



Universitetet
i Stavanger

DET TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE FAKULTET

MASTEROPPGAVE

Studieprogram/spesialisering: Biologisk kjemi - master	Vår og høstsemesteret, 2018 Åpen
Forfatter: Mette Risa Vaka (signatur forfatter)
Fagansvarlig: Hanne R. Hagland Veileder(e): Dagbjørn Skipnes & Marthe J. Blikra	
Tittel på masteroppgaven: Varme- og saltinduserte kvalitetsendringer i Atlantisk torsk (<i>Gadus morhua</i>) Engelsk tittel: Heat- and salt-induced quality changes in Atlantic cod (<i>Gadus morhua</i>)	
Studiepoeng: 60	
Emneord: - Atlantisk torsk (<i>Gadus morhua</i>) - Salt - Varmebehandling - DSC analyse - Mikrostruktur - Teksturanalyse - Fargeanalyse - Reologi	Sidetall: 96 + vedlegg/annet: 19 Stavanger, 15 juni / 2018

Forord

Denne oppgaven var en del av mastergraden i biologisk kjemi ved Universitetet i Stavanger, Institutt for matematikk og naturvitenskap. Arbeidet ble gjennomført på Nofima i Stavanger i tidsperioden fra august 2017 til juni 2018, og er en del av forskningsprosjektet OPTIMAL II.

Jeg vil rette en stor takk til veilederne mine, seniorforsker Dagbjørn Skipnes og Ph.D stipendiat Marthe J. Blikra for all hjelp og veiledning gjennom hele prosessen. Jeg er svært takknemlig for tålmodigheten og tiden dere har brukt til å diskutere resultater, svare på spørsmål og generelt økt min forståelse innenfor fagområdet.

Takk til alle Nofima ansatte for hjelp underveis og opplæring på labben. Bachelorstudentene Ida, Vanessa og Hrant takkes for god innsats og samarbeid. I tillegg vil jeg takke Tine FoU for opplæring og lån av utstyr som ble brukt til å måle saltinnhold.

Tilslutt vil jeg takke familie og venner for støtte og oppmuntring under arbeidet med denne oppgaven.

Stavanger, juni 2018

Mette Risa Vaka

Forkortelser

a*	Rødtone
ATP	Adenosintrifosfat
a _w	Vannaktivitet (engelsk: Water activity)
b*	Gultone
CIE	Commission Internationale d'Eclairage
Cfu	Kolonidannende enheter (engelsk: Colony forming unit)
DSC	Engelsk: Differential Scanning Calorimetry
<i>et al.</i>	<i>Et alia.</i> (latin), og andre
G'	Lagringsmodul
ISO	Engelsk: International Organization for Standardization
L*	Lyshet
N	Antall paralleller
NMKL	Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler
pH	<i>Potentia Hydrogenii</i> (latin), $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$
pl	Isoelektrisk punkt
RPM	Omdreininger per minutt (engelsk: revolutions per minute)
SSO	Spesifikke fordervelsesbakterier (engelsk: specific spoilage organisms)
T _m	Temperatur for maksimal denaturering
TMA	Trimetylamin
TMAO	Trimetyaminoksid
TPA	Engelsk: Texture profile analysis
VBE	Vannbindingsevne
W	Engelsk: Whiteness

Sammendrag

Baking av torsk i kokeskap er vanlig praksis både i matindustrien og på storkjøkken. Kokken velger passende program på grunnlag av erfaring, mens i matindustrien er holdbarhet ofte en viktig tilleggsfaktor. I sistnevnte er det større behov for en kraftigere varmebehandling, enn hva som er nødvendig om fisken skal serveres umiddelbart etter varmebehandling. Det er viktig å optimalisere varmebehandling for å tilfredsstille god sikkerhet og kvalitet. Uheldig varmebehandling kan resultere i krymping og en fisk som er tørr og trevlete. Den systematiske undersøkelsen i denne oppgaven kan kombineres med kokkens erfaring for å optimalisere tilberedningen av torsk.

I denne oppgaven ble Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) undersøkt for varme- og saltinduserte kvalitetsendringer, både før og etter at muskelvevet ble utsatt for ulike varmebelastninger. Kvalitetsendringer i form av rest-entalpi under denaturering, mikrostruktur, vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi ble undersøkt. Torsken ble behandlet i lake med 0, 1,5 og 4,5 % salt og inneholdt deretter tilnærmet lik fiskens biologiske saltinnhold ($P > 0,05$), samt ~ 1 og 3 % salt. Dataene skal senere brukes direkte eller indirekte til å lage en modell i COMSOL Multiphysics for å finne varmebehandlinger som er trygge og samtidig opprettholder god kvalitet på torsk. På denne måten kan matindustrien redusere væsketapet og sammen med storkjøkken tilby saftigere fisk med en tekstur tilpasset brukernes ønsker.

Når proteiner denaturerer, delvis som følger av salt, men i større grad som følger av varme endres kvaliteten i muskelvevet. Myosin og aktin, to av de viktigste muskelproteinene ble destabilisert ved tilsetning av salt, som resulterte i at lavere temperatur og mengde energi måtte til for å denaturere proteinene.

Mikrostrukturen i muskelvevet ble til en viss grad påvirket av saltinnhold. Størst hulrom mellom cellene ble observert for prøver behandlet i ferskvann. Hulrommet ble noe redusert ved økende saltkonsentrasjon. Hulrommet mellom muskelceller viste en tendens til økning ved økt varmebelastning.

Saltet torsk hadde signifikant høyere vannbindingsevne etter sentrifugering, sammenlignet med usaltet torsk. Dette ble observert både for rå og varmebehandlede prøver opptil 70 °C. Saltkonsentrasjonen var av større betydning for vannbindingsevnen ved lavere temperaturer (< 50 °C), men ved 50 °C og over ble det ikke lenger observert signifikante forskjeller mellom prøver behandlet i 1,5 og 4,5 % salt. Koketapet var generelt lavt ved alle behandlinger, og såpass nært deteksjonsgrensen at resultatet var noe usikkert. Overordnet trend viste størst koketap for prøver behandlet i ferskvann, som økte med økende temperatur. Prøver behandlet i ulik saltkonsentrasjon viste ikke signifikant forskjellig koketap for noen av temperaturene.

Tekstur målt som hardhet viste mykest muskelvev ved lave temperaturer, som holdt seg relativt stabil frem til 40 °C. Temperaturer over dette resulterte i et hardere muskelvev, med signifikante forskjeller mellom 40 og 80 °C. Prøver behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon viste imidlertid ikke signifikant forskjellig resultat. Reologianalysen viste samme trend, med en generelt økende elastisitet som følger av økt temperatur etter at myosin var denaturert. Før dette ble muskelvevet mer viskøst ved økende temperatur.

Fargeanalyse viste at varmebehandling hadde størst effekt på lysheten i torsk som var signifikant høyere ved 80 °C, sammenlignet med 30 °C for alle saltkonsentrasjoner. Prøver behandlet i lake med 4,5 % salt var signifikant mørkere i fargen enn prøver behandlet i ferskvann etter varmebehandling fra 30 – 80 °C.

Ved hvilken temperatur torsk bør varmebehandles avhenger av bruksområde og ønsket holdbarhet. Det anbefales å tilberede torsk med litt salt ettersom muskelvevet holder bedre på vann, som gir en saftigere tekstur under varmebehandling. Om fisken inneholdt 1 eller 3 % salt spilte liten rolle for vannbindingsevnen når temperaturen kom opp i 50 – 70 °C, som er vanlig ved tilberedning av torsk. Derfor anbefales førstnevnte for å redusere inntaket av salt. I tillegg anbefales bruk av dampovn for å redusere uttørking og skorpedannelse ved høye temperaturer.

Innhold

Forord	II
Forkortelser	III
Sammendrag	IV
Innhold	VI
1 Introduksjon	1
1.1 Mål.....	1
2 Teori.....	2
2.1 Råstoff	2
2.1.1 Atlantisk torsk (<i>Gadus morhua</i>).....	2
2.1.2 Oppdrettstorsk	2
2.2 Fiskemuskel	3
2.2.1 Kjemisk sammensetning.....	3
2.2.2 Muskelstruktur	4
2.2.3 Muskelproteiner.....	5
2.2.4 Vann i muskel	8
2.3 Postmortale prosesser i muskelvev.....	9
2.3.1 Rigor mortis	10
2.3.2 Enzymatisk og mikrobiell aktivitet.....	11
2.3.3 Endringer i pH.....	11
2.4 Vannbindingsevne	12
2.5 Prosessering	13
2.5.1 Salting	13
2.5.2 Varmebehandling	16
2.6 Kvalitetsendringer ved prosessering	20
2.6.1 Tekstur.....	20
2.6.2 Farge	21
2.6.3 Reologi.....	22
3 Materialer og metoder	24
3.1 Råstoff	24
3.2 Lakesalting.....	24
3.3 Mikrobiologisk analyse.....	25
3.3.1 Opparbeiding av prøve.....	25

3.3.2	Kimtall og spesifikke fordervelsbakterier	25
3.4	pH måling.....	25
3.5	Saltmåling	26
3.6	Opparbeiding av prøver til analyse av mikrostruktur, rest-entalpimåling (DSC), vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi.....	26
3.6.1	Mikrostruktur og rest-entalpi av ovnsbakt torsk.....	26
3.6.2	Mikrostruktur av torskeprøver temperert i et vannbad	27
3.6.3	Rå prøver til DSC analyse.....	27
3.6.4	Vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi	28
3.7	Estimering av temperatur i prøver fra ovnsbakt torsk.....	29
3.8	Analyse av rest-entalpi av muskelproteiner (DSC)	31
3.8.1	Analysering av termogrammene	31
3.9	Analyse av mikrostruktur	32
3.9.1	Bildebehandling.....	32
3.10	Analyse av vannbindingsevne	33
3.10.1	Tørrestoff og vanninnhold.....	33
3.10.2	Vannbindingsevne (VBE)	34
3.10.3	Analyse av rå prøver	34
3.10.4	Analyse av varmebehandlet prøver	34
3.10.5	Sentrifugering	35
3.11	Analyse av tekstur og farge	35
3.11.1	Analyse av rå prøver	35
3.11.2	Analyse av varmebehandlede prøver.....	36
3.11.3	Instrumentering.....	37
3.12	Analyse av viskoelastisiteten (reologi)	38
3.12.1	Amplitudeutsalg	38
3.12.2	Temperaturrampe	38
3.13	Statistiske analyser	39
4	Resultater	40
4.1	Bestemmelse av saltinnhold.....	40
4.1.1	Vektendring under salting	41
4.2	Mikrobiologisk analyse	42
4.3	pH måling.....	42
4.4	Rest-entalpi målt ved DSC (Differential Scanning Calorimetry)	43
4.5	Mikrostruktur	45
4.5.1	Bildebehandling.....	48

4.6	Vannbindingsevne	49
4.6.1	Tørrstoff og vanninnhold.....	49
4.6.2	Vannbindingsevne	49
4.6.3	Koketap.....	50
4.7	Teksturmåling.....	51
4.8	Fargemåling.....	52
4.9	Reologi.....	55
5	Diskusjon	57
5.1	Saltinnhold.....	57
5.1.1	Utvikling av metode for salteprosessen og bestemmelse av saltinnhold.....	57
5.1.2	Bestemmelse av saltinnhold.....	57
5.1.3	Vektendring under salting.....	58
5.1.4	Endring i pH nivå som følger av saltinnhold.....	59
5.1.5	Mikrobiologisk analyse av saltede prøver	59
5.2	Termisk denaturering av muskelproteiner i torsk.....	59
5.2.1	Utvikling av metode.....	59
5.2.2	Valg av topper som det ble fokusert på i termogrammene	60
5.2.3	Rå prøver	60
5.2.4	Prøver ovnsbakt ved 150 °C i 5 min.....	61
5.2.5	Prøver ovnsbakt ved 150 °C i 15 min.....	62
5.2.6	Spredning i datasettet	62
5.3	Mikrostruktur	63
5.3.1	Bildebehandling.....	64
5.4	Vannbindingsevne	65
5.4.1	Tørrstoff.....	65
5.4.2	Vannbindingsevne	65
5.4.3	Koketap.....	66
5.5	Tekstur.....	67
5.6	Farge.....	68
5.7	Reologi.....	69
5.8	Konsekvenser av varmebehandling og saltkonsentrasjon	70
6	Konklusjon.....	74
7	Referanser	76
8	Vedlegg.....	i

1 Introduksjon

Muskelvev (som kjøtt og fisk) er en viktig del av kostholdet mange steder i verden og er høyt verdsatt fordi det smaker godt og gir god metthetsfølelse. Torsk er et lett-bedervelig råmateriale, som gjør det svært viktig å øke holdbarheten og samtidig ivareta sikkerhet og god kvalitet. Frysing, salting, røyking, tørking og varmebehandling kan bidra til å forlenge holdbarheten og samtidig gi opphav til produkter med særegne smaksegenskaper.

Mange er i dag opptatt av sunne spisevaner og har rettet fokuset mot å få ned inntaket av mettede fettsyrer som finnes i rødt og bearbeidet kjøtt. Helsedirektoratet anbefaler å øke inntaket av fisk, som er rik på flerumettede fettsyrer. Ifølge deres rapport fra 2016 har det norske forbruket av kjøtt økt betraktelig de siste tiårene, mens forbruket av fisk var betydelig lavere (Helsedirektoratet, 2016).

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) er en mager fiskeart med mange bruksområder. Tilberedt på riktig måte er torsk velsmakende og saftig, men under oppvarming kan den bli både tørr og trevlete, som følge av denaturering og krymping av muskelfibre. Dette er lite attraktivt for forbrukerne. Vanligvis tilberedes den med litt salt, både for å bedre smaksopplevelsen, men også fordi muskelvevet binder mer vann og får en saftigere tekstur. Salt er kjent for å redusere varmestabiliteten i muskelproteiner, som da kan denaturere ved en lavere temperatur og energi tilførsel (Poulter et al., 1985, Thorarinsdottir et al., 2002, Weinberg et al., 1984). Muskelvevets evne til å holde på væske er økonomisk viktig for produsenter ettersom store summer kan gå tapt ved vekttap.

1.1 Mål

Målet med denne oppgaven har vært å bidra til å øke forståelsen for prosesser som forekommer under ovnsbaking av salta og usalta torsk (*Gadus morhua*), og kvantifisere endringer i form av rest-entalpi, mikrostruktur, vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi.

Dataene som ble samlet inn skal senere bli brukt direkte eller indirekte til å lage en modell i COMSOL Multiphysics.

2 Teori

2.1 Råstoff

2.1.1 Atlantisk torsk (*Gadus morhua*)

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) er en kommersielt viktig og høyt verdsatt art, som det er utført mange studier på (Knutsen et al., 2003). Den magre fiskearten tilhører torskefamilien og fanges hovedsakelig i Nord-Atlanteren (Herland et al., 2011), hvor den stort sett lever som en bunnfisk langs kysten og i fjordene. Skreien derimot lever i Barentshavet og vandrer store avstander i åpent hav (pelagisk), til norskekysten for å gyte (Jenssen, 2012).

På grunn av stor etterspørsel har torsken høy økonomisk verdi. Arten har et høyt proteininnhold, med alle de essensielle aminosyrene og er god kilde til vitamin B12 og selen, som beskrevet av (Skipnes, 2011). Atlantisk torsk har mange bruksområder og selges både fersk og frossen. I tillegg foredles den til lutefisk, klippfisk og tørrfisk og omsettes lettsaltet og røykt. Det meste av fett lagres i leveren (Kristoffersen et al., 2006), som er rik på A og D vitaminer og brukes til å produsere leverolje (Losnegard et al., 1986a). RUBIN programmet (resirkulering og utnyttelse av organiske biprodukter i Norge) har de siste årene bidratt til økt utnyttelse av hel fisk (SINTEF, 2011), men selv i 2016 var det estimert at over 50 % av restråstoffet for hvitfisksektoren fortsatt ikke ble utnyttet (Richardsen et al., 2017).

2.1.2 Oppdrettstorsk

Kvotereguleringer og sesongvariasjoner gjør det vanskelig å tilby fersk villtorsk av god kvalitet året rundt. For å øke tilgangen på fersk torsk, er det i noen nordatlantiske land utviklet intensiv oppdrett av torsk, men dette viste seg være mer utfordrende sammenlignet med laks, og langt ifra like lønnsomt. Tidligere var det utfordrende å få fiskelarver til å vokse, både på grunn av fôring, men også torskens kannibalisme. I tillegg var misdannelser et stort problem (FAO, 2005, Jenssen, 2012). Mye har skjedd i oppdrettsnæringen de siste årene, og i dag er misdannelser betydelig redusert, samtidig som kvaliteten på yngelen er betydelig bedre (Nofima, 2012).

Fordelen med oppdrettstorsk er bedre kontroll over kvaliteten, samtidig som det kan forventes mindre biologisk variasjon mellom individer. Rotabakk et al. (2011) observerte stor kvalitets forskjell mellom trål- og linefaget villtorsk, fanget på samme tid og sted. Fangstmetode, størrelse og næringstilgang er viktige faktorer som påvirker kvaliteten hos fisk.

Det er visse forskjeller mellom oppdrett og villfanget torsk som er viktige å ha kjennskap til. Fôrsammensetning og overføring har gjort at oppdrettstorsken generelt har en høyere leverindeks

(Losnegard et al., 1986a, Blikra, 2018), glykogeninnhold og lavere ultimate pH *post-mortem* (Nyvold og Landfald, 1996, Rustad, 1992). Glykogeninnholdet kan reduseres ved en utsultingsperiode før slakt, som er vanlig praksis i dag.

Undersøkelser utført på 80–90 tallet viste at oppdrettstorsk hadde nedsatt generell total kvalitet, med en trevlete konsistens etter varmebehandling, samt lukt og smak som skilte seg fra villtorsk (Losnegard et al., 1986b, Nyvold og Landfald, 1996). Nyere forskning viser at oppdrettstorsk har signifikant lavere vanninnhold, sammenlignet med villtorsk, uten signifikante forskjeller i vannbindingsevne (Herland et al., 2007, Olsson et al., 2007).

2.2 Fiskemuskel

2.2.1 Kjemisk sammensetning

Muskelvev består i hovedsak av vann, proteiner, lipider, mineraler og karbohydrater (Toldrá og Reig, 2012). Den kjemiske sammensetningen varierer ikke bare fra art til art, men også innenfor samme art og kan variere mellom ulike deler av fisken. Hovedsakelig skyldes variasjonene mengde og kvaliteten på tilgjengelig mat, men påvirkes også av faktorer som levested, aktivitetsnivå, kjønn, alder og sesong (Murray og Burt, 2001, Strasburg et al., 2008).

Vann og lipider utgjør tilsammen ca. 80 %, hvor fet fisk generelt har et lavere vanninnhold sammenlignet med magre fiskearter (Ofstad et al., 1993). Proteininnholdet ligger på 15–19 % (Lynum og Rustad, 1997), og aminosyresammensetningen er av høy ernæringsverdi. Karbohydratinholdet kommer hovedsakelig fra glykogen og er generelt lavere i fisk, sammenlignet med pattedyr (Belitz et al., 2009). Kjemisk sammensetning av torskemuskel er gitt i Tabell 2.1.

Tabell 2.1: Kjemisk sammensetning av torskemuskel (Lynum og Rustad, 1997, Murray og Burt, 2001)

	Vann (%)	Fett (%)	Proteiner (%)
Atlantisk torsk (<i>Gadus morhua</i>)	78 – 83	0,1 – 0,9	15 – 19

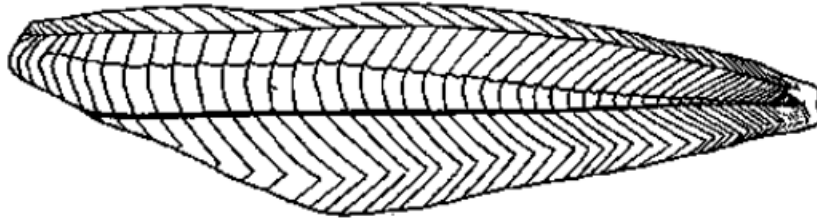
2.2.2 Muskelstruktur

Muskelstrukturen i fisk skiller seg vesentlig fra strukturen hos pattedyr og fjærkre, som kommer av ulikt bevegelsesmønster og behov for støtte. Imidlertid er oppbyggingen av muskelfibrene relativt lik for alle virveldyr (Hultin, 1984).

Muskelfibrene er lange, sylindriske og multinukleære celler (Luther et al., 1995), omgitt av en bindevevshinne (sarkolemma) (Akse et al., 1993). Størrelsen på muskelfibrene varierer, men typisk måler de en diameter på 10 - 100 μm , og lengden varierer fra millimeter til centimeter (Fernandez-Segovia et al., 2003, Offer et al., 1989). Antall muskelfibre øker med vekst, hvor nydannede fiber er av mindre størrelse (Stickland, 1983, Te Pas et al., 2004). Hver av fiberne inneholder rundt 1000 – 2000 myofibriller, som består av kontraktile proteinfilament, i tillegg til cellekjerne, sarkoplasma, mitokondrier og sarkoplasmisk retikulum (Akse et al., 1993, Belitz et al., 2009).

Bunter av muskelfibre danner karakteristiske segmenter (myotomer), som er særegne i muskelstrukturen hos fisk. Hver myotom er en celle dyp (Hultin, 1984), kjegleformet og strukturert som en «W» (Bone og Moore, 2008). I myotomene er muskelfiberne pakket tett sammen, og ligger i en langsgående orientering, parallelt med fiskens lengdeakse (Akse et al., 1993). Myotomene er separert og holdt sammen ved hjelp av tynne sjikt med bindevev (mycommata) som strekker seg fra ryggmargen til skinnet (Murray og Burt, 2001). Selv om antall muskelfibre øker ved vekst, vil imidlertid myotomtallet forbli det samme (Stickland, 1983). Oppbyggingen av muskelen (Figur 2.1) muliggjør svømming ved at kontraksjoner forekommer vekselvis mellom den ene og andre siden av fisken (Bone og Moore, 2008).

Det er vanlig å skille mellom lys/hvit og mørk/rød muskel, avhengig av hurtighet og metabolisme. Mørke/røde muskelfibre finnes i større mengder hos fisk som utfører vedvarende svømming, mens lys/hvite muskelfibre muliggjør korte anstrengelser hos fisk som lever mer stasjonært (Belitz et al., 2009). Vanligvis er røde muskelfibre lokalisert rett under skinnet og dekker myotomene som består av hvite muskelfibre. Den røde fargen kommer av et mye høyere myoglobininnhold, men det er også andre vesentlige forskjeller mellom fibertypene. Hvite muskelfibre er større i diameter, inneholder færre mitokondrier, har et lavt innhold av lipider og bruker i hovedsak anaerobisk metabolisme (Bone og Moore, 2008).



Figur 2.1: Strukturell oppbygging av fiskemuskel. De sorte linjene representerer bindevev (mycommata) som separerer og holder myotomene (hvite områder) sammen (Murray og Burt, 2001).

2.2.3 Muskelproteiner

Muskelproteiner kan deles inn i tre hovedgrupper basert på løselighet: myofibrillære, sarkoplasmiske og bindevevs/stromale proteiner (Tornberg, 2005). Myofibrillproteiner utgjør hovedandelen av muskelproteinene med hele 65 – 75 % av totalt proteininnhold, og er løselige i konsentrerte saltløsninger ($> 0,3 \text{ M}$) (Strasburg et al., 2008). Sarkoplasmiske proteiner utgjør 20 – 30 % av totalt proteininnhold og er løselige i vann eller fortynnede saltløsninger, mens bindevev/stormale proteiner er uløselige og utgjør rundt 3 % av proteininnholdet i fiskemuskel (Belitz et al., 2009).

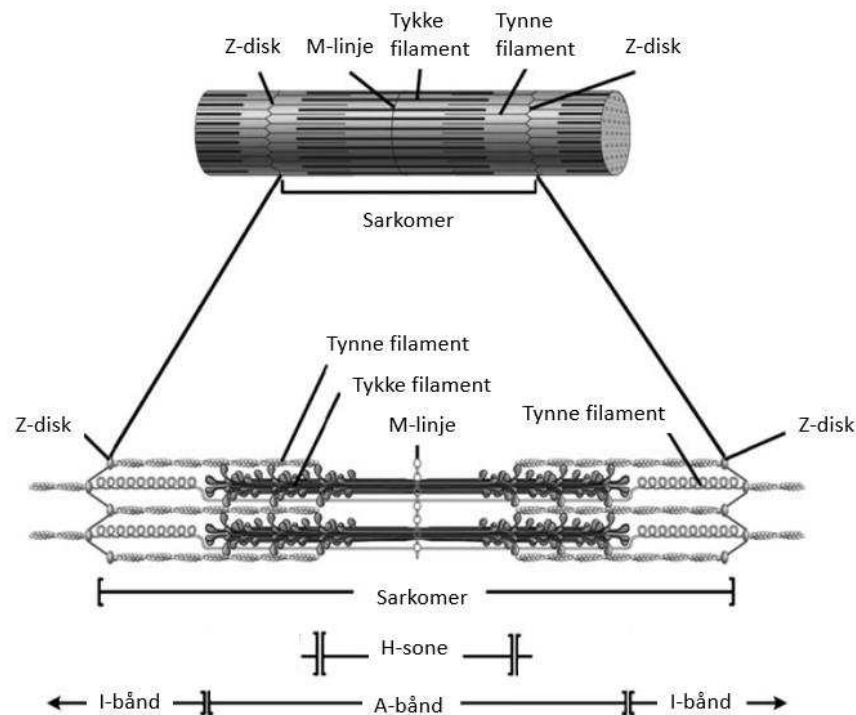
2.2.3.1 Myofibriller

Myofibriller inneholder proteiner som er ansvarlige for muskelkontraksjon, og finnes i store mengder i muskelfibrene. I magert kjøtt utgjør myofibrillene rundt 70 % av muskelvolumet, proteiner opptar rundt 20 %, mens det resterende volumet er vann (Akse et al., 1993, Offer og Trinick, 1983). Myofibrillene måler en diameter på rundt $1\text{-}10 \mu\text{m}$, er av samme lengde som muskelfiberen (Luther et al., 1995), og består primært av to proteiner: myosin og aktin. Disse er organisert i henholdsvis tykke og tynne filamenter gjennom kompleks polymerisering (Provost et al., 2016).

Myofibrillene inneholder også andre viktige proteiner, deriblant regulatoriske proteiner som tropomyosin og troponin, samt strukturelle proteiner, hvor titin er det viktigste. Tropomyosin og troponin bidrar i reguleringen av muskelkontraksjon og avslapping (Toldrá og Reig, 2012), mens titin fungerer som en fjær og et anker når de tykke og tynne filamentene glir sammen under muskelkontraksjon (Provost et al., 2016). I denne oppgaven er fokuset rettet mot myosin og aktin, de to viktigste myofibrillære proteinene.

Myofibrillene er organisert i sarkomerer (Figur 2.2), som ved gjentatte repetisjoner i den langsgående retningen, er ansvarlige for det karakteristiske tverrstripede utseende i skjelettmuskulaturen hos virveldyr (Luther et al., 1995). Hver sarkomer er begrenset fra en Z-disk til den neste, og er lokalisert

midt imellom I-båndet som består av tynne filamenter og er festet til Z-disken. A-båndet (mørke området) ligger i midten av hver sarkomer og består i hovedsak av tykke filamenter, med overlappende tynne filamenter i hver side (Strasburg et al., 2008). Under sammentrekning aktiveres alle sarkomerene samtidig, og forkortes ved at myosin beveger tynne filamenter mot midten og m-linje som ligger i midten av sarkomeren (Luther et al., 1995).



Figur 2.2: Strukturell ordning av sarkomerer (Strasburg et al., 2008).

2.2.3.1.1 Myosin

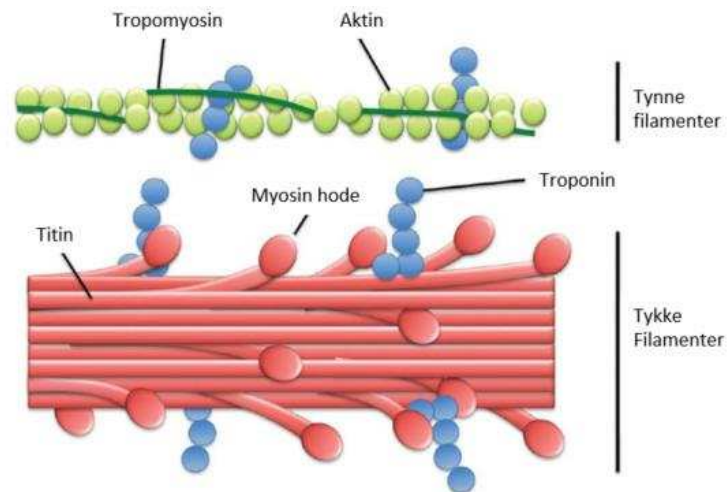
Myosin er et stavformet, fibrøst protein (Kang og Singh, 2015) med en molekylærvekt på rundt 470 kDa. Proteinets består av to identiske polypeptidkjeder kveilet sammen, hvor hver av de er strukturert som en α -heliks. To globulære hoder på enden av molekylet kan binde til aktin ved hjelp av enzymatisk aktivitet (Hultin, 1984).

Myosin utgjør rundt 45 % av proteininnholdet i myofibriller (Strasburg et al., 2008). 200 – 400 molekyler kobles sammen (Tornberg, 2005) og danner hovedkomponenten i tykke filamenter, som illustrert i Figur 2.3 (Provost et al., 2016). Under sammentrekning, har proteinet som funksjon å koble sammen tykke og tynne filamenter ved å binde til ATP og aktin (Provost et al., 2016).

Myosin er blant det minst stabile proteinet i fiskemuskel (Duerr og Dyer, 1952), men viser høyere stabilitet i fisk som lever i varmere vann (Park og Reed, 2014, Schubring, 1999).

2.2.3.1.2 Aktin

Aktin er hovedkomponenten og kjernen i tynne filamenter (Provost et al., 2016) og utgjør rundt 20 % av proteininnholdet i myofibrillene. Globulære aktinmonomerer (G-aktin) vil gjennom polymerisering danne en kveilet fibrøs dobbeltråd (F-aktin) som utgjør tynne filamenter (Strasburg et al., 2008). Hver av aktinmonomerene har en molekylærvækt mellom 43 – 48 kDa, og kan bindes til myosinhoder under kontraksjon (Hultin, 1984). De to regulatoriske proteinene tropomyosin og troponin som regulerer muskelkontraksjon, finnes kveilet rundt aktinet (Figur 2.3) (Provost et al., 2016).



Figur 2.3: Oppbyggingen av tykke og tynne filamenter (Provost et al., 2016).

2.2.3.2 Sarkoplasmiske proteiner

Sarkoplasmiske proteiner er lokalisert i sarkoplasma hvor de flyter fritt, og er hovedsakelig enzymer involvert i metabolisme (Belitz et al., 2009). Mange av dem er viktige for postmortale endringer i fisken (Lynum og Rustad, 1997). Proteinene er løselige i vann eller fortynnede saltløsninger (Strasburg et al., 2008) og kan vaskes ut i oppmalt fiskemasse (Lynum og Rustad, 1997).

2.2.3.3 Bindevevs/stromale proteiner

Blant bindevevsproteinene består muskelen i hovedsak av kollagen, som er en familie av flere proteiner med noe ulik aminosyresammensetning (Provost et al., 2016). Kollagen består av tre polypeptidkjeder, hver av dem med en molekylærvækt på rundt 1000 Da, kveilet rundt hverandre i en trippelheliks. Flere kollagenmolekyler kan sammen danne kollagenfibriller, som holdes sammen ved hjelp av kryssbindinger og kovalente tverrbindinger (Hultin, 1984). Glycin utgjør rundt 33 % av aminosyrene i proteinet, tilsvarende hver tredje aminosyre i peptidkjeden, som muliggjør tett kveiling av trippelheliksen. Den dominerende aminosyresekvensen er i hovedsak gjentatte repetisjoner av glycin-X-Y, hvor X ofte forekommer som prolin, og Y ofte er hydroxyprolin eller hydroxylysin (Strasburg et al., 2008). Innholdet av prolin og hydroxyprolin er imidlertid lavere i fisk enn hos pattedyr (Dunajski, 1980).

Bindevevet har som funksjon å holde muskelfibrene og myotomene på plass. Fisk som lever i et flytende miljø krever mindre muskelstøtte (Provost et al., 2016), og har generelt et lavere innhold av kollagen (Hultin, 1984). Lavere innhold, samt færre kryssbindinger og en annen aminosyresammensetning resulterer i et bindevev med redusert stabilitet, løsere muskelvev og en mykere tekstur, sammenlignet med pattedyr (Provost et al., 2016, Strasburg et al., 2008). Redusert stabilitet overfor varme gjør at bindevevet er mindre relevant i fiskens tekstur under varmebehandling, sammenlignet med pattedyr (Hultin, 1984).

2.2.4 Vann i muskel

Muskelvev har et høyt innhold av vann, men innholdet vil kunne endres etter slakt. Dette skjer ved at muskelen tar til seg vann og sveller gjennom prosessering eller mister vann i form av drypptap, fordamping eller som koketap ved varmebehandling. Tap av vann er ugunstig, ettersom kjøtt selges basert på vekt, men også fordi vanninnholdet er avgjørende for kvalitet og saftighet i sluttproduktet (Offer og Trinick, 1983). Dipolen i vannmolekylet tiltrekkes ladede komponenter som proteiner, og mobiliteten avgjøres av lokaliseringen i muskelstrukturen. Opptil 85 % befinner seg i myofibrillene, mellom de tykke og tynne filamentene, mens den resterende andelen er lokalisert i strukturen utenfor myofibrillene (Huff-Lonergan og Lonergan, 2005). Basert på mobilitet, er det vanlig å dele vannet inn i tre kategorier: 1) Bundet vann, 2) Immobilisert vann og 3) Fritt vann (Fennema, 2008), men ifølge Xia et al. (2017) finnes det også en fjerde kategori hvor mobiliteten er lavere enn for immobilisert vann, og noe høyere enn bundet vann.

Bundet vann utgjør bare en liten del av den totale vannmengden i muskelvev (Fennema, 2008, Offer et al., 1989, Offer og Trinick, 1983), med ca. 1 – 4 % som er tett bundet til proteiner i myofibrillene

(Bertram et al., 2001). Denne fraksjonen vil sjeldent forflytte seg (Aursand et al., 2008), og forblir upåvirket under de fleste omstendigheter. Bundet vann unngår krystallisering ved frysing og fjernes ikke ved normal oppvarming/tørking (Fennema, 2008). Andelen bundet vann endres ikke ved kverning eller homogenisering (Bertram et al., 2001), og påvirkes mest sannsynlig ikke av *rigor mortis* (Huff-Lonergan og Lonergan, 2005).

Immobilisert vann utgjør hovedandelen av muskelvannet, med hele 85 – 96 % (Bertram et al., 2001). Mobiliteten er redusert, men ikke i samme grad som bundet vann (Huff-Lonergan og Lonergan, 2005). Immobilisert vann er lokalisert i myofibrillene, innenfor tertiær- og kvartærstrukturen til proteiner som aktin og myosin (Bertram et al., 2001). Steriske krefter kan lage plass til vannmolekyler, som tiltrekkes proteiner og bundet vann (Huff-Lonergan og Lonergan, 2005, Pearce et al., 2011). De steriske kreftene og tiltrekningen til proteinene gjør at immobilisert vann ikke flyter fritt i strukturen eller strømmer ut ved kutt, men kan fjernes ved tørking og krystalliseres ved frysing (Fennema, 2008). Fraksjonen blir i stor grad påvirket av postmortale endringer (*rigor mortis*) og prosessering. Dermed er et viktig mål for mange produksjonsvirksomheter å beholde mest mulig av det immobiliserte vannet i produktet (Aursand et al., 2008, Huff-Lonergan og Lonergan, 2005).

Fritt vann representerer fraksjonen vann lokalisert i det ekstra-myofibrillære området, mellom myofibrillene eller mellom muskelfiber, og utgjør mellom 2-10 % av muskelvannet (Bertram et al., 2001). Vannet i denne kategorien vil som navnet tilsier bevege seg fritt i muskelvevet, og inneholder sarkoplasmiske proteiner. Høy mobilitet kommer av at vannet holdes på plass av svake overflatekrefter som gjør at det lett kan komme ut til overflaten når betingelsene i kjøttet endres (Fennema, 2008, Huff-Lonergan og Lonergan, 2005).

Vannets fordeling mellom de tre kategoriene påvirker kvalitetsegenskaper som tekstur, utseende, lagringsstabilitet og vannbindingsevne (Jensen et al., 2002), og er avhengig av flere faktorer som kan bidra til å indusere svelling eller krymping av fiberne. Deriblant inngår varmebehandling, salting, frysing (temperatur og innfrysningshastighet), kverning og lagringstid, som kan bidra til å endre de funksjonelle egenskapene til proteiner og deres evne til å holde på vann (Andersen og Jørgensen, 2004, Wu et al., 2006). Vannbindingsevne er videre beskrevet i Avsnitt 2.4.

2.3 Postmortale prosesser i muskelvev

Postmortale prosesser omdanner muskel til kjøtt og resulterer i strukturelle endringer som er viktige for kvaliteten (Stien et al., 2006). Selv etter at sirkulasjonssystemet stopper opp under slakt, fortsetter biokjemiske prosesser (Balevik og Slinde, 2004).

2.3.1 Rigor mortis

Kort tid etter døden, vil alle virveldyr gjennomgå en prosess, kjent som *rigor mortis* eller dødsstivhet. Tilstanden oppstår som følger av nedbrytning på ATP (Bate-Smith og Bendall, 1947, Bendall, 1951), og inntreffer når nivået kommer under en viss terskelverdi (Lynum og Rustad, 1997). Dette resulterer i et muskelvev som er stivt, hardt og uelastisk, som følger av at aktin og myosin danner stabile kryssbindinger og komplekset aktomyosin (Lynum og Rustad, 1997, Pate og Brokaw, 1980). Komplekset kan ikke oppløses som følger av mangelen på ATP (Kristoffersen et al., 2006) som kreves når muskelen skal slappe av, og resultatet er langvarig muskelsammentrekning (Balevik og Slinde, 2004). Under muskelsammentrekningen mistes en del væske som resulterer i vekttap. Når *rigor* opphører, er det sannsynligvis fordi aktin kobles fra Z-linjen, og ikke at aktomyosinkomplekset oppløses (Lynum og Rustad, 1997).

Selv etter slakt forsøker muskelcellene å opprettholde ATP nivået. Uten oksygen vil dette skje ved anaerob metabolisme av glukose som resulterer i dannelsen av melkesyre, eller at kreatinfosfat donerer en fosfatgruppe til ADP. Dannelse av melkesyre senker pH-nivået i muskelen. Både hastighet og i hvilken grad pH reduseres er viktig for kvaliteten i muskelvevet (Hultin, 1984). *Pre-rigor* fasen avhenger av mengden ATP og energi-reserver i muskel, samt likevekten mellom oppbygging og nedbrytning av ATP (Bendall, 1951). I tillegg er også andre faktorer avgjørende, deriblant art (kjemisk sammensetning), fysisk tilstand (tilgangen til føde og utsulting), graden av utmattelse før død, størrelse, temperatur og mekanisk stress ved filetering (Balevik og Slinde, 2004, Gökoğlu og Yerlikaya, 2015). Salting av *pre-rigor* filet fremskynder rigor-prosessen fordi cellene bruker mer ATP ved å forsøke å opprettholde homeostase (Larsen et al., 2008).

Hvordan fisken gjennomgår *rigor mortis* vil kunne påvirke både vannbindingsevne, vekt, drypptap, gaping og kvaliteten i muskelvevet (Balevik og Slinde, 2004). Ved filetering av *pre-rigor* fisk, vil ikke ryggraden fungere som mekanisk motstand under rigor-prosessen og fileten er fri under sammentrekning (Larsen et al., 2008). Ifølge Kristoffersen et al. (2006) resulterte *pre-rigor* filetering i en torskefilet som var 12-13 % kortere, sammenlignet med *post-rigor* filetering. I tillegg var drypptapet høyere og vanninnholdet lavere. Frysing av *pre-rigor* fisk vil resultere i ekstra stort væsketap under tining, i en prosess kjent som tine-rigor. Lagrede energireserver som brukes ved tining setter i gang kraftigere muskelsammentrekninger som resulterer i generelt nedsatt kvalitet (Balevik og Slinde, 2004).

2.3.2 Enzymatisk og mikrobiell aktivitet

Fersk fisk har i utgangspunktet god mikrobiologisk kvalitet. De første dagene vil kvalitetsendringer i hovedsak skyldes enzymatisk aktivitet av proteolytiske enzymer gjennom autolyse (Jay et al., 2005). Ettersom enzymene er tilpasset lave temperaturer, vil ikke en lagringstemperatur rundt 0 °C hemme enzymatisk aktivitet, og endringer i muskelvevet forekommer selv ved lave temperaturer (Hultin, 1984). Kalpain og katepsin er to enzymer som spiller en viktig rolle i nedbrytningen av muskelproteiner (Strasburg et al., 2008) som resulterer i endret tekstur (Lin et al., 2012).

Etter en stund vil mikroorganismer overta og være den avgjørende faktoren for holdbarheten i fileten. Muskelvev har høy vannaktivitet (a_w) på rundt 0,98, hvor de aller fleste mikroorganismer kan vokse. Mikroorganismer kan komme fra fiskens skinn, gjeller, tarm, fra omgivelsene eller ved dårlig hygiene. *Shevanella putrefaciens* og *Photobacterium phosphoreum* er viktige spesifikke fordervelsesbakterier (SSO) i marine arter fra temperert vann, som torsk (Jay et al., 2005). God hygiene og lav temperatur er svært viktig for å holde bakterietallet nede, selv om mange fiskebakterier er kuldetolerante og kan vokse selv ved lave temperaturer (Balevik et al., 2005).

Marine arter har et høyt innhold av trimetylaminoxid (TMAO), som bidrar til å opprettholde osmotisk balanse med sjøvann (Lynum og Rustad, 1997). TMAO kan brukes av bakterier som elektronakseptor når oksygen ikke er tilstede. Da produseres trimetylamin (TMA), som danner den karakteristiske «fiskelukten» under lagring (Jay et al., 2005). I tillegg kan aminosyrer omdannes til illeluktende forbindelser, som til sammen resulterer i nedsatt kvalitet (Hultin, 1984).

2.3.3 Endringer i pH

Lavere glykogeninnhold i fisk, sammenlignet med pattedyr, resulterer i høyere ultimat pH *post-mortem*, som henholdsvis ligger på verdier mellom 6,0 – 6,7 og 5,5 – 5,8. Dermed blir bakteriell vekst ikke hemmet i samme grad hos fisk som hos pattedyr (Jay et al., 2005). Lav ultimat pH assosieres ofte med økt gaping, høyere væsketap og endringer i tekstur, forårsaket av proteindenaturering (Ofstad et al., 1996). Gaping forekommer når bindevevet mellom myotomer og rundt muskelfibre ikke klarer å holde muskelen sammen og det oppstår sprekker i vevet som reduserer kvaliteten (Kristoffersen et al., 2006). Enzymet katepsin viser høyest enzymatisk aktivitet ved syrlig pH (Strasburg et al., 2008), og kan være årsaken til økt gaping, væsketap og teksturendringer ved lav ultimat pH (Ofstad et al., 1996) som er observert i velernært oppdrettstorsk (Losnegard et al., 1986a). Salt kan bidra til å redusere proteolytisk aktivitet og dermed senke graden av gaping. I tillegg kan det dannes en elastisk gel under oppvarming som fungerer som et bindemiddel (Larsen et al., 2008).

2.4 Vannbindingsevne

Vannbindingsevne (VBE) beskriver muskelens evne til å holde på vann i en proteinmatriks når den utsettes for en ytre kraft (Lynum og Rustad, 1997). Andelen vann som holdes i kjøttet før, under og etter prosessering eller varmebehandling er viktig både for smakens skyld, men også for forbrukernes oppfatning av produktet (Xiong, 1997). Vannbindingsevne kan bestemmes ved sentrifugering, som måler hvor mye vann som forsvinner fra prøven under sentrifugeringen (Andersen og Jørgensen, 2004). Væsken som slippes under påført kraft inneholder blant annet proteiner og blir av den grunn ofte kallet «liquid holding capacity» i litteratur skrevet på engelsk. På norsk er vannbindingsevne et etablert begrep (Lynum og Rustad, 1997) og er av den grunn brukt i denne oppgaven.

VBE påvirkes sterkt av strukturelle endringer i muskelvevet (Ofstad et al., 1993) hvor volmet i myofibrillene og muskelfibrene endres (Akse et al., 1993). Her spiller elektrostatiske frastøtningskrefter en viktig rolle (Offer og Trinick, 1983). Muskelproteiner kan ta til seg mer vann og svulle, ved f.eks. endring i pH eller tilsetning av ioner i lav konsentrasjon (Ofstad et al., 1995). Ved proteinenes isoelektriske punkt ($pI \approx 5,2$), er det like mange positive og negative ladninger i aminosyrenes sidegrupper (Akse et al., 1993), protein-protein attraksjonen er stor og VBE senkes (Ofstad et al., 1993). Til motsetning, dersom pH er høyere eller lavere enn pI , øker frastøtningskrefter ved overskudd av henholdsvis positivt eller negativt ladede grupper. Resultatet er en åpnere struktur med høyere andel protein-vann interaksjoner og dermed økt VBE (Lynum og Rustad, 1997, Ofstad et al., 1995). For lav pH, kan derimot medføre denaturering av proteiner som reduserer VBE (Deng et al., 2002). En studie av VBE i kaninmuskel utført av Offer og Trinick (1983) viste at økning av pH fra 7 til 9 resulterte i noe svelling av myofibrillene, mens senket pH fra 7 til 5 resulterte i krymping av myofibrillene.

Strukturelle komponenter i myofibrillene, deriblant Z-disk og M-linjen som binder aktin og myosin sammen, kan hemme svelling av myofibrillene (Offer og Trinick, 1983, Xiong, 1997). Endomysium (bindevevet rundt muskelfibrene) har samme effekt (Offer et al., 1989). Når proteolytiske enzymer delvis bryter ned disse strukturene *post mortem*, kan VBE øke som et resultat av muligheten for økt svelling (Joo et al., 1999, Kristensen og Purslow, 2001, Wu et al., 2006). Lengre lagringsperioder vil imidlertid også kunne føre til strukturelle endringer av myofibrillproteiner, som kan svekke deres evne til å binde og holde på vann (Akse et al., 1993)

Når proteiner denaturerer ved blant annet varmebehandling, frysing eller høy ionekonsentrasjon, reduseres volumet i myofibrillene ved krymping, vann presses ut i det ekstra-myofibrillære området og endrer mobiliteten (Offer et al., 1989). Lav VBE er et resultat av høyere mengder løst bundet vann, som fjernes fra muskelen under sentrifugering (Andersen og Jørgensen, 2004).

2.5 Prosessering

Endring av de funksjonelle egenskapene i proteiner i fiskemuskel under prosessering, vil kunne ha stor innvirkning på sluttproduktet. For å kunne optimalisere prosessering er det viktig å ha kjennskap til proteinstabilitet. Det har lenge vært kjent at proteinene i fisk viser lavere stabilitet (spesielt overfor varme), sammenlignet med proteinene i pattedyr, hvor den største forskjellen ligger i kollagen og myosin (Poulter et al., 1985). Prosessering i form av salting og varmebehandling er beskrevet i avsnittene under, i tillegg til en kort innføring angående frysing.

Konsekvensen av frysing, avhenger av størrelse og lokalisering av iskrystaller. Ved sakte innfrysing, vil store og få krystaller dannes i det ekstracellulære området, og vann trekker seg ut av cellene. Dette er ofte forbundet med økt drypptap og lavere vannbindingsevne. Ved hurtig innfrysing, vil mange små krystaller dannes både ekstra- og intracellulært, og større mengder vann forblir inne i cellene (Lynum, 2005). Denaturering forekommer i større grad ved sakte innfrysing (Strasburg et al., 2008) og høyere lagringstemperatur, som resulterer i økende hardhet i muskelvevet (Badii og Howell, 2002).

Ifølge Bozzetta et al. (2012) endres mikrostrukturen etter frysing, uavhengig av art, som gjør det mulig å skille mellom fryst og fersk fisk ved histologisk undersøkelse. Sigurgisladottir et al. (2000a) rapporterte økt ekstracellulært rom og krympede celler etter frysing av laks. Lignende resultater er også observert for tilapia (*Oreochromis SP*) hvor hulrommet ble større ved lengre lagringsperioder (Chen og Pan, 1997).

2.5.1 Salting

Salting er en av de eldste teknikkene for konservering av fisk, og er fortsatt mye brukt i matindustrien (Jay et al., 2005). Den konserverende effekten kommer av saltets evne til å senke vannaktiviteten (a_w) i muskelen, men saltet i seg selv har ingen antimikrobiell effekt (Albarracín et al., 2011). Selv om salt bidrar til økt holdbarhet ved å redusere vekst av bakterier, kan det forekomme en oppblomstring av halofile («saltelskende») bakterier, som kan vokse selv ved mettede saltløsninger i blant annet klippfisk (Jay et al., 2005). Saltet har flere positive innvirkninger på fiskemuskel, og er mye brukt for å oppnå økt vektutbytte ved å øke vannbindingsevnen, samt redusere koketap og drypptap (Kijowski og Mast, 1988, Martínez-Alvarez og Gómez-Guillén, 2005). I dag brukes salt også for å forbedre de sensoriske egenskapene i fisk (Martínez-Alvarez og Gómez-Guillén, 2005). Tidligere studier har vist at forbrukerne fikk en bedre smaksopplevelse av saltet torsk, sammenlignet med usaltet, som var spesielt fremtredende når fisken på forhånd var fryst en eller to ganger (Esaiassen et al., 2004, Esaiassen et al., 2005).

Saltopptaket drives av konsentrasjonsgradienten mellom muskel og saltlake (Nguyen et al., 2011). Under salteprosessen forekommer en kombinasjon av osmose og diffusjon. Gjennom osmose beveges vann fra områder med lav til høy saltkonsentrasjon. Diffusjon har omvendt effekt på saltionene, som beveger seg fra høy til lav saltkonsentrasjon. Ifølge Martínez-Alvarez og Gómez-Guillén (2005) er kloridinnholdet i usaltet torskemuskel rundt 0,22 %, og selv ved lave saltkonsentrasjoner er saltinnholdet i laken gjerne flere ganger høyere utenfor cellene (Provost et al., 2016). Dermed beveges vann ut av muskelen (lav saltkonsentrasjon), løser opp saltet på utsiden (høy saltkonsentrasjon) og diffunderer inn i muskelen (Albarracín et al., 2011, Provost et al., 2016). Under salteprosessen kan vannløselige proteiner lekke ut i laken (Akse et al., 1993).

Diffusjonshastigheten avhenger av flere faktorer, blant annet temperatur, pH, fettinnhold, fuktighet, salte-prosess (tørresalting eller lakesalting), størrelse på saltkrystallene og om muskelvevet har vært frossen, som oppsummert av (Albarracín et al., 2011). Diffusjonshastigheten er høyest i starten, når forskjellen mellom konsentrasjonen utenfor og inne i muskelen er størst, og avtar gradvis etter hvert som likevekt oppnås og saltinnholdet holdes relativt konstant (Aliño et al., 2010).

Ifølge Wang et al. (1998) har det mye å si for saltopptaket om muskelen har gjennomført rigorprosessen. Studier av torsk, utført av Larsen et al. (2008) viste at både vann og saltopptaket var lavere i *pre-rigor* filet, sammenlignet med *post-rigor* filet. *Pre-rigor* muskel har sannsynligvis mer intakt cellemembran som reduserer diffusjonen av salter, og kan motstå osmotisk og konsentrasjonsforskjeller utenfor cellene. I *post-rigor* muskel er denne sannsynligvis delvis brutt ned (Larsen et al., 2008, Wang et al., 1998). I tillegg viser *rigor* sammentrekningen å være sterkere ved *pre-rigor* salting og økt salt konsentrasjon, som dermed øker væsketapet (Larsen et al., 2008) og kan resultere i en hard og tørr overflate (Elvevoll et al., 1996). Ifølge Barat et al. (2006) øker vanntapet med ferskheten i fisken. Dersom fisken lagres over en periode før saltingen gjennomføres, vil *rigor* og proteolytiske enzymer endre masseoverføringskoeffisienten og saltopptaket øker, som reduserer vanntap og er mer økonomisk (Barat et al., 2006, Elvevoll et al., 1996).

Tilsetning av salt påvirker stabiliteten til proteiner (Thorarinsdottir et al., 2002), og induserer svelling eller krymping av myofibrillene som henholdsvis øker eller minsker vannopptaket, avhengig av konsentrasjon (Duerr og Dyer, 1952, Offer og Trinick, 1983). Ved lave saltkonsentrasjoner (< 1M, 5,8 %) sveller myofibrillene som følger av innsalting (Aliño et al., 2010), hvor ioner bindes til proteiner hovedsakelig ved elektrostatiske bindinger (Akse et al., 1993). Svellingen er pH avhengig, og større mengder salt kreves for å oppnå svelling ved lav pH (Offer og Trinick, 1983). Ved pH over pI (isoelektrisk punkt), er det et overskudd av negativt ladde aminosyrer i protene. Anioner (Cl⁻) nøytraliserer de få positive ladningene og frastøtningskraften øker, samtidig som tykke filamenter depolymeriseres og

strukturelle bindinger svekkes (Larsen og Elvevoll, 2008). Resultatet er svelling av myofibrillene, og økt vannbindingsevne (Offer et al., 1989) da mer vann immobiliseres i myofibrillene fordi protein-vann bindinger er sterkere enn protein-protein bindinger (Akse et al., 1993) og graden av denaturering reduseres (Barat et al., 2002). Til motsetning, når pH er lavere enn pI, er det overskudd av positivt ladde aminosyrer. Anionene nøytraliserer ladningene og frastøtningskraften minsker. Dermed reduseres volumet og mindre vann kan bindes til proteinene (Lynum og Rustad, 1997). Svelling er lavest i løsninger med fysiologisk ionisk styrke på ca. 0,2 M (Offer & Knight 1988. Ikke sett – gjengitt etter Larsen and Elvevoll, 2008). Ved en saltkonsentrasjon på 4,6 – 5,8 % (0,8 – 1 M), oppnås maksimal svelling av fiberne og maksimalt vannopptak, samtidig som vannbindingsevnen er størst. (Akse et al., 1993, Offer og Trinick, 1983).

Ved høyere saltkonsentrasjoner (> 1 M), starter krymping av myofibriller som følger av utsalting. Dette resulterer i at vann presses ut og vannbindingsevnen reduseres (Akse et al., 1993, Aliño et al., 2010). Akse et al. (1993) observerte en sterk nedgang i vannbindingsevnen til saltmoden torsk (20,7 % NaCl) som gikk fra 83,85 % i råstoff, til 58,08 % i saltmoden torsk. Duerr & Dyer (1952) rapporterte at den kritiske konsentrasjonen for salt- og vannopptak i torsk var rundt 9 % NaCl, og videre opptak av salt resulterte i vanntap som følger av protein denaturering, hvor myosin mister gel strukturen og slipper vann. Ved dette punktet øker både hastigheten for saltdiffusjon og væskeslipp (Duerr og Dyer, 1952). For å oppnå produkter med høy saltkonsentrasjon kan det være en fordel å øke saltkonsentrasjonen gradvis, da dette reduserer proteinaggregering og denaturering (Thorarinsdottir et al., 2011), sannsynligvis fordi avstanden mellom proteinkjeder er for stor til å danne protein-protein bindinger (Akse et al., 1993).

Ifølge Shomer et al. (1987) økte svellingen av myofibrillene i sølvkarpe med økt saltkonsentrasjon (fra 0,3 til 1,5 %) samtidig som myofibrillene ble mindre synlige i strukturen. Mindre synlige myofibriller som «smeltet» sammen under salting ble også observert i torsk (Akse et al., 1993). Når konsentrasjonen var 12 % krympet myofibrillene og ble mer kompakt (Shomer et al., 1987). Fernandez-Segovia et al. (2003) avsaltet torsk slik at saltkonsentrasjonen gikk fra henholdsvis 17 til 3,94 %. Ved å redusere saltkonsentrasjonen, svellet fiberne, og myofibrillene kunne sees tydelig som individuelle enheter i cellene.

Thorarinsdottir et al. (2011) rapporterte at lave saltkonsentrasjoner (0,3 – 0,5 M) resulterte i en liten økning i fibervolum i torsk, samtidig som det intercellulære området ble noe mindre. De observerte endringene var imidlertid ikke signifikant forskjellig fra ubehandlet tosk. Motsatt effekt ble observert ved høyere saltinnhold, som følger av utsalting og krymping av fiberne. Lignende resultater ble

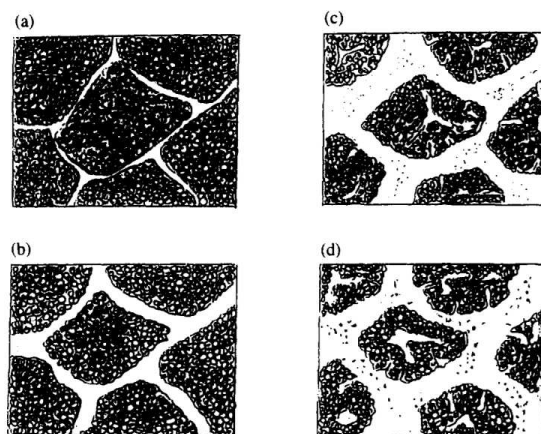
observert av Sigurgisladottir et al. (2000b) hvor lakesalting ikke resulterte i signifikant svelling av muskelfibrene i laks, selv ved lav saltkonsentrasjon (ca. 3 %).

2.5.2 Varmebehandling

Varmebehandling er kjent for å ha flere positive effekter på muskelvev. Hovedfunksjonen er å skape mattrygghet ved å inaktivere mikroorganismer (Baldwin, 2012), men kan også bidra til velsmakende produkter (Tornberg, 2005), ved å fremme interaksjoner mellom proteiner og andre komponenter (Xiong, 1997).

Strukturelle endringer ved varmebehandling skyldes i hovedsak denaturering av proteiner og kan resultere i økt koketap, endret vannbindingsevne, tekstur, og farge (Skipnes, 2011). Denatureringstemperaturen bestemmes i hovedsak av sekundærstrukturen i proteinene, hvor β -flak («sheets») gir mer stabilitet enn α -helikser. I tillegg vises det større stabilitet i proteiner med flere hydrofobe enn hydrofile aminosyrer (Lin et al., 2012). Når proteinene denatureres, vil de fibrøse proteinene trekke seg sammen, som minsker volumet i myofibrillene og muskelen krymper (Tornberg, 2005). Krymping kan forekomme i langsgående eller tverrgående retning, og trykket øker (Zielbauer et al., 2016). Som et resultat, vil proteinene danne færre interaksjoner med vannmolekyler og mobiliteten øker ved at vann presses ut i det ekstra-myofibrillære området (Provost et al., 2016). Mobiliteten til vannmolekyler kan også endres når vann fordampes fra overflaten i et fiskestykke, da det dannes en fordampingsgradient og vann beveger seg i muskelvevet (Xia et al., 2017). Krymping av muskelfibre, samt økt ekstra-cellulært rom er også observert i saltet torsk etter varmebehandling, og assosieres med varmeindusert denaturering av myosin (Fernandez-Segovia et al., 2003).

Ellevoll et al. (1996) har skrevet en oversiktsartikkel som omhandler prosessering av fisk. I artikkelen er det beskrevet hvordan mikrostrukturen endres under varmebehandling. Ubehandlet muskelvev har smale hulrom mellom cellene, som kan øke noe ved mild varmebehandling (20 – 35 °C) når bindevevet rundt fiberne sveller. Når temperaturen kommer opp i 45 – 50 °C forekommer den største strukturelle endringen på grunn av denaturering av myosin, hvor muskelfiberne krymper. En økning i temperatur til 60 – 70 °C kan resultere i sprekker i cellemembranen, og granulert materiale som blir synlig i det ekstracellulære området. Skjematisk fremstilling av strukturelle endringer ved varmebehandling er illustrert i Figur 2.4.



Figur 2.4: Skjematisk fremstilling av varmeinduserte strukturelle endringer i muskelvev. (a) ubehandlet, og varmebehandlet til (b) 30 °C, (c) 45/50 °C og (d) 60/70 °C (Elvevoll et al., 1996).

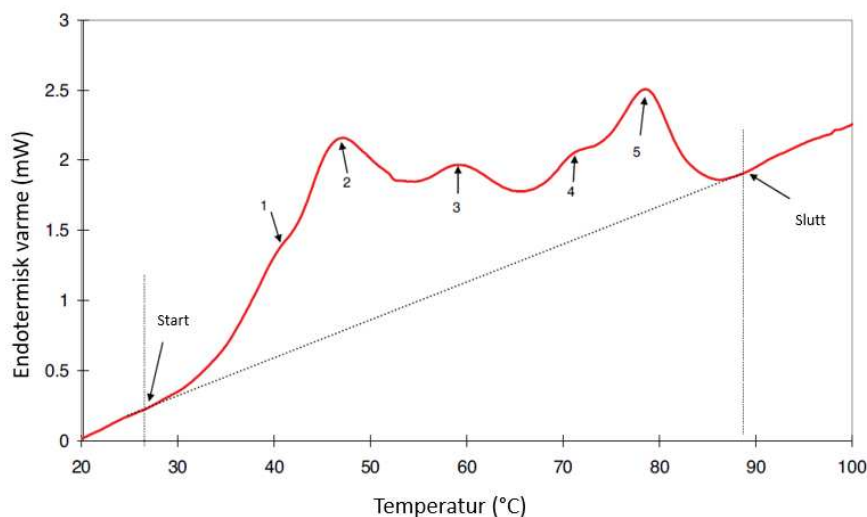
Varmebehandling som resulterer i denaturering og krymping, reduserer proteinenes evne til å holde på vann. Immobilisert vann utgjør mesteparten av koketapet som slippes fra muskelvevet under varmebehandling (Xia et al., 2017). Ifølge Ofstad et al. (1993) er væsketapet i torsk størst i området hvor myosin denaturerer, mellom 45 – 50 °C. Lavt væsketap ble observert ved temperaturer under 30 °C, men fra denne temperaturen var væsketapet nokså konstant frem til maksimum. Lignende resultater ble også observert av Skipnes (2011), hvor en varmebehandling på 45 °C resulterte i at vannbindingsevnen ble redusert til under 50 %. Ifølge Skipnes (2011) vil økt varmebelastning redusere vannbindingsevnen, men et maksimum ble observert ved 68 ± 4 °C fra 25 til 35 min.

Termisk stabilitet varierer mellom ulike proteiner, men også mellom samme protein i ulike arter, eller individer av samme art. Generelt sett vil proteinenes termiske stabilitet gjenspeile kroppstemperaturen i arten, og aktin viser mindre variasjoner enn myosin, kollagen og sarkoplasmiske proteiner (Poulter et al., 1985). Den mest fremtredende konsekvensen ved varmebehandling av fiskemuskel er en løsere struktur og myotomer som faller fra hverandre. Dette forekommer ved normal varmebehandling som følger av denaturering og oppløsning av kollagen (Hultin, 1984), og skjer ved lavere temperaturer i fisk ettersom sammensetningen av aminosyrer (lavere innhold av prolin og hydroxyprolin) gir lavere stabilitet til kollagenstrukturen (Poulter et al., 1985). Termisk denaturering starter med kollagen og videre økning i temperatur denaturerer henholdsvis myosin, sarkoplasmiske proteiner og tilslutt aktin (Deng et al., 2002, Skipnes et al., 2008). Ifølge Poulter et al. (1985) ble myosin i torsk, som lever i temperert vann, denaturert ved en temperatur som var 10 °C lavere enn hos tilapia (*Sarotherodon aureus*) som lever i tropisk ferskvann. Lignende observasjoner ble også rapportert av Hastings et al. (1985) hvor proteinene i undersøkte varmtvannsarter viste høyere termisk stabilitet,

sammenlignet med kaldtvannsarter. Redusert stabilitet var spesielt fremtredende for myosin (Hastings et al., 1985).

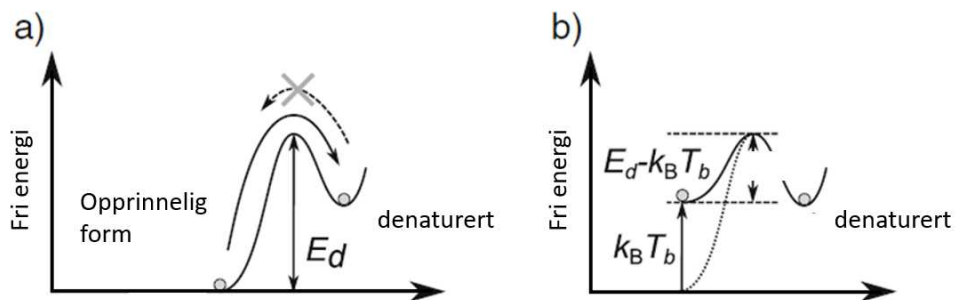
Varmeindusert denaturering av proteiner kan måles ved hjelp av Differential Scanning Calorimetry (DSC) (Thorarinsdottir et al., 2002). Fordelen med metoden er at denaturering av proteingrupper kan måles direkte i muskelen, uten isolering av proteiner. Ved konstant oppvarming av prøve og referanse, registreres forskjeller i varmestrøm mellom de to. Resultatet kommer som et termogram med endotermiske topper tilegnet et bestemt protein eller proteingruppe under denaturering (Zielbauer et al., 2016).

Temperatur for maksimal denaturering (T_m) og rest-entalpien (ΔH) til hver topp eller totalen av alle toppene, kan estimeres som henholdsvis toppunktet eller arealet under entalpitoppen, avgrenset av en baselinje ved integrering (Guzmán-Meza et al., 2017). Rest-entalpien angir mengde energi som kreves for å denaturere proteiner muskelen (Lin et al., 2012). Figur 2.5 illustrerer et typisk DSC termogram fra ubehandlet torsk med oppvarmingsrate på 10 °C/min. Toppene representerer denaturering av myosin (1 og 2), sarkoplasmiske proteiner (3 og 4) og aktin (5) med T_m på henholdsvis 38,4 44,1, 57,3, 69,5 og 76,1 °C (Skipnes, 2011).



Figur 2.5: Typisk DSC-termogram av ubehandlet torsk, med fem topper som representerer denaturering av myosin (1 og 2), sarkoplasmiske proteiner (3 og 4) og aktin (5). Stiplet linje viser hvordan termogrammet integreres, med start og slutt punkt (Skipnes, 2011).

For at proteinene skal denatureres, kreves en viss energimengde (E_d), som illustrert i Figur 2.6. Varmebehandling reduserer energibarrieren med $k_B T_b$, hvor k_B er Boltzmann konstanten og T_b er temperatur ved varmebehandling. Ved hvilken temperatur, og hvor mye energi som kreves for å komme over energibarrieren avhenger av varmebelastning, som beskrevet av (Zielbauer et al., 2016). Ulik oppvarmingshastighet kan dermed endre termogrammet slik at topper blir mer eller mindre synlige, og toppunkt kan forskyves (Deng et al., 2002). Ifølge Hastings et al (1985) var alle toppene borte etter tørking ved 30 eller 40 °C over natten. Frysing har også vist seg å gi en svak reduksjon i T_m og rest-entalpi (Zielbauer et al., 2016), da spesielt for myosin (Poulter et al., 1985). Schubring (1999) rapporterte en svak nedgang i myosintoppen hos torsk etter dobbelfrysing, mens aktintoppen så ut til å være upåvirket. I tillegg ble myosin delvis denaturert ved høyere lagringstemperatur (-10 °C), sammenlignet med lavere lagringstemperatur (-70 °C). Også her var aktintoppen upåvirket (Schubring, 1999). Delvis denaturering av myosin etter fryselagring ved -10 °C ble også rapportert av Hastings et al. (1985), hvor aktin, kollagen og sarkoplasmiske proteiner var relativt upåvirket av fryselagringen. Små variasjoner i termogrammer kan forekomme ved endringer i pH, protein sammensetning og størrelse på arten (Guzmán-Meza et al., 2017).



Figur 2.6: a) Simplifisert prinsipp av proteindenaturering og energi som kreves for denaturering E_d b) situasjonen for varmebehandling ved temperatur T_b (Zielbauer et al., 2016).

2.5.2.1 Termisk stabilitet ved tilsetning av salt

Tilsetning av salter vil kunne redusere varmestabiliteten i proteinene og avhenger av salttype. Generelt sett endres formen på kurvene ved at toppene utvides (Weinberg et al., 1984). Destabilisering av proteiner ved tilsetning av NaCl, senker temperatur for maksimal denaturering (T_m) samtidig som rest-entalpi (ΔH) reduseres. Denne trenden er observert blant annet hos torsk (Poulter et al., 1985, Thorarinsdottir et al., 2002, Weinberg et al., 1984), kylling (Kijowski og Mast, 1988), ulike arter hai (Chen, 1995) og andre fiskearter (Poulter et al., 1985, Wu et al., 1985).

Termisk stabilitet er konsentrasjonsavhengig (Wu et al., 1985) og reduseres ved økt ionisk stryke (Chen, 1995, Thorarinsdottir et al., 2002). Ifølge Wu et al. (1985) ble bare myosintoppen endret ved tilsetningen av 1 % salt, mens ved 3 % salt ble alle de tre toppene redusert. Til motsetning, har andre studier vist at tilsetning av 2,8 % salt, resulterte i at myosintoppen forsvant, sannsynligvis som følger av strukturelle endringer i proteinet (Kajitani et al., 2011).

Interaksjonen som forekommer mellom ioner og proteiner som resulterer i senket varmestabilitet er ikke helt forstått. Von Hippel og Wong (1965) foreslår en mulig forklaring, hvor ioner og vannmolekyler (som øker stabiliteten i proteiner) konkurrerer om å bindes til det aktive setet i proteinene, som igjen påvirker temperatur og entalpi ved denaturering.

2.6 Kvalitetsendringer ved prosessering

I avsnittet over, ble endringer i mikrostruktur og vannbindingsevne under prosessering presentert. Dette avsnittet går videre inn på endringer i tekstur, farge og viskoelastisitet under prosessering.

2.6.1 Tekstur

Teksturegenskapene er svært viktig for spisekvaliteten og ferskheten i fiskekjøttet (Lin et al., 2012, Skipnes, 2011), og er hovedsakelig et resultat av den komplekse strukturelle ordningen i muskelvevet og dens evne til å binde vann (Zielbauer et al., 2016). I motsetning til kjøtt fra pattedyr, er fiskekjøttet naturlig mørt, som følger av oppbyggingen av muskulaturen (Hultin, 1984) og et lavt innhold av kollagen. Kollagen er av mindre betydning for tekturen i fisk, som i hovedsak avgjøres av de myofibrillære proteinene (Dunajski, 1980). Enzymatisk aktivitet er i hovedsak ansvarlig for teksturendringer som forekommer under lagring av fiskemuskel (Lin et al., 2012) som resulterer i et mykere muskelvev (Cheng et al., 2014). Ifølge Yu et al. (2017) skjer de største endringene i tekturen de første dagene ved lagring.

Tekturen i fisk kan måles ved hjelp av ulike metoder, blant annet kompresjonstest (Skipnes, 2011). En type kompresjonstest er Texture Profile Analysis (TPA) hvor en prøve utsettes for kompresjon to ganger for å simulere tygging. Fordelen med en TPA analyse er at seks eller flere teksturegenskaper oppgis fra en og samme test (Bourne, 2004). Kompresjonstest av fiskemuskel kan være utfordrende, da det er vanskelig å standardisere orienteringen på myotomene, spesielt i varmebehandlede prøver, som ofte resulterer i stor spredning (Skipnes, 2011, Skipnes et al., 2011). Teksturegenskapene kan uttrykkes som blant annet «hardness», «fracturability», «cohesiveness», «adhesiveness» og «springiness» (Bourne, 2004). Hardhet, også beskrevet som fasthet er blant den viktigste i fisk (Cheng

et al., 2014, Lin et al., 2009, Lin et al., 2012), og beskriver høyest målte kraft under første kompresjon, som beskrevet av (Fernandez-Segovia et al., 2003). I denne oppgaven er fokuset derfor rettet mot hardheten i muskelvevet.

Teksturen avgjøres av makro- og mikrostrukturen i muskelvevet, som påvirkes av fysiske og kjemiske faktorer, samt ulike behandlinger (Cheng et al., 2014). Teksturen kan variere med fiskens størrelse, samt ulike områder i individet (Akse et al., 1993). Ifølge Lin et al. (2012) kan hardheten i muskelen korreleres til vann og proteininnhold, hvor hardheten øker når vanninnhold avtar. Lave saltkonsentrasjoner (<1 M), vil som tidligere beskrevet resultere i økt svelling av myofibrillene og høyere vannbindingsevne. Dermed vil lave saltkonsentrasjoner gjøre muskelvevet mykt (Martínez-Alvarez og Gómez-Guillén, 2005). Høyere saltkonsentrasjoner resulterer i protein denaturering, hvor vann migrerer ut av myofibrillene som følger av utsalting. Ifølge Gallart-Jornet et al. (2007), vil hardheten øke i takt med økt saltkonsentrasjon.

Skipnes et al. (2007) rapporterte signifikante forskjeller i hardheten til rå og varmebehandlet torskemuskel, hvor hardheten økte ved økt varmebehandling. Det ble derimot ikke observert signifikante forskjeller mellom ulike temperaturer (Skipnes et al., 2007). Ifølge Fernandez-Segovia et al. (2003) ble hardheten i varmebehandlet, avsaltet torsk (3,94 % salt) lavere, enn rå kontroll prøve. Akse et al. (1993) observerte økt hardhet i saltmoden torsk, som en konsekvens av at muskelproteinene hardnet ved dehydrering og aggregering. Fra disse observasjonene kan det tenkes at varmebehandling av usalta eller saltmoden torsk resulterer i et hardere muskelvev en dersom lave saltkonsentrasjoner er tilsatt.

2.6.2 Farge

Farge har stor betydning i matindustrien og er viktig for visuelle preferanser. CIE L* a* b* fargesystem er mye brukt til fargeundersøkelse av næringsmidler, og er en internasjonal standard for fargemåling, utviklet i 1976 av Comission Internationale d'Eclairage (CIE) (Yam og Papadakis, 2004). Systemet er basert på et tre-dimensjonalt fargerom hvor L* definerer lysheten i en vertikal akse, mens a* og b* er horisontale akser og definerer henholdsvis rød til grønn og gul til blå (Liang et al., 2011).

Flere studier har vist at muskelvevet hos fisk blir lysere ved varmebehandling etter hvert som proteinene denatureres (Fernandez-Segovia et al., 2003, Nakamura et al., 2011, Skipnes et al., 2011, Xia et al., 2017, Yu et al., 2014).

Når vann fordampes fra overflaten, vil L^* verdiene reduseres ifølge Yu et al. (2014) fordi dette setter i gang en bruningsreaksjon, også kjent som Maillard reaksjonen (Xia et al., 2017). Lignende observasjoner er også rapportert av Kong et al. (2007).

Rå torsk har en gjennomskinnelig farge som endres til hvitt etter varmebehandling over 30°C (Skipnes et al., 2011). Ifølge Akse et al. (1993) endres fargen i saltmoden torsk mot en gulere fargetone, uten at salt gir signifikante forskjeller i lyshet eller rødtone. Kong et al. (2007) rapporterte en nedgang i L^* og b^* verdier etter varmebehandling av lettsaltet laks (*Oncorhynchus Gorbuscha*), sammenlignet med usaltet laks. Samme trend ble også observert i saltet biff, hvor forskjellen ble større ved økt saltinnhold (Baublits et al., 2006). Baublits et al. (2006) foreslår at nedgangen kan skyldes at vannet holdes bedre på plass i muskelvevet ved økt ionisk styrke.

2.6.3 Reologi

Under varmebehandling dannes en viskoelastisk gel når myofibrillære proteiner denatureres og protein-protein interaksjoner resulterer i aggregering (Xiong, 1997). Gelen som dannes har en unik evne til å holde på vann, og egenskapene påvirkes av ionisk styrke og oppvarmingsmetode. Proteinenes fysiokjemiske egenskaper, som blant annet overflate polaritet, ladning og hydrofobisitet, samt termisk stabilitet er avgjørende for elastisiteten (Xiong, 1997) og er ofte undersøkt samtidig som viskoelastiske egenskaper.

Reologi er læren om deformasjons- og flytforhold, og kan beskrive hvordan materialer responderer til påført kraft og deformasjon, ifølge Tabilo-Munizaga og Barbosa-Cánovas (2005) som har skrevet en god oversiktsartikkel om reologi i mat. I artikkelen kommer det frem at for å kunne undersøke viskoelastisitet må det utføres en oscillasjonstest. Testen definerer det lineære viskoelastiske området, som er begrenset fra øvre og nedre belastningsprosent som gir konstant lagringsmodul (G'). Når materialet befinner seg i det lineære viskoelastiske området er det mulig å bestemme lagringsmodul (G'), tapsmodul (G'') og tapsefaktor ($\tan \delta = G'/G''$) (Tabilo-Munizaga og Barbosa-Cánovas, 2005). Lagringsmodulen beskriver de elastiske egenskapene i et materiale, hvor høyere verdier viser til høyere grad av elastisitet, som beskrevet av Kobayashi et al. (2017).

Ifølge et litteratursøk er reologiske egenskaper i hel fiskemuskel lite studert. Imidlertid er det utført mange studier på surimi og isolerte proteiner fra fisk, av blant annet Abdollahi et al. (2017), Kim et al. (2003), Kobayashi og Park (2017) og Kobayashi et al. (2017). Rabeler og Feyissa (2017) undersøkte lagringsmodulen i kylling og beskrev at endret G' kan forklares ved mikrostrukturelle endringer som denaturering og et hardere muskelvev. Lagringsmodulen holdt seg stabil under 55 °C, men ved videre

Økning i temperaturen økte G' hurtig frem til ~ 80 °C hvor G' stabiliserte seg ved maksimal lagringsmodul (Rabeler og Feyissa, 2017). Kobayashi og Park (2017) observerte endret lagringsmodul i surimi og isolerte proteiner fra fisk ved tilsetning av salt som har sammenheng med endret termisk protein stabilitet. Lignende resultater ble også rapportert av Kobayashi et al. (2017).

3 Materialer og metoder

3.1 Råstoff

Råstoffet som ble brukt i denne oppgaven var oppdrettstorsk, levert av Havbruksstasjonen i Tromsø AS. Et utvalg på 139 individer mellom 2 – 4 kg, ble slaktet, filetert (*pre-rigor*) og pakket 14. desember 2018. Fisken ble sendt med fly til Stavanger for å gjennomgå rigor-prosessen før videre behandling. *Post-rigor* filet ble kuttet i mindre biter (herfra omtalt som loin) på 100 – 150 g. Et utvalg av loinene som ble brukt i oppgaven ble behandlet i lake med tre ulike saltkonsentrasjoner, hvorav 8 loins fra hver saltkonsentrasjon ble innveid før salting. Detaljert informasjon om råstoffet finnes i rapporten til Blikra (2018).

3.2 Lakesalting

Saltlaken ble klargjort ved å tilsette 0, 300 eller 900 g NaCl (99,8%) til 20 L vann for å oppnå en saltlake som innehold henholdsvis rent ferskvann, 1,5 eller 4,5 % salt¹. Laken ble varmebehandlet til kokepunktet og avkjølt, for å redusere vekst av mikroorganismer, samtidig som saltet ble oppløst. Deretter ble saltlaken porsjonert i individuelle poser, med 2 L saltlake i hver pose, og oppbevart på fiskekjøl ved 0 – 2 °C frem til salting.

Et utvalg loins ble overført i poser med 2 L saltlake (venstre i Figur 3.1), markert med fiske-nr. og posisjon i forhold til hode/hale region. Loinene ble saltet i 48 ± 4 timer, ved 0 – 2 °C før de ble tatt ut av posene, tørket forsiktig, og det samme utvalget på 8 loins som ble innveid før salting ble på ny veid for undersøkelse av vektøkning. Deretter ble loinene fryst (høyre i Figur 3.1) i en innfrysingsmaskin med flytende nitrogen (CES 1550, CES Freezing Technology, Bissegem, Belgia) innstilt ved – 60 °C, vakuumpakket ved 92,2 % vakuum og fryselagret ved – 80 °C frem til videre opparbeiding av prøver.



Figur 3.1: Oppsett for salting i 2 L poser (venstre) og innfrysing av loins (høyre). Gjengitt etter (Blikra, 2018).

¹ Herav omtalt under fellesbetegnelsen saltparametere

3.3 Mikrobiologisk analyse

3.3.1 Opparbeiding av prøve

Fra ferdig saltede loins, ble det skåret ut fem biologiske paralleller (ulike individer) til hver av de tre saltparameterene, med tilsammen 15 prøver. Prøver på ca. 25 g ble vakuumpakket i separate poser og fryst (-80 °C) frem til analyse.

Prøvene ble tatt opp av frys og tint 13/15 dager senere, fortynnet i et 1:10 forhold med autoklavert saltvannsløsning og homogenisert i en stomachermaskin (Star-Blender™ LB400, VWR) i 120 sekunder. Den homogene løsningen ble overført i sterile rør for tillaging av videre fortynningsrekke opptil 10^{-5} i henhold til NMKL metode nr. 91, «Prøveudtagning og forbehandling af levnedsmidler og foderstoffer til kvantitativ mikrobiologisk undersøgelse» (NMKL, 2010). Fortynningsrekken ble laget ved å overføre 150 µl prøve i 1350 µl saltvannsløsning.

3.3.2 Kimtall og spesifikke fordervelsesbakterier

Kimtall og spesifikke fordervelsesbakterier i prøvene ble kartlagt med 1 ml homogenat, innstøpt i jernagar med 0,04 % L-cystein, i henhold til NMKL metode nr. 184, «Kimtal og spesifikke fordærvelsesbakterier i fisk og fiskevarer» (NMKL, 2006). 1 ml homogenat fra tre av fortynningene (10^{-1} , 10^{-3} og 10^{-5}) ble overført med steril pipette til en tom petriskål, og 10-12 ml jernagar ble tilsatt. Når jernagaren var størknet, ble ytterligere et tynt lag helt over. Skålene ble inkubert ved 25 °C i 72 ± 6 timer, før antall kolonidannende enheter ble undersøkt.

3.4 pH måling

10 – 40 g tint, prøve ble veid inn og homogenisert med en blender sammen med tilsvarende mengde 0,1 M KCl løsning i et 1:1 forhold. pH ble målt ved bruk av et pH meter (Mettler Toledo Five Easy Plus FEP20, Zürich, Sveits) med elektrode (LE438 Mettler Toledo, Zürich, Sveits) som på forhånd var kalibrert med to bufferløsninger av kjent pH på 4 og 7.

pH ble målt i prøver fra alle tre saltparameterene, med 4 biologiske paralleller per saltkonsentrasjon, og to analytiske paralleller per prøve. De analytiske parallellene ble utført ved å endre posisjon på elektroden i løsningen. Gjennomsnitt og standardavvik ble deretter regnet ut ($n = 8$).

3.5 Saltmåling

Kloridinnhold i torskeprøver ble bestemt ved titrering med sølvklorid, ved hjelp av en titrator (Mettler-Toledo T7, Zürich, Sveits), i henhold til ISO 5934, IDF 88 metoden, men med noen avvik (ISO, 2006). 1,5 g homogenisert prøve ble veid inn og blandet med 50 ml destillert vann ved en temperatur på 55 °C. Prøven ble stående i en time uten røring for at saltet skulle trekke ut av fisken før titreringen startet. Ingen blindverdier ble brukt under analysen.

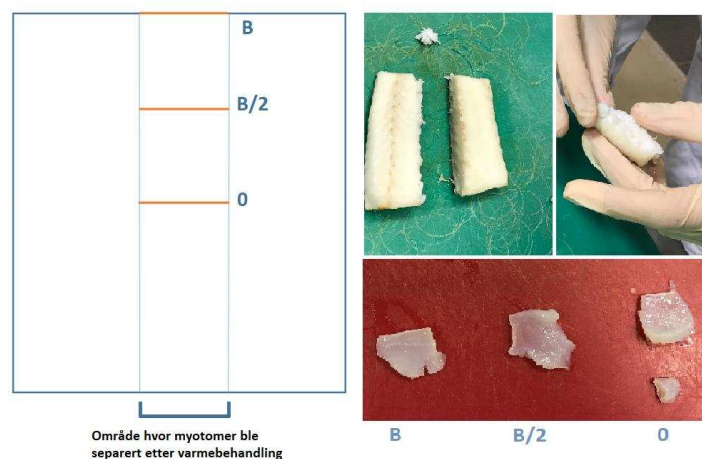
Analysen ble utført på prøver fra alle de tre saltparametere, med to paralleller fra midtpartiet og to fra ytterkanten, fra fire ulike individer til hver saltkonsentrasjon (n = 8). Analysen ble i tillegg utført på ubehandlet torsk (n = 8), uten å skille mellom posisjon. Deretter ble gjennomsnitt og standardavvik regnet ut.

3.6 Opparbeiding av prøver til analyse av mikrostruktur, rest-entalpimåling (DSC), vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi

3.6.1 Mikrostruktur og rest-entalpi av ovnsbakt torsk

Til hver saltkonsentrasjon ble 6 loins (til sammen 18 loins) tint i en bønne med is og rennende vann. Disse ble tørket, veid og kuttet (om nødvendig) slik at de hadde en geometri som var mest mulig rektangulær. Deretter ble lengde, bredde og høyde bestemt ved hjelp av et skyvelære for å kunne modellere temperaturen i en gitt posisjon. Loinene ble varmebehandlet i en konveksjonsovn (MSCC 61, Metos, Kerava, Finland) ved to ulike varmebelastninger, 150 °C i henholdsvis 5 eller 15 minutter, hvor ovnen ble innstilt ved 0 % luftfuktighet.

Etter varmebehandling ble hver enkelt loin nedkjølt på is, før lengde bredde og høyde på ny ble bestemt. Et rektangel ble skåret ut, og myotomene ble separert fra hverandre som illustrert i Figur 3.2. Til analyse av mikrostruktur ble det tatt ut myotomer som representerte kjernen, ytterkanten og posisjonen midt imellom disse, henholdsvis posisjonene 0, B og B/2. Til DSC analysen ble det kun tatt ut myotomer som representerte kjernen av loinen (posisjon 0). Prøvene ble overført i zip-posere, senket i flytende nitrogen for hurtig innfrysing og deretter oppbevart i frys (-80 °C) inntil analyse.



Figur 3.2: Opparbeiding av prøver til analyse av mikrostruktur og rest-entalpi under denaturering. Et rektangel ble kuttet ut etter varmebehandling, beskrevet som området hvor myotomer ble separert etter varmebehandling. Myotomer som representerte kjernen, ytterkanten og posisjonen mellom kjernen og ytterkanten, beskrevet som henholdsvis posisjonene 0, B og B/2 ble tatt ut til analyse av mikrostruktur. Myotomer som representerte kjernen (posisjon 0) ble tatt ut til analyse av rest-entalpi.

3.6.2 Mikrostruktur av torskeprøver temperert i et vannbad

Fra hver saltkonsentrasjon ble tre loins tint på samme måte som beskrevet over. Deretter ble en kvadratisk bit skåret ut av hver loin, og vakuumpakket ved 97,2 % vakuum. Den vakuumpakkede biten ble temperert i et vannbad (Grant, GD120, Cambridge, England) ved 30 °C i 20 minutter, før myotomene ble separert (uten å skille mellom posisjonen), og innfrost på samme måte som beskrevet over for ovnsbakt torsk. Hensikten med å opparbeide prøvene på denne måten var at muskelvevet skulle forbli relativt upåvirket av varmebehandlingen (i forhold til denaturering), men at myotomene skulle være mulig å skille fra hverandre. Opparbeidingen ble utført av Blikra.

3.6.3 Rå prøver til DSC analyse

Rester fra opparbeiding av prøver til vannbindingsevne, TPA, farge og reologi (Avsnitt 3.6.4) ble brukt til DSC analyse av rå prøver.

3.6.4 Vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi

Prøver til vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi ble opparbeidet på samme måte som beskrevet i Blikra (2018), med noen forskjeller. Det ble skåret ut runde skiver med en hullpiper i to ulike størrelser: 20 og 30 mm i diameter som ble brukt til analyse av henholdsvis tekstur, farge og reologi. Rester ble brukt til analyse av vannbindingsevne, samt DSC analyse av rå prøve.

En oppsummering av antall paralleller brukt til hver analyse er oppgitt i Tabell 3.1 og Tabell 3.2, hvor totalt antall paralleller gjelder per posisjon og/eller varmebehandling- og saltkonsentrasjonskombinasjon.

Tabell 3.1: Antall paralleller som ble benyttet i analyse av mikrostruktur og rest-entalpi av muskelproteiner (DSC) per posisjon og varmebehandlet eller rå prøve.

	Varmebehandling	Biologiske paralleller ²	Analytiske paralleller ³	Totalt antall paralleller per saltparameter
Mikrostruktur	30 °C, 20 min ⁴	3	1	3
	150 °C, 5min ⁵			
	150 °C, 15min ⁵			
DSC	Rå ⁴	4	2	8
	150 °C, 5min ⁶	3	3	9
	150 °C, 15min ⁶	3	2	6

Tabell 3.2: Antall paralleller som ble benyttet i analyse av vannbindingsevne (VBE), tekstur, farge og reologi, per varmebehandling eller rå prøve.

	Prøvemateriale	Biologiske paralleller	Analytiske paralleller	Totalt antall paralleller per saltparameter
VBE	Rester	4-8	1-2	8
Tekstur, farge	Sirkler, 20 mm	4	1	4
Reologi	Sirkler, 30 mm	5	2	10

² Biologisk parallell: prøver fra ulike individer

³ Analytisk parallell: prøver fra samme individ

⁴ Posisjon er irrelevant

⁵ Prøver tatt ut fra kjerne, ytterkant og posisjonen mellom kjerne og ytterkant etter varmebehandling av loins

⁶ Prøver tatt ut fra kjerne etter varmebehandling av loins

3.7 Estimering av temperatur i prøver fra ovnsbakt torsk

Blikra estimerte temperaturen i mytomene ved ovnsbaking av torskestykker ved hjelp av en modell laget i COMSOL Multiphysics. Modellen bygger på fundamentale fysiske lover for varme og masseoverføring og informasjon om modellen er oppgitt bakerst i vedlegget. Estimert temperatur i kjerne (K), ytterkant (Y) og posisjon mellom kjerne og ytterkant (M) er oppgitt i Tabell 3.3.

Tabell 3.3: Estimert temperatur i gitte posisjoner etter ovnsbaking av torskestykker behandlet i ulike saltkonsentrasjoner. Temperatur ble estimert i kjerne (K), ytterkant (Y) og posisjonen mellom kjerne og ytterkant (M).

Varmebehandling	Salt konsentrasjon (%)	Individ nr.	Før baking (mm)			Etter baking (mm)			Estimert temperatur (°C)							
			L	B	H	L	B	H	K	K + 3 mm	M	M - 3 mm	M + 3 mm	Y	Y - 3 mm	Y - 5 mm
150 °C i 5 min	0	1	83	71	16	81	72	12	35,3	35,3	35,7	35,5	36,3	72,2	59,1	52,3
		2	73	71	21	75	71	20	26,7	26,7	27,5	27,0	28,5	67,4	53,3	45,8
		3	94	66	25	96	66	24	20,6	20,6	20,7	20,6	21,0	63,5	48,7	40,8
	1,5	1	79	95	21	74	89	20	26,6	26,6	27,5	27,0	28,5	67,5	53,3	45,9
		2	84	84	19	83	83	20	26,7	26,7	27,1	26,8	27,7	67,4	53,3	45,8
		3	97	76	20	97	75	18	30,6	30,6	30,8	30,7	31,0	70,3	56,6	49,3
	4,5	1	89	80	24	90	81	22	23,3	23,3	23,6	23,4	24,0	65,3	50,7	43,1
		2	90	60	21	87	58	21	24,9	24,9	25,3	25,1	25,7	66,4	52,1	44,5
		3	78	70	26	76	70	26	18,5	18,5	19,3	18,9	20,4	61,8	46,8	38,9
150 °C i 15 min	0	1	96	64	23	91	62	22	64,8	64,8	68,3	67,0	70,1	99,4	93,5	89,6
		2	82	70	11	71	70	11	100	100	100	100	100	100	100	100
		3	95	64	27	89	61	25	57,1	57,1	61,2	59,7	63,4	99,5	90,7	85,6
	1,5	1	82	85	19	72	82	18	76,7	76,8	81,6	79,9	83,9	100,3	96,7	94,4
		2	82	67	20	74	59	23	63,2	63,3	69,1	66,9	71,9	98,9	92,8	88,6
		3	94	60	19	79	52	21	70,4	70,5	75,0	73,4	77,2	98,8	94,7	91,7
	4,5	1	93	73	20	80,3	70	20	70,1	70,1	74,6	73,0	76,8	99,8	95,2	92,0
		2	83	64	22	71	60	22	65,9	66,0	72,0	69,8	74,9	100	93,9	89,9
		3	92	75	28	88	71	27	51,0	51,0	55,6	53,9	57,9	97,1	87,6	82,1

3.8 Analyse av rest-entalpi av muskelproteiner (DSC)

Rest-entalpien til muskelproteiner i torsk, ble analysert på opparbeidede prøver som beskrevet i Avsnitt 3.6. Prøvene ble oppbevart på is frem til analyse, og analysert ved hjelp av instrumentet DSC1 (Mettler Toledo, Schwerzwnbach, Switzerland). Prøver på ca. 50 mg ble veid inn, overført i stålpanner (Mettler Toledo medium pressure Ø 7 mm with pin, Switzerland) og forseglet med en o-ring (viton) i lokket av panna. For å oppnå best mulig resultat, ble prøven forsiktig presset ned for å dekke bunnen av panna. En referansepanne ble fylt med 40 mg sterilt vann, tilsvarende vanninnholdet i fisken.

Etter plassering i instrumentet ble temperaturen stabilisert og analysen ble kjørt med en oppvarmingshastighet på 2,5 °C/min i området 2 - 100 °C. Denatureringskurver ble analysert ved hjelp av programvaren StarE versjon 14.00 (Mettler Toledo, Schwerzwnbach, Switzerland), hvor to hovedtopper ble ansett som denatureringspunktet for to proteingrupper, med myosin og aktin som hovedkomponent. Temperatur for maksimal denaturering (T_m , °C) og rest-entalpi (ΔH , J/g) for hver av proteingruppene ble definert ved integrering som henholdsvis toppunktet og arealet under denatureringstoppen, avgrenset av en spline baselinje, som også ble brukt av Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018).

3.8.1 Analysering av termogrammene

Gjennomsnittskurver ble laget ved å legge sammen alle kurvene ved de samme betingelsene, og dele kurven på antall paralleller (Tabell 3.1). Det ble ikke tatt stilling til temperaturforskjeller i prøvene ved varmebehandling som følger av ulik størrelse av loins. Estimert temperatur var såpass lav og relativt lik at denaturering av proteiner mest sannsynlig ikke hadde forekommet (Tabell 3.3). Ved økende saltkonsentrasjon og varmebelastning ble rest-entalpien stadig lavere og flere av kurvene hadde så små utslag at de ikke kunne integreres. Rest-entalpien hadde blitt for høy dersom kun integrerbare topper ble tatt med i resultatet. Gjennomsnittskurvene ble integrert, fordi ved denne metoden ble alle kurver representert like mye.

For å kunne si noe om spredningen i datasettet, ble i tillegg hvert termogram fra alle parallellene integrert. Start og sluttpunkt for baselinjen ble bestemt av tangenten som passet for de fleste kurvene ved de samme betingelsene. Omtrent samme start og sluttpunkt ble brukt ved integrering av gjennomsnittskurvene. Spredningen ble beskrevet som høyest og lavest målte verdi for ΔH og T_m i prøver med de samme betingelsene.

3.9 Analyse av mikrostruktur

Fra opparbeidede myotomprøver, ble en mindre bit skåret ut, uten å tine prøven. Denne ble overført til en objektplate med frysevæske som dekket prøven. Når frysevæsken var frossen, ble prøven kuttet i 10 µm tykke snitt ved -22 °C ved hjelp av Leica Cryostat (CM1860 UV, Nussloch, Tyskland). Snittene ble overført til objektglass og farget i 5 min med Orange G (Sigma-Aldrich, Missouri, USA), for så å vaskes i destillert vann i 1 min. Deretter ble snittene farget i 5 min med Metyl blå (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) før ytterligere vasking i 5 min i destillert vann. Muskelproteiner ble faget oransje og bindevev ble farget blått.

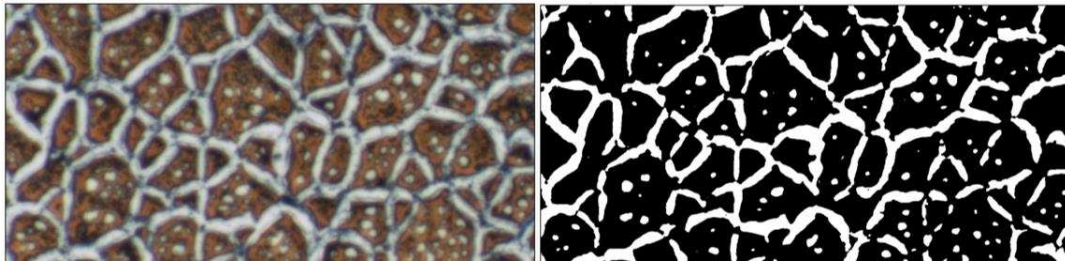
Når objektglasset var tørket, ble mikrostrukturen til varmebehandlet og saltet eller usaltet torsk studert i Leica MZ8 stereolupe (San Jose, CA, USA) og fotografert med VisiCam 10.0 (VWR®) før videre bildebehandling og undersøkelse av strukturen. Ved bruk av de samme innstillinger på mikroskopet, ble det tatt fotografi av et kalibreringsobjektglass som illustrerte størrelsesordenen på prøvene.

3.9.1 Bildebehandling

Hele eller deler av fotograferte bilder av mikrostrukturen ble analysert i ImageJ (Versjon 1.52b, Fiji). Det ble passet på at ingen områder ble analysert mer enn en gang. Ved å endre kontrasten og lysstyrken (om nødvendig) i bildet, samt omdanne bildet til binært, ble andelen sorte og hvite pixler kvantifisert, som illustrert i Figur 3.3. Sorte pixler beskrev andelen av muskelstrukturen som var dekket av cellevev, mens hvite pixler beskrev andelen av mikrostrukturen som var dekket av væske eller hulrom. Fra hver prøve ble tre områder analysert, som gir til sammen 189 analyserte områder, som oppsummert i Tabell 3.4.

Tabell 3.4: Antall analyserte områder av mikrostrukturen i varmebehandlet torsk oppgitt per varmebehandling og som totalt antall analyserte områder.

Varmebehandling	Antall individer	Posisjoner	Analysert områder	Total antall analyserte områder per varmebehandling
30°C i 20min	9	1	3	27
150 °C i 15 min	9	3	3	81
150 °C i 5 min	9	3	3	81
Totalt antall analyserte områder				189



Figur 3.3: Bildebehandling i ImageJ, omgjort til binært slik at sorte og hvite pixler kunne kvantifiseres.

3.10 Analyse av vannbindingsevne

3.10.1 Tørrstoff og vanninnhold

Tørrstoff og vanninnhold i prøver behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon ble bestemt gravimetrisk i henhold til NMKL metode Nr.23 «Vatten och aska. Gravimetrisk bestämning i kött och köttvaror» (NMKL, 1991) med noen tilpassinger. Prøver på ca. 2 g ble veid før og etter tørking ved 105 °C i 16 – 18 timer. Analysen ble utført på fire biologiske paralleller per saltkonsentrasjon, hvor tørrstoff- og vanninnhold ble regnet ut etter Formel 1 og Formel 2. Deretter ble gjennomsnitt og standardavvik regnet ut.

Formel 1
$$Tørrstoff = 100 - \left(\frac{(a-b) \times 100}{a} \right)$$

Formel 2
$$Vanninnhold = \left(\frac{(a-b) \times 100}{a} \right)$$

Hvor a er vekten til prøve (g) før tørking og b er vekt av prøve (g) etter tørking.

3.10.2 Vannbindingsevne (VBE)

En oppdatert versjon av prøvekoppe beskrevet i (Skipnes et al., 2007) (Hettich, Tuttlingen, Tyskland), ble brukt i analysen av vannbindingsevne i torskemuskel. Analysekoppene er illustrert i Figur 3.4. Opparbeidede prøver ble tint og grovkuttet forsiktig med kniv uten å presse ut vann. Brunmuskel og blod ble skåret bort, og den resterende hvitmuskelen ble oppbevart på is gjennom hele analysen sammen med utstyr og kopper med eller uten prøve.



Figur 3.4: Analysekopper for måling av vannbindingsevne. Fra venstre viser bunnsposisjon under sentrifugering, bunnsposisjon under varmebehandling, prøve kopp, bunnsiden av filter, toppsiden av filter og toppblokk.

3.10.3 Analyse av rå prøver

Prøver på $5,00 \pm 0,05$ g ble overført i avkjølte analysekopper hvor filter og bunn på forhånd var skrudd sammen med prøvekoppen. Lokket ble festet, og koppen ble veid før og etter tilsetning av prøve, og deretter sentrifugert.

3.10.4 Analyse av varmebehandlet prøver

Prøver på $5,00 \pm 0,05$ g ble overført i avkjølte analysekopper som på forhånd var innveid, og hvor lokket var skrudd fast i koppen. Filteret ble plassert slik at det så vidt var i kontakt med prøven, uten å påføre trykk. Deretter ble bunnen skrudd sammen med resten av koppen, før ny innveiling. Prøvene ble varmebehandlet ved 30, 50 eller 70 °C i 10 min i vannbad (Grant, GD120, Cambridge, England). (For å oppnå fullstendig varmeoverføring var det viktig at luftbobler i bunnen av koppen ble fjernet ved å senke koppene sidelengs ned i vannbadet). Koppene ble deretter overført i et isbad i 5 min, senket ned på samme måte som i vannbadet, før vann ble fjernet fra utsiden av koppene. Bunnen ble løst fra resten av koppen, uten å berøre filteret, og koketapet ble tørket bort. Etter ny innveiling og bestemmelse av koketap, ble bunnen satt i sentrifugeringsposisjon, festet til koppen og sentrifugert.

3.10.5 Sentrifugering

Koppene ble sentrifugert (Rotina 420R, Hettich, Tuttlingen, Tyskland) med en hastighet på 528 g (som ifølge Skipnes (personlig kommunikasjon) tilsvarer 1800 RPM) i 15 minutter ved en temperatur på 4 °C. Sentrifugen var på forhånd avkjølt til samme temperatur. Deretter ble bunnen løsnet, væsken ble tørket bort og koppen ble veid på ny, for å bestemme hvor mye vann som var fjernet fra muskelvevet under sentrifugering. Vannbindingsevnen ble regnet ut etter Formel 3.

Formel 3

$$VBE = \left(\frac{100 - T_x - \left(\frac{V_s}{V_0} \times 100 \right)}{100 - T_x} \right) \times 100$$

Hvor T_x er tørrstoffinnhold (%) i muskelveg ved gitt saltkonsentrasjon, V_s er væsketap under sentrifugering og V_0 er vekt av prøve før varmebehandling og sentrifugering.

3.11 Analyse av tekstur og farge

Tekstur- og fargeanalyse av rå og varmebehandlede prøver ble utført på 4 biologiske paralleller per saltparameter og varmebehandlingskombinasjon. For å inkludere forskjeller som følger av posisjon i fisken, ble analysen utført på prøver fra høyre og venstre side, samt alle posisjoner av fileten (hode, hale og midtregionen). Prøver på 20 mm i diameter fra de fire samme individene ved hvert saltparameter ble brukt ved analyse av alle varmebelastninger og rå prøve. En oppsummering av oppsettet er gitt i Tabell 3.5.

3.11.1 Analyse av rå prøver

Vakuumpakkede prøver ble tatt opp av frys (-80 °C) og overført på et brett med et tynt lag av fett (N-fett, NorDen Olje AS, Kolding, Danmark), som på forhånd var avkjølt på is. Fettet var for å hindre at prøvene skulle strekkes eller endre dimensjon som følger av overføring til tekstur instrument, samt at prøvene skulle kunne krympe naturlig under varmebehandling. Fettet gav ingen signifikante forskjeller ($P > 0,05$, $n = 4$) i teksturen sammenlignet med om prøven ble plassert rett på brettet. Når prøvene var tint, ble hele brettet plassert i Digieye instrumentet og fotografert for fargemåling som beskrevet i Avsnitt 3.11.3.1 Fargemåling. Deretter ble TPA analyse utført på hver enkelt prøve, som beskrevet i Avsnitt 3.11.3.2 Teksturmåling.

3.11.2 Analyse av varmebehandlede prøver

Prøvene ble tint på samme måte som beskrevet over. En konveksjonsovn (Metos System Rational, MSCC 61, Tyskland) ble stilt inn på dampprogram med 100 % luftfuktighet eller luftprogram med 0 % luftfuktighet og riktig temperatur (Tabell 3.5). I hvert tilfelle ble det ventet i minst 15 min før baking for å sikre at ovnen hadde nådd riktig innstilling før brettet ble plassert midt i ovnen. Etter 5/10 min ble brettet tatt ut og avkjølt i en hurtigkjøler (Metos Kitchen intelligence, BC161AF, Italia) ved -18 °C, til prøvene hadde en maksimal temperatur på 10 °C. Brettet ble deretter lagt på is, for så å følge samme prosedyre for farge og teksturmåling som beskrevet i avsnittet over.

Tabell 3.5: Oversikt over ovnsinnstillinger, varmebehandlingstemperatur og -tid og antall paralleller per saltparameter.

Ovnsinnstillinger	Rå/ temperatur i ovn (°C)	Varmebehandlingstid (min)	Paralleller per saltparameter
	Rå		
100 % luftfuktighet	30	5	4
		10	
	40	5	
		10	
	50	5	
		10	
	60	5	
		10	
	70	5	
		10	
	80	5	
		10	
0 % luftfuktighet	130	5	
		10	
	150	5	
		10	
	170	5	
		10	

3.11.3 Instrumentering

3.11.3.1 Fargemåling

Fargen på overflaten av prøvene ble målt fotometrisk ved hjelp av bilde-fargemåle-systemet DigiEye (Versjon 2,53, VeriVide Ltd., Leicester, UK). Prøvene ble plassert i et en lysboks med standardisert dagslys (6400K) og fotografert med et digitalkamera (Nikon D90, 35 mm linse, Nikon, Japan). DigiPix software (VeriVide Ltd, Leicester, UK) ble brukt til å kvantifisere fargen i L*a*b* systemet fra bildene som ble fotografert med et kalibrert kamera. Fargen ble målt som størst mulig areal uten brunmuskel eller blod i hver prøve. Gjennomsnitt og standardavvik ble regnet ut fra fire paralleller.

L* a* b* fargerresultater ble samlet i whiteness (W) bakerst i Kapittel 5.8 for oppsummeringens skyld og er regnet ut etter Formel 4 som demonstrert av (Park, 1994).

Formel 4
$$W = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

3.11.3.2 Teksturmåling

Tekstur av rå og varmebehandlede prøver fra tre saltparameter ble målt instrumentelt ved hjelp av Texture Analyser (TA-XT2®, Stable Micro Systems, UK), utstyrt med en 5 kg vektcelle. Ved bruk av TPA (Texture Profile Analysis) analyse, ble proben (flat sylinder, type P/1, Ø 1" aluminium) presset ned på prøven to ganger, med en bevegelseshastighet på 1 mm/s og 60 % kompresjon av høyden.

Teksturen ble definert som hardhet ved hjelp av programvaren Exponent (Versjon 6.1.15.0, Stable Micro Systems, UK). Gjennomsnitt og standardfeil ble regnet ut fra fire paralleller.

3.12 Analyse av viskoelastisiteten (reologi)

Viskoelastisiteten til opparbeidede prøver ble analysert ved hjelp av et reometer (Discovery HR-2, TA instruments, New Castle, UK) utstyrt med en geometri (parallell plate, 20 mm, taggete) som på forhånd var kalibrert i forhold til høyden mellom geometri og en peltierplate. Vakuumpakkede prøver på 30 mm i diameter og ca. 3 mm i høyden ble tatt opp av frys, tint i en bølge med is og vann, pakket ut og overført til peltierplaten som på forhånd var avkjølt til 0 °C. Geometrien ble delvis senket, og avkjølt utstyr til fordampingsfelle ble plassert rundt prøven og geometrien. Deretter ble et lag med aluminiumsfolie plassert over fordampingsfellen (Figur 3.5), som tilsammen hadde som funksjon å redusere temperatursvinn til omgivelsene, samt redusere fordamping og uttørking av prøve under oppvarming. Geometrien ble forsiktig senket frem til aksialkraften var nokså stabil rundt 0,1 – 0,2 N, uavhengig av mellomrommet til peltierplaten. Oscillasjonstest i form av amplitudeutsalg eller temperaturrampe ble startet.

3.12.1 Amplitudeutsalg

For å sikre at prøvene var viskoelastiske under analysen, ble en oscillasjonstest utført i form av amplitudeutslag ved 1 Hz. For hver saltkonsentrasjon ble det undersøkt ved hvilken belastningsprosent prøvene lå innenfor det lineære viskoelastiske området ved fire ulike temperaturer; 0, 25, 50 og 80 °C. Prøvene ble stabilisert ved riktig temperatur i 10 min før testen startet. Belastningsprosenten ble videre brukt i analyse av lagringsmodul ved temperaturrampe.

3.12.2 Temperaturrampe

Belastningsprosenten hvor prøver med samme saltkonsentrasjon viste et lineært viskoelastisk området for alle de fire temperaturene, ble brukt under temperaturrampen. Lagringsmodulen (G') ble målt fra 0 – 100 °C ved en oppvarmingsrate på 2,5 °C/min. Analysen ble utført på totalt 10 paralleller per saltkonsentrasjon fra 5 individer, med 2 paralleller per individ. Gjennomsnitt og standardavvik ble regnet ut. For å undersøke om uttørking resulterte i endret lagringsmodul, ble tre paralleller målt med silikonolje (ELLAB A/S, Hilleroed, Danmark), påført rundt hele prøven etter senkning av geometri.



Figur 3.5: Reometer og oppsett for analyse. Venstre: tint prøve ble overført til peltierplaten og geometrien ble senket. Midten: avkjølt fordampingsfelle ble plassert over prøve, peltierplaten og geometri. Høyre: et lag med aluminiumsfolie ble plassert over fordampingsfellen, uten å berøre geometrien.

3.13 Statistiske analyser

Resultatene ble analysert for signifikante forskjeller med IBM SPSS Statistics (versjon 25), ved hjelp av one way ANOVA og Tukey test med 95 % konfidensintervall. Eventuelle uteliggere ble også undersøkt i samme program.

4 Resultater

4.1 Bestemmelse av saltinnhold

Saltinnholdet i prøver behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon økte i takt med saltkonsentrasjon i laken, og var signifikant forskjellig fra hverandre. Saltverdier for midt og ytre posisjon, samt totalen (uten å skille på posisjon) er oppgitt i Tabell 4.1, som gjennomsnitt og standardavvik av henholdsvis 8 og 16 paralleller.

Loins behandlet i ferskvann hadde et saltinnhold på $0,062 \pm 0,032$ % og kommer av fiskens biologiske saltinnhold. Ved de to laveste saltkonsentrasjonene ble ingen signifikante forskjeller ($P > 0,05$) observert mellom midt eller ytre posisjon. Derimot ble signifikante forskjeller observert mellom midt og ytre posisjon i loins behandlet i lake med 4,5 % salt, hvor saltinnholdet var signifikant høyere i ytterkanten av loinen som er i direkte kontakt med laken. Usaltet torsk ($n = 8$) målte et saltinnhold på $0,098 \pm 0,043$ %, som var noe høyere enn det som ble observert for loins behandlet i lake med 0 % salt. Saltinnholdet var imidlertid ikke signifikant forskjellig.

Tabell 4.1: Saltinnhold (gjennomsnitt og standardavvik) i et utvalg av loins ($n = 8$), saltet ved ulik saltkonsentrasjon. Analysen ble utført på prøver fra midtpartiet og ytterkanten for å oppdage eventuelle forskjeller. Verdier med ulik fotnote viser til signifikante forskjeller ($P < 0,05$).

	0 %		1,50 %		4,50 %	
	Midt	Ytre	Midt	Ytre	Midt	Ytre
Saltinnhold (%) ($n = 8$)	$0,068 \pm 0,038^1$	$0,056 \pm 0,027^1$	$0,946 \pm 0,206^2$	$1,059 \pm 0,107^2$	$2,685 \pm 0,567^3$	$3,433 \pm 0,278^4$
Totalt saltinnhold (%) ($n = 16$)	$0,062 \pm 0,032^1$		$1,002 \pm 0,169^2$		$3,059 \pm 0,579^3$	

Fra resultatet i Tabell 4.1 ble saltinnholdet i vannfasen regnet ut, basert på målt vanninnhold fra Tabell 4.8. Gjennomsnittlig og maksimalt saltinnhold i vannfasen er oppgitt i Tabell 4.2. Saltinnholdet ble høyere per enhet vann, sammenlignet med per enhet fisk, uten å oppnå samme saltkonsentrasjon som i laken.

Tabell 4.2 Saltinnhold (%) i vannfasen regnet ut basert på målt vanninnhold fra prøver behandlet i lake med 0, 1,5 og 4,5 % salt.

	0 %		1,50 %		4,50 %	
	Gjennomsnitt	Maks	Gjennomsnitt	Maks	Gjennomsnitt	Maks
Saltinnhold i vannfasen (%)	0,08	0,09	1,25	1,32	3,88	4,36

4.1.1 Vektendring under salting

Under salteprosessen tok loinene opp vann, og vektøkningen er vist i Tabell 4.3. Vannopptaket var størst for loins behandlet i lake med 4,5 % salt, hvor vektøkningen var signifikant høyere ($P < 0,05$) sammenlignet med de to lavere konsentrasjonene. Vektendringen for loins behandlet i ferskvann, og lake med 1,5 % salt ga ikke signifikante forskjeller mellom de to konsentrasjonene ($P > 0,05$).

Tabell 4.3: Vektendring før og etter salting av loins (n=8), representert som gjennomsnitt og standardavvik, gjengitt etter (Blikra, 2018). Verdier med ulik fotnote viser til signifikante forskjeller ($P < 0,05$).

	0 %	1,50 %	4,50 %
Vektendring (%)	8,18 ± 2,55 ¹	10,9 ± 1,21 ¹	23,8 ± 4,88 ²

4.2 Mikrobiologisk analyse

Mikrobiologisk analyse av kimtall og spesifikke fordervelsesbakterier i råstoffet viste forholdsvis lave tall og relativt god kvalitet. Lavest kimtall ble observert for loins behandlet i 1,5 % salt, etterfulgt av 0 og 4,5 % salt, med henholdsvis $2,19 \pm 0,08$, $2,47 \pm 0,16$ og $2,53 \pm 0,03$ log cfu/g. Råstoffet inneholdt få H₂S produserende bakterier, og kun en sort koloni ble observert fra loin behandlet i lake med 4,5 % salt.

Tabell 4.4: Kimtall (gjennomsnitt \pm standardavvik) og sorte kolonier på jernagar. Gjengitt og endret fra (Blikra, 2018).

Parametere	Kimtall (log cfu/g)	Antall sorte kolonier (H ₂ S produserende bakterier)
0 % salt	$2,47 \pm 0,16$	0
1,5 % salt	$2,19 \pm 0,08$	0
4,5 % salt	$2,53 \pm 0,03$	1

4.3 pH måling

pH måling av torsk behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon er representert i Tabell 4.5. Salt reduserte pH'en i muskelen, uten signifikante forskjeller mellom 0 og 1,5 % saltkonsentrasjon i laken. Derimot var loins behandlet i 4,5 % salt signifikant forskjellig fra de to lavere saltkonsentrasjonene. Det ble ikke tatt hensyn til prøvens posisjon i loinen under analysen.

Tabell 4.5: pH (gjennomsnitt og standardavvik) av torskeprøver (n=8) behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon. Verdier med ulik fotnote viser til signifikante forskjeller ($P < 0,05$)

	0 %	1,50 %	4,50 %
pH (n = 8)	$6,27 \pm 0,056^1$	$6,23 \pm 0,016^1$	$6,10 \pm 0,061^2$

4.4 Rest-entalpi målt ved DSC (Differential Scanning Calorimetry)

Temperatur for maksimal denaturering (T_m) og rest-entalpi (ΔH) til proteingrupper hvor myosin og aktin er hovedkomponenten, er oppgitt i Tabell 4.6. De oppgitte verdiene kommer fra integrering av gjennomsnittskurvene illustrert i Figur 8.1, bak i Vedlegget. Overordnet trend viste at rest-entalpi og temperatur for maksimal denaturering ble redusert ved økt saltkonsentrasjon innenfor samme gruppe med rå eller varmebehandlede prøver. Unntaket var aktintoppen i loins behandlet i lake med 1,5 % salt, varmebehandlet ved 150 °C i 5 minutter. I dette tilfellet var rest-entalpien høyere enn det som ble målt for prøver behandlet i ferskvann (0 %).

Sammenligning av rå og varmebehandlede prøver viste at den resterende denatureringsentalpien for myosintoppen ble redusert når varmebelastningen økte. For aktintoppen ble motsatt effekt observert, hvor rest-entalpien økte etter varmebehandling ved alle målte saltparametere. En liten aktintopp ble observert for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, selv ved den høyeste varmebelastningen. Her var rest-entalpien noe høyere enn det som ble målt for rå prøver, men betydelig lavere enn prøver varmebehandlet ved 150 °C i 5 min. Temperatur for maksimal denaturering (T_m) ble forskjøvet oppover ved økende varmebelastning. Dette ble målt for alle saltkonsentrasjoner, med unntak av myosintoppen i prøver behandlet i ferskvann, hvor T_m var noe redusert etter varmebehandling. Topper som var for små til å kunne integreres er merket med stjerne (*) og ligger under deteksjonsgrensen.

Tabell 4.6: Rest-entalpi (ΔH) og temperatur for maksimal denaturering (T_m) for proteingrupper i torsk hvor myosin og aktin er hovedkomponent. ΔH og T_m ble målt for rå og varmebehandlede prøver, behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon. Verdiene kommer fra integrering av gjennomsnittskurver laget fra termogrammer ved samme behandling. Topper som var for små til å kunne integreres er merket med stjerne (*) og ligger under deteksjonsgrensen.

		Salt konsentrasjon	Rest-entalpi (ΔH)		T_m (°C)	
			Myosin (J/g)	Aktin (J/g)	Myosin	Aktin
Rå (n = 8)		0 %	0,65	0,43	45,99	75,29
		1,50 %	0,40	0,36	35,89	71,24
		4,50 %	0,12	0,03	35,45	66,87
Varmebehandlet	150 °C i 5 min (n = 9)	0 %	0,53	0,46	45,22	76,26
		1,50 %	0,20	0,56	38,01	73,04
		4,50 %	0,09	0,16	36,41	69,15
	150 °C i 15 min (n = 6)	4,50 %	*	0,06	*	71,83

Ettersom gjennomsnittskurvene ble integrert, var det ikke mulig å si noe om spredningen i datasettet ut fra disse kurvene. Spredningen ble derfor angitt som høyest og lavest målte verdi i hvert termogram ved samme behandling, og er oppgitt i Tabell 4.7. Topper som var for små til å kunne integreres er merket med stjerne (*) og ligger under deteksjonsgrensen.

Tabell 4.7: Spredning i rest-entalpi (øverst) og temperatur for maksimal denaturering (nederst) for proteingrupper hvor myosin og aktin er hovedkomponent. Spredningen er oppgitt som lavest (min) og høyest (maks) målte verdi, etter integrering av hvert enkelt termogram som ble brukt til å lage gjennomsnittskurver. Verdier merket med stjerne (*) kommer av at toppene var for små til å kunne integreres og ligger under deteksjonsgrensen.

		Salt konsentrasjon	Rest-entalpi (ΔH)			
			Myosin (J/g)		Aktin (J/g)	
			Min	Maks	Min	Maks
Rå (n = 8)		0 %	0,45	0,67	0,29	0,50
		1,50 %	0,23	0,39	0,23	0,45
		4,50 %	0,10	0,15	*	1,30
Varmebehandlet	150 °C, 5 min (n = 9)	0 %	0,23	0,69	0,31	0,45
		1,50 %	*	0,35	0,38	0,57
		4,50 %	*	0,15	*	0,29
	150 °C, 15 min (n = 6)	4,50 %	*	*	*	0,09

		Salt konsentrasjon	Temperatur for maksimal denaturering (T_m)			
			Myosin (°C)		Aktin (°C)	
			Min	Maks	Min	Maks
Rå (n = 8)		0 %	44,99	46,99	74,58	76,12
		1,50 %	35,35	42,5	70,56	72,16
		4,50 %	35,08	36,04	*	67,89
Varmebehandlet	150 °C, 5 min (n = 9)	0 %	44,21	46,46	75,84	76,83
		1,50 %	*	43,24	71,83	73,97
		4,50 %	*	37,53	*	70,67
	150 °C, 15 min (n = 6)	4,50 %	*	*	*	71,67

4.5 Mikrostruktur

Mikrostrukturelle endringer i muskelvev hos torsk, som følger av behandling i lake med ulik saltkonsentrasjon og varmebehandling ved ulik temperatur- og tidskombinasjon er illustrert i Figur 4.1, Figur 4.2 og Figur 4.3. Generelt sett er muskelfiberne farget oransje, og kollagen er farget blå, men noen snitt kan ha tatt opp mer farge enn andre, som har resultert i noen fargeforskjeller. Bildene er valgt ut av mange snitt fra tre biologiske paralleller, for å illustrere typiske varme- og saltinduserte strukturelle endringer i muskelvevet. Det ble observert relativt store individforskjeller, i tillegg til forskjeller i samme prøve. Dersom fargeforskjeller utelukkes fra tolkningen, ble det observert forskjeller i både cellestruktur og hulrom mellom cellene ved ulike saltkonsentrasjoner, varmebelastninger og posisjon i loin.

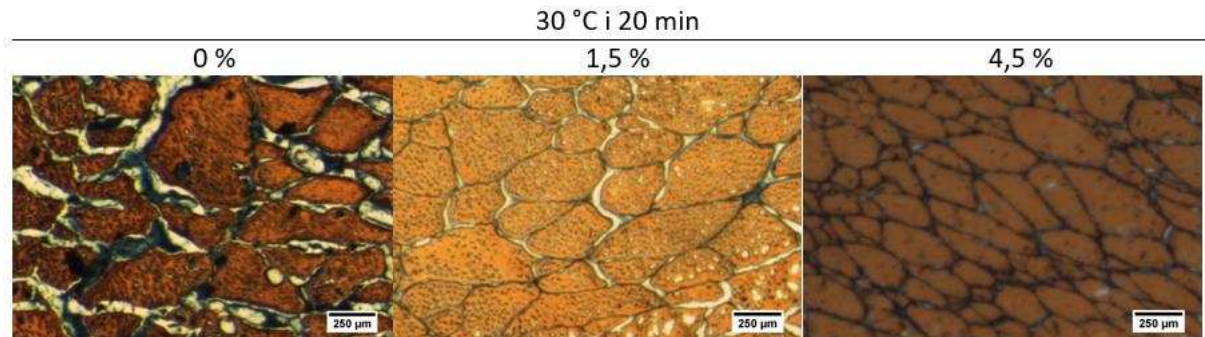
Overordnet trend viste at ytterkanten som er mest varmepåvirket, hadde tydelig større andel hvitt område enn kjernen og posisjonen midt imellom kjernen og ytterkanten. Dette var spesielt tydelig for prøver ovnsbakt ved 150 °C i 5 min, hvor varmen ikke rekker å trenge inn til kjernen, men ytterkanten allerede er fullt påvirket.

Figur 4.1 viser muskelvevet i prøver som ble temperert i et vannbad ved 30 °C i 20 min. Prøver behandlet i ferskvann (0 %) viste større hulrom mellom cellene og område dekket av hvitt. Hulrommet ble redusert etter hvert som saltkonsentrasjonen i prøvene økte. I muskelvev tilsatt salt, kan det se ut som cellene var mer oppblåst og rundere i formen, sammenlignet med strukturen i prøver behandlet i ferskvann.

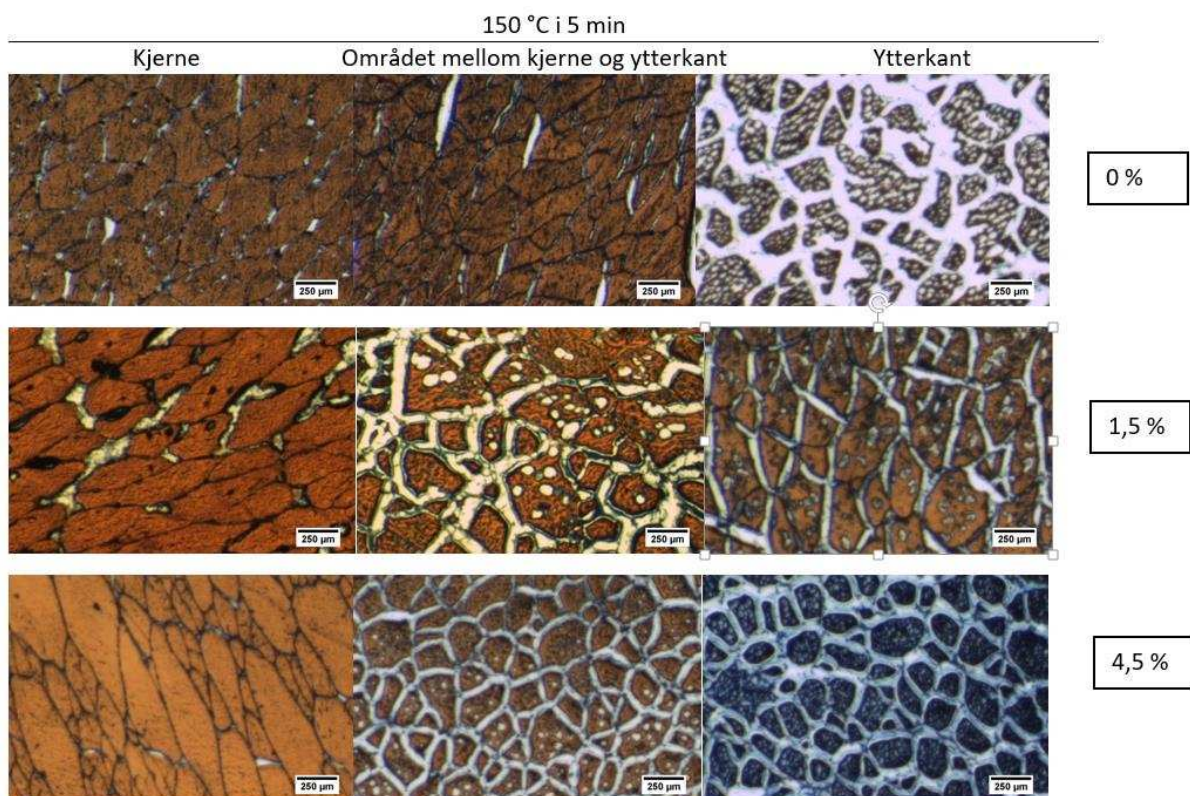
Figur 4.2 illustrerer mikrostrukturelle endringer i muskelvev etter ovnsbaking ved 150 °C i 5 min. Ved alle saltkonsentrasjoner var hulrommet mellom cellene minst i kjerneposisjonen, men økte ut mot ytterkanten som var mest varmepåvirket under ovnsbakingen. Etterhvert som saltinnholdet i prøvene økte, ble forskjeller mellom posisjonene redusert. Prøver behandlet i ferskvann (0 %) viste den største strukturelle forskjellen fra kjernen til ytterkanten, hvor hulrommet var betydelig større enn det som ble observert for prøver tilsatt salt. Cellene i prøver tilsatt salt viste en rundere struktur, som var mest fremtredende for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt. Her beholdes den runde strukturen selv ved prøver fra ytterkanten, som er mest varmepåvirket. Prøver behandlet i lake med de to lavere konsentrasjonene hadde en mer kantete struktur, som også vises igjen i prøver fra kjernen. Granulert materiale var synlig i hulrommet mellom cellene i noen av bildene.

Den høyeste varmebelastningen ved 150 °C i 15 min (Figur 4.3) viser betydelig redusert strukturelle forskjeller mellom posisjonene, i forhold til det som ble observert etter ovnsbaking ved 150 °C i 5 min. Prøver fra kjernen viste relativt store hulrom mellom cellene, som økte noe ut mot ytterkanten. Cellene var generelt mindre, mer kantete og hadde mistet den runde formen som ble observert i Figur 4.2.

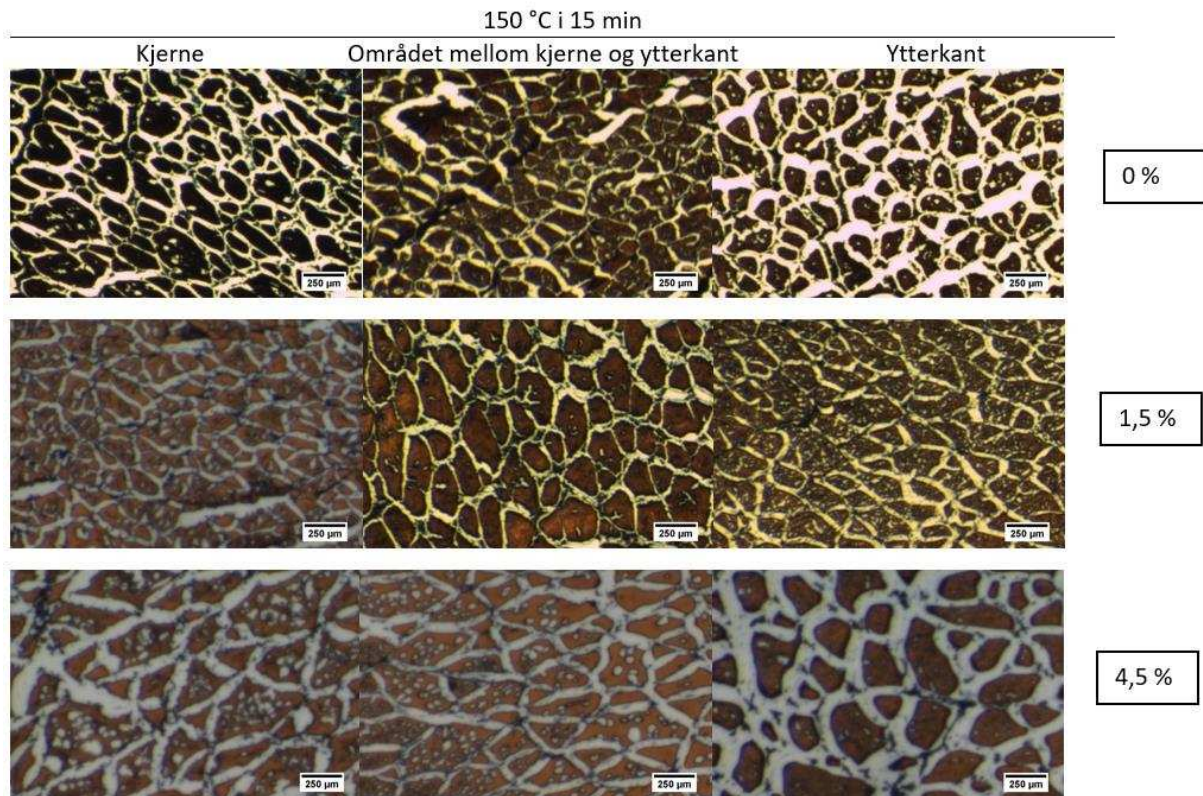
Dette var mest fremtredende for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, som også viste størst hulrom mellom cellene.



Figur 4.1: Mikrostrukturelle endringer i muskelvev hos torsk (uten å skille mellom posisjon), behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon etter temperering ved 30 °C i 20 minutter i et vannbad.



Figur 4.2: Mikrostrukturelle endringer i muskelvev hos torsk etter behandling i lake med ulik saltkonsentrasjon, og ovnsbaking av et torskestykke ved 150 °C i 5 minutter. Bildene representerer mikrostrukturelle endringer i myotomer fra kjernen, ytterkanten og posisjonen mellom kjernen og ytterkanten.

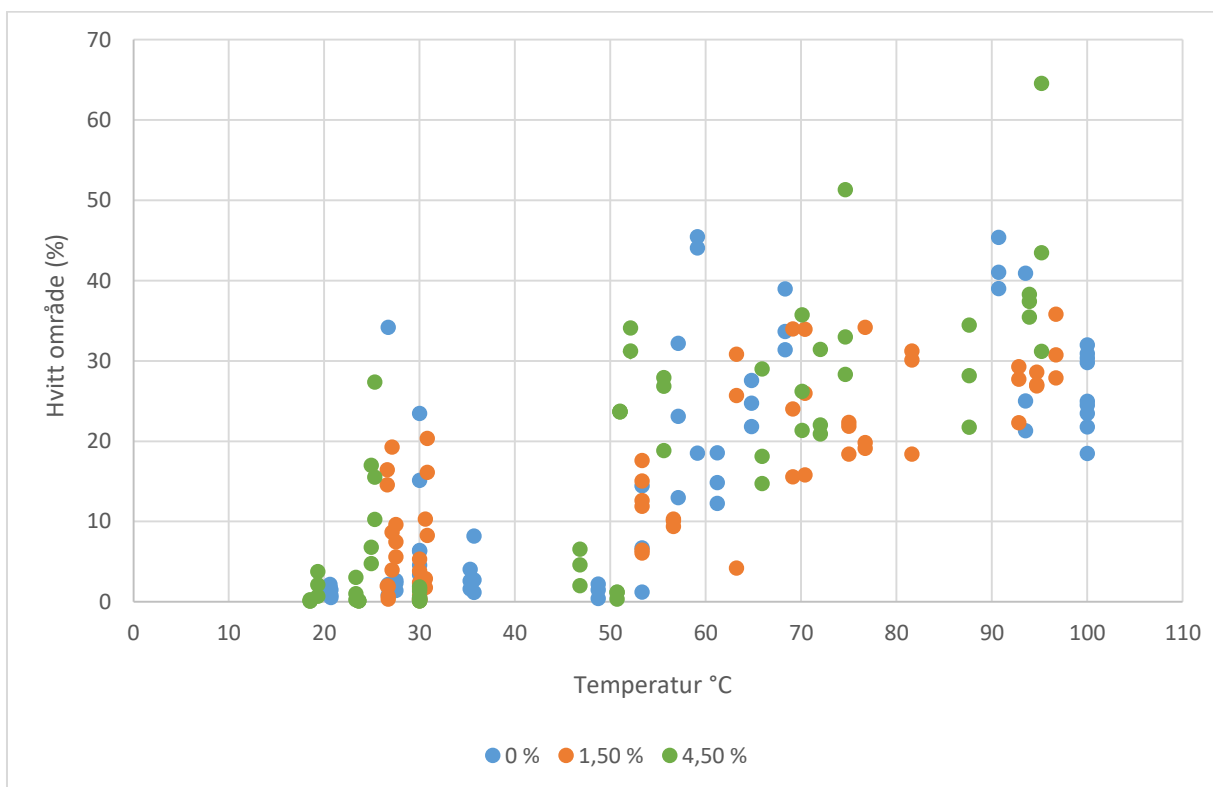


Figur 4.3: Mikrostrukturelle endringer i muskelvev hos torsk etter behandling i lake med ulik saltkonsentrasjon, og ovnsbaking av et torskestykke ved 150 °C i 15 minutter. Bildene representerer mikrostrukturelle endringer i myotomer fra kjernen, ytterkanten og posisjonen mellom kjernen og ytterkanten.

4.5.1 Bildebehandling

Bilder av mikrostrukturen i torsk, behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon og utsatt for ulik varmebelastning ble videre behandlet i ImageJ. Dette var for å undersøke hvor stor andel av hele bilder eller deler av bilder som var dekket av væske eller hulrom (hvitt område). Analysen ble utført på tilsammen 189 områder, som beskrevet i Tabell 3.4. Selv om det var tydelige forskjeller å se på bildene og dette er beskrevet kvalitativt, var det ikke like lett å kvantifisere forskjellene. I Figur 4.4 er andelen hvitt område plottet mot estimert temperatur i prøvene (Tabell 3.3). Estimert temperatur kan variere noe fra den faktiske temperaturen i prøven som forklart i Avsnitt 5.3.1. For prøver fra ytterkanten er andelen hvitt område plottet mot estimert temperatur i ytterkant – 3 mm.

I Figur 4.4 ser vi en tendens til økende andel hvitt område når varmebelastningen øker, men metoden ga for sprikende resultat til at det var mulig å utføre en regresjon på datasettet.



Figur 4.4: Sammenhengen mellom kvantifisert hvitt område (n = 189) og estimert temperatur i prøver etter varmebehandling og behandling i lake med ulik saltkonsentrasjon. Hver prøve ble analysert på tre ulike områder, med til sammen 63 områder per saltkonsentrasjon.

4.6 Vannbindingsevne

4.6.1 Tørrstoff og vanninnhold

Tørrstoff og vanninnhold i torskemuskel saltet ved ulik konsentrasjon er oppgitt i Tabell 4.8. Små variasjoner ble observert ved tilsetting av salt, uten signifikante forskjeller mellom saltkonsentrasjonene. Resultatet ble videre brukt til å regne ut vannbindingsevnen.

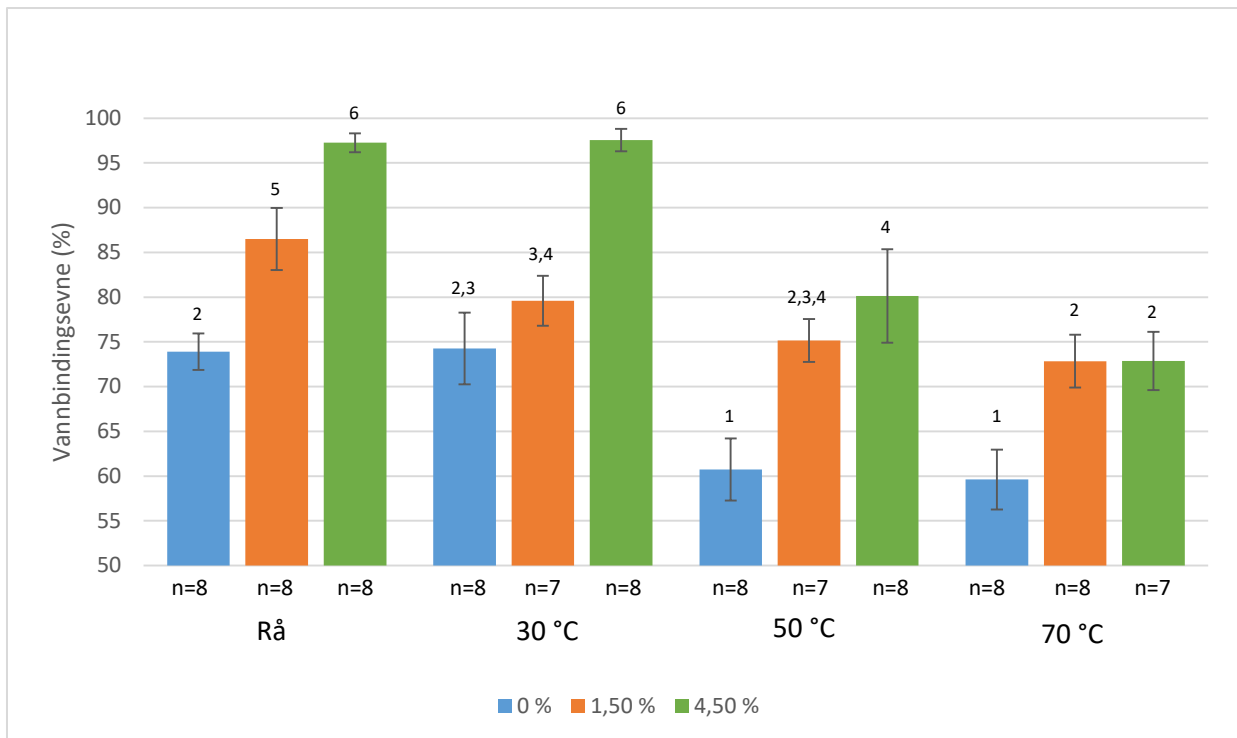
Tabell 4.8: Tørrstoff og vanninnhold (gjennomsnitt og standardavvik) målt gravimetrisk i torskemuskel, behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon. Ingen signifikante forskjeller ble observert mellom gruppene ($p > 0,05$).

	0 %	1,50 %	4,50 %
Tørrstoff % (n = 4)	20,56 ± 0,65	19,89 ± 0,89	21,26 ± 1,51
Vanninnhold % (n = 4)	79,44 ± 0,65	80,11 ± 0,89	78,74 ± 1,51

4.6.2 Vannbindingsevne

Vannbindingsevnen til rå og varmebehandlede prøver, behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon er illustrert i Figur 4.5. Tre statistiske uteliggere ble fjernet fra datasettet, og er merket med $n = 7$ i diagrammet. Utenom disse tre, ble gjennomsnitt og standardavvik regnet ut fra 8 paralleller. Signifikante forskjeller er markert med ulike tall i stolpediagrammet. Overordnet trend viste at salt økte vannbindingsevnen i torskemuskel, og temperaturer over 30 °C resulterte i signifikant nedgang i VBE for alle saltkonsentrasjoner.

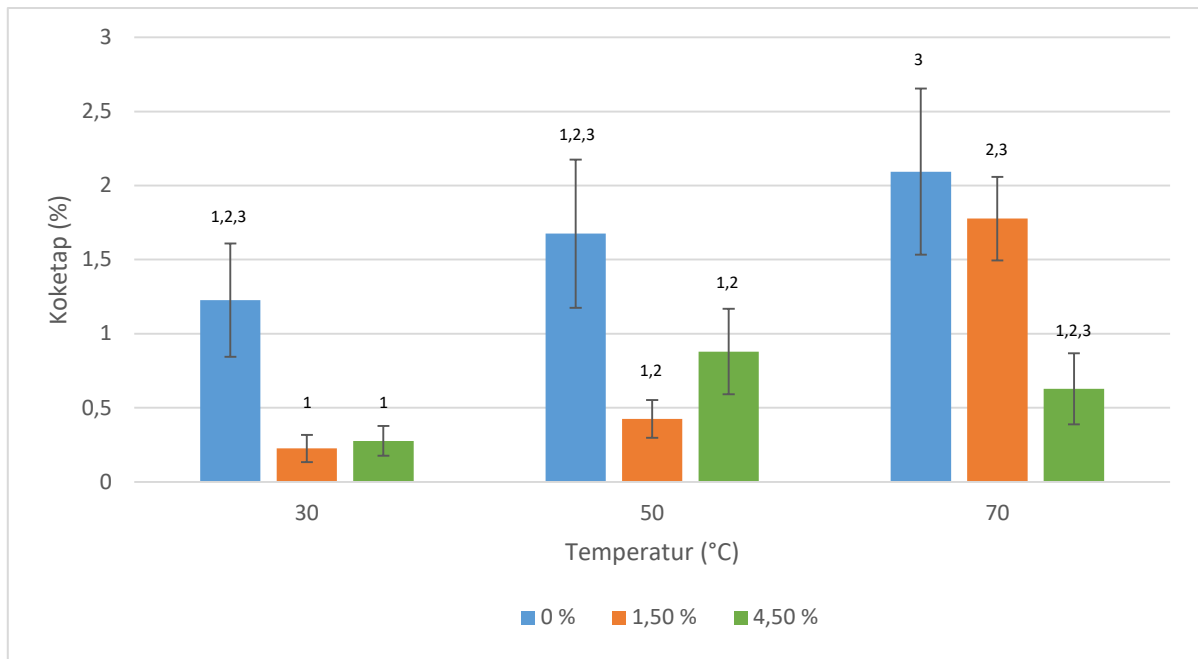
Vannbindingsevnen var relativt stabil frem til temperaturen oversteg 30 °C, med unntak av prøver behandlet i lake med 1,5 % salt, hvor signifikant redusert VBE ble observert etter 30 °C. VBE kom da ned på lignende nivå som prøver behandlet i ferskvann ($P > 0,05$). Størst reduksjon i VBE ble målt når temperaturen oversteg 30 °C, for prøver behandlet i ferskvann og lake med 4,5 % salt. Når temperaturen kom opp i 50 og 70 °C, minsket forskjellene mellom prøver behandlet i lake med 1,5 og 4,5 % salt ($P > 0,05$), men disse viste fremdeles signifikant høyere VBE, sammenlignet med prøver behandlet i ferskvann. Ved alle saltkonsentrasjonene var VBE signifikant forskjellig mellom rå og varmebehandlede prøver ved 50 °C.



Figur 4.5: Vannbindingsevne (gjennomsnitt og standardavvik) i rå og varmebehandlet (10 min) torskemuskel etter behandling i lake med ulik saltkonsentrasjon. Signifikante forskjeller er markert med ulike tall i stolpediagrammet.

4.6.3 Koketap

Under varmebehandling mistet prøvene væske i form av koketap. Store variasjoner mellom prøver med samme saltkonsentrasjon og varmebehandling ble observert, og i Figur 4.6 er gjennomsnittlig koketap oppgitt med standardfeil for god lesbarhet. Overordnet trend viste høyest koketap i prøver behandlet i ferskvann (0 %), og lavere koketap i prøver tilsatt salt. Samtidig økte koketapet i takt med temperaturøkning. Koketapet var generelt lavt i alle undersøkte prøver og maksimalt koketap på 2,1 % ble observert i prøver behandlet i ferskvann etter varmebehandling ved 70 °C i 10 min. Prøver behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon var ikke signifikant forskjellig innenfor samme varmebelastning.



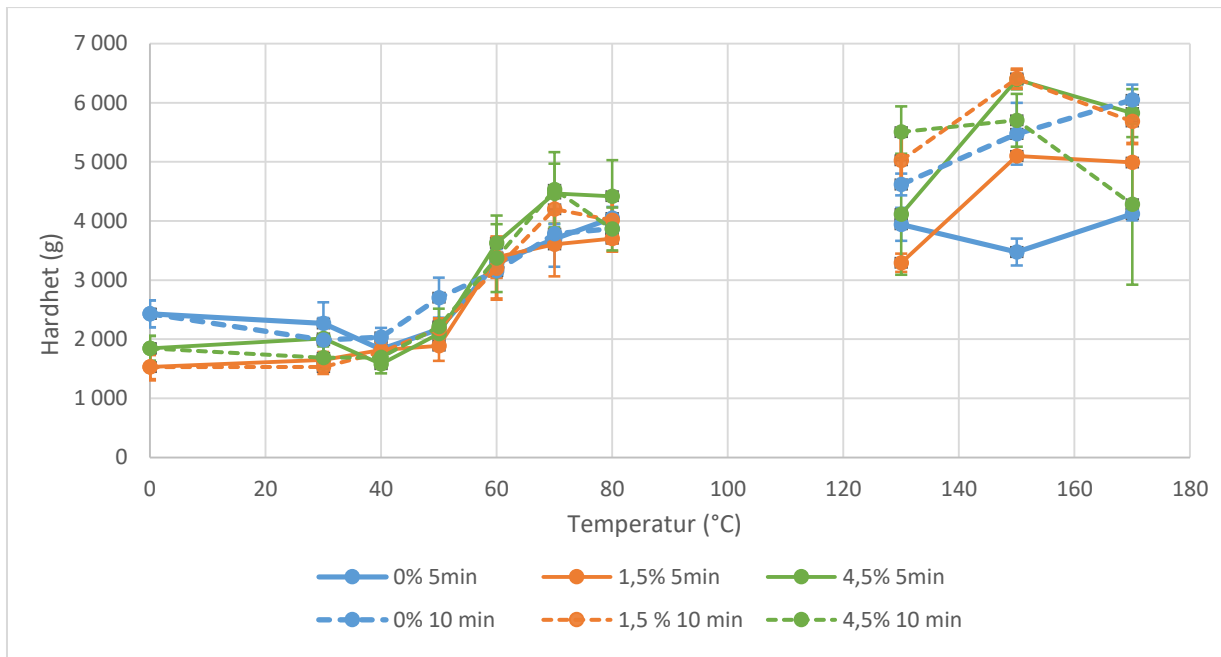
Figur 4.6: Koketap ved varmebehandling (10 min) av prøver behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon. Stolpene representerer gjennomsnittsverdier med standardfeil (n = 8) for god lesbarhet. Signifikante forskjeller er markert med ulike tall i stolpediagrammet.

4.7 Teksturmåling

Teksturdata i form av hardhet fra prøver med ulik saltkonsentrasjon, varmebelastning og ovnsinnstillinger, er oppgitt i Figur 4.7 som gjennomsnitt og standardfeil for god lesbarhet. Den venstre delen av kurven representerer rå og varmebehandlede prøver ovnsbakt ved temperaturer fra 30 – 80 °C, hvor ovnen var innstilt til 100 % luftfuktighet. Den høyre delen av kurven representerer varmebehandlede prøver ovnsbakt ved temperaturer fra 130 – 170 °C, hvor ovnen var innstilt til 0 % luftfuktighet.

Overordnet trend viste at hardheten i prøvene økte med økt varmebelastning over 40 °C. Frem til 40 °C var hardheten nokså stabil med en liten nedgang for noen av saltkonsentrasjonene fra 30 – 40 °C. Toppen ved de lavere temperaturene med dampovn ble nådd ved temperaturer mellom 70 og 80 °C. Hardheten var signifikant forskjellig fra 40 til 80 °C for alle saltkonsentrasjon- og temperaturkombinasjonene. Prøver behandlet i ulik saltkonsentrasjon og utsatt for samme temperatur ved 5 eller 10 min var ikke signifikant forskjellige ved de lavere temperaturene. Prøver behandlet i ferskvann var hardest ved lave temperaturer, men etter hvert som temperaturen økte, ble prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, målt som hardest. Endringen skjedde mellom 50 og 60 °C.

Ved de høyere temperaturene (130 – 150 °C) og tørrovn økte hardheten ytterligere for de fleste behandlingene, samtidig som variasjoner mellom temperaturene ble større. Innenfor samme varmebelastning ble kun prøver behandlet i ferskvann (0 %) og prøver behandlet i lake med 4,5 % salt ved 150 °C i 5 min målt som signifikant forskjellige. Varmebehandlingstid (5 eller 10 min) innenfor samme saltkonsentrasjon ved samme temperatur ga ingen signifikante forskjeller ($P > 0,05$).



Figur 4.7: Teksturdata (gjennomsnitt og standardfeil (SE)) for rå og varmebehandlet torsk, behandlet i lake med tre ulike saltkonsentrasjoner og varmebehandlet ved to ulike tider. Den første delen (til venstre) representerer rå eller varmebehandlet torsk etter ovnbaking ved temperaturer fra 30 – 80 °C. Den andre delen (til høyre) representerer torsk varmebehandlet etter ovnbaking ved temperaturer fra 130 – 170 °C. Ovnsinnstillingene ble satt til henholdsvis 100 og 0 % luftfuktighet.

4.8 Fargemåling

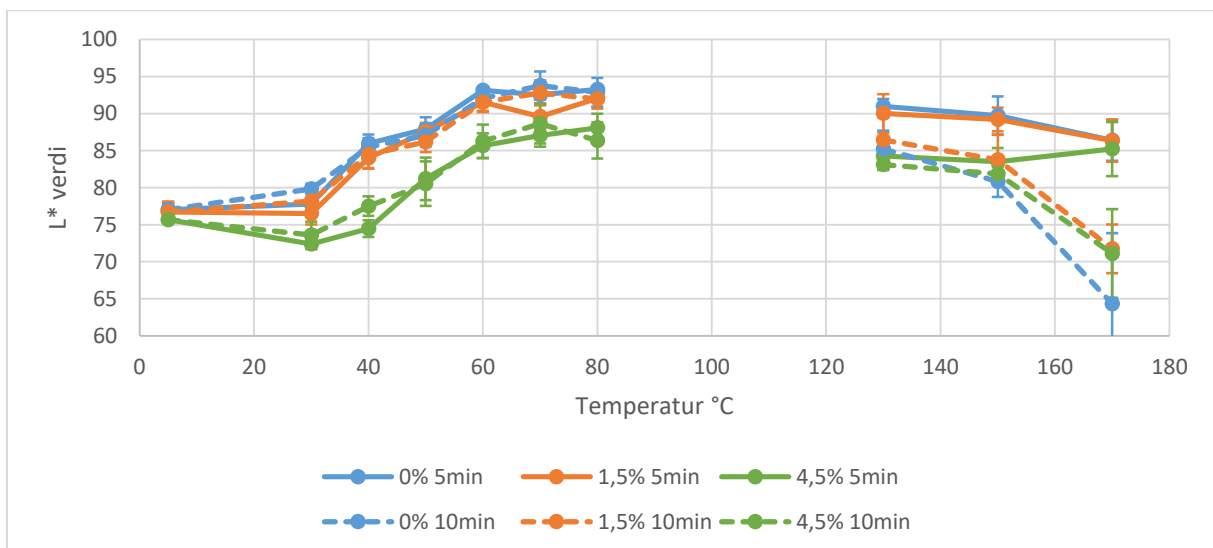
Fargedata (gjennomsnitt og standardavvik) fra prøver behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon og ovnsbakt ved ulik varmebelastning og ovnsinnstillinger, målt som L^* , a^* og b^* er oppgitt i henholdsvis Figur 4.8, Figur 4.9 og Figur 4.10. Standardavvikene var relativt små for alle fargeverdiene, men økte i takt med økt varmebelastning.

L^* verdien som beskriver lysheten i prøvene økte i takt med temperatur fra 30 til 70 °C for alle saltkonsentrasjonene. Prøver behandlet i lake med 4,5 % salt viste kontinuerlig lavere L^* verdier frem til 80 °C, sammenlignet med de lavere konsentrasjonene hvor forskjellene var små. Signifikante

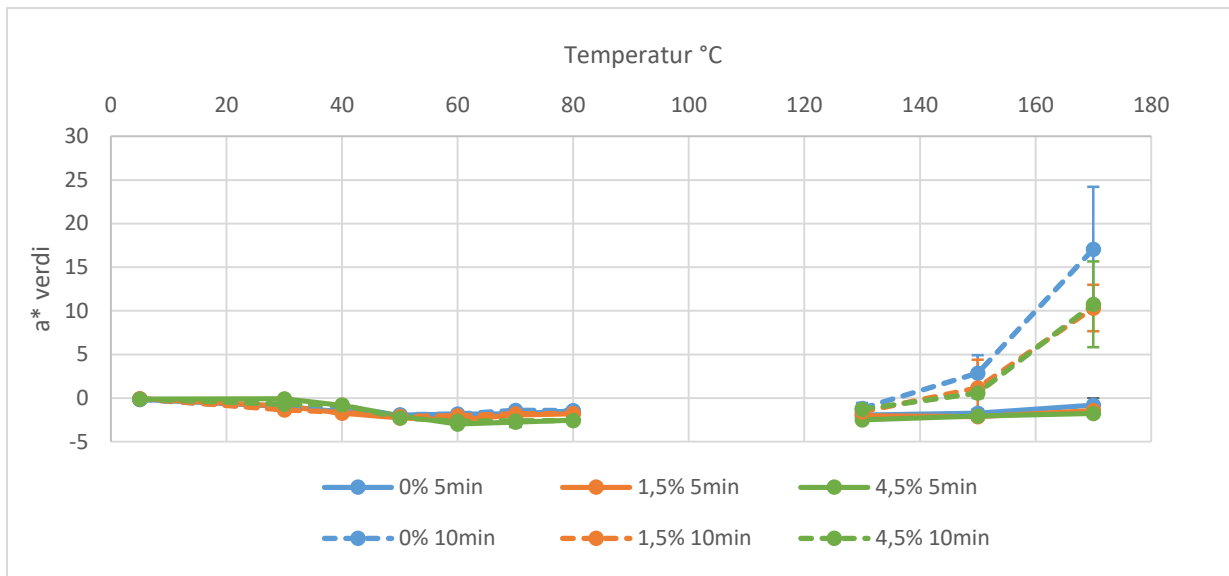
forskjeller mellom prøver behandlet i ferskvann og lake med 4,5 % salt ble målt ved temperaturer fra 30 – 80 °C, etter den samme varmebelastningen. Innenfor samme saltkonsentrasjon var prøver behandlet ved ulike tider ikke signifikant forskjellige. Høyere temperaturer og tørrovn viste en generell nedgang i L* verdier for alle saltkonsentrasjoner, med unntak av prøver behandlet i lake med 4,5 % salt og varmebehandlet i 5 min som økte noe fra 150 til 170 °C. Nedgangen var mest fremtredende for prøver varmebehandlet i 10 min, som var signifikant lavere enn L* verdiene målt etter 5 min ved behandling i samme saltkonsentrasjon.

a* verdien som beskriver rødtonen i prøvene var relativt stabil ved de lavere temperaturene (venstre del av kurven), men viste en liten nedgang fra 40 til 60 °C. Nedgangen var kun signifikant ($P < 0,05$) for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt. a* verdien holdt seg nokså stabil frem til 170 °C ved varmebehandling i 5 min. Ved høy ovnstemperatur på 170 °C, kombinert med en varmebehandlingstid på 10 minutter ble a* verdien signifikant forskjellig fra lavere varmebelastning. Her var prøver behandlet i ferskvann signifikant rødere enn prøver tilsatt salt.

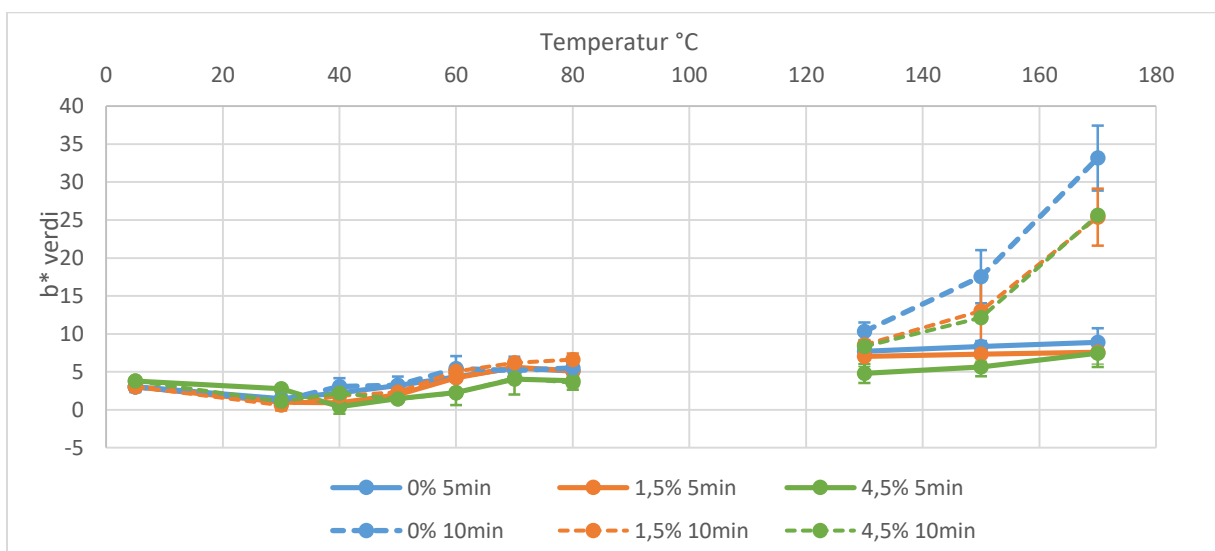
b* verdien holdt seg relativt stabil ved de lavere varmebelastningene, med en liten økning fra 40 til 60 °C. Økningen var imidlertid kun signifikant for prøver behandlet i lake med 1,5 % salt. På samme måte som for a* verdien, ble b* verdien økt betraktelig ved høye temperaturer, kombinert med økt varmebehandlingstid på 10 minutter. b* verdien var signifikant høyere i prøver varmebehandlet ved 170 °C i 10 min sammenlignet med lavere behandlingstid på 5 min.



Figur 4.8: Fargedata (gjennomsnitt og standardavvik) for lyshet (L*) i torsk behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon og utsatt for ulik varmebelastning. Delen av kurven til venstre viser til rå og varmebehandlet prøve fra 30 – 80 °C. Delen av kurven til høyre viser til prøver varmebehandlet ved 130 – 170 °C. Ovnstemp ble innstilt til henholdsvis 100 % og 0 % luftfuktighet.



Figur 4.9: Fargedata (gjennomsnitt og standardavvik) for rødtone (a^*) i torsk behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon og utsatt for ulik varmebelastning. Delen av kurven til venstre viser til rå og varmebehandlet prøve fra 30 – 80 °C. Delen av kurven til høyre viser til prøver varmebehandlet ved 130 – 170 °C. Ovnene ble innstilt til henholdsvis 100 % og 0 % luftfuktighet.



Figur 4.10: Fargedata (gjennomsnitt og standardavvik) for gultone (b^*) i torsk behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon og utsatt for ulik varmebelastning. Delen av kurven til venstre viser til rå og varmebehandlet prøve fra 30 – 80 °C. Delen av kurven til høyre viser til prøver varmebehandlet ved 130 – 170 °C. Ovnene ble innstilt til henholdsvis 100 % og 0 % luftfuktighet.

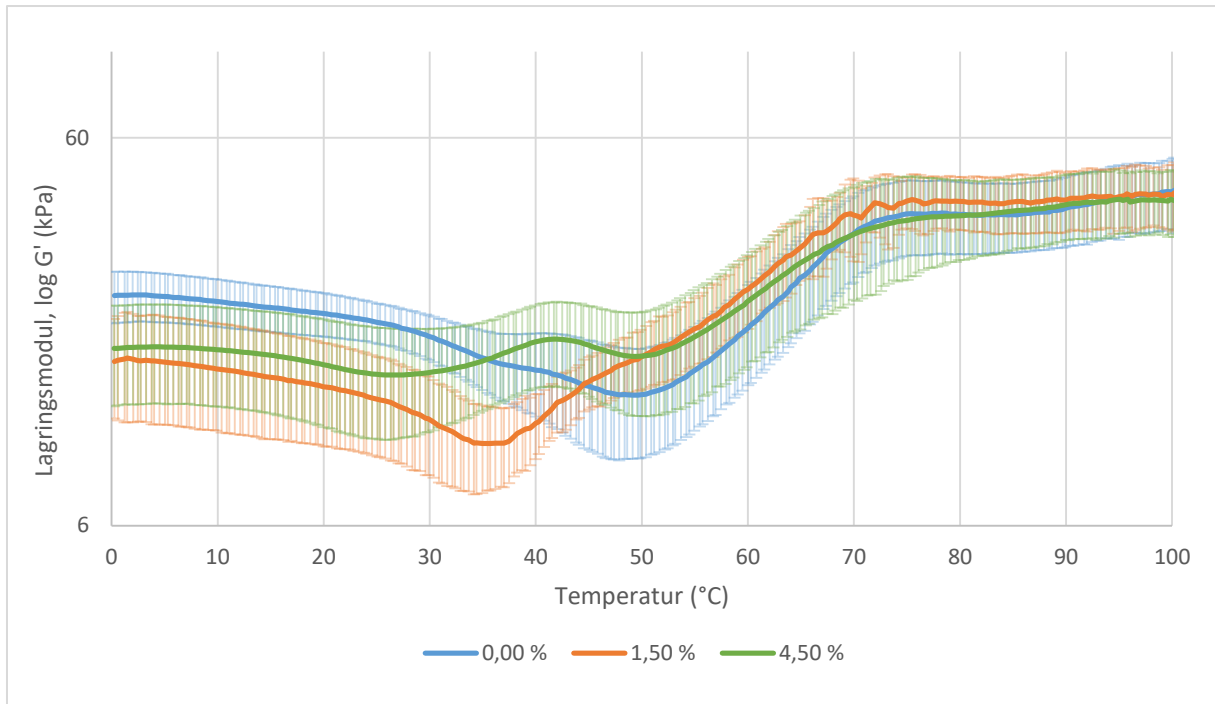
4.9 Reologi

Amplitudeutsalgstesten viste hvilken belastningsprosent som skulle brukes for hver saltkonsentrasjon, med tanke på hvor prøvene var i det lineære viskoelastiske området. Resultatet fra testen er illustrert i Figur 8.4, Figur 8.5 og Figur 8.6 bak i Vedlegget. En belastningsprosent på 0,05, 0,025 og 0,25 % ble benyttet for prøver behandlet i lake med henholdsvis 0, 1,5 og 4,5 % salt.

Viskoelastiske egenskaper i torskemuskel ved ulike saltkonsentrasjoner er illustrert i Figur 4.11, som gjennomsnittlig lagringsmodul (G') med standardavvik ($n = 10$). Overordnet trend viste at lagringsmodulen økte for alle saltkonsentrasjoner når temperaturen gikk fra 0 til 100 °C, som betyr at muskelvevet ble mer elastisk ved økende temperatur. Formen på kurvene med ulike saltkonsentrasjoner var imidlertid ulike.

Prøver behandlet i ferskvann (0 %) startet på $23,5 \pm 5,0$ kPa ved 0 °C, nådde et minimum på $13,0 \pm 4,9$ kPa ved 49 °C og et platå rundt 75 °C hvor G' var på $38,2 \pm 10,0$ kPa. Prøver behandlet i lake med 1,5 % salt startet på $15,9 \pm 4,6$ kPa ved 0 °C, nådde et minimum på $9,7 \pm 2,5$ kPa ved 34 °C og et platå rundt 72 °C hvor G' var på $40,5 \pm 6,5$ kPa. Prøver behandlet i lake med 4,5 % salt startet på $17,2 \pm 3,6$ kPa ved 0 °C, nådde et minimum på $14,7 \pm 2,3$ kPa ved 26 °C, og et lokalt maksimum på $18,2 \pm 4,0$ kPa ved 42 °C, før lagringsmodulen igjen ble redusert og nådde et nytt minimum på $16,4 \pm 4,1$ kPa ved 50 °C, og et platå rundt 76 °C hvor G' var på $37,1 \pm 8,3$ kPa.

For alle saltkonsentrasjonene ble et platå nådd rundt 75 °C, hvor lagringsmodulen holdt seg relativt stabil, med noe økning opp mot 100 °C. Prøver behandlet med silikonolje (for å hindre uttørking ved høy temperatur) viste derimot en reduksjon i G' når platået ble nådd (Figur 8.7, bak i vedlegg).



Figur 4.11: Lagringsmodul (G') til muskelvev fra torsk, behandlet i lake med ulike saltkonsentrasjoner, som en funksjon av temperatur ved en oppvarmingshastighet på $2,5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, oppgitt som gjennomsnitt og standardavvik ($n = 10$).

5 Diskusjon

5.1 Saltinnhold

5.1.1 Utvikling av metode for salteprosessen og bestemmelse av saltinnhold

Målet for salteprosessen var å oppnå lettsaltet torsk med tre ulike saltkonsentrasjoner, henholdsvis fiskens biologiske saltinnhold, samt 1 og 3 % salt. I første omgang ble saltinnholdet målt med Dicromat Rapid Salt Analyser (Leicester), men instrumentet oppga et generelt høyere saltinnhold, sammenlignet med Mettler-Toledo T7 (Zürich, Sveits) som er basert på titrering med sølvklorid. På grunnlag av manglende informasjon om kalibreringsprosedyre for førstnevnte, ble Mettler-Toledo T7 brukt i den endelige analysen av saltinnhold.

Laker med ulike saltkonsentrasjoner ble utprøvd, og det viste seg at henholdsvis 1,5 og 4,5 % ga ønsket konsentrasjon. I litteraturen ble rundt 48 timer beskrevet som passende tidsintervall for å oppnå likevekt mellom lake og muskelvev og ble derfor brukt i den endelige metoden. På forhånd var 24 timers lakebehandling utprøvd som resulterte i større konsentrasjonsforskjeller mellom ytterkant og kjerne.

For å redusere vekst av bakterier i saltlaken, ble laken i første omgang autoklavert i store poser. Da dette var svært tidskrevende ettersom mange poser sprakk, ble metoden endret til å blande den autoklaverte laken med ubehandlet lake i et 1:1 forhold. Laken ble deretter varmebehandlet til kokepunktet og avkjølt. Da det var viktig å beholde individmerkingen av hver enkelt fisk, ble det bestemt at salteprosessen måtte foregå i separate poser. Under saltingen ble kasser med stabler av poser ristet med jevne mellomrom (ettersom sirkulasjon er kjent for å øke diffusjonshastigheten), uten annen sirkulasjon tilstede.

5.1.2 Bestemmelse av saltinnhold

Resultatet fra saltmålingen (Tabell 4.1) stemmete godt overens med målet for salteprosessen som var å oppnå loins med en saltkonsentrasjon som tilsvarte fiskens biologiske saltinnhold, samt 1 og 3 % saltinnhold. Usalta torsk målte et saltinnhold på $0,098 \pm 0,043$ %, som var noe høyere enn det som ble målt for loins behandlet i ferskvann, som var på $0,062 \pm 0,032$ %. Saltinnholdet var derimot ikke signifikant forskjellig ($P > 0,05$) fra hverandre. Resultatet tyder på at noe av fiskens biologiske saltinnhold har trukket ut i vannet under salteprosessen. Det er kjent at salt beveger seg fra høy til lav saltkonsentrasjon (Albarracín et al., 2011), og forskjellen mellom ferskvann og muskelvev har sannsynligvis ført til diffusjon av saltioner ut i laken. Som forventet ble derfor lavest saltkonsentrasjon

målt i ytterkanten av loinen, som er i direkte kontakt med laken. Redusert saltinnhold i torskmuskel ved behandling i ferskvann (fra 116 til 50 mg/100 g) ble også observert av Larsen & Elvevoll (2008).

Ved å øke saltkonsentrasjon i laken, økte samtidig saltinnholdet i muskelvevet, med signifikante forskjeller mellom målt innhold ($P < 0,05$). Høyere konsentrasjonsgradient mellom lake og muskelvev har ført til at mer salt diffunderer inn i muskelvevet. Standardavviket mellom de enkelte loins økte i takt med konsentrasjonen, og individuelle forskjeller mellom prøver kan ha vært utslagsgivende i analyser av både tekstur, vannbindingsevne, reologi og undersøkelse av rest-entalpien. Mulige feilkilder som kan ha resultert i ulik saltinnhold i loins, kan ha vært at noe av saltet ble liggende igjen i posene før saltlaken ble varmebehandlet. Det ble også observert lekkasje i noen av posene under saltingsprosessen som kan ha hatt betydning for saltinnholdet i noen loins.

Signifikante forskjeller mellom midt- og ytre posisjon ble observert for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, men ikke ved de lavere saltkonsentrasjonene. I dette tilfellet var saltinnholdet høyere i ytterkanten av loinene som var i direkte kontakt med laken. Muligens burde saltetiden som var på 48 ± 4 timer, vært økt ytterligere for å forsikre fullstendig likevekt, spesielt ved den lave temperaturen ($0 - 2$ °C). Ifølge Akse et al. (1993) bør temperaturen være over 0 °C gjennom salteprosessen, men holdes lav nok til å kontrollere veksten av bakterier. I tillegg har variasjoner i størrelse på hver loin utvilsomt hatt en innvirkning på diffusjonshastigheten.

5.1.3 Vektendring under salting

Den observerte vektendringen under salting skyldes i hovedsak svelling av myofibriller som øker vannopptaket i muskelen. Det var forventet at vektendringen skulle øke i takt med økt saltkonsentrasjon, da maksimal svelling og vannopptak er gitt å ligge rundt 1 M ($\sim 5,8\%$) (Offer og Trinick, 1983).

Vektendringen til loins behandlet i lake med 0, 1,5 og 4,5 % salt var på henholdsvis $8,18 \pm 2,55$, $10,9 \pm 1,21$ og $23,8 \pm 4,88\%$. Som forventet ble høyest vannopptak observert for loins behandlet i 4,5 % salt, med signifikant vektøkning fra de to lavere saltkonsentrasjonene. Imidlertid ble det ikke observert signifikante forskjeller mellom loins behandlet i 0 og 1,5 % salt ($P > 0,05$). Larsen og Elvevoll (2008) har utført tilsvarende undersøkelser av vektendring i torsk under salting. I deres studie var vannopptaket signifikant høyere i muskelvev behandlet i ferskvann, sammenlignet med vannopptaket i muskelvev hvor saltkonsentrasjonen var på 1 %, som tilskrives det hypoosmotiske miljøet i vannet. Imidlertid ble vannet raskt mistet som drypptap på grunn av lav vannbindingsevne i muskelvev behandlet i ferskvann (Larsen og Elvevoll, 2008).

De samme observasjonene ble gjort i denne studien, hvor vannbindingsevnen var signifikant høyere i prøver behandlet med salt, sammenlignet med prøver behandlet i ferskvann (Figur 4.5). Resultatet viser at vannet holdes bedre på plass i muskelvevet etter tilsetning av salt fordi salt induserer svellig, øker rommet mellom myofibrillene og protein-vann interaksjonen som igjen øker vannbindingsevnen.

5.1.4 Endring i pH nivå som følger av saltinnhold

pH ble redusert ved tilsetning av salt og stemmer overens med observasjonene til Larsen et al. (2008), som rapporterte synkende pH som følge av økende saltkonsentrasjon i torsk. Lav pH kan resultere i denaturering av proteiner (Deng et al., 2002) som kan gi økt gaping, væsketap og endret tekstur (Ofstad et al., 1996). Saltinnholdet har mest sannsynlig hatt større innvirkning på muskelvevet enn pH.

5.1.5 Mikrobiologisk analyse av saltede prøver

Det relativt lave bakterietallet i muskelvevet tyder på god kvalitet i råstoffet. Kun en sort koloni (H_2S produserende bakterie) ble observert, i torsk behandlet med 4,5 % salt. Ifølge Olsson et al. (2007) har villtorsk og oppdrettstorsk ulik mikroflora, med et lavere innhold av spesifikke fordervelsesbakterier i oppdrettstorsken. Det samme ble rapportert av Herland et al. (2007) som ikke observerte spesifikke fordervelsesbakterier i oppdrettstorsk. Imidlertid ble det foreslått av oppdrettstorsk kan ha et høyere innhold av melkesyrebakterier som kan bidra til å redusere pH i muskelen (Olsson et al., 2007). Kimtallet ble ikke redusert ved tilsetning av salt, som kan tyde på at konsentrasjonene var for lave for å hemme veksten av bakterier. I tillegg kan halofile bakterier være årsaken til det observert høyere kimtallet i prøver behandlet i lake med 4,5 % salt. Frysing av prøver frem til analyse kan derimot ha hemmet vekst av bakterier til en viss grad, men det er ikke mulig å si ettersom mikrobiologisk analyse ikke ble utført før frysing av råstoffet.

5.2 Termisk denaturering av muskelproteiner i torsk

5.2.1 Utvikling av metode

Ifølge Deng et al. (2002) har oppvarmingshastigheten ved undersøkelse av termisk denaturering stor betydning for hvordan termogrammene ser ut. Det ble undersøkt hvilken oppvarmingshastighet som ga det beste resultatet. Analyser av rest-entalpi av usalta torsk ble utført ved 1°C/min, 2,5 °C/min, 5 °C/min og 10 °C/min, på bakgrunn av funn i litteraturen, og resultatet er vist i Figur 8.2, bak i vedlegget. Resultatet med best synlige topper ble observert ved en oppvarmingshastighet på 2,5 °C/min og ble

derfor brukt i den endelige metoden. Økende oppvarmingshastighet gir bedre følsomhet og tydeligere topper, men mindre nøyaktighet og omvendt. Ved å redusere oppvarmingshastigheten bedres nøyaktigheten, men følsomheten reduseres og mer støy blir registrert. I tillegg har oppvarmingshastighet mye å si for hvor mange prøver som kan analyseres i løpet av en dag.

Analysene ble i første omgang utført med aluminiumspanner, men disse tålte ikke trykket som oppstod ved den høye temperaturen og væske kom ut av panna under oppvarming. Væsken skapte forstyringer under analysen, og termogrammene var umulig å tolke. Dermed ble det bestemt å endre metoden ved å bruke stålpanner som tålte den høye temperaturen bedre, men samtidig var tyngre.

For å undersøke om toppene kunne bli enda mer synlige ved å fjerne vann fra prøvene, ble prøver behandlet i lake med 0 og 4,5 % salt forsøkt frysetørket. Prøvene inneholdt fortsatt en del vann (etter tørking ved 105 °C i 16 – 18 timer), som var spesielt fremtredende i prøver behandlet med høyest saltkonsentrasjon. Topper i termogrammene ble derimot ikke mer synlige (Figur 8.3) spesielt ikke for prøver behandlet i ferskvann (0 %), hvor myosintoppen var så å si borte. Frysetørking ble derfor ikke brukt i den endelige metoden.

5.2.2 Valg av topper som det ble fokusert på i termogrammene

Tre denatureringstopper ble identifisert i muskelvevet hos torsk, som stemte overens med observasjoner fra litteraturen (Kijowski og Mast, 1988, Wu et al., 1985). Ifølge Skipnes et al (2008) kan toppene tilskrives proteingrupper hvor henholdsvis myosin, sarkoplasmiske proteiner og aktin er hovedkomponentene. Det er lite sannsynlig at kollagen er ansvarlig for noen av toppene, da innholdet i muskelen er bare 3 % (Belitz et al., 2009), kombinert med lite prøvemateriale (ca. 50 mg). Muligens kan kollagen være en del av myosintoppen (Skipnes et al., 2008). Topp nr. 2 som representerte proteingruppen med sarkoplasmiske proteiner som hovedkomponent, ble ikke tatt med i bestemmelse av denatureringsentalpi og temperatur ettersom toppen var såpass liten. I tillegg ble toppen ytterligere redusert når saltkonsentrasjonen økte. Sarkoplasmiske proteiner er løselige i lave saltkonsentrasjoner (Strasburg et al., 2008), og kan ha lekket ut i laken under salteprosessen som dermed ville resultert i en redusert topp for prøver behandlet med 1,5 og 4,5 % salt. Fokuset ble derfor rettet mot myosin- og aktintoppen.

5.2.3 Rå prøver

Prøver behandlet i ferskvann viste en denatureringstemperatur for myosin og aktin på henholdsvis 46,0 og 75,3 °C. Resultatet stemmer godt overens med observasjonene til Bjørnstad, Meling og

Shamirian (2018) som ble målt til henholdsvis 47 og 76 °C. Skipnes et al. (2008) har rapportert en denatureringstemperatur på henholdsvis $44,1 \pm 0,2$ og $76,1 \pm 0,7$ °C for rå oppdrettstorsk, som kan tyde på at proteinene endres lite av lakebehandling i ferskvann.

Denatureringsentalpi og temperatur i rå prøver ble i alle tilfeller redusert i takt med økt saltkonsentrasjon i prøvene. Resultatet samsvarer med observasjoner fra litteraturen som beskriver at salt reduserer varmestabiliteten til muskelproteiner som en funksjon av konsentrasjon (Chen, 1995, Kijowski og Mast, 1988, Poulter et al., 1985, Thorarinsdottir et al., 2002, Weinberg et al., 1984, Wu et al., 1985). Denatureringstemperaturen hos myosin viste lite variasjon når prøvene var behandlet med 1,5 og 4,5 % salt og gikk fra henholdsvis 35,9 til 35,5 °C. Resultatet er nok ikke tilfeldige ettersom Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018) observerte samme resultat, hvor denatureringstemperaturen ble på 36 °C ved begge saltkonsentrasjonene. Ifølge Thorarinsdottir et al. (2002a) ble denatureringstoppene lavere og bredere etter tilsetning av salt, som gjorde det vanskeligere å skille mellom myosintoppen og toppen som tilsvarte denaturering av sarkoplasmiske proteiner. Samme observasjoner ble gjort i denne studien og skyldes sannsynligvis delvis denaturering av myosin, samtidig som noe av de sarkoplasmiske proteinene kan ha lekket ut i laken under salteprosessen.

5.2.4 Prøver ovnsbakt ved 150 °C i 5 min

Generelt sett, ble denatureringsentalpien i varmebehandlet torsk redusert etter varmebehandling, sammenlignet med rå prøver. Nedgangen var mest fremtredende for myosin, som viser lavere stabilitet overfor varme, sammenlignet med aktin (Duerr og Dyer, 1952). Imidlertid økte denatureringsentalpien hos aktin i varmebehandlet prøve behandlet med 1,5 og 4,5 % salt, sammenlignet med rå prøve. Dette kan også sees i gjennomsnittskurvene bak i vedlegget (Figur 8.1) hvor aktintoppen ble større etter varmebehandling. Årsaken er ukjent, men sannsynligvis kan det skyldes individvariasjoner, i tillegg til at temperaturen i kjernen ikke var høy nok til å denaturere aktin. Det er vanskelig å kunne sammenligne denatureringsentalpien i denne studien med observasjonene til Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018) etter varmebehandling. Både fordi temperaturen i prøvene varierte som følger av størrelse på ovnsbakt torskestykke (Tabell 3.3), mens Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018) hadde isotherm varmebehandling av prøvene. Men også fordi i deres studie er rest-entalpien basert kun på integrerbare topper, hvor kurver uten topper ikke er tatt med i beregningen av rest-entalpi. Dermed ble det forventet at rest-entalpien skulle være generelt lavere i denne studien, spesielt når saltkonsentrasjonen økte og topper begynte å forsvinne.

Denatureringstemperaturen økte i de alle fleste tilfeller etter varmebehandling, med unntak av myosin i prøver behandlet i ferskvann. Årsaken er at når noe av proteinene denatureres, forskyves T_m mot

høyre og høyere temperatur. Økt denatureringstemperatur etter varmebehandling ble også observert av Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018), etter noen av varmebehandlingene. Ifølge Skipnes et al. (2008) er denatureringstoppen til myosin sterkt redusert ved en varmebehandling på 36 °C i 10 min, og ved temperaturer over dette forsvinner toppen. Den observerte myosintoppen etter varmebehandling av loins behandlet i ferskvann kan tyde på at temperaturen i prøvene ikke har overskridet en varmebelastning som tilsvarer 36 °C i 10 min.

I loins behandlet med 1,5 og 4,5 % salt var myosin- og aktintoppen tilstede i noen prøver, og forsvunnet i andre. Ulik størrelse på fiskestykkene under varmebehandling har gjort at noen prøver har nådd denatureringstemperatur, mens andre ikke har (Tabell 3.3). Sammen med variasjoner i saltinnhold og biologiske variasjoner, kan dette forklare hvorfor toppen forsvinner i noen tilfeller, mens toppen fortsatt er tilstede i andre prøver. Høy saltkonsentrasjon i sammenheng med økt temperatur i prøven vil øke sannsynligheten for at toppen har forsvunnet.

5.2.5 Prøver ovnsbakt ved 150 °C i 15 min

Det ble observert svært varierende termogrammer for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, både for rå og varmebehandlede prøver. Noen termogrammer viste kun myosin- eller aktintopp, begge toppene eller ingen av toppene. Derfor ble ytterligere undersøkelser utført etter varmebehandling ved 150 °C i 15 min, for å undersøke om noen at toppene fortsatt var tilstede.

Resultatet viste at 2 av 6 paralleller fortsatt hadde aktintopp, begge fra samme individ. Estimert temperatur i prøven som viste aktintopp var betydelig lavere (51 °C) enn temperaturen i de to andre prøvene (65,9 og 70,1 °C). Myosintoppen var borte i alle analyserte prøver, og samsvarer med estimert temperatur som ligger over temperaturen for denaturering av myosin. Rest-entalpien til aktin var redusert fra det som ble målt ved varmebehandling i 5 minutter, men noe høyere enn for rå prøve. T_m var videre forskjøvet mot høyre og høyere temperatur, og var nå på 71,83 °C.

5.2.6 Spredning i datasettet

For å kunne si noe om spredningen i datasettet ble termogrammene til hver prøve integrert. Ca. samme start- og slutt punkt ble brukt her som i gjennomsnittkurvene, med noe justering i noen av kurvene. Variasjoner i termogrammene kan ifølge Guzmán-Meza et al. (2017) komme av ulik pH, protein-sammensetning og størrelsen på individet. I tillegg kan observert variasjon i saltkonsentrasjon, spesielt for prøver behandlet med 4,5 % salt, ha vært utslagsgivende ettersom termisk stabilitet reduseres med økt saltkonsentrasjon. Dette er mulige feilkilder som kan være med å forklare

variasjonene i termogrammene fra enkeltprøver som ble observert spesielt for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, men også de lavere saltkonsentrasjonene. I tillegg hadde utvilsomt størrelsen på loinen, da spesielt i forhold til høyden mye å si for den endelige temperaturen i prøven under ovnsbaking, som igjen kan ha resultert i denaturering av proteiner eller ikke.

5.3 Mikrostruktur

Mikrostrukturen i torsk endret seg ved behandling i lake med ulik saltkonsentrasjon, og etter varmebehandling ved ulik varmebelastning. Temperering ved 30 °C i 20 min (Figur 4.1) resulterte i strukturelle forskjeller, hvor hulrommet mellom cellene var størst i prøver behandlet i ferskvann. Ifølge DSC analysen var temperaturen for maksimal denaturering av myosin ikke nådd ved 30 °C. Dermed var det forventet at tempereringen ikke resulterte i store strukturelle endringer i muskelvevet fra rå tilstand, selv om noe myosin kan ha blitt denaturert.

Analyse av vektendring og vannbindingsevne viste at prøver behandlet i ferskvann tok opp en del vann, som ble sluppet i større grad ved påført kraft enn det som ble observert for prøver tilsatt salt. Sannsynligvis er hulrommet mellom cellene større i prøver behandlet i ferskvann, nettopp på grunn av økt mobilitet til vannmolekylene, hvor større mengder er lokalisert i det ekstracellulære området. Hulrommet var betydelig redusert i prøver behandlet i lake med 1,5 og 4,5 % salt, som ble målt til å ha større vannbindingsevne, og dermed større mengder vann med redusert mobilitet, som sannsynligvis er lokalisert intracellulært. Når cellene øker i volum under svelling som følger av tilsatt salt, reduseres hulrommet mellom cellene noe (Sigurgisladottir et al., 2000b, Thorarinsdottir et al., 2011). Trykket som oppstår når cellene øker i volum og inneholder mer vann bidrar sannsynligvis til den observert rundere celleformen for saltede prøver. I tillegg kan fryselagring og innfrysing hatt betydning for det observerte hulrommet (Chen og Pan, 1997, Sigurgisladottir et al. 2000a).

Ved ovnsbaking av et fiskestykke, blir overflaten mest varmepåvirket. Store strukturelle forskjeller mellom ytterkanten og kjernen ved lav varmebehandlingstid i 5 min (Figur 4.2), kommer av store temperaturforskjeller mellom posisjonene som også er oppgitt i Tabellen for estimert temperatur (Tabell 3.3). Ifølge DSC analysen har temperaturen i kjernen ikke vært høy nok til å nå toppunktet (T_m) for denaturering av myosin, slik som i ytterkanten av loinen. De største strukturelle forskjellene mellom kjerne og ytterkant, ble observert for prøver behandlet i ferskvann, som også viste størst hulrom i tempererte prøver. Derfor er det ikke sikkert hulrommene er varmeinduserte, men de kan være et resultat av lakebehandlingen.

Økt hulrom mellom cellene for alle posisjoner etter en økning av varmebehandlingstiden (15 min) (Figur 4.3), kommer av at høyere temperatur har nådd inn mot kjernen. En cellestruktur som var mer kantete i saltede prøver kan skyldes høyere grad av denaturering ved kombinert salt- og temperaturøkning. Dette er sannsynligvis også årsaken til det tilsynelatende største hulrommet mellom cellene i prøver behandlet med 4,5 % salt. Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018) kvantifiserte andelen hvitt område (hulrom) mellom celler etter isoterm varmebehandling (10 min) av det samme råstoffet som ble brukt til analyser i denne oppgaven. Ved lave temperaturer frem til ~ 35 °C, var hulrommet mellom cellene betydelig lavere for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, sammenlignet med lavere saltkonsentrasjon. Når temperaturen kom opp i 40 °C og over, var hulrommet størst for prøver med den høyeste saltkonsentrasjonen. Unntaket var ved 55 °C, og kan skyldes rapportert økning i VBE ved samme temperatur (Bjørnstad, Meling og Shamirian, 2018).

5.3.1 Bildebehandling

Den estimerte temperaturen som ble brukt til å lage punktdiagrammet (Tabell 3.3) kan variere noe fra den faktiske temperaturen i prøven. Det er en viss usikkerhet assosiert med den matematiske modellen som ble brukt, men enda viktigere er usikkerheten i forhold til nøyaktig posisjon av prøven. Det var vanskelig å måle nøyaktig posisjon av prøvene, både fordi myotomene var kjegleformet, men også fordi myotomene varierte noe i tykkelse og etter fryselagring var det ikke kjent hvilken side av prøven som pekte ut eller inn i loinen. Store temperaturforskjeller bare få millimeter fra hverandre var mest gjeldende i ytterkanten, og kan ha variert relativt mye i forhold til estimert temperatur som ble brukt i punktdiagrammet (Figur 4.4). I kjernen og posisjonen mellom kjernen og ytterkanten var temperaturforskjellene mye lavere, med maksimalt et par grader i forskjell ved posisjon ± 3 mm.

Selv om det var en tendens til økende andel hvitt område ved økt varmebelastning, var det ikke mulig å utføre en regresjon på datasettet. Lav sammenhengen mellom estimert temperatur og andel hvitt område tyder på at andre faktorer enn temperatur spiller inn for hulrommet mellom cellene. Når prøvene ble kuttet i 10 μ m tykke snitt, ble det observert hull i noen av snittene som ble påført under kuttingen. Dette var mest fremtredende i prøver behandlet i ferskvann og kan muligens ha kommet av høyere mengde vann i det ekstra-cellulære området og redusert VBE, som kan ha resultert i sprekker ved oppkutting. Synlige store sprekker ble derimot ikke tatt med i analysen av hvitt område. Hulrom kan også ha oppstått under frysing, dersom prøvene ikke ble fullstendig gjennomfrost ved uttak av prøvene. I tillegg kan de store temperaturforskjellene mellom prøve og flytende nitrogen ha ført til sprekker i muskelvevet under innfrysing. Stor variasjon mellom andel hvitt område innenfor samme prøve kan ha sammenheng med hvor på det enkelte myotomet mikrostrukturen ble analysert. Dersom

det var midt i midten av myotomet stemmer den estimerte temperaturen bedre enn dersom det var ut mot kanten, hvor temperaturen sannsynligvis har vært høyere som følger av økt varmepåvirkning. Denne problemstillingen oppstod når prøver måtte analyseres på ny fordi snittet viste langsgående retning av fiberne i stedet for tverrgående retning. Da var allerede midtpunktet av myotomet brukt, og prøver kan ha delvis tint ved klargjøring til første analyse.

5.4 Vannbindingsevne

5.4.1 Tørrstoff

Tørrstoffinnholdet i loins behandlet i lake med ulik saltkonsentrasjon ga ingen signifikante forskjeller i forhold til saltkonsentrasjon i fisken. Observasjonene styrkes av resultatet til Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018) som verken ga signifikante forskjeller mellom saltkonsentrasjonene, eller var signifikant forskjellig fra resultatet i denne studien. Resultatet styrkes ytterligere av andre observasjoner fra litteraturen hvor lakestyrken ikke har ført til signifikante forskjeller i tørrstoffinnhold i lettsaltet torsk (Larsen og Elvevoll, 2008, Larsen et al., 2008, Larsen et al., 2007).

5.4.2 Vannbindingsevne

Ifølge Offer et al. (1989) øker vannbindingsevnen når myofibrillene sveller fordi mer vann kan immobiliseres i proteinstrukturen. Salt er kjent for å indusere svelling og som forventet økte VBE i takt med økt saltkonsentrasjon. Stabil VBE frem til 30 °C skyldes få strukturelle endringer i muskelvevet som ble observert under DSC, tekstur og fargeanalysen. Forskjellen i VBE mellom loins behandlet i lake med 1,5 og 4,5 % salt ble imidlertid redusert når temperaturen økte fra 30 til 50 °C og over, og det ikke lengre ble observert signifikante forskjeller mellom de to saltkonsentrasjonene. Sannsynligvis skyldtes det at den høye temperaturen denaturerer proteiner i muskelvevet, og forskjellen mellom de to saltkonsentrasjonene var av mindre betydning ved høyere temperatur. Derimot var tilstedeværelsen av salt over biologisk saltinnhold, viktig for å øke VBE også ved høye temperaturer. Signifikante forskjeller ble observert mellom prøver behandlet i ferskvann og prøver behandlet i salt selv når temperaturen i prøven var ved 70 °C. Etter varmebehandling ved 70 °C i 10 minutter ble VBE i saltet loins målt til ca. samme nivå som usaltet prøver i rå tilstand.

Ofstad et al. (1996) rapporterte nesten konstant væsketap hos torsk frem til temperaturen nådde 30 °C, og stemmer overens med resultatet i denne studien, men unntak av prøver behandlet i lake med 1,5 % salt. Redusert VBE fra 30 til 50 °C skyldes mest sannsynlig denaturering av myosin og muligens også kollagen. Ifølge DSC analysene ble myosin denaturert ved en temperatur fra 35,45 til 45,99 °C, og

stemmer godt overens med den observerte reduksjonen i VBE. Når proteiner denatureres, reduseres deres interaksjoner med vannmolekyler og mobiliteten økes (Provost et al., 2016). Observasjonene stemmer overens med resultater rapportert av Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018), som også observerte redusert VBE for alle saltkonsentrasjonene når temperaturen ble økt fra 30 til 50 °C. Deres resultater viser en økning i VBE når temperaturen ble økt fra 50 til 55 °C (Bjørnstad, Meling og Shamirian, 2018). Lignende resultater er også rapportert av Skipnes (2011).

Selv om vannopptaket under lakebehandling var relativt likt mellom loins behandlet i ferskvann og lake med 1,5 % salt, viser resultatet at vannet holdes bedre på plass i sistnevnte. Lavere VBE i torsk behandlet i ferskvann ble også observert av Larsen og Elvevoll (2008), som foreslår at det kan skyldes fortykning av biologisk saltinnhold som kan redusere elektrostatiske frastøttingskrefter i muskelfibrene. Signifikante forskjeller i VBE mellom prøver behandlet i lake med 0 og 1,5 % salt, ble observert ved alle varmebelastninger og rå prøver, med unntak av varmebehandling ved 30 °C. Årsaken til redusert VBE for prøver behandlet med 1,5 % salt er ukjent, men kan komme av individforskjeller, variasjoner i saltkonsentrasjon, denaturering under frysing, feil ved innveiling eller at større mengder myosin ble denaturert rundt 30 °C. Den samme nedgangen ved 30 °C for prøver behandlet i 1,5 % salt ble imidlertid ikke observert av Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018).

Analyser av noen prøver resulterte i lekkasje, hvor vann kom inn i koppene under varmebehandling. Dermed varierte antall biologiske paralleller som ble brukt til ulike saltkonsentrasjon- og temperaturkombinasjoner. Bruk av flere biologiske paralleller resulterte derimot ikke i høyere standardavvik, som kan tyde på at biologiske variasjoner ikke var utslagsgivende i forhold til VBE. Totalt antall paralleller ble holdt konstant.

5.4.3 Koketap

Resultatet i Figur 4.6 åpnet for spørsmålet om det faktisk var et målbart koketap eller om resultatet var delvis tilfeldig på grunn av svakheter med metoden. Koketapet var såpass nær deteksjonsgrensa at små feil kan ha resultert i store variasjoner mellom parallellene, som delvis kan ha vært årsaken til høy standardfeil. Dersom noe av koketapet har blitt værende i kanter på filteret eller analysekopp kan det være en forklaring på hvorfor resultatet ikke var representativt.

Koketapet var generelt lavt for alle analyserte prøver, og samsvarer med resultatet til Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018). Høy standardfeil gjør det vanskelig å si med sikkerhet hvordan koketapet påvirkes av saltkonsentrasjon og økning i temperaturen. Da det ikke ble observert signifikante forskjeller mellom ulik saltkonsentrasjon ved samme varmebehandling, kan det tyde på at temperatur er mer avgjørende for koketap, enn saltkonsentrasjon. Derimot er det kjent fra litteraturen, og fra

analysen av vannbindingsevne at salt bedrer muskelvevets evne til å holde på vann fordi saltet induserer svelling og øker protein-vann interaksjon. Dette forventes også i forhold til koketap, men for å konstatere hvorvidt salt faktisk reduserer koketap, burde videre undersøkelser blitt utført, med forbedringer av metoden.

5.5 Tekstur

Målet for teksturanalysen var å undersøke hvordan teksturen endret seg under ovnsbaking av torsk. De lavere temperaturene skulle representere endringer i kjernen, mens de høye temperaturene skulle representere skorpedannelse i ytterkanten av et torskestykke. Ovnen ble stilt til henholdsvis 100 og 0 % fuktighet ved dampprogram og tørrovn. Selv om relativ fuktigheten ikke ble videre undersøkt, kan det antas at ovnen var såpass fuktig ved dampprogram at temperaturovergangen til prøvene skjedde hurtig. Blikra (upublisert arbeid) undersøkte varmeoverføringen fra ovn til 30 mm diameter torskeprøver i samme ovn som er brukt i denne oppgaven. Resultatet viste at varmeoverføringen fra ovn til prøve var hurtig, og samme temperatur som var målt i ovn ble nådd i prøvene innen 100 sekunder men vanligvis enda hurtigere. Ved å redusere fuktigheten i ovnen fra 100 til 70 %, ble samtidig varmeoverføringen redusert betraktelig. Ved bruk av tørrovn (0 % fuktighet) var temperaturen i prøven ved ingen tilfeller den samme som ovnen, uavhengig av varmebehandlingstid. Den samme temperaturovergangen forventes å ha vært tilfellet her ettersom samme ovn, ovnsinnstillinger (100 og 0 %), temperaturintervaller og størrelse på fiskeprøver ble brukt.

Som forventet ble det observert store standardavvik (som i dette tilfellet er oppgitt som standardfeil for god lesbarhet) i datasettet, som kan ha sammenheng med individvariasjon, størrelsen på fisken, posisjon i forhold til hode/hale region, samt varierende saltkonsentrasjon i prøvene. Thorarinsdottir et al. (2002b) observerte teksturforskjeller i ulike deler av torskefilet, hvor en generell økt hardhet ble målt i hoderegionen, sammenlignet med haleregionen. Samme trend ble observert i denne studien, hvor prøver fra hoderegionen i de alle fleste tilfeller var hardere enn hoderegionen, uavhengig av varmebehandling og saltkonsentrasjon. Det ble imidlertid ikke observert stor sammenheng mellom størrelsen på fisken og målt hardhet, som kan skyldes relativt lik størrelse på alle individene. I tillegg kan variasjoner i myotomens orientering ha stor betydning og resultere i stort standardavvik (Skipnes, 2011), som i dette tilfellet ikke ble standardisert. I stedet ble standardisert størrelse og form på prøven prioritert, som er viktig for å oppnå reproducerbare resultater (Bourne, 2004).

Den observert økende hardheten i prøvene ved økt temperatur skyldes mest sannsynlig denaturering av proteiner og tap av vann (Lin et al., 2012). Startpunktet for økende hardhet ligger mellom 40 og 50 °C, som samsvarer med temperaturer hvor denaturering av myosin forekommer ifølge DSC analysen. I

tillegg samsvarer den økende hardheten med hvor vannbindingsevnen ble mest redusert. Et platå ble nådd rundt 70 – 80 °C som var området hvor aktin ble denaturert. Muskelvevet har da gjennomført de største strukturelle endringene og er sannsynligvis årsaken til at muskelen ikke ble målt som hardere etter dette. Ved de høyere temperaturene mellom 130 – 170 °C, var det en del variasjon i resultatet, og generelt sett ble hardheten økt ytterligere. Det ble observert høy grad av uttørking og skorpedannelse ved de høye temperaturene som sannsynligvis er årsaken til økt hardhet i prøvene.

Ved de høye temperaturene var hardheten i noen av prøvene over deteksjonsgrensen (~ 6500 g) for vektcellen som ble benyttet, men datapunktene ble likevel tatt med i resultatet. Teksturanalyse med en 50 kg vektcelle ga unøyaktige resultater og ble derfor ikke brukt.

Ved lave temperaturer viste saltede prøver en mykere tekstur, sammenlignet med prøver behandlet i ferskvann. Resultatet stemmer overens med hva Martínez-Alvarez og Gómez-Guillén (2005) beskrev, at lave saltkonsentrasjoner gjør muskelvevet mykt, sannsynligvis på grunn av svelling og økt vannbindingsevne og vanninnhold. Etter hvert som temperaturen økte, ble prøver med høyest saltkonsentrasjon målt som hardest. Endringen skjedde rundt 60 °C og fra DSC analysen ble det bekreftet at salt i kombinasjon med økt temperatur reduserte stabiliteten til proteinene som dermed resulterte i økt denaturering og dehydrering av muskelvevet.

Lave ovnstemperaturer resulterte i små endringer i hardheten ved de to tidene som ble brukt i analysen. Større endringer i hardhet ble observert mellom de to tidene etter hvert som høyere temperatur ble brukt i tørrovn. Ulik behandlingstid resulterte imidlertid ikke i signifikante forskjeller.

Resultatet kan tyde på at ved ovsbaking av et fiskestykke, blir teksturen i ytterkanten hardere enn i kjernen både fordi temperaturen er høyest her som resulterer i høyere grad av denaturering, men også fordi mindre vann er tilstede på grunn av uttørking. I tillegg vil sannsynligvis salt gjøre muskelvevet mykere frem til en viss temperatur (som i dette tilfellet var rundt 60 °C), men økt saltinnhold i kombinasjon med økt temperatur resulterte i høyere grad av denaturering og økt hardhet i fiskestykket.

5.6 Farge

På samme måte som for teksturanalysen, var målet med fargeanalysen å undersøke hvordan fargen endret seg under ovnbaking av torsk. De lavere temperaturene skulle representere endringer i kjernen, mens de høye temperaturene skulle representere skorpedannelse i ytterkanten av et torskestykke.

Økt lyshet (L^*) i varmebehandlede prøver ble observert når temperaturen oversteg 30 °C og stemmer overens med observasjonene til Skipnes et al. (2011). En økning i lyshet skyldes denaturering av proteiner (Nakamura et al., 2011, Xia et al., 2017, Yu et al., 2014) som ifølge DSC analysen startet rundt 35 °C for myosin. L^* verdien økte i takt med temperaturen frem til platå ble nådd mellom 60 – 80 °C, som var området hvor aktin ble denaturert. L^* verdien var konsekvent lavere for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, som også ble rapportert for laks (Kong et al., 2007) og biff (Baublits et al., 2006). Baublits et al. (2006) foreslo at lavere L^* verdier etter tilsetning av salt, kunne skyldes økt vannbindingsevne i muskelvevet. Høyest vannbindingsevne ble i denne studien målt ved samme saltkonsentrasjon som ga de laveste L^* verdiene, og dermed støtter disse funnene påstanden.

Ved de høyere temperaturene i tørrovn, ble L^* verdien generelt redusert som følger av uttørking og dannelse av brunlig skorpe som skyldes Maillard reaksjonen (Llave et al., 2014, Martins et al., 2000, Yu et al., 2014). Nedgangen var spesielt fremtredende ved 170 °C i 10 min, som kan sees igjen i økt a^* og b^* verdi ved den samme belastningen. Bortsett fra denne varmebelastningen var a^* og b^* verdier generelt stabile, med henholdsvis en lite nedgang og økning ved temperaturer mellom 40 og 60 °C. Lignende observasjoner ble rapportert av Fernandez-Segovia et al. (2003) etter varmebehandling.

5.7 Reologi

Reologisk analyse av prøver behandlet med ulik saltkonsentrasjon, viste en lagringsmodul (G') som varierte med saltkonsentrasjon. G' var i alle tilfeller stabil i starten ved lav temperatur, som samsvarer med observasjonene til Rabeler og Feyissa (2017), utført på kylling. Når myofibrillære proteiner denatureres under varmebehandling, dannes en viskoelastisk gel (Xiong, 1997), og punktet hvor G' reduseres kan si noe om den termiske stabiliteten til proteinene (Kim et al., 2003). Reduksjon og bunnpunktet for G' ved ulik saltkonsentrasjon viste samme trend som for DSC analysen, hvor økt saltkonsentrasjon resulterte i redusert varmestabilitet og endringer skjedde ved lavere temperatur. Prøver behandlet i ferskvann viste størst stabilitet overfor varme og nådde et bunnpunkt rundt 50 °C. Prøver behandlet i 1,5 % salt nådde et bunnpunkt rundt 35 °C som var temperatur for maksimal denaturering av myosin, ifølge DSC analysen. Prøver behandlet i 4,5 % salt viste imidlertid lavest varmestabilitet og en økning i G' skjedde allerede rundt 30 °C. Ved denne temperaturen har sannsynligvis myosin begynt å denaturere og aggregere som har resultert i økt elastisitet i prøvene. Lagringsmodulen i prøver med den høyeste saltkonsentrasjonen skilte seg fra de andre ved at to bunnpunkter ble observert. Resultatet kan muligens ha sammenheng med lokal økning i VBE rundt 55 °C (Bjørnstad, Meling og Shamirian, 2018), som har gjort muskelvevet med viskøst, men bør undersøkes videre. I tillegg kan økt saltkonsentrasjon ha ført til dannelse av sterkere bindinger og en

mer stabil gel. Dersom proteinenes fysiokjemiske egenskaper hadde blitt studert, ville mest sannsynlig resultatet sett annerledes ut for prøver behandlet i 4,5 % salt enn de andre prøvene rundt dette punktet.

Ved videre økning i temperaturen ble prøvene mer elastiske, og stemmer overens med teksturmåling, hvor prøvene ble målt som hardere ved økende temperatur. Et platå med maksimal lagringsmodul ble observert rundt 75 °C for alle saltkonsentrasjoner, som stemmer overens med denatureringstemperaturen for aktin. Ytterligere økning i G' skyldes mest sannsynlig uttørking av prøve ettersom den samme økningen ikke ble observert etter påføring av silikonolje Figur 8.7 som er ment for å hindre uttørking av prøve. Lignende resultater ble også observert under teksturanalysen, hvor hardheten nådde et platå mellom 70 – 80 °C, mens videre temperaturøkning resulterte i hardere prøve som følger av uttørking. For kylling ble et platå nådd rundt 80 °C (Rabeler og Feyissa, 2017), og økning fra 75 til 80 °C (som observert her), har trolig sammenheng med økt varmestabilitet til aktin i kylling i forhold til torsk, ettersom det er kjent at termisk stabilitet ofte gjenspeiler kroppstemperaturen i individet (Poulter et al., 1985).

For prøver behandlet i lake med 1,5 % salt ble det observert en del svingninger rundt 70 °C og kan skyldes oppløsning og dannelser av bindinger som har resultert i ustabil lagringsmodul. Resultatet ble imidlertid ikke observert for alle prøvene. Formen på kurvene, og hvor mye G' ble redusert før den igjen økte, kan muligens ha sammenheng med rest-entalpien som ble målt ved DSC analysen. Større mengder energi måtte til for å denaturere myosin i prøver behandlet med ferskvann, sammenlignet med prøver behandlet i 4,5 % salt. Prøver behandlet med 1,5 % salt lå et sted mellom de to andre. Muligens har det resultert i at prøvene ble i mindre grad viskøse før aggregering av proteiner økte elastisiteten.

5.8 Konsekvenser av varmebehandling og saltkonsentrasjon

Varmebehandling er kjent for å skape mattrygghet ved å inaktivere mikroorganismer (Baldwin, 2012), men påvirker også kvalitetsegenskaper i muskelvevet ved å indusere strukturelle endringer (Skipnes, 2011). I Figur 5.1 er det oppsummert skjematisk hvordan torsken endret seg ved ulike saltkonsentrasjoner og varmebelastning. Temperaturen i prøver hvor mikrostrukturen er representert kan avvike noe i forhold til temperatur presentert i figur.

Før torskprøver ble utsatt for varme, var vannbindingsevnen på sitt høyeste nivå, fargen var gjennomskinnelig og muskelvevet hadde en myk tekstur. Salt økte vannbindingsevnen i takt med konsentrasjon, samtidig som hardheten ble redusert. Hardheten ble imidlertid målt som lavest i prøver

behandlet med 1,5 % salt, som vises igjen i lagringsmodulen (G') hvor økende elastisitet ble målt for prøver behandlet i lake med henholdsvis 1,5, 4,5 og 0 % salt.

Etter temperering ved 30 °C ble få kvalitetsendringer observert. Mikrostrukturen var preget av små hulrom mellom cellene som kan skyldes svelling av kollagen, som beskrevet av (Elvevoll et al., 1996), men hulrommet ble redusert ved økende saltkonsentrasjon, som følger av svelling av muskelfiberne (Offer et al., 1989). Tidligere studier har derimot rapportert at svellingen som forekommer under salting ved lave konsentrasjoner ikke var signifikant (Sigurgisladottir et al., 2000b, Thorarinsdottir et al., 2011). Det mest uventede resultatet som ble funnet var en signifikant nedgang i VBE for prøver behandlet i lake med 1,5 % salt, etter temperering ved 30 °C i 10 min, hvor nedgangen var på ~ 7 %. Årsaken til redusert VBE er ukjent og ble ikke observert for prøver med fiskens biologiske saltinnhold eller høyere saltkonsentrasjon. Redusert VBE ved 30 °C ble derimot ikke observert av Bjørnstad, Meling og Shamirian (2018) som undersøkte det samme råstoffet. Farge og tekstur holdt seg relativt stabil på tvers av saltkonsentrasjon fra 0 – 30 °C, men L^* verdier (lysheten) for prøver behandlet i 4,5 % salt var imidlertid lavere enn det som ble målt for de to lavere saltkonsentrasjonene. Lagringsmodulen var redusert og muskelvevet var mer viskøst ved alle saltkonsentrasjoner ved 30 °C i forhold til rå prøve. Et lokalt bunnpunkt i lagringsmodul for prøver behandlet med 4,5 % salt ble nådd rundt 26 °C, og ved 30 °C hadde G' igjen begynt å øke.

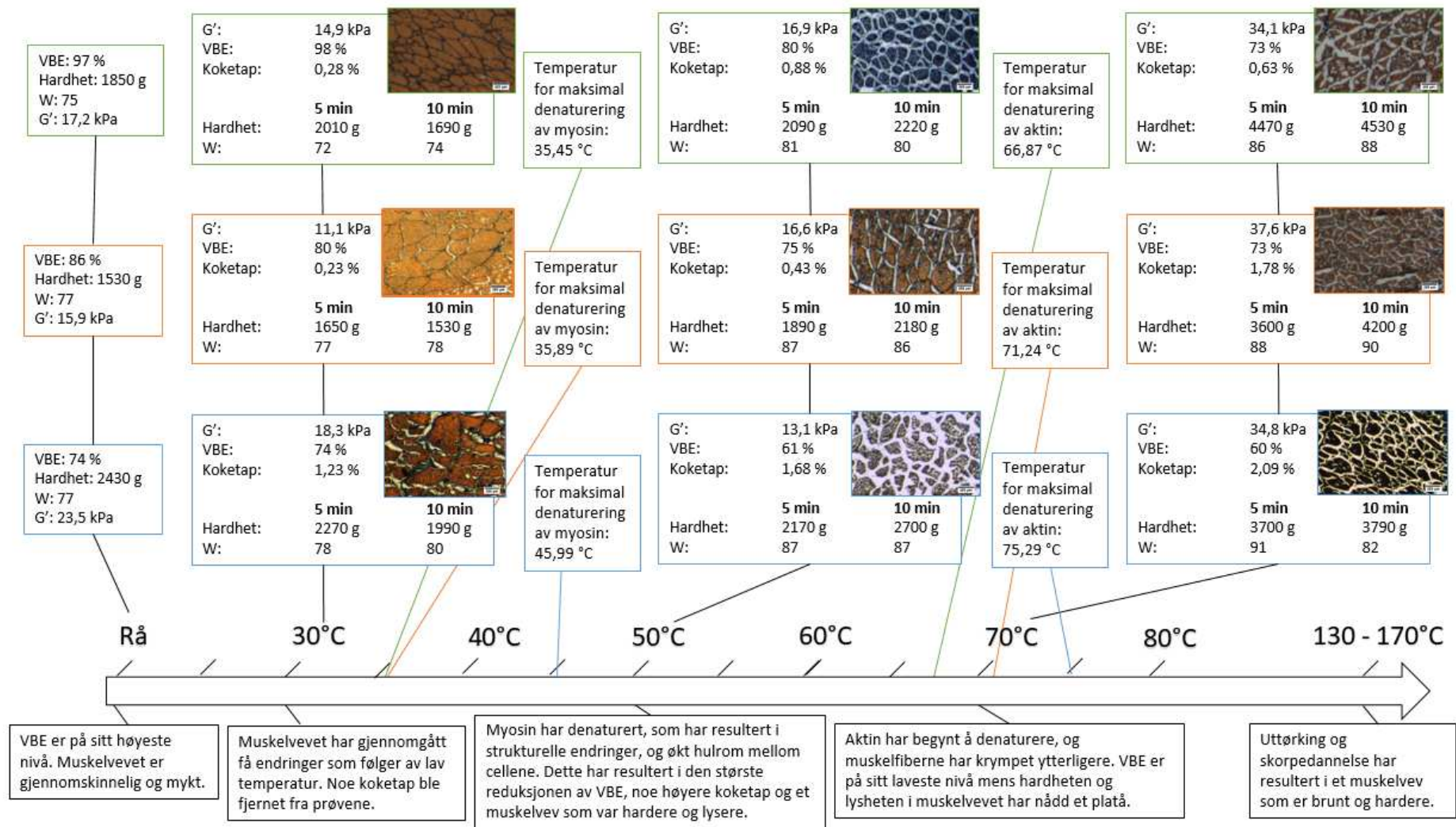
Temperatur for maksimal denaturering (T_m) av myosin ble målt ved temperaturer mellom 35 og 46 °C. Den laveste denatureringstemperaturen ble målt for prøver behandlet med salt, uten noe særlig forskjell mellom prøver behandlet med 1,5 eller 4,5 % salt (henholdsvis 35,45 og 35,89 °C). Myosin i prøver behandlet i ferskvann viste større stabilitet overfor varme, og hadde en denatureringstemperatur som var ~ 10 °C høyere enn saltede prøver. Redusert termisk stabilitet skyldes at salt destabiliserer proteiner og mindre energi kreves for denaturering (Kapittel 2.5.2.1) som gjenspeiles i en lavere restentalpi for saltede prøver. Varmebehandling som resulterte i en makstemperatur på ~ 35 °C (estimert temperatur) resulterte i en forskyvning av T_m mot høyere temperatur, samtidig som rest-entalpien ble redusert. Dette skyldes delvis denaturering av myosin og ble observert for alle saltkonsentrasjoner, med unntak av prøver behandlet i ferskvann som viste en liten nedgang i T_m .

Varmebehandling ved 50 °C resulterte i store kvalitetsendringer som et resultat av myosin denaturering. Mikrostrukturen var preget av krympende muskelfibre og økt ekstracellulært rom som reduserer protein-vann interaksjoner og vannmolekyler får økt mobilitet (Kapittel 2.5.2). Vannbindingsevnen ble sterkt redusert, samtidig som koketapet generelt sett økte. Prøver behandlet med 1,5 % salt viste ikke den samme reduksjonen som de to andre saltkonsentrasjonene ettersom VBE

allerede var redusert ved 30 °C. Saltkonsentrasjon (1,5 eller 4,5 %) hadde ikke lenger stor betydning for VBE og var ikke signifikant forskjellig ($P > 0,05$). Muskelvevet ble hardere for alle saltkonsentrasjoner og økningen startet rundt 40 °C som samsvarer med denatureringstemperaturen av myosin. Fargeforskjeller i lyshet (L^*) mellom prøver behandlet i 4,5 % salt og de to lavere konsentrasjonene ble mer tydelig, hvor førstnevnte viste signifikant mørkere farge enn prøver behandlet i ferskvann og kan ha sammenheng med høyere målt VBE (Baublits et al., 2006). Ved 50 °C var lagringsmodulen høyest for saltede prøver, uavhengig av saltkonsentrasjon, mens prøver behandlet i ferskvann nådde et bunnpunkt og var betydelig mer viskøs. Bunnpunktet for saltede prøver ble målt ved lavere temperatur som mest sannsynlig skyldes ulik varmestabilitet av myosin og samsvarer med resultatene fra DSC-analysen. Ved temperaturer over 50 °C økte lagringsmodulen for alle saltkonsentrasjoner og muskelvevet ble mer elastisk.

Temperatur for maksimal denaturering (T_m) av aktin ble målt ved temperaturer mellom 66 og 75 °C. I likhet med myosin var denatureringstemperaturen for aktin lavest i prøver med høyest saltkonsentrasjon, som også viste den laveste rest-entalpien. Etter varmebehandling hvor prøvene nådde en makstemperatur på ~ 35 °C, ble T_m også forskjøvet for aktin mot en høyere temperatur i likhet med myosin. Rest-entalpien ble i motsetning til myosin økt for alle saltkonsentrasjoner.

Når temperaturen i muskelvevet hos torsk kom opp i 70 °C hadde denatureringen av aktin startet. Mikrostrukturen viste økt hulrom for noen av prøvene. Vannbindingsevnen var på sitt laveste nivå, og var signifikant redusert for prøver behandlet i lake med 4,5 % salt, sammenlignet med målt VBE ved 50 °C. Saltede prøver hadde fremdeles høyere VBE enn prøver behandlet i ferskvann. Hardheten og lysheten i muskelvevet var økt ytterligere og nådd et platå som holdt seg frem til 80 °C. Det samme ble observert for lagringsmodulen som gikk mot et platå mellom 70 – 80 °C. Dette skyldes mest sannsynlig at etter denaturering av aktin er de store strukturelle endringene i muskelvevet gjennomført, som gjør at både farge, tekstur og lagringsmodul stabiliseres. Imidlertid resulterte videre økning i temperatur i at muskelvevet ble hardere, mørkere (brunere) og noe økt lagringsmodul som mest sannsynlig skyldes uttørking og skorpedannelse i prøver under varmebehandling.



Figur 5.1: Skjematisert presentasjon av varme og saltinduserte kvalitetsendringer i muskelvev hos torsk. Blå, oransje og grønn tekstboks viser til kvalitetsendringer etter behandling i lake med henholdsvis 0, 1,5 og 4,5 % salt. VBE = vannbindingsevne, G' = lagringsmodul, W = whiteness (Formel 4).

6 Konklusjon

I denne oppgaven ble varme- og salt-induserte kvalitetsendringer i torsk studert, i form av rest-entalpi under denaturering, mikrostruktur, vannbindingsevne, tekstur, farge og reologi. Hensikten var å undersøke eventuelle forskjeller før og under varmebehandling i muskelvev med og uten salt. På denne måten ble både effekten av salting før varmebehandling, og effekten av varme på usaltet torsk studert. Torskeloins ble behandlet i lake med 0, 1,5 og 4,5 % salt. Lake uten tilsatt salt ga ikke signifikant endring i saltinnhold fra ubehandlet fisk, mens lake med 1,5 og 4,5 % salt resulterte i et gjennomsnittlig saltinnhold på ~ 1 og 3 %.

Salt reduserte varmestabiliteten i muskelproteiner (myosin og aktin), hvor destabilisering av proteinstrukturen resulterte i at lavere energimengder krevdes for denaturering. Temperatur for maksimal denaturering (T_m) av myosin ble målt til 45,99, 35,89 og 35,45 °C og aktin ble målt til 75,29, 71,24 og 66,87 °C etter behandling i lake med henholdsvis 0, 1,5 og 4,5 % salt.

I rå tilstand var vannbindingsevnen på sitt høyeste nivå, og økte i takt med saltkonsentrasjonen. Muskelvevet var mykt og gjennomskinnelig uten signifikante forskjeller i hardhet (g) eller L^* , a^* og b^* verdier for prøver behandlet med ulike saltkonsentrasjoner. Få endringer skjedde etter temperering ved 30 °C i forhold til rå tilstand, men fra denne temperaturen og oppover mot 80 °C var L^* verdier signifikant lavere i prøver behandlet med 4,5 % salt, sammenlignet med 0 % salt. Mikrostrukturen var preget av små hulrom mellom cellene, som ble redusert ved økende saltinnhold på grunn av svelling.

Når temperaturen kom opp i 50 °C, ble relativt store kvalitetsendringer observert som følger av myosin denaturering. Muskelfibre hadde krympet, noe som resulterte i økt hulrom mellom cellene, hvor vann som ble presset ut av cellene fikk økt mobilitet. Økt mobilitet av vannmolekyler resulterte i signifikant redusert vannbindingsevne for alle saltkonsentrasjoner. Denaturering resulterte samtidig i et lysere og hardere muskelvev med økende elastisitet.

Fra rundt 65 °C og oppover ble aktin denaturert i stadig større grad. Rundt 70 °C ble noe mer hulrom mellom cellene observert, samtidig som vannbindingsevnen var på sitt lavest målte nivå. Prøver behandlet med salt (uavhengig av konsentrasjon) viste omtrent samme vannbindingsevne som usaltede prøver (0 %) i rå tilstand. Mellom 70 – 80 °C nådde farge, tekstur og reologidataene et platå som mest sannsynlig skyldes at de store strukturelle endringene nå var gjennomført. Muskelvevet ble signifikant hardere og lysere for alle saltkonsentrasjoner når temperaturen ble økt fra 40 – 80 °C. Videre økning i temperatur resulterte i uttørking, bruning og skorpedannelse hvor muskelvevet ble enda hardere og fikk en mørkere farge som var spesielt fremtredende etter ovnsbaking ved 170 °C i 10

min. I tillegg ble muskelvevet noe mer elastisk når temperaturen gikk fra 80 – 100 °C, som følger av fordamping.

Koketapet som oppstod under varmebehandling var så nært deteksjonsgrensen at resultatet ga en viss usikkerhet. Generelt økte koketapet med økt temperatur, men var ikke signifikant forskjellig mellom prøver med ulikt saltinnhold. Videre undersøkelser omkring koketapets egenskaper, er planlagt i ny masteroppgave til høsten.

For å få en mer komplett forståelse av prosesser som forekommer i muskelvevet under varmebehandling med og uten salt, er det nødvendig med videre forskning. Det ville vært interessant å studere mekanismer omkring varmeindusert krymping, med hovedfokus rettet mot proteiner og det som skjer på molekylært nivå. I tillegg hadde det vært interessant å videreutviklet metoden for mikrostrukturelle undersøkelser for å kvantifisere permeabiliteten. Diffusjonshastighet og mekanismer under salteprosessen ville også vært et interessant tema og gått videre inn på.

7 Referanser

- Abdollahi, M., Rezaei, M., Jafarpour, A. & Undeland, I. 2017. Dynamic rheological, microstructural and physicochemical properties of blend fish protein recovered from kilka (*Clupeonella cultriventris*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) by the pH-shift process or washing-based technology. *Food Chemistry*, 229, 695-709.
- Akse, L., Gundersen, B., Lauritzen, K., Ofstad, R. & Solberg, T. 1993. Saltfisk: saltmodning, utprøving av analysemetoder, misfarget saltfisk. *Tromsø: Fiskeriforskning*, 1-61.
- Albarracín, W., Sánchez, I. C., Grau, R. & Barat, J. M. 2011. Salt in food processing; usage and reduction: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 1329-1336.
- Aliño, M., Grau, R., Fernández-Sánchez, A., Arnold, A. & Barat, J. M. 2010. Influence of brine concentration on swelling pressure of pork meat throughout salting. *Meat Science*, 86, 600-606.
- Andersen, C. M. & Jørgensen, B. M. 2004. On the relation between water pools and water holding capacity in cod muscle. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13, 13-23.
- Aursand, I. G., Gallart-Jornet, L., Erikson, U., Axelson, D. E. & Rustad, T. 2008. Water distribution in brine salted cod (*Gadus morhua*) and salmon (*Salmo salar*): a low-field ¹H NMR study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6252.
- Badii, F. & Howell, N. K. 2002. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 16, 313-319.
- Baldwin, D. E. 2012. Sous vide cooking: A review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 1, 15-30.
- Balevik, S. B., Haugen, T. & Slinde, E. 2005. Kvaliteten på fisk. Boxaspen, K et al. (red.). Bergen: Kyst og havbruk 2005. Fisken og havet. Særnr. 2-2005 pp. 129-131.

- Balevik, S. B & Slinde E. 2004. *Rigor mortis* – dødsstivhet, avgjør kvalitet og økonomisk gevinst. Agnalt, A. L et al (red.) Bergen: Kyst og havbruk 2004. Fisken og havet. Særnr. 3-2004 pp. 48-49.
- Barat, J., Gallart-Jornet, L., Andrés, A., Akse, L., Carlehög, M. & Skjerdal, O. 2006. Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *Journal of Food Engineering*, 73, 9-19.
- Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A. & Fito, P. 2002. Influence of increasing brine concentration in the cod-salting process. *Journal of Food Science*, 67, 1922-1925.
- Bate-Smith, E. C. & Bendall, J. R. 1947. *Rigor mortis* and adenosine-triphosphate. *The Journal of Physiology*, 106, 177-185.
- Baublits, R. T., Pohlman, F. W., Brown, A. H., Yancey, E. J. & Johnson, Z. B. 2006. Impact of muscle type and sodium chloride concentration on the quality, sensory, and instrumental color characteristics of solution enhanced whole-muscle beef. *Meat Science*, 72, 704-712.
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. 2009. Fish, whales, crustaceans, mullusks. *Food Chemistry*. 4. utgave. New York: Springer.
- Bendall, J. R. 1951. The shortening of rabbit muscles during rigor mortis; its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate and to muscular contraction. *The Journal of Physiology*, 114, 71.
- Bertram, H. C., Karlsson, A. H., Rasmussen, M., Pedersen, O. D., Dønstrup, S. & Andersen, H. J. 2001. Origin of multiexponential T₂ relaxation in muscle myowater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3092.
- Bjørnstad, I., Meling, V. A. & Shamirian, H. 2018. Effects of mircostructural changes on liquid loss from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). Stavanger: Bacheloroppgave ved Teknisk-Naturvitenskapelige Fakultet, Universitetet i Stavanger.
- Blikra, M. J. 2018. Metodikk og råstoffdata for torskeforsøk - prøveopparbeiding til forsøk i OPTIMAL II. Rapport 5/2018. Stavanger: Nofima

- Bone, Q. & Moore, R. H. 2008. Swimming. *Biology of fishes*. 3. utgave. New York: Taylor & Francis.
- Bourne, M. 2004. Relation between texture and mastication. *Journal of Texture Studies*, 35, 125-143.
- Bozzetta, E., Pezzolato, M., Cencetti, E., Varello, K., Abramo, F., Mutinelli, F., Ingravalle, F. & Teneggi, E. 2012. Histology as a valid and reliable tool to differentiate fresh from frozen-thawed fish. *Journal of Food Protection*, 75, 1536-41.
- Chen, H. H. 1995. Thermal stability and gel-forming ability of shark muscle as related to ionic strength. *Journal of food science*, 60, 1237-1240.
- Chen, Y. L. & Pan, B. S. 1997. Morphological changes in tilapia muscle following freezing by airblast and liquid nitrogen methods. *International Journal of Food Science & Technology*, 32, 159-168.
- Cheng, J. H., Sun, D. W., Han, Z. & Zeng, X. A. 2014. Texture and structure measurements and analyses for evaluation of fish and fillet freshness quality: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 52-61.
- Deng, Y., Rosenvold, K., Karlsson, A. H., Horn, P., Hedegaard, J., Steffensen, C. L. & Andersen, H. J. 2002. Relationship between thermal denaturation of porcine muscle proteins and water-holding capacity. *Journal of Food Science*, 67, 1642-1647.
- Duerr, J. & Dyer, W. 1952. Proteins in fish muscle. IV. Denaturation by salt. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 8, 325-331.
- Dunajski, E. 1980. Texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies*, 10, 301-318.
- Elvevoll, E. O., Sørensen, N. K., Østerud, B., Ofstad, R. & Martinez, I. 1996. Processing of marine foods. *Meat Science*, 43, 265-275.
- Esaiassen, M., Østli, J., Elvevoll, E. O., Joensen, S., Prytz, K. & Richardsen, R. 2004. Brining of cod fillets: influence on sensory properties and consumers liking. *Food Quality and Preference*, 15, 421-428.

- Esaiassen, M., Østli, J., Joensen, S., Prytz, K., Olsen, J. V., Carlehög, M., Elvevoll, E. O. & Richardsen, R. 2005. Brining of cod fillets: effects of phosphate, salt, glucose, ascorbate and starch on yield, sensory quality and consumers liking. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 641-649.
- Fao. 2005. *National Aquaculture Sector Overview. Norway*. Roma, Italia: FAO Fisheries and Aquaculture department. Tilgjengelig fra:
www.fao.org/fishery/countrysector/naso_norway/en [Lest 18.03.18]
- Fennema, O. R. 2008. Water and ice. I: FENNEMA, O. R. (red.) *Food Chemistry*. 4 utgave. New York: Taylor & Francis Group.
- Fernandez-Segovia, I., Camacho, M., Martinez-Navarrete, N., Escriche, I. & Chiralt, A. 2003. Structure and color changes due to thermal treatments in desalted cod. *Journal of Food Processing and Preservation*, 27, 465-474.
- Guzmán-Meza, M., Segura-Ponce, L., Tabilo-Munizaga, G. & Perez-Won, M. 2017. Development of a mathematical protocol to graphically analyze irreversible changes induced by high pressure treatment in fish muscle proteins. *Journal of Food Engineering*, 215, 134-146.
- Gökoğlu, N. & Yerlikaya, P. 2015. *Seafood chilling, refrigeration and freezing: science and technology*, Hoboken, Wiley.
- Hastings, R. J., Rodger, G. W., Park, R., Matthews, A. D. & Anderson, E. M. 1985. Differential scanning calorimetry of fish muscle: the effect of processing and species variation. *Journal of Food Science*, 50, 503-506.
- Helsedirektoratet 2016. Utviklingen i norsk kosthold 2016. Rapport 12/2016. Oslo: Helsedirektoratet.
- Herland, H., Cooper, M., Esaiassen, M. & Olsen, R. L. 2011. Effects of dietary mineral supplementation on quality of fresh and salt-cured fillets from farmed Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42, 261-267.
- Herland, H., Esaiassen, M. & Olsen, R. L. 2007. Muscle quality and storage stability of farmed cod (*Gadus morhua* L.) compared to wild cod. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 16, 55-66.

- Huff-Lonergan, E. & Lonergan, S. M. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat science*, 71, 194-204.
- Hultin, H. O. 1984. Postmortem biochemistry of meat and fish. *Journal of Chemical Education*, 61, 289-298.
- ISO 2006. ISO 5943, IDF 88. Cheese and processed cheese products - Determination of chloride content - Potentiometric titration method. 4. utgave, International Organization for Standardization.
- Jay, J. M., Loessner, M. L. & Golden D. A., 2005. Modern food microbiology. 7. utgave. New York City (New York): Springer Science+Buisness Media, Inc.
- Jensen, K. N., Guldager, H. S. & Jørgensen, B. M. 2002. Three-way modelling of NMR relaxation profiles from thawed cod muscle. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11, 201-214.
- Jenssen, F. A. 2012. *Torsk : fisken som skapte Norge*. 1. utgave. Oslo: Kagge.
- Joo, S. T., Kauffman, R. G., Laack, R. L. J. M., Lee, S. & Kim, B. C. 1999. Variations in rate of water loss as related to different types of post-rigor porcine musculature during storage. *Journal of Food Science*, 64, 865-868.
- Kajitani, S., Fukuoka, M. & Sakai, N. 2011. Kinetics of thermal denaturation of protein in cured pork meat. *Japan Journal of Food Engineering*, 12, 19-26.
- Kang, I. & Singh, P. 2015. Muscle proteins. I: USTUNOL, Z. (red.) *Applied Food Protein Chemistry*. 1. utgave. West Sussex: Wiley Blackwell.
- Kijowski, J. & Mast, M. 1988. Effect of sodium chloride and phosphates on the thermal properties of chicken meat proteins. *Journal of Food Science*, 53, 367-370.
- Kim, Y. S., Park, J. W. & Choi, Y. J. 2003. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. *Fisheries Science*, 69, 1231-1239.

- Knutsen, H., Jorde, P., André, C. & Stenseth, N. 2003. Fine-scaled geographical population structuring in a highly mobile marine species: the Atlantic cod. *Molecular ecology*, 12, 385-394.
- Kobayashi, Y., Mayer, S. G. & Park, J. W. 2017. Gelation properties of tilapia fish protein isolate and surimi *pre-* and *post-rigor*: *Rigor* condition of tilapia FPI and surimi. *Food Bioscience*, 17, 17-23.
- Kobayashi, Y. & Park, J. W. 2017. Physicochemical characterizations of tilapia fish protein isolate under two distinctively different comminution conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41.
- Kong, F., Tang, J., Rasco, B. & Crapo, C. 2007. Kinetics of salmon quality changes during thermal processing. *Journal of Food Engineering*, 83, 510-520.
- Kristensen, L. & Purslow, P. P. 2001. The effect of ageing on the water-holding capacity of pork: role of cytoskeletal proteins. *Meat science*, 58, 17-23.
- Kristoffersen, S., Tobiassen, T., Esaiassen, M., Olsson, G. B., Godvik, L. A., Seppola, M. A. & Olsen, R. L. 2006. Effects of *pre-rigor* filleting on quality aspects of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, 37, 1556-1564.
- Larsen, R. & Elvevoll, E. O. 2008. Water uptake, drip losses and retention of free amino acids and minerals in cod (*Gadus morhua*) fillet immersed in NaCl or KCl. *Food Chemistry*, 107, 369-376.
- Larsen, R., Olsen, S. H., Kristoffersen, S. & Elvevoll, E. O. 2008. Low salt brining of *pre-rigor* filleted farmed cod (*Gadus morhua* L.) and the effects on different quality parameters. *Food Science and Technology*, 41, 1167-1172.
- Larsen, R., Stormo, S. K., Dragnes, B. T. & Elvevoll, E. O. 2007. Losses of taurine, creatine, glycine and alanine from cod (*Gadus morhua* L.) fillet during processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 396-402.
- Liang, Z., Sang, M., Fan, P., Wu, B., Wang, L., Yang, S. & Li, S. 2011. CIELAB coordinates in response to berry skin anthocyanins and their composition in *Vitis*. *Journal of Food Science*, 76, 490-497.

- Lin, W.-L., Zeng, Q.-X. & Zhu, Z.-W. 2009. Different changes in mastication between crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C.et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) after heating: The relationship between texture and ultrastructure in muscle tissue. *Food Research International*, 42, 271-278.
- Lin, W. L., Zeng, Q. X., Zhu, Z. W. & Song, G. S. 2012. Relation between protein characteristics and TPA texture characteristics of crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Journal of Texture Studies*, 43, 1-11.
- Llave, Y., Matsuda, H., Fukuoka, M. & Sakai, N. 2014. Comparison of browning colour formation on the surface of fish samples during grilling. *Food Science and Technology Research*, 20, 85-91.
- Losnegard, N., Langmyhr, E. & Madsen, D. 1986a. Oppdrettstorsk, kvalitet og anvendelse. I. Kjemisk sammensetning som funksjon av årstiden. Rapport 11/1986. Bergen: Fiskeridirektoratet.
- Losnegard, N., Langmyhr, E. & Madsen, D. 1986b. Oppdrettstorsk, kvalitet og anvendelse. II. Lagringsdyktighet i is. Rapport 12/1986. Bergen: Fiskeridirektoratet.
- Luther, P. K., Munro, P. M. & Squire, J. M. 1995. Muscle ultrastructure in the teleost fish. *Micron*, 26, 431-459.
- Lynum, L. 2005. *Videreforedling av fisk. 1. Utgave*. Trondheim: Tapir Akademisk Forlag.
- Lynum, L. & Rustad, T. 1997. *Fisk som råstoff: holdbarhet og kvalitetssikring. 2. Utgave*. Trondheim: Tapir Akademisk Forlag.
- Martínez-Alvarez, O. & Gómez-Guillén, M. C. 2005. The effect of brine composition and pH on the yield and nature of water-soluble proteins extractable from brined muscle of cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 92, 71-77.
- Martins, S. I., Jongen, W. M. & Van Boekel, M. A. 2000. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 364-373.
- Murray, J. & Burt, J. R. 2001. *The Composition of Fish*. Tilgjengelig fra: <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e00.htm> [Lest: 20.01.2018].

- Nakamura, M., Mao, W., Fukuoka, M. & Sakai, N. 2011. Analysis of the color change in fish during the grilling process. *Food Science and Technology Research*, 17, 471-478.
- Nguyen, M. V., Thorarinsdottir, K. A., Gudmundsdottir, A., Thorkelsson, G. & Arason, S. 2011. The effects of salt concentration on conformational changes in cod (*Gadus morhua*) proteins during brine salting. *Food Chemistry*, 125, 1013-1019.
- NMKL Nr. 23, 1991. Vatten och aska. Gravimetrisk bestämning i kött och köttvaror. 3. utgåve. Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler.
- NMKL Nr. 184, 2006. Kimtal og specifikke fordævelsesbakterier i fisk og fiskevarer. 1. utgåve. Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler.
- NMKL Nr. 91, 2010. Prøveudtagning og forbehandling af levnedsmidler og foderstoffer til kvantitativ mikrobiologisk undersøgelse. 6. utgåve. Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler.
- Nofima. 2012. *Se torsken! 10 år med målrettet torskeavl*. Tromsø: Nofima. Tilgjengelig fra: <http://www.havbruksstasjonen.no/getfile.php/2107320.1486.qqavxbqrdp/Se+torsken.pdf> [Lest 11.06 2018].
- Nyvold, T. & Landfald, B. 1996. Wild and farmed cod — Two different products? *Food Quality and Preferences*, 7, 341.
- Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp, A., Starr, R. & Purslow, P. 1989. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food structure*, 8, 17.
- Offer, G. & Trinick, J. 1983. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat science*, 8, 245-281.
- Ofstad, R., Egelanddal, B., Kidman, S., Myklebust, R., Olsen, R. L. & Hermansson, A. M. 1996. Liquid loss as effected by *post mortem* ultrastructural changes in fish muscle: cod (*Gadus morhua*) and salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, 301-312.

- Ofstad, R., Kidman, S., Myklebust, R. & Hermansson, A.-M. 1993. Liquid holding capacity and structural changes during heating of fish muscle: cod (*Gadus Morhua* L.) and salmon (*Salmo Salar*). *Food Structure*, 12, 163-174.
- Ofstad, R., Kidman, S., Myklebust, R., Olsen, R. L. & Hermansson, A.-M. 1995. Liquid-holding capacity and structural changes in comminuted salmon (*Salmo salar*) muscle as influenced by pH, salt and temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 329-339.
- Olsson, G. B., Seppola, M. A. & Olsen, R. L. 2007. Water-holding capacity of wild and farmed cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) muscle during ice storage. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 793-799.
- Park, J. W. 1994. Functional protein additives in surimi gels. *Journal of Food Science*, 59, 525-527.
- Park, J. W. & Reed, Z. H. 2014. Seafood Proteins and Surimi. I: Ustunol, Z. (red.) *Applied food protein chemistry*. Michigan: Wiley Blackwell.
- Pate, E. & Brokaw, C. 1980. Cross-bridge behavior in *rigor* muscle. *Biophysics of structure and mechanism*, 7, 51-63.
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J. & Hopkins, D. L. 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes—A review. *Meat science*, 89, 111-124.
- Poulter, R. G., Ledward, D. A., Godber, S., Hall, G. & Rowlands, B. 1985. Heat stability of fish muscle proteins. *International Journal of Food Science & Technology*, 20, 203-217.
- Provost, J. J., Colabroy, K. L., Kelly, B. S. & Wallert, M. A. 2016. The science of cooking: understanding the biology and chemistry behind food and cooking. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Rabeler, F. & Feyissa, A. H. 2017. Kinetic modeling of texture and color changes during thermal treatment of chicken breast meat. *Food and Bioprocess Technology*, 1-10.

- Richardsen, R., Nystøyl, R., Strandheim, G. & Marthinussen, A. 2017. *Analyse marint restråstoff, 2016*
Tromsø: SINTEF Ocean AS. Tilgjengelig fra:
http://www.kontali.no/public_files/docs/Analyse_marint_restrastoff__2016.pdf
[Lest 11.06 2018].
- Rotabakk, B. T., Skipnes, D., Akse, L. & Birkeland, S. 2011. Quality assessment of Atlantic cod (*Gadus morhua*) caught by longlining and trawling at the same time and location. *Fisheries Research*, 112, 44-51.
- Rustad, T. 1992. Muscle chemistry and the quality of wild and farmed cod. *Quality Assurance in the Fish Industry*, 30, 19-27.
- Schubring, R. 1999. DSC studies on deep frozen fishery products. *Thermochimica Acta*, 337, 89-95.
- Shomer, I., Weinberg, Z. G. & Vasiliver, R. 1987. Structural binding properties of silvercarp (*Hypophthalmichthys molitrix*) muscle affected by NaCl and CaCl₂ treatments. *Food Structure*, 6, 12.
- Sigurgisladottir, S., Ingvarsdottir, H., Torrissen, O. J., Cardinal, M. & Hafsteinsson, H. 2000a. Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*, 33, 857-865.
- Sigurgisladottir, S., Sigurdardottir, M. S., Torrissen, O., Vallet, J. L. & Hafsteinsson, H. 2000b. Effects of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Food Research International*, 33, 847-855.
- SINTEF. 2011. *Gjennomgang av stiftelsen RUBIN*. Ålesund: SINTEF Bedriftsutvikling AS. Tilgjengelig fra:
<https://www.regjeringen.no/globalassets/upload/fkd/vedlegg/rapporter/2011/rubin.pdf>
[Lest 11.06 2018].
- Skipnes, D. 2011. Optimisation of thermal processing of fresh farmed cod. Stavanger: PhD thesis. Department of Mathematical Science and Technology: Norwegian University of Life Science.

- Skipnes, D., Johnsen, S., Skåra, T., Sivertsvik, M. & Lekang, O. 2011. Optimization of heat processing of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) muscle with respect to cook loss, water holding capacity, color, and texture. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20, 331-340.
- Skipnes, D., Van Der Plancken, I., Van Loey, A. & Hendrickx, M. E. 2008. Kinetics of heat denaturation of proteins from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Engineering*, 85, 51-58.
- Skipnes, D., Østby, M. L. & Hendrickx, M. E. 2007. A method for characterising cook loss and water holding capacity in heat treated cod (*Gadus morhua*) muscle. *Journal of Food Engineering*, 80, 1078-1085.
- Stickland, N. C. 1983. Growth and development of muscle fibres in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Anatomy*, 137, 323.
- Stien, L. H., Suontama, J. & Kiessling, A. 2006. Image analysis as a tool to quantify rigor contraction in *pre-rigor*-filleted fillets. *Computers and Electronics in Agriculture*, 50, 109-120.
- Strasburg, G., Xiong, Y. L. & Chiang, W. 2008. Physiology and chemistry of edible muscle tissue. I: Demodaran, S., Parkin, K. L. & Fennema, O. R. (red.) *Fennema's Food Chemistry*. 4. utgave. Boca Raton: Taylor & Francis.
- Tabilo-Munizaga, G. & Barbosa-Cánovas, G. V. 2005. Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67, 147-156.
- Te Pas, M. F. W., Everts, M. E. & Haagsman, H. P. 2004. Muscle development of livestock animals: physiology, genetics, and meat quality. Cambridge: CABI Pub.
- Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., Geirsdottir, M., Bogason, S. G. & Kristbergsson, K. 2002. Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77, 377-385.
- Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., Sigurgísladottir, S., Gunnlaugsson, V. N., Johannsdottir, J. & Tornberg, E. 2011. The effects of salt-curing and salting procedures on the microstructure of cod (*Gadus morhua*) muscle. *Food Chemistry*, 126, 109-115.

- Toldrá, F. & Reig, M. 2012. Biochemistry of raw meat and poultry. I: Simpson, B. K. (red.) *Food Biochemistry and Food Processing*. 2. utgave. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Tornberg, E. 2005. Effects of heat on meat proteins - implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70, 493-508.
- Von Hippel, P. H. & Wong, K.-Y. 1965. On the conformational stability of globular proteins the effects of various electrolytes and nonelectrolytes on the thermal ribonuclease transition. *Journal of Biological Chemistry*, 240, 3909-3923.
- Wang, D., Tang, J., Correia, L. R. & Gill, T. A. 1998. Postmortem changes of cultivated Atlantic salmon and their effects on salt uptake. *Journal of Food Science*, 63, 634-637.
- Weinberg, Z., Regenstein, J. M. & Lillford, P. J. 1984. Research note the effects of salts on thermal transition curves of cod muscle. *Journal of Food Biochemistry*, 8, 335-339.
- Wu, M., Akahane, T., Lanier, T. & Hamann, O. 1985. Thermal transitions of actomyosin and surimi prepared from Atlantic croaker as studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 50, 10-13.
- Wu, Z., Bertram, H. C., Kohler, A., Böcker, U., Ofstad, R. & Andersen, H. J. 2006. Influence of aging and salting on protein secondary structures and water distribution in uncooked and cooked pork. A combined FT-IR microspectroscopy and ¹H NMR relaxometry study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 8589.
- Xia, K., Wang, H., Huang, L., Xu, W., Zang, X., Song, Y., Zu, Y., Zhu, B. & Tan, M. 2017. Water dynamics in turbot (*Scophthalmus maximus*) flesh during baking and microwave heating: nuclear magnetic resonance and magnetic resonance imaging studies. *International Journal of Food Engineering*, 13.
- Xiong, Y. L. 1997. Structure-function relationships of muscle proteins. I: Demodaran, S. & Paraf, A. (red.) *Food proteins and their applications*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Yam, K. L. & Papadakis, S. E. 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61, 137-142.

Yu, D., Xu, Y., Jiang, Q., Yang, F. & Xia, W. 2017. Freshness assessment of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4 °C by physicochemical, microbiological and sensorial evaluations. *Journal of Food Safety*, 37.

Yu, X., Llave, Y., Fukuoka, M. & Sakai, N. 2014. Estimation of color changes in fish surface at the beginning of grilling based on the degree of protein denaturation. *Journal of Food Engineering*, 129, 12-20.

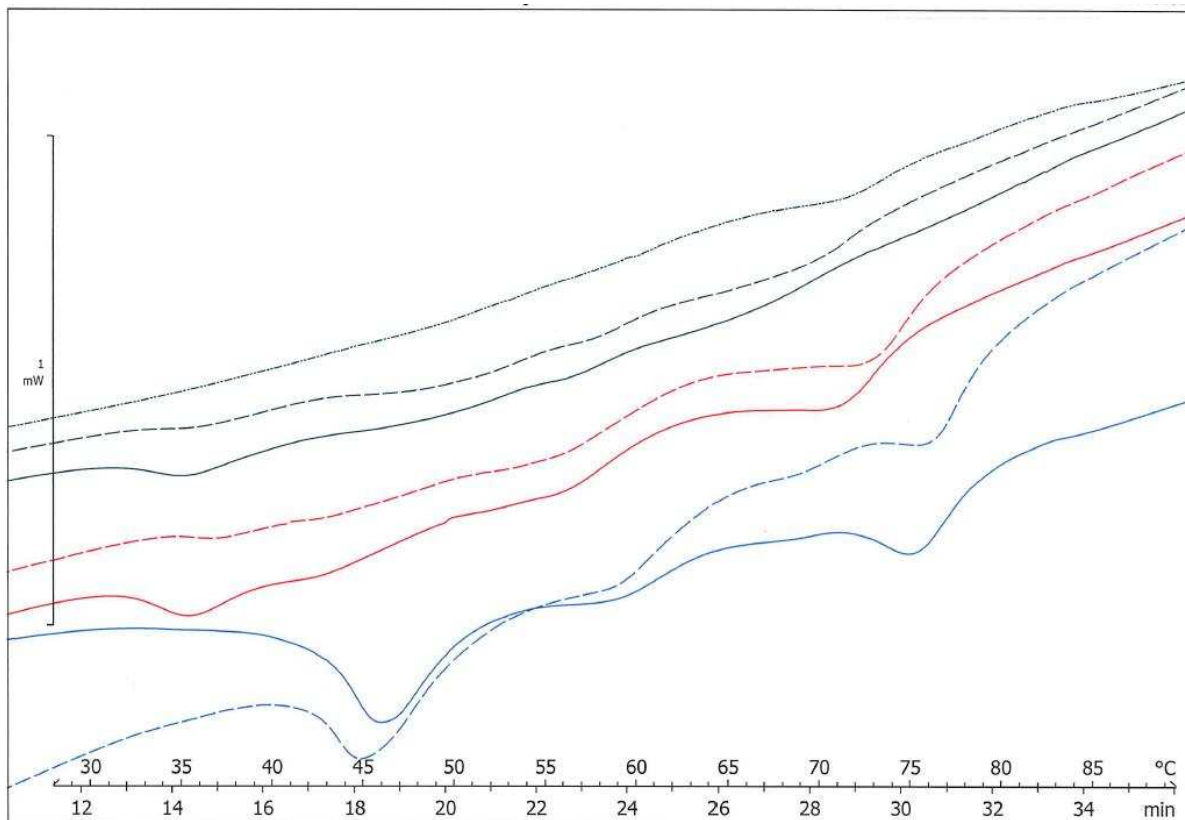
Zielbauer, B. I., Franz, J., Viezens, B. & Vilgis, T. A. 2016. Physical aspects of meat cooking: time dependent thermal protein denaturation and water loss. *Food Biophysics*, 11, 34-42.

8 Vedlegg

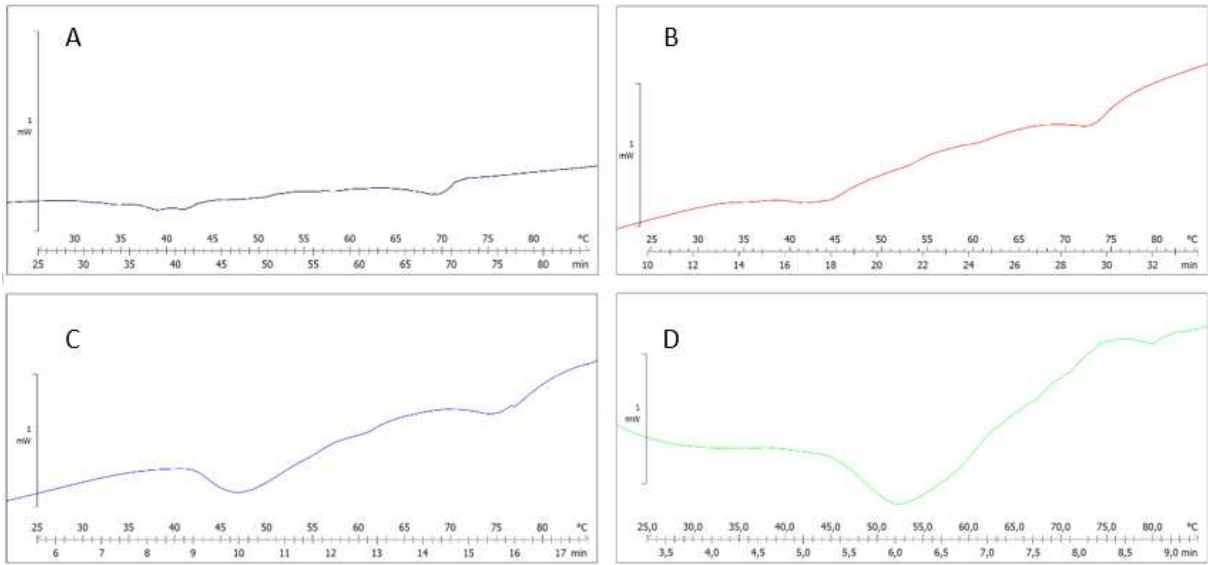
Gjennomsnittskurver fra DSC analyse som ble brukt til integrering for å finne temperatur for maksimal denaturering (T_m) og rest-entalpi (ΔH) er vist i Figur 8.1. Effekten av oppvarmingshastighet er vist i Figur 8.2. Det ble også utprøvd frysetørking som er vist i Figur 8.3.

Under utvikling av metode for å studere reologi, ble en amplitudeutslagstest utført for å finne ved hvilken belastningsprosent prøvene var i det viskoelastiske området. Resultatet fra prøver behandlet i lake med 0, 1,5 og 4,5 % salt er vist i henholdsvis Figur 8.4, Figur 8.5 og Figur 8.6. I tillegg ble det undersøkt om uttørking av prøve endret lagringsmodulen (G') ved høye temperaturer. Resultatet fra prøver med og uten silikonolje er vist i Figur 8.7

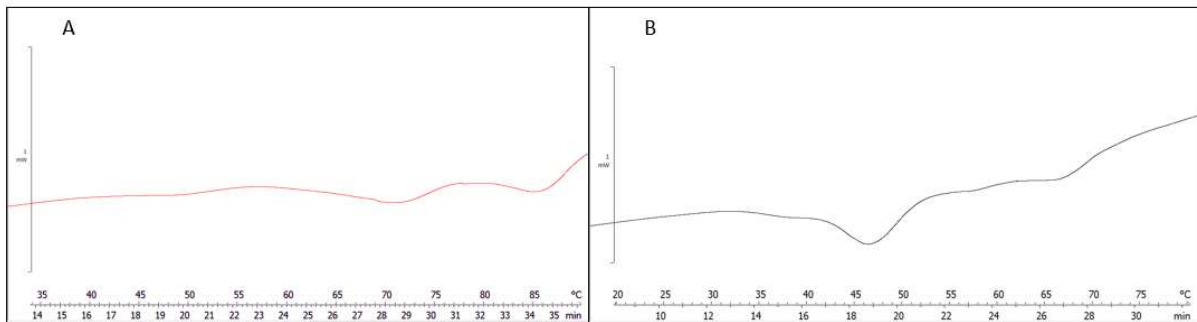
Fra side v følger en automatisk generert rapport fra COMSOL Multiphysics som beskriver bakgrunnen for modellen brukt til å estimere temperatur i prøver fra ovnsbakt torsk.



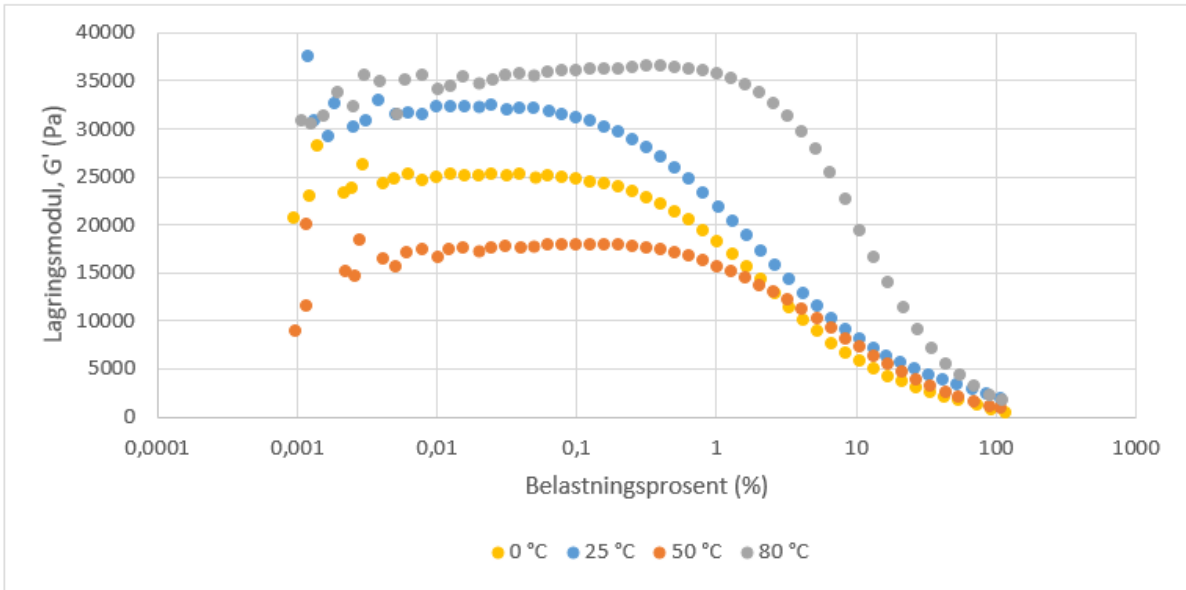
Figur 8.1: Gjennomsnittskurver fra DSC analyse laget ved å legge sammen termogrammer fra hver enkelt prøve ved samme behandling og dele på antall paralleller. Blå, rød og grønne kurver representerer gjennomsnittskurver etter behandling i lake med henholdsvis 0, 1,5 og 4,5 % salt. Hel linje representerer termisk denaturering av rå ($n = 8$) prøver, stiplet linje representerer termisk denaturering av varmebehandlede prøver ved 150 °C i 5 min ($n = 9$), og den ene stiplede linje øverst i figuren som skiller seg ut, representerer termisk denaturering etter varmebehandling ved 150 °C i 15 min ($n = 6$).



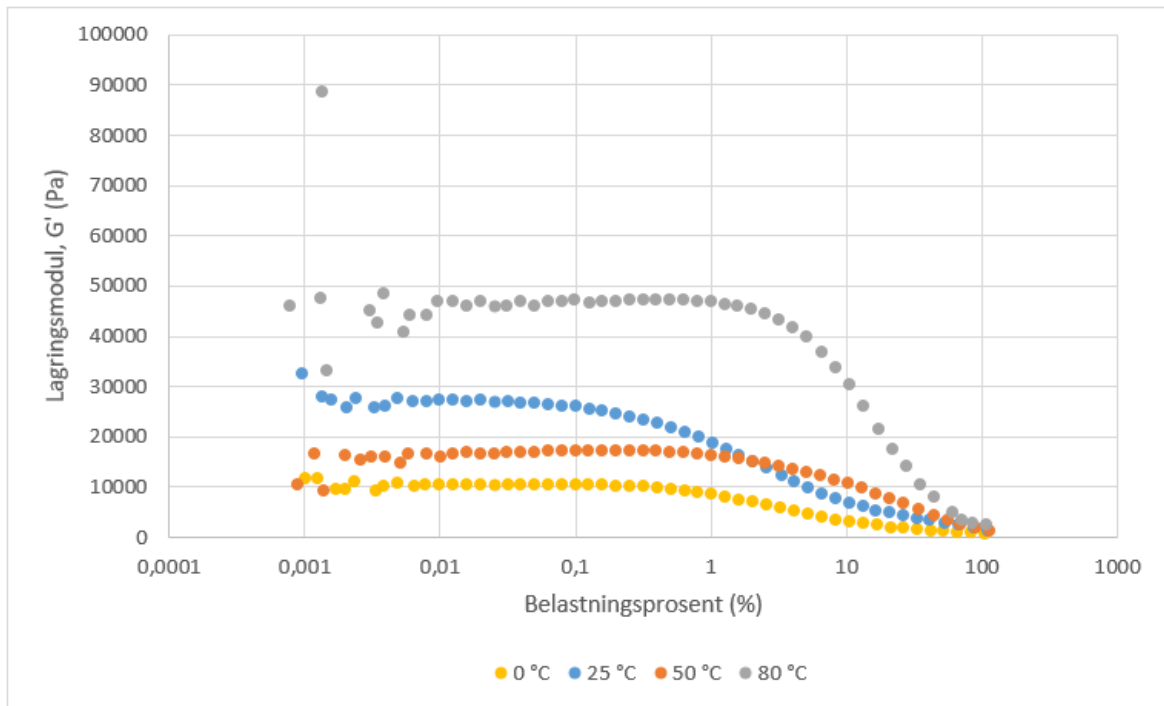
Figur 8.2: DSC analyse av usalta torsk ved ulike oppvarmingshastighet; A) 1 °C/min, B) 2,5 °C/min, C) 5 °C/min og D) 10 °C/min.



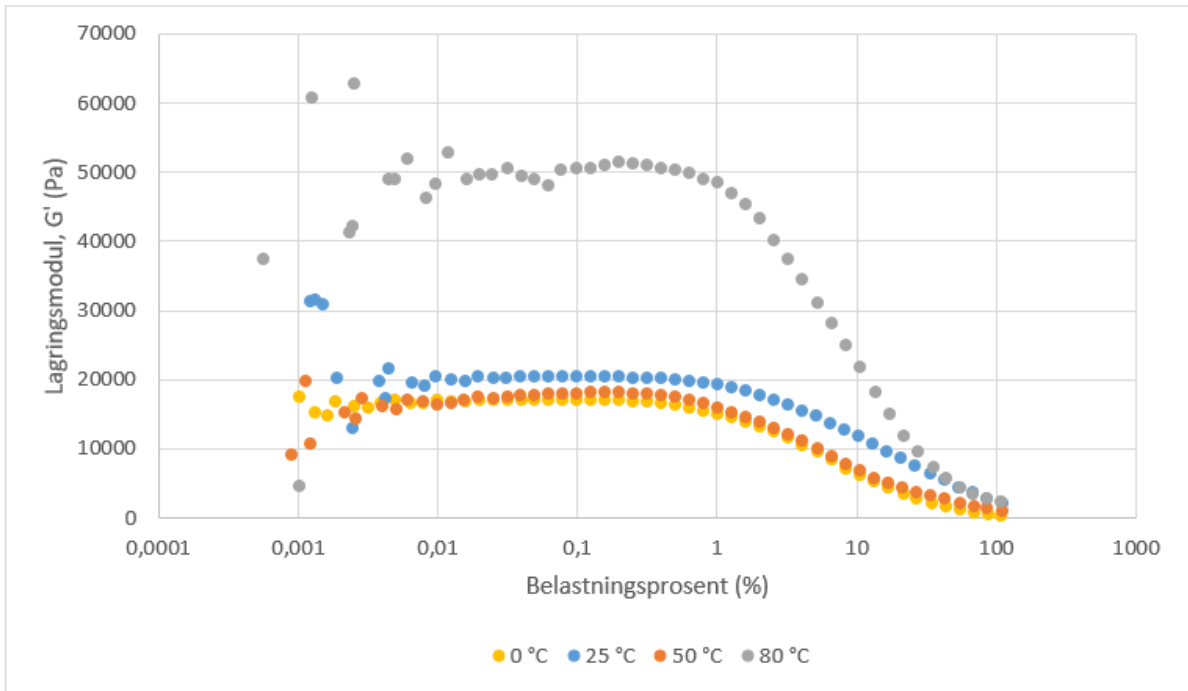
Figur 8.3: DSC analyse av frysetørka prøver behandlet i lake med A) 0 % salt, og B) 4,5 % salt.



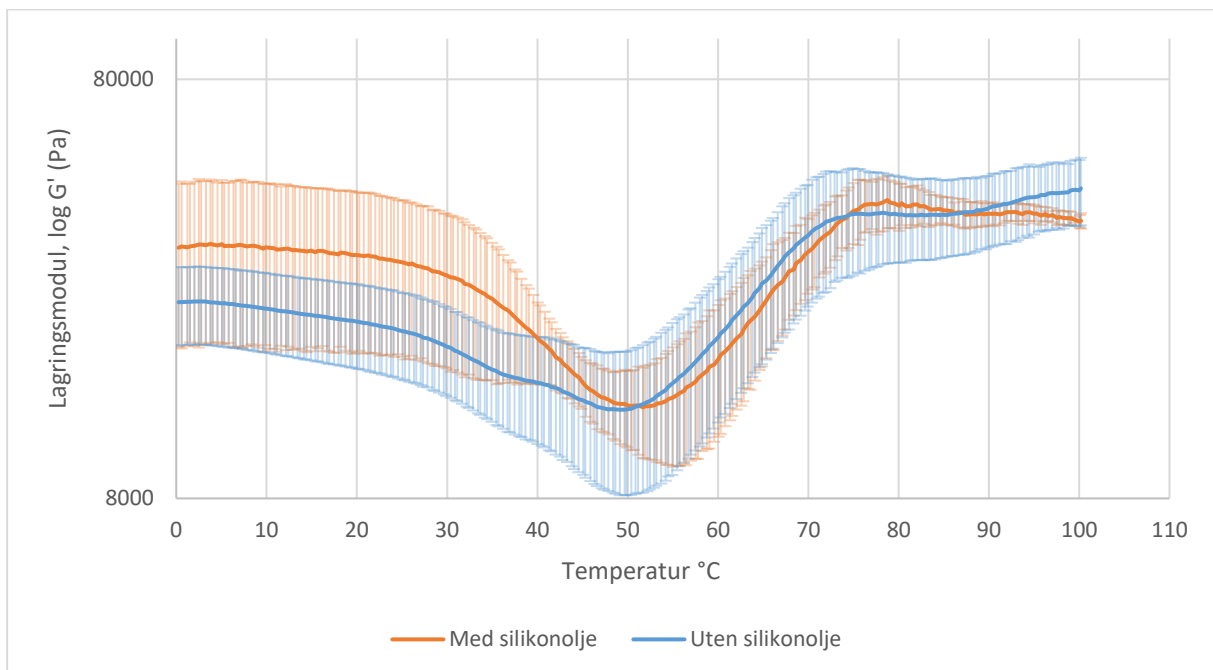
Figur 8.4: Amplitudeudslagstest for å undersøke ved hvilken belastningsprosent prøver behandlet i ferskvann (0 %) var i det lineære viskoelastiske området.



Figur 8.5: Amplitudeudslagstest for å undersøke ved hvilken belastningsprosent prøver behandlet i lake med 1,5 % salt var i det lineære viskoelastiske området.

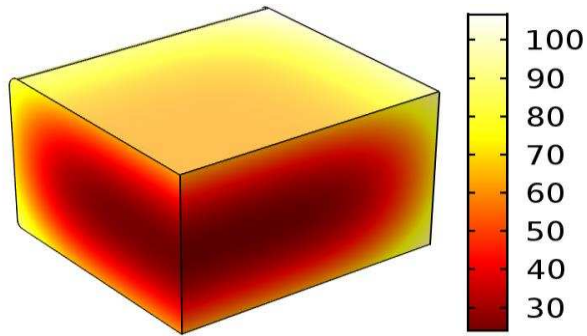


Figur 8.6: Amplitudeutslagstest for å undersøke ved hvilken belastningsprosent prøver behandlet i lake med 4,5 % salt var i det lineære viskoelastiske området.



Figur 8.7: Lagringsmodul (G') til torskemuskel behandlet i ferskvann (0 %) med ($n = 3$) eller uten ($n = 10$) silikonolje som en funksjon av tid ved en oppvarmingshastighet på 2,5 °C/min, oppgitt som gjennomsnitt og standardavvik.

Heat transfer in cod loin during cooking in a convection oven

**Author**

Marthe J. Blikra

Report date

June 4, 2018

Company

Nofima

SUMMARY

Heat transfer during cooking of cod loin was modeled using the heat transfer equation, as given in Feyissa, Gernaey, and Adler-Nissen (2013) and Rabeler and Feyissa (2018). Heat flux at the surfaces is given by Newton's law of cooling, assuming equal heat flux at all surfaces. During validation of the model, better estimates were obtained using the final sample dimensions (after cooking) instead of the initial dimensions (before cooking). Final dimensions were therefore used in the predictions. Heat transfer was "turned off" at 100 °C, to simulate the effect of evaporation, and it was assumed that the thermophysical properties of cod remained constant during baking.

1 Global Definitions

Date	Jun 7, 2018 10:47:26 AM
------	-------------------------

GLOBAL SETTINGS

Version	COMSOL Multiphysics 5.3a (Build: 275)
Unit system	SI

USED PRODUCTS

COMSOL Multiphysics

1.1 PARAMETERS 1

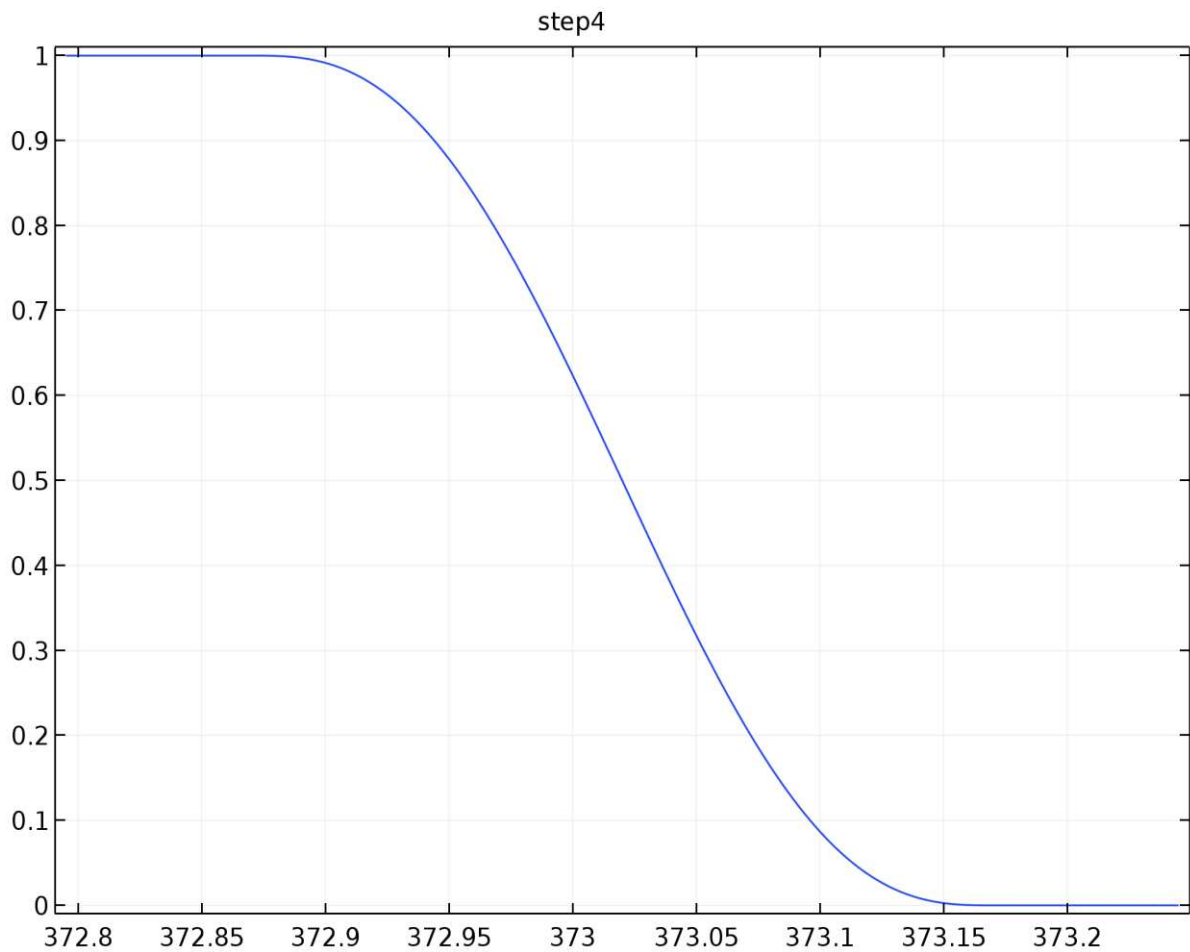
PARAMETERS

Name	Expression	Value	Description
dpt1	$(76/2)[\text{mm}]$	0.038 m	
wdt1	$(70/2)[\text{mm}]$	0.035 m	
hgt1	26[mm]	0.026 m	
T_i	10[degC]	283.15 K	
T_oven	$(148.7 + 273.15)[\text{K}]$	421.85 K	Oven temperature
rho_cod	1060[kg/(m ³)]	1060 kg/m ³	Skipnes et al 2007, farmed cod
Cp_cod	3650 [J/(kg*degC)]	3650 J/(kg·K)	Skipnes et al 2007, farmed cod
k_cod	0.5146	0.5146	Skipnes et al 2007, farmed cod
h_air	33.4[W/(m*m*degC)]	33.4 W/(m ² ·K)	Heat flux coeff. air (from Feyissa 2013)

1.2 FUNCTIONS

1.2.1 No further heating

Function name	step4
Function type	Step



No further heating

PARAMETERS

Description	Value
Location	99.87[degC]
From	1
To	0

SMOOTHING

Description	Value
Size of transition zone	0.3

2 Component 1

SETTINGS

Description	Value
Unit system	Same as global system
Geometry shape order	Automatic

SPATIAL FRAME COORDINATES

First	Second	Third
x	y	z

MATERIAL FRAME COORDINATES

First	Second	Third
X	Y	Z

GEOMETRY FRAME COORDINATES

First	Second	Third
Xg	Yg	Zg

MESH FRAME COORDINATES

First	Second	Third
Xm	Ym	Zm

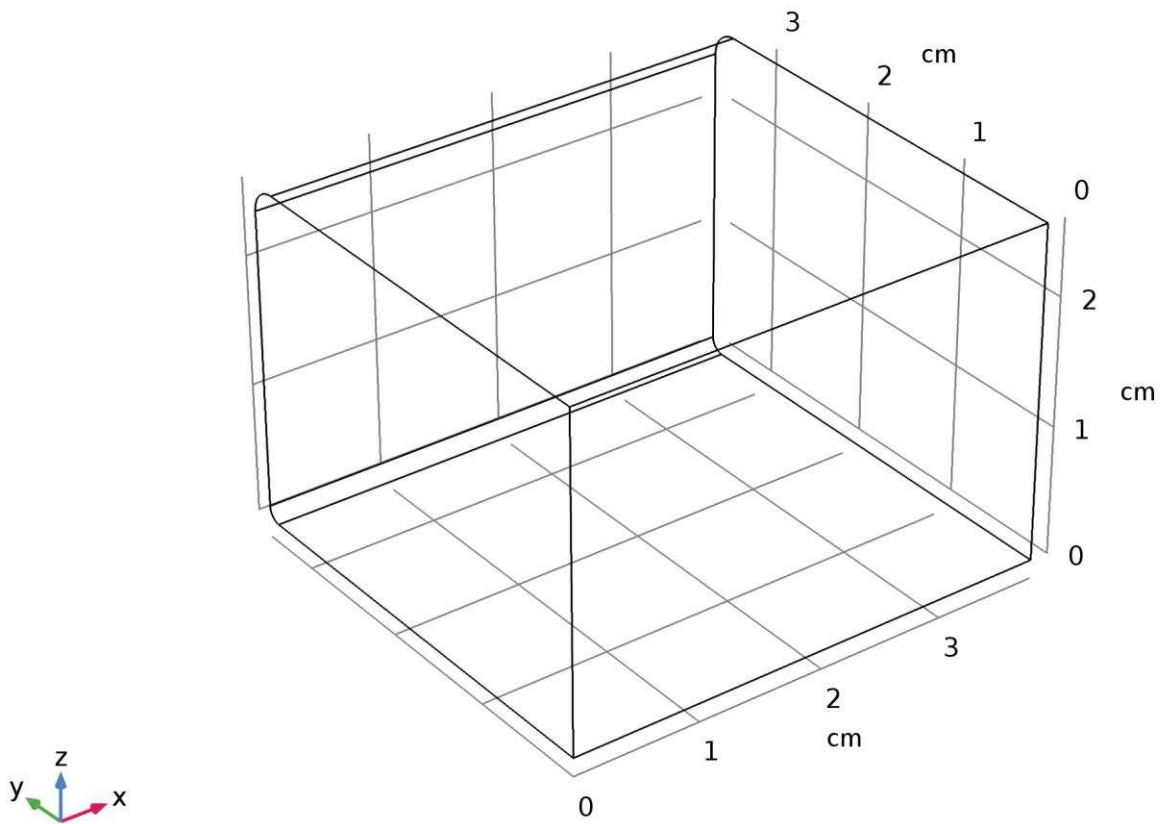
2.1 DEFINITIONS

2.1.1 Coordinate Systems

8.1.1.1 *Boundary System 1*

Coordinate system type	Boundary system
Tag	sys1

2.2 GEOMETRY 1



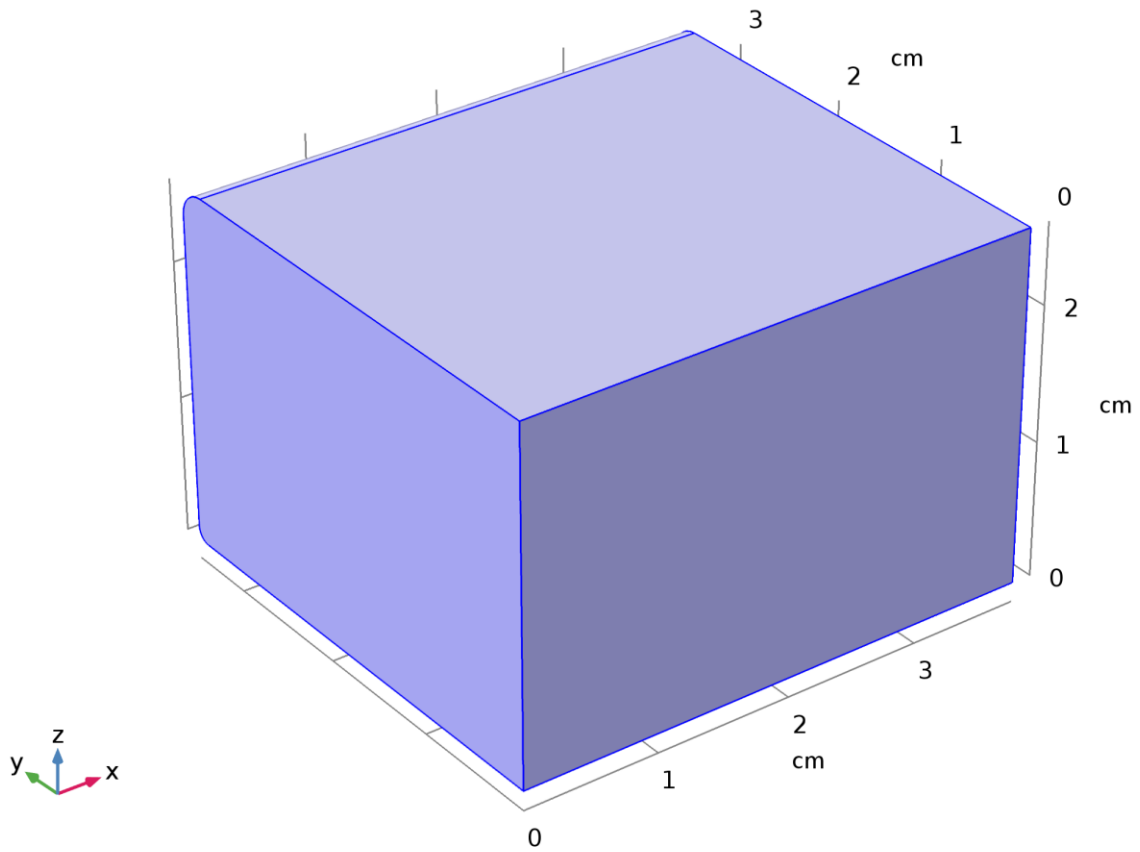
Geometry 1

UNITS

Length unit	cm
Angular unit	deg

2.3 MATERIALS

2.3.1 Cod (Skipnes)

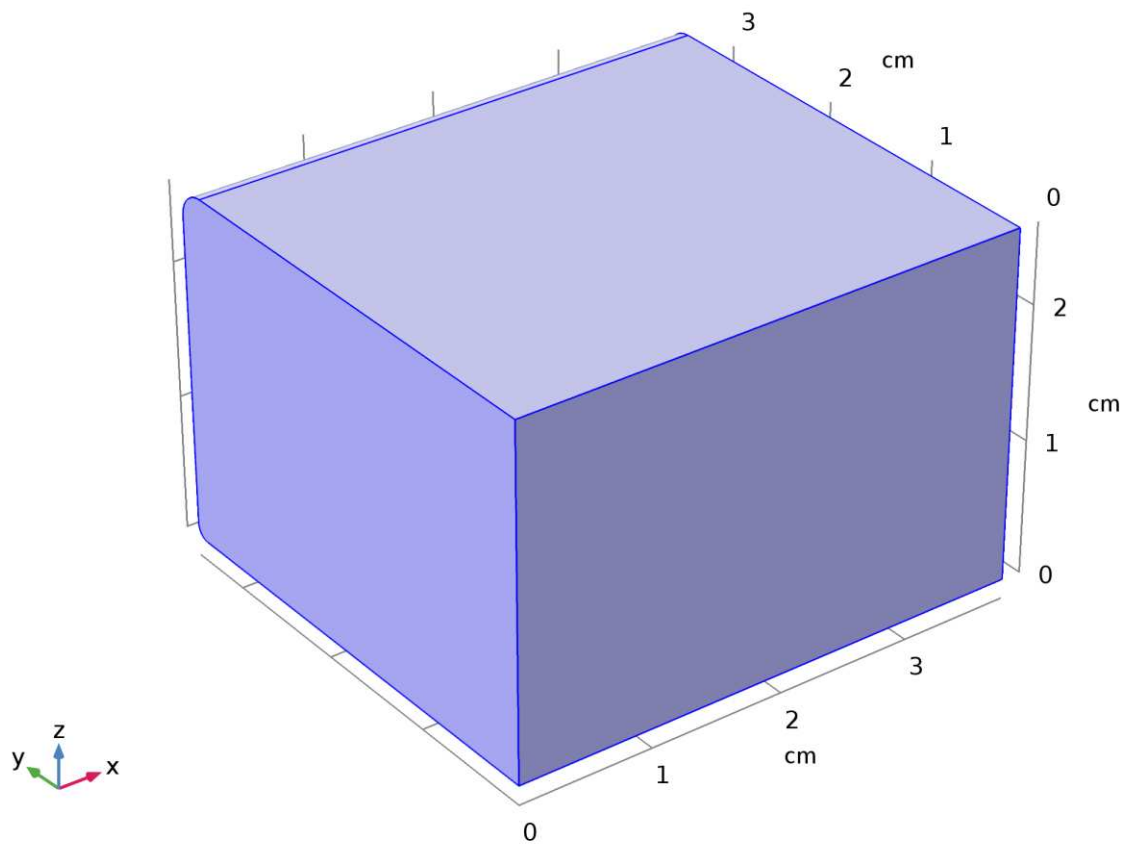


Cod (Skipnes)

SELECTION

Geometric entity level	Domain
Selection	Domain 1

2.4 HEAT TRANSFER IN SOLIDS



Heat Transfer in Solids

SELECTION

Geometric entity level	Domain
Selection	Domain 1

EQUATIONS

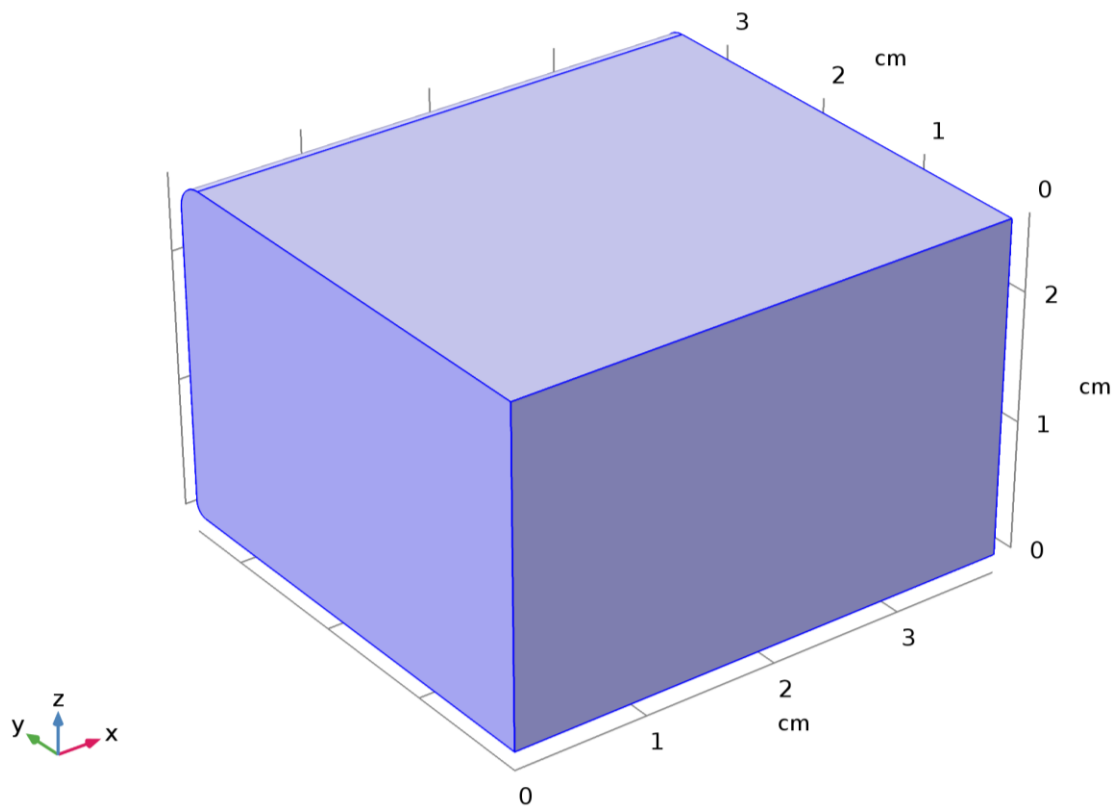
$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho C_p \mathbf{u} \cdot \nabla T + \nabla \cdot \mathbf{q} = Q + Q_{ted}$$

$$\mathbf{q} = -k \nabla T$$

FEATURES

Solid 1
Initial Values 1
Thermal Insulation 1
Heat Flux surfaces
Symmetry 1

2.4.1 Solid 1



Solid 1

SELECTION

Geometric entity level	Domain
Selection	Domain 1

EQUATIONS

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho c_p \mathbf{u} \cdot \nabla T + \nabla \cdot \mathbf{q} = Q + Q_{\text{ted}}$$

$$\mathbf{q} = -k \nabla T$$

8.1.1.2 Heat conduction, solid

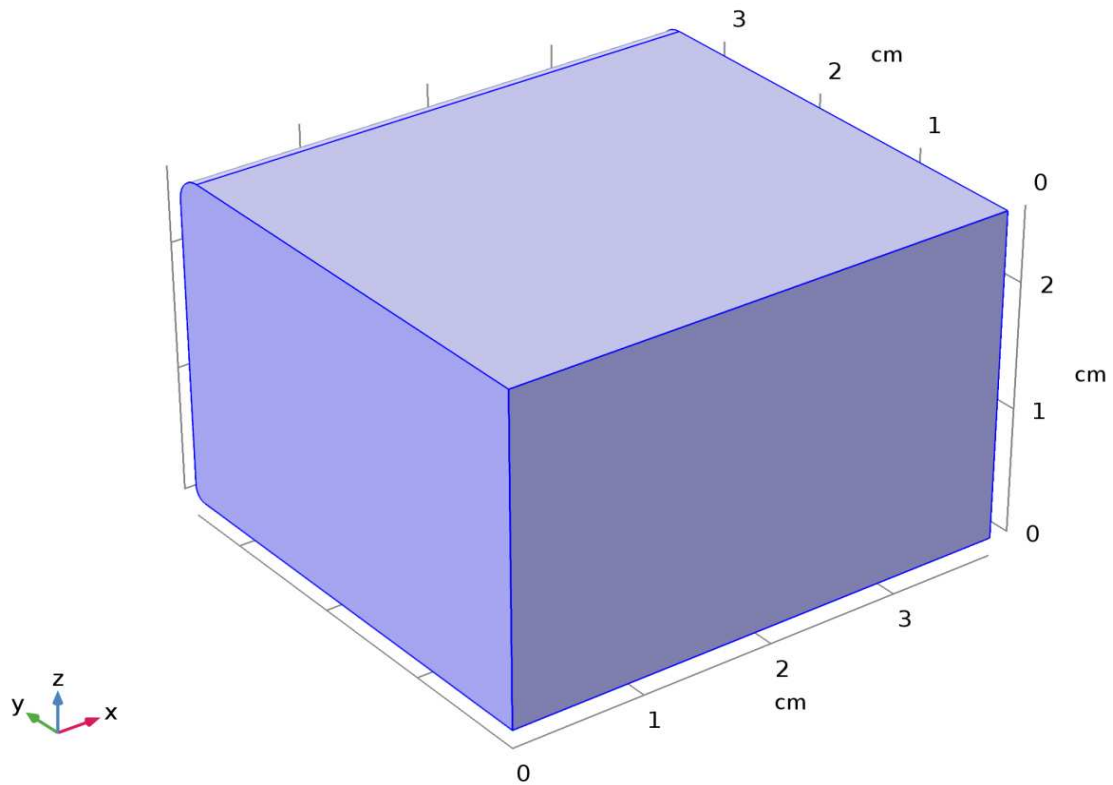
SETTINGS

Description	Value
Thermal conductivity	From material
Density	From material
Heat capacity at constant pressure	From material
Coordinate system	Global coordinate system

PROPERTIES FROM MATERIAL

Property	Material	Property group
Thermal conductivity	Cod (Skipnes)	Basic
Density	Cod (Skipnes)	Basic
Heat capacity at constant pressure	Cod (Skipnes)	Basic

2.4.2 Initial Values 1



Initial Values 1

SELECTION

Geometric entity level	Domain
Selection	Domain 1

8.1.1.3

SETTINGS

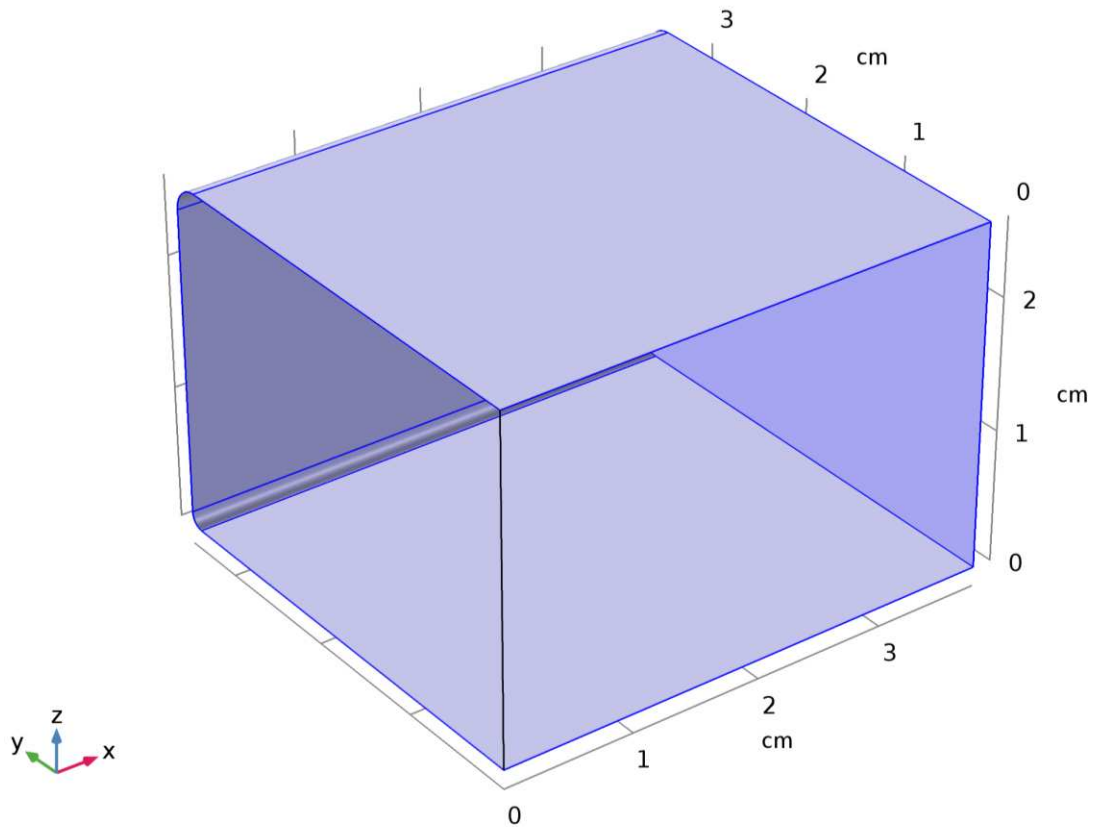
Description	Value
Temperature	User defined
Temperature	T _i

2.4.3 Thermal Insulation 1

EQUATIONS

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{q} = 0$$

2.4.4 Heat Flux surfaces



Heat Flux surfaces

SELECTION

Geometric entity level	Boundary
Selection	Boundaries 3–8

EQUATIONS

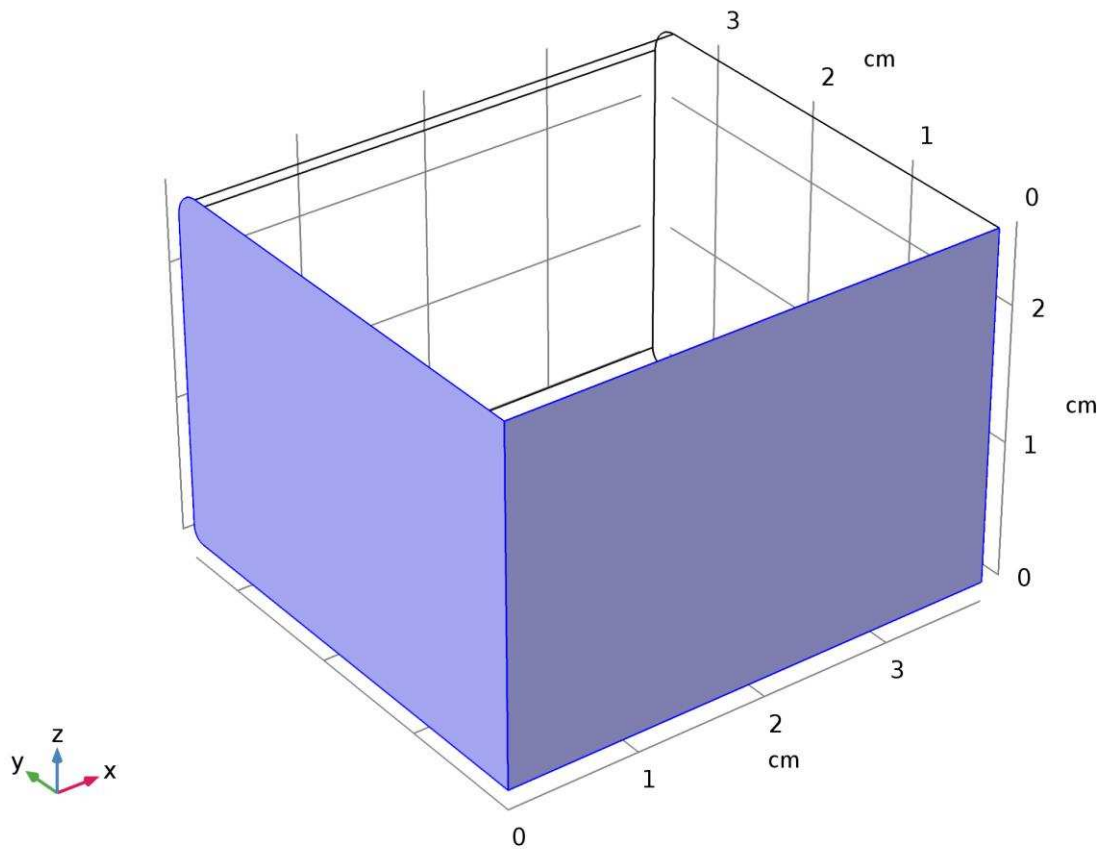
$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{q} = q_0$$

8.1.1.4 Heat flux

SETTINGS

Description	Value
Heat flux	General inward heat flux
Inward heat flux	step4(T[1/K])*h_air*(T_oven - T)

2.4.5 Symmetry 1



Symmetry 1

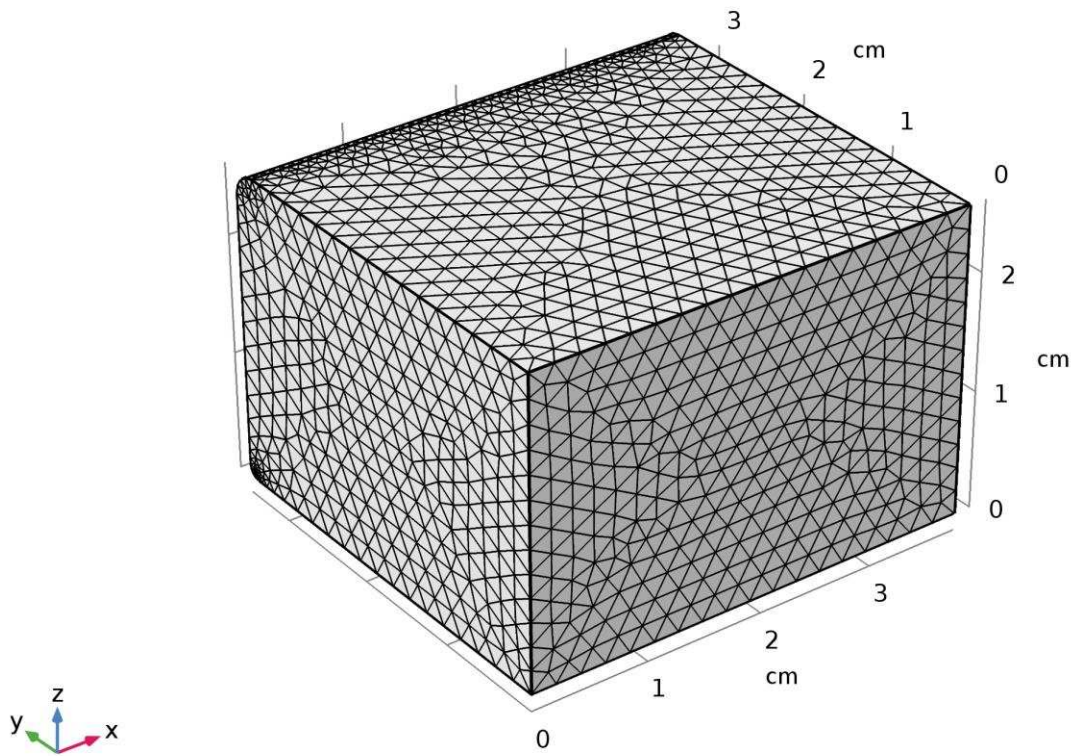
SELECTION

Geometric entity level	Boundary
Selection	Boundaries 1–2

EQUATIONS

$$-\mathbf{n} \cdot \mathbf{q} = 0$$

2.5 MESH 3



Mesh 3

3 Study 1

COMPUTATION INFORMATION

Computation time	2 min 52 s
CPU	Intel64 Family 6 Model 58 Stepping 9, 2 cores
Operating system	Windows 7

3.1 TIME DEPENDENT

Times	Unit
range(0,10[s],1200[s])	s

STUDY SETTINGS

Description	Value
Tolerance	User controlled

PHYSICS AND VARIABLES SELECTION

Physics interface	Discretization
Heat Transfer in Solids (ht)	physics

MESH SELECTION

Geometry	Mesh
Geometry 1 (geom1)	mesh3

4 Results

4.1 DATA SETS

4.1.1 New positions

DATA

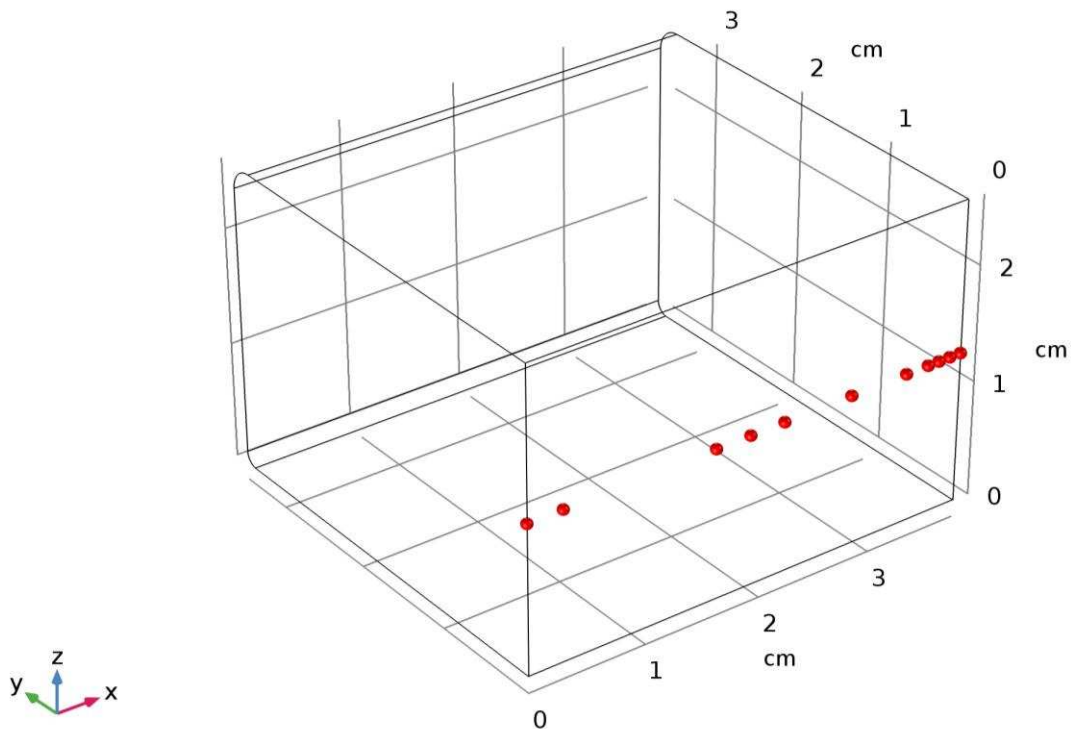
Description	Value
Data set	Study 1/Solution 1

POINT DATA

Description	Value
Entry method	Coordinates

SETTINGS

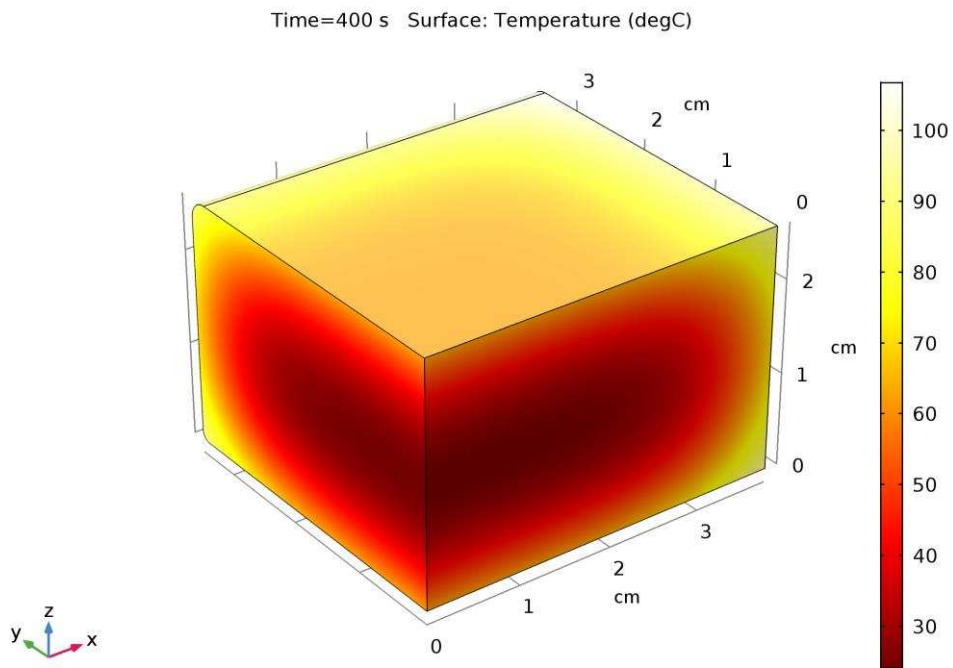
Description	Value
x	0 dpt1/2 dpt1 0 + 3[mm] dpt1/2 - 3[mm] dpt1/2 + 3[mm] dpt1 - 1[mm] dpt1 - 2[mm] dpt1 - 3[mm] dpt1 - 5[mm] dpt1 - 10[mm]
y	0
z	hgt1/2



Data set: New positions

4.2 PLOT GROUPS

4.2.1 Temperature (ht) 1



Time=400 s Surface: Temperature (degC)

