

Verkefnaskýrsla til
RANNÍS
25- 01



Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins

SEPTEMBER 2001

STÖÐUGLEIKI FROSINNA
ÞORSKAFURÐA

MARGRÉT GEIRSDÓTTIR



Titill / Title		Stöðugleiki frosinna þorskafurða / Stability of frozen cod products	
Höfundar / Authors		Margrét Geirsdóttir	
Skýrsla Rf / IFL report	25-01	Útgáfudagur / Date:	24. september 2001
Verknr. / project no.	1312	Rannís nr. 971140097	
Styrktaraðilar / funding:		Rannsóknarráð Íslands / The Icelandic Research Council	
Ágrip á íslensku:		Markmið þessa verkefnisins er að kanna stöðugleika og geymsluþol frystra þorskafurða. Einnig að skoða hvort hægt sé að nota glermark (glass transition temperature) afurða við gerð spálíkana fyrir geymsluþol í frysti og sem stjórntæki við vöruþróun. Breytingar í stöðugleika afurðanna eru mældar með skynmati, áferðar- og efnamælingum og metið hvaða þættir breytast mest og hafa aðallega áhrif á stöðugleikann. Tvær gerðir hráefnis (nýtt og gamalt) voru frystar og fylgst með breytingum við frystigeymslu við fjögur mismunandi hitastig; -10°C, -18°C, -24°C og -75°C. Hæstu hitastigin eru hærri en mælt er með við frystigeymslu á fiski. Með því að hafa tvær gerðir hráefnis og geyma það við mismunandi aðstæður eru til að draga fram meiri breytanleika í niðurstöðum. Mikið magn niðurstaða hefur þegar fengist í verkefninu um samspil mismunandi mælipátta á frystum þorski eftir mismunandi geymslutíma. Niðurstöður benda til að mælipættir svo sem áferð og leysanleg prótein er í samræmi við niðurstöður fengnar með skynmati. Telja má að ekki hafi verið áður gerð jafn viðamikil rannsókn á samspili margra mælipátta eins og hér er gert, aðallega hvað viðkemur samspil áferðarmælingar með tækjum og skynmati. Lengri geymslutími, fleiri niðurstöður og nánari úrvinnsla gagna er nauðsynleg til að stykja mat á hvaða þættir breytast mest og hafa aðallega áhrif á stöðugleikann.	
Lykilorð á íslensku:		Fiskur, þorskur, frysting, stöðugleiki, glermark	
Summary in English:		The aim of the project is to follow the stability of frozen cod products and to see if it is possible to make predictive models for storage life in frozen storage of cod products by using glass transition temperature. Changes during frozen storage are evaluated using sensory evaluation, chemical- and physicochemical methods. Glass transition temperature of the products will be measured and the interaction of the stability and the glass transition will be evaluated. This knowledge on the stability will be used by the freezing industry when evaluating the consumer quality of the products. This will lead to improvements in the frozen products, which will result in added value of the products. Two types (new and aged) of material were frozen in at different temperatures (-10°C, -18°C, -24°C and -75°C). The highest temperatures are higher than recommended for storage of fish in frozen storage. By using two types of material and extreme temperatures; broader knowledge is accomplished in shorter time. Currently diverse results have been obtained that indicate what measurements are changing most during frozen storage. Also what measurements are linked to each other. More research and processing of results are necessary to fulfill the aims of the project; what quality parameters are most affecting the stability of frozen cod products.	
English keywords:		Fish, cod, frozen storage, stability, glass transition	

Efnisyfirlit

1.	INNGANGUR	1
1.1	FRYSTING.....	1
1.2	GLERMARK	2
1.3	DSC MÆLINGAR	3
2.	EFNI OG AÐFERÐIR	5
2.1	HRÁEFNI	5
2.2	EIGINLEIKAR HRÁEFNIS	5
2.3	SKYNNMAT	5
2.4	EÐLISFRÆÐILEGAR MÆLIÐFERÐIR	5
2.5	EFNAFRÆÐILEGAR MÆLIÐFERÐIR.....	6
2.6	GLERMARK	6
3.	NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR	7
3.1	EIGINLEIKAR HRÁEFNIS	7
3.2	SKYNNMAT	7
3.3	EÐLISFRÆÐILEGAR MÆLIÐFERÐIR	12
3.4	EFNAFRÆÐILEGAR MÆLIÐFERÐIR.....	17
3.5	GLERMARK	23
3.6	SAMANTEKT Á NIÐURSTÖÐUM	25
3.7	NÆSTU SKREF	28
4.	ÁLYKTANIR.....	29
5.	HEIMILDIR.....	30

1. INNGANGUR

Markmið þessa verkefnisins er að kanna stöðugleika og geymsluþol frystra þorskafurða. Einnig að skoða hvort hægt sé að nota glermark (glass transition temperature) afurða við gerð spálíkana fyrir geymsluþol í frysti og sem stjórnþæki við vöruþróun. Breytingar í stöðugleika afurðanna eru mældar með skynmati, áferðar- og efnamælingum og metið hvaða þættir breytast mest og hafa aðallega áhrif á stöðugleikann. Einnig verður glermark mælt og samspil þess og stöðugleika skoðað með gerð spálíkana fyrir geymsluþol afurða í frystigeymslu í huga. Þekking á stöðugleika og geymsluþoli verður nýtt við mat á neyslugæðum afurða sem leitt getur til meiri verðmætasköpunar. Þekking á glermarki getur nýst sem tæki við framleiðslustýringu og vöruþróun og þar með leitt til umbóta í vinnslunni.

1.1 Frysting

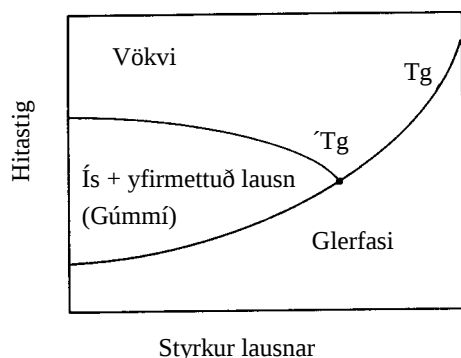
Frysting er algeng og góð varðveisluaðferð fiskafurða en þó eiga ýmsar breytingar sér stað í fiskinum við frystingu og geymslu í frosti. Eru þessar breytingar meðal annars háðar tegund fisks og ferskleika hans, frystiaðferð og geymsluhitastigi (Haard, 1992). Auk breytinga á bragði og lykt, þá breytist áferð vöðvans og vinnslueiginleikar hans. Ýmsir áhrifaþættir hafa verið nefndir til sögunnar s.s. breytingar í vatnsfælni og leysni próteina auk breytinga í súlfhydryl/tvísúlfíð tengjum þeirra. Myndun formaldehýðs í sjávarfiskum er einnig nefndur sem áhrifaþáttur við breytingar í próteinum (Ang & Hultin, 1989). Breytingar í fitu s.s. oxun og vatnsrof, eiga sér einnig stað er geta leitt til breytinga í bragði, lykt og áferð (Ingemansson *et al.*, 1995). Frysting getur einnig haft áhrif á ýmsa lífefnafræðilega ferla og má þar nefna breytinga í ensímvirgni t.d. Ca^{2+} -ATPasa vöðvans (Mackie, 1993). Enn eru ótaldar allar samverkandi breytingar s.s. efnahvörf milli próteins og fitu.

Hægt er að skipta áhrifum frystingar og frystigeymslu á prótein fiskvöðva í þrjá meginþætti. Í fyrsta lagi eru eðlisfræðileg áhrif ískristallamyndunar sem meðal annars leiða til aukins styrks uppleysta efna og pH breytinga auk áhrifa á vöðvabygginguna. Annar meginþátturinn er samspil próteina við aðra þætti vöðvans er leiðir til breytinga í myndbyggingu þeirra. Í þriðja lagi er niðurbrot trímetylámín-oxíðs (TMAO) sem leiðir til myndunar formaldehýðs (FA) og dímethylámíðs (DMA) en myndun FA getur leitt til krosstengja milli próteinsameinda (Mackie, 1993).

Ýmsar aðferðir hafa verið notaðar til að meta breytingar í frosnum fiski. Sem dæmi má nefna magn DMA/FA, mat á vatnsheldni, próteinleysni, vatnsfælni próteina, magni súlfhýdrýl hópa á próteinum, áferðarmælingar í tækjum, mælingar á fríum fitusýrum, rafdrátt og mælingar á ýmsum vinnslueiginleikum s.s. ýringu og seigju (Ang & Hultin, 1989; Hsieh & Regenstein, 1989). Skynmat (bragð, lykt, litur, áferð o.s.frv.) er nauðsynlegt til að kanna tengsl við neyslugæði vörunnar.

1.2 Glermark

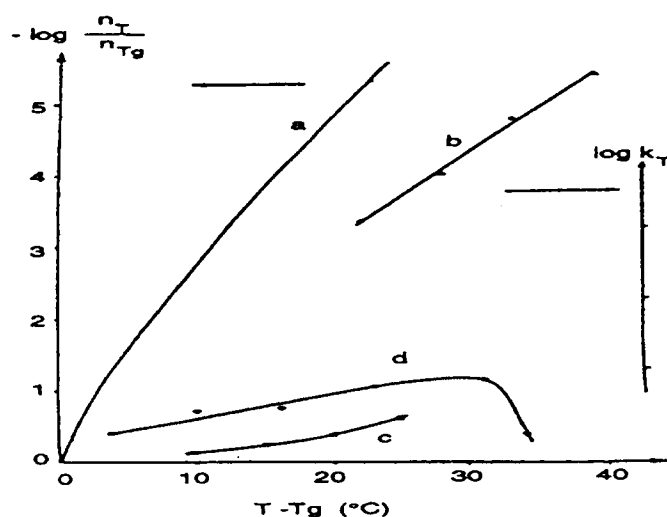
Þurrkun og kæling matvæla verður oft til þess að þau verða amorphous eða formlaus. Í stað fasaskiptanna lausn - kristöllun þá verður varan gúmmíkennd (rubbery state) og síðan glerkennd (glassy state). Það hitastig þegar breytingin frá gúmmí yfir í gler á sér stað kallast glermark (T_g á mynd 1). Glerfasinn er formlaus, án kristöllunar og með mikla seigju ($>10^{13,5}$ Pa·s). Eitt einkenni glerfasans er að hreyfanleiki sameinda er nær engin, á meðan töluverð hreyfing er möguleg í gúmmífasanum. Talið er að möguleiki sameinda matvælanna til að taka þátt í efnahvörfum hverfi nær alveg í glerfasanum sem leiði af sér stöðugleika. Þegar hitastig vörunnar er hækkað yfir T_g eykst hreyfanleiki sameindanna og möguleikar þeirra til að taka þátt í efnahvörfum eykst. Þessi hreyfanleiki eykst jafnt og þétt eftir því sem geymsluhitastig vörunnar hækkar og því er talið að stöðugleiki hennar minnki eftir því sem hitastig hennar hækkar (Roos & Karel, 1991; Blanshard, 1995). Glermark vöðva og vöðvaafurða er yfirleitt fyrir neðan frostmark.



Mynd 1. Fasalínurit fyrir tveggja þátta lausn. T_g glermark, T_g glermarkskúrf (MacDonald & Lanier, 1991).

Þekking á T_g og sambandi þess við geymsluhitastig gæti leitt til möguleika á spálíkönnum fyrir geymsluþoli í frystigeymslu. Prófað hefur verið að bera saman

hraðafasta (k_T) ákveðinnar breytinga í frostgeymslu við mismunandi hitastig við mismun geymsluhitastigs (T_s) og glermarks (T_g) (Blanshard, 1995). Breytingar sem skoðaðar hafa verið eru m.a. tap C-vítamíns í baunum, ískristallavöxtur í kjöti og aukin seigja eggjarauðu. Við þessar athuganir hefur komið í ljós að línulegt samhengi er milli $\log(k_T)$ og $T-T_g$ (mynd 2). Slíkt samhengi gefur möguleika á líkönnum er geta spáð fyrir um breytingar við geymslu í frosti. Í unnum matvörum er hægt að hafa áhrif á T_g . Má þar nefna að með auknu vatnsmagni lækkar T_g en flókin kolvetni eins og maltóðextrín geta hækkað T_g (Levine & Slade, 1988). Aukin þekking á samspili mismunandi þátta matvörunnar gefur því aukna möguleika á stýringu er varðar geymsluþol unninna fiskvara.

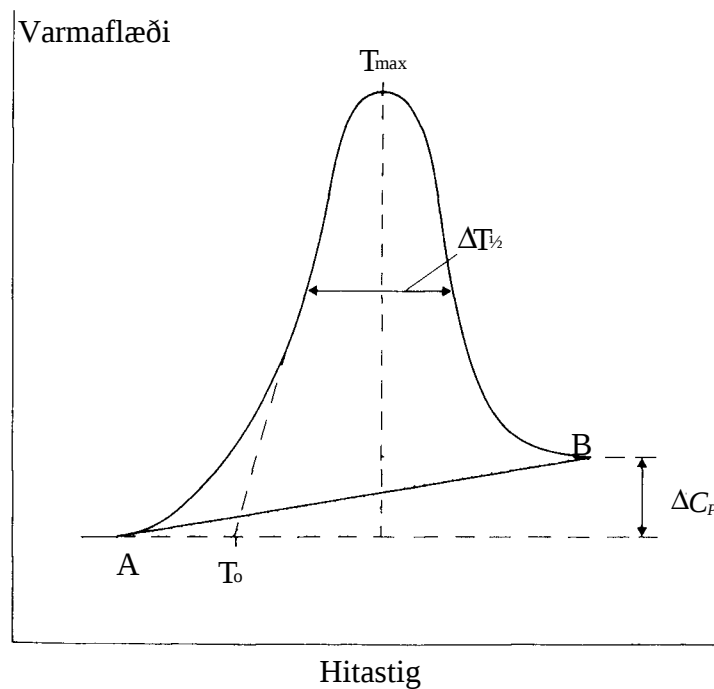


Mynd 2. a) WLF-jafnan ($\log(h_T/h_{Tg})$) sem jafngildir $\log(k_T/k_{Tg})$). b)-d) sýna ferla fyrir hraðafasta ($\log k_T$) ýmissa breytinga í frosti; b) tap C-vítamíns í baunum, c) ískristallavöxtur í kjöti, d) aukin seigja í eggjarauðu. WLF lýsir breytingum í seigju (h) þegar hitastig kerfis (T) hækkar yfir glermark þess (T_g) (Blanshard, 1995).

1.3 DSC mælingar

Ein aðferð til að meta glermark vöru er mæling á varmarýmd hennar. Öflugt tæki til þess er Differential Scanning Calorimeter eða DSC (Gregory, 1995). Við DSC mælingu er sýni sett í tækið og hitað upp eða kælt með ákveðnum hraða (gráður / mínútu). Í þessu verkefni sem hér um ræðir er notast við DSC tæki sem fylgist með breytingu í hitastigi sýnisins á meðan það er hitað eða kælt. Ef fasaskifti verða í sýninu, t.d. kristöllun eða bráðnun verður hitastigbreyting í sýninu. Hitastigið getur hækkað ef um er að ræða útvermin fasaskifti (t.d. bráðnun) eða lækkað ef innvermin fasaskifti verða (t.d. frysting). Breytingin frá glerfasa yfir í gúmmífasa er dæmi um útvermin fasaskifti.

Dæmi um útvermna mælingu sést á mynd 3. Við mælingu á glermarki fæst ekki jafn afmarkaður toppur og sýndur er á myndinni. Við ákvörðun á glermarki er fundið við hvaða hitastig breyting í varmarýmd (ΔC_p) er mest.



Mynd 3. Hefðbundin DSC mæling þar sem T_{max} = hitastig þegar varmaflæði er mest, T_o = upphafshitastig topps, ΔC_p = breyting í varmarýmd, $\Delta T_{1/2}$ = breidd topps við hálfa hæð, lína milli A og B er grunnlína toppsins (Wright, 1984).

2. EFNI OG AÐFERÐIR

2.1 Hráefni

Þorskflök fryst í neytendapakkingum. Geymd við -10°C , -18°C , -24°C og -75°C . Tvær gerðir hráefnis er notað í tilraunina.

- a) Lausfryst miðju og hnakkastykki, veidd í júní 2001 og sett við mismunandi hitastig strax eftir frystingu.
- b) Lausfryst hnakkastykki í neytendaumbúðum. Veidd í júní 2000 og geymd við -24°C í ár, þá voru sýni mæld og sett við mismunandi hitastig.

2.2 Eiginleikar hráefnis

2.2.1 Efnasamsetning

Magn vatns, fitu, próteins, salts og ösku í hráefni mælt samkvæmt aðferðahandbók í gæðahandbók efnastofu Rf (Ghb-e-AM).

2.2.2 Örverur

Heildarlíftala (LT 22°C) mæld samkvæmt aðferðahandbók örverustofu Rf (Ghb-e-AM).

2.3 Skynmat

Þjálfaðir skynmatsdómarar á Rf meta áferð og ferskleika. Ferskleiki er metinn eftir Torry skala. Áferðarþættir sem eru metnir eru seigur/meyr og þurr/safaríkur.

2.4 Eðlisfræðilegar mæliaðferðir

2.4.1 Áferð

Áferð mæld með áferðarmæli (Texture Analyser - XT2i frá Stable Microsystems, Englandi).

2.4.2 Vatnsheldni

Vatnsheldni (Water holding capacity; WHC) mælt með skilvindun. Um 2 g af hökkuðum fiskvöðva sett í plasthólk með net í botninn. Skilvindun í 5 mínútur (Sorvall) við 324xg.

2.5 Efnafræðilegar mæliaðferðir

2.5.1 Vatn

Vatn mælt í hverju sýni samkvæmt aðferðabók Rf.

2.5.2 Sýrustig

Sýrustig mælt í hverju sýni samkvæmt aðferðabók Rf.

2.5.3 Vatnsleysanleg prótein

Leysanleg prótein í vatnsfasa mæld í hverju sýni samkvæmt aðferðabók Rf.

2.5.4 Leysanleg prótein í saltlausnum

Leysanleg prótein í LiCl- og KCl- lausnum mæld skv. Kelleher & Hultin, 1991.

2.6 Glermark

Glermark ákvarðað með Perkin Elmer DSC-7 mælitæki. Glermark ákvarðað með Pyrex hugbúnaði sem fylgir tækinu. Sýnastærð 20 µg af sýni í lokuðu 30 µl sýnahylki, keyrsluhraði 2°C/min eða 10°C/min frá -60°C til 15°C og 15 mínútna hvíld (annealing) eftir kælingu fyrir upphitun. Tæki staðlað með Indium (hitastig og varmarýmd) og 10% NaCl lausn (hitastig), tóm sýnahylki sem viðmiðunarsýni.

3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR

3.1 Eiginleikar hráefnis

3.1.1 Efnamælingar

Efnasamsetning hráefnis í upphafi geymslutíma við mismunandi hitastig er svipað (tafla 1), fiskur veiddur 2000 er þó próteinríkari og feitari heldur en fiskur veiddur 2001.

Tafla 1. Heildarefnasamsetning hráefnis (lausfrysti þorsklök) við upphaf tilraunar. Hráefni merkt 2001 mælt strax eftir frystingu en hráefni merkt 2000 geymt í eitt ár við -24°C fyrir mælingu.

	2000	2001
Prótein	17,6	16,4
Fita	0,02	0,20
Vatn	81,6	82,8
Salt	0,1	0,3
Aska	1,2	1,0

3.1.2 Örverumælingar

Samkvæmt örverumælingu hráefnis við upphaf tilraunar er örverufjöldin mun hærri í hráefni veitt 2001 (tafla 2). Fjöldi örvera minnkar við frystigeymslu og sýni 2000 sem hafa verið ár í frysti innihalda minna magn af örverum.

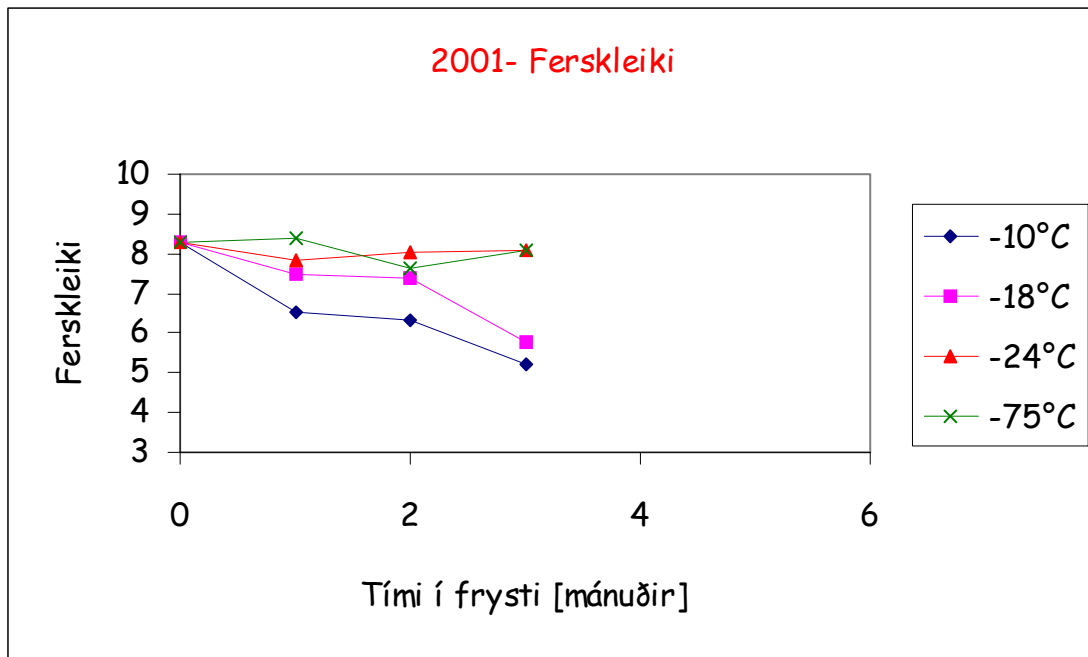
Tafla 2. Örverumælingar hráefnis (lausfryst þorsklök) við upphaf tilraunar. Hráefni merkt 2001 mælt strax eftir frystingu en hráefni merkt 2000 geymt í eitt ár við -24°C fyrir mælingu.

	2000	2001
Járnagar, svartar	16000	56000
Járnagar, alls	< 10	1500

3.2 Skynmat

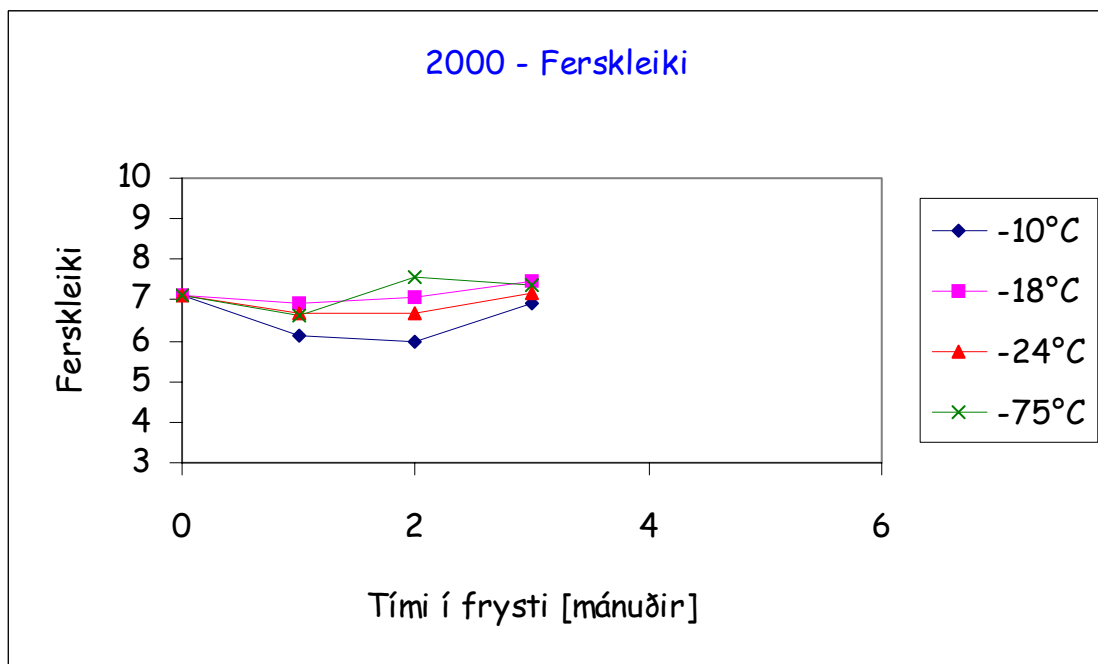
3.2.1 Ferskleiki

Fiskur 2000 fékk einkunn 7,1 í upphafi tilraunar (mynd 5) en fiskur 2001 einkunn 8,3 (mynd 4) og er tölfræðilega marktækur munur á sýnunum (95% öryggismörk). Geymsluhitastig hefur greinileg áhrif á ferskleiki fisks. Strax eftir eins mánaðar geymslu í frysti fær nýrri fiskurinn geymdur við -10°C marktækt lægri einkunn en hin sýnin og helst sá munur eftir tvo mánuði í frysti. Eftir þrjá mánuði er fiskur geymdur við -18°C svipaður -10°C en ekki er breyting á ferskleika -24°C og -75°C eftir tvo og þrjá mánuði í frysti (mynd 4).



Mynd 4. Ferskleiki lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver mæling er meðaltal 8 til 12 þjálfaðra skynmatsdómara.

Minni munur er hjá eldri sýnum (2000). Ekki fæst marktækur munur á sýnum eftir einn mánuð í frysti. Eftir tvo mánuði er sýni geymt við -10°C marktækt verra en hin sýnin en munurinn gengur til baka eftir 3 mánuði. Ferskleiki eftir 3 mánuði kemur nokkuð á óvart en næsta mæling mun sýna hvort þessi litli munur helst.



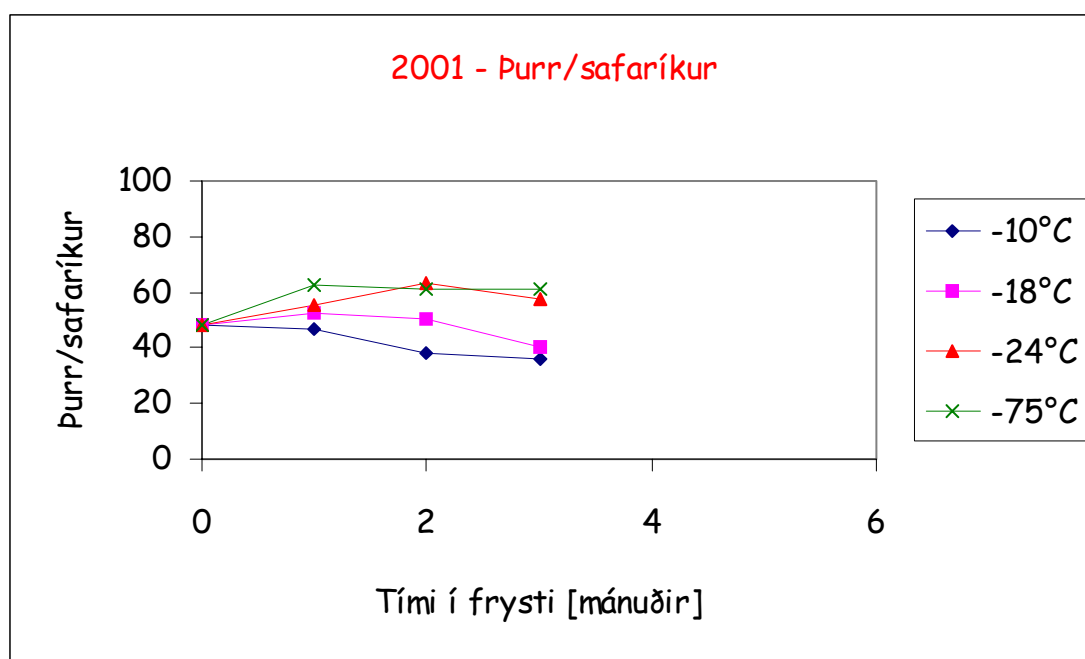
Mynd 5. Ferskleiki lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver mæling er meðaltal 8 til 12 þjálfaðra skynmatsdómara.

3.2.2 Áferð

Dómarar voru beðnir um að meta tvo áferðapætti, safarík og þurr.

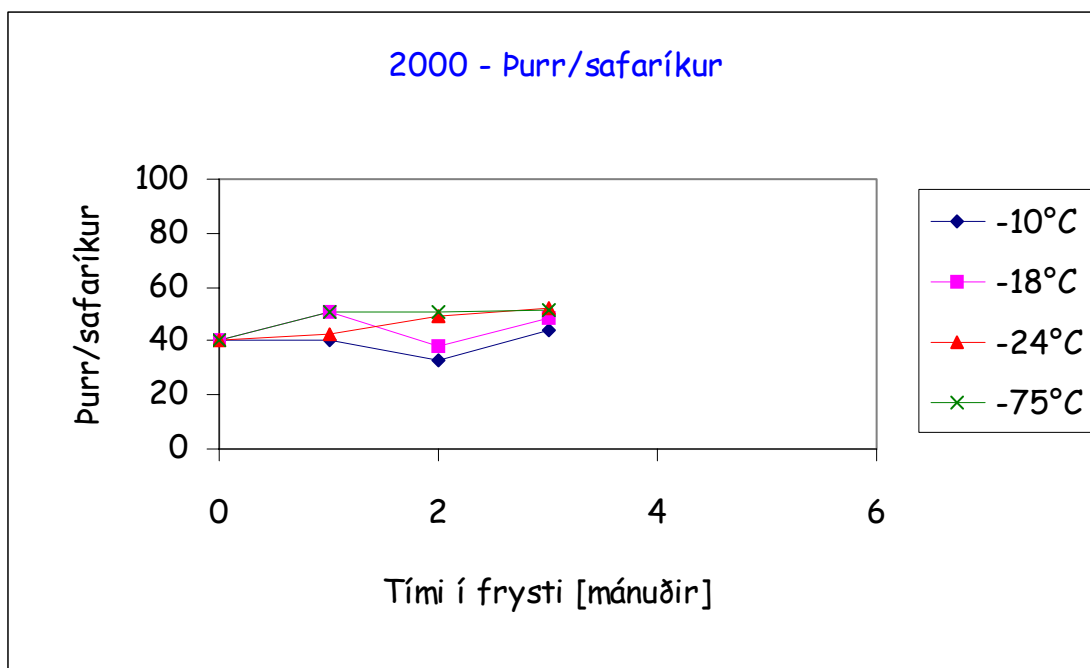
Þurr / safarík

Eftir mánuð í frysti er marktækur munur hversu nýrri sýnin eru safarík við -10°C og -75°C (mynd 6). Ekki er marktækur munur á öðrum sýnum. Eftir tvo mánuði í frysti eru öll sýni marktækt safaríkari en sýni geymt við -10°C (mynd 6). Eftir þrjá mánuði í frysti fá sýni við -10 og -18 annars vegar og -24 og -75 hins vegar svipaða einkun fyrir eiginleikan þurr/safarík.



Mynd 6. Safi lausfrystra þorskflaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver mæling er meðaltal 8 til 12 þjálfaðra skynmatsdómara.

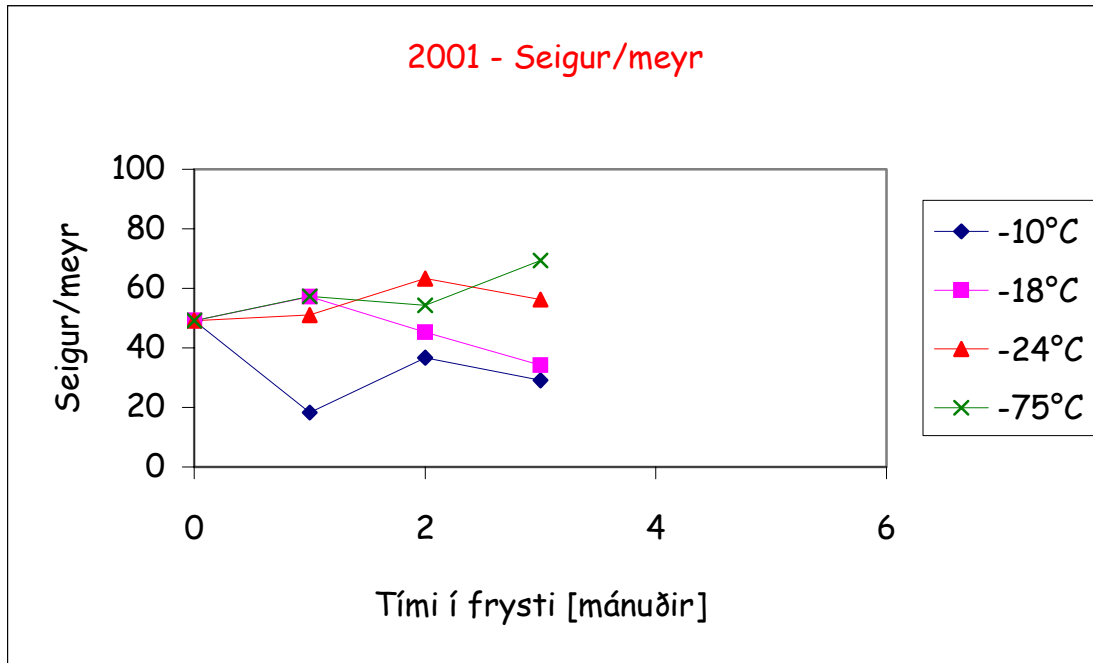
Ekki er marktækur munur á eldri sýnum eftir mánuð í frysti (mynd 7). Eftir tvo mánuði í frysti er fiskur geymdur við -10°C marktækt þurrari en sýni geymd við -75°C og -24°C . Þessi munur er hins vegar ekki greinanlegur eftir 3 mánuði í frysti.



Mynd 7. Safi í lausfrystum þorsklökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver mæling er meðaltal 8 til 12 þjálfaðra skynmatsdómara.

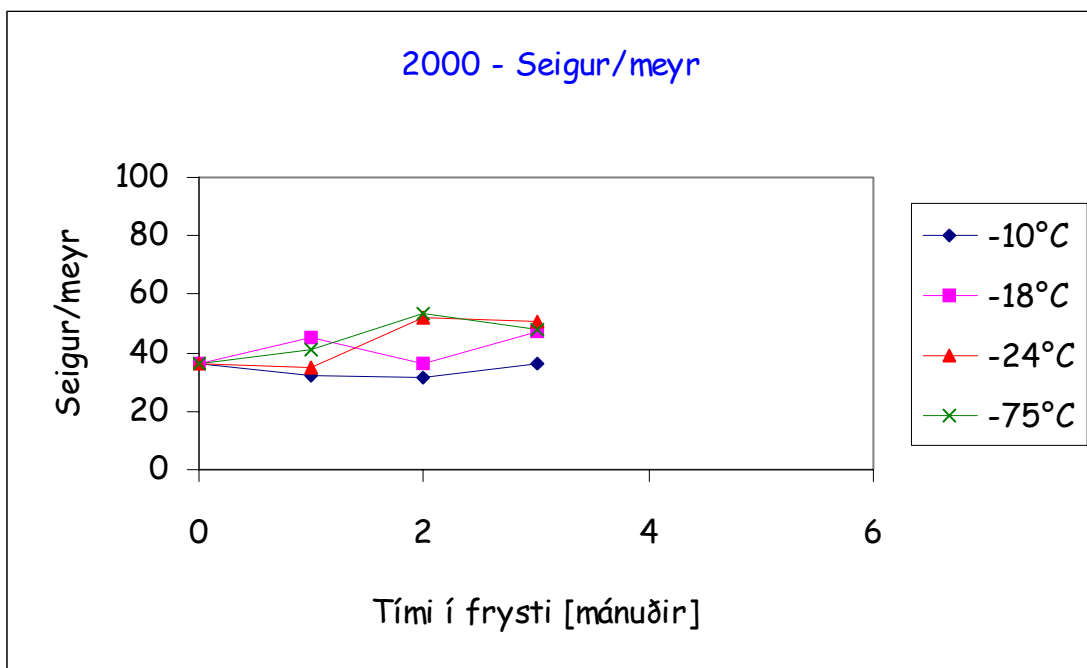
Seigur / Meyr

Eftir mánuð í frysti er marktækur munur hversu nýrri sýnin eru seigari við -10°C og hin hitastigin (mynd 8). Ekki er marktækur munur á öðrum sýnum. Eftir tvo mánuði í frysti mældist sýni geymt við -24°C meyrara en sýni geymd -10°C og -18°C og fær hærri einkunn en sýni geymt við -75°C en sá munur er ekki marktækur. Fiskur geymdur við -75°C er marktækt meyrari en fiskur geymdur við -10°C en ekki meyrari en önnur sýni (mynd 8). Eftir þrjá mánuði er greinilegt að sýni geymd við lægri hitastigin eru áberandi meyrari en þau sem geymd eru við hærri hitastigin.



Mynd 8. Meyrni lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver mæling er meðaltal 8 til 12 þjálfaðra skynmatsdómara.

Ekki er marktækur munur á meyrni eldri sýna eftir mánuð í frysti (mynd 9). Eftir tvo mánuði í frysti er fiskur geymdur við -10°C marktækt seigari en sýni geymd við -75°C og -24°C og fiskur geymdur við -24°C marktækt meyrari en önnur sýni. Eftir þrjá mánuði er áfram munur á meyrni sýna geymd við -10°C og hinum sýnunum.



Mynd 9. Meyrni lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver mæling er meðaltal 8 til 12 þjálfaðra skynmatsdómara.

3.3 Eðlisfræðilegar mæliaðferðir

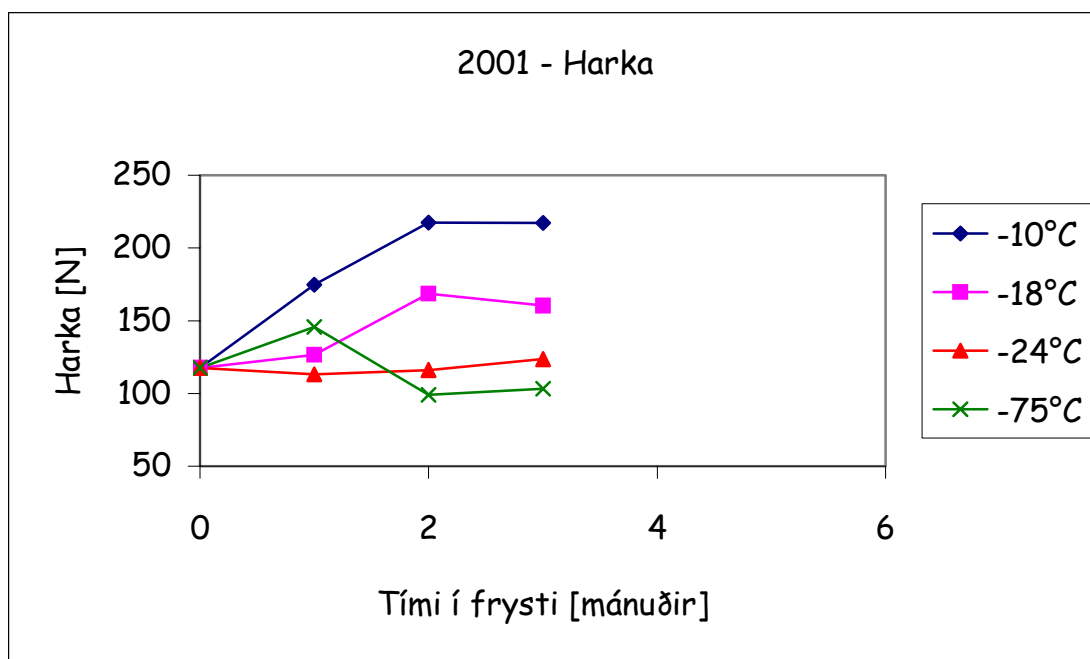
3.3.1 Áferð

Áferð er mæld með áferðarmæli með TPA aðferð. Mælingin gefur niðurstöður sem harka og samloðun.

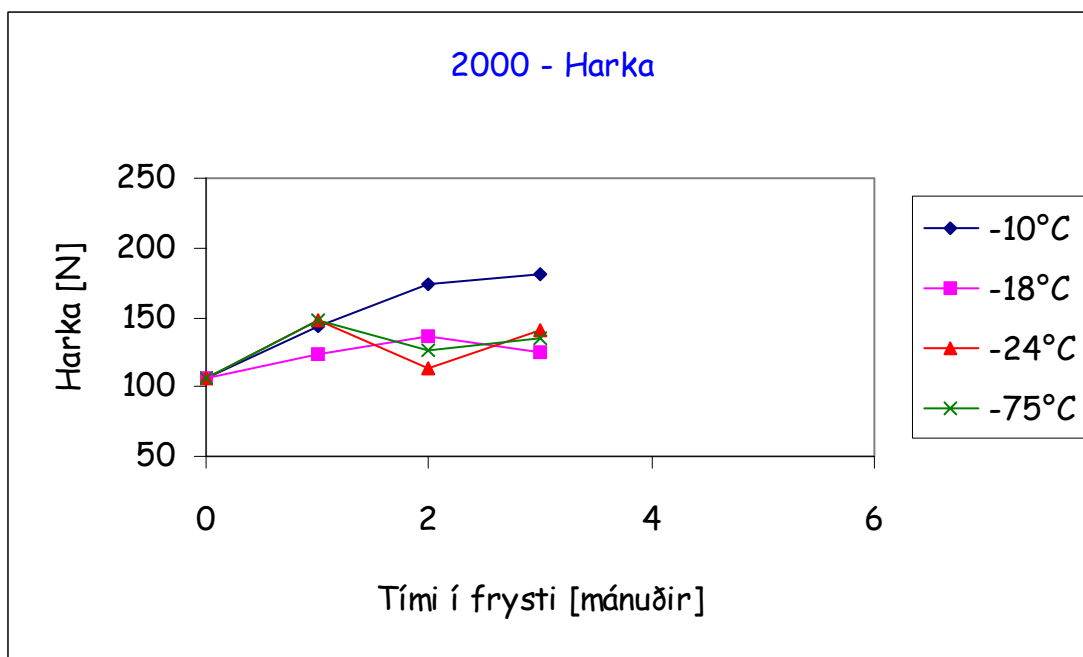
Harka

Harka er skilgreind sem sá styrkur sem þarf að beita til að bíta sýnið í fyrsta bita þegar matvælið er tuggið. Í upphafi tilraunar er ekki mikill munur á hörku nýrra og eldri sýna og er harkan lægri í eldri sýnum (myndir 10 og 11). Hér og við túlkun á niðurstöðum skal haft í huga að eldri sýni eru hnakkabitar en nýrri sýni eru miðjustykki. Þetta skýrir hvers vegna nýrri sýnin fá hærra gildi fyrir hörku en áferð í fiskflaki er mismunandi eftir því hvar er mælt.

Greinilegt er að harka eykst í þeim sýnum sem geymd eru við hærra hitastig og sýni geymd við -75°C breytast minnst við frystigeymslu, en sýni geymd við -10°C eykst harka greinilega við geymslu í frysti. Á þetta við bæði hráefnin (myndir 10 og 11). Breytingin er mest fyrstu tvo mánuðina en minni breyting er milli annars og þriðja geymslumánaðar.



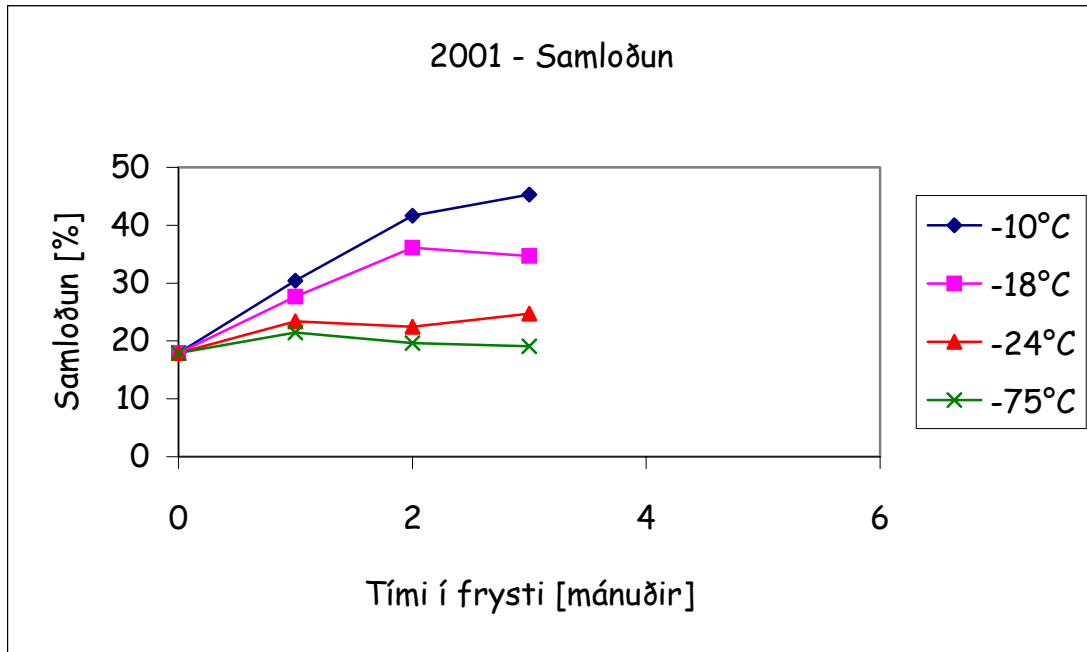
Mynd 10. Harka lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver punktur er meðaltal úr 12 mælingum.



Mynd 11. Harka lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver punktur er meðaltal úr 12 mælingum.

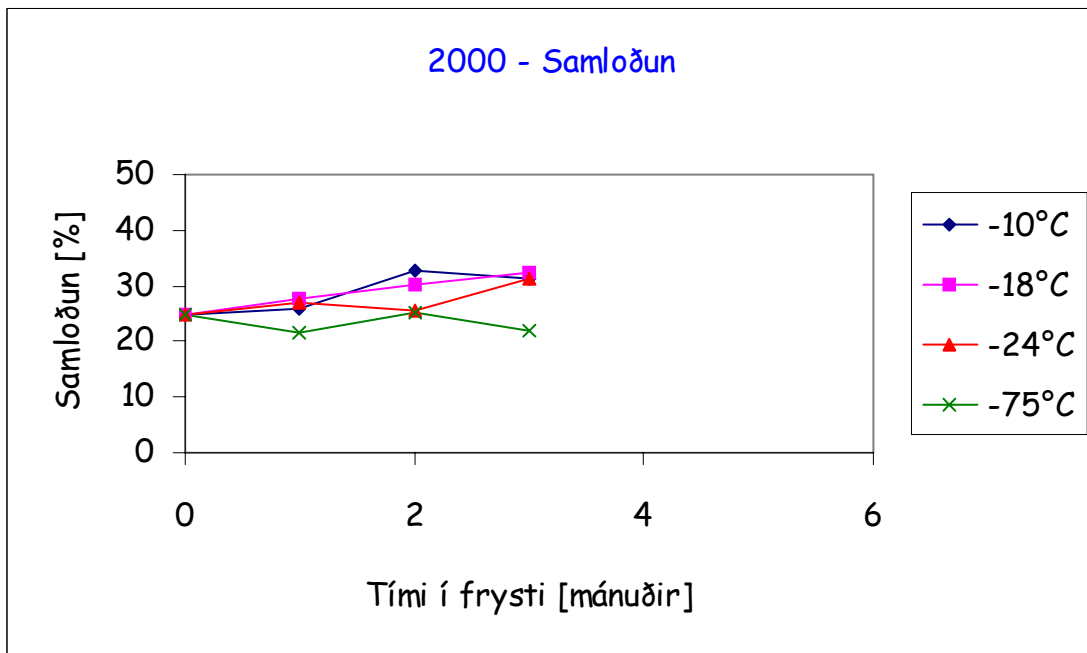
Samloðun

Há samloðun bendir til seigju og ákjósanlegt er að hafa samloðun sem lægsta; ferskur þorskur hefur samloðun um 12 %. Nýrri sýni hafa upphafsgildi um 18% (mynd 12) og er það í samræmi við þá staðreynd að hráefnið er nýr, frystur fiskur. Geymsluhitastig hefur greinilega áhrif á samloðnu. Strax eftir einn mánuð hafa nýrri sýni geymd við hærri hitastigin hækkað í samloðnu og er þessi munur enn greinlegri eftir tvo mánuði. Munurinn er ekki mikill frá öðrum til þriðja mánaðar (mynd 12).



Mynd 12. Samloðun lausfrystra þorskflaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver punktur er meðaltal úr 12 mælingum.

Samskonar breyting verður í eldri sýnunum en munur á hópum kemur fyrst fram eftir tvo mánuði. Upphafsgildi er þar mun hærra heldur en í nýju sýnunum eða um 25% (mynd 13). Samloðun er áberandi minnst í sýnum geymd við -75°C eftir þriggja mánaða geymslu í frysti.



Mynd 13. Samloðun lausfrystra þorskflaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig. Hver punktur er meðaltal úr 12 mælingum.

3.3.2 Vatnsheldni

Við frystingu og frystigeymslu afmyndast prótein og hæfni þeirra til að binda vatn minnkar. Margar aðferðir eru notaðar til að meta vatnsheldni (Water holding capacity; WHC eða W%). Vatnsheldni er hér skilgreind sem hæfni sýnis til að halda í eigin vökva undir þrýstingi við skilvindun. W% er bundið vatn sem hlutfall af heildar vatnsinnihaldi fyrir skilvindun. Til að bera saman sýni með mismikið þurrefni fyrir skilvindun, getur vatnsheldni einnig verið sýnd sem g bundið vatn /g þurrefni (gV/gÞ). Eftirfarandi jöfnur eru notaðar við útreikningin:

$$W\% = \frac{100 - t - \Delta r}{100 - t} \cdot 100\%$$

$$gV/g\text{Þ} = \frac{100 - t - \Delta r}{100}$$

þar sem:

W% = Vatnsheldni (bundið vatn af upphaflegu vatnsinnihaldi (%))

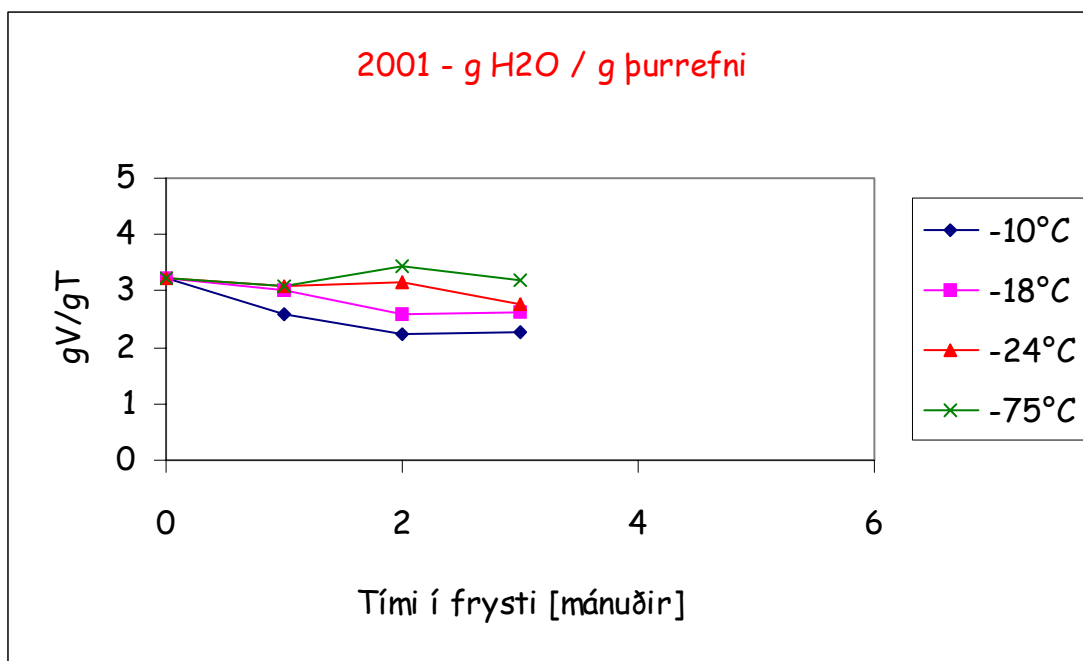
gV/gÞ = Vatnsheldni (g bundið vatn per g þurrefnis)

Δr = Hlutfallslegt þyngdartap við skilvindun
= $\frac{\text{þyngd sýnis (fyrir)} - \text{þyngd sýnis (eftir)}}{\text{þyngd sýnis (fyrir)}} \cdot 100$

t = Þurrefni í sýni fyrir skilvindun = 100 – vatnsinnihald skv. töflum 4 og 5

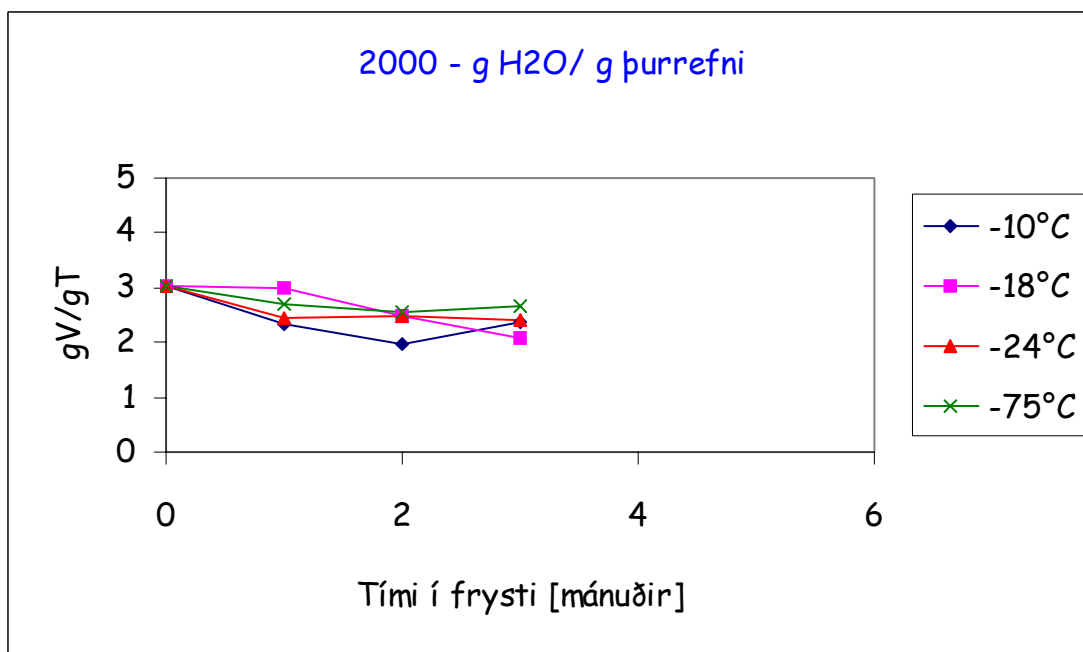
Niðurstöður eru hér sýndar sem g Vatns / g Þurrefni (mynd 14 og 15). Vatnsinnihald sýnanna er svipað og ekki mikill munur á þessum niðurstöðum og W%.

Samkvæmt niðurstöðum fyrir hráefni 2001 hefur geymsluhitastig áhrif á vatnsheldni. Eftir mánaðar frystigeymslu er minnst vatnsheldni í sýni geymt við –10°C. Eftir tvo mánuði í frysti er áhrif hitastigs greinilegra, vatnsheldni er mest í sýni geymt við –75°C, því næst –24°C og minnst í sýnum við –18°C og –10°C. Vatnsheldni er óbreytt eftir tveggja mánaða geymslu við –24°C og –75°C en lækkar fyrir önnur hitastig. Lítill munur er frá öðrum til þriðja mánaðar í frystigeymslu en lækkar þó örlítið fyrir sýni við lægstu hitastigin.



Mynd 14. Vatnsheldni lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig.

Vatnsheldni sýna frá 2000 (mynd 15) er nokkuð lægri í upphafi tilraunar en hráefni 2001. Ekki er mikill munur á vatnsheldni eftir geymsluhitastigi fyrsta mánuð í geymslu en eftir tvo mánuði hefur vatnsheldni sýna geymd við -10C lækkað umtalsvert en ekki í sýnum geymd við lægri hitastig sem gengur aftur til baka eftir þrjá mánuði.



Mynd 15. Vatnsheldni lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.

3.4 Efnafræðilegar mæliaðferðir

3.4.1 Vatn

Vatnsinnihald sýna var mælt í hverjum mælipunkti fyrir bæði ný (tafla 4) og eldri sýni (tafla 5). Nokkur breyting verður á vatnsinnihaldi við geymslu.

Tafla 4. Vatnsinnihald lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig.

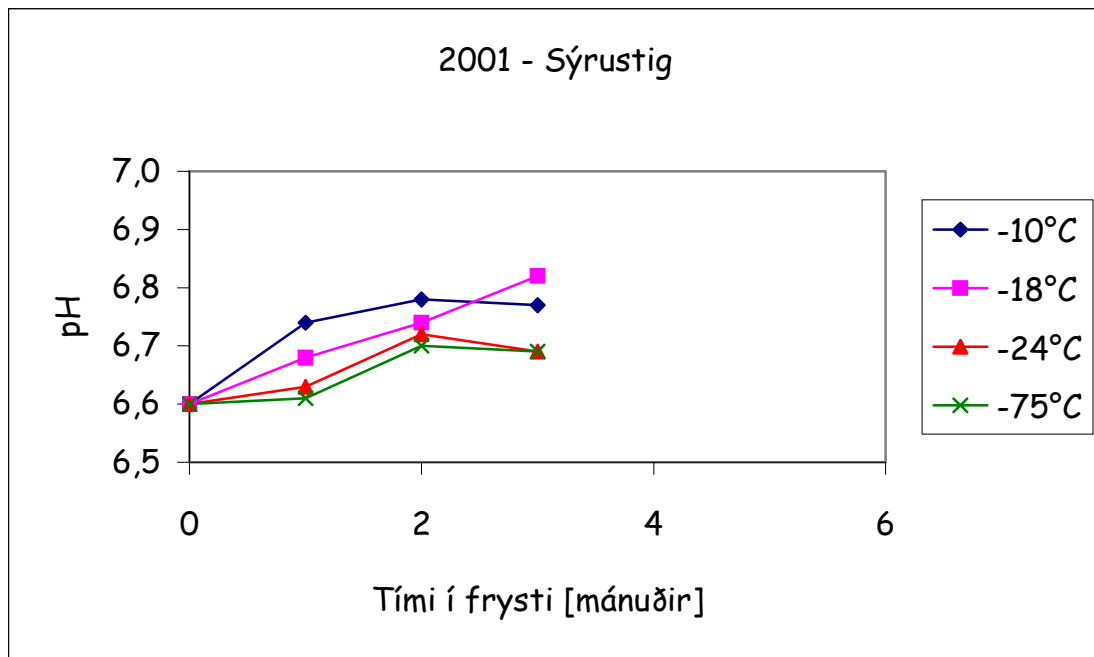
Tími í frysti [mánuðir]	-10°C	-18°C	-24°C	-75°C
0	82,8	82,8	82,8	82,8
1	82,1	82,1	82,8	81,9
2	81,9	81,9	82,8	82,2
3	82,2	82,4	82,2	82,0

Tafla 5. Vatnsinnihald lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.

Tími í frysti [mánuðir]	-10°C	-18°C	-24°C	-75°C
0	81,6	81,6	81,6	81,6
1	81,2	82,0	81,9	80,7
2	80,4	81,0	80,1	80,4
3	81,2	81,3	81,6	80,9

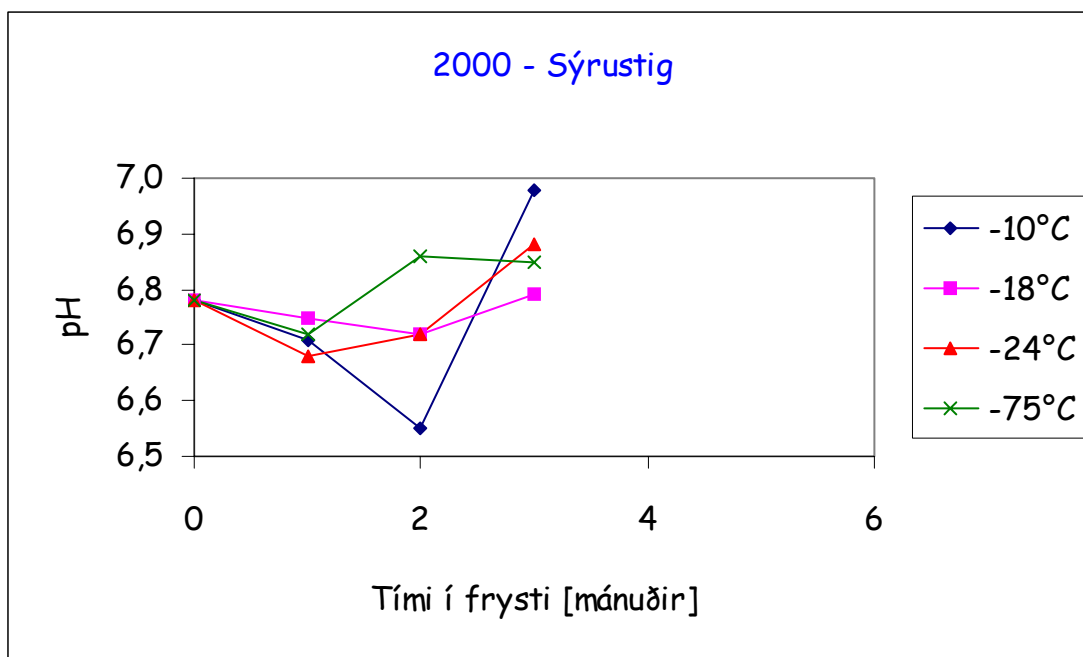
3.4.2 Sýrustig

Fylgst var með breytingu á sýrustigi með geymslutíma. Í upphafi er sýrustig eldri fisks hærra eða um 6,8 en 6,6 í nýrri fisknum. Með geymslu hækkar sýrustig yngri fisksins og er hækkunin meiri við lægra hitastig. Eftir tvo mánuði við -10°C er sýrustig fisksins orðið það sama og í eldra hráefni við upphaf tilraunar. Lítil breyting verður milli annars og þriðja mánaðar, fyrir utan að sýni geymt við -18°C mælist með hærra sýrustig (mynd 16).



Mynd 16. Sýrustig lausfrystra þorsklaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig.

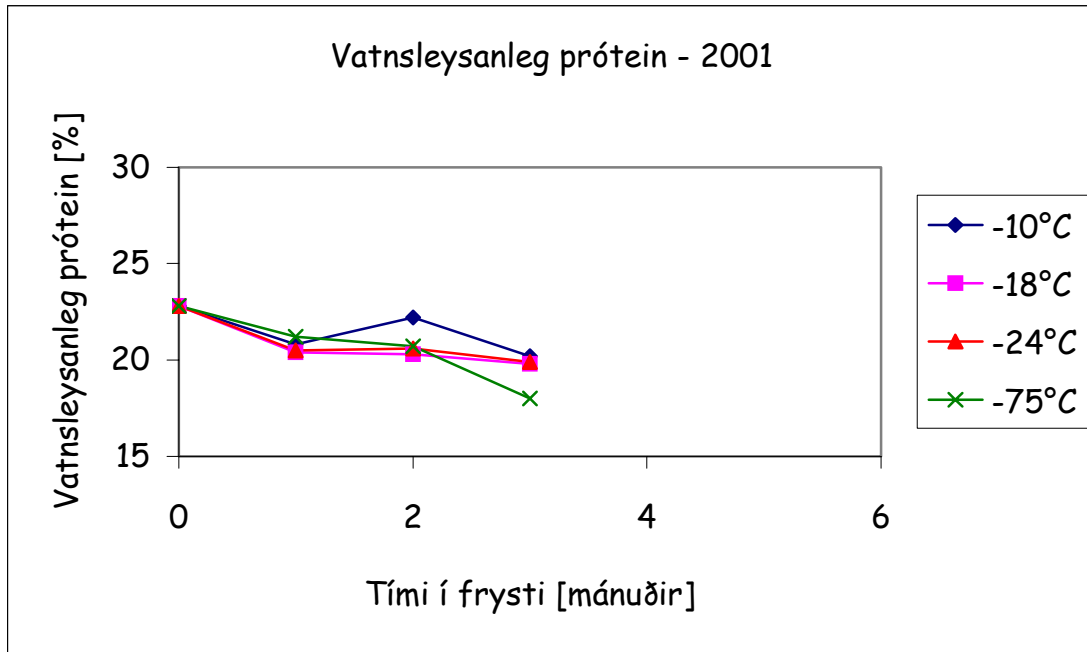
Sýrustig eldri sýna (mynd 17) lækkar hins vegar fyrsta mánuðin í frystigeymslu og er lækkunin svipuð hjá öllum sýnum. Eftir tvo mánuði breytist myndin – sýrustig helst óbreytt í sýnum geymd við -18°C og -24°C en lækkar í sýnum við -10°C en hækkar í -75°C sýnum. Aftur breytist myndin eftir þrjá mánuði en þá hækkar sýrustig í sýnum geymd við -10°C umtalsvert. Næsta mæling mun leiða í ljós hvort hér er um að ræða mæliskekkju eða hvort breyting á sýrustigi er viðvaranleg.



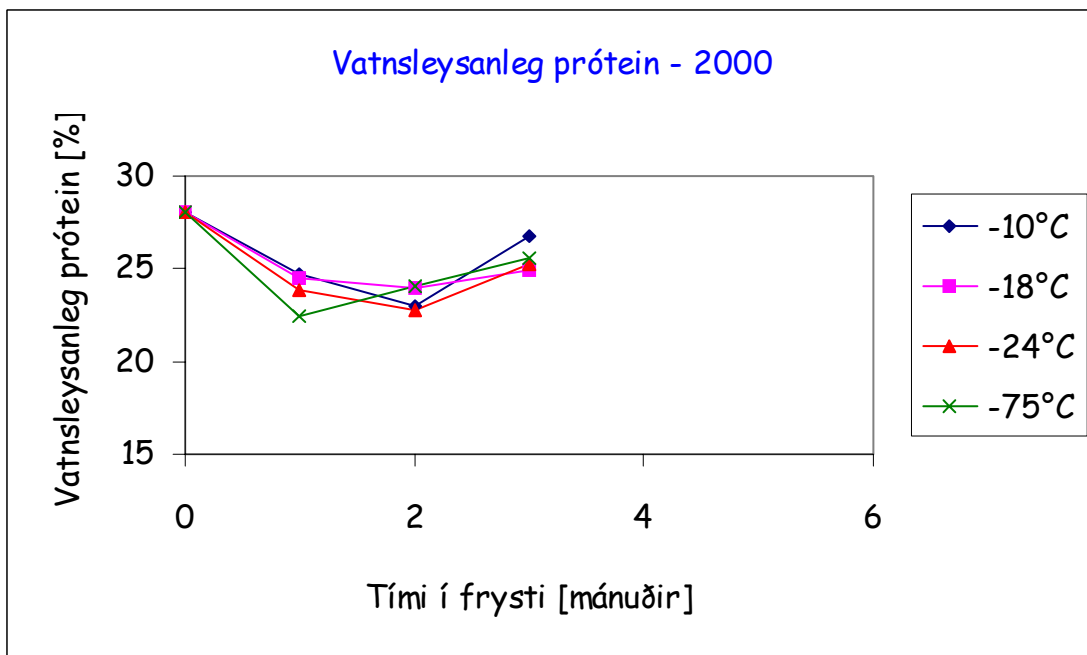
Mynd 17. Sýrustig lausfrystra þorskflaka eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.

3.4.3 Vatnsleysanleg prótein

Prótein leysanleg í vatnsfasa eru aðallega blanda af fríum amínósýrum, vatnsleysanlegum vítamínnum og öðrum efnum sem hafa lágan mólmassa. Afmyndun próteina við til dæmis frystingu og frystigeymslu veldur krossbindingu prótein sem gerir þau síður leysanleg. Í upphafi er mun hærra hlutfall próteina vatnsleysanleg í eldri fiski (mynd 19) en nýrri sýnum (mynd 18). Helst þessi munur eftir þriggja mánaða geymslu í frysti og á það við öll geymsluhitastig. Þessi niðurstaða bendir til að frystigeymsla valdi auknum styrk af próteinum með lágan mólmassa. Frekari mælingar eru nauðsynlegar til að kanna hvort þessi munur helst við áframhaldandi frystingu og hvort þessi kenning er rétt.



Mynd 18. Hlutfall (%) vatnsleysanlegra próteina í lausfrystum þorskflökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig.



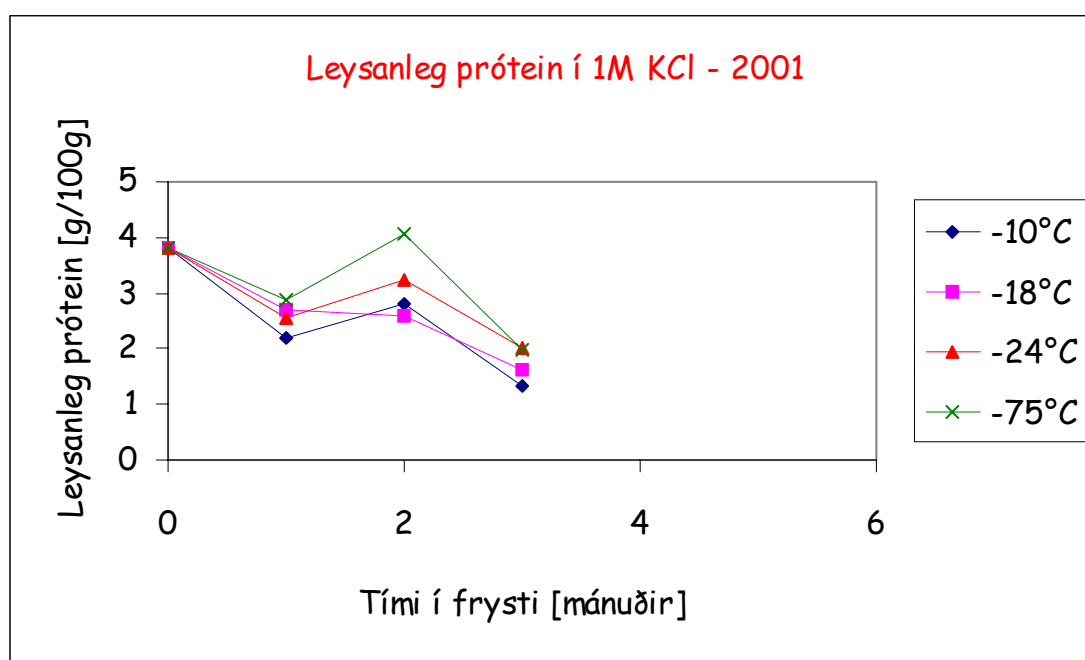
Mynd 19. Hlutfall (%) vatnsleysanlegra próteina í lausfrystum þorskflökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.

3.4.4 Leysanleg prótein í saltlausnum

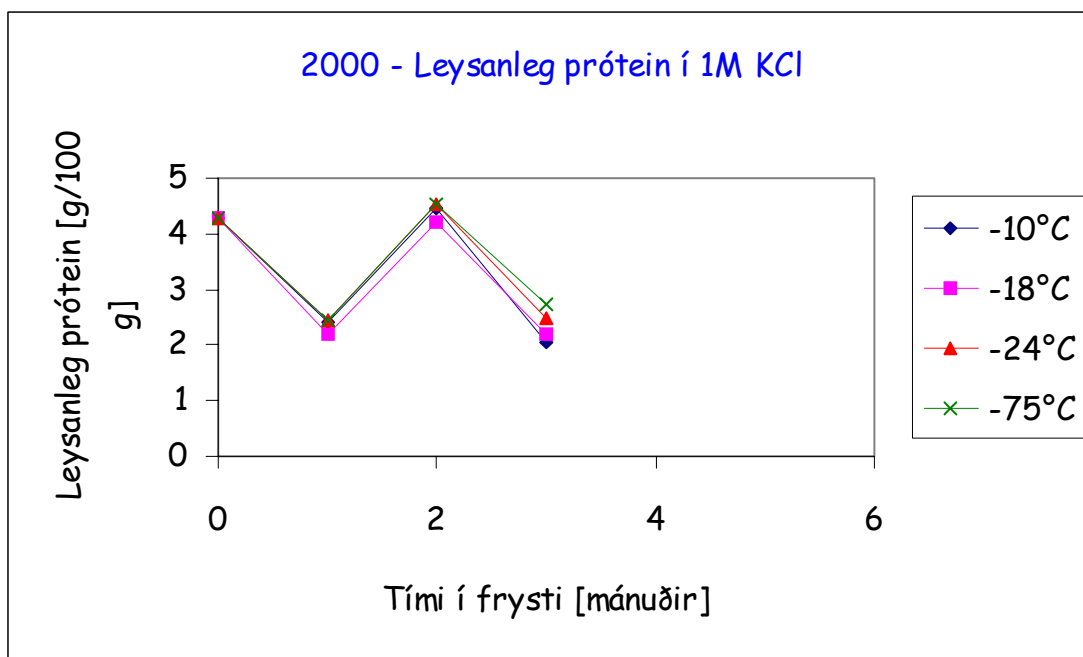
Leysanleiki próteina er háður umhverfispáttum svo sem hitastigi, sýrustigi og samsetningu lausna. Leysanleiki var mældur í 1M KCl og LiCl lausnum við pH 7,2.

Rannsóknir hafa sýnt að létt prótein s.s. umfrymisprótein eru leysanleg í KCl lausn en stærri prótein svo sem vöðvatrefjaprótein eru leysanleg í LiCl lausnum (Ingólfssdóttir 1996; Stefansson & Hultin 1994).

Í KCl lausnum er leysanleiki próteina svipaður í upphafi tilraunar bæði fyrir eldra og nýrra hráefni (myndir 20 og 21). Fyrir eldra hráefnið sveiflast styrkur leysanlegra próteina milli mælipunkta en er ekki mismunandi eftir geymsluhitastigi (mynd 21). Fyrir nýrra hráefni sést meiri breytanleiki eftir geymsluhitastigi þó að niðurstöður séu mismunandi eftir geymslutíma. Strax eftir mánuð í frystigeymslu er leysanleiki mestur í hráefni geymt við lægsta hitastigið (-75°C) og minnstur við hæsta hitastigið (-10°C). Er þessi munur greinilegri eftir tvo mánuði í frystigeymslu en hefur sá munur minnkað eftir þrjá mánuði (mynd 20).

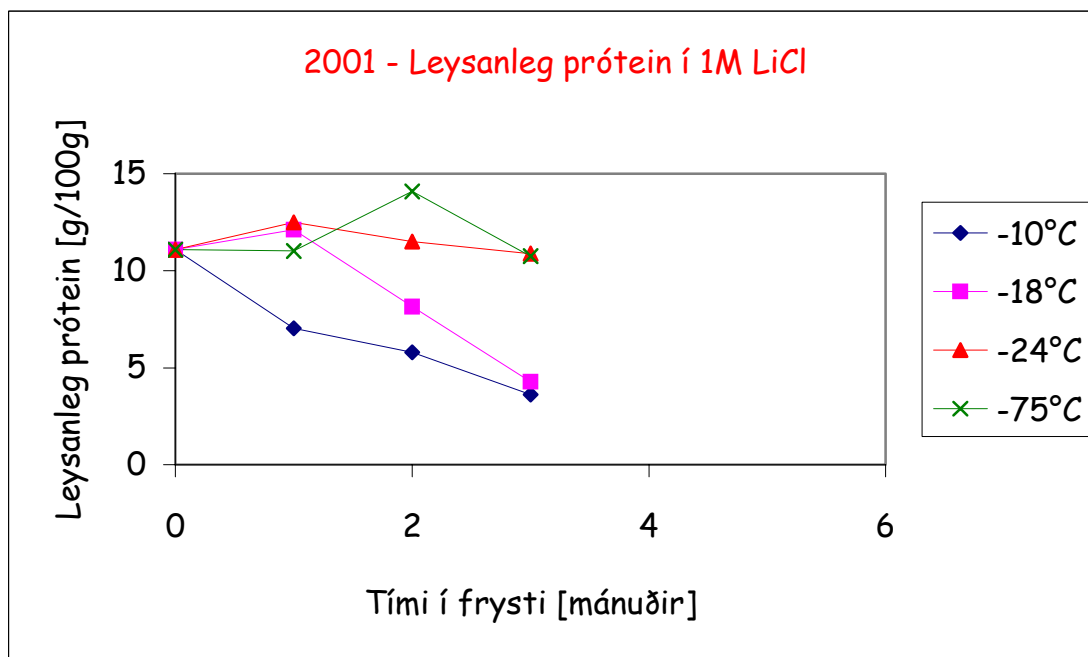


Mynd 20. Leysanleg prótein í 1 M KCl lausn í lausfrystum þorsklökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig.

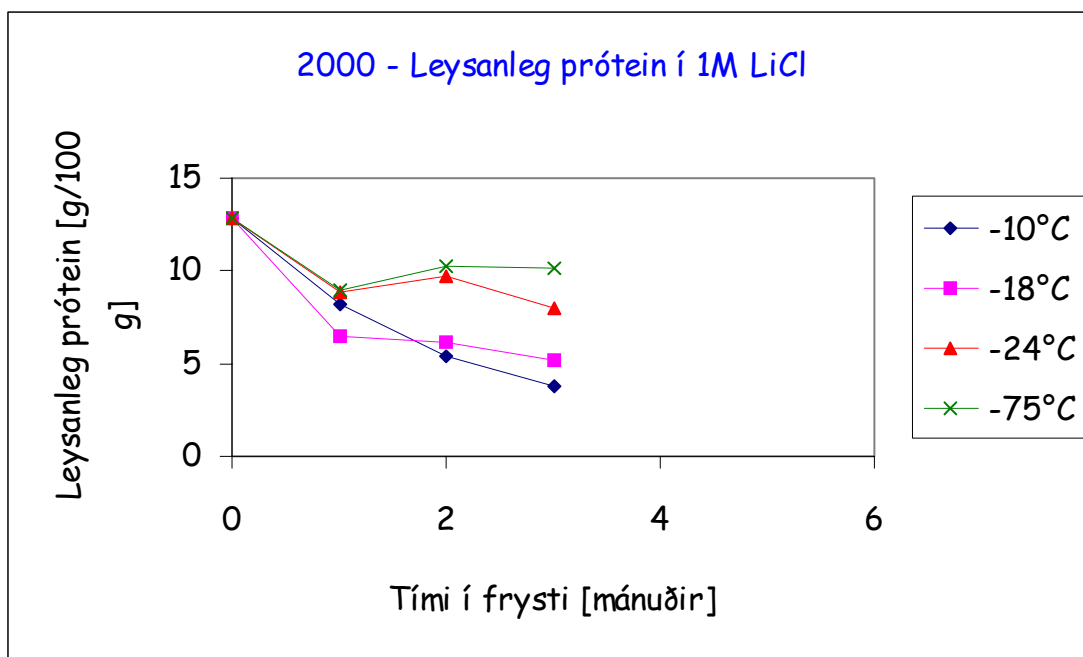


Mynd 21. Leysanleg prótein í 1 M KCl lausn í lausfrystum þorsklökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.

Í LiCl lausnum er leysanleiki próteina einnig svipaður í upphafi tilraunar fyrir bæði hráefni (myndir 22 og 23). Geymsluhitastig hefur áhrif á leysanleika próteina fyrir bæði hráefnin og er leysanleikin áberandi minnstur fyrir sýni geymd við -10°C en mestur fyrir sýni geymd við -75°C . Er þetta í samræmi við þá kenningu að frysting valdi krossbindingu vöðvatrefjapróteina.



Mynd 22. Leysanleg prótein í 1 M LiCl lausn í lausfrystum þorsklökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig.

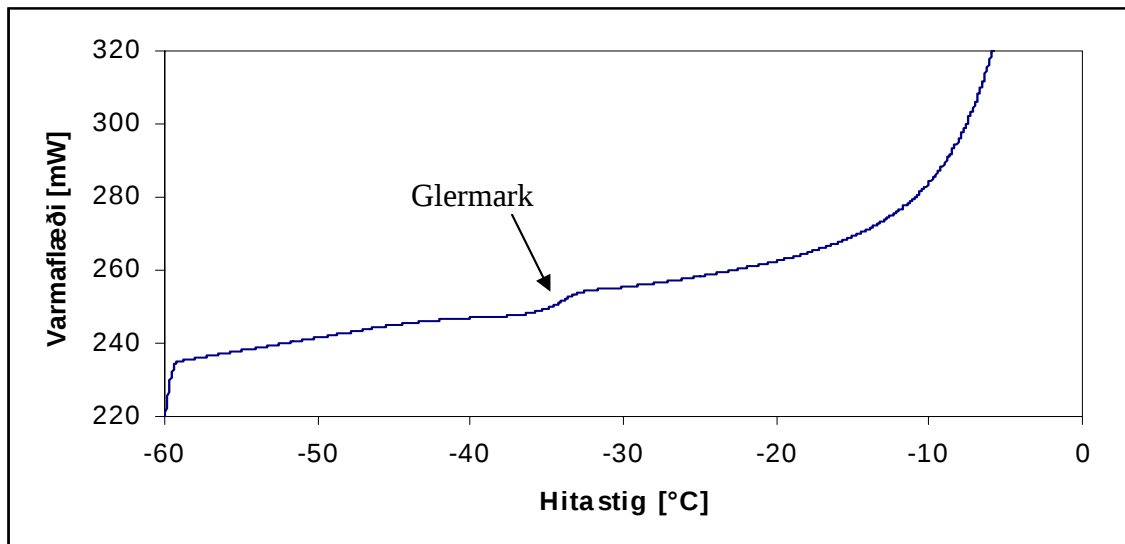


Mynd 23. Leysanleg prótein í 1 M LiCl lausn í lausfrystum þorskflökum eftir allt að þriggja mánaða geymslu við mismunandi hitastig. Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.

3.5 Glermark

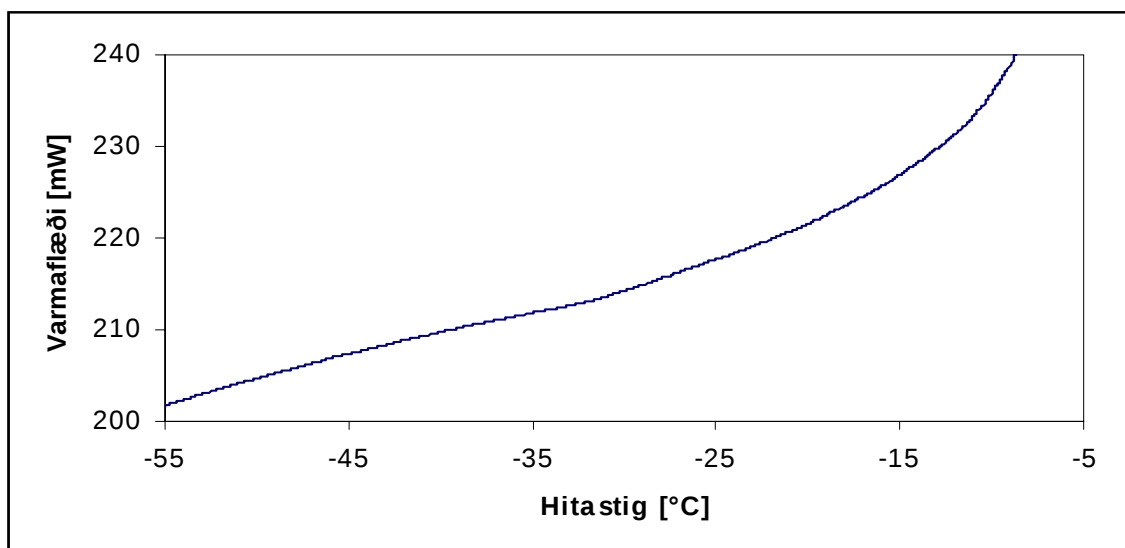
Erfiðlega hefur gengið að mæla glermark í þorsksholdi. Þegar vinna hófst við að mæla glermark í þorski kom í ljós að kælibúnaður DSC tækis, sem notað er við mælingarnar, réð ekki við að kæla sýni niður í æskilegt hitastig. Styrkur fékkst frá Tækjakaupasjóði Rannsóknarráðs til að bæta við þennan búnað. Er nú hægt að framkvæma mælingar við lægra hitastig og er rannsóknaraðstaða öll önnur eftir að þessi viðbót fékkst. Einnig var keyptur nýr hugbúnaður og tölva fyrir tækið sem eykur möguleika á úrvinnslu gagna. Niðurstöður þær sem kynntar eru hér fyrir neðan eru fengnar með hinum nýja tækjabúnaði.

Glermark í súkrósalausn var ákvarðað (mynd 24). Glermark súkrósa sést greinilega og er samkvæmt niðurstöður úr Pyrex forritinu $-34,2^{\circ}\text{C}$ sem er í samræmi við niðurstöður sem aðrið hafa fengið (Levine & Slade, 1988).



Mynd 24. DSC mæling á glermarki í 20% súkrósalausn. Keyrsluhraði 2°C/min.

Samskonar mæling var gerð á þorskholdi (mynd 25). Eins og fram kemur á myndinni er ekki sjáanlegt glermark í þorskholdi eins og kom fram í súkrósalausn.



Mynd 25. DSC mæling á þorskholdi. Keyrsluhraði 2°C/min.

Vitað er að ef tveimur efnum með þekktu glermarki er blandað saman er hægt að reikna glermark blöndunnar samkvæmt jöfnunni:

$$T_{g, \text{ blanda}} = \frac{T_{g,1} + T_{g,2}}{T_{g,1} + k \cdot T_{g,2}}$$

Þessi jafna á einungis við blöndu tveggja efna en ekki flóknari kerfi s.s. fisk. Ákveðið var að gera tilraun þar sem fiski var blandað í misstórum hlutföllum í lausnir með þekktu glermarki. Blandan var því næst sett í skilvindu og glermark lausnarinn mæld

(niðurstöður ekki sýndar). Ætlunin var að kanna hvort glermark lausnanna hækkaði eða lækkaði við að fisk var blandað í. Ekki fékst mælanlegur munur á glermarki eftir að fiski var blandað út í lausnirnar.

Tilraunir hafa verið gerðar þar sem niðurbrotin fiskprótein (Fish protein concentrate) eru frostþurrkuð, vatnsinnihald stillt og glermark mælt (Jardim o.fl. 1999). Næstu skref í mælingum á glermarki verður að frostþurrka fisk, stilla vatnsvirkni og mæla glermark. Með nálgun verður þá hægt að segja til um hvert glermark er í fiski. Vonast er til að þessi aðferðafræði tryggi mælingu á glermarki í þorski.

3.6 Samantekt á niðurstöðum

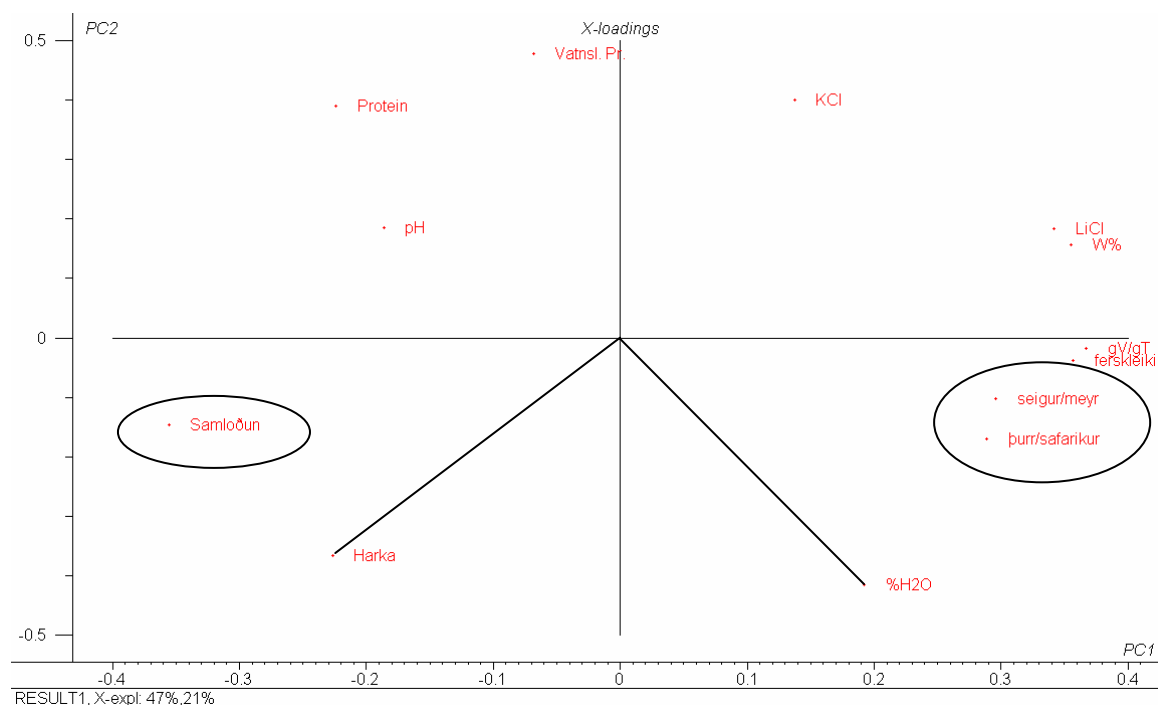
Niðurstöður sýna að geymsluhitastig hefur áhrif á eiginleika hráefnis en erfitt getur verið að átta sig á fylgni milli mismunandi mælipátta. Gott er að nota fjölþáttagreiningu til að bera saman niðurstöður og kanna samband mælipátta. Mynd 26 sýnir framlög breyta í rými fyrstu tveggja höfuðþátta (PC). Tengsl milli breyta ráðast af fjarlægðinni milli þeirra og horninu á milli vektors frá núllpunkti að breytu. Ef framlag tveggja breyta hafa sama formerki eins og til dæmis seigur/meyr og þurr/safaríkur á mynd 26 er það vísbending um að jákvæð fylgni sé á milli þeirra, þ.e. aukningu á annarri breytunni fylgir aukning á hinn breytunni. Andstæð formerki á framlögum er aftur á móti vísbending um neikvæða fylgni. Dæmi er samloðun og seigur/meyr á mynd 26. Horn milli vektora segir til um hversu mikil fylgnin er. Ef hornið er gleitt eða þröngt (0° eða 180°) er fylgni mikil (jákvæð eða neikvæð). Ef hornið er hornrétt (um 90°) er fylgni lítil, þ.e. þættir eru óháðir. Dæmi um óháða mælipætti á mynd 26 eru þættirnir Harka og vatnsinnihald (%H₂O). Fylgni milli þessara þátta er engin – hins vegar er fylgni milli hörku og vatnsheldni (gV/gT).

Ef breyta er staðsett langt frá núllpunkti er breytan mikilvæg en breyta sem liggur nálægt núllpunkti hefur lítið að segja fyrir um dreifingu sýnasafnsins.

Samkvæmt þessu er fylgni milli hárrar vatnsheldni (W% og gV/gT) og þess að sýni er safaríkt og meyr. Einnig að sýni sem eru safarík og meyr fá háa einkun fyrir

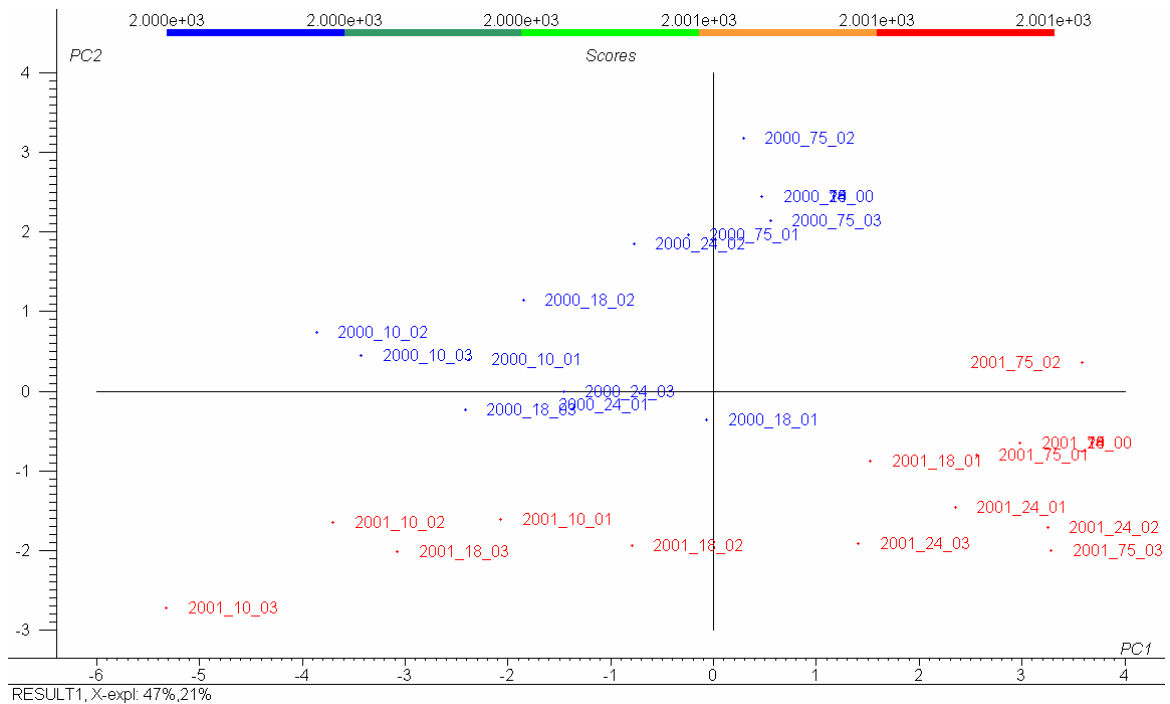
ferskleika. Ef þættir eru gegnt hvor öðrum á grafinu er sagt að neikvæð fylgni sé á milli þáttana. Mikil samloðun og harka fylgir því lágrí meyrni (seigur) og þurru sýni.

Fyrsti höfuðþáttur (PC1) skýrir 47% af breytileika í sýnamenginu og hefur ferskleiki og vatnsheldni (gV/gT) mest áhrif. Áferðarþættir hafa einnig mikil áhrif á fyrsta höfuðþátt. Annar höfuðþáttur (PC2) skýrir 22% breytileika. Þar hefur mælipátturinn vatnsleysanleg prótein mest áhrif. Einnig leysanleg prótein í KCl lausn og eru þessir þættir tengdir. Er það í samræmi við þá kenningu að þessar mælingar segi til um magn leysanlegra próteina með lágan mólþunga. Þessir þættir eru í fylgni við hörku sýna, mikill leysanleiki lítil harka (mynd 26).

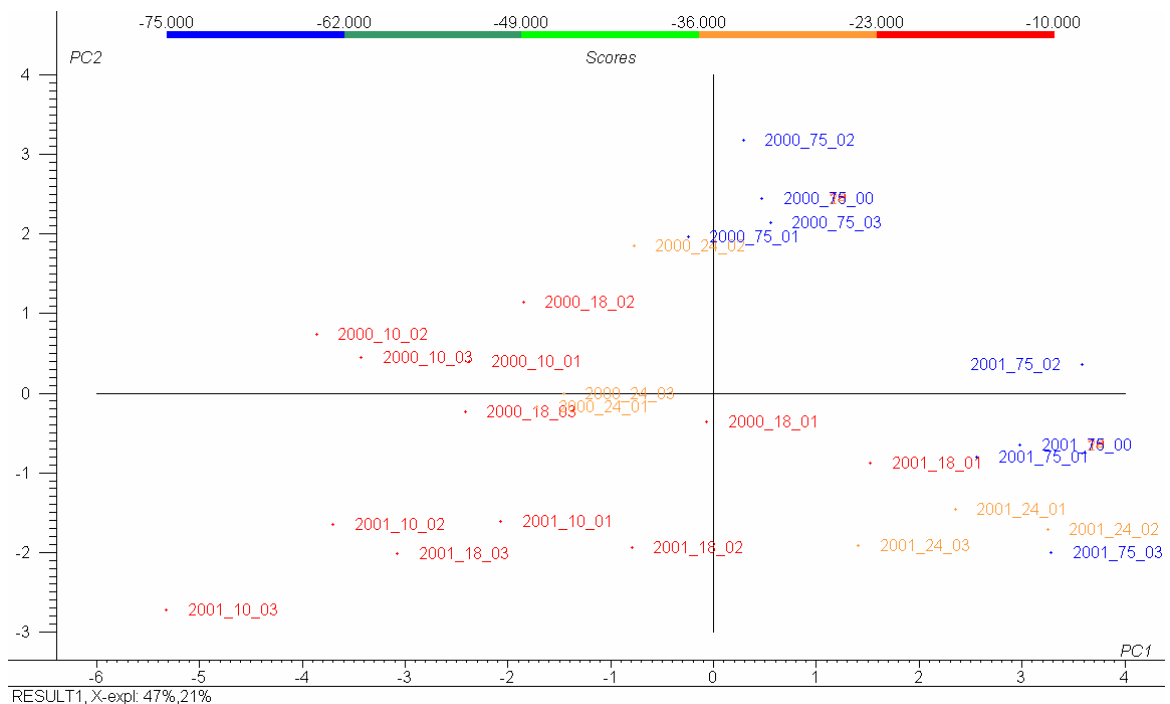


Mynd 26. Tveir fyrstu meginþættir (PC) í fjölþátta greiningu á mælingu á frystum þorski eftir allt að þriggja mánaða geymslu í frysti við mismunandi hitastig.

Á myndum 27 og 28 sést hvernig sýni raða sér upp miðað við staðsetningu breyta á mynd 26. Myndir 27 og 28 eru sama myndin en mismunandi sýni eru dregnir fram á þessum tveimur myndum með notkun lita. Hráefni frá 2000 og 2001 aðgreina sig aðallega eftir öðrum höfuðþætti (mynd 27; PC2). Eins og fram hefur komið er það leysanleiki í vatni og KCl sem hefur þar aðallega áhrif.



Mynd 27. Tveir fyrstu meginþættir (PC) í fjölpátta greiningu á mælingu á frystum þorski eftir allt að þriggja mánaða geymslu í frysti við mismunandi hitastig. Rauð sýni: Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. Blá sýni: Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig.



Mynd 28. Tveir fyrstu meginþættir (PC) í fjölpátta greiningu á mælingu á frystum þorski eftir allt að þriggja mánaða geymslu í frysti við mismunandi hitastig. 2001: Hráefni veitt 2001 og strax eftir frystingu sett við mismunandi geymsluhitastig. 2000: Hráefni veitt 2000 og geymt í eitt ár við -24°C og að því loknu sett við mismunandi geymsluhitastig. Blá sýni: geymd við -75°C , gul sýni: geymd við -24°C , ljós rauð sýni: geymd við -18°C , rauð sýni: geymd við -10°C .

Fyrri höfuðþáttur (PC1) greinir sýnin niður eftir geymsluhitastigi og tíma (mynd 28). Sýni lengst til hægri á mynd 28 voru geymd við -75°C . Eftir því sem lengra til vinstri er farið á myndinni lækkar hitastigið og geymslutími lengist.

Mikilvægt er að gera frekari mælingar á hráefni til að kanna betur áhrif mismunandi mæliþátta og samband þar á milli. Sérstaklega hvernig sýni geymd við lægri hitastigin (-75°C og -24°C) haga sér við lengri frystigeymslu.

3.7 Næstu skref

Mælingum á frystum fiski verður haldið áfram. Fiskur verður frostþurrkaður, vatnsvirkni stillt á mismunandi gildi og leytast við að mæla glermark.

4. ÁLYKTANIR

Mikið magn niðurstaða hefur þegar fengist í verkefninu um samspil mismunandi mælipátta á frystum þorski eftir mismunandi geymslutíma. Greinilegt er að mælipættir svo sem áferð og leysanleg prótein er í samræmi við niðurstöður fengnar með skynmati. Telja má að ekki hafi verið áður gerð jafn viðamikil rannsókn á samspili margra mælipátta eins og hér er gert, aðallega hvað viðkemur samspil áferðarmælingar með tækjum og skynmati. Lengri geymslutími og fleiri niðurstöður þarf til að stykja mat á hvaða þættir breytast mest og hafa aðallega áhrif á stöðugleikann.

Það eru vonbrigði að aðferðaþróun með blöndun á lausnum með þekktu glermarki við fisk leiddi ekki til mælinga á glermarki í þorskholdi. Vonir eru bundnar við að frostþurrkun og stilling á vatnsvirkni gefi betri niðurstöður.

5. HEIMILDIR

- Ang, J.F. og Hultin, H.O. (1989). Denaturation of cod myosin during freezing after modification with formaldehyde. *J. Food Sci.*, **54**, 814-818.
- Blanshard, J.M.V. (1995). The glass transition, its nature and significance in food processing. Í: Physico-chemical aspects of food processing (ritstjóri Beckett, S.T.). Blackie Academic & Professional, London, bls. 17-48.
- Gregory, R.B. (1995). Protein hydration and glass transition behavior. Í: Protein-solvent interactions (ritstjóri Gregory, R.B.). Marcel Dekker, New York, bls. 191-264.
- Haard, N.F. (1992). Í: Seafood Science and Technology (ritstjóri Blight, E.G.). Fishing News Books, Oxford, Bretlandi, bls. 176-209.
- Hsieh, Y.L. og Regenstein, J.M. (1989). Texture changes of frozen stored cod and ocean perch minces. *J. Food Sci.*, **54**, 824-826, 834.
- Ingemansson, R., Kaufmann, P. og Ekstrand, B. (1995). Multivariate evaluation of lipid hydrolysis and oxidation data from light and dark muscle of frozen stored rainbow trout. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2046-2052.
- Ingólfssdóttir, S. (1996). Seasonal variations in some chemical and functional properties of cod (*Gadus Morhua*) Mince. A M.Sc. thesis. University of Iceland, Reykjavík.
- Jardim, D.C.P., Candido, L.M.B. og Netto, F.M. (1999). *Journal of Food Properties*, **2**(3), 227-242.
- Levine, H. og Slade, L. (1988). Principles of "cryostabilization" technology from structure/property relationships of carbohydrate/water system - A review. *Cryo-letters*, **9**, 21-63.
- MacDonald, G.A. og Lanier, T. (1991). Carbohydrates as Cryoprotectants for Meats and Surimi. *Food Technology*, March, 150-159.
- Mackie, I.M. (1993). The Effects of freezing on Flesh Proteins. *Food Reviews International*, **9**(4), 575-610
- Roos, Y. og Karel, M. (1991). Applying state diagrams to foods processing and development. *Food Technol.*, **45**(12), 66-71, 107.
- Stefánsson, G. og Hultin, H.O. (1994). On the Solubility of Cod Muscle Proteins in Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 2656-2664.
- Wright, D.J. (1984). Thermoanalytical Methods in Food Research Í: Biophysical Methods in Food Research, (ritstjóri Chan, H.W.-S.), Blackwell Scientific Publications, England, bls. 1-36.