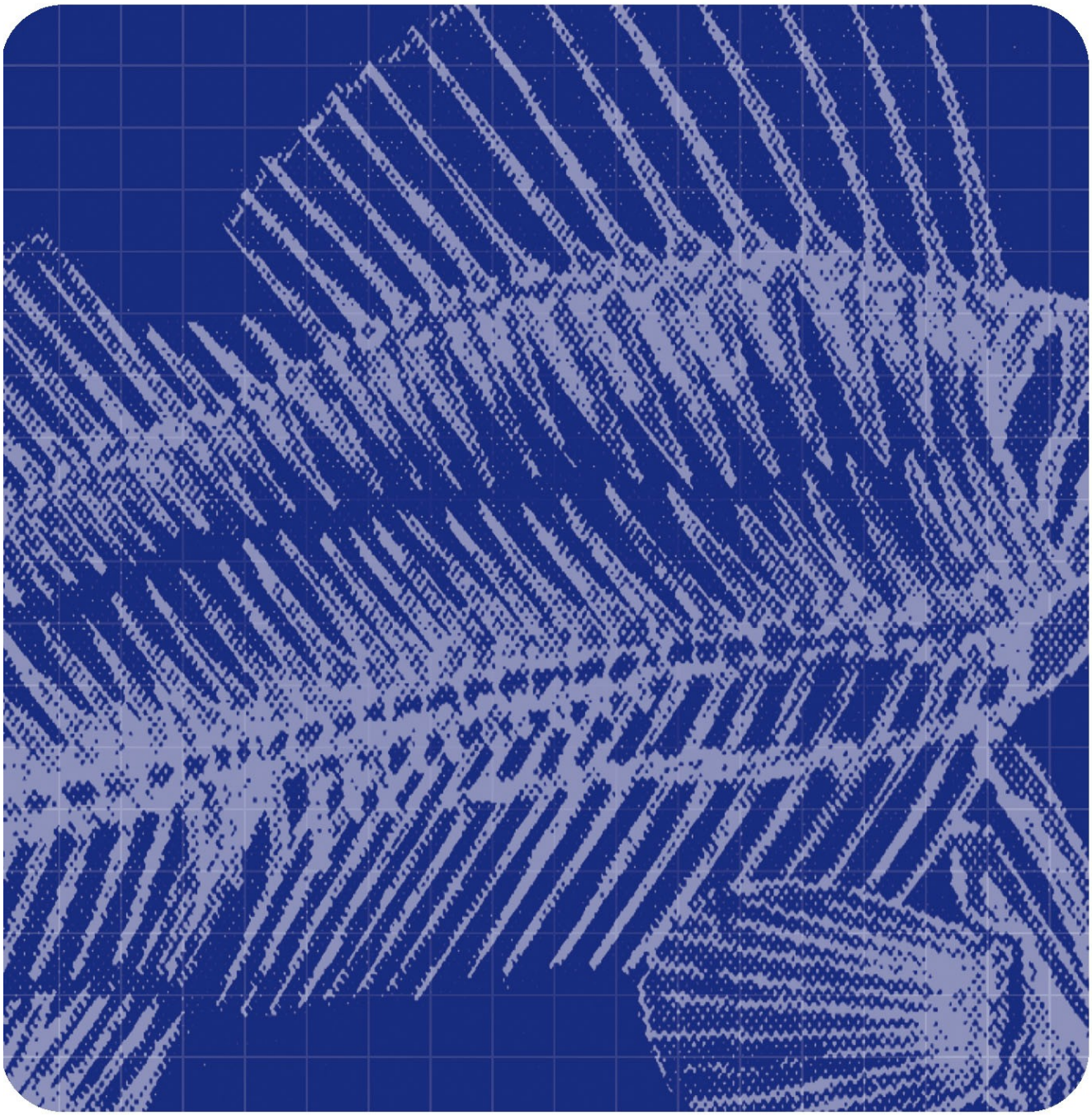
Fiskeriforskning

RAPPORT 6/2005 • Mars 2005

# Misfarging av klippfisk fra sei

Kristin Lauritzsen, Ingebrigt Bjørkevoll, Agnar Sivertsen og Bjørn Gundersen



**Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning AS**
Hovedkontor: Postboks 6122, 9291 Tromsø
Besøksadresse: Muninbakken 9-13,
Tlf.: 77 62 90 00, faks: 77 62 91 00
E-post: post@fiskeriforskning.no

Avd. Bergen: Kjerreidviken 16, 5141 Fyllingsdalen
Tlf.: 55 50 12 00, faks: 55 50 12 99

E-post: office@ssf.no

Internett: www.fiskeriforskning.no

Organisasjonsnr.: NO 964 441 898 MVA

# RAPPORT

| *Tilgjengelighet:* | *Rapportnr:* | *ISBN:* |
|---|---|---|
| **Åpen** | 6/2005 | 82-7251-554-7 |

*Tittel:*

**Misfarging av klippfisk fra sei**

*Dato:* Mars 2005

*Antall sider og bilag:* 43

*Sign. forskningssjef:* Even Stenberg

*Forfatter(e):*
Kristin Lauritzsen, Ingebrigt Bjørkevoll, Agnar Sivertsen og Bjørn Gundersen

*Prosjektnr.:* 8595

*Oppdragsgiver:* FHL's Bacalaoforum ved Arnt Olav Aarseth

*Oppdragsgivers ref.:* Arnt Olav Aarseth

*3 stikkord:*
Sei, salting, misfarging

*Sammendrag: (maks 200 ord)*
Prosjektets mål var å avdekke noen av årsakene til gulbrun og rød misfarging av klippfisk fra sei og teste ut noen produksjonsbetingelser som eventuelt kunne motvirke en slik misfarging. Det er påvist en klar positiv sammenheng mellom gulbrun misfarging og ikke-enzymatisk fettoksidasjon i nyprodusert klippfisk fra sei (lagret 1 måned). Klippfisken ble kraftig misfarget når den ble saltet med sjøsalt med et økt kalsiuminnhold. Det ser ut til å ha sammenheng med den raske og kraftige reduksjonen av pH som ble påvist i fiskekjøttet. Nest etter saltsammensetningen var produksjonstemperaturen den viktigste prosessbetingelsen med hensyn på vektutbyttet, misfargingen og fettoksidasjonen av fiskekjøttet. Høy produksjonstemperatur ga et lavt vektutbytte som saltfisk og klippfisk men samtidig høy hvithet på og et høyt protein og flyktig nitrogeninnhold i klippfisken. I løpet av 8 måneders kjølelagring ved +4ºC økte gulheten, innholdet av flyktige nitrogenforbindelser og fluorescensen samtidig som muskel-pH sank i fiskekjøttet.

*English summary: (maks 100 ord)*
The aim of the project was to find the reasons why cliff-fish from saithe develops yellow-brown and red discolouration during cold storage and to investigate specific processing conditions which might inhibit such a discolouration. A clear positive correlation was found between yellow-brown discoloration and non-enzymatic lipid oxidation in newly produced cliff-fish made from saithe. The fish got extremely discoloured when it was salted with a solar salt with an elevated calsium consentration. Secondly, the temperature was the most important processing condition regarding the weight yield, discoloration and lipid oxidation of the fish muscle.

# FORORD

Prosjektet ”Misfarging av klippfisk fra sei” ble initiert våren 2003. Problemet med misfarging av klippfisk fra sei ble presentert for forsker Kristin Lauritzsen ved Fiskeriforskning i Tromsø av Arnt Olav Aarseth, koordinator for Bacaloforum i Fiskeri- og Havbruksnæringens Landsforening (FHL).

Finansieringen av prosjektet var klar i januar 2004 og det praktiske prosjektarbeidet startet umiddelbart deretter. Prosjektet hadde en total økonomisk ramme på 1.1 millioner norske kroner som ble finansiert med 50% fra FHF-fondet, Fiskeri og havbruksnæringens forskningsfond og 50% fra Innovasjon Norge. Arnt Olav Aarseth ved Bacalaoforum i Ålesund, har vært administrativ leder og forsker Kristin Lauritzsen ved Fiskeriforskning i Tromsø, har vært faglig leder for prosjektet. I tillegg har Ingebrigt Bjørkevoll, Agnar Siversten og Bjørn Gundersen, alle ved Fiskeriforskning, deltatt aktivt ved gjennomføringen av forsøkene. Dessuten har stipendiat Annette Veberg ved Matforsk bidratt med fluorescensdeteksjon av prøvemateriale fra prosjektet.

# INNHOLD


1 PROBLEMSTILLING ..... 1

2 MÅL ..... 1

3 TEORI ..... 2

4 GJENNOMFØRING AV FORSØKENE ..... 3
4.1 Delmål 1 ..... 3
4.2 Delmål 2 ..... 3
4.3 Delmål 3 ..... 4

5 MATERIALER OG METODER ..... 6
5.1 Kjemisk sammensetning av saltet ..... 6
5.2 Vekt %, vektutbytte ..... 6
5.3 Prøveuttak og opparbeiding av prøver ..... 6
5.4 Fargemålinger ..... 7
5.5 Kjemisk målt harskning – (Tiobarbitursyrereaktive forbindelser - TBARS) ..... 7
5.6 Spektroskopisk målt harskning (fluorescens) ..... 7
5.7 Totalt flyktige nitrogenforbindelser (TVN) ..... 8
5.8 Muskel-pH ..... 8
5.9 Protein- og vanninnholdet i fiskemuskelen ..... 8
5.10 Innholdet av tungmetaller ..... 9
5.11 Saltinnholdet og vannaktiviteten i fiskemuskelen ..... 9
5.12 Statistisk dataanalyse ..... 9

6 RESULTATER ..... 10
6.1 Vekt %, utbytte ..... 10
6.1.1 Vektutbytte % delmål 1 ..... 10
6.1.2 Vektutbytte % delmål 2 ..... 11
6.1.3 Vektutbytte % delmål 3 ..... 12
6.2 Instrumentelle fargeverdier ..... 12
6.2.1 Instrumentell lyshet, L* ..... 13
6.2.2 Instrumentell gulhet, b* ..... 15
6.3 Kjemisk målt harskning (TBARS-verdier) ..... 19
6.3.1 TBARS, delmål 1 ..... 19
6.3.2 TBARS, delmål 2 ..... 19
6.3.3 TBARS, delmål 3 ..... 20
6.4 Spektroskopisk målt harskning (fluorescens) ..... 21
6.4.1 Fluorescensspektra, delmål 2 ..... 21
6.4.2 Fluorescensspektra, delmål 3 ..... 21
6.5 Innholdet av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) ..... 23
6.5.1 TVN innholdet, delmål 1 ..... 23
6.5.2 TVN innholdet, delmål 2 ..... 23
6.5.3 TVN-innholdet, delmål 3 ..... 24
6.6 Muskel-pH (surheten) til klippfisken ..... 25
6.6.1 Muskel-pH, delmål 1 ..... 25
6.6.2 Muskel-pH, delmål 2 ..... 25
6.6.3 Muskel-pH, delmål 3 ..... 26
6.7 Vanninnhold i klippfisken ..... 27
6.7.1 Vanninnhold, delmål 1 ..... 27

6.7.2 Vanninnhold, delmål 2 ..... 27
6.7.3 Vanninnhold, delmål 3 ..... 28
6.8 Proteininnholdet i fiskekjøttet ..... 29
6.8.1 Protein, delmål 1 ..... 29
6.8.2 Protein, delmål 2 ..... 29
6.9 Saltinnhold (målt indirekte som aske%) i klippfisken ..... 30
6.9.1 Saltinnhold, delmål 1 ..... 30
6.9.2 Saltinnhold, delmål 2 ..... 31
6.9.3 Saltinnhold, delmål 3 ..... 32
6.10 Innholdet av tungmetaller ..... 32
7 DISKUSJON - MULTIVARIAT DATAANALYSE ..... 33
7.1.1 Principal component analyse (PCA) av spektroskopiske fluorescensdata og kjemisk-fysikalske analysedata for delaktivitet 2-3 ..... 33
7.1.2 Partial least square regression av fluorescens spektra til prediksjon av farge, smak, lukt og fettoksidasjon av klippfisk fra sei ..... 35
7.1.3 Multivariat analyse av resultater fra delaktivitet 3 ..... 37
8 KONKLUSJONER ..... 39
9 REFERANSER ..... 40
VEDLEGG

# 1 PROBLEMSTILLING

Klippfisk som produseres i Norge og transporteres med skip til Brasil, Den Dominikanske Republikk og Karibia utvikler i mange tilfeller gulbrun eller rød misfarging. Dette medfører reklamasjoner fra kundene og store økonomiske tap hos de norske produsentene. I 2004 utgjorde norsk eksport av klippfisk fra sei totalt 660 millioner norske kroner.

Seien har et moderat fettinnhold i fiskekjøttet og andelen mørk muskel er høyere enn hos torsk og hyse. Mørk fiskemuskel har generelt et høyere fettinnnhold enn lys fiskemuskel. Mesteparten av fettet er knyttet til cellemembranene og innholdet av umettede fettsyrer er relativt høyt hos sei, torsk og hyse. Dette gjør fiskekjøttet fra disse fiskeslagene spesielt utsatt for oksidasjonsreaksjoner og misfarging.

# 2 MÅL

Hovedmålet med prosjektet var å avdekke noen av årsakene til gulbrun og rød misfarging av klippfisk fra sei og teste ut produksjonsbetingelser som eventuelt kunne motvirke en slik misfarging.

Prosjektet hadde følgende delmål:

1.) Å undersøke effekten av råstoffet med hensyn på fargen og den ikke-enzymatiske harskningen av sluttproduktet. Fersk og frosset/tint garn- og juksefanget sei framstilt ved like prosessbetingelser skulle sammenlignes.

2.) Å produsere klippfisk fra sei med et økt kalsiuminnhold i saltet for å øke hvitheten på overflaten til klippfisken. Kjølelagringsstabiliteten til klippfisken skulle deretter undersøkes i 8 måneder.

3.) Å undersøke effekten av lys- og oksygentilførsel, tørkegrad og temperatur ved klippfiskproduksjonen mhp fargen og den ikke-enzymatiske harskningen av produktet. Kjølelagringsstabiliteten til klippfisken skulle deretter undersøkes i 8 måneder.

# 3 TEORI

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

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

Faktorer av betydning for den ikke-enzymatiske fettoksidasjonen :

1.) Fryselagring. Selv om nedsatt temperatur reduserer oksidasjonshastigheten, vil den finne sted ved fryseromstemperaturer. Langvarig fryselagring av seiråstoffet før produksjon til klippfisk, kan medføre at fiskekjøttet kan befinne seg i en langt fremskredet fase av oksidasjon (Frankel, 1998).

2.) Graden av findeling av fiskekjøttet. Når muskelcellemembranen skades, frigjøres hemjernet i cytoplasma og oksidasjonshastigheten øker. Tøff behandling av fiskemuskelen påført f.eks ved tråling eller garnfangst, kan påføre store skader i muskelcellemembranene. Dersom fisken i tillegg dør under selve fangsten, vil fiskemuskelen innholde mye blod (ingen bløgging kan utføres) etter sløying og dette vil katalysere ytterligere oksidasjon (Frankel, 1998).

3.) Fettets sammensetning. Fettsyresammensetningen, graden av umettethet og mengden fosfolipider har betydning for oksidasjonen. Høy grad av umettethet gir et fiskekjøtt som er svært utsatt for oksidasjon. Fôret til seien har betydning for sammensetningen av fettet og for villseien vil dette variere gjennom året (Nawar, 1996).

4.) Vannfasens pH og vannaktiviteten (Labuza, 1971). Det er vist at fettsyreoksydasjonen hemmes vesentlig ved pH-verdier over 6. Muskel-pH til seien etter død, vil være påvirket av fiskens størrelse, grad av kjønnsmodning og fôringsregimet i de siste ukene før død. Normalt ligger muskel-pH hos sei fra 6.3-7.0 (Frankel, 1998).

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

5.) Ytre faktorer. De viktigste faktorer vil være lys (særlig kortbølget), oksygen og temperatur. Høy lyseksponering, rikelig oksygentilførsel og høy temperatur (>0°C) aksellererer fettoksidasjonen i kjøttvarer (Nawar, 1996).

6.) Pro-oksidanter og antioksidanter. Stoffer som fremmer oksidasjon (prooksidanter) er for eksempel enverdige og toverdige metallioner ($Cu^{+}$/$Cu^{2+}$ og $Fe^{2+}$) og jern i hemo- og myoglobin. Antioksidanter er for eksempel de naturlig forekommende tokoferol, sitronsyre og askorbinsyre. Disse binder frie radikaler og bryter på den måten oksidasjonskjeden (Frankel, 1998).

# 4 GJENNOMFØRING AV FORSØKENE

Forsøkene ble utført ved Fiskerforskning i Tromsø sine forsøks- og lagringsfasiliteter samt analyselaboratorier. Tørkingen av saltfisken fram til klippfisk ble utført i en kommersiell klippfisktørke ved Tromvik Fiskeindustri AS på Kvaløya, ca. 50 km vest for Tromsø. Alle forsøkene ble gjennomført i mellomskala, 20 filet pr. batch eller prosessbetingelse, og filetene ble merket og veid individuelt gjennom prosessen. Seiråstoffet til forsøkene ble fanget i de nære kystområdene rundt Tromsø i februar og april 2004.

## 4.1 Delmål 1

*Å undersøke effekten av råstoffet på fargen og den ikke-enzymatiske harskningen av sluttproduktet. Fersk og frosset/tint garn- og juksefanget sei framstilt ved like prosessbetingelser skulle sammenlignes.*

Klippfiskproduksjon fra sei

Garn- og juksefanget seifilet ble individmerket, vektregistrert og delt i to ulike grupper; venstre filet til fersk salting og høyre filet til frossen-tint salting. De frosne filetene ble fryselagret i ca. 1 måned ved -30ºC før de ble tint ved +4ºC i 24 timer og deretter fullsaltet.

Alle filetene ble lagt i tette plastkar med tørt fiskerisalt på bunnen og mellom filetlaene til picklesalting på kjølerom, +4ºC. Relativt mye salt ble benyttet ca. 1.5 kg pr. kg. filet, for å unngå direkte kontakt mellom filetene. Etter 5 døgns picklesalting, ble filetene lagt om, dvs. overskuddslaken ble helt av og nytt tørt fiskerisalt ble lagt mellom laene. Etter 10 døgns påfølgende tørrsalting, ble filetene igjen lagt om, brukt overskuddsalt ble fjernet og nytt tørt fiskerisalt ble strødd mellom laene. Filetene ble deretter modnet ved +4ºC i nye 10 døgn fram til saltmoden tilstand. De saltmodne filetene ble tørket i en kommersiell klippfisktørke fram til 7/8 tørrhetsgrad og deretter emballert i standard klippfiskemballasje, esker av vokset kartong á 10 kg.

Analyser:

Det ble utført målinger av vektutbyttet og kvaliteten (instrumentelle fargeverdier, totalt jern og kopper, TVN-verdi, TBARS-verdi, muskel-pH, aske, protein, vann) på råstoffet og den ferdige klippfisken etter 4 måneders lagring på kjølerom ved +4ºC.

## 4.2 Delmål 2

*Å produsere klippfisk fra sei med et økt kalsiuminnhold i saltet for å øke hvitheten på overflaten til klippfisken. Kjølelagringsstabiliteten til klippfisken skulle deretter undersøkes i 8 måneder.*

Produksjon og lagring av spesialklippfisk fra sei

Tilsvarende klippfiskproduksjon som omtalt under delmål 1 ble benyttet. Venstre filet ble picklesaltet med et sjøsalt tilsatt 0.8% kalsiumklorid i de første 5 døgnene av prosessen. Høyre filet ble picklesaltet med samme sjøsalt uten tilsetting av kalsium. Den ferdige klippfisken ble emballert med standard klippfiskemballasje (vokset kartong) og lagret på kjølerom ved +4°C i 8 måneder. I løpet av lagringsperioden, ble det tatt ut prøver for mer grunnleggende studier av muskeloverflata og tverrsnittet til klippfiskfiletene.

Analyser:

Det ble utført målinger av vektutbyttet og kvaliteten (instrumentell farge verdier, spektroskopisk fluorescensdeteksjon, TVN-verdi, TBARS-verdi, muskel-pH, aske, protein, vann) på den ferdige klippfisken fra sei ved 0, 1, 4 og 8 måneders kjølelagring ved +4ºC.

## 4.3 Delmål 3

*Å undersøke effekten av lys- og oksygentilførsel, tørkegrad og temperatur ved klippfiskproduksjonen mhp fargen og den ikke-enzymatiske harskningen av produktet. Kjølelagringsstabiliteten til klippfisken skulle deretter undersøkes i 8 måneder.*

Det ble utført en forsøksserie, betegnet som et $2^4$ fullfaktor forsøkdesign, hvor variablene lys- og oksygentilførsel, tørkegrad og temperatur varierte under produksjonen og lagringen av klippfisken.

Forsøksvariablene i forsøksserien varierte i henhold til tabell 1.

*Tabell 1. $2^4$ full-faktor forsøkdesign med lys- og oksygentilførsel, temperatur og tørkegrad som kontrollerte designvariable.*

| ***Variabel**:* <br> ***Forsøk nr.*** | *Lys-tilførsel v/picklesalting* | *Oks.-tilførsel v/kjølelagring (%)* | *Temperatur (˚C)* | *Tørkegrad på klippfisk* |
|---|---|---|---|---|
| *E 1* | + | *100* | *2-4* | *7/8* |
| *E 2* | + | *100* | *2-4* | *lager* |
| *E 3* | + | *100* | *18-20* | *7/8* |
| *E 4* | + | *100* | *18-20* | *lager* |
| *E 5* | - | *100* | *2-4* | *7/8* |
| *E 6* | - | *100* | *2-4* | *lager* |
| *E 7* | - | *100* | *18-20* | *7/8* |
| *E 8* | - | *100* | *18-20* | *lager* |
| *E 9* | - | *10* | *2-4* | *7/8* |
| *E 10* | - | *10* | *2-4* | *lager* |
| *E 11* | - | *10* | *18-20* | *7/8* |
| *E 12* | - | *10* | *18-20* | *lager* |
| *E 13* | + | *10* | *2-4* | *7/8* |
| *E 14* | + | *10* | *2-4* | *lager* |
| *E 15* | + | *10* | *18-20* | *7/8* |
| *E 16* | + | *10* | *18-20* | *lager* |

Filetene som ble saltet uten lys var tildekket med tykk aluminiumsfolie over saltekaret gjennom hele salteprosessen. Etter saltingen, ble filetene tørket fram til ulike tørrhetsgrader som angitt i tabell 1 og emballert i standard klippfiskemballasje i 8 måneder ved +4˚C. Filetene angitt med 10% oksygentilførsel, ble pakket med 90% vakuum i vakuumplastposer og deretter emballert i standard klippfiskemballasje før kjølelagringen startet.

Analyser.

Det ble utført målinger av vektutbyttet og kvaliteten (instrumentell fargeverdier, fluorescensdeteksjon, TVN-verdi, TBARS-verdi, muskel-pH, aske, protein, vann) på den ferdige klippfisken fra sei ved 0, 1, 4 og 8 måneders kjølelagring ved +4ºC.

# 5 MATERIALER OG METODER

## 5.1 Kjemisk sammensetning av saltet

I delaktivitet 1, 2 og 3 ble saltblandingene som er beskrevet i tabell 2 brukt.

*Tabell 2. Innholdet av ulike kjemiske komponenter i saltet. % er angitt som vektandel av totalvekt. mg/kg tilsvarer ppm nivå. Saltkornene var generelt mye grovere for sjøsaltet enn for vakuumsaltet, med kornstørrelse tilsvarende ordinært bordsalt.*

| ***Kjemisk komponent*** | ***Sjøsalt uten kalsium tilsatt*** | ***Sjøsalt med kalsium tilsatt*** | ***Vakuumsalt*** |
|---|---|---|---|
| *NaCl* | *99.6 %* | *99.6 %* | *99.9 %* |
| *$H_2O$* | *2.79 %* | *2.79 %* | *< 0.10 %* |
| *Insolubles* | *0.013 %* | *0.013 %* | *< 50 mg/kg (ppm)* |
| *Ca (Kalsium)* | *771 mg/kg (ppm)* | *8771 mg/kg (ppm)* | *< 20 mg/kg (ppm)* |
| *Mg (Magnesium)* | *970 mg/kg (ppm)* | *970 mg/kg (ppm)* | *< 5 mg/kg (ppm)* |
| *Cu (Kopper)* | *0.046 mg/kg (ppm)* | *0.046 mg/kg (ppm)* | *< 0.05 mg/kg (ppm)* |
| *Fe (Jern)* | *1.7 mg/kg (ppm)* | *1.7 mg/kg (ppm)* | *< 5 mg/kg (ppm)* |
| *$Na_4Fe(Cn)_6$ (antiklumpemiddel)* | *< 5 mg/kg (ppm)* | *< 5 mg/kg (ppm)* | *< 15 mg/kg (ppm)* |

## 5.2 Vekt %, vektutbytte

Individuelle vektregistreringer ble utført på hele ferske, salta og tørka seifileter som mål på vektutbyttet fra prosessen. Innveid ferskt råstoff før salting ble satt til 100% vekt og vektbyttet som salt fisk (SF) og klippfisk (KF) ble beregnet ut fra formelen:

$$\text{Vekt \%} = \frac{\text{Vekt ferskt råstoff x 100\%}}{\text{Vekt SF eller KF}}$$

## 5.3 Prøveuttak og opparbeiding av prøver

For hvert uttak ble det tatt ut 5 tilfeldige fileter for hver forsøksbetingelse. Det ble skåret ut ca. 5 mm brede tverrsnitt av fileten, dvs. for hver 3-4 cm langs filetlengden. De første 3 cm i nakkeregionen på fileten ble skåret vekk før uttaket. Alle tverrsnittene fra de 5 filetene ble homogenisert sammen i en Dito Sama (Abusson, Frankrike) kjøkkenmaskin på laveste hastighet i ca. 0.5-1 minutt til såkalte ”pooled samples”. De homogeniserte prøvene ble emballert i gjennomsiktige plastikkposer og fryselagret ved -60ºC i ca. 1-2 uker før spektroskopiske, fysikalske og kjemiske analyser ble utført.

## 5.4 Fargemålinger

Fargen på klippfisken er avgjørende for om kunden vil kjøpe produktet eller ikke. Det er påvist tidligere at kalsium kan gi økt hvithet på fullsaltet torsk (Lauritzsen *et al*., 2004a). Eventuelle antioksidative effekter av kalsium på fiskemuskelen kan dokumenteres vha instrumentell fargemåling, som er en objektiv målemetode for farge på fiskemuskeloverflaten (Lauritzsen *et al*., 1999; Lauritzsen og Olsen, 2004c).

Fiskeriforskning har blant annet et Minolta Chromameter CR200 som ble brukt til å måle farge på klippfisken ved standard bakgrunnsbelysning (Salmon colour box, Skretting, Stavanger, Norge). Fargen ble målt i L,a,b moduset og verdier for lyshet (L*), rød-grønn (a*) og gul-blå (b*) fargenyanse ble detektert på homogeniserte prøver som var emballerte i gjennomsiktige plastposer. For hver prøve ble det gjort 8 replikate deteksjoner og det ble beregnet middelverdier og standardavvik på grunnlag av disse.

## 5.5 Kjemisk målt harskning – (Tiobarbitursyrereaktive forbindelser - TBARS)

Spisekvaliteten (farge, konsistens, smak og lukt) på klippfisken påvirkes av harskheten til produktet. Kjemisk målt harskning av fiskemuskelen kan blant annet bestemmes ved å måle innholdet av tiobarbitursyre reaktive forbindelser (TBARS). Metoden er en av de mest brukte for å bestemme harskning i næringsmidler og benyttes jevnlig ved Fiskeriforskning. Sekundære harskningsprodukter ekstraheres fra prøven i en trikloreddiksyre som videre danner et fargekompleks med tiobarbitursyre og dette måles spektrofotometrisk (Dulavik *et al*., 1998). Det ble utført 2 parallelle ekstraksjoner pr. homogeniserte prøve og i tillegg ble det utført to spektrofotometriske avlesninger pr. ekstrakt. Gjennomsnittsverdier og standardavvik ble beregnet på grunnlag av disse.

## 5.6 Spektroskopisk målt harskning (fluorescens)

Fluorescens er definert som et objekts eller en partikkels evne til å sende ut lys (emittere) på høyere bølgelengder enn det objektet/partikkelen blir belyst med (eksitert) (Gunasekaran, 2001). Metoden har vist seg som en egnet metode for hurtig og ikke destruktiv måling av harskning i fjærkre (Wold, 2000). Det man normalt måler er fluorescerende forbindelser som dannes etter reaksjoner mellom sekundære oksidasjonsprodukter (for eksempel aldehyder) og ulike aminosyrer og makromolekyler. Noen av disse fluorescerende forbindelsene er gulaktige på farge. De er spesielt fremtredende i klippfisk der gulning kan være et tegn på harskning. Fluorescence er en meget sensitiv metode og vi ønsker å bruke den til å påvise harskning på et så tidlig stadium som mulig, og helst før klippfisken blir misfarget.

Spektral fluorescence ble målt ved hjelp av SpextubeIV (Sigernes, 2000) med et 380 nm bandpassfilter (CVI F10-380.0-4-1.00) og 420 nm cut-off filter (Melles Griot 03FCG059). Lyskilden som ble brukt var en 300 W xenon lampe (Oriel 6259). Hver måling er representert som et lysspekter i bølgelengdeområdet 400 til 630 nm med en spektral oppløsning på 2.5 nm.

Homogeniserte klippfiskprøver ble tint i kjøleskapet over natten og alle prøvene fra 1,4 og 8 måneders kjølelagring ble målt to ganger. Det ble utført parallelle analyser med bruk av de respektive fluorescensspektroskopiske instrumentene til Matforsk og Fiskeriforskning.

Metodebeskrivelsen som er gjengitt over, gjelder kun for analysene utført ved Fiskeriforskning.

## 5.7 Totalt flyktige nitrogenforbindelser (TVN)

Mengden flyktige nitrogenforbindesler som dannes i fiskekjøttet etter død, avhenger av bakterieveksten og den enzymatiske aktiviteten (Sikiorski og Kostuch, 1982). Flyktige nitrogenforbindelser som trimetylamin (TMA), trimetylaminoksyd (TMAO) og dimetylaminoksyd (DMAO) vil blant annet bidra. Slike forbindelser påvirker i stor grad både smaks og luktutviklingen i fiskekjøttet. Kjemisk bestemmelse av flyktig nitrogen gir et indirekte mål på ferskheten til seifileten. Ferskheten vil kunne påvirke den videre harskningen og fargeutviklingen av fiskekjøttet under saltingen, tørkingen og lagringen av klippfisken. Innholdet av totalt flyktig nitrogen ble målt ved direkte destillasjon i Tecator instrumenter type Kjeltech 1026 og 1035 (AOAC 920.03). Det ble utført 3 replikate destillasjoner pr. homogenisrte prøve og middelverdier og standardavvik ble beregnet på grunnlag av disse.

## 5.8 Muskel-pH

Muskel-pH er en svært viktig parameter fordi den påvirker farge, filetspalting, smak, konsistens, saftighet og lagringsstabilitet. Normal muskel-pH hos sei varierer fra 6.3-7.0 avhengig av fiskens næringsstatus og grad av kjønnsmodning. Filetspaltingen og væskeslippet øker jo lavere muskel-pH blir eller jo nærmere pH er det isoelektriske punktet til muskelproteinene (Morrissey *et al.*, 1987). Ved det isoelektrisk punktet vil nettoladningen til proteinet være null, og frastøtingen mellom fibrillproteinene minst og gir lav vannbindingsevne (Offer *et al*., 1989). Det er påvist at lav muskel-pH (6.38), gir økt gulning og misfarging av saltmoden torsk sammenlignet med høy pH (6.95) (Lauritzsen *et al*, 1999; Lauritzsen og Olsen, 2004c). Muskel-pH ble bestemt ved hjelp av et PHM 80 Radiometer og en glasselelektrode i en suspensjon av 10 gram homogenisert saltfisk/klippfisk og 80 g destillert vann. pH i fersk sei-muskel ble bestemt i en suspensjon av 20 g homogenisert muskel og 20 g 0.15 M KCl -løsning. Det ble utført 3 parallelle målinger pr. prøve.

## 5.9 Protein- og vanninnholdet i fiskemuskelen

Protein- og vanninnholdet i klippfisken er viktige kvalitetsegenskaper til sluttproduktet og verdiene bør ligge på samme nivå som er normalt for slike produkter; ca. 30-40% protein og maks 50% vann. Proteininnholdet ble bestemt som Kjeldahl protein (*AOAC* 981.10)). Vanninnholdet ble bestemt ved tørking av prøven ved 105°C til konstant vekt (*AOAC* 950.46). Det ble utført 2 og 3 parallelle analyser ved henholdsvis vann- og proteinbestemmelsen pr. homogeniserte prøve og gjennomsnittsverdier og standardavvik ble bestemt på grunnlag av disse.

## 5.10 Innholdet av tungmetaller

Totalt innhold av jern og kopper i seifileten, vil sannsynligvis variere med fangstmetoden og graden av bløgging av råstoffet. Innholdet av prooksidantene jern og kopper vil sannsynligvis påvirke oksidasjonsforløpet og lagringsstabiliteten til klippfiskproduktet. Totalt kopper og jern i fiskekjøttet ble bestemt ved mikrobølge-oppslutning av homogeniserte prøver; 0.5- 1.0 g ble tilsatt 4 ml $HNO_3$ og 0.5 ml HCl oppsluttet i mikrobølgeovn. Etter endt oppslutning ble prøvene filtrert og fortynnet med destillert vann til 25 ml. Metallene ble analysert i et flammeabsorbsjons spektrofotometer (Perkin Elmer Co. Ltd., Norwalk, CT) som beskrevet av Simpson and Blay (1966). Standarder for kopper og jern (Titrisol, Merck, Darmstadt, Germany) ble også fortynnet med 4 ml $HNO_3$ og 0.5 ml HCl. Det ble utført 3 parallelle analyser pr. homogenisert prøve og gjennomsnittsverdier og standardavvik ble bestemt på grunnlag av disse.

## 5.11 Saltinnholdet og vannaktiviteten i fiskemuskelen

Saltinnholdet bestemmer i stor grad vannaktiviteten til klippfiskproduktet som videre er viktig for fargen og den ikke-enzymatiske oksidasjonen (Labuza, 1971). Saltinnholdet i klippfisken bør ligge på 20-25 % salt for å stabilisere sluttproduktet, og dette ble etterprøvd. Saltinnhold ble bestemt indirekte ved å bestemme askefraksjonen (AOAC 937.09). Det ble utført 3 parallelle analyser pr. homogeniserte prøve og gjennomsnittsverdier og standardavvik ble bestemt på grunnlag av disse.

## 5.12 Statistisk dataanalyse

Analysedata ble undersøkt med programvaren Unscrambler, versjon 9.12, Camo AS, Norge, og statistikkpakken SAS versjon 8.2, SAS Insitute Inc., NC, USA.

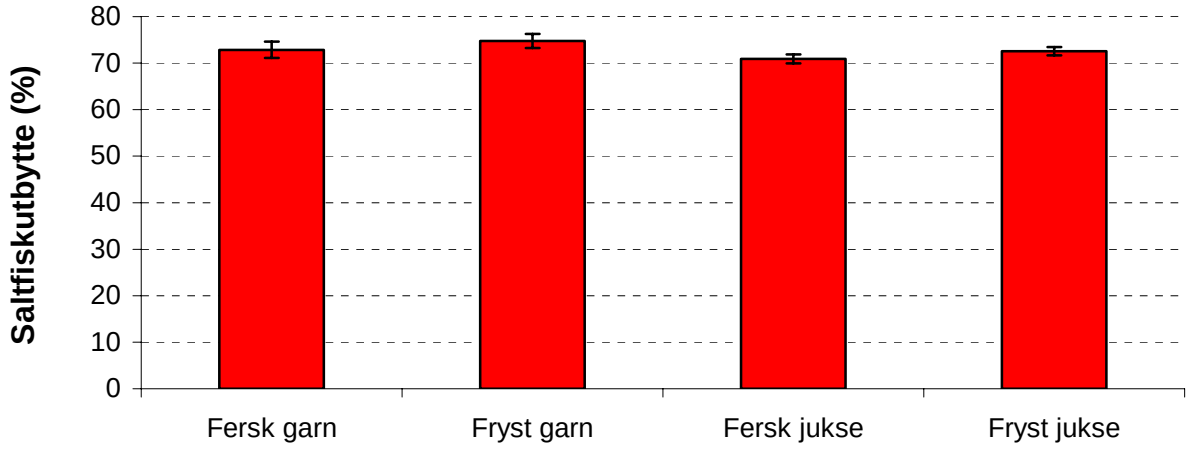
Principal component analysis (PCA) og partial least square regression analysis (PLS) ble utført for å finne systematiske og multivariate kovariasjoner i datasettet mellom spektroskopiske data og kjemisk-fysikalske analysedata. Correlation loadings plott fra analysene ga en fin oversikt over disse. Enkel regresjonsplott mellom to og to variable ble også utført. Analysedata fra flerfaktorforsøket i delaktivitet 3, ble analysert ved hjelp av 2 - veis ANOVA, variansanalyse, general lineare procedure (GLM) i SAS programmet. Scheffe's og Tukey's multivariate F-tester ble benyttet til å finne signifikante forskjeller mellom gjennomsnitt for ulike undergrupper av datasettet.

# 6 RESULTATER

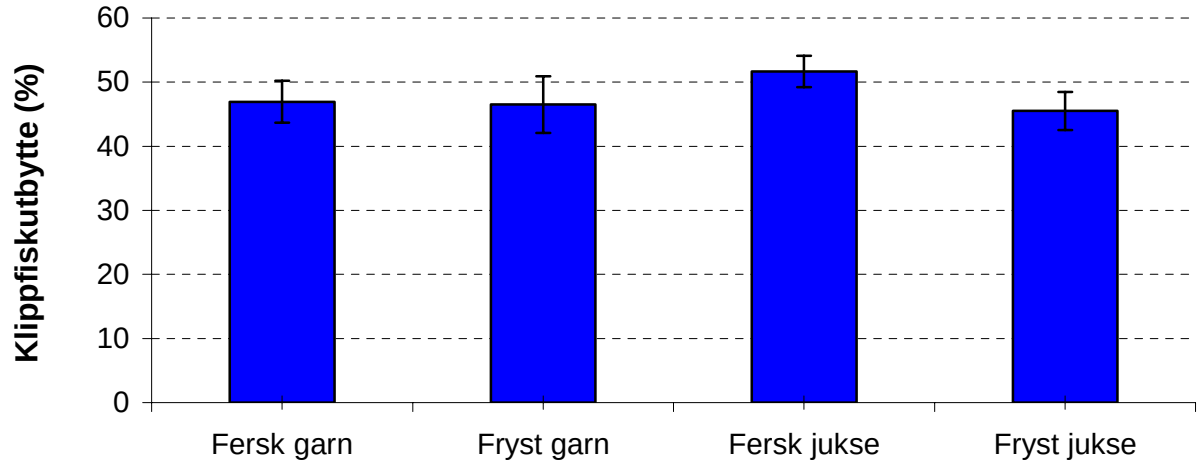
## 6.1 Vekt %, utbytte

Vekten til råstoff filetene av sei før salting ble satt til 100% vekt og vektutbyttet som saltfisk (SF) og klippfisk (KF) ble beregnet utfra den. Antall fileter pr. forsøksbetingelse er 20.

### 6.1.1 Vektutbytte % delmål 1



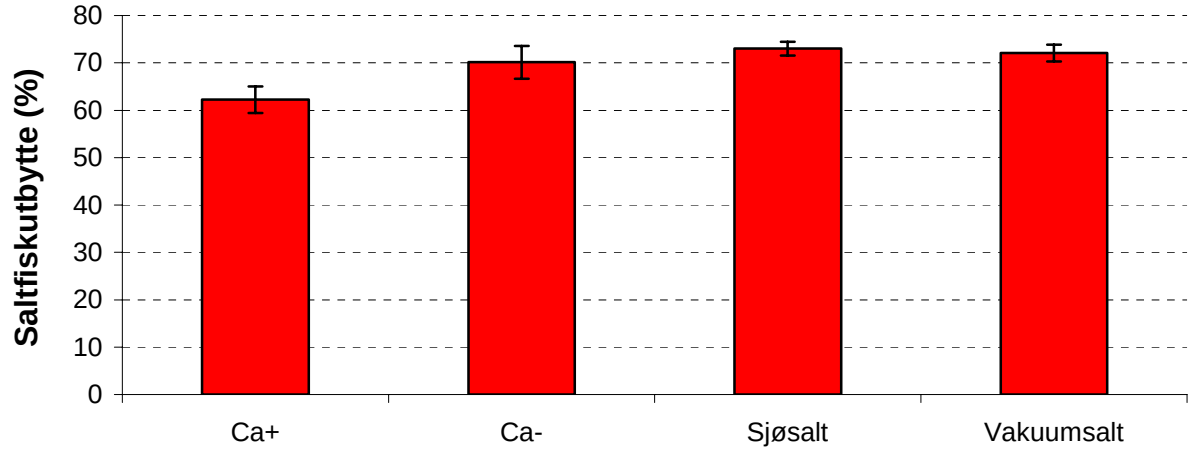

*Figur 1. Saltfiskutbyttet % fra to ulike råstoff-typer; garn- og juksefangst saltet som fersk filet (venstre filet) og som frosset/tint filet (høyre filet) fra samme sei individ, N=20.*



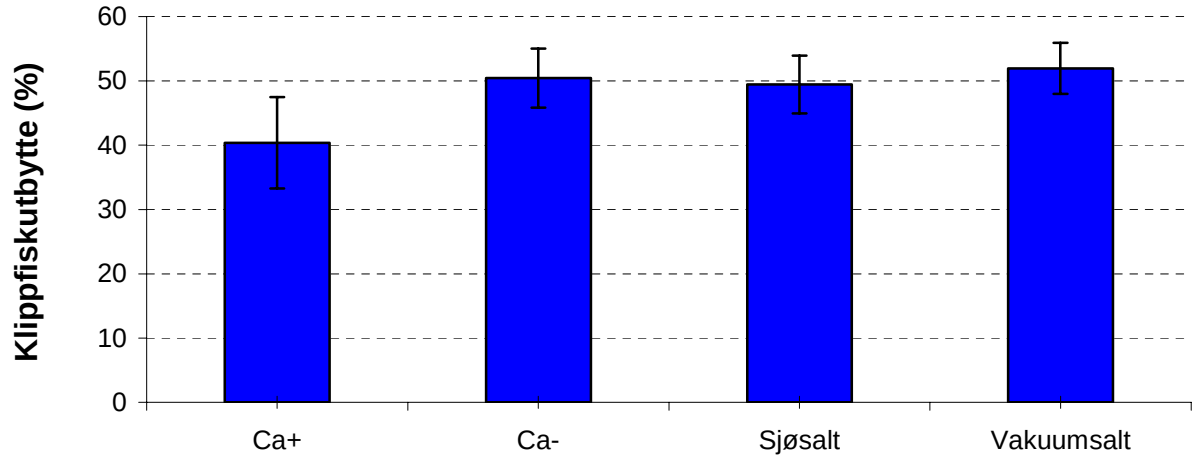

*Figur 2. Klippfiskutbyttet % fra to ulike råstoff-typer; garn- og juksefangst saltet som fersk filet (venstre filet) ogsom frosset/tint filet (høyre filet) fra samme sei individ, N=20.*

En ser av figur 1 at vektutbyttet som saltfisk var ca. 2 % høyere for de frosne filetene versus de fersk salta filetene, men forskjellen var ikke signifikant på nivå alpha=0.05. Når vi ser på vektutbyttet som klippfisk derimot, er forskjellen mellom fersk og fryst garnfisk utjevnet. De fersk salta juksefangede filetene derimot ga et ca. 5% høyere klippfiskutbytte enn de frosne-tinte salta filetene og denne forskjellen var signfikant ($p<0.05$).

### 6.1.2 Vektutbytte % delmål 2




*Figur 3. Saltfiskutbytte % for seifileter saltet med ulike saltsammensetninger. Venstre filet saltet med sjøsalt tilsatt 0.8% Ca (Ca+) og høyre filet fra samme individ saltet med sjøsalt uten tilsatt kalsium (Ca-). Venstre filet saltet med ordinært sjøsalt og høyre filet fra samme individ saltet med vakuumsalt, N=20.*



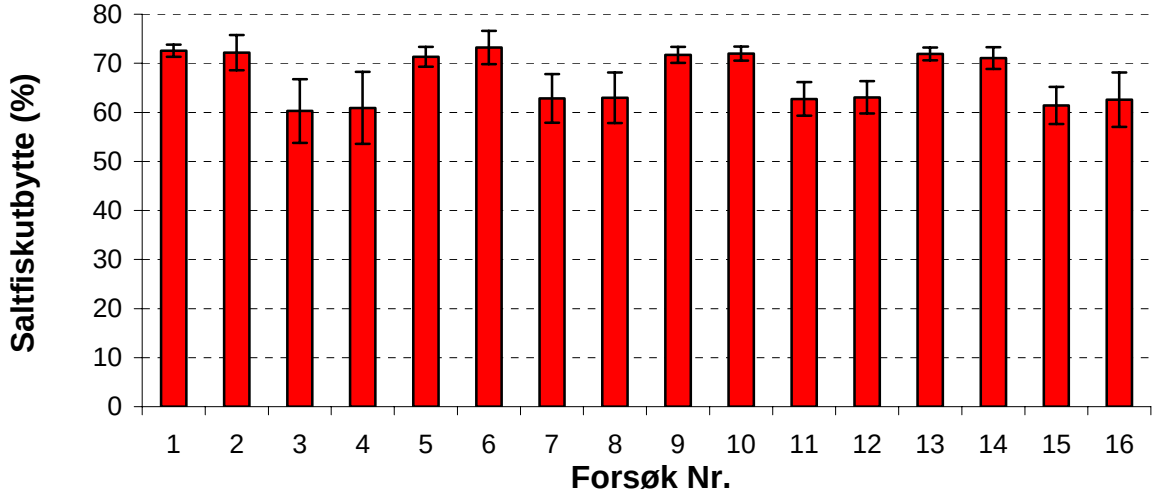

*Figur 4. Klippfiskutbytte % for seifileter saltet med ulike saltsammensetninger. Venstre filet saltet med sjøsalt tilsatt 0.8% Ca (Ca+) og høyre filet fra samme individ saltet med sjøsalt uten tilsatt kalsium (Ca-). Venstre filet saltet med ordinært sjøsalt og høyre filet fra samme individ saltet med vakuumsalt, N=20.*

Resultatene i figur 3 og 4 viser at økt tilsetting av kalsium reduserte både saltfisk- og klippfiskutbyttet signfikant ($p<0.05$) og med ca. 10% sammenlignet med salting uten kalsiumtilsetting. Forskjellene i utbyttetallene ved bruk av sjøsalt og vakuumsalt på samme individ, var derimot minimale med hensyn på saltfiskutbyttet, men viste ca. 2-3% høyere klippfiskutbytte ved bruk av vakuumsalt. Forskjellene mellom bruk av sjøsaltet og vakuumsaltet var ikke signifikante på nivå alpha=0.05.

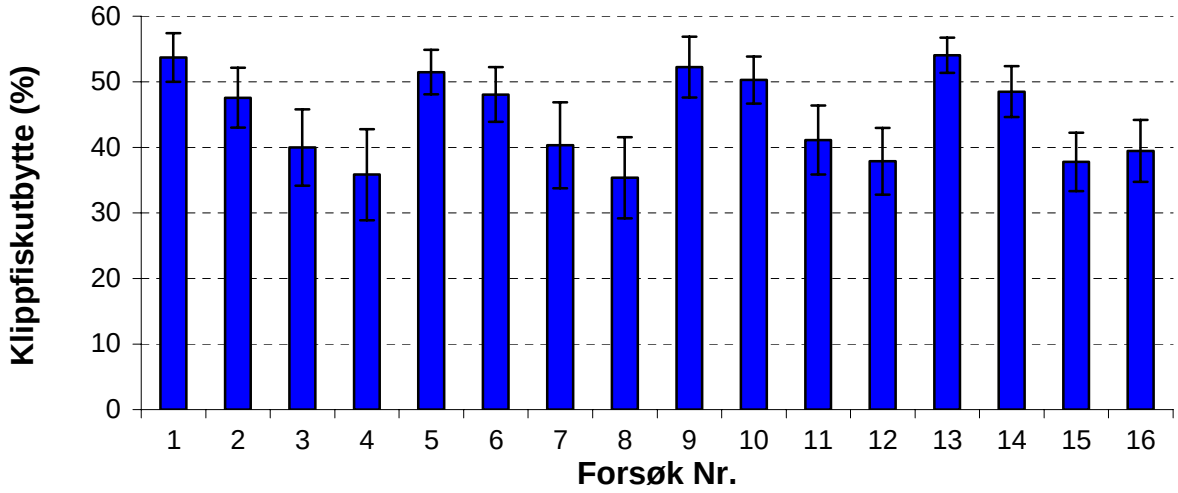
I figur 5 og 6 er vektutbyttet som henholdsvis saltfisk og klippfisk i forsøkene til delaktivitet 3 vist. Utfra figur 5 ser vi at saltfiskutbyttet ble signifikant ($p<0.05$) lavere (5-10%) når seifiletene saltet ved høy (20ºC) kontra lav temperatur (4ºC). Etter at filetene ble tørket til klippfisk vedvarte den negative vektforskjellen for filetene saltet ved høy temperatur.

Effekten av tørkegraden, var lik på samtlige fileter uavhengig av hvilken temperatur de var saltet ved tidligere.

### 6.1.3 Vektutbytte % delmål 3




*Figur 5. Saltfiskutbyttet for seifiletene som ble saltet i fullfaktorforsøket hvor lys- og oksygentilførsel, temperatur og tørkegrad varierte, N=20.*




*Figur 6. Klippfiskutbyttet (%) for seifiletene som ble saltet i fullfaktorforsøket hvor lys- og oksygentilførsel, temperatur og tørkegrad varierte, N=20.*

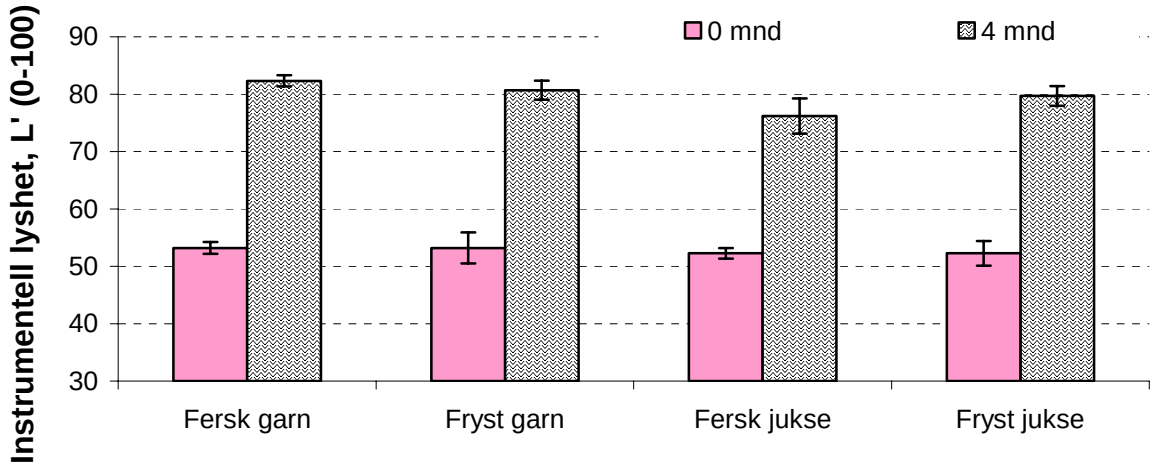
## 6.2 Instrumentelle fargeverdier

Som kjent er fargen på klippfisken avgjørende for prisen på produktet hvilket var bakgrunnen for etableringen av et prosjekt på misfarging av klippfisk fra sei. Resultatene fra de instrumentelle fargemålingene på homogeniserte muskelprøver fra de tre delmålene i prosjektet, er her presentert i rekkefølge for egenskapene lyshet (L*), gulhet (b*) og rødhet

(a*). Fargeendringer på en 1 enhet eller større i de tre fargeparametrene, er tilstrekkelige til at de kan observeres med det menneskelige øyet.

### 6.2.1 Instrumentell lyshet, L*

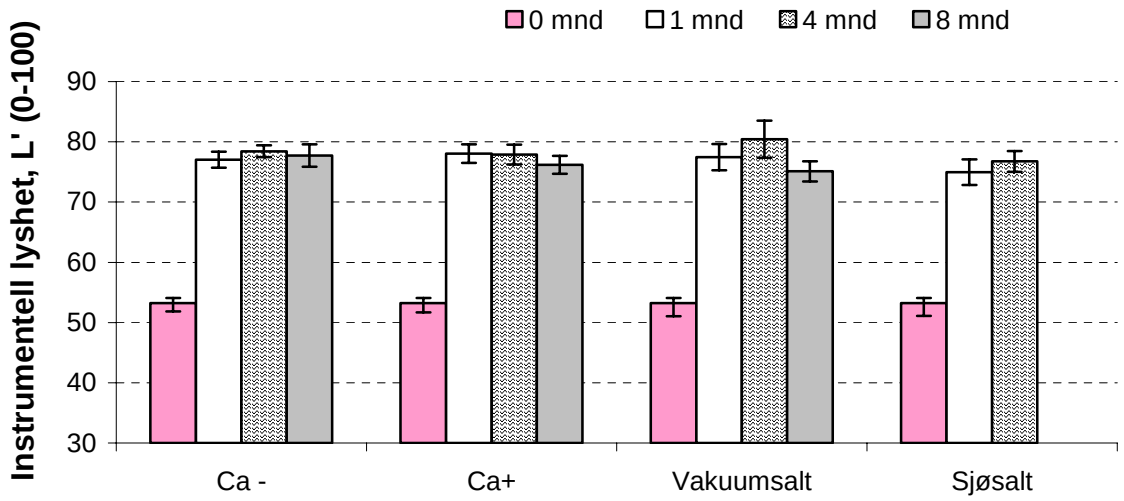
*Lyshet, L*, delmål 1*




*Figur 7. Instrumentell lyshet (L*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

I figur 7 ser vi at frysing og tining medførte økt lyshet på den ferdige klippfisken når råstoffet var fanget med jukse. I forsøkene med garnfanget sei som råstoff var forskjellene mellom ferskt og fryst/tint råstoff mindre enn for juksefangsten, og tendensen var motsatt.

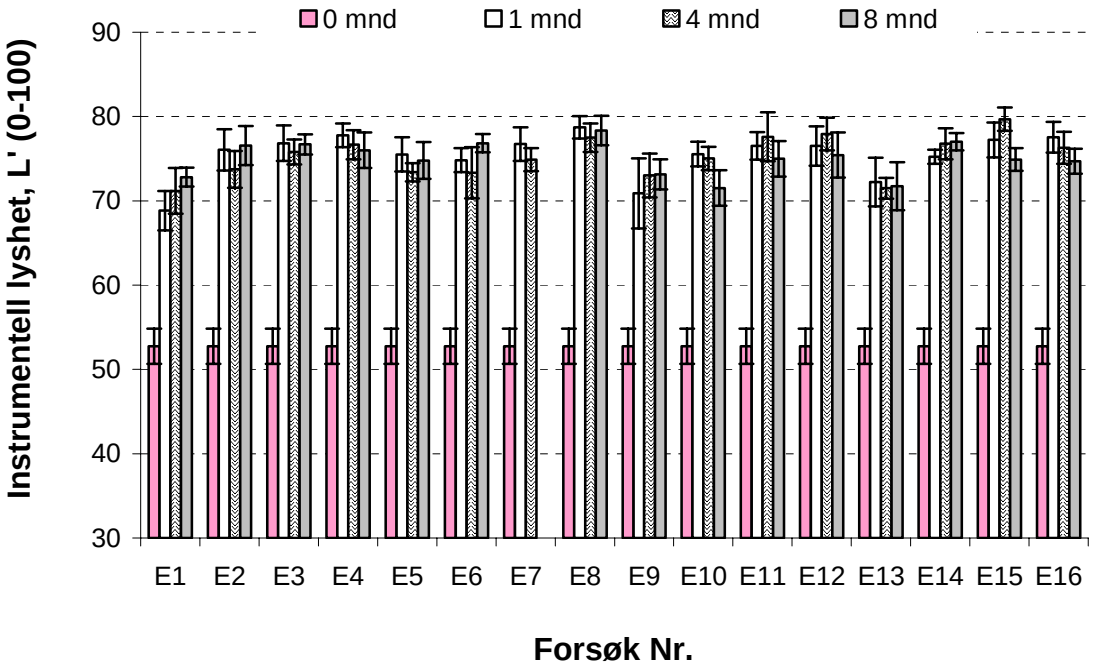
*Lyshet, L*, delmål 2*




*Figur 8. Instrumentell lyshet (L*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

I figur 8 hvor resultatene fra delaktivitet 2 er presentert, ser vi at lysheten på klippfisken svingte svakt under kjølelagringsperioden. Økt tilsetting av kalsium i saltet viste ingen økt instrumentell lyshet på sluttproduktet, men derimot en svak nedgang i lysheten. Lysheten til klippfisken framstilt med sjøsalt for 8 måneders lagring, er ikke inkludert i figur 8. Dette skyldes en uforutsett feil pga kondensvann på prøven mellom 4 og 8 måneders lagring. Filetene som var saltet med vakuumsalt viste en svak tendens til lavere lyshet enn filetene saltet med og uten kalsiumtilsetning i sjøsaltet, ved uttaket etter 8 måneders lagring.

*Lyshet, L*, delmål 3*

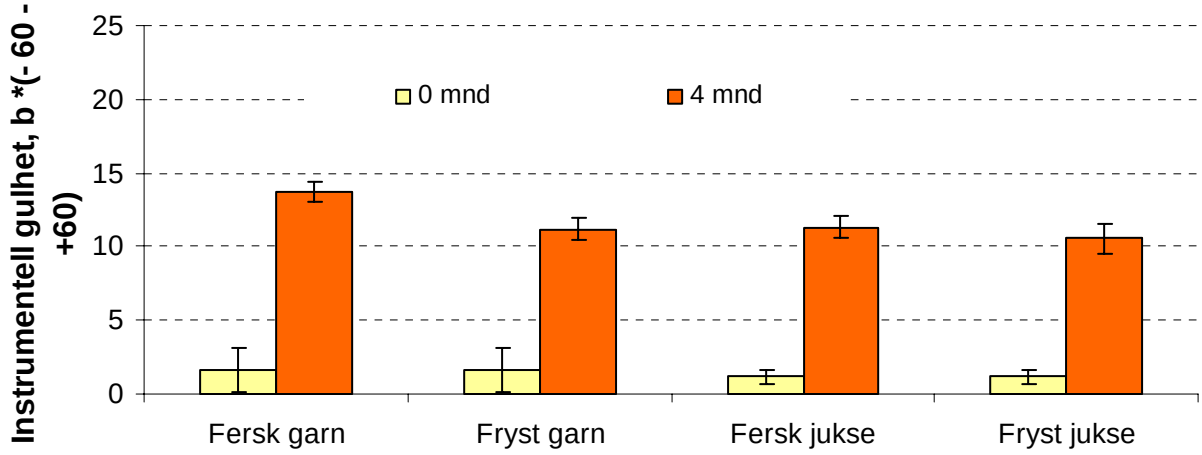



*Figur 9. Instrumentell lyshet (L*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

I figur 9 ser vi at klippfisken som var produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilførsel og tørkegrad, hadde relativt små svingninger i den instrumentelle lysheten i løpet av kjølelagringen. Fisken fra forsøk E7 ble dessverre utsatt for fukt mellom 4 og 8 måneders lagring. Lysheten for denne forsøksserien er derfor ikke inkludert for 8 måneders uttaket. Forsøk nr. 8 og 15 viste høyeste lyshet gjennom lagringsperioden og begge disse forsøksseriene var produsert ved høy temperatur, dvs. 20ºC.

### 6.2.2 Instrumentell gulhet, b*

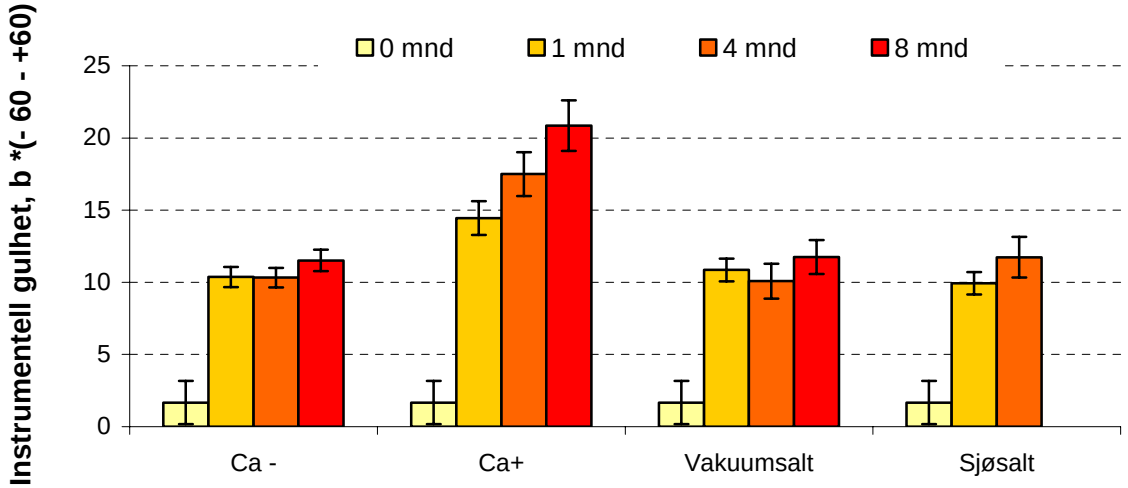
*Gulhet delmål 1*




*Figur 10. Instrumentell gulhet (b*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

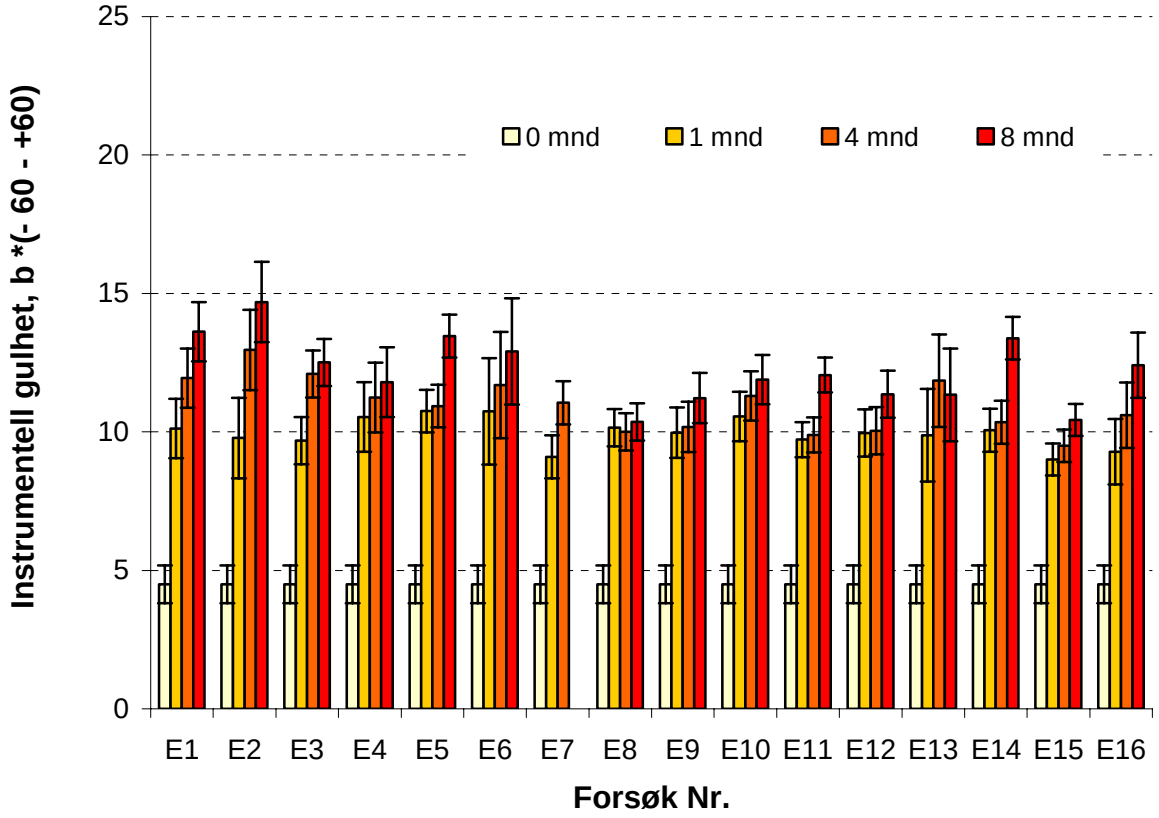
Instrumentelle gulhetsverdier for delmål 1, er framstilt i figur 10. For både garnfanget og juksefanget sei, ser vi samme tendens når vi sammenligner effekten av frysing-tining av råstoffet før salting med hensyn på gulheten til sluttproduktet. Ferskt råstoff gir i begge tilfeller et gulere sluttprodukt enn fryst-tint råstoff. Dette kan ha sammenheng med innholdet av ribonukleotider i fiskekjøttet som avtar ved frysing og tining ved -3--7ºC (Cappeln, 2000). Ribonukleotidene kan delta i ikke-enzymatiske bruningsreaksjoner med frie aminosyrer og danne gulbrune sluttprodukter (Frankel, 1998). I våre forsøk var fryselagringperioden relativt kort, dvs. ca. 30 dager, og råstoffet har derfor ikke rukket å bli harskt. Et langtidslagret seiråstoff derimot, ville kunne gi økt bruning pga ikke-enzymatiske bruningsreaksjoner mellom sekundære harskningsprodukter og frie aminoforbindelser i fiskekjøttet.

*Gulhet, delmål 2*




*Figur 11. Instrumentell gulhet (b*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

*Gulhet, delmål 3*



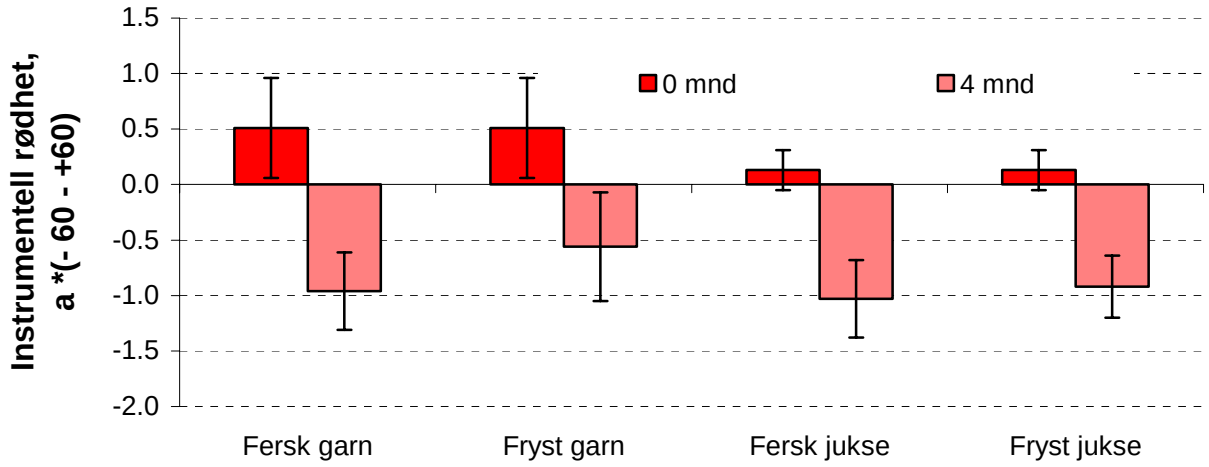

*Figur 12. Instrumentell gulhet (b*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

Figur 11 viser instrumentell gulhet for klippfisken i delaktivitet 2. Som nevnt under resultatene for lysheten, fikk vi ingen forventet økt lyshet som resultat av kalsiumtilsetningen i sjøsaltet, men i stedet en økt misfarging og gulhet på sluttproduktet. Resultatene var svært overraskende sammenlignet med tidligere resultater ved fullsalting av torsk (Lauritzsen *et al*., 2004a). Resultatene viser en kraftig økning av gulheten under hele kjølelagringsperioden for filetene saltet med 0.8% kalsium i sjøsaltet. Årsaken til disse resultatene kom delvis fram ved multivariate dataanalyser og er diskutert i detalj under dette punktet lenger bak i rapporten.

Figur 12 viser instrumentelle gulhetsverdier for klippfisken framstilt i delaktivitet 3. Generelt økte gulheten til klippfisken med kjølelagringsperioden for de fleste av forsøksseriene i delaktivitet 3. Den laveste gulheten ble målt for E8 og E15 som også hadde høyeste lyshet og som var produsert ved høy temperatur, dvs. 20ºC. Høyeste gulhet ble målt for E1 og E2 som begge var produsert ved lav temperatur, dvs. 4ºC, og full lys og oksygentilførsel.

Instrumentell rødhet, a*

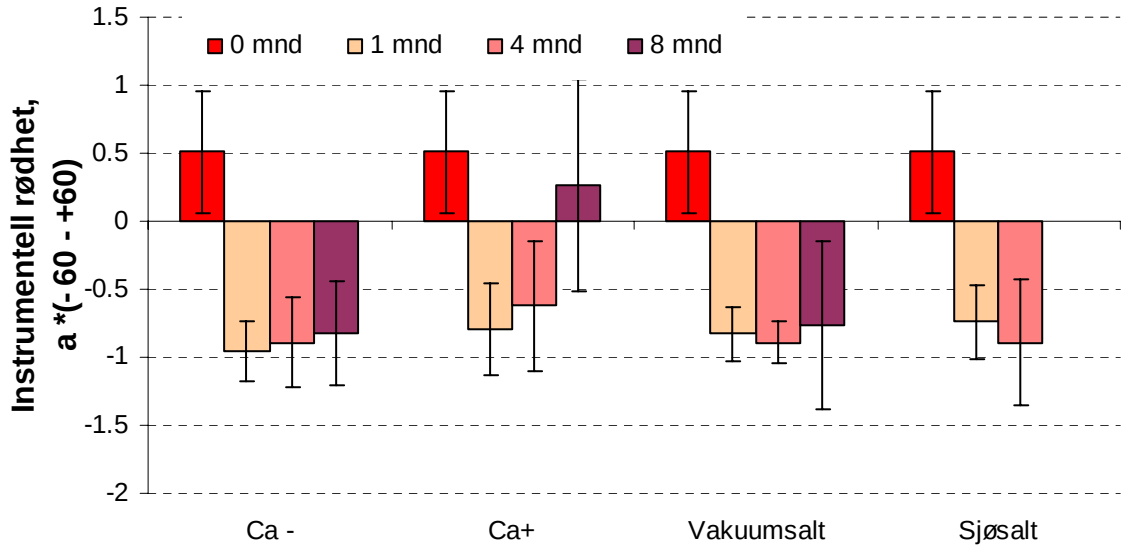
*Rødhet, delmål 1*




*Figur 13. Instrumentell rødhet (a*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

Av figur 13 går det fram at rødheten avtar i mindre grad ved framstillingsprosessen til klippfisk når råstoffet er fryst og tint sammenlignet med ferskt ved salting. Generelt reduseres rødheten fra råstoff til klippfisk, både fra garnfanget og juksefanget fisk.

*Rødhet, delmål 2*

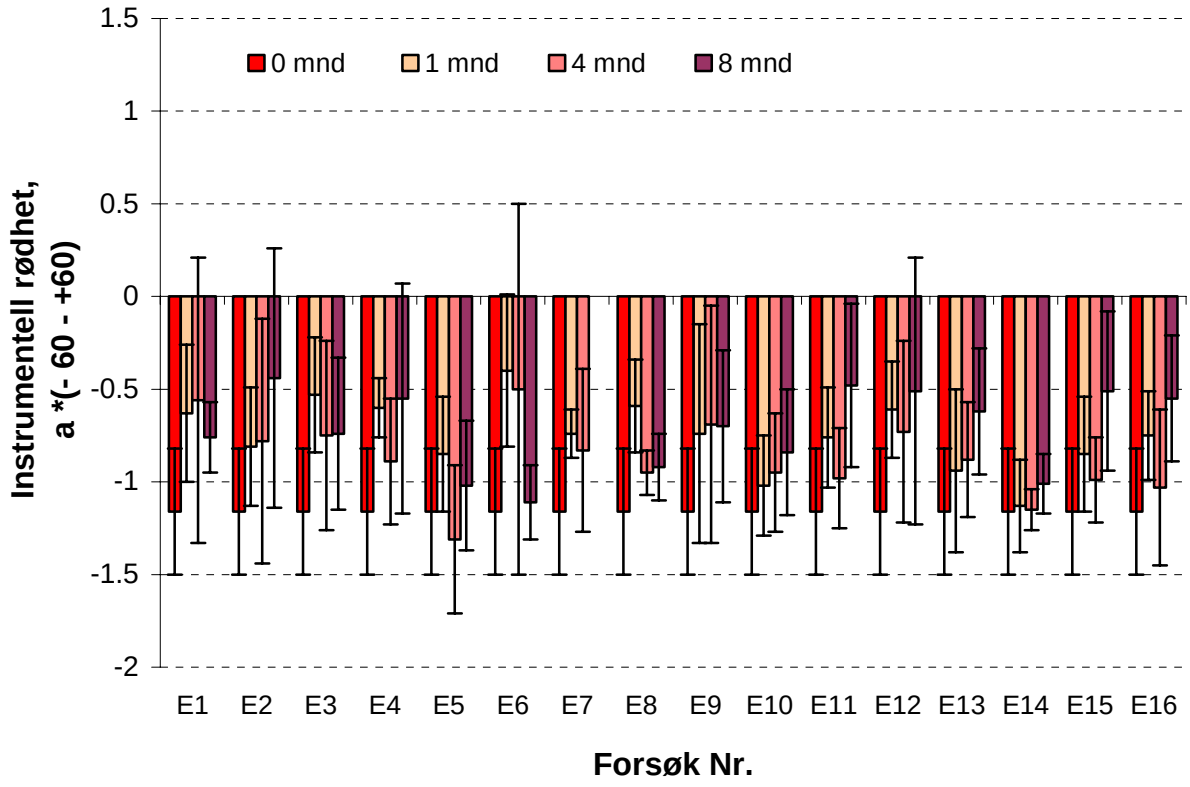



*Figur 14. Instrumentell rødhet (a*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

I figur 14 ser vi effekten av å øke kalsiuminnholdet i sjøsaltet på rødheten til sluttproduktet gjennom 8 måneder på kjølelager. Rødheten reduseres først kraftig ved uttaket etter 1 måned på kjølelager og deretter øker den fram til 8 måneder. Kontrollfileten fra samme individ som

ble saltet uten kalsiumtilsetting, viste samme tendens men hadde signifikant lavere rødhet etter 8 måneders lagring. Årsakene til endringene i rødhetsverdiene, kan være endringer i hemoglobin og myoglobinets hemgrupper og hvorvidt jernet foreligger i fri, bundet, redusert eller oksidert form. Tap av instrumentell rødhet er tidligere rapportert å være et resultat av hemoglobin-mediert fettoksidasjon i vasket fiskemasse fra torsk (Wetterskog og Undeland, 2004).

*Rødhet, delmål 3*

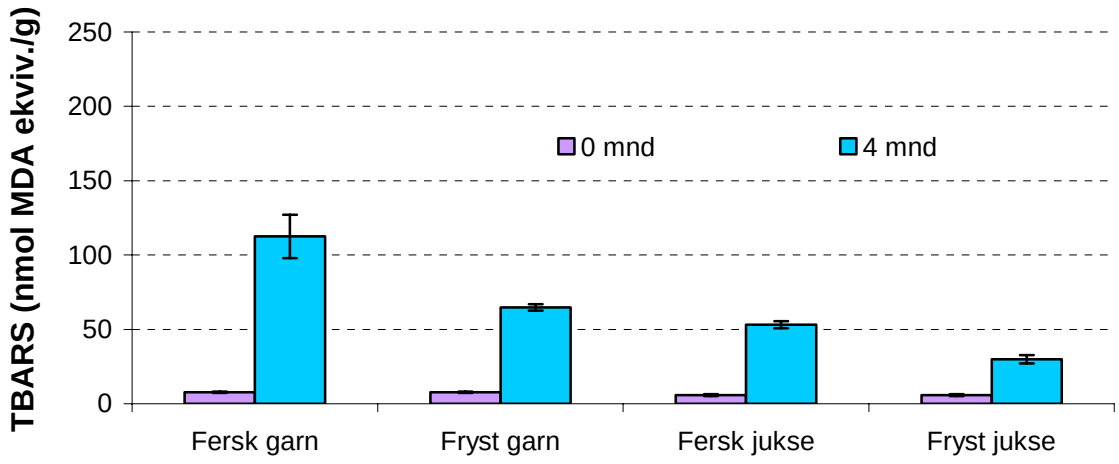



*Figur 15. Instrumentell rødhet (a*) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

Figur 15 viser instrumentelle verdier for rødheten til klippfisken i delaktivitet 3. I disse forsøkene var forløpet forskjellig fra delaktivitet 1 og 2. Her økte rødhetsverdiene for samtlige forsøksserier fra råstoff til klippfisk ved uttaket etter 8 måneders lagring, men a-verdiene svingte opp og ned under lagringsforløpet. Vi antar også her at årsakene til endringene i rødhetsverdiene, skyldes endringer i hemoglobin og myoglobinets hemgrupper og om hvorvidt jernet foreligger i fri, bundet, redusert eller oksidert form.

## 6.3 Kjemisk målt harskning (TBARS-verdier)

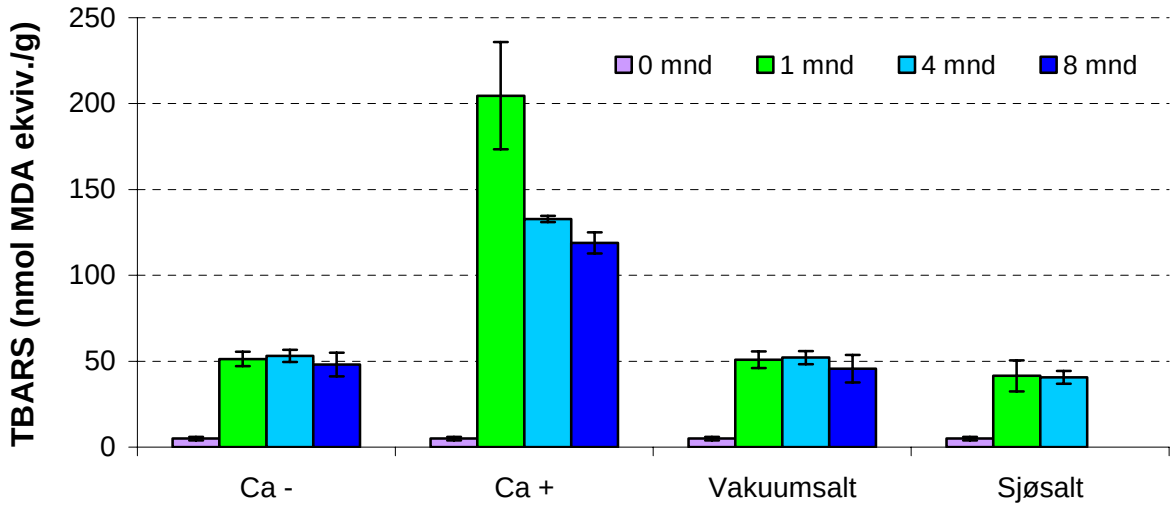
### 6.3.1 TBARS, delmål 1




*Figur 16. Tiobarbitursyrereaktive forbindelser (TBARS) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

Vi ser av figur 16 at frysing-tining av råstoffet før salting ga redusert kjemisk målt harskning av klippfisken sammenlignet med klippfisken framstilt fra ferskt råstoff. Dette skyldes sannsynligvis at det fryste råstoffet var lagret relativt kort tid før tining og salting i disse forsøkene og ikke hadde rukket å bli harskt før salting. Frysing kan også redusere den generelle enzymaktiviteten i fiskekjøttet og påvirke den videre harskningsutviklingen.

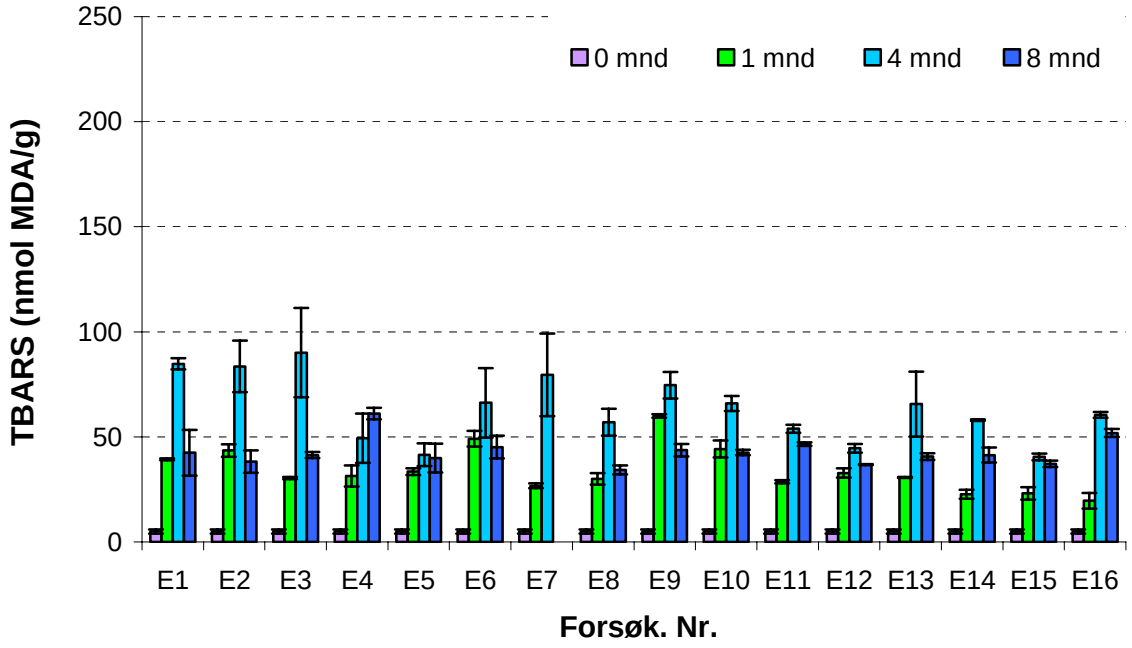
### 6.3.2 TBARS, delmål 2




*Figur 17. Tiobarbitursyrereaktive forbindelser (TBARS) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

I Figur 17 ser vi harskningsutviklingen til klippfisken saltet med økt kalsium i saltet. Det går klart fram av denne figuren at årsaken til at klippfisken ble misfarget gul (jfr. Figur 11) skyldes økt fettoksidasjon av fiskekjøttet. Harskningsutviklingen kom raskt i gang, allerede etter 1 måneds kjølelagring, og avtok deretter under kjølelagringsperioden. TBARS-verdien kan ha blitt redusert etter hvert som de sekundære harskningsproduktene ble forbrukt i ikke-enzymatiske bruningsreaksjoner mellom fettet og de frie aminogruppene i fiskekjøttet. Dette har vært observert tidligere ved utstrakt misfarging av fullsaltet torskemuskel (Lauritzsen *et al*, 1999; Lauritzsen og Olsen, 2004c).

### 6.3.3 TBARS, delmål 3



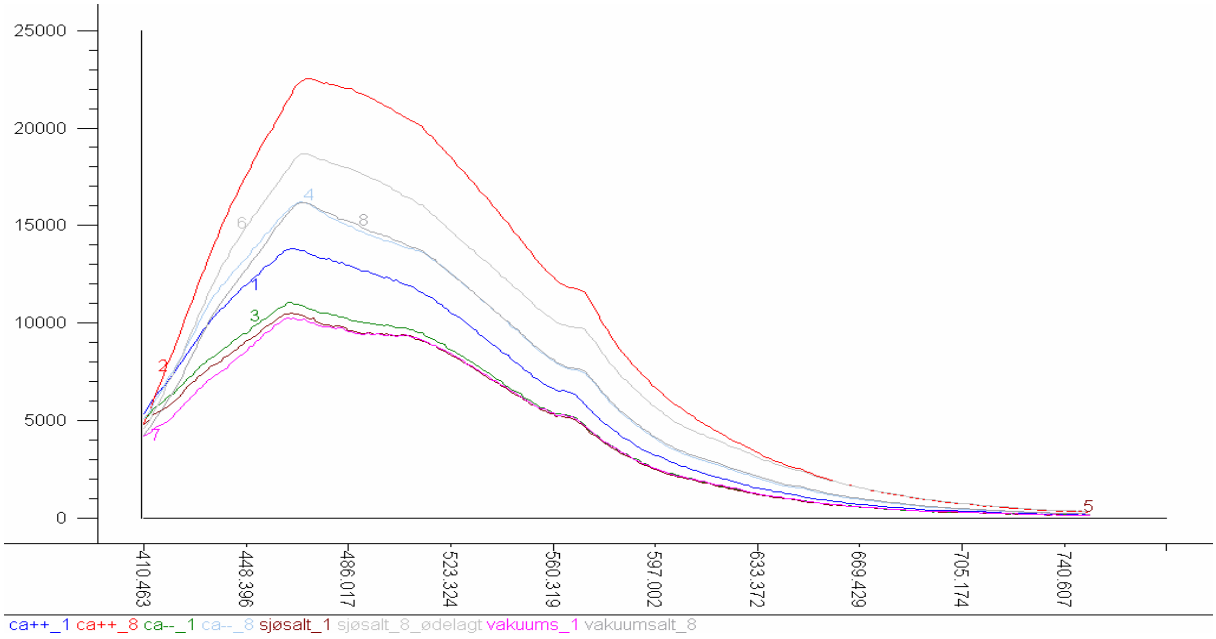

*Figur 18. Tiobarbitursyrereaktive forbindelser (TBARS) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

Utfra figur 18 ser vi at alle forsøkene med produksjon av klippfisk fra sei ved varierende temperatur, lys- og oksygentilsførsel og tørkegrad resulterte i en økning av harskheten på 3-8 x fra råstoff til kjølelagret klippfisk. TBARS sluttnivået etter 8 måneders lagring, var ca. 1/3 eller halvparten av nivået målt i klippfisken saltet med ekstra kalsium i saltet. Effekten av saltsammensetningen ser derfor ut til å være av større betydning for sluttproduktet enn de øvrige produksjonsbetingelsene (temperatur, lys- og oksygentilførsel, tørkegrad) som ble testet ved delaktivitet 3.

## 6.4 Spektroskopisk målt harskning (fluorescens)

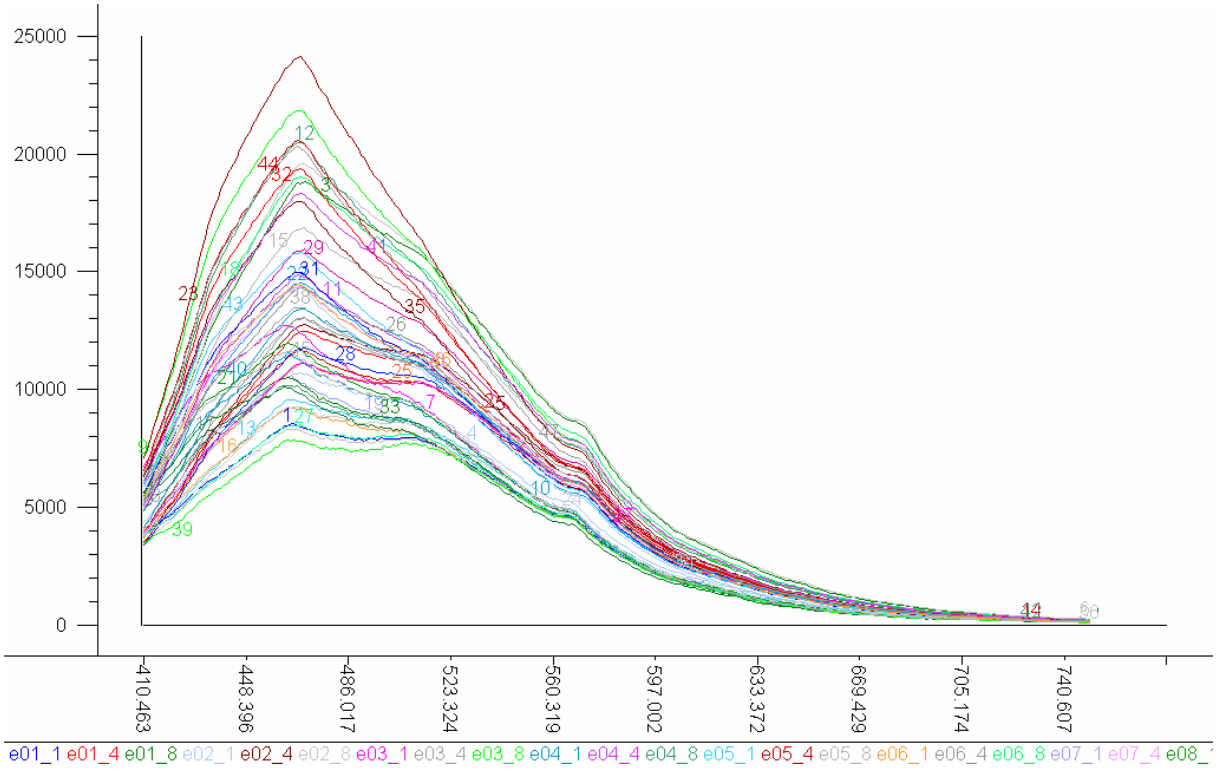
Det ble utført fluorescens måling av samtlige prøver tatt ut i løpet av 8 måneders kjølelagring i delaktivitet 2 og 3.

### 6.4.1 Fluorescensspektra, delmål 2




*Figur 19. Fluorescens-spektra detektert fra 410 – 750 nm etter eksitasjon ved 380 nm bølgelengde.*

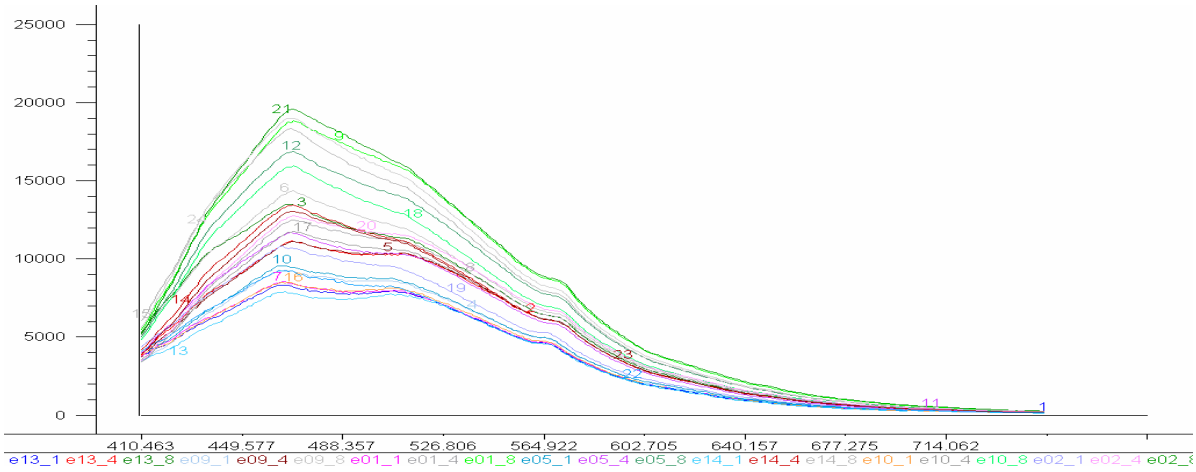
### 6.4.2 Fluorescensspektra, delmål 3



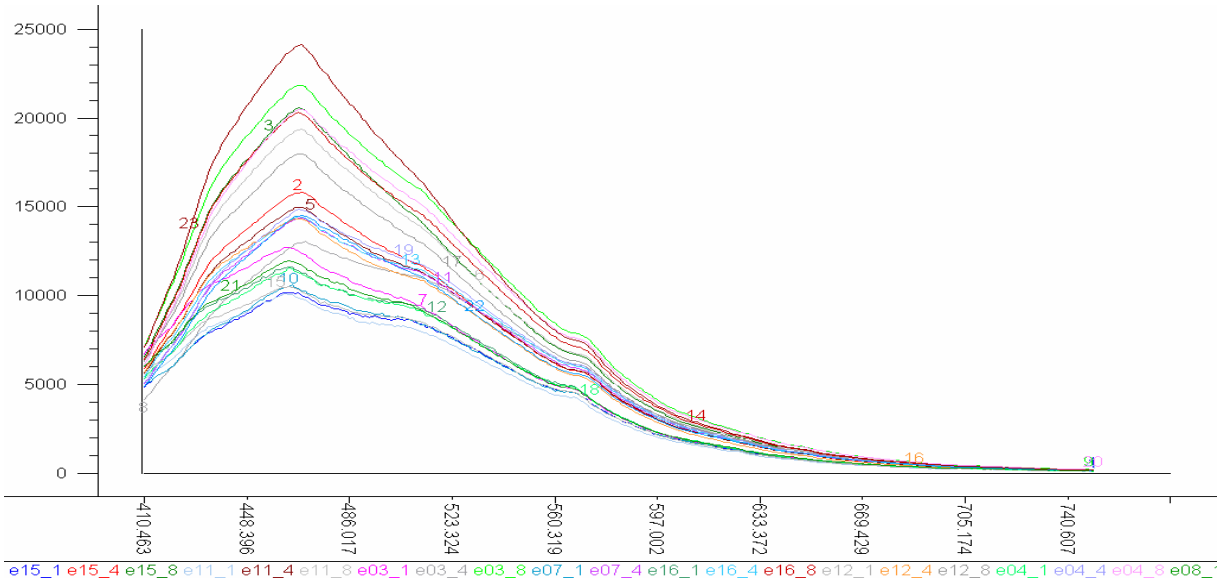

*Figur 20. Fluorescens-spektra detektert fra 410 – 750 nm etter eksitasjon ved 380 nm bølgelengde.*

I figur 19 og 20 er råspektra fra fluorescens målingene presentert. Vi ser i figur 19 at den røde linjen som representerer spekteret for klippfisken saltet med ekstra kalsium og som var lagret i 8 måneder (Ca++_8), skiller seg kraftig ut fra de øvrige prøvene ved bølgelengde- området 420-540 nm i delaktivitet 2. Spekteret har både høyere fluorescensintensitet og endret form i forhold til de øvrige spektra. I bølgelengdeområdet 440 – 500 nm ser vi at spekteret får en oppoverkrumning fra 1 til 8 måneders lagring. Instrumentell gulhet (b*) var høyest og kjemisk målt harskning (TBARS) lå på tredje høyeste nivå for Ca++_8.

Ved å sammenligne figur 19 og 20 ser vi at fluorescensspektret med høyeste fluorescensintensitet i figur 20 (e02_4) har sammenfallende makspunktet ved bølgelengde 460 nm men at intensiteten synker brattere i området 460-560 nm enn for prøven Ca++_8 i figur 19. Ved å splitte opp figur 20 i to nye plott med hensyn på produksjonstemperaturen ser vi i at klippfiskprøvene produsert ved lav temperatur (figur 21) har lavere maksimal fluorescensintensitet enn klippfiskprøvene (figur 22) produsert ved høy temperatur.




*Figur 21. Fluorescensspektra for klippfiskprøver produsert ved lav temperatur, 2-4ºC.*



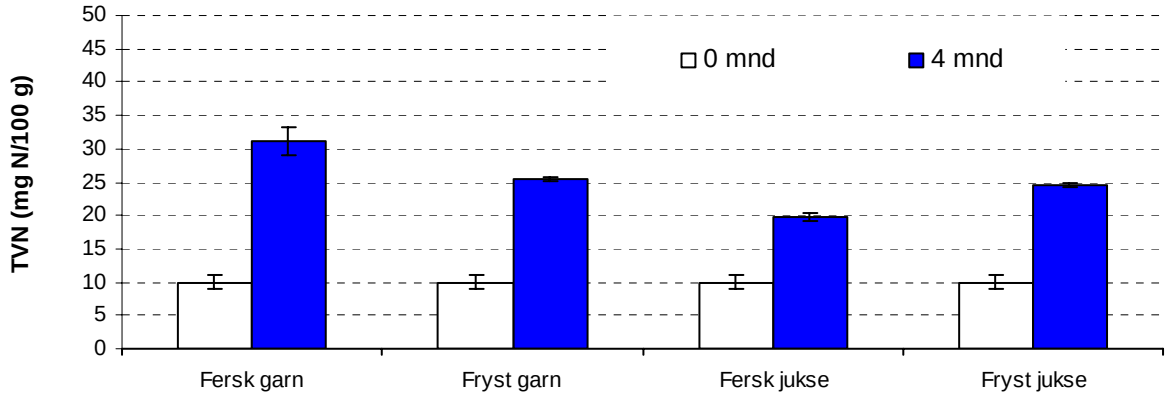

*Figur 22. Fluorescensspektra for klippfiskprøver produsert ved høy temperatur, 18-20ºC.*

Fluorescensdeteksjonen ser ut til å fange opp endringer i fiskekjøttet til klippfisk fra sei ved kjølelagring. Ytterligere detaljer er diskutert under punktet multivariat dataanalyse.

## 6.5 Innholdet av flyktige nitrogenforbindelser (TVN)

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

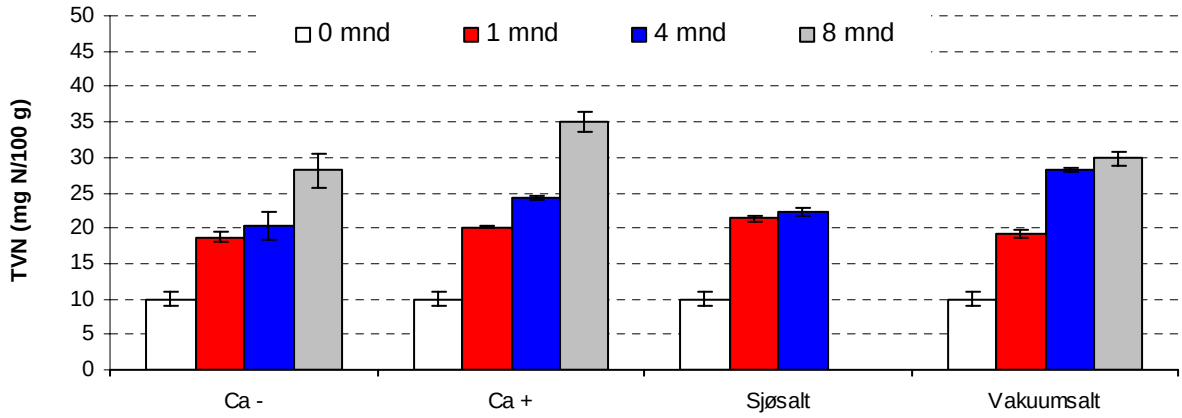
### 6.5.1 TVN innholdet, delmål 1




*Figur 23. Total flyktig nitrogen (TVN) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

I figur 23 er innholdet av flyktige nitrogenforbindelser i råstoffet og klippfisken produsert fra garn- og juksefanget sei illustrert. TVN-innholdet økte ca. 2-3 x fra råstoff til 4 måneders lagret klippfisk. Det var lavere i fisken produsert fra fryst-tint enn fra ferskt garnfanget råstoff, men motsatt når fisken var fanget med jukse.

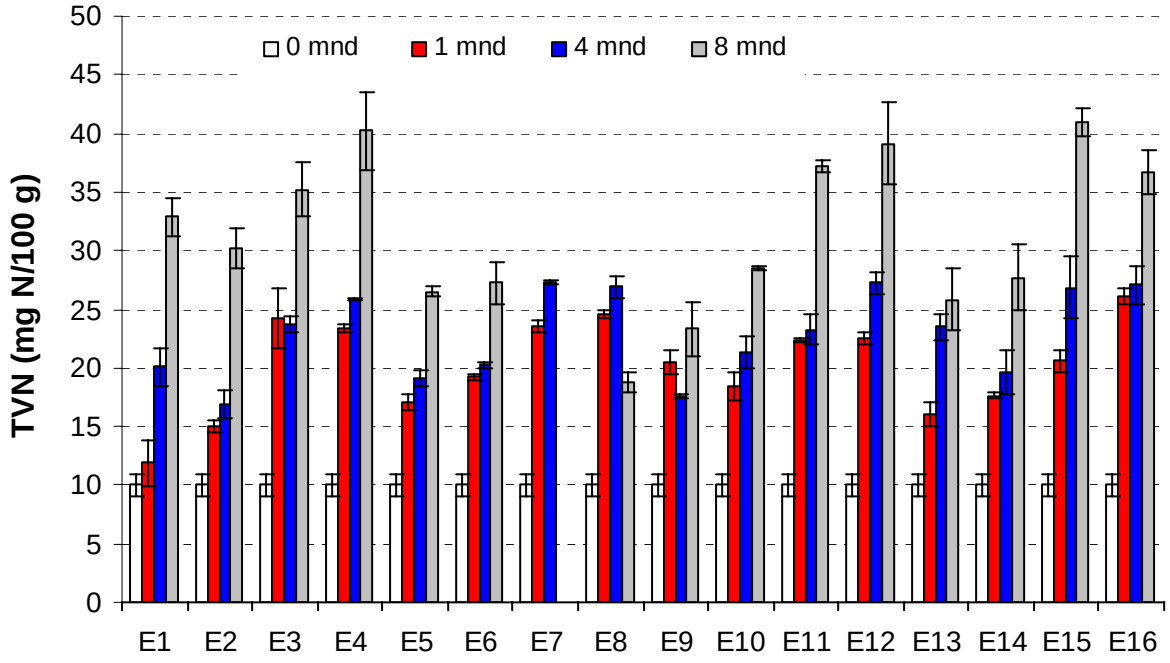
### 6.5.2 TVN innholdet, delmål 2




*Figur 24. Totalt flyktig nitrogen (TVN) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

Av figur 24 går det fram at innholdet av flyktig nitrogen økte under kjølelagringen av klippfisken produsert med og uten ekstra kalsiumtilsetting i saltet og i klippfisken produsert med henholdsvis vakuumsalt og sjøsalt. Økningen var størst i klippfisken produsert med ekstra kalsium i saltet. Årsaken til denne spesielle økningen er ikke klar, men den kan skyldes nedbrytingsprodukter fra både protein og fettfraksjonen i fiskekjøttet. Dette er ytterligere kommentert lenger bak i rapportens multivariate dataanalyse.

### 6.5.3 TVN-innholdet, delmål 3



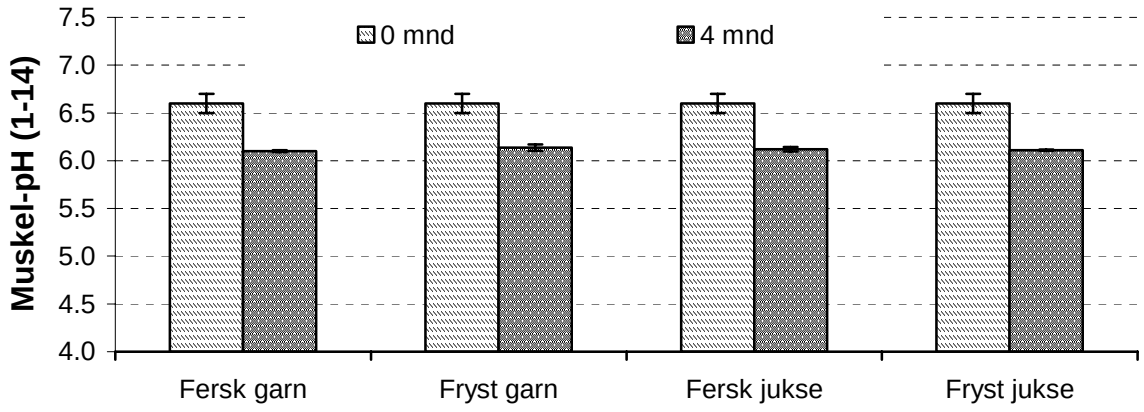

*Figur 25. Totalt flyktig nitrogen (TVN) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

Innholdet av flyktig nitrogen i klippfisken produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad er prensentert i figur 25. Samtlige forsøksserier unntatt E8 og E9 viste en klar økning av de flyktige nitrogenforbindelsene i løpet av 8 måneders kjølelagring. Økningen var spesielt stor i forsøkene E3, E4, E11, E12, E15 og E16 hvor klippfisken ble produsert ved høy temperatur. Den høye produksjonstemperaturen kan ha bidratt til både økt bakteriell aktivitet tidlig i salteprosessen og til høyere enzymatisk aktivitet i fiskekjøttet under modningen (Sikorski og Kostuch, 1982). Begge forhold kan ha påvirket nedbrytningen av fett- og proteinfraksjonen til fiskekjøttet. Dersom klippfisken produseres ved høy temperatur, kan altså produktet få en kraftigere smak, lukt og konsistens sammenlignet med produktet fra en produksjon ved lav temperatur. Flyktige nitrogenforbindelser vil også kunne påvirke harskningsforløpet og fargeutviklingen til klippfisken noe som er ytterligere diskutert i rapportens punkt multivariate dataanalyser (Frankel, 1998).

## 6.6 Muskel-pH (surheten) til klippfisken

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

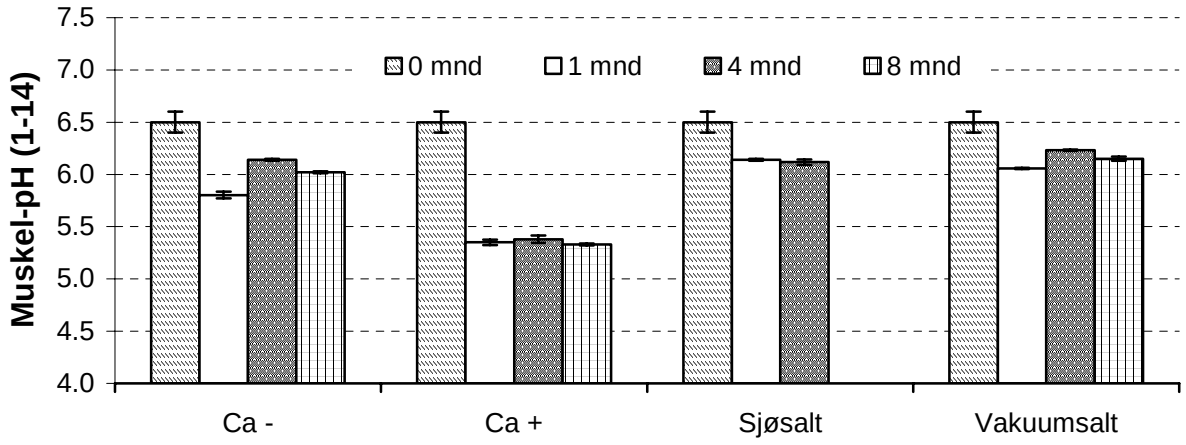
### 6.6.1 Muskel-pH, delmål 1




*Figur 26. Muskel-pH målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

Muskel-pH sank fra råstoff til klippfisk produsert fra både ferskt og fryst-tint råstoff fanget både med garn og jukse som vist i figur 26.

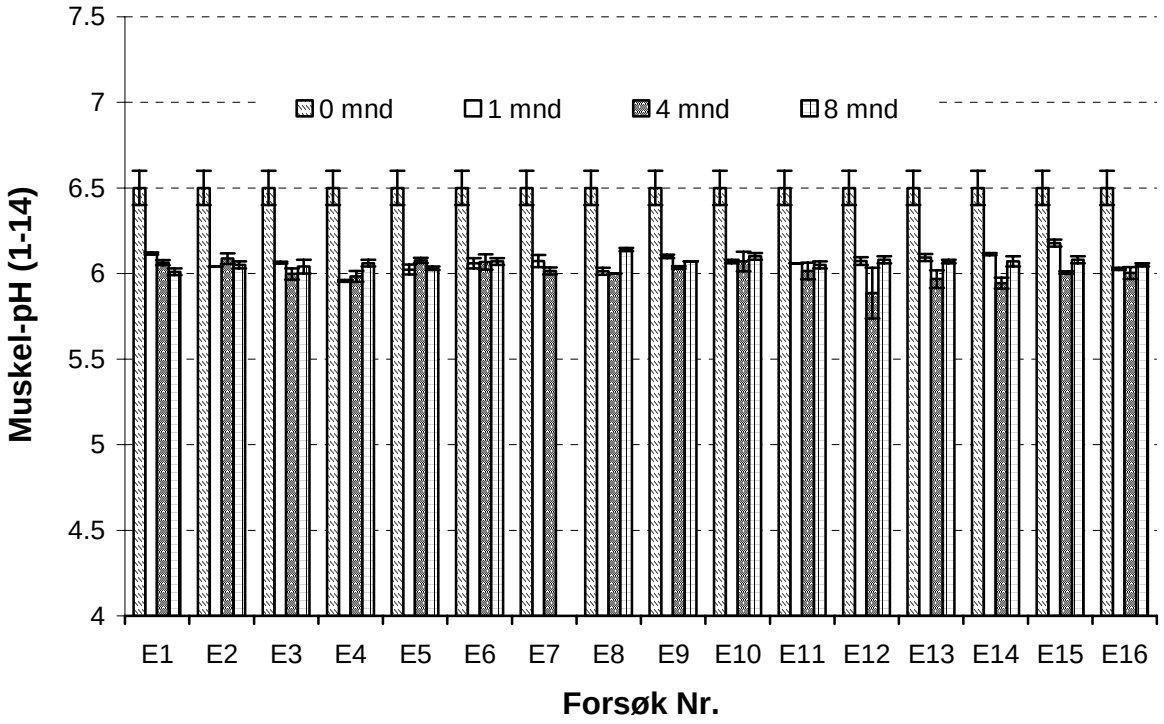
### 6.6.2 Muskel-pH, delmål 2




*Figur 27. Muskel-pH målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

I figur 27 ser vi at muskel-pH sank mest i klippfisken produsert med ekstra kalsium tilsatt i saltet. pH-verdien lå ca. 0.8 enheter lavere enn for kontrollen saltet med ordinært sjøsalt. Det kan derfor virke som kalsiumionene binder seg til seimuskelen på en slik måte at de sure sidegruppene i muskelproteinet blir eksponert for omgivelsene, sannsynligvis som følge av en denatureringsprosess. Tidligere forsøk på torsk har vist muskel-pH verdier på omkring 5.8-5.9 i det fullsalta produktet (Lauritzsen *et al.,* 2004a), dvs. ca. 0,5 pH-enheter høyere enn slutt-pH for seien. pH-endringer på 0.1-0.2 kan gjøre utslag på kvaliteten til fiskekjøttet.

### 6.6.3 Muskel-pH, delmål 3



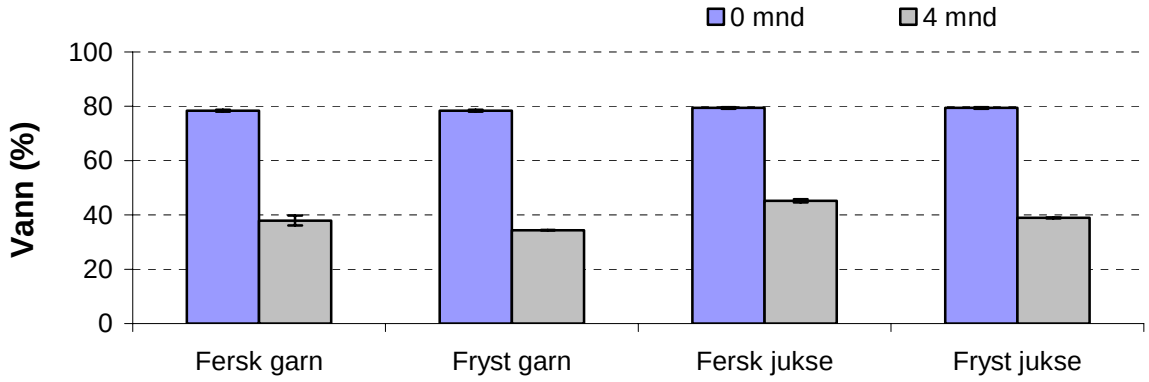

*Figur 28. Muskel-pH målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

I figur 28 ser vi at muskel-pH sank fra råstoff til klippfisk og ytterligere under kjølelagringsperioden i de fleste av forsøkene i delaktivitet 3. Reduksjonen i muskel-pH var relativt lik for samtlige forsøksserier og ikke så dramatisk som for klippfisken produsert med ekstra kalsium tilsatt i sjøsaltet. Muskel-pH for klippfisken i forsøkene, delaktivitet 3, samsvarer med muskel-pH for fullsaltet torsk med ordinært sjøsalt som er rapportert tidligere (Lauritzsen *et al*., 2004a).

## 6.7 Vanninnhold i klippfisken

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

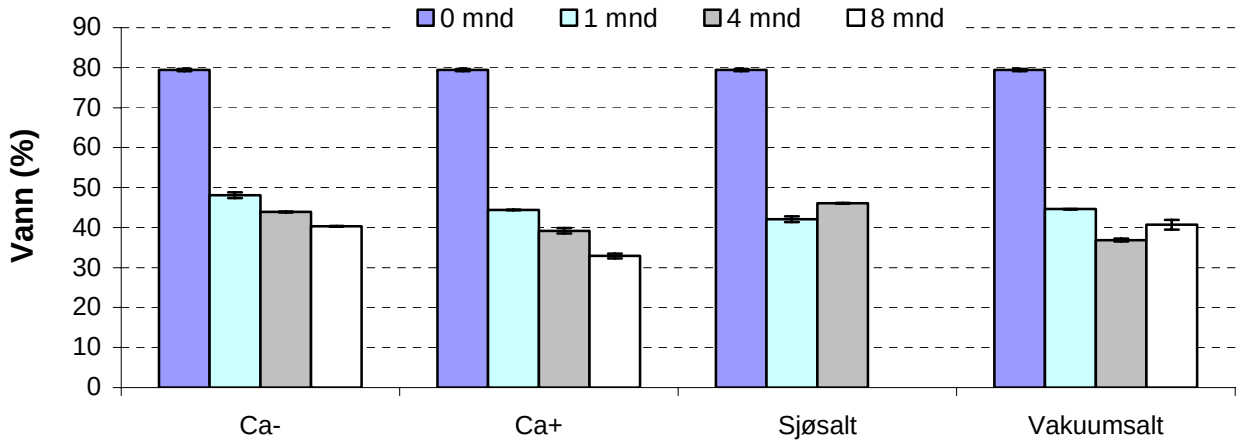
### 6.7.1 Vanninnhold, delmål 1




*Figur 29. Vanninnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

All klippfisken fra delaktivitet 1 ble kraftig tørket til lagertørr vare (≤ 45% vann), jfr. figur 29. Vanninnholdet til klippfisken produsert fra fryst-tint råstoff lå ca. 3-4% lavere enn for klippfisken produsert fra ferskt råstoff fra samme individ. Dette gjaldt både garn- og juksefanget sei. Disse forskjellene i vanninnholdet forklarer hvorfor vektutbyttet ble lavere for klippfisken produsert fra fryst kontra ferskt råstoff (jfr. figur 2). Årsaken til at vanninnholdet ble lavere kan være cellesprengning og skader på muskelproteinet under fryse-tine prosessen slik at vannbindingsevnen ble kraftigere redusert under salteprosessen.

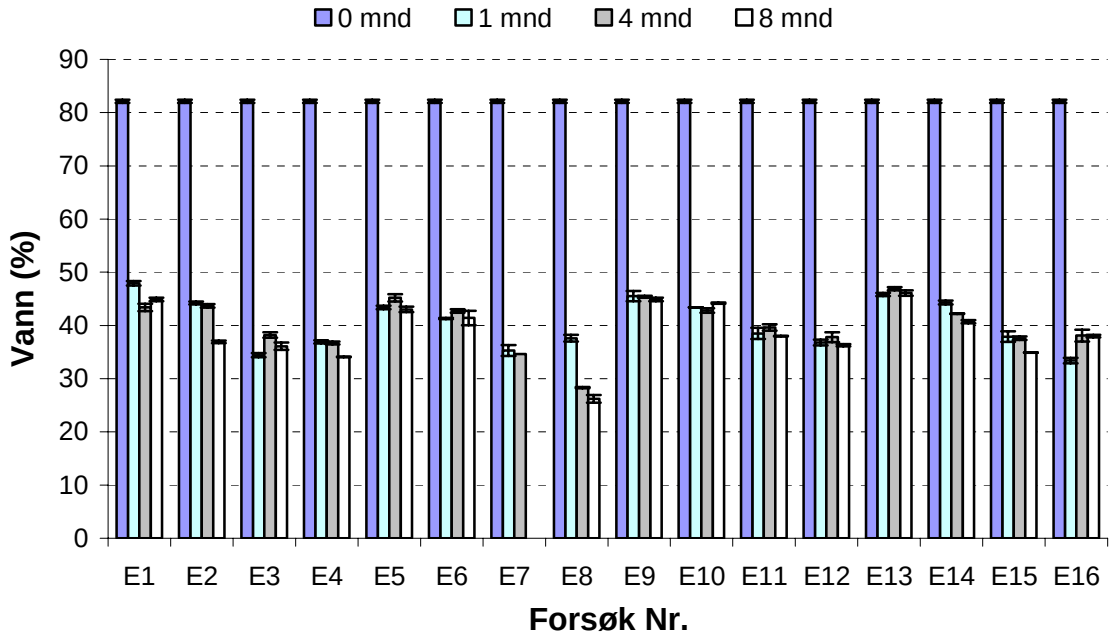
### 6.7.2 Vanninnhold, delmål 2




*Figur 30. Vanninnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

Figur 30 viser vanninnholdet til klippfisken produsert med og uten kalsium tilsatt sjøsaltet for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ. Vanninnhold til klippfisken tilsvarte 7/8 tørr ved bruk av ordinært sjøsalt og lagertørr ved bruk av ekstra kalsium i sjøsaltet. Som omtalt foran forårsaket opptaket av kalsiumioner i fiskekjøttet en kraftig reduksjon av muskel-pH og sannsynligvis også en utstrakt denaturering av muskelproteinet. Disse forholdene medfører økt tap av vann fra fiskemuskelen og forklarer hvorfor vanninnholdet ble lavere i kalsiumbehandlet klippfisk. Det lave vanninnholdet forklarer hvorfor denne fisken fikk et ca. 10% lavere vektutbytte som både saltfisk og klippfisk sammenlignet med kontrollen. Salting med vakuumsalt ga et 2% lavere vanninnhold i klippfisken etter 4 måneders kjølelagring enn ved bruk av sjøsalt. Vi så tidligere i rapporten (jfr. figur 4) at vektutbyttet som klippfisk ble ca. 2-3% lavere ved bruk av vakuumsalt versus sjøsalt og vanninnholdet kan altså forklare denne forskjellen.

### 6.7.3 Vanninnhold, delmål 3

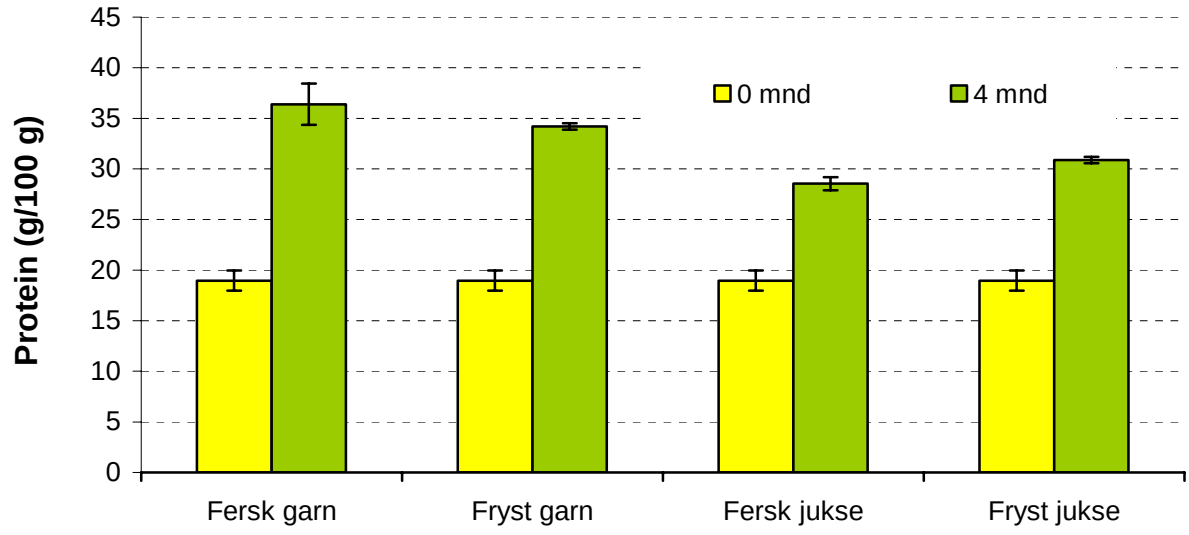



*Figur 31. Vanninnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

Figur 31 viser vanninnholdet til klippfisken fra delaktivitet 3. Samtlige forsøksserier resulterte i klippfisk med et vanninnhold lavere enn 50%. Vi ser at det var til dels store forskjeller i vanninnholdet til klippfisken fra de ulike forsøksseriene. Klippfisken som ble produsert ved høy temperatur fikk (≤ 40% vann) et lavere vanninnhold enn klippfisken produsert ved lav temperatur (≥ 40% vann). Årsaken kan være at saltopptaket i fiskemuskelen foregår raskere ved 20ºC enn ved 4ºC og at en større andel av muskelproteinene denaturerer ved høy temperatur. Forsøk nr. E8 skilte seg ut med et spesielt lavt vanninhold i klippfisken etter 8 måneders lagring.

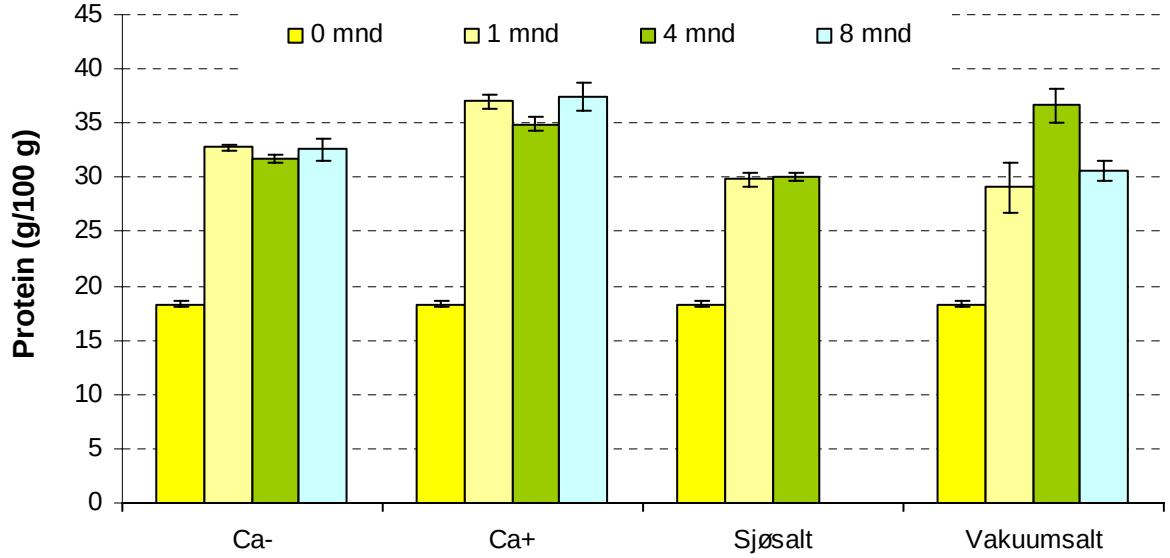
## 6.8 Proteininnholdet i fiskekjøttet

### 6.8.1 Protein, delmål 1



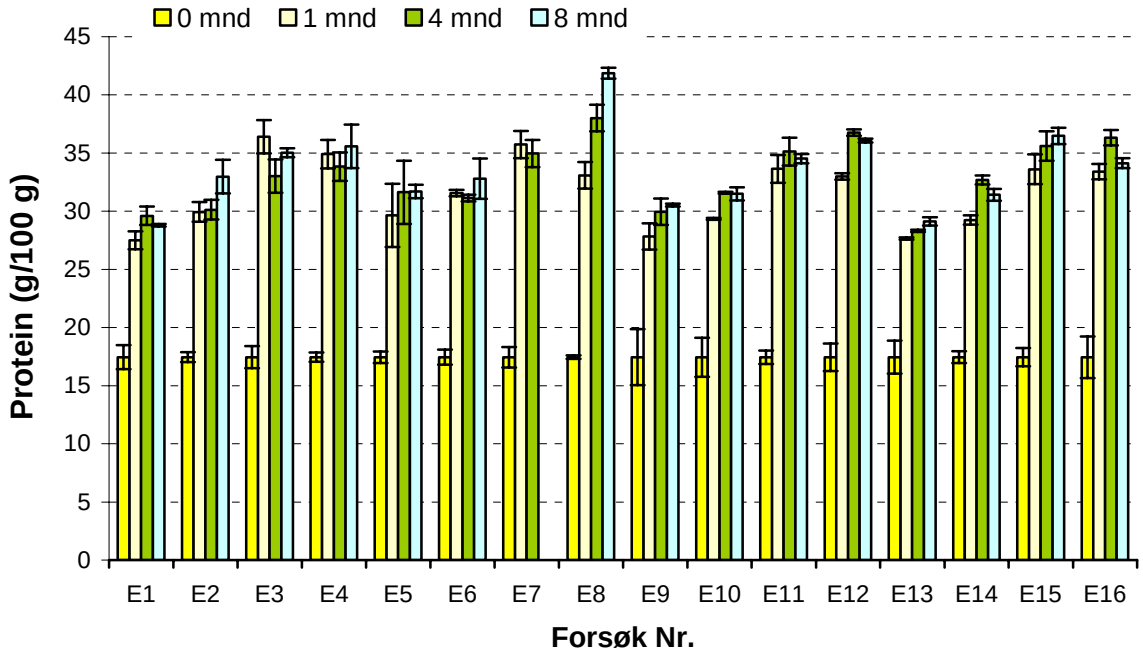

*Figur 32. Proteininnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

### 6.8.2 Protein, delmål 2




*Figur 33. Proteininnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

Proteininnholdet i klippfisken fra forsøkene i delmål 1, 2 og 3 varierte alle motsatt av vanninnholdet som vist henholdsvis i figur 32, 33 og 34.

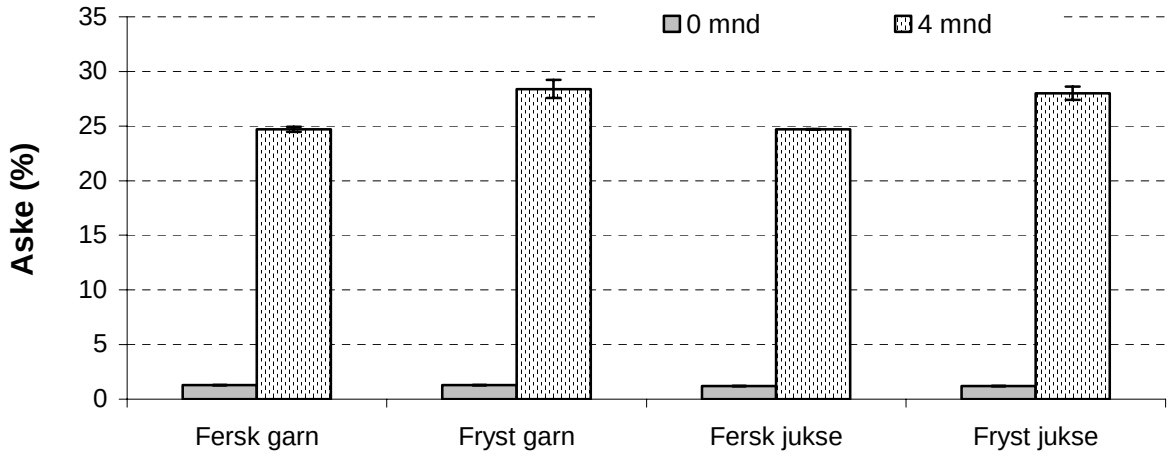



*Figur 34. Proteininnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

## 6.9 Saltinnhold (målt indirekte som aske%) i klippfisken

For at klippfisken skal være en stabil konservert matvarer bør saltinnholdet tilsvare mettet saltkonsentrasjon dvs. ca. 25% NaCl.

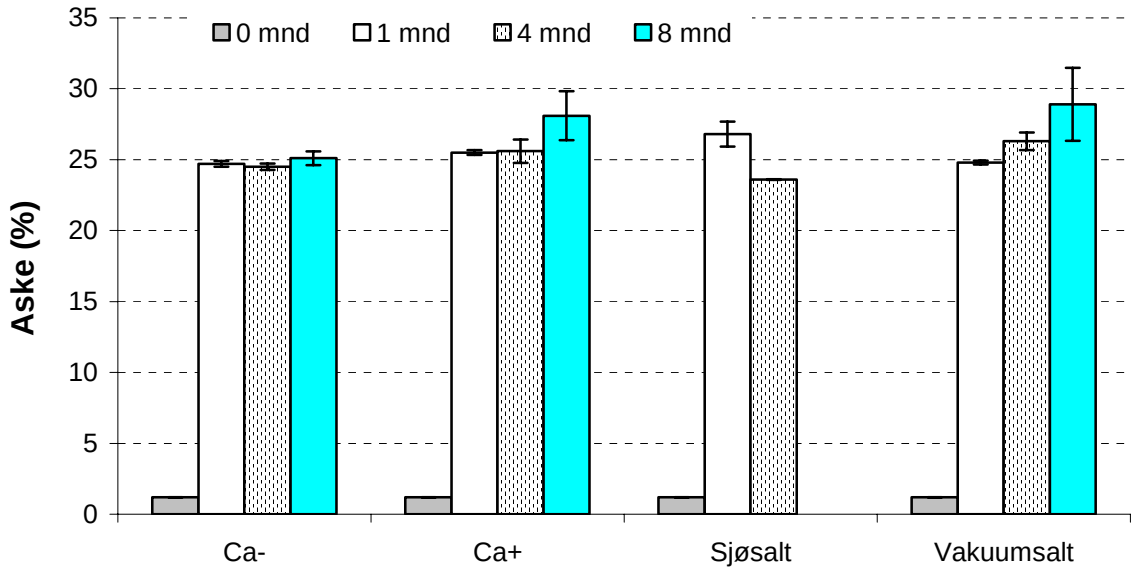
### 6.9.1 Saltinnhold, delmål 1




*Figur 35. Askeinnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert fra garn- og juksefangst saltet henholdsvis fersk og etter frysing og tining for venstre og høyre filet fra samme individ.*

Figur 35 viser at askeinnholdet tilsvarte saltmoden klippfisk, dvs. ≥ 25% NaCl, for all klippfisken i delaktivitet 1. Den fryste fisken tok opp 3-4% mer salt enn den ferske under saltingen noe som har sammenheng med det økte vanntapet fra denne fisken (jfr. figur 29). Denne fryseeffekten på saltopptaket har vært påvist tidligere ved fullsalting av torsk *post rigor* (Lauritzsen et al., 2004b).

### 6.9.2 Saltinnhold, delmål 2

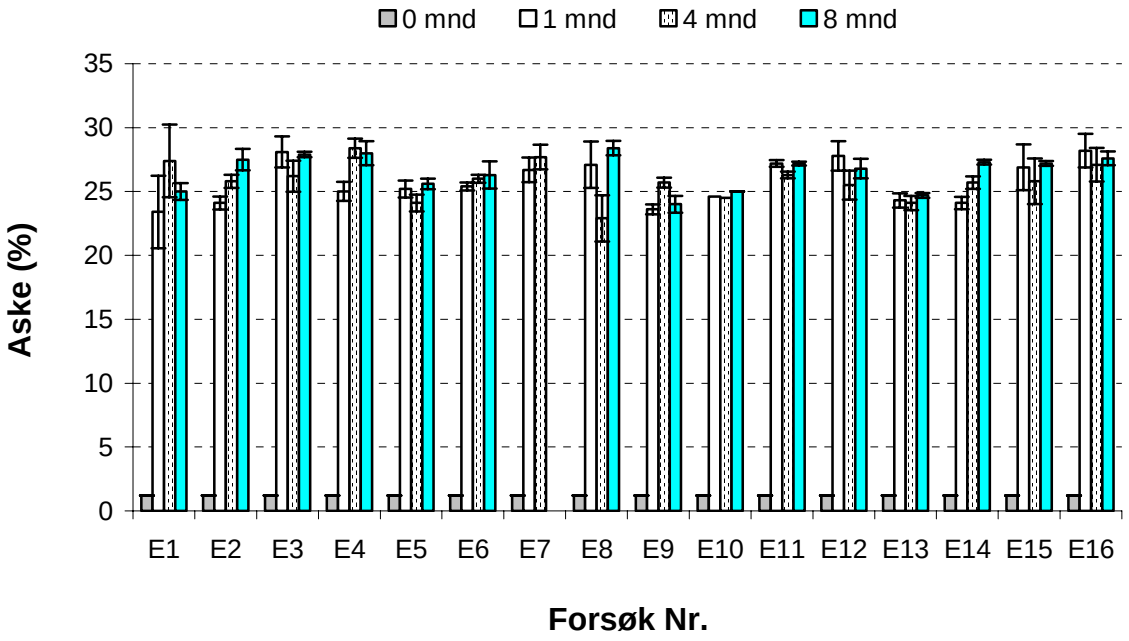



*Figur 36. Askeinnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert med (Ca+) og uten (Ca-) kalsium (0.8%) tilsatt i sjøsaltet, og på homogenisert klippfisk produsert med vakuumsalt og sjøsalt for henholdsvis venstre og høyre filet fra samme individ.*

Ved salting med ekstra kalsium i sjøsaltet og ved bruk av vakuumsalt, fikk klippfisken et høyere saltinnhold etter 8 måneders kjølelagring, som vist i figur 36. Muskelstrukturen kan ha vært mer åpen og spaltet i overflaten slik at vannet fordampet lettere under kjølelagringen og det relative saltinnholdet økte.

I figur 37 på neste side ser vi saltinnholdet til klippfisken fra delaktivitet 3. Det var tendenser til økt saltinnhold i de fleste forsøkene gjennom kjølelagringsperioden og det skyldes sannsynligvis avdamping av vann fra fiskemuskeloverflata. Dersom fisken hadde vært oppbevart på et kjølerom med høy relativ fuktighet, er det rimelig å anta at fisken ville fått et tilsvarende opptak av vann fra omgivelsen og et mindre lagringstabilt produkt.

### 6.9.3 Saltinnhold, delmål 3




*Figur 37. Askeinnholdet (%) målt på homogenisert klippfisk fra sei produsert ved varierende temperatur, lys- og oksygentilgang og tørkegrad.*

## 6.10 Innholdet av tungmetaller

I tabell 3 er totalt kopper og jern i homogeniserte råstoff og klippfiskprøver presentert. Forskjellene i kopper- og jerninnholdet mellom råstoffprøvene var ikke signifikante, dvs. de lå innenfor standardavviket til selve målingene. Innholdet av tungmetaller i klippfisken kan derfor i liten grad forklare forskjellene på farge og ikke-enzymatisk fettoksidasjon mellom prøvene i delaktivitet 1. Det var imidlertid en tendens til økt innhold av kopper i klippfisken framstilt fra fryst råstoff sammenlignet med klippfisken fra ferskt råstoff. For jerninnholdet var tendensen motsatt. Frysing og tining medfører cellesprengning og væskeslipp fra råstoffet slik at det relative metallinnholdet i fiskekjøttet endrer seg. Jernet kan ha vært løst bundet til vannfasen mens kopperet kan ha vært mer fast bundet til cellestrukturene. I tillegg ser vi utfra tabell 2 side 5, at transporten av kopper og jern henholdsvis ut og inn av fiskekjøttet kan ha blitt påvirket av den osmotiske drivkraften fra saltet.

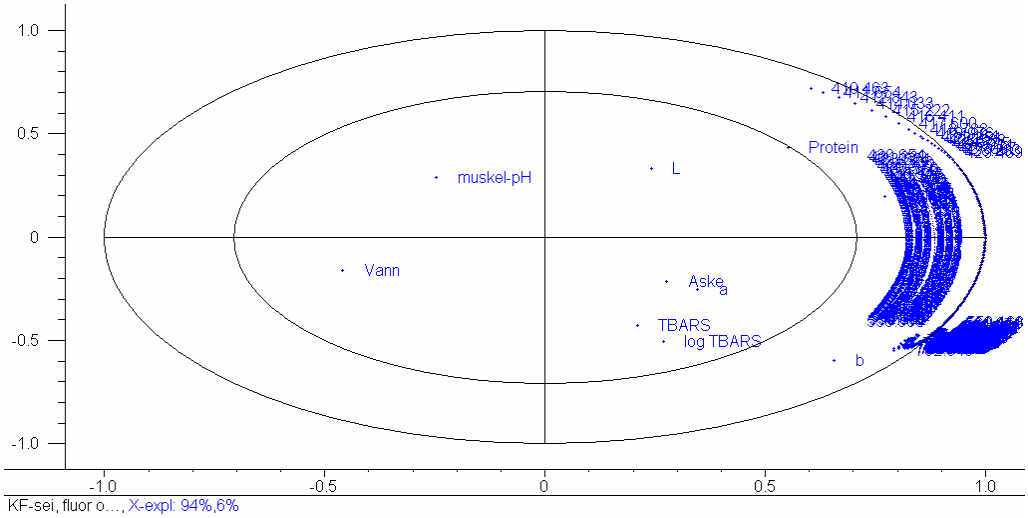
*Tabell 3. Totalt innhold av kopper(Cu) og jern(Fe) i homogeniserte råstoff- og klippfiskprøver fra delaktivitet 1. Verdiene representerer middelverdien av 3 replikater analyser for "pooled samples" framstilt fra N=5 ulike individer.*

| ***Prøve*** | ***Mid. Cu mg /100 g*** | ***± Std. Cu*** | ***Mid. Fe mg /100 g*** | ***± Std. Fe*** |
|---|---|---|---|---|
| *Råstoff garnfangst* | *0.19* | 0.03 | *0.37* | *0.12* |
| *Råstoff juksefangst* | 0.20 | 0.04 | *0.40* | *0.10* |
| *Klippfisk fersk garnfangst* | *0.26* | *0.09* | *0.99* | *0.30* |
| *Klippfisk fryst garnfangst* | *0.41* | *0.05* | *0.62* | *0.05* |
| *Klippfisk fersk juksefangst* | *0.29* | *0.09* | *0.71* | *0.09* |
| *Klippfisk fryst juksefangst* | *0.39* | *0.06* | *0.59* | *0.05* |

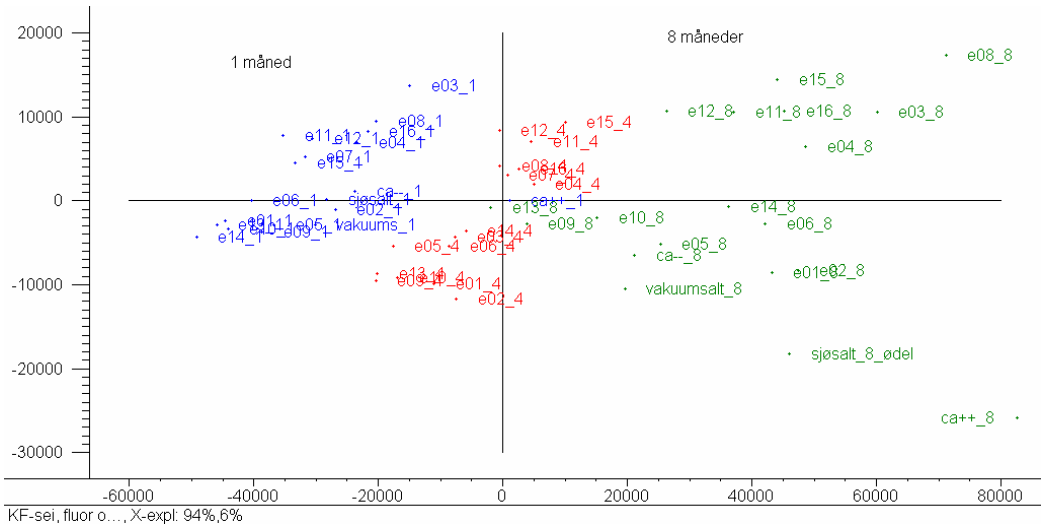
# 7 DISKUSJON - MULTIVARIAT DATAANALYSE

Innledningsvis ble det utført en principal komponentanalyse (PCA) med 2 prinsipale komponenter hvor samtlige måledata fra alle kjølelagrede klippfiskprøver i prosjektet ble analysert. Dette ble gjort for å lete etter underliggende systematiske strukturer i datasettet. Resultatene fra PCA-analysens loadings og scores er presentert i figur 38 og 39.

### 7.1.1 Principal component analyse (PCA) av spektroskopiske fluorescensdata og kjemisk-fysikalske analysedata for delaktivitet 2-3.



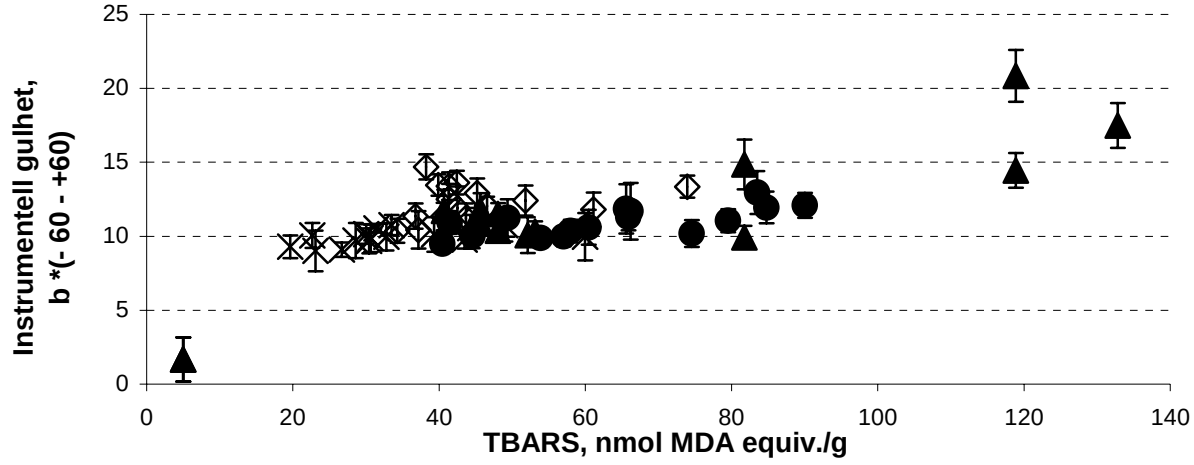

*Figur 38. Correlation loadings plott fra en PCA analyse hvor samtlige fluorescens data (410-750 nm bølgelengder) og kjemiske og fysikalske målinger ble brukt som X-matrise. PC1 er plottet på X-aksen og PC 2 på Y-aksen.*




*Figur 39. Scores plott fra en PCA analyse hvor samtlige fluorescens data (410-750 nm bølgelengder) og kjemiske og fysikalske målinger ble brukt som X-matrise. PC1 er plottet på X-aksen og PC 2 på Y-aksen.*

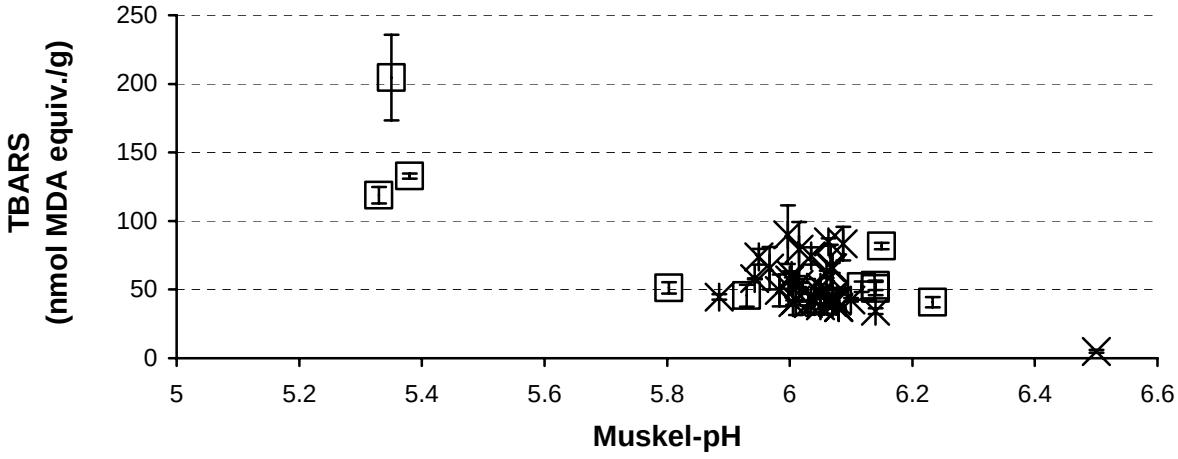
Utfra score-plottet i figur 39 kan vi konkludere at sammensetningen til klippfiskprøvene varierer i økende grad med økende lagringstid, siden prøvene etter 8 måneders lagring har størst spredning i plottet. Dersom klippfiskprodusentene ønsker å levere mest mulig ensartet klippfisk, er det altså mest hensikstmessig å levere produktet relativt kort tid etter framstilling. Figur 39 viser at kjølelagringstiden grupperer klippfiskprøvene langs PC1 aksen. På negativ

side ligger prøvene fra 1 måneds lagring (blåfarget), i midten 4 måneders prøvene (rødfarget) og lengst til høyre på positiv side ligger prøvene fra 8 måneders lagring (grønnfarget). Fra correlation loadingsplottet i figur 38 ser vi at grupperingen kan forklares av reduksjonen i vanninnholdet og muskel-pH på negativ side i PC1 og økningen i TVN innholdet og fluorescensens bølgelengdeområde som ligger lengst ute på positiv side i PC1. Fordelingen av prøvene langs PC2 (y-aksen) kan forklares utfra reduksjonen i TBARS-verdi (Log TBARS) og instrumentell gulhet og økningen i fluorescensen i området 410-420 nm som vi finner henholdsvis lengst ute på negativ og positiv side i PC2. I figur 40 har vi plottet kjemisk målt harskning (TBARS) for klippfiskprøvene fra alle delaktiviteter mot deres respektive instrumentell gulhet (b*). Vi ser at harskningsgraden øker med økende gulhet opp til TBARS verdier på ca. 40-50 nmol MDA. Deretter flater kurven noe ut.




*Figur 40. Sammenhengen mellom kjemisk målt harskning (TBARS-verdi) på X-aksen og instrumentelt målt gulhet (b*) på Y-aksen på homogeniserte prøver av klippfisk fra sei.*

På tilsvarende måte ble muskel-pH plottet mot målt TBARS verdi for samtlige klippfiskprøver som vist i figur 41.

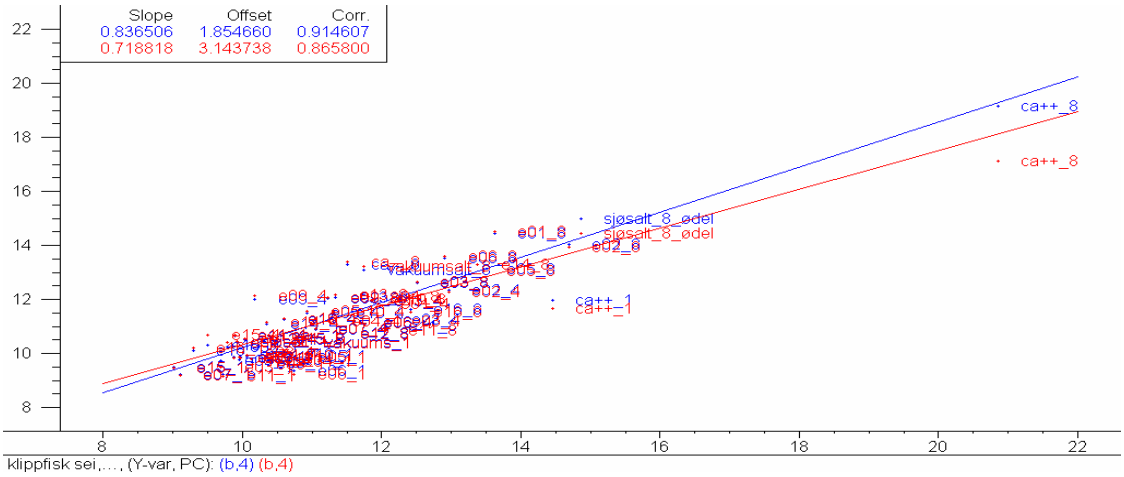



*Figur 41. Sammenhengen mellom surheten (muskel-pH) til klippfiskfiletene og innholdet av sekundære harskningsprodukter (TBARS-verdi).*

Når saltkonsentrasjonen øker i fiskekjøttet, synker vanligvis muskel-pH og stimulerer harskningen. Det skyldes sannsynligvis frigjøringen av katalyttiske forbindelser (jern, kopper, tungmetaller etc.) som er naturlige sporforbindelser i fiskekjøttet, men som kun aktiveres ved tilstrekkelig surt miljø (lav muskel-pH). Kalsium har tilsynelatende en sterkere pH-senkende effekt enn ordinært salt (NaCl) på seimuskel samt at pH-effekten er større på seimuskelen enn på torskmuskelen (Lauritzsen et al., 2004a).

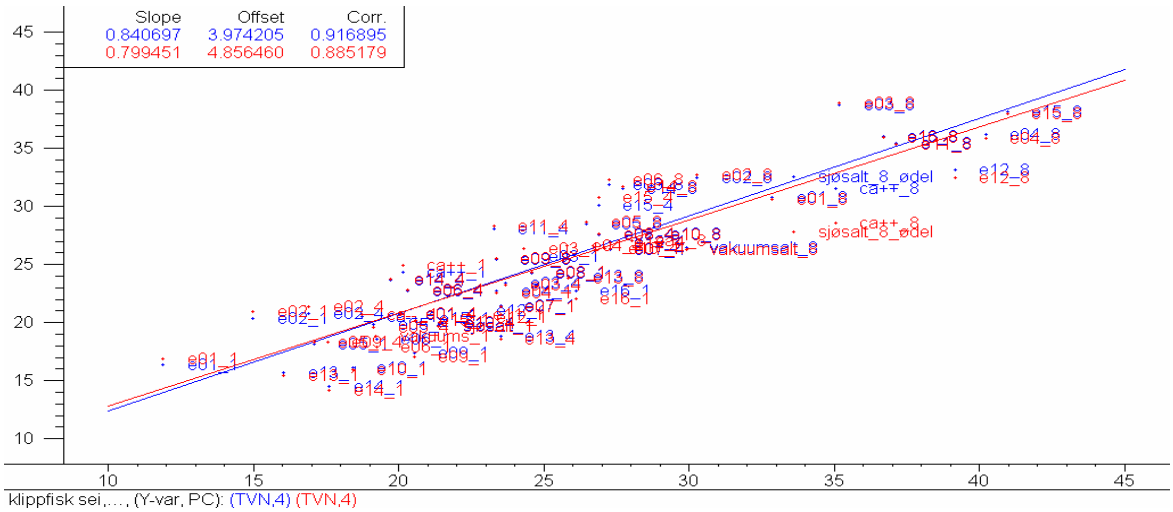
### 7.1.2 Partial least square regression av fluorescens spektra til prediksjon av farge, smak, lukt og fettoksidasjon av klippfisk fra sei

Det ble laget en prediksjonsmodell ved hjelp av partial least square regression hvor fluorescens-spektra var X-matrise og ulike målte kvalitetsvariable hos klippfisken var Y-matrise. Resultatet med hensyn på instrumentell gulhet er vist i figur 42.




*Figur 42. Prediksjonsmodell for instrumentell gulhet på klippfisken framstilt på grunnlag av fluorescens spektera og 4 principale komponenter.*

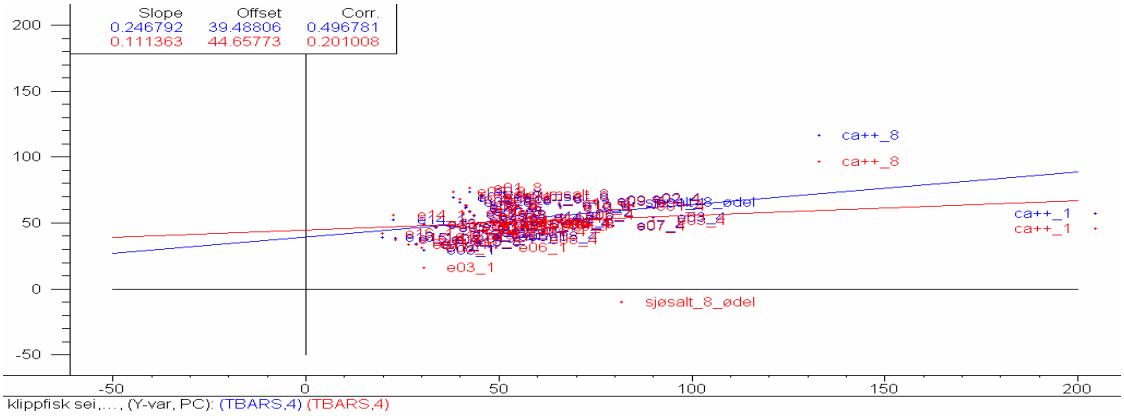
Figur 42 viser en relativt god korrelasjon mellom gulheten og fluorescens spekteret. Metoden ser derfor ut til å inkludere informasjon om gulfargen til klippfisk fra sei. Tilsvarende prediksjonsmodell ble framstilt for TVN innholdet i klippfisken. Resultatet er framstilt i figur 43.




*Figur 43. Prediksjonsmodell for totalt flyktig nitrogen i klippfisken framstilt på grunnlag av fluorescens spektera og 4 principale komponenter.*

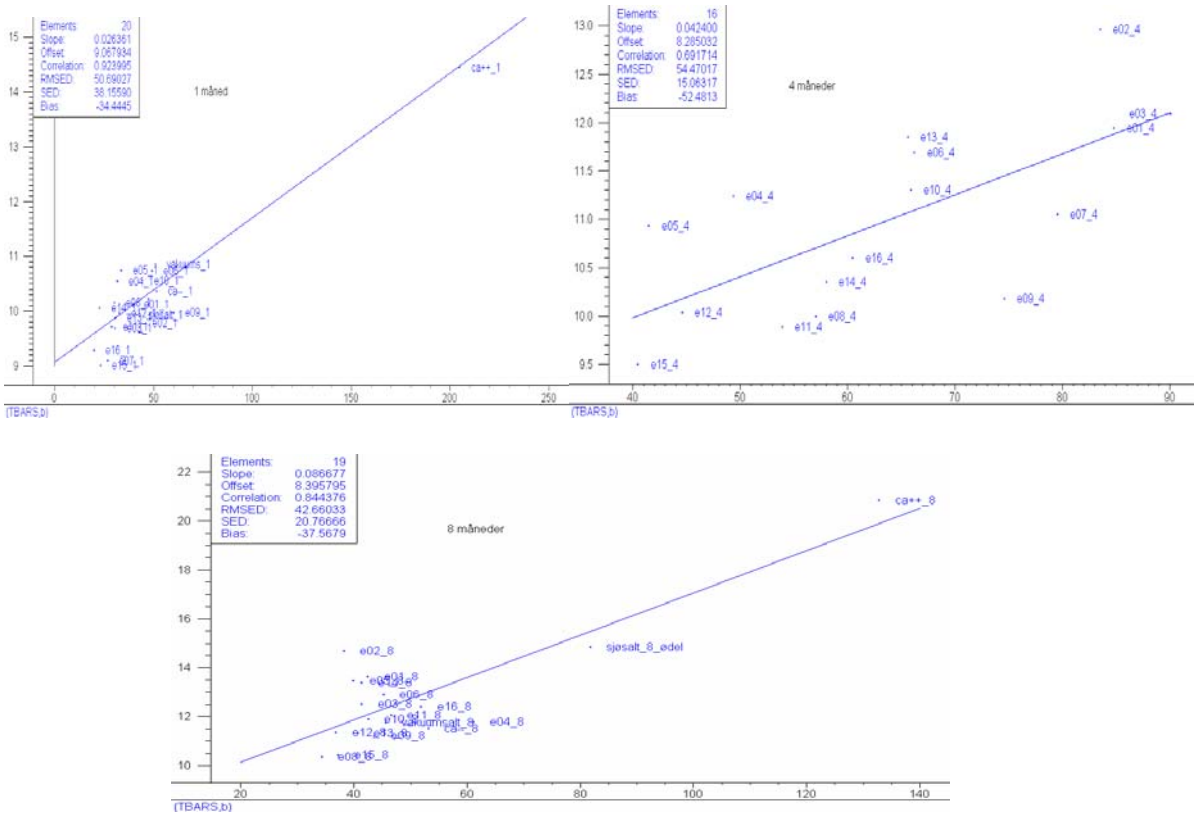
Figur 43 viser en svært god korrelasjon mellom fluorescensspektra og innholdet av flyktige nitrogenforbindelser i klippfisken ved kjølelagring. Fluorescensdeteksjon ser derfor ut til å egne seg til å forklare utviklingen av flyktig nitrogen i klippfisken under lagring.

Når det gjelder prediksjonen av sekundære harskningsprodukter, ble prediksjonen mindre vellykket. Årsaken kan skyldes at utviklingen av sekundære harskningsforbindelser ikke var lineær med hensyn på tiden. Resultatet er framstilt i figur 44.




*Figur 44. Prediksjonsmodell for innholdet av sekundære harskningsprodukter (TBARS) framstilt på grunnlag av fluorescens spektera og 4 principale komponenter.*

Korrelasjonen mellom sekundære harskningsprodukter (TBARS) og instrumentell gulhet på klippfisken etter 1 måneds kjølelagring var derimot klar og positiv, men avtok ved uttaket 4 måneders lagring og økte deretter igjen ved uttaket 8 måneders lagring, som vist i figurene 45 a, b og c for henholdsvis 1, 4 og 8 måneders lagring .




*Figur 45. Enkel regresjonsplot mellom TBARS-verdien og instrumentell gulhet på klippfisk fra sei gjennom 8 måneders kjølelagring. a = 1 måned, b= 4 måneder og c = 8 måneders lagring.*

En mulig forklaring på dette kan være at innholdet av sekundære harskningsprodukter må nå et bestemt nivå, før de kan reagere videre med flyktige nitrogenforbindelser til et gulfarget sluttprodukt. Slike sammenhenger har aldri vært diskutert tidligere på klippfisk, men det har vært rapportert at enzymaktiviteten knyttet til produksjon av flyktige nitrogenforbindelser i torskefisk er avhengig av substratkonsentrasjonen (Sikorski og Kostuch, 1982).

### 7.1.3 Multivariat analyse av resultater fra delaktivitet 3

Forsøkene ved delaktivitet 3 var satt opp som multivariate forsøk. Det ble derfor utført to-veis variansanalyse, ANOVA, av analysedata fra forsøksserien av typen $2^4$ full-faktor design. Effektene som ble påvist å være signifikante, er presentert i tabell 4.

*Tabell 4. Hoved- og samspillseffektene av designvariablene lys- og oksygentilførsel, temperatur og tørkegrad på responsvariablene vekutbyttet som saltfisk (SF) og som klippfisk (KF), instrumentell lyshet, rødhet og gulhet, vann, protein og askeinnholdet samt innholdet av flyktige nitrogenforbindelser (TVN) i klippfisk fra sei ved kjølelagring i 8 måneder.*

| **Responser** / **Design** | **Vekt** SF % | **Vekt** KF % | Lyshet (L*) | Rødhet (a*) | Gulhet (b*) | Vann (%) | Protein (%) | Aske (%) | TVN (mg N/100 g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lys (A) | IS | IS | IS | IS | IS | IS | IS | IS | IS |
| Oksygen (B) | IS | IS | IS | IS | IS | -- | IS | IS | IS |
| Temperatur (C) | --- | --- | +++ | IS | - | --- | +++ | +++ | ++ |
| Tørkegrad (D) | IS | IS | + | IS | IS | -- | + | IS | IS |
| A x B | IS | IS | + | - | IS | IS | IS | IS | IS |
| C x D | IS | IS | IS | IS | IS | IS | IS | IS | IS |
| A x C x D | IS | IS | + | IS | IS | IS | IS | + | IS |
| B x C x D | IS | IS | IS | - | IS | IS | IS | IS | IS |

*IS = ikke-signifikant effekt på nivå p< 0.05*

*-/+ = negative eller positiv korrelasjon på nivå p<0.05*

*--/++ = negative eller positiv korrelasjon på nivå p<0.01*

*---/+++ = negative eller positiv korrelasjon på nivå p<0.001*

Fra tabell 4 ser vi at salte-og modningstemperaturen var den viktigste forsøksvariabelen med hensyn på vektutbyttet som saltfisk og klippfisk og kvaliteten til klippfiskproduktet. Dernest følger tørkegraden som hadde betydning for lysheten, vann- og proteininnholdet i klippfisken.

Produksjon av klippfisk fra sei ved 20ºC resulterte i et lavt vektutbytte først og fremst på grunn av det lave vanninnholdet i klippfisken. Proteininnholdet ble derfor tilsvarende høyt i den samme klippfisken. Årsaken til at en høy produksjonstemperatur gir slike effekter på klippfisken, antar vi har sammenheng med et raskere saltopptak i fiskemuskelen og økt denaturering av muskelproteinet enn ved produksjon ved lav temperatur (4ºC). Lysheten (L*) til klippfisken produsert ved høy temperatur, ble svært høy og gulheten (b*) viste en svak økning. Vi tror dette også har sammenheng med den økte proteindenatureringen og endringen i gjennomskinneligheten til fiskekjøttet. Tørrere fisk gir hvitere fisk. Gjennomskinneligheten endret seg sannsynligvis tilsvarende som for rått til kokt fiskekjøtt. Innholdet av flyktige nitrogenforbindelser som er viktige for den karakteristiske klippfisksmaken og lukten, økte med økende produksjonstemperatur. Den enzymatiske aktiviteten i fiskekjøttet kan ha vært høy når fisken ble produsert ved høy temperatur og dette kan ha påvirket dannelsen av ulike

flyktige nitrogenforbindelser. De multivariate effektene som er dokumentert i delaktivitet 3, har ikke vært omtalt tidligere i åpne publikasjoner på klippfisk. Det er derfor nødvendig å repitere forsøkene i et større omfang for å kunne trekke sikre konklusjoner med hensyn på produksjon av klippfisk fra sei.

# 8 KONKLUSJONER

- Det er påvist en klar positiv korrelasjon mellom gulbrun misfarging og ikke-enzymatisk fettoksidasjon i nyprodusert klippfisk fra sei (1 måneds lagring)

- Klippfisken ble kraftig misfarget når den ble saltet med et økt kalsiuminnhold i sjøsaltet. Den raske og kraftige reduksjonen av pH som ble målt i fiskekjøttet forklarer sannsynligvis dette.

- Nest etter saltsammensetningen var produksjonstemperaturen den viktigste prosessbetingelsen. Høy produksjonstemperatur ga et lavt vektutbytte som saltfisk og klippfisk men samtidig høy hvithet på og et høyt protein og flyktig nitrogeninnhold i klippfisken

- I løpet av 8 måneders kjølelagring ved +4ºC økte gulheten, innholdet av flyktige nitrogenforbindelser og fluorescensen samtidig som muskel-pH sank i fiskekjøttet

# 9 REFERANSER


Cappeln, G. (2000). Syntehis and hydrolysis of ATP in frozen fish. Ph.D Thesis. Danish Institute for Fisheries Research, Department of seafood Research and Department of Biotechnology, Technical University of Denmark.

Crude protein in Meat, *AOAC* 981.10. 11: 937 (1990).

Dulavik, B., Sørensen, N.K., Barstad, H. ,Horvli, O. & Olsen, RL (1998). Oxidative stability of frozen light and dark muscles of saithe (*Pollachius virens* L.) J. Food Lipids, 5: 233-245.

Frankel, E.N. (1998). Lipid Oxidation. The Oily Press, Dundee, UK, 187-225.

Gunasekaran, S. (2001). Nondestructive Food Evaluation: Techniques to Analyze Properties and Quality, Marcel Decker, New York, USA.

Lauritzsen K., Martinsen G. and Olsen, RL, (1999) Copper induced lipid oxidation during salting of cod (*Gadus morhua* L.). J. Food Lipids 6**:** 299-315.

Lauritzsen, K., Akse, L., Gundersen, B. and Olsen, R.L. (2004a). Effects of calcium, magnesium and pH during salt curing of cod (*Gadus morhua* L.). J. Sci. Food Agric. 84: 683-692.

Lauritzsen, K., Akse, L., Johansen, A., Joensen, S., Sørensen, N.K. and Olsen, R.L. (2004b). Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by state of rigor and freezing prior to salting. Food Research International, 37: 677-688.

Lauritzsen, K. and Olsen, R.L. (2004c). Effects of antioxidants on copper induced lipid oxidation during salting of cod (*Gadus morhua* L.). J. Food Lipids, 11:105-122.

Moisture in Meat, AOAC 950.46. 11: 931 (1990).

Morrisey, P.A., Mulvihill, D.M., O'Neill, E.M. (1987) Functional properties of muscle proteins. In: Developments in Food proteins-5.Ed: Hudson B.J.F., Applied Sci. Publ., London, UK, 195-256.

Nawar, W.W. (1996). Lipids. In: Food Chemistry-3.Ed: Fennema O.R. Marcel and Dekker, Inc. New York, USA, 225-319.

Nitrogen (Ammoniacal) in Fertilizers. Magnesium Oxide Method. AOAC 920.03. 1:19 (1990).

Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T. Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R.and Purslow, P. (1989). The structural basis of water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. Fd Microstruc., 8: 151-170.

Sigernes, F., Lorentzen, D.A., Heia, K. and Svenøe, T.(2000) Multipurpose Spectral Imager, Applied Optics, 39(18): 3143-3153.

Sikorski, Z. and Kostuch, S. (1982). Trimethylamine N-oxide demethylase: Its occurance, properties, and role in technological changes in frozen fish. Food Chemistry, 9:213-222.

Simpson GR and Blay RA, (1966) Rapid method for the determination of the metals copper, zink, tin, iron and calcium in foodstuffs by atomic absorption spectroscopy. Food Trade Rev., August**:** 35-37.

Sodium Chloride in Seafood, AOAC 937.09. 11: 870 (1990).

Wetterskog, D. and Undeland, I. (2004). Loss of redness (a*) as a tool to follow hemoglobine-mediated lipid oxidation in washed cod mince. J. Agric. Food Chem., 52: 7214-7221.

Wold, J. P**.** (2000). Rapid quality assessment of meat and fish by using near-infrared spectroscopy, auto-fluorescence spectroscopy and image analysis, Ph.D Thesis, Agricultural University of Norway.

# VEDLEGG

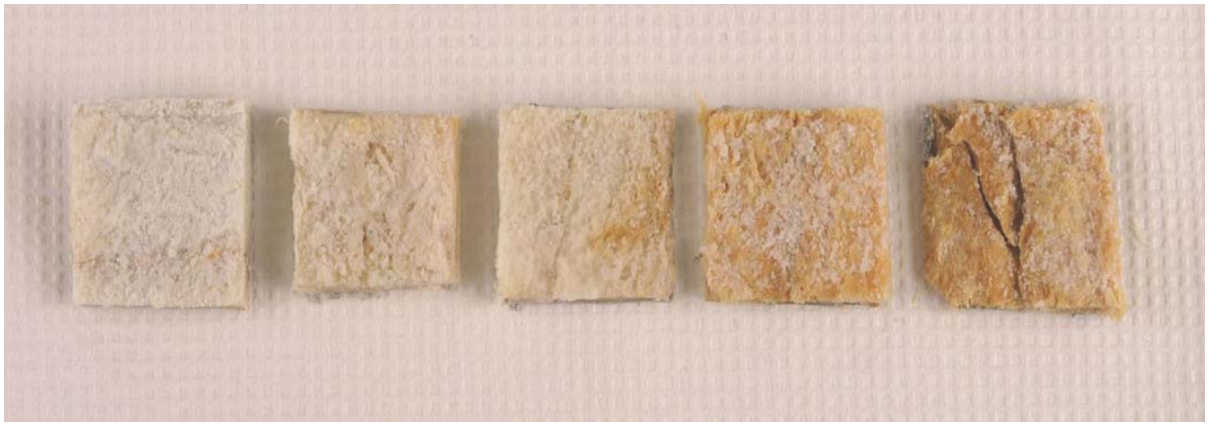


*Foto 1. Klippfisk fra sei, filetbiter med økende grad av misfarging og økende innhold av harskningsforbindelser.*

*Foto 2. Klippfisk filetbiter av sei med økende grad av misfarging fra venstre mot høyre.*

Fiskeriforskning

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

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

Internett: www.fiskeriforskning.no

ISBN 82-7251-554-7
ISSN 0806-6221