning på fiskefarse | 47 |
| 3.6 | Reologiske egenskaper..... | 49 |
| 3.7 | Proteinløselighet..... | 53 |
| 3.8 | Videre arbeid..... | 56 |
| 4 | Konklusjon..... | 59 |
| | Litteratur | 61 |

1 Innledning

1.1 Bakgrunn for oppgaven

Salt (NaCl) har spilt en viktig rolle opp gjennom historien. Til og med det engelske ordet for lønn: *salary*, stammer fra det latinske *salarium*, et begrep som omfatter de romerske soldatenes betaling for å kjøpe salt (Oxford, 2011). Selv i dag er salt et av de mest brukte tilsetningene i næringsmidler. Det er vanlig å tilsette salt i bearbejdede produkter av både kjøtt og fisk, for eksempel pølser, kjøtt- og fiskekaker og fiskepudding. Hovedgrunnen til dette er at salt påvirker både kvalitetsparametere og flere funksjonelle egenskaper i muskelvev: salt løser ut proteiner som kan danne en gel, som igjen øker hydrering og vannbindingsevne. Når proteinene løses ut øker bindeevnen slik at teksturen forbedres, og viskositeten i farsen øker. Proteiner er gode emulgatorer og bidrar til å stabilisere fett i farsen. Salt reduserer vannaktiviteten slik at farsen får økt mikrobiell stabilitet (Albarracín *et al.*, 2011; Desmond, 2006). Salt tilsettes også i mat fordi det fungerer som en smaksforsterker og kan fremheve smaken på maten utover den saltsmaken som NaCl selv bidrar med (Lindsay, 2008a). En annen grunn til den utstrakte bruken av salt er at det er billig (Albarracín *et al.*, 2011).

Forskning har imidlertid vist at saltinntaket i både Europa, USA og deler av Asia er over det dobbelte av hva som er anbefalt som daglig saltinntak. Et høyt saltinntak har i følge forskning vist å ha sammenheng med økt risiko for å utvikle høyt blodtrykk, hjerte- og karsykdommer og flere typer kreft, deriblant kreft i tykktarm og endetarm, magesekk, spiserør, magesekk, lunge, prostata (Helsedirektoratet, 2011).

Helsedirektoratet (2011) anbefaler et daglig inntak av salt på 3-4 g for voksne, ved normal fysisk aktivitet og normalt klima, dette antas å være et optimalt saltinntak. Til sammenlikning er en teskje salt omtrent 7 g, det vil si at man kun bør bruke totalt en halv teskje salt daglig. Det er få data om det faktiske saltinntaket i Norge, det antas at voksne nordmenn har et saltinntak på omtrent 10 g per dag, men at det vil være variasjoner mellom ulike individer. 70-80 % av saltinntaket kommer fra industribearbejdet mat, omtrent 10 % kommer fra rene råvarer. Når det gjelder industribearbejdet mat er det enkelte matvarer som skiller seg ut ved at de har et høyere saltinnhold enn andre, blant disse er kjøttprodukter, spekemat, ekstra saltet spise fett, brød, frokostblandinger, pålegg, enkelte typer ost og snacks.

Sammenliknet med halvfabrikata og helfabrikata vil hjemmelaget mat ha et vesentlig lavere saltinnhold. Helsedirektoratet anser saltinnholdet for å være høyt dersom det overstiger 1,25 g salt per 100 g vare, mens 0,3 – 1,25 g salt per 100 g vare regnes som middels saltinnhold. Et lavt saltinnhold vil si mindre enn 0,3 g salt per 100 g vare (Helsedirektoratet, 2011).

For industrien betyr den økende bekymringen for at saltinntaket overstiger anbefalingene, en mulighet til å tilby produkter med redusert saltinnhold (Ramirez *et al.*, 2011). Det er også ønskelig både fra forbrukernes og myndighetenes ståsted å redusere saltinnholdet i bearbejdede produkter (Risbråthe, 2010). Problemet er, som nevnt, at salt påvirker de funksjonelle egenskapene til bearbejdede produkter. For å utvikle produkter med et lavere saltinnhold kreves tilsats av andre stoffer for å oppnå de ønskede egenskapene i det ferdige produktet. Det er derfor ønskelig å tilsette stoffer som kan bidra til å oppnå blant annet ønsket vannbindingsevne og tekstur i produktet (Ramirez *et al.*, 2011).

Menneskekroppen skiller hele tiden ut noe natrium, først og fremst gjennom urinen. Det er derfor nødvendig å innta noe natrium gjennom kostholdet for å kompensere for det som skilles ut. Normalt sett vil voksne mennesker klare seg med et inntak på 1,5 g NaCl/dag. Natriumreguleringen er vanligvis veldig god, og ved behov kan mer enn 99 % av natrium som er skilt ut i primærurinen, reabsorberes i nyrene. Dersom det er overskudd av natrium, har nyrene også kapasitet til å skille ut store mengder natrium. Normalt sett utskiller mennesker 2-5 g natrium daglig gjennom urinen (Helsedirektoratet, 2011).

I følge Helsedirektoratet (2011) har American Heart Association bevist at et lavere inntak av natrium ($\leq 2,3$ g per dag) og et høyere inntak av kalium ($\geq 4,7$ g per dag) gir en gunstig effekt på individer med høyt blodtrykk. I sin rapport peker Helsedirektoratet på WHO sine funn av en sammenheng mellom økt saltinntak og risiko for høyt blodtrykk. Ekspertgrupper av både europeiske og amerikanske forskere har konkludert med at det er en sammenheng mellom saltinntak og blodtrykk. Om økningen i blodtrykket skyldes en dose-respons-sammenheng eller om saltinntaket må overstige en terskelverdi for å gi en økning, er et omdiskutert tema. Mekanismen som forklarer sammenhengen mellom høyt saltinntak og høyt blodtrykk er foreløpig ikke fullstendig avklart, selv om det er foreslått flere mulige mekanismer basert på studier både *in vitro*, prøver av vev og celler, samt eksperimentelle dyremodeller (Helsedirektoratet, 2011).

Selv om det er industribearbejdet mat som bidrar til mesteparten av saltinntaket i europeiske land (70-80%), har undersøkelser av kantinemat og gatekjøkkenmat fra Danmark vist at

også denne maten kan inneholde store mengder salt, fra 2 g til 14 g per porsjon (Helsedirektoratet, 2011).

Norges forskningsråd støtter prosjektet "Low Salt" (prosjektnummer 185063/I10) som har som hovedmål: *"å styrke kunnskapen og kompetansen i industrien og forskningsinstituttene på lavsaltprodukter med hovedvekt på kvaliteten på maten, holdbarhet og lønnsomhet og marked"*, deltakerne i prosjektet er Mills, Spis-Grilstad, Stabburet, Nortura, Finsbråten, Brødrene Remø og Berggren. Prosjektet er et samarbeid mellom bedriftene, Nofima og Sintef Fiskeri og havbruk, og ledes av Sintef Fiskeri og havbruk. Et underliggende mål er å kartlegge de ulike effektene reduksjon av saltinnholdet har på strukturen til nettverket i maten med hensyn på kvaliteten i maten, og særlig tekstur og sensoriske egenskaper (Sintef, 2008).

Målet med denne oppgaven har vært å studere hvordan en reduksjon i saltinnholdet påvirker fysiokjemiske (funksjonelle) egenskaper som vannbindingsevne (VBE); evne til geling og tekstur i et modellprodukt av varmebehandlet fiskefarse. Det ble også studert hvordan tilsats og geling av natriumalginat kan påvirke de reologiske egenskapene i fiskefarse. Det ble også bestemt proteinløselighet for vannløselige og saltløselige proteiner av Ida Karoline Sivertsen.

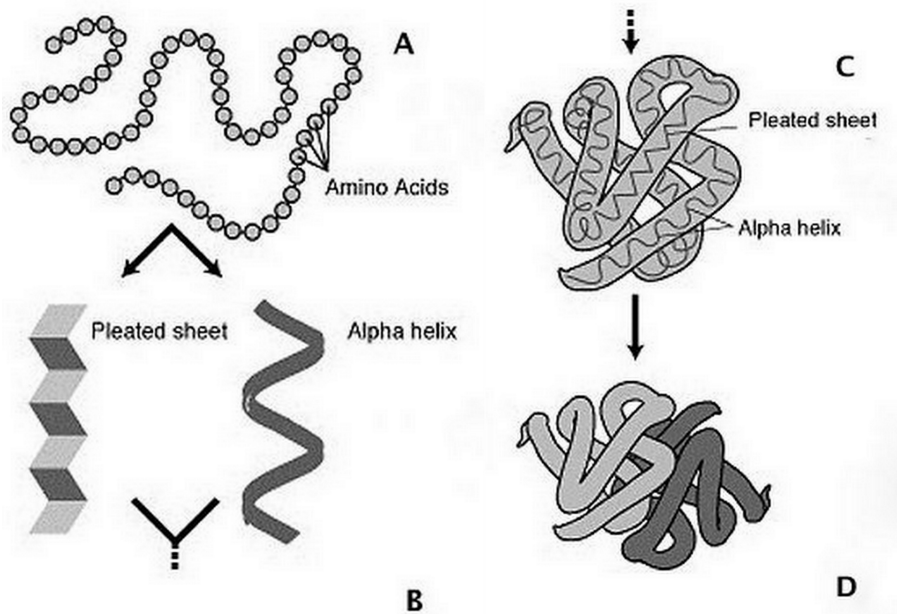
1.2 Fiskemuskel

Biokjemisk sett er det forskjeller på muskel fra fisk, pattedyr og fugler. I vestlige land har blant annet innføring av surimiteknologi ført til økt forståelse for fiskemuskelens biokjemi, samt den fysiokjemiske oppførselen til proteinnettverket som dannes ved geling (Ramirez *et al.*, 2011).

Hyse, *Melanogrammus aeglefinnus*, brukes som råstoff i ulike farseprodukter av fisk. Muskel av hyse har et proteininnhold på 16,6g/100g. Andelen tørrstoff i hyse er 19,2g/100g, innholdet av fett er 0,2g/100g, og glykogeninnholdet er mindre enn 0,1 g/100g (Lynum, 2005).

1.3 Proteiner

Proteiner er komplekse polymerer som er bygd opp av opptil 21 ulike α -L-aminosyrer. De er videre bundet sammen ved hjelp av amidbindinger (Damodoran, 2008). Funksjonen til proteiner bestemmes av den tredimensjonale strukturen, som igjen bestemmes av aminosyrerekkefølgen. Strukturen til proteiner er ordnet i fire nivåer (Figur 1): primærstrukturen beskriver alle kovalente bindinger som binder sammen aminosyrene i polypeptidkjeden, og utgjør rekkefølgen av aminosyrene. Sekundærstrukturen er organisering av bestemte deler av polypeptidkjeden i enten α -heliks, β -ark eller β -folder. Tertiærstrukturen er den tredimensjonale strukturen til det foldede proteinet. Proteiner som har mer enn én polypeptidkjede, har også kvarternærstruktur, som beskriver hvordan de ulike polypeptidkjedene er ordnet i forhold til hverandre (Nelson & Cox, 2008a, 2008b).



Figur 1: Strukturen til proteiner er ordnet i fire nivåer: A) Primærstrukturen er rekkefølgen av aminosyrene. B) Sekundærstrukturen er organisering av bestemte deler av polypeptidkjeden i α -heliks eller β -foldede ark (pleated sheet). C) Tertiærstrukturen er den tredimensjonale strukturen til det foldede proteinet. D) Kvarternærstruktur som beskriver hvordan de ulike polypeptidkjedene er organisert i forhold til hverandre i proteiner som har mer enn én polypeptidkjede. Figuren er tilpasset fra (Martz).

Proteiner kan ha mange biologiske funksjoner og blant annet være enzymer (katalase, protease, amylase), strukturproteiner (kollagen, keratin og elastin), kontraktile proteiner (myosin, aktin og tubulin), hormoner (insulin og veksthormon), overføringsproteiner (transferrin og hemoglobin), antistoffer (immunoglobuliner), lagringsproteiner (i egg og frø) eller fungere som beskyttelse (toksiner og allergener) (Damodoran, 2008).

Proteiner kan klassifiseres på forskjellige måter, blant annet ut fra struktur, da deles de i globulære proteiner som er foldet slik at de danner en kuleformet eller ellipsoid form; og bindevevsproteiner (fibrøse proteiner), som er stavformet og består av lineære kjeder av polypeptider som er vridd, eller kjeder av globulære proteiner. De fleste proteiner er globulære proteiner, mens bindevevsproteiner alltid er strukturproteiner (Damodoran, 2008).

Proteiner har både en hydrofil og en hydrofob del og kalles derfor amfipatiske molekyler. På grunn av sin amfipatiske karakter vandrer proteiner til grenseflater mellom luft og vann eller olje og vann. Denne vandringen skjer spontant, noe som tyder på at proteinene har lavere fri energi ved grenseflata enn i den vandige bulk-fasen. Når det er etablert en likevekt vil proteintettheten derfor være større i grenseflate-regionen enn i bulkfasen. I motsetning til surfaktanter (overflateaktive molekyler) med lav molekylvekt, danner proteiner en viskoelastisk film på/i grenseflata, denne kan motstå mekanisk sjokk under lagring og behandling. Proteinestabiliserte skum og emulsjoner er mye brukt på grunn av sin stabile karakter sammenliknet med emulsjoner og skum som er stabilisert av surfaktanter av små molekyler. Selv om den gjennomsnittlige hydrofobisiteten for de fleste proteiner faller innenfor et relativt smalt område, er det større forskjeller i overflateaktiviteten. Det er konkludert med at dette sannsynligvis har sammenheng med konformasjonen til proteinet (Damodoran, 2008).

1.3.1 Muskelproteiner

Muskelproteiner kan inndeles i grupperes på ulike måter. Basert på løselighet deles muskelproteiner hovedsakelig i tre grupper; vannløselige proteiner (sarkoplasmaproteiner), saltløselige proteiner (myofibrillproteiner) og uløselige proteiner (stromale proteiner). Når det gjelder prosessering eller bearbeiding av muskelvev er de saltløselige proteinene regnet som de viktigste, fordi disse proteinene har evnen til å danne nettverk i form av tredimensjonale geler som gir ønsket tekstur i produkter av bearbeidet muskelvev (Asghar *et al.*, 1985; Pan *et al.*, 2011; Strasburg *et al.*, 2008). Proteiner kan ha mange roller i ulike næringsmidler og kan blant annet bidra til løselighet, viskositet, vannbinding, geling, kohesjon-adhesjon, elastisitet, emulgering, skumdanning og til å binde fett eller smak (Damodoran, 2008).

Den største andelen av muskelproteiner er myofibrillproteinene som utgjør 50-60 %, myofibrillproteiner. Ved relativt høye konsentrasjoner av NaCl (> 0,3 M) løseliggjøres myofibrillproteiner. Den fysiologiske saltkonsentrasjonen i muskelvev er omtrent 0,15 M, som er lavt nok til å hindre utsalting av myofibrillproteinene til sarkoplasmaet. Myosin og aktin utgjør mesteparten av myofibrillproteinene, til sammen omtrent 65 %, og nærmere 40 % av det totale innholdet av muskelprotein (Strasburg *et al.*, 2008).

1.3.2 Geling av proteiner

Myofibrillproteinene må ekstraheres før de kan danne en gel. Dette blir ofte gjort ved å løseliggjøre myofibrillproteinene ved tilsats av salter (2-3 %) ved pH 6-7 som er pH i

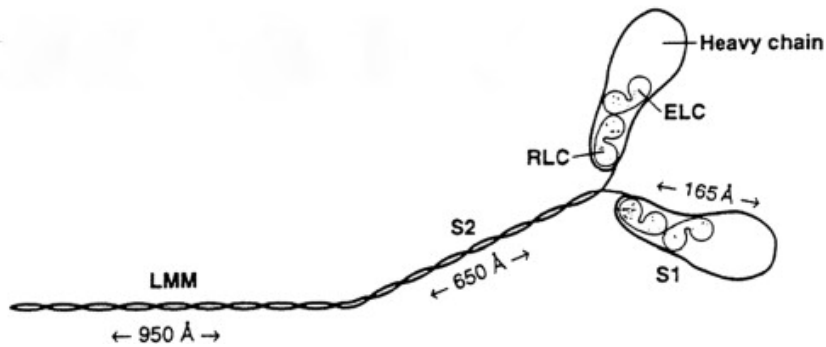
postrigor i fiskemuskel. Neste trinn i gelingsprosessen er varmedenaturering av proteinene (Strasburg *et al.*, 2008). For torsk (*Gadus morhua*) begynner denatureringen ved 30 °C. Ofstad *et al.* (1993) fant at vanntapet for torsk økte ved oppvarming fra 20 til 35 °C og at vanntapet var størst ved 45-50 °C (Ofstad *et al.*, 1993). Det siste trinnet i gelingen er aggregering av proteiner. Dersom det benyttes en lavere saltkonsentrasjon enn 0,3 M, vil dette medføre en reduksjon i mengden proteiner som løseliggjøres og ekstraheres, noe som igjen påvirker de funksjonelle egenskapene, blant annet geldanning og vannbindingsevne (Ramirez *et al.*, 2011; Skipnes *et al.*, 2011; Strasburg *et al.*, 2008).

Generelt sett er geling er en omdanning fra et materiale med flyteegenskaper (sol) via progel til en gel. Tendensen er at systemet går fra en lavere grad av orden i materialet med flyteegenskaper til et ordnet gelsystem. I sol-stadiet er det et begrenset antall nonkovalente grupper som har mulighet til å danne bindinger slik at det dannes et proteinnettverk. Ved progel-stadiet er løsningen ofte blitt mer viskøs og det har skjedd noe denaturering og polymerisering av proteiner, og mange funksjonelle grupper eksponeres slik at de kan bidra til å danne et proteinnettverk. Ulike komponenter kan bidra til å gjøre omdannelsen fra sol til gel enklere; slike komponenter kan være varme, enzymer eller bestemte betingelser, som divalente kationer (Damodoran, 2008).

De viktigste myofibrillproteinene som er involvert i geldanning er myosin og aktomyosin. Faktorer som påvirker gelingen til myofibrillproteiner er blant annet strukturen og størrelsen til proteinene, type muskelvev og betingelser som pH, ionestyrke og hastigheten på oppvarming. Sarkoplasmaproteiner er vanligvis ikke involvert i geling i bearbeidet muskelvev. Dette skyldes blant annet at i saltet muskelvevet koagulerer sarkoplasmaproteinene lett under varmebehandling ved 40 til 60 °C. Det skjer dermed ikke noen dannelse av en ordnet, funksjonell struktur i form av en gel (Strasburg *et al.*, 2008).

Myosin er en god geldanner fordi molekylet er langt i forhold til diameteren (Figur 2). Aktin som er et globulært protein er en dårlig geldanner. Aktin kan likevel forsterke geler av myosin. Tendensen er at myofibrillproteiner danner de sterkeste gelene rundt pH 6,0 med små variasjoner ved ulike muskler og dyrearter. Myosin kan i stor grad forklare mekanismen til geling av myofibrillproteiner ved varmebehandling. Dersom betingelsene ved prosessering er pH 6,0 og 0,6 M (2,5 %) NaCl (relativt vanlige betingelser) vil gelingen starte med at S1-regionen av myosin, det vil si myosinhodet foldes ut når proteinene varmes til 35 °C, videre leder dette til hydrofobe interaksjoner mellom myosinhodene. Ved omtrent 48 °C samles myosinhodene og danner en elastisk struktur via disulfidbindinger mellom

molekylene. Ved 50-60 °C er elastisiteten lavere. Ved videre oppvarming vil interaksjoner mellom myosinhalene (LMM) føre til at det dannes permanente tråder og filamentære gelnettverk som stabiliseres av disulfidbindinger. Disse nettverkene har høy elastisitet og vannbindingsevne (Strasburg *et al.*, 2008).



Figur 2: Strukturen til myosin med de to tunge kjedene (heavy chain) som danner myosinets to hoder. Ved proteolyse vil myosin deles i lett meromyosin (LMM) og tungt meromyosin (HMM) (Poulanne & Halonen, 2010).

1.3.3 Bearbeidede produkter fra muskelvev

Produkter av muskelvev bearbeides blant annet for å øke mangfoldet av produkter, tilby enklere løsninger, eller for å øke holdbarheten (Strasburg *et al.*, 2008). Bearbeiding av muskelvev involverer ofte omfattende endringer i fysiokjemiske egenskaper sammenliknet med ferskt muskelvev. Det er vanlig å dele bearbeidede produkter i tre hovedkategorier: 1) De produktene der muskelstrukturen stort sett er intakt, og det er minimale endringer, for eksempel lettsaltet torsk og røkt laks, ; 2) produkter med moderate endringer i struktur, for eksempel Lerøys produkter påleggslaks og påleggsørret; og 3) produkter som er finmalt og deretter formet på nytt, for eksempel fiskeboller, fiskepudding og andre farseprodukter (Strasburg *et al.*, 2008).

Bearbeidede fiskeprodukter kan være laget av kvernet og/eller hakket muskel. Produktene kan brukes som de er, eller tilsettes ingredienser for å lage produkter som har en annen form og tekstur enn utgangspunktet (Borderias *et al.*, 2005). Eksempler på bearbeidede fiskeprodukter som er vanlige i Norge er fiskekaker, fiskepudding, fiskepinner, fiskeboller. I tillegg til bearbeidede fiskeprodukter finnes det også sjømatanaloger som er etterlikninger av sjømat. Crabsticks er kanskje den vanligste og mest kjente sjømatanalogen i Norge. I

motsetning til hva navnet tilsier er ikke crabsticks laget av krabbekjøtt, men av *surimi* (Borderias *et al.*, 2005).

Surimi er et konsentrat av myofibrillprotein. Det lages ved å vaske fiskemuskel som er kvernet og mekanisk utbeinet, slik at bestanddelen av fett i sarkoplasma fjernes. Deretter blandes fiskemassen med frysestabilisatorer (kryoprotektanter) for å hindre frysedenaturering av proteiner under fryselagring. Det er vanskelig å fjerne katepsiner og proteaser fullstendig i vaskeprosessen. Proteolytisk aktivitet kan skape problemer i fisk som brukes ved produksjon av surimi, og føre til redusert kvalitet i surimibaserte produkter. Proteasene har høy aktivitet i temperaturintervallet 45-55° C, og kan dermed ødelegge teksturen i sjømatanaloger av surimi under varmebehandlingsprosessen ved at de degraderer aktomysin. En løsning på dette problemet kan være å tilsette for eksempel eggehvite eller potetstivelse for å hindre at gelen blir myk (Strasburg *et al.*, 2008).

For surimigeler er det registrert en svekking av gelen ved tilsats av alginater, men for bearbejdede produkter av rå fisk er alginater gode geldannere og brukes ved lave temperaturer eller under frysepunktet (Ramirez *et al.*, 2011).

1.3.4 Salt i fiskeprodukter

Mange fiskeprodukter saltes. Salting deles i tre nivåer: det første er mild (lav) salting, der konsentrasjonen er under 20 % i væskefasen, slike produkter krever kjølig lagring for å beskytte produktet for eksempel røkelaks. Nivå to er moderat salting som også er konsentrasjoner på under 20 %, men disse konsentrasjonene er høyere enn for førstnevnte for eksempel spekesild. Intens salting omfatter saltkonsentrasjoner på over 24 %, slik fisk kan brukes som råstoff. For å forsterke konserveringen fra salteprosessen, er det vanlig å tørke fisken slik som for klippfisk (tørket, saltet torsk) og tunfisk (Albarracín *et al.*, 2011).

1.3.5 Effekt av temperatur på proteiner

Myofibrillproteiner er saltløselige proteiner, og ved tilsats av saltkonsentrasjoner over 0,3 M blir disse løseliggjort slik at de kan bedre bindeevnen til muskelvevet og forbedre teksturen. Nettverket som dannes av myofibrillproteinene fører til økt vannbindingsevne og hydrering (Desmond, 2006).

Setting av en gel kan skje ved at muskelvev (av fisk) hakkes sammen med salt, og deretter får stå kaldere enn 40 °C. Ved påfølgende oppvarming kan myofibrillproteiner danne en elastisk gel. Under setting endres teksturen i produktet, noe som skyldes polymerisering av myosin på grunn av dannelse av kovalente kryssbindinger, det er vist at dette ikke dreier seg om

disulfidbroer (Esturk *et al.*, 2004). Når det gjelder setting ved lave temperaturer er myosin det viktigste myofibrillproteinene som er involvert i geldanning.

1.3.6 Fryselagring av fisk

Fryselagring fører til frysedenaturering og aggregering av proteiner, dette påvirker strukturen til myofibrillnettverket. Frysedenaturering kan blant annet føre til endringer i myofibrillenes morfologi, og videre påvirke de funksjonelle egenskapene til gelen, og gi uønskede endringer i tekstur (Badii *et al.*, 2003; Moreno *et al.*, 2010).

Dersom fisk fryselagres, særlig torskefisk, vil kryssbinding av myofibrillproteiner føre til såkalt frysedenaturering. Dette fører til flere uønskede effekter i produktet, blant annet økt hardhet i fisken og tap av funksjonelle egenskaper som vannbinding og geldanningsevne, i tillegg til økt ATPase-aktivitet som er en indikator på de uønskede proteinendringene. Både økt tid og temperatur for fryselagringen øker omfanget av endringene (Sikorski *et al.*, 2008). Det antas at frysedenaturering av proteiner skyldes både dannelse av store iskrystaller som kan gjøre skade på muskelfibre og dermed føre til endring i proteinstruktur, men også oppkonsentrering av løste stoffer i den flytende delen av vannfasen kan føre til denaturering av proteiner (Badii *et al.*, 2003).

På grunn av enzymet trimetylamin-*N*-oksid demetylase (TMAOase) som bidrar til dannelsen av formaldehyd (FA) og dimetylamin (DMA) er torskefisk (*Gadidae*-familien) særlig utsatt for slik frysedenaturering. FA og DMA dannes ved degradering av substratet trimetylamin-*N*-oksid (TMAO) som finnes naturlig i muskelvev hos marine fisk. TMAOase finnes i den vannløselige proteinfraksjonen, derfor fører vasking av muskel før frysing til reduksjon i dannelse av FA og DMA (Sikorski & Kostuch, 1982). Det er ikke TMAOase-aktivitet i hyse, og det dannes derfor kun små mengder formaldehyd, og TMAOase er derfor ikke et problem i forhold til frysedenaturering i hyse (Badii *et al.*, 2003; Leelapongwattana *et al.*, 2010).

1.4 Polysakkarider

I motsetning til proteiner som er primære genprodukter og dannes ved biosyntese slik at et bestemt protein har en bestemt molekylvekt (M_w) som igjen defineres av aminosyrerekkefølgen (primærstrukturen), har polysakkarider i større grad en varierende

molekylvekt (Ross-Murphy, 1994). For molekyler som ikke er polymere, er det enkelt å arbeide med molekylvekt, ettersom alle molekyler med samme kjemiske struktur også har samme molekylvekt. For biopolymerer kan molekylvekt være varierende for eksempel for polysakkarider. Prøver av polysakkarider vil typisk bestå av en populasjon av molekyler med samme primærstruktur, men med varierende molekylvekt (Smidsrød & Moe, 2008). Grunnen til dette er at polysakkarider er sekundære genprodukter, og polysakkarider er ikke kodet direkte for i DNA, de vil derfor produseres med varierende antall monomerer i kjeden, og dermed få varierende molekylvekt (Draget & Haug, 2010).

En annen betegnelse på biopolymerer er hydrokolloider, dette er vannløselige polymere som forekommer naturlig i store mengder i naturen. Hydrokolloider kan være ekstrakter fra planter, tang og tare eller mikroorganismer (Dickinson, 2003; McKenna, 2003). Hydrokolloider kan ha mange ulike funksjoner, i mat brukes de først og fremst for å kontrollere tekstur og sensoriske egenskaper, særlig ved å øke viskositeten og gelegenskaper (McKenna, 2003).

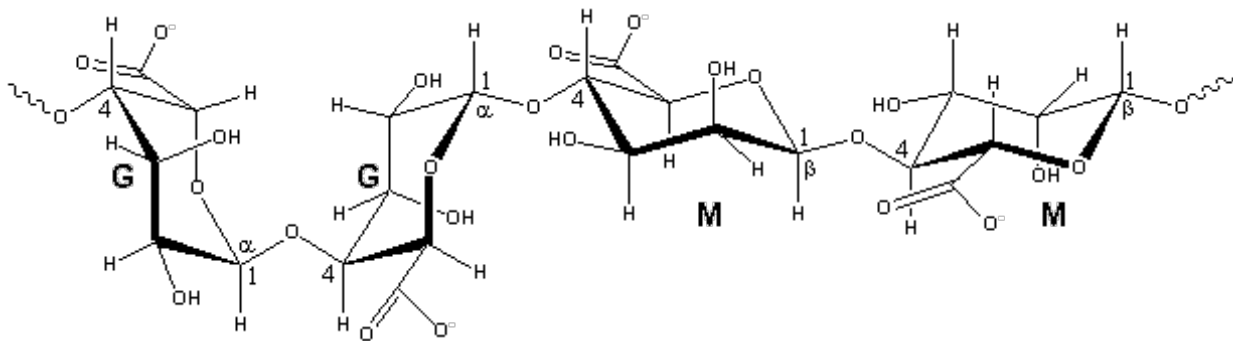
1.4.1 Alginat

Alginat er en lineær biopolymer som består av (1→4) koblede β-D-mannuronsyre- (M) og α-L-guluronsyre- (G) enheter, som utvinnes fra brunalger (*Phyophyceae*) (Smidsrød & Moe, 2008). Alginat inneholder to ulike monosakkarider og er derfor et diheteroglykan. Ettersom M og G kan grupperes i tre ulike blokker ut fra på hvilken måte de er fordelt i alginatkjedene: poly-M, poly-G eller som alternerende MG-blokker, er ikke alginat en definert "enhet". Varierende distribusjon av de ulike blokkene fører til at det finnes mange typer alginat, og det er derfor vanlig å snakke om alginater heller enn alginat (Dettmar *et al.*, 2009).

Den kjemiske sammensetningen til alginater varierer mellom ulike arter av alger, og kan variere i ulike typer vev i forskjellige deler av planten. For eksempel kan det være varierende sammensetning av M og G i stengelen og i blader for tare, samt variasjoner fra plante til plante. Dessuten kan sammensetningen endre seg som følge av sesongbetonte variasjoner og ved endrede betingelser i havet (Dettmar *et al.*, 2009; Smidsrød & Moe, 2008). Alginat har funksjon som strukturkomponent i tare, både stortare og fingertare. Flere typer bakterier produserer alginater som en slags kapsel rundt seg for beskyttelse og for å feste seg til overflater (Smidsrød & Moe, 2008). Alginater fra kjempetare (*Macrocystis pyrifera*) og grisetang (*Ascophyllum nodosum*) har et høyt innhold av mannuronsyre, respektive 61% og

65%, mens stortare (*Laminaria hyperborea*) har et høyt innhold av guluronsyre (69%) (McKenna, 2003).

Alginater som brukes kommersielt er salter av alginat, vanligvis natriumsaltet som er en lineær polyuronsyre, som blir framstilt ved isolering fra brunalger (BeMiller & Huber, 2008). Alginat brukes først og fremst som fortykningsmiddel, stabilisator og gelingsmiddel i næringsmidler (Williams & Philips, 2000). Natriumalginat har E nummer 401 (Mattilsynet, 2011). Generelt er bruk av polysakkarider i næringsmidler først og fremst knyttet til geling eller fortykning av vandige systemer, eller modifikasjon og/eller kontroll av flytegenskaper og tekstur for flytende produkter og for å kontrollere deformasjonsegenskaper for halvfast (semisolide) produkter (BeMiller & Huber, 2008).



Figur 3: Strukturen til alginat, guluronsyre- og mannuronsyre-enheter og hvordan de er koblet sammen. MM er koblet diekvatorialt hvilket gir en lineær binding, mens GG er koblet, hvilket fører til en fordypning som fungerer som sete for Ca^{2+} . MG er koblet ekvatorialt-aksialt (knekk i kjeden) (Chaplin, 2011).

Natriumalginat (NA) er lett løselig i vann, og danner viskøse løsninger. Ved overskudd av divalente kationer (særlig kalsium i mat) dannes det termoirreversible geler (McKenna, 2003). NA geler med alle divalente kationer, men ettersom barium (Ba) og strontium (Sr) er toksiske og magnesium (Mg) danner dårlige geler sammenliknet med kalsium (Ca) er det vanlig å bruke sistnevnte (Smidsrod, 1973). I geler av alginat er det først og fremst guluronsyre-enheter som er involvert i geldannelse, andelen av G og hvordan disse er fordelt langs alginatkjedene har også betydning for egenskapene til alginatgelene (McKenna, 2003). Motstående G-enheter kobles sammen diaksialt og danner en fordypning i kjeden (Figur 3). Denne fordypningen danner et bindingssete for kationer som interagerer med karboksylgrupper og hydroksylgrupper. Intramolekylær kryssbinding med divalente kationer

fører til at det dannes knutepunktssoner og et tredimensjonalt gelnettverk, denne mekanismen kalles eggboks-modellen. Ved rask tilsats av divalente kationer til NA, dannes det geler som ikke er homogene. For å sikre dannelse av homogene alginatgeler er det vanlig med langsom frigjøring av ionene som bidrar til kryssbinding *in situ* (McKenna, 2003).

Dersom lineære polysakkaridkjeder inneholder ladde grupper kan ikke kjedene assosiere på grunn av Coulombsk frastøting, det dannes da stabile løsninger. Et eksempel på dette er NA der alle uronsyreenhetene i saltformen av alginatet har en karboksylsyregruppe med negativ ladning dette fører til en stabil løsning. Dersom pH senkes slik at de fleste karboksylsyregruppene deioniseres (dette skjer ved $\text{pH} = 3$ for alginat ettersom pK_a for monomerene er 3,38 og 3,65), blir molekylene mindre ladd. Dette kan føre til en utfelling eller geling (BeMiller & Huber, 2008).

1.4.2 Geling av alginat med glukono- δ -lakton (GDL)

Polysakkaridgeler være relativt sterke geler, selv med kun 1% biopolymer og opp mot 99% vann. Det er mange faktorer som avgjør hvilken geldanner som blir valgt, blant annet avhenger dette av ønsket viskositet eller gelstyrke, ønsket reologi, pH i systemet og temperatur ved prosessering (BeMiller & Huber, 2008).

Dersom alginat geles ved intern setting med CaCO_3 , fungerer glukono- δ -lakton (GDL) som en såkalt forsinker. Når GDL løses i vann hydrolyseres den til glukuronsyre som gir en kontrollert reduksjon i pH. Dette medvirker til at Ca^{2+} frigjøres langsomt, hvilket igjen styrer gelingen av alginatet (Dettmar *et al.*, 2009). En langsom geling gjør at alginatblandingen kan tilsettes, og at gelingen til en viss grad kan kontrolleres slik at den ikke skjer på et lite gunstig tidspunkt under produksjonen (McKenna, 2003). Draget *et al.* (1989) påpeker at en fordel med *in situ* geling av alginat ved bruk av CaCO_3 og GDL også gir muligheten for å danne homogene alginatgeler over et bredt pH-område, med sluttprodukter som ikke er toksiske. Sammenliknet med andre metoder for geling som benyttes i industrien, kreves ofte lav pH for å frigjøre kalsium, og tilsetninger som benyttes for kompleksdannelse kan være toksiske (Draget *et al.*, 1989).

Generelle karaktertrekk ved alginatgeler av natriumalginat er at de geler med kalsium, og danner viskøse løsninger som ikke er spesielt skjærtynnende (se kapittel 1.7.2 Viskositet) Geler av alginat er dessuten relativt termostabile, og viser liten eller ingen synerese. Fordi geler av alginat er termostabile kan de opprettholde formen de har ved geling uten at de

krever kjøling (BeMiller & Huber, 2008). Termostabiliteten innebærer også at alginatgeler ikke smelter ved oppvarming (varmebehandling) (McKenna, 2003). Alginatgeler smelter derfor ikke på tungen, slik som geler av gelatin (BeMiller & Huber, 2008).

Når det skal lages en polymerløsning, må polymeren løses opp først, deretter kan salt tilsettes. Grunnen til dette er at økt ionestyrke i vannfasen reduserer kinetikken for oppløsning (Draget & Haug, 2010).

Mellom proteiner og biopolymere er det primært elektrostatiske interaksjoner og da mellom de anioniske gruppene på hydrokolloidet og de positivt ladede gruppene på proteinet (Montero *et al.*, 2000). Natriumalginat geler ved intermolekylære assosiasjoner med polyvalente kationer (vanligvis kalsium). Flere studier (Montero *et al.*, 2000; Moreno *et al.*, 2010; Pérez-Mateos & Montero, 2000) har funnet indikasjoner på at alginatgeler interagerer med myofibrillproteiner. Disse interaksjonene kan forstyrre nettverket som dannes av myofibrillproteinene (Montero *et al.*, 2000; Moreno *et al.*, 2010). Montero *et al.* (2000) har i sine studier ved hjelp av lysmikroskop observert at alginat delvis er bundet til proteinnettverket (Montero *et al.*, 2000). Moreno *et al.* (2010) har i sine studier funnet antydninger til at alginat som er gelet med kalsium danner et nettverk parallelt med muskelen, og at dette nettverket kan interagere med proteiner (Moreno *et al.*, 2010).

Montero *et al.* (2000) fant også at alginat fordelte seg i fordypninger i gelene og var fordelt i hele nettverket (Montero *et al.*, 2000). Generelt sett øker VBE ved tilsats av biopolymerer (Montero *et al.*, 2000; Pérez-Mateos & Montero, 2000).

1.5 Salt som mikrobielt hinder i næringsmidler

Salt spiller fortsatt en rolle når det gjelder konservering av ulike næringsmidler. Det finnes mange ulike metoder for konservering, de fleste av disse baserer seg på å inhibere mikrobiell vekst (Albarracín *et al.*, 2011). I både tradisjonelle og nye matvarer brukes det ofte en kombinasjon av konserveringsmetoder (hinder) som mikroorganismene ikke klarer å overvinne. Dette kalles hinderteknologi, et begrep som ble innført av Leistner. Konseptet med hinder viser at det er en kompleks sammenheng mellom temperatur, vannaktivitet (a_w), pH og redokspotensiale, samt at alle disse har betydning for den mikrobielle stabiliteten til matvarer. (Leistner, 1999).

Salt har ikke noen konserverende evne i seg selv, men ettersom salt reduserer vannaktiviteten (a_w) kan det bidra til å forsinke mikrobielle prosesser ettersom disse i stor grad er avhengige av vann. Et høyt saltinnhold kan redusere næringsverdien i produktet dersom vannløselige vitaminer og mineraler lekker ut av produktet slik (Albarracín *et al.*, 2011).

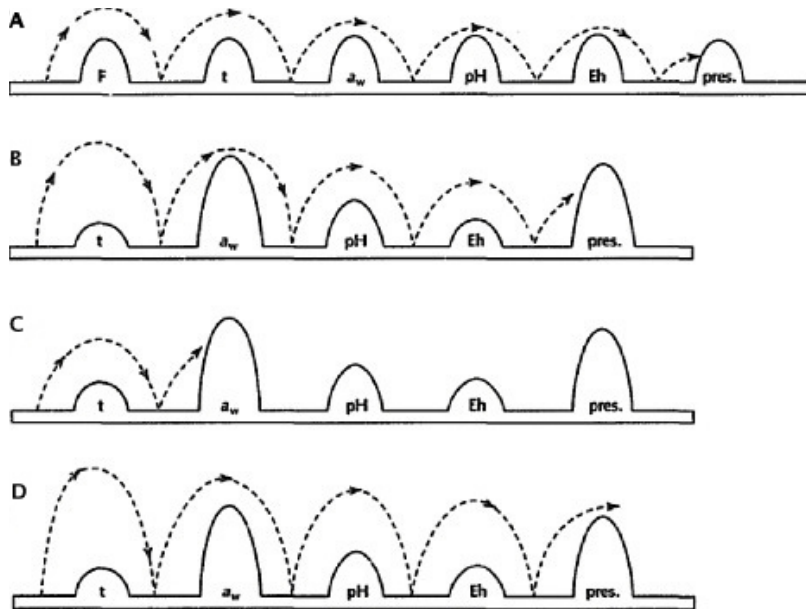
Eksempler på metoder for konservering er 1) reduksjon av vannaktivitet, ved speking (curing), tørking, eller fordamping; 2) høy eller lav temperatur; 3) reduksjon av pH ved fermentering eller ved å tilsette organiske eller uorganiske syrer; 4) redokspotensiale, kjemiske konserveringsmidler som nitrat, nitritt og sulfat; 5) konkurrerende mikroorganismer som for eksempel melkesyrebakterier; 6) pakking i modifisert atmosfære (MAP), som vakuum, nitrogen, karbondioksid eller oksygen (Albarracín *et al.*, 2011). De fleste metodene for konservering er basert på hinder som er presentert i Tabell 1.

Tabell 1: Hinder som kan brukes i matvarer for å gjøre dem mer stabile eller forbedre kvaliteten (Leistner, 1999).

| Hinder | Forklaring |
|-----------------------------|--|
| Temperatur | Høy eller lav |
| pH | Høy eller lav |
| Vannaktivitet | Høy eller lav |
| Redokspotensiale | Høyt eller lavt |
| Modifisert atmosfære | Nitrogen, karbondioksid, oksygen |
| Pakking | Aseptisk pakking, vakuum eller modifisert atmosfære eller aktiv pakking |
| Stråling | Mikrobølger, UV, bestråling |
| Trykk | Høyt |
| Mikrostruktur | Emulsjoner, fermentert pølse, modnet ost |
| Konkurrerende flora | For eksempel melkesyrebakterier |
| Konserveringsmidler | Nitritt, sorbat, nitrat, askorbat, glukono-delta-lakton, fosfater, propylenglykol, ozon, antioksidanter, med flere |

Hovedprinsippet for hinderteknologi er at ved bruk av flere hinder, er det mulig å bruke mildere betingelser, som igjen gir matvarene et ferskere preg. Grunnen til dette er at bruk av flere hinder sammen fører til en additiv eller synergistisk effekt. Ulike hinder har ulike kritiske verdier for vekst, overlevelse og død for mikroorganismer, ved bruk av flere hinder sammen kan disse kritiske verdiene endres (Leistner, 1999).

I Figur 4 er det vist en illustrasjon med eksempler på hinderteknologi med kombinasjoner av ulike hinder. I Figur 4 A er det vist et teoretisk eksempel der alle hindrene har lik intensitet, noe som sjelden er tilfellet i produkter. Tilfellet i B viser mer realistisk bruk av hinderteknologi der hindrene har forskjellig intensitet. C illustrerer et tilfelle der det i utgangspunktet er få mikroorganismer i produktet, derfor krever det få hinder for å oppnå et stabilt produkt. D illustrerer et tilfelle der det er mange mikroorganismer i produktet fra start, typisk et eksempel på dårlig hygiene, der de hindrene og den intensiteten som er brukt i dette tilfellet ikke er tilstrekkelig for å oppnå et stabilt produkt.



Figur 4: Illustrasjon av hinderteknologi og eksempler på ulike hinder. A viser et teoretisk eksempel der alle hinder har lik intensitet. B viser en kombinasjon der hinderne har ulik intensitet. C viser et tilfelle der det er få mikroorganismer ved start, og det er derfor ikke nødvendig med mange hinder for å gjøre produktet stabilt. D viser et tilfelle der det er mange mikroorganismer til stede, og de hindrene som er brukt er ikke tilstrekkelig for å stabilisere produktet (Henney et al., 2010).

1.6 Vannbinding i muskelvev

Vann er en viktig del av de fleste næringsmidler enten det er tilsatt eller forekommer naturlig. I ferskt muskelvev utgjør vann 70-80 % av massen (Strasburg *et al.*, 2008). Historisk sett har vitenskapelig forskning på muskelvev ofte vært rettet mot praktiske anvendelser og makroskopiske effekter på interne og/eller eksterne faktorer relatert til vannbinding. En viktig motivasjonsfaktor for slik forskning har vært både teknologiske og sensoriske aspekter. Ettersom fisk selges til kilopris, har vannbindingsevnen også økonomisk betydning. Det er også viktig at forbrukerne skal være fornøyde, både mørhet og saftighet har en tendens til å avhenge av vanninnholdet, mange synes heller ikke det er innbydende med fiskefilet som har mistet mye vann på grunn av stort drypptap (Offer & Trinick, 1983; Poulanne & Halonen, 2010).

1.6.1 Vannbinding i næringsmidler

Både proteiner og karbohydrater påvirker vann i næringsmidler, og kan kontrollere mye av mobiliteten til vann. Sammen påvirker vann, polysakkarider og proteiner mange funksjonelle egenskaper i næringsmidler, inkludert tekstur (BeMiller & Huber, 2008; Damodoran, 2008). Vann som er bundet til proteiner eller polysakkaridmolekyler via hydrogenbindinger (hydratvann) omtales ofte som ikkefrysbart vann. Kjemisk sett er ikke hydratvann bundet til biopolymeren, men de blir påvirket slik at bevegeligheten reduseres. Ettersom hydratvannet ikke er bundet til biopolymeren kan vannmolekylene fritt utveksles mot andre vannmolekyler. I mat med høyt vanninnhold utgjør hydratvannet en liten andel av det totale vanninnholdet, det resterende vannet er fanget i kapillarer og hulrom i gelen eller muskelvevet (BeMiller & Huber, 2008).

Vannbindingsevnen (VBE) er definert som den evnen et nettverk av molekyler har til å hindre at vannet i dette nettverket slippes ut når det utsettes for en ytre kraft (for eksempel sentrifugering) (Albarracín *et al.*, 2011; Reid & Fennema, 2008). Det er mange faktorer som påvirker vannbindingsevnen. Eksempler på slike faktorer er kapillarstørrelse, ladninger på proteinnettverket, type ioner, pH, temperatur, likevekt mellom protein og vann, samt forekomst av lavmolekylære substanser (Albarracín *et al.*, 2011).

1.6.2 Vannbindingsevne i muskelvev

I muskelvev skilles det mellom fritt vann og bundet vann. Det antas at fritt vann holdes i muskelvevet via kapillarkrefter, for eksempel i hulrom mellom myofilamenter og

myofibriller. Bulkvannet i muskelvev er fritt vann. Bundet vann er bundet til proteiner via hydrogenbindinger, og blir påvirket av overflateladninger og polariteten til proteiner. I oppmalt muskelvev er også en stor andel vann lokalisert i nettverket av myofibrillproteiner (Strasburg *et al.*, 2008).

Vann som er fanget i et tredimensjonalt nettverk vil også holdes i nettverket både ved kutting og kverning av muskelvevet. Når muskelvev bearbeides eller prosesseres vil vann som er fanget i nettverket ha egenskaper som er sammenliknbare med rent vann, både når det gjelder tørking, frysing og som løsningsmiddel. De enkelte vannmolekylene vil også bevege seg omtrent som vannmolekyler i en fortdynnet saltløsning, selv om bulkflyten til vannet vil være begrenset (Reid & Fennema, 2008).

Vann som befinner seg ved en isolert grenseflate (kontaktflate), kan deles i tre monomolekylære lag. Dette prinsippet kan også brukes for proteinnettverk og for interaksjoner mellom vann og proteiner. Det oppløste stoffet bestemmer hvordan det første laget (I_1) med vann oppfører seg. Bulkløsningen bestemmer hvordan det tredje laget (I_3) oppfører seg. Det er antatt at (I_1) og (I_3) konkurrerer om interaksjoner med det midterste vannlaget (I_2) (Poulanne & Halonen, 2010). I muskelvev er det ofte fokus på bulkvannet i hele muskelen, fibernettet og i geler. I kjemi og biologi er fokuset ofte på opptil de tre første lagene med vann (Poulanne & Halonen, 2010).

Offer og Trinick (1983) og Hermansson (1986) kom med en hypotese om at vann holdes i muskelvev på grunn av kapillærkrefter. Et kapillar med en diameter som tilsvarer det interfilamentære rommet vil ut fra overflatespenningen kunne holde en vannsøyle på 300m. Det ble derfor antatt at en mulig mekanisme for vannbinding i muskelvev kunne forklares med kapillærkrefter (Poulanne & Halonen, 2010). *Post mortem* reduseres radius i kapillarene, noe som burde føre til høyere kapillærkrefter og dermed økt vannbindingsevne. I realiteten derimot, krymper det filamentære nettverket, og vannbindingsevnen reduseres *post mortem* (Offer & Knight, 1988).

1.6.3 Endringer i muskelvevet *postmortem*

Slakting fører til flere endringer i muskelvev sammenliknet med muskelvevet i levende fisk. Når blodtilførselen stanses ved slakting fører det til at oksygentilførselen til muskelen opphører. Videre vil det ikke kunne dannes ATP, noe som er nødvendig for muskelkontraksjoner og for å opprettholde viktige funksjoner i muskelen. Det finnes begrensede ressurser, som kan brukes til å danne noe ATP, blant annet kreatinfosfat. Disse reservene er ikke store nok til å danne den mengden ATP som kreves for å opprettholde

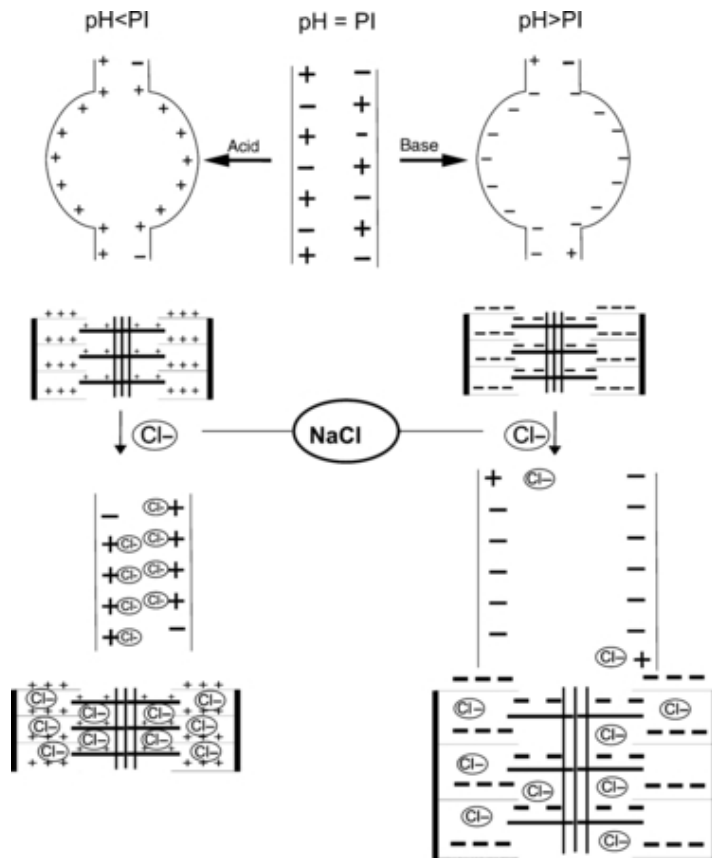
muskelfunksjonene. Det synkende ATPnivået fører etter hvert til at myosin ikke lengre kan dissosieres fra aktin. Dette fører til at muskelen får den karakteristiske dødsstivheten: *rigor mortis* (Strasburg *et al.*, 2008). Hyse går vanligvis inn i rigor etter 2 til 4 timer ved 0 °C (Lynnum, 2005).

Etter slakting skjer det også en reduksjon i pH på grunn av opphoping av hydrogenioner på grunn av hydrolyse av ATP. Overgangen til rigor skjer gradvis slik at det er en økning i rigor samtidig som ATPnivået i muskelen synker. Andelen med fastlåste kryssbindinger mellom myosin og aktin øker, inntil muskelvevet oppnår en maksimal stivhet. Deretter skjer det en gradvis oppløsning av rigor, som til en viss grad skyldes at myofibrillproteiner (og proteiner i cytoskjelettet) blir degradert av proteaser (Strasburg *et al.*, 2008).

I følge Hamm (1972) kan vannbinding skyldes elektrostatiske frastøting mellom myofibrillproteiner som fører til at myofibrillene sveller, eller resultere i delvis løseliggjøring av filamenter (ved tilsats av salt eller ved høy eller lav pH). Svelling i myofibrillene begrenses av ulike kryssbindinger mellom myofilamentene, for eksempel Z-linjer, kryssbroer av aktomyosin og intermediære filamenter. De polare sidegruppene på aminosyrer kan også binde vann. Vannmolekyler danner et monomolekylært lag der polare vannmolekyler vender hydrogenatomene (som har delvis positiv ladning) mot den polare gruppa. Oksygenmolekylene (som har delvis negativ ladning) vendes ut mot løsningen (Poulanne & Halonen, 2010).

NaCl kan påvirke flere proteiner på en kompleks måte. Blant annet kan NaCl løseliggjøre myosin, indusere svelling i myofibrillproteiner og endre det isoelektriske punktet for proteiner på grunn av selektiv binding (Poulanne & Halonen, 2010). Hamm (1972) antok at påvirkningen NaCl har på proteiner i muskelvev i stor grad skyldes at kloridioner bindes sterkere til proteiner enn natriumioner. NaCl påvirker mange proteiner på en kompleks måte, og denne effekten øker dersom det tilsettes ulike konsentrasjoner av NaCl, KCl og fosfater samtidig (Hamm, 1972).

I et proteinnettverk, for eksempel myofibrillnettverket, vil nettoladningen påvirkes av pH, hvilket medfører at graden av svelling i proteinnettverket avhenger av pH (Poulanne & Halonen, 2010). Generelt vil svellingen være på et minimum ved det isoelektriske punktet som er omtrent ved pH 5 for myofibrillproteiner (Poulanne & Halonen, 2010).



Figur 5: Endring i vannbindingsevne som følge av anionbinding i proteinstrukturen (Albarracín *et al.*, 2011)

I Figur 5 er det illustrert hvordan vannbindingsevnen i muskelproteiner varierer med pH. Muskelproteiner har den laveste vannbindingsevnen ved pH lik det isoelektriske punktet (pI), ved pH både høyere og lavere enn dette vil vannbindingsevnen være høyere. Ved tilsats av salt dersom pH er lavere enn pI, vil vannbindingsevnen reduseres ettersom de positive ladningene vil bli nøytralisert av de negativt ladde kloridionene, noe som resulterer i at nettverket trekker seg sammen. Dette er illustrert til venstre på Figur 5 og medfører redusert vannbindingsevne (Albarracín *et al.*, 2011).

Dersom pH er høyere enn pI, vil tilsats av salt til muskelproteinene føre til en ekspansjon av proteinene. Grunnen til dette er at det skjer en frastøtning mellom de negativt ladde sidegruppene på proteinene og de negativt ladde kloridionene. Dette fører til at proteinnettverket kan holde på et større volum vann. Fenomenet kalles selektiv anionbinding og kan forklare økt vannbinding i muskelvev som er tilsatt moderate mengder (under 10 %) NaCl. Ved saltkonsentrasjoner over skjer det en dehydrering av proteiner som

skyldes at løst stoff og proteiner konkurrerer om det tilgjengelige vannet (Albarracín *et al.*, 2011).

1.6.3.1 Fosfater og vannbinding i muskelvev

Ved tilsats av egnede fosfater kan vannbindingsevnen økes både i rått og i kokt muskelvev. Mekanismen for hvordan fosfater bedrer vannbindingsevnen er ikke fullstendig kartlagt til tross for utbredt forskning på området (Lindsay, 2008b).

I Norge er det tillatt å tilsette trifosfater (E 451) i surimi (1g/kg) og i fisk- og krepsdyrpostei (5g/kg). Det er også tillatt å tilsette 5g/kg kalsiumpolyfosfat (E 452) til døde krepsdyr og bløtdyr (både frosne og dypfrosne, både bearbeidede og de som ikke er bearbeidet) og til krepsdyrprodukter på boks (1g/kg). Kalsiumpolyfosfat (5g/kg) kan også tilsettes til filet av frossen og dypfrossen fisk som ikke er bearbeidet (Mattilsynet, 2011).

1.7 Reologi

Reologi er vitenskapen om flyt og deformasjon for materialer (Draget & Haug, 2010). Studier av reologien i næringsmidler er viktig både for å forstå sammenhengen mellom struktur og funksjon, men har også praktisk betydning. Reologien til næringsmidler har betydning for blant annet kvalitetskontroll, fabrikkdesign, og for å evaluere sensoriske egenskaper. En utfordring for næringsmiddelindustrien er å opprettholde en viss kvalitet gjennom produksjonsprosessen, under transport, ved lagring og frem til konsumering av det ferdige produktet. Selv om de fleste næringsmidler består av systemer med mange komponenter og flere faser (multikomponent- og multifasesystemer), er det ofte egenskapene til én enkelt komponent eller fase som avgjør hvordan hele systemet oppfører seg (McKenna, 2003; Ross-Murphy, 1994).

Adferden til et materiale vil ofte avhenge av kreftene det utsettes for; noen salatdressinger og flytende sjokolade vil for eksempel oppføre seg som fast stoff når de utsettes for svake krefter (for eksempel dersom de står i ro), og som flytende stoff når de utsettes for sterke krefter (for eksempel dersom de helles ut av en flaske). Derfor vil det være mer presist å definere reologi for næringsmidler som studien av både de elastiske og plastiske egenskapene til næringsmidler (McKenna, 2003).

1.7.1 Viskoelastiske materialer

Viskositet er et mål på motstanden til flyt i et materiale og elastisitet er et mål på graden av struktur i et materiale. Materialer som viser både viskøse og elastiske egenskaper på samme tid, kalles viskoelastiske materialer. Viskoelastiske materialer kan beskrives som en kombinasjon av støtdemper og springfjær (Draget & Haug, 2010). I praksis kan omtrent alle materialer karakteriseres som viskoelastiske og forholdet mellom de viskøse og de elastiske egenskapene i et gitt materiale blir bestemt av observasjonsvinduet for deformasjon. Det klassiske eksempelet er at vindusglass over lang tid kan oppføre seg som en veldig viskøs væske dersom det kontinuerlig utsettes for deformasjon. Dette kan observeres på svært gamle vindusglass som er tykkere nederst enn øverst. Og motsatt kan vann oppføre seg som fast stoff ved veldig korte tidsintervaller (Ross-Murphy, 1994).

1.7.2 Viskositet

Viskositet kan deles i to undergrupper; newtonsk viskositet og ikke-newtonsk viskositet. Newtonske væsker karakteriseres av at skjærkraften er proporsjonal med deformasjonsraten. Eksempler på newtonske væsker er vann og olje. Ikke-newtonsk viskositet deles igjen i tidsavhengig og tidsuavhengig viskositet (Draget & Haug, 2010).

For polysakkaridløsninger deles flyt generelt sett i pseudoplastisk (skjærtynnende) flyt og tiksotrop flyt, begge disse karakteriseres av skjærtynning. For pseudoplastisk flyt vil viskositeten avta dersom kraften som puttes inn i systemet øker. Økt skjærrate (for eksempel raskere røring) vil føre til raskere flyt (som følge av lavere viskositet). Kraften kan komme fra å helle, tygge, svelge, pumpe eller blande løsningen. For pseudoplastisk flyt er ikke endring i viskositet på grunn av endring i skjærrate tidsavhengig, men viskositeten vil endres umiddelbart dersom skjærraten endres. Generelt sett vil gums med høy molekylvekt danne mer pseudoplastiske løsninger. Også lineære, stive molekyler gir en mer pseudoplastisk flyt (BeMiller & Huber, 2008).

Tiksotrop flyt er også en type skjærtynnende flyt, men i motsetning til pseudoplastisk flyt, er tiksotrop flyt avhengig av tiden. Det vil si at en reduksjon i viskositet ikke skjer umiddelbart, men ved konstant skjærrate over tid. Dersom det ikke puttes inn mer kraft i løsningen, vil den over tid få tilbake sin opprinnelige viskositet. En forklaring på dette fenomenet er at det skjer en overgang fra gel, til løsning og tilbake til gel igjen (et eksempel er mange typer maling, som blir tykkere når de står i ro). Det vil si at en stillestående tiksotrop løsning kan betraktes som en svak gel (BeMiller & Huber, 2008).

I hvilken grad en løseliggjort makromolekylkomponent bidrar til viskositeten avhenger av det effektive volumet som makromolekylet fyller (spesifikt hydrodynamisk volum). Spesifikt hydrodynamisk volum er volumet som fylles av det løseliggjorte molekylet og hydratvann (tett bundet vann). Andre faktorer som påvirker viskositeten til en løsning er: temperatur, deformasjonsrate, tid, asymmetri, molekylær konformasjon, molekylvekt, molekylvektdistribusjon og ionestyrke (Draget & Haug, 2010).

1.7.3 Dynamisk reologi (oscillerende)

Dynamisk reologi beskriver sammenhengen mellom kraft, deformasjon og tid, og kan brukes til å studere viskoelastisiteten til et materiale. Ved å bruke et reometer kan enten kraft (σ) eller deformasjon (γ) kontrolleres, og den andre parameteren kan måles. Dersom deformasjonen kontrolleres påføres materialet en deformasjon, ofte med en frekvens (f), og kraften ved deformasjon måles. Faseforskyvningen mellom eksponering og respons kalles fasevinkelen (δ). Materialer som er ideelt elastiske, vil ha en proporsjonal sammenheng mellom deformasjon, γ , og kraft, σ . Gitt ved Hookes lov (1). Proporsjonalitetskonstanten, G , blir ofte referert til som den elastiske modulen eller skjærmodulus.

$$\sigma = G \times \gamma \tag{1}$$

Lagringsmodulus (G') beskriver elastisiteten til materialet og er gitt ved: $G' = (\sigma_0/\gamma_0) \cos \delta$, med enheten Pa (eller N/m^2). Tapsmodulus (G'') beskriver viskositeten til materialet og er gitt ved: $G'' = (\sigma_0/\gamma_0) \sin \delta$, med enheten Pa (eller N/m^2). Fasevinkelen, δ , er definert som: $\tan \delta = G''/G'$, med enhet grader.

Sammenhengen mellom G' , G'' og δ og hvordan et viskoelastisk materiale oppfører seg er vist i Tabell 2 (Draget & Haug, 2010).

Tabell 2: Sammenheng mellom forholdet mellom lagringsmodulus (G') og tapsmodulus (G'') og fasevinkelen, og de reologiske egenskapene til et materiale (Draget & Haug, 2010).

| Forhold mellom lagringsmodulus (G') og tapsmodulus (G'') | Fasevinkel | Reologiske egenskaper for materialet |
|---|---------------------|---|
| $G' < G''$ | $\delta > 45^\circ$ | Viskoelastisk flytende materiale |
| $G' = G''$ | $\delta = 45^\circ$ | Overgang (transisjon) |
| $G' > G''$ | $\delta < 45^\circ$ | Viskoelastisk fast stoff |

Ved frekvenssveip kan differansen mellom "ekte" gel og væske og "falsk" gel bli funnet. For en "ekte" gel vil lagringsmodulus (G') alltid være større enn tapsmodulus (G''). For en væske vil dette være motsatt, mens for en "falsk" gel vil G'' være høyest ved lave frekvenser, deretter vil G' øke og få en høyere verdi enn G'' (Draget & Haug, 2010).

1.7.4 Geler

En gel er en mellomting mellom fast stoff og væskeform (Damodoran, 2008). Den tekniske definisjonen på en gel er: "*et vesentlig fortynnet system som ikke viser noen form for stasjonær flyt*" (Ferry, 1961). Geler består av polymere som er kryssbundet enten via kovalente eller non-kovalente bindinger, slik at det dannes et nettverk som kan holde på vann og andre substanser med lav molekylvekt (Damodoran, 2008).

Geler kan sammenliknes med en svamp ettersom de består av et tredimensjonalt nettverk av sammenhengende molekyler eller partikler som rommer et stort volum med væskefase. Et karaktertrekk ved geler er at de oppfører seg delvis som væsker og delvis som faste stoffer. Geler har en kontinuerlig flytende fase, der de mobile molekylene bidrar til at geler har en løsere struktur enn faste stoffer. Geler betraktes derfor som halvfaste, viskoelastiske materialer (BeMiller & Huber, 2008).

1.7.5 Overgang fra uorden til orden

Mange systemer som inneholder polymere vil gå gjennom en overgang (transisjon) fra uorden til orden, det vil si at molekylene går fra en uordnet konformasjon til en ordnet konformasjon. Denne overgangen kan trigges av endringer i temperatur, pH eller ione styrke, eller en kombinasjon av disse faktorene. Ved bestemte anledninger, kan denne omdanningen føre til dannelse av en gel, men dette skjer ikke alltid. For at det skal dannes en gel, må polymeren danne et tredimensjonalt nettverk som har evne til å binde vann. Det varierer for ulike typer polymerer og polymerkonsentrasjon, molekylvekt samt molekylvektfordelingen spiller også inn for om det skjer en geling (Draget & Haug, 2010).

1.7.6 Isotrope/anisotrope materialer

Ved reologiske analyser, gjøres det en antakelse om at materialet som betraktes er isotropt, det vil si at den gjennomsnittlige sammensetningen er lik i alle retninger. Et anisotropt materiale vil ikke ha en slik identisk sammensetning, og den totale reologiske atferden vil bestemmes ut fra den ujevne sammensetningen. Faseseparerende systemer vil være anisotrope, og den reologiske atferden vil avhenge av målingsgeometrien (Draget & Haug, 2010).

1.7.7 Tekstur

Tekstur påvirker munnfølelsen til et produkt, som er den sensoriske opplevelsen som sanses av tunge og munn når mat (eller andre næringsmidler) spises. Teksturen er ofte forbundet med konsistensen til et produkt og har mye å si for smaksopplevelsen. Tekstur er relatert til tetthet, viskositet, overflatespenning og andre fysiske egenskaper som finnes i produktet. Måten næringsmidler flyter eller beveger seg gjennom munn og svelg påvirker i stor grad hvordan kvaliteten oppfattes (McKenna, 2003).

1.8 Tilsats av biopolymerer i næringsmidler

På grunn av den økende oppfatningen av at næringsmidler med naturlig fiber er en viktig del av et sunn livsstil, vil matvareprodusentene øke bruken av naturlig råmaterialer.

Etterspørselen av matvarer med mindre fett og mer fiber har også vært økende, og for å opprettholde en tilfredsstillende tekstur for slike produkter, er det nødvendig å benytte fortykningsmidler, stabilisatorer og emulgatorer, fortrinnsvis av "den naturlige typen". For å oppnå slike egenskaper i det ferdige produktet er det mulig å bruke biopolymerer. En utvidet definisjon på kostfiber har i senere tid blitt utvidet til å omfatte alle polysakkarider og lignin som ikke kan fordøyes av mennesker (Williams & Philips, 2000). Uttrykket "fiber" brukes i dag som et vidt omfattende begrep i den Vestlige verden, og anses generelt for å ha gode helsemessige egenskaper. Fiber som danner geler eller viskøse løsninger kan øke oppholdstiden (forsinke gjennomstrømningen) i den øvre delen av tarmen og dermed forsinke opptak av glukose, dette forklarer hvorfor løselige fibre påvirker den glykemiske responsen (Williams & Philips, 2000).

Denne oppgaven hadde to delmål. Det ene målet var å studere hvordan de fysiokjemiske egenskapene og tekturen til fiskepudding ble påvirket av en reduksjon i saltinnhold og ved å tilsette alginat. Det er ofte mange ingredienser i fiskepudding, men ettersom hensikten med denne oppgaven var å studere hvilken effekt salt har på råstoffet, ble det laget et modellprodukt som inneholdt kun vann, fiskefilet og salt (NaCl) og/eller alginat. Det ble laget fiskepudding av både ferskt råstoff og råstoff som hadde vært fryst (heretter omtalt som fryst råstoff). Endringen i de fysiokjemiske egenskapene ble studert ved koketap, vannbindingsevne Det andre målet var å studere hvordan tilsats av et alginatsystem påvirket

de reologiske egenskapene til fiskefarsen sammenliknet med en blanding av kun kvernet fisk og vann. Ida Karoline Sivertsen (masterstudent) studerte proteinløselighet for blant annet hyse.

2 Materialer og Metoder

Oppgaven var delt i to delprosjekter; det ene delprosjektet gikk ut på å undersøke de fysiokjemiske egenskapene og teksturen til ferdig varmebehandlet fiskepudding, til denne delen av oppgaven ble det produsert fiskepudding laget med ferskt og med fryst råstoff. Den andre delen av prosjektet tok for seg de reologiske egenskapene til fiskefarse (ikke varmebehandlet) av ferskt råstoff.

2.1 Modellprodukt av fiskefarse

2.1.1 Fisk

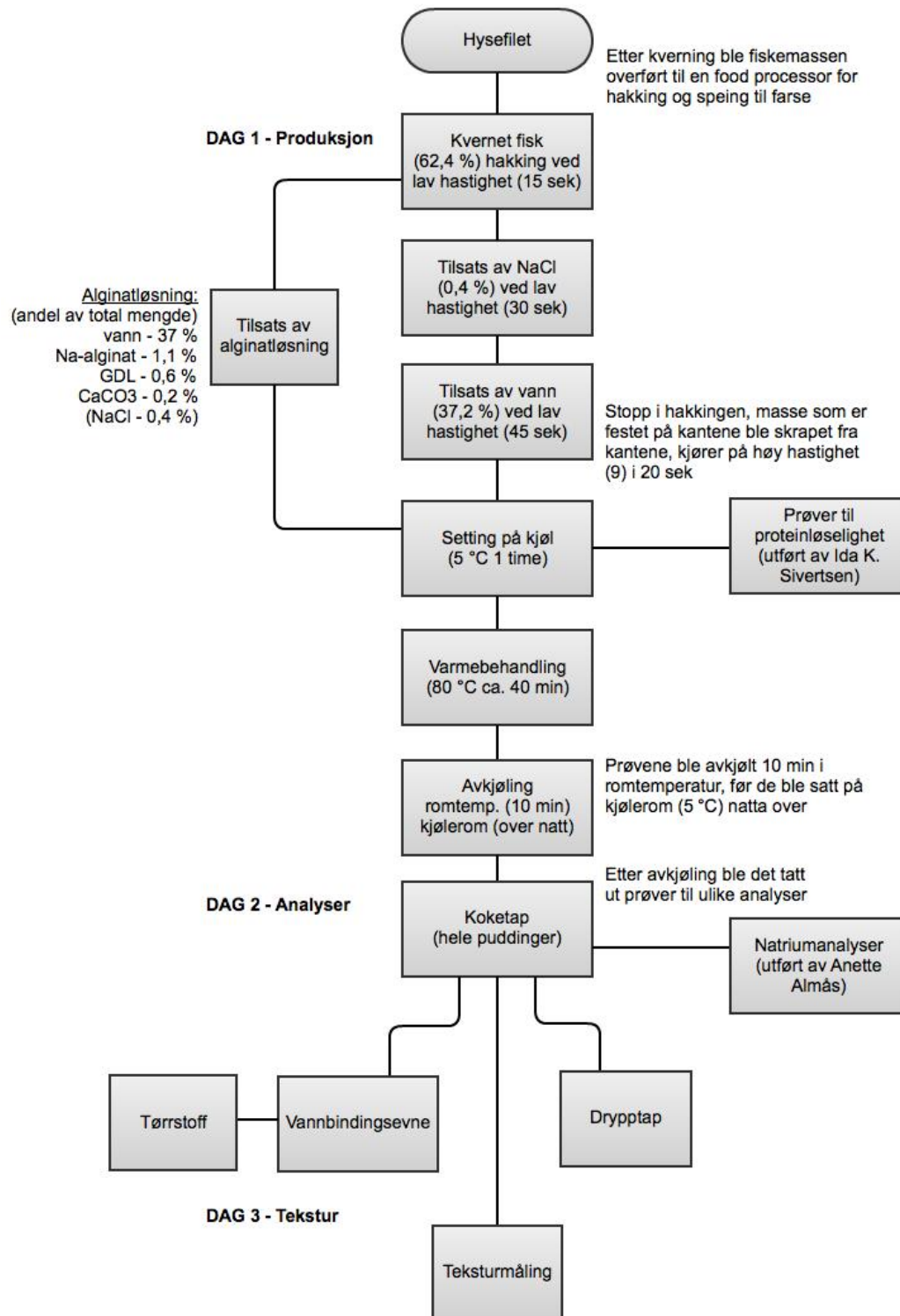
Det ble laget et modellprodukt av fiskefarse, til dette ble det benyttet filet av hyse (*Melanogrammus aeglefinus*) kjøpt i Fiskhallen i Trondheim 25. Oktober. Fisken kom fra Bofisk og var pakket 22. Oktober i Leines i Steigen (Nordland) og ble kjøpt ferdig filetert. Fisken ble oppbevart kaldt (0-2° C).

Hysefilet fra samme parti ble også benyttet til modellprodukt av fryst råstoff, disse filetene ble pakket inn og fryst ned (- 20° C) inntil bruk (én måned). Prosessen fra hysefilet via fiskefarse til ferdig fiskepudding er beskrevet nedenfor, og vist skjematisk i Figur 6.

2.1.2 Prosedyre for hakking av fisk

Før kverning, ble eventuelle bein og synlige, gjenværende biter av skinn fjernet fra hysefiletene.

Det ble deretter laget fiskefarse ut fra tre ulike resepter, som vist i Tabell 3. Det ble det tilsatt samme mengde med tilsetninger til alle reseptene, kun sammensetningen av tilsetninger varierte. Det ble benyttet samme prosedyre både for fersk og fryst fisk. Den fryste fisken ble tint på rist på kjølerom fra fredag til mandag før bruk.



Figur 6: Oversikt over prosessen fra hysefilet via fiskefarse til ferdig pudding, og hvilke analyser som ble utført.

Tabell 3: Ulike tilsetninger og mengder av disse som ble benyttet ved tillaging av fiskefarse.

| Tilsetninger (% av våtvekt) | Resept | | |
|-----------------------------|--------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 |
| NaCl | 0,4 | 0,0 | 0,4 |
| Natriumalginat (NA) | 0,0 | 1,1 | 1,1 |
| CaCO ₃ | 0,0 | 0,2 | 0,2 |
| GDL | 0,0 | 0,6 | 0,6 |
| Fisk | 62,4 | 61,2 | 61,4 |
| Vann | 37,2 | 36,5 | 36,7 |

Den generelle framgangsmåten gikk ut på at kvernet fisk ble kjørt i foodprosessor ved moderat hastighet, NaCl (Jozo, Azko Nobel Salt AS) ble tilsatt ved kontinuerlig røring. Deretter ble deionisert vann tilsatt i en tynn stråle, etterfulgt av blanding ved høyere hastighet. Se vedlegg A for utfyllende detaljer angående hakkeprosessen.

For resept 2 og 3, som inneholdt natriumalginat (NA), ble natriumalginat (Protanal LF 10/60 S12727 G=0,65 fra FMC biopolymer) løst i deionisert vann ved kontinuerlig omrøring på høy hastighet (magnetrører). Kalsiumkarbonat (CaCO₃ precipitated Merck) ble deretter tilsatt, etterfulgt av glukono- δ -laktone (GDL) under stadig omrøring. I resept 3 ble NaCl tilsatt til slutt, etter GDL.

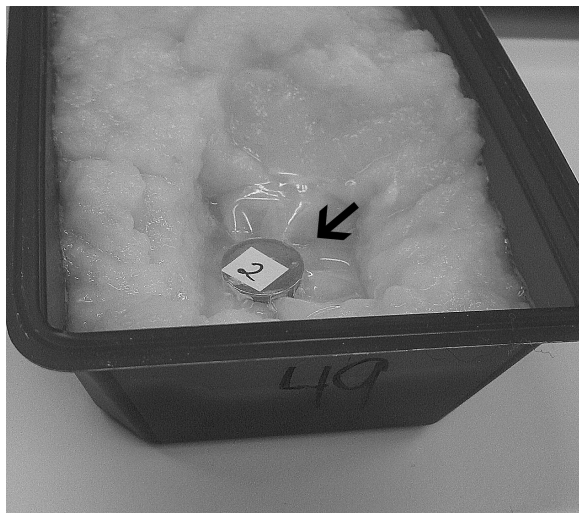
Det ble for hver resept laget to partier, hver med 465g fisk og 277,5 g H₂O i tillegg til de ulike tilsetningene. Ved produksjon av parti nr. 2 ble parti 1 holdt på is, før de to partiene ble blandet godt sammen før de ble fordelt i tre plastskåler.

2.1.3 Varmerbehandling av fiskepudding

Skålene med fiskepudding ble deretter satt på kjølerom for setting, før varmebehandling i dampovn. Det ble utført et innledende forsøk med den hensikt å optimalisere varmebehandlingen av fiskepuddingen. Med utgangspunkt i dette forsøket ble det besluttet hvilke betingelser som skulle benyttes i hovedforsøkene, med hensyn på relativ fuktighet og kjernetemperatur i dampovnen.

Dampovnen ble stilt inn på 50 % relativ fuktighet og temperatur 100° C. For å oppnå en kjernetemperatur på 80° C ble ΔT -funksjonen benyttet og satt til 20° C, slik at temperaturen i ovnen holdt 100° C. Da kjernetemperatur på 80° C var oppnådd, ble fiskepuddingene varmebehandlet i ytterligere 10 min, før de ble tatt ut og avkjølt ved romtemperatur i ca. 10 min, deretter dekket med plast og satt på kjølerom over natta.

I tillegg til dampovnsens egen kjernetemperaturmåler som ble stukket i den midterste puddingen, ble temperaturen også målt manuelt med et termometer. Temperaturen ble dessuten registrert ved bruk av temperaturlogger som ble plassert i fiskefarsen som vist på Figur 7, data fra temperaturloggerne er vist i vedlegg.



Figur 7: Pilen viser temperaturloggerens plassering i fiskefarsen.

2.1.4 Koketap

Koketapet ble beregnet som tapt masse under varmebehandlingen. Før varmebehandling ble hver form med farse veid. Etter varmebehandlingen ble hver form med pudding veid etter avkjøling. Vannet ble helt av, og puddingen ble tørket i 1 min med filterpapir som vist på Figur 8, før ny masse ble bestemt. Eventuelle rester av fiskepudding i skåla ble ikke fjernet, kun tørket med papir for å fjerne vann/fukt. Koketapet ble beregnet ut fra de tre parallellene for hver resept ($n=3$), de oppgitte tallene er gjennomsnittet av de tre parallellene.



Figur 8: Tørring av fiskepudding før bestemmelse av koketap.

2.1.5 Vannbindingsevne (VBE)

Vannbindingsevnen (VBE) ble bestemt ved en lavhastighetsentrifugeringsmetode som er beskrevet av Eide *et al.* (1982) (Eide *et al.*, 1982), med følgende unntak: prøvene ble sentrifugert ved omtrent $210 \times g$ i kjølesentrifuge ved 4°C (med rotorhode 104 AK 100.20 fra Jouan). Det ble ikke brukt kork på prøverørene under sentrifugering. For hver av de totalt 9 fiskepuddingene (3 for hver resept) ble det kjørt 4 paralleller for vannbindingsevne.

Tørrvekt ble bestemt ved å tørke prøver på ca. 2 g fiskepudding ved 105°C i 24 timer. Deretter ble prøvene avkjølt i eksikator til romtemperatur før massen til prøvene ble bestemt.

2.1.6 Drypptap

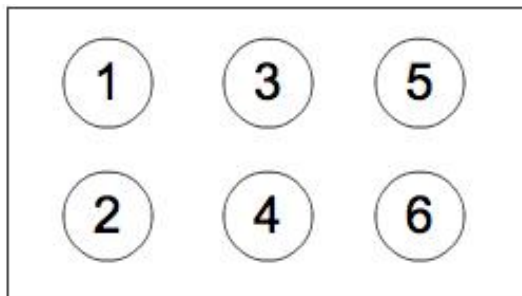
For å bestemme drypptap fra fiskepudding ble det skåret ut terninger av hver fiskepudding som ble lagt på små plastrer. Det ble tatt ut tre prøver fra hver form med fiskepudding, altså ni prøver per resept. Prøvene ble lagret i ziplock-poser på kjølerom. For å bestemme drypptapet ble prøvene veid ved start, samt etter 7 dager og etter 14 dager. Figur 9 viser prøver for drypptap av varmebehandlet fiskepudding, størrelsen på terningene er omtrent $1,5 \times 1,5\text{ cm}$. Det ble tatt tre prøver per skål, slik at totalt antall prøver per resept var 9.



Figur 9: Prøver av ferdig varmebehandlet fiskepudding til bestemmelse av drypptap. Prøvene ble lagret på plastrister i lufttette poser.

2.1.7 Tekstur

Teksturmålingene ble utført ved hjelp av en *Texture Analyser Plus TA XT.2 (Stable Micro System UK)*. Det ble benyttet en veicelle på 5 kg og en sylinderformet probe av typen P 0.5, som hadde flat bunn og diameter 12 mm. Det ble gjort seks teksturmålinger på hver fiskepudding der kraft ved 60 % nedtrykk ble målt, oppsettet for teksturmålingene er vist på Figur 10. Teksturmåleren ble stilt inn på testmodus kompresjon, hastigheten til proben både før og under målingene ble satt til 1,0 mm/sekund og målingen ble utført til 60 % deformasjon. Før målingene ble fiskepuddingen snudd opp-ned slik at det ble målt på den siden av puddingen som var i skåla under varmebehandlingsprosessen. Det ble utført 6 målinger per fiskepudding (n=6).

**A****B**

Figur 10: A) Oppsett for teksturmålinger som viser probe, samt plassering av prøven med fiskepudding. B) Plassering av målingene på fiskepuddingen.

2.1.8 pH

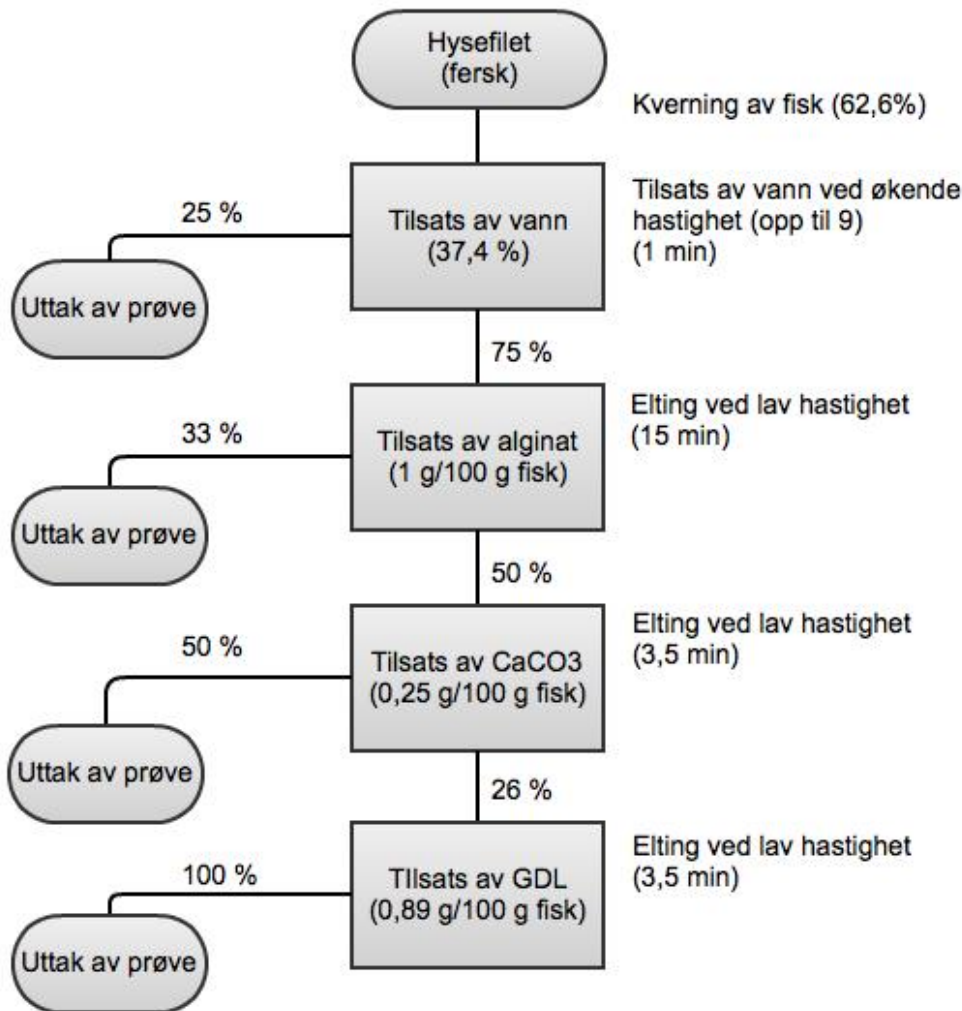
Det ble målt pH med et pH meter (*Weilheim, WTW, Germany*) med en glasselektrode (*Weilheim, WTW, Germany*) før varmebehandling og ved bestemmelse av koketap.

2.2 Reologi

I denne delen av oppgaven var det ønskelig å undersøke om en blanding av fisk og vann tilsatt alginat og CaCO_3 , hadde lav nok pH til å omsette CaCO_3 uten tilsats av GDL.

Det ble benyttet filet av hyse kjøpt hos Fiskhallen 8.februar. Fisken var fanget 6.februar 2012 ved Seløy (Helgeland). Filetene ble benyttet 9.februar, og ble først kvernet i en Kenwood kjøkkenmaskin, kvernet fisk (62,6 %) ble deretter veid ut. Fisken ble blandet med deionisert vann (37,4 %) i en Kenwood foodprosessor ved bruk av eltekrok. Blandingen av fisk og vann ble betraktet som til sammen 100 % v/v. Det ble tatt ut en prøve av blandingen bestående av vann og fisk (25 % v/v). NA (1g/ 100g fisk) ble deretter tilsatt under

omrøring, før blandingen ble eltet videre i 15 min. Det ble tatt ut en prøve (33 % v/v) av blandingen. Kalsiumkarbonat (CaCO_3 0,25g/100g fisk) ble deretter tilsatt under omrøring, før videre elting i 3,5 min. Ny prøve (50 %) ble tatt ut, før glukono- δ -laktone (GDL 0,89g/100g fisk) ble tilsatt under omrøring. Resterende farse i foodprosessoren utgjorde den siste prøven (100 %). En oversikt over blanding og uttak av prøver er vist i Figur 11. Alle prøvene ble fordelt i plastskåler som ble satt på kjølerom i 24 timer. Prøvene ble vurdert ved visuell observasjon og ved å trykke på prøven med fingeren etter 3 timer, 5 timer og 24 timer. Det ble målt pH i prøvene før de ble satt på kjølerom og etter 24 timer.



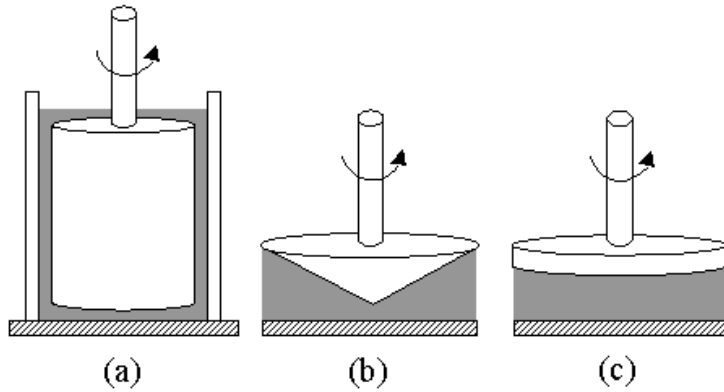
Figur 11: Oversikt over blanding av farse og uttak av prøver til kvantitativt reologiforsøk. Prosentandelen ved prøvene angir størrelsen på prøven i forhold til den totale mengden fiskefarse som er med i prosessen. Prosentandelen som er oppgitt mellom hvert trinn i prosessen, er andelen som er igjen i foodprosessoren i forhold til mengden ved start (100 %).

Det ble benyttet hysefilet fra Fiskhallen kjøpt 22. Februar. Denne var fanget ved Mørekysten, og pakkedato var 17. februar. Fileten ble kvernet i en Kenwood kjøkkenmaskin, og farsen ble deretter satt på kjølerom over natta. Den kvernede fisken ble deretter speidd med vann, før det ble tatt ut en prøve av denne blandingen. Blandingen av fisk og vann ble deretter tilsatt alginat (1% w/w). Det ble ved hjelp av et reometer kjørt frekvenssveip for hver av prøvene med fisk og vann, fisk, vann og alginat. Det ble deretter kjørt transisjonssveip på en prøve med fisk, vann og alginat som ble tilsatt CaCO₃ og GDL ved røring. Det ble i reologimålingene brukt et *Stresstech* reometer (*Reologica Instruments, Sweden*), med parallell-plate med proben UP 40.

Det ble utført frekvenssveip med økende frekvens (for fiskefarse tilsatt vann, for fiskefarse og vann tilsatt NA og for fisk og vann tilsatt NA, CaCO₃ og GDL. For sistnevnte ble det også utført transisjonssveip for å studere omdanningen fra sol (materiale med flytegenskaper) til gel i systemet. Prøven som skulle gjennomgå transisjonssveip ble dekket med et lag med silikonolje, for å hindre uttørking av prøven. Alle de reologiske målingene ble utført ved 5 °C.

Ettersom prøvene av fisk og vann som det skulle måles reologi på, bestod av relativt store partikler, ble det brukt parallell-plate, og ikke kon (cone)-plate under målingene, dette ble gjort for å minimere bidraget fra partikler (McKenna, 2003). Det ble også satt en avstand på 2,5 mm mellom platene for å redusere en eventuell effekt fra partiklene.

Dynamiske målinger (oscillerende) fører til små deformasjoner, og bevarer derfor intakte strukturer, dette er en fordel dersom strukturendringer som følge av geling skal studeres (Draget & Haug, 2010).



Figur 12: Ulike typer prober for rotasjonsreometre a) konsentrisk sylinder, b) kon/plate og c) parallellplate (Garboczi et al., 2011).

2.3 Statistikk

Det ble brukt student-t-test for å finne eventuelle signifikante forskjeller. Det er valgt et signifikansnivå på 5 %, dersom det er funnet forskjeller som er signifikante på 1% nivå er disse betegnet som sterkt signifikante forskjeller. Vedlegg er det tatt med tabeller som viser t-verdier for forskjellene som ble sammenliknet.

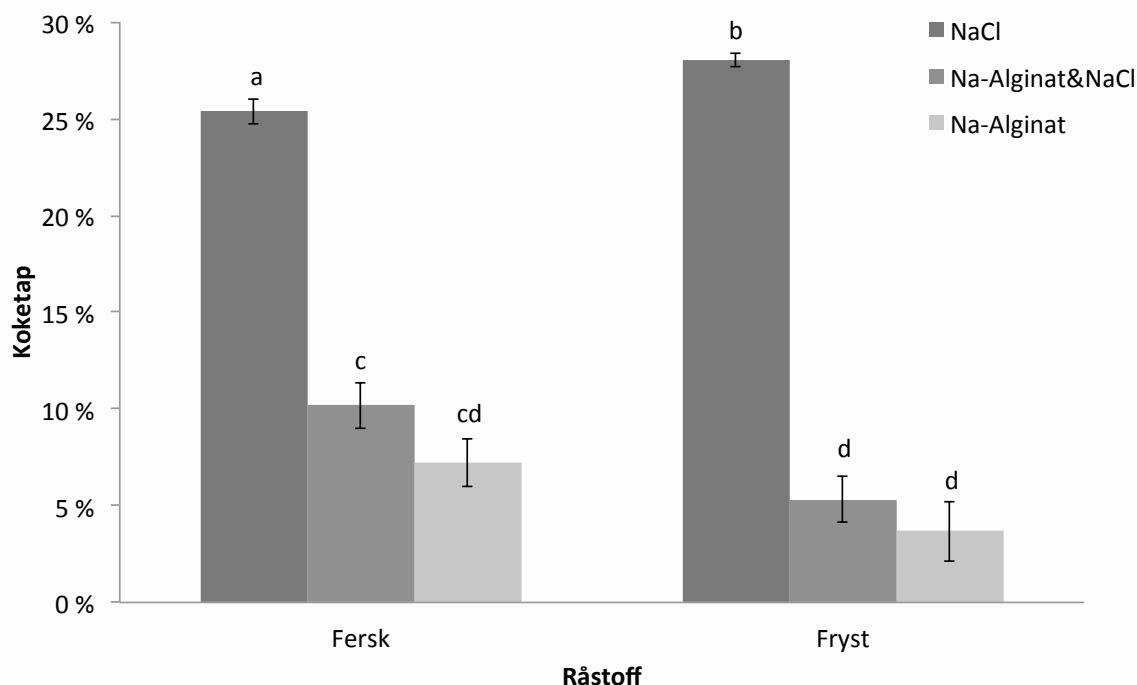
3 Resultater og Diskusjon

3.1 Koketap

Koketapet ble bestemt som beskrevet i kapittel 2.1.4 (Materialer og Metoder), og er vist i Figur 13 som andel av startvekt for fiskepudding laget med fersk hysefilet og fryst hysefilet, etter resept 1, 2 og 3 (Tabell 3). Det kan sees av figuren at det høyeste koketapet ble registrert for resept 1 (fiskepudding tilsatt 0,4 % NaCl) laget med fryst råstoff (28 %) som er signifikant høyere enn koketapet for resept 1 laget med ferskt råstoff (25,4 %). Fiskepudding av resept 2 (NA) og 3 (NA + NaCl) hadde et signifikant lavere koketap enn puddinger som var tilsatt NA, det laveste koketapet ble funnet for resept 2 med fryst råstoff (NA) (3,7). Alle de signifikante forskjellene som er vist på figuren, med unntak av forskjellen mellom NaCl og NA + NaCl for ferskt råstoff, var også signifikante på 1 % nivå.

Den observerte reduksjonen i koketapet ved tilsats av natriumalginat (NA) kan ha flere forklaringer. Generelt sett har biopolymerer har god evne til å binde vann noe som kan forklares med at nettverket som utgjør gelen også kan holde på vann (Sánchez *et al.*, 1995). Selv om myofibrillproteiner og særlig myosin er involvert i geling ved varmebehandling av muskelvev krever myofibrillproteiner en ionestyrke på 0,3 M for bli løseliggjort (Strasburg *et al.*, 2008), Ionestyrken i farse som var laget etter resept 1 (0,4 % NaCl) var 0,11 M. I følge litteraturen er en ionestyrke på 0,11 M lavere enn det som kreves for å løseliggjøre en tilstrekkelig mengde myofibrillprotein til at det dannes en gel som kan holde på vannet som fantes i farsen.

Hong og Chin (2010) fant også en reduksjon i koketap ved tilsats av NA og GDL til myofibrillproteiner av svin. De fant også at tilsats av NA og GDL hadde best effekt på geling ved lave saltkonsentrasjoner 0,1 M NaCl, mens effekten avtok ved høyere konsentrasjoner av NaCl (0,3 M) (Hong & Chin, 2010).



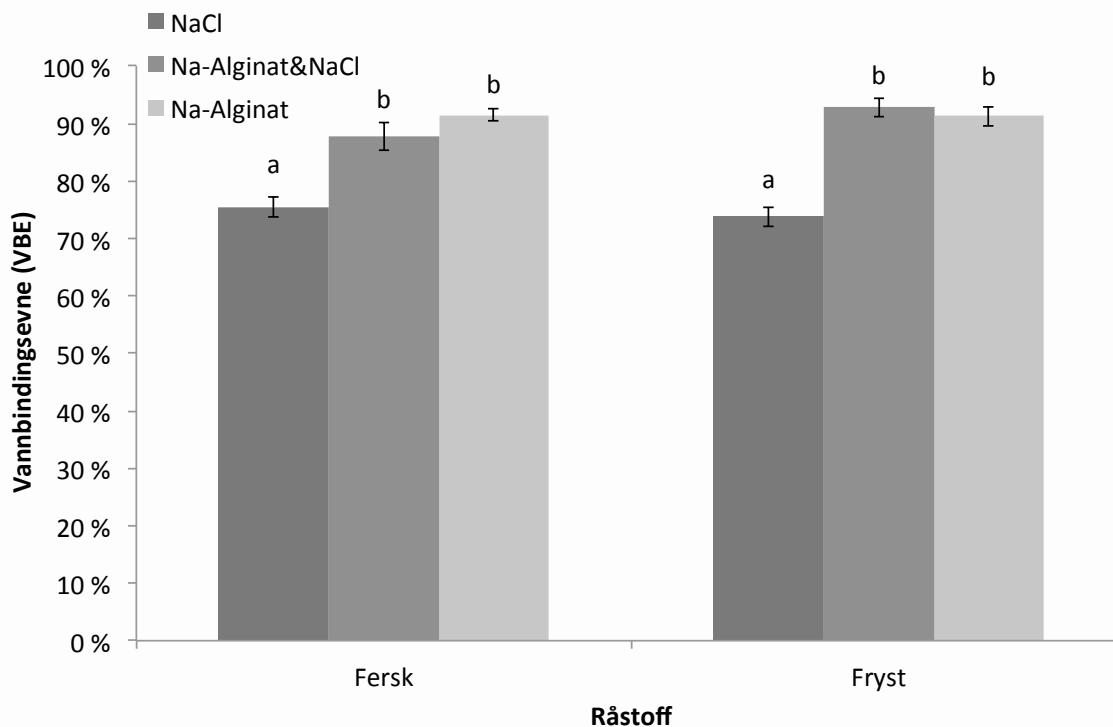
Figur 13: Koketap for fiskepudding laget henholdsvis av ferskt og fryst råstoff av hyse. Signifikante forskjeller er vist ved forskjellige bokstaver for prøver.

Det ble også observert en reduksjon i pH for resept 2 og 3 både med ferskt og fryst råstoff, mens det var en økning i pH fra farse til fiskepudding for resept 1 (NaCl). pH ble bare målt én gang for hver måling, dette medfører en viss usikkerhet for pH-verdiene. Det ser ut til å være en tendens til at pH reduseres ved tilsats av NA, GDL og CaCO_3 noe som kan forklares med tilsats av GDL. For fiskepudding laget av ferskt råstoff ble det også målt pH like etter varmebehandling for resept 1 og resept 3.

Biopolymerer konkurrerer også med myofibrillproteiner om vann, og ved begrensning på vann kan dette forhindre fullstendig gelering (Pérez-Mateos & Montero, 2000) dette er sannsynligvis ikke forklaringen i dette tilfellet ettersom koketapet for fiskepudding tilsatt kun salt var relativt stort, noe som tyder på at andelen myofibrillproteiner som ble ekstrahert ikke hadde kapasitet til å binde mengden tilgjengelig vann.

3.2 Vannbindingsevne

Vannbindingsevnen ble bestemt som beskrevet i kapittel 2.2.3 (Materialer og Metoder). Vannbindingsevnen er justert for vanninnholdet i fersk filet av hyse og for tilsatt vann. I Figur 14 kan det sees at for fiskepudding tilsatt NA og NaCl var ikke vannbindingsevnen i fryst råstoff signifikant høyere enn for samme resept laget med ferskt råstoff. Det var signifikant forskjell mellom puddinger tilsatt kun NaCl og de puddingene tilsatt NA, slik som for koketap.



Figur 14: Vannbindingsevne for varmebehandlet fiskepudding laget av råstoff fra fersk og fryst hysefilet med ulike tilsetninger som angitt på figuren. Vannbindingsevnen er angitt i prosent av opprinnelig vanninnhold for fersk hysefilet med $n=12$.

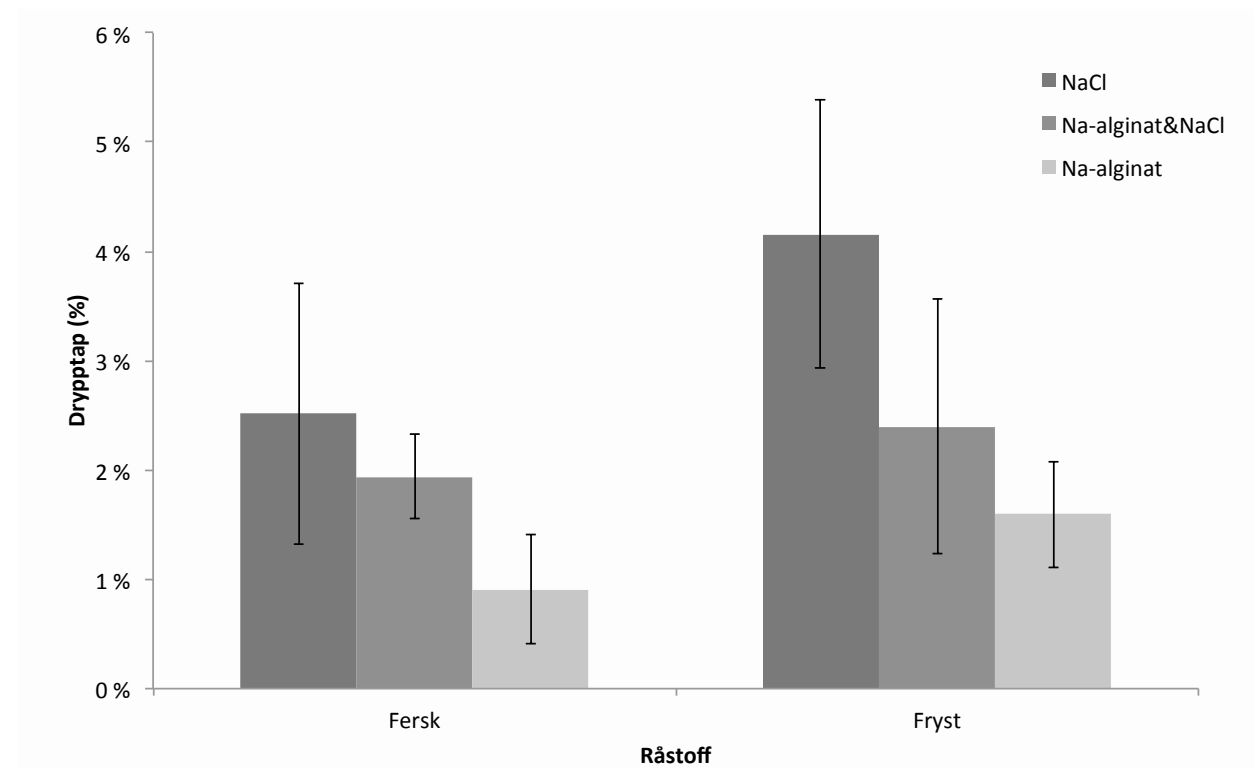
Flere studier har vist at kvaliteten på råstoffet har betydning for hvordan tilsetninger påvirker kvaliteten til gelen. Dersom råstoffet (fisken) er av høy kvalitet kan tilsats av geldannere deriblant stivelse, karrageenaner og alginater føre til reduserte reologiske egenskaper som er vesentlige for elastisitet og hardhet i produktet. For råstoff av dårligere kvalitet derimot ble det funnet at tilsats av gelingsmidler kunne føre til at produktet fikk økt funksjonalitet av proteiner, særlig geldanningsevne og vannbindingsevne (Pérez-Mateos & Montero, 2000).

Vannbindingsevnen til fiskepudding som ble gelet med et alginatsystem før varmebehandling ser ut til å korrespondere med funn gjort av Pérez-Mateos og Montero (2000), som fant vannbindingsevne på $91,7 \% \pm 1,0$ for homogenisert muskel av kolmule (*Micromesistius poutasso*) tilsatt 1% NA og 1 % NaCl. VBE økte ved tilsats av de fleste biopolymerene, uavhengig av kvaliteten på råstoffet. Det er foreslått at tilsats av alginat fører til god vannbindingsevne, ikke bare fordi alginat holder på vann, men fordi protein/biopolymernetverket fanger vann (Pérez-Mateos & Montero, 2000).

Dette ser også ut til å samsvare med resultatene i denne oppgaven, ettersom vannbindingsevnen er høyere for prøver som var tilsatt NA. De signifikante forskjellene er også signifikante på 1 % nivå.

3.3 Drypptap

Drypptap ble bestemt som beskrevet i kapittel 2.2.4 (Materialer og Metoder). Drypptapet for fiskepudding som er laget av ferskt og av fryst råstoff er vist som prosentandel av startvekt for prøven i Figur 15.



Figur 15: Drypptap for fiskepudding fra fersk og fryst råstoff av hyse, $n=9$. Drypptapet er vist som prosentandel av startvekta til prøven. For prøver av ferskt råstoff er det kun foretatt målinger av drypptap etter 7 dager, mens prøver av fryst råstoff også ble veid etter 14 dager.

Drypptapet for fiskepudding laget av ferskt råstoff ble bare veid etter 7 dager på grunn av en feil. For fiskepudding av fryst råstoff ble det også tatt drypptap etter 14 dager, det ble da registrert mikrobiell vekst på flere av prøvene. Dette betraktes som en indikasjon på at modellproduktet ikke var stabilt i forhold til mikrobiell vekst etter 14 dager, og det ble dermed besluttet å ikke produsere ny fiskepudding for å gjøre denne analysen på nytt.

Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i drypptap. På Figur 15 kan det sees at standardavviket for prøvene er relativt høyt, en medvirkende årsak til dette kan være at prøvenes størrelse førte til at det ble store variasjoner mellom hver enkelt prøve. Ettersom prøvene var relativt små (2,6-4,6 g) vil tap av væske kunne utgjøre en relativt stor andel av

den totale massen. Forskjeller mellom prøvene kan også skyldes at fiskepuddingen ikke kan sees på som en homogen gel, og ved preparering av prøvene ble de kuttet i terninger med snittflater på minimum fire sider, vil det være sannsynlig at hulrom som ellers ville "fanget" væske i puddingen, er blitt eksponert for luft slik at vann/væske dermed lekker ut og også fordamper, selv om prøvene ble oppbevart i tette poser, var det fuktighet på innsiden av posene ved veiing av prøvene.

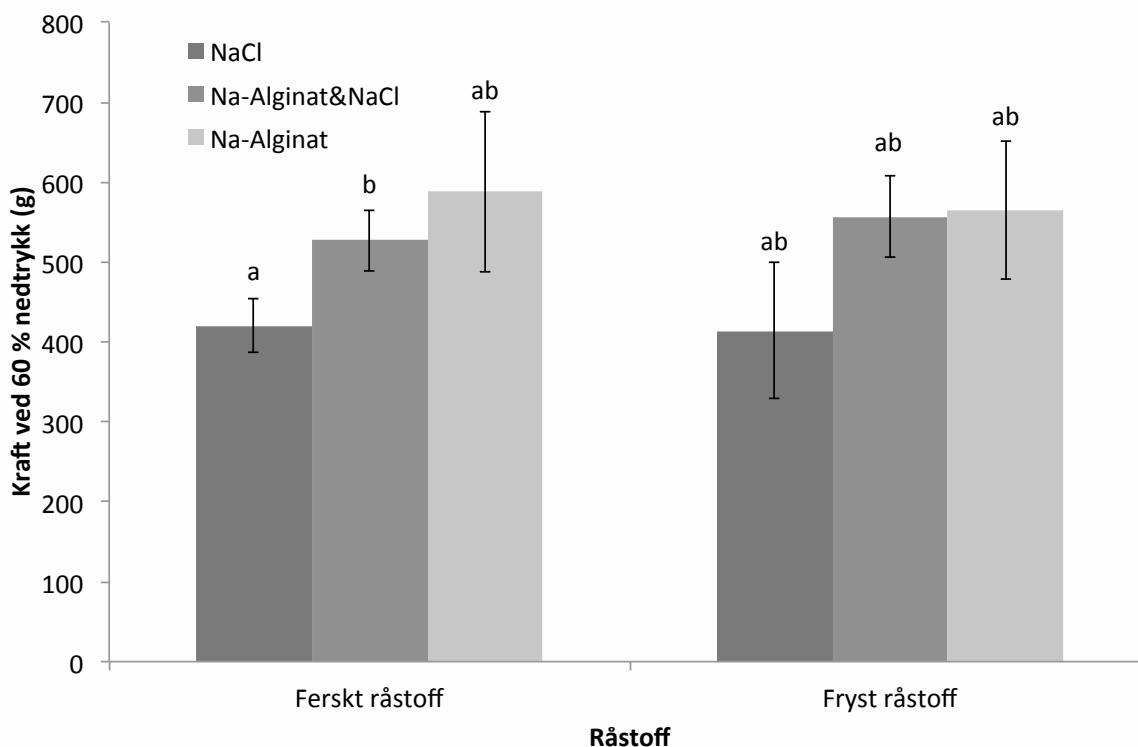
Tendensen for hvilke prøver som har størst drypptap er imidlertid den samme som for koketapet, pudding med NaCl har størst væsketap (vanntap), deretter følger NA med NaCl og NA har lavest væsketap.

3.4 Tekstur

Tekstur ble målt som beskrevet i kapittel 2.2.2 (Materialer og Metoder). Som vist på Figur 16 var den kraften som ble målt ved 60% nedtrykk (deformasjon) av fiskepuddingen lavere for pudding kun tilsatt NaCl, det ser dermed ut til at alginat-systemet bidrar til en hardere gel slik at det må mer kraft til for å trykke sammen fiskepudding tilsatt alginat.

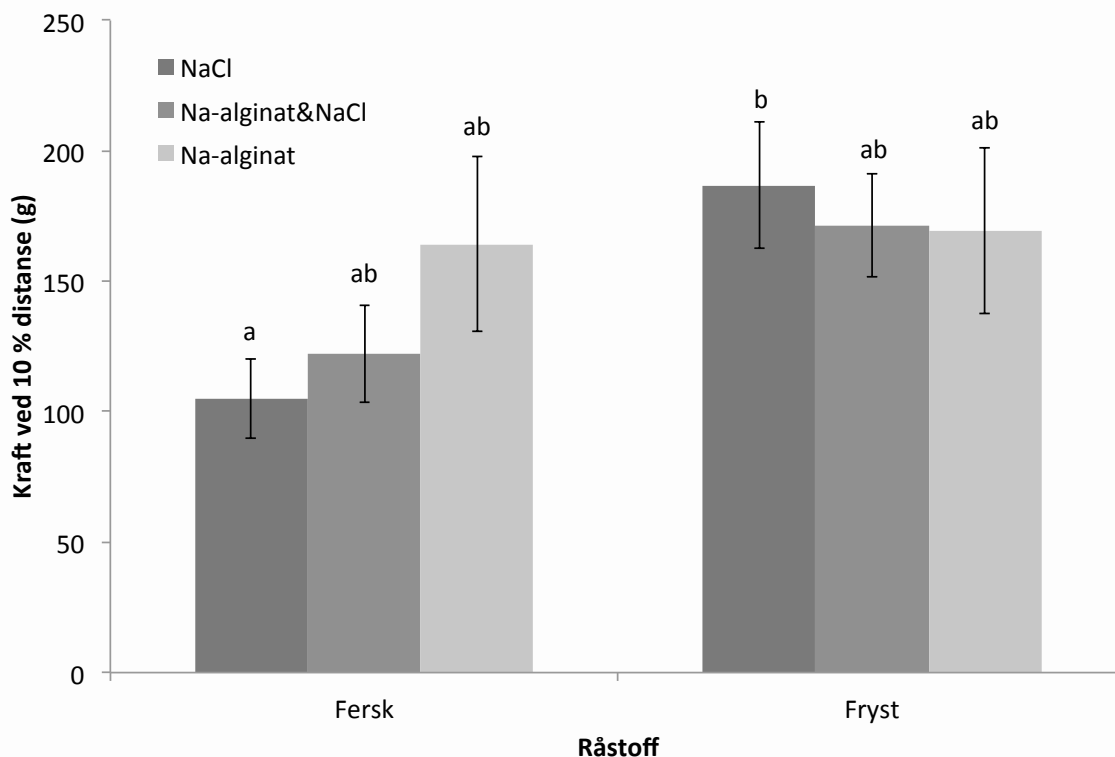
Fiskepuddingen av ferskt råstoff tilsatt NA hadde høyest gelstyrke ved 60 % nedtrykk (588 g). Puddinger tilsatt NA for fryst råstoff hadde nest høyest gelstyrke (omtrent 560 g).

Fiskepudding tilsatt NaCl laget med fryst råstoff hadde den laveste gelstyrken (414 g). Det ble kun funnet signifikant forskjell mellom pudding av ferskt råstoff tilsatt NaCl (420 g) og pudding av ferskt råstoff tilsatt NaCl + NA (527 g).



Figur 16: Kraft ved 60% nedtrykk målt ved hjelp av teksturmåler, for fiskepudding laget av henholdsvis ferskt og fryst råstoff av hyse, med ulike tilsetninger som angitt. Signifikante forskjeller er vist ved forskjellige bokstaver over de prøvene som har signifikant forskjell.

Teksturanalysen gjorde det også mulig å bestemme bruddstyrken til fiskepuddingen . Punktet for bruddstyrke var ikke tydelig for alle målingene, ettersom geometrien til grafen kunne variere også for de ulike målepunktene på samme pudding. Det er mulig at dette kan skyldes at fiskepuddingene ikke bestod av en homogen gel, men hadde en ujevn sammensetning. For å sammenlikne kraft ved nedtrykk med minst mulig bidrag fra plastisitet i prøven, ble kraften ved 10 % av kompresjonen bestemt (Figur 17). Kraften ved 10 % distanse ble bestemt ut fra et område på grafene for teksturmåling der kraften økte tilnærmet rettlignet ved sammenpressing av prøven.



Figur 17: Kraft ved 10 % distanse, målt ved bruk av teksturmåler for fiskepudding laget av henholdsvis ferskt og fryst råstoff av hyse, med ulike tilsetninger som angitt. Signifikante forskjeller er vist ved forskjellige bokstaver over de prøvene som har signifikant forskjell.

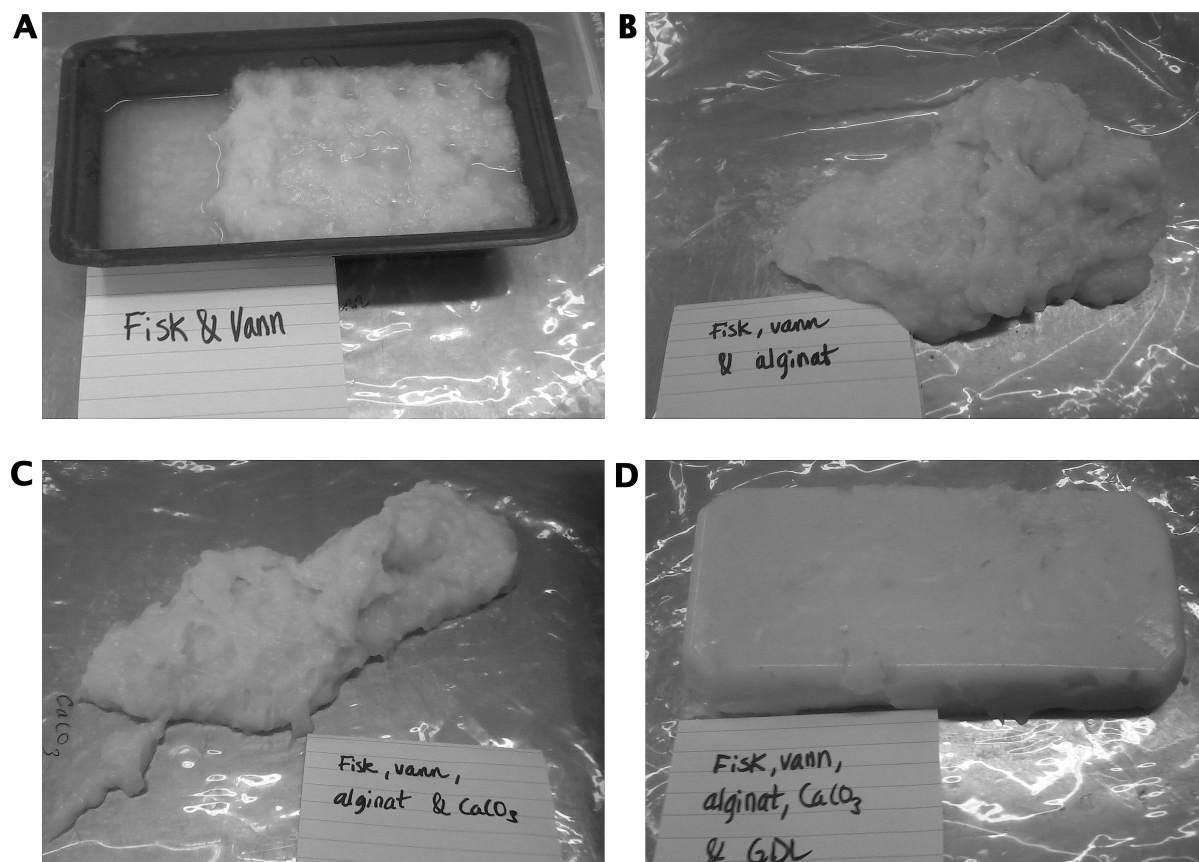
Den høyeste kraften ved 10 % sammentrykking ble funnet for fiskefarse laget etter resept 1 (NaCl) av fryst råstoff (187 g). Deretter fulgte pudding laget med fryst råstoff tilsatt NA med NaCl (172 g), og pudding med NA (170g). Dette samsvarte ikke med det som ble observert ved å trykke på puddingene med en finger, eller ved behandling av puddingene. Det var merkbart at de puddingene som bare var tilsatt NaCl hadde løsere tekstur enn puddinger som var tilsatt NA, og at de var vanskelig å håndtere puddinger kun tilsatt NaCl ettersom disse lett gikk i stykker. En mulig forklaring på at teksturmålingene viser at det kreves en høyere kraft for sammenpressing av fiskepuddingene fra resept 1 (NaCl) kan være disse fiskepuddingene hadde et stort koketap. Dette fører til at puddinger tilsatt kun NaCl inneholder mer protein per volum, enn fiskepuddingene som var tilsatt NA, ettersom de sistnevnte hadde lavt koketap slik at puddingene hadde et større volum og en større andel vann.

Pérez-Mateos og Montero (2000) har funnet at gelegenskapene har en tendens til å svekkes ved tilsats av økte konsentrasjoner av biopolymer (fra 0,5 til 4 %). Det ble foreslått at en mulig forklaring på dette kan være at økte konsentrasjoner av biopolymer førte til forstyrrelser i geling av myofibrillproteiner på grunn av sterisk hindring. Det ble funnet en økning i reologiske egenskaper, noe som kan skyldes at biopolymeren forsterker nettverket som dannes av proteinene (Pérez-Mateos & Montero, 2000).

3.5 Natriumalginats påvirkning på fiskefarse

Prøvene ble tillaget som beskrevet i 2.2 (Materialer og Metoder). Fiskefarsen som ble tilsatt natriumalginat (NA), ble også tilsatt kalsiumkarbonat (CaCO_3) og glukono- δ -laktone (GDL) for å danne et gelsystem slik at NA dannet en gel med kalsiumionene (Ca^{2+}). Forsøket ble utført for å observere om fiskefarsen selv hadde god nok bufferkapasitet til å omsette CaCO_3 til Ca^{2+} .

Det ble observert forskjell mellom prøvene allerede ved tillaging. Blandingen med fisk og vann skilte seg, og det var mye (tilsatt) vann som ikke blandet seg med fiskemassen. Prøvene tilsatt alginat holdt på det tilsatte vannet, og det var ingen visuelle forskjeller eller merkbare forskjeller ved å trykke lett med fingeren på de ulike prøvene. Ved visuell observasjon og ved å kjenne med fingeren etter 3 timer var de tre prøvene som var tilsatt alginat ganske like. Etter 5 timer så det ut til at prøven tilsatt GDL hadde begynt å danne en gel, mens de andre to var mer like og mindre faste, men de hadde tydelig en tykkere og mer fast konsistens enn prøven med kun fisk og vann.



Figur 18: Observasjon av fiskefarse med ulike tilsetninger etter 24h setting ved ca. 5° C. A) Kun fisk og vann. B) Fisk, vann og NA. C) Fisk, vann, NA og CaCO_3 . D) Fisk, vann, CaCO_3 og GDL.

Figur 18 viser hvordan fiskefarsen med ulike tilsetninger så ut etter 24 timer. Alle prøvende med unntak av prøven med kun vann og fisk, ble hvelvet ut av skåla for å observere om det var skjedd en endring i tekstur. Prøven tilsatt NA slapp skåla ganske lett etter at det ble løsnet rundt kanten med en kniv. Teksturen liknet kald rømmegrøt. Prøven tilsatt NA og CaCO_3 satt mer fast i skåla, men tekturen kunne ikke skilles fra prøven kun tilsatt NA ved visuell observasjon, eller ved å kjenne på farsen. Prøven tilsatt GDL i tillegg til NA og CaCO_3 hadde dannet en gel og kunne hvelves ut i et helt stykke og beholdt formen. Teksturen liknet på gelé og kunne fint stå på egenhånd og løftes opp, men var lett å "mose" med fingrene. Tabell 4 viser en oversikt over pH ved start og pH etter 24 timer for fisk og vann og de ulike tilsetningene.

Tabell 4: pH og temperatur målt ved start ($t=0$) og etter 24 timer ($t=24$) for fisk og vann med ulike tilsetninger

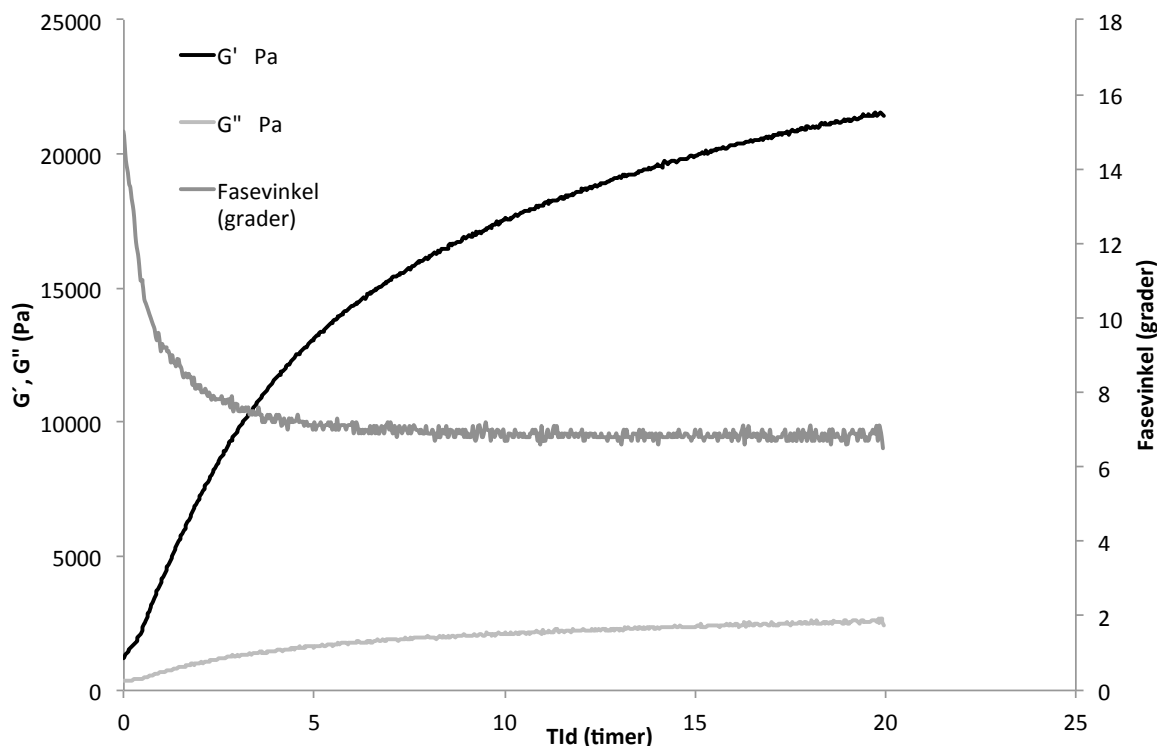
| Ingredienser i fiskefarse | pH $t=0$ | Temp (°C) | pH $t=24$ | Temp (°C) |
|---|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Fisk & vann | 6,716 | 14,5 | 6,831 | 9,4 |
| Fisk, vann & NA | 6,766 | 14,9 | 6,954 | 9,3 |
| Fisk, vann, NA & CaCO ₃ | 6,775 | 15,4 | 6,923 | 10,0 |
| Fisk, vann, NA, CaCO ₃ & GDL | 6,644 | 16,1 | 6,458 | 10,5 |

Etter 24 timer var det ikke mulig å se eller kjenne forskjell ved fingertrykk på farse tilsatt NA og farse tilsatt NA og CaCO₃, innenfor dette observasjonsvinduet (24 timer) var ikke bufferkapasiteten i fisken god nok til å frigjøre Ca²⁺ fra CaCO₃ slik at NA kunne gele. Det kan være at et lengre observasjonsvindu ville ført til at Ca²⁺ ble frigjort fra CaCO₃. I forhold til prosessering av fisk er det kanskje ikke aktuelt med prosess som tar over 24 timer i forhold til kvaliteten på fisken, men i forhold til forskning vil det være interessant å undersøke.

3.6 Reologiske egenskaper

De reologiske målingene ble utført som beskrevet i 2.2 (Materialer og Metoder). Da proben gikk ned til angitt avstand, ble noe av vannet i prøven med fisk og vann presset ut, måleresultatet for denne prøven var derfor med noe mindre vann enn det som fantes i den opprinnelige prøven. Prøven som var tilsatt alginat holdt i større grad på vannet, og det var ikke mye vann som ble presset ut ved plassering av proben for måling på denne prøven.

Som vist på Figur 19 kan det sees ut fra transisjonssveipet at lagringsmodulus (G') økte med tiden. Helt i starten kan det sees på figuren at det er en lav økning, mens økningen er tilnærmet rettlinjert fra omtrent $t=1$ til $t=5$. Etter dette skjer det fortsatt en økning i G' , men denne skjer ikke like raskt som for lavere t . Det kan også sees en økning i tapsmodulus (G''), men denne økningen er liten sammenliknet med økningen i lagringsmodulus. I løpet av transisjonssveipet øker med andre ord lagringsmodulus slik at denne ved transisjonssveipets slutt er mye større enn tapsmodulus ($G' \gg G''$). Samtidig med økningen i G' avtar fasevinkelen.



Figur 19: Transisjonsveip foretatt på fiskefarse tilsatt alginat, CaCO_3 og GDL. På figuren er lagringsmodulus (G') og tapsmodulus (G'') plottet på primæraksen som funksjon av tiden. På sekundæraksen er fasevinkelen plottet, også denne som funksjon av tid.

Ved slutten av målingene var det noe materiale utenfor proben, hvilket kan bidra til noe feil i målingene ettersom dette fører til at det i virkeligheten måles på mer prøve enn det proben registrerer.

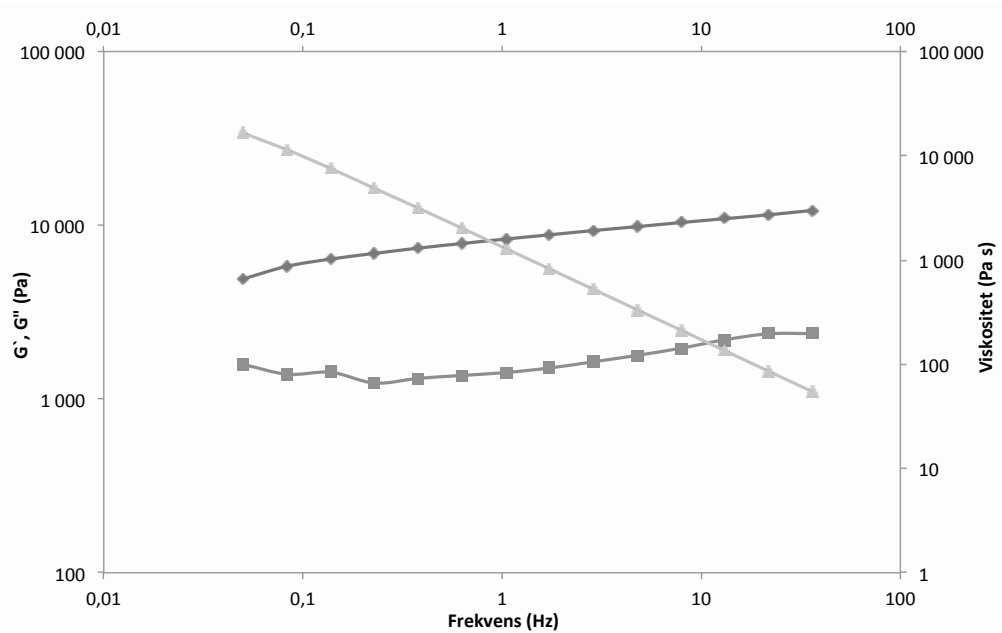
Når G' er større enn G'' og fasevinkelen er mindre enn 45° , som i dette tilfellet (Tabell 2) vil det si at materialet oppfører seg som et viskoelastisk fast stoff. Transisjonsveipet viste at gelen i prøven ble sterkere etter hvert. Draget *et al.* (1990) påpeker at GDL fører til langsom hydrolyse av CaCO_3 hvilket bidrar til at det dannes en homogen gel (Draget *et al.*, 1990). Dette er i samsvar med at en langsom frigjøring vil føre til en gel som øker i styrke over tid.

Frekvenssveip for fisk og vann er vist på Figur 20 A, der det kan sees at lagringsmodulus (G') øker med økende frekvens. Lagringsmodulus øker fra omtrent 4500 Pa til omtrent 12 000 Pa, mens tapsmodulus øker fra omtrent 1600 Pa til omtrent 2400 Pa. Viskositeten er avtagende med økende frekvens fra omtrent 16 000 Pa s til omtrent 50 Pa s. Det vil si at

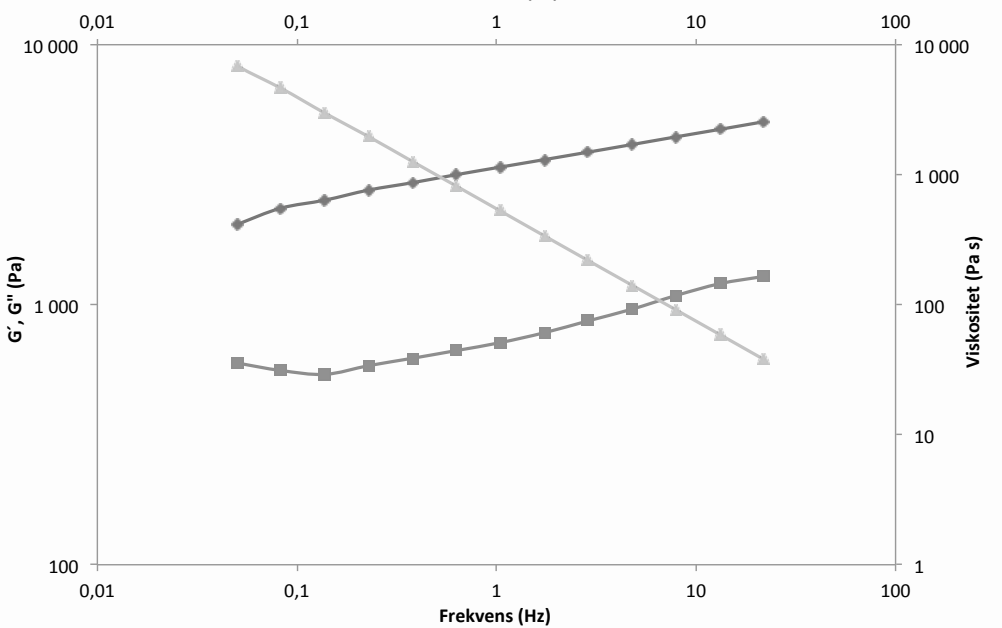
Prøven med kun fisk og vann så ut til å ha en høyere viskositet enn prøven som også var tilsatt alginat. Dette kan skyldes at relativt store partikler har påvirket målingene.

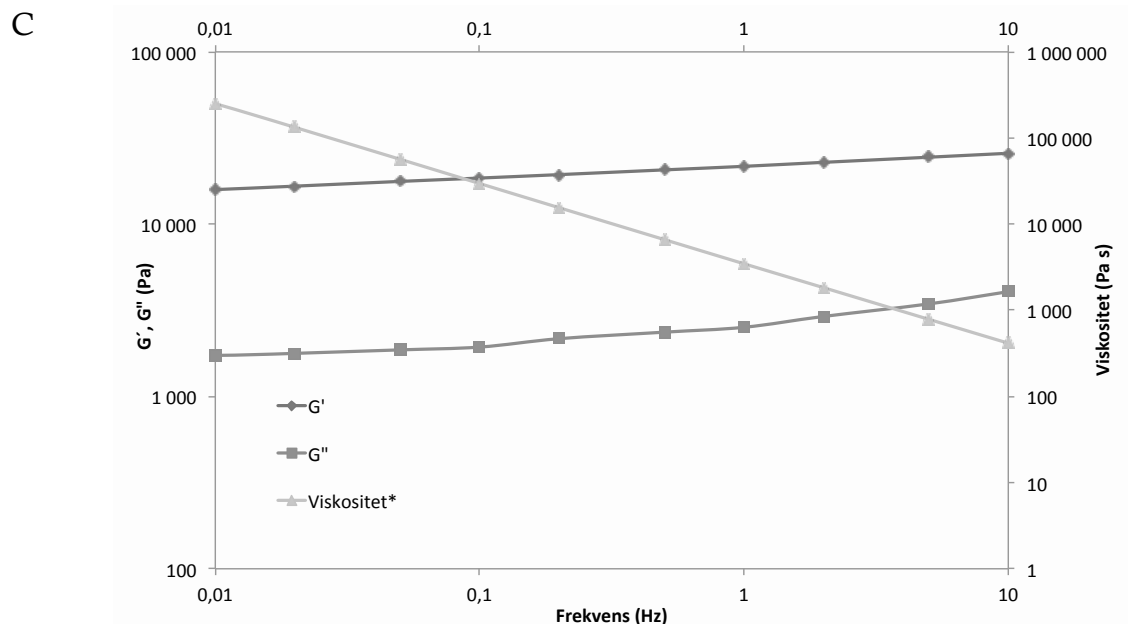
Frekvenssveip for prøven med fisk og vann tilsatt alginat er vist i Figur 20 B. Frekvenssveip for prøven med fiskefarse som er gelet med et system av natriumalginat, CaCO_3 og GDL er vist på Figur 20 C. Frekvenssveipet ble foretatt på den samme prøven som ble benyttet til transisjonssveipet i Figur 19. Frekvenssveipet ble utført etter transisjonssveipet, og derfor etter gelingen hadde inntruffet. Som det kan sees av figuren er forskjellen mellom G' (lagringsmodulus) og G'' (tapsmodulus) større enn på transisjonssveipene som ble foretatt for kun fisk og vann, og for fisk og vann tilsatt alginat (Figur 20 A og B). I likhet med frekvenssveipene vist i Figur 20 A og B viser også frekvenssveipet i Figur 20 C høyere verdier for G' (lagringsmodulus), hvilket er typisk for gelsystemer. Frekvenssveipet for prøven med gelet NA, hadde en større forskjell mellom lagringsmodulus og tapsmodulus enn de to andre prøvene. For geler er både lagringsmodulus og tapsmodulus relativt konstante, fortynnete og konsentrerte løsninger er relativt avhengige av frekvens, mens geler har mer konstant modulus for hele frekvensområdet (Steffe, 1996).

A



B

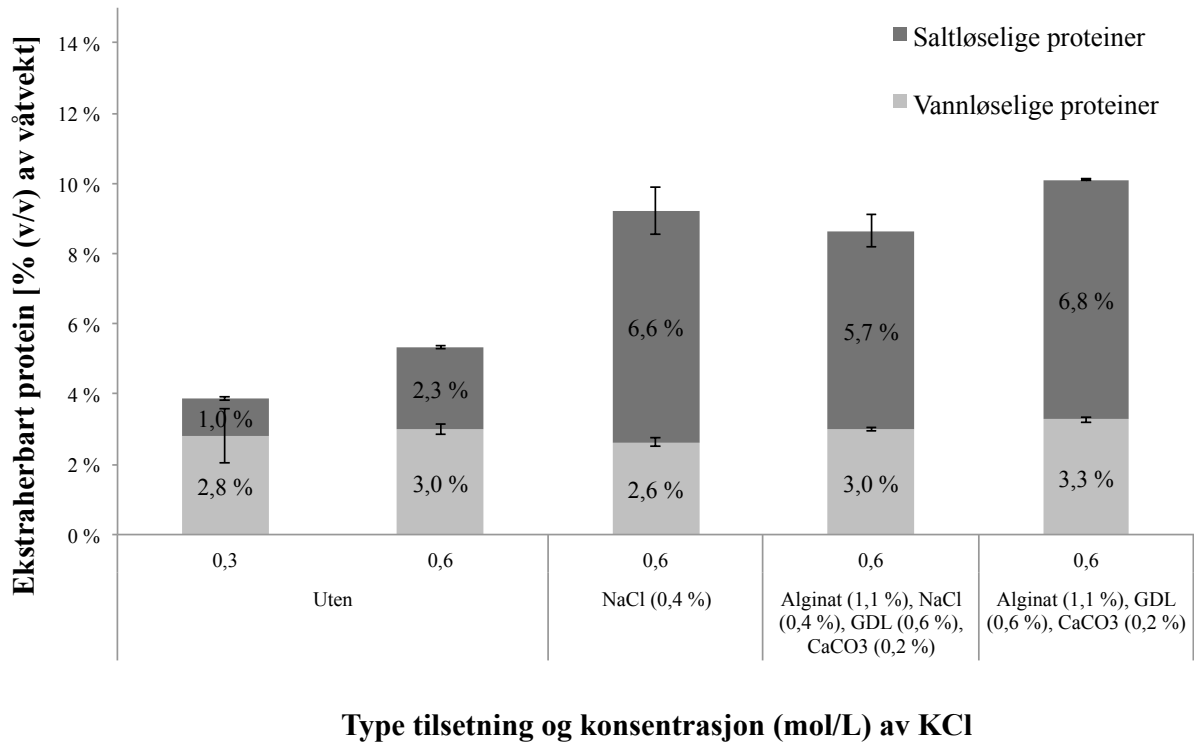




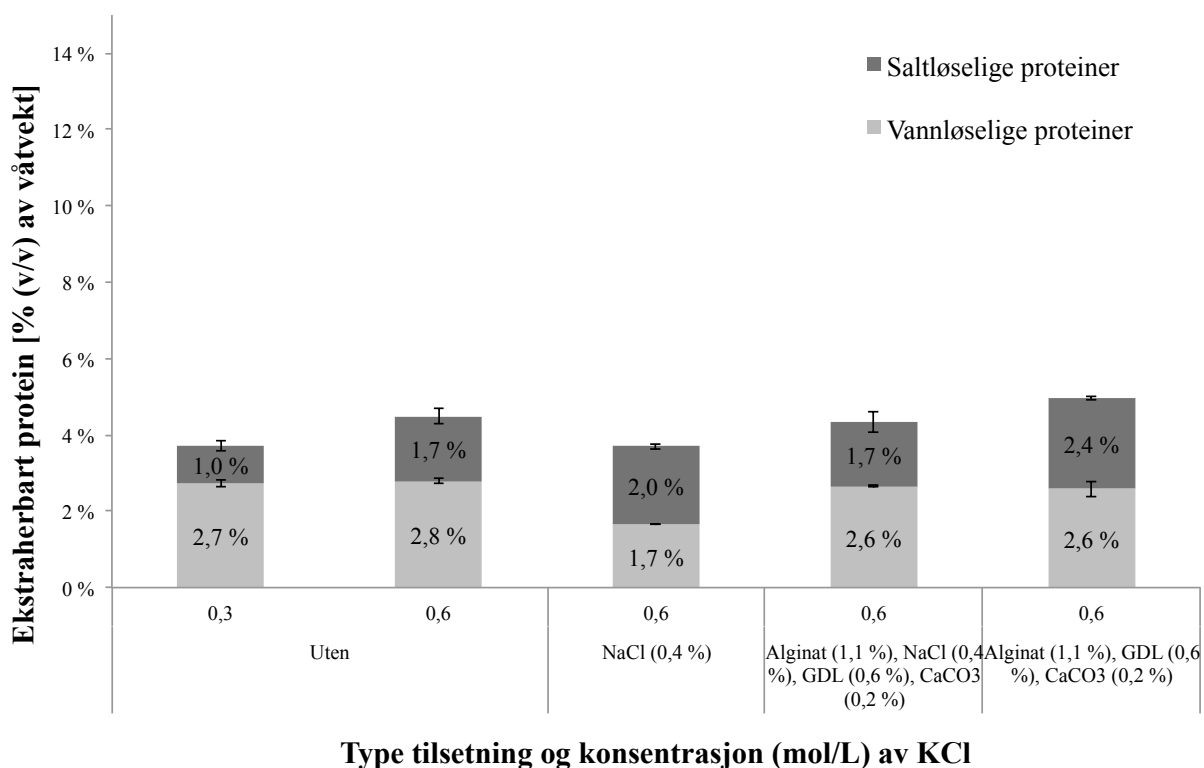
Figur 20 Frekvenssveip for fisk og vann A, for fisk og vann tilsatt alginat B, og for fisk og vann med gelet alginat (tilsatt CaCO_3 og GDL) C. Lagringsmodulus (G') og tapsmodulus (G'') er plottet som funksjon av frekvens (Hz) på den primære aksene. På sekundæraksene er den komplekse viskositeten plottet mot frekvensen (Hz).

3.7 Proteinløselighet

Ettersom det er antatt at det i stor grad er de saltløselige proteinene som har størst betydning for geldannelse ble resultatene for gelstyrke sammenliknet med proteinløselighet for å se om proteinløseligheten for hyse bestemt av Sivertsen (2012) kunne bidra til å forklare resultatene for gelstyrken (Sivertsen, 2012).



Figur 21: Ekstraherbart protein fra farse av fersk hyse (Sivertsen, 2012).



Figur 22: Ekstraherbart protein fra farse av fryst hyse (Sivertsen, 2012).

Det er i stor grad de saltløselige proteinene som bidrar til å danne en gel i varmebehandlet muskelvev, men ved sammenlikning med resultater for koketap (Figur 13) og ekstraherbarhet saltløselige proteiner fra fiskefarse fra ferskt råstoff (Figur 21), ser det ut til det er tilsetningene (NA og NaCl) i større grad enn proteinene, som har bidratt til geldanning i prøver der koketapet er lavt. Dette kan skyldes som nevnt i forhold til koketap, at ionestyrken i farsen ikke var høy nok til å løseliggjøre den andelen myofibrillproteiner som er nødvendig for å danne en gel.

Det ble ekstrahert ut omtrent samme mengde saltløselig protein fra farse av ferskt råstoff både fra resept 1 (NaCl), 2 (NA og NaCl) og 3 (NA), det ble funnet en signifikant forskjell i mengden ekstraherbart saltløselig protein mellom resept 2 og 3. Mengden protein som ble ekstrahert ut fra farse med tilsetninger (5,7-6,8 % protein) skilte seg signifikant fra prøvene uten tilsetninger (2,3% protein) ved ekstraksjon med 0,6 M KCl. Ekstraherbarhet av

saltløselige proteiner for fersk farse uten tilsetninger (2,3 %) var også signifikant lavere enn for fersk filet (6,8 %). Dette kan være en indikasjon på at tilsats av NA, NaCl eller disse i kombinasjon på en eller annen måte fører til at proteinene blir mer tilgjengelige slik at en større andel av dem ekstraheres, i forhold til i fersk farse.

Ekstraksjon av saltløselige proteiner fra farse av fryst råstoff viste at ekstraksjon av saltløselige proteiner både for farse uten tilsetninger og farse tilsatt NA, NaCl og disse i kombinasjon, var signifikant lavere enn for farse av ferskt råstoff. Dette kan skyldes at frysing av filetene inducerer frysedenering og aggregering av proteinene, noe som kan tenkes å gi lavere ekstraherbarhet (Badii et al., 2003; Moreno et al., 2010). Teksturmålingene ved 60 % nedtrykk, viste ingen signifikante forskjeller mellom pudding av ferskt råstoff og fryst råstoff, noe som også kan tyde på at tilsats av alginat bidro i større grad enn myofibrillproteinene til teksturen i fiskepuddingene.

3.8 Videre arbeid

Undersøkelsene i denne oppgaven er gjort på et modellprodukt av fiskefarse. Modellproduktet inneholder ikke alle ingredienser som vanligvis finnes i fiskepudding som fås kjøpt i butikken. Resepten bør derfor optimaliseres med hensyn til andre ingredienser som også benyttes i fiskepudding. Dette innebærer også optimalisering av hvilken alginatkonsentrasjon som bør tilsettes, slik at gelingen fører til en ønsket tekstur i det ferdige produktet. Men også med tanke på at det er unødvendig og lite økonomisk å tilsette mer alginat enn det som kreves for ønsket tekstur. Det bør også undersøkes hvordan de ulike ingrediensene påvirker produktet sensorisk i forhold til lukt og smak.

Det finnes kommersielle alginatblandinger på markedet. Det bør også gjøres forsøk der de kommersielle alginatene sammenliknes med det alginatsystemet som er brukt i denne oppgaven for å se på eventuelle forskjeller i funksjonelle egenskaper både i farsen og i det ferdige produktet.

Som påpekt av Desmond (2006) er det nødvendig å undersøke hvordan produkter oppfører seg med tanke på mikrobiell aktivitet og stabilitet ved lagring. Det ble observert at

modellproduktet av fiskefarse for resept 3 (NA og NaCl) hadde prøvene til drypptap mikrobiell vekst etter 14 dager. Disse prøvene hadde som beskrevet vært oppbevart på kjølerom i ziplockposer, men disse betingelsene var ikke tilstrekkelig for å hindre mikrobiell vekst. Tilveksten førte ikke til økt vekt i forhold til startvekt for noen av prøvene. Dette produktet er kun et modellprodukt, men det bør gjøres holdbarhetsforsøk med prøver som inneholder alle ingredienser som vanligvis finnes i fiskepudding for å kartlegge holdbarheten til produktet. Det er interessant at det kun var prøver fra resept 3 som hadde synlig vekst, ikke prøver fra resept 1 og 2.

4 Konklusjon

Fiskepudding laget av ferskt råstoff tilsatt NaCl (0,4 %) hadde et koketap (25,4 %) som var signifikant lavere enn pudding av fryst råstoff (28,0 %). For puddinger som var tilsatt natriumalginat (NA) var det kun signifikant forskjell mellom de puddingene som var også var tilsatt NaCl, der puddingen som var laget av fryst råstoff hadde det laveste koketapet (5,4 %). For alle puddingene som var tilsatt NA (også de som i tillegg var tilsatt NaCl) var koketapet signifikant lavere enn de puddingene som var tilsatt NaCl (0,4 %)

For vannbindingsevnen (VBE) var tendensen at de puddingene som hadde det laveste koketapet hadde den høyeste vannbindingsevnen. I likhet med som for koketap ble det funnet signifikante forskjeller mellom pudding tilsatt kun NaCl og pudding som var tilsatt NA, forskjellene i VBE var signifikante på 1 % nivå.

Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i drypptap, men det var antydning til at drypptapet var høyere for pudding av fryst enn for pudding av ferskt råstoff. At det ikke ble funnet signifikante forskjeller kan skyldes en svakhet i metoden.

Teksturanalysen for 60 % nedtrykk viste at puddingene som var tilsatt NA hadde den største gelstyrken (527-588 g). Det ble kun funnet signifikant forskjell mellom pudding laget av ferskt råstoff tilsatt NaCl (420 g) og NaCl + NA (527 g).

Den høyeste kraften ved 10 % sammentrykking ble funnet for fiskefarse laget etter resept 1 (NaCl) av fryst råstoff (187 g). Deretter fulgte pudding laget med fryst råstoff tilsatt NA med NaCl (172 g), og pudding med NA (170 g). Dette samsvarte ikke med hvordan disse prøvene ble vurdert ved håndtering under de ulike analysene. En mulig forklaring på at teksturmålingene viser en høyere kraft for sammenpressing av fiskepuddingene fra resept 1 (NaCl) kan være disse fiskepuddingene hadde en høyere proteinkonsentrasjon på grunn av høyt koketap.

Fiskefarse kunne ikke løseliggjøre kalsium (Ca^{2+}) fra CaCO_3 slik at det dannet en gel med alginat i løpet av observasjonsvinduet på 24 timer. Ved tilsatt av gluono- δ -laktose til det samme systemet ble det dannet en gel. Reologiske målinger viste at alginatsystemet dannet en gel som økte i styrke i løpet av transisjonssveipet (20 timer).

Ut fra andelen saltløselig protein som ble ekstrahert, var det indikasjoner på at det var tilsatt av NA til farsen som førte til geling, heller enn løseliggjøring av saltløselige proteiner. Ettersom det ble ekstrahert en ganske lik mengde proteiner fra farse tilsatt NaCl og/eller NA.

Tilsatt av natriumalginat (NA), CaCO_3 og glukono- δ -laktone (GDL) i fiskefarse ga økt vannbinding og redusert koketap, samt en sterkere gel i varmebehandlet fiskepudding sammenliknet med fiskepudding av farse som kun var tilsatt NaCl (0,4 %). Dette var tilfellet både for fiskepudding laget av ferskt og av fryst råstoff av hyse. Ved å tilsette alginat, CaCO_3 og GDL til fiskemasse (fisk og vann) ble det dannet en gel uten varmebehandling av fiskefarsen, reologiske målinger viste at gelen økte i styrke.

Litteratur

- Albarracín, W., Sánchez, I. C., Grau, R., & Barat, J. M. (2011). Salt in food processing; usage and reduction: a review. *International Journal of Food Science and Technology*.
- Asghar, A., Samejima, K., & Yasui, T. (1985). Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 22, 27-106.
- Badii, F., Zhadan, P., & Howell, N. K. (2003). Elucidation of protein aggregation in frozen cod and haddock by transmission electron microscopy/immunocytochemistry, light microscopy and atomic force microscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1919-1928.
- BeMiller, J. N., & Huber, K. C. (2008). Carbohydrates. In S. Damodoran, K. L. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* Fourth ed.). Florida: CRC Press.
- Borderias, A. J., Sanchez-Alonso, I., & Perez-Mateos, A. (2005). New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. *Trends in Food Science & Technology*, 16(10), 458-465.
- Chaplin, M. (2011). Water structure and Science. In, vol. 2012): London South Bank University.
- Damodoran, S. (2008). Amino Acids, Peptides and Proteins. In O. R. Fennema, S. Damodoran & K. L. Parkin (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* Fourth ed.). Florida: CRC Press.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.
- Dettmar, P. W., Strugala, V., & Richardson, J. C. (2009). The key role alginates play in health. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 263-266.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25-39.
- Draget, K. I., & Haug, I. J. (2010). Forelesningsnotater i TBT 4505 Biopolymere materialer. In).
- Draget, K. I., Ostgaard, K., & Smidsrod, O. (1990). Homogeneous Alginate Gels: A Technical Approach. *Carbohydrate Polymers*, 14(2), 159-178.
- Draget, K. I., Østgaard, K., & Smidsrød, O. (1989). Alginate-based solid media for plant tissue culture. *Appl Microbiol Biotechnol*, 31, 79-83.
- Eide, O., Børresen, T., & Strøm, T. (1982). Minced Fish Production From Capelin (*Mallotus villosus*). A New Method for Gutting, Skinning and Removal of Fat from Small Fatty Fish Species. *Journal of Food Science*, 47.
- Esturk, O., Park, J. W., & Thawornchinsombut, S. (2004). Effects of thermal sensitivity of fish proteins from various species on rheological properties of gels. *Journal of Food Science*, 69(8), E412-E416.

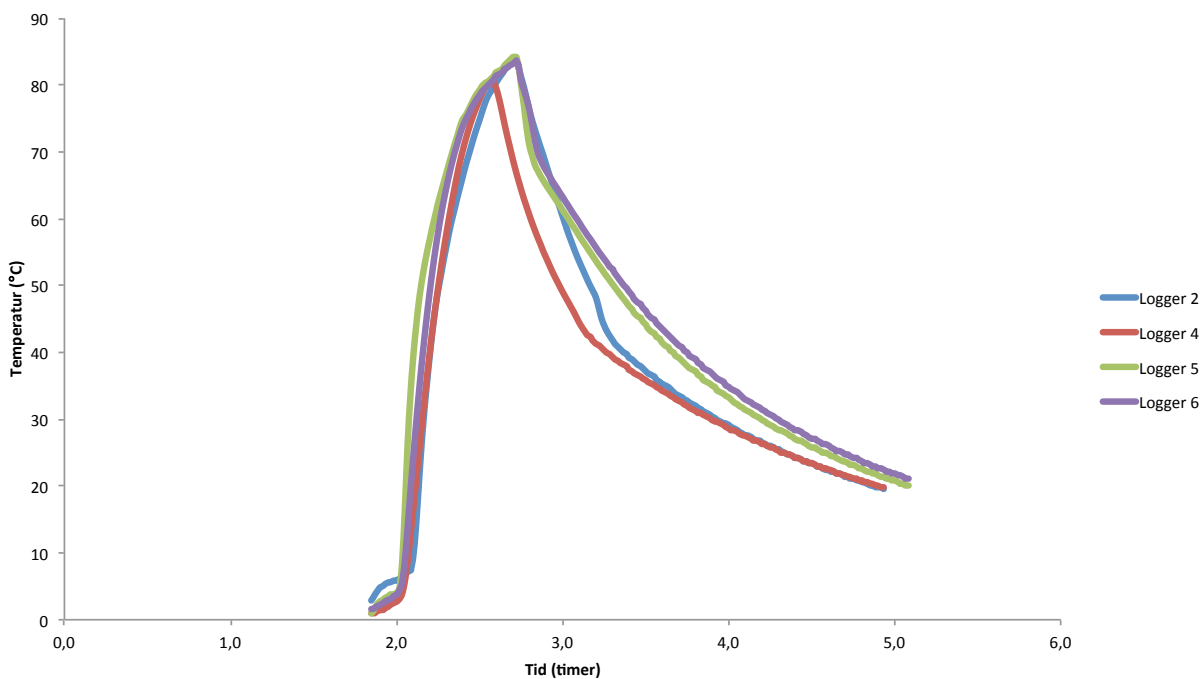
- Ferry, J. D. (1961). *Viscoelastic Properties of Polymers*. New York: Wiley. Ikke sett: sitert etter Fennema (2008)
- Garboczi, E. J., Bentz, D. P., Snyder, K. A., Martys, N. S., Stutzman, P. E., Ferraris, C. F., & Bullard, J. W. (2011). An electronic monograph: Modeling and Measuring the Structure and Properties of Cement-based Materials. In, vol. 2012). Gaithersburg, USA.
- Hamm, R. (1972). *Kolloidchemie des Fleisches* (Vol. Ikke sett). Berlin and Hamburg: Paul Parey. Ikke sett: sitert etter Puolanne og Halonen (2010)
- Helsedirektoratet. (2011). Kostråd for å fremme folkehelsen og forebygge kroniske sykdommer. In): Helsedirektoratet.
- Henney, J. E., Taylor, C. L., & Boon, C. S. (2010). Strategies to Reduce Sodium Intake in the United States. In C. o. S. t. R. S. Intake (Ed.)).
- Hong, G. P., & Chin, K. B. (2010). Evaluation of sodium alginate and glucono-delta-lactone levels on the cold-set gelation of porcine myofibrillar proteins at different salt concentrations. *Meat Science*, 85(2), 201-209.
- Leelapongwattana, K., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Howell, N. K. (2010). Effects of Trimethylamine-N-oxide Demethylase (TMAO ase) Inhibitors and Antioxidants Physicochemical and Biochemical Changes of Haddock Muscle Induced by Lizardfish TMAOase during Frozen Storage. *Journal of Food Biochemistry*, 34(5), 1032-1048.
- Leistner, L. (1999). Combined Methods for Food Preservation. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of Food Preservation*, (pp. 457-485). New York: Marcel Dekker.
- Lindsay, R. C. (2008a). Flavors. In S. Damodoran, K. L. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* Fourth ed., (pp. 639-687). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Lindsay, R. C. (2008b). Food Addives. In S. Damodoran, K. L. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* Fourth ed., (pp. 689-750). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Lynum, L. (2005). Videreforedling av fisk. In).
- Martz, E. Practical Protein 3D Structure & Structural Bioinformatics Workshops, Short Courses, and Seminars. In, vol. 2012).
- Mattilsynet. (2011). Forskrift om tilsetningsstoffer til næringsmidler. In H.-o. o. Folkehelseavdelingen (Ed.), vol. 2012): Mattilsynets nettsider.
- McKenna, B. e. a. (2003). *Texture in food* (1st ed. Vol. 1: Semi-solid Foods): Woodhead Publishing in Food Science and Technology.
- Montero, P., Hurtado, J. L., & M., P.-M. (2000). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 14, 455-461.
- Moreno, H. M., Carballo, J., & Borderías, A. J. (2010). Use of microbial transglutaminase and sodium alginate in the preparation of restructured fish models using cold

- gelation: Effect of frozen storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*(11), 394-400.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008a). Amino Acids, Peptides and Proteins. In S. Tenney (Ed.), *Lehninger Principles of Biochemistry* Fifth ed., (pp. 71-103). New York, USA: W. H. Freeman and company.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008b). The Three-Dimensional Structure of Proteins. In S. Tenney (Ed.), *Lehninger Principles of Biochemistry*). New York, USA: W. H. Freeman and company.
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat. In R. A. Lawrie (Ed.), *Developments in Meat Science* 4 ed., vol. Ikke sett (pp. 63-243). London: Elsevier Applied Science. Ikke sett: sitert etter Puolanne og Halonen (2010)
- Offer, G., & Trinick, J. (1983). On the Mechanism of Water Holding in Meat - The Swelling and Shrinking of Myofibrils. *Meat Science*, 8(4), 245-281.
- Ofstad, R., Kidman, S., Myklebust, R., & Hermansson, A. M. (1993). Liquid Holding Capacity and Structural Changes During Heating of Fish Muscle: Cod (*Gadus morhua*) and Salmon (*Salmo salar*). *Food Structure*, 12, 163-174.
- Oxford, U. P. (2011). Salary. In *Oxford*, vol. 2012): Oxford University Press.
- Pan, D., Cao, J., Wang, L., & Zeng, X. (2011). The influence of additives on properties of heat-induced gels from salt-soluble proteins extracted from goose. *International Journal of Food Science and Technology*.
- Pérez-Mateos, M., & Montero, P. (2000). Contribution of hydrocolloids to gelling properties of blue whiting muscle. *European Food Research and Technology*, 210(6), 383-390.
- Poullanne, E., & Halonen, M. (2010). Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Science*, 86, 151-165.
- Ramirez, J. A., Uresti, R. M., Velazquez, G., & Vazquez, M. (2011). Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1842-1852.
- Reid, D. S., & Fennema, O. R. (2008). Water and Ice. In S. Damodoran, K. L. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* Fourth ed.). Florida: CRC Press.
- Risbråthe, M. (2010). Vil redusere salt i matvarer. In, vol. 2012). forskning.no.
- Ross-Murphy, S. B. (1994). *Physical techniques for the study of food biopolymers* (First ed.). London: Blackie Academic & Professional.
- Sánchez, V. E., Bartholomai, G. B., & Pilosof, A. M. R. (1995). Rheological Properties of Food Gums as Related to their Water Binding Capacity. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.*, 28, 380-385.
- Sikorski, Z., & Kostuch, S. (1982). Trimethylamine N-oxide demethylase: Its occurrence, properties, and rôle in technological changes in frozen fish. *Food Chemistry*, 9(3), 213-222.

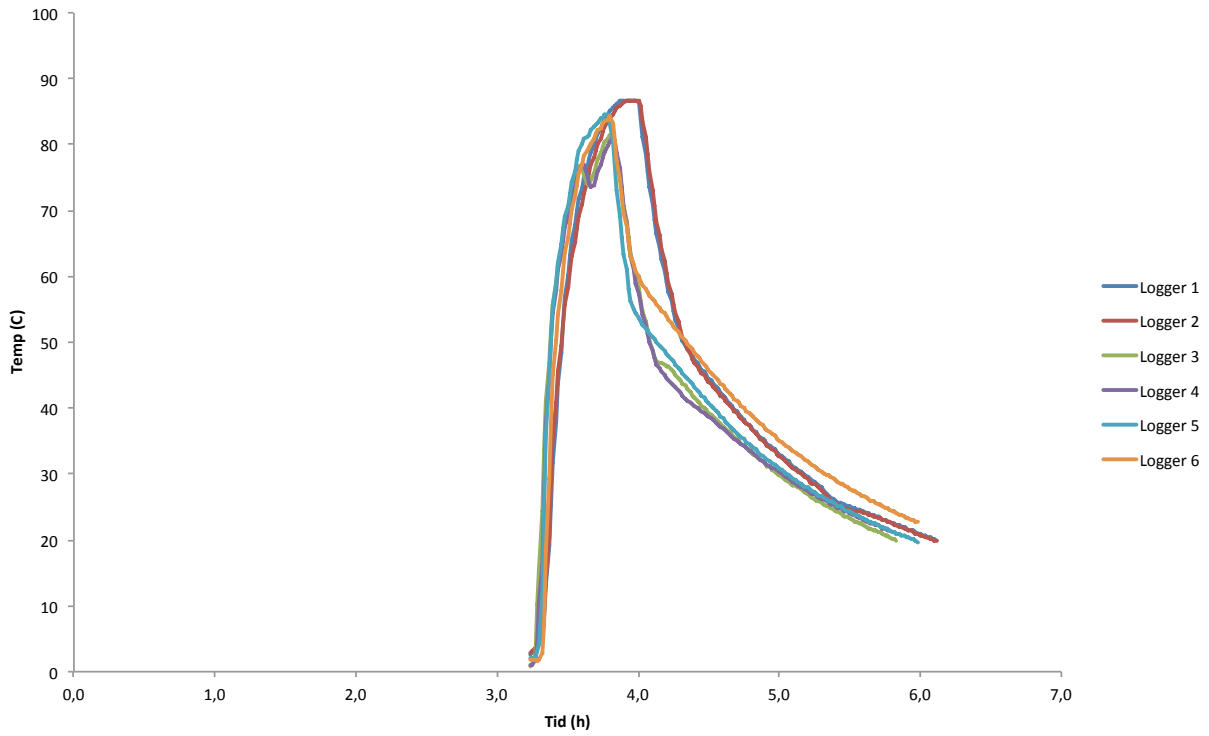
- Sikorski, Z. E., Pokorny, J., & Damodoran, S. (2008). Physical and Chemical Interactions of Components in Food Systems. In S. Damodoran, K. L. Parkin & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* fourth ed.). Florida: CRC Press.
- Sintef, F. o. H. (2008). Sintef Fisheries and Aquaculture Newsletter 1 - 2008. In, vol. 2012). tilgjengelig fra sintef.no.
- Sivertsen, I. K. (2012). *Masteroppgave i Bioteknologi*. Unpublished Mastergrad, NTNU, Trondheim.
- Skipnes, D., Johnsen, S. O., Skara, T., Sivertsvik, M., & Lekang, O. (2011). Optimization of Heat Processing of Farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Muscle with Respect to Cook Loss, Water Holding Capacity, Color, and Texture. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(3), 331-340.
- Smidsrod, O. (1973). Molecular Basis for some Physical Properties of Alginates in the Gel State. *Faraday Discussions of the Chemical Society*.
- Smidsrød, O., & Moe, S. T. (2008). *Biopolymer Chemistry* (1st ed.): Tapir Academic Press.
- Steffe, J. F. (1996). Viscoelasticity. In *Rheological Methods in Food Process Engineering* second ed.). East Lansing, Michigan: Freeman Press.
- Strasburg, G., Xiong, Y. L., & Chiang, W. (2008). Physiology and Chemistry of Edible Muscle Tissues. In O. R. Fennema, S. Damodoran & K. L. Parkin (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* fourth ed.). Florida: CRC Press.
- Williams, P. A., & Philips, G. O. (2000). Introduction to food hydrocolloids. In *Handbook of Hydrocolloids*). Cambridge: Woodhead publishing.

A Temperaturlogging av varmebehandling

For å undersøke hvordan temperaturen endret seg under varmebehandling av fiskepuddingen, ble temperaturen logget ved bruk av temperaturloggere. Temperaturen er plottet som funksjon av tiden i Figur 23 og Figur 24



Figur 23: Temperaturlogging av varmebehandling av fiskepudding fra ferskt råstoff



Figur 24: Temperaturlogging under kokeprosessen for fiskepudding.

B Student-t-test

Det ble brukt student-t-test for å finne eventuelle signifikante forskjeller.

$$t = \frac{|A-B|}{\sqrt{a^2+b^2}} \quad (\text{B-1})$$

Tabell A i appendix i Taylor (1982) ble benyttet for å undersøke om t-verdiene var signifikante .

De signifikante forskjellene for koketap, vannbindingsevne, drypptap, er vist i Tabell 5 til Tabell 9.

Tabell 5: Signifikante forskjeller i koketap for fiskepudding med forskjellige tilsetninger og ferskt eller fryst råstoff

| Råstoff | Tilsetning | t () | P() |
|------------------|-----------------|--------|-----------|
| Ferskt vs. Fryst | NaCl | 3,768 | >99,95 |
| | NA+NaCl | 2,905 | 99,635 |
| | NA | 1,797 | 92,49 |
| Ferskt | NaCl vs NA+NaCl | 2,416 | 98,45 |
| | NA+NaCl vs. NA | 1,225 | 78,13 |
| | NA vs. NaCl | 12,971 | >99,99994 |
| Fryst | NaCl vs NA+NaCl | 18,416 | >99,99994 |
| | NA+NaCl vs. NA | 0,855 | 60,745 |
| | NA vs. NaCl | 15,453 | >99,99994 |

Tabell 6: Signifikante forskjeller i vannbindingsevne for fiskepudding med forskjellige tilsetninger og ferskt eller fryst råstoff

| Råstoff | Tilsetning | t | P(within τσ) |
|-------------|-------------------|---------|-------------------------|
| | | | Fra tabell A appendix A |
| Fryst/fersk | Alginat | 0,09222 | 7,17 |
| Fryst/fersk | Alg+NaCl | 1,8032 | 92,81 |
| Fryst/fersk | NaCl | 0,6924 | 50,98 |
| Fryst | Alg vs. alg+salt | 0,6490 | 48,43 |
| Fryst | Alg+salt vs. Salt | 8,0020 | >99,9994 |
| Fryst | Alg vs. Salt | 7,1767 | >99,9994 |
| Fersk | Alg vs. Alg+salt | 1,4833 | 86,11 |
| Fersk | Alg+salt vs. Salt | 4,1966 | 99,994 |
| Fersk | Alg vs. Salt | 7,9490 | >99,9994 |

Tabell 7: Signifikante forskjeller i drypptap for fiskepudding med forskjellige tilsetninger og ferskt eller fryst råstoff

| Råstoff | Tilsetning | t | P() |
|------------------------|------------------|-------|-------|
| Ferskt | NaCl vs. NA+NaCl | 0,459 | 35,45 |
| Ferskt | NA+salt vs. NA | 1,635 | 87,64 |
| Ferskt | NA vs. NaCl | 1,242 | 78,50 |
| Fryst | NA+NaCl vs. NaCl | 1,040 | 70,17 |
| Fryst | NA vs. NA+NaCl | 0,636 | 47,46 |
| Fryst | NaCl vs. NA | 1,947 | 94,88 |
| Fersk vs. Fryst | NaCl | 0,961 | |
| Fersk vs. Fryst | NA+NaCl | 0,373 | |
| Fersk vs. Fryst | NA | 0,983 | |

Tabell 8: Signifikante forskjeller i tekstur ved 60 % nedtrykk for fiskepudding med forskjellige tilsetninger og av ferskt eller fryst råstoff.

| Råstoff | Tilsetning | t | P() |
|------------------|------------------|-------|-------|
| Ferskt vs. Fryst | NaCl | 0,065 | |
| | NA+NaCl | 0,468 | |
| | NA | 0,172 | |
| Ferskt | NaCl vs. NA+NaCl | 2,089 | 96,25 |
| | NA vs. NA+NaCl | 0,571 | |
| | NA vs. NaCl | 1,586 | |
| Fryst | NaCl vs. NA+NaCl | 1,441 | |
| | NA vs. NA+NaCl | 0,084 | |
| | NA vs. NaCl | 1,249 | |

Tabell 9: Signifikante forskjeller i tekstur ved 10 % nedtrykk for fiskepudding med forskjellige tilsetninger og av ferskt eller fryst råstoff.

| Råstoff | Tilsetninger | t | P() |
|--------------|------------------|-------|-------|
| Ferskt/Fryst | NaCl | 2,854 | 99,56 |
| | NA+NaCl | 1,821 | 93,12 |
| | NA | 0,082 | |
| Ferskt | NaCl vs. NA | 1,602 | 89,04 |
| | NA+NaCl vs. NA | 1,096 | |
| | NaCl vs. NA+NaCl | 0,708 | |
| Fryst | NaCl vs. NA | 0,288 | |
| | NA+NaCl vs. NA | 0,034 | |
| | NA vs. NA+NaCl | 0,288 | |

C pH-målinger

Det ble målt pH på ulike tidspunkter i produksjonsprosessen (Tabell 10).

Tabell 10: pH målt ved ulike tidspunkter i produksjonsprosessen pH før kok ble målt like etter farsen ble hatt i skåler, mens pH etter kok ble målt ved bestemmelse av koketap.

| | FERSK | | | | | FRYST | | pH | temp © | | |
|-----------|-------------------|------|----------|--------------------------|--------------|-------------------|------|----------|--------------|-------|-------------------------|
| | Kvernet hysefilet | | | | | Kvernet hysefilet | | | | | |
| | Resept 1 | 6,54 | | | | Resept 1 | 6,51 | 11,9 | | | |
| | Resept 2 | | | | | Resept 2 | 6,68 | 11,5 | | | |
| | Resept 3 | 6,36 | | | | Resept 3 | 6,46 | 11,3 | | | |
| | Beskrivelse | pH | temp (C) | pH etter kok (samme dag) | endring i pH | Beskrivelse | pH | temp (C) | endring i pH | | Gjennomsnittlig endring |
| NaCl | 58 før kok | 6,54 | 12,4 | 6,48 | -0,08 | 58 før kok | 6,52 | 3,0 | -0,15 | Fersk | -0,06 |
| | 58 v/koketap | 6,62 | | | | 58 v/koketap | 6,67 | 10,7 | | | |
| | 49 før kok | 6,53 | 12,0 | 6,44 | 0,01 | 49 før kok | 6,53 | 4,2 | -0,15 | Fryst | -0,16 |
| | 49 v/koketap | 6,52 | | | | 49 v/koketap | 6,68 | 10,8 | | | |
| | 59 før kok | 6,52 | 12,4 | 6,54 | -0,11 | 34 før kok | 6,51 | 4,4 | -0,19 | | |
| | 59 v/koketap | 6,63 | | | | 34 v/koketap | 6,70 | 9,1 | | | |
| NA | 26 før kok | 6,34 | 11,0 | | 0,30 | 59 før kok | 6,42 | 2,1 | 0,20 | Fersk | 0,17 |
| | 26 v/koketap | 6,04 | | | | 59 v/koketap | 6,22 | 8,9 | | | |
| | 67 før kok | 6,33 | 11,4 | | 0,15 | 36 før kok | 6,39 | 1,6 | 0,20 | Fryst | 0,21 |
| | 67 v/koketap | 6,19 | | | | 36 v/koketap | 6,19 | 6,9 | | | |
| | 68 før kok | 6,28 | 9,3 | | 0,06 | 67 før kok | 6,41 | 2,3 | 0,23 | | |
| | 68 v/koketap | 6,23 | | | | 67 v/koketap | 6,19 | 7,5 | | | |
| NA & NaCl | 34 før kok | 6,32 | 11,6 | 5,92 | 0,17 | 68 før kok | 6,26 | 2,1 | 0,15 | Fersk | 0,16 |
| | 34 v/koketap | 6,15 | | | | 68 v/koketap | 6,11 | 9,5 | | | |
| | 69 før kok | 6,37 | 11,6 | 5,90 | 0,15 | 69 før kok | 6,25 | 2,3 | -0,04 | Fryst | 0,04 |
| | 69 v/koketap | 6,22 | | | | 69 v/koketap | 6,30 | 9,3 | | | |
| | 36 før kok | 6,38 | 11,9 | 5,93 | 0,16 | 26 før kok | 6,26 | 2,3 | 0,01 | | |
| | 36 v/koketap | 6,22 | | | | 26 v/koketap | 6,25 | 9,0 | | | |