

Økt holdbarhet av fiskefilet ved gelatin-coating

Jan Arne Arnesen, Mats Carlehög og Asbjørn Gildberg





Nofima er et næringsrettet forskningskonsern som sammen med akvakultur-, fiskeri- og matnæringen bygger kunnskap og løsninger som gir merverdi. Virksomheten er organisert i fire forretningsområder; Marin, Mat, Ingrediens og Marked, og har om lag 470 ansatte. Konsernet har hovedkontor i Tromsø og virksomhet i Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Averøy.

Hovedkontor Tromsø
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: nofima@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Forretningsområdet marin driver forskning, utvikling, nyskaping og kunnskapsoverføring for den nasjonale og internasjonale fiskeri- og havbruksnæringen. Kjerneområdene er avl og genetikk, fôr og ernæring, fiskehelse, effektiv og bærekraftig produksjon, prosess- og produktutvikling av sjømat samt marin bioprospektering.

Nofima Marin AS
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: marin@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Rapport

ISBN: 978-82-7251-852-2 (trykt)
 ISBN: 978-82-7251-853-9 (pdf)

Rapportnr.:
 7/2011

Tilgjengelighet:
Åpen

<i>Tittel:</i>		<i>Dato:</i>
Økt holdbarhet av fiskefilet ved gelatin-coating		7. februar 2011
		<i>Antall sider og bilag:</i>
		22
<i>Forfatter(e):</i>		<i>Prosjektnr.:</i>
Jan Arne Arnesen, Mats Carlehög og Asbjørn Gildberg		20898
<i>Oppdragsgiver:</i>		<i>Oppdragsgivers ref.:</i>
MABIT		UB 0043
<i>Tre stikkord:</i>		
Mjødurt, fiskegelatin, coating		
<i>Sammendrag: (maks 200 ord)</i>		
<p>Torsk-, sei- og kveitefilet er dyppet i en blanding av fiskegelatin (fra torskeskinn) og ekstrakt fra mjødurt (<i>Filipendula ulmaria</i>). Mjødurtekstraktet inneholder mye antioksidanter og antibakterielle forbindelser. Gelatin alene har også en viss antioksidativ effekt. Det medfører at fileten får en film på overflaten som beskytter mot harskning og bakteriell forråtnelse under lagring ved 5 °C. Analyser av harskningsgrad (TBAR) og mengde bakterielle nedbrytningsstoffer (flyktig nitrogen) viser at fisk dyppet i gelatin/mjødurt har mindre av disse sammenlignet med fisk som ikke fikk denne behandling.</p> <p>Coating fører ikke til vesentlig farge- og smaksforandring på fileten.</p>		
<i>English summary: (maks 100 ord)</i>		
<p>Coating of fish filet with a mixture of gelatin and extracts from meadowsweet (<i>Filipendula ulmaria</i>) gave the fish a protective film. The film reduces the rancidity of the fish during storage at 5 °C. The extracts also showed some antibacterial activity. Coating of the fish did not alter the color or taste.</p>		

Innhold

1	Innledning	1
2	Materialer og metoder	3
2.1	Materialer	3
2.2	Gelatinframstilling.....	3
2.3	Framstilling av mjødurtekstrakt	3
2.4	Coating av filetstykker	3
2.5	Bestemmelse av geltykkelse.....	4
2.6	Kjemiske analyser	4
2.7	Sensorisk analyse	5
3	Resultater	6
3.1	Coatingforsøk med stykker av torskefilet	6
3.2	Coatingforsøk med stykker av kveitefilet.....	13
3.3	Antioksidativ kapasitet.....	15
3.4	Farge analyse	16
3.5	Sensorisk analyse av kveitefilet	17
4	Konklusjon.....	20
5	Referanser.....	21

1 Innledning

Den sensoriske kvalitet på fiskefilet forringes hurtig under kjølelagring dersom fileten ikke er vakuumpakket eller på andre måter beskyttet mot oksidasjon og bakterievekst. Målsetningen med dette prosjektet har vært å undersøke om coating av fiskefilet med gelatin eller gelatin tilsatt mjødurtekstrakt kan bidra til økt holdbarhet under kjølelagring.

Oksidasjonsprodukter som oppstår i matvarer vil ikke bare forringe sensorisk kvalitet, men vil trolig også medføre økt kreftisiko. Slike oksidasjonsprodukter oppstår gjerne når fett og olje harskner. I fiskeprodukter er det viktig å unngå harskning både fordi den positive helseeffekten av flerumettede fettsyrer forsvinner samtidig som kreftfremkallende stoffer (frie radikaler, peroksider etc.) blir dannet. Det er kjent at gelatin-coating kan gi god barriere mot oksygen (Martucci & Ruseckaite, 2010) og dermed bidra til å redusere harskning og vekst av aerobe bakterier (Min & Oh, 2009). Peptider som finnes i gelatinløsninger kan dessuten virke som antioksidanter (You *et al.*, 2010). Dersom fiskeprodukter påføres en gelatinhinne, vil oksygentilførsel og oksidasjonshastighet bli redusert. Hydrolysater av fiskegelatin har i seg selv også antioksidativ virkning (Yang *et al.*, 2008; Khantaphan & Benjakul, 2008; Giménez *et al.* 2009). Dermed er det grunn til å tro at en membran av fiskegelatin blandet med enzymhydrolysat av gelatinet vil kunne gi "dobbel" oksidasjonsbeskyttelse fordi den både reduserer oksygentilgang og har direkte antioksidativ effekt.

Gómez-Guillén *et al.* (2009) understreker at fiskegelatin er et svært interessant råstoff for framstilling av membraner som egner seg til beskyttelse av forskjellige matvarer, både mot uttørking og harskning. Fordi gelatinløsninger fra kaldtvannsfisk er flytende helt ned mot 10-15 °C, kan kald fiskefilet dyppes i slik løsning uten at muskelproteinene blir varmedenaturert. Egne forsøk har vist at gelatin laget av skinn fra laks eller torsk gir en fast gel når temperaturen kommer lavere enn 10 °C. Dermed blir iskald fiskefilet som dyppes i en fiskegelatinløsning ved 15-20 °C straks omsluttet av en fast hinne.

Tilsetning av kommersielle antioksidanter til gelen vil kunne øke denne effekten (Jongjareonak *et al.*, 2008). Kommersielle antioksidanter er effektive, men det er stor skepsis til bruk av slike stoffer og derfor stadig økende etterspørsel etter naturlige antioksidanter ekstrahert fra plantemateriale. Lovende resultater er oppnådd ved tilsats av ekstrakter fra myrteblader (guava) eller nellikolje (Gómez-Guillén *et al.*, 2007; Gomeéz-Estaca *et al.*, 2009). Trouillas *et al.* (2003) har vist at mjødurt i tillegg til å ha meget høyt innhold av antioksidanter også har antiinflammatoriske og antiproliferative aktiviteter.

Høsten 2008 lanserte vi ideen om å bruke ekstrakter av mjødurt (*Filipendula ulmaria*) til å hindre harskning av næringsmidler i en TTO idékonkurranse; "Kommersialisering av marin bioteknologi". Tilgang på mjødurt i Nord-Norge er god. Planten trives godt på brakklagte enger som det etter hvert finnes mye av. Bioforsk har vist at mjødurt generelt, og særlig den som vokser i Nord-Norge, inneholder mye antioksidanter (Røthe, 2007). Planten inneholder mye askorbinsyre (vitamin C) og er dessuten rik på forskjellige fenolderivater som kan beskytte mot oksidasjon. Mjødurten inneholder også mye salisylsyre. Disse stoffene ser ut til å finnes i alle plantedeler, men mengdefordelingen er enda ikke grundig undersøkt.

For å undersøke effekter av gelatin og mjødurtekstrakt på lagringsstabilitet av fiskefilet har vi dyppet standardiserte filetstykker av torsk, sei og kveite i forskjellige oppløsninger og lagret disse ved 4 °C.

2 Materialer og metoder

2.1 Materialer

Det ble gjort forsøk med filetstykker fra tre fiskeslag: Torsk (*Gadus morhua*), sei (*Gadus virens*) og kveite (*Hippoglossus hippoglossus*). All fisk benyttet ble fanget i lokale farvann. Stykker á 2 x 2 x 7.5 cm ble skåret ut fra ryggmuskel av fersk eller nytint fisk (tint over natt ved 10 °C som hadde vært pakket i plast og fryselagret kort tid). Det ble benyttet gelatin ekstrahert fra torskeskinn, og mjødurtekstrakt ble laget av planter høstet på Lemmingvær i 2009 og 2010. Det ble dessuten benyttet diverse kjemikalier av analytisk kvalitet.

2.2 Gelatinframstilling

Gelatin ble ekstrahert fra torskeskinn levert i frosset blokk fra filetindustri. Framstilling ble utført både i pilotskala (20 kg skinn) og i labskala (900 g skinn) etter prosedyrer beskrevet tidligere av Arnesen og Gildberg (2006; 2007). Selve gelatineekstraksjonen ble utført under røring ved sure betingelser (pH 5) i 2 timer ved ca 55 °C og salter ble fjernet ved behandling med kationebytter (Purolite) og anionebytter (Levatit). Renset gelatinløsning inneholdt ca 2 % tørrstoff og var svakt basisk. Ved framstilling i pilotskala ble løsningen konsentrert til ca 20 % tørrstoff på vakuumindeknamp før tørking. Tørking ble utført på plastbrett i tørkeskap ved ca 40 °C.

2.3 Framstilling av mjødurtekstrakt

Mjødurt (*Filipéndula ulmária*), ble høstet på Lemmingvær. Både blomst og hele planten ble ekstrahert som beskrevet av Harbourne *et al.* (2009). Ekstraktene ble framstilt ved vandig ekstraksjon ved 90 °C i 15 minutter. Ca 25 g mjødurt (hovedsakelig blomst) ble tilsatt 500 ml vann og varmet opp til 90 °C. Ekstraksjonen ble gjentatt ved å tilsette nye 200 ml vann. Ved coatingsforsøkene ble det bare benyttet første ekstrakt med en konsentrasjon på ca 0,5 g/100 ml gelatinoppløsning.

2.4 Coating av filetstykker

Tørt torskeskinngelatin (ca 95 % tørrstoff), 50.0 g, ble tilsatt 450 ml vann og satt til svelling over natt ved ca 10 °C. Gelatinet ble oppløst under oppvarming med røring til ca 50 °C og fortynnet til ønsket konsentrasjon. Filetstykker (2 x 2 x 7.5 cm) ble skåret ut mest mulig hygienisk fra fiskens ryggmuskel og holdt ved 0 °C på is før de ble dypp-coatet ca 5 sek i gelatinløsning med temperatur ca 20 °C. Dyppingen skjedde ved at stykkene hvilte over to aluminiumsbøylere som ble senket ned i løsningen. Stykkene ble deretter holdt ca 5 sek over løsningen, slik at overskudd av løsning fikk dryppe av før stykkene ble plassert på aluminiumsfolie i en plasteske (26 x 18 x 7 cm) på is. Eskene med, som oftest 8 filetstykker i hver eske, ble så påsatt plastlokk (ikke lufttett) og satt til lagring på kjølerom ved 4 °C.

2.5 Bestemmelse av geltykkelse

I første forsøk ble det brukt filetstykker skåret fra fryselauret villtorsk. Det ble laget fortyndinger med 5, 2.5 og 1.25 % gelatin. Av filetene ble det skåret ut rektangulære prizmer ($2 \times 2 \times 7.5 \text{ cm}^3$) fortrinnsvis med kvadratiske endeflater. Stykker coatet med forskjellige gelatinkonsentrasjoner ble veid før og etter coating, og geltykkelser ble beregnet som beskrevet her:

Overflateareal (cm^2) beregnes som:

$$1) \quad 2x^2 + 4(7.5x), \text{ der } x = \text{sidekant i prismets grunnflate.}$$

Ettersom egenvekten for torskemuskel er 1.06 g/cm^3 , kan vi beregne x etter følgende ligning:

$$2) \quad \text{Vekt fiskestykke} = x^2 \cdot 7.5 \text{ cm} \cdot 1.06 \text{ g/cm}^3$$

$$x = \sqrt{\text{vekt}/7.95}$$

Fiskestykkets overflate er: $2x(x + 15 \text{ cm})$, og gelatinmembran-tykkelsen blir da: $\text{Vektøkning etter dypping (i gram)}/2x(x + 15 \text{ cm})$, dersom vi regner gelatinløsningenes egenvekt lik 1.

I andre forsøk ble det skåret ut stykker (ca $2 \times 2 \times 7.5 \text{ cm}$) av ryggmuskel fra fersk, villfanget torsk (levert i Senjahopen). Prøvene ble tatt fra to store torsk lagret på is i 3 dager. Til hvert målepunkt ble det benyttet to stykker fra hver torsk og stykkene ble dyppet i 1, 2, 4 og 8 % gelatin.

2.6 Kjemiske analyser

Filetstykker ble homogenisert (Polytron PT 1200), og forskjellige kjemiske analyser ble utført. Tørrestoffinnhold ble bestemt gravimetrisk etter tørking i to dager ved $105 \text{ }^\circ\text{C}$ og aske (minerale) etter forbrenning ved $500 \text{ }^\circ\text{C}$ i ca 17 timer. Totalt flyktig nitrogen ble bestemt med Kjeldahl-utstyr uten forutgående svovelsyreoppslutning av prøvene. Oksidasjon ble bestemt ved måling av TBAR-verdier (Thiobarbitursyre reaktive stoffer) som beskrevet av Dulavik et al (1998). Thiobarbitursyre (TBA) reagerer med malondialdehyd, et sekundært oksidasjonsprodukt fra umettede fettsyrer, og danner et rød-fiolett kompleks som bestemmes spektrofotometrisk.

Antioksidativ kapasitet/aktivitet i mjødurtektaktene ble bestemt med FRAP og ABTS. FRAP (ferric reducing/antioxidant power) ble utført som beskrevet av Pulido et al. (2000) og ABTS (azinobis-ethylbenzothiazoline-sulfonic acid) ble utført som beskrevet av Re et al. (1999). FRAP måler ekstraktens evne som reduksjonsmiddel, mens ABTS måler evnen de har til å fjerne radikaler.

Fargemålinger på sei- og laksefilet før og etter coating med gelatin og mjødurt ble gjort med Minolta Chroma meter CR-200. Det ble brukt 5 % fiskegelatin med mjødurt som beskrevet tidligere.

2.7 Sensorisk analyse

Kveite (16 kg sløydvekt) ble fanget ved Lemmingvær, frosset fersk og fryselagret (-20 °C) noen få dager før den ble tint over natt ved 10 °C. Tjuefire standard filetstykker ble skåret ut fra ryggmuskel. Åtte stykker ble coatet med 4 % gelatinløsning (pH 8.7), 8 stykker med gelatinløsning tilsatt mjødurtekstrakt (9,6 mg/ml, pH 6.9) og 8 stykker fikk ingen coating. Bitene ble lagret mørkt i tre forskjellige plastesker 6 dager ved 4 °C. Åtte filetstykker skåret ut fra nytint kveite etter 6 dager ble brukt som "fersk" referanseprøve. Alle prøvene, 8 filetstykker av hver behandling og 4 forskjellige behandlinger, ble dampkokt, homogenisert og triangeltestet av et trent smakspanel (7 – 8 deltagere). I en triangeltest blir panelet servert to like og en ulik prøve og skal identifisere den ulike prøven ved smakstesting. Resultatet regnes som signifikant (pålitelig) dersom det er mindre enn 5 % sjanse for at det er oppnådd tilfeldig.

3 Resultater

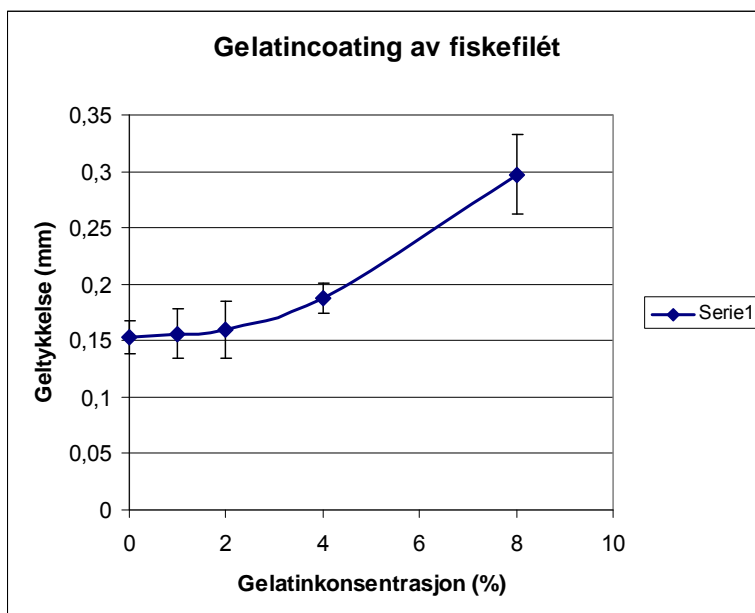
3.1 Coatingforsøk med stykker av torskefilet

Innledende forsøk med filetstykker fra fryselauret torsk viste at geltykkelsen ved gelatincoating, som forventet, var avhengig av gelatinkonsentrasjonen. *Tabell 1* viser beregnet geltykkelse på filetstykker coatet med gelatinløsninger med 5, 2.5 og 1.25 % gelatin. Gjennomsnittlig geltykkelse på 4 stykker var henholdsvis 0,26, 0,20 og 0,15 mm. Forsøket viser at geltykkelsen økte ca 30 % når gelatinkonsentrasjonen ble fordoblet i det aktuelle konsentrasjonsområdet.

Tabell 1 Membrantykkelse (mm) på fiskestykker dyppet i løsninger av torskeskinngelatin med tre forskjellige konsentrasjoner.

	Gelatinkonsentrasjon (%)		
	5	2.5	1.25
	0.261	0.256	0.198
	0.266	0.198	0.154
	0.241	0.174	0.114
	0.276	0.174	0.146
Gjennomsnittstykkelse:	0.261±0.015	0.201±0.03	0.153±0.035

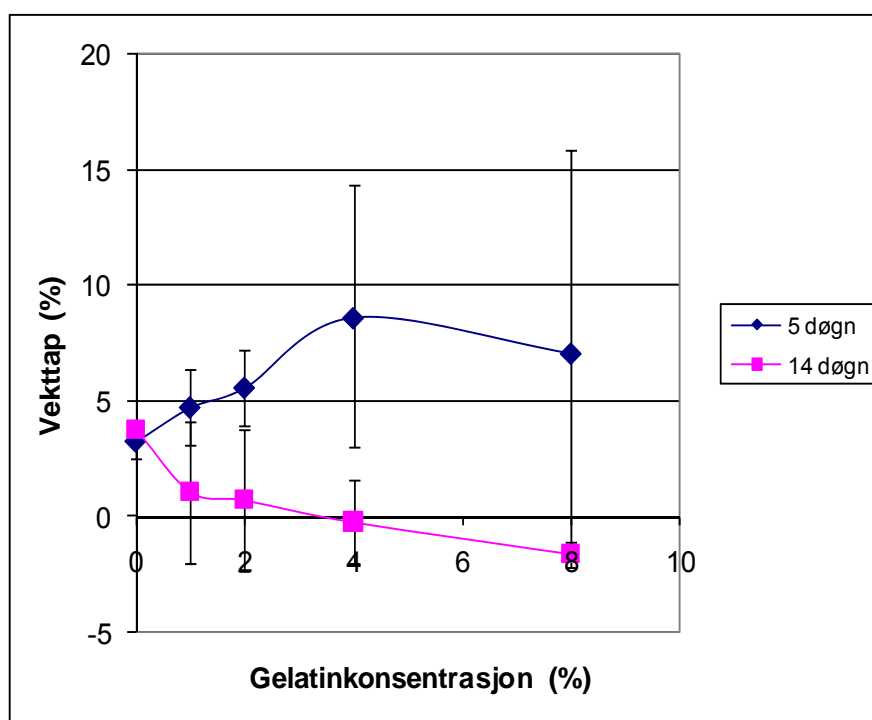
Ut fra vektøkning etter dypping (4 paralleller; to stykker fra hver fisk) ble geltykkelsen beregnet slik som beskrevet tidligere. *Figur 1* viser geltykkelse som funksjon av gelatinkonsentrasjon.



Figur 1 Geltykkelse som funksjon av gelatinkonsentrasjon i oppløsningen under dypping.

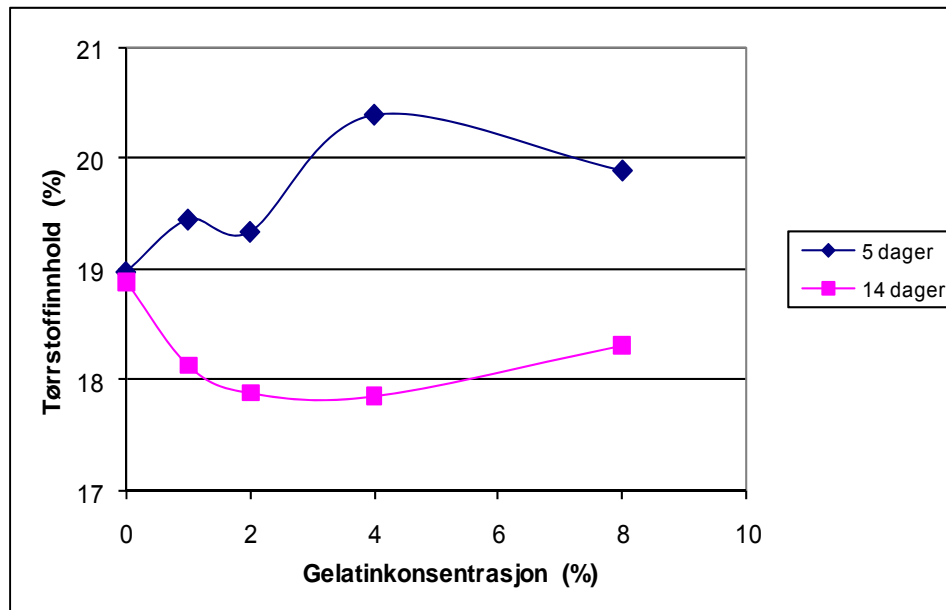
Som ved første forsøk ble geltykkelser beregnet ut fra veiinger av 4 fiskestykker for hvert målepunkt (2 stykker fra hver fisk). Det viste seg nå at rent vann dannet en ca 0,15 mm tykk film rett etter dypping. Filmtykkelsen økte ikke betydelig før gelatinkonsentrasjonen nærmet seg 4 %, og den ble nesten fordoblet til 0,3 mm ved økning fra 2 til 8 % gelatinkonsentrasjon. Dette er noe forskjellig fra første forsøk (*Tabell 1*) som viste noe høyere geltykkelse ved tilsvarende konsentrasjoner, men ut fra vurdering av begge forsøkene ble det valgt å bruke 5 % gelatin ved de etterfølgende coating-forsøkene.

Figur 2 viser vekttap av de samme fiskestykkene som funksjon av gelatinkonsentrasjon etter lagring i 5 og 14 dager ved 5 °C. Hvert målepunkt er her beregnet fra bare to fiskestykker (ett fra hver fisk) og standardavvikene er til dels svært høye.



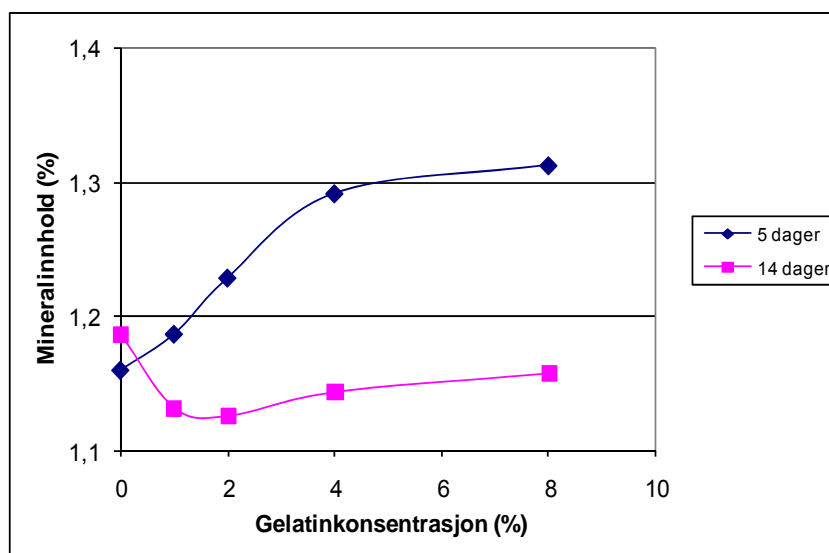
Figur 2 Vekttap (%) av filestykker coatet med gelatinløsninger under lagring ved 5 °C.

Etter 5 dagers lagring ble det registrert et betydelig vekttap, særlig i filestykker coatet med de høyeste gelatinkonsentrasjonene (4 og 8 %). Dette tyder på at gelatinet trekker noe vann ut fra fileten mens den er relativt fersk og at gelatincoating dermed kan ha en negativ effekt. Etter 14 dagers lagring var vekttapet mindre, og ved den høyeste konsentrasjonen (8 %) ble det registrert en liten vektøkning. Dette skyldes trolig reabsorpsjon av vann på grunn av mikrobiell produksjon av flyktig nitrogen (TMA og ammoniakk) som gir pH-økning i fileten. Dette har likevel ingen praktisk betydning fordi fileten etter 14 dagers lagring ved slik temperatur ikke lenger har akseptabel konsumkvalitet.



Figur 3 Tørrstoffkonsentrasjon i filetstykker coatet med gelatin etter lagring ved 5 °C.

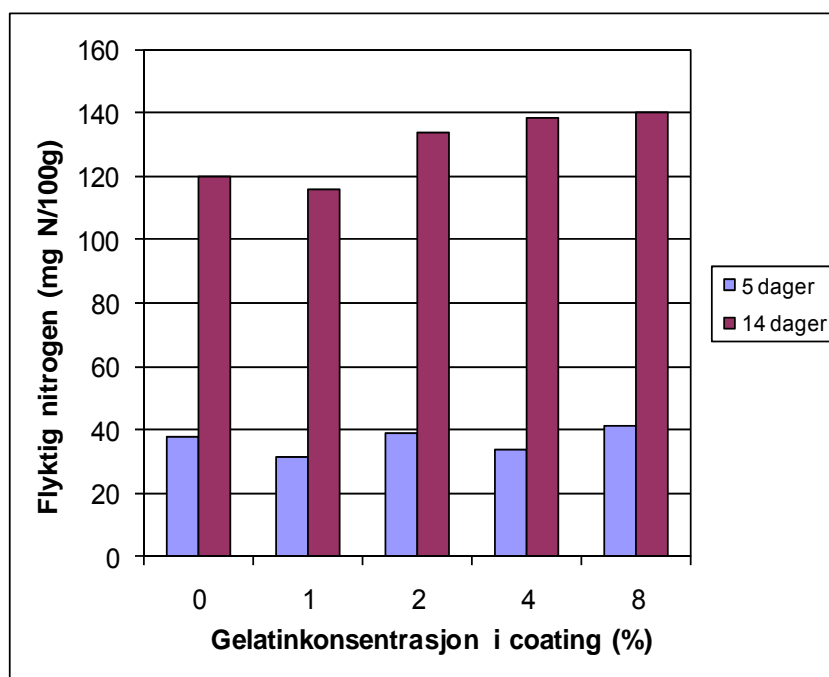
Figur 3 viser tørrstoffkonsentrasjonen i torskfiletstykkene etter lagring. Mens filetstykker som er dyppet i rent vann har lik tørrstoffkonsentrasjon etter 5 og 14 dagers lagring, øker tørrstoffkonsentrasjonen noe med økende gelatinkonsentrasjon etter 5 dager og avtar noe etter 14 dagers lagring. Dette er i samsvar med resultatene vist i Figur 2, som viser høyt vekttap etter 5 dagers lagring i fileter coatet med høy gelatinkonsentrasjon og en viss vektøkning etter 14 dagers lagring i filetstykker coatet med de høyeste gelatinkonsentrasjonene. Fordi vi antar at vekttapet i hovedsak skyldes vanntap, er dette resultatet logisk.



Figur 4 Mineralkonsentrasjon i filetstykker coatet med gelatin etter lagring ved 5 °C.

Filetstykkenes mineralkonsentrasjon, (Figur 4) er i samsvar med tørrstoffinnholdet (Figur 3) og bekrefter antagelsen om at vekt-tapet etter 5 dagers lagring først og fremst skyldes tap av vann.

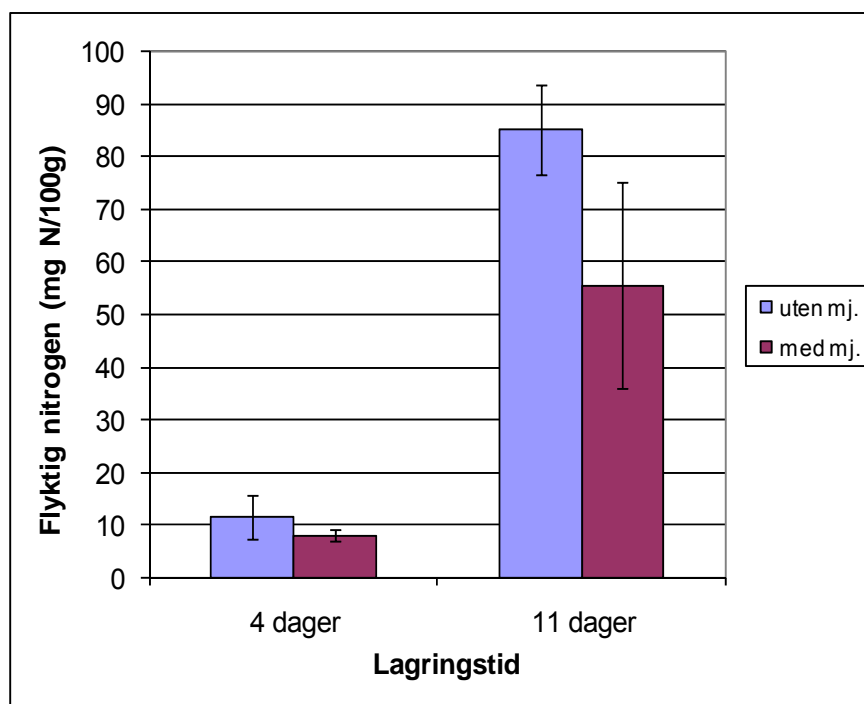
Mengde flyktig nitrogen (hovedsakelig ammoniakk og trimethylamin) ble bestemt i alle prøvene, og resultatet er gitt i Figur 5. Årsaken til dannelse av flyktig nitrogen er bakterievekst.



Figur 5 Mengde flyktig nitrogen i fiskestykker fra torsk coatet med forskjellige gelatinkonsentrasjoner etter lagring i 5 og 14 dager ved 5 °C.

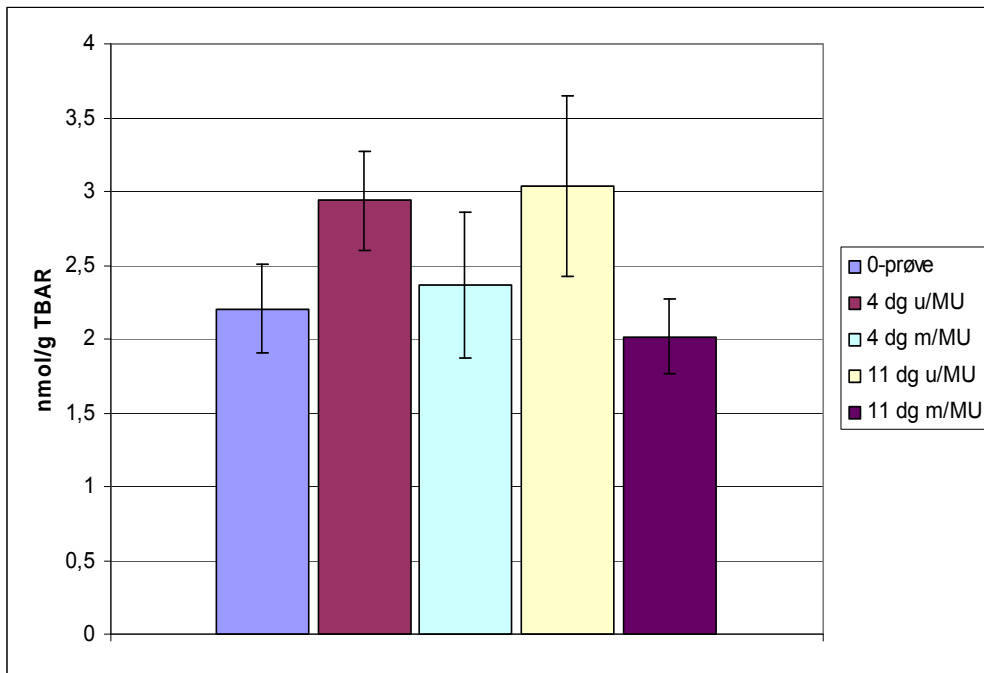
Mengde flyktig nitrogen i alle prøvene etter 5 dagers lagring nærmet seg det maksimale av akseptabelt nivå for konsum (35 mg N/100g fisk). Etter 14 dager var nivået 3 – 4 ganger høyere enn akseptabelt nivå. Selv om forskjellene var små med forskjellige gelatinkonsentrasjoner, er det verdt å merke seg at nivået var lavest ved coating med 1 % gelatinløsning og høyest ved 8 %, som er den høyeste gelatinkonsentrasjonen brukt her. Dette gjelder både etter 5 og 14 dagers lagring og kan skyldes at gelatinet er et godt vekstsubstrat for bakterier, slik at økende gelatinmengde medfører økt bakterievekst. At filetstykker dyppet i rent vann har litt høyere flyktig nitrogeninnhold enn stykker dyppet i 1 % gelatin, kan se ut til å være i konflikt med denne antagelsen, men dette resultatet kan forklares med at selv en tynn gelatinmembran reduserer veksten av aerobe bakterier. Dette gjenstår imidlertid å dokumentere.

Første forsøk med gelatincoating tilsatt mjødurtekstrakt ble utført med filetstykker av torsk som hadde vært lagret ca 50 dager ved -30 °C. Filetstykkene ble skjært ut etter tining i to døgn ved ca 10 °C (fra to sløyde torsker). For hvert målepunkt ble det benyttet 4 filetstykker (2 fra hver fisk). Stykkene ble dyppet i 5 % gelatinløsninger (romtemperatur) med og uten mjødurtekstrakt. Prøvene ble lagret i plastesker med lokk (ikke lufttette) ved ca 5 °C i 4 og 11 dager.



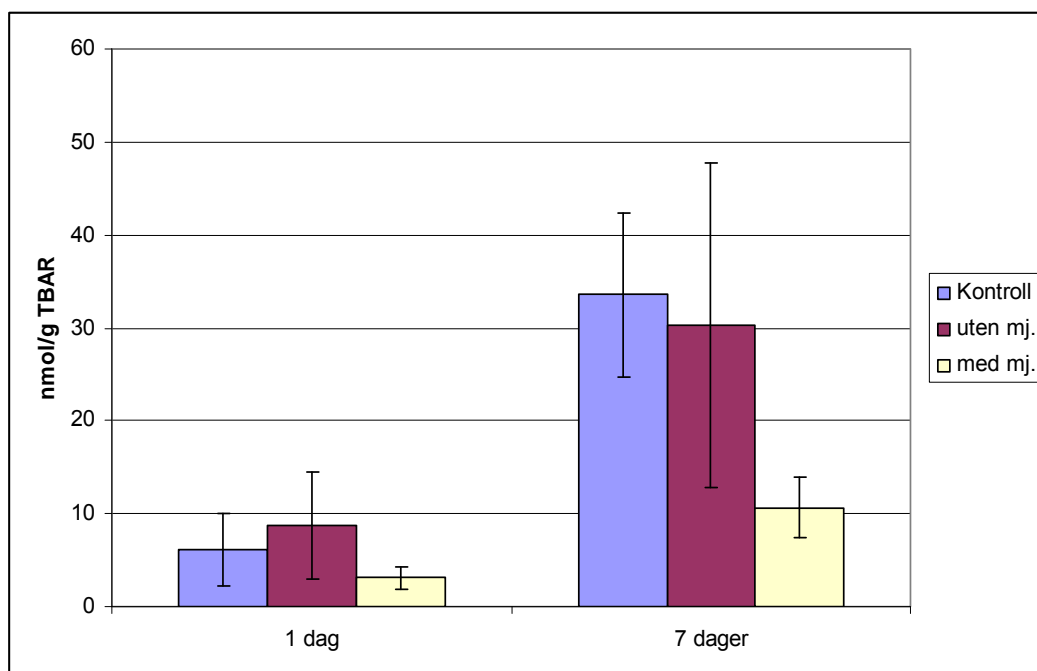
Figur 6 Flyktig nitrogen i torskfilet etter lagring ved 5 °C coatet med gelatin med og uten mjødurtekstrakt.

Figur 6 viser at det ble dannet mindre flyktig nitrogen i torskfilet når gelen inneholdt mjødurtekstrakt. I dette forsøket var reduksjonen i forhold til kontroll 31 % etter fire- og 35 % etter elleve dagers lagring. Ettersom dannelse av flyktig nitrogen skyldes bakterievekst, betyr dette at mjødurtekstrakt i gelatincoatingen reduserer bakterieveksten. Nyttint "fersk" torskfilet inneholdt 5.3 mg N/100g. Mengde flyktig nitrogen i filetstykker coatet med rent gelatin ble altså godt og vel fordoblet etter 4 dagers lagring ved 5 °C.



Figur 7 TBAR i torskfilet målt etter lagring ved 5 °C coatet med gelatin med og uten mjødurtekstrakt.

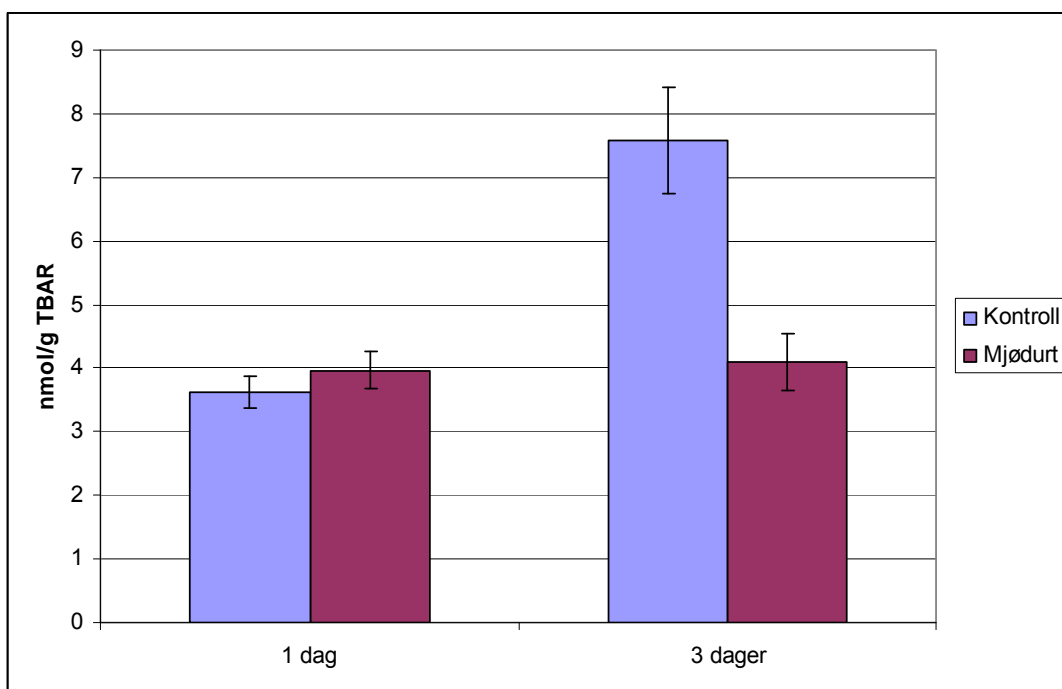
Figur 7 viser forholdsvis lave verdier av TBAR. Torsk inneholder lite fett som oksyderer slik at det dannes lite TBAR. I prøvene coatet med gelatin og mjødurt var det ingen økning i TBAR-konsentrasjon etter 4 og 11 dagers lagring. I prøvene coatet med gelatin uten mjødurt var det en svak øking av TBAR i lagringsperioden.



Figur 8 TBAR i seifilet målt etter lagring ved 5 °C coatet med gelatin med og uten mjørdurt. Kontrollen er dyppet i vann.

Figur 8 viser innhold av TBAR i seifilet etter lagring i 1 og 7 dager. Etter 7 dager var innholdet av TBAR i kontrollen og prøven coatet med gelatin uten mjørdurt øket fra 7-8 nmol/g til ca 30 nmol/g. Med slike TBAR-verdier er fisken uakseptabel som mat. TBAR i fisken som var coatet med gelatin og mjørdurt var etter 7 dagers lagring innenfor hva som er anbefalt for menneskemat.

Standardavvikene er forholdsvis store. Vi tror det skyldes ulik mengder mørk muskel i de forskjellige fiskestykkene. Mørk muskel hos sei harskner lett fordi den har høyere innhold av lipider og ikke minst har høyere innhold av metaller som øker oksidasjon (pro-oksidanter) enn lys muskel (Dulavik et al.1998).

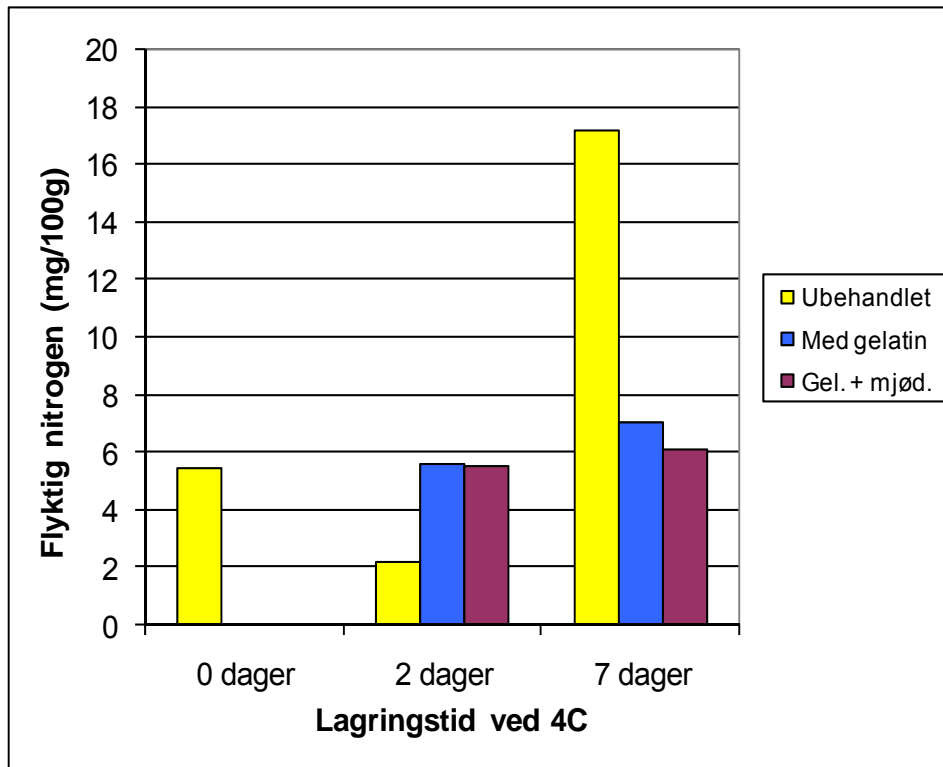


Figur 9 TBAR målt i seifilet coatet med mjødurtekstrakt uten fiskegelatin. Kontrollen er dyppet i vann. Fisken er lagret ved 5 °C i 3 dager.

Figur 9 viser at mjødurtekstrakt kan hindre harskning av seifilet også uten at det er blandet med gelatin. I kontrollgruppen var TBAR-nivået doblet fra dag 1 til dag 3, mens gruppen som var dyppet i mjødurt viste ingen økning.

3.2 Coatingsforsøk med stykker av kveitefilet

Første forsøk med kveitefilet ble utført med fisk som hadde vært fryselagret 2-3 måneder før tining og utskjæring av filetstykker. Lagringsforsøket ble utført på ubehandlede filetstykker, stykker coatet med 5 % torskegelatin og stykker coatet med 5 % torskegelatin tilsatt mjødurtekstrakt (begge løsningene var justert til pH 7.0 før coating).

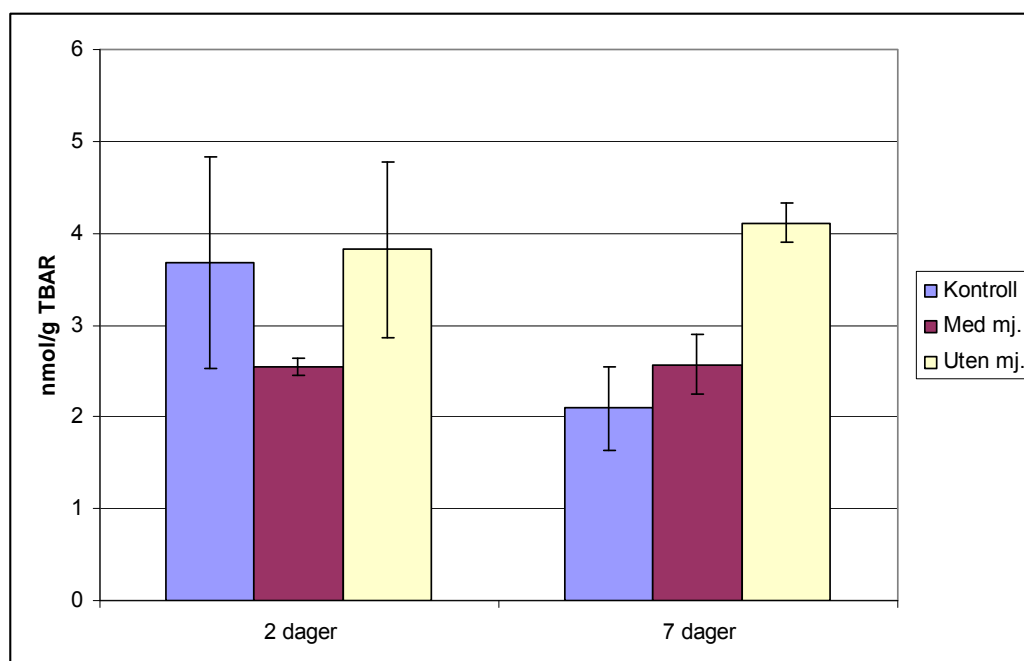


Figur 10 Flyktig nitrogen i stykker av kveitefilet målt etter lagring ved 4 °C uten coating, coatet med 5 % torskesskinngelatin og coatet med 5 % gelatin tilsatt mjødurtekstrakt.

Figur 10 viser at det ikke var noen økning av flyktig nitrogen i noen av gruppene etter to dagers lagring. Det betyr at det enda ikke var betydelig aktivitet av deaminerende bakterier. Dette er i samsvar med Figur 6 som viste lavt nivå av flyktig nitrogen selv etter fire dagers lagring av torskfiletstykker. Fra 2 til 7 dagers lagring var det en økning av flyktig nitrogen i alle prøvene, men økningen i begge de coatete prøvene var mye mindre enn i ubehandlet prøve. I ubehandlet filet, var det tydelig aktivitet av deaminerende bakterier, men det var fortsatt lavere nivå av flyktig nitrogen her enn det vi fant i torskfilet etter bare 5 dagers lagring (Figur 5). Dette indikerer at torskfilet er mer utsatt for hurtig mikrobiell nedbrytning enn kveite. Stykker coatet med gelatin hadde svært liten økning av flyktig nitrogen etter 7 dagers lagring. Dette resultatet er en tydelig indikasjon på at gelatinet reduserer oksygentilgangen slik at forråtnelsesbakterier blir holdt på et lavt nivå også etter 7 dagers kjølelagring.

Det ser ut til å være litt mer flyktig nitrogen i fileter coatet med bare gelatin enn i fileter coatet med gelatin tilsatt mjødurtekstrakt. Forskjellen ville trolig blitt større dersom lagringstiden hadde vært lengre. Henstand av gelatinløsningene ved romtemperatur viste klare tegn til forråtnelse allerede etter få dager i ren gelatinløsning mens ingen forråtnelse kunne observeres selv etter tre uker i gelatinløsning tilsatt mjødurtekstrakt. Dette viser at mjødurtekstrakt ikke bare reduserer oksidasjon, men også inneholder stoffer som hemmer bakterievekst

Grunnen til det ble målt spesielt lavt nivå av flyktig nitrogen i ubehandlet filet etter to dagers lagring er ukjent, men det kan skyldes usikkerhet på grunn av lite prøvemateriale ved analyse av denne prøven.



Figur 11 TBAR innhold i kveite coatet med gelatin med og uten mjødurtektstrakt. Fisken er lagret ved 5 °C i 7 dager.

Figur 11 viser at det ikke var noen økning av TBAR under lagring av kveitestykkene. Faktisk var det en nedgang i kontrollen. Dannelsen av sekundære forbindelser kan være årsaken til dette. En annen forklaring kan være at TBA-forbindelsene reagerer med forbindelser i fisken eventuelt polymerisering av TBA-forbindelsene.

3.3 Antioksidativ kapasitet

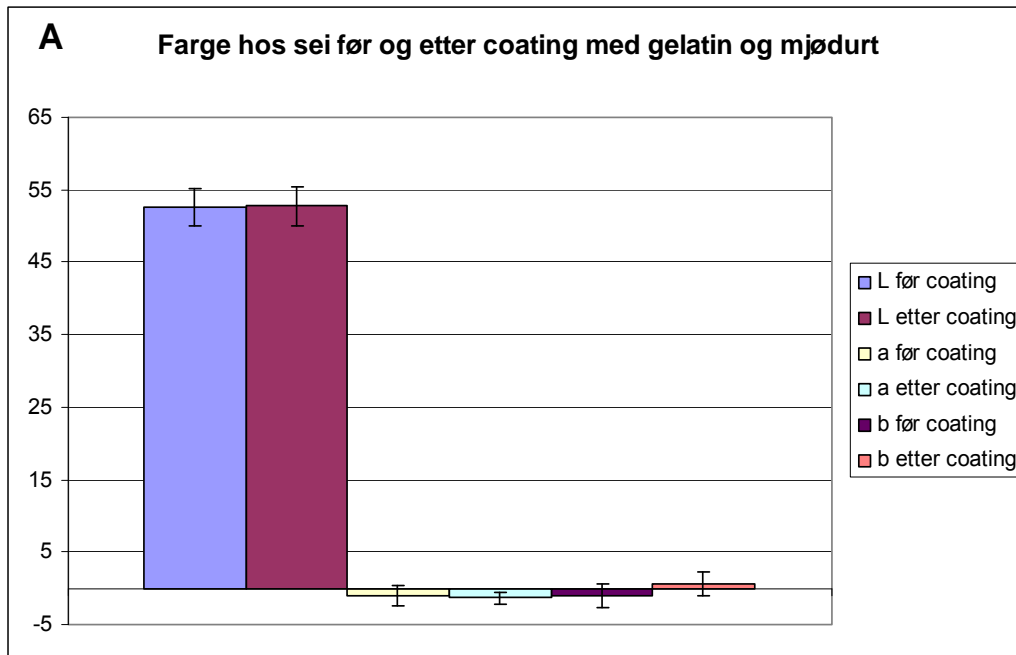
Tabell 2 FRAP (EC_{10} konsentrasjon av antioksidant med reduserende kapasitet ekvivalent med 1 mM Fe(II)) og ABTS (VCEAC/g: mg Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity/g prøve).

	FRAP	ABTS
Mjødurt ekstraksjon 1	78	4270
Mjødurt ekstraksjon 2	50	4636
Gelatin/mjødurt (1:1)	176	2760*
Gelatin		30
Gelatinhydrolysat	321	15

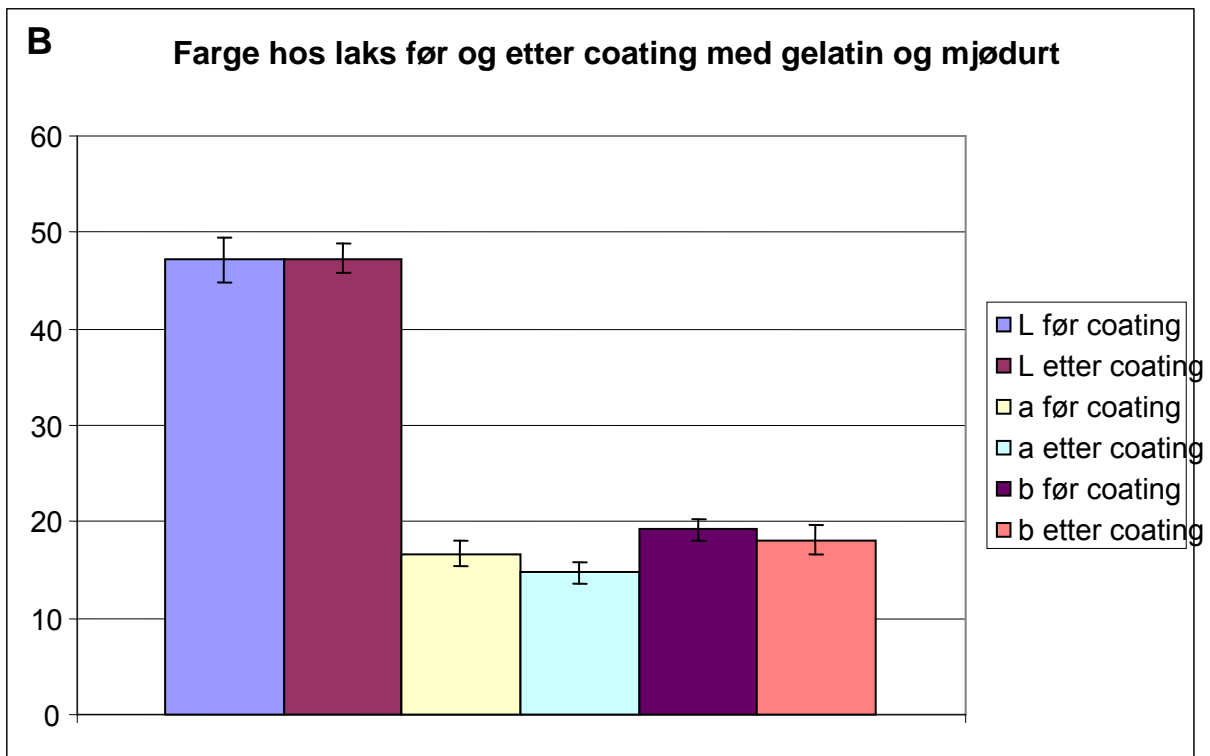
Tabell 2 viser at mjødurtektstraktene hadde langt bedre antioksidative egenskaper enn gelatin og gelatinhydrolysat. Mjødurtektstraktene har omtrent samme aktivitet som en del andre planteekstrakter (oregano og rosmarin Gómez-Estaca et al. 2009b). Gelatin og gelatinhydrolysat hadde langt lavere aktivitet. I vårt tilfelle hadde faktisk hydrolysatet lavere

aktivitet enn gelatin målt med ABTS metoden. Som regel har hydrolysater bedre antioksidative egenskaper enn intakte proteiner (Giménez et al., 2009b, Alemán et al., 2011). En forklaring på hvorfor våre resultater avviker fra dette kan være lav grad av hydrolyse (12 %). Analyser av hydrolysater fra reke med større grad av hydrolyse viste høyere aktivitet.

3.4 Farge analyse



Figur 12 Fargemålinger av sei- (A) før og etter coating med gelatin og mjøldurt.



Figur 13 Fargemålinger av laksefilet (B) før og etter coating med gelatin og mjørdurt.

Figur 12 og 13 viser at det ikke var noen signifikante fargeforandringer på sei- og laksefilet før og etter coating med gelatin tilsatt mjørdurtekstrakt. L angir forskjeller i lyshetsgrad, a forskjellen mellom grønn (-a) og rød (+a), mens b er forskjellen mellom blå (-b) og gul (+b). Selv om mjørdurtekstraktet er nokså brunfarget gir det altså ingen nevneverdig forandring på fisken.

3.5 Sensorisk analyse av kveitefilet

Tabell 3 beskriver de fire prøvene som ble testet mot hverandre i triangeltester.

Tabell 3 Varianter av kveite i forsøket.

	Produkt	Behandling
A	Kontroll 1	Lagret ved +4 °C i 6 dager
B	Gelatin	Dypet i gelatin og videre lagret ved +4 °C i 6 dager
C	Mjørdurt	Dypet i en blanding av mjørdurt+gelatin og videre lagret ved +4 °C i 6 dager
D	Kontroll 2	Nedfrossen og tint på analysedag

Her ble kontroll 1 testet mot gelatin. *Tabell 4* viser resultat fra den statistiske analysen. Panelet har ikke bedømt de to produktene forskjellig fra hverandre i lukt og smak, (p -verdi $> 0,05$). Det finnes heller ikke noe i kommentarene fra dommerne som tyder på at det skulle være noen forskjell mellom de to produktene.

Tabell 4 Sannsynligheten for å oppnå dette resultat av en tilfeldighet er beregnet.

Test	Antall svar	Riktige	Signifikans (p-verdi)
Kontroll 1 vs Gelatin	8	4	0,2586

Her ble kontroll 1 testet mot mjørdurt. *Tabell 5* viser resultat fra den statistiske analysen. Panelet har ikke bedømt de to produktene forskjellig fra hverandre i lukt og smak, (p -verdi $> 0,05$). To av dommerne har kommentert produkt mjørdurt med mer smak og en avvikende lukt.

Tabell 5 Sannsynligheten for å oppnå dette resultat av en tilfeldighet er beregnet.

Test	Antall svar	Riktige	Signifikans (p-verdi)
Kontroll 1 vs Mjørdurt	8	4	0,2586

Her ble kontroll 1 testet mot kontroll 2. *Tabell 6* viser resultat fra den statistiske analysen. Panelet har ikke bedømt de to produktene forskjellig fra hverandre i lukt og smak, (p -verdi $> 0,05$). Det finnes heller ikke noe i kommentarene fra dommerne som tyder på at det skulle være noen forskjell mellom de to produktene.

Tabell 6 Sannsynligheten for å oppnå dette resultat av en tilfeldighet er beregnet.

Test	Antall svar	Riktige	Signifikans (p-verdi)
Kontroll 1 vs Kontroll 2	8	5	0,0879

Her ble gelatin testet mot mjørdurt. *Tabell 7* viser resultat fra den statistiske analysen. Panelet har bedømt de to produktene forskjellig fra hverandre i lukt og smak, (p -verdi $< 0,05$). Tre av dommerne har kommentert produkt mjørdurt med mindre smak, mindre intensitet av lukt og en avvikende lukt.

Tabell 7 Sannsynligheten for å oppnå dette resultat av en tilfeldighet er beregnet.

Test	Antall svar	Riktige	Signifikans (p-verdi)
Gelatin vs Mjørdurt	7	5	0,0453*

Her ble gelatin testet mot kontroll 2. Tabell 8 viser resultat fra den statistiske analysen. Panelet har ikke bedømt de to produktene forskjellig fra hverandre i lukt og smak, (p -verdi $> 0,05$). To av dommerne har kommentert produkt kontroll 2 med mer egen lukt og smak av kveite.

Tabell 8 Sannsynligheten for å oppnå dette resultat av en tilfeldighet er beregnet.

Test	Antall svar	Riktige	Signifikans (p-verdi)
Gelatin vs Kontroll 2	8	5	0,0879

Her ble mjørdurt testet mot kontroll 2. Tabell 9 viser resultat fra den statistiske analysen. Panelet har ikke bedømt de to produktene forskjellig fra hverandre i lukt og smak, (p -verdi $> 0,05$). Det finnes heller ikke noe i kommentarene fra dommerne som tyder på at det skulle være noen forskjell mellom de to produktene.

Tabell 9 Sannsynligheten for å oppnå dette resultat av en tilfeldighet er beregnet.

Test	Antall svar	Riktige	Signifikans (p-verdi)
Mjørdurt vs Kontroll 2	7	4	0,1733

Grunnet mangel på råstoff ble det ikke kjørt gjentak mellom to produkter. Det gjør modellene svake og resultatene må derfor tolkes forsiktig.

Selv om Tabell 7 viser statistisk signifikant forskjell i smak og lukt mellom prøver coatet med bare gelatin og prøver coatet med gelatin tilsatt mjørdurtekstrakt, ble det ikke funnet noen klare forskjeller mellom de fire produktene og kommentarer gitt fra dommerne støtter dette.

Lagingsstabiliteten av kveitefilet viste seg i dette forsøket å være bedre enn forventet ut fra kjemiske analyser etter tidligere forsøk. Dette kan skyldes forskjellig råstoffkvalitet eller forskjellig behandling av råstoff etter fangst. Dersom forsøket skulle gjentas, ville det være naturlig å øke lagringstiden med noen dager.

4 Konklusjon

Coating av fiskefilet med gelatin og ekstrakt fra mjødurtdanner en beskyttende hinne på fisken. Den beskytter både mot harskning og bakterievekst. Filmen gir ikke fargeforandring men gir noe avrenning av vann slik at det blir noe vekttap ved lagring. Sensorisk analyse tilsier at coating ikke har noen negativ effekt på fisken.

Resultatene så langt er positive. Mjødurtekstrakt virker som antioksidant og har samtidig en antibakteriell effekt. Innledende analyser av antibakteriell effekt i mjødurtekstraktet viser at det har best effekt på gramnegative bakterier. Vi arbeider derfor med å finansiere videre drift av prosjektet. Vi ønsker blant annet å se på ekstraktens effekt på fryselaget fisk og andre typer produkter (farseprodukter) hvor ekstraktene blandes inn. Vi har gjort søk i patentdatabaser og finner ca 100 patenter hvor mjødurtdanner inngår. De fleste er innenfor kosmetikk og farmasi. Vi har hittil ikke oppdaget patenter som berører vårt bruksområde. Det nærmeste vi finner er et patent fra 1999 (US patent No 5906825). Polymers containing antimicrobial agent and method for making and using same) som beskriver bruk av antimikrobielle planteekstrakter i plast. Plasten brukes som emballasje og skal hindre kontaminering av produktet som pakkes inn. Det finnes noen patenter som beskriver beskyttende coating av mat, men det er da brukt andre beskyttende stoffer. Fra andre planteekstrakter eller isolerte forbindelser. Som gelingsmiddel er det brukt både gelatin og andre polymerer (kitosan, karragenan og lignende).

Under arbeidet gjorde vi også observasjoner som indikerer at stoffer i mjødurtekstraktet kan øke smeltepunktet til gel laget av fiskegelatin. Også dette ville det vært interessant å undersøke nærmere.

5 Referanser

- Alemán, A., Giménez, B., Montero, P. & Gómez-Guillén M.C. (2011). Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *Food Science and Technology*, 44, 407-413.
- Arnesen, J.A. & Gildberg, A. (2002) Preparation and characterisation of gelatine from the skin of harp seal (*Phoca groenlandica*). *Bioresource Technol.*, 82, 191-194.
- Arnesen, J.A. & Gildberg, A. (2006) Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. *Process Technol.*, 41, 697-700.
- Arnesen, J.A. & Gildberg, A. (2007) Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresource Technol.*, 98, 53-57.
- DeJong, S. & Lanari, M. C. (2009) Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: Contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. *Food Chemistry* 116, 892-897.
- Dragland (2006) *Bioforsk Tema*, vol. 1. nr. 46.
- Dulavik, B., Sørensen, N. Kr., Barstad, H., Horvli, O. & Olsen, R. O. (1998) Oxidative stability of frozen light and dark muscle of saithe (*Pollachius virens* L.). *J. Food Lipids*, 5, 233-245.
- Gildberg, A., Arnesen, J.A. & Carlehög, M. (2002) Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation. *Process Biochem.*, 38, 475-480.
- Giménez, B., Alemán, A., Montero P., & Gómez-Guillén, M. C. (2009) Antioxidant and functional properties of gelatine hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chemistry* 114. 976-983.
- Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C. & Montero P (2009 b). Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatine films by the addition of hydrolysates from squid gelatine. *Food Hydrocolloids*, 23, 1322-1327.
- Gómez-Estaca, J., López deLacey, A., Gómez-Guillén, M.C., López-Caballero, M.E. & Montero, P. (2009) Antimicrobial activity of composite edible films based on fish gelatin and chitosan incorporated with clove essential oil. *J. Aquatic Food Prod. Technol.*, 18, 46-52.
- Gómez-Estaca, J., Bravo, L., Gómez-Guillén, M.C., Alemán, A., & Montero, P. (2009 b). Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatine films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry*, 112, 18-25.
- Gómez-Guillén, M.C., Ihl, M., Bifani, V., Silva, A. & Montero, P. (2007) Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). *Food Hydrocol.*, 21, 1133-1143.

- Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B. & Montero, P. (2009) Fish gelatin: A renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Sci. Technol.*, 20, 3-16.
- Harbourne, N., Jacquier, J. C. & O'Riordan (2009) Optimisation of the aqueous extraction of phenols from meadowsweet (*Filipendula ulmaria* L.) for incorporation into beverages. *Food Chemistry* 116, 722-727
- Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. & Tanaka, M. (2008) Antioxidative properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and α -tocopherol. *Food Hydrocol.*, 22, 449-458.
- Khantaphant, S. & Benjakul, S. (2008) Comparative study on the proteases from fish *pyloric caeca* and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. *Comp. Biochem. Physiol.*, 151B, 410-419.
- Min, B. J. & Oh, J.-H. (2009). Antimicrobial activity of Catfish Gelatin Coating containing Origanum (*Thymus capitatus*) Oil against Gram-Negative Pathogenic Bacteria. *J. Food Science* vol 74, nr. 4.
- Pulido, R., Bravo, L. & Saura-Calixto F. (2000). Antioxidant activity of Dietary Polyphenols as determined by a modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3396-3402.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol. 26, Nos 9/10, 1231-1237.
- Røthe, G. (2007) Bioforsk Rapport, vol. 2. nr. 19. www.bioforsk.no. (18 sider)
- Trouillas, P., Calliste, C.-A., Allais, D.-P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., & Duroux, J.-L. (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry* 80, 399-407.
- Yang, J.I., Ho, H.Y., Chu, Y.J. & Chow C.J. (2008) Characteristic and antioxidant activity of retorted gelatin hydrolysates from cobia (*Rachycentron canadum*) skin. *Food Chem.*, 110, 128-136.

