

Vinnsla og vöruþróun
Processing and Product
Development

Líftækni
Biotechnology



Matvælaöryggi
Food Safety



Áhrif undirkælingar á saltupptöku við þæklun þorskhnakkastykkja (*Gadus morhua*)

Ragnhildur Einarsdóttir
María Guðjónsdóttir
Sigurjón Arason

Vinnsla og vöruþróun

Skýrsla Matís 15-08
Júní 2008

ISSN 1670-7192

Titill / Title	Áhrif undirkælingar á saltupptöku við þæklun þorskhakkastykkja (<i>Gadus morhua</i>)		
Höfundar / Authors	Ragnhildur Einarsdóttir, María Guðjónsdóttir og Sigurjón Arason		
Skýrsla / Report no.	15-08	Útgáfudagur / Date:	Júní 2008
Verknr. / project no.	1651		
Styrktaraðilar / funding:	Rannsóknasjóður Rannís.		
Ágrip á íslensku:	<p>Saltupptaka og geymsluþol roð- og beinlausra flakabita þorsks (<i>Gadus morhua</i>) var rannsakað við mismunandi hitastig. Saltupptaka var skoðuð við 0,5°C, -2°C og 5°C. Niðurstöður benda til þess að fiskvöðvi taki upp salt hraðar við -2°C en 5°C og saltupptaka gerist hraðast fyrstu 5 mínúturnar. Þegar leitað er eftir því að lokastyrkur salts sé 0,6% þá er 4% saltþækill æskilegastur. Við geymsluþolstilraun var hitastigið 0°C annars vegar og -2°C hins vegar. Geymsluþol flakabita sem geymdir voru við -2°C reyndust hafa 3-4 daga lengri geymsluþol en þeir sem geymdir voru við 0°C.</p> <p>Ensímvirkni, nánar tiltekið trypsínlik próteasavirkni var skoðuð í ofurkældum fiskvöðva. Fiskvöðvi með 0,5% saltinnihald geymdir við -2°C reyndist hafa hærri virkni en aðrir hópar. Rannsóknin bendir til að áhugavert væri að skoða samspil meðhöndlunar, hitastigs og ensíma nánar.</p>		
Lykilorð á íslensku:	<i>Saltupptaka, undirkæling, ensímvirkni, geymsluþol</i>		
Summary in English:	<p>The salt uptake during brining and shelf life of skinless and boneless cod loins (<i>Gadus morhua</i>) was investigated at different temperatures. The salt uptake was studied at 0.5°C, -2°C and 5°C. The results show that the salt uptake of the cod muscle is faster at -2°C than at 5°C and that the salt uptake is fastest during the first 5 minutes. When aiming for a salt concentration of 0.6% in the muscle during brining it is optimal to use a 4% salt brine. In the shelf life study, samples were stored at 0°C and -2°C. The cod loins stored at -2°C showed 3-4 days longer shelf life than samples stored at 0°C.</p> <p>Enzymatic activity, or trypsin like protease activity to be more precise was studied in the superchilled muscle. Cod muscle with 0.5% salt and stored at -2°C showed higher activity than other groups. The study shows that there is a need for further studies on the combined effects of processing and storage temperatures on enzymatic activity.</p>		
English keywords:	<i>Salt uptake, superchilling, enzymatic activity, shelf life</i>		

Efnisyfirlit

1	<i>Inngangur</i>	1
2	<i>Staða þekkingar og færni</i>	2
2.1	Undirkæling	2
2.2	Áhrif hitastigs og salts á eðlis- og efnafræðilegar breytingar í þorskvöðva	3
2.3	Ensím í fiskvöðva	4
2.4	Mælingar á trypsinlíkri ensímvirkni	8
2.5	Litmælingar	10
3	<i>Framkvæmd</i>	11
3.1	Hráefni og undirbúningur	11
3.1.1	Saltflæðitilraun	11
3.1.2	Geymsluþolstilraun	11
3.2	Efnamælingar	12
3.2.1	Vatnsinnihald	12
3.2.2	Saltinnihald	12
3.2.3	Vatnsheldni	12
3.2.4	TVN og TMA.....	12
3.3	Massabreytingar	13
3.4	Litmæling	13
3.5	Örverumælingar	13
3.6	Ensímmælingar	14
3.6.1	Undirbúningur sýna.....	14
3.6.2	Próteinmæling	14
3.6.3	Virknimæling	14
4	<i>Niðurstöður</i>	15
4.1	Saltflæðitilraun	15
4.2	Geymsluþolstilraun	17
5	<i>Umræða og lokaorð</i>	25
6	<i>Heimildir</i>	27
	<i>Viðauki 1. Hitastigsprófíll í kælihermum í saltflæðitilraun</i>	31
	<i>Viðauki 2. Hitastigsprófíll í kælihermum í geymsluþols-tilraun</i>	33
	<i>Viðauki 3. Myndir úr geymsluþolstilraun, gróft mat á útliti flakabita fyrir og eftir suðu. ..</i>	35

1 Inngangur

Heill fiskur hefur verið fluttur út frá Íslandi í áratugi, bæði með beinum löndunum fiskiskipa erlendis og gámaflutningum. Einnig fer hluti af þessum fiski með flugi. Þróunin á seinni árum hefur hins vegar verið í áttina að því að fullvinna fiskinn hérna heima og fá þannig hærra verð fyrir afurðina. Einnig hefur eftirspurn eftir tilbúinni ferskvöru aukist mikið undanfarið.

Útflutningur á ferskum flakabitum er sú fiskafurð sem er í hvað mestum vexti í dag. Ferskvara er sérstaklega vinsæl á matvælamörkuðum Evrópu, en mikil aukning hefur orðið á þessum útflutningi á þrjá stærstu markaðina þar (Hagstofan, 2005). Frystihús eru í kjölfarið í auknum mæli farin að verka ferskan fisk í stað frosins. Mest af þessum fiski fer úr landi með flugi og er oftast ekki kallaður „flugfiskur“.

Ástæður þess að flakabitar hafa hingað til nánast einungis verið fluttir út með flugi er sú að þeir hafa minna geymsluþol en heill eða frosinn fiskur. Með nýrri tækni og aukinni þekkingu er hægt að auka þetta geymsluþol. Sú aðferð sem er að byrja að ryðja sér til rúms nú til dags er svokölluð undirkæling. Undirkæling á sér stað þegar að hitastiginu í fiskholdinu er haldið á milli 0°C og þar til holdið byrjar að frjósa. Þegar fiskholdið er kælt niður fyrir 0°C er talað um að hann byrji að fara inn í fasaskipti frystingar (Morgunblaðið, 2005).

Miklar framfarir hafa orðið hérlendis í því að undirkæla fisk í vinnslunni. Þróun hafa verið álfæribönd sem roðkæla afurðina snögg og viðhalda undirkælingunni á meðan á vinnslunni stendur. Undirkælingin er ekki einungis hugsuð til að auka geymsluþol fisksins, heldur eykst einnig þol hráefnisins við meðhöndlun, flakið rýrnar síður, ormatínsla gengur betur þar sem að ormarnir leita undan kuldanum og minni líkur eru á að los komi í fiskvöðvann. Einnig hefur það komið í ljós að afurðarnýting eykst og verðið hækkar þar sem að flökin líta betur út. (Morgunblaðið, 2005).

Með vinnslu á borð við þessa eru auknir möguleikar á því að lengja geymsluþol fisksins við flutning. Auðveldara er að halda fiskinum kældum í lengri tíma þegar hann er settur undirkældur ofan í kassa. Til þess þarf réttan kassa og réttan kælimiðil og rétta staðsetningu kælimiðils í kassanum. Með þessu eykst einnig fýsileiki þess að flytja fiskinn á markað með skipum í stað flugs, en skipaflutningar eru mun hagkvæmari flutningaaðferð. Það sem hefur hingað til staðið í vegi fyrir skipaflutningum á flakabitunum er stutt geymsluþol þeirra.

Þessi skýrsla lýsir tveim tilraunum. Sú fyrri lýsir athugun á saltflæði við þæklun eftir hitastigi (5°C, -0,5°C og -2°C) og saltstyrk (4% og 8%). Í þeirri seinni var geymsluþol í þækludum (með lokasaltstyrk 0,5% NaCl) og ómeðhöndluðum fiskbitum skoðað, annars vegar við 0°C og hins vegar við -2°C. Markmið tilraunanna var að kanna saltupptöku, geymsluþol og byggja upp þekkingu á ensímvirkni í þorskvöðva við undirkælingu.

2 Staða þekkingar og færni

2.1 Undirkæling

Undirkæling (Superchilling) er í raun það hitastig í matvælum sem nær frá 0°C niður að því hitastigi þar sem varan byrjar að frjósa. Þegar matvæli frjósa þá myndast ískristallar úr vatnslausn og þannig eykst styrkur ófrosnu vatnslausnarinnar og frostmark lækkar. Ef matvæli eru geymd við ákveðið hitastig myndast jafnvægi milli fasts og fljótandi forms vatns. Ef hitastig er lækkað þá eykst magn ískristalla (Miles o.fl., 1997). Undirkælingu má m.a. ná með notkun kæliblanda, s.s. vökvaís og krapaís. Um er að ræða undirkældar blöndur vatns og íss sem innihalda matarsalt en saltið gerir það að verkum að hægt er að ná hitastigi undir 0°C án þess að blöndurnar frjósi, þ.e.a.s. frostmark er lægra en í hreinu vatni. Ekki er aðeins um lækkun á hitastigi að ræða, heldur dregur þessi aðferð líka úr aðgengi súrefnis að hráefninu og vöðvinn getur tekið upp salt. Með þessu móti næst að kæla fiskinn hraðar niður eftir veiði en með hefðbundinni ísun þar sem kæliflötur vöðvans við kælimiðilinn er meiri í slíkum vökvaíslausnum en við kælingu með flöguís. Þrýstingur á fiskinn er einnig minni.

Tilgangurinn með undirkælingu er að lengja geymsluþol fersks fisks með því að hægja á skemmdarferlum meira heldur en nást myndi með hefðbundinni kælingu (0-4°C). Hins vegar geta áhrif undirkælingar á vatnsheldnieiginleika, áferð og útlit þorsks og ýsu verið neikvæð ef kæling er of mikil og varan frýs, en vatn byrjar að frjósa í fiski við -0,8°C (-1,1°C) (Huss, 1995). Almennt stöðvast vöxtur örvera þegar hitastigi er haldið við eða rétt fyrir neðan frostmark, en þess má geta að örveruvöxtur getur jafnvel átt sér stað við -6,5°C (Reay og Shewan, 1949, Sotelo o.fl., 1995b). Hæg frýsting dregur úr lífsmöguleikum þeirra, en talið er að stórir kristallar og aukinn styrkur uppleystra efna í þeim vökva sem ekki er frosinn auki afföll þeirra (MacLeod, 1955). Þær örverur sem skipta mestu máli sem skemmdarvaldar í ferskum fiski eru kallaðar sérhæfðar skemmdarörverur (SSÖ), en lítið finnst í heimildum um áhrif undirkælingar á þær. Þó má vænta þess að geymsla á ferskum fiski við undirkælingu leiði til þess að skemmdarörverur nái sér seinna á strik eða drepist. Með öðrum orðum má segja að lengra geymsluþol náist með undirkælingu en með hefðbundinni kælingu (Emilía Martinsdóttir o.fl., 2004).

Vísindamenn hafa ekki verið sammála um áhrif undirkælingar og hvort þau séu neikvæð eða jákvæð m.t.t. geymslupols og gæða (Boyd o.fl., 1992; Lee og Toledo, 1984; Nowlan o.fl., 1975; Reed o.fl., 1983). Mismunur á milli fisktegunda, kæliaðferða, hversu mikil kælingin er og hverjir matsþættirnir eru gætu að hluta til orsakað misræmi í ályktunum mismunandi rannsóknaraðila um gildi undirkælingar.

2.2 Áhrif hitastigs og salts á eðlis- og efnafræðilegar breytingar í þorskvöðva

Kæling miðast við að lækka hitastig vöru þar til hún fer að frjósa. Vatn í fiskvöðva byrjar að frjósa við $-0,8 - (-1,1)^{\circ}\text{C}$, mismunandi eftir tegundum fisks og efnasamsetningu. Um 50% af magni vatns í þorskvöðva er frosið við $-1,8^{\circ}\text{C}$, um 76,5% við -5°C og um 89% við -20°C (Sikorski o.fl., 1976). Frostmark er lægra í vöðva en í hreinu vatni vegna uppleystra efna (jóna og salta) sem í vatninu eru (Chen, 1985b; Nilsson, 1994). Frostmarkið er hins vegar háð efnasamsetningu matvælisins og því getur hlutfall íss við ákveðið hitastig verið breytilegt eftir matvælum (Chen, 1985a). Ef frystihraði er hægur eða hitastig helst lengi við eða rétt undir frostmarki, má gera ráð fyrir að ískristallar verði stórir og fari stækkandi með tíma. Myndun stórra ískristalla getur valdið skemmdum á frumum sem leiðir til þess að ensím og hvarfefni losna, vatnsbindieiginleikar vöðvans skerðast og drip eykst. Þekkt er í frystingu að ef frystihraði er mikill myndast fyrst og fremst smáir ískristallar í vöðvanum og þannig má draga úr neikvæðum áhrifum frystingar (Love og Robertson, 1968).

Salt í kælimiðli, s.s. vökvaís, þjónar þeim tilgangi að lækka frostmark kælimiðilsins og ná þannig undirkælingu. Hins vegar getur salt og upptaka þess í fiskvöðva haft áhrif á eiginleika hans, þ.á.m. frostmark vöðvans, sem lækkar með hækkandi saltstyrk. Dæmi má nefna um niðurstöður rannsókna á íbót salts í kjöt. Vatn byrjaði að frjósa við $-0,8^{\circ}\text{C}$ í ósöltuðum vöðva, en eftir að 1% salti var bætt í vöðvann fraus vatn ekki fyrr en við $-1,5^{\circ}\text{C}$ og við $-4,2^{\circ}\text{C}$ við 4% saltstyrk (Miles o.fl., 1997). Gera má ráð fyrir sambærilegum breytingum þegar um fiskvöðva er að ræða. Aukinn saltstyrkur í vöðva hefur einnig áhrif á vatnsheldni vöðvans, sem eykst með vaxandi saltstyrk ($\leq 6\%$) (Offer and Knight, 1988). Við hefðbundna pæklun hefur saltstyrkur pækils og pæklunartími mikið að segja fyrir upptöku salts. Hærri styrkur salts í pækli leiðir til hraðari saltupptöku og með lengri pæklunartíma verður saltinnihald í vöðvanum hærra (Thorarinsdóttir o.fl., 2003).

Sýnt hefur verið fram á að bæði pæklun með salti og próteinum hafa marktæk áhrif á nýtingu eftir sprautun og að fosfat í pækli eitt og sér hafði ekki marktæk áhrif. Eftir pæklun

höfðu öll efnin áhrif á nýtingu, og þar hafði salt mest áhrif til hækkunar. (Guðný Guðmundsdóttir ofl., 2003, Esaiassen o.fl., 2005). Einnig sýndi rannsókn Esaiassen og féлага (2005) fram á að þæklun (með salti, fosfati, glúkósa, askorbati og sterkju) eykur einkennandi ferskleikabragð og -lykt af þorski, ásamt því að það minnkar geymslubragð og -lykt. (Esaiassen o.fl., 2005).

2.3 Ensím í fiskvöðva

Fiskur er gjarn á að skemmast þar sem að hann er með háa vatnsvirkni, hefur hlutlaust sýrustig og sjálfskljúfandi (autolytic) ensím eru til staðar í fiskvöðvanum. Skemmdir eru mjög háðar því hitastigi, sem fiskurinn er geymdur við. Skemmdir eru aðallega vegna skemmdarbaktería en geta einnig verið vegna ensíma (Sivertsvik o.fl., 2002). Ensím hafa meiri áhrif á geymsluþol en áður var talið. Þó svo að örverur séu ekki til staðar þá skemmist fiskvöðvi og hann verður óhæfur til neyslu. Sjálfskljúfandi ensím hafa mikil áhrif á það hvort óæskileg lyktar- og bragðefni myndist í ferskum fiski (Fletcher og Statham 1988a, Fletcher og Hodgson 1988b). Meðhöndlun fisks eykur einnig á breytingar vegna sjálfskljúfandi ensíma í kældum fiski. Sjálfskljúfandi ensím eru staðsett inn í himnubundnum bóllum sem rofna við hnjask. Þannig getur ensím og hvarfefni blandast saman og hvarf átt sér stað (Huss, 1995). Upphafsskref skemmdarferla í fiski geymdum á ís er vegna vatnsrofs, t.d. próteolysis, hvatta af innanfrumuensímum. Þannig myndast næringarefni sem að bakteríur geta nýtt sér (Busconi o.fl., 1989).

Almennt eru kæling og frysting aðferðir sem notaðar eru til að hægja á skemmdarferlum og lengja geymsluþol. Hvernig staðið er að ferlinu og hvert geymsluhitastig vörunnar er skiptir þó miklu máli. Hitastigsbilið -1 til -6°C er talið mjög krítískt með tilliti til óafturkræfra breytinga á matvælum og því talið óæskilegt að matvæli séu lengi við það hitastigsbil (Robinson, 1985; Sikorski o.fl., 1976). Þrátt fyrir að hitastigslækkun dragi úr vexti örvera, getur ísmyndun í vöðva leitt til aukinnar ensímvirkni á ákveðnu hitastigsbili. Skemmdir á frumhimnum vegna ísmyndunar verða til þess að aðgengi ensíma að hvarfefnum verður betra og styrkur þeirra í því vatni sem ófrosið er eykst. Það getur haft mismunandi áhrif eftir ensímum, t.a.m. aukið virkni þeirra og stöðugleika. Aukinn styrkur uppleystra efna getur einnig orsakað minni ensímvirkni, en salt getur t.d. haft hamlandi áhrif á ensímvirkni (Fennema o.fl., 1973; Huss, 1995). Ensímvirkni er háð styrk ensíma, auk styrkleika hvarfefna og myndefna og breytist því með geymslutíma eftir dauða (Kjaersgard and Jessen, 2003).

Ensímvirkni getur falið í sér niðurbrot á próteinum, fitu, Trímethylamín oxíð (TMAO), ATP og glýkógeni (Tafla 1). Áhrifin geta verið margvísleg, t.a.m. minni vatnsheldni, breytingar á pH, meyrara eða maukkenndara hold og breytingar á bragði. Meðal ensíma sem gera fiskhold meyrara eða maukkenndara eftir dauða eru cathepsin, kollagenasar, Ca²⁺-háðir próteinasar, alkalíniskir próteinasar, trypsín og chymotrypsin (Ashie and Simpson, 1996; Bremner, 1992; Jiang o.fl., 1992; Lindner o.fl., 1988; Makinodan o.fl., 1985; Yamashita and Konagaya, 1992). Margir próteasar hafa verið einangraðir úr fiskvöðva og hafa verið tengdir við mýkingu hans (Huss, 1995). Þessi ensím hafa mismunandi hlutverk í lifandi vef og hafa einnig mismunandi áhrif á breytingar í fiskholdi eftir dauða. Þau geta haft áhrif á skynræna og starfhæfa eiginleika þess (Kolodzejska og Sikorski, 1996).

Í samantekt Fennema o.fl. (1973) um áhrif undirkælingar á ensímvirkni kemur fram að niðurbrot glýkogens (myndun mjólkursýru) er talið aukast á hitastigsbilinu -2,5 til -6°C og niðurbrot orkuhárra fosfata (ATP, ADP, creatine phosphates) í fiskvöðva á bilinu -2 til -8°C. Niðurbrot próteina af völdum trypsíns og chymotrypsíns var talið minnka á hitastigsbilinu frá -4,5 til -17°C. Undirkæling hefur einnig áhrif á ensím sem valda niðurbroti á fitu. Vatnsrof á fosfólípíðum í þorskvöðva af völdum fosfólípasa hefur mælst fimm sinnum meira við -4°C en við -2,5°C (Lovern, 1962). Aðrar rannsóknir hafa sýnt að áhrif undirkælingar (-1 til -4°C) á myndun frírra fitusýranna (FFA) reyndust óveruleg miðað við geymslu fisks í ís (0°C) (Nowlan o.fl., 1975). Myndun frírra fitusýra getur einnig verið tilkomin vegna starfsemi lípasa og ensíma frá örverum (Sikorski and Kolakowski, 2000).

Niðurbrot próteina af völdum ensíma í peptíð og fríar amínósýrur getur einnig átt sér stað við undirkælingu. Magn frírra amínósýra hefur verið notað sem mælikvarði á niðurbrot í fiskvöðva við geymslu í frosti. Mælingar á lýsu (Hake / *Merluccius merluccius* L.) við -5°C, -12°C og -20°C sýndu að engar breytingar urðu við -20°C en aukning varð í magni ákveðinna amínósýra við -5°C, en magn annarra amínósýra minnkaði við -12°C. Skýringin var talin sú að við -5°C leiddi starfsemi peptíðasa til aukningar á fríum amínósýrum, en deamínasar og/eða decarboxylasar til lækkunar á magni þeirra við -12°C (Sotelo o.fl., 1995a).

Einangraðir hafa verið próteasar (protease I og II) í beinagrindarvöðva baulfisks (white croaker, *Micropogon operculais*), sem brjóta niður myosín og valda þannig mýkingu vöðva (Folco o.fl., 1984). Virkni mismunandi próteasa í *post mortem* vöðva fer eftir staðsetningu ensímsins. Virkinn er stýrð með mismunandi hvötum (activator) (aðalega afoxandi efnum og málmjónum) og hindrum. Slíkir hvatar og hindrar gætu truflað ensímmælingar (Kolodzejska og Sikorski, 1996).

Catepsin finnst í leysikornum (lysosome). Þessi flokkur ensíma hefur það hlutverk í lifandi vef að brjóta niður prótein þar sem að skemmdir hafa orðið. Þegar fiskvöðvi frýs eða verður fyrir hnjaski þá getur hinna leysikorna rofnað og ensímin lekið út. Helst er talið að Catepsín D og L hafi áhrif á fiskhold, þar sem að þau virka á mjög breiðu sýrustigsbili (Huss, 1995).

Tafla 1. Ensím í fiskvöðva sem hafa áhrif á eiginleika vöðvans (Huss, 1995)

Enzyme(s)	Substrate	Changes Encountered	Prevention/Inhibition
Glycolytic enzymes	Glycogen	- production of lactic acid, pH of tissue drops, loss of water-holding capacity in muscle - high temperature <i>rigor</i> may result in gaping	- fish should be allowed to pass through <i>rigor</i> at temperatures as close to 0°C as practically possible - pre- <i>rigor</i> stress must be avoided
Autolytic enzymes, involved in nucleotide breakdown	ATP ADP AMP IMP	- loss of fresh fish flavour, gradual production of bitterness with Hx (later stages)	- same as above - rough handling or crushing accelerates breakdown
Cathepsins	Proteins, peptides	- softening of tissue making processing difficult or impossible	- problem increased with rough handling during storage and discharge
Chymotrypsin, trypsin, carboxy-peptidases	Proteins, peptides	- autolysis of visceral cavity in pelagics (belly-bursting)	- problem increased with freezing/thawing or long-term chill storage
Calpain	Myofibrillar proteins	- softening, molt-induced softening in crustaceans	- removal of calcium thus preventing activation?
Collagenases	Connective tissue	- "gaping" of fillets - softening	- connective tissue degradation related to time and temperature of chilled storage
TMAO demethylase	TMAO	- formaldehyde-induced toughening of frozen gadoid fish	- store fish at temperature < -30°C - physical abuse and freezing/thawing accelerate formaldehyde-induced toughening

Hlutlausir (neutral) og alkalískir próteasar hafa áhrif á *post mortem* meyrni kjöts af landdýrum. Þetta ferli er aftur á móti óæskilegt í fiskvöðva, þar sem að gæði minnka. Calpain eða Calcium Activated Factor eru aðalvaldar þess að kjöt meyrnar. Þar sem að meyrnun er óæskileg í fiskholdi getur þetta haft slæm áhrif á gæði og áferð fisks. Það hefur þó ekki verið skýrt til hlítar hvernig þetta gerist í fiskvöðva. Þó svo að ljóst er það brýtur niður myosín í fiskvöðva þá er ferlið ekki þekkt til hlítar (Huss 1995).

Collagenasi brýtur niður bandvef, m.a. á milli vöðvafruma. Þegar fiskur er geymdur lengi við lágt hitastig, eða stutt við hátt hitastig, getur það orðið til þess að los myndist í vöðvanum (Huss 1995).

Tveir flokkar serínpróteasa hafa mikil áhrif á gæðarýrnun í fiskholdi: Hitavirkjaðir (heat activated) serínpróteasar og málmpróteasar (Kolodzejska og Sikorski, 1996).

Hitavirkjaðir serínpróteasar brjóta niður þungu myosinkeðjuna í fiskgelum. Innan hitavirkjaðra serínpróteasa er helst að nefna trypsínlíka próteasa, “multicatalytic” próteasa og aðra trypsínlíka próteasa. Trypsínlíkir próteasar finnast bæði í vöðvafrymi (sarcoplasm) og tengt vöðvatrefjum (myofibril). (Kolodzejska og Sikorski, 1996). “Multicatalytic” próteasi í Atlantshafslaxi (*Salmon salar*) hefur bæði trypsín- og chymotrypsínlíka virkni (Stoknes og Rustad, 1995).

Við mat á ensímvirkni hefur einnig verið stuðst við breytingar á magni hvarfefna (TMAO / ATP) og niðurbrotsefna (DMA, formaldehyde / IMP, Hx, Ino o.fl.). Þekkt aðferð til að meta geymsluþol og skemmdarferla af völdum örvera og ensíma er að mæla niðurbrotsefni TMAO (trimethyl amine oxide), sem er flæðistemprandi (osmoregulatory) efni sem finnst í mörgum beinfiskum. Trímethylamín (TMA) myndast við niðurbrot örvera á TMAO í fiskholdi en dímethýlamín (DMA) og formaldehýð (FA) af völdum ensíms (TMAO-asa). Formaldehýð eykur krosstengingar milli próteina í vöðva og veldur því að hann verður seigur og vatnsheldni hans minnkar. TMA hefur verið notað sem mælikvarði á geymsluþoli í ferskum fiski en DMA frekar til að meta breytingar í frosnum fiskvöðva, þar sem starfsemi örvera stöðvast við frystingu en starfsemi ensíma ekki. Hins vegar hefur verið sýnt fram á að myndun TMA er meiri rétt undir frostmarki (-3 til -5) en við -12 til -26°C. Ekki var hægt að skýra af hverju þessar breytingar áttu sér stað á hitastigsbili þar sem búist var við að örveruvöxtur hefði stöðvast (Castell o.fl., 1968; Sotelo o.fl., 1995b).

Svonefndur K-stuðull hefur verið notaður til að meta ensímvirkni og ferskleika en stuðullinn er reiknaður út frá styrkleika ATP og afurða sem verða til við niðurbrot þess (jafna 1).

$$K\% = \frac{[Ino] + [Hx]}{[ATP] + [ADP] + [AMP] + [IMP] + [Ino] + [Hx]} \times 100 \quad (1)$$

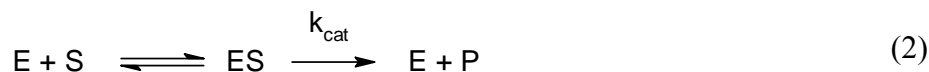
Til er einfaldari K-stuðull sem miðast við að mæla Inosine Monophosphate (IMP), Hypoxanthine (Hx) og inosine (Ino). K-stuðull hefur hins vegar ekki verið álitinn góður mælikvarði til að meta ferskleika þorsks við geymsluþolsmælingar, þar sem styrkur niðurbrotsefna er háður bæði ensímvirkni og örveruvexti (Huss, 1995).

Lækkun hitastigs við undirkælingu og mögulegar breytingar á efnainnihaldi, s.s. vegna saltupptöku geta haft áhrif á stöðugleika próteina. Niðurbrotsefni sem verða til við starfsemi ensíma og aukinn saltstyrkur geta valdið afmyndun á próteinum. Slík afmyndun getur t.d. komið fram í breyttum áferðareiginleikum og minni vatnsbindieiginleikum. Fríar fitusýrur geta bundist próteinum og stuðlað að því að próteinhneppi (aggregates) myndist, og fiskur verði seigari (Gill o.fl., 1979; Love, 1968). Myndun frírra amínósýra getur einnig haft áhrif á stöðugleika próteina, þar sem fríar amínósýrur geta bundist próteinum (Jiang o.fl., 1987). Aðrar breytingar sem verða á próteinum í frosnum fiskvöðva og geta stafað af starfsemi ensíma, eru tengingar próteina við formaldehýð, oxuð lípíð og myndun á brennisteinssbrúm (–S-S-tengjum). Reay (1933) sýndi fram á að afmyndun próteina í ýsu við frystingu væri mest á hitastigsbilinu -2 til -4°C. Vitað er að virkni ensíma, sem auka magn frírra fitusýra, eykst á hitastigsbili undirkælingar, en áhugavert er að skoða áhrif salts (NaCl) samhliða kælingu á virknina.

Af framangreindu er ljóst að bæði breytingar á hitastigi og efnainnihaldi fiskvöðva geta haft áhrif á ensímvirkni og aðrar breytingar sem mögulegar eru við undirkælingu. Til að meta áhrif undirkælingar á þætti er tengjast eðlis- og efnafræðilegum breytingum á vöðvanum, s.s. afleiðingum af aukinni ensímvirkni, má nota mismunandi mæliaðferðir. Afmyndun próteina og áhrif á eiginleika vöðvans má meta með mælingum á leysanleika próteina, rafdrætti, vatnsheldni og áferðarmælingum (Gill o.fl., 1979). Vatnsbindi- og vatnsheldnieiginleikar vöðvans, þ.e. hversu mikið hann bætir við sig í þyngd við kælingu í vökvaís og hversu vel hann heldur í heildarmagn vatns í vöðvanum, má meta með mismunandi aðferðum. Nota má einfaldar þyngdarmælingar, til að fylgjast með þyngdarbreytingum í gegnum vinnslu- og/eða kæliferilinn, hversu mikilli þyngd vöðvinn tapar eftir kælingu í vökvaís (drip) og við suðu (suðutap). Einnig er hægt að skoða hversu vel hann heldur í vatn undir þrýstingi (miðflóttaafskrafti), þ.e. vatnsheldnieiginleikar vöðvans metnir.

2.4 Mælingar á trypsínlíkri ensímvirkni

Hvarf með ensími gerist í tveimur meginskrefum þar sem að ensímið og hvarefnið bindast saman og brotnar svo að lokum niður í ensím og hvarfefni.



þar sem E er ensím, S er hvarfefni, ES ensím-hvarfefnis þyrping (complex), P er myndefni og k_{cat} er hraðafasti seinna skrefsins. Þegar hvarfefnisstyrkurinn verður nógu hár til að hvarfefnið bindst öllum ensímsameindum, þá verður seinna skrefið hraðatakmarkandi. Heildarhraði hvarfsins ræðst af því skrefi og aukning á hvarfefni hefur engin áhrif á hraða hvarfsins.

Almenn framsetning á hraðajöfnu hvarfsins er

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_{cat} [ES] \quad (3)$$

þar sem v er hraði hvarfsins (Voet og Voet, 2004).

Nota má mismunandi hvarfefni til að meta virkni mismunandi próteínasa, sem m.a. geta brotið niður bandvef og haft áhrif á áferð (Bjarni Ásgeirsson o.fl., 1989; Bjarni Ásgeirsson and Jón Bragi Bjarnason, 1991, 1993; Magnús Már Kristjánsson o.fl., 1995). Hægt er að nota nýsmíðuð hvarfefni til að mæla virkni ensíma. Grunnbygging þeirra eru amínósýrur eða stutt peptíð. Aukahópar eru hengdir á amínó- eða karboxýlenda peptíða. Þessir aukahópar geta gegnt ýmsum hlutverkum, m.a. til að koma litabreytingu (2-nítroanilíð) eða flúrljómun (7-amínó-4-metylcoumarin) fyrir í hvarfið, stýra hvarfgirni og/eða auka leysanleika hvarfefnisins. Þessi nýsmíðuðu hvarfefni búa yfir þeim kosti að þau geta verið mjög sértæk og hægt er að mæla samfellt ljósgleypnibreytingu. Þar sem að gleypnistuðull þeirra er hár er næmnin mikil. Hér var notað nýsmíðaða hvarfefnið Z-Gly-Pro-Arg-P-Nitroanilide sem er sérhæft til að greina trypsínlíka virkni.

Með því að fylgjast með gleypnibreytingu á tíma þá er hægt að reikna út virkni ensímsins á tímaeiningu

$$\frac{A}{t} = \frac{\varepsilon \times b \times c}{t} \quad (4)$$

þar sem A er gleypni, t er tími (mín), ε er eðlisgleypni ($M^{-1} \times cm^{-1}$), b geislagangur (cm) og c styrkur efnis (M).

Margföldunarstuðullinn, K, er fenginn út frá

$$K = \frac{V_T \times 100}{\varepsilon \times b \times V_{sýni}} \quad (5)$$

þar sem V_T er heildarmagn í kúvettu, ε er eðlisgleypni Z-Gly-Pro-Arg-P-Nitroanilide ($8.800 M^{-1} \times cm^{-1}$), b geislagangur kúvettu (1 cm) og $V_{sýni}$ magn sýnis. Til að fá virkni á rúmmálseiningu sýnis (U/mL) þá er K margfaldaður með breytingu á ljósgleypni.

$$U/mL = K \times \Delta A_{410} \quad (6)$$

Til að fá eðlisvirkni (U/mg prótein) þá þarf að taka tillit til próteinmagns (mg/mL) sýnis.

$$U / mg = \frac{U / mL}{\text{próteininnihald}(mg / mL)} \quad (7)$$

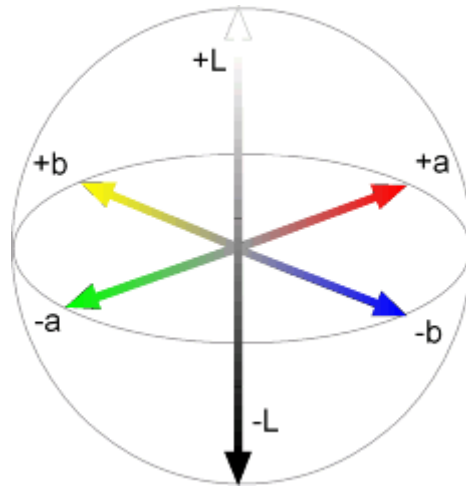
2.5 Litmælingar

Útlit fiskiflaka, þar á meðal litur, skiptir neytendur miklu máli. Quality Index Method (QIM) er gæðastuðulsaðferð til að meta ferskleika sjávarfangs. QIM tafla var sett upp fyrir fersk þorsklök með roði (Cardenas Bonilla o.fl., 2007). Þar var lit á holdi skipt upp í hvítt/gráleitt sem ferskast, en hann breytist yfir í að verða gul- og bleikleitur. Vandamálið við að meta lit nákvæmlega er að það er mjög huglægt mat og getur farið eftir birtuskilyrðum, stærð sýnis og litum í nágrenni. Einnig skynjar fólk liti á mismunandi hátt.

Litmælingar (colorimetry) hafa verið þróaðar til að komast hjá þessum breytileikum. Til að skilgreina lit þarf þrjá þætti, lit (hue), þéttleika (chroma) og styrk (value). Litur greinir t.d. grænan frá gulum o.s.frv., styrkur ljóssins lýsir því hversu ljós eða dökkur litur er og þéttleiki þess skýrir hversu ólíkur liturinn er frá gráum, t.d. pastelblár miðað við himinbláan. CIE-samtökin (International Commission on Illumination) hafa skilgreint staðlað kerfi til að staðsetja lit á hnitakerfi, kallað CIEL*a*b* kerfið (Marcus, 2000). Notaðir eru litakvarðar sem byggja á kenningu um gagnstæða liti, þar sem sagt er að litur getur ekki verið grænn og rauður eða blár og gulur á sama tíma. Því má nota eitt gildi til að lýsa grænu/rauðu og annað til að lýsa gulu/bláu. Tristilmus litmælingar, líkt og Minolta-mælir, byggir á að mæla lit líkt og augað í mannum skynjar liti. Augað skynjar þrjá liti (rauðan, grænan og bláan) og allir aðrir litir sem við skynjum eru blanda af þessum þremur grunnlitum. Tæki til litmælinga eru með þrjá skynjara, sem nema þessa liti svipað og augað í mannum. Í CIEL*a*b* kerfinu tákna L* þéttleika, a* grænan/rauðan lit og b* bláan/gulan lit (mynd 2.1) (Konica Minolta Photo Imaging).

Ljósmaelirinn samanstendur af ljósgjafa, þrem ljósmælum og búnaði sem les úr niðurstöðum. Þegar mæling er framkvæmd er linsa ljósmælis sett á yfirborð þess sem á að mæla, ljósgjafinn gefur frá sér ljós og svo mæla namar ljósmælisins ljós sem endurspeglast frá yfirborðinu.

Litabreyting milli tveggja punkta í litakerfinu er lengd beinnar línu á milli punktanna í hnitakerfinu, kallað ΔE . Þetta gildi lýsir þó ekki hver breytingin er.



Mynd 2.1. CIELab litakerfið, af <http://www.tasi.ac.uk/advice/creating/colour.html>

3 Framkvæmd

3.1 Hráefni og undirbúningur

3.1.1 Saltflæðitilraun

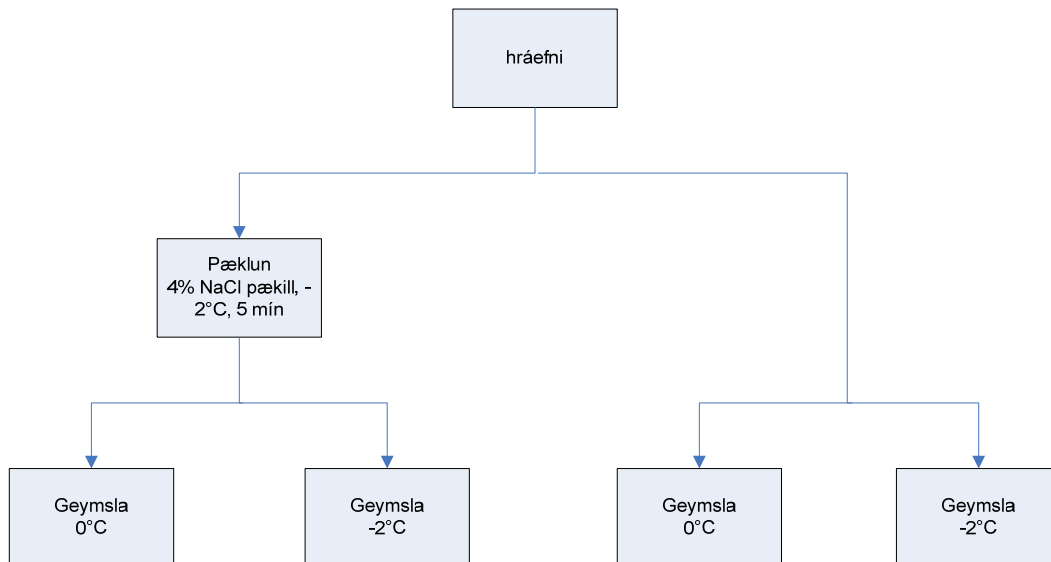
Til að athuga saltflæði í fiskvöðva við mismunandi saltstyrk voru útbúnir tveir styrkleikar af saltþækli, 4% og 8% (w/w) með því að leysa upp fint salt í köldu kranavatni. Þeir voru þar á eftir geymdir við það hitastig sem tilraunin fór fram við (-2°C, -0,5°C og 5°C) í kælihermum Mátis.

Roð- og beinlausir flakabitar af þorski (~130g) voru merktir og vigtaðir. Þeir voru settir í pækilinn í hlutfallinu 1:1. Sýni (þrjú flakabitar) var tekið af hráefni og eftir 5, 10, 20, 35, 55, 70 og 90 mín í pæklun við hitastigin þrjú. Þau voru vigtuð til að meta þyngdaraukningu. Vatns- og saltinnihald þeirra var ákvarðað á hverjum tímapunkti. Vatnsheldni var ákvörðuð í byrjun og í lok tilraunarinnar.

3.1.2 Geymslupólstilraun

Geymslupól roð- og beinlausra flakabita af þorski var skoðað við 0°C og -2°C. Flakabitarnir voru skornir í um 50 g bita. Annars vegar voru skoðaðir flakabitar, pæklaðir í 5 mín við -2°C í 4% saltþækli, og hins vegar ómeðhöndlaðir ferskir flakabitar (mynd 3.1).

Mælt var vatns-, salt-, TVN- og TMA- innihald. Örveruvöxtur og ensímvirkni var athugað. Vatnsheldni, drip og suðunýting var ákvörðuð og litur mældur.



Mynd 3.1. Uppsetning á geymsluþolstilraun.

3.2 Efnamælingar

3.2.1 Vatnsinnihald

Við vatnsmælingu voru sýni þurrkuð við 103°C í fjóra tíma. Vatnsinnihaldið er metið út frá massatapinu sem á sér stað. Allt vatn gufar hins vegar ekki upp við 103°C þar sem að hluti þess er svo kallað bundið vatn, sem er að mestu bundið próteinum. Að auki er það ekki aðeins vatn sem gufar upp, heldur einnig efni með lágt suðumark eins og stuttar fitusýrur (ISO 6496, 1999).

3.2.2 Saltinnihald

Saltmæling er framkvæmd með títrun með AgNO_3 . Sýni var blandað með vatni og svo sýrt og leysanleg klóríð (Cl^-) títruð með silfurnítrati (AgNO_3). Títrator frá Methrom var notaður til að ákvarða jafnvægispunkt (AOAC, 2000b, 2000).

3.2.3 Vatnsheldni

Geta fiskvöðva til að halda vatni, eða vatnsheldni, var mæld með því að beita miðflóttakrafti á fiskvöðva og athuga hversu mikið vatn hann missir. Sýni eru sett í sérútbúin sýnaglös sem hleypa vökva í gegnum sig, sem sett eru í skilvindu og látn spinna við 1400 rpm í 5 mín. (Eide o.fl, 1982).

3.2.4 TVN og TMA

Við mælingar á reikulum bösum (total volatile basic nitrogen, TVN-B), er magn efna eins og trímetylamín (TMA), dímetylamín DMA), ammoníaki og annarra reikulla köfnunarefnissambanda metið. Reikulir basar eru eimaðir yfir í bórsýru, sem er títruð til baka

með brennisteinssýru. (AOAC, 2000a). TMA er mælt með því að bæta við formaldehyði og basa í lausn, sem bindur ein- og tvígild amín. TMA verður þannig eina rok gjarna og mælanlega amínið.

3.3 Massabreytingar

Breyting á massa (Δm) var mæld með því að bera saman upphafsþyngd (m_0) við þyngd á tíma t (m_t):

$$\Delta m(\%) = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100 \quad (8)$$

Drip er skilgreint sem það vatn sem losnar úr fiskvöðva við geymslu.

$$\Delta m(\%) = \frac{m_0 - m_t}{m_0} \times 100 \quad (9)$$

Fiskurinn var gufusoðinn í ofni (Convostar, Convotherm Elektrogeräte GmbH, Eglfing, Þýskaland) við 95°C í 8 mín, og svo látinn kólna niður fyrir 25°C til þess að meta suðunýtingu sýnanna. Massi hans var vigtaður fyrir og eftir suðu og var suðunýting reiknuð sem hlutfall massa fyrir (m_f) og eftir (m_e) suðu:

$$\text{suðunýting}(\%) = \frac{m_f}{m_e} \times 100 \quad (10)$$

3.4 Litmæling

Litamæling var framkvæmd með Minolta litamæli (type CR-300, Japan). Hver flakabiti var mældur tvisvar. Liturinn er gefin í L, a og b gildum. Litamunur var metinn með ΔE , þar sem

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (11)$$

3.5 Örverumælingar

Til að meta heildarfjölda örvera voru sýni ræktuð á PCA agar við 22°C . Við þetta hitastig fæst góð vísbending um heildarfjölda kuldaþolinna baktería (American Public Health Association, 1992)

3.6 Ensímmælingar

3.6.1 Undirbúningur sýna

Fiskur var hakkaður og 20 mM Tris, 1 mM CaCl₂ buffer (pH 8,0) var bætt við í hlutfallinu 1:1 í matvinnslutæki í sýnið hakkað í u.þ.b. 7 sek. Lausnin var sett í skilvindu (Heraeus Biofuge stratus, ThermoElectron Corp, Þýskaland, Fixed angle rotor 8 ×50mL #3335) í 5 mín við 12.000 rpm og 4°C og flotinu var safnað saman. Þau sýni sem voru ekki virknimæld samdægurs voru fryst við -80°C.

3.6.2 Próteinmæling

Notað var Dye-Binding Kit (BioRad, Hercules, CA, USA) til að próteinmæla með aðferð Bradfords (1976). Bovine Serum Albumin (BSA) frá BioRad var notað sem staðall.

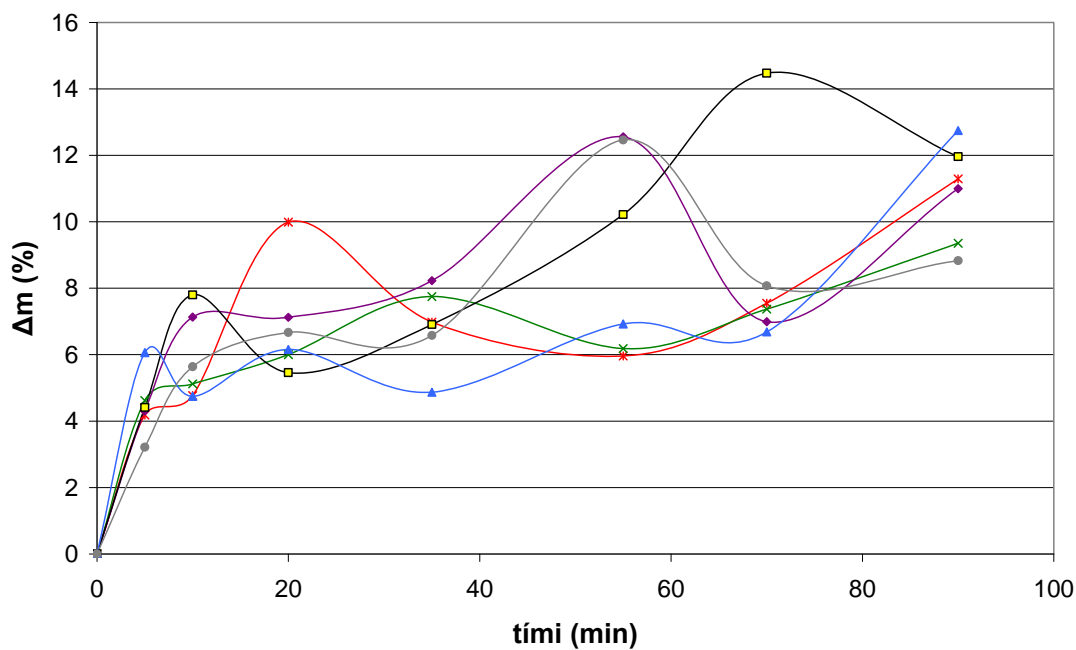
3.6.3 Virknimæling

Mæling á virku formi trypsína var gerð með sérhæfðu og nýsmíðuðu hvarfefninu Z-Gly-Pro-Arg-P-Nitroanilide acetate salti (SigmaAldrich, MD, USA). 890 µL af 20 mM Tris, 1 mM CaCl₂ buffer (pH 8,0), 10 µL af hvarfefni og 100µL af sýni var blandað saman í 1 mL plastkúvettu. Gleypnibreyting sýnanna var mæld í ljósmæli (Cary UV-Visible Spectrophotometer,) við 410 nm. Styrkur hvarfefnis var 12,5 mM og mælt var við stofuhita.

4 Niðurstöður

4.1 Saltflæðitilaun

Við þæklun jókst massi flakabita (mynd 4.1). Massaukningin var mest fyrstu mínúturnar. Eftir 5 mínútur hafði massinn aukist um 3,1-6,2% en eftir 10 mínútur um 4,8-7,8%.



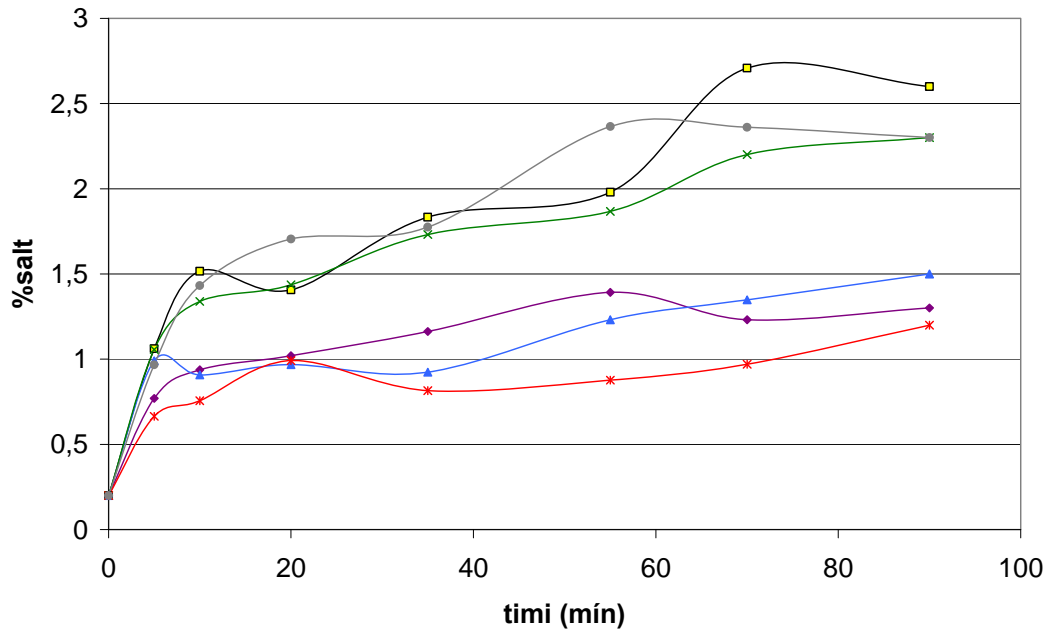
Mynd 4.1. Massabreyting (Δm) við þæklun sem fall af tíma. Flakabitar voru þæklaðir við -2°C í 4% (—▲—) og 8% (—●—) þækil, við $-0,5^{\circ}\text{C}$ við 4% (—◆—) og 8% (—■—) þækil og við 5°C í 4% (—*—) og 8% (—×—) þækil.

Saltinnihald jókst einnig með tíma (mynd 4.2). Saltupptaka í flakabitum var mest fyrstu 5-10 mínúturnar. Eftir 5 mín hafði saltinnihald þeirra aukist úr 0,2% í hræfninu upp í 0,7-0,8% þar sem notaður var 4% saltþækil en í 1,0-1,1% þegar notaður var 8% þækil. Eftir 90 mín var saltinnihald 1,2-1,5% þegar 4% þækil var notaður og 2,3-2,5% þegar 8% þækil var notaður.

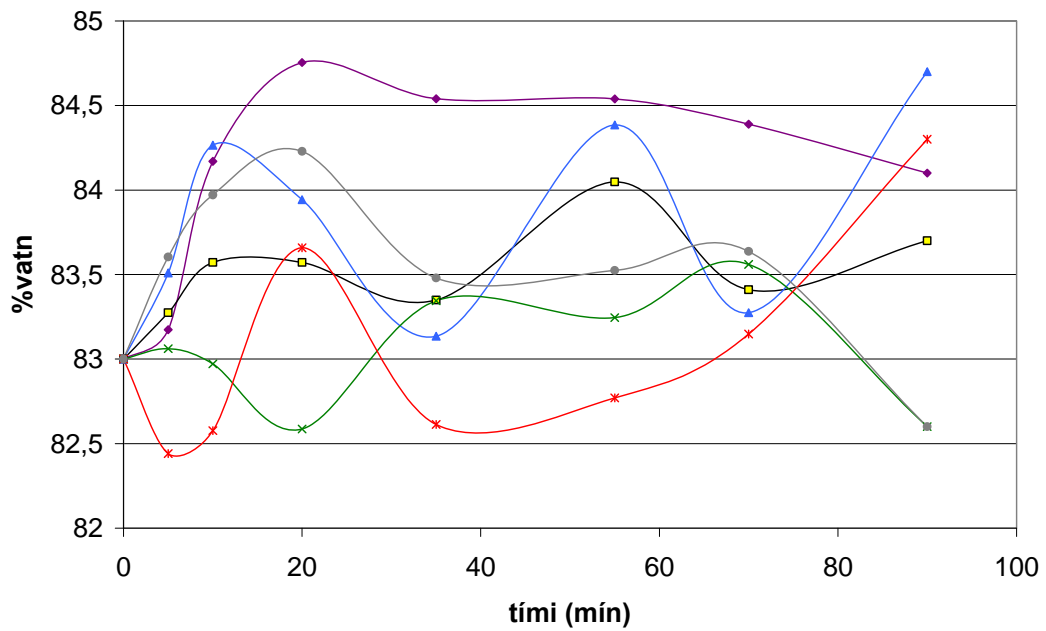
Styrkur þækils hafði meiri áhrif á saltupptöku en hitastigið. Því sterkari sem þækillinn var því hraðara var saltflæðið. Saltupptaka var þá minni við 5°C en -2°C .

Saltinnihald í þækli lækkaði eftir þæklun vegna upptöku salts í vöðvann. Minnst varð lækkunin við -2°C og mest við 5°C . Vatnsinnihald í þorskbitunum var breytilegt eftir tíma (mynd 4.3) og voru miklar sveiflur í því.

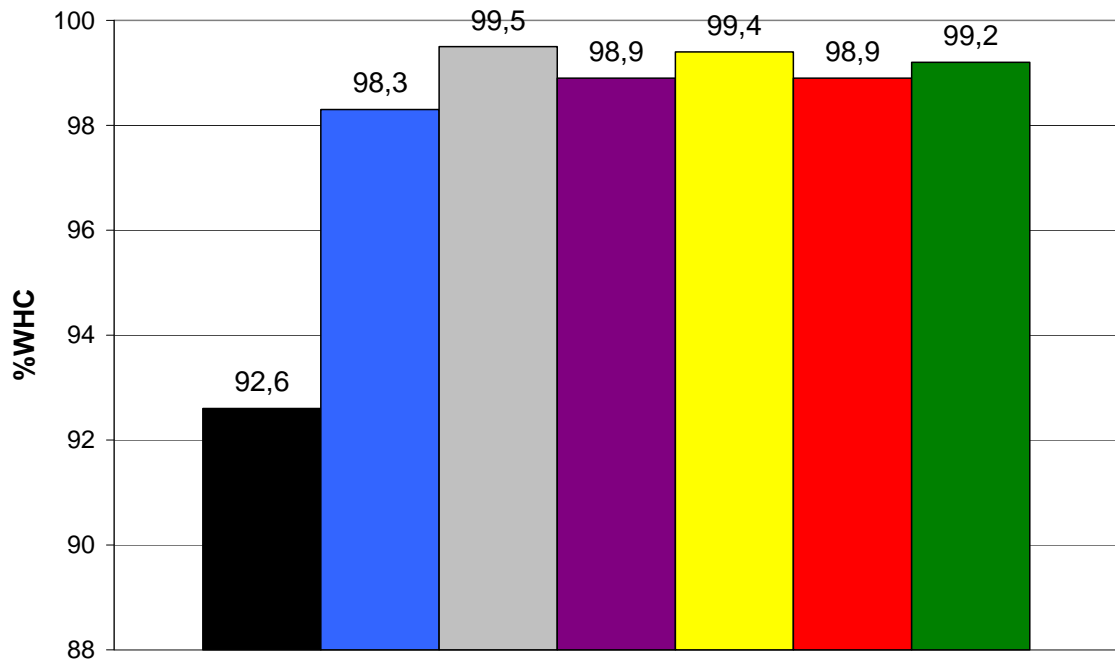
Vatnsheldni var upphaflega 92,6% en jókst eftir 90 mín þæklun (mynd 4.4). Vatnsheldnin var hærri eftir því sem saltinnihald í fiskinum var hærra. Ekki var munur á því við hvaða hitastig þæklunin fór fram.



Mynd 4.2. Saltinnihald sem fall af tíma Flakabitar voru pæklaðir við -2°C í 4% (—▲—) og 8% (—■—) pækil, við -0,5°C við 4%(—◆—) og 8% (—◻—) pækil og við 5°C í 4% (—*—) og 8% (—×—) pækil.



Mynd 4.3. Vatnsinnihald sem fall af tíma. Flakabitar voru pæklaðir við -2°C í 4% (—▲—) og 8% (—■—) pækil, við -0,5°C við 4%(—◆—) og 8% (—◻—) pækil og við 5°C í 4% (—*—) og 8% (—×—) pækil.



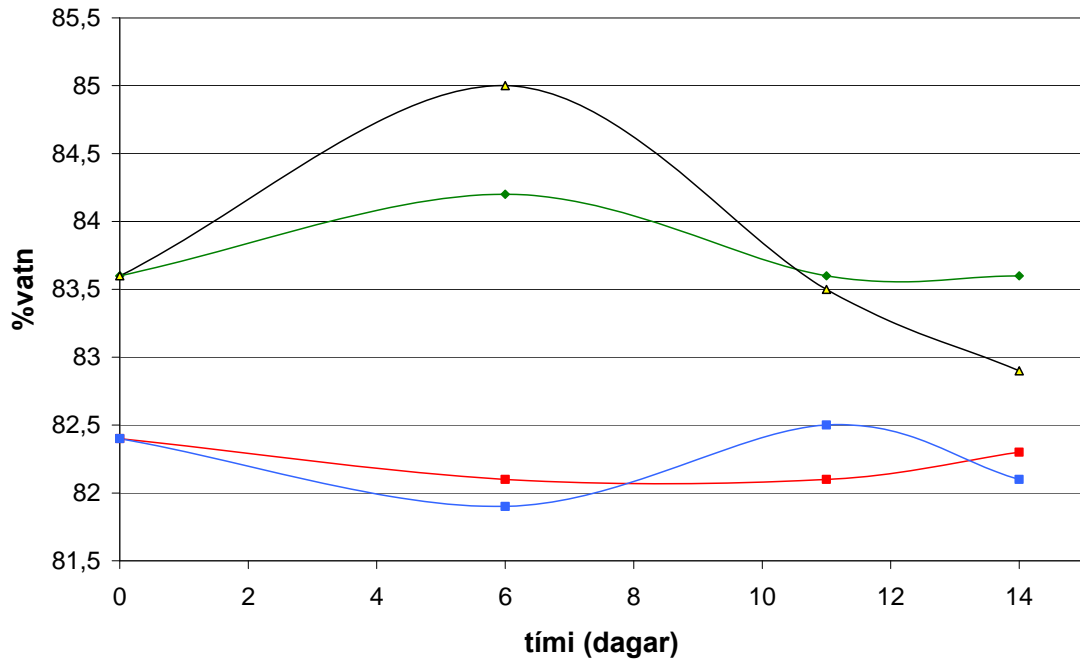
Mynd 4.4. Vatnsheldni í hráfni (svartur) ásamt flakabitum pæklaðum við -2°C í 4% (blár) og 8% (grár) pækli, við -0,5°C við 4%(fjólublár) og 8% (gulur) pækli og við 5°C í 4% (rauður) og 8% (grænn) pækli.

4.2 Geyslupólstilraun

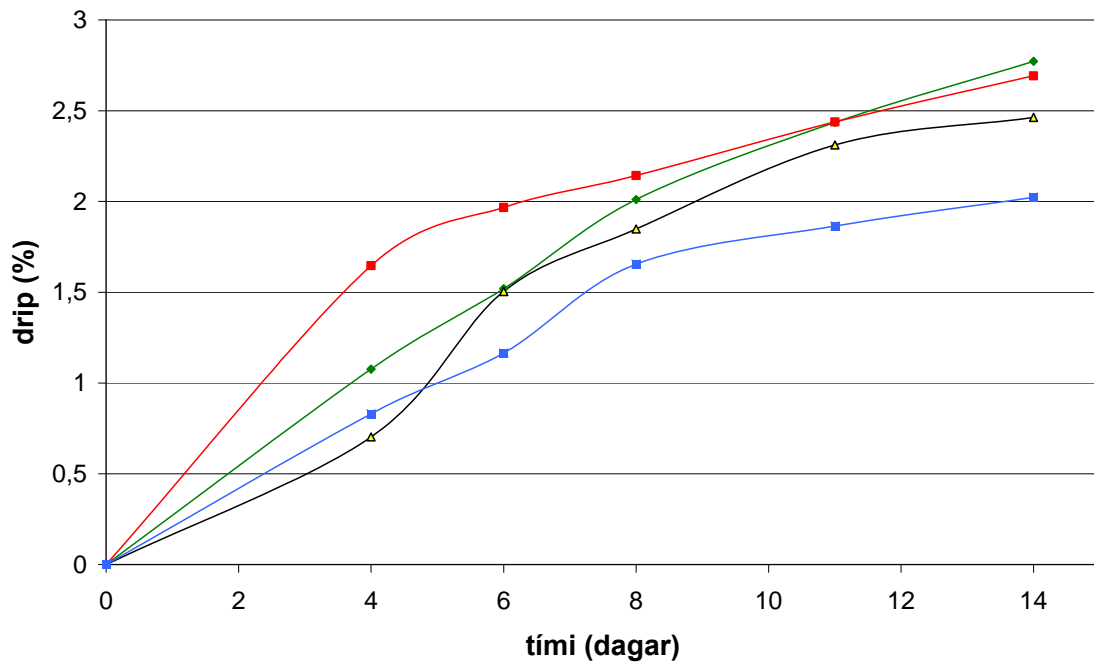
Saltinnihald jókst úr 0,2% í 0,5% við 5 mín pæklun við -2°C, en vatnsinnihald úr 82,5% í 83,5% (mynd 4.5). Við pæklunina jókst heildarnýtingin um 5,7%. Vatnsheldni jókst þá úr 87,6 í 89,1 % við pæklunina (mynd 4.8).

Vatnsinnihald jókst með tíma hjá pækluðu flakabitunum á degi 6, miðað við upphafsdag, og meira fyrir flakabita sem geymdir voru við -2°C. Vatnsinnihald þessara hópa fór svo minnkandi með geyslutíma. Hjá ómeðhöndluðum flakabitum aftur á móti minnkaði vatnsinnihald lítillega á geyslutímabilinu (mynd 4.5).

Drip jókst eftir því sem á leið á geyslutímann (mynd 4.6). Flakabitar sem voru geymdir við -2°C héldu vatni betur en þeir sem voru geymdir við 0°C. Minna drip var hjá ómeðhöndluðum bitum.



Mynd 4.5. Vatnsinnihald flakabita eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pækluð og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar.



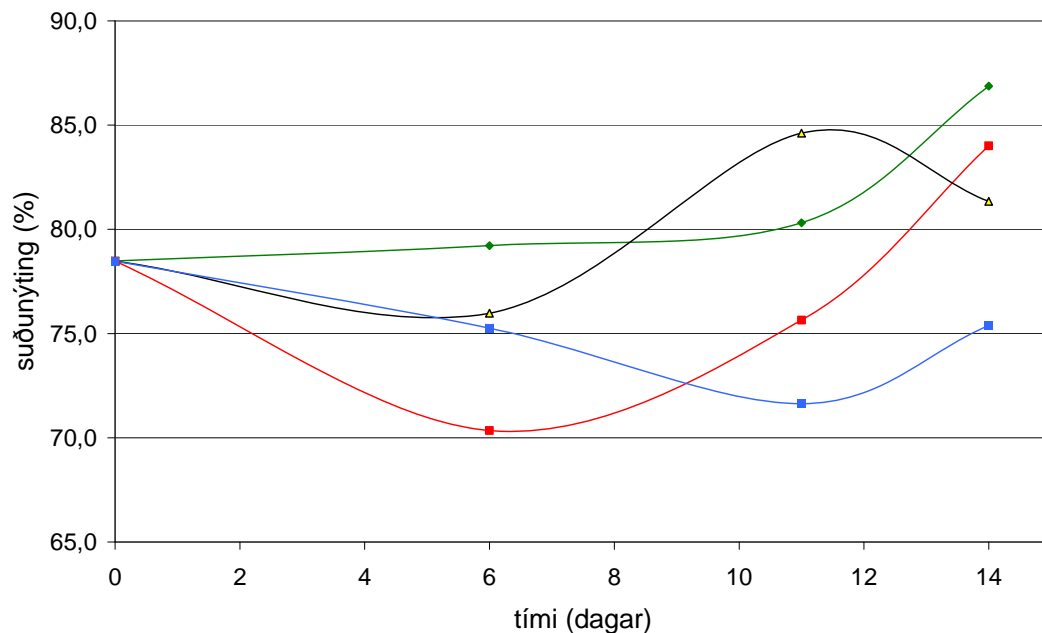
Mynd 4.6. Drip flakabita eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pækluð og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar.

Best var suðunýtingin þegar flakabitar voru þæklaðir (mynd 4.7). Aðeins voru notaðir tveir flakabitar til mælinga í suðunýtingu og því er nokkur óvissa í gildum (staðalfrávik 0,1-6,5).

Allir flakabitar voru ferskir á að líta á fyrsta degi óháð meðhöndlun. Þækluðu flakabitararnir voru þó með fallegri áferð, voru hvítari og safaríkari eftir suðu. Einnig fannst örlítið saltbragð af þeim.

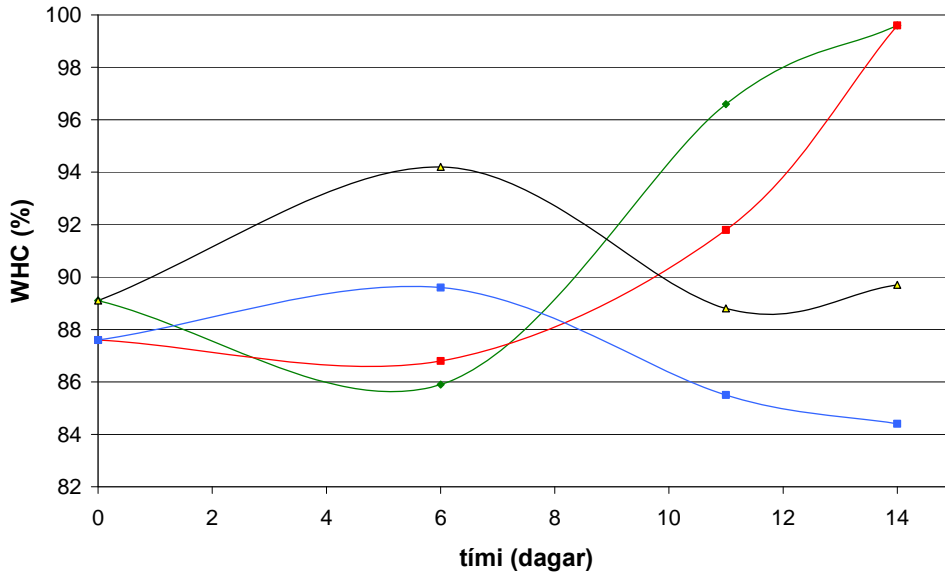
Á 6. degi litu bitarnir einnig allir vel út. Þó virtist vera meira los í þækluðu flakabitunum eftir suðu. Ómeðhöndlaðir flakabitar litu heillegastir út eftir suðu, en voru þó þurrari á að líta en sá þæklaði geymdur við sama hitastig. Þessi einkenni jukust með geymslutímanum.

A fjórtánda degi tilraunar hafði sterk skemmdarlykt myndast af flakabitum geymdum við 0°C og bitarnir voru orðnir gulleitir. Allir bitar voru þurrir á að líta eftir suðu óháð meðhöndlun.



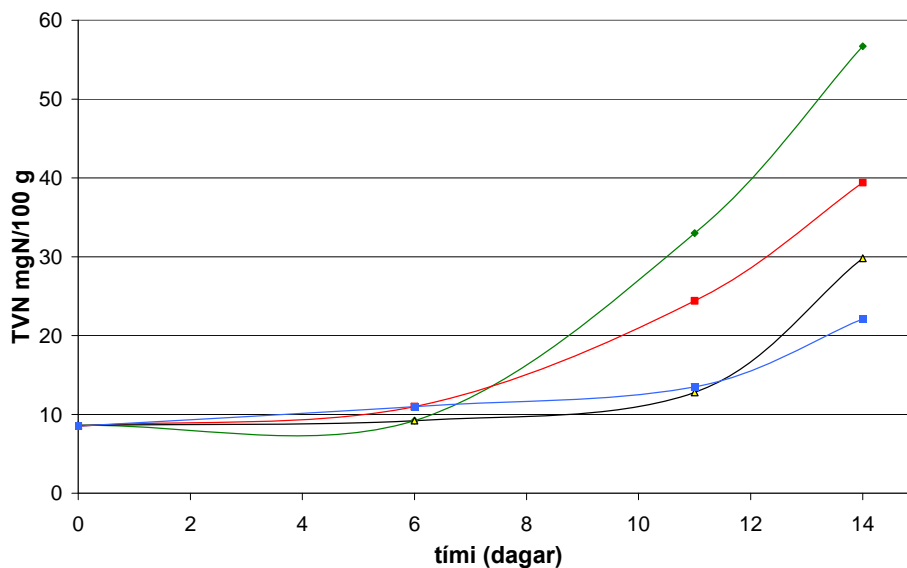
Mynd 4.7. Suðunýting flakabita eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (■) og -2°C (■) annars vegar og þækluð og geymd við 0°C (◆) og -2°C (▲) hins vegar.

Vatnsheldni jókst þegar flakabitar voru þæklaðir (mynd 4.8). Vatnsheldni jókst hjá flakabitum geymdum við -2°C á degi 6 en minnkaði síðan. Öfugt var farið hjá flakabitum geymdum við 0°C, en þá minnkaði vatnsheldnin til að byrja með en hækkaði svo á degi 11.

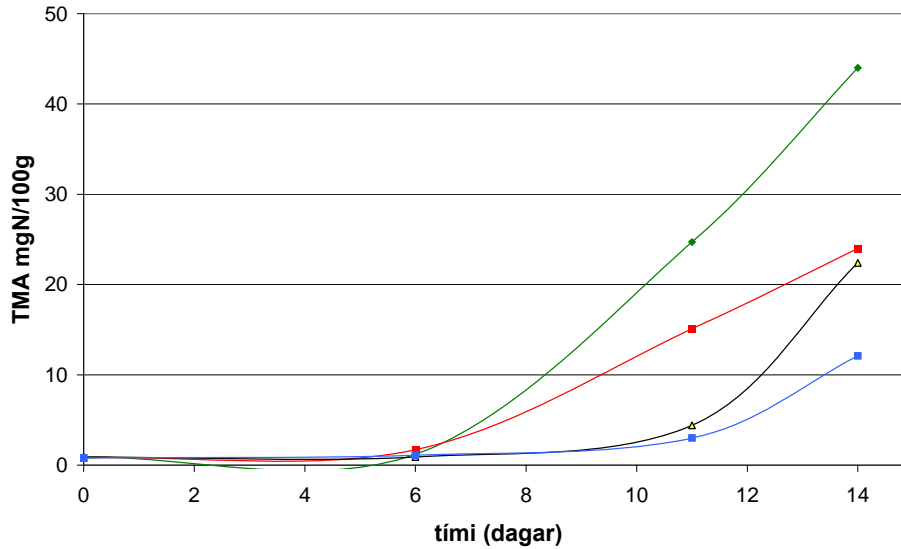


Mynd 4.8. Vatnsheldni flakabita eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pækluð og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar.

Magn TVN í hnakkastykkjum var svipað fyrir pæklaðan og ómeðhöndlaðan fisk á fyrsta degi tilraunar (mynd 4.9). Á 6. degi byrjaði magn TVN að aukast í hnakkastykkjum, geymdum við 0°C, en ekki fyrr en á 11. degi þegar hnakkastykki voru geymd við -2°C. Meira magn af TVN myndaðist í pækluðu bitunum yfir geymslutímann. Sama má segja um TMA myndun, sem var mjög lítil fyrstu 6 dagana. Á 6. degi fór magn TMA að aukast í fiski geymdum við 0°C, en ekki fyrr en á degi 10-11 hjá fiski geymdum við -2°C (mynd 4.10).

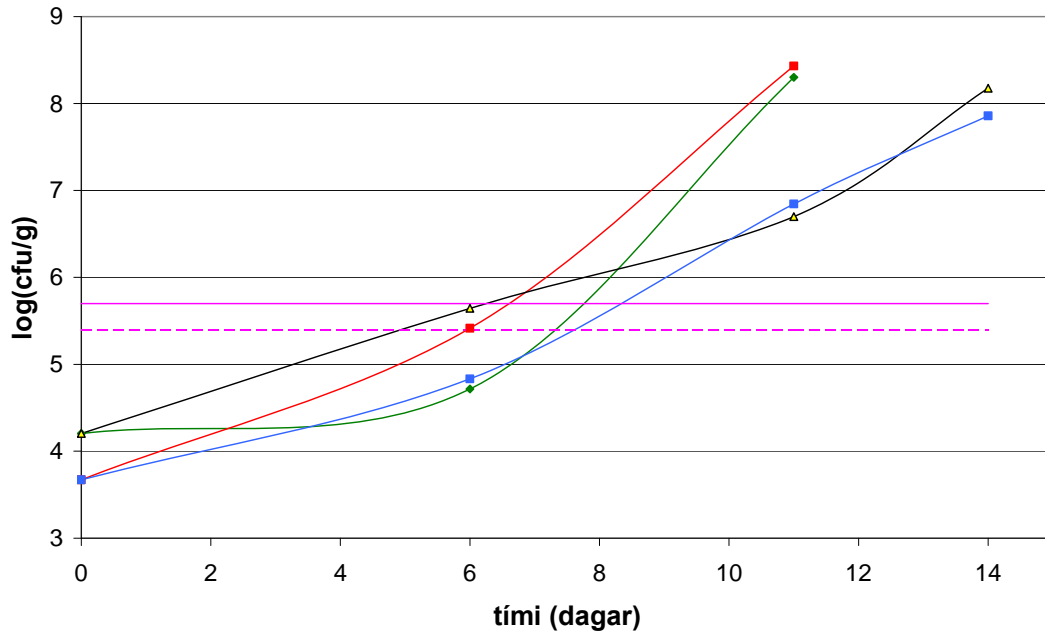


Mynd 4.9. TVN í hnakkastykkjum sem voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pækluð og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar.



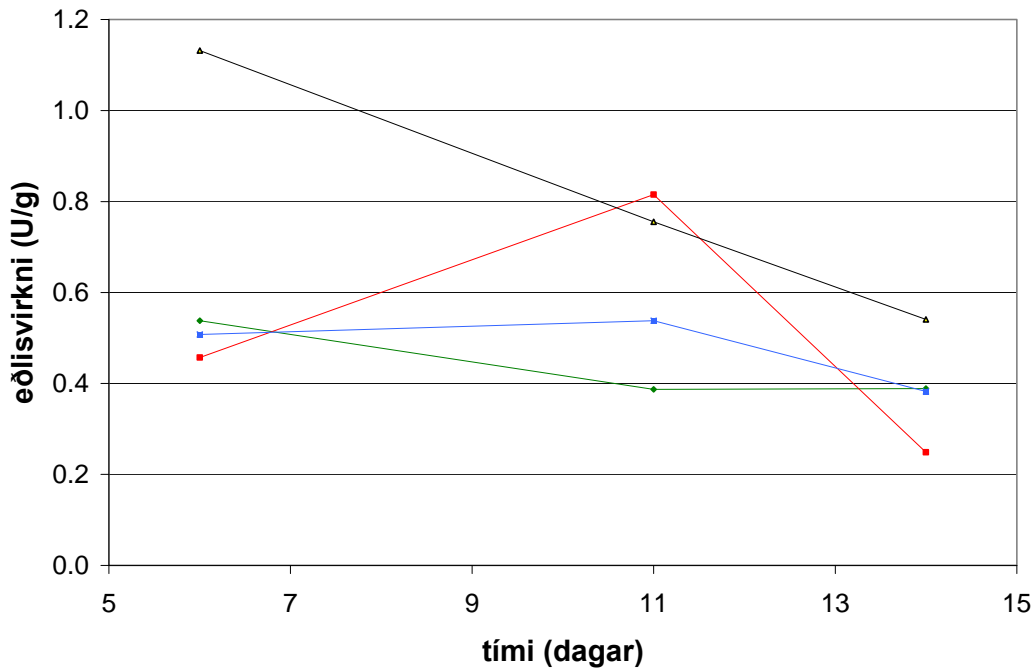
Mynd 4.10. TMA í hnakkastykkjum sem voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pæklud og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar.

Heildarfjöldi kuldaþolinna örvera jókst eftir því sem á leið tímenn (mynd 4.11). Örverufjöldi var hærri í pækludum en ómeðhöndluðum flakabitum. Eftir 11 daga var heildarfjöldi örvera komin í hámark ($2 - 3 \times 10^8$ cfu/g). Flakabitar, geymdir við -2°C náðu svipuðum örverufjölda á 14. degi. Samkvæmt viðmiðunarmörkum Hollustuverndar ríkisins (2002) þá telst hrár fiskur, hvort heldur heill eða í bitum, skemmdur þegar örverufjöldi við 22°C hefur náð $2,5-5 \times 10^5$ örverum/g sýni. Þessu marki náðu flakabitarnir í þessari tilraun eftir 6 daga geymslu við 0°C. Hægt er að áætla út frá niðurstöðum að flakabitar geymdir við -2°C nái því marki eftir u.þ.b. 8 daga. Við það að geyma flakabita við -2°C í stað 0°C jókst geymsluþolið þannig amk. um 2-3 daga.



Mynd 4.11. Logaritminn af örverufjölda (cfu/g) ræktað við 22°C eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (■) og -2°C (■) annars vegar og þækluð og geymd við 0°C (◆) og -2°C (▲) hins vegar. Bleiku línurnar sýna neðri (brotin lína) og efri (heil lína) viðmiðunarmörk. Ef sýni eru á milli viðmiðunarmarka teljast þau á gráu svæði en ef þau eru yfir þá er örverufræðilegt ástand þeirra slæmt.

Trypsínlík ensímvirkni var tiltölulega lág, frá 2×10^{-4} – 1,1 U/g prótein. Ómeðhöndlaður fiskur geymdur við 0°C var með lága virkni á degi 6 og 14 en meiri á 11. degi. Virknin var hæst hjá þækluðum flakabitum geymdum við -2°C en hinir hóparnir sýndu svipaða virkni (mynd 4.12). Ekki eru gildi fyrir fyrsta dag tilraunarinnar þar sem að aðferðarfræðin við ensímmælingu var þá enn í þróun og sýnin þóttu ekki hentug til virknimælinga.

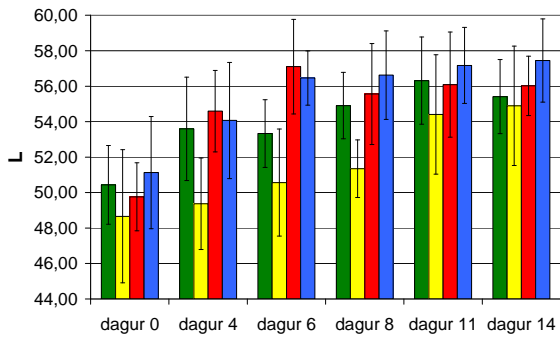


Mynd 4.12. Trypsínlik virkni í flakabítum eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pækluð og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar.

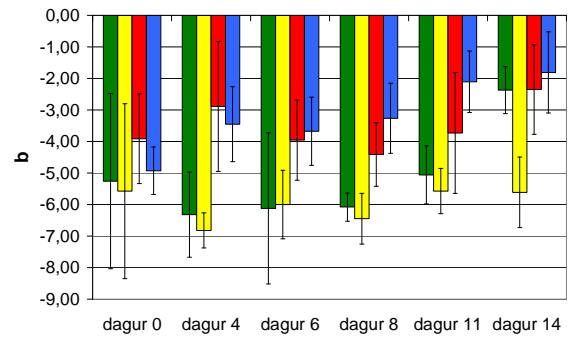
Við litmælingar kom í ljós að L-gildið (mynd 4.13) virðist ekki breytast mikið, hvorki með tíma né milli meðhöndlunar. Þó virtust pæklaðir flakabítar geymdir við -2°C dekkri en hinir hóparnir.

Mæld a-gildi benda til að litur á flakabítum yrði grænni þegar leið á tilraunina (mynd 4.14). Pæklaðir flakabítar geymdir við -2°C voru þó minna grænir en hinir hóparnir. Mesti munur milli pæklaðra og ómeðhöndlaðra hópa virtist liggja í b-gildinu. Pæklaðir flakabítar mældust minna gulir en þeir ómeðhöndluðu (mynd 4.15).

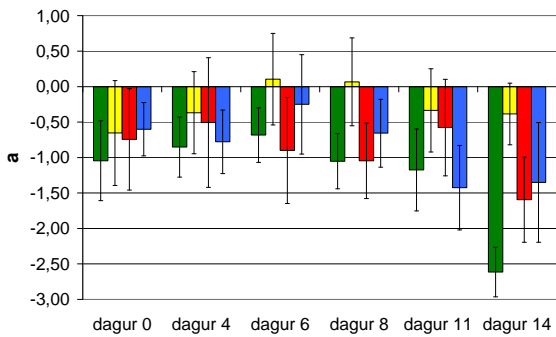
Litabreyting frá upphafspunkti, sem lýst er með ΔE , sýnir það að mesta litabreytingin var fyrstu fjóra dagana. Það gæti þó stafað að því að mæling fór fram á öðrum stað þá en hina dagana. Þó virðist vera að pæklaðir flakabítar breyti hægar um lit til að byrja með en ómeðhöndlaðir (mynd 4.16). Helsti munur á milli hópa á milli daga er milli ómeðhöndlaðra flakabíta geymda við 0°C og pæklaðra flakabíta geymda við -2°C. Einnig var mikill munur á ómeðhöndluðum og pækluðum flakabítum sem voru geymdir við -2°C.



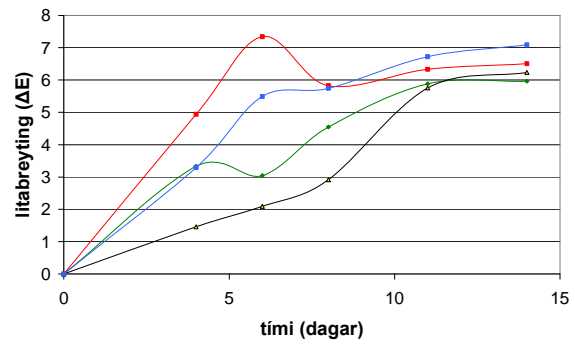
Mynd 4.13. L-gildi lýsir hversu dökkur (-gildi) eða ljós (+gildi) litur er. Pæklaðir flakabitar voru geymdir við 0°C (grænn) og -2°C (gulur) og ómeðhöndlaðu voru geymdir við 0°C (rauður) og -2°C (blár). Myndin sýnir meðaltal ± staðalfrávik.



Mynd 4.15. b-gildi lýsir hversu blár (-gildi) eða gulur (+gildi) litur er. Pæklaðir flakabitar voru geymdir við 0°C (grænn) og -2°C (gulur) og ómeðhöndlaðu voru geymdir við 0°C (rauður) og -2°C (blár). Myndin sýnir meðaltal ± staðalfrávik.



Mynd 4.14. a-gildi lýsir hversu grænn (-gildi) eða rauður (+gildi) litur er. Pæklaðir flakabitar voru geymdir við 0°C (grænn) og -2°C (gulur) og ómeðhöndlaðu voru geymdir við 0°C (rauður) og -2°C (blár). Myndin sýnir meðaltal ± staðalfrávik.



Mynd 4.16. Litabreyting (ΔE) frá upphafspunkti eftir tíma. Hnakkastykki voru ómeðhöndluð og geymd við 0°C (—■—) og -2°C (—■—) annars vegar og pækluð og geymd við 0°C (—◆—) og -2°C (—▲—) hins vegar. Myndin sýnir meðaltal ± staðalfrávik.

5 Umræða og lokaorð

Rannsóknin sýnir að styrkur þækils hafði meiri áhrif á hraða saltupptöku í flakabitum en hitastig við þæklun. Þá sýndi rannsóknin að saltupptaka var meiri þegar þæklað var við -2°C en 5°C . Við þæklun eykst massi (mynd 4.1), salt- (mynd 4.2) og vatnsinnihald (mynd 4.3) flakabitanna. Eftir 5 mín höfðu flakabitarnir náð 0,7 – 1,0% saltinnihaldi þegar notaður var 4% þækil en 1,0 - 1,1% saltinnihald þegar notaður var 8% þækill. Við þæklunina þá urðu sveiflur í bæði efna- og massabreytingum. Svo virðist sem að salt- og vatnsupptaka gerist í eins konar púlsum eða bylgjum. Ekki er vitað nákvæmlega hvers vegna þetta er en svipaðar sveiflur sjást í saltstyrk við söltun á síldarafurðum (Jón Þór Þorgeirsson o.fl., 2005). Nauðsynlegt er þó að skoða fleiri sýni en hér var gert til þess að staðfesta þessa kenningu tölfræðilega.

Í seinni tilrauninni var áhugi á því að skoða geymslupól á ómeðhöndluðum flakabitum annars vegar og flakabitum með 0,6% saltinnihald hins vegar. Út frá fyrri þæklunartilrauninni var ákveðið að láta fisk í 4% þækil í 5 mín við -2°C til að ná þessu marki. Eftir efnamælingar kom í ljós að flakabitarnir náðu 0,5% saltinnihaldi. Hugsanlegar ástæður þess að saltstyrkur var ekki hærri er að þækill hafi ekki verið jafn sterkur og í fyrri tilrauninni, stærð fiskbitanna hafi skipt meira máli eða að þæklunartími hafi verið minni. Þækluðu fiskbitarnir reyndust einnig hafa fallett áferð og vera safaríkari eftir suðu miðað við ómeðhöndluðu hnakkastykkin (Viðauki 3). Einnig fannst örlítið saltbragð af þeim.

Vatnsinnihald í þækluðum bitum jókst eftir fyrsta dag (mynd 4.5). Þetta getur verið vegna þess að fiskurinn hafi ekki verið búinn að jafna sig eftir þæklun og allt vatn ekki búíð að dreifast um vöðvann þegar efnamælingar voru framkvæmdar.

Drip var minna hjá fiski geymdum við -2°C en við 0°C . Þetta bendir til þess að vatnið í vöðvanum hafi ekki frosið við geymsluna. Ef það hefði frosið hefði mátt búast við að ískristallar sem mynduðust hefðu skemmt vöðva. Þannig hefði drip aukist og vatnsheldni minnkað.

Mælingar á fjöldi örvera (mynd 4.11) og magn reikulla basa, TVN og TMA (mynd 4.9 og 4.10) bentu til að geymslupól aukist um 3-4 daga þegar fiskur er geymdur við -2°C frekar en 0°C . Þetta kom einnig heim og saman við gróft mat á bitum við mat á suðunýtingu (Viðauki 3). Bitar geymdir við lægra hitastigið höfðu einnig sterkari ferskleikaeinkenni eftir 6 og 11 daga en bitar geymdir við 0°C .

Við tilraunina var fyrsta athugun á ensímvirkni í ofurkældum fiskvöðva. Niðurstöður á trypsínlíkri ensímvirkni bendir til þess að munur sé á virkninni eftir geymsluhitastigi. Áhugavert væri að skoða betur ensímvirkni við mismunandi geymsluhitastig og meðhöndlun í frekari rannsóknum.

6 Heimildir

- American Public Health Association (APHA), 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3. ed.
- AOAC 17th ed 2000 920.03.
- AOAC 17th ed. 2000b no 976.18.
- Ashie, I. N. A., and Simpson, B. K., 1996. Application of high hydrostatic pressure to control enzyme related fresh seafood texture deterioration. *Food Research International* 29, 569-575.
- Boyd, L. C., Green, D. P., and Lepors, L. A., 1992. Quality Changes of Pond-Raised Hybrid Striped Bass During Chillpack and Refrigerated Storage. *Journal of Food Science* 57, 59-62.
- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254.
- Bremner, H. A., 1992. Fish flesh structure and the role of collagen - its postmortem aspects and implications for fish processing. In "Developments in Food Science. Quality Assurance in the fish industry." (H. H. Huss, M. Jakobsen and J. Liston, eds.), pp. 39-62 (as cited by Ashie and Simpson, 1996. Elsevier Science Publishers.
- Bjarni Ásgeirsson, Jay W. Fox, and Jón Bragi Bjarnason, 1989. Purification and characterisation of trypsin from the poikilotherm *Gadus morhua*. *European Journal of Biochemistry* 180, 85-94.
- Bjarni Ásgeirsson, and Jón Bragi Bjarnason , 1991. Structural and kinetic properties of chymotrypsin from Atlantic cod (*Gadus morhua*). Comparison with bovine chymotrypsin. *Comparative Biochemistry and Physiology* 99B, 327-335.
- Busconi, L., Folco, E.J., Martone, C.B., Sanchez, J.J., 1989. Postmortem changes in cytoskeletal elements of fish muscle. *Journal of Food Biochemistry*. 13, 443-451.
- Cardenas Bonilla, Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E, 2007. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. *Food Control*, 18, 352-358.
- Castell, C. H., Bishop, D. M., and Neal, W. E., 1968. Production of trimethylamine in frozen cod muscle. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 25, 921-933.
- Chen, C. S., 1985a. Thermodynamic analysis of the freezing and thawing of foods: enthalpy and apparent specific heat. *Journal of Food Science* 50, 1158-1162.
- Chen, C. S., 1985b. Thermodynamic analysis of the freezing and thawing of foods: ice content and Mollier diagram. *Journal of Food Science* 50, 1163-1166.

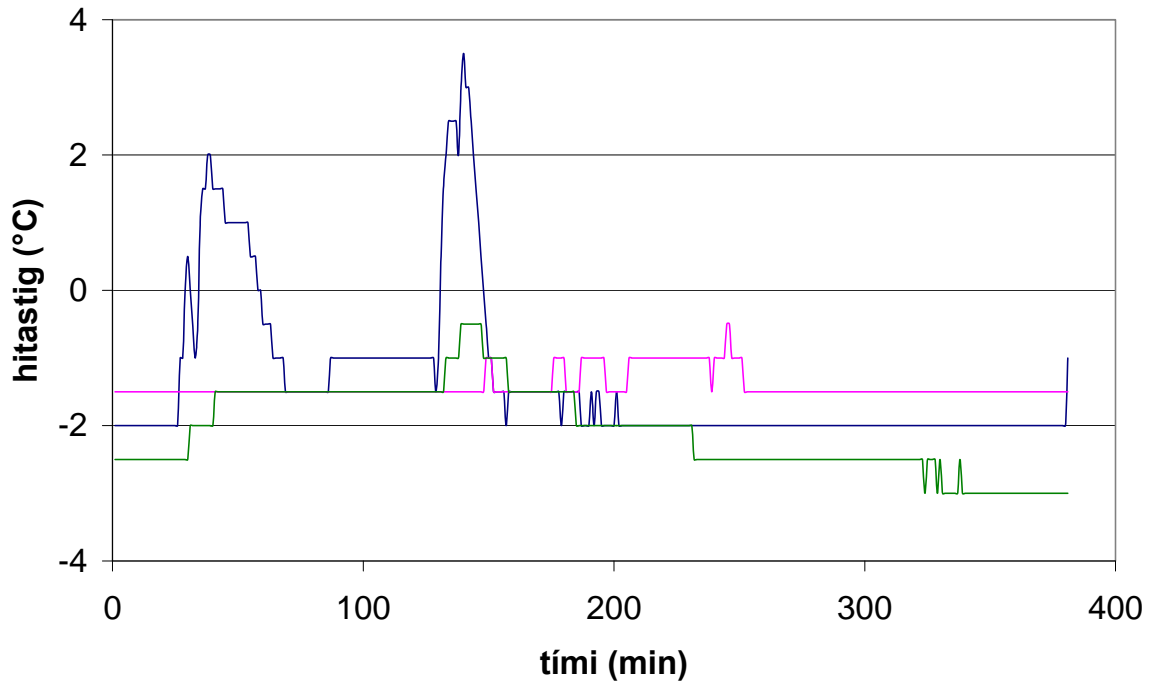
- Eide, O., Borresen, T., and Strom, T., 1982. Minced fish production from capelin (*Mallotus villosus*). A new method for gutting, skinning and removal of fat from small fatty fish species. *Journal of Food Science* 47, 347-349.
- Emilía Martinsdóttir, Birna Guðbjörnsdóttir, Hélène L. Lauzon, Guðrún Ólafsdóttir, Þorvaldur Þóroddsson, Soffía V. Tryggvadóttir, and Arnarsson, G. Ö., 2004. "Áhrif roðkælingar á gæði fiskflaka." Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins, Reykjavík.
- Esaiassen, M., Østli, J., Joensen, S., Prytz, K., Olsen, J.V., Carlehög, M., Elvevoll, E., Richardsen, R., 2005. Brining of cod fillets: effects of phosphate, salt, glucose, ascorbate and starch on yield, sensory quality and consumers liking. *LWT*. 38, 641-649.
- Fennema, O. R., Powrie, W. D., and Marth, E. H., 1973. 4-6.2 Kinetics of Enzymic Reactions in the frozen State. In "Low-temperature preservation of foods and living matter", pp. 217-239. Marcel Dekker INC., New York.
- Fletcher, G.C., Hodgson, J.A., 1988a. Shelf-life of Sterile Snapper (*Chrysophrys auratus*). *Journal of Food Science*. 53(5), 1327-1332.
- Fletcher, G.C., Statham, J.A., 1988b. Shelf-life of Sterile Yellow-eyed Mullet (*Aldricetta forsteri*) at 4°C. *Journal of Food Science*, 53(4), 1030-1035.
- Folco, E.J., Busconi, L., Martone, C., Trucco, R.E., Sánchez, J.J., 1984. Action of two alkaline proteases and a trypsin inhibitor from white croaker skeletal muscle (*Micropogon opercularis*) in the degradation of myofibrillar proteins. *FEBS Letters*. 176(1), 215-219.
- Gill, T. A., Keith, R. A., and Smith Lall, B., 1979. Textural deterioration of red hake and haddock muscle in frozen storage as related to chemical parameters and changes in the myofibrillar proteins. *Journal of Food Science* 44, 661-667.
- Guðný Guðmundsdóttir, Kristín Anna Þórarinsdóttir, Sigurjón Arason, 2003. Guðjón Þorkelsson. Léttisöltun, stöðugleiki og nýting frosinna afurða. Tilraun III. Áhrif af notkun fosfats og fiskpróteina (þorskdufts) við sprautusöltun og þæklun. Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins, Reykjavík. Rf-skýrsla 09-03.
- Hollustuvernd ríkisins – Heilbrigðiseftirlit sveitarfélaga, 2002. Vinnuhandbók fyrir örverurannsóknir á matvælum og neysluvatni. Af <http://www.ust.is/media/ljosmyndir/matvaeli/vinnuhandbok.pdf> [skoðað 10. ágúst 2006].
- Huss, H. H., ed., 1995. "Quality and quality changes in fresh fish" pp. 1-195. Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO), Rome.
- ISO 6496 1999.
- Jiang, S. T., Tsao, C. Y., and Lee, T. C., 1987. Effect of free amino acids on the denaturation of mackerel myofibrillar proteins in vitro during frozen storage at -20 degree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35, 28-33.
- Jón Þór Þorgeirsson, Irek Klonowski, Sigurjón Arason, Sindri Sigurðsson, Kristín A. Þórarinsdóttir, 2005. Flæðisöltun síldarafurða. Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins.

- Kjaersgard, I. V. H., and Jessen, F., 2003. Proteome analysis elucidating post-mortem changes in cod (*Gadus morhua*) muscle proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 3985-3991.
- Kolodzieska, I., Sikorski, Z.E., 1996. Neutral and alkaline muscle proteases of marine fish and invertebrates. A review. *Journal of Food Biochemistry*. 20, 349-363.
- Konica Minolta Photo Imaging U.S.A., Colorimetry: How to Measure Color Differences. Af <http://www.photonics.com/directory/hb/pdf/pg046.PDF> [skoðað 7. september 2006].
- Lee, C. M., and Toledo, R. T., 1984. Comparison of Shelf-Life and Quality of Mullet Stored At Zero and Subzero Temperature. *Journal of Food Science* 49, 317-322.
- Lindner, P., Angel, S., Weinberg, Z. G., and Granit, R., 1988. Factors inducing mushiness in stored prawns. *Food Chemistry* 29, 119-132 (as cited by Ashie and Simpson, 1996).
- Makinodan, Y., Toyohara, H., and Niwa, W., 1985. Implication of muscle alkaline proteinase in the textural degradation of fish meat gel. *Journal of Food Science* 50, 1351-1355 (as cited by Ashie and Simpson, 1996).
- Magnús Már Kristjánsson, Sigrún Guðmundsdóttir, Jay W. Fox, and Jón Bragi Bjarnason, 1995. Characterization of a collagenolytic serine proteinase from the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 110B, 707-717.
- Love, R. M., 1968. Ice formation in frozen muscle. In "Low temperature biology of foodstuffs" (J. Hawthorn and E. J. Rolfe, eds.), pp. 105-124. Pergamon Press, Oxford.
- Marcus, R.T., 2000. Colorimetry. CRC Press LLC. [af <http://www.autex.spb.ru/download/wavelet/books/sensor/CH58.PDF>, skoðað 23. nóvember 2006].
- Miles, C.A., Mayer, Z., Morley, M.J., Houška, M., 1997. Estimating the initial freezing point of foods from composition data. *International Journal of Food Science and Technology*. 32, 389-400.
- Morgunblaðið – Úr verinu, 2003. Umbýlting í landvinnslu. *Morgunblaðið*, 20. nóvember, bls, C2 – C3.
- Nilsson, K., 1994. "Quality of frozen rainbow trout. Effects of different freezing and thawing treatments." Rep. No. No. 610. Dep. of Food Sci., Chalmers Univ. of Tech., Goeteborg, Sweden, Goeteborg, Sweden.
- Nowlan, S. S., Dyer, W. J., and Keith, R. A., 1975. Temperature and deteriorative changes in postrigor cod muscle stored up to 14 days in the superchill range, -1 to -4°C. *Journal of Fisheries Research Board of Canada* 32, 1595-1605.
- Offer, G., and Knight, P., 1988. The structural basis of water-holding in meat. In "Developments in meat science 4" (R. Lawrie, ed.), pp. 63-243. Elsevier, London.
- Reay, G. A., and Shewan, J. M., 1949. The spoilage of fish and its preservation by chilling. *Advances in Food Research* 2, 343 (as cited by Sotelo, Gallardo et al. 1995).

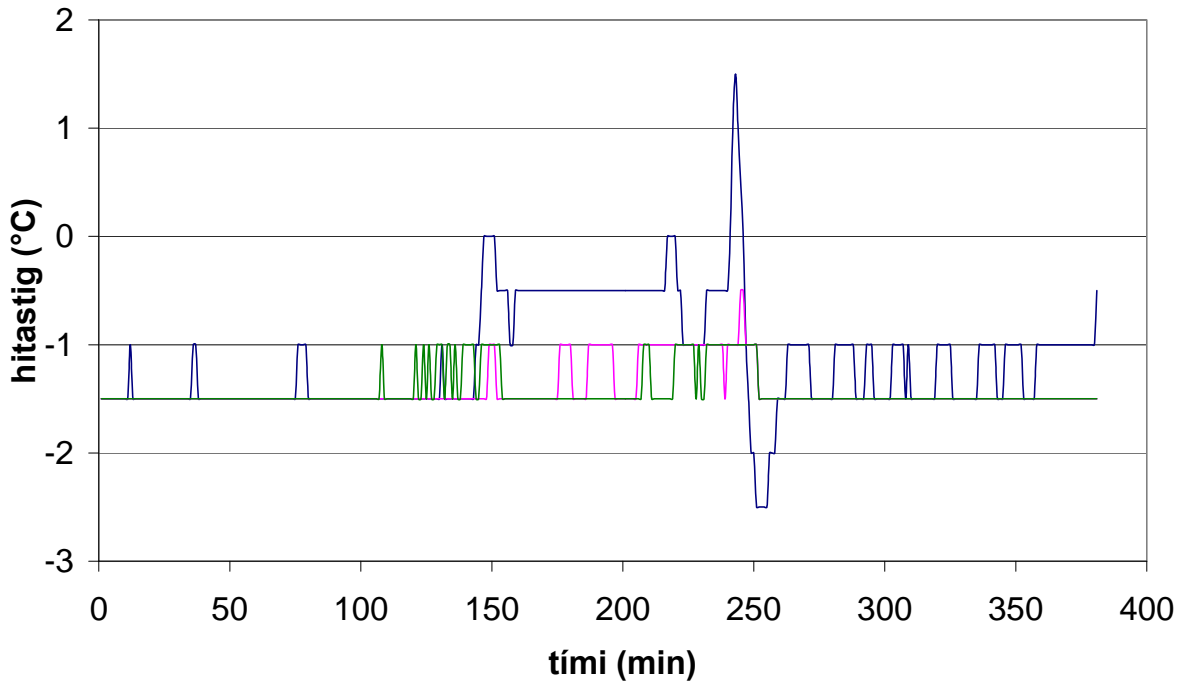
- Reed, R. J., Ammerman, G. R., and Chen, T. C., 1983. Chillpack Studies On Farm-Raised Channel Catfish. *Journal of Food Science* 48, 311-312.
- Robinson, R. K., ed., 1985. "Microbiology of frozen food," pp. 1-290. Elsevier Applied Science Publishers Ltd., England.
- Sikorski, Z.E., Pan, B.S., 1994. The involvement of Proteins and Nonprotein Nitrogen in Postmortem Changes in Seafoods. *Í*: Z.E. Sikorski, B.S. Pan, F. Shahidi, eds. *Seafood Proteins*, 71-83.
- Sikorski, Z. E., Kostuch, S., and Olley, J., 1976. Protein changes in frozen fish. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 8, 97-129.
- Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K., Rosnes, J.T., 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. Review. *International Journal of Food Science and Technology*. 37, 107-127.
- Sotelo, C. G., Gallardo, J. M., Pineiro, C., and Perezmartin, R., 1995b. Trimethylamine Oxide and Derived Compounds Changes During Frozen Storage of Hake (Merluccius-Merluccius). *Food Chemistry* 53, 61-65.
- Stoknes, I., Rustad, T., 1995. Purification and characterization of a multicatalytic proteinase from Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 111B, 587-596.
- TASI, Technical Advisory Service for Imaging,
<http://www.tasi.ac.uk/advice/creating/colour.html>, [skođađ 9. ágúst 2006].
- Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., and Thorkelsson, G., 2003. The effects of light salting on physicochemical characteristics of frozen cod (*Gadus morhua*) fillets. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 11, 287-301.
- Voet, D., Voet, J.G., 2004. Biochemistry. 3rd ed. USA: John Wiley & Sons, Inc. 496-546.
- Yamashita, M., and Konagaya, S., 1992. Differentiation and localization of catheptic proteinases responsible for extensive proteolysis of mature chum salmon muscle (*Oncorhynchus keta*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 103B, 999-1003 (as cited by Ashie and Simpson, 1996).

Viðauki 1. Hitastigsprófill í kælihermum í saltflæðitilraun

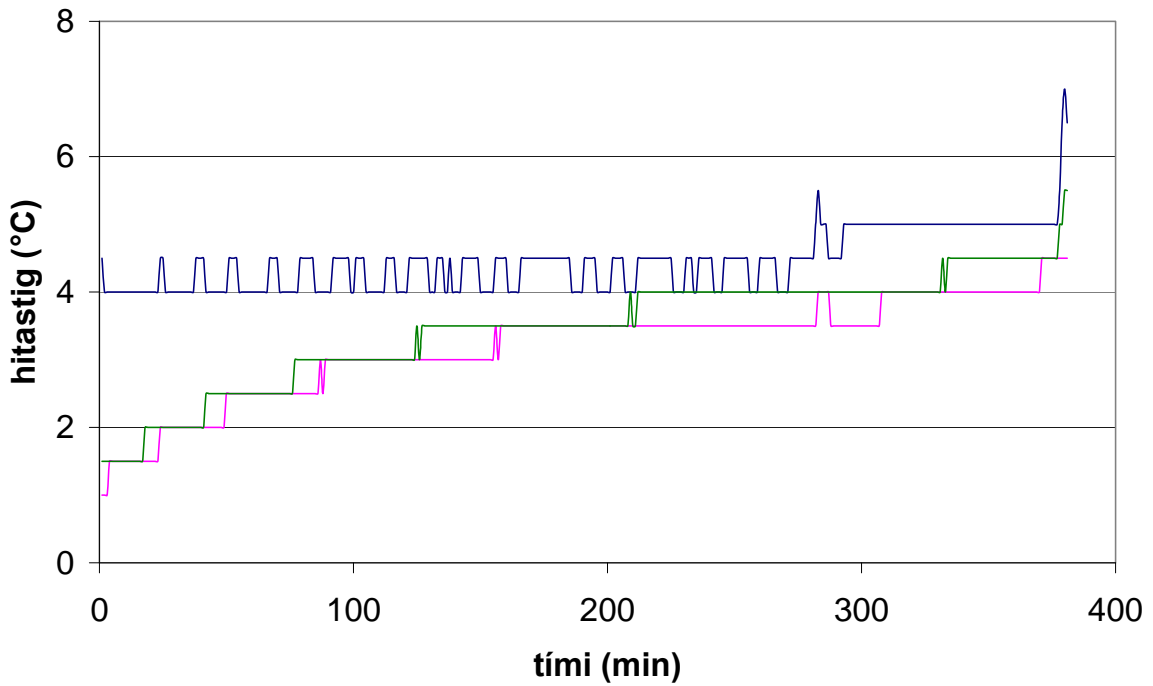
Fylgst var með hitastigi í frystihermum meðan á tilrauninni stóð. Hitasíritar voru staðsettir á gólfi í kælihermum og í hverjum sýnakassa. Þar sem að mikil hitastigsbreyting sést (t.d. eftir 250 mín á mynd x2 þar var hurð að frystihermi opnuð og kalt loft úr frystihermum lak út. Hitastig í sýnakössum sveiflaðist að meðaltali um $0,5^{\circ}\text{C}$ við framkvæmdina.



Mynd V1.1. Hitastigsprófill í kælihermi sem var stilltur á -2°C . Hitanemar voru staðsettir í umhverfi (blár) og í 4% (bleikur) og 8% (grænn) pækli.



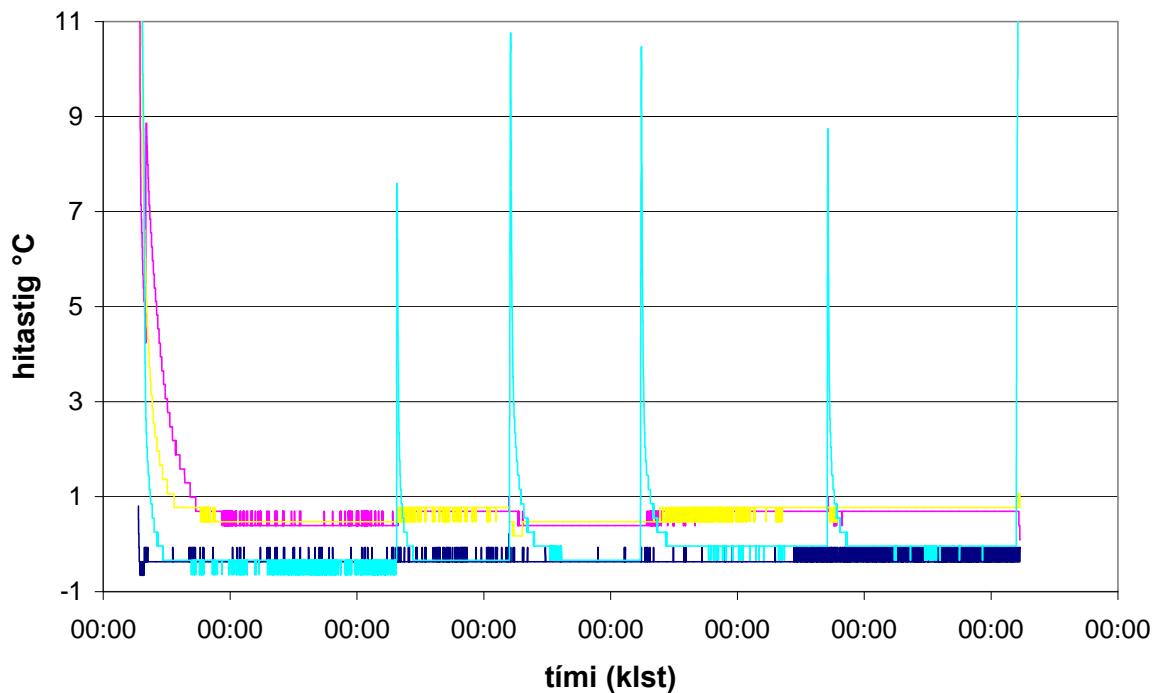
Mynd V1.2. Hitastigsprófill í kæliermi sem var stilltur á $-0,5^{\circ}\text{C}$. Hitanemar voru staðsettir í umhverfi (blár) og í 4% (bleikur) og 8% (grænn) pækli.



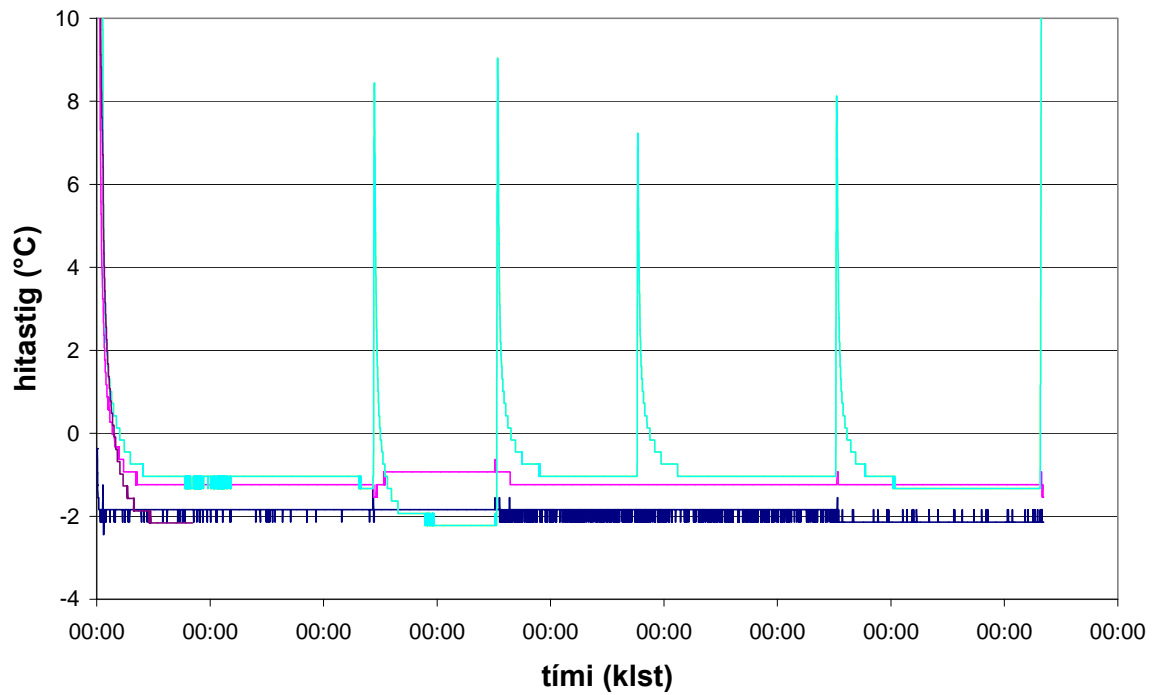
Mynd V1.3. Hitastigsprófill í kæliermi sem var stilltur á 5°C . Hitanemar voru staðsettir í umhverfi (blár) og í 4% (bleikur) og 8% (grænn) pækli.

Viðauki 2. Hitastigsprófill í kælihermunum í geymsluþols-tilraun

Fylgst var með hitastigi í kælihermunum og í sýnakössum með StowAway-Is Temp (Onset computer Corp, Bourne, MA, USA). Hitastigið var lægra á gólfi í kælihermunum en innan í kössum með fiski (bláir ferlar á mynd V2.1 og V2.2). Á nokkurra daga fresti (ljósblár og gulur ferill) sáu stórir hitastigstoppar. Þetta er vegna þess að sýnakassar voru teknir úr kæliherminum til drip- og litmælinga á þessum tímamörkum. Annars var hitasveifla í sýnakössum um $0,3^{\circ}\text{C}$.



Mynd V2.1. Hitastig í kælihermi stilltan á 0°C . Hitanemar voru staðsettir í klefa (blár) og í kössum með pækluðum (bleikur) og ómeðhöndluðum flökum (gulur). Einnig voru hitanemar í kössum sem massa-oglitamælingar voru framkvæmdar á (ljósblár).

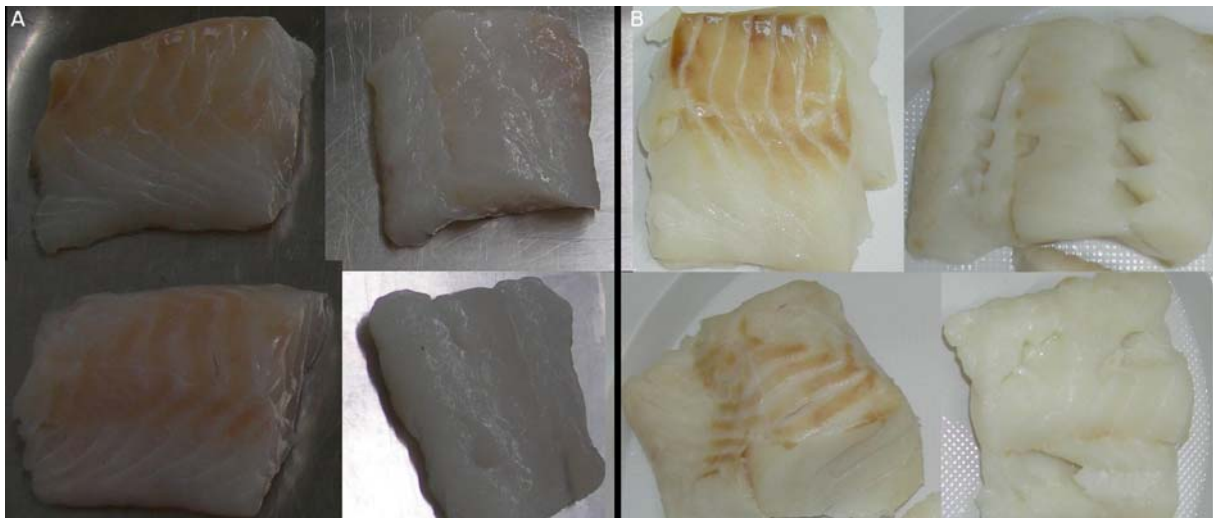


Mynd V2.2. Kælihermir stilltur á -2°C . Hitanemar voru staðsettir í klefa (blár) og í kössum með pækluðum (bleikur) og ómeðhöndluðum flökum (gulur). Einnig voru hitanemar í kössum sem massa- og litamælingar voru framkvæmdar á (ljósblár).

Viðauki 3. Myndir úr geymslupólstilraun, gróft mat á útliti flakabita fyrir og eftir suðu.



Mynd V3.1. Pæklaðir (t.v.) og ómeðhöndlaðir (t.h.) flakabitar fyrir (að ofan) og eftir (að neðan) suðu á fyrsta degi tilraunar. Allri flakabitar eru ferskir á að líta. Pækluðu flakabitararnir voru með fallegri áferð, hvítari og safaríkari eftir suðu. Það fannst þó örlítið saltbragð af þeim. Ómeðhöndluðu flakabitararnir voru á að líta eins og hefðbundinn þorskur.



Mynd V3.2. Flakabitar fyrir (A) og eftir (B) suðu á degi 6. Ómeðhöndlaðir (t.v.) og pæklaðir (t.h.) flakabitar voru geymdir við 0°C (að ofan) og -2°C (að neðan). Allir bitar líta vel út, blær þeirra er fallelgur. Þó virðist vera meira los í pækluðum flakabítum eftir suðu (t.h.) Það gæti haft eitthvað að segja að þeir bitar sneru öðruvísi en hinir. Ómeðhöndlaðir flakabitar litu heillegastir út eftir suðu en voru þó þurrari á að líta en sá pæklaði geymdur við sama hitastig.



Mynd V3.3. Flakabitar fyrir (A) og eftir (B) suðu á degi 11. Ómeðhöndlaðir (t.v.) og pæklaðir (t.h.) flakabitar voru geymdir við 0°C (að ofan) og -2°C (að neðan). Á ellefta degi þá leit ómeðhöndluðu flakabitarnar þurrari út, þá sérstaklega þeir bitar geymdir við 0°C. Fiskur geymdur við -2°C leit út fyrir og bragðaðist ferskari, þá sérstaklega sá sem var pæklaður.



Mynd V3.4. Pæklaðir (t.v.) og ómeðhöndlaðir (t.h.) flakabitar fyrir (að ofan) og eftir (að neðan) suðu á fjórtánda degi tilraunar. Sterk skemmdarlykt var af flakabitum geymdum við 0°C og bitarnir voru orðnir gulleitir. Allir bitar voru þurrir á að líta eftir suðu (mynd vantar).