



University of  
Stavanger

DET TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE FAKULTET

## MASTEROPPGAVE

Studieprogram/spesialisering:

**Biologisk kjemi - master**

Høst og vårsemesteret, 2016/17

Åpen

Forfatter:

**Tanya Sivertsen Bjørvik**

.....

(Signatur forfatter)

Fagansvarlig: **Peter Ruoff**

Veiledere: **Trond Løvdal & Aase Vorre Skuland**

Tittel på masteroppgaven:

**Mikrobiell og sensorisk holdbarhet på fiskekaker og pesto tilsatt sukkertare (*Saccharina latissima*) og butare (*Alaria esculenta*)**

Engelsk tittel:

**Microbial and sensory durability on fish cakes and pesto added the kelps *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta***

Studiepoeng: 60

Emneord:

**Makroalger**  
**Sukkertare (*Saccharina latissima*)**  
**Butare (*Alaria esculenta*)**  
**Mikrobiologi**  
***Bacillus***  
**Sensorikk**  
**Metodeutvikling**  
**Fiskekaker**  
**Pesto**

Sidetall: 86

+ Vedlegg/annet: 7

Stavanger, 14.juni/2016

---

# MASTEROPPGAVE NOFIMA VÅREN 2017

---



 **Nofima**



Universitetet  
i Stavanger

## Forord

Denne master oppgaven er den avsluttende oppgaven ved utdannelsen innen biologisk kjemi ved institutt for matematikk og naturvitenskap ved Universitetet i Stavanger. Alt arbeid er rettet opp mot mikrobiologisk laboratorium ved Nofima AS i Måltidets hus i Stavanger, Rogaland.

Oppgaven reflekterer Nofima og deres initiativ og ansvar innen et forskningsprosjekt eid av Seaweed AS med utgangspunkt i brunalger og hvordan disse kan anvendes til mat. Under dette står dyrking av råvarer, prosessering av produkter og utvikling av forskningsbasert kunnskap som viktige punkter ved algeproduksjon. Seaweed AS ble etablert i 2014 på øysamfunnet Værlandet - Bulandet i Sogn og Fjordane og prosjektet har en varighet på 3 år hvor det blant annet legges stor vekt på oppstart og drift av ny virksomhet med hensyn til dyrking, mottak og foredling av marine makroalger i mat. Sammen med NIFES (Nasjonalt institutt for ernærings - og sjømatforskning) og SINTEF (stiftelsen for industriell og teknisk forskning ved NTNU) Fiskeri og Havbruk har Nofima hatt ansvar for prosesserings delen i dette arbeidet, for utviklingen av trygge og sunne produkter med brunalger i fokus.



## Takk til

Arbeidet ved Nofima har vært inspirerende og motiverende. Under forskningen har jeg vært heldig å deltatt på mye forskjellig hva angår tur til Værlandet-Bulandet, spennende foredrag, informative møter og omvisninger relatert til arbeid på laboratorium. Først vil jeg rette en ekstra stor takk til mine to engasjerte og oppmuntrende veiledere ved Nofima AS; forsker Trond Løvdal og forsker Aase Vorre Skuland. Takk til dere begge for alle besvarelser av spørsmål, tilrettelegging, veiledning på laboratoriet, ideer til oppgaven og for å ha gitt meg en god og inkluderende oppfølging.

En stor takk rettes også til alle de ansatte på Nofima i Stavanger for et godt arbeidsmiljø og trivelige individer (Gro, Sigurd, Morten, Jan Thomas, Leena, Karen, Laila, Bjørn Tore, Morten, Izumi).

Jeg vil også takke Seniorforsker Dagbjørn Skipnes for en spennende mulighet til å delta på turen til Værlandet-Bulandet, samt alle i prosjektet (Lill-Ann, Jorunn, Daniel, Audun, Wenche, Gunhill og Marthe). Turen var en flott start på oppgaven og det var en innholdsrik opplevelse med samarbeidende, morsomme og entusiastiske mennesker rundt en god atmosfære. En ekstra stor takk går til medstudent Marthe J. Blikra for tips og råd og hyggelig selskap både under tur og på kontor. Mye inspirasjon å hente fra alle sammen!

Til slutt vil jeg takke venner og familie for deres tid, støtte, motivering og oppmerksomhet rettet mot arbeidet med denne oppgaven.

Tanya Sivertsen Bjørvik  
*Stavanger, juni 2017*

## Sammendrag

I denne masteroppgaven ble det utført analyse av Sukkertare (*Saccharina latissima*) og butare (*Alaria esculenta*) med det formål å studere holdbarhet av matprodukt tilsatt tare. Tare er blitt benyttet i mange sammenhenger både gjennom historien og opp til i dag. Den kan brukes innen matindustri, gjødsel, fôr, medisin og kosmetikk. Siden sitt utspring i Asia står taren og dens mange bruksområder svært sentralt i Europa da tradisjonelle metoder tas i bruk parallelt med nye innovative måter å utnytte denne allsidige ressursen på.

Det er blitt analysert hvilke vekstmedium som er best egnet til undersøkelse av mikroflora på produkter med tilsatt tare og det er gjort forsøk på ulike varmebehandlinger av rå tare for å identifisere forskjeller med utgangspunkt i mikrobiologisk kvalitet på taren, samt effekten av ulike temperaturbehandlinger (varmebehandling). Det ble også utført lagringsforsøk med fiskekake og pesto tilsatt tare. De to tarevariantene ble dyrket og høstet på Værlandet - Bulandet våren 2015 og 2016. Den mikrobiologiske undersøkelsen ble utført med utgangspunkt i totalt aerobt kimtall, aerobe kuldetolerante bakterier og sporedannende bakterier funnet på taren ved validering av funn i henhold til NMKL (Norsk Metodikk komité for Næringsmidler) metode Nr. 184 og 189.

Sensoriske analyser ble utført på pesto og fiskekaker med tilsatt tare. Produktene ble dømt med fokus på egenskaper som utseende, smak, lukt, farge og tekstur. Undersøkelsen ble også viktig for kartleggingen av hva som kunne forventes av sensorisk analyse av tare kombinert med et annet produkt.

Fra resultatene ble holdbarhet på fiskekaker med tare 3 uker med metode benyttet i denne oppgaven. Pesto med tare lagret på 4 °C fikk en holdbarhet på 6 uker. Metoden benyttet fungerte ikke for varmfylt pesto med tare lagret på 20 °C.

# Innhold

|  |           |
|--|-----------|
| FORORD.....  | I         |
| TAKK TIL.....  | II        |
| SAMMENDRAG.....  | III       |
| INNHold.....   | IV        |
| FIGUR LISTE.....   | VI        |
| TABELL LISTE.....  | VII       |
| <b>1. INTRODUKSJON.....</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1 MÅL.....   | 2         |
| 1.2 OPPBYGNING AV OPPGAVEN.....                                    | 3         |
| <b>2. TEORI.....</b>   | <b>4</b>  |
| 2.1 MAKROALGER.....  | 4         |
| 2.2 KLASSIFISERING.....  | 5         |
| 2.3 HISTORIE: INDUSTRI OG ANVENDELSE.....                          | 7         |
| 2.4 TARE I VERDEN OG NORGE.....                                    | 8         |
| 2.5 TARE OG NÆRINGSSASPEKT.....                                    | 9         |
| 2.5.1 Tare og kost.....  | 9         |
| 2.5.2 Næringsstoffer og helsegevinster.....                        | 10        |
| 2.5.3 Toksiner og tungmetaller.....                                | 11        |
| 2.5.4 Smaksegenskaper.....   | 11        |
| 2.5.5 Farge og pigmenter i brunalger.....                          | 12        |
| 2.6 TARE OG MIKROBIOLOGISKE FORHOLD.....                           | 13        |
| 2.6.1 Bakteriologi.....  | 13        |
| 2.6.2 Bakterier og miljø.....                                      | 13        |
| 2.6.3 Patogene bakterier.....                                      | 14        |
| 2.6.4 Sporedannende bakterier.....                                 | 15        |
| 2.7 MIKROBIOLOGI OG MATTRYGGHET.....                               | 17        |
| 2.7.1 Hva er mattrygghet?.....                                     | 17        |
| 2.7.2 Behandling av makroalger og mattrygghet.....                 | 18        |
| 2.8 SJØMAT.....  | 18        |
| <b>3. MATERIAL OG METODER.....</b>                                 | <b>20</b> |
| 3.1 PRØVER, BEHANDLING OG OPPBEVARING FØR ANALYSE.....             | 20        |
| 3.2 UNDERSØKELSE AV ANTALL ORGANISMER PÅ SUKKERTARE OG BUTARE..... | 22        |
| 3.2.1 Metodeutvikling for seleksjon av vekstmedium.....            | 22        |
| 3.2.2 Prøve opparbeiding.....                                      | 22        |
| 3.2.3 Inkubering og telling av kolonidannende enheter.....         | 23        |
| 3.2.4 Mikroskopering av bakterier.....                             | 23        |
| 3.2.5 Behandling av data.....                                      | 23        |
| 3.3 MIKROBIOLOGISK HOLDBARHET PÅ RÅ OG VARMEBEHANDLET TARE.....    | 24        |
| 3.3.1 Prøveopparbeiding.....                                       | 24        |
| 3.3.2 Kimtall.....   | 25        |
| 3.3.3 Kuldetolerante bakterier.....                                | 25        |
| 3.3.4 Sporedannere.....  | 25        |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 3.4       | UNDERSØKELSE AV ANTALL BAKTERIER PÅ FISKEKAKE MED SUKKERTARE OG BUTARE .....      | 26        |
| 3.4.1     | <i>Prøvemateriale og produksjon</i> .....   | 26        |
| 3.4.2     | <i>Mikrobiell analyse på fiskekake</i> .....                                      | 27        |
| 3.4.3     | <i>Lagringsperiode og uttak mikrobiologi</i> .....                                | 28        |
| 3.4.4     | <i>Kvantifisering av bakterier og inkubering av skåler</i> .....                  | 28        |
| 3.4.5     | <i>Sensorikk fiskekake</i> .....  | 28        |
| 3.5       | KVANTIFISERING AV BAKTERIER OG HOLDBARHET PÅ PESTO MED SUKKERTARE OG BUTARE ..... | 30        |
| 3.5.1     | <i>Prøveproduksjon og lagring</i> .....   | 30        |
| 3.5.2     | <i>Oppskrift på pesto</i> .....   | 30        |
| 3.5.3     | <i>Mikrobiell analyse av pesto</i> .....  | 31        |
| 3.5.4     | <i>Prøveopparbeiding mikrobiologi</i> .....                                       | 32        |
| 3.5.5     | <i>Kimtall og sporedannere</i> .....  | 32        |
| 3.5.6     | <i>Sensorisk analyse på pesto</i> .....   | 32        |
| <b>4.</b> | <b>RESULTATER</b> .....   | <b>33</b> |
| 4.1.      | SELEKSJON AV VEKSTMEDIUM .....  | 33        |
| 4.2       | MIKROBIOLOGI AV TARE PÅ VEKSTMEDIUM ETTER VARMEBEHANDLING .....                   | 35        |
| 4.2.1     | <i>Logging av kjernetemperatur</i> .....  | 35        |
| 4.2.2     | <i>Mikrobiologi på varmebehandlet tare</i> .....                                  | 36        |
| 4.2.3     | <i>Mikroskopering</i> .....   | 39        |
| 4.3       | HOLDBARHET PÅ FISKEKAKE MED OG UTEN TARE .....                                    | 40        |
| 4.3.1     | <i>Pilotforsøk med fiskekaker</i> .....   | 40        |
| 4.3.2     | <i>Lagringsforsøk med fiskekaker</i> .....  | 40        |
| 4.3.3     | <i>Mikroskopering</i> .....   | 43        |
| 4.3.4     | <i>Sensorisk analyse på fiskekaker i lagringsforsøk</i> .....                     | 44        |
| 4.4       | HOLDBARHET PÅ PESTO MED TARE .....  | 50        |
| 4.4.1     | <i>Langtidslagring pesto</i> .....  | 50        |
| 4.4.2     | <i>Åpningsforsøk med pesto</i> .....  | 52        |
| 4.4.3     | <i>Mikroskopering</i> .....   | 55        |
| 4.4.4     | <i>Sensorisk analyse på pesto i lagringsforsøk</i> .....                          | 59        |
| <b>5.</b> | <b>DISKUSJON</b> .....  | <b>63</b> |
| 5.1       | TARE PÅ NÆRINGSMEDIUM .....   | 63        |
| 5.2       | HOLDBARHET PÅ FISKEKAKE MED TARE .....  | 65        |
| 5.3       | HOLDBARHET PÅ PESTO MED TARE .....  | 71        |
| 5.4       | EFFEKT AV VARMEBEHANDLING PÅ TARE .....   | 75        |
| <b>6.</b> | <b>KONKLUSJON</b> .....   | <b>79</b> |
|           | <b>REFERANSER</b> .....   | <b>81</b> |
|           | <b>VEDLEGG</b> .....  | <b>1</b>  |

## Figur liste

|  |    |
|--|----|
| Figur 1. Tare fra dyrkningsanlegg på Værlandet – Bulandet .....                                | 1  |
| Figur 2. Værlandet-Bulandet.....   | 2  |
| Figur 3. Seaweed AS dyrkningsanlegg på Værlandet - Bulandet.....                               | 3  |
| Figur 4. Brunalgers struktur .....   | 5  |
| Figur 5. Flytdiagram prosess for tare fra Seaweed AS.....                                      | 20 |
| Figur 6. Eval Flex logger oppsett og varmebehandling .....                                     | 24 |
| Figur 7. Eddyjet spiral plater .....   | 25 |
| Figur 8. Varmebehandlings forsøk på tare.....  | 25 |
| Figur 9. Produksjon av fiskekaker.....   | 27 |
| Figur 10. Fiskekake lagringsforsøk prøveuttak oppsett.....                                     | 27 |
| Figur 11. Tillaging av tarepesto med sukkertare og butare.....                                 | 31 |
| Figur 12. Pesto lagring forsøks prosess. ....  | 32 |
| Figur 13. Analyse for seleksjon av vekstmedium .....   | 33 |
| Figur 14. Sammenligning av 5 næringsmedium for bakterievekst med rå butare og sukkertare. .... | 34 |
| Figur 15. Temperaturlogging for varmebehandlet sukkertare og butare .....                      | 35 |
| Figur 16. Grafisk fremstilling av mikrobiologisk vekst i rå og varmebehandlet tare.....        | 37 |
| Figur 17. Grafisk fremstilling av mikrobiologisk vekst i rå og varmebehandlet tare.....        | 38 |
| Figur 18. Mikrobiologisk analyse av varmebehandlet tare .....                                  | 39 |
| Figur 19. Lagringsforsøk med fiskekake .....   | 42 |
| Figur 20. Lagringsforsøk med fiskekake .....   | 43 |
| Figur 21. Sensorisk analyse fiskekaker: lukt. ....   | 45 |
| Figur 22. Sensorisk analyse av fiskekaker: utseende.....                                       | 46 |
| Figur 23. Sensorisk analyse fiskekaker: smak.....  | 48 |
| Figur 24. Sensorisk analyse fiskekaker: konsistens .....                                       | 49 |
| Figur 25. Lagringsforsøk for pesto med tare .....  | 51 |
| Figur 26. Åpningsforsøk pesto med tare.....  | 52 |
| Figur 27. Åpningsforsøk pesto med tare.....  | 54 |
| Figur 28. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto .....                            | 55 |
| Figur 29. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto .....                            | 56 |
| Figur 30. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto .....                            | 57 |
| Figur 31. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto .....                            | 58 |
| Figur 32. Sensorisk analyse pesto: Utseende og lukt.....                                       | 60 |
| Figur 33. Sensorisk analyse pesto: smak.....   | 61 |
| Figur 34. Sensorisk analyse pesto: konsistens.....   | 62 |



## Tabell liste

|   |    |
|---|----|
| Tabell 1. Resept standard fiskekake (uten tare).....        | 26 |
| Tabell 2. Resept fiskekake med tare .....                   | 26 |
| Tabell 3. Oversikt innhold i produsert pesto med tare. .... | 30 |

## 1. Introduksjon

Brunalger (tang og tare) er sammen med et bredt spekter av andre makroalger i dag svært ettertraktet som matkilde. Egenskaper som farge, tekstur, smak og utseende fanger folks interesse og det er blitt stadig mer vanlig å finne tang og tare som ingrediens og råvare. Produksjon, etterspørsel og forbruk av tare er i ferd med å nå nye høyder. Omtrent 13 millioner tonn våt vekt av tare dyrkes og høstes hvert år i ca. 40 ulike land i verden. Omtrent 95 % av den totale mengden kommer fra: Kina, Nord og Sør Korea, Japan, Filippinene, Chile, Norge, Indonesia, USA og India (Mouritsen et al., 2013). Ca. 80 % av produsert tare kommer fra Kina, med Europa og Nord og Sør Amerika som hoved importører. Det estimeres også at 80 % av dyrket tare går til humant konsum, mens resten prosesseres industrielt eller benyttes innen bioteknologi sektoren (Mouritsen et al., 2013). I Norge er tare dyrking blitt en populær industri og det jobbes aktivt med forskning, innovasjon og teknologiutvikling for kommersiell dyrking. Landets kystlinje gir både godt med areal for storskala dyrking, samt at det kalde og næringsrike vannet bidrar til å holde taren frisk og av høy nærings verdi (Fig. 1.). Mengde tare dyrket per år i Norge ligger mellom 100 - 150 tonn (Lil-Ann Gundersen, personlig kommentar).

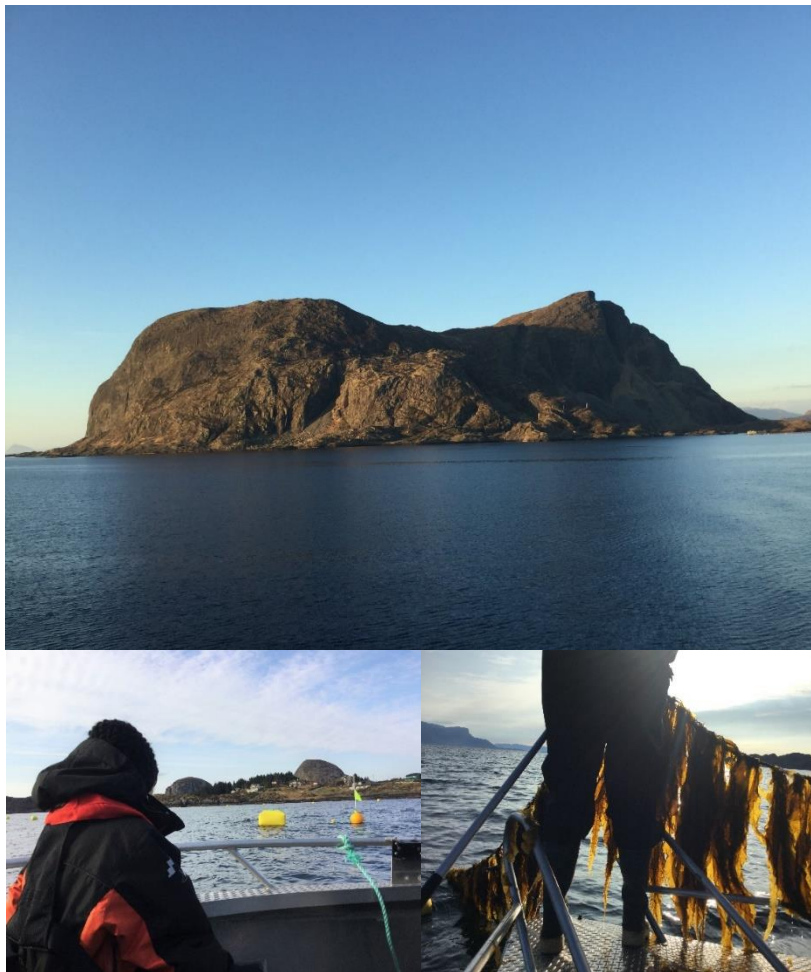


**Figur 1. Tare fra dyrkningsanlegg på Værlandet – Bulandet**

Bilder fra visitt på Seaweed AS sitt tare dyrkningsanlegg på Værlandet-Bulandet, som viser butare dyrket på tau.

## 1.1 Mål

Målet med denne oppgaven er å undersøke mikrobiologisk og sensorisk kvalitet, holdbarhet og mattrygghet på produkter tilsatt tare. Mikrobiota ble undersøkt med utgangspunkt i totalt antall aerobe bakterier, kuldetolerante bakterier og antall aerobe og anaerobe sporedannere på ulike vekstmedier. Analysene ble gjort på varmebehandlet tare, samt tare tilsatt i to ulike produkt; fiskekaker og pesto. De ulike metodene benyttet for mikrobiologisk og sensoriske analyser ble utarbeidet og kartlagt før oppstart av hver undersøkelse. Figur 2 illustrerer omgivelsene for taredyrking ved Værlandet - Bulandet.



**Figur 2. Værlandet-Bulandet**

Foto fra et besøk på Værlandet-Bulandet. *Øverst*: Øyen Alden på Værlandet-Bulandet; *Nederst til venstre*: En del av dyrkningsanlegget til Seaweed AS på Værlandet-Bulandet; *Nederst til høyre*: Butare dyrket på tau. Bilder tatt av: Tanya S. Bjørvik

## 1.2 Oppbygning av oppgaven

Hovedfokuset i denne oppgaven er mikrobiologi og sensorikk relatert til holdbarhet i produkter med tare fra Seaweed AS på Værlandet (Figur 3). Det ble utført følgende undersøkelser:

- 1) Et varmebehandlingsforsøk ble utført med to tarevarianter for både rå, fersk, tint tare, samt prøver varmebehandlet med mål å kvantifisere bakterietall som totalt aerobt kimtall, kuldetolerante bakterier og aerobe og anaerobe sporedannere. Dette for å se hvilken effekt varmebehandling har på taren og mikrobiota som finnes på den.
- 2) Et lagringsforsøk med produktene fiskekake og pesto med tilsatt tare ble utført med samme type tare over tid med den hensikt å kvantifisere totalt aerobt kim, Kuldetolerante bakterier, aerobe og anaerobe sporedannere for å si noe om produktets kvalitet og holdbarhet over tid.
- 3) Den sensoriske analysen ble utført parallelt med de mikrobiologiske analysene for å se om de sensoriske egenskapene reflekterte mikrobiologien over tid for hvert lagringsforsøk og om fiskekakene generelt kunne regnes som spiselige med god eller dårlig kvalitet.

Først vil det innledes en teoretisk gjennomgang av makroalgene og deres næringsaspekt med litt innsikt i dagens bruk av tang og tare med noen tilbakeblikk fra historie.

I oppgaven vil det for de ulike analysene bli oppført en gjennomgang av forberedelser, metoder og resultater. Metodene for hvert forsøk ble utarbeidet basert på tilgjengelig litteratur og kunnskap fra tidligere forsøk med utgangspunkt i tares egenskaper.

Videre vil det følge en oppsummering med vurderinger og diskusjon av de relevante aspektene fra forsøkene.



Figur 3. Seaweed AS dyrkningsanlegg på Værlandet - Bulandet

## 2. Teori

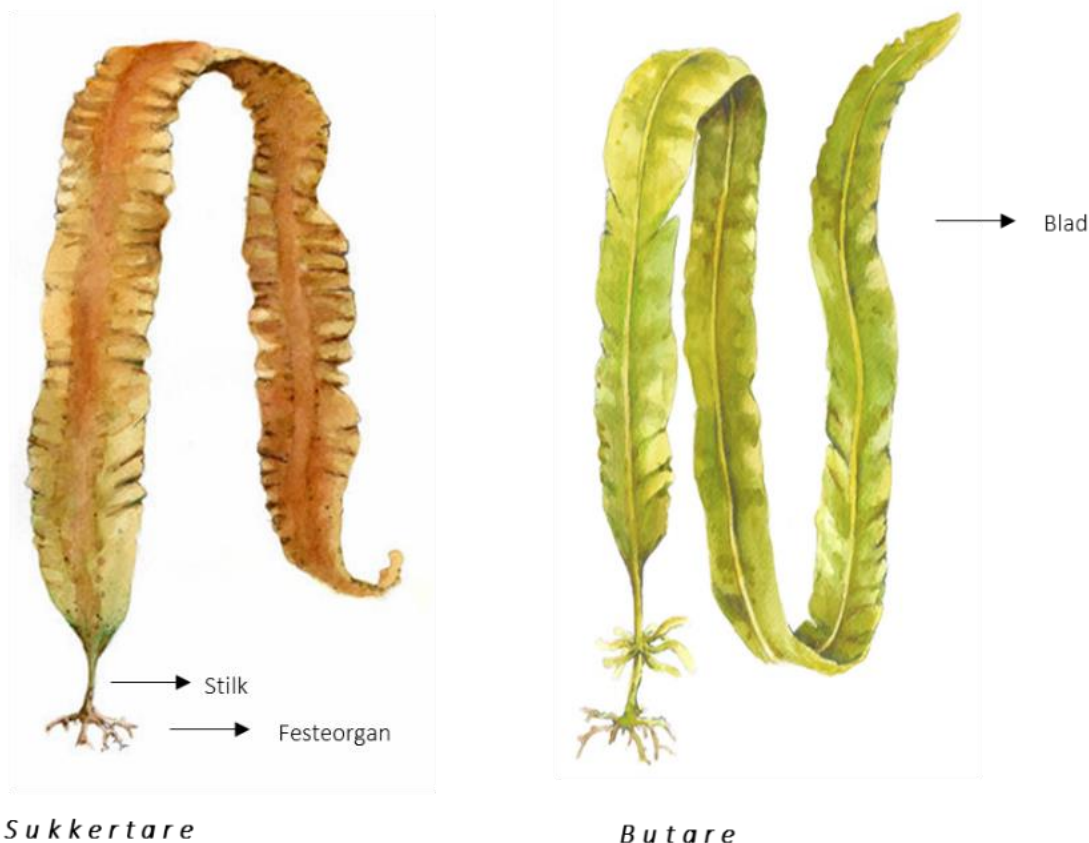
### 2.1 Makroalger

Alger er den største plantegruppen som finnes i havet og deles inn i planktonalger og makroalger. Planktonalger defineres ofte som mikroalger hvor de er strukturmessig små (encellede) og udifferensierte. Den andre gruppen er makroalger som er flercellede og differensierte makroskopiske alger fra protistriket som deles opp med utgangspunkt i deres pigmentsammensetning. De tre store systematiske algegruppene er *Phaeophyceae* (brunalger), *Rhodophyceae* (rødalger) og *Chlorophyceae* (grønnalger). Disse er mer eller mindre knyttet til bunnen og kalles bentos alger (Rueness, 1998). De ligner landbaserte planter, men reproduksjonen til makroalgene skiller dem fra disse ved at de har ulike evolusjonære og genetiske trekk (Hu et al., 2016). Algene kan variere mellom seksuell reproduksjon med utgangspunkt i gameter (egg og sædceller) eller reproduksjon ved fragmentering hvor bladene kan falle av taren i små biter og føre til utvikling av fullstendig uavhengige organismer (Mouritsen et al., 2013).

Algene kan vokse i ferskvann, saltvann, is og snø hvorav noen lever uavhengig. Noen lever i symbiose med andre organismer som for eksempel i lav eller koraller. I Norge har vi opp mot 480 arter av marine makroalger hvorav disse er 205 rødalger, 175 brunalger og 100 grønnalger (Dalen, 2009). Hovedvekten av grønnalger holder til i ferskvann. Noen alger har fotosyntese, mens andre mangler denne evnen og eksisterer i stedet som fargeløse parasitter. Fotosyntese er den kjemiske prosessen hvor lysenergi blir omdannet til kjemisk energi ved at energi fra sollys benyttes til å omdanne karbondioksid ( $\text{CO}_2$ ) og vann ( $\text{H}_2\text{O}$ ) til glukose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) og oksygen  $\text{O}_2$  (Larkum et al., 2012). Hele prosessen er avhengig av plantenes pigmenter ettersom det er her lysenergien blir fanget opp. For at makroalger skal vokse må en del betingelser være oppfylt. Siden de driver fotosyntese krever de lys, nitrogen, fosfor og mikronæringsstoff som mineraler og vitaminer. De trenger også  $\text{CO}_2$ , men i sjøvann tar makroalgene opp  $\text{CO}_2$  i oppløst form som  $\text{HOCO}_3^-$  (Dalen, 2009). Makroalgene befinner seg i et miljø med god tilgang til de fleste næringsstoffene og har en enkel struktur og blir dermed betraktet som mer effektive enn landbaserte planter ved konvertering av solenergi til biomasse (Mouritsen et al., 2013). Forskjellige marine arter og økosystemer er avhengige av algesamfunnene som bidrar med å påvirke kystområder. Algene gir næring og habitat for andre organismer i kystøkosystemene. De er av stor miljømessig betydning, også for befolkningen langs kysten som benytter seg av tang/tare som en god ressurs som en fornybar og bærekraftig matkilde, inntektskilde og til høsting (Mouritsen et al., 2013). Noe av tarehøstingen kan for eksempel foregå ved tråling. Men da oppstår samtidig en miljørisiko i og med at viktige nøkkelorganismer (eks. kråkeboller) og andre organismsamfunn kan påvirkes, noe som kan gi store konsekvenser for det akvatiske økosystem. Storm/klima og harde forhold kan ta med seg med gammel avslitt tare (dødt/råtnet plantemateriale), noe som gir rom for nye vekster i det akvatiske miljø til fordel for omgivelser og marine organismer (Christie et al., 1998).

## 2.2 Klassifisering

I denne oppgaven vil det være fokus på brunalger (*Phaeophyceae*), hvorav de fleste store tang og tareartene inngår og regnes for å være kvantitativt dominerende med hensyn til biomasse i kjølige norske farvann. Artene i denne oppgaven er *Alaria esculenta* (butare) og *Saccharina latissima* (sukkertare). De er begge vanlige brunalger i norsk flora. Tallus representerer algelegemet og dette kan være buskeformet, bladaktig, eller trådformet. Tallus differensieres til festeorganet i bunn som er kraftige hefterøtter kalt haptener (Dalen, 2009). Butare gjenkjennes ved at den har en stilk som fortsetter som en midtribbe gjennom hele bladet som er bølget og smalt (Rueness, 1998) (Fig. 4). Begge artene ser visuelt like ut, men skiller ved at sukkertare ikke har stilk, men et blad (lamina) som er kruset i den øverste delen av plantelegemet hvorav midtpartiet oftest er buket og litt mørkere. Festerøttene og stilk utgjør de flerårige delene av planten mens bladet er det som dannes på ny om vinteren og våren hvert år og helst når vannet er iskaldt og klart. Det nye bladet vil være lokalisert mellom stilken og det eldre bladet. Ved utvikling av nytt blad vil det gamle bladet fragmentere og forsvinne i takt med det nye bladet som vokser ut (Rueness, 1998).



Figur 4. Brunalgers struktur

Illustrerer festeorgan, stilk og blad som på *S. latissima* (sukkertare, til venstre) *A. esculenta* (butare, til høyre). Original bildet er hentet fra Miljølare.no (miljolare.no) med tillatelse fra Stein Mortensen ved Havforskningsinstituttet i Bergen som illustrasjons ansvarlig.

Sukkertare er en av de vanligste brunalgene og finnes langs norskekysten, Arktis og nordlige deler av Atlanterhavet og Stillehavet (Rueness, 1998). Den kan vokse på fjell, stein og skjell på eksponerte og beskyttede steder med og uten løs bunn. På eksponert kyst er den å finne spredt blant Stortare (*Laminaria hyperborea*) og er til å finne dypere i områder hvor stortaren ikke er like dominerende (Husa et al., 2007). Sukkertare har en heteromorf livssyklus, noe som betyr at den veksler mellom et makroskopisk sporofytt stadium (tareplanten, diploid) og et mikroskopisk gametofytt (haploid) stadium. Under høsten og vinteren dannes det sporer på tarebladet og zoosporer av disse (selvbevegelige) slippes ut. Disse spirer så til mikroskopiske hannlige og hunnlige gametofytter hvor det så forekommer kjønnnet befruktning (Rueness, 1998). Resultatet blir nye sporofytter (tareplanter) som blir fertile ett år etterpå. Selve bladet kan bli opp imot 1 - 3 meter langt og 50 centimeter bredt.

Butare er den nest vanligste brunalgen vi har i de norske kyst, fjord og osean områder med et unntak fra Skagerrak i og med at temperaturen der som oftest blir for høy om sommeren til at den klarer seg. På Vestlandet kan den vokse på både eksponerte og beskyttede områder (Mortensen, 2017). Den trives best ved lavvanns nivå over stortaren, noe som gjør at den kan danne tettere bestander. Ved dypere dyp kan den vokse i områder hvor stortaren vokser spredt. Via en heteromorf livssyklus felles sporebladene om høsten og vinteren hvert år. Tidlig på nyåret vil det vokse ut nytt blad (lamina) som innen sommeren kan bli noen meter lange og 20 cm i bredde (Rueness, 1998).

Vekstrate og utvikling hos tare generelt kan påvirkes av biologiske faktorer som patogener, beiting, konkurranse mellom arter, forurensning, temperaturendringer, tilgang på næring, organismens oppbygning slik at tilstedeværelsen av disse artene kan endres ved ulike perioder og omstendigheter i livssyklusen.

## 2.3 Historie: Industri og anvendelse

Makroalger har vært en viktig marin ressurs og dannet livsgrunnlaget til befolkningen i Europa siden vikingtiden. Høsting av tang og tare i Norge, Skottland, England, Irland og Island var svært viktig for kystbefolkningen som mat og gjennom landbruk og husdyrhold over flere århundrer (Mouritsen et al., 2013).

Fremtredende industrier i Europa gjennom historien har vært tarebrenning og alginatutvikling hvor tarebrenningen rundt 1700 - 1800 tallet i første omgang ledet til produksjon av soda for glassproduksjon og til fremstilling av såpe. I etterkant ble det produsert jod fra asken fra samme prosess. Taren ble brent i lange gruver bygget opp av stein og det var på den tid mulig å oppnå god inntekt ettersom mange individer var involvert i produksjonen.

Av tare ekstraheres alginat som er selve polysakkaridet som styrker brunalgenes struktur og utgjør 20 - 40 % av tørrvekten til tare. Alginat bidrar med fleksibilitet og styrke (støttesubstans) for at taren skal tåle både bølger og sterke strømninger (Rueness, 1998). I Norge har rent alginat vært produsert siden krigsårene (1944) og produksjonen eies i dag av amerikanske FMC Biopolymer. Siden produksjonsstart i 1944 (Johanessen, 2013) av alginat i Norge, har det pågått aktiv forskning relatert til den kjemiske strukturen og de fysiske egenskapene til alginat utført ved Norsk Institutt for Tang og Tare (NITT) siden 1949 (FMC-Biopolymer, 2013). Rundt 1970 var det vanlig å høste to typer makroalgearter som ble utnyttet i industriell storskala i Norge og som utgjorde råstoffet i alginat og tangmel; nemlig stortare og grisetare. Dette ble praktisert ved bruk av taretrål og tanghøstemaskin og manuell håndskjæring av tang og tare (Steen, 2005).

I dag benyttes alginat som et hjelpemiddel i industrien da den kan bidra med å gjøre oppløsninger viskøse og tykke, tilsettes i tekstiltrykkfarge, maling og papirproduksjon. Det er også mulig å finne alginat i produkter som iskrem, dressinger, gele og tannpasta. I moderne medisin kan alginat benyttes til innkapsling av levende celler, som for eksempel innkapsling av insulinproduserende celler hos mennesker med sukkersyke (Rueness, 1998).



## 2.4 Tare i verden og Norge

Globalt sett er etterspørselen etter makroalger stor og rettet opp imot produksjon innen mat, geleringsmidler, dyrefor, gjødsel til hagebruk, hudpleieprodukter, forskning etc. Det dyrkes omtrent 13 millioner tonn våt vekt av tang og tare hvert år i 40 ulike land på verdensbasis (Mouritsen et al., 2013). Største delen skjer i Asia. Kultiveringsbehovet for tang og tare øker og mange land er allerede i gang med dyrking, høsting og prosessering. Kina står i dag som den største produsenten av makroalger til humant konsum, hvor de har et stort fokus på innovasjon og forskning. Deres mest dyrkede makroalge er brunalgen *Saccharina japonica* (Kombu). Rødalgen Nori (*Phorphyra yezoensis*) wakame (*Undaria pinnatifida*) er tare og tang svært kjent og relatert til bruk innen sushi (Rueness et al., 2008). Med mye kunnskap om algenes biologi samt dyrkningspotensialer, blir denne taren dyrket på lange tau plassert i sjøen. Denne dyrkningsteknologien av marine planter ble til i Kina rundt 1950- tallet og stadig flere land benytter seg av den i dag. Dersom asiatisk tare dyrkes i europeiske områder må en ta hensyn til spredning, noe som enten kan ha en positiv eller negativ effekt på ulike kystøkosystem.

Ca. 80 % av taren som dyrkes i verden kommer fra Kina (Mouritsen et al., 2013). Dette danner grunnlaget for forskningssamarbeid, utvikling og forbedring av nye metoder, økt arbeidskraft og bærekraftig produksjon av tang og tare på tvers av landegrenser. Et eksempel er PROMAC (Energy efficient processing of macroalgae in blue-green value chains) prosjektet som tar for seg prosessering av dyrket tare til mat og fôr. Prosjektet eies av Møreforskning med Dr. Cèline Rebours som leder og finansieres av Norges forskningsråd gjennom programmet BIONÆR (Bærekraftig innovasjon i mat og bio-baserte næringer). Prosjektet går over 3 år (2015 - 2018) med mål å undersøke tang som nytt råmateriale for mat og husdyrfôr med vekt på sammensetting av råvarematerial, kvalitet på høstet og dyrket tang/tare biomasse, miljø og biologiske faktorer, utvikling av prosesser til forbedring av ønskede egenskaper i råvare, metoder for ekstrahering av viktige næringsstoffer, samt nærings og helse perspektiv opp mot humant/husdyr konsumering av råvare (Promac.no, 2017a). Miljøstiftelsen Bellona har for eksempel sin storsatsning med prosjektet «Ocean Forest Project» i samarbeid med Lerøy Seafood Group, SINTEF, NTNU og havforskningsinstituttet i Hardangerfjorden. Deres visjon er å mangedoble matproduksjon fra havet på en bærekraftig måte ved å høste på lavere nivå i næringskjeden. Dette med en strategi om å gjenvinne ressurser, eliminere miljøskader fra norsk oppdrettsnæring, fange opp store mengder CO<sub>2</sub>, samt kartlegging av positive og negative miljøeffekter av integrert havbruk på lokalitetsnivå (Lerøy, 2017).

Det er stor konkurranse på taremarkedet mellom aktørene som står for produksjon og dyrking av tare. Med både store og små forskningsmiljøer innen produktutvikling av tare, har Norge et godt utgangspunkt med en lang kystlinje og gode samarbeidspartnere. Promac har følgende samarbeidspartnere for å nevne noen eksempler: SINTEF (Stiftelsen for Industriell og teknisk forskning ved NTH), NIBIO (Norsk Institutt For Bioøkonomi), NTNU (Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet), Matis (islandsk mat og bioteknologisk institutt, Ceva (Teknisk senter i Europa med fokus på studie av alger og makroalger) (Promac.no, 2017b).

I Norge høstes det mange tonn tare hvert år enten ved taretråling og taredyrking (Rueness, 1998). Omtrent 100-150 tonn tare anslås dyrket i Norge i 2017 (Lil-Ann Gundersen, personlig kommentar). Som et resultat av klimaendringer og oljeproduksjon debatteres bioøkonomi i stor grad med vekt på utvikling og forbruk av fornybare råstoffer. Her står tare svært sentralt da det stadig blir viktigere å få mer kunnskap om hvordan man skal utnytte havressursene på en best mulig bærekraftig, produktiv og økonomisk måte. Over 70 % av jordas overflate er dekket av vann og bare to prosent av maten vi spiser kommer opprinnelig fra havet. Dette, parallelt med den globale etterspørselen etter mat, tilsier at det er mye potensiell biomasse å hente fra havet og Norge har en av Europas største andel av tang og tare (Rebours et al., 2014). Taredyrking i Norge har funnet sted og Seaweed AS er et godt eksempel på et selskap som satser på kommersiell taredyrking. Dyrking og høsting av tare kan gå til mange formål som fôr, drivstoff, fornybar energi, mat og industri.

## 2.5 Tare og næringssaspekt

### 2.5.1 Tare og kost

I Asia er makroalger naturlig satt inn i det normale kostholdet, mens i Europa er makroalger nylig blitt introdusert innen gastronomi og er allerede benyttet i land som Kina, Japan, Frankrike, Chile, Island, Irland hvor ulike makroalger er selektert ut som ingrediens eller matvare (Gupta et al., 2010). Tang og tare er gradvis i ferd med å bli anerkjent i flere andre land og det kan være et tids og ressurs spørsmål før makroalgene blir utnyttet enda mer i Norge, som en lokal ressurs, relatert til dyrking og integrert som en del av det vanlige kostholdet. Makroalger er i dag svært kjent for egenskaper som smak, tekstur, farge og helsegivende gevinster. Disse egenskapene defineres i hovedsak som varierende for hvilken art det er snakk om, dyrkingssted, bearbeiding både industrielt og på kjøkkenet. Brunalger som sukkertare og butare er i dag kjent for deres sensoriske egenskaper og er i stor grad benyttet i matretter som sushi, salater, supper, som ingrediens med mer.

Ved å benytte seg av tare som et naturlig økologisk produkt blir seleksjon og vurdering av plantene viktig ettersom det er viktig å kartlegge ulike faktorer med hensyn til bakteriell vekst, lokalisering av dyrkningsanlegg og faktorer som kan ha betydning for tares kvaliteten.

Under prosessering blir det også viktig å sørge for minst mulig utslipp av karbondioksid ved transport og drift av anleggene og eventuelle sekundærprodukt som kan oppstå ved sedimentering av organisk materiale (Fei, 2004) som for eksempel ved fôring ved oppdrettsanlegg for fisk som igjen kan lede til eutrofiering. Dermed blir overvåkning av hele prosessen fra kimplante til ferdig produkt en viktig del av tareindustrien for å spare miljøet på en produktiv og bærekraftig måte. Da sikrer en seg trygge råvarer og reduserer eventuelle belastninger på miljøet, som følge av bearbeiding og behandling av taren. Dette kan kanskje bidra til at produktet får mer tillit blant befolkningen når mest mulig informasjon om tareproduktet blir gitt ut.

Det finnes i dag tilgjengelige kokebøker og bøker med oppskrifter på retter med tare og egnede produkter med tare (Mouritsen et al., 2013; Rhatigan, 2009) kan f. eks være aktuelt å tilsette i fiskekaker, pesto, supper, dressinger, salater, krydder, kornprodukter, pastaprodukter, pølser, sjokolade, iskrem, pålegg. Det er mye inspirasjon og metoder å hente ifra land som Asia hvor det finnes et flertall av fersk, tørket og prosessert tare ute på markedet og flere europeiske land er godt i gang med forskning og integrering av tare i mat som Norge, Island, Irland (McHugh, 2003). Det er også økende forespørsel blant forbrukerne hva angår råvarer og utvikling av mat som kan inneholde viktige næringsstoffer og naturlige bioaktive komponenter. Aktuelle utfordringer blir rensing av råvarene og inkorporering av deres antimikrobielle egenskaper og næringsverdi i mat, uten å påvirke kvalitet og sensoriske egenskaper. Det blir viktig å sikre og undersøke mikrobiologiske aspekter da tare som råvare kommer fra et miljø som stadig er i endringer.

### 2.5.2 Næringsstoffer og helsegevinster

Tang og tare inneholder et bredt spekter av ulike mineraler som jod, kalsium, kalium, magnesium, natrium, kobber, sink, klor, svovel, fosfor, selen, jern, og fluor (Mišurcová et al., 2011). Mineralene man kan finne i tang og tare er organiske og har en høyere opptaksgrad enn uorganiske mineraler som kan finnes ute på markedet og ved normalt bruk er det ingen fare med å for eksempel få i seg for mye av Jod. Det skal merkes at noen tarearter kan ha et relativt høyt innhold av jod (Mouritsen et al., 2013). Inntak av jod over lengre tid kan derfor være skadelig (Backer & Hollowell, 2000). I tillegg finner vi vitaminer som A, B, C, D, E og K (Skrovánková, 2011) samt proteiner, aminosyrer, gode fettstoffer, sporstoffer og sunne fiber i tang og tare. Vitamin E er en viktig antioksidant. I en 8 g porsjon av *Undaria pinnadida* (Wakame) finner man ca. 1.16 mg av vitamin E, mens i peanøtter kan det i samme mengde finnes kun 0.8 g av samme vitamin. Mengden protein i Nori (*Porphyra yezoensis*) er relativt høyt og kan ligge på opp mot 47 % av tarens tørrvekt. Viktige essensielle fettsyrer i tare er for eksempel Omega-3 og Omega- 6, noe som gjør taren til et viktig og effektivt supplement innen diett eller som en del av et balansert kosthold (MacArtain et al., 2007).

Med utgangspunkt i medisinske egenskaper kan algene ha en antibiotisk virkning (Kumar et al., 2008), kolesterolsenkende effekt (Carvalho et al., 2009) og virke detoksifiserende ved at de kan hjelpe oss med å avgifte tungmetaller i det miljøet de lever i og i menneskekroppens systemer (Kratochvil & Volesky, 1998). Tang og tare i tørket format og i små flak kan virke som en fin erstatte fremfor vanlig bordsalt (Mouritsen et al., 2013) da for mye salt blant annet kan bidra til høyt blodtrykk og hjerte- og kar sykdommer (Kotchen et al., 2013). Marine makroalger består av komponenter som blant annet kan være bioaktive og antimikrobielle (Kubanek et al., 2003) og svært viktige for både mennesker og dyr. Hos mennesker kan konsumering av tare som inneholder mye algefiber ha en god effekt på tarm og generell helse (Gupta & Abu-Ghannam, 2011). Taren kan produsere sekundære metabolitter etterfulgt av biologisk aktivitet som også innebærer interaksjoner med bakterier som overlever på oksygen og organiske stoffer produsert av taren (Egan et al., 2013).

### 2.5.3 Toksiner og tungmetaller

De fleste av tang og tare sortene vi har langs Norges kystlinje er i liten grad giftige (Bakkevig, 1994). Det er i hovedsak det marine habitatet de befinner seg i og mineralene de absorberer, som avgjør tilstedeværelsen av mineraler som er å finne på taren (MacArtain et al., 2007). Gamle alger kan ha en evne til å lagre diverse tungmetaller som for eksempel vanadium, mangan, kobolt, arsen, krom (MacArtain et al., 2007) og sink (Bryan & Hummerstone, 1973). Innholdet av mineraler som for eksempel kopper og jern i tare er relativt høyere i tare i motsetning til ulike typer kjøtt og spinat. I en 8 g porsjon av tørr Søl (*Palmaria palmata*) finnes det for eksempel mer jern (6.4 mg) enn i en 100 g porsjon med rå oksemørbrad (1.6 mg jern) (MacArtain et al., 2007). Ved høsting av tare blir det svært viktig å ha fokus på de mer unge skuddene av planten, slik at en reduserer risikoen for potensielle substanser som kan ha en negativ effekt på helse og organer.

### 2.5.4 Smaksegenskaper

Når det kommer til smak inneholder sukkertare i stor grad umami og er hovedsakelig brukt som smaksforsterker og salterstatter i mat (Martinsen et al., 2016). Smaken er definert som søtaktig grunnet sukkeralkoholen mannitol (Mouritsen et al., 2012) i tillegg til at den bærer trekk av sterk havluft. Umami er det japanske ordet for «velsmakende» og representeres som den femte smaken ved siden av salt, surt, søtt og bittert (Mouritsen et al., 2013). Smaken ble først oppdaget av kjemikeren Kikunae Ikeda ved universitet i Tokyo i Japan datert 1909 (Lindemann et al., 2002). Oppdagelsen ble utført og påvist med bruk av sjøgress hvor smaksforsterkeren mononatriumglutamat ble fremstilt og representerte konsentrert umamismak. Smaken sies å likne kjøttsmak og de to aminosyrene som gir opphav til umamismaken er glutaminsyre (glutamat) og asparginsyre (aspartat), som oftest er å finne i mat som inneholder mye proteiner.

Matvarer som smaker umami er parmesan, tare, buljong, sopp, tomat, fiskesaus, selleri, skalldyr, løk m. m. Alger inneholder naturlig glutamat og i ulike mengder og er en av aminosyrene som bidrar til umami smaken (Mouritsen et al., 2012). Når det kommer til salinitet i taren, er denne påvirket av miljøet der taren vokser, men også av tarens innhold av nukleinsyrer som aktivt bidrar med å opprettholde en riktig osmotisk balanse i algenes celler (Mæhre et al., 2014).

Butare har en mild og delikat smaksprofil (Martinsen et al., 2016) noe som bidrar til at den passer meget godt sammen med annen mat. Butare har et høyt innhold av frie aminosyrer, som glutaminsyre, asparginsyre og alanin. Det er i hovedsak alanin som resulterer i tarens karakteristiske sødme (Mouritsen et al., 2012).

Sukkertare og butare kan forvelles, dampes, kokes, tørkes eller benyttes rå i bred kombinasjon med enkle eller mer sammensatte matprodukt/ingredienser uten at smaken av taren tar over smaksmessig. Eksempler kan være å tilsette taren i gryteretter, wokretter, supper, salater eller marinere, steke, fritere og riste taren. I andre tilfeller kan det være ønskelig å tørke taren og benytte den som krydder. Fordelen med å tørke taren er at man oppnår økt holdbarhet, det blir enklere ved tilberedning ved matlaging, samt at tørkingen i seg selv gir en kraftigere smak i algene.

#### 2.5.5 Farge og pigmenter i brunalger

Brunalger som er ubehandlet eller i frossen tilstand bærer en generell brunfarge, men dersom samme tare blir prosessert ved varmebehandling vil den endre farge til grønn (ulike nyanser basert på ulik koketid og temperatur). Grønnfargen er hovedsakelig ønsket da den gjør taren visuelt mer attraktiv. Ved en lengre varmebehandling kan en risikere at taren får tilbake til sin opprinnelige farge. Fargeendringen som finner sted har sitt opphav i pigmentene som finnes i taren.

Brunalger bærer mange pigmenter (Mouritsen et al., 2013) og noen av dem er svært viktige for algenes fotosyntese som for eksempel fucoxanthin (dominerende), klorofyll a og c (stabil ved nøytral pH), beta-karoten og violaxatin (beskytter alger mot stråling) (Pérez et al., 2016). I fotosyntesen vil pigmentene tiltrekke seg lys i fotosystemene i thylakoidmembranen i kloroplaster (Mikami & Hosokawa, 2013). Absorbert solenergi overføres så i form av elektroner og det er dette som driver syntesen av oksygen og energi i fra karbondioksid og vann (Mouritsen et al., 2013). Taren vil ved sommeren benytte seg av sollys og lagrer denne i form av karbohydrat. Ved denne årstiden vil Norges kystlinje være mer næringsrikt med økt tilførsel av fosfat og nitrater. Ved høsten kan taren ta opp mest mulig næringsstoffer igjennom sitt eget plantevev da sollys ved denne årstiden kan være fraværende (Indegaard, 2010). Pigmentenes struktur karakteriseres ved konjugerte dobbeltbindinger, noe som gjør at de får absorbert sollys effektivt.

Dette gjør pigmentene svært sensitive til oksygen, varme, lys og syre (Mikami & Hosokawa, 2013). Med utgangspunkt i pigmentene og deres egenskaper skyldes fargeendringen en trinnvis nedgang i de pigmentene som finnes i størst mengde, nemlig fucoxanthin og klorofyll.

Varmebehandling som gir en visuell fargeendring fra brun til grønn skyldes nedbryting av fucoxanthin, mens endringen fra grønn til brun skyldes at klorofyllet brytes ned til et molekyl som likner klorofyll men som i stedet for bærer en brunaktig farge; feofytin (Yamanaka & Akiyama, 1993). Ifølge Yamanaka & Akiyama ble fargeendringen på wakame brunalgen *U. pinnatifida* først observert ved en blansjeringsstemperatur over 65 °C. I master oppgaven til Marthe J. Blikra ble utført varmebehandling på sukkertare og butare ved 95 °C i 15 minutter. Sukkertaren fikk en klar og fin grønnfarge og ved økt koketid til 45-60 minutter ble taren grønnere. Tilsvarende koking av butare resulterte i en degradering av grønnfargen og taren gikk tilbake til å være brun (Blikra, 2016).

## 2.6 Tare og mikrobiologiske forhold

### 2.6.1 Bakteriologi

For denne oppgaven er det klassiske mikrobiologiske metoder som er benyttet med den hensikt å kartlegge ulike levende mikroorganismer som vokser i kolonier på skåler med ulike vekstmedier. Dette for effektiv fremming av vekst, samt aseptisk teknikk for å unngå kontaminering. Med hjelp av inkubasjonstid og temperatur, er det mulig å differensiere bakterier grovt fra hverandre. Her blir det også viktig å evaluere det mikrobiologiske aspektet ut ifra holdbarhet til produkter med tilsatt tare. Undersøkelse for sporedannende bakterier blir av betydning da denne gruppen er mer varmeresistente enn andre vegetative bakterier.

### 2.6.2 Bakterier og miljø

Sjømat inneholder mikrobiota og denne kan si noe om området taren opprinnelig ble høstet fra. Bakterier finnes overalt både i dype hav, fjell og tåler varierte miljøer med ulike temperaturer. Bakterier er ikke synlige med det blotte øyet, men kan observeres ved mikroskopering. De formerer seg ved ukjønnet celledeling kalt binær fisjon (todeling) i løpet av kort tid, hvor de kopierer seg selv (Reece et al., 2011). Bakterier kalles prokaryote innen domenet Bakterier (Madigan et al., 2015) og har ikke en avgrenset cellekjerne som eukaryoter. Stav og kuleformede – kokker (Lleo et al., 1990) er de mest kjente formene bakterier eksisterer i. Det finnes også bakterier som er Vibrio, skrue - Spirochæter (Charon et al., 1992) og spiralformede – spiriller (Davis et al., 1976). Bakterier er nødvendige for utviklingen av organisk liv med utgangspunkt i evolusjon av celler ved assosiering mellom eukaryoter og fritt levende bakterier, cellestruktur, organeller og biokjemiske prosesser (Margulis, 1981).

Makroalger er i konstant kontakt med miljøet rundt seg og det er spesielt bakterier, sopp, sporer, protozer og diatomeer som eksisterer i symbiose med algene (Singh & Reddy, 2014). I et akvatisk miljø vil planktoniske mikrobielle samfunn leve som frittlevende eller festet til biotiske eller abiotiske overflater (Ismail et al., 2016). Bakterier er dominerende i dette tilfellet og kan eksistere på mesteparten av makroalgens overflate (epifytisk), i tillegg til cytosol i algenes celler (endofytisk). Alger og bakterier har koeksistert siden de tidlige fasene av evolusjonen og dette har bidratt til å revolusjonere livet på jorda med variert synergi hvor både mutualisme og parasittisme har funnet sted, hvor de har påvirket hverandres fysiologi og metabolisme (Ramanan et al., 2016). Bakteriene står for produksjon av vekst fremmende substanser, signalmolekyler, bioaktive molekyler og andre effektive molekyler som er ansvarlige for morfologi, utvikling og vekst av tang og tare (Hollants et al., 2013).

Tarens overflate representerer et næringsrikt habitat for mikrobiell kolonisering og dannelse av biofilm (aggregat av bakterier adhert til hverandre via en matriks av polysakkarider) (Singh & Reddy, 2014). De kjemisk medierte interaksjonene mellom alger og bakterier kan være positive eller negative, hvor bakterier overlever ved å ta til seg ulike næringsstoffer som finnes på taren, som for eksempel karbohydrater og oksygen. Parallelt med dette vil taren ta opp karbondioksid (Bengtsson, 2011), mineraler og vekstregulerende stoffer som fremmer morfogenese og vekst i makroalgene (Egan et al., 2013). Karbonet kan taren fikserer via fotosyntese og noe av det går til biosyntese av nytt tare vev (Abdullah & Fredriksen, 2004). Ved degradering av tang og tare er det mye karbon tilgjengelig i dødt organisk plante materiale som bakteriene kan benytte som næring og til fiksering (Bengtsson, 2011). Makroalger har forsvarsmekanisme mot potensielle farlige patogene bakterier ettersom bakteriene de lever i symbiose med produserer antibiotika (Pérez et al., 2016), noe som gir dem antimikrobielle egenskaper.

### 2.6.3 Patogene bakterier

Vi er hele tiden omgitt av bakterier og de fleste er ufarlige og essensielle for livet på jorda. Noen driver fotosyntese på jorda og i havene hvor de fikserer karbondioksid og frigjør oksygen. Andre kan eksistere under aerobe forhold og ved ekstremt høye temperaturer som for eksempel den ekstremofile bakterien *Thermococcus barophilus*, isolert fra hydrotermale skorsteiner på havbunnen ved midthavsryggene (Marteinsson et al., 1999). Bakterier kan også ha funksjon som nedbrytere og kan bryte ned organisk materiale, som videre kan benyttes av andre organismer og planter (Mouritsen et al., 2013). Bakterier som er sykdomsfremkallende betegnes som patogene og assosieres med matforringelse og matforgiftning (Akira et al., 2006). Eksempler er normale sjøvannsbakterier som *Listeria monocytogenes*, *Bacillus spp*, *Clostridium botulinum* og *perfringes* (Huss, 2007).

Akvatiske miljø kan forurenses av tilsig fra blant annet menneskelig forsøpling, kloakk og fugle og dyregjødsel (Reilly & Kaferstein, 1998) hvor det er vanlig å finne fekale koliforme bakterier ved områder utsatt for denne type forurensning (Feldhusen, 2000). Andre aktuelle patogener er *Escherichia coli* (Rasko et al., 2008) og *Staphylococcus aureus* (Hennekinne et al., 2012).

#### 2.6.4 Sporedannende bakterier

Patogene bakterier på europeiske makroalger er blitt svært lite studert og opphavet av toksinproduserende bakterier kan enten være et resultat av miljøet algene befinner seg i eller måten de er blitt prosessert på (næringsmiddelindustrien). Deres virkning er et resultat av toksiner som bakteriene produserer og frigjør under vekst (eksotoksiner) eller ved bakteriell død da bakteriene skiller ut giftige stoffer kalt endotoksiner (Galanos & Freudenberg, 1993).

Sporedannere er en gruppe bakterier spesielt kjent for å overleve ved å sporulere og danne dormante sporer (motstandsdyktig dvale stadie hos bakterier) ved kompliserte vekstforhold, som for eksempel reduserte næringsnivå i miljøet de befinner seg i over en lengre tidsperiode (Piggot & Hilbert, 2004). Sporer holder bakterier i live og består av bakteriens DNA og cytoplasma, omgitt av en solid cellevegg, forskjellig fra selve bakteriecellen (Johansen et al., 2013). Sporer kan overleve over mange år og det finnes rapporter som fastslår at de kan overleve over flere millioner år i naturen (Cano & Borucki, 1995; Kennedy et al., 1994). Sporene kan være sykdomsfremkallende og er derfor høyt vurdert ved mikrobiologiske undersøkelser av matprodukter. Når de er dormante (hvilende) inneholder de metabolsk sett lite/ingen energi i form av energirike komponenter som ATP og NADH og det foregår i liten grad metabolisme og enzymatisk aktivitet (Setlow, 1994) og dermed kan ikke sporene reparere skade på makromolekyler som proteiner og DNA (Setlow, 2003).

Sporer fra *Bacillus* og *Clostridium* slekten er motstandsdyktige mot varme, tørke, og giftige kjemikalier samt UV- stråling og andre ugunstige ytre forhold (Setlow, 2006). Når forholdene normaliseres og blir bedre, vil sporene germinere og gå tilbake til å danne vegetative bakterier. Bakteriene har mekanismer for beskyttelse når de er dormante, som beskytter dem mot akutt skade eller skade over tid. Inaktiveringen av bakterier og sporer har sammenheng med ytre betingelser som temperatur, pH, vannaktivitet, (Gilbert et al., 2011) bakteriens termiske egenskaper (indre betingelser) og bakteriell art/slekt. *Clostridium perfringens* er en anaerob sporedannende bakterie som finnes i tarmen hos dyr og mennesker. Den produserer toksiner og hydrolytiske enzymer som kan føre til sykdom (Petit et al., 1999).



Bakteriell struktur og komposisjon (membraner) gjør sporer resistente mot ytre påkjenninger fra kjemiske og enzymatiske forbindelser. Sporens kjerne er omgitt av flere beskyttende lag (Heyndrickx, 2011; Popham, 2002). Den inneholder DNA som stabiliseres av SASP's,- små syre-løselige proteiner (Moeller et al., 2009) som sørger for å beskytte DNA mot UV stråler, kjemikalier og varme (Setlow et al., 1995; Setlow, 2007). Kjernen er omgitt av en innermembran bygd opp av et lipidlag (Cortezzo & Setlow, 2005). Utenfor denne membranen ligger det et peptidoglykan lag (cortex) som er omringet av en ytre membran som er permeabel for små molekyler (Piggot & Hilbert, 2004). Deretter følger en beskyttende protein kappe bygd opp av mer enn 70 ulike proteiner og er avgjørende for sporens fleksibilitet (Driks, 2002; Setlow, 2006).

Ved prosessering av produkter vil det alltid finnes en risiko for tilstedeværelse av patogene bakterier. Dette gjelder tare dyrket og høstet opp for humant konsum. Ved vasking av tare før prosessering, vil det alltid være bakterier tilstede. I de fleste tilfeller overlever de frysing. Alternative behandlingsmetoder er å utsette algene for varme, UV-lys, ioniserende stråling eller høyt trykk for å redusere antallet av bakteriene tilstrekkelig (Lado & Yousef, 2002). Konserverings teknikker som for eksempel lav pH, salt og konserveringsmidler kan også benyttes for å gi ønsket produkt bedre holdbarhet og egenskaper.

I denne oppgaven er det fokus på sukkertare og butare. Ved dyrking og høsting av disse to artene er det svært viktig at det akvatiske miljøet rundt dyrknings stedet blir nøye oppfulgt. Kontaminering kan oppstå både ved høsting og prosessering og derfor blir det viktig å skape gode arbeidsrutiner, iverksette tiltak mot eventuelle forurensningskilder, samt opplyse offentligheten om potensielle farlige patogene mikrobiota. Taren fra Værlandet - Bulandet blir for eksempel etter høsting varmebehandlet for å bli kvitt mikroorganismer på taren som kan overleve ved svært høye temperaturer. Da kreves det ekstra overvåking og dokumentasjon med det mål å oppnå riktig behandling og nok behandling da hvert trinn er kritisk. Ved høy varmebelastning dør de fleste matforringende og patogene mikrobielle organismer. Vegetative bakterier dør som regel ved mild varmebehandling ( $\leq 100$  °C), mens sporer overlever (Smelt et al., 2008). Skal sporer inaktiveres må temperaturen være over 100 °C. Mekanismen for sporens inaktivering eller eliminering ved varme er ikke fullstendig kartlagt (Setlow et al., 1995) da ulike sporer gir ulik respons på ulike typer behandling og at deres resistens avhenger av det opprinnelige miljøet de kom ifra (Magoon, 1926). Dersom en skal bli kvitt sporer er det anbefalt autoklav temperaturer på 121 °C i minst 15 minutter (Madigan et al., 2015).

Varmeinaktiveringen av bakterier og sporer predikeres ved å anta at bakterier inaktiveres log - linært. Varmeresistensen kan da beskrives ved for eksempel å finne desimeringstiden (D - verdi, engelsk: Decimal reduction time). Dette defineres som den tid som trengs for å redusere antall bakterier med en logaritmsk størrelse, dvs. tiden som trengs for å redusere bakteriepopulasjon med 90 % ved en definert temperatur (Mazzola et al., 2003). I denne sammenhengen vil det si hvor mye varme bakterier og sporer kan tåle av indre og ytre påkjenninger som forklart over. Innen et begrenset tids og temperatur intervall brukes log - linær modell for å komme frem til D - verdien. Bakterieklassene Bacilli og Clostridia inneholder Gram - positive stavformede bakterieceller som kan danne sporer. Disse sporene er resistente mot høye temperaturer og kan lede til forringelse av mat og eventuelt matforgiftning (Salkinoja et al., 1999). *B.subtilis* sporer kan overleve fuktig varme ved 100 °C (Nicholson et al., 2000). Den har D verdier (min) på 12 på 90 °C, 2,7 på 95 °C og 0,9 på 100 °C (Akihiko, Yutaka, Shozo, Masato, & Kazuo, 1996). Bakteriene kan kontaminere mat, men sjelden matforgiftning (Madigan et al., 2015) da den er klassifisert som ikke - patogen (Hosoi et al., 2003).

## 2.7 Mikrobiologi og mattrygghet

### 2.7.1 Hva er mattrygghet?

Mattrygghet omfatter sikring av matprodukter som selges ut til forbrukere i et marked med det mål å sørge for at produktet er trygt i det definerte tidsrommet det anbefales å konsumeres. Her inngår både mikrobiologi samt fremmedstoffer (levende og ikke levende), hvor fremmedstoffer som tungmetaller holdes konstant i et produkt mens den mikrobielle aktiviteten og toksinproduksjon kan øke både under prosessering og etter produksjon.

Mikroorganismer er komplekse og tolererer varierte forhold og kan kontaminere og vokse i ulike matprodukter. Veksten til de ulike mikroorganismene er dermed bestemt av matproduktets egenskaper som for eksempel vannaktivitet, pH, temperatur, atmosfære etc. Effekten av hver av disse egenskapene kan bestemmes ved matematiske modeller tatt fra kvantitative analyser av aktuelle mikroorganismer. Dette har stor påvirkning på produktets holdbarhet og trygghet relatert til konsum hos forbrukere (McMeekin et al., 1997).

### 2.7.2 Behandling av makroalger og mattrygghet

Globalt sett selges makroalger i dag ofte rå, tørket eller frosne. Tørking av taren gjør det mulig å unngå mikrobiell aktivitet ved reduksjon av vanninnholdet i produktet slik at deres vekst hemmes. Frysing vil bidra til at bakterier ikke greier å formere seg og vekstraten reduseres. De går med andre ord i dvale, men drepes ikke (Jay, 2012). Med utgangspunkt i dette er frysing av tare et godt alternativ mot matforringelse eller forgiftning.

Prosesen fra råvarer til forbruk evalueres nøye for best mulig sikring av et trygt produkt (Jay et al., 2008). Råvarer kvalitetskontrolleres for å sikre at man oppnår stabil og riktig kvalitet på produktene. Under prosessering er det viktig at man hele tiden sørger for at produktet ikke mister ønsket kvalitet fra råvare til pakking og emballering. Produktet kontrolleres gjennom holdbarhetstid og det tas stikkprøver for sjekk av kvalitet i henhold til mikroflora og eventuelle standarder ut fra feil som kan oppstå ved kortsiktig og langtidslagring (Rødbotten, 2015).

## 2.8 Sjømat

Matvarer vil etter en kort tid degraderes og ødelegges av mikrobiologiske og kjemiske prosesser i produktet. Menneskelige infeksjoner forårsaket av patogener akvatisk miljø er i dag vanlig og avhenger av sesong, forurensning, temperatur (Broekaert et al., 2011) immunsystem til utsatte individer og organismer, samt mikrobiotas natur og egenskaper (Novotny et al., 2004).

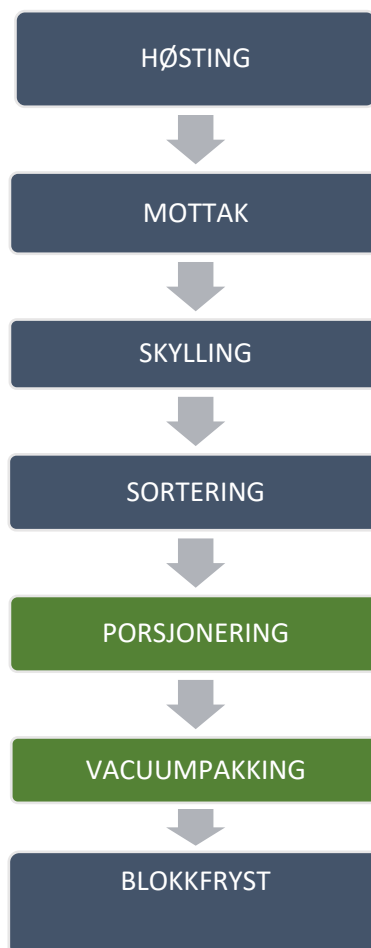
Sjømat som kommer ifra havet bærer både farlige og ufarlige mikrobielle organismer. I noen tilfeller kan bakteriene være sykdomsfremkallende grunnet smitte i det akvatiske miljøet råvaren opprinnelig ble hentet opp ifra og er varierende med art, vannkvalitet, bunnforhold, forurensning, årstidsvariasjoner, fangstmetode og håndtering ved fangst (Gram & Dalgaard, 2002). Miljøet og organismer fra miljøet rundt artene det gjelder kan assosieres og koloniseres på eksterne overflater og akkumuleres der eller koloniseres på organismers tarmer (Heath, 1995). Parasitter eller forurensning kommer med jordbruk/hushold/husdyrhold. Bakterier fra slike kilder kan produsere toksiner som i verste fall kan forårsake sykdommer og infeksjon hos mennesker som konsumerer næringsmidler fra havet. Eksempler på aktuelle fiskearter innen næringsmiddelproduksjon er hyse, laks, makrell, sild, kveite, torsk, steinbit, sei. Det er vanlig å finne kuldetolerante bakterier (Gounot, 1986) på fisk fra både temperert og kalde lokalisasjoner. Ved frysing vil bakteriene som regel greie seg og det er spesielt bakterier i fiskens tarm som dominerer. Disse kan komme både ved fangst/sløyeprosessen hvor bakteriene kan posisjonere seg på fiskens gjeller og skinn.

Faktorer som kan påvirke matvarens kvalitet kan være frakt av råvarer, hygiene ved prosessering, temperatur ved prosessering (frysing/tining), vannaktivitet, tørking, frysing, salting, sukring, marinering, røyking, pH og tilsetningsstoffer, kjemikalier, oksygentilgang. De ulike behandlingsformene kan sikre produktkvalitet og god holdbarhetstid på produktet. Disse kan være konserverende eller degraderende for råvaren det gjelder relatert til det bakterielle, sensoriske og kvalitetsmessige perspektiv. Temperatur og tid er viktig. Råvare i romtemperatur kan utvikle flere typer helsefarlige bakterier etter kun noen få timer hvor det kan skje degradering av, noe som vil føre til endringer i lukt, smak og tekstur. Dette kan bidra til harskning, degradering av og reduksjon i holdbarhet. Oppbevaring av matvarer ved lav temperatur som 4 °C eller lavere som i kjøleskap gir god mulighet for kontroll og opprettholdelse av temperatur slik at holdbarhet kan forlenges. Dersom råvare lagres ved -1 °C - 4 °C vil bakterieveksten kunne inhiberes. Frossenmat, ved -18 °C eller lavere (dypfrost) får en kvalitet som bestemmes av både innfrysningstemperatur og tid. Ved denne temperatur vil bakterievekst normalt stoppe opp, mens bakterienes enzymatiske aktivitet vil reduseres (Ghaly et al., 2010).

### 3. Material og metoder

#### 3.1 Prøver, behandling og oppbevaring før analyse

Prøvemateriale av rå sukkertare (*Saccharina latissima*) og butare (*Alaria esculenta*) ble dyrket på Værlandet-Bulandet mai 2016 av Seaweed AS og brukt i analysene av frossen – tint tare. Prosessen for behandlingen av tare hos Seaweed AS illustreres i Figur 5. Taren ble høstet, tatt inn til mottak, skylt med kaldt sjøvann for fjerning av mikroorganismer og lagt i sjøvannsbad over natten. Videre ble den sortert manuelt for å bli kvitt eventuelle urenheter og kuttet opp, sentrifugert, porsjonert og vakuumpakket og blokkfrost på - 18 °C på Værlandet. Prosessen har både urene soner (blå) og rene soner (grønn). Taren ble sendt frossen til Nofima AS i Stavanger og videre fryselagret på - 35 °C. Ved uttak for mikrobiologisk analyse for seleksjon av vekstmedium, varmebehandlet tare og produkt med tare, ble en kniv i rustfritt stål benyttet til å kutte taren opp.



**Figur 5. Flytdiagram prosess for tare fra Seaweed AS.** Prosess for behandling av rå sukkertare og butare hos Seaweed AS på Værlandet – Bulandet.

Det skal i denne oppgaven gjennomgås følgende eksperiment med sukkertare og butare:

- 1) Analyse for selektering av vekstmedium som best egner seg til videre analyse av tangprodukter
- 2) Undersøkelse av mikrobiologisk holdbarhet av rå og varmebehandlet tare
- 3) Lagringsforsøk av fiskekake med sukkertare og butare
- 4) Lagringsforsøk av pesto med sukkertare og butare

## 3.2 Undersøkelse av antall organismer på sukkertare og butare

### 3.2.1 Metodeutvikling for seleksjon av vekstmedium

Det ble kjørt en sammenligning av 5 ulike vekstmedium for bakterievekst fra homogenat fra rå sukkertare og butare fra Seaweed AS, høstet mai 2016 på Værlandet - Bulandet. Denne taren var forhåndsvarmebehandlet ved 80 ° C i 15 minutt. Fryst tare ble tint og lagret på 4 ° C i et døgn. Fra analyse lå veksten under deteksjonsgrensen. Taren ble derfor flyttet til 25 ° C i 5 dager for å initiere bakterievekst. Utvalgte vekstmedier til analysen var; Tryptone Soy Yeast Extract Agar (TSAYE med gjærekstrakt), Plate Count Agar (PCA), Plate Count Agar 1 % NaCl (PCA 1 %), Marine Agar og Long and Hammer. Næringsmedier fra dette eksperimentet ble benyttet videre i lagringsforsøk med fiskekake og pesto.

Undersøkelse av totalt aerobt kimtall ble utført med bruk av utplatings skåler med homogenat på 5 ulike næringsmedium:

- 1) Marine Agar (MA, 18,7 g Marine Broth 2216, Difco™ sammen med 8,0 g Agar-Agar, Merck KGaA i 0,5 L destillert vann).
- 2) Tryptone Soy Agar (20 g TSA, Tryptose soya Yeast Extract Agar, Oxid, CMO131) med 3 g Yeast extract, granulated Merck KGaA i 0,5 L destillert vann.
- 3) Plate Count Agar (PCA, ISO4833 GranuCult™ Merck KGaA, 11,75 g PCA i 0,5 L destillert vann).
- 4) PCA m/1 % NaCl.
- 5) Long and Hammer Agar i henhold til Nordisk Metodikkomitè For Næringsmidler, metode Nr. 184 (NMKL, 2006).

Kuldetolerante bakterier ble kartlagt ved å plate ut homogenat på de samme medium som ved kimtalls bestemmelse; MA, TSAYE, PCA, PCA m/1 % NaCl og LH.

### 3.2.2 Prøve opparbeiding

Tre biologiske paralleller ble tatt ut fra forskjellige poser med tare fra sukkertare og butare som hadde vært på 4 ° C kjøle i én dag etter å ha vært tatt ut fra fryse på - 35 ° C. Hver parallell ble tatt ut fra ulike små forhånds vakuumpakkede poser med tare på omtrent 25 gram. Hver prøve ble tilsatt 0,9 % autoklavert saltløsning (NaCl), hvor forholdet mellom taren og løsningen var 1:10. Taren og NaCl løsningen ble tilsatt i Stomacher pose (Grade blender bags, separation 400) hvor mengde tare og væske ble homogenisert i Stomachermaskin (Lab Blender Smasher, AES laboratore) i 180 sekunder. Fem ml homogenat ble så helt over i 15 ml sterile plastrør.

### 3.2.3 Inkubering og telling av kolonidannende enheter

Inkuberingstiden for skåler for totalt aerobt kimtall var 7 dager ved 30 °C. For kuldetolerante bakterier var inkuberingstiden 7 dager ved 8 °C. Antall kolonidannende enheter på skålene ble undersøkt ved mikroskopering.

### 3.2.4 Mikroskopering av bakterier

Viktige faktorer ved mikroskopering er forstørrelse, oppløsning og kontrast. Forstørrelse vil si å utvide noe i utseende, men ikke i fysisk størrelse. Oppløsning er evne til å differensiere to objekter fra hverandre. Kontrast vil si å bringe frem ulikheter i prøven (Reece et al., 2011). Variasjoner på tettheten i prøven forsterkes ved å øke bildets kontrast i ufargede celler (Madigan et al., 2015). Fasekontrast mikroskopi kan benyttes for å skille mellom vegetative celler og sporer fra hverandre da de vegetative oftest er mørke, mens sporene er lysrefraktille. I dette studiet ble mikroskopering av levende preparat utført for observering av bakterieprøvene fra tareartene og produkt med tare med hensyn på om bakteriene var staver eller kokker og om det var sporedannende bakterier tilstede i prøvene. Fasekontrast mikroskopering ble brukt for å få best mulig kontrast på levende bakterier. En bakterie koloni ble overført til et objektivglass med en dråpe Milli – Q vann. Ved hjelp av en podenål ble bakteriene rørt inn i vannet og et dekkglass ble så lagt over denne bakteriesuspensjonen. Ferdig preparat ble så utforsket i mikroskop. Mikroskopet ble innstilt til 400x forstørrelse (40x objektiv), hvor bakteriens morfologi ble observert og fotodokumentert. Samtidig ble det undersøkt for tilstedeværelse av sporer på preparatet, som skiller seg fra de vanlige vegetative cellene ved at de lyser opp.

### 3.2.5 Behandling av data

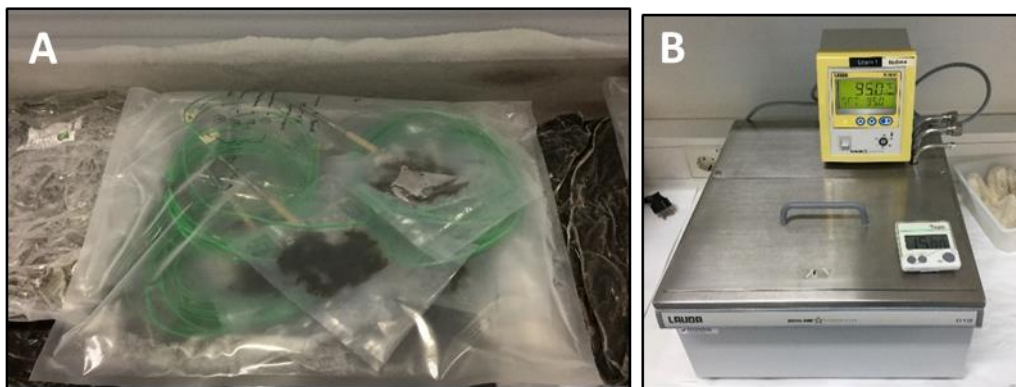
Kvantifisering av bakteriene ble bestemt med totalt aerobt kimtall og sporetall da disse utgjorde et mål av mengde bakterie i tare og produkt med tare. Antall kolonier telt opp for de ulike prøvene med bakterier ble brukt til beregning av cfu/g og til å lage et logaritmisk plott. Statistisk signifikans for vekst på ulike næringsmedium ble undersøkt ved Students t - test og utført i Excel regneark, med innebygd funksjon, med et konfidens nivå satt til 95 %. Innsamling av sensorisk data ble gjort av programvaren EyeQuestion (EyeQuestion 4.2.17, Logic8 BV, Wageningen, Nederland). Data ble behandlet ved bruk av ANOVA, enveis - variansanalyse (ANOVA, MINITAB<sup>®</sup> Version 17, Minitab Ltd., Brandon Court, Coventry, UK) med konfidensnivå 95 % (Turkey`s test). ANOVA enveis - variansanalyse ble utført på produktnivå (sukkertare, butare, og standard fiskekaker) hvor det ble sett etter forskjeller i hver produktvariant som følge av lagringstiden. Det ble også utført ANOVA GLM (General Linear Model) for å se på sammenhengen mellom lagringstid og produkt(type) innen de ulike egenskapene.



### 3.3 Mikrobiologisk holdbarhet på rå og varmebehandlet tare

#### 3.3.1 Prøveopparbeiding

Blokkfrost sukkertare og butare mottatt fra Seaweed AS den 01.09.16 ble kuttet opp med kniv (rustfritt stål). Uttak fra hovedblokk av sukkertare var 1755 gram og for butare på 1789 gram. Deretter ble den oppkuttete taren pakket i små poser. Hver pose inneholdt 25 g tare. Posene (Pa/PE 90 µm (20/70) Lietpak, Litauen) ble så vakuumpakket ved 95 % vakuum og etter dette fryst på ny. Ved oppstart av forsøket skulle taren varmebehandles på 80 °C, 90 °C og 95 °C i 15 minutter i tillegg til en rå - ikke - varmebehandlet kontroll før lagring. Varmebehandlingen ble gjort i vannbad av typen Lauda Ecoline E300 star edition, som var forhåndskalibrert (Fig. 6). Til dette ble det tatt ut 12 små vakuumpakkede poser for hver tare art til hver temperatur i tillegg til rå kontroll. For 90 °C varmebehandling ble det tatt ut 4 ekstra poser fra hver tare art, ettersom varmebehandlingen i dette tilfellet skulle logges med *Eval Flex* loggere (Fig. 6) for måling av tarens kjernetemperatur over 15 min.



**Figur 6. Eval Flex loggere oppsett og varmebehandling**

**A** viser ferdig pakkede vakuumposer hvor hver pose inneholdt 25 gram tare (butare/sukkertare), koplet til Eval Flex loggere (grønn slange med sensor for temperaturmåling av tarens kjernetemperatur i posen). **B** viser vannbad «Lauda 1» benyttet til varmebehandling av taren.

Etter hver behandling ble posene lagt i isvann i 15 minutter og deretter til lagring på 4 °C kjøøl. I første omgang ble det tatt ut tre paralleller for hver taretype fra hver av 80 °C, 90 °C, 95 °C og rå (ikke varmebehandlet, kontroll) som skulle representere null uttaket. Disse ble homogenisert og fylt i 15 ml plastikk rør for videre analyse. Resterende poser skulle ligge til langtids lagring ved 4 °C. Nye uttak ble utført etter 14, 26 og 42 dager.

### 3.3.2 Kimtall

Tare fra langtidslagring på 4 °C kjøøl ble tatt ut, homogenisert og total aerobt kimtall ble undersøkt ved bruk av utplatingsskåler med 200 µl homogenat spredt med automatisk assistanse fra Eddyjet Spiral Plater (Fig. 7). Dette ble gjort på Marine Agar for hver tare for hver av varmebehandlingsprøvene i tillegg til en rå kontroll. Skålene ble inkubert i 7 dager på 30 °C.



Figur 7. Eddyjet spiral plater

### 3.3.3 Kuldetolerante bakterier

Tare fra langtidslagring på 4 °C kjøøl ble tatt ut og homogenisert. Kuldetolerante bakterier ble undersøkt ved bruk av utplatingsskåler med 200 µl homogenat spredt med hjelp av Eddyjet spreader (49,2 µl). Dette ble gjort på Marine Agar for hver tare for hver av varmebehandlingsprøvene i tillegg til en rå kontroll. Skålene ble inkubert i 7 dager på 8 °C.

### 3.3.4 Sporedannere

Før analyse ble ferdig homogenat overført til sterile glassrør (> 3 timer ved 160 °C i tørr steril skap) og satt til vannbad på 80 °C i 12 minutt etterfulgt av avkjøling på is for hver tare for hver av varmebehandlingsprøvene, i tillegg til en rå kontroll. Aerobe og anaerobe sporedannere ble så kartlagt ved innstøpning av homogenat (1000 ml) med TSAYE medium i henhold til Nordisk Metodikkomité For Næringsmidler, metode nummer 189 (NMKL, 2008). Opprinnelig benyttes blodagar i metoden, men denne ble modifisert og tilpasset for TSAYE medium. Aerobe skåler ble plassert i poser opp ned til inkubasjon ved 30 °C og de anaerobe ble plassert i egne anaerobe bokser ved samme temperatur. Både aerobe og anaerobe (Fig. 8) skåler ble inkubert i 8 dager. Etter inkuberingstiden ble sporedannere kvantifisert på samme måte som for analyse for seleksjon av vekstmedium (kap.3.2.3 og 3.2.4)



Figur 8. Varmebehandlings forsøk på tare  
Aerobt og anaerobt oppsett

## 3.4 Undersøkelse av antall bakterier på fiskekake med sukkertare og butare

### 3.4.1 Prøvemateriale og produksjon

Blokkfrost sukkertare og butare mottatt fra Seaweed AS den 01.09.16 ble kuttet opp, etter å ha ligget på frys på – 35 °C. Uttak fra hovedblokk av hver tarevariant var på 325 gram. Det ble lagd standard fiskekakefarse, som kontroll med følgende ingredienser referert til i Tabell 1. Samme fiskefarse tilsatt tare ble benyttet, men med 55 % fisk og 5 % tare, se Tabell 2. Det ble produsert fiskekaker med sukkertare og butare. Resepten ble lagd med bakgrunn i en standard farseoppskrift fra Nofima i Stavanger som inneholdt 60 % fisk.

Tabell 1. Resept standard fiskekake (uten tare)

| Ingrediens               | Gram(g) | Prosent (%) |
|--------------------------|---------|-------------|
| Hysefilet                | 3900    | 60          |
| Salt                     | 65      | 1           |
| Løkpulver                | 9,75    | 0,15        |
| Potetstivelse            | 195     | 3           |
| Flytende margarin/smør   | 130     | 2           |
| Isvann                   | 650     | 10          |
| Helmelk                  | 1550,25 | 23,85       |
| Totalt innhold fiskekake | 6500    | 100         |

Tabell 2. Resept fiskekake med tare

| Ingrediens               | Gram(g) | Prosent (%) |
|--------------------------|---------|-------------|
| Tare                     | 325     | 5           |
| Hysefilet                | 3575    | 55          |
| Salt                     | 65      | 1           |
| Løkpulver                | 9,75    | 0,15        |
| Potetstivelse            | 195     | 3           |
| Flytende margarin/smør   | 130     | 2           |
| Isvann                   | 650     | 10          |
| Helmelk                  | 1550,25 | 23,85       |
| Totalt innhold fiskekake | 6500    | 100         |

Rå tare ble forvellet i cirka 6 L (kokende) vann i 1 - 2 minutt ved jevnlig omrøring. Vann ble silt av taren og den ble lagt i isvann for hurtig nedkjøling og til taren hadde endret farge. Isvannet ble etter avkjøling silt av og taren ble klar til bruk. Det ble benyttet hyse da dens bindeevne gir en fin konsistens i fiskekakene. Fisken ble hakket med salt i 1 min til farsen ble seig. Saltet virker med proteinene i fisken og gir dermed den bestemte konsistensen. Deretter ble det tilsatt stivelse vekselvis med melk/isvann og olje/krydder.

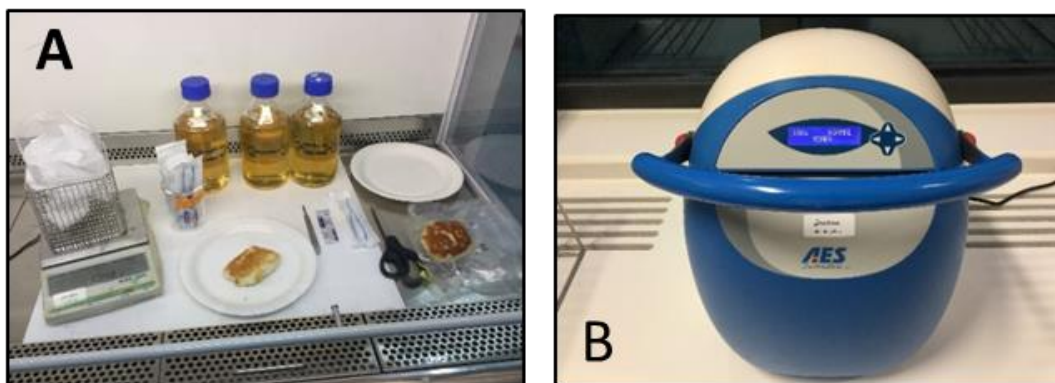
Når farsen ble 14 °C ble taren tilsatt og kjørt noen runder i hurtighakke (Garant Bowl chopper tabletop MTK 662, MADO, Tyskland), slik at taren ble kuttet opp i passe størrelse. Farsen ble så satt på 0 °C kjøli i 20 til 30 min før steking. Under steking ble fiskekakene stekt gyldne på panne til en kjernetemperatur mellom 75 °C og 80 °C (Fig. 9 A). Temperaturen ble målt ved bruk av foldetermometer med infrarød måling (testo 104 – IR). Kakene ble avkjølt i blåsekjøle (Metos Hurtignedfrys/kjølings - skap, BF161 AG, fra Metos, Sverige) og singelpakket i vakuumposer (Pa/PE 90 µm (20/70) Lietpak, Litauen) ved 95 % vakuumpakking (Supermax Vacuum Packer, - Webomatic) (Fig. 9 B, C) og til slutt satt til lagring på 4 °C kjøli.



Figur 9. Produksjon av fiskekaker  
Produksjon av fiskekaker illustrert ved steking (A), fordeling i poser (B) og vakuumpakking (C).

#### 3.4.2 Mikrobiell analyse på fiskekake

Etter produksjon ble fiskekakene analysert for aerobt kimtall og for sporedannere. Tre paralleller ble tatt ut fra forskjellige poser med standardfiskekake, fiskekake med sukkertare og fiskekake med butare, som ble tatt ut fra 4 °C kjøli. Det ble tatt ut 25 g av hver prøve. Prøvene ble så tilsatt bufret peptonvann, hvor forholdet mellom taren og løsningen var 1:10. Fiskekakene og peptonvannet (Fig. 10 A) ble tilsatt i Stomacher pose (Grade blender bags, separation 400) hvor fiskekakene ble homogenisert i Stomachermaskin (Lab Blender Smasher, AES laboratore) (Fig. 10B) i 180 sekunder. Ferdig homogenat ble så helt over i sterile plastrør på 15 ml. Utplatingen ble gjort manuelt og via Eddyjet spreder. Det samme ble gjort med fortyninger av homogenatet.



Figur 10. Fiskekake lagringsforsøk prøveuttak oppsett.  
A) Oppsett prøveuttak for fiskekake eksperiment. B) Stomachermaskin (Lab Blender Smasher, AES laboratore) benyttet til homogenisering av prøvemateriale av fiskekaker.

### 3.4.3 Lagringsperiode og uttak mikrobiologi

De mikrobiologiske undersøkelsene på fiskekake var planlagt med uttak etter 2, 4 og 6 uker. Grunnet høy mikrobiologisk aktivitet i uttak 4, ble siste uttak fremskyndet til 5 uker (36 dager).

### 3.4.4 Kvantifisering av bakterier og inkubering av skåler

Totalt aerobt kimtall ble kvantifisert som beskrevet i kapittel 3.3.2 for hver fiskekakevariant. Her ble det også benyttet modifisert Long and Hammer (Van Spreekens, 1974) med inkuberingstid i 5 - 7 dager ved 15 °C. Kuldetolerante bakterier ble kvantifisert slik som beskrevet i kapittel 3.3.3 og også her ble modifisert Long and Hammer benyttet med samme inkuberingstid som nevnt over. TSAYE medium ble også brukt med en inkuberingstid og temperatur lik som for totalt aerobt kimtall. Sporedannere ble kvantifisert slik som i kapittel 3.3.4, men selve utplatingen ble utført med Eddy Jet spreder og aerobe og anaerobe skåler ble inkubert ved 30 °C i 8 dager. Etter inkuberingstiden ble antall kolonidannende enheter på skålene undersøkt og skåler med mye vekst av presumptivt sporedannende bakterier ble mikroskopert.

### 3.4.5 Sensorikk fiskekake

Sensorikk tar for seg bedømmelsen av ulike produkter ved hjelp av sanser vi mennesker har. Vår evne til sansing er knyttet til sanseceller som er organisert i sanseorgan som øye, nese, øre osv. Organene detekterer og fanger sanseintrykk som gjennom nerveintrykk transporteres til hjernen for registrering og tolkning (Rødbotten, 2015) relatert til smak, utseende, lukt og farge av produktene. Kommersielt og forskningsmessig benyttes sensorikk som et allsidig og fleksibelt verktøy når det kommer til produkt prosessering/utvikling, kvalitetskontroll, mattrygghet og innovasjon. Dette innen gastronomi, industri og forskning. De sensoriske vurderingene utført i denne oppgaven på fiskekaker og pesto er basert på modifisert kvantitativ beskrivende analyser (QDA). De beskriver et produkts sensoriske profil innen utvalgte egenskaper i henhold til en ISO standard, i dette tilfellet ISO 13299:2003 (Rødbotten, 2015), med utgangspunkt i produktets endring av egenskaper over tid. Sensoriske analyser ble utført på 3 varianter fiskekake som standard (uten tare), sukkertare og butare. Smakspanelet bestod av fem trente personer fra Nofima's dommerpanel, som alle hadde blitt kalibrert med utgangspunkt i sensorisk analyse av tare og fiskekaker i henhold til ISO 13299 (ISO,2003); inkludert valg, deteksjon og annerkjennelse av karakteristiske egenskaper for tare/fiskekaker. De sensoriske egenskapene det ble lagt vekt på var lukt, utseende, smak, og tekstur. Ingen informasjon om produktene ble gitt ut på forhånd.

Lagringsforsøket ble utført mellom 2 – 6 uker og sensoriske undersøkelser var satt til 14, 28 og 48 dager. Analyse for tredje uttak ble fremskyndet og utført etter 36 dager da mikrobiologisk analyse, allerede etter 28 dager, viste høy bakteriell vekst. Før oppstart av QDA ble fiskekaker delt opp i to, hvor en halv fiskekake gikk til hver dommer. Fiskekakene var vakuumpakket med 3 fiskekaker i en pakke. To paralleller av hver variant inngikk i prøvematerialet. De var på forhånd kodet med tresifret kode, slik at identiteten til prøvene var ukjente for panelet. Prøvene ble lagt i små forhåndsoppvarmede porselensskåler. Disse ble satt på brett til oppvarming ved 50 °C i 15 minutter i kombidamper (SelfCooking Center Metos WE 201/20 fra Metos, Sverige), før vurdering og tildelt dommerne i randomisert rekkefølge. Det ble utført en kalibreringsrunde på en tilfeldig prøve av fiskekakene før hver bedømmelse, slik at dommerne fikk innstilt seg til produktet og innsikt i hvordan bedømmelsen skulle utføres. Dette med utgangspunkt i ISO standard 13299:2003 (Rødbotten, 2015) og vurdering ut ifra en nipunktsskala hvor 1 er lav intensitet, mens 9 er høy intensitet. De sensoriske egenskaper det ble bedømt for vises i Vedlegg 1.

## 3.5 kvantifisering av bakterier og holdbarhet på pesto med sukkertare og butare

### 3.5.1 Prøveproduksjon og lagring

Blokkfrost sukkertare og butare mottatt fra Seaweed AS den 01.09.16 ble kuttet opp. Uttak fra hovedblokk av hver tarevariant var 730 gram. Det ble både lagd sukkertarepesto og butarepesto hvor innholdet er beskrevet i Tabell 3. Resepten er sammensatt med inspirasjon fra ulike pesto oppskrifter fra forskjellige nettkilder. Tradisjonelt sett benyttes pinjekjerner i pesto, men i denne oppgaven ble disse erstattet med cashewnøtter.

Tabell 3. Oversikt innhold i produsert pesto med tare.

| Ingredienser   | Gram (g) | Prosent (%) |
|----------------|----------|-------------|
| Kokt tare      | 730      | 36,5        |
| Parmesan       | 359      | 17,95       |
| Cashewnøtter   | 141      | 7,05        |
| Hvitløk        | 32       | 1,6         |
| Rapsolje       | 730      | 36,5        |
| Hvit pepper    | 2        | 0,1         |
| Salt           | 6        | 0,3         |
| Totalt innhold | 2000     | 100         |

### 3.5.2 Oppskrift på pesto

Rå tare ble forvellet i cirka 6 L (kokende) vann i 1 - 2 minutt ved jevnlig omrøring. Deretter ble vann silt av taren, som så ble lagt i isvann for hurtig nedkjøling til fargeendring. Isvannet ble etter avkjøling silt av og taren klar til bruk. Hvitløk ble skrelt og grovhakket. Parmesan ble revet grovt på rivjern. Tare ble så veid inn sammen med parmesan, hvitløk, olje og hvit pepper (Tabell 3). Dette ble kjørt sammen i Robot Coupe Food processor R5 (fra Robot Coupe S.A, Frankrike) med horisontale kniver, på høy hastighet i 30 sekund. Deretter ble cashewnøtter tilsatt og kjørt på høy hastighet i 30 sekund. Pesto ble videre tilsatt salt for bedre smak. Til slutt ble den varmfylt på små glass (Kaviarglass 65 ml, fra Ardagh Glass, Danmark). Glassene i forkant varmebehandlet i kombidamper (SelfCooking Center Metos WE 201/20 fra Metos, Sverige) på tørr varme ved ca. 90 °C i 30 min. Varme glass ble fylt med varm pesto som hadde en temperatur på ca. 78 – 80 °C. Pesto stod på varm plate ved fylling og temperatur i gryten ble målt underveis og var over 80 °C. Lokk ble skrudd på glassene og de ble så satt opp ned.

Glass av varmfylt sukkertare og butare pesto ble til slutt fordelt slik at halvparten av pestoglassene ble lagret på 4 °C kjøll, mens den andre halvparten av pestoglassene ble lagret ved 20 °C. En oversikt over prosessen kan ses i Figur 11.



Figur 11. Tillaging av tarepesto med sukkertare og butare.

**A** viser oversikt ingredienser for produksjon av pesto med sukkertare og butare. **B** viser tare før kombinerer med andre ingredienser. **C** viser ingredienser etter miksing i blender. **D** viser glass med ferdig varmfylt pesto med tare.

### 3.5.3 Mikrobiell analyse av pesto

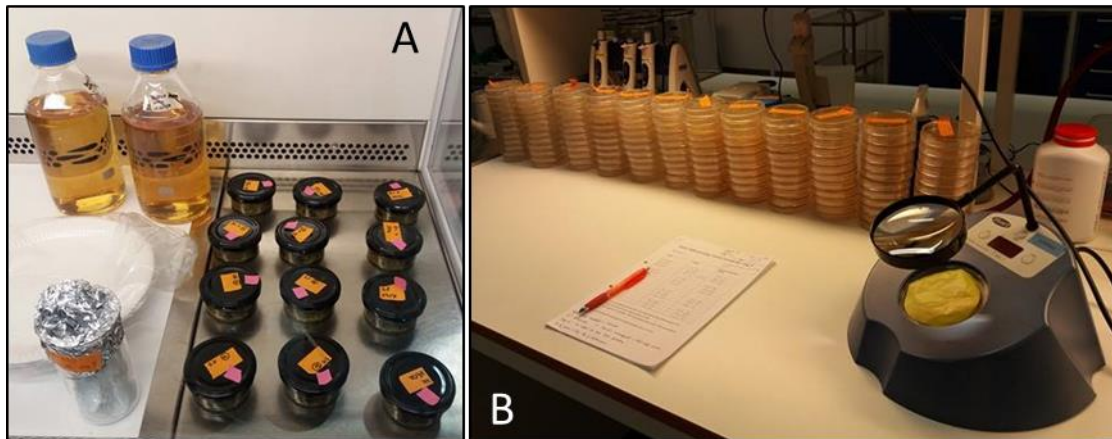
Etter pestoproduksjon ble tre glass av sukkertare - pesto og tre glass av butare - pesto analysert for aerobt kimtall og for sporedannere (aerobe og anaerobe). Disse glassene hadde på forhånd blitt lagret på 4 °C i et døgn for begge variantene og representerte analysens startpunkt.

De mikrobiologiske undersøkelsene på ferdig lagd pesto for både sukkertare og butare etter nulluttaket, skulle foregå over 0, 2, 6 og 12 uker. Ved uke 2 og 12 ble det utført analyser for 0, 4, 7 og 10 dager, hvor glassene mellom hvert uttak skulle åpnes og lukkes. Dette for å simulere bruken av pesto i vanlige husholdninger både ved romtemperatur og på kjøll. For uttak ved uke 2 og 12 ble alle pesto varianter med tare satt på 4 °C kjøll frem til neste dags uttak.



### 3.5.4 Prøveopparbeiding mikrobiologi

For hvert uttak ble tre glass av hver type tare, oppbevart på 4 °C kjøll og på 20 °C, analysert. For hver variant ved hver temperatur, ble det fra hvert glass tatt ut prøve med samme metode som for fiskekake (3.4.2) men i dette forsøket ble det tatt ut 15 g etterfulgt med 150 g peptonvann før homogenisering (Fig. 12A).



**Figur 12. Pesto lagring forsøks prosess.**

**A** viser prøver av sukkertare og butare (3 paralleller av hver variant) fra både kjøll 4 °C og romtemperatur 20 °C klargjort til homogenisering. **B** viser Kvantifisering av kolonidannende enheter for utplating av pesto homogenat på vekstmedium etter inkubering.

### 3.5.5 Kimtall og sporedannere

Totalt aerob kimtalls undersøkelse ble utført på samme måte som for fiskekake (kap. 3.4.4) med unntak av at Long and Hammer ble erstattet med PCA. Aerobe og anaerobe sporedannere ble undersøkt på samme måte som for fiskekake (kap. 3.4.4), på TSAYE medium. Etter inkuberingstiden ble antall kolonidannende enheter på skålene undersøkt (Fig. 12B) slik som for fiskekaker (kap. 3.4.4).

### 3.5.6 Sensorisk analyse på pesto

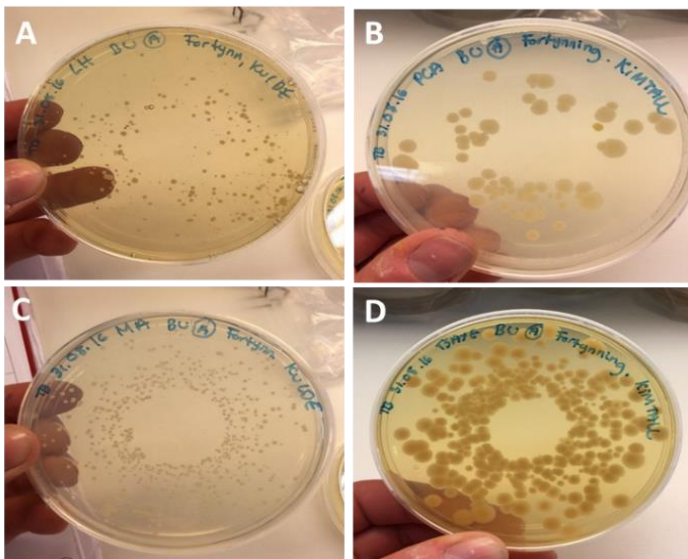
Sensoriske analyser ble utført på pesto, men med andre sensoriske egenskaper (Vedlegg 2) med samme ISO standard, analysemetode, datainnsamling og behandling, som for lagringsforsøk med fiskekaker (3.4.5). Lagringsforsøket for pesto gikk over 12 uker. Sensoriske analyser ble utført etter 2 og 12 uker. Pesto lagret ved 4 °C ble satt inn i 20 °C skap kvelden før for temperering. Før oppstart ble det utført en kalibreringsrunde på en tilfeldig prøve av pesto, slik at dommerne fikk innstilt seg produktet og fikk innsikt i hvordan bedømmelsen skulle ta form av de to pesto variantene (lagret på 4 °C og 20 °C romtemperatur) for sukkertare og butare. Prøver ble før hver vurdering rørt om, for å blande inn utskilt olje med resten av pestoen før den ble fordelt til hver av dommerne. Hver av dem fikk servert ca. 12 g pesto i kodede plastbeger og to paralleller fra hver variant. Prøvene ble servert i randomisert rekkefølge.

## 4. Resultater

Totalt aerobt kimtall og sporetall ble benyttet som mål for kvantifisering av mengden bakterier i tare. Inkuberte skåler for hvert forsøk ble undersøkt og antall kolonier ble telt for de ulike bakterier og de ulike skålene for beregning av cfu/g. Beregnede verdier ble så satt inn i stolpediagram med hjelp av Excel programvare. For å bekrefte om sporedannere var tilstede, ble et utvalg av skåler tatt ut til mikroskopering av levende preparat for å identifisere om bakteriene var staver, kokker eller sporedannere.

### 4.1. Seleksjon av vekstmedium

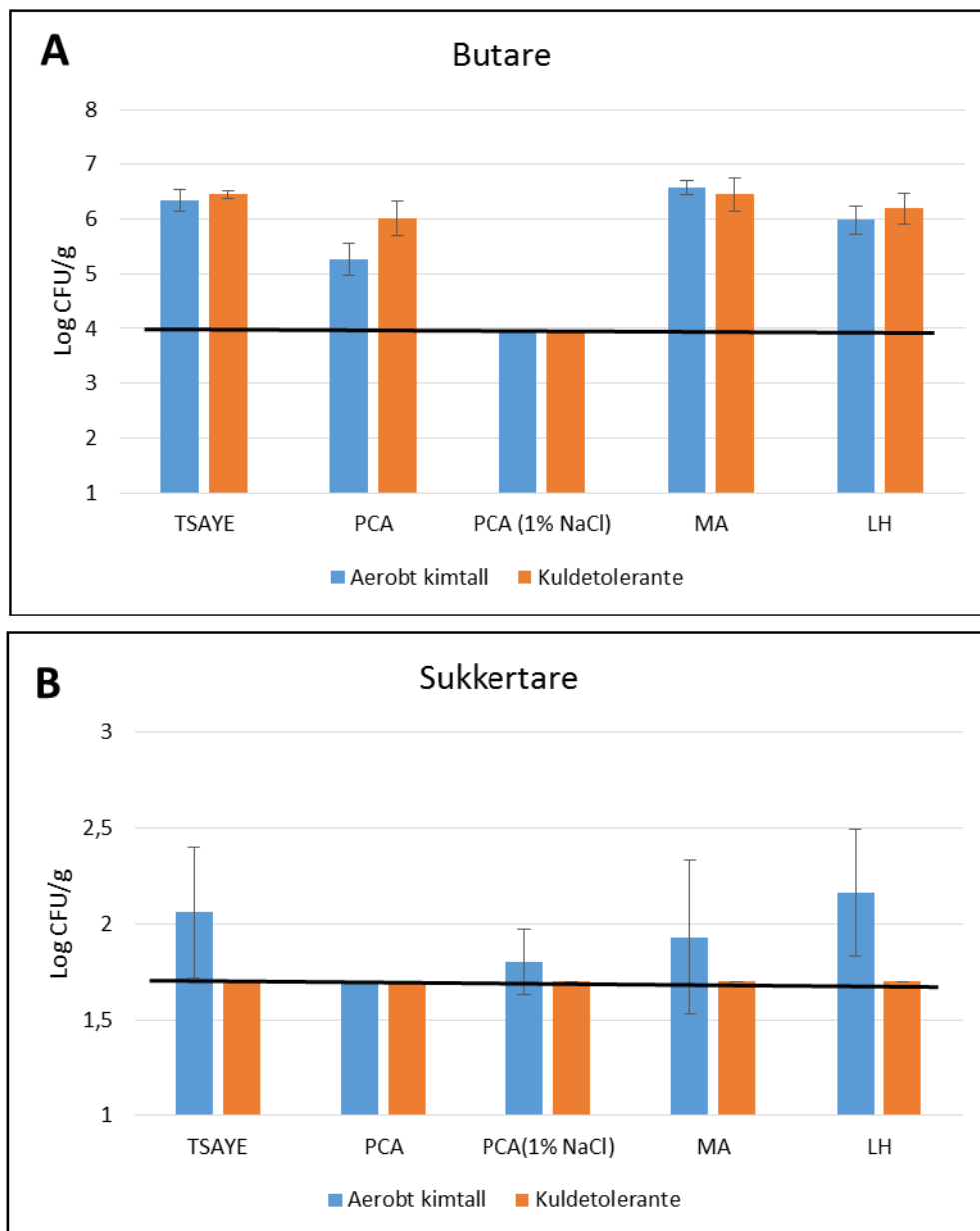
Det ble observert bakterievekst for begge tarearter, både for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier. Deteksjonsgrensen ble satt til en bestemt verdi cfu/g. Dette vil si at det ble observert vekst med maksimalt én koloni på næringsagarskålene. Det ble funnet stavformede bakterier på skåler med Marine agar, Long and Hammer, PCA OG TSAYE, men ikke på PCA m/1% NaCl (Fig. 13). Det var statistisk signifikant mer vekst å finne på MA sammenlignet med LH ( $p = 0,025$ ) og PCA ( $p = 0,011$ ). Utover dette var det ingen statistisk signifikante forskjeller (Fig. 14).



**Figur 13. Analyse for seleksjon av vekstmedium**

Utvalg av skåler med vekst i sukkertare og butare for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier på ulike næringsmedium, som vist i A-B-C-D. Skåler for totalt aerobt kimtall ble inkubert ved 30 °C i 7 dager. Skåler for kuldetolerante bakterier ble inkubert ved 8 °C i 7 dager. **A** viser vekst av butare på Long and Hammer medium for kuldetolerantebakterier. **B** viser vekst av butare på PCA medium for kuldetolerante bakterier. **C** viser butare på Marine agar for kuldetolerante bakterier. **D** viser vekst av butare på TSAYE medium for totalt aerobt kimtall.

Stolpediagrammet i Figur 14 viser et logaritmisk plott med cfu/g mot tareartene og de ulike mediumene benyttet i forsøket.

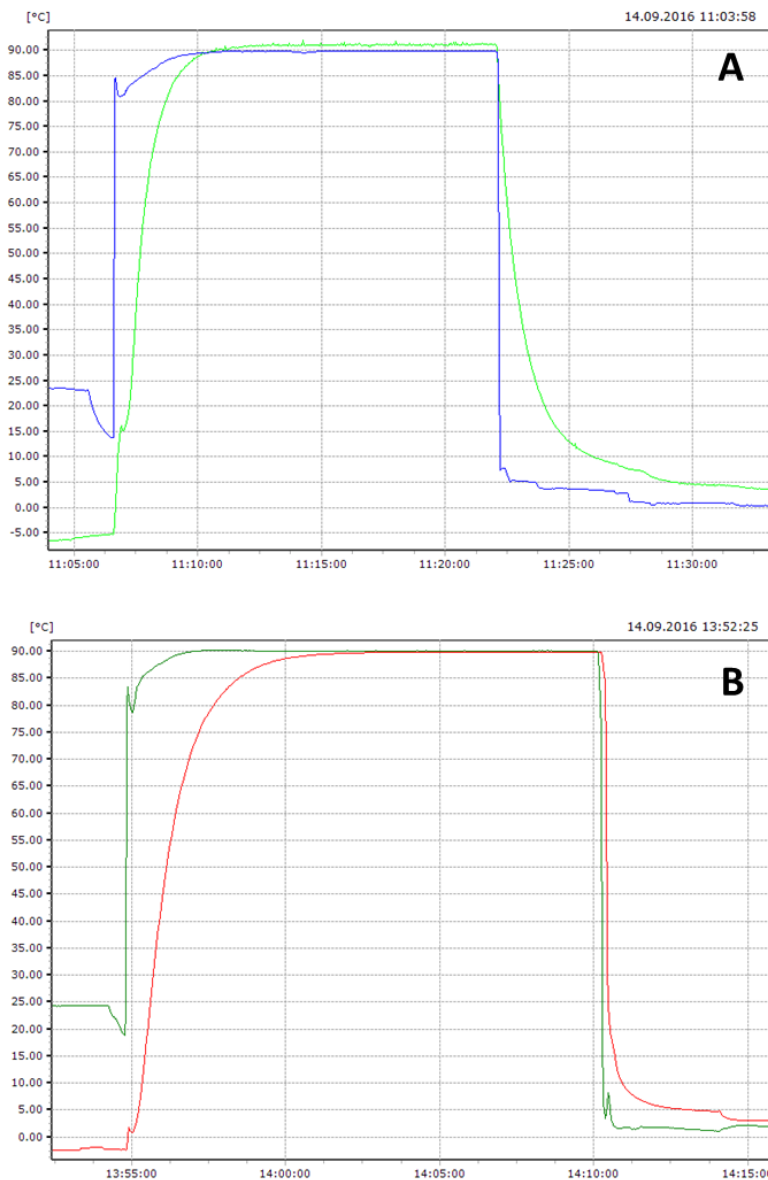


Figur 14. Sammenligning av 5 næringsmedium for bakterievekst med rå butare og sukkertare. Mikrobiologisk vekst av butare (A) og sukkertare (B) for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier på ulike næringsmedium som Marine agar, PCA, PCA (1% NaCl), TSAYE og Long and Hammer etter inkubering ved 30 °C i 7 dager. Kuldetolerante bakterier ble inkubert ved 8 °C i 7 dager. Standard avvik er inkludert og deteksjonsgrensen er definert med en horisontal linje og ligger på 3,95 cfu/g for butare og 1,70 cfu/g for sukkertare.

## 4.2 Mikrobiologi av tare på vekstmedium etter varmebehandling

### 4.2.1 Logging av kjernetemperatur

En del av varmebehandlingseksperimentet med sukkertare og butare gikk ut på å måle kjernetemperatur i begge tarearter ved en varmebehandling på 90 °C i 15 min med Eval Flex loggere. Dette ble gjort for å kontrollere temperaturen i vannbadet og for å undersøke kjernetemperatur i tareprøvene. Se Fig. 15A og B.



**Figur 15. Temperaturlogging for varmebehandlet sukkertare og butare**

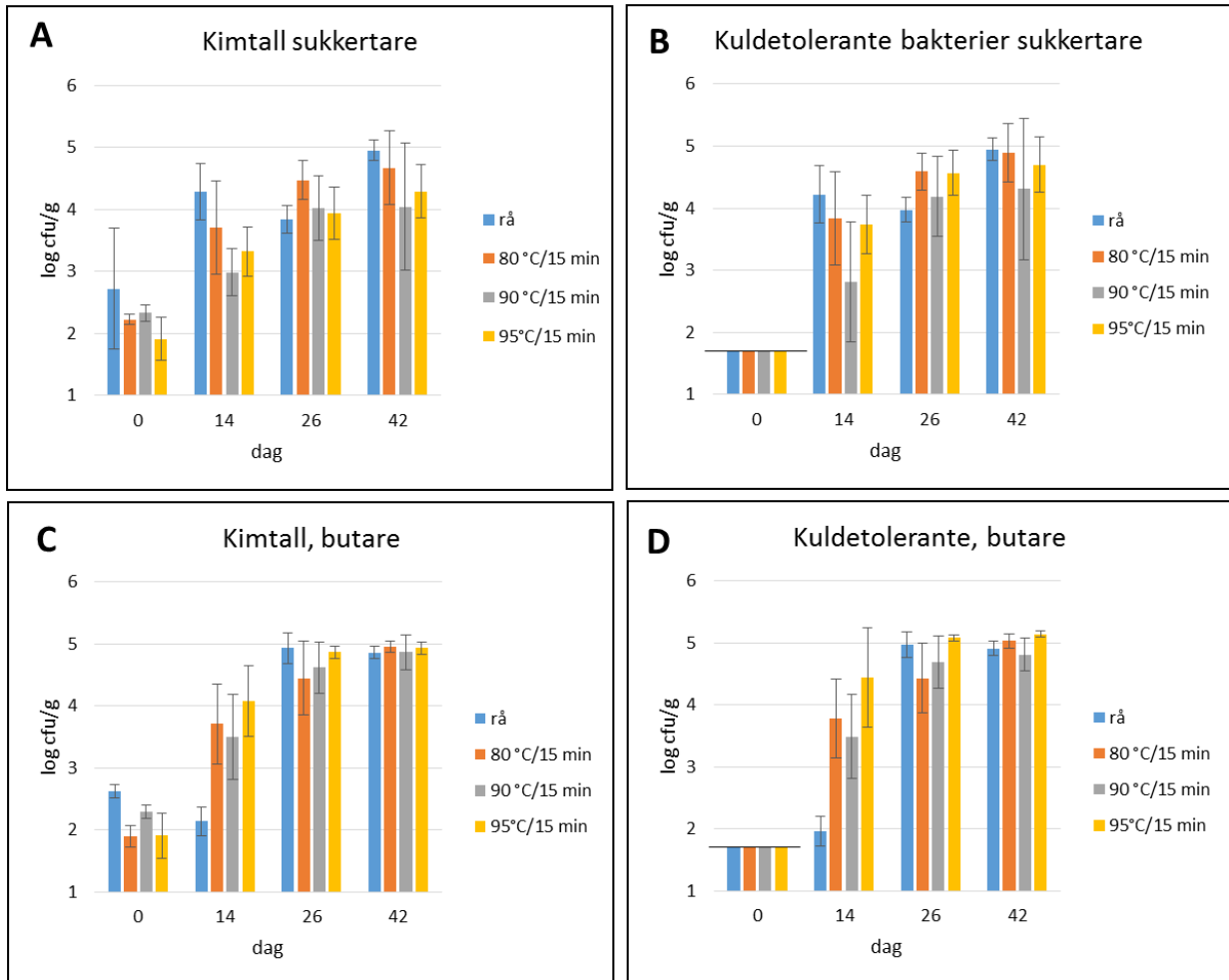
**A** viser temperaturlogging av kjernetemperatur på butare varmebehandlet ved 90 °C i 15 min. Varmebehandlingen startet litt under 15 min da det krevdes tid for å komme opp i temperatur. Behandlingen ved 90 °C varte i ca. 10 minutt. **B** viser temperaturlogging av kjernetemperatur på sukkertare varmebehandlet ved 90 °C i 15 min. På samme måte som i A, tok det tid før angitt temperatur var nådd. Temperatur for tare er presentert som grønn linje i A og som rød linje i B sammenlignet med temperaturen i vannet rundt posene.

#### 4.2.2 Mikrobiologi på varmebehandlet tare

Det ble observert bakterievekst for begge tarearter for totalt aerobt kimtall, kuldetolerante bakterier og for sporedannere. Nulluttaket (dag 0) gav for begge tarearter ved de samme temperaturer og for rå tare, lave kolonitall for kimtall. Dette gjaldt for kuldetolerante bakterier og sporedannere. For varmebehandling av tare på 80 °C i 15 min var det med utgangspunkt i kimtall og kuldetolerantebakterier, mye vekst for begge tareartene i alle uttak for dag 14, 26 og 42. Det samme gjaldt for behandling ved 90 °C og 95 °C og for rå tare for begge variantene for kimtall og kuldetolerante bakterier i tre av fire forsøk.

For aerobe og anaerobe sporedannere ble det funnet, for begge tarevariantene, lite bakterievekst på noen skåler mens det samtidig ble observert svermende og i flere tilfeller tilsynelatende heterogene strukturer. Da det ble vanskelig å skille kolonidannende enheter fra hverandre, ble et minstemål på antall bakterier tilstede telt. Resultatene for antall presumptive sporedannere er dermed oppgitt som et minstemål for de to tarevariantene ved de ulike temperaturene og for rå ikke - varmebehandlet tare. Ved observasjon av skålene så det ut som om de anaerobe skålene hadde minst vekst, mens de aerobe ved noen paralleller ved hver temperatur for begge tarevarianter, gav overvekst. Lagringsforsøket med rå og varmebehandlet tare, vakuumpakket på 4 °C, viser at bakterievekst øker ved lagring og utover 14 dager ser denne økningen ut til å være uavhengig av varmebehandling.

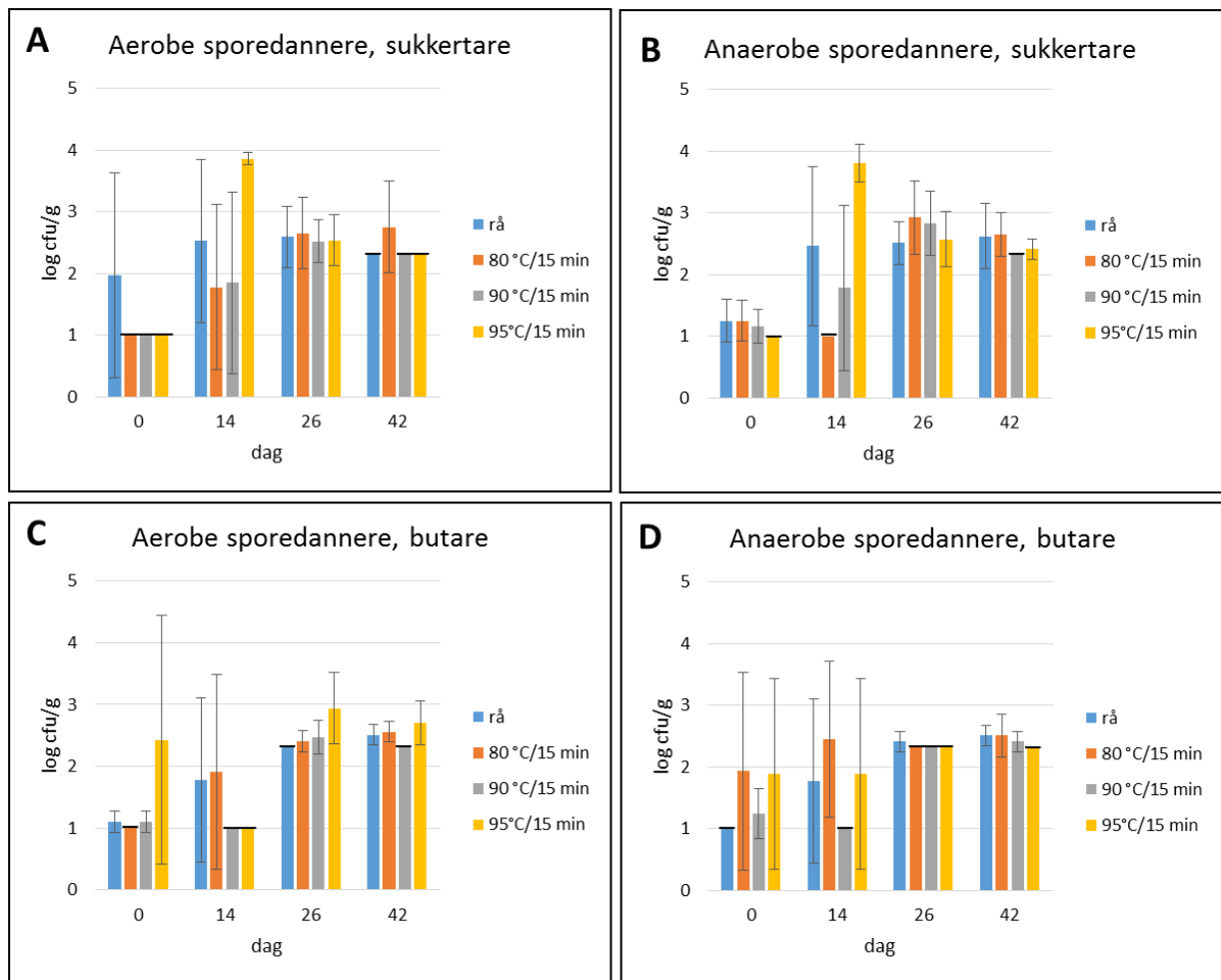
Stolpediagrammet i Figur 16 viser et logaritmisk plott med cfu/g mot tareartene og de ulike mediumene i lagringsperioden på 0, 14, 26 og 42 dager for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier for de to tareartene, ved de ulike varmebehandlingene som ble utført.



Figur 16. Grafisk fremstilling av mikrobiologisk vekst i rå og varmebehandlet tare.

Viser vekst av rå og varmebehandlet tare på Marine agar for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier for sukkertare (A, B) og butare (C, D). Den heltrukne linjen markerer en deteksjonsgrense angitt i cfu/g.

Stolpediagrammet i Figur 17 viser et logaritmisk plott med cfu/g mot tareartene og de ulike mediumene i lagringsperioden på 0, 14, 26 og 42 dager for totalt aerobe og anaerobe sporedannende bakterier for de to tareartene, ved de ulike varmebehandlingene.

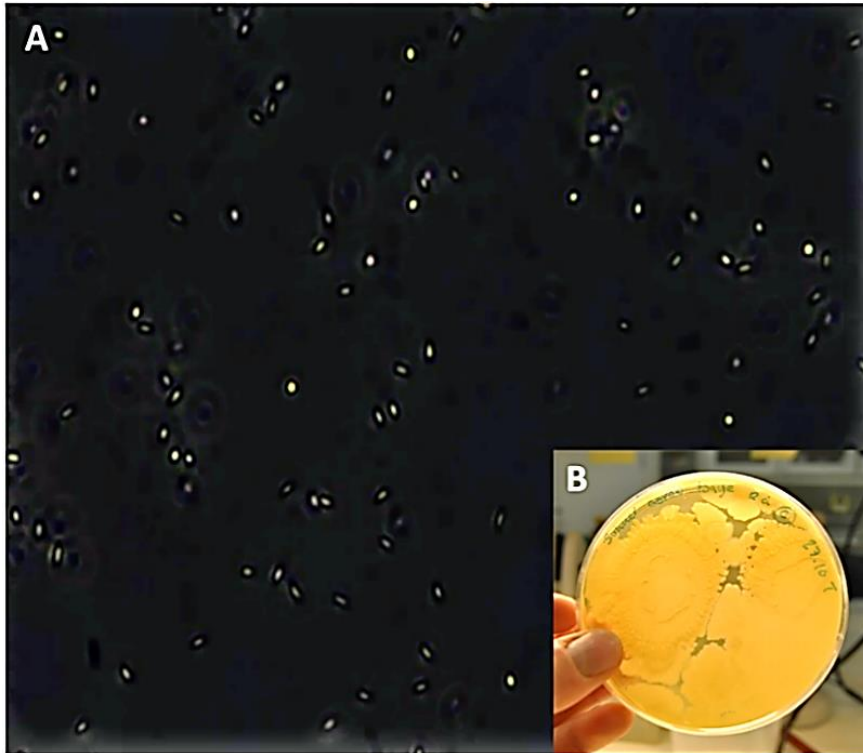


Figur 17. Grafisk fremstilling av mikrobiologisk vekst i rå og varmebehandlet tare.

Viser vekst av rå og varmebehandlet tare på TSAYE medium for aerobe og anaerobe sporedannere for sukkertare (A, B) og butare (C, D). Inkubering ved 30 °C i 8 dager. Den heltrukne linjen markerer en deteksjonsgrense angitt i cfu/g.

### 4.2.3 Mikroskopering

Veksten som ble observert ble undersøkt og det ble ved mikroskopering påvist sporedannende bakterier i Figur. 18A. Svermende struktur på plate ses i Fig. 18B.



**Figur 18.** Mikrobiologisk analyse av varmebehandlet tare  
Mikroskopi av bakterier **(A)** og mikrobiologisk vekst på skåler med næringsmedium **(B)**  
etter varmebehandling av rå sukkertare pour plated i TSAYE medium. Inkubering var ved  
30 °C i 8 dager og gjaldt for uttak etter 42 dager. Mikroskopering gav 400x forstørring og  
sporer ble identifisert ved at de lyste opp i mikroskopet.



## 4.3 Holdbarhet på fiskekake med og uten tare

### 4.3.1 Pilotforsøk med fiskekaker

Testproduksjons forsøket for fiskekaker er ikke tatt med i fokus i denne oppgaven, men det nevnes at dette ble utført som et pilotforsøk for å kartlegge og teste oppskrifter og prosedyrer med fiskekaker med tare og de ulike medium som skulle benyttes for lagringsforsøket med fiskekaker.

### 4.3.2 Lagringsforsøk med fiskekaker

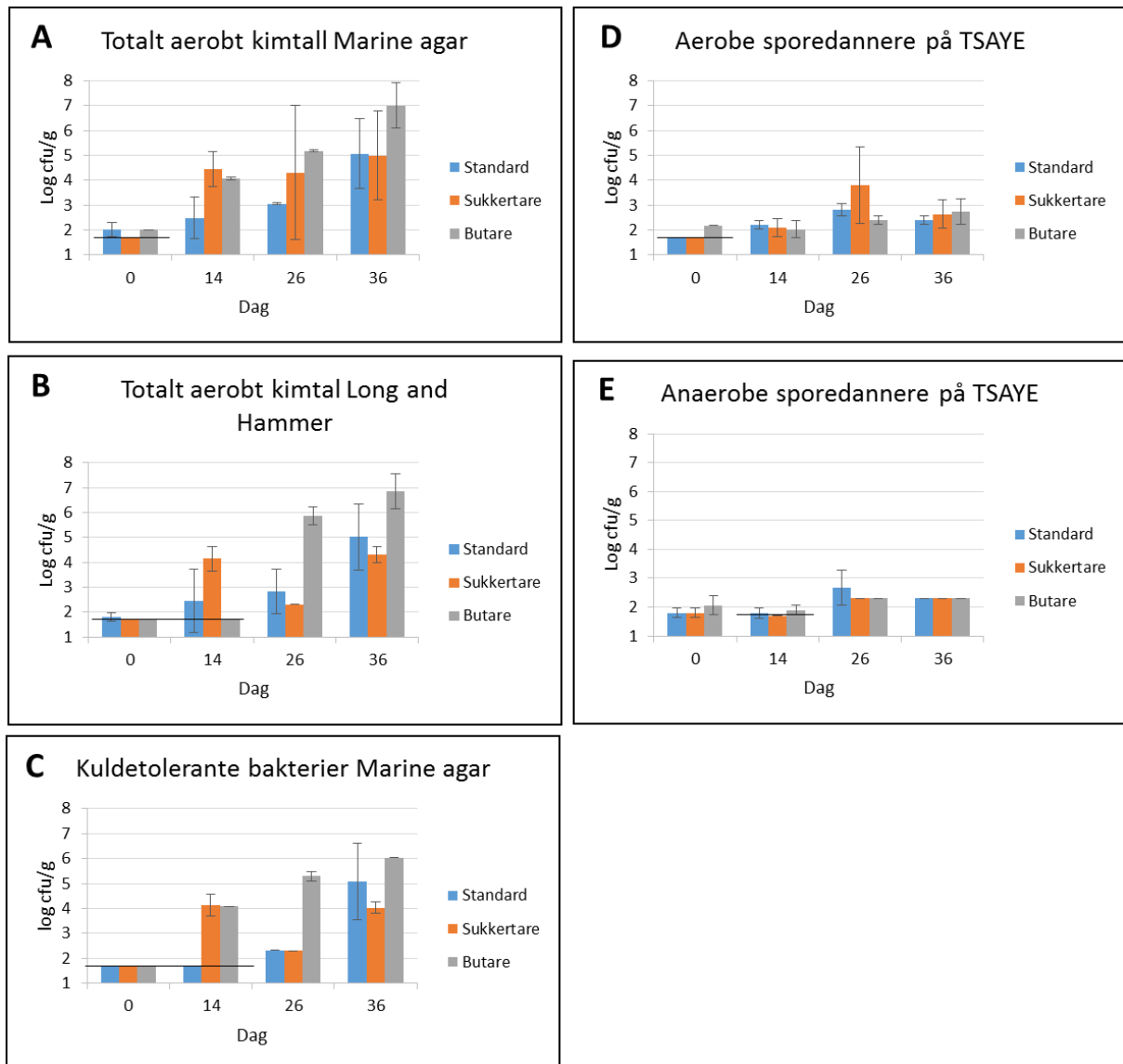
Forsøk med fiskekaker ble gjort med fiskekake uten tare (standard), fiskekake med sukkertare og fiskekake med butare. Dag 42 av lagringsforsøket ble forskjøvet frem til dag 36, da mikrobiologiske resultater og sensoriske analyser for uttak ved dag 26, viste tegn til høy mikrobiologisk aktivitet og dårlig holdbarhet på produktene. Utviklingen av bakterievekst over tid så ut til å øke for totalt aerobt kimtall, mens for sporedannere holdt den samme utviklingen seg lav og stabil.

Ved dag 0 ble det funnet vekst for kimtall for alle fiskekakevariantene på Marine agar (Fig. 19A). På noen av skålene var det lite/ingen vekst, mens skåler med homogenat fra fiskekake med spesielt sukkertare og butare kunne ha hele overflaten dekket med et hvitt tynt bakterielag. Det var ingen kuldetolerante bakterier å finne på samme medium for de tre fiskekakevariantene. På Long and Hammer medium (Fig. 19B) ble det observert lav vekst for alle fiskekakevarianter for totalt aerobt kimtall ( $10^2$  cfu/g). For sporedannere på TSAYE medium, ble det observert mye vekst i alle fiskekaketypene for aerobe sporedannere ( $10^2$ -  $10^4$  cfu/g) (Fig. 19D), da disse skålene i flere paralleller var preget av en lys-gul/brun vekst som dekket mesteparten av skålenes overflate. På anaerobe skåler ble det for alle fiskekakevariantene observert lite vekst (under  $10^3$  cfu/g) (Fig. 19E)

Det var mye vekst å finne på fiskekake platet ut på Marine agar for de tre fiskekakevariantene, med utgangspunkt i totalt aerobt kimtall ved dag 14 (opp imot  $10^4$  cfu/g). På noen av skålene dekket veksten hele flaten. Det samme gjaldt for kuldetolerante bakterier for fiskekake med sukkertare og butare, mens kuldetolerante bakterier ikke var å finne på standard fiskekake. På Long and Hammer medium for totalt aerobt kimtall, var det lite vekst for standard fiskekake ( $10^2$  cfu/g). Veksten på fiskekake med sukkertare ( $10^4$  cfu/g) og butare ( $10^2$  cfu/g) på samme medium var stor med dekkende vekst på overflaten av flere paralleller. For aerobe sporedannere ble det i alle tre fiskekakevarianter funnet litt vekst. For anaerobe sporedannere lå kolonitallet lavt.

På dag 26 ble det observert vekst på skåler på Marine agar for totalt aerobt kimtall for alle fiskekakevarianter ( $10^3$ -  $10^6$  cfu/g). Kuldetolerante bakterier ble ikke funnet på standard fiskekake, men på fiskekake med tare hvor skålene hadde noen paralleller med lavt kolonitall ( $10^2$  cfu/g) og andre skåler med dekkende vekst ( $10^6$  cfu/g). På Long and Hammer ble det observert lite vekst på skåler med homogenat av standard fiskekake, mens det for fiskekake med tare var mye heldekkende bakterievekst på flere paralleller. Det var generelt lite vekst på sporedannere for aerobe sporedannere og anaerobe sporedannere for alle fiskekakevarianter. Det ble funnet vekst på Marine agar både for kimtall og kuldetolerante bakterier for alle typer fiskekaker, men mest vekst var det å finne i fiskekake med butare ved dag 36 ( $10^7$  cfu/g) (Fig. 19). På Long and Hammer ble det observert vekst for kimtall i alle fiskekakevarianter, men mest bakterierkolonier var det å finne på fiskekake med butare. For aerobe sporedannere var kolonitallene lave, mens for anaerobe sporedannere var det enten ingen eller 1 koloni for hver parallell blandt de tre ulike fiskekakevariantene.

Stolpediagrammet i Figur 19 viser et logaritmisk plott med cfu/g mot de tre fiskekakevariantene og de ulike mediumene i lagringsperioden på 0, 14, 26 og 36 dager for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier.

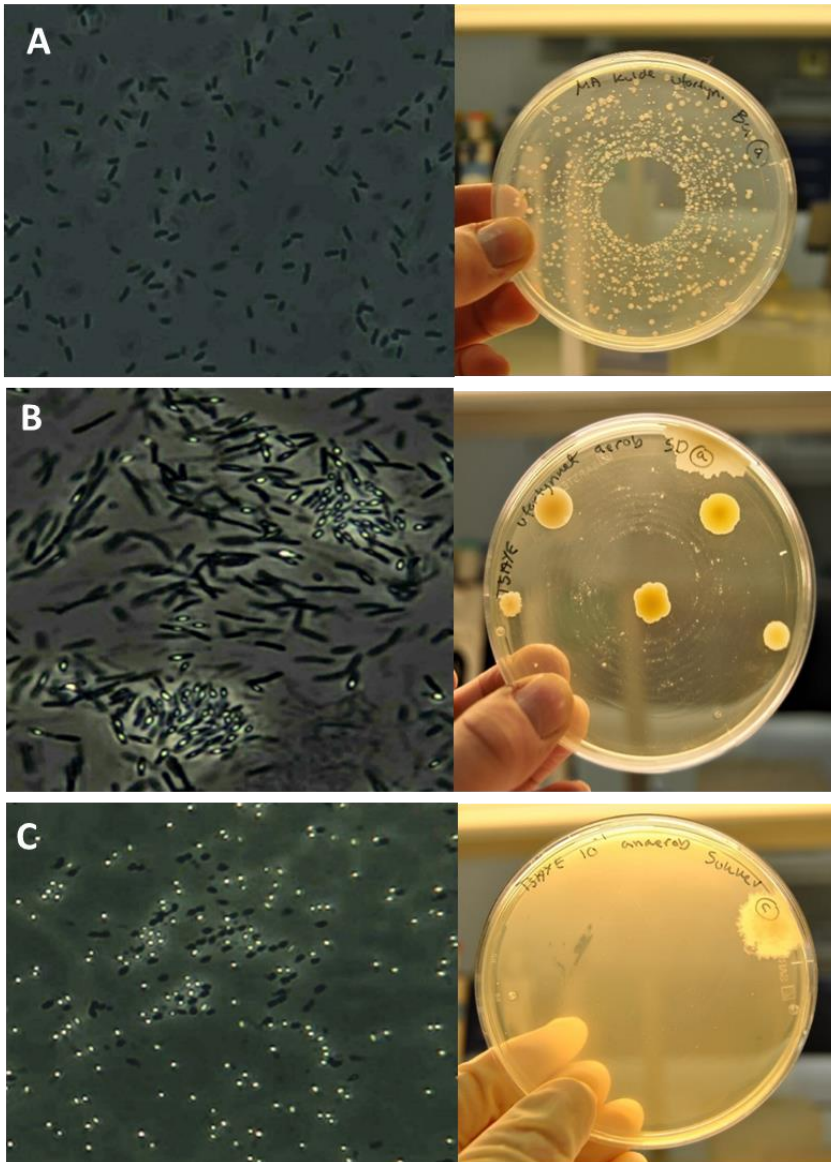


**Figur 19. Lagringsforsøk med fiskekake**

Mikrobiologisk vekst av fiskekaker uten tare (standard) og med sukkertare og butare platet ut på Marine agar og Long and Hammer næringsmedium, for totalt aerobt kimtall (A, B) og kuldetolerante bakterier (C), etter inkubering ved 30 °C i 7 dager for kimtall og 8 °C i 7 dager for kuldetolerante (15 °C i 5 -7 dager for Long and Hammer) over en lagringsperiode på 0, 14, 26 og 36 dager. Vekst av fiskekaker på TSAYE næringsmedium for aerobe (D) og anaerobe (E) sporedannere ble også undersøkt. Inkuberingstiden for sporedannere var ved 30 °C i 8 dager. Den heltrukne linjen viser deteksjonsgrense angitt i cfu/g.

### 4.3.3 Mikroskopering

Skåler med sporedannere for de tre fiskekakevariantene i lagringsforsøket ble mikroskopert og sporer ble påvist for aerobe og anaerobe sporedannere, illustrert i Figur 20. Skåler for totalt aerobt kimtall ble mikroskopert og det ble funnet sporer på skåler med Long and Hammer medium. Hovedsakelig var de å finne på homogenat fra standard fiskekake og fiskekake med sukkertare. For fiskekaker med butare på samme medium ble det kun påvist staver. For skåler med Marine agar ble det observert staver og kokker ved hver fiskekakevariant, for både totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier. Aerobe og anaerobe skåler ble mikroskopert og det ble påvist sporer i aerobe og anaerobe skåler for homogenat av fiskekaker med sukkertare og butare.



Figur 20. Lagringsforsøk med fiskekake

Mikroskopi (400x forstørning) og mikrobiologisk vekst av fiskekaker etter 26 dager spredt på næringsmedium som Marine agar og TSAYE for kuldetolerante bakterier, samt aerobe og anaerobe sporedannere. Kuldetolerante bakterier ble inkubert ved 8 °C i 7 dager. Aerobe og anaerobe sporedannere ble inkubert ved 30 °C i 8 dager. **A** viser vekst av fiskekake med butare på Marine agar for kuldetolerante bakterier. **B** viser vekst av standard fiskekake, på TSAYE medium for aerobe sporedannere. **C** viser vekst av sukkertare på TSAYE medium, for anaerobe sporedannere.

#### 4.3.4 Sensorisk analyse på fiskekaker i lagringsforsøk

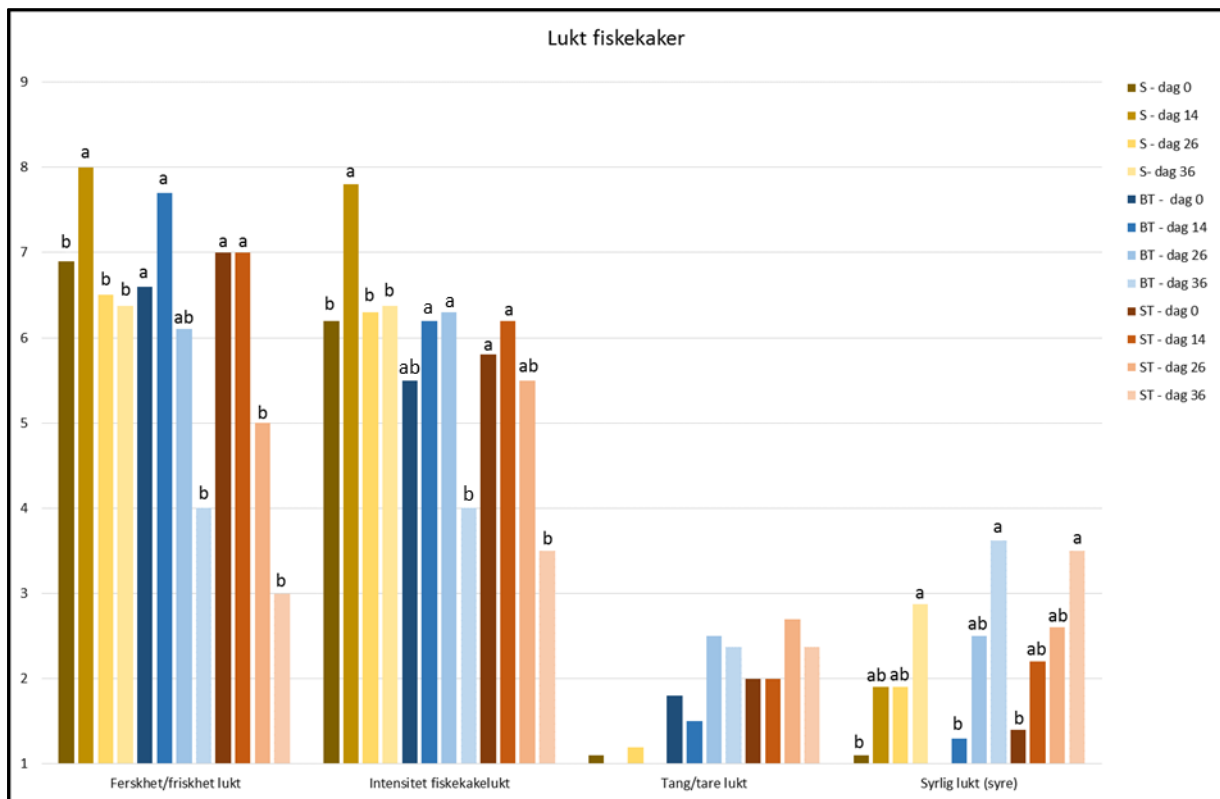
Vurderinger av sensoriske egenskaper for standard fiskekaker uten tare, fiskekaker med sukkertare og fiskekaker med butare over en lagringsperiode på 36 dager er representert i stolpediagrammene under i Figur 21, 22, 23 og 24. Innsamling og statistisk analyse av data ble utført slik beskrevet i kapittel 3.4.5, med vurdering av sensoriske egenskaper som vist i Vedlegg 1. Gjennomsnittsverdier og statistisk signifikans ved bruk av ANOVA enveis – varians analyse, vises i Vedlegg 3 for fiskekaker og resultater fra ANOVA GLM (General Linear Model) analyse vises i Vedlegg 4.

Figur 21 viser sensoriske egenskaper på fiskekaker med og uten tare basert på lukt. For egenskapen ferskhet/friskhet lukt ble denne oppfattet som høy i intensitet for alle varianter ved starten av lagringsperioden, men denne ble redusert ved dag 36. Fiskekake med butare etter 14 dager var signifikant forskjellig enn ved 36 dager, hvor de etter 14 dager hadde en høyere intensitet av frisk/frisk lukt ( $p = 0,001$ ). For fiskekake med sukkertare var det signifikant forskjell å finne mellom 14 og 26 dager ( $p < 0,001$ ), hvor fiskekake etter 14 dager ble oppfattet som friske, mens ved 26 dager ble de opplevd som mindre friskere. Fra GLM analyse ble det funnet signifikant forskjell for lagringstid og ikke produkttypene, hvor det ble funnet forskjell på fiskekake typene mellom 14 og 36 dager ( $p < 0,001$ ).

Intensiteten av fiskekakelukt var høy helt til dag 26 for alle varianter og gikk ned ved dag 36. Standard fiskekake etter 14 dager var signifikant forskjellig de andre standard variantene ( $p = 0,001$ ). Den ble opplevd som sterkere i intensitet av fiskekakelukt. Det var ingen signifikante forskjeller å finne for fiskekake med butare for egenskapen intensitet fiskekakelukt. For fiskekake med sukkertare var det signifikant forskjell å finne for fiskekaker mellom 14 og 36 dager ( $p = 0,007$ ), hvor fiskekaker fra dag 14 ble oppfattet som sterkere i intensitet av fiskekakelukt. Dette endret seg ved dag 36 hvor de mistet litt av fiskekakelukten. GLM analyse viste signifikant forskjell for både lagringstid ( $p < 0,001$ ) og produkt typene ( $p < 0,001$ ), hvor det tydelig kom frem endring i egenskapen etter 36 dager. Da skilte standard fiskekake skilte seg mest ut da denne var uten tare.

For tarelukt ble det for fiskekake med butare og sukkertare ikke funnet noen signifikante forskjeller. Intensiteten ble oppfattet som lav ved dag 0 og 14 og tendensen så ut til å øke for dag 26 og 36. GLM analyse viste ingen signifikant forskjell for lagringstid, men for produkt variant ( $p < 0,001$ ), hvor standard fiskekake skilte seg ut i og med at denne ikke inneholdt tare.

For egenskapen syrlig lukt, så denne ut til å være lav i intensitet for alle fiskekakevarianter i starten av lagringsperioden men økte i intensitet mot dag 36. For alle fiskekaker var det en signifikant forskjell å finne mellom dag 0 og dag 36 ( $p = 0,001$ ), hvor fiskekakene ble oppfattet som mer syrlige allerede etter 14 dager. GLM analyse viste at produktvariantene ikke var av betydning for endringer innen egenskapen. Derimot gav lagringstiden en effekt ( $p < 0,001$ ) hvor det ble funnet signifikant forskjell mellom dag 0 og 36.

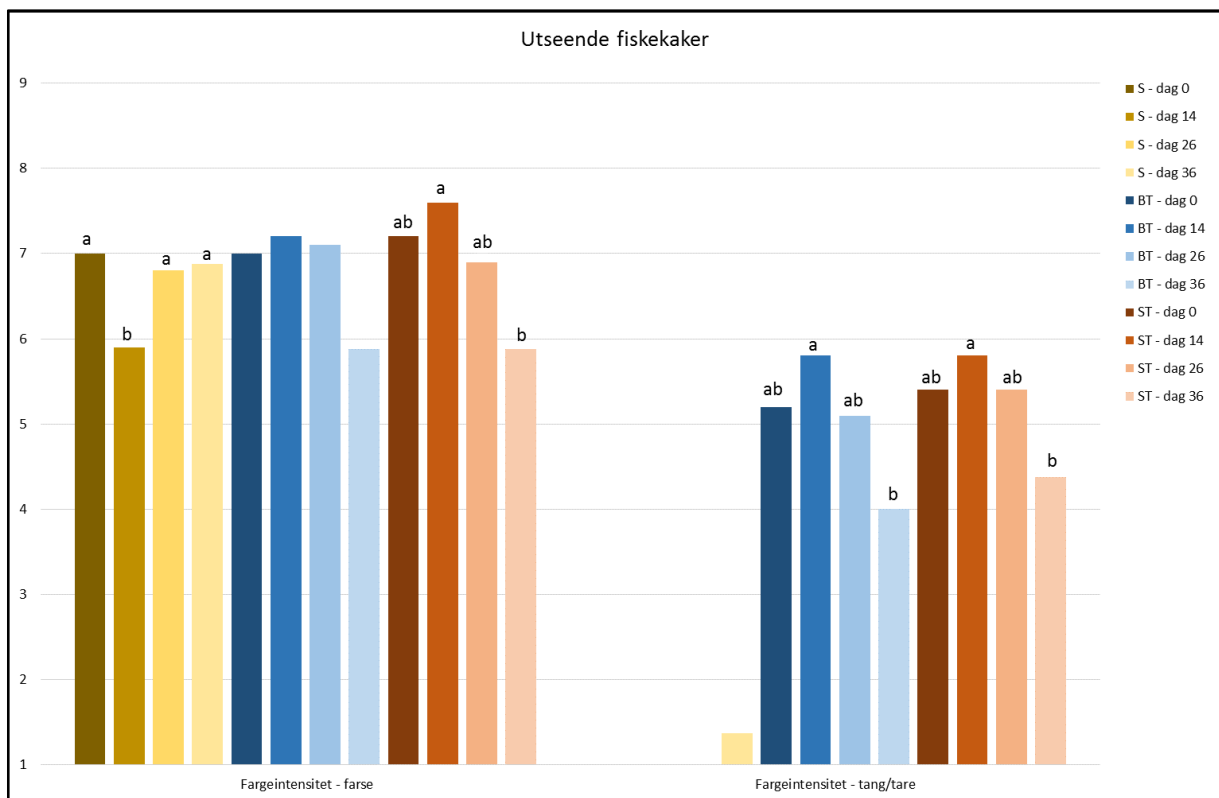


**Figur 21. Sensorisk analyse fiskekaker: lukt.**

Viser resultater fra bedømmelse av fiskekaker med standard - uten tare (S), butare (BT) og sukkertare (ST) over lagringsperioden på 0, 14, 26 og 36 dager ut ifra en nipunkts skala (Vedlegg 1). Viser sensoriske lukteegenskaper som ferskhet/friskhet, intensitet fiskekakelukt, tare lukt og syrlig lukt. Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

Figur 22 viser sensoriske egenskaper relatert til utseende av både fiskekake farsen og taren i kakene. Alle varianter av fiskekakene ble ansett for å ha høy fargeintensitet (hvit farse). For fiskekake med butare ble det ikke funnet signifikante forskjeller for egenskapen fargeintensitet – farse. For fiskekake med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell mellom dag 0, 14 og 36 ( $p = 0,030$ ), hvor fiskekaker etter 14 dager ble opplevd å ha høyere grad av hvithet på farsen, mens graden av hvithet ble redusert ved dag 36 for fiskekaker med tare. Fra GLM analyse ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller for produktvariantene, mens lagringstiden viste signifikant forskjell mellom dag 0 og 36 ( $p = 0,032$ ), hvor fiskekaker ved dag 0 ble opplevd å ha en hvitere farge på farsen.

For fargeintensiteten på tang/tare for standard fiskekake ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller da denne fiskekake varianten ikke ble lagd med tare. For fiskekake med butare ble det funnet signifikant forskjell mellom uttak etter 14 og 36 dager, hvor fargeintensiteten på tang/tare ble opplevd som sterkere i intensitet etter 14 dager ( $p = 0,006$ ). For fiskekake med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell mellom 14 og 36 dager ( $p = 0,037$ ), hvor fiskekaker etter 14 dager hadde en sterkere fargeintensitet mot en mer grønnlig tone. Etter 36 dager hadde fiskekakene mindre fargeintensitet på tang/tare hvor denne ble oppfattet til å ha en mer brunlig tone. GLM analyse viste signifikante forskjeller både for lagringstid ( $p = 0,003$ ) og produkttyper ( $p < 0,001$ ), hvor en forskjell i egenskapen for fiskekakene ble observert mellom 14 og 36 dager. Her var det standard fiskekake som skilte seg ut da denne ikke inneholdt tare. Av fiskekakene med tare var det sukkertare som viste mest fargeintensitet på tang/tare, sammenlignet med butare.



**Figur 22. Sensorisk analyse av fiskekaker: utseende**

Viser resultat fra bedømmelse av fiskekaker med standard - uten tare (S), butare (BT) og sukkertare (ST) over lagringsperioden på 0, 14, 26 og 36 dager ut ifra en nipunkts skala (Vedlegg 1). Viser fargeintensitet på fiskekake farse og tare.

Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

Figur 23 viser smak som sensorisk egenskap på fiskekaker med og uten tare. For egenskapen ferskhet/friskhet smak ble det for fiskekake med butare funnet signifikant forskjell mellom 26 og 36 dager ( $p < 0,001$ ), hvor fiskekaker ved dag 26 var friskere enn ved dag 36. Her var friskheten redusert. For fiskekake med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell for fiskekaker etter 14 dager ( $p < 0,001$ ), hvor fiskekaker etter 14 dager, ble opplevd som mindre friskere

GLM analyse viste at både type produkt og lagringstid var av betydning for endringene i egenskapen. Det ble funnet signifikante forskjeller for lagringstid ( $p < 0,001$ ) og produktene ( $p = 0,001$ ), hvor endringer til en mindre friskere smak oppstod mellom 26 og 36 dager.

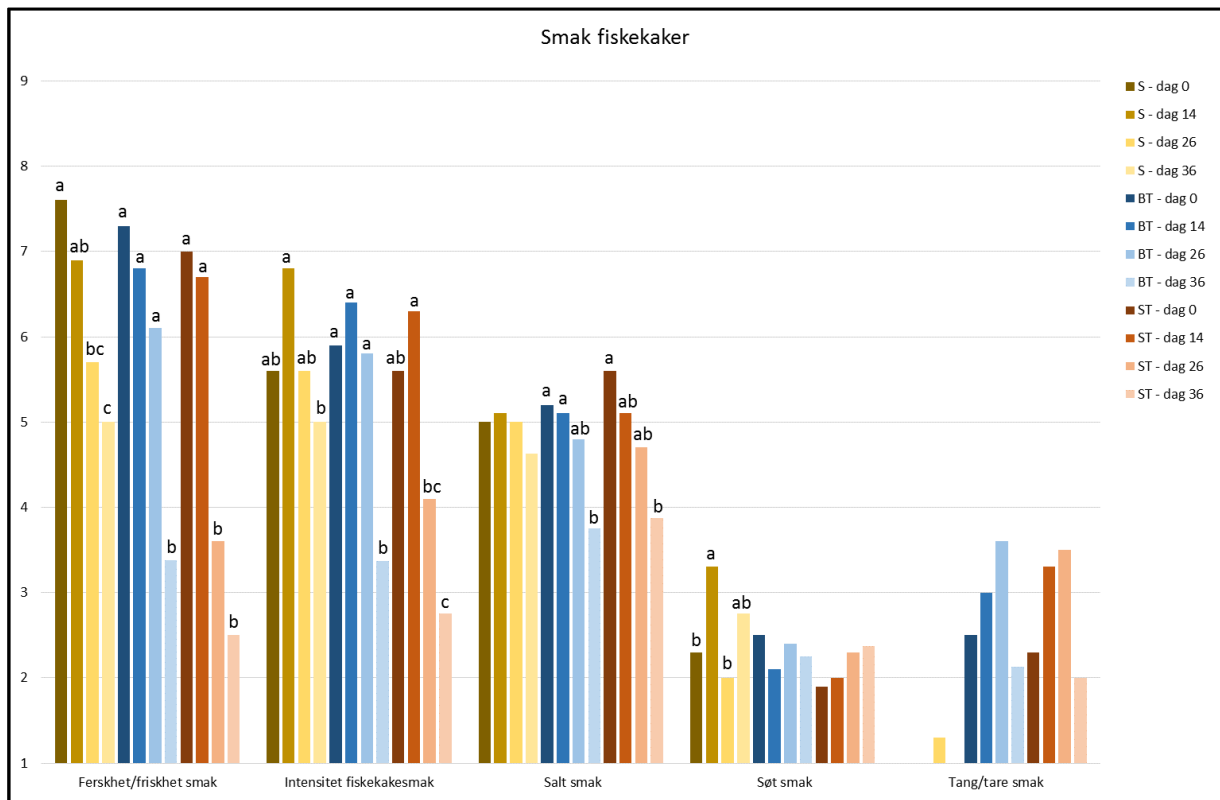
Intensiteten av fiskekakesmak ble opplevd som høy for alle varianter ved dag 0, 14 og 26. Ved dag 36 var denne egenskapen i fiskekakene redusert. For fiskekake med butare ble det funnet signifikant forskjell etter dag 26 og dag 36 ( $p < 0,001$ ), hvor fiskekaker etter 36 dager ble oppfattet til å ha mindre intensitet av fiskekakesmak. For fiskekake med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell for fiskekaker mellom 14 og 36 dager ( $p < 0,001$ ). Ved dag 14 ble opplevd å ha mer intensitet av fiskekakesmak, sammenlignet med uttak på dag 26 og 36. GLM analyse viste at både lagringstid og produkt gav en effekt på intensitet av fiskekakesmak. Det ble funnet signifikante forskjeller for lagringstid ( $p < 0,001$ ) og produkttyper ( $p = 0,006$ ), hvor fiskekaker med tare etter 36 dager ble opplevd å ha mindre grad av fiskekakesmak, mens standard fiskekaker hadde en høyere intensitet fiskekakesmak.

For saltsmak ble denne oppfattet som lik ved alle uttak for alle varianter ved dag 0, 14 og 26. Ved dag 36 hadde denne avtatt for variantene med tare. For standard fiskekake hadde den holdt seg lik. For fiskekake med butare ble det funnet signifikant forskjell mellom dag 0 og dag 36 ( $p = 0,011$ ), hvor fiskekakene etter 0 dager hadde en høyere salt intensitet. Etter 36 dager ble de opplevd å ha en lavere intensitet av saltsmak. For fiskekake med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell for fiskekaker mellom dag 0 og dag 36 ( $p = 0,008$ ). Ved dag 36 ble de opplevd å ha en lavere intensitet av saltsmak. GLM analyse viste kun signifikant forskjell for produkttyper ( $p < 0,001$ ) og ikke lagringstid. Endringer oppstod mellom 26 og 36 dager hvor fiskekakene fikk en lavere intensitet av salt smak. Dette gjaldt alle produktvarianter.

For egenskapen søtsmak ble det for fiskekake med butare og sukkertare ikke funnet signifikante forskjeller. GLM analyse viste ingen signifikante forskjeller for lagringstid. Det var signifikante forskjeller mellom produkt variantene ( $p = 0,048$ ), hvor standard fiskekake ble opplevd å ha en høyere intensitet av søtsmak.



For graden av tare smak for fiskekake med butare og sukkertare ble det ikke funnet signifikante forskjeller for egenskapen tang - tare smak. GLM analyse viste signifikante forskjeller for lagringstid ( $p = 0,002$ ) og produkttyper ( $p < 0,001$ ) hvor begge hadde bidratt til endringer i taresmak.



Figur 23. Sensorisk analyse fiskekaker: smak

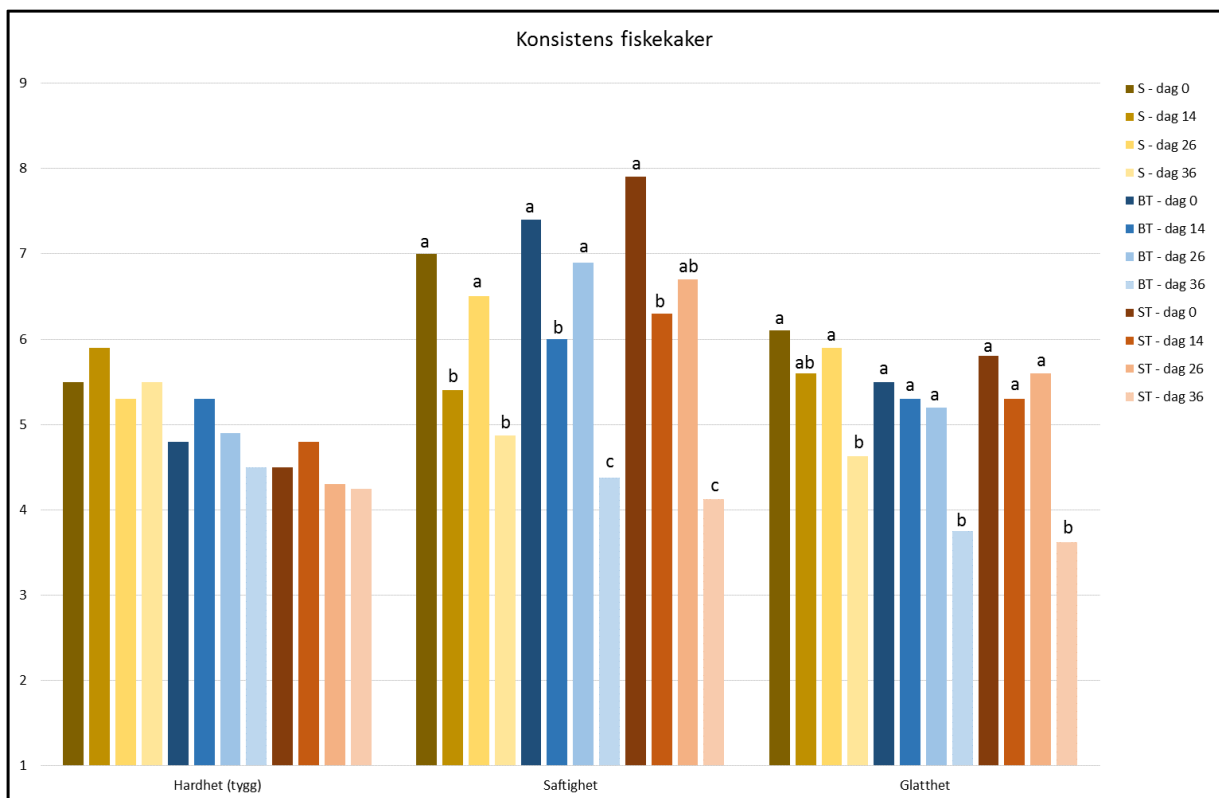
Viser resultater fra bedømmelse av fiskekaker med standard - uten tare (S), butare (BT) og sukkertare (ST) over lagringsperioden på 0, 14, 26 og 36 dager ut ifra en nipunkts skala (Vedlegg 1). Viser smak med vekt på ferskhet/friskhet, intensitet fiskekakesmak, salt smak, søt smak og taresmak. Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

Figur 24 viser konsistens i fiskekaker.

For hardhet, ble alle fiskekake varianter opplevd som faste. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller for egenskapen. GLM analyse viste at lagringstid ikke hadde effekt på hardhet. Det var signifikante forskjeller å finne mellom produkttypene ( $p < 0,001$ ) hvor standard fiskekake hadde en hardere konsistens enn fiskekaker med butare og sukkertare gjennom lagringsperioden.

For saftighet ble denne opplevd som høy frem til dag 36. Da ble saftigheten redusert i alle varianter. For standardfiskekake ble det funnet signifikant forskjell etter 26 dager. Saftigheten til kakene ble da opplevd som høyere for dag 0 og 26 ( $p < 0,001$ ). For fiskekake med butare ble det funnet signifikant forskjell mellom 14 og 36 dager ( $p < 0,001$ ), hvor fiskekaker etter 14 dager ble opplevd som saftigere enn ved dag 36 hvor de var mindre saftigere. For fiskekaker med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell for uttak etter 0, 14, 26 og 36 dager ( $p < 0,001$ ).

Fiskekaker ble etter dag 0 og 26 oppfattet som mer saftige enn fiskekaker ved uttak etter 14 og 36 dager. Fra GLM analysen hadde produkttypene ingen betydning for saftighet. Det var signifikant forskjell å finne for lagringstid ( $p < 0,001$ ) hvor noe skjedde med saftigheten utover lagringsforsøket slik at denne ble redusert mot dag 36. Glattheten i fiskekakene ble redusert for alle varianter ved dag 36. I standard fiskekake ble det funnet signifikant forskjell. Egenskapen endret seg mellom 0 og 36 dager. Fiskekakene ble oppfattet som mindre glatte etter 36 dager ( $p = 0,013$ ). For fiskekake med butare ble det funnet signifikant forskjell for uttak mellom 26 og 36 dager ( $p = 0,006$ ). Ved dag 36 ble oppfattet som mindre glatte. Det ble funnet signifikant forskjell for fiskekaker med sukkertare mellom 14 og 36 dager ( $p = 0,001$ ), hvor fiskekaker ved dag 14 ble opplevd som mest glatte og fiskekaker ved dag 36 ble opplevd som minst glatte sammenlignet med de andre uttakene. GLM analyse gav signifikante forskjeller for både lagringstid ( $p < 0,001$ ) og produkttyper ( $p = 0,032$ ). Begge disse hadde dermed påvirkning på fiskekakenes endringer innen egenskapen glatthet, hvor det skjedde noe under lagringsprosessen opp imot 36 dager. Mellom produktene var det standard fiskekake som ble opplevd som glattere enn fiskekakene med tare. Fra resultatene ble holdbarheten på fiskekaker med tare satt til 3 uker med bakgrunn i mikrobiologisk og sensorisk undersøkelse, da produktet ble regnet som trygt og med god kvalitet. Utover 3 uker med metoden benyttet i denne oppgaven var det ikke forsvarlig å konsumere fiskekaker grunnet høy mikrobiologisk vekst.



**Figur 24. Sensorisk analyse fiskekaker: konsistens**

Viser resultater fra bedømmelse av fiskekaker med standard - uten tare (S), butare (BT) og sukkertare (ST)) over lagringsperioden på 0, 14, 26 og 36 dager ut ifra en nipunkts skala (Vedlegg 1). Viser konsistens med utgangspunkt i hardhet, saftighet og glatthet. Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

## 4.4 Holdbarhet på pesto med tare

Analyser med pesto ble utført på to ulike pestovarianter (butare/sukkertare) ved to ulike temperaturer (4 °C / 20 °C). Begge typer pesto var lagret ved 4 °C i et døgn etter produksjon. Pestovariantene ble så fordelt på 4 °C og 20 °C for lagring. I forsøket ble det tatt ut tre paralleller for hver pesto variant ved hver temperatur. Før mikrobiologisk undersøkelse ble pH målt. pH i sukkertare pesto ble målt til 5,34 og pH i butarepesto ble målt til 5,50. Forsøket bestod av to deler hvor det skulle studeres mikrobiologisk kvalitet på glass med pesto variantene ved begge temperaturer over en periode på 84 dager (12 uker). I tillegg ble det utført åpningsforsøk for uke 2 og uke 12 hvor pestoglassene for begge pestovarianter ved begge temperaturer skulle åpnes og røres i for å undersøke holdbarhet på pesto med tare etter åpning for simulering av vanlig bruk. For disse ukene (2 og 12) skulle uttak gjennomføres for dag 0, 4, 7 og 10. Mellom hvert uttak ble pestoglassene satt tilbake til 4 °C.

### 4.4.1 Langtidslagring pesto

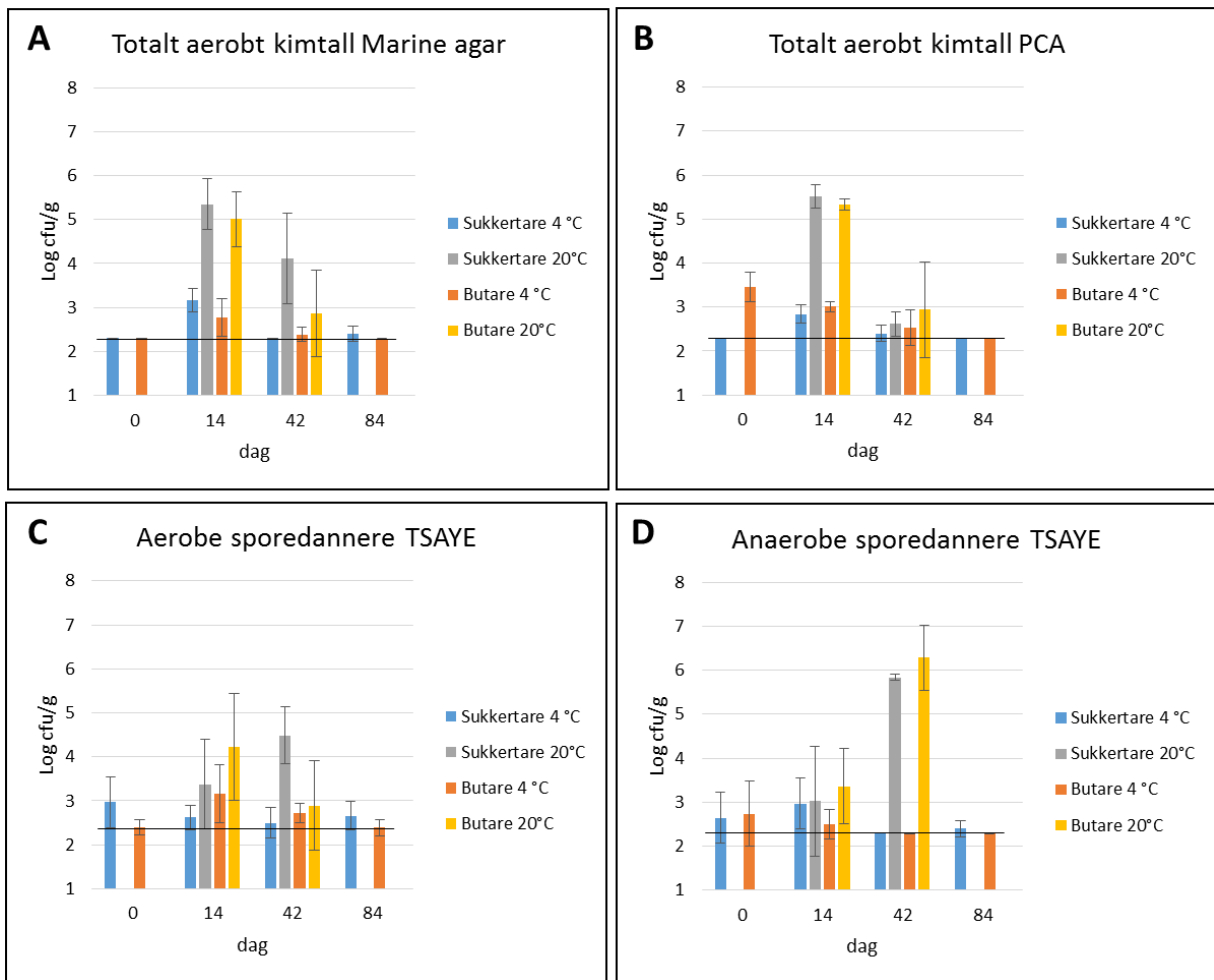
Resultatet for forsøk for pesto med tare, utført over 84 dager (2, 6, 12 uker), ble undersøkt for bakteriell vekst. Utviklingen av denne undersøkelsen illustreres og følges i det logaritmiske plott i Figur 25. Pesto lagret ved 20 °C utgikk grunnet redusert holdbarhet ut ifra de mikrobiologiske resultatene allerede ved dag 42 da denne var svært høy ( $10^6$  -  $10^7$  cfu/g).

Det ble det observert vekst for totalt aerobt kimtall for begge pestovarianter ved begge temperaturer i alle uttak på både Marine agar og PCA næringsmedium. I nulluttaket var det mulig å observere vekst for pestovariantene for totalt aerobt kimtall i form av enkelt kolonier og sverming. Kolonitallet var generelt sett under deteksjonsgrensen (Fig. 25A). Det ble observert sporedannere for begge pestovarianter lagret på 4 °C, men kolonitallet var lavt for aerobe og anaerobe sporedannere.

Etter 14 dager økte veksten spesielt for pesto med sukkertare og butare lagret ved 20 °C. Veksten var lavere for pesto med tare lagret på 4 °C. Denne trenden var å finne på skåler spredt på Marine agar og PCA (Fig. 25B). Vekst for begge pestovarianter ved begge temperaturer hadde økt for aerobe og anaerobe sporedannere. Det var mye vekst på pesto med tare lagret på 20 °C ( $10^5$  cfu/g).

Etter 42 dager så veksten ut til å gradvis avta for pesto med sukkertare og butare ved 20 °C og 4 °C spredt på Marine agar (Fig. 25A). Fremdeles var veksten for pesto med tare lagret på 20 °C preget av mye vekst i form av sverming. Det samme tilfellet oppstod for pesto med tare lagret på 20 °C og 4 °C spredt på PCA. For sporedannere ble det observert en reduksjon i veksttall for pesto med tare lagret på 4 °C (Fig. 25 C og D).

Ved dag 84 (uke 12) var veksten for pesto med sukkertare og butare lagret på 4 °C lav og stabil på både Marine agar og PCA, slik som ved dag 0.



**Figur 25. Lagringsforsøk for pesto med tare**

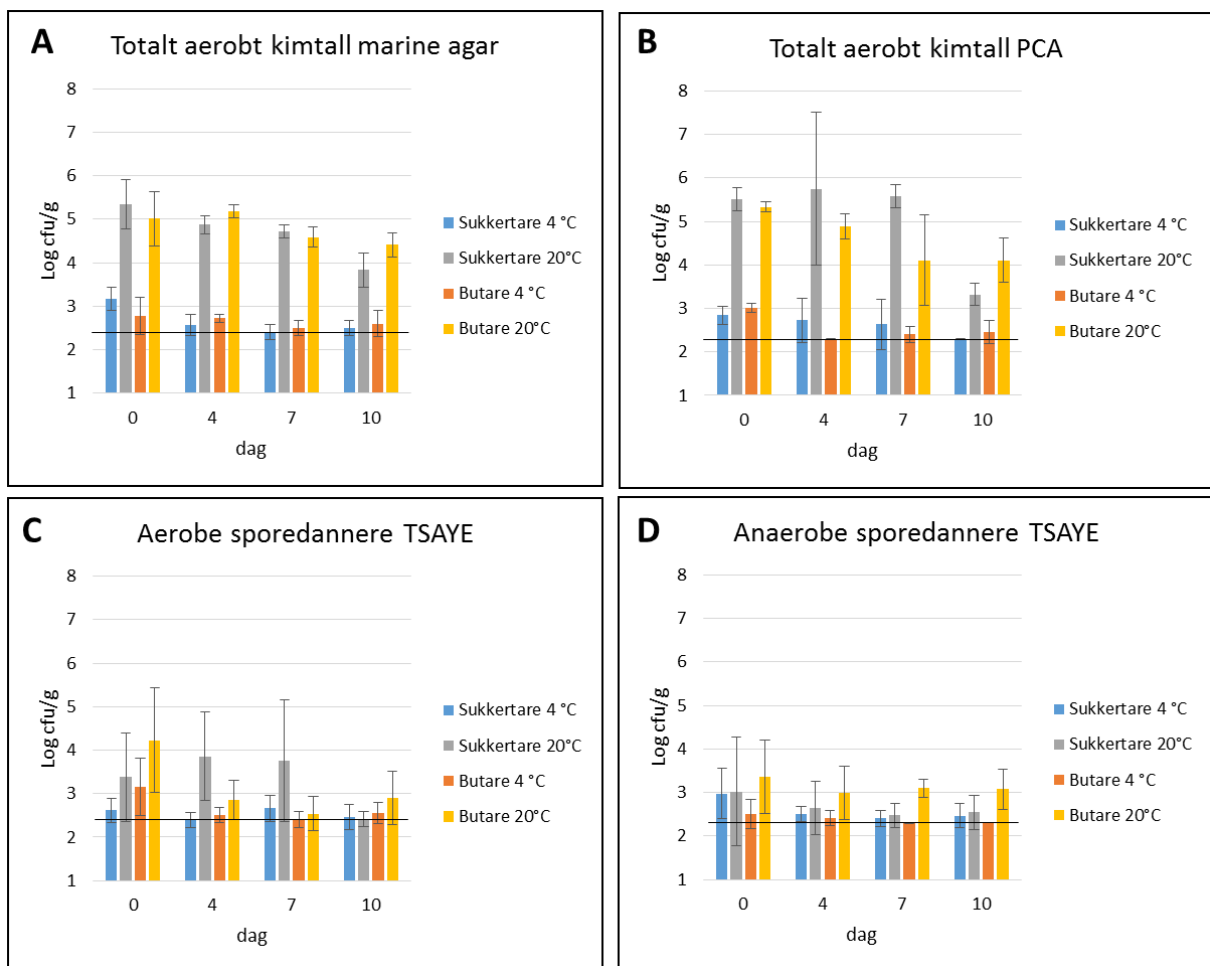
Mikrobiologisk vekst av pesto med sukkertare og butare på næringsmedium lagret ved 4 °C og 20 °C. Viser pesto med tare for aerobt kimtall på marine agar (A), PCA (B), aerobe sporedannere på TSAYE medium (C) og for anaerobe sporedannere på TSAYE (D). Skåler for totalt aerobt kimtall ble inkubert ved 30 °C i 7 dager, mens inkuberingstiden for sporedannere var ved 30 °C i 8 dager. Uttak ble utført for uke 0 (nulluttak), 2, 6 og 12. Den heltrukne linjen viser deteksjonsgrense angitt i cfu/g. Ved dag 0 og dag 84 mangler det kolonner. Årsaken til dette er at det ved nulluttaket kun ble tatt analyse av prøver av sukkertare og butare ved 4 °C og ikke ved 20 °C. Manglende kolonner ved uttak for uke 12 (dag 84) kommer av at analyse ble fortsatt med pesto med tare fra 4 °C da pesto med tare ved 20 °C ble kuttet ut grunnet reduksjon i holdbarhet med utgangspunkt i mikrobiologisk analyse allerede ved uke 6 (dag 42).

#### 4.4.2 Åpningsforsøk med pesto

Ved uke 2 ble det utført et åpningsforsøk hvor det ble tatt uttak ved dag 0, 4, 7 og 10 (Fig. 26). Mellom hvert uttak ble samme pestoglass benyttet, men de ble satt tilbake på 4 °C til neste dags forsøk (etter rekontaminering ved åpning og lukking). Dette for simulering av bruken av pesto i vanlige husholdninger ved 20 °C og 4 °C. Det ble observert vekst for totalt aerobt kimtall for begge pestovarianter ved begge temperaturer i alle uttak både på Marine agar og PCA.

For dag 0 for pesto med tare lagret på 4 °C var det generelt sett lave kolonitall ( $10^2$  -  $10^3$  cfu/g), mens det for pesto lagret på 20 °C var høye kolonitall ( $10^5$  cfu/g), preget av teppevekst som dekket skålenes overflate. Det var også mye vekst å finne på pesto med tare spredt på TSAYE medium for aerobe sporedannere for begge pestovarianter lagret ved 20 °C. Mindre vekst var det for pestovariantene lagret på 4 °C. For anaerobe sporedannere var veksten lav for begge pestovarianter ved begge temperaturer.

Utover mot dag 4, 7 og 10 så veksten for begge pestovarianter lagret ved 4 °C å holdes lav ( $10^2$  -  $10^3$ cfu/g). For pesto med tare lagret ved 20 °C så ut til å gradvis avta både på Marine agar og PCA. Samme trend var å finne for sporedannere på TSAYE næringsmedium.



Figur 26. Åpningsforsøk pesto med tare

Mikrobiologisk vekst av pesto med sukertare og butare på næringsmedium lagret ved 4 °C og 20 °C. Viser pesto med tare for aerobt kimtall på marine agar (A), PCA (B), aerobe sporedannere på TSAYE medium (C) og for anaerobe sporedannere på TSAYE (D). Skåler for totalt aerobt kimtall ble inkubert ved 30 °C i 7 dager. Inkuberingstiden for sporedannere var ved 30 °C i 8 dager. Uttak ble utført i uke 2 for dag 0, 4, 7 og 10. Den heltrukne linjen viser deteksjonsgrense angitt i cfu/g.

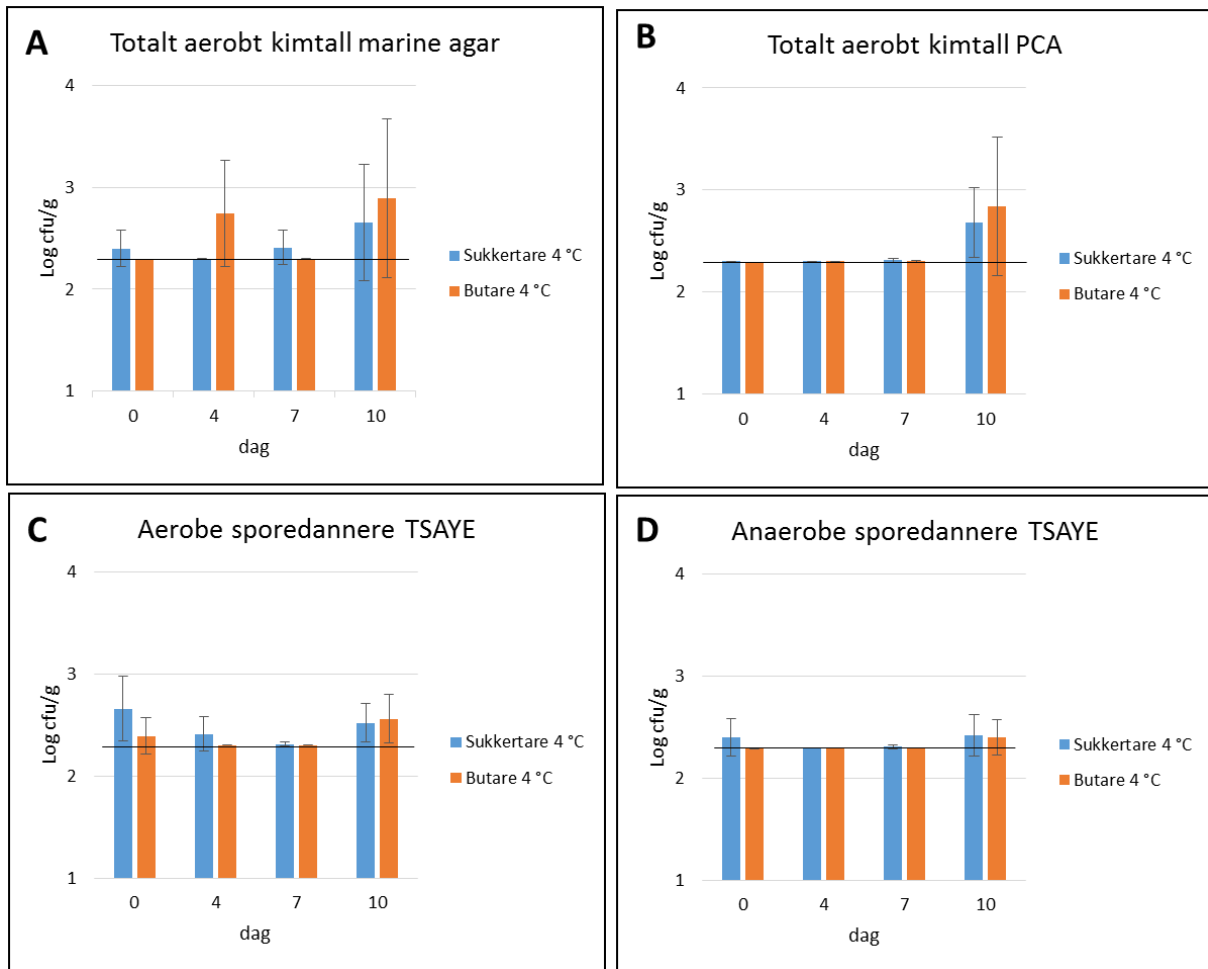
Ved uke 12 ble det utført et åpningsforsøk hvor det ble tatt uttak ved dag 0, 4, 7 og 10. Mellom hvert uttak ble samme pestoglass for hver variant benyttet og satt tilbake på 4 °C, til neste dags forsøk. Dette for simulering av bruk av pesto i vanlige husholdninger ved romtemperatur og i kjøleskap, etter at pesto med tare var forhåndslagret før uttak. Uttakene ble utført kun med pesto lagret på 4 °C. Det ble observert lav vekst for totalt aerobt kimtall for begge pestovarianter ved begge temperaturer i alle uttak både på Marine agar og PCA i form av single kolonier og sverming.

Dag 0 for pesto med tare lagret på 4°C var det generelt sett lave kolonitall, også for aerobe og aerobe sporedannere på TSAYE medium.

Ved dag 4 var det tydelig en økning i vekst for butarepesto for totalt aerobt kimtall på Marine agar, som vist i Fig. 27A. Totalt aerobt kimtall på vekstmedium av PCA så ut til å være lik vekst for begge pestovarianter (Fig. 27B). For aerobe sporedannere på samme dag, hadde veksten for begge pestovariantene blitt redusert, mens den var nesten lik for begge varianter for anaerobe sporedannere på TSAYE.

Ved dag 7 ble det for totalt aerobt kimtall på marine agar, observert en økning i vekst, for sukkertarepesto og en reduksjon i vekst for butarepesto. For vekst på PCA var vekst for begge pestovarianter nesten lik hverandre. For aerobe sporedannere på TSAYE hadde det også oppstått en liten vekstreduksjon, hvor begge variantene stod likt med mikrobiell vekst (Fig. 27 C og D). Det samme gjaldt for de to pestovariantene for anaerobe sporedannere på TSAYE.

Ved dag 10 ble det funnet lite vekst for pestovariantene for totalt aerobt kimtall på Marine agar og PCA. Det samme gjaldt for pestovariantene for begge typer sporedannere, da det også var få kolonier på disse skålene.



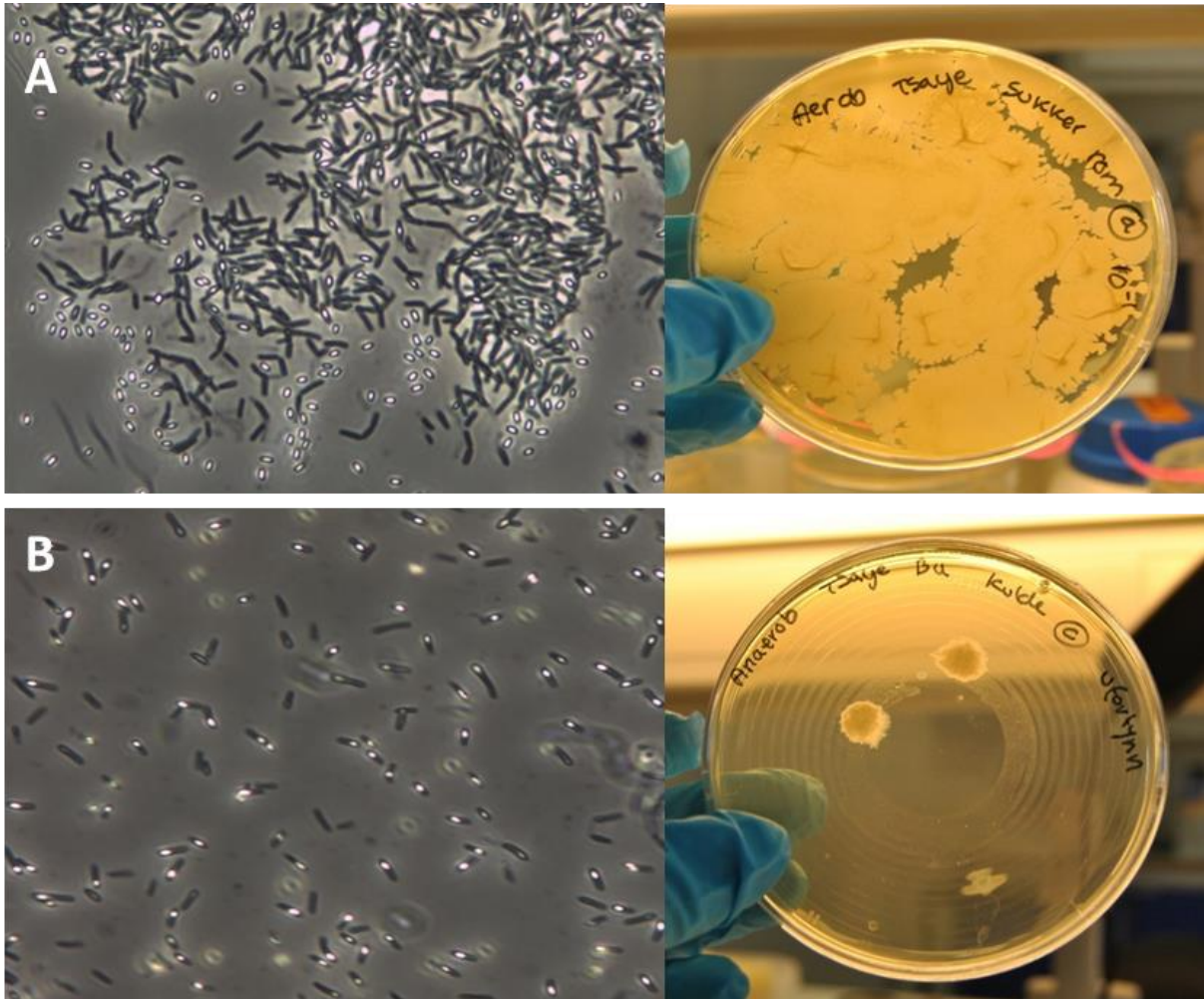
Figur 27. Åpningsforsøk pesto med tare

Mikrobiologisk vekst av pesto med sukkertare og butare lagret ved 4 °C på næringsmedium. Viser pesto med tare for totalt aerobt kimtall på marine agar (A), PCA (B), aerobe sporedannere på TSAYE medium (C) og for anaerobe sporedannere på TSAYE (D). Skåler for totalt aerobt kimtall ble inkubert ved 30 °C i 7 dager, mens inkuberingstiden for sporedannere var ved 30 °C i 8 dager. Uttak ble utført i uke 12 for dag 0, 4, 7 og 10.

#### 4.4.3 Mikroskopering

For nulluttaket ble skåler for kimtall og sporedannere mikroskopert og det ble påvist kokker og sporer for begge pestovarianter på Marine agar, PCA og TSAYE.

For uttak etter 14 dager ble skåler mikroskopert og det ble påvist staver, kokker og sporer for totalt aerobt kimtall og sporedannere på alle tre medium (Fig. 28).

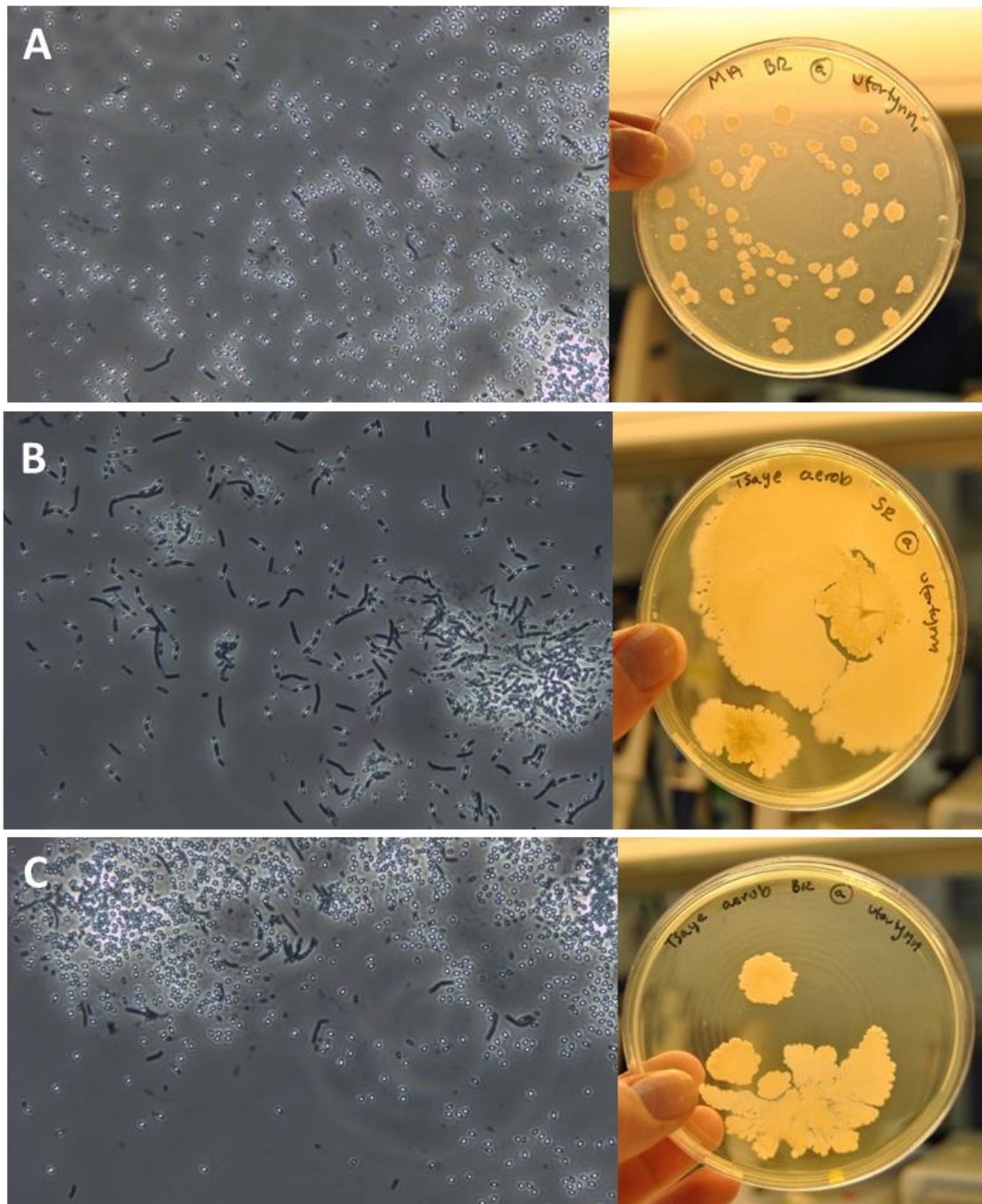


Figur 28. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto

Utvalg av mikroskopi foto og skåler med vekst av pesto med sukkertare og butare for uke 2 - dag 0 av lagringsforsøket på 0, 2, 6 og 12 uker. **A** viser vekst i sukkertarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C, spredt på TSAYE medium, for aerobe sporedannere etter inkubering ved 30 °C i 8 dager. **B** viser vekst i butarepesto lagret ved 4 °C kjøll, spredt på TSAYE medium, for anaerobe sporedannere etter inkubering ved 30 °C i 8 dager. Original foto var på 400x forstørrelse, men er blitt manipulert med forstørrelse i fotoredigeringsprogram.



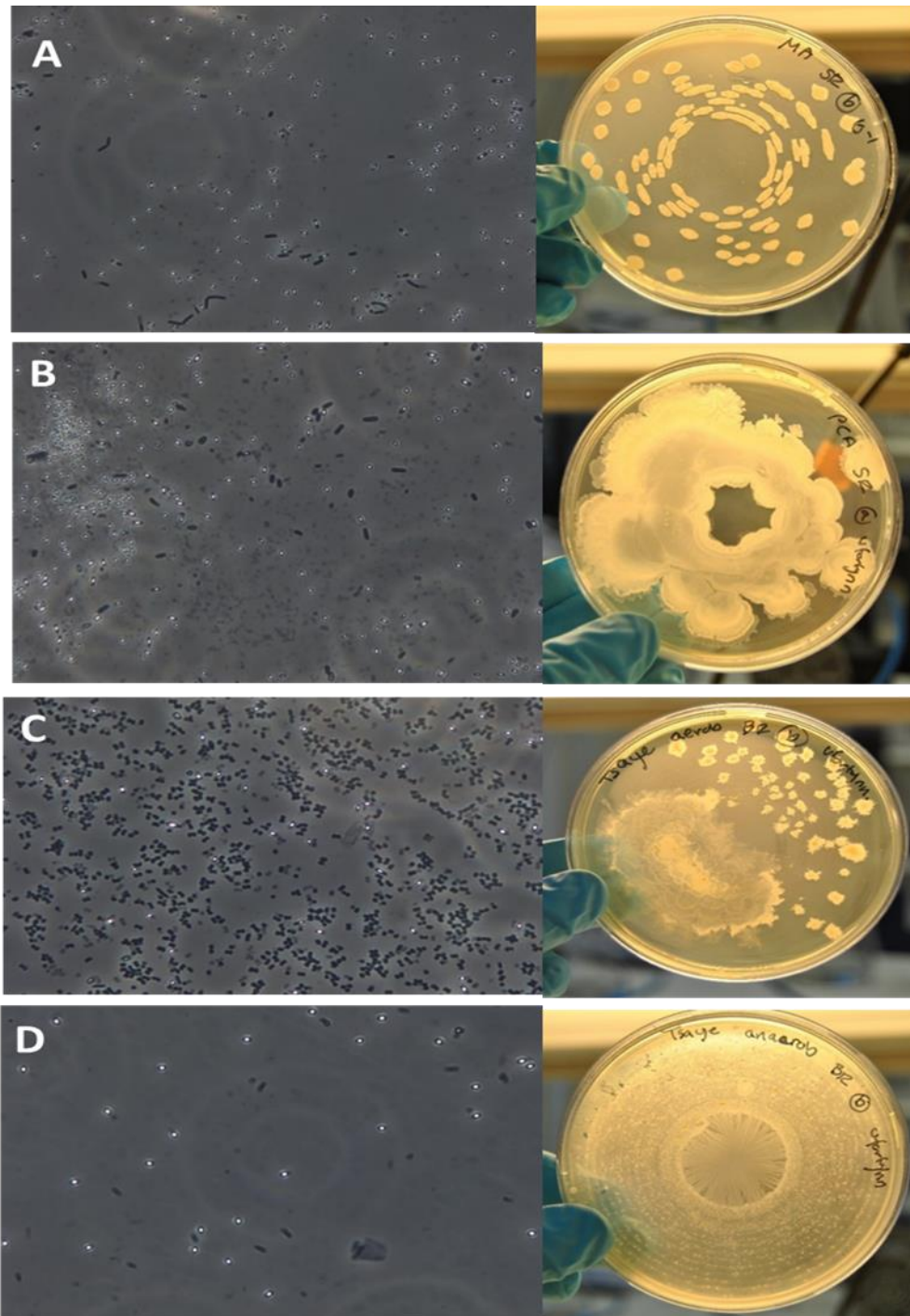
Skåler fra åpningsforsøket i uke 2 for tare med pesto, ble mikroskopert og det ble påvist staver og sporer hvor et utvalg av disse vises i Figur 29.



**Figur 29. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto**

Utvalg av mikroskopi bilder (400x forstørring) og skåler med vekst i homogenat av pesto med sukkertare og butare for uke 2 - dag 10 av lagringsforsøket på 0, 2, 6 og 12 uker. **A** viser vekst i homogenat fra butarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C spredt på Marine agar, for totalt aerobt kimtall etter inkubering ved 30 °C i 8 dager. **B** viser vekst i sukkertarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C, på TSAYE medium, for aerobe sporedannere etter inkubering ved 30 °C i 8 dager. **C** viser vekst i butarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C, på TSAYE medium, for aerobe sporedannere etter inkubering ved 30°C i 8 dager.

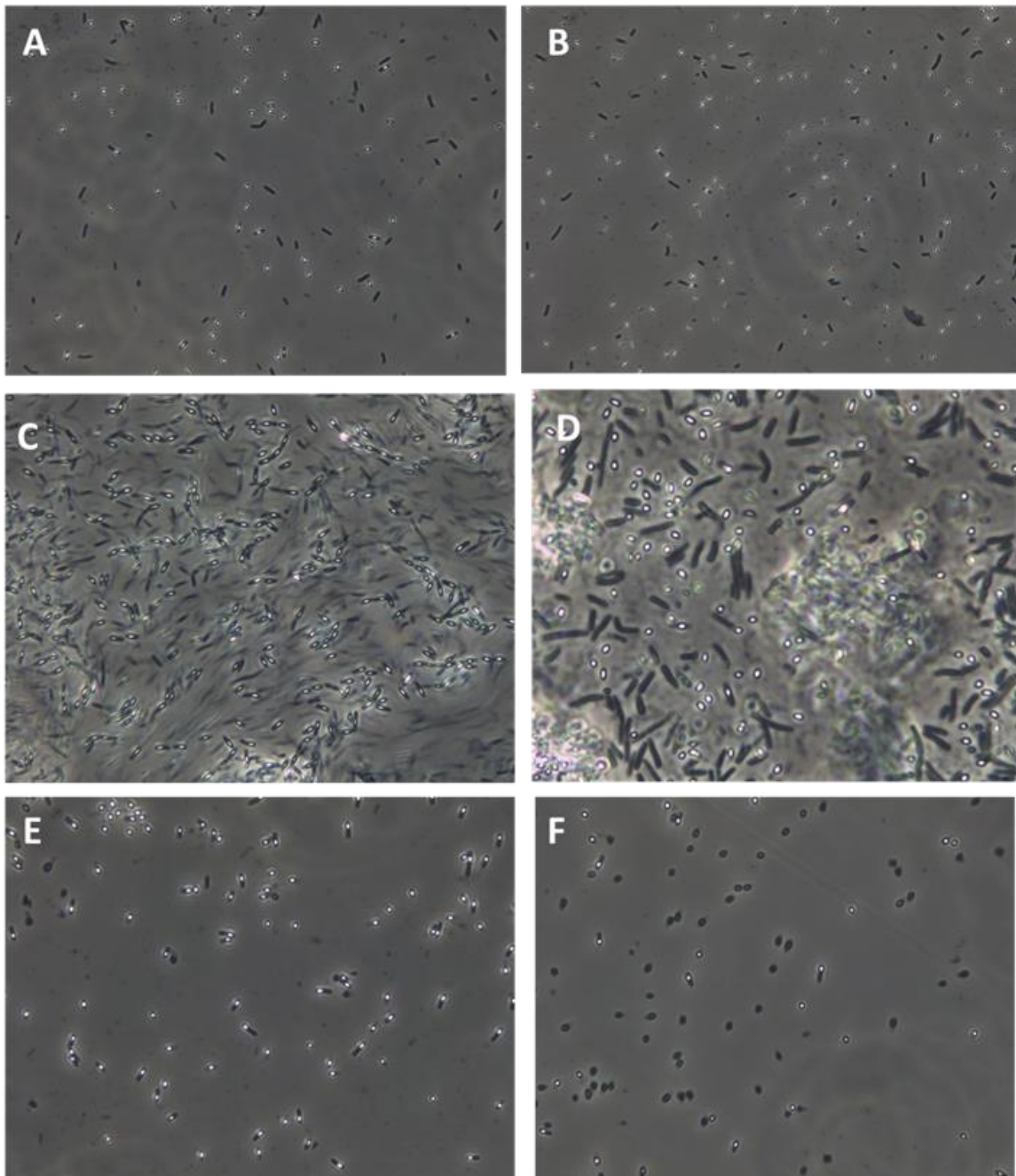
Etter 6 uker (42 dager) av lagringsforsøk med pesto med tare ble det påvist staver og sporer slik som for dag 0, 4, 7 og 10 i uttak for uke 2 (Fig. 30).



**Figur 30. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto**

Utvalg av mikroskopi (400x forstørring) bilder og skåler med vekst av pesto med sukkertare og butare for uke 6 av lagringsforsøket på 0, 2, 6 og 12 uker. **A** viser vekst av sukkertarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C spredt på Marine agar medium, for totalt aerobt kimtall etter inkubering ved 30°C i 7 dager. **B** viser vekst av sukkertarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C, spredt på PCA medium, for totalt aerobt kimtall etter inkubering ved 30 °C i 7 dager. **C** viser vekst av butarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C, spredt på TSAYE medium, for aerobe sporedannere etter inkubering ved 30 °C i 8 dager. **D** viser vekst av butarepesto lagret ved romtemperatur på 20 °C, spredt på TSAYE medium, for anaerobe sporedannere etter inkubering ved 30 °C i 8 dager.

Skåler fra uke 12 åpningsforsøket for tare med pesto, ble mikroskopert og det ble påvist staver og sporer hvor et utvalg av disse vises i Figur. 31.



**Figur 31. Mikrobiologisk undersøkelse lagringsforsøk på pesto**

Utvalg av mikroskopi bilder og skåler med vekst av pesto med sukkertare og butare for uke 12 - dag 7 av lagringsforsøket på 0, 2, 6 og 12 uker. **A** viser vekst av butarepesto lagret på 4 °C spredt på Marine agar, for totalt aerobt kintall, etter inkubering ved 30 °C i 7 dager. **B** viser vekst av butarepesto lagret på 4 °C spredt på PCA medium, for totalt aerobt kintall, etter inkubering ved 30 °C i 7 dager. **C** viser vekst av sukkertarepesto lagret på romtemperatur ved 20 °C spredt på TSAYE medium, for aerobe sporedannere, etter inkubering i 30 °C i 8 dager. **D** viser vekst av butarepesto lagret på romtemperatur ved 20 °C på TSAYE medium, for aerobe sporedannere, etter inkubering i 30 °C i 8 dager. **E** viser sukkertarepesto lagret på 4 °C spredt på TSAYE medium, for anaerobe sporedannere, etter inkubering 30 °C i 8 dager. **F** viser vekst av sukkertarepesto lagret på 4 °C spredt på TSAYE medium for anaerobe sporedannere etter inkubering i 30 °C i 8 dager.

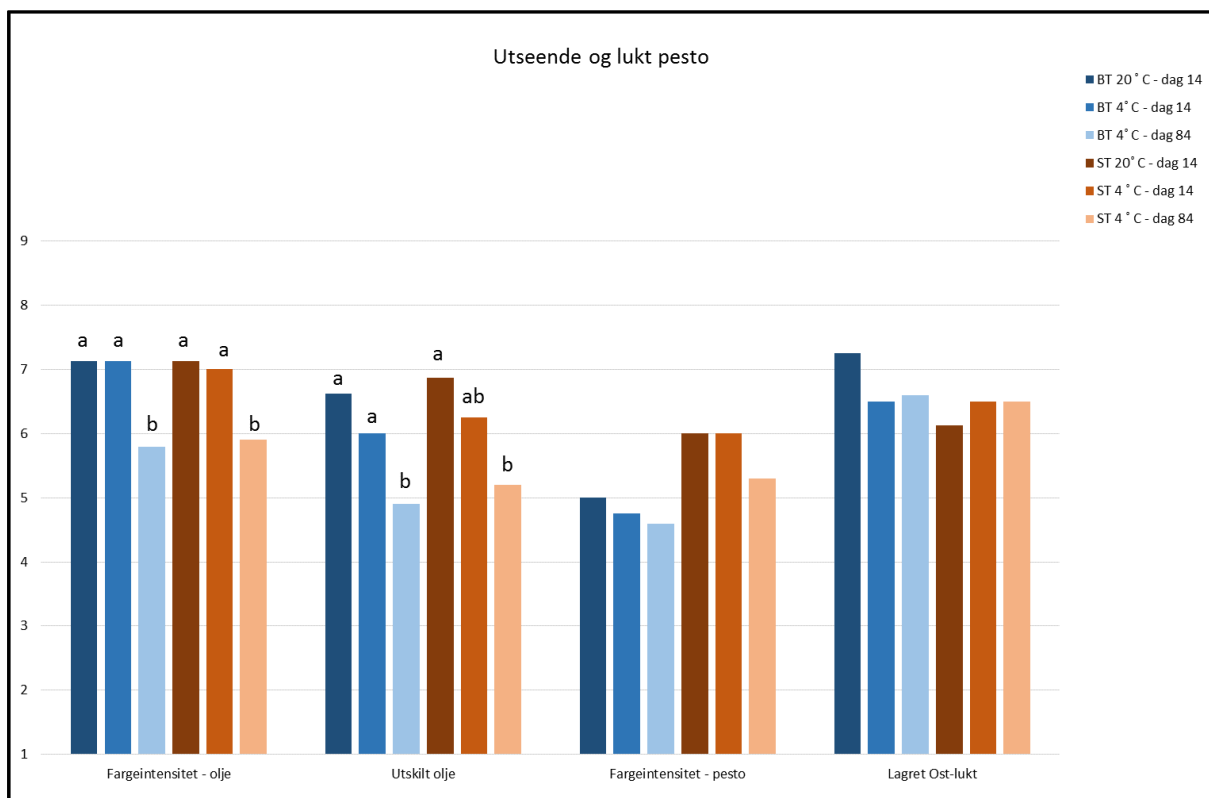
#### 4.4.4 Sensorisk analyse på pesto i lagringsforsøk

Lagringsforsøk med pesto med tare ble gjort over 12 uker hvor sensoriske uttak ble utført ved dag 14 (uke 2) og dag 84 (uke 12). Figur 32, 33, og 34 gir en grafisk fremstilling av de sensoriske vurderingene av pesto med sukkertare og butare lagret på 20 ° C og 4 ° C. Innsamling og statistisk analyse av data ble gjort på samme måte som for fiskekake (kap. 3.4.5), men med vurdering av andre sensoriske egenskaper som vist i Vedlegg 2. ANOVA enveis – varians analyse vises i Vedlegg 5 og resultater fra ANOVA GLM (General Linear Model) analyse vises i Vedlegg 6.

Figur 32 viser sensoriske egenskaper relatert til utsende av pestovariantene med utgangspunkt i fargeintensitet på utskilt olje og fargeintensitet på pestoen. Fargeintensitet – olje for pesto endret seg mellom 14 og 28 dager. Både butare og sukkertare lagret på 4 ° C i 84 dager var signifikant forskjellig ( $p < 0,001$ ) og ble oppfattet til å ha mindre fargeintensitet på oljen hvor den hadde en mer brunlig tone enn gress - grønn tone, som den hadde ved dag 0. Fra GLM analyse ble det funnet signifikant forskjell for lagringstid ( $p < 0,001$ ). Det var ingen signifikante forskjeller å finne for begge pestovarianter for fargeintensitet - pesto. Fra GLM analyse ble det funnet signifikant forskjell mellom produktvariantene (ikke lagringstid) hvor pesto med sukkertare hadde signifikant grønnere farge enn butare ( $p = 0,002$ ).

Pesto med butare lagret på 4 ° C ved 84 dager var signifikant forskjellig de andre variantene ( $p = 0,002$ ) og ble opplevd til å ha mindre utskilt olje. I alle variantene ved begge temperaturer ved dag 14 og dag 84 så det ut som om intensiteten til de to egenskapene ble redusert med lagringsperioden. For pesto med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell mellom pesto lagret ved 20 ° C etter 14 dager og pesto lagret ved 4 ° C etter 84 dager ( $p = 0,003$ ). Sistnevnte hadde mindre mengde utskilt olje sammenlignet med dag 14. Fra GLM analyse ble det funnet signifikant forskjell for lagringstid mellom 14 og 84 dager ( $p = 0,001$ ) hvor pesto etter 14 dager gav mest utskilt olje.

Figur 32 viser også sensorisk egenskap med utgangspunkt i lukt som lagret ost - lukt. I alle varianter ved begge lagringstemperaturer over hele lagringsperioden, ble pestoen ikke opplevd å lukte gammel/emmen. Lagret/gammel/emmen lukt er ikke tatt med i den grafiske fremstillingen. Egenskapen ble vurdert, men gav ikke utslag da den ble bedømt likt av alle i panelet gjennom lagringsperioden. Pestoen luktet i stedet lagret ost. Fra GLM (General Linear Model) ble det for egenskapen lagret ost - lukt funnet signifikant forskjell på produkt og ikke for lagringsperiode. Dette var mellom butare pesto lagret på 20 ° C og pesto med sukkertare lagret på samme temperatur ( $p = 0,009$ ), hvor butare på 20 ° C hadde høyere intensitet av lagret ost lukt.



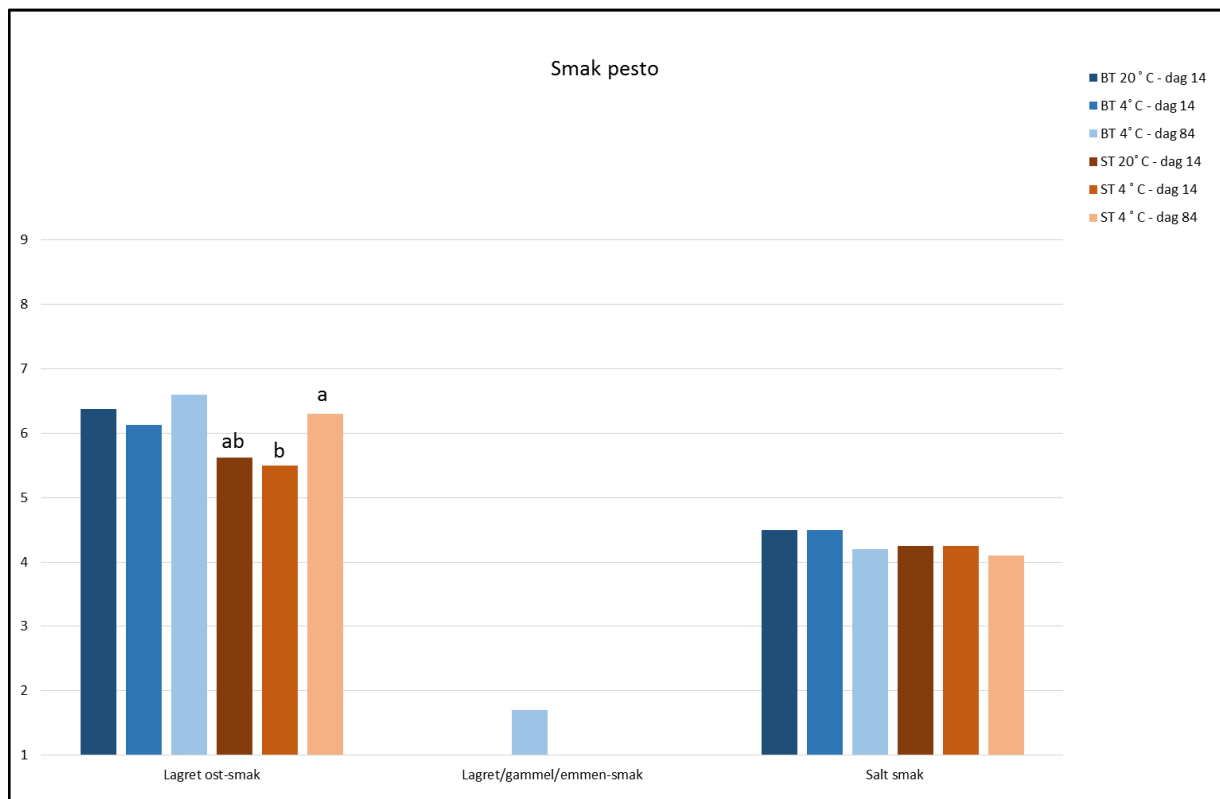
**Figur 32. Sensorisk analyse pesto: Utseende og lukt**

Viser resultater fra bedømmelse av pesto med butare og sukkertare over lagringsperioden for uttak ved dag 14 og 84 ut fra en nipuncks skala (Vedlegg 2). Viser utseende for fargeintensitet – olje /utskilt olje, fargeintensitet – pesto og lukt med utgangspunkt i lagret ost – lukt. Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

Figur 33 viser sensoriske egenskaper som smak med fokus på lagret ost - smak, lagret/gammel/emmen smak og salt smak. For egenskapen lagret ost – smak, ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller for pesto med butare. For pesto med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell mellom pesto lagret på 4 °C etter 14 og 84 dager ( $p = 0,034$ ). Etter 84 dager ble den opplevd til å ha en sterkere intensitet av lagret ost – smak. Dette i motsetningen til dag 14 da den hadde en mye mindre intensitet av lagret ost - smak. Fra GLM analyse ble det funnet signifikant forskjell for lagringstid mellom dag 14 og 84 ( $p = 0,007$ ) hvor pesto med tare hadde høyere intensitet av lagret ost – smak ved 84 dager enn for 14 dager. Det var ingen signifikante forskjeller for produktvariantene.

For pesto med tare ved begge lagringstemperaturer ble det kun registrert lagret/gammel/emmen smak for pesto med butare. Her var pesto med butare lagret ved 4 °C ved dag 84 signifikant forskjellig fra de andre butare pesto variantene ( $p = 0,026$ ). Det var ingen signifikante forskjeller å finne for pesto med sukkertare. Fra GLM analyse ble det funnet signifikant forskjell for lagringstid mellom 14 og 84 dager ( $p = 0,022$ ), hvor pesto med tare etter 84 dager ble opplevd som høyere i intensitet. Ingen signifikante forskjeller ble funnet mellom produktene.

Salt smak var lik for alle varianter og så ut til å holde seg stabil igjennom lagringsperioden. Det var ingen signifikante forskjeller å finne fra ANOVA enveis-varians analyse eller via GLM analyse.



**Figur 33. Sensorisk analyse pesto: smak**

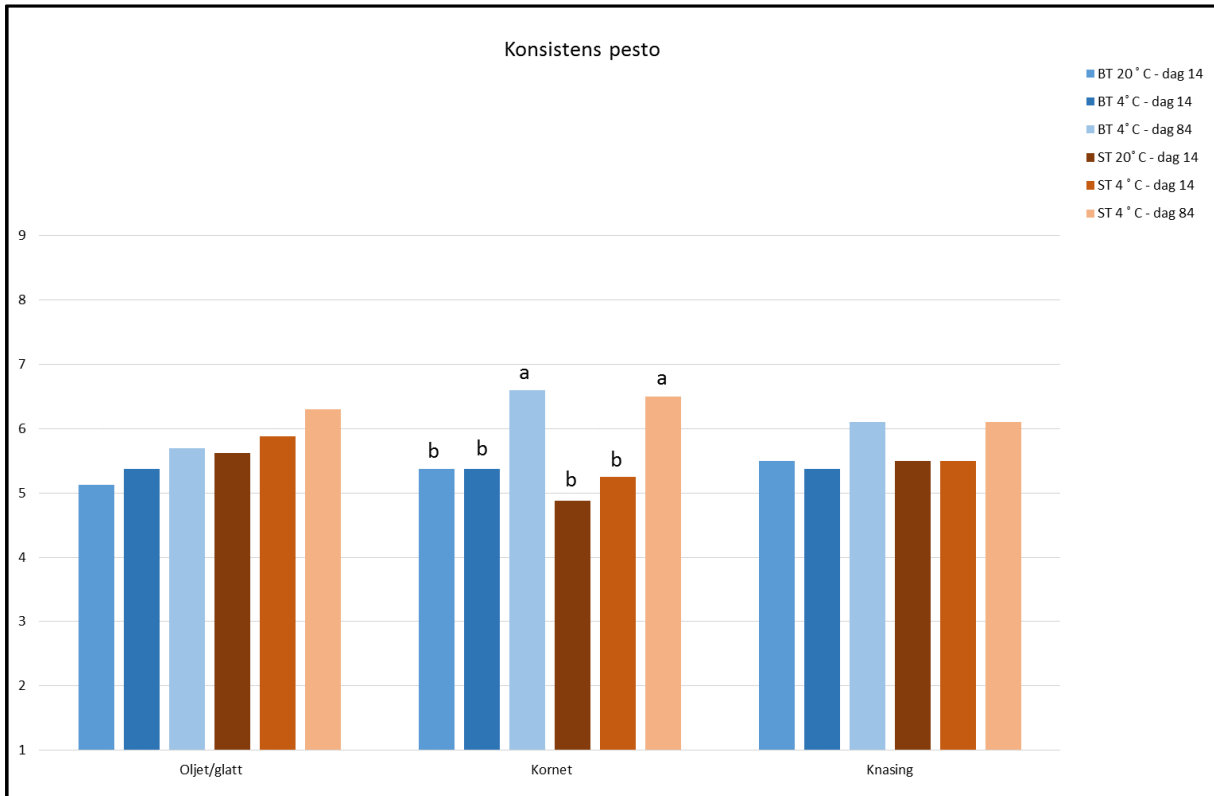
Viser resultater fra bedømmelse av pesto med butare og sukkertare over lagringsperioden for uttak ved dag 14 og 84, fra en nipunkts skala (Vedlegg 2). Viser smak med vekt på lagret ost – smak, lagret/gammel/emmen – smak og salt smak. Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

Figur 34 viser sensoriske egenskaper ut ifra konsistens med vekt på olje/glatt, kornet og knasing.

Glatthet i pestoen ble bedømt til å være tilnærmet lik i alle varianter og det var ingen signifikante forskjeller å finne. Fra GLM analyse var det signifikant forskjell mellom pesto med sukkertare og med butare ( $p = 0,016$ ), hvor pesto med sukkertare ble opplevd som mer oljete/glatt enn butare.

For egenskapen «kornet» ble det for pesto med butare funnet signifikant forskjell mellom varianter lagret på 4 °C etter 84 dager og de andre variantene ( $p = 0,009$ ). Denne ble opplevd som mer kornete enn ved starten av lagringsperioden. For pesto med sukkertare ble det funnet signifikant forskjell mellom pesto med sukkertare lagret på 4 °C etter 84 dager og de andre variantene ( $p = 0,003$ ), hvor denne ble oppfattet som mest kornet. Fra GLM analyse var det signifikant forskjell for lagringstid mellom 14 og 84 dager ( $p < 0,001$ ).

Grad av knasing ble opplevd som lik for alle varianter ved begge lagringstemperaturer og så ut til å holdes stabil ved dag 14 og 84. Det var ingen signifikante forskjeller å finne mellom variantene. GLM analyse viste at det var signifikant forskjell å finne for lagringstid mellom 14 og 84 dager ( $p = 0,032$ ), hvor pesto med tare ble oppfattet som mer knasende ved 84 dager enn ved 14 dager.



**Figur 34. Sensorisk analyse pesto: konsistens**

Viser resultater fra bedømmelse av pesto med butare og sukkertare over lagringsperioden for uttak ved dag 14 og 84, ut fra en nipunkts skala (Vedlegg 2). Viser konsistens relatert til utskilt olje, glatt/olje, kornet og knasing. Hver produkt variant behandles statistisk hver for seg.

Fra resultatene ble holdbarheten på pesto med tare lagret ved 4 °C satt til 6 uker med bakgrunn i mikrobiologisk og sensorisk undersøkelse, da produkt ble regnet som trygt og med god kvalitet. Utover 6 uker med metoden benyttet i denne oppgaven var det ikke forsvarlig å konsumere pestoen, grunnet økende mikrobiologisk vekst. For pesto med tare lagret på 20 °C ble det ikke utredet holdbarhetstid da pestoen allerede ved uke 2 viste for høy bakterievekst som økte frem til uke 6. Skal forsøk gjøres med pesto med tare lagret ved denne temperatur bør metoden optimaliseres, slik at kvalitet og holdbarhet forbedres og at produktet anses som trygt å konsumere.

## 5. Diskusjon

Målet med denne oppgaven har vært å se på produkter med tare med utgangspunkt i mikrobiologisk aktivitet og sensorisk analyse for å si noe om holdbarheten til disse produktene. Produktene i dette studiet var fiskekaker og pesto med tare. Metodeutvikling ble gjennomført i og med at makroalger ikke har en spesifikk standardisert metode for mikroflora som kan finnes på den. Det er dermed ikke bestemt hvilke medium som best egner seg til analyse og kartlegging av bakterieflora på makroalger. Dette gjelder for saltkonsentrasjoner og inkuberingsfaktorer, som temperatur og tid. Derfor ble de ulike metodene valgt på bakgrunn av tidligere forsøk med sukkertare og butare (Blikra og Lindseth, 2016) og tilgjengelig litteratur. I denne oppgaven ble det testet for bakterier på tare på ulike medium, både ved vanlig utplating og pour plates. Veksten var variabel på de ulike mediene og morfologien til mikrofloraen som ble observert var varierende. På noen av skålene i forsøket, ble det konkludert med at sverming kunne være et aktuelt fenomen. Da ble kolonitallet justert ned til å representere 1 koloni, ettersom det så ut til å være den ene og samme koloni presentert på platene.

### 5.1 Tare på næringsmedium

I forsøket for seleksjon av vekstmedium (Kapittel 3.2.1) ble ulike vekstmedier testet og det ble undersøkt mengde vekst på skålene som varierte i liten og stor grad fra medium til medium. Selektert medium for videre analyser med tare i matprodukt ble valgt ut som en konsekvens av de mikrobiologiske resultatene fra dette forsøket. I resultatdelen er PCA (1% NaCl) inkludert. Vanlig PCA og PCA (1% NaCl) gav en fargeforskjell og lave koloni tall, sammenlignet Marine agar, Long and Hammer og TSAYE. PCA m/1 % NaCl ble testet, men gav ca. 1 - 2 log lavere enn PCA. Fokuset er rettet bort fra dette mediumet da det kan ha blitt gjort feil ved produksjon av mediet (ved tilsetning av NaCl). Mediumet er fremdeles tatt med grafisk, uavhengig av dette, for å vise at dette var et av de aktuelle medier som kunne benyttes. Det ble observert mye vekst på Long and Hammer og det samme vekstmønsteret ble observert for skåler med TSAYE. Mest var det å finne på Marine agar. Seleksjon av næringsmedium for videre forsøk med tare i fiskekaker og pesto ble gjort med bakgrunn av vekst på skålene og det statistiske grunnlaget hvor det var Marine agar som viste seg å være det mest egnede medium. Marine agar ble valgt som et resultat av at det gav statistisk signifikant høyest vekst i tillegg til at det er et medium som er lett å lage, lett å visualisere bakterier på og enkelt å telle kolonier på. Marine agar inneholder essensielle vekststoffer for heterotrofe marine bakterier, hvor de fleste lever ved lave temperaturer og høye saltnivå. Saltinnholdet for mediet er optimalisert da det er tilnærmet lik normalt sjøvann. Mengde salt i mediet ligger på 1,94 % NaCl. Mediet ble også benyttet i et forsøk med tare, utført av Bengtsson et al (2011), for identifisering av bakterierkolonier på stortare. Dermed ble dette et foretrukket medium å benytte på videre mikrobiologiske analyse med tare.



Ifølge Gupta et.al (2010) fant forskerne ut at ved analyse av bakterier på brunalger med PCA medium med 0, 2, 4 og 6 % tilsatt salt gav et høyere kimtall enn medium uten tilsatt salt. I denne oppgaven ble det benyttet PCA med 1 % NaCl, men mediet gav lavere kolonitall enn det som var forventet. Årsaker til dette kan ha vært feil i forbindelse med tilsetning av mengde NaCl. Long and Hammer ble også valgt til fiskekaker da dette er en del av NMKL metoden Nr.184 (NMKL, 2006), men også fordi det inneholder bra med salt og egnes godt til bruk på produkter innen sjømat. Opprinnelig inneholdt mediet kun 0,5 % NaCl. I dette forsøket ble det benyttet en modifisert versjon av vekstmediet hvor mengden NaCl ble økt til 1 % (Van Spreekens, 1974) da flere marine bakterier er avhengige av salt for å vokse og for at det skal være enklere å påvise dem. Long and Hammer dyrkingsmedium kan benyttes til bestemmelse av aerobt kimtall i ferske og lettkonserverte fisk og fiskevarer. Dette inkluderer også kuldetolerante og varmfølsomme organismer (NMKL, 2006). TSAYE medium ble også valgt i dette studiet fordi det er et lett næringsmedium å arbeide med, samtidig som det er velegnet for et vidt spekter av mikroorganismer.

Saltinnhold i taren er i stor grad viktig for mikrofloraen som finnes på den. I et forsøk utført av forskere i Frankrike med algene *Palmaria palmata* og *Ulva rigida* lagret ved 4 °C, ble mikrobiologisk flora undersøkt over en periode på to uker. Alger vasket med saltvann viste en tendens til å ha et høyere saltinnhold, men mindre bakterieflora over lagringstiden. Dersom algene ble vasket med ferskvann favoriserte dette spredning og kontaminerende bakterieflora på algene, noe som ledet til redusert kvalitet på mindre enn to uker. Vaskingen bidro til at saltinnholdet ble fortynnet, noe som igjen påvirket den essensielle marine floraen på algene (Liot et al., 1993). Taren på Værlandet ved Seaweed AS blir vasket med saltvann og dette er allerede godt integrert i deres bearbeidingsprosess for å sørge for at mengde mikroorganismer på taren holdes minimal.

## 5.2 Holdbarhet på fiskekake med tare

Lagringsforsøk med fiskekake uten tare, med sukkertare og butare fra Seaweed AS ble gjennomført for kartlegging av mengde bakteriell vekst og dens effekt på holdbarhet over en lagringsperiode på 5 uker. Parallelt med dette ble det utført sensorisk analyse av fiskekaker etter 0, 14, 26 og 36 dager for vurdering av deres sensoriske egenskaper over tid og for å se hvilken sammenheng mikrobiologien hadde på sensorikk. Det ble observert økende vekst for både totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier over lagringsperioden for alle medium. For sporedannere var veksten lav i starten, med en liten økning i midten av lagringsperioden som ble jevnet ut ved dag 36. Det ble påvist stavbakterier og sporer spesielt for aerobe og anaerobe sporedannere (Fig. 20).

Fiskekakenes holdbarhet i denne oppgaven ble satt til 3 uker. Industrien ønsker en holdbarhet på 6 uker, men fra resultatene i denne oppgaven var det ikke trygt å konsumere produktet etter 3 uker grunnet det sensoriske og mikrobiologiske perspektiv som viste mye vekst etter 4 uker og endring i sensoriske egenskaper slik at disse ble dårligere. Fiskekakene falt med dette i kvalitet, smak og holdbarhet. Det er sannsynlig å anta at bakteriene som har gitt opphav til sporene i denne undersøkelsen kan være bakterier av *Bacillus* slekten, i hovedsak basert på funn av *Bacillus* arter i oppgaven til Lindseth (2016). I forsøket med fiskekakene skal det ikke utelukkes at overnevnte bakterier (sporedannere) kan forekomme på taren. Anaerobe sporedannere ble også bekreftet funnet på sukkertare og butare i oppgaven til Lindseth (2016).

Ved dag 0 lå vekst for fiskekake med butare lik de andre variantene (Fig. 19), men under  $10^2$  cfu/g. For dag 14 økte denne verdien opp imot  $10^4$  cfu/g på marin agar for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier. Samme fiskekakevariant etter 14 dager, men på Long and Hammer medium, viste ingen tegn til endring fra dag 0. Dette kan skyldes at sporene trengte tid på å tilpasse seg og spire. For sukkertare på Long and Hammer ble det analysert motsatt. Ved dag 14 økte veksten opp imot  $10^4$  cfu/g, for så å gå ned igjen ved dag 26 til nær  $10^2$  cfu/g. For sporedannere ble det funnet vekst anaerobt. *Clostridium* er en anaerob og sporedannende (Smith & Holdeman, 1969) bakterie. Den finnes i proteinholdige matvarer og sporene overlever ved vanlig koking og spirer ved nedkjøling og mild temperatur eller under utilstrekkelig oppvarming av store volumer mat. Symptomer kommer som et resultat av bakterienes produksjon av toksiner. Dette kan medføre magesmerter, kvalme, oppkast og diare (Gross et al., 1989). *Clostridium* ble ikke påvist i denne oppgaven, men den skal likevel ikke utelukkes i og med at det ble observert vekst ved anaerob inkubering.

Aerobe sporedannende bakterier er på en annen side viktige i matindustrien da deres natur gjør det nesten umulig å unngå at de er tilstede i matvarer både under og etter prosessering. Kontaminering oppstår som regel under pakking etter pasteurisering. Overlevende sporer opplever varierende konkurranse fra andre voksende vegetative celler hvor disse i etterkant med lagring kan spire og spre seg raskt i produkter (Andersson et al., 1995; Heyndrickx & Scheldeman, 2002). Noen sporer kan feste seg til ulike overflater ved dannelse av biofilm og dette kan ved prosessering utgjøre et problem for både industrielt utstyr og ved rengjøring (Andersson & Rönner, 1998).

Sensorisk egenskap som ferskhet/friskhet lukt var høy i starten for alle varianter, men ble redusert ved dag 36. Dette samsvarer den mikrobiologiske analyse på fiskekakene. Da ble det observert mye vekst for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier og spesielt for fiskekake med butare med en verdi på  $10^5 - 10^6$  cfu/g. Fiskekake med sukkertare lå noe lavere sammenlignet med butare (Fig. 19). I dette tilfellet var det signifikant forskjell mellom dag 14 og dag 36 ( $p < 0,001$ ). Her hadde lagringstiden en innvirkning på produktet slik at den mistet sin ferskhet over tid, noe som støttes av de mikrobiologiske funnene som viste mye vekst. For tare lukt var lagringstiden ikke av betydning da det var signifikant forskjell å finne mellom produktene ( $p < 0,001$ ) hvor standard fiskekake skilte seg fra de to andre variantene da denne ikke inneholdt tare. For den sensoriske egenskapen syrlig lukt var det signifikant forskjell å finne for lagringstid ( $p < 0,001$ ) og ikke mellom produktvariantene. Med økende mikrobiologisk vekst på variantene ved dag 26 og 36 ble fiskekakene opplevd som mer syrlige over tid, som et resultat av den mikrobielle degradering over tid.

Fargeintensiteten på fiskekake farsen ble ansett som mest hvit i standard fiskekake. Det ble funnet signifikant forskjell på denne varianten etter 14 dager ( $p = 0,003$ ) hvor fargen mistet sin intensitet og gikk mer imot en grålig tone. Dette kan forklares ut ifra den mikrobiologiske analysen på fiskekakene. Her så veksten, for standard fiskekake for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier, ut til å øke etter dag 14 frem til dag 36 med en maksimumsverdi på  $10^5$  cfu/g. Lagringstiden hadde tydelig en effekt. Den signifikante forskjellen lå mellom dag 0 og dag 36 ( $p = 0,032$ ) hvor fiskekaker ved dag 0 hadde en mye hvitere farge på farsen da kakene ved dette tidspunktet var ferske og ikke lagret lenge nok til at bakterieveksten kunne ekspanderes. For fargeintensitet på tare viste analysen signifikant forskjell for lagringstid ( $p = 0,003$ ) og produkt ( $p < 0,001$ ). Forskjell i egenskap oppstod mellom 14 og 36 dager. Standard fiskekake skilte seg ut grunnet ikke noe innhold av tare, mens mellom fiskekakene med tare var det fiskekake med sukkertare som viste høyest fargeintensitet. Ved steking av fiskekake variantene med tare kunne en observere en farge endring i tarekornene i fiskefarsen da fargen på taren endret seg fra brun til en mer dyp grønnaktig farge.

Denne observasjonen stemmer overens med funnene i masteroppgaven til Marthe J. Blikra (Blikra, 2016) da det ble observert en fargeendring på sukkertare og butare ved varmebehandling. Den visuelle fargeendringen kommer frem som et resultat av nedbrytingen av pigmentet fucoxantin i makroalgene (Yamanaka & Akiyama, 1993). Det nevnes at flere makroalger kan reagere ulikt, selv om pigmentene i disse kan være like. For fiskekakene med tare i denne oppgaven ble fargeintensiteten gradvis redusert mot slutten av lagringsperioden grunnet biologisk aktivitet.

For egenskaper relatert til smak og friskhet ble det funnet signifikante forskjeller mellom lagringstid ( $p < 0,001$ ) og mellom produkt ( $p > 0,001$ ). Egenskapene for frisk smak ble redusert for alle varianter mellom 26 og 36 dager, hvor standard fiskekake gav høyest grad av friskhet. Fiskekake med sukkertare gav minst friskhet. Med utgangspunkt i den mikrobiologiske veksten på fiskekakene er denne endringen i egenskapen ikke tilfeldig da det etter 26 - 36 dager viser godt med mikrobiell vekst så langt inn i lagringsperioden for alle varianter. At standard fiskekake holdt seg friskest kan være et resultat av at den ikke inneholdt tare og dermed ikke samme mikroflora som variantene med tare.

Fiskekakesmak ble opplevd som høy for alle varianter ved dag 0, 14 og 36. Ved dag 36 var det endringer tilstede og dette var et resultat av signifikant forskjell for lagringstid ( $p < 0,001$ ) og produktene ( $p = 0,006$ ). Etter 36 dager ble standard fiskekake opplevd som mer intens. Fiskekake med sukkertare hadde minst intensitet. Dersom en følger mikrobiologien i Fig. 19 kan denne forskjellen observeres i form av bakterievekst hvor det ved dag 36 var, for totalt aerobt kimtall og kuldetolerante bakterier, mye vekst å finne for standard fiskekake ( $10^5$  cfu/g). Vekst på fiskekake med sukkertare var lavere enn for både standard fiskekake og fiskekake med butare. At det ikke var tare i standard fiskekake gjorde at den ble opplevd til å lukte mer fisk. Taren kan ha bidratt til reduksjon av fiskekakesmaken.

For salt smak ble det ikke funnet signifikante forskjeller for lagringstid da denne ble oppfattet som lik for alle varianter over lagringsperioden. Derimot var det signifikant forskjell mellom produktene ( $p < 0,001$ ), hvor endringer fant sted mellom 26 og 36 dager og intensiteten av saltsmak ble mindre i variantene, noe som kan skyldes bakteriell aktivitet. Likevel skal det tas hensyn til at tare som kommer fra havet inneholder naturlig salt. Det kan antas at fiskekakene i dette forsøket med tare burde vært saltere, men det var ikke tilfellet. Dette kan være en fordel med tanke på industriell produksjon av fiskekaker da det ikke trengs mer tilsetning av salt i fiskekakene. Noe som forbrukere kan holde seg positive til da. Taren på denne måten virker som en fin salterstatter (Kap 2.5.2), fremfor vanlig benyttet bordsalt.

For taresmak hadde både lagringstid og produktene betydning for endringene i egenskapen. For lagringstid ( $p = 0,002$ ) ble det observert endring etter 26 dager. For produktene ( $p < 0,001$ ) var det tydelig at standard fiskekake skilte seg naturlig ut da denne ikke inneholdt tare, som inneholder naturlig salt. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom sukkertare og butare. Den mikrobiologiske veksten for totalt aerobt kimtall og kuldeterolante bakterier viste at ved dag 26 var det generelt mye vekst for fiskekake med butare (ca.  $10^5 - 10^6$  cfu/g). Veksten for sukkertare var lavere. Standard fiskekake ble registrert med minst vekst (fra  $10^2 - 10^3$  cfu/g). Som forklart i Kapittel 2.5.4 er taren salinitet påvirket av miljøet den vokser i samt prosesser for å opprettholde osmotisk balanse i algecellene. Dermed er det forventet at standard fiskekake hadde lite mikrobiota da taren ikke var tilsatt i denne varianten.

For egenskapen søtsmak var det ingen signifikante forskjeller å finne for lagringstid. Mellom produktene var det signifikante forskjeller å finne ( $p = 0,048$ ), hvor standardfiskekake ble opplevd å ha en søtere smak enn de andre fiskekake variantene. En naturlig årsak til dette er at de andre variantene inneholder tare som inneholder salt og kan dermed oppfattes som lite søte. Mellom fiskekaker med sukkertare og butare ble det ikke funnet signifikante forskjeller. Tare er ikke bare salt og en årsak til at den ble opplevd som søt kan være et resultat av sukkeralkoholen mannitol, som gir opphav til umami smaken hos tare og som gir taren sin sødme (Kap. 2.5.4). Dette kan ha en positiv innvirkning på forbrukerne og deres smaksopplevelse av taren.

For egenskaper relatert til konsistens ble det funnet signifikant forskjell i hardhet mellom produkter ( $p < 0,001$ ). Standard fiskekake ble opplevd som hardere i konsistens enn variantene med tare. Dette muligens et resultat av høy mikrobiologisk vekst ved dag 26 og 36. Saftigheten på fiskekakene ble opplevd som høy frem til dag 36 hvor den så ble redusert. Signifikant forskjell ble funnet for lagringstid ( $p < 0,001$ ), hvor saftigheten ble ansett som lav i alle fiskekakevarianter ved slutten av lagringsperioden. Det er viktig å sørge for at fiskekakene holder en fin og fast konsistens sammenlignet med en bløt konsistens da dette gir en bedre produktopplevelse for forbrukerne.

Ved tilsetning av riktig mengde stivelse eller bindemiddel (mel) kan bløthet i fiskekaker unngås. Vannaktivitet i tare og fisk kan over tid parallelt med bakteriell vekst gi ulikt utslag på konsistens. For egenskapen glatthet ble denne opplevd som glatt ved dag 0, 14 og 26, mens den ble redusert ved dag 36 og ble mer kornete. Det var signifikante forskjeller å finne for lagringstid ( $p < 0,001$ ) og produkttyper ( $p = 0,032$ ), som begge hadde en innflytelse på de sensoriske endringene innen egenskapen. Under lagringsperioden ble standard fiskekake oppfattet som den glatteste av fiskekakevariantene, grunnet den ikke inneholdt tare hvor tarekornene kunne bidra til å gi fiskekakene en grovere tekstur og økt tyggemotstand.

Mål i matproduksjon i dag er å redusere antall sporer. Aktivisering av sporer ved temperaturer som 30 - 33 °C er vanlig for sporedannende bakterier i råvarer, ingredienser og prosessert mat i næringsmiddelindustrien. Aktiverte sporer utgjør en fare for matsikkerhet og er av betydning for holdbarhet og kvalitet på industrielt produsert mat (Løvdal et al., 2013). Flere prosedyrer benyttet for prosessering av matprodukter involverer mer enn en varmebehandling, kjøling og lagring (Brown et al., 1979; Oomes et al., 2007). Et eksempel er en prosess som benyttes for hermetikk, kalt modifisert tyndallisering. Det benyttes eksisterende protokoller og utstyr med det formål å redusere sporeinnhold. I første omgang kreves det en primær varmebehandling som initierer spore spiring (lokke dem ut fra dvaletilstand). Deretter følger en sekundær oppvarming som vil inaktivere spirende og sporer og påvirke deres levedyktighet. Prosessen avhenger av faktorer som initierer spiring som bakterieart, sporuleringsmiljø og lagringsbetingelser for å nevne noen (Tyndall, 1877).

Ved varmebehandling kan den antimikrobielle aktiviteten i taren reduseres (Gupta et al., 2010). Dermed blir det viktig å finne rett balanse av både temperatur og tid ved varmebehandling av tare. For totalt aerobt kimtall for fiskekaker i denne oppgaven så det ikke ut som om det var tilstede noen antimikrobiell aktivitet. Med utgangspunkt i sporedannere hvor veksten var lavere og holdt seg generelt under  $10^3$  cfu/g over lagringsperioden, skal det ikke utelukkes at det kan ha vært tilstede antimikrobiell aktivitet i taren som kan ha bidratt til å holde den mikrobiologiske bakterieveksten stabil. Fordelen med antimikrobielle egenskapene på brunalger (Cox et al., 2010) er at det bidrar til et minket behov for konserveringsmidler i produkter, noe som til gjengjeld vil være positivt for både forbruker og næringsmiddelindustrien.

Ved modifisering av industrielle matprosedyrer bør det alltid tas forsiktighet (Peck et al., 2008). Ifølge Setlow (2006) er sporer fra Bacilluslekten motstandsdyktige mot varme, tørke og kjemikalier. Videre forklart av Mæhre et al. (2014) kan varmebehandling være en prosess med ulik innvirkning på ulike næringsmidler. Med riktig håndtering av råvarer og bearbeiding av disse kan faktorer som smak, tekstur, økt tilgjengelighet av næringsstoffer samt trygghet oppnås som en positiv effekt.

I dette forsøket viste ikke fiskekake med tare en reduksjon i bakteriell vekst og i flere paralleller var det sporer tilstede, bekreftet ved mikroskopi. Taren benyttet i fiskekakene var opprinnelig rå tare som var forvellet. Ved steking til oppnådd kjernetemperatur på 75 °C - 80 °C, så det ikke ut som om denne varmen hadde en effekt på mikrobiell vekst, slik at denne ble redusert. Sporenes membran fungerer som en barriere mot ytre påkjenninger og beskytter sporene (Johansen et al., 2013) ved for eksempel varmebehandling dersom denne ikke er høy nok.

Desimeringstid er definert i Kapittel 2.6.4 og er ikke beregnet i denne oppgaven, men det nevnes likevel at bakterieklassen *Bacillus* inneholder bakterieceller som kan danne resistente sporer på sjømat. Brunalger inneholder sporedannende bakterier og som utgjør en trussel mot mattrygghet og holdbarhet for råvare av tare eller prosessert mat med tare. For å oppnå et sikkert produkt blir det dermed viktig at prosesseringen av taren blir nøye kontrollert og at definerte kjølebetingelser opprettholdes slik at produktets kvalitet ivaretas og holdbarheten økes. Behandlingsmetoder for makroalger nevnes i kapittel 2.6.4 og for fiskekaker tilsatt tare kan det gjerne være interessant med mer innsikt i tarens egenskaper som smak, lukt og konsistens ved ulike typer behandlinger før den inngår i produktet. Standard og nye konserveringsteknikker kan være aktuelt for å bedre holdbarheten i produkter hvor tare inngår.

Dersom nye forsøk med tare utføres på fiskekaker, kan et alternativ være å varmebehandle taren kraftigere før den tilsettes fiskekakene. Dette for å se om en slik varmebehandling kan redusere mengde mikrobiota på taren. Det kan også testes ut ulike modifikasjoner av dobbel varmebehandling for å undersøke sporevekst og for å avdekke utfordringer med metodene. Argumenter imot ekstra varmebehandling er at dersom det eksisterer en liten fraksjon av sporer igjen, vil dette være nok til at disse kan vokse utover produktets holdbarhet. De samme sporene kan gi opphav til nye sporer (Gould, 2006; Gould et al., 1968). Fordelen med en slik dobbel behandling er at det ikke kreves høye varmebelastninger som kan ha en negativ påvirkning på produktets kvalitet slik at denne blir ødelagt. Det tas i betraktning at sukkertare og butare kan reagere ulikt på varmebehandling med utgangspunkt i fargeendringer.

Fiskekakene i dette forsøket ble stekt i vanlig stekepanne med måling av kjernetemperatur for hver kake. Et forslag til nye metoder med fiskekaker med tare ville vært å steke kakene på en plate med større overflate hvor steketemperaturen på hele platen er lik gjennom hele stekeprosessen. I vanlig stekepanne kan temperaturen variere dersom pannen ikke er riktig plassert på platen eller hvis platen gir ulik varme i senter og sidene av stekepannen. Dette for å sikre at alle fiskekaker stekes ved en stabil og fast temperatur i det øyeblikket de legges på stekeplaten, slik at steking kan bli mer produktiv med flere fiskekaker om gangen og at fiskekakene utsettes for lik temperatur hele tiden, uavhengig av hvor de er plassert på stekeplaten. Dette i motsetning til en vanlig standard stekepanne. Bedre forståelse og kunnskap av sporenes oppførsel i varmebehandlet mat ved siden av det sykdomsfremkallende potensialet til bakterier er viktig da stadig flere bedrifter ser etter nye tiltak for sporereduisering relatert til matproduksjon.

### 5.3 Holdbarhet på pesto med tare

Pesto med sukkertare og butare lagret ved 20 °C og 4 °C ble undersøkt for mikrobiologisk vekst, sensorikk og holdbarhet over en lagringsperiode på 12 uker. Taren ble forvelt i vann for å oppnå en friskere grønnfarge. Ingredienser nevnt i Tabell 3 ble mikset sammen og pestoen ble varmfylt på små glass som beskrevet i Kapittel 3.5. Varmfylling av pesto med metoden benyttet i dette studiet så i ikke ut til å være tilstrekkelig for behandling av pesto med tare. Varianter lagret ved 20 °C ble dermed ikke ansett som forsvarlige å konsumere grunnet produktets kvalitet ble redusert nokså tidlig ut i lagringsperioden. Dersom prosessen skal brukes, kan en alternativ optimalisert behandling med pasteurisering etterfulgt av lagring på kjøll gjennomføres, slik at en i større grad får redusert mikrobiota ved 20 °C. Dette med et mål om å øke holdbarheten på produktet opptil en måned. Pesto lagret ved 4 °C fikk en holdbarhet på 3 uker og metoden benyttet i denne oppgaven virket positivt og gav et trygt produkt med god kvalitet.

Før mikrobiologisk undersøkelse ble pH i varmfylt pesto målt. pH i sukkertarepesto ble målt til 5,34 og pH i butarepesto ble målt til 5,50. Ifølge en artikkel for undersøkelse av holdbarhet på pesto under pakking ved modifisert atmosfære på kjøll, hadde pestosaus en pH på 4,4 (Fabiano et al., 2000). Da resultatene i denne oppgaven gav tegn til mye vekst og redusert holdbarhet på pesto med sukkertare og butare lagret på spesielt 20 °C, kan det være aktuelt å justere pH ned ved enten tilsetning av surhetsregulerende midler som sitronsyre eller askorbinsyre. Dette for å se om dette hadde hatt en effekt på mikrobiologien, da bakterievekst normalt sett reduseres ved tilsetning av syre. Helt vanlig sitronjuice kunne også blitt brukt da dette er en naturlig råvare.

I lagringsforsøket på 84 dager var det tydelig at pestoen med de to tarevariantene lagret på 20 °C hadde fått sin holdbarhet redusert. Dette som en konsekvens av høy mikrobiologisk vekst ved dag 42 som vist i Figur 25. Høyeste verdi for de fire variantene med pesto observert for pesto med sukkertare lagret ved 20 °C ( $10^5$  cfu/g) og for pesto med butare ( $10^6$  cfu/g) med utgangspunkt i aerobe og anaerobe sporedannere. Pesto ved 4 °C hadde en finere og fyldigere konsistens enn pesto lagret på 20 °C, som hadde en tynnere konsistens. Dette grunnet mikrobiell degradering. Det ble funnet signifikant forskjell for lagringstid ( $p < 0,001$ ) mellom dag 14 og 84 for egenskapen fargeintensitet olje, hvor pestovariantene hadde en høyere intensitet ved dag 14. Dette muligens et resultat av pigmentene i taren. For fargeintensitet på selve pestoen ble det funnet signifikant forskjell med utgangspunkt i produkt typer. Fargen til begge pestovariantene lagret ved 20 °C var litt lysere og ikke like friske som pestovariantene lagret på 4 °C, som en effekt av produktets degradering. Det ble funnet signifikant forskjell på produktene ( $p = 0,002$ ) hvor sukkertare var signifikant forskjellig fra butare da fargen på pestoen var sterkere med sukkertare.



Veksten på pestovariantene var høy for pesto lagret på 20 °C, men det ble det ikke registrert noen gammel/emmen lukt. Selv om det var mye vekst for denne varianten, skal det likevel ses positivt på at ingen spesiell dårlig lukt kom frem. På den andre siden kan dette være en negativ egenskap da forbruker ikke med sikkerhet vet om maten er farlig ut ifra lukt. Produkttypene (ikke lagringstid) var av betydning for egenskapen lagret ost – lukt. Den signifikante forskjellen var å finne mellom pesto med butare og sukkertare lagret på 20 °C ( $p = 0,009$ ). Av variantene var det butare som gav høyest intensitet av lagret ost – lukt. Med mye vekst på denne varianten i den mikrobiologiske analysen kan det tenkes at den økte intensiteten i lukt ble endret med bakterieveksten parallelt med degradering av ost inni pestoen.

For sensorisk egenskap som smak ble det funnet signifikant forskjell for lagret ost – smak med utgangspunkt i lagringstid og ingen signifikante forskjeller mellom produktene, da pestovariantene så ut til å få en sterkere intensitet av lagret ost – smak ved dag 84 sammenlignet med dag 14. Ingen signifikante forskjeller ble funnet for salt smak da denne holdt seg lik for alle varianter gjennom lagringsperioden og uavhengig av mikrobiell vekst. Mer tilsetning av salt så dermed ikke ut til å være nødvendig da smaken ble betraktet som lik. Det ble kun registrert et tilfelle av lagret/gammel/emmen lukt på pesto lagret ved 4 °C for pesto med butare etter 84 dager, noe som reflekterte pestoens høye mikrobielle aktivitet ved samme dag.

Gjennom hele lagringsperioden ble det observert at pesto ved 20 °C ble tørrere og at olje hadde funnet seg en vei ut av glasset jo lenger ut i lagringsperioden en kom, selv om det ikke var tegn til at det var noe galt med lokket som var skrudd på pestoglasset. Fra sensorisk analyse ble det funnet signifikant forskjell for lagringstid mellom 14 og 84 dager ( $p = 0,001$ ), hvor pesto med sukkertare gav mest utskilt olje etter 14 dager. Dette samsvarer med observasjonene i mikrobiologien da veksten for pesto med sukkertare og butare begynte sin økning. Under forsøket ble det påvist at glassene som ble benyttet var lufttette (vakuum). Ved varmfylling ble det sørget for at glassene var sterile (Kap. 3.5.2). Det er likevel mulig at karbondioksid gass kan ha blitt sluppet ut som følge av bakteriell oppblomstring utover lagringsperioden. Med dette kan oljen ha blitt presset ut grunnet den mikrobiologiske aktiviteten.

Vekst for pesto lagret på 4 °C hadde generelt holdt seg lav og under  $10^3$  cfu/g mellom dag 0 og dag 84 i lagringsperioden, noe som viste at produktets holdbarhet generelt var stabil og i liten grad påvirket av mikroorganismer. Det ble funnet signifikant forskjell for glatthet mellom pesto med butare og sukkertare ( $p = 0,016$ ), hvor den med sukkertare ble opplevd som mer oljete. Dette kan ses i sammenheng med den mikrobiologiske veksten hvor butare pesto ved 20 °C over tid hadde betraktelig mer vekst enn de andre variantene og tørket mer ut som et resultat av aktiviteten inni glasset.

For graden av kornet konsistens ble det funnet signifikante forskjeller ut ifra lagringstid ( $p < 0,001$ ) mellom dag 14 og 84 hvor pestovariant lagret ved 4 °C ble opplevd som grovere ved slutten av lagringsperioden. Pesto lagret ved 20 °C hadde mistet mye olje i lagringsperioden og ble derfor ikke testet ved dag 84. Det samme var tilfellet for egenskapen knasing ( $p = 0,032$ ) hvor lagringstiden også hadde en effekt da pesto med sukkertare ble oppfattet som mer knasende ved dag 84, som en effekt av innholdet av tare og pestoens tap av olje.

For mikrobiologisk åpningsforsøk ved uke 2 ble det for tare lagret ved 20 °C observert mye vekst ved starten av åpningsforsøket (Fig. 26). Høyeste verdi ble funnet for butare ved 20 °C ( $10^5 - 10^6$  cfu/g) og for sukkertare ved 20 °C ( $10^5$  cfu/g) for dag 4, sammenlignet med dag 10 hvor veksten så ut til å avta til ca.  $10^3 - 10^4$  cfu/g for begge varianter - for totalt aerobt kimtall. Mikrobiell vekst for pesto variantene lagret ved 4 °C holdt seg generelt sett stabil gjennom åpningsforsøket med høyeste verdi registrert opp imot  $10^3$  cfu/g for sukkertare pesto lagret ved 4 °C ved dag null for aerobe sporedannere. Basert på mikroskopering og funn av aerobe og anaerobe sporedannere i denne oppgaven og tidligere eksperiment med sukkertare og butare utført av Blikra (2016) og Lindseth (2016), kan observert vekst på skålene også her forventes å være fra *Bacillus* slekten (Kap. 5.2).

I åpningsforsøket ved uke 12 (Fig. 27) ble det for dag 4 og dag 10 observert høyest vekst for butare som var lagret ved 4 °C med en verdi opp imot  $10^3$  cfu/g for totalt aerobt kimtall. Butare lagret ved 4 °C holdt seg under denne verdien helt frem til dag 10, hvor det ble observert en liten økning i vekst. Sporenes spireprosess hadde tatt lengre tid grunnet lavere lagrings temperatur sammenlignet med pesto lagret ved romtemperatur. For totalt aerobt kimtall var det lik vekst for begge pestovariantene lagret på 4 °C mellom dag 0 og dag 7 med vekst litt over  $10^2$  cfu/g. Veksten økte nærmere  $10^3$  cfu/g ved dag 10. For aerobe og anaerobe sporedannere lå veksten gjennom hele åpningsforsøket under  $10^3$  cfu/g for begge varianter selv om det var små forskjeller å finne ved dag 0 og dag 10 hvor den hadde økt i liten grad for begge varianter. Av de to pesto variantene på 4 °C så pesto med butare visuelt sett ut til å være mer fast og kornete enn for pesto med sukkertare, som var litt løsere i konsistens og med en mindre grovere tekstur. Dette kan være et resultat av varmfyllingsprosessen og muligens at de to tareartene har ulik respons på varme. Pesto lagret på 4 °C så ut til å holde seg fin over hele lagringsperioden på 84 dager og for uke 2 og 12 for åpningsforsøkene da lagringstemperaturen så ut til å være moderat. Åpningsforsøket for pesto med tare lagret på 4 °C bekrefter dermed produktets stabilitet og holdbarhet ved påvirkning som åpning, uttak og lagring over tid.

I dag benytter matindustrien flere ulike metoder for å hindre bakterier i å nå matprodukt og for å redusere mengde bakterievekst (Gould, 2001). Prosesseringsteknikker som sterilisering og pasteuriseringsteknikker (Koutchma, 2012) er ansett som vanlige behandlingsmetoder industrielt for

pesto og kan som en positiv effekt gi lengre holdbarhet på produktet. Negative effekter er ofte degradering av produkt med utgangspunkt i sensoriske egenskaper (Vicini & Previdi, 1992). Temperaturbehandlinger ved 100 °C kan inaktivere mikroorganismer, sporer og enzymer slik at en får mer stabile og trygge produkter (Abdullah & Fredriksen, 2004; Magoon, 1926; Setlow, 2006). Ulempen ved en så høy varmebehandling er tap av produktets næringsverdi, smak og tekstur (Lado & Yousef, 2002). Temperaturer mindre enn 100 °C kan for eksempel ved pasteurisering eliminere vegetative celler, mens sporer kan overleve (Rajkovic et al., 2010; Smelt et al., 2008). Det kan også benyttes tilsetningsstoffer som surhetsregulerende midler eller konserveringsstoffer.

Det finnes lite informasjon om lagringstid på pesto, men i en undersøkelse utført av forskere i Italia i 2008 ble det forsket på holdbarhet i pestosaus med utgangspunkt i reduksjon av vannaktivitet og reduksjon av pH som et alternativ til tradisjonelle pasteuriserings/steriliserings metoder ved bruk av fuktighetsgivende stoffer som KCL –fruktose og KCL-sakkarose (vann absorberende). Resultatene viste at reduksjon av vannaktivitet og kontrollert lagringstemperatur inhiberte den mikrobielle veksten av *C. perfingens* sporer, uten tilsetning av syre eller varmebehandling, slik at produktets ferske kvalitet ble opprettholdt gjennom lagring (Severini et al., 2008). Tilsetningsstoffer kan påvirke forbrukernes perspektiv på produktet da det er ønskelig med naturlige råvarer uten for mye prosessering. Pesto med tare lagret på 4 °C hadde lav mikrobiologisk aktivitet og holdt seg godt gjennom lagring. Med en slik bakgrunn og med eventuelt rom for forbedringer, som for pesto lagret ved romtemperatur, er det mulig å oppnå et produkt med god kvalitet og holdbarhet på 3 - 6 uker.

Lite prosessert mat som pesto er svært ettertraktet og dermed blir det viktig å få produsert produkter med god holdbarhet. Det er lite informasjon å finne om tare relatert til matforgiftning. Skal rene produkter med tare og prosessert mat med innhold av tare skal stå til salgs i dagligvarebutikker, kreves det kunnskap, tilvenning og opplæring av fagfolk og forbrukere med utgangspunkt i tilberedning, produktutvikling og risikoanalyse. Ved tillagning av pesto med tare ble en del essensielle pesto ingredienser byttet ut. Rapsolje ble benyttet i stedet for olivenolje da olivenolje har en nokså sterk og dominerende smak. Pinjekjerner ble byttet ut med cashewnøtter da pinjekjerner har en spesiell smak. Basilikum ble ikke tatt med da det var taren som skulle være i fokus. Oppskrifter på pesto kan variere for å fremheve ulik smak, farge og lukt. Ulike kommersielle produsenter har sine egne metoder enten basert på mattrygghet ovenfor forbrukerne. For eksempel kan bruken av pinjekjerner være av fordel i stedet for cashewnøtter, da mange kan ha nøtteallergi. På den andre siden kan det være mer aktuelt med cashewnøtter da det er blitt registrert tungmetaller i pinjekjerner ifølge helsemyndighetene i EU.

## 5.4 Effekt av varmebehandling på tare

Varmebehandling av tare ble gjennomført for kartlegging av vekst på tare og hvilken respons denne hadde ved ulike temperaturer på ulike næringsmedium. Det var nødvendig å finne et praktisk oppsett for denne type analyse og dermed ble metoden valgt med utgangspunkt i forsøk med tare i master oppgaven til Marthe J. Blikra (Blikra, 2016) med innsikt i forskningsartikler som Gupta et al. (2010) med fokus på blansjering og varmebehandling av tare. Taren i denne metoden ble analysert ved spesifikke temperaturkombinasjoner og spesifikk tid og er med dette ikke tilfeldig da forsøket baseres på tidligere studier. Varmebehandling på 80 °C og 90 °C ble valgt fordi dette er temperaturer som benyttes hos Seaweed AS på Værlandet - Bulandet i deres varmebehandling. Den kraftigste varmebehandlingen (95 °C i 15 min) ble valgt på grunnlag av resultatene i rapporten til Blikra, hvor det ble utført forsøk med sukkertare og butare ifra Seaweed AS fra Værlandet – Bulandet. Samme type tare ble benyttet i denne masteroppgaven og dermed ble metoden ansett som brukbar. Høye standardavvik sier noe om variasjoner i prøvematerialet. Det skal også nevnes at ved kutting av taren, fikk hver pose ulike deler av tarens blad, noe som kan være av betydning for den mikrobiologiske veksten da mikrobiota kan finnes i ulik mengde og på forskjellige steder på taren. For hver prøve ble det tatt ut tre uavhengige paralleller, så feilkilden er ikke av så stor betydning da disse tre parallellere er ment til å utligne forskjeller relatert til dette.

For undersøkelse av bakteriell vekst på rå og varmebehandlet butare og sukkertare, var veksten variabel på de ulike mediene for de ulike tarevariantene ved de ulike temperaturene. Varmebehandlingene på 80 °C, 90 °C og 95 °C i 15 min i tillegg til en rå ikke – varmebehandlet kontroll gav vekst ved alle analyser. For 90 °C varmebehandling, ble loggingen utført med Eval Flex loggere (Kap. 3.3) med den hensikt å logge kjernetemperatur på sukkertare og butare i vakuumpakkede poser koblet til loggere, plassert i vannbad i 15 minutter. Posene med tare og deres plassering i vannbadet ved de ulike varmebehandlingene kan ha vært av betydning for, da poser som lå nærme hverandre, kan ha oppnådd en høyere kjernetemperatur tidlig ut i loggingen eller at loggere kan ha vært koblet løst, slik at posene ikke var fullstendig tette.

Utfordringen ved analyse av varmetolerante bakterier etter varmebehandling var overvekst. Det hovedsakelig ble observert lave kolonitall for flere paralleller, ble denne overveksten anslått å være sverming. Med slike strukturer var det vanskelig å beregne antall kolonidannende enheter. Kolonitallet ble derfor justert ned til 1 for svermende skåler. Desimeringstid for bakterier på taren dyrket på Værlandet - Bulandet ble ikke beregnet i denne oppgaven.

Varmebehandling for tilstrekkelig eliminering av sporedannere ble anbefalt å gjøres ved 95 °C i 15 minutter ifølge Marthe J. Blikra (Blikra, 2016) og hennes arbeid med sukkertare og butare, for kvalitetsendringer på tare med utgangspunkt i blansjering og koking. Et viktig styringspunkt på den mikrobiologiske effekten på tang og tare er temperaturen hvor en generell behandling av taren på 95 °C i ca. 15 min skal kunne eliminere bakterier tilstede. Denne reduksjonen kan bli kvitt kontaminering på tarens overflate, samt bringe frem et velsmakende produkt med stabil og god holdbarhet og bedre tilstedeværelsen av viktige næringsstoffer (Gupta & Abu-Ghannam, 2011) i taren. I denne oppgaven ble det observert vekst ved alle varmebehandlings temperaturer i tillegg til rå kontroll. Sporer av *Bacillus subtilis* kan overleve fuktig varme på 100 °C ved atmosfærisk trykk, med en D verdi mellom 20 - 30 minutt (Nicholson et al., 2000). For å eliminere sporene kreves en varmebehandling på 121 °C i 15 minutter (Madigan et al., 2015).

Det finnes lite informasjon om potensielt patogene bakterier på makroalger. Ettersom bakteriene i denne oppgaven ikke ble isolert, kan det likevel antydes med innsikt i bacheloroppgaven til Cecilie Lindseth (Lindseth, 2016) at de sporedannende bakteriene funnet i denne oppgaven, på sukkertare og butare, mest sannsynlig stammet fra *Bacillus* slekten da det i Lindseths oppgave ble indentifisert *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis/amyloliquefaciens*. Alle disse er kjent for å bidra til matrelaterte sykdommer gjennom sin produksjon av toksiner (Salkinoja et al., 1999). Arter innen *Bacillus* har evne til å danne resistente endosporer og kan vokse både aerobt og fakultativt anaerobt. *Bacillus* slekten er distribuert både ved terrestriske og akvatiske habitater, inkludert i marine sedimenter (Miranda et al., 2008). Andre sporedannende bakterier er *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* og *Bacillus cereus* som kan gi opphav til sykdom både hos mennesker og dyr hvor symptomene vanligvis er diare oppkast og kvalme. Sporene kan overleve normal temperatur og koking. Av *Bacillus* artene er *B. subtilis*, *B. cereus* og *B. licheniformis* funnet i marine miljø og i saltvann (Ivanova et al., 2010).

Infektiv dose for *B. subtilis* og *B. licheniformis* ligger mellom  $10^5$  -  $10^9$  cfu/g (Kramer & Gilbert, 1989). Artene *B. pumilus*, *B. licheniformis*, og *B. subtilis* regnes som noen av de mest kjente bakteriene relatert til degradering av matprodukter som melkeprodukt, kjøtt, ris, pasta, og tørkede produkt. Sporene resistens mot varme er optimal ved nøytral pH (Rodríguez et al., 2010) og kan føre til sykdom. *B. licheniformis* kan forårsake matbårne sykdommer og symptomene er kvalme, oppkast, diare og magekrampe fra matvarer som desserter, iskem, sandwich og kjøttpålegg og er presentert i disse produktene med en verdi mellom  $3 \times 10^5$  til  $1 \times 10^8$  cfu/g (Salkinoja et al., 1999). *B. subtilis* kan forårsake sykdom med oppkast, kvalme parallelt med diare fra produkt som kjøtt, fisk, ris, og pasta med en bakteriell belastning fra  $10^5$  -  $10^9$  cfu/g (Logan, 2012) og kan inngå i mat hvor som helst i produksjonskjeden (Carlin, 2011).

Infektiv dose av *B. cereus* antas å ligge mellom  $10^5 - 10^7$  cfu, mens den lave dosen assosieres med sporer som er resistente til magesyre. En konsentrasjon på  $10^5 - 10^8$  cfu/g av *B. cereus* er nok til at det dannes toksiner som er resistente mot varme, pH og proteolyse, noe som igjen kan bidra til matforgiftning (Granum, 2007). Både *B. subtilis* og *B. licheniformis* kan produsere surfaktin som er et surfaktant molekyl (såpestoff) som kan bidra til spredning av multicellulære kolonier på næringsmidler, ved å senke overflate spenningen på omkringliggende væsker slik at det åpner for biofilmdannelse. Dette gir bakterier forbedret virulens, resistens mot antibiotika, samtidig som de kan overleve under prosessering (Angelini et al., 2009). Lichenysin A er et syklisk varmemestabilt lipopeptid og er et eksempel på en surfaktant. Denne har cytotoxiske egenskaper hvor den har potensiale til å danne ionekanaler i vertscelle membraner i tillegg til å ha lik struktur som surfaktin (Mikkola et al., 2000). *Bacillus cereus* er en psykrotolerant bakterie (Scheldeman et al., 2006) og vokser raskere enn *B. subtilis* gruppen for å utkonkurrere dem (Logan, 2012). I en undersøkelse av rå og pasteurisert melk var *B. cereus* funnet i mindre antall enn *B. licheniformis*. Ved inkubering av melk ved romtemperatur spirte *B. cereus* sporene og deres vegetative celler raskere, slik at disse utkonkurrerte veksten til *B. licheniformis*. Sporer av *Bacillus* utgjør et problem for matindustrien da de kan overleve milde varmebehandlinger og kan forårsake degradering i produkt, økonomiske tap for bedriften og sykdom hos mennesker (Sofos et al., 2013). Matdegradering er et resultat av fysiske reaksjoner, kjemiske reaksjoner, enzymaktivitet og vekst av mikroorganismer (Gram & Dalgaard, 2002) og eksempler på endringer i mat kan være gassproduksjon, vond lukt, pH endringer, fargeendringer, endret konsistens (Jos, 1996) og fordervelsesbakterier. Taren som råvare kan ha en overflate som inneholder ulike bakterier med ulik morfologi (Ismail et al., 2016). Omgivelsene den ble dyrket i er av stor betydning for hvilke bakterier som kan være tilstede på den (Vieira et al., 2016). Taren påvirkes også av miljøet rundt seg og tar opp ulike stoffer som kan være vekstregulerende for mikroorganismer som lever på den, som nevnt av Egan et al. (2013).

Resultatene i denne oppgaven tilsier at varmebehandlingen ikke var tilstrekkelig da sporer ble påvist ved mikroskopering og høyeste registrerte vekst ble gjort etter 42 dager for totalt aerobt kimtall hvor vekst lå rundt  $10^5 - 10^6$  cfu/g. Sporenes komposisjon er viktig for etablering av deres resistens, noe som gjør at de har lang levetid i vanskelige forhold (Kapittel 2.6.4), hvor de er beskyttet mot blant annet varme, kulde, stråling, uttørking, trykk og kjemikalier. Temperaturer benyttet til ulike varmebehandlinger innen produksjon og prosessering av mat kan ha ulik effekt på sporer og deres aktivitet (Brul et al., 2007). Det er blitt rapportert høy antimikrobiell aktivitet fra tang og tareekstrakt mot Gram - positive bakterier (Dubber & Harder, 2008; Febles et al., 1995), men hvordan denne endres i henhold til ulike typer varmebehandlinger av tare er usikkert. Fra undersøkelse av spiselige irske brunalger undersøkt av Gupta et. al. 2010, ble det utført varmebehandling på tare ved  $95^\circ\text{C}$  i 15 minutter

i autoklav og det ble observert reduksjon i antimikrobiell aktivitet i brunalgen. Det kunne i denne oppgaven vært aktuelt å gjennomgått ny analyse hvor selve varmebehandlingen kunne foregått over lengre tid og ved høyere temperatur kombinasjoner. Dette for å se den behandlede taren respons til varmebelastning og om det oppleves fysiske eller sensoriske endringer. Alternative behandlinger kan være varmebehandling i vannbad ved 95 ° C i 30 min og ved 100 ° C i 15 /30 min. 100 ° C (koking) og 121 ° C (autoklaving) Dette regnes i dag som vanlig prosessering for trygge matprodukter ut ifra et mikrobiologisk perspektiv (Gupta et al., 2010).

Vegetative sjøvannsbakterier er sensitive ovenfor frysing (Archer, 2004) og dette kan dermed virke som en effektiv metode for å redusere mikrobiell vekstrate på tare og matforgiftning. Samtidig som holdbarheten til taren opprettholdes. En viktig ting å ta hensyn til ved frysing og tining er væsketap ifra taren og det at viktige næringsstoffer/smaksstoffer i taren kan følge med denne væsken. For vekst av kuldetolerante bakterier var det forventet lav vekst, da det meste av bakterier skulle vært redusert under varmebehandlingen. I dette studiet ble det observert vekst for kuldetolerante bakterier, men det er forventet at vekstraten skal være lavere enn for totalt aerobt kimtall ved 30 °C. Det betyr at både høsting, prosessering og etterbehandling av rå tare kan ha innvirkning på mengde og type mikrobiota som finnes på taren. Fryses taren direkte etter høsting, kan dette bidra til at nivået bakterier reduseres betraktelig. Er taren varmebehandlet, men viser tegn til mye vekst, kan det være at den ikke er behandlet med riktig temperatur over riktig tid. Forskjellig behandling av tare kan gi ulik bruk av den og bearbeidet på riktig måte kan den bidra til å øke holdbarheten i kombinasjonsprodukter hvor den virker som ingrediens. I lagringsforsøket gjort i denne oppgaven var det tydelig at jo lenger lagringsperioden var, jo mer vekst ble det uavhengig av varmebehandling.

Det bør tas hensyn til at produkter med tare trenger grundigere vurderinger og estimer på varmebehandling da både taren og råvarene bidrar med ulik mikroflora. Varmebehandling fører til minket antimikrobiell aktivitet i brunalger ifølge Gupta et al. (2010). Noen negative effekter av taren kan ved varmebehandling være nedbryting av viktige vitaminer, enzymer og pigmenter (Kap.2.5) og eventuelt smaksstoffer som kan lekke ut i vannet taren kokes i. Risikovurderinger er aktuelt da de ulike bakteriene på tare eller i kombinasjonsprodukter kan gi opphav til potensielle sykdommer, som med tiden blir viktige å få kartlagt. Produktutvikling med behandlet tare krever blant annet tilvenning, riktig tilberedning og opplæring relatert til forbrukere og det sensoriske aspektet. Rå tare kan være praktisk for salg i dagligvarebutikker, mens produkter med ulik grad av tare krever mer innsikt i taren egenskaper, både mikrobiologisk og sensorisk. Degraderingen av fucoxantin ved varmebehandling kan bidra til økt kvalitet da grønnfargen oppleves som attraktiv. Dersom pigmentet ødelegges ved overskridende varme, kan det redusere helseverdien i taren da dette pigmentet anses som et kosttilskudd (Miyashita & Hosokawa, 2007).

## 6. Konklusjon

Ved seleksjon av vekst medium for analyse mikrobiota på sukkertare og butare ble Marine agar valgt da mediet gav signifikant høyere vekst enn Long and Hammer og PCA. Det var ingen signifikante forskjeller å finne utover dette.

For varmebehandling av tare ved temperaturene 80, 90 og 95 °C i tillegg til rå kontroll ble det funnet varierende mikrobiologisk kvalitet på taren. Vekst ble observert ved alle varmebehandlinger inkludert rå kontroll for totalt aerobt kimtall, kuldetolerante bakterier og sporedannere. Stavbakterier og aerobe og anaerobe sporer ble påvist ved mikroskopering. Bakteriene antas å tilhøre *Bacillus* slekten. Økningen i bakterievekst utover lagringsperioden var uavhengig av type varmebehandling. Det anbefales å prøve samme varmebehandlinger, men ved økt behandlingstid for å se hvilken effekt dette har på taren. I stedet for behandling ved 15 minutt, kunne det blitt testet med 30 min for å utforske om dette gir en forskjell i mikrobiell vekst, om fysiske egenskaper på taren som farge endres og hvilke sensoriske egenskaper og effekter denne taren hadde gitt dersom i kombinasjon med fiskekaker, pesto eller andre produkt.

Lagringsforsøk med fiskekaker med og uten tare viste i denne oppgaven gradvis økende mikrobiologisk vekst i lagringsperioden og økte for alle fiskekakevarianter med utgangspunkt i totalt aerobt kimtall. Minst vekst var det på standard fiskekake, mens fiskekake med butare gav høyest vekst over lagring. For sporedannere var veksten lav. Stavbakterier, aerobe og anaerobe sporedannere ble påvist ved mikroskopering, noe som bekreftet den mikrobiologiske aktiviteten i fiskekakene. Det ble funnet flere signifikante forskjeller for de sensoriske egenskapene på fiskekakene hvor mesteparten av dem ble redusert i kvalitet mot slutten av lagringstiden, noe som samsvarer med den mikrobiologiske analysen av fiskekaker da denne var betraktelig høy. Signifikante forskjeller ble også funnet mellom produktvariantene og for lagringstid. Tare egnet seg godt i kombinasjon med fiskekaker med metoden benyttet i denne oppgaven og oppnådd holdbarhet på fiskekakene ble satt til 3 uker, med bakgrunn av den sensoriske og mikrobiologiske analysen, da fiskekake med tare hadde beholdt både smak og kvalitet og var trygge å konsumere med lav bakteriell vekst. En optimalisering av metoden burde gjøres ved å alternativt varmebehandle taren ved en høyere temperatur før den tilsettes fiskekakene, for å se om dette kan bidra til å reduksjon av mikrobiota på taren, slik at fiskekakenes holdbarhet kan økes opp mot 6 uker og at de blir akseptable å konsumere. Det anbefales å eventuelt utføre denne varmebehandlingen to ganger etter hverandre ved dobbel varmebehandling, for å se om dette kan bidra til å eliminering av bakterier og sporer på taren.



I lagringsforsøk med pesto var det høyest mikrobiologisk vekst på pesto med butare lagret ved 20 °C. Pestovariantene lagret på 4 °C hadde lav vekst og holdt seg mest stabil ved lagring. Det ble funnet signifikante forskjeller på noen av de sensoriske egenskapene hvor både lagringstid og produktvarianter var av betydning for kvaliteten og holdbarheten på pestoen. Tare som en ingrediens i pesto hadde mange positive sensoriske egenskaper og metoden benyttet i denne oppgaven passer bra for pesto lagret ved 4 °C, hvor holdbarheten var 6 uker. Dersom det skal lages pesto ved romtemperatur for å oppnå et trygt produkt med lang holdbarhet, anbefales det å optimalisere metoden ved å autoklavere pestoen da dette kunne bidratt til reduksjon av bakteriell vekst, forlengelse av holdbarhet og økt kvalitet på produktet. Alternativt kan det utføres dobbel varmebehandling på den rå taren, med temperatur på 90 °C / 95 °C i 15 min i to omganger. Etter første varmebehandling elimineres gjenværende sporer ved den andre varmebehandlingen, uten at råvarens sensoriske egenskaper endres. Dette for å unngå redusert kvalitet ved behandling ved for høy varmebelastning. En slik belastning for pesto hadde ikke vært til fordel da det er mye ost i produktet som kunne endret både smak og tekstur med for sterk behandling. Et annet alternativ er pasteurisering etterfulgt av lagring på kjøll. For langtidslagret pesto ved 20 °C kan dobbel varmebehandling av taren og tilsetning av syre vært en metode for å få redusert mikrobiota. Da forbrukeren i hovedsak ønsker naturlige råvarer kan det i stedet for sitronsyre eller askorbinsyre, tilsettes helt naturlig sitron juice for å se hvilken effekt dette gir ut ifra et sensorisk og mikrobiologisk utgangspunkt gjennom lagring.

## Referanser

- Abdullah, M. I., & Fredriksen, S. (2004). Production, respiration and exudation of dissolved organic matter by the kelp *Laminaria hyperborea* along the west coast of Norway. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 84(05), 887-894.
- Akihiko, N., Yutaka, Y., Shozo, K., Masato, I., & Kazuo, S. (1996). Comparison of pressure resistances of spores of six bacillus strains with their heat resistances. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(10), 3897-3900.
- Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124(4), 783-801.
- Andersson, A., & Rønner, U. (1998). Adhesion and removal of dormant, heat-activated, and germinated spores of three strains of *Bacillus cereus*. *Biofouling*, 13(1), 51-67.
- Andersson, A., Rønner, U., & Granum, P. E. (1995). What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *International journal of food microbiology*, 28(2), 145-155.
- Angelini, T. E., Roper, M., Kolter, R., Weitz, D. A., & Brenner, M. P. (2009). *Bacillus subtilis* spreads by surfing on waves of surfactant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(43), 18109-18113.
- Archer, D. L. (2004). Freezing: an underutilized food safety technology? *International journal of food microbiology*, 90(2), 127-138.
- Backer, H., & Hollowell, J. (2000). Use of iodine for water disinfection: iodine toxicity and maximum recommended dose. *Environmental Health Perspectives*, 108(8), 679.
- Bakkevig, S. (1994). *Tang og tare på Tungenes*. Randaberg kommune: Color print AS.
- Bengtsson, M. M. (2011). *Bacterial biofilms on the kelp Laminaria hyperborea*: The University of Bergen.
- Blikra, M. J. (2016). Matkvalitet på norske brunalger, med fokus på butare (*alaria esculenta*) og sukkertare (*saccharina latissima*). Masteroppgave, Universitetet i Stavanger.
- Broekaert, K., Heyndrickx, M., Herman, L., Devlieghere, F., & Vlaemynck, G. (2011). Seafood quality analysis: molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. *Food microbiology*, 28(6), 1162-1169.
- Brown, J., Wiles, R., & Prentice, G. (1979). The effect of a modified Tyndallization process upon the sporeforming bacteria of milk and cream. *International Journal of Dairy Technology*, 32(2), 109-112.
- Brul, S., Van Gerwen, S., & Zwietering, M. (2007). *Modelling microorganisms in food*: Elsevier.
- Bryan, G., & Hummerstone, L. (1973). Brown seaweed as an indicator of heavy metals in estuaries in south-west England. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 53(3), 705-720.
- Cano, R. J., & Borucki, M. K. (1995). Revival and identification of bacterial spores in 25-to 40-million-year-old Dominican amber. *Science*, 268(5213), 1060.
- Carlin, F. (2011). Origin of bacterial spores contaminating foods. *Food microbiology*, 28(2), 177-182.
- Carvalho, A., Portela, M., Sousa, M., Martins, F., Rocha, F., Farias, D., & Feitosa, J. (2009). Physiological and physico-chemical characterization of dietary fibre from the green seaweed *Ulva fasciata* Delile. *Brazilian Journal of Biology*, 69(3), 969-977.
- Charon, N. W., Goldstein, S., Block, S., Curci, K., Ruby, J., Kreiling, J., & Limberger, R. (1992). Morphology and dynamics of protruding spirochete periplasmic flagella. *Journal of bacteriology*, 174(3), 832-840.
- Christie, H., Fredriksen, S., & Rinde, E. (1998). Regrowth of kelp and colonization of epiphyte and fauna community after kelp trawling at the coast of Norway *Recruitment, Colonization and Physical-Chemical Forcing in Marine Biological Systems* (pp. 49-58): Springer.
- Cortezzo, D., & Setlow, P. (2005). Analysis of factors that influence the sensitivity of spores of *Bacillus subtilis* to DNA damaging chemicals. *Journal of applied microbiology*, 98(3), 606-617.
- Cox, S., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S. (2010). An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds.
- Dalen, M. (2009). Dyrking av makroalger. Lastet ned 06.02.17 fra: <http://network.bellona.org/content/uploads/sites/2/Arbeidsnotat-makroalger.pdf>
- Davis, C., Cleven, D., Brown, J., & Balish, E. (1976). Anaerobiospirillum, a new genus of spiral-shaped bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 26(4), 498-504.
- Driks, A. (2002). Overview: development in bacteria: spore formation in *Bacillus subtilis*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59(3), 389-391.
- Dubber, D., & Harder, T. (2008). Extracts of *Ceramium rubrum*, *Mastocarpus stellatus* and *Laminaria digitata* inhibit growth of marine and fish pathogenic bacteria at ecologically realistic concentrations. *Aquaculture*, 274(2), 196-200.
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2013). The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(3), 462-476.

- Fabiano, B., Perego, P., Pastorino, R., & Borghi, M. (2000). The extension of the shelf-life of 'pesto'sauce by a combination of modified atmosphere packaging and refrigeration. *International journal of food science & technology*, 35(3), 293-303.
- Febles, C., Arias, A., Hardisson, A., López, A. S., & Gil-Rodríguez, M. (1995). Antimicrobial activity of extracts from some Canary species of Phaeophyta and Chlorophyta. *Phytotherapy Research*, 9(5), 385-387.
- Fei, X. (2004). Solving the coastal eutrophication problem by large scale seaweed cultivation *Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges* (pp. 145-151): Springer.
- Feldhusen, F. (2000). The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes and Infection*, 2(13), 1651-1660.
- FMC-Biopolymer. (2013). Tarehøsting – en del av norsk kystkultur. Lastet ned 06.02.2017 fra: <http://www.stortare.no/?service=tarehosting-en-del-av-norsk-kystkultur>
- Galanos, C., & Freudenberg, M. (1993). Bacterial endotoxins: biological properties and mechanisms of action. *Mediators of inflammation*, 2(7), S11-S16.
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. *American Journal of Applied Sciences*, 7(7), 859.
- Gilbert, S., McIntyre, L., Lake, R., Wong, T. L., & Hudson, A. (2011). *Background document on factors influencing the heat inactivation of bacteria in foods*.
- Gould, G. (2006). History of science – spores. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 507-513.
- Gould, G., Jones, A., & Wrighton, C. (1968). Limitations of the initiation of germination of bacterial spores as a spore control procedure. *Journal of Applied Bacteriology*, 31(3), 357-366.
- Gould, G. W. (2001). New processing technologies: an overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60(04), 463-474.
- Gounot, A.-M. (1986). Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 42(11), 1192-1197.
- Gram, L., & Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria—problems and solutions. *Current opinion in biotechnology*, 13(3), 262-266.
- Granum, P. (2007). *Bacillus cereus*. In *food microbiology* (Vol. 3rd ed). Washington D.C: ASM Press.
- Gross, T., Kamara, L., Hatheway, C., Powers, P., Libonati, J., Harmon, S., & Israel, E. (1989). Clostridium perfringens food poisoning: use of serotyping in an outbreak setting. *Journal of clinical microbiology*, 27(4), 660-663.
- Gupta, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 315-326.
- Gupta, S., Rajuaria, G., & Abu-Ghannam, N. (2010). Study of the microbial diversity and antimicrobial properties of Irish edible brown seaweeds. *International journal of food science & technology*, 45(3), 482-489.
- Heath, A. G. (1995). *Water pollution and fish physiology*: CRC press.
- Hennekinne, J.-A., De Buyser, M.-L., & Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815-836.
- Heyndrickx, M. (2011). The importance of endospore-forming bacteria originating from soil for contamination of industrial food processing. *Applied and Environmental Soil Science*, 2011.
- Heyndrickx, M., & Scheldeman, P. (2002). Bacilli associated with spoilage in dairy products and other food. *Applications and systematics of Bacillus and relatives*, 64-82.
- Hollants, J., Leliaert, F., De Clerck, O., & Willems, A. (2013). What we can learn from sushi: a review on seaweed–bacterial associations. *FEMS microbiology ecology*, 83(1), 1-16.
- Hosoi, T., Hirose, R., Saegusa, S., Ametani, A., Kiuchi, K., & Kaminogawa, S. (2003). Cytokine responses of human intestinal epithelial-like Caco-2 cells to the nonpathogenic bacterium Bacillus subtilis (natto). *International journal of food microbiology*, 82(3), 255-264.
- Hu, Z.-M., Duan, D.-L., & Lopez-Bautista, J. (2016). Seaweed phylogeography from 1994 to 2014: an overview *Seaweed Phylogeography* (pp. 3-22): Springer.
- Husa, V., Steen, H., & Åsen, P. A. (2007). Hvordan vil makroalgesamfunnene langs norskekysten påvirkes av økt sjøtemperatur. *Kyst og havbruk*, 23-27.
- Huss, H. H. (2007). *Assessment and management of seafood safety and quality*: Daya Books.
- Indegaard, M. (2010, mai 2011). Tang og tare – i hovedsak norske brunalger: Forekomster, forskning og anvendelse. Lastet ned 27.02.2017 fra: [https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/228180/397862\\_FULLTEXT02.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://brage.bibsys.no/xmlui/bitstream/handle/11250/228180/397862_FULLTEXT02.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Ismail, A., Ktari, L., Ahmed, M., Bolhuis, H., Boudabbous, A., Stal, L. J., El Bour, M. (2016). Antimicrobial Activities of Bacteria Associated with the Brown Alga *Padina pavonica*. *Frontiers in microbiology*, 7.
- Ivanova, E. P., Vysotskii, M. V., Svetashev, V. I., Nedashkovskaya, O. I., Gorshkova, N. M., Mikhailov, V. V., Yoshikawa, S. (2010). Characterization of *Bacillus* strains of marine origin. *International microbiology*, 2(4), 267-271.
- Jay, J. M. (2012). *Modern food microbiology*: Springer Science & Business Media.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2008). *Modern food microbiology*: Springer Science & Business Media.
- Johanessen, F. E. (2013, 07.06.13). Haakon Kierulf: Industrigründer. Norsk biografisk leksikon. Lastet ned 30.03.2017 fra: [https://nbl.snl.no/Haakon\\_Kierulf](https://nbl.snl.no/Haakon_Kierulf)
- Johansen, A., Stokstad, M., Randby, Å. T., Lindbäck, T., & Njaastad, K. M. (2013). Sporedannende bakterier: Utfordringer for mjølke kvalitet, fôr kvalitet og dyrehelse Vol. 8. Bioforsk Rapport 22/2013. 2017(04.04).
- Jos, H. J. (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International journal of food microbiology*, 33(1), 1-18.
- Kennedy, M. J., Reader, S. L., & Swierczynski, L. M. (1994). Preservation records of micro-organisms: evidence of the tenacity of life. *Microbiology*, 140(10), 2513-2529.
- Kotchen, T. A., Cowley Jr, A. W., & Frohlich, E. D. (2013). Salt in health and disease—a delicate balance. *New England Journal of Medicine*, 368(13), 1229-1237.
- Koutchma, T. (2012). Pasteurization and Sterilization. *Handbook of Food Safety Engineering*, 353-370.
- Kramer, J. M., & Gilbert, R. J. (1989). *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. *Foodborne bacterial pathogens*, 19, 21-70.
- Kratochvil, D., & Volesky, B. (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. *Trends in biotechnology*, 16(7), 291-300.
- Kubaneck, J., Jensen, P. R., Keifer, P. A., Sullards, M. C., Collins, D. O., & Fenical, W. (2003). Seaweed resistance to microbial attack: a targeted chemical defense against marine fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(12), 6916-6921.
- Kumar, C. S., Ganesan, P., Suresh, P., & Bhaskar, N. (2008). Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds—a review. *Journal of Food Science and Technology*, 45(1), 1-13.
- Lado, B. H., & Yousef, A. E. (2002). Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes and Infection*, 4(4), 433-440.
- Larkum, A., Douglas, S., & Raven, J. A. (2012). *Photosynthesis in algae* (Vol. 14): Springer Science & Business Media.
- Lerøy. (2017). Ocean Forest. Lastet ned 02.05.2017 fra: <https://www.leroyseafood.com/no/Forbruker/Om-Leroy/Nyheter/ocean-forest/>
- Lindemann, B., Ogiwara, Y., & Ninomiya, Y. (2002). The discovery of umami. *Chemical senses*, 27(9), 843-844.
- Lindseth, C. (2016). Identifisering av sporedannende bakterier og kvantifisering av bakterier i tare. Bacheloroppgave ved Teknisk-Naturvitenskapelige Fakultet, Universitetet i Stavanger.
- Liot, F., Colin, A., & Mabeau, S. (1993). Microbiology and storage life of fresh edible seaweeds. *Journal of applied phycology*, 5(2), 243-247.
- Lleo, M., Canepari, P., & Satta, G. (1990). Bacterial cell shape regulation: testing of additional predictions unique to the two-competing-sites model for peptidoglycan assembly and isolation of conditional rod-shaped mutants from some wild-type cocci. *Journal of bacteriology*, 172(7), 3758-3771.
- Logan, N. (2012). *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of applied microbiology*, 112(3), 417-429.
- Løvdaal, I. S., Granum, P. E., Rosnes, J. T., & Løvdaal, T. (2013). Activation of *Bacillus* spores at moderately elevated temperatures (30–33 °C). *Antonie Van Leeuwenhoek*, 103(3), 693-700.
- MacArtain, P., Gill, C. I., Brooks, M., Campbell, R., & Rowland, I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition reviews*, 65(12), 535-543.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2015). *Brock biology of microorganisms* (13th ed., Global ed. utg.). U.S: Pearson.
- Magoon, C. (1926). Studies upon bacterial spores I. Thermal resistance as affected by age and environment. *Journal of bacteriology*, 11(4), 253.
- Margulis, L. (1981). Symbiosis in cell evolution: Life and its environment on the early earth.
- Marteinsson, V. T., Birrien, J.-L., Reysenbach, A.-L., Vernet, M., Marie, D., Gambacorta, A., Prieur, D. (1999). *Thermococcus barophilus* sp. nov., a new barophilic and hyperthermophilic archaeon isolated under high hydrostatic pressure from a deep-sea hydrothermal vent. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(2), 351-359.
- Martinsen, H., Westgaard, L., Seifert, C., & Christiansen, Z. (2016). *Tang og tare-et hav av mat*: Cappelen Damm.


- Mazzola, P. G., Penna, T. C. V., & da S Martins, A. M. (2003). Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes. *BMC infectious diseases*, 3(1), 24.
- McHugh, D. (2003). A guide to the seaweed industry FAO Fisheries Technical Paper 441. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*.
- McMeekin, T., Brown, J., Krist, K., Miles, D., Neumeyer, K., Nichols, D., Ross, T. (1997). Quantitative microbiology: a basis for food safety. *Emerging infectious diseases*, 3(4), 541.
- Mikami, K., & Hosokawa, M. (2013). Biosynthetic pathway and health benefits of fucoxanthin, an algae-specific xanthophyll in brown seaweeds. *International journal of molecular sciences*, 14(7), 13763-13781.
- Mikkola, R., Kolari, M., Andersson, M. A., Helin, J., & Salkinoja-Salonen, M. S. (2000). Toxic lactonic lipopeptide from food poisoning isolates of *Bacillus licheniformis*. *European Journal of Biochemistry*, 267(13), 4068-4074.
- miljolare.no. Sukkertare .Lastet ned 14.06.2017 fra: [https://www.miljolare.no/artstre/?or\\_id=3029](https://www.miljolare.no/artstre/?or_id=3029)
- Miranda, C. A., Martins, O. B., & Clementino, M. M. (2008). Species-level identification of *Bacillus* strains isolates from marine sediments by conventional biochemical, 16S rRNA gene sequencing and inter-tRNA gene sequence lengths analysis. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 93(3), 297-304.
- Mišurcová, L., Machů, L., & Orsavová, J. (2011). Seaweed minerals as nutraceuticals. *Adv Food Nutr Res*, 64(64), 371-390.
- Miyashita, K., & Hosokawa, M. (2007). 12 Beneficial Health Effects of Seaweed Carotenoid, Fucoxanthin. *Marine nutraceuticals and functional foods*, 297.
- Moeller, R., Setlow, P., Reitz, G., & Nicholson, W. L. (2009). Roles of small, acid-soluble spore proteins and core water content in survival of *Bacillus subtilis* spores exposed to environmental solar UV radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(16), 5202-5208.
- Mortensen, S. (2017). Artstre- Butare (*Alaria esculenta*). Lastet ned 06.02.2017 fra: [https://www.miljolare.no/artstre/?or\\_id=3036%20](https://www.miljolare.no/artstre/?or_id=3036%20).
- Mouritsen, O. G., Mouritsen, J. D., & Johansen, M. (2013). *Seaweeds: edible, available, and sustainable*: University of Chicago Press.
- Mouritsen, O. G., Williams, L., Bjerregaard, R., & Duelund, L. (2012). Seaweeds for umami flavour in the New Nordic Cuisine. *Flavour*, 1(1), 4.
- Mæhre, H. K., Malde, M. K., Eilertsen, K. E., & Elvevoll, E. O. (2014). Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3281-3290.
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J., & Setlow, P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(3), 548-572.
- NMKL. (2006). Kimtall og spesifikke fordervelses bakterier i fisk og fiskevarer. *Nordisk Metodikk Komitè for Næringsmidler*, Nr. 184.
- NMKL. (2008). Aerobt kimtall eller anaerobt kimtall eller sporetll. Bestemmelse på blodagar. *Nordisk Metodikk Komitè for Næringsmidler*, N. 189.
- Novotny, L., Dvorska, L., Lorencova, A., Beran, V., & Pavlik, I. (2004). Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *VETERINARNI MEDICINA-PRAHA-*, 49(9), 343-358.
- Oomes, S., Van Zuijlen, A., Hehenkamp, J., Witsenboer, H., Van der Vossen, J., & Brul, S. (2007). The characterisation of *Bacillus* spores occurring in the manufacturing of (low acid) canned products. *International journal of food microbiology*, 120(1), 85-94.
- Peck, M. W., Goodburn, K. E., Betts, R. P., & Stringer, S. C. (2008). Assessment of the potential for growth and neurotoxin formation by non-proteolytic *Clostridium botulinum* in short shelf-life commercial foods designed to be stored chilled. *Trends in Food Science & Technology*, 19(4), 207-216.
- Pérez, M. J., Falqué, E., & Domínguez, H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Marine drugs*, 14(3), 52.
- Petit, L., Gibert, M., & Popoff, M. R. (1999). *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends in microbiology*, 7(3), 104-110.
- Piggot, P. J., & Hilbert, D. W. (2004). Sporulation of *Bacillus subtilis*. *Current opinion in microbiology*, 7(6), 579-586.
- Popham, D. (2002). Specialized peptidoglycan of the bacterial endospore: the inner wall of the lockbox. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59(3), 426-433.
- Promac.no. (2017a). About Promac. Lastet ned 27.04.17 fra: <http://promac.no/about-the-project/>
- Promac.no. (2017b). Promac research partners. Lastet ned 27.04.2017 fra: <http://promac.no/partners/>

- Rajkovic, A., Smigic, N., & Devlieghere, F. (2010). Contemporary strategies in combating microbial contamination in food chain. *International journal of food microbiology*, 141, S29-S42.
- Ramanan, R., Kim, B.-H., Cho, D.-H., Oh, H.-M., & Kim, H.-S. (2016). Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology advances*, 34(1), 14-29.
- Rasko, D. A., Rosovitz, M., Myers, G. S., Mongodin, E. F., Fricke, W. F., Gajer, P., Chaudhuri, R. (2008). The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. *Journal of bacteriology*, 190(20), 6881-6893.
- Rebours, C., Marinho-Soriano, E., Zertuche-González, J. A., Hayashi, L., Vásquez, J. A., Kradolfer, P., Bay-Larsen, I. (2014). Seaweeds: an opportunity for wealth and sustainable livelihood for coastal communities. *Journal of applied phycology*, 26(5), 1939-1951.
- Reece, Lisa A. Urry, Michael L. Cain, Steven A. Wasserman, Peter V. Minorsky, & Jackson, R. B. (2011). *Campbell biology (9th ed. Global ed. utg.)*. Boston: Mass: Pearson.
- Reilly, A., & Kaferstein, F. (1998). Food safety and products from aquaculture. *Journal of applied microbiology*, 85(S1).
- Rhatigan, P. (2009). *Prannie Rhatigan's Irish Seaweed Kitchen: The Comprehensive Guide to Healthy Everyday Cooking with Seaweeds*: Booklink.
- Rodríguez-Lozano, A., Campagnoli, M., Jewel, K., Monadjemi, F., & Gaze, J. (2010). *Bacillus* spp. thermal resistance and validation in soups. *Curr. Res. Appl. Microbiol*, 1, 537-544.
- Rueness, J. (1998). *Alger i farger. En felthåndbok om kystens makroalger*. Oslo: Altmater forlag.
- Rueness, J., & Steen, H. (2008). Dyrking og utnyttelse av marine makroalger. 1. *Forvaltning av kysten (kyst og Havbruk)*, 61.
- Rødbotten, M. (2015). *Sensorikk - Måling med menneskelige sanser (Vol. 3)*. Oslo: Kopinor Pensum AS.
- Salkinoja-Salonen, M., Vuorio, R., Andersson, M., Kämpfer, P., Andersson, M., Honkanen-Buzalski, T., & Scoging, A. (1999). Toxigenic strains of *Bacillus licheniformis* related to food poisoning. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4637-4645.
- Scheldeman, P., Herman, L., Foster, S., & Heyndrickx, M. (2006). *Bacillus sporothermodurans* and other highly heat-resistant spore formers in milk. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 542-555.
- Setlow, B., & Setlow, P. (1995). Small, acid-soluble proteins bound to DNA protect *Bacillus subtilis* spores from killing by dry heat. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), 2787-2790.
- Setlow, P. (1994). Mechanisms which contribute to the long-term survival of spores of *Bacillus* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 76(S23).
- Setlow, P. (2003). Spore germination. *Current opinion in microbiology*, 6(6), 550-556.
- Setlow, P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of applied microbiology*, 101(3), 514-525.
- Setlow, P. (2007). I will survive: DNA protection in bacterial spores. *Trends in microbiology*, 15(4), 172-180.
- Severini, C., Corbo, M. R., Derossi, A., Bevilacqua, A., & Giuliani, R. (2008). Use of humectants for the stabilization of pesto sauce. *International journal of food science & technology*, 43(6), 1041-1046.
- Singh, R. P., & Reddy, C. (2014). Seaweed–microbial interactions: key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS microbiology ecology*, 88(2), 213-230.
- Skrovánková, S. (2011). Seaweed vitamins as nutraceuticals. *Adv Food Nutr Res*, 64, 357-369.
- Smelt, J., Bos, A., Kort, R., & Brul, S. (2008). Modelling the effect of sub (lethal) heat treatment of *Bacillus subtilis* spores on germination rate and outgrowth to exponentially growing vegetative cells. *International journal of food microbiology*, 128(1), 34-40.
- Smith, L. D., & Holdeman, L. V. (1969). The pathogenic anaerobic bacteria. *The pathogenic anaerobic bacteria*.
- Sofos, J. N., Flick, G., Nychas, G.-J., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., & Crandall, P. G. (2013). Meat, poultry, and seafood *Food microbiology* (pp. 111-167): American Society of Microbiology.
- Steen, H. (2005). Høsting av tang og tare—økologisk uforsvarlig eller bærekraftig ressursbruk? ,Kapittel 2; *Biologiske verdier kyst og havbruk*.
- Tyndall, J. (1877). Further researches on the deportment and vital persistence of putrefactive and infective organisms from a physical point of view. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 167, 149-206.
- Van Spreekens, K. (1974). The suitability of a modification of long and hammer's medium for the enumeration of more fastidious bacteria from fresh fishery products. *Archiv für Lebensmittelhygiene*.
- Vicini, E., & Previdi, M. (1992). Aspetti microbiologici del pesto ligure. *Industria Conserve*, 67(4), 426-429.
- Vieira, C., Engelen, A. H., Guentas, L., Aires, T., Houlbrequé, F., Gaubert, J., Payri, C. E. (2016). Species specificity of bacteria associated to the brown seaweeds *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) and their potential for induction of rapid coral bleaching in *Acropora muricata*. *Frontiers in microbiology*, 7.

Yamanaka, R., & Akiyama, K. (1993). Cultivation and utilization of *Undaria pinnatifida* (wakame) as food. *Journal of applied phycology*, 5(2), 249-253.

# Vedlegg

## Vedlegg1: Dommer skjema for sensorikk på fiskekake

|   |                               |        |  |
|---|-------------------------------|--------|--|
|  | Analyse:                      | Dato   |  |
|   | PRODUKTVURDERING Farseprodukt | Dommer |  |
|   |                               | Prøve  |  |

| Lukt                      |       | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |     |
|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Ferskhet/friskhet         | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Intensitet fiskekake-lukt | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Tang/tare                 | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Syrlig (syre)             | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_

### Utseende

|                             |         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |             |
|-----------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| Fargeintensitet - farse     | Grålig  | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Hvit        |
| Fargeintensitet – tare/tang | Brunlig | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Gress-grønn |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_

### Smak

|                          |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Ferskhet/friskhet        | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Intensitet fiskekakesmak | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Tang/tare                | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Salt                     | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Søt                      | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_


### Konsistens

|               |                |       |       |       |       |       |       |       |       |       |            |
|---------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|
| Tyggemotstand | Ingen/Bløt/myk | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye/Fast   |
| Saftighet     | Ingen/Tørr     | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye/Saftig |
| Glatthet      | Melen/kornet   | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Glatt      |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_



**Vedlegg 2: Dommer skjema for sensorikk på pesto**

|   |                  |        |  |
|---|------------------|--------|--|
|  | Analyse:         | Dato   |  |
|   | PRODUKTVURDERING | Dommer |  |
|   | Pesto            | Prøve  |  |

| <b>Lukt</b>         |       | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |     |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Lagret ost          | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Lagret/gammel/emmen | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_

**Utseende**

|                                |         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |             |
|--------------------------------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| Utskilt olje                   | Ingen   | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye         |
| Fargeintensitet – utskilt olje | Brunlig | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Gress-grønn |
| Fargeintensitet – pesto        | Brunlig | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Gress-grønn |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_

**Smak**

|                     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |     |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Lagret ost          | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Lagret/gammel/emmen | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |
| Salt                | Ingen | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_

**Konsistens**

|             |               |       |       |       |       |       |       |       |       |       |           |
|-------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| Oljet/glatt | Ingen/tørr    | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye/glatt |
| Kornet      | Ingen/finmalt | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye/grov  |
| Knasing     | Ingen         | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | Mye       |

Andre kommentarer: \_\_\_\_\_

Vedlegg 3: ANOVA enveis – varians analyse for fiskekake

| Produkt          | Ferskhet/<br>friskhet<br>lukt | Intensitet<br>fiskekake<br>lukt | Tang/<br>tare<br>lukt | Syrlig<br>lukt<br>(syre) | Farge-<br>intensitet<br>farse | Farge-<br>intensitet<br>tang/<br>tare | Ferskhet<br>/<br>friskhet<br>smak | Intensitet<br>fiskekake<br>smak | Tang/<br>tare<br>smak | Salt<br>smak      | Søt<br>smak        | Hardhet<br>(tygg) | Saftighet         | Glatthet          |
|------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| BT<br>dag 0      | 6,6 <sup>a</sup>              | 5,5 <sup>ab</sup>               | 1,8                   | 1 <sup>b</sup>           | 7                             | 5,2 <sup>ab</sup>                     | 7,3 <sup>a</sup>                  | 5,9 <sup>a</sup>                | 2,5                   | 5,2 <sup>a</sup>  | 2,5                | 4,8               | 7,4 <sup>a</sup>  | 5,5 <sup>a</sup>  |
| BT<br>dag 14     | 7,7 <sup>a</sup>              | 6,2 <sup>a</sup>                | 1,5                   | 1,3 <sup>b</sup>         | 7,2                           | 5,8 <sup>a</sup>                      | 6,8 <sup>a</sup>                  | 6,4 <sup>a</sup>                | 3                     | 5,1 <sup>a</sup>  | 2,1                | 5,3               | 6 <sup>b</sup>    | 5,3 <sup>a</sup>  |
| BT<br>dag 26     | 6,1 <sup>ab</sup>             | 6,3 <sup>a</sup>                | 2,5                   | 2,5 <sup>ab</sup>        | 7,1                           | 5,1 <sup>ab</sup>                     | 6,1 <sup>a</sup>                  | 5,8 <sup>a</sup>                | 3,6                   | 4,8 <sup>ab</sup> | 2,4                | 4,9               | 6,9 <sup>a</sup>  | 5,2 <sup>a</sup>  |
| BT<br>dag 36     | 4 <sup>b</sup>                | 4 <sup>b</sup>                  | 2,37                  | 3,62 <sup>a</sup>        | 5,87                          | 4 <sup>b</sup>                        | 3,37 <sup>b</sup>                 | 3,37 <sup>b</sup>               | 2,12                  | 3,75 <sup>b</sup> | 2,25               | 4,5               | 4,37 <sup>c</sup> | 3,75 <sup>b</sup> |
| <b>P - verdi</b> | <b>0,001</b>                  | <b>0,053</b>                    | <b>0,114</b>          | <b>0,001</b>             | <b>0,114</b>                  | <b>0,006</b>                          | <b>&lt; 0,001</b>                 | <b>&lt; 0,001</b>               | <b>0,096</b>          | <b>0,011</b>      | <b>0,662</b>       | <b>0,562</b>      | <b>&lt; 0,001</b> | <b>0,006</b>      |
| S<br>dag 0       | 6,9 <sup>b</sup>              | 6,2 <sup>b</sup>                | 1,1                   | 1,1 <sup>b</sup>         | 7 <sup>a</sup>                | 1                                     | 7,6 <sup>a</sup>                  | 5,6 <sup>ab</sup>               | 1                     | 5                 | 2,3 <sup>b</sup>   | 5,5               | 7 <sup>a</sup>    | 6,1 <sup>a</sup>  |
| S<br>dag 14      | 8 <sup>a</sup>                | 7,8 <sup>a</sup>                | 1                     | 1,9 <sup>ab</sup>        | 5,9 <sup>b</sup>              | 1                                     | 6,9 <sup>ab</sup>                 | 6,8 <sup>a</sup>                | 1                     | 5,1               | 3,3 <sup>a</sup>   | 5,9               | 5,4 <sup>b</sup>  | 5,6 <sup>ab</sup> |
| S<br>dag 26      | 6,5 <sup>b</sup>              | 6,3 <sup>b</sup>                | 1,2                   | 1,9 <sup>ab</sup>        | 6,8 <sup>a</sup>              | 1                                     | 5,7 <sup>bc</sup>                 | 5,6 <sup>ab</sup>               | 1,3                   | 5                 | 2 <sup>b</sup>     | 5,3               | 6,5 <sup>a</sup>  | 5,9 <sup>a</sup>  |
| S<br>dag 36      | 6,37 <sup>b</sup>             | 6,37 <sup>b</sup>               | 1                     | 2,87 <sup>a</sup>        | 6,87 <sup>a</sup>             | 1,37                                  | 5 <sup>c</sup>                    | 5,0 <sup>b</sup>                | 1                     | 4,6               | 2,75 <sup>ab</sup> | 5,5               | 4,87 <sup>b</sup> | 4,62 <sup>b</sup> |
| <b>P - verdi</b> | <b>0,001</b>                  | <b>0,001</b>                    | <b>0,327</b>          | <b>0,001</b>             | <b>0,003</b>                  | <b>0,297</b>                          | <b>&lt; 0,001</b>                 | <b>0,020</b>                    | <b>0,160</b>          | <b>0,247</b>      | <b>0,001</b>       | <b>0,315</b>      | <b>&lt; 0,001</b> | <b>0,013</b>      |
| ST<br>dag 0      | 7 <sup>a</sup>                | 5,8 <sup>a</sup>                | 2                     | 1,4 <sup>b</sup>         | 7,2 <sup>ab</sup>             | 5,4 <sup>ab</sup>                     | 7 <sup>a</sup>                    | 5,6 <sup>ab</sup>               | 2,3                   | 5,6 <sup>a</sup>  | 1,9                | 4,5               | 7,9 <sup>a</sup>  | 5,8 <sup>a</sup>  |
| ST<br>dag 14     | 7 <sup>a</sup>                | 6,2 <sup>a</sup>                | 2                     | 2,2 <sup>ab</sup>        | 7,6 <sup>a</sup>              | 5,8 <sup>a</sup>                      | 6,7 <sup>a</sup>                  | 6,3 <sup>a</sup>                | 3,3                   | 5,1 <sup>ab</sup> | 2                  | 4,8               | 6,3 <sup>b</sup>  | 5,3 <sup>a</sup>  |
| ST<br>dag 26     | 5 <sup>b</sup>                | 5,5 <sup>ab</sup>               | 2,7                   | 2,6 <sup>ab</sup>        | 6,9 <sup>ab</sup>             | 5,4 <sup>ab</sup>                     | 3,6 <sup>b</sup>                  | 4,1 <sup>bc</sup>               | 3,5                   | 4,7 <sup>ab</sup> | 2,3                | 4,3               | 6,7 <sup>ab</sup> | 5,6 <sup>a</sup>  |
| ST<br>dag 36     | 3 <sup>b</sup>                | 3,5 <sup>b</sup>                | 2,37                  | 3,5 <sup>a</sup>         | 5,87 <sup>b</sup>             | 4,37 <sup>b</sup>                     | 2,5 <sup>b</sup>                  | 2,75 <sup>c</sup>               | 2                     | 3,87 <sup>b</sup> | 2,37               | 4,25              | 4,12 <sup>c</sup> | 3,62 <sup>b</sup> |
| <b>P - verdi</b> | <b>&lt; 0,001</b>             | <b>0,007</b>                    | <b>0,594</b>          | <b>0,026</b>             | <b>0,030</b>                  | <b>0,037</b>                          | <b>&lt; 0,001</b>                 | <b>&lt; 0,001</b>               | <b>0,084</b>          | <b>0,008</b>      | <b>0,504</b>       | <b>0,712</b>      | <b>&lt; 0,001</b> | <b>0,001</b>      |

Vedlegg 4: ANOVA GLM (General Linear Model) analyse for fiskekake

| Lagringstid      | Ferskhet/<br>ferskhet<br>lukt | Intensitet/<br>fiskekake<br>lukt | Tang/<br>tare<br>lukt | Syrlig<br>lukt<br>(syre) | Farge-<br>intensitet/<br>farse | Farge-<br>intensitet/<br>tang/<br>tare | Ferskhet<br>/<br>friskhet<br>smak | Intensitet<br>fiskekake<br>smak | Tang/<br>tare<br>smak | Salt<br>smak      | Søt<br>smak        | Hardhet<br>(tygg) | Saftighet         | Glatthet           |
|------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------------|--|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Dag0             | 6,83 <sup>ab</sup>            | 5,83 <sup>a</sup>                | 1,63 <sup>a</sup>     | 1,16 <sup>c</sup>        | 7,07 <sup>a</sup>              | 3,87 <sup>ab</sup>                     | 7,30 <sup>a</sup>                 | 5,70 <sup>ab</sup>              | 1,93 <sup>b</sup>     | 5,27 <sup>a</sup> | 2,23 <sup>a</sup>  | 4,93 <sup>a</sup> | 7,43 <sup>a</sup> | 5,80 <sup>a</sup>  |
| dag14            | 7,56 <sup>a</sup>             | 6,73 <sup>a</sup>                | 1,50 <sup>a</sup>     | 1,80 <sup>bc</sup>       | 6,90 <sup>ab</sup>             | 4,20 <sup>a</sup>                      | 6,80 <sup>a</sup>                 | 6,50 <sup>a</sup>               | 2,43 <sup>ab</sup>    | 5,10 <sup>a</sup> | 2,47 <sup>a</sup>  | 5,33 <sup>a</sup> | 5,90 <sup>c</sup> | 5,40 <sup>a</sup>  |
| dag26            | 5,86 <sup>b</sup>             | 6,03 <sup>a</sup>                | 2,13 <sup>a</sup>     | 2,33 <sup>b</sup>        | 6,93 <sup>ab</sup>             | 3,83 <sup>ab</sup>                     | 5,13 <sup>b</sup>                 | 5,16 <sup>b</sup>               | 2,80 <sup>a</sup>     | 4,83 <sup>a</sup> | 2,23 <sup>a</sup>  | 4,83 <sup>a</sup> | 6,70 <sup>b</sup> | 5,57 <sup>a</sup>  |
| dag36            | 4,46 <sup>c</sup>             | 4,62 <sup>b</sup>                | 1,92 <sup>a</sup>     | 3,33 <sup>a</sup>        | 6,21 <sup>b</sup>              | 3,25 <sup>b</sup>                      | 3,62 <sup>c</sup>                 | 3,71 <sup>c</sup>               | 1,70 <sup>b</sup>     | 4,08 <sup>b</sup> | 2,46 <sup>a</sup>  | 4,75 <sup>a</sup> | 4,46 <sup>d</sup> | 4,00 <sup>b</sup>  |
| <b>P - verdi</b> | < 0,001                       | < 0,001                          | 0,057                 | < 0,001                  | 0,032                          | 0,003                                  | < 0,001                           | < 0,001                         | 0,002                 | < 0,001           | 0,489              | 0,141             | < 0,001           | < 0,001            |
| <b>Produkt</b>   |                               |                                  |                       |                          |                                |  |                                   |                                 |                       |                   |                    |                   |                   |                    |
| S                | 6,88 <sup>a</sup>             | 6,62 <sup>a</sup>                | 1,08 <sup>b</sup>     | 1,96 <sup>a</sup>        | 6,60 <sup>a</sup>              | 1,05 <sup>b</sup>                      | 6,26 <sup>a</sup>                 | 5,70 <sup>a</sup>               | 1,05 <sup>b</sup>     | 4,91 <sup>a</sup> | 2,58 <sup>a</sup>  | 5,54 <sup>a</sup> | 5,91 <sup>a</sup> | 5,54 <sup>a</sup>  |
| BT               | 6,11 <sup>ab</sup>            | 5,52 <sup>b</sup>                | 2,03 <sup>a</sup>     | 2,09 <sup>a</sup>        | 6,81 <sup>a</sup>              | 5,05 <sup>a</sup>                      | 5,92 <sup>a</sup>                 | 5,39 <sup>ab</sup>              | 2,81 <sup>a</sup>     | 4,72 <sup>a</sup> | 2,32 <sup>ab</sup> | 4,88 <sup>b</sup> | 6,17 <sup>a</sup> | 4,93 <sup>b</sup>  |
| ST               | 5,54 <sup>b</sup>             | 5,28 <sup>b</sup>                | 2,27 <sup>a</sup>     | 2,43 <sup>a</sup>        | 6,92 <sup>a</sup>              | 5,26 <sup>a</sup>                      | 4,97 <sup>b</sup>                 | 4,70 <sup>b</sup>               | 2,79 <sup>a</sup>     | 4,83 <sup>a</sup> | 2,14 <sup>b</sup>  | 4,46 <sup>b</sup> | 6,28 <sup>a</sup> | 5,09 <sup>ab</sup> |
| <b>P - verdi</b> | 0,001                         | < 0,001                          | < 0,001               | 0,209                    | 0,457                          | < 0,001                                | 0,001                             | 0,006                           | < 0,001               | 0,639             | 0,048              | < 0,001           | 0,258             | 0,032              |

**Vedlegg 5: ANOVA enveis – varians analyse for pesto**

| Produkt                  | Lagret ost lukt | Lagret/ gammel/emmen lukt | Utskilt olje       | Farge-Intensitet olje | Farge-Intensitet pesto | Lagret ost smak    | Lagret/ gammel/emmen smak | Salt smak | Olje/ glatt | Kornet            | Knasing |
|--------------------------|-----------------|---------------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|---------------------------|-----------|-------------|-------------------|---------|
| <b>ST 20 °C - dag 14</b> | 6,12            | -                         | 6,87 <sup>a</sup>  | 7,12 <sup>a</sup>     | 6,00                   | 5,62 <sup>ab</sup> | -                         | 4,25      | 5,62        | 4,87 <sup>b</sup> | 5,50    |
| <b>ST 4 °C - dag 14</b>  | 6,50            | -                         | 6,25 <sup>ab</sup> | 7,00 <sup>a</sup>     | 6,00                   | 5,50 <sup>b</sup>  | -                         | 4,25      | 5,87        | 5,25 <sup>b</sup> | 5,50    |
| <b>ST 4 °C - dag 84</b>  | 6,50            | -                         | 5,20 <sup>b</sup>  | 5,90 <sup>b</sup>     | 5,30                   | 6,30 <sup>a</sup>  | -                         | 4,10      | 6,30        | 6,50 <sup>a</sup> | 6,10    |
| <b>P - verdi</b>         | 0,399           | -                         | 0,003              | <0,001                | 0,139                  | 0,034              | -                         | 0,670     | 0,085       | 0,003             | 0,280   |
| <b>BT 20 °C - dag 14</b> | 7,25            | -                         | 6,62 <sup>a</sup>  | 7,12 <sup>a</sup>     | 5,00                   | 6,37               | 1,00                      | 4,50      | 5,12        | 5,37 <sup>b</sup> | 5,50    |
| <b>BT 4 °C - dag 14</b>  | 6,50            | -                         | 6,00 <sup>a</sup>  | 7,12 <sup>a</sup>     | 4,75                   | 6,12               | 1,00                      | 4,50      | 5,37        | 5,37 <sup>b</sup> | 5,37    |
| <b>BT 4 °C - dag 84</b>  | 6,60            | -                         | 4,90 <sup>b</sup>  | 5,80 <sup>b</sup>     | 4,60                   | 6,60               | 1,70                      | 4,20      | 5,70        | 6,60 <sup>a</sup> | 6,10    |
| <b>P - verdi</b>         | 0,062           | -                         | 0,002              | <0,001                | 0,603                  | 0,371              | 0,026                     | 0,525     | 0,166       | 0,009             | 0,206   |

**Vedlegg 6:** ANOVA GLM (General Linear Model) analyse for pesto

| Lagringstid      | Lagret ost lukt    | Utskilt olje      | Farge-Intensitet olje | Farge-Intensitet pesto | Lagret ost smak   | Lagret/gammel/emmen smak | Salt smak         | Olje/glatt        | Kornet            | Knasing           |
|------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dag 14           | 6,59 <sup>a</sup>  | 6,44 <sup>a</sup> | 7,09 <sup>a</sup>     | 5,44 <sup>a</sup>      | 5,90 <sup>b</sup> | 1,00 <sup>b</sup>        | 4,37 <sup>a</sup> | 5,50 <sup>a</sup> | 5,22 <sup>b</sup> | 5,47 <sup>b</sup> |
| Dag 84           | 6,64 <sup>a</sup>  | 5,36 <sup>b</sup> | 5,88 <sup>b</sup>     | 5,01 <sup>a</sup>      | 6,54 <sup>a</sup> | 1,35 <sup>a</sup>        | 4,15 <sup>a</sup> | 5,87 <sup>a</sup> | 6,46 <sup>a</sup> | 6,13 <sup>a</sup> |
| <b>P - verdi</b> | <b>0,817</b>       | <b>0,001</b>      | <b>&lt;0,001</b>      | <b>0,135</b>           | <b>0,007</b>      | <b>0,022</b>             | <b>0,218</b>      | <b>0,075</b>      | <b>&lt;0,001</b>  | <b>0,032</b>      |
| <b>Produkt</b>   |                    |                   |                       |                        |                   |                          |                   |                   |                   |                   |
| BT - 20          | 7,27 <sup>a</sup>  | 6,08 <sup>a</sup> | 6,52 <sup>a</sup>     | 4,79 <sup>ab</sup>     | 6,69 <sup>a</sup> | 1,17 <sup>a</sup>        | 4,39 <sup>a</sup> | 5,31 <sup>b</sup> | 5,99 <sup>a</sup> | 5,83 <sup>a</sup> |
| BT - 4           | 6,55 <sup>ab</sup> | 5,45 <sup>a</sup> | 6,46 <sup>a</sup>     | 4,69 <sup>b</sup>      | 6,35 <sup>a</sup> | 1,37 <sup>a</sup>        | 4,34 <sup>a</sup> | 5,53 <sup>b</sup> | 5,98 <sup>a</sup> | 5,74 <sup>a</sup> |
| ST - 20          | 6,15 <sup>b</sup>  | 6,34 <sup>a</sup> | 6,52 <sup>a</sup>     | 5,79 <sup>a</sup>      | 5,94 <sup>a</sup> | 1,17 <sup>a</sup>        | 4,13 <sup>a</sup> | 5,81 <sup>a</sup> | 5,49 <sup>a</sup> | 5,83 <sup>a</sup> |
| ST - 4           | 6,50 <sup>ab</sup> | 5,73 <sup>a</sup> | 6,47 <sup>a</sup>     | 5,64 <sup>a</sup>      | 5,90 <sup>a</sup> | 0,98 <sup>a</sup>        | 4,18 <sup>a</sup> | 6,09 <sup>a</sup> | 5,88 <sup>a</sup> | 5,80 <sup>a</sup> |
| <b>P - verdi</b> | <b>0,009</b>       | <b>0,192</b>      | <b>0,988</b>          | <b>0,002</b>           | <b>0,033</b>      | <b>0,087</b>             | <b>0,632</b>      | <b>0,016</b>      | <b>0,645</b>      | <b>0,995</b>      |

## Vedlegg 7: Tillatelse for figurbruk

Fra: Odd Johan Berland <[oddjohan@uib.no](mailto:oddjohan@uib.no)>  
Sendt: 30. mars 2017 13:11  
Til: Tanya Bjørvik  
Kopi: [post@miljolare.no](mailto:post@miljolare.no)  
Emne: Re: HEI!

Hei. **Stein Mortensen** ved havforskningsinstituttet har opphavsrett til de to illustrasjonene og du må kontakte han for å be om tillatelse til din bruk.

Vennlig hilsen  
Odd Johan Berland  
[Miljolare.no](http://Miljolare.no)

On Mar 29, 2017, at 4:10 PM, Tanya Bjørvik <[tanya.2904@hotmail.com](mailto:tanya.2904@hotmail.com)> wrote:

Mitt navn er Tanya Sivertsen Bjørvik.

Jeg skriver en master oppgave for Nofima AS som tar for seg butare og sukkertare i kombinasjon med produkter for validering av mikrobiota og sensorikk rettet mot holdbarhet.

Med dette i min innledning;

kunne jeg benytte følgende to bilder :

[https://www.miljolare.no/artstre/?or\\_id=3036%20](https://www.miljolare.no/artstre/?or_id=3036%20).

[https://www.miljolare.no/artstre/?or\\_id=3029](https://www.miljolare.no/artstre/?or_id=3029)



Mortensen, Stein <[stein.mortensen@imr.no](mailto:stein.mortensen@imr.no)>  
to 30.03, 18:46  
Du ▾



↩ Svar | ▾

Flagg for oppfølging. Start innen 12. april 2017. Forfaller den 12. april 2017.

Du svarte 30.03.2017 20:55.

Hei igjen

Det er I orden det – men fin tom du skriver at det er jeg som har laget dem (litt reklame) og ikke distribuerer dem ut over oppgaven din.

Beste hilsener

**Stein**

