

# **Alternativ produksjon av matjessild**

## **Prosessutvikling og oppskalering**

Torstein Skåra, Ragnhild Skåra, Mats Carlehög, Per Lea, Asbjørn Gildberg, Flemming Jenssen og Henrik Hauch Nielsen





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 400 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra, Averøy og Tromsø

**Hovedkontor Tromsø:**

Muninbakken 9–13  
Postboks 6122 Langnes  
NO-9291 Tromsø

**Ås:**

Osloveien 1  
Postboks 210  
NO-1431 ÅS

**Stavanger:**

Måltidets hus, Richard Johnsensgate 4  
Postboks 8034  
NO-4068 Stavanger

**Bergen:**

Kjerreidviken 16  
Postboks 1425 Oasen  
NO-5828 Bergen

**Sunndalsøra:**

Sjølseng  
NO-6600 Sunndalsøra

**Averøy:**

Ekkilsøy  
NO-6530 Averøy

**Felles kontaktinformasjon:**

Tlf: 02140

E-post: [post@nofima.no](mailto:post@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

**Foretaksnr.:**

**NO 989 278 835**

# Rapport

	ISBN: 978-82-8296-191-2 (trykt) ISBN: 978-82-8296-192-9 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Tittel:</i> <b>Alternativ produksjon av matjessild Prosessutvikling og oppskalering</b>	<i>Rapportnr.:</i> 22/2014
	<i>Tilgjengelighet:</i> <b>Åpen</b>
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Torstein Skåra, Ragnhild Skåra, Mats Carlehög, Per Lea, Asbjørn Gildberg, Flemming Jessen og Henrik Hauch Nielsen	<i>Dato:</i> 27. mars 2014
<i>Avdeling:</i> Prosessteknologi, Sjømatindustri, Sensorikk forbruker og innovasjon	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 25+14
<i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF#900869
<i>Stikkord:</i> Nordsjøsild, matjes, salting	<i>Prosjektnr.:</i> 10604
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i>	
<p>Rapporten beskriver forsøk med produksjon av jomfrusild (lettsaltet nordsjøsild) i industriell skala. Resultatene viser at prosessen er vel egnet til formålet; både flaps og skinnfrie fileter forble intakte gjennom prosessen, og behandlingen var jevn gjennom hele batchen.</p> <p>Salte/modningsprosessen medfører en vektøkning på 5-40 %; størst (&gt;20 %) i skinnfri filet. Proteininnholdet avtar i prosessen, sannsynligvis hovedsakelig som følge av opptak av vann og salt.</p> <p>Med unntak av en batch ble det ikke påvist signifikant økning av kimtall i løpet av prosessen (11 batcher), og nivåene var lave, cirka 102–103 CFU/g.</p> <p>Den sensoriske analysen viser at produktene skiller seg lite fra hverandre (få signifikante forskjeller), men også at behandlingen med og uten enzymer gir konsistente utslag på smak og tekstur. Tilsats av enzymer gir produkter som ligner mer på tradisjonell matjes, enn det man oppnår med kun salting.</p> <p>Analysen av enzymaktivitet viser at aktivitetsnivåene i enzymlakene i disse forsøkene, er betydelig lavere det som ble målt i enzymlaker i laboratorieskala forsøkene.</p> <p>2D gel elektroforese viser at man oppnådde lignende endringer i proteinfraksjonen i full skala, som i laboratorie skala.</p>	
<i>English summary/recommendation:</i>	
<p>This report describes full industrial scale trials with salting of north sea herring fillets, with and without enzymes extracted from the offal/gut fraction sampled from the filleting machines.</p> <p>Samples from the trials were subjected to chemical. Microbial and sensory analysis. Furthermore measurements of enzymatic activity were performed, and also, for some samples, measurement of changes in the protein fraction.</p> <p>The results reveal interesting effects of the different process parameters, on the different product characteristics of the salted herring fillets.</p>	

## **Forord**

Denne rapporten beskriver forsøk med fullskalaproduksjon av lettsaltet nordsjøsil, gjennomført i prosjektet «Alternativ produksjon av matjessild: Prosessutvikling, oppskalering og markeds-vurdering», finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF, Prosjektnr: 900869).

Tilnærmingen og analysene som er brukt bygger til dels på, og har mye til felles med arbeidet som ble gjort i prosjektet «Alternativ produksjon av matjessild» (FHF, Prosjektnr: 900765). Likevel er bakgrunnsinformasjon og metodebeskrivelser gjengitt rimelig fullstendig, for at rapporten skal fungere som et frittstående dokument.

Forsøkene er gjennomført av Nofima og Egersund Seafood, i samarbeid med Danmarks Tekniske Universitet (DTU). Rapporten er satt sammen av delrapporter. Derfor er delen om proteom-analyse, skrevet på dansk (av DTU).

# Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Forsøk</b>	<b>2</b>
2.1	Fangst og råstoff	2
2.2	Forsøksvarianter	3
<b>3</b>	<b>Fysiske, kjemiske og mikrobiologiske analyser</b>	<b>4</b>
3.1	Utbytte	4
3.1.1	Metode	4
3.1.2	Resultat og diskusjon	4
3.2	Kjemiske analyser	5
3.2.1	Metoder	5
3.2.2	Resultater og diskusjon	5
3.3	Mikrobiologiske analyser	7
3.3.1	Metoder	7
3.3.2	Resultater	7
<b>4</b>	<b>Sensorisk analyse</b>	<b>8</b>
4.1	Prøver	8
4.2	Praktisk gjennomføring	8
4.2.1	Sensorisk metode	8
4.2.2	Statistiske metoder	10
4.3	Resultater	10
4.3.1	Diskusjon	16
<b>5</b>	<b>Enzymaktivitet</b>	<b>17</b>
5.1	Mål	17
5.2	Materiale og metoder	17
5.2.1	Prøveopparbeidelse	18
5.2.2	Substrat	18
5.2.3	Bindevev (Gelatin)	18
5.2.4	Måling av enzymaktivitet	18
5.3	Resultater	18
5.4	Diskusjon	20
<b>6</b>	<b>Proteinnedbrytning</b>	<b>21</b>
6.1	Mål	21
6.2	Materiale og metoder	21
6.2.1	Proteomanalyse	21
6.3	Resultater og diskusjon	22
6.3.1	Sammenligning af proteinprofiler	22
<b>7</b>	<b>Oppsummering og konklusjon</b>	<b>24</b>
<b>8</b>	<b>Referanser</b>	<b>25</b>

<b>Vedlegg 1</b> .....	<b>i</b>
Kontrollinstruks for mottakskontroll (fra Egersund Seafood).....	i
<b>Vedlegg 2</b> .....	<b>ii</b>
Detaljer knyttet til råstoff og prosess.....	ii
Forsøk 1: 11. juni .....	ii
Forsøk 2: 13. juni .....	iii
Forsøk 3: 17. juni .....	iv
Forsøk 4: 20. juni .....	v
Forsøk 5: 25. juni .....	vi
Forsøk 6: 30. juni .....	vii
<b>Vedlegg 3</b> .....	<b>viii</b>
Detaljert beskrivelse av de statistiske modellene.....	viii
<b>Vedlegg 4</b> .....	<b>ix</b>
Variansanalysetabeller .....	ix
<b>Vedlegg 5</b> .....	<b>xi</b>
Middelverdier over prøvekodeer .....	xi

# 1 Innledning

Bedrifter i norsk pelagisk foredlingsindustri ønsker å se nærmere på mulighetene for å produsere matjes på en mer kostnadseffektiv måte, samtidig som en beholder produktets egenskaper med hensyn til smak, tekstur og kvalitet. Ved dagens produksjon benyttes hel, rund nordsjøsilde der en fjerner gjeller for blant annet å hindre nedgradering av kvaliteten. Silden legges så i kar for modning i cirka 24 timer. Deretter fjernes laken som blir dannet under modningen og den modnede (matjes) silde går til innfrysning i ny lake, og blir eksportert for videre eventuell bearbeiding og konsum. Bearbeidingen består i hovedsak i at den fileteres på en særegen måte, pakkes og fryses deretter inn for andre gang. I neste operasjon transporteres matjessilden for videre distribusjon ut til kunder i viktige hovedmarkeder. Silden er på dette stadiet filetert slik at den henger sammen i sporden. Hode, innmat, ryggbein er fjernet. Andre bein registreres ikke ved konsum. Enten er de fjernet fysisk eller er de blitt så bløte under prosessen at de ikke registreres.

Hensikten med prosjektet er å undersøke mulighetene for å benytte en alternativ metode for produksjon av et matjes-lignende produkt med lignende smak og egenskaper som tradisjonell matjes. Utgangspunktet er fersk filet av nordsjøsilde. Forsøk gjennomført i Nederland på 1990-tallet med gjenbruk av lake fra tradisjonell matjesproduksjon på råstoff fanget utenfor matjes-sesongen indikerte at man ikke oppnådde et produkt som et trent sensorisk panel oppfattet som tradisjonell matjessilde, eller som hadde de samme kjemiske karakteristika. I dette prosjektet har man imidlertid ikke planer om å bruke råstoff fra utenom sesongen, men anser at fettinnhold og enzymaktivitet er viktige egenskaper for å oppnå et godt resultat.

Resultater fra forsøk i liten skala, utført i prosjektet «Alternativ produksjon av matjessilde» (FHF, Prosjektnr: 900765), viste at man kunne oppnå interessante endringer i produktens egenskaper ved tilsats av innvollsensymer til modningslaken. Denne rapporten beskriver forsøk med oppskalering av denne prosessen.

## 2 Forsøk

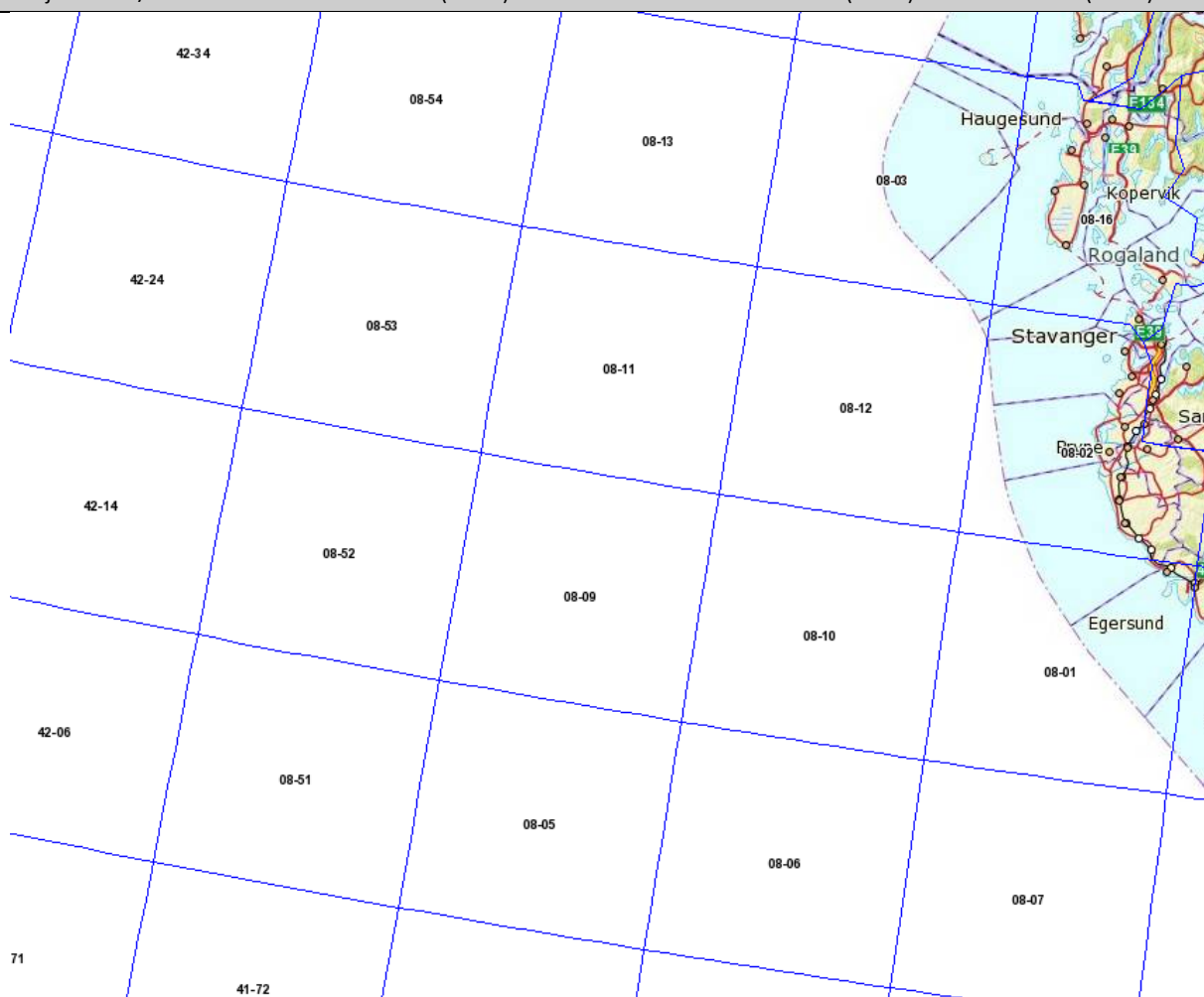
Det ble gjennomført 6 forsøk ved Egersund Seafood, i perioden mellom 11. og 30. juni 2013. Forsøkene ble utført av personell fra Nofima og Egersund Seafood.

### 2.1 Fangst og råstoff

Råstoffet som ble brukt i forsøkene, ble fanget i matjessesongen. En oversikt over fangst-tidspunkt, fartøy og fangstområde, er vist i Tabell 1.

Tabell 1 Fangstdata

Dato	Fartøy	Fangstdato (tid)	Område	Lossing	
				Begynt	Slutt
11. juni	Krossfjord	10.6.13 (20:00)	8-53	11.6.13 (09:00)	11.6.13 (18:10)
13. juni	Krossfjord	12.6.13 (12:30)	8-54	13.6.13 (10:45)	13.6.13 (23:30)
17. juni	Bømmelfjord	15.6.13 (16:00)	8-53	17.6.13 (13:00)	17.6.13 (18:15)
20. juni	Havskjer	19.6.13 (12:00)	42-6	20.6.13 (07:00)	20.6.13 (18:30)
25. juni	Østerbris	24.6.13 (12:00)	42-6	25.6.13 (06:45)	25.6.13 (22:00)
30. juni	Østerbris	29.6.13 (00:00)	41-72	30.6.13 (08:45)	30.6.13 (20:20)



Kartutsnitt kopiert fra: <http://kart.fiskeridir.no/default.aspx?gui=1&lang=2>



Ved mottak ble fangstene vurdert, og fangst og føringsdata registrert. Dessuten ble råstoffet gradert i henhold til bedriftens graderingssystem. En oppsummering av disse opplysningene er gitt i Tabell 2.

Tabell 2 Råstoffegenskaper

Dato	Fett % (rund)	Fett % (filet)	Temperatur i fisk (°C)		Kvalitet*
			Føring i båt	Produksjon	
11. juni	16,7	17,4	-1,2	0,1	1,3
13. juni	16,8		-1,2	0,4	1,3
17. juni	16,1	17,2	-1,2	1,1	1,7
20. juni	15,5	18,2	-1,1	-0,1	1,3
25. juni	17,4	18,4	-1,2	0,4	1,6
30. juni	19,5	20,35	-1	0,2	1,8

Se detaljert oversikt over egenskaper i vedlegg 1 og 2

Tabell 2 viser en oversikt over fettinnhold, temperatur under føring og produksjon, samt en vurdering av råstoffkvaliteten. Fettinnholdet økte utover i forsøksperioden, fra 16,7 til 19,5 %. Temperaturen under føring ble målt til -1 °C eller lavere. I produksjonen lå temperaturen på filet rundt 0, med unntak av 17. juni. Råstoffkvaliteten var jevnt god; den laveste scoren ser vi på råstoffet fra 30. juni.

## 2.2 Forsøksvarianter

Tabell 3 Prosessparametere

Dato	Råstoff	Vekt (g)	Temperatur i kar (°C)	
			Min (ca)	Max (ca)
11. juni	Flaps	102	5,4	5,6
13. juni	Flaps	87	5,3	6,0
17. juni	Flaps	91	6,7	6,9
20. juni	Skinnfri filet	30	6,9	7,7
25. juni	Skinnfri filet	39	7,6	8,2
30. juni	Flaps	100	5,8	7,2

Se detaljer vedr temperatur i vedlegg 2

Forsøkene ble utført i industriell skala, med 500 kg sild og 300 liter lake. Det ble tilsatt innvollsensymer fra filetavskjær til laken ved at avskjær med innvollsrester ble ekstrahert i lake i cirka 1 time, før lakebehandlingen. I de innledende forsøkene (11. og 13. juni) ble ulike fraksjoner og mengder forsøkt, men man anså å ikke ha fått nok enzymaktivitet i laken til å oppnå noen synlig effekt. I forsøket den 17. juni, ble det brukt en fraksjon hvor hode, skinn, ryggbein og hale ikke inngikk. Cirka 150 kg av denne fraksjonen ble ekstrahert i anslagsvis 150 liter lake, i 30–60 minutter. Når avskjæret var fjernet ble karet med lake plassert under vekta, og karet ble fylt med filet – og mer lake. Det modnede produktet fra denne framstillingen ble vurdert til å ha oppnådd en viss modning, og samme framgangsmåte ble brukt til de resterende forsøkene.

### 3 Fysiske, kjemiske og mikrobiologiske analyser

#### 3.1 Utbytte

##### 3.1.1 Metode

Veieprøver brukes systematisk i produksjonen, som bakgrunn for prisfastsetting og sortering. Veieprøvene ble tatt på bedriftenes kontrollerte vekt. Med bakgrunn i veieprøver av råstoff og produkter kan man sette opp et anslag av utbytte-økningen i salteprosessen.

##### 3.1.2 Resultat og diskusjon

Et anslag av utbytte-økningen i salteprosessene er vist i Tabell 4.

Tabell 4 Gjennomsnittsvekt av fileter/flaps (n=100).

Kode	Prøve	Prosess	Snittvekt (g)	Utbytte (%)
A	Flaps	Råstoff	103	
B		Modnet	111	108
C		Saltet	114	111
D	Flaps	Råstoff	87	
E		Modnet	102	117
F		Saltet	101	116
H	Flaps	Råstoff	91	
I		Modnet	94*	103
J	Skinnfri	Råstoff	30	
K		Modnet	35	117
L		Saltet	42	140
M	Skinnfri	Råstoff	39	
N		Modnet	41	105
O		Saltet	47	121
P	Flaps	Råstoff	100	
Q		Saltet	110	110
R		Modnet	105	105

\*Veieprøver tatt av fryst/tint materiale

Med unntak av prøve I (som ikke tas med siden den er tatt av fryst tint materiale), ligger utbytteøkningen på mellom 5 og 40 %. Størst utbytteøkning (>20 %) ser man for skinnfri filet. Dette er helt naturlig i og med at skinn vil redusere direkte kontakt mellom lake og filet å hemme diffusjonen. Vi ser videre et noe høyere utbytte i de prøvene som er saltet, i forhold til dem som er behandlet med enzym. Dette kan ha sammenheng med små variasjoner i saltinnhold i lake, som følge av ekstraksjonsprosessen for enzym-laken. Det kan også skyldes at enzymtilsetningen medfører nedbrytning og oppløsning av muskel-komponenter i laken. Dette har vi imidlertid ikke undersøkt i detalj.

## 3.2 Kjemiske analyser

### 3.2.1 Metoder

Følgende analyser (metoder) ble utført ved Nofima – BioLab i Bergen: Råprotein (Kjeldahl, ISO 5983-2), Vann/tørrstoff (ISO 6496), Aske (ISO 5984), Totalt flyktig nitrogen, TVN (AOAC 920.03), Salt (AOAC 937.09, Bestemmelse av klorid etter Volhards metode, rapportert som NaCl), og Fett (Etylacetat ekstraksjon, NS 9402).

### 3.2.2 Resultater og diskusjon

Resultatene av de kjemiske analysene er vist i Tabell 5 og Tabell 6.

Tabell 5 Kjemiske analyser av sildefilet(n=3) (råstoff og produkter)

Kode	Prøve	Prosess	Fett (%)	Protein (%)	Salt (%)	pH	Vekt (g)
A	Flaps	Råstoff	18,1 ± 3,2	17,1 ± 0,2	0,3 ± 0,1	6,4 ± 0,1	51,6 ± 6,1
B		Modnet	14,4 ± 2,1	14,9 ± 0,5	1,7 ± 0,1	6,4 ± 0,0	52,1 ± 0,2
C		Saltet	18,2 ± 0,1	14,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	6,4 ± 0,1	57,6 ± 5,6
D	Flaps	Råstoff	16,8 ± 3,5	17,0 ± 0,8	0,4 ± 0,1	6,3 ± 0,1	39,8 ± 7,3
E		Modnet	13,8 ± 1,8	15,5 ± 0,5	1,7 ± 0,2	6,4 ± 0,0	49,6 ± 2,4
F		Saltet	13,1 ± 3,8	14,7 ± 0,9	1,8 ± 0,1	6,2 ± 0,1	41,4 ± 1,7
H	Flaps	Råstoff	11,8 ± 1,1	17,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1	6,4 ± 0,1	34,7 ± 4,5
I		Modnet	14,1 ± 3,1	15,2 ± 0,6	2,0 ± 0,1	6,3 ± 0,0	42,6 ± 4,7
J	Skinnfri	Råstoff	14,9 ± 1,1	17,9 ± 0,4	0,3 ± 0,0	6,3 ± 0,0	32,2 ± 12,4
K		Modnet	12,3 ± 1,5	14,6 ± 0,3	1,4 ± 0,1	6,3 ± 0,1	33,9 ± 4,0
L		Saltet	11,4 ± 3,4	13,2 ± 0,4	1,9 ± 0,2	6,4 ± 0,1	41,1 ± 4,7
M	Skinnfri	Råstoff	14,6 ± 1,4	17,6 ± 0,5	0,3 ± 0,0	6,4 ± 0,1	40,0 ± 0,4
N		Modnet	11,4 ± 1,4	15,2 ± 0,7	1,8 ± 0,1	6,4 ± 0,1	35,3 ± 0,8
O		Saltet	13,3 ± 2,0	14,1 ± 0,5	1,9 ± 0,1	6,4 ± 0,0	46,0 ± 5,0
P	Flaps	Råstoff	18,0 ± 1,7	16,9 ± 0,1	0,3 ± 0,0	6,3 ± 0,1	41,5 ± 7,2
Q		Saltet	17,9 ± 1,3	13,6 ± 0,7	1,9 ± 0,2	6,3 ± 0,0	55,5 ± 2,1
R		Modnet	20,9 ± 2,4	14,3 ± 0,3	1,4 ± 0,1	6,3 ± 0,1	51,0 ± 4,1

Ettersom vi anser at de første forsøkene (prøvekode A-F) var innledende forsøk som ikke ble fulgt opp med mer detaljerte analyser (enzymaktivitet, sensorikk og proteinnedbrytning), vil disse i liten grad bli kommentert.

Som det framgår av Tabell 5 er også vekten registret på de filetene som er analysert. Hensikten med dette var å eventuelt kunne avdekke sammenhenger mellom avvik i resultatene som kunne ha opphav i prøver som ikke var representative. I og med at dette er snittvekt av 3 fileter (i forhold til 100, som vist i Tabell 4), kan ikke disse tallene brukes som grunnlag for utbyttebetraktninger.

Det er knyttet betydelig usikkerhet til bestemmelsen av fettinnhold, indikert ved betydelig standardavvik (opp til 3,8 %). Dette har mest sannsynlig sammenheng med variasjon mellom fileter og til ujevn fordeling av fett i muskelen. Protein-innholdet viser en synkende tendens etter salting/modning som kan relateres blant annet til opptak av salt og vann i prosessen.

## Lake

Tabell 6 Kjemiske analyser av lake (n=1) (råstoff og produkter)

Kode	Aske (%)	TVN (%)	Tørrstoff (%)	pH
B <sub>etter</sub>	3,4	0,02	7,3	6,3
C <sub>etter</sub>	3,7	0,02	8,7	6,3
E <sub>før</sub>	4,3	0,01	6,2	6,2
E <sub>etter</sub>	3,4	0,03	7,1	6,3
F <sub>etter</sub>	3,0	0,02	6,6	6,3
I <sub>før</sub>	5,8	0,01	6,9	6,0
I <sub>etter</sub>	3,3	0,02	8,3	6,3
K <sub>før</sub>	5,1	0,01	6,2	6,1
K <sub>etter</sub>	2,8	0,03	<b>11,2</b>	6,3
L <sub>før</sub>	4,4	0,01	5,7	6,2
L <sub>etter</sub>	3,0	0,01	6,4	6,4
N <sub>før</sub>	5,3	0,01	6,4	6,2
N <sub>etter</sub>	3,0	0,03	<b>11,2</b>	6,4
O	2,8	0,02	7,0	6,4
Q <sub>før</sub>	5,1	0,01	6,5	6,0
Q <sub>etter</sub>	2,9	0,01	5,7	6,3
R	2,6	0,02	8,7	6,3

Det ble også foretatt kjemiske analyser på lakene. Askeinnholdet reflekterer nok i stor grad saltinnholdet i laken. For de fleste produktkodene er det målt før ( $X_{\text{før}}$ ) og etter ( $X_{\text{etter}}$ ) salte/modningsprosessen. Det framgår av tabellen at askeinnholdet før prosessen varierer mellom 4,4 og 5,8 %). Det avtar imidlertid i løpet av prosessen, som er naturlig i og med at filetene tar opp salt. Totalt flyktig nitrogen (TVN) kan gi en indikasjon på mikrobiell nedbrytning. Denne verdien er imidlertid lab i alle prøvene. Tørrstoffinnholdet indikerer mengde oppløste komponenter i lake, Det øker mest i enzymbehandlet skinnfri filet (**uthevet**). Dette kan indikere en betydelig høyere mengde oppløst protein i disse lakene, som følge av enzymatisk nedbrytning. Noe som også kan tenkes å ha effekt på proteininnholdet i skinnfri filet (Tabell 5).

### 3.3 Mikrobiologiske analyser

#### 3.3.1 Metoder

Kimtall ble analysert på Petrifilm (NordVal 012).

#### 3.3.2 Resultater

Resultatene av de mikrobiologiske analysene er vist i Tabell 7

Tabell 7 Mikrobiologisk analyse av filet (n=2) (råstoff og produkter)

Kode	Prøve	Prosess	Kimtall (CFU/g)
A	Flaps	Råstoff	$3,9 \cdot 10^3$
B		Modnet	$1,1 \cdot 10^3$
C		Saltet	$<2,5 \cdot 10^2$
D	Flaps	Råstoff	$4,3 \cdot 10^3$
E		Modnet	$3,4 \cdot 10^2$
F		Saltet	$8,8 \cdot 10^2$
H	Flaps	Råstoff	$1,3 \cdot 10^3$
I		Modnet	$8,9 \cdot 10^3$
J	Skinnfri	Råstoff	$4,7 \cdot 10^2$
K		Modnet	$4,6 \cdot 10^3$
L		Saltet	$5,9 \cdot 10^2$
M	Skinnfri	Råstoff	$3,1 \cdot 10^3$
N		Modnet	$2,9 \cdot 10^3$
O		Saltet	$1,9 \cdot 10^5$
P	Flaps	Råstoff	$1,4 \cdot 10^3$
Q		Saltet	$5,1 \cdot 10^2$
R		Modnet	$9,1 \cdot 10^2$

Med unntak av prøve O, saltet filet, som har et kimtall som overstiger  $10^5$  kolonidannende enheter per gram (CFU/g), er det ingen signifikant økning i kimtall i løpet av salte/modningsprosessen.

## 4 Sensorisk analyse

### 4.1 Prøver

Prøvematerialet til den sensoriske analysen ble produsert i perioden 21. juni til 1. juli 2013. En oversikt over prøvekodene er vist i Tabell 8.

Tabell 8 Oversikt over prøver

Forsøk	Dato	Fartøy	Kode	Tid (h)	T (°C)	Produkt	Vekt (g)	Prosess
4	21.jun	Havskjer	K	27,0	7,6	Skinnfri	35	Modnet
4	21.jun	Havskjer	L	28,0	7,3	Skinnfri	42	Saltet
5	26.jun	Østerbris	N	34,0	8,1	Skinnfri	41	Modnet
5	26.jun	Østerbris	O	35,0	7,6	Skinnfri	47	Saltet
6	01.jul	Østerbris	Q	27,5	7,0	Flaps	110	Saltet
6	01.jul	Østerbris	R	27,5	6,4	Flaps	105	Modnet

Forsøk 1 og 2 (prøve B-F) er innkjøringsforsøk og er ikke med i de sensoriske analysene.

### 4.2 Praktisk gjennomføring

De sensoriske analysene ble utført 5–7. november 2013. Prøvene ble levert i uke 45 og satt på fryserom. Hver prøve var frosset inn i sin lake og vakuumert i poser (hvert «produkt» bestod av 2 poser). Posene ble lagt i et kar med kontinuerlig tilførsel av vann for tining dagen før analyse. Den tinte silda ble oppbevart på is i kjølerom (+ 4 °C) i påvente av tilberedning.

Fem fisker (10 fileter av skinnfrie fileter) av hel sild og belly-flaps ble så filetert på tradisjonell måte. Filetene ble kuttet opp i 2 biter à 4 cm og samlet opp i en plastbakke. Bitene ble tilfeldig lagt opp i kodede plastikkskåler med lokk, 1 bit per dommer, og servert dommerne.

Ved kalibreringen av det sensoriske panelet den 5. november ble Referanse og variant D\* benyttet.

I hovedforsøket den 6. og 7. november fikk dommerne servert totalt 30 prøver, 15 sorter i 2 gjentak (pose 1 = gjentak 1 og pose 2 = gjentak 2). Bedømmelsene ble fordelt over 9 sesjoner.

Temperaturen på prøvene ved servering var + 18 °C (+/- 2 °C).

Alle prøver ble randomisert med hensyn til «produkt», dommer og pose.

Bedømmelsene skjer i atskilte «båser» hvor dommerne kan sitte uforstyrret og hvor de er uten direkte kontakt med hverandre eller med panellederne som serverer prøvene.

#### 4.2.1 Sensorisk metode

Det ble benyttet en beskrivende test hvor 23 sensoriske egenskaper ble bedømt på en skala fra 1.0 (ingen intensitet) til 9.0 (tydelig intensitet). Under bedømmelsen deltok Nofimas panel bestående av 8 trente dommere. Panelet består av personer hvis eneste befatning med Nofima er at de deltar i

regelmessige bedømmelser, vanligvis 15 timer/uke i arbeidsåret. Sensoriske egenskaper som ble bedømt er beskrevet nedenfor.

### Lukt

Seks ulike lukteegenskaper ble beskrevet i analysen:

Syrligluk	Relateres til en frisk, sur-søt lukt.
Metallluk	Lukt av metall (ferrosulfat).
Sjøluk	Relateres til lukt av frisk, salt sjø.
Fiskeoljelukt	Relateres til lukt av fiskeolje.
Moden lukt	Relateres til en balansert rund lukt av modnet fisk.
Harsk lukt	Relateres til lukt av oksiderte fettstoff (gress, høy, stearin, maling).

### Smak

11 ulike smaksegenskaper ble beskrevet i analysen:

Syrligsmak	Relateres til en frisk, sur-søt smak.
Søtsmak	Relateres til grunnsmaken søt (sukrose).
Saltsmak	Relateres til grunnsmaken salt (koksalt).
Bittersmak	Relateres til grunnsmaken bitter (koffein).
Umamismak	Relateres til grunnsmaken umami.
Metallsmak	Smak av metall (ferrosulfat).
Sjøsmak	Relateres til smak av frisk, salt sjø.
Fiskeoljesmak	Relateres til smak av fiskeolje.
Emmensmak	En ufrisk/flau/lite aromatisk/kvalmende smak.
Moden smak	Relateres til en balansert rund smak av modnet fisk.
Harsk smak	Styrken av alle harske smaker (gress, høy, stearin, maling).

### Tekstur

5 ulike teksturegenskaper ble beskrevet i analysen. I tillegg var 2 parametere som omhandlet forekomst og hardhet av fiskeben i prøvene inkludert.

Saftighet	Overflateteksturell egenskap som beskriver væske absorbert av eller avgitt fra et produkt. Væske avgitt fra prøven, bedømt etter 4–5 tygg
Hardhet	Relatert til den kraft som må til for å bite gjennom prøven. Bedømmes med jekslene ved 1. bitt.
Mørhet	Relatert til den tid og antall tygginger som er nødvendig for å finfordele prøven klar til svelging.
Fethet	Overflateteksturell egenskap relatert til mengde eller kvalitet på fett i et produkt. En fet, oljeaktig fornemmelse fra prøven i munnen etter 4–5 tygg.
Antall ben	Relateres følelsen av antall ben i prøven under tygging
Hardhet ben	Mekanisk teksturegenskap relatert til kraft som må til for å bite gjennom benene. Bedømmes ved 1. bitt.

#### 4.2.2 Statistiske metoder

Dataene ble analysert ved hjelp av prinsippal komponentanalyse (PCA) og variansanalyse (ANOVA). I en PCA reduseres antall dimensjoner i datasettet. Med 23 sensoriske variable kan middelverdiene over dommere og gjentak og eventuelt andre faktorer, representeres som punkter i et 23-dimensjonalt rom, noe som er umulig å se for seg. Metoden søker å redusere antall dimensjoner på en slik måte at man beholder den viktigste informasjonen. Et X-Y-diagram som viser de to viktigste dimensjonene vil ofte gi tilstrekkelig informasjon.

ANOVA tester ved hjelp av F-tester om det er signifikante forskjeller mellom gruppene for hver av de sensoriske egenskapene. I denne rapporten betyr signifikant forskjell at det er signifikant forskjell på 5 %-nivå ( $p=0,05$ ). For de egenskapene hvor F-testen er signifikant, utføres i tillegg Tukey's multiple sammenligningstest for å avgjøre hvilke prøver som er forskjellige. Hvis differansen mellom 2 middelverdier er større enn den kritiske verdien testen beregner, betyr det at disse 2 gruppene er signifikant forskjellige. Resultatene er oppsummert ved hjelp av middelverdier og p-verdier. Middelverdiene er et gjennomsnitt av 8 dommere og 2 gjentak per prøve.

Dataprogrammene som ble benyttet under analysene og dataregistreringen var:

- Unscrambler X10.2 (Camo Software AS, Oslo, Norge)
- SAS Version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA)
- SYSTAT 12 (SYSTAT Software, Inc., San Jose, CA, USA)
- Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)
- EyeQuestion (Logic8 BV, Utrecht, Nederland)

Nofimas sensoriske panel er akkreditert for å utføre sensorisk analyse på mat og emballasje og bruker følgende ISO-standarder:

8586: 2012 Sensorisk analyse - - Generelle retningslinjer for valg, trening og overvåking av utvalgte og ekspertdommere (Erstatter 8586-1: 1993 og 8586-2: 2008)

8589: 2007 Sensory analysis - - General guidance for the design of test rooms

13299: 2003 Sensory analysis - - General guidance for establishing a sensory profile (Erstatter 6564: 1985)

En detaljert beskrivelse av de statistiske modellene finnes i vedlegg.

#### 4.3 Resultater

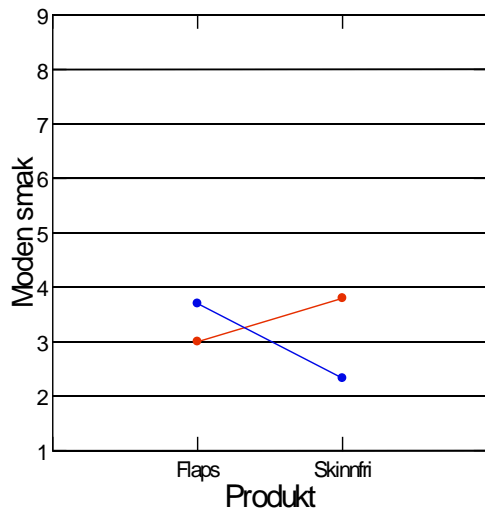
Variansanalysen (vedlegg 7.4) viste at Matjessild fanget på 4 forskjellige datoer og utsatt for forskjellige prosesser (pluss en referanseprøve) kun ga signifikante forskjeller (på nivå 0,05) for fiskeoljesmak: sild fanget 27. juni og 1. juli var forskjellige fra referansen. Selv om det var forskjeller mellom datoene når det gjelder fiskeoljesmak, lå alle gjennomsnittsverdiene lavt: mellom 2,14 (Referanse) og 2,85 (27. juni).

Når modnete prøver ble sammenliknet med saltede prøver, var det bare signifikante forskjeller for umamismak.

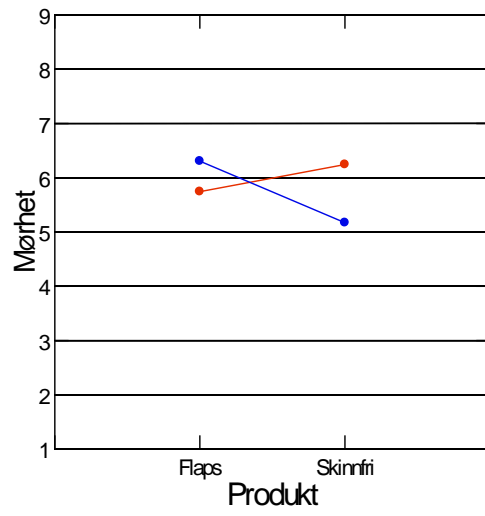


## Samspillseffekter

Figur 1a Samspill, moden smak

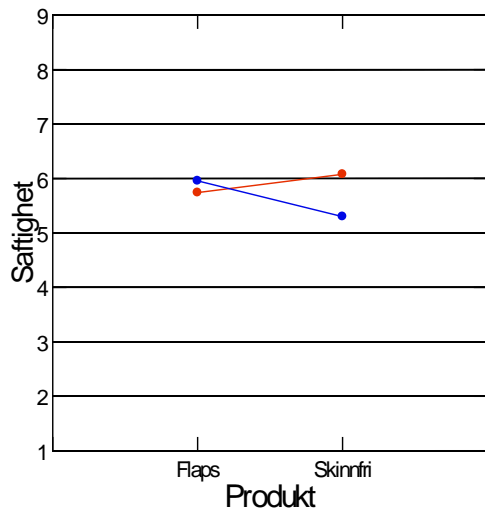


Figur 1b Samspill, mørhet

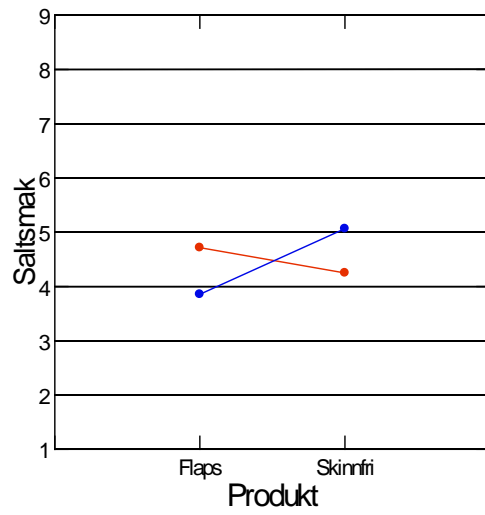


Prosess  
● Modnet  
● Saltet

Figur 1c Samspill, saftighet

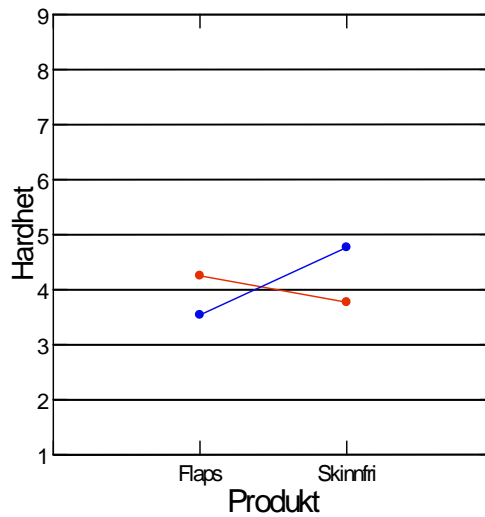


Figur 1d Samspill, saltsmak



Prosess  
● Modnet  
● Saltet

Figur 1e Samspill, hardhet

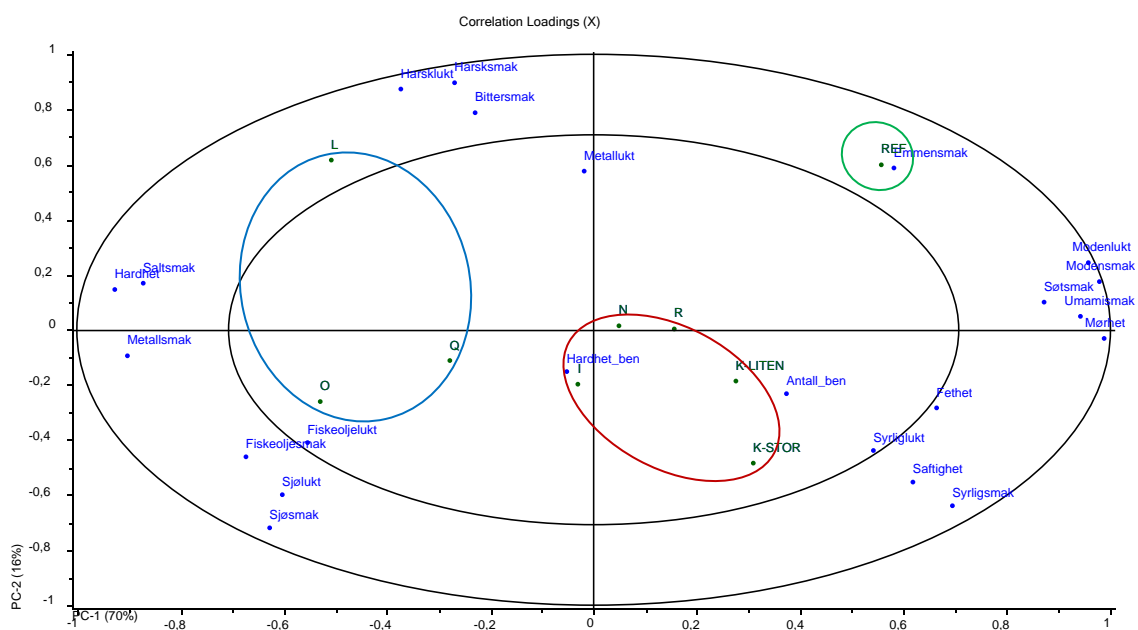


Prosess  
● Modnet  
● Saltet

Det var imidlertid signifikante samspill (på nivå 0,05) mellom prosess og produkt for saltsmak, moden smak, hardhet, mørhet og saftighet.

Når vi studerte disse samspillene for moden smak, hardhet, mørhet og saftighet nærmere (Figur 1), fant vi at det for flaps ikke var signifikante forskjeller mellom modnete og saltete prøver, mens for skinnfri var det signifikante forskjeller mellom modnete og saltete prøver. Også der hvor det ikke var samspill, var det for flere egenskaper slik at det var signifikante forskjeller mellom modnete og saltete prøver når vi bare så på skinnfrie produkter. For saltsmak var det signifikante forskjeller mellom modnete og saltete prøver både for flaps og skinnfri, men begge disse p-verdiene var kloss oppunder 0,05.

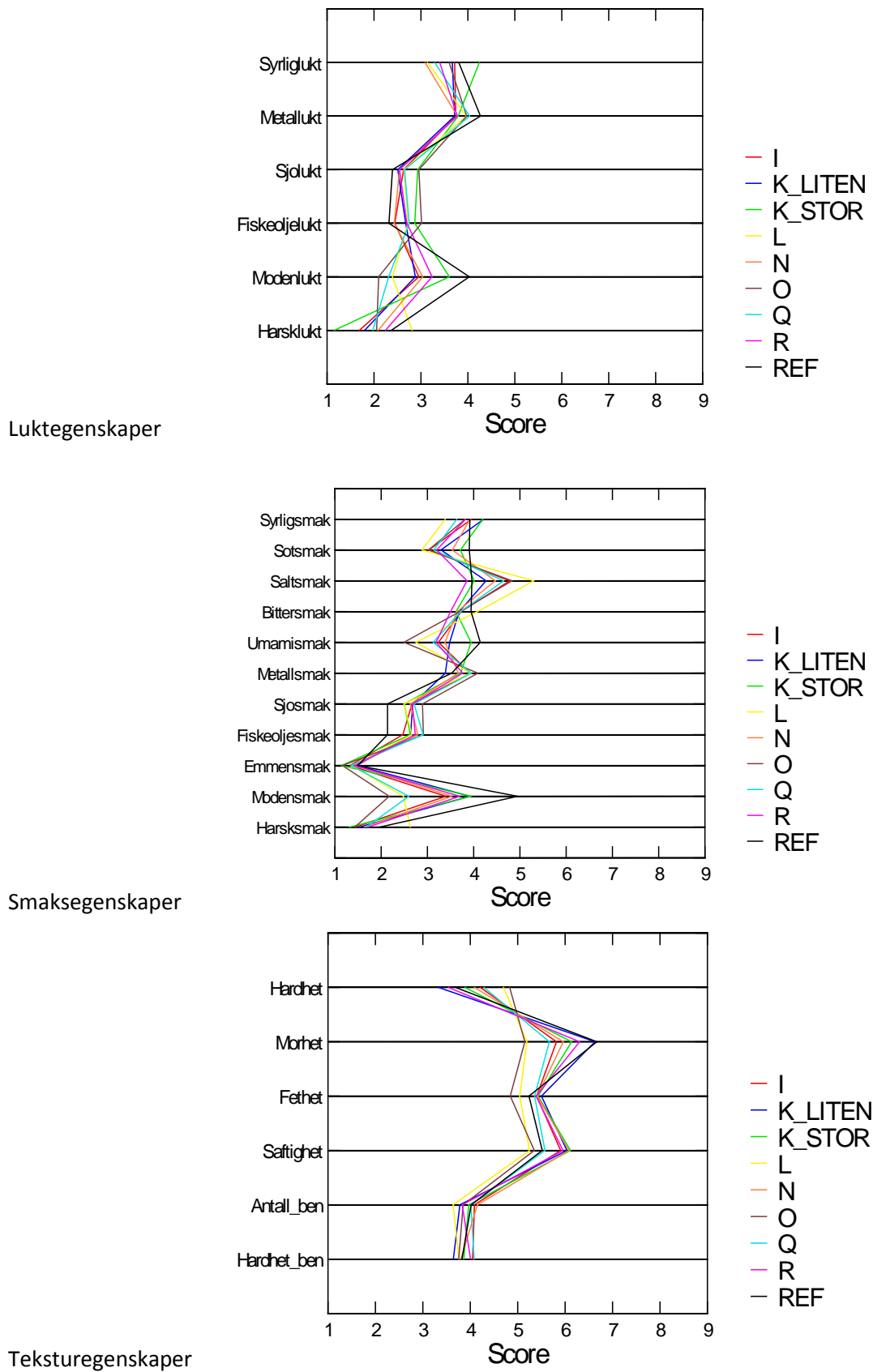
Figur 2 Correlation Loading Plot (fra PCA)



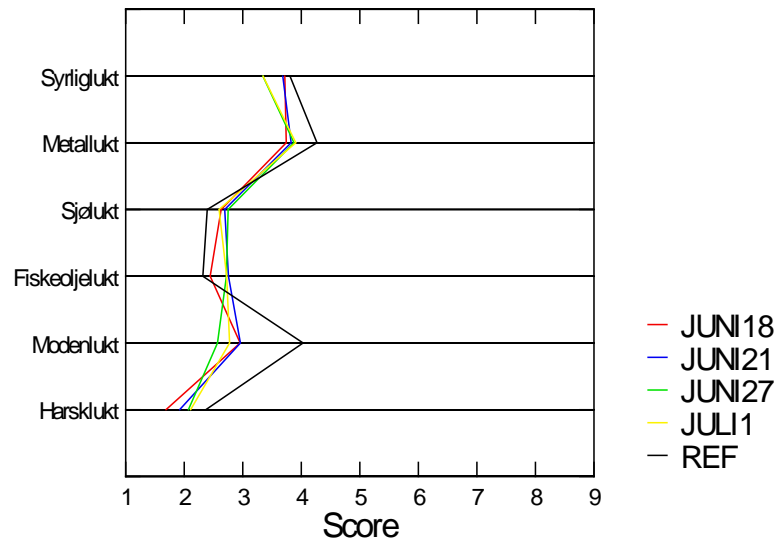
PCA plottet (Figur 2) viser en konsistent gruppering av prøver i forhold til prosess. Prinsipalkomponent 1 (PC1) forklarer 70 % av variasjonen i dataene, med hardhet, saltsmak og metallsmak i den ene enden, som karakteriserer de saltede filetene (L, O, Q), og moden lukt og smak, mørhet den andre, som karakteriserer den tradisjonelt modnede matjessilda (REF). I mellom disse ytterpunktene finner vi de enzymmodnede variantene (I, K, N og R).

Detaljer (middelverdier) fra bedømmelsen av enkeltprøver og enkeltdatoer er vist i henholdsvis Figur 3 og Figur 4.

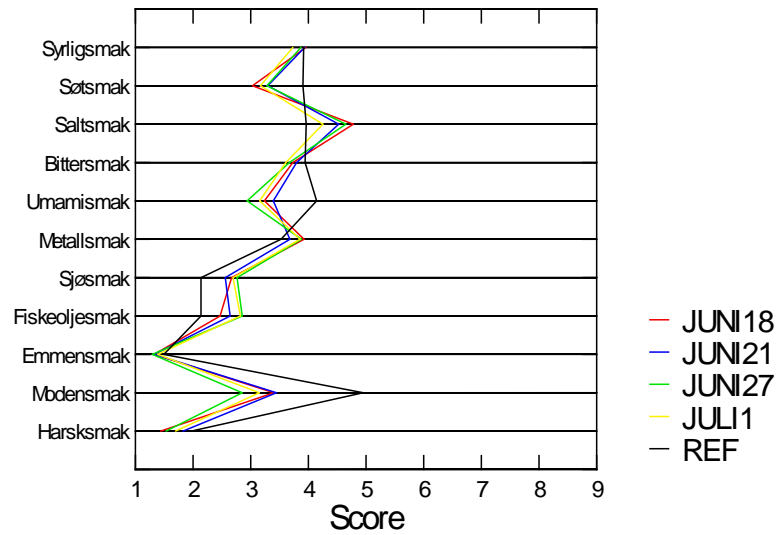
Figur 3 Middelerdier (enkeltpøver)



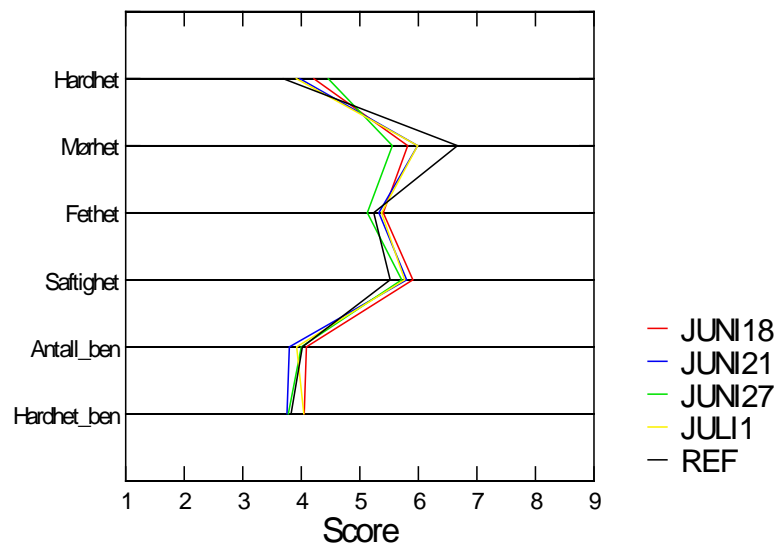
Figur 4 Middelveier (enkeltdatoer)



Luktegenskaper



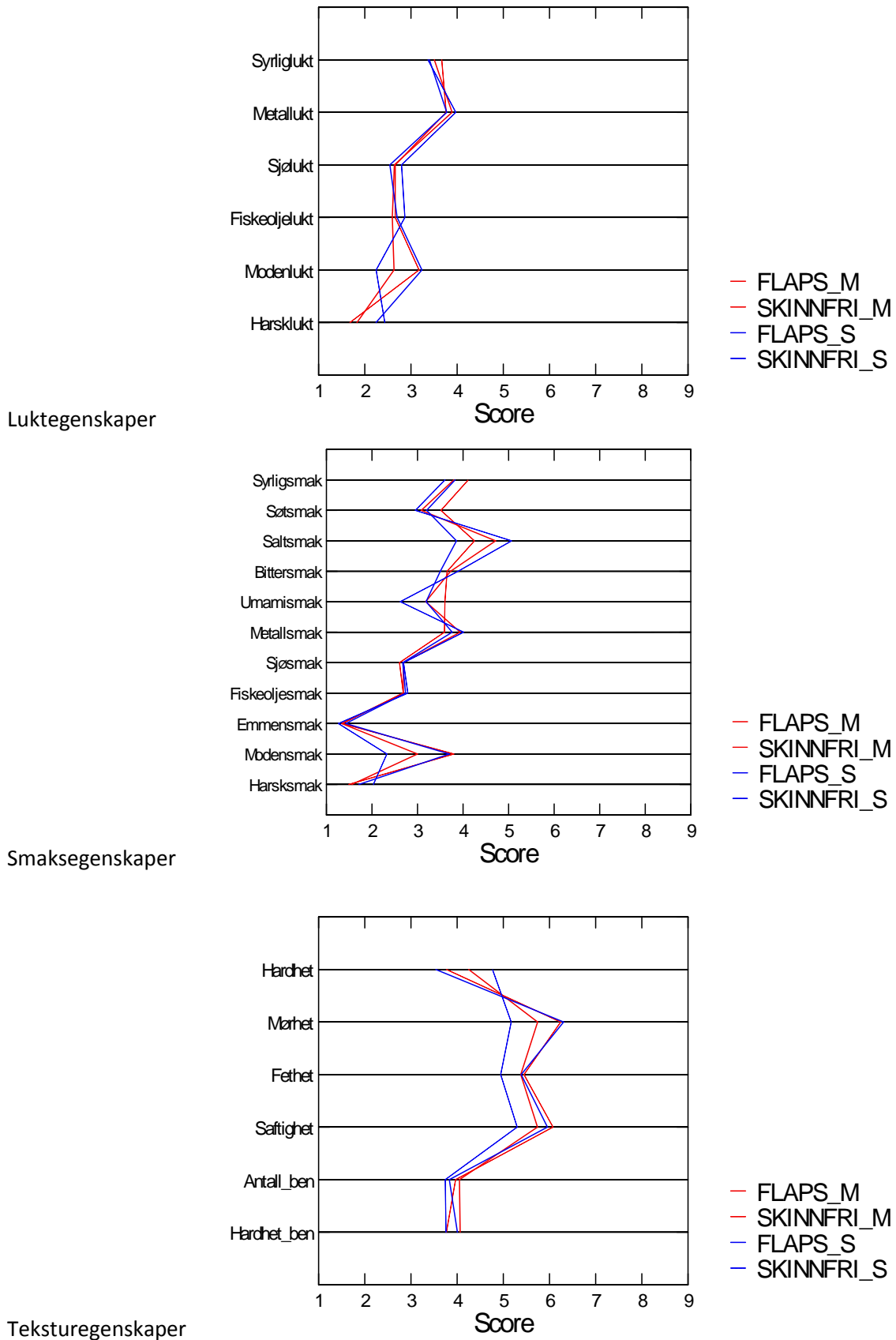
Smaksegenskaper



Teksturegenskaper

Figur 5 viser et utvalg av middelverdier av flaps versus skinnfri og modnet versus saltet.

Figur 5 Middelverdier, Flaps vs skinnfri, Modnet vs saltet



#### 4.3.1 Diskusjon

Analysen av datamaterialet fra den sensoriske bedømmelsen viste at det var få signifikante forskjeller mellom referanseprøve og nordsjøsilde fanget på 4 forskjellige datoer og saltet i kar med og uten tilsats av innvollsenzymer.

Prinsipalkomponentanalysen viser imidlertid en konsistent gruppering av prøvene. De saltede prøvene karakteriseres av egenskaper som blant andre saltsmak og hardhet. Mens prøvene som er saltet med tilsats av enzymer, har mindre av disse egenskapene og mer modensmak og mørhet, som er noen av hovedkarakteristikkene som beskriver den tradisjonelt modnede matjessilda (Referansen).

Det må understrekes at det kun inngår to prøver av flaps i datasettet. Det er et noe tynt grunnlag å trekke konklusjoner på.

Samlet sett viser den sensoriske analysen at produktene skiller seg lite fra hverandre (få signifikante forskjeller), men også at behandlingen med og uten enzymer gir konsistente utslag på smak og tekstur. Tilsats av enzymer gir produkter som ligner mer på tradisjonell matjes, enn det man oppnår med kun salting.

## 5 Enzymaktivitet

Sildemodning er et komplisert samspill mellom kjemiske og enzymatiske reaksjoner. Aktivitet av proteolytiske enzymer i råstoff og lake vil ha stor betydning for modningen, men også faktorer som salting, temperatur og mekanisk påvirkning vil i stor grad kunne påvirke sluttproduktets kvalitet.

Muskelproteiner kan deles inn i tre hovedgrupper; myofibrill protein (cirka 80 %), bindevevsprotein (cirka 2 %) og sarkoplasma protein (cirka 20 %). De to første gruppene gir muskelen strukturell styrke, og enzymatisk nedbrytning av disse proteinene vil være avgjørende for kvaliteten av det modnede produktet.

Tilgjengelige studier på endringer under salting av sild er stort sett utført på salteprosesser med høyere saltkonsentrasjoner, og over lengre tid enn hva som er tilfelle for matjessild (Olsen *et al.*, 1997; Schubring *et al.*, 1997; Stefansson *et al.*, 2000). Enzymer som kan tenkes å forårsake noen av endringene under salte- og modningsprosessen, er også studert (Engvang *et al.*, 2000; Nielsen *et al.*, 2002). Et viktig element i salteprosesser, er opptak av salt og vann. Prosessmessig påvirkes begge komponenter av faktorer som temperatur, fettinnhold i filet, skinn, filetering (Birkeland *et al.*, 2005). Men også smaksmessig har disse komponentene stor betydning.

Mest sannsynlig vil det være fordelaktig med betydelig nedbrytning av bindevevsprotein uten at for mye myofibrillprotein blir brutt ned, slik at sluttproduktet får en "myk" struktur uten at for mye muskelprotein går tapt.

### 5.1 Mål

Med utgangspunkt i problemstillingene nevnt i introduksjonen var det en rekke spørsmål relatert til enzymaktivitet, som vi søkte å finne svar på.

Hva skjer under fullskala produksjon, med Nordsjøsilfileter når de legges i lake med og uten tilsats av enzymer fra innvollsfraksjonen? Dersom det skjer enzymatiske endringer som påvirker de sensoriske egenskapene, i hvor stor grad er disse forårsaket av tilstedeværelsen av innvollszymer?

### 5.2 Materiale og metoder

Det er foretatt enzymmålinger som sier noe om aktiviteten i forhold til nedbrytning av muskel og bindevevsproteiner i råstoffer og laker som er benyttet ved framstilling av lettsaltet jomfrusild. For å påvise aktivitet som kan bryte ned henholdsvis bindevev og myofibrillproteiner, er det brukt gelatin fra torskeskinn og hemoglobin (fra storfe). Gelatinet er en denaturert form av det native kollagenet som finnes i frisk muskelstruktur og en høy aktivitet målt mot gelatin nødvendigvis trenger ikke å bety en høy aktivitet mot intakte bindevevsstrukturer i muskelen. I en studie med begrenset omfang, slik som dette, vil det likevel være nyttig å se på nedbrytning av gelatin, fordi den i alle fall er en god indikasjon på aktiviteter som kan bryte ned fiskens bindevev.

### 5.2.1 Prøveopparbeidelse

Fryste prøver av matjessild, fileter og laker, ble mottatt i august 2013. Løselig protein og proteaseaktiviteter i filetekstrakter og laker ble målt mot bovin hemoglobin og torskengelatin ved pH 7 og 25 °C.

### 5.2.2 Substrat

Det finnes en rekke kunstig framstilte substrater for bestemmelse av enzym-aktivitet. Og det finnes standard-substrater som for eksempel bovin serum albumin eller hemoglobin, basert på komponenter fra storfe-blod. I tidligere forsøk ble det kun brukt substrater fra torsk, og det ble påvist svært lav aktivitet i forhold til muskelproteiner. I dette forsøket ble det i tillegg til gelatin, ekstrahert fra torskeskinn, brukt et standard substrat; hemoglobin.

### 5.2.3 Bindevev (Gelatin)

Etter mange vasketrinn ble gelatin ekstrahert fra torskeskinn under svakt sure betingelser ved cirka 55 °C, i hovedsak slik som beskrevet av Gudmundsson *et al.* (1997). Etter ekstraksjonen ble løsningen filtrert, salter ble fjernet ved en to-trinns ionebytterprosedyre før den ble inndampet og tørket ved cirka 40 °C (Arnesen *et al.*, 2007). Ett kg torskeskinn gir cirka 100 g tørt, rensed gelatin. Framstilling av enzymsubstrat skjer ved at 2 % tørt gelatin svelles over natt ved 10 °C og løses opp under røring og oppvarming til 40–50 °C. Substratprøver fryselagres og løses opp ved 25 °C rett før bruk.

#### Hemoglobin

Hemoglobin (Bovine, Sigma, 2 %) 0,25 g, ble veid ut i inkubasjonsrør og tilsatt 0,5 ml Johnson-Lindsay-buffer (pH 7,0) rett før inkubasjon med enzymekstrakt (0,25 ml).

### 5.2.4 Måling av enzymaktivitet

Enzymaktiviteter ved pH 7 ble målt i fortyninger av lake og i oppmalte sildefileter. Hver filetpørve besto av 1 filet som ble tint over natt ved ca 5 °C. Ti g fiskemuskel ble tilsatt 20 ml kaldt vann og homogenisert i Ultra Turrax (3 min) før sentrifugering (15 min, 2000 x g). Supernatantprøver ble fryselagret ved -25 °C inntil enzymmålinger ble utført.

Alle enzymprøver ble inkubert en time ved 25 °C, før reaksjonene ble stanset ved tilsats av tri klor eddiksyre (TCA). Sluttkonsentrasjon av TCA i prøver inkubert med hemoglobin var 5 %, mens gelatininkubasjonene ble stanset med 10 % TCA (gelatin er løselig i 5 % TCA). Mer detaljert beskrivelse er gitt i Gildberg *et al.* (1983). Aktiviteter ble beregnet ut fra frigitt folin positivt materiale fra substratene (Barrett, 1972) og angitt som  $\mu\text{mol Tyr ekv./g(ml) hr.}$

I tillegg til enzymmålinger ble også mengde vannløselig protein i filetene bestemt (Lowry *et al.*, 1951). Det ble utført målinger i tre filetekstrakter fra hver prøve, og oppgitte aktiviteter og proteinkonsentrasjoner er gjennomsnitt av tre målinger.

## 5.3 Resultater

Tabell 1 viser mengde vannløselig protein og enzymaktiviteter i ekstrakter av matjessildfileter.



Tabell 9 Vannløselig protein (mg/g) og proteaseaktiviteter ( $\mu\text{mol Tyr ekv./g} \times \text{time}$ ), målt mot hemoglobin og gelatin.

Kode	Prøve	Prosess	Løselig protein	Protease (hemoglobin)	Protease (gelatin)
J	Skinnfri	Råstoff	62.26 $\pm$ 2.91	0.899 $\pm$ 0.352	1.641 $\pm$ 2.131
K		Modnet	52.19 $\pm$ 2.46	0.306 $\pm$ 0.294	8.576 $\pm$ 5.923
L		Saltet	41.76 $\pm$ 0.49	0.589 $\pm$ 0.283	3.116 $\pm$ 1.658
M	Skinnfri	Råstoff	60.52 $\pm$ 1.31	1.341 $\pm$ 0.195	1.374 $\pm$ 1.935
N		Modnet	49.08 $\pm$ 2.88	0.589 $\pm$ 0.208	5.810 $\pm$ 1.556
O		Saltet	38.25 $\pm$ 2.65	0.759 $\pm$ 0.583	0.974 $\pm$ 1.688
P	Flaps	Råstoff	58.03 $\pm$ 2.87	0.393 $\pm$ 0.614	0,600 $\pm$ 0.628
Q		Saltet	45.52 $\pm$ 1.66	1.687 $\pm$ 1.107	2.597 $\pm$ 4.431
R		Modnet	49.27 $\pm$ 2.03	1.235 $\pm$ 0.448	7.727 $\pm$ 4.205

Høyest mengde vannløselig protein ble målt i filetene J, M og P. Dette tyder på at proteolytisk nedbrytning er størst i disse filetene. Minst vannløselig protein ble målt i O og L. Dette antyder lavest aktivitet i disse filetene. Det kunne ikke registreres samsvar mellom mengde vannløselig protein i fileter og målte proteaseaktiviteter. Lavest proteaseaktivitet ble målt i P som er blant de filetene som har høyest mengde løselig protein, mens fileter med høyest proteaseaktiviteter; K, N og R, alle ligger i midtsjiktet når det gjelder mengde vannløselig protein. Alle proteaseaktivitetene er imidlertid relativt lave, og lave aktiviteter gir relativt usikre resultater. Proteinmålingene er mer pålitelige. Dette bekreftes også av relativt lave standardavvik innen hver enkelt gruppe.

Tabell 10 viser proteaseaktiviteter i laker. Laker merket 1 er tatt ut før modning, mens laker merket 2 er tatt ut etter salte-/modningsprosessen.

Tabell 10 Proteaseaktiviteter ( $\mu\text{mol Tyr ekv./ml} \times \text{time}$ ) i matjes – laker målt mot hemoglobin og gelatin.

Kode	Prøve	Prosess	Før/Etter prosess	Protease (hemoglobin)	Protease (gelatin)
K1	Skinnfri	Modnet	Før	5.57	463.95
K2	Skinnfri	Modnet	Etter	0	327.49
L2	Skinnfri	Saltet	Etter	0.78	42.06
N2	Skinnfri	Modnet	Etter	0	162.47
O2	Skinnfri	Saltet	Etter	0.26	11.22
Q2	Flaps	Saltet	Etter	0.56	35.02
P1	Flaps	Modnet	Før	2.94	221.44
R2	Flaps	Modnet	Etter	0	168.68

De viktigste resultatene fra lakemålingene kan oppsummeres slik:

1. Det er høyest proteaseaktivitet i K1. Under modningen reduseres gelatinaseaktiviteten med cirka 30 % (K2), mens hemoglobinaseaktiviteten (muskelenzymer/kathepsiner?) blir borte.
2. Bare laker før modning (K1 og P1) har vesentlig hemoglobinnedbrytende aktivitet og K1 har dobbelt så høy aktivitet av begge typer aktivitet som P1.
3. K2, N2 og R2 har litt høy, mens L2, O2 og Q2 har lav gelatinaseaktivitet.

Det ser ut til å være bedre samsvar mellom proteaseaktiviteter i laker og vannløselig protein i fileter enn mellom aktiviteter i fileter og vannløselig protein i fileter. Laker med lav gelatinaseaktivitet; O, Q og L, gir fileter med lavest mengde vannløselig protein. («Protein» målt med Lowry's metode omfatter både frie aromatiske aminosyrer, peptider og større proteiner.)

Det er bra samsvar mellom litt høye gelatinaseaktiviteter i laker etter modning (K2, N2 og R2) og målbare gelatinaseaktiviteter i fileter etter modning (K, R og N).

Nedbrytning av hemoglobin var uventet lav i alle prøver, og det er derfor vanskelig å trekke konklusjoner fra hemoglobinmålingene. Generelt ser det ut til at gelatinaseaktivitet sammen med mengde vannløselige proteinstoffer i fileten kan gi mer nyttig informasjon om modningsprosesser.

## 5.4 Diskusjon

Analysen av enzymaktivitet viser at aktivitetsnivåene i enzymlakene i disse forsøkene, ligger langt under det som ble målt i enzymlaker i laboratorieskalaforsøkene (Skåra *et al.*, 2013; 2014). Det samsvarer også godt med det faktum at det var færre signifikante forskjeller i de sensoriske egenskapene i fullskala-produktene, enn det vi så i laboratorieskala-forsøkene.

Dette har nok sammenheng med oppsamling av slo og ekstraksjon av enzymer. I laboratorieskala-forsøkene med nordsjø-sild, ble det brukt slo fra 35 kg sløyd fisk til laken for 35 kg filet. I storskalaforsøkene var vi nødt til å bruke en fraksjon tatt direkte fra filetmaskinene, som inneholdt både slo og avskjær, blant annet buklister. Dette resulterte nok i en betydelig mindre andel tilgjengelige innvollsenzymer, og ekstraksjonsprosessen kan også ha blitt influert av andre avskjærskomponenter som var tilstede i blandingen.

## 6 Proteinnedbrytning

### 6.1 Mål

Med udgangspunkt i projektets problemstillinger søgte vi også svar på yderligere spørgsmål, med henblik på at kunne optimere en lage. Først og fremst, hvilke ændringer prosesseringen (lagebehandlingen) medførte i protein-fraksjonen. Specielt effekten av de tilsatte innvollsenzymerne, også sammenlignet med de tidligere forsøg der ble gjennomført i mindre skala – med et andet enzymextrakt .

En optimeret lage definerer vi som en lage, hvor den biomolekylære sammensætning (herunder enzymerne) er således sammensat, at produktet efter modning kommer til at ligne den traditionelle matjes sild. For at opnå det, er det nødvendigvis at kende de processer som er viktige for matjes modningen. Et væsentlig spørsmål er derfor: Hvilke proteinforandringer sker der i fileten under modningsprosessen?

### 6.2 Materiale og metoder

For at klarlægge de proteinforandringer der sker i fileten under modningsprosessen har vi valgt at utføre proteomanalyser (2D-gelanalyser), som fortæller noget om hvordan muskelproteinene er blevet påvirket under matjes fremstillingen.

#### 6.2.1 Proteomanalyse

Resultatet af en proteomanalyse består af en proteinprofil, som viser en prøves forskjellige proteiner adskilt efter ladning og størrelse. For en given prøve udgør en sådan proteinprofil en slags fingeraftryk, som kan sammenlignes mellem forskjellige prøver og benyttes til at undersøge, hvilke processer der under forskjellige modninger er forskjellige og hvilke som ligner hinanden.

#### Prøvemateriale og prøve oparbejdelse

Vacuumpakket frosne Nordsø-sild blev modtaget fra Nofima, Stavanger den 30. juli 2013 . Der indgik 3 koder: Kode M: Nordsø-sild råstoff; Kode N: Sild modnet i saltlage med enzymer; Kode O: sild modnet i saltlage. Sildene blev opbevaret ved -80 °C indtil analyse. Efter optøning blev der udtaget muskelstykker lige under rygfinnen og muskelstykkerne blev lagret i prøverør ved -80 °C indtil analyse.

Fra de frosne muskelstykker blev der udskåret og afvejet 200 mg muskel som omgående blev homogeniseret (Polytron PT 1200, KINEMATICA) i 2 ml buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4; 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ved 0 °C. Der blev homogeniseret 3 gange 30 s med 30 s pause mellem homogeniseringerne.

Homogenatet blev centrifugeret med 11.200 g i 20 min ved 3 °C hvorefter supernatanten blev taget fra og frosset (-80 °C) indtil analyse.

#### Proteinbestemmelse

Prøvernes proteinindhold blev bestemt ved Lowry metoden (Lowry *et al.*, 1951) i en udgave modificeret af Peterson (1977) og efter TCA fældning som beskrevet af Kaplan *et al.* (1989).

## To-dimensional gelelektroforese (2DE)

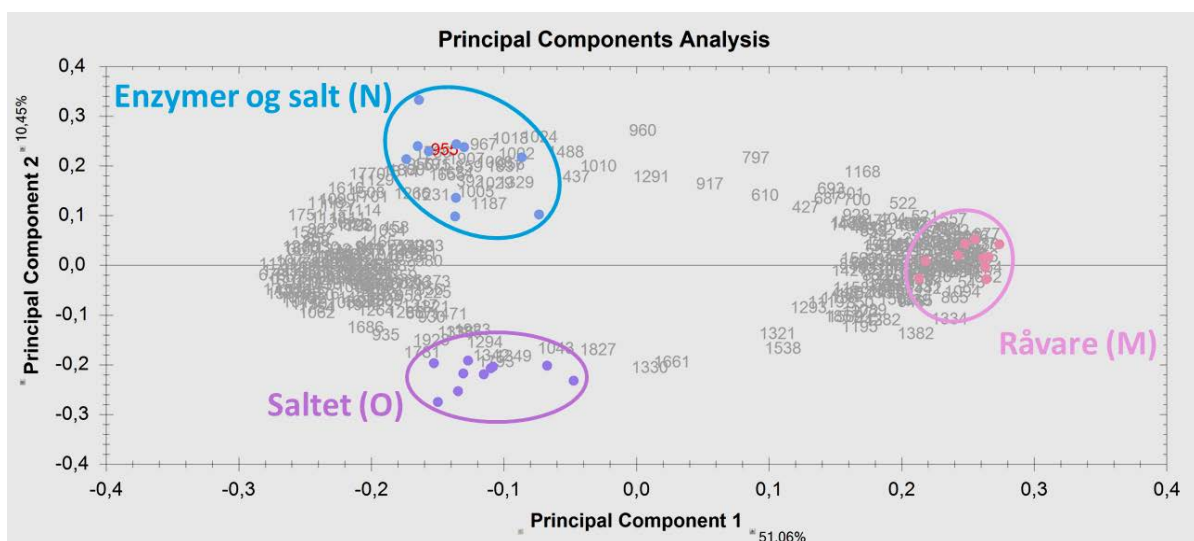
På baggrund af prøvernes proteinkoncentrationer blev der fældet (TCA) en proteinmængde så der kunne benyttes 1000 µg protein til elektroforesen. Det fældede protein blev opløst i 8 M urea, 2 M thiourea, 50 mM DTT, 1,5 % CHAPS, 2 % Pharmalyt 3-10, og 10 mM Tris-HCl (pH 8,3) og påsat en Immobiline Drystrips gel (GE Healthcare, 18 cm, pl 4-7) til elektroforetisk adskillelse af proteinerne i første dimension (1D). Efter denne elektroforese blev 1D-gelen ekvibreret i 2 x 20 min i 6 M urea, 50 mM Tris-HCl (pH 8,8) 30 % (w/v) glycerol og 2 % SDS med henholdsvis 1 % (w/v) DTT, og 4,5 % iodoacetamide. 1D-gelen blev herefter lagt ovenpå en SDS-polyacrylamidgel (12 %) og proteinerne blev nu elektroforetisk adskilt i anden dimension (2D). Efter elektroforesen blev proteinerne fixeret og farvet med colloid Coomassie Brilliant Blue (Rabilloud *et al.*, 2000). 2D-gelen blev herefter fotograferet (CCD kamera) og billederne blev analyseret ved hjælp af programmet Progenesis SameSpots (version 4.5, Nonlinear Dynamics, Newcastle, UK). En mere detaljeret beskrivelse af den benyttede 2DE procedure findes i Wulff *et al.* (2012).

## 6.3 Resultater og diskussion

Med henblik på at finde proteinforandringer der sker i sildemusklens under modningsprocessen blev proteomanalysen (2D-gelelektroforese) anvendt på 10 fisk fra hver af koderne, altså i alt 30 fisk. Der er eksempler på færdige 2D-geler i den tidligere rapport (Skåra *et al.*, 2013).

### 6.3.1 Sammenligning af proteinprofiler

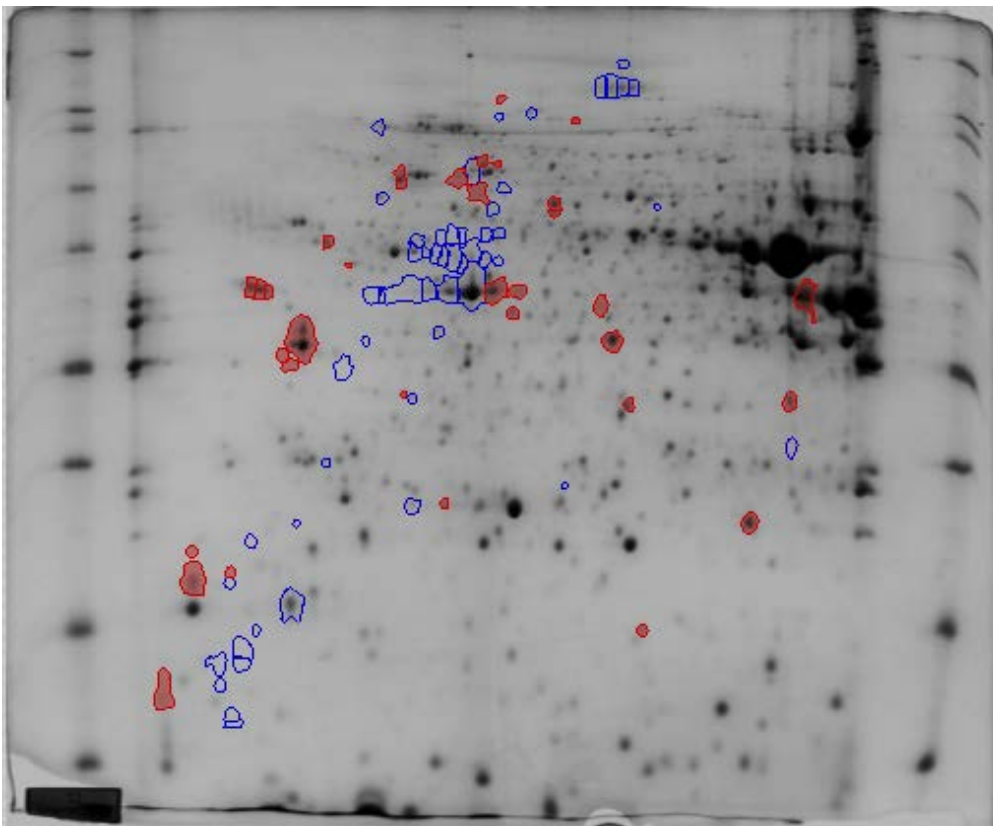
Proteinprofilerne fra de 30 2D-geler blev sammenlignet ved hjælp af billedanalyse. I Figur 6 ses resultatet af en principal komponent analyse (PCA), som viser hvilke prøver der ligner hinanden i forhold til proteinpletter. Det ses tydeligt at prøverne grupperes i relation til de 3 koder. Der er størst forskel mellem filetterne fra råvaren (kode M), som er placeret helt til højre i plottet og de to andre grupper (modnede i henholdsvis saltlage (kode O) og saltlage med enzymer (kode N)), som begge ligger til venstre i PCA-plottet. Dette er nærmest et ens resultat med de 2 tidligere undersøgelser (Skåra *et al.*, 2013; Skåra *et al.*, 2014).



Figur 6 Principal komponent analyser af 2D-gel data. Placeringen i plottet af de enkelte sildeprøver er angivet med massivt farvede symboler, mens de diffuse grå tal angiver proteinpletterne fra 2D-gelerne som er høj signifikante ( $p < 0,01$ ) i en ANOVA der sammenligner koderne.

Ved sammenligning af proteinpletterne i 2D-gelerne, som er årsag til forskellene mellem råvaren og de modnede sild, henholdsvis NVG med slo, Nordsøsild med slo og Nordsøsild med enzymer og salt, ses det tydeligt at det i stor udstrækning er de samme proteiner som ændres. I Figur 7 er 86 proteiner som ændres ved alle disse 3 modninger (3 forsøg) markeret. Af disse proteiner er der 33 proteiner som også ændres i mængde under den traditionelle matjes modning, og de er markeret med rødt.

De 3 forsøgsserier viser altså samstemmende at de processer som sker i sildene (uafhængigt af om de er fileteret eller ej) i de respektive lager hænger sammen med de processer, der foregår under fremstillingen af en traditionel matjes. Det vil således være muligt at benytte 2D-gelanalysen som værktøj til at finde proteinmarkører, der ved en hurtig-analyse vil kunne benyttes til at kontrollere og optimere modningsprocessen i forhold til tid, temperatur og lagesammensætning.



*Figur 7 Proteiner i 2D-gel som ændres i mængde under modning i henholdsvis NVG med slo, Nordsøsild med slo og Nordsøsild med enzymer i forhold til de respektive råvarer (alle markerede proteiner). En delmængde af disse proteiner (rødt markerede) ændre sig også under den traditionelle matjes modning.*

Af de 86 proteiner som ændrede sig under modningsprocesserne i nærvær af slo/enzymer ændrede 57 sig faktisk også under modning i en ren salt-lage og heraf var 29 proteiner blandt dem som ændrede sig under traditionel matjes modning. Ser der på den del af de 86 proteiner, som ikke ændres i den rene saltlage, og hvor ændringerne derfor kan tilskrives enzymer/slo, så er der faktisk kun 4 af disse proteiner som også ændres under den traditionelle matjes modning. En fortolkning af dette kunne være at saltet har en væsentlig større betydning for de proteinændringer der sker i sildemusklens under matjes-fremstillingen, mens enzymer i lagen har en mindre betydning.

## 7 Oppsummering og konklusjon

Forsøkene med produksjon av jomfrusild (lettsaltet nordsjøsild) i industriell skala, viser at prosessen er vel egnet til formålet. Både flaps og skinnfrie fileter forble intakte gjennom prosessen, og alt tydet på at behandlingen var jevn gjennom hele batchen.

Basert på vektregistreringer ser det ut til at salte/modningsprosessen medfører en vektøkning på 5–40 %; størst (>20 %) i skinnfri filet. Proteininnholdet avtar i prosessen, sannsynligvis hovedsakelig som følge av opptak av vann og salt. Saltinnholdet i ferdige fileter ligger i mellom 1,5–2 %. I noen tilfelle lavere i saltet enn i modnet. pH i filet er cirka 6,4.

Med unntak av en batch; saltet skinnfri filet som hadde kimtall  $> 10^5$  CFU/g, var det ingen signifikant økning av kimtall i løpet av prosessen (11 batcher), og nivåene var lave, ca.  $10^2 - 10^3$  CFU/g.

Den sensoriske analysen viser at produktene skiller seg lite fra hverandre (få signifikante forskjeller), men også at behandlingen med og uten enzymer gir konsistente utslag på smak og tekstur. Tilsats av enzymer gir produkter som ligner mer på tradisjonell matjes, enn det man oppnår med kun salting.

Analysen av enzymaktivitet viser at aktivitetsnivåene i enzymlakene i disse forsøkene, er betydelig lavere det som ble målt i enzymlaker i laboratorieskala-forsøkene (Skåra *et al.*, 2013; Skåra *et al.*, 2014). Disse målingene samsvarer med det faktum at det var færre signifikante forskjeller i de sensoriske egenskapene i full skala produktene, enn det vi så i laboratorieskala-forsøkene.

Den betydelig lavere enzymaktiviteten i laken har sannsynligvis sammenheng med oppsamling av slofraksjonen og ekstraksjon av enzymer. I laboratorieskala forsøkene med nordsjøsild, ble det brukt slo fra 35 kg sløyd fisk til laken for 35 kg filet. I storskalaforsøkene var vi nødt til å bruke en fraksjon tatt direkte fra filetmaskinene. Denne fraksjonen bestod av både slo og avskjær, blant annet buklister. Denne blandingen resulterte nok i en betydelig mindre andel tilgjengelige innvollsensymer, og ekstraksjonsprosessen kan også ha blitt influert av andre avskjærskomponenter som var tilstede i blandingen.

Analysen av proteinnedbrytning viser at man oppnådde lignende endringer som de vi så i laboratorie skala. Flere proteiner er unike for modningsprosessen, og resultatene fra forsøkene utgjør et verdifullt grunnlag dersom man velger å gå videre i arbeidet med å utvikle hurtigtester for å bestemme modningsgrad.

## 8 Referanser

- Arnesen, J.A. & A. Gildberg (2007). Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresource Technology*, **98**, pp. 53–57.
- Barrett, A. J. (1972). Lysosomal enzymes. In J.T. Dingle (ed.), *Lysosomes – A Laboratory Handbook*, (p. 46–135). Amsterdam, North Holland Publishing Company.
- Birkeland, S., M. Sivertsvik, H.H. Nielsen & T. Skåra (2005). Effects of brining conditions on weight gain of herring (*Clupea harengus*) fillets. *Journal of Food Science*, **70**, pp. E418–424.
- Engvang, K. & H.H. Nielsen (2000). In situ activity of chymotrypsin in sugar-salted herring during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, pp. 1277–1283.
- Gildberg, A. & J. Raa (1983). Purification and Characterization of Pepsins from the Arctic Fish Capelin (*Mallotus villosus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology*, **75**, pp. 337–342.
- Gudmundsson, M. & H. Hafsteinsson (1997). Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science*, **62**, pp. 37–39.
- Hjelmeland, K. & J. Raa (1980). Fish tissue degradation by trypsin type enzymes. In J.J. Connell (ed.), Papers presented at the Jubilee Conference of the Torry Research Station Aberdeen, Scotland. 23–27 July 1979 ed., vol. *Advances in Fish Science and Technology* (p. 456–459). Farnham, Surrey, England: Fishing News Books Ltd.
- Kaplan, R.S. & P.L. Pedersen (1989). Sensitive protein assay in presence of high-levels of lipid. *Methods in Enzymology*, **172**, pp. 393–399.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr & R.J. Randell (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol.Chem.*, **193**, pp. 265–275.
- Nielsen, L. B. & H.H. Nielsen (2002). Purification and characterization of cathepsin D from herring muscle (*Clupea harengus*). *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry and Molecular Biology*, **128**, pp. 351–363.
- Olsen, S. O. & T. Skara, T. (1997). Chemical changes during ripening of North Sea herring. In J. Luten, T. Børresen & J. Oehlenschläger (eds.), *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*, **38** (p. 305–318). Noorwijkerhout, The Netherlands: Elsevier.
- Peterson, G.L. (1977). A simplification of protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*, **83**, pp. 346–356.
- Rabilloud, T. & S. Charmont (2000). Detection of proteins on two-dimensional electrophoresis gels. In T. Rabilloud (ed.), *Two-dimensional gel electrophoresis and identification methods*, (p. 107–126). Berlin Heidelberg: Springer Verlag.
- Schubring, R. & J. Oehlenschläger (1997). Comparison of the ripening process in salted Baltic and North Sea herring as measured by instrumental and sensory methods. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, **205**, pp. 89–92.
- Skåra, T., M. Carlehog, J. Skaret, A. Gildberg, F. Jessen, H.H. Nielsen & T. Løvdal (2013). Alternativ produksjon av Matjessild. Del 1: Nordsjøsil. Rapport 28/2013, Nofima, Stavanger.
- Skåra, T., S.K. Stormo, M. Carlehog, P. Lea, A. Gildberg, F. Jessen & H.H. Nielsen (2014). Alternativ produksjon av Matjessild. Del 2: NVG sil. Rapport 13/2014, Nofima, Stavanger.
- Stefansson, G., H.H. Nielsen, T. Skåra, R. Schubring, J. Oehlenschläger, J. Luten, S. Derrick & G. Gudmundsdottir (2000). Frozen herring as raw material for spice-salting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, pp. 1319–1324.
- Wulff, T., A. Jokumsen, P. Hojrup & F. Jessen (2012). Time-dependent changes in protein expression in rainbow trout muscle following hypoxia. *Journal of Proteomics*, **75**, pp. 2342–2351.

# Vedlegg 1

## Kontrollinstruks for mottakskontroll (fra Egersund Seafood)

### Formål:

Råstoffet skal tilfredsstille minstekravene til kvalitet i Kvalitetsforskrift for fisk og fiskevarer § 1-10 og kap. 5.

### Ansvar for utførelse av kontroll: Kvalitetsansvarlig

Før produksjonen begynner skal det tas en prøve (samfengtprøve) på ca 30 kg av fisken.

Tabell 11 Kvalitetsvurdering av sild

	1	2	3	4 Uakseptabel
Ferskhetsgrad	Max. 24 timer	25–36 timer	37–72 timer	+ 73 timer
Farge skinn	full friskhet; blank; klar; skinnende; fargespill	noe matthet og blasshet; tap av friskhet	tydelig matthet, blasshet og tap av friskhet	matt; blass ingen friskhet
Farge gjeller	sølvfarget	gråhvit, blakket, melkelignende; svakt brunlig	noe brun og blodflekke	meget brun og blodflekke
Åte	ingen åte	gul åte i tarm	rød åte i magesekk og tarm; antydning til åte i buk	åten har tært seg inn i kjøttet
Buksskade	ingen buksskade	litt svak svarthinne	svak svarthinne	buktært og stygg
Stivhet	stiv og fast	ganske stiv og fast	stivhet nesten borte; ganske bløt	bløt eller meget bløt
Fiskekjøtt	ingen segmentering; ikke noe blod	litt segmentert; ikke noe blod.	segmentert kjøtt; litt blod	mye blod og kjøtte er bløtt og kornete
Sortering	Innen for 10 % større eller mindre en angitt merking	mellom en 10–15 % avvik fra angitt merking	mellom en 15–25 % avvik fra angitt merking	større avvik en 25 % fra angitt merking
Mageinnhold/lukt	sjøfrisk, tanglignede	mindre frisk; svakt oljelignende	svakt gammel tang, harsk olje	harsk olje, surt
Nematoder	Ingen nematoder/kveis i innvoller eller bukklapp	Nematoder i innvollene	Nematoder i innvollene og bukklapp. > 3 stk i 50 %	Nematoder i fiskens muskel.
Totalt inntrykk	gj.snitt <2	gj.snitt <3	gj.snitt <3.2 > vurderes vraking	Ikke akseptert



## Vedlegg 2

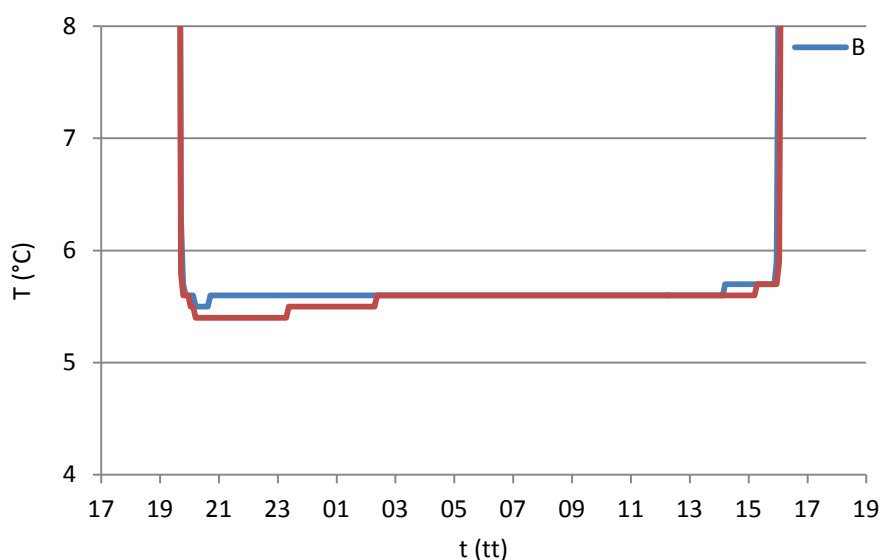
### Detaljer knyttet til råstoff og prosess

#### Forsøk 1: 11. juni

Tabell 12 Kvalitetssegenskaper for sild i forsøk 11. juni

Egenskap	Karakter (1–4)
Ferskhhet	1
Farge skinn	1
Farge gjeller	1
(Feed)	2,5
Buuskade	1
Stivhet	1
(Meat condition)	1
Sortering (Grading)	1
Tarminnhold	1
Nematoder	2
Totalintrykk	1,3

Forsøksvarianter	Kode	Sild	Lake
Råstoff	A	Flaps (vekt 102 g, n = 100)	
Enzymlake	B	500 kg flaps (vekt 111 g, n = 99)	300 liter 5 % salt
Saltlake	C	500 kg flaps (vekt 114 g, n = 100)	300 liter 5 % salt <sup>1</sup>



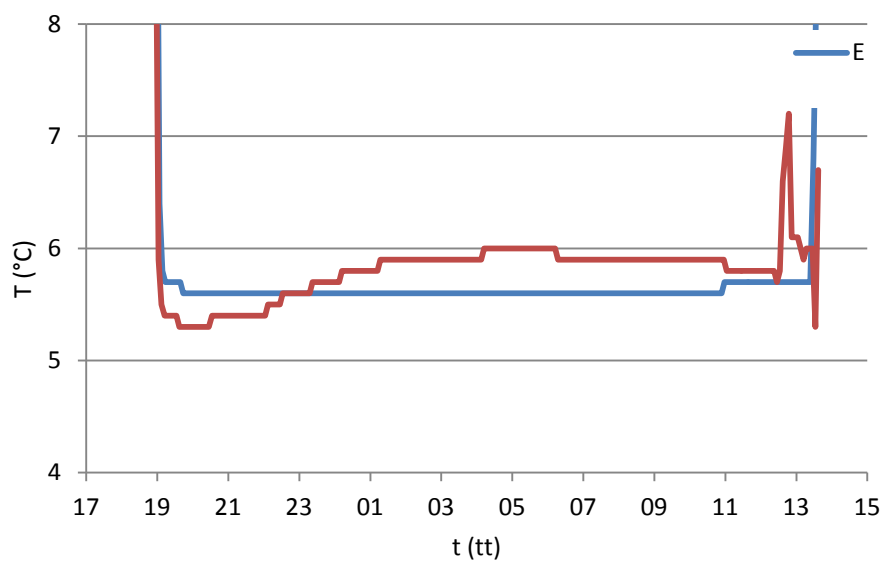
Figur 8 Temperaturforløp i karene under forsøket

## Forsøk 2: 13. juni

Tabell 13 Kvalitetssegenskaper for sild i forsøk 13. juni

Egenskap	Karakter (1–4)
Ferskhet	1
Farge skinn	1
Farge gjeller	1
(Feed)	2,5
Buuskade	1
Stivhet	1
(Meat condition)	1
Sortering (Grading)	1
Tarminnhold	1
Nematoder	2
Totalintrykk	1,3

Forsøksvarianter	Kode	Sild	Lake
Råstoff	D	Flaps (vekt 87 g, n = 100)	
Enzymlake	E	500 kg flaps (vekt 102 g, n = 100)	300 liter 5 % salt
Saltlake	F	500 kg flaps (vekt 101 g, n = 100)	300 liter 5 % salt



Figur 9 Temperaturforløp i karene under forsøket

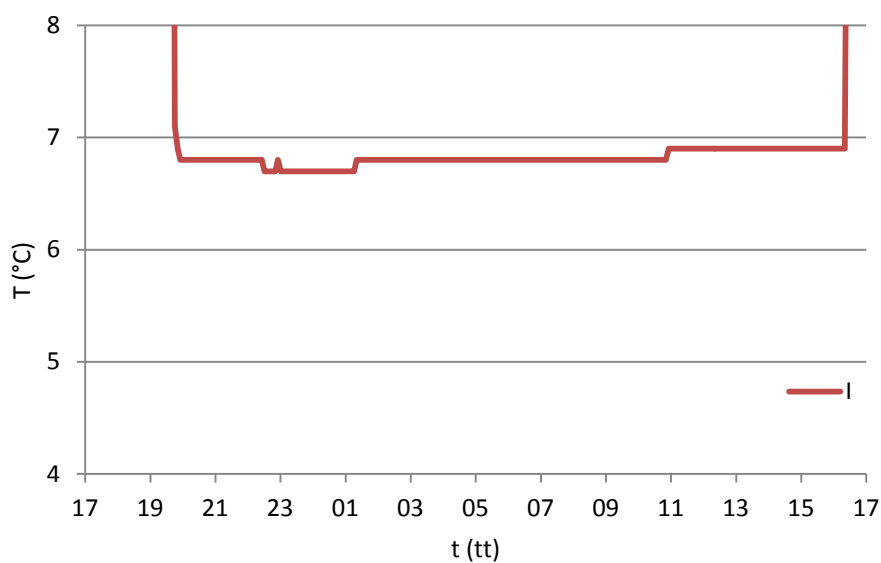
### Forsøk 3: 17. juni

Tabell 14 Kvalitetsegenskaper for sild i forsøk 17. juni

Egenskap	Karakter (1–4)
Ferskhet	2
Farge skinn	2
Farge gjeller	1
(Feed)	2,5
Buuskade	2
Stivhet	2
(Meat condition)	1,5
Sortering (Grading)	1
Tarminnhold	1
Nematoder	2
Totalintrykk	1,7

Forsøksvarianter	Kode	Sild	Lake
Råstoff	H	Flaps (vekt 91 g, n = 100) <sup>1</sup>	
Enzymlake	I	500 kg flaps (vekt 94 g, n = 88) <sup>2</sup>	300 liter 5 % salt <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fra produksjonsdata, <sup>2</sup>Tinte prøver, <sup>3</sup>Tilsatt 150 kg avskjær/slo



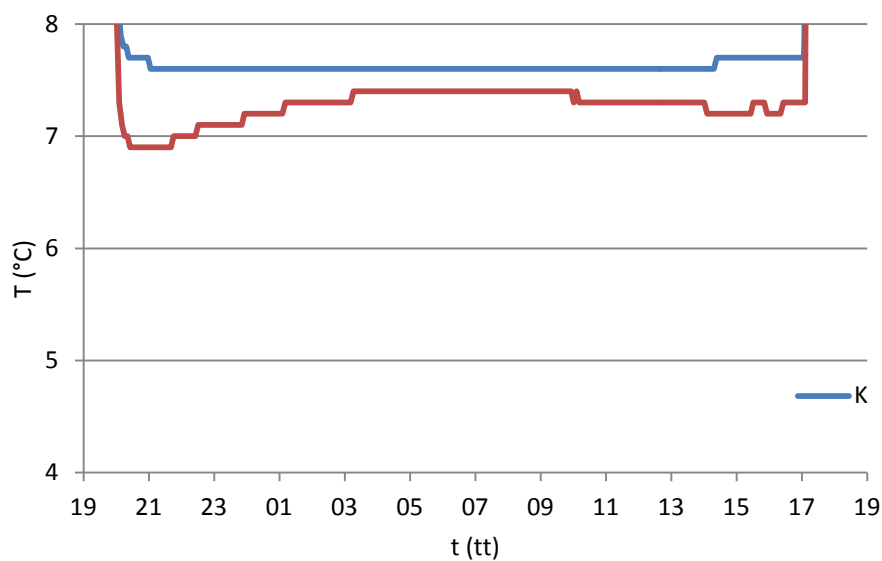
Figur 10 Temperaturforløp i karene under forsøket

## Forsøk 4: 20. juni

Tabell 15 Kvalitetssegenskaper for sild i forsøk 20. juni

Egenskap	Karakter (1-4)
Ferskhet	1
Farge skinn	1
Farge gjeller	1
(Feed)	2,5
Buuskade	1,5
Stivhet	1
(Meat condition)	1
Sortering (Grading)	1
Tarminnhold	1
Nematoder	2
Totalinstrykk	1,3

Forsøksvarianter	Kode	Sild	Lake
Råstoff	J	Skinnfri filet (vekt 30 g, n = 100)	
Enzymlake	K	500 kg skinnfri filet (vekt 35 g, n = 100)	300 liter 5 % salt
Saltlake	L	500 kg skinnfri filet (vekt 42 g, n = 100)	300 liter 5 % salt



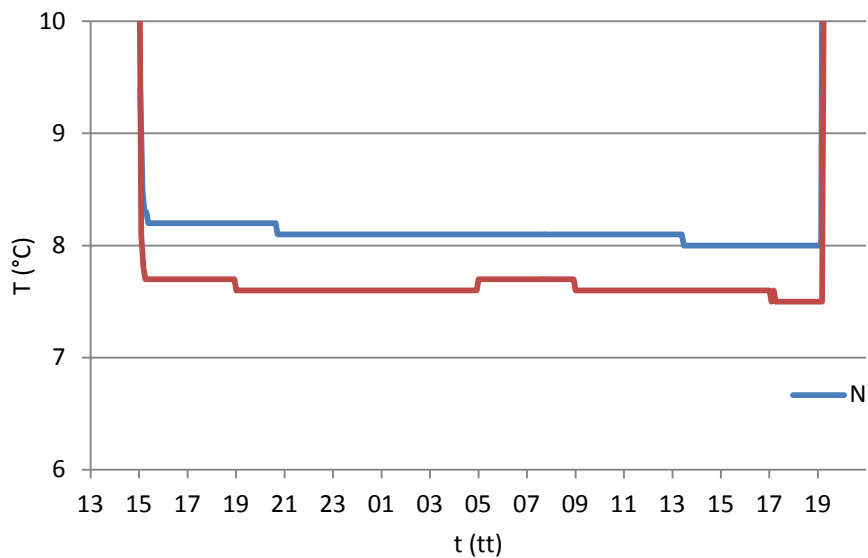
Figur 11 Temperaturforløp i karene under forsøket

## Forsøk 5: 25. juni

Tabell 16 Kvalitetssegenskaper for sild i forsøk 25. juni

Egenskap	Karakter (1–4)
Ferskhet	1
Farge skinn	2
Farge gjeller	2
(Feed)	2
Buuskade	1,5
Stivhet	1,5
(Meat condition)	1
Sortering (Grading)	1
Tarminnhold	1
Nematoder	2
Totalintrykk	1,6

Forsøksvarianter	Kode	Sild	Lake
Råstoff	M	Skinnfri filet (vekt 39 g, n = 100)	
Enzymlake	N	500 kg skinnfri filet (vekt 41 g, n = 100)	300 liter 5 % salt
Saltlake	O	500 kg skinnfri filet (vekt 47 g, n = 100)	300 liter 5 % salt



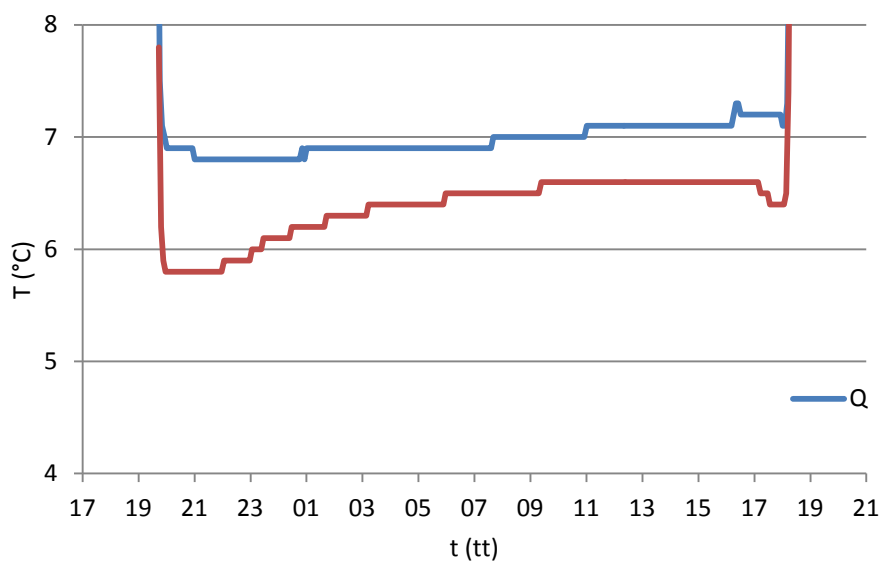
Figur 12 Temperaturforløp i tønnene under forsøket

## Forsøk 6: 30. juni

Tabell 17 Kvalitetsegenskaper for sild i forsøk 30. juni

Egenskap	Karakter (1–4)
Ferskhhet	1
Farge skinn	2,5
Farge gjeller	2
(Feed)	3,5
Buuskade	2,5
Stivhet	1,5
(Meat condition)	1
Sortering (Grading)	1
Tarminnhold	1
Nematoder	2
Totalintrykk	1,8

Forsøksvarianter	Kode	Sild	Lake
Råstoff	H	Flaps (vekt 100 g, n = 100) <sup>1</sup>	Råstoff
Enzymlake	Q	500 kg flaps (vekt 110 g, n = 100)	300 liter 5 % salt
Saltlake	R	500 kg flaps (vekt 105 g, n = 100)	300 liter 5 % salt



Figur 13 Temperaturforløp i karene under forsøket

## Vedlegg 3

### Detaljert beskrivelse av de statistiske modellene

Det ble kjørt flere variansanalysemodeller, siden det under planleggingen av forsøket ikke var klart definert hvilken modell som skulle benyttes til de statistiske analysene. Etter diskusjoner endte man med at det mest interessante ville være:

- Enveisgruppering hvor de 4 uttaksdatoene (18. juni, 21. juni, 27. juni og 1. juli) og referanseprøven.
- Toveisgruppering hvor den ene faktoren er prosess (modent, saltet) og den andre er produkt (flaps, skinnfri)

I begge modellene inkluderes selvsagt også dommere, prøver (I, K, L, N, O, Q, R) og sensoriske gjentak, det vil si 2 forskjellige poser, og alle relevante samspill. Enveisgruppering/toveisgruppering er derfor strengt tatt ikke korrekte betegnelser for de statistiske modellene, men beskriver bare de mest interessante faktorene.

På grunn av mangelfull størrelsessortering ble K-prøven delt i 2, betegnet K-LITEN og K-STOR.

De to modellene kan skrives slik:

$$X_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \gamma_{k(i)} + \beta\gamma_{jk(i)} + \lambda_{l(ik)}$$

Her er  $X_{ijkl}$  dommer  $j$  sin oppfatning av pose  $l$  innen prøve  $k$  innen dato  $i$ ;  $\mu$  er et generelt middel;  $\alpha_i$  er bidraget fra dato  $i$ ,  $\beta_j$  er bidraget fra dommer  $j$ ;  $\alpha\beta_{ij}$  er samspillet mellom dato  $i$  og dommer  $j$ ;  $\gamma_{k(i)}$  er bidraget fra prøve  $k$  innen dato  $i$ ,  $\lambda_{l(ik)}$  er bidraget fra pose  $l$  innen dato  $i$  og prøve  $k$ .

$$X_{imjlk} = \mu + \alpha_i + \theta_m + \beta_j + \alpha\theta_{im} + \alpha\beta_{ij} + \beta\theta_{jm} + \alpha\beta\theta_{ijm} + \gamma_{k(im)} + \beta\gamma_{jk(im)} + \lambda_{l(imk)}$$

$X_{imjlk}$  er bedømmelsen fra dommer  $j$  for produkt  $i$  (flaps/skinnfri), prosess  $m$  (modnet/saltet), prøve innen produkt og behandling (I, Q innen modnet/flaps; K-LITEN, K-STOR, N innen modnet/skinnfri; R innen saltet/flaps og L, O innen saltet/skinnfri), pose  $k$  (1, 2) innen behandling og prøve.  $\alpha_i$  er bidraget fra produkt  $i$ ,  $\theta_m$  er bidraget fra behandling  $m$ ,  $\beta_j$  er bidraget fra dommer  $j$ ;  $\alpha\theta_{im}$  er samspillet mellom produkt  $i$  og prosess  $m$ ,  $\alpha\beta_{ij}$  er samspillet mellom produkt  $i$  og dommer  $j$ ;  $\beta\theta_{jm}$  er samspillet mellom dommer  $j$  og prosess  $m$ ,  $\alpha\beta\theta_{ijm}$  er samspillet mellom produkt  $i$ , dommer  $j$  og prosess  $m$ ,  $\gamma_{k(im)}$  er bidraget fra prøve  $k$  innen produkt  $i$  og prosess  $m$ ,  $\beta\gamma_{jk(im)}$  er samspillet mellom dommer  $j$  og prøve  $k$  innen produkt  $i$  og prosess  $m$ ,  $\lambda_{l(imk)}$  er bidraget fra pose  $l$  innen kode  $k$ , produkt  $i$  og prosess  $m$ .

## Vedlegg 4

### Variansanalysetabeller

Tabell 18a Variansanalyser, begge modeller (Syrlig lukt – harsk lukt)

	Dato	Syrlig lukt	Metallukt	Sjølukt	Fiskeoljelukt	Moden lukt	Harsk lukt
	18. juni	3,72	3,74	2,63	2,44	2,96	1,69
	21. juni	3,68	3,83	2,69	2,76	2,96	1,92
	27. juni	3,34	3,88	2,75	2,72	2,57	2,07
	1. juli	3,35	3,91	2,60	2,73	2,78	2,11
	Ukjent	3,81	4,27	2,39	2,32	4,03	2,37
	p	0,7519	0,2835	0,7570	0,4841	0,5115	0,9345
Prosess	Produkt						
Modnet	Flaps	3,51	3,89	2,64	2,60	2,63	1,83
Modnet	Skinnfri	3,67	3,76	2,66	2,66	3,18	1,68
Saltet	Flaps	3,40	3,78	2,54	2,70	3,24	2,24
Saltet	Skinnfri	3,37	3,97	2,80	2,87	2,25	2,43
	p samspill	0,8227	0,2370	0,5351	0,7662	0,0717	0,6269
Modnet		3,60	3,81	2,65	2,63	2,96	1,74
Saltet		3,38	3,91	2,71	2,81	2,58	2,37
	p	0,5688	0,5119	0,8385	0,3687	0,4152	0,1590
	Flaps	3,47	3,85	2,61	2,63	2,84	1,97
	Skinnfri	3,55	3,85	2,72	2,74	2,80	1,98
	p	0,8241	0,8982	0,4893	0,5091	0,7027	0,9917

Tabell 18b Variansanalyser, begge modeller (Syrlig smak – metallsmak)

	Dato	Syrlig smak	Søt smak	Saltsmak	Bittersmak	Umamismak	Metallsmak
	18. juni	3,96	3,03	4,78	3,73	3,24	3,93
	21. juni	3,94	3,30	4,53	3,80	3,39	3,68
	27. juni	3,87	3,28	4,65	3,67	2,94	3,88
	1. juli	3,73	3,17	4,25	3,61	3,16	3,86
	Ukjent	3,92	3,91	3,96	3,94	4,14	3,53
	p	0,9681	0,5117	0,7998	0,6907	0,5308	0,7061
Prosess	Produkt						
Modnet	Flaps	3,80	3,08	4,72	3,73	3,18	3,94
Modnet	Skinnfri	4,11	3,51	4,25	3,65	3,60	3,59
Saltet	Flaps	3,83	3,20	3,86	3,50	3,19	3,76
Saltet	Skinnfri	3,60	2,95	5,07	3,89	2,62	4,01
	p samspill	0,2663	0,0983	0,0135	0,2764	0,0710	0,1359
Modnet		3,99	3,34	4,44	3,68	3,43	3,73
Saltet		3,68	3,04	4,66	3,76	2,81	3,93
	p	0,1795	0,0949	0,6710	0,6994	0,0342	0,2794
	Flaps	3,81	3,12	4,43	3,65	3,18	3,88
	Skinnfri	3,91	3,29	4,58	3,75	3,21	3,76
	p	0,6593	0,3870	0,2452	0,5471	0,9704	0,5552



Tabell 18c Variananalyser, begge modeller (Sjø smak – hardhet)

Dato	Sjøsmak	Fiskeoljesmak	Emmen smak	Moden smak	Harsk smak	Hardhet	
18. juni	2,67	2,47ab	1,33	3,40	1,44	4,21	
21. juni	2,56	2,64ab	1,33	3,45	1,83	3,97	
27. juni	2,76	2,85a	1,29	2,85	1,53	4,46	
1. juli	2,69	2,82a	1,39	3,15	1,70	3,91	
Ukjent	2,14	2,14b	1,49	4,95	1,97	3,69	
p	0,1877	0,0303	0,8395	0,4663	0,9205	0,8182	
c	-	0,610	-	-	-	-	
Prosess	Produkt						
Modnet	Flaps	2,69	2,69	1,34	3,00	1,56	4,25
Modnet	Skinnfri	2,60	2,69	1,35	3,80	1,49	3,77
Saltet	Flaps	2,68	2,74	1,43	3,70	1,71	3,54
Saltet	Skinnfri	2,69	2,79	1,26	2,33	2,03	4,77
	p samspill	0,7473	0,8525	0,5609	0,0180	0,5850	0,0262
Modnet		2,64	2,69	1,34	3,48	1,52	3,96
Saltet		2,69	2,77	1,32	2,79	1,93	4,36
	p	0,7095	0,5975	0,9196	0,1165	0,3177	0,3315
	Flaps	2,69	2,70	1,37	3,23	1,61	4,01
	Skinnfri	2,64	2,73	1,31	3,21	1,71	4,17
	p	0,7628	0,8739	0,5624	0,6106	0,7981	0,2913

Tabell 18d Variansanalyser, begge modeller (Mørhet – hardhet ben)

Dato	Mørhet	Fethet	Saftighet	Antall ben	Hardhet ben	
18. juni	5,82	5,40	5,91	4,09	4,05	
21. juni	5,99	5,33	5,80	3,80	3,76	
27. juni	5,56	5,13	5,72	4,00	3,78	
1. juli	5,99	5,37	5,77	3,92	4,04	
Ukjent	6,67	5,24	5,52	4,02	3,83	
p	0,7195	0,7823	0,9690	0,8713	0,3254	
Prosess	Produkt					
Modnet	Flaps	5,74	5,38	5,74	4,05	4,07
Modnet	Skinnfri	6,24	5,45	6,08	3,97	3,77
Saltet	Flaps	6,31	5,39	5,96	3,83	4,01
Saltet	Skinnfri	5,17	4,94	5,30	3,74	3,76
	p samspill	0,0146	0,1594	0,0318	0,9880	0,8669
Modnet		6,04	5,42	5,94	4,00	3,89
Saltet		5,55	5,09	5,52	3,77	3,84
	p	0,1410	0,1402	0,0757	0,6837	*
	Flaps	5,93	5,38	5,81	3,98	4,05
	Skinnfri	5,82	5,25	5,77	3,88	3,77
	p	0,3410	*	0,4016	0,7427	*

\*: F-testene er basert på en tilnærming, som i disse tilfellene gir en negativ F-verdi. Siden det er så små forskjeller mellom middelerdiene, har det ingen hensikt å lete etter alternative tilnærminger.

## Vedlegg 5

### Middelverdier over prøvekode

Tabell 19 Syrlig lukt – harsk lukt

Kode	Dato	Pose	Syrlig lukt	Metallukt	Sjølukt	Fiskeoljelukt	Moden lukt	Harsk lukt
I	18. juni	1	3,66	3,76	2,54	2,55	3,06	1,53
I	18. juni	2	3,78	3,73	2,73	2,34	2,85	1,85
K-LITEN	21. juni	1	3,86	3,54	2,48	2,85	3,09	1,91
K-LITEN	21. juni	2	3,48	3,90	2,54	2,50	2,68	1,69
K-STOR	21. juni	1	4,21	3,81	2,85	2,85	3,60	1,16
K-STOR	21. juni	2	4,28	3,78	3,01	2,89	3,61	1,14
L	21. juni	1	2,80	4,13	2,56	2,51	2,11	3,66
L	21. juni	2	3,48	3,81	2,71	2,94	2,68	1,96
N	27. juni	1	3,63	3,60	2,44	2,49	3,60	1,94
N	27. juni	2	2,55	3,95	2,65	2,38	2,48	2,24
O	27. juni	1	3,88	3,94	3,24	2,98	2,24	1,80
O	27. juni	2	3,33	4,01	2,68	3,05	1,96	2,31
Q	1. juli	1	3,01	4,00	2,56	2,71	2,24	2,41
Q	1. juli	2	3,58	4,08	2,74	2,79	2,39	1,54
R	1. juli	1	3,30	4,01	2,49	2,71	3,25	2,34
R	1. juli	2	3,50	3,54	2,60	2,69	3,23	2,15
REF	Ukjent	1	4,06	3,98	2,29	2,38	4,54	2,13
REF	Ukjent	2	3,55	4,56	2,50	2,26	3,53	2,61

I	18. juni		3,72	3,74	2,63	2,44	2,96	1,69
K-LITEN	21. juni		3,67	3,72	2,51	2,68	2,88	1,80
K-STOR	21. juni		4,24	3,79	2,93	2,87	3,61	1,15
L	21. juni		3,14	3,97	2,64	2,73	2,39	2,81
N	27. juni		3,09	3,78	2,54	2,43	3,04	2,09
O	27. juni		3,60	3,98	2,96	3,01	2,10	2,06
Q	1. juli		3,29	4,04	2,65	2,75	2,31	1,98
R	1. juli		3,40	3,78	2,54	2,70	3,24	2,24
REF	Ukjent		3,81	4,27	2,39	2,32	4,03	2,37

Tabell 20 Syrlig smak – metallsmak

Kode	Dato	Pose	Syrlig smak	Søt smak	Saltsmak	Bittersmak	Umamismak	Metallsmak
I	18. juni	1	3,73	2,95	4,95	3,68	3,14	3,98
I	18. juni	2	4,19	3,11	4,61	3,79	3,34	3,88
K-LITEN	21. juni	1	4,11	3,19	4,19	3,84	3,18	3,21
K-LITEN	21. juni	2	4,33	3,40	4,35	3,54	3,79	3,56
K-STOR	21. juni	1	4,39	3,73	3,99	3,46	4,04	3,68
K-STOR	21. juni	2	4,01	3,70	4,04	3,78	3,85	3,76
L	21. juni	1	3,31	2,85	5,36	4,29	2,40	3,89
L	21. juni	2	3,46	2,91	5,24	3,88	3,10	3,98
N	27. juni	1	4,04	3,35	4,16	3,76	3,61	3,54
N	27. juni	2	3,81	3,73	4,78	3,53	3,15	3,80
O	27. juni	1	3,99	2,99	5,26	3,75	2,28	4,21
O	27. juni	2	3,65	3,06	4,40	3,65	2,71	3,98
Q	1. juli	1	3,54	3,08	4,79	3,84	3,15	4,06
Q	1. juli	2	3,74	3,20	4,51	3,60	3,10	3,84
R	1. juli	1	4,00	3,36	3,85	3,54	3,64	3,78
R	1. juli	2	3,65	3,04	3,86	3,46	2,74	3,75
REF	Ukjent	1	4,55	3,96	3,94	3,66	4,33	3,19
REF	Ukjent	2	3,29	3,85	3,99	4,23	3,96	3,86

I	18. juni		3,96	3,03	4,78	3,73	3,24	3,93
K-LITEN	21. juni		4,22	3,29	4,27	3,69	3,48	3,39
K-STOR	21. juni		4,20	3,71	4,01	3,62	3,94	3,72
L	21. juni		3,39	2,88	5,30	4,08	2,75	3,93
N	27. juni		3,93	3,54	4,47	3,64	3,38	3,67
O	27. juni		3,82	3,03	4,83	3,70	2,49	4,09
Q	1. juli		3,64	3,14	4,65	3,72	3,13	3,95
R	1. juli		3,83	3,20	3,86	3,50	3,19	3,76
REF	Ukjent		3,92	3,91	3,96	3,94	4,14	3,53

Tabell 21 Sjøsmak – Harsk smak

Kode	Dato	Pose	Sjøsmak	Fiskeoljesmak	Emmen smak	Moden smak	Harsk smak
I	18. juni	1	2,53	2,40	1,16	3,16	1,59
I	18. juni	2	2,81	2,54	1,49	3,64	1,29
K-LITEN	21. juni	1	2,64	2,70	1,53	4,04	1,86
K-LITEN	21. juni	2	2,73	2,58	1,43	3,80	1,19
K-STOR	21. juni	1	2,46	2,59	1,25	3,89	1,05
K-STOR	21. juni	2	2,54	2,68	1,04	4,00	1,59
L	21. juni	1	2,26	2,53	1,41	2,31	3,63
L	21. juni	2	2,73	2,80	1,31	2,65	1,64
N	27. juni	1	2,54	2,68	1,21	3,41	1,38
N	27. juni	2	2,73	2,91	1,64	3,65	1,89
O	27. juni	1	3,04	3,00	1,18	1,90	1,34
O	27. juni	2	2,75	2,83	1,15	2,45	1,53
Q	1. juli	1	2,83	2,89	1,38	2,76	1,86
Q	1. juli	2	2,60	2,93	1,33	2,44	1,50
R	1. juli	1	2,74	2,73	1,28	4,00	1,76
R	1. juli	2	2,61	2,75	1,58	3,40	1,66
REF	Ukjent	1	2,09	1,94	1,38	5,14	1,43
REF	Ukjent	2	2,19	2,34	1,61	4,76	2,51

I	18. juni		2,67	2,47	1,33	3,40	1,44
K-LITEN	21. juni		2,68	2,64	1,48	3,92	1,53
K-STOR	21. juni		2,50	2,63	1,14	3,94	1,32
L	21. juni		2,49	2,66	1,36	2,48	2,63
N	27. juni		2,63	2,79	1,43	3,53	1,63
O	27. juni		2,89	2,91	1,16	2,18	1,43
Q	1. juli		2,71	2,91	1,35	2,60	1,68
R	1. juli		2,68	2,74	1,43	3,70	1,71
REF	Ukjent		2,14	2,14	1,49	4,95	1,97

Tabell 22 Hardhet – hardhet ben

Kode	Dato	Pose	Hardhet	Mørhet	Fethet	Saftighet	Antall ben	Hardhet ben
I	18. juni	1	4,41	5,49	5,31	5,63	4,11	4,19
I	18. juni	2	4,01	6,15	5,49	6,19	4,06	3,91
K-LITEN	21. juni	1	3,25	6,75	5,63	6,06	3,59	3,45
K-LITEN	21. juni	2	3,41	6,51	5,38	6,01	3,98	3,84
K-STOR	21. juni	1	3,76	6,25	5,40	6,05	3,80	3,80
K-STOR	21. juni	2	4,01	6,03	5,46	6,18	4,14	3,93
L	21. juni	1	5,04	4,99	5,09	5,19	3,80	3,90
L	21. juni	2	4,36	5,40	5,00	5,31	3,48	3,63
N	27. juni	1	4,03	5,88	5,38	5,99	4,04	3,70
N	27. juni	2	4,15	6,05	5,45	6,18	4,26	3,90
O	27. juni	1	5,05	4,98	4,84	5,19	3,61	3,68
O	27. juni	2	4,61	5,33	4,85	5,51	4,09	3,84
Q	1. juli	1	4,08	5,89	5,40	5,64	4,40	4,29
Q	1. juli	2	4,50	5,45	5,31	5,51	3,63	3,88
R	1. juli	1	3,61	6,40	5,38	6,14	3,64	3,99
R	1. juli	2	3,46	6,21	5,40	5,78	4,03	4,03
REF	Ukjent	1	3,74	6,50	5,00	5,56	4,10	4,21
REF	Ukjent	2	3,64	6,84	5,48	5,48	3,94	3,44

I	18. juni		4,21	5,82	5,40	5,91	4,09	4,05
K-LITEN	21. juni		3,33	6,63	5,50	6,04	3,78	3,64
K-STOR	21. juni		3,89	6,14	5,43	6,11	3,97	3,86
L	21. juni		4,70	5,19	5,04	5,25	3,64	3,76
N	27. juni		4,09	5,96	5,41	6,08	4,15	3,80
O	27. juni		4,83	5,15	4,84	5,35	3,85	3,76
Q	1. juli		4,29	5,67	5,36	5,58	4,01	4,08
R	1. juli		3,54	6,31	5,39	5,96	3,83	4,01
REF	Ukjent		3,69	6,67	5,24	5,52	4,02	3,83

