

Auðlindir & afurðir
Resources & Products

Öryggi, umhverfi & erfðir
Food Safety, Environment
& Genetics

Viðskiptaþróun
Business Development

Líftækni & lífefni
Biotechnology & Biomolecules

Mælingar & miðlun
Analysis & Consulting



Áhrif árstíma, blæðingaraðferða og geymsluhitastigs á gæði og stöðugleika frosinna þorsklifra

Magnea G. Karlsdóttir
Sigurjón Arason
Ásbjörn Jónsson

Auðlindir og afurðir

Skýrsla Matís 03-16
Apríl 2016

ISSN 1670-7192

Skýrsla lokuð til 01.04.2018

Titill / Title	Áhrif árstíma, blæðingaraðferða og geymsluhitastigs á gæði og stöðugleika frosinna þorsklifra		
Höfundar / Authors	Magnea G. Karlsdóttir, Sigurjón Arason, Ásbjörn Jónsson		
Skýrsla / Report no.	03-16	Útgáfudagur / Date:	1. apríl 2016
Verknr. / Project no.	2229	Skýrsla lokuð til 01.04.2018	
Styrktaraðilar /Funding:	AVS rannsóknarsjóður í sjávarútvegi		
Ágríp á íslensku:	<p>Meginmarkmið verkefnisins var að auka nýtingu og um leið þekkingu á stöðugleika þorsklifrar í frosti eftir árstíma. Með aukinni þekkingu á áhrifum árstíma, hráefnisgæða og geymsluaðstæðna á stöðugleika lifrar í frosti er hægt að tryggja að hráefni fyrir áframhaldandi vinnslu sé fánlegt allt árið um kring. Þessi skýrsla fjallar um áhrif árstíma, blæðingaraðferða og geymsluhitastigs á gæði og stöðugleika frosinna þorsklifra. Matsþættir voru meðal annars ensímvirkni (fríar fitusýrur) og þránun (fyrsta- og annarstigs myndefni þránunar).</p> <p>Árstími hafði marktæk áhrif á efnasamsetningu og ensímvirkni lifranna. Það endurspeglaðist í hærra fituinnihaldi og hærra magni af fríum fitusýrum í lifur sem safnað var í júlí samanborið við lifur frá apríl. Stöðugleiki í frosti var einnig breytilegur eftir árstíma þar sem lifur frá júlí var viðkvæmari gagnvart myndun peroxíðs. Mismunandi blóðgunaraðferðir (blóðgun og slæging í einu handtaki (eitt skref) og að blóðga fyrst og slægja svo (tvö skref)) höfðu almennt lítil áhrif á efnasamsetningu og ensímvirkni lifranna. Blóðgunaraðferðirnar höfðu aftur á móti marktæk áhrif á myndun annarstigs myndefni þránunar við frostgeymslu þar sem lifur frá fiski blóðgaður í 2 skrefum var minna þrá samanborið við lifur frá fiski blóðgaður í einu skrefi. Geymsluhitastig og tími höfðu afgerandi áhrif á stöðugleika lifranna í frosti. Út frá fyrirliggjandi niðurstöðum er ráðlagt að geyma frosna lifur við -25 °C heldur en -18 °C til þess að hægja á skemmdarferlum.</p>		
Lykilorð á íslensku:	<i>Lifur, þorskur, frostgeymsla, hitastig, árstími, fituniðurbrot, blóðgun</i>		
Summary in English:	<p>To our knowledge, there is limited information available regarding the effects of temperature, bleeding method, and seasonal variation on oxidation stability of cod liver during frozen storage. A profound knowledge of cod liver stability during frozen storage is needed to secure the available supply of cod liver for processing all year around. The objective of the present study was therefore to evaluate lipid deterioration during frozen storage of cod liver. The effects of temperature, storage time, bleeding method, and seasonal variation on lipid hydrolysis and oxidation were analysed.</p> <p>Time of year significantly affected the chemical composition and enzymatic activity of the liver, which was reflected in a higher fat content and higher level of free fatty acids in the liver collected in July compared to liver collected in April. Stability during frozen storage varied also with season where liver from July was more vulnerable towards peroxidation. Different bleeding methods (bleeding and gutting in one step compared to bleeding first and then gutting (two steps)) had significant effect on the lipid oxidation where liver from fish bled in one step turned out to be more rancid compared to liver from fish bled in two steps. Storage temperature and time proved to be important factors with regard to lipid degradation of cod liver during frozen storage. Based on present results, it can be recommended to store frozen liver at -25 °C rather than -18 °C in order to slow down these damage reactions.</p>		
English keywords:	<i>Cod liver, frozen storage temperature, season, lipid degradation, bleeding</i>		

EFNISYFIRLIT

Myndaskrá.....	1
Töfluskrá.....	2
1 Inngangur.....	3
2 Markmið.....	5
3 Framkvæmd.....	6
3.1 Hráefni og tilraunaskipulag.....	6
3.2 Efnamælingar.....	7
3.3 Niðurbrot fitu.....	7
3.3.1 Fríar fitusýrur (FFS) - ensímvirkni.....	7
3.3.2 Peroxíð gildi (PV).....	7
3.3.3 Thiobarbituric reactive substances (TBARS).....	7
3.3.4 Anisidín gildi (AV).....	7
3.4 Úrvinnsla gagna.....	7
4 Niðurstöður.....	8
4.1 Fituinnihald.....	8
4.2 Fríar fitusýrur (FFS).....	9
4.3 Peroxíð gildi.....	12
4.4 TBARS.....	14
4.5 Anisidín gildi.....	16
4.6 Fylgnimælingar.....	18
5 Ályktanir.....	20
6 Þakkarorð.....	20
7 Heimildir.....	21

MYNDASKRÁ

Mynd 1 Magn (tonn) og verðmæti (þús. ISK fob) af útfluttu lýsi (t.v.) og niðursoðinni lifur (t.h.) á árunum 2006-2011 (Heimild: Hagstofa Íslands).....	3
Mynd 2 Árstíðarbundnar sveiflur í magni fitu og vatns í þorsklifur (Gudmundsson & Olafsson 1973).....	4
Mynd 3. Fitu- og vatnsinnihald (%) í þorsklifur frá fiski veiddum í apríl og júlí.....	8
Mynd 4. Fituinnihald (%) í lifur frá ísfiskstogara (bláar súlur) og frystitogara (rauðar súlur) frá þorsk veiddum í apríl og júlí.....	9
Mynd 5. Magn frírra fitusýra (g FFS/100 g fita) í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.	10
Mynd 6. Magn frírra fitusýra (g FFS/100 g fita) í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.	11
Mynd 7. Magn frírra fitusýra (g FFS/100 g fita) í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.	11
Mynd 8. Peroxíð gildi (mmól/kg) í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.....	12
Mynd 9. Peroxíð gildi (mmól/kg) í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.	13
Mynd 10. Peroxíð gildi (mmól/kg) í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.	13

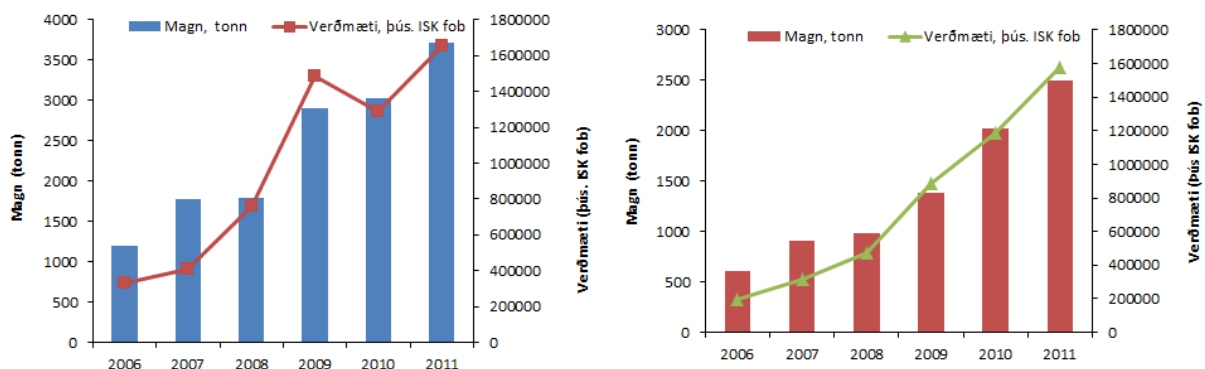
Mynd 11. Thiobarbituric reactive substances (TBARS; $\mu\text{mól MDA/kg}$) í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C	15
Mynd 12. Thiobarbituric reactive substances (TBARS; $\mu\text{mól MDA/kg}$) í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C	15
Mynd 13. Thiobarbituric reactive substances (TBARS; $\mu\text{mól MDA/kg}$) í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C	16
Mynd 14 Anisidín gildi í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C	17
Mynd 15. Anisidín gildi í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C	17
Mynd 16. Anisidín gildi í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C	18

TÖFLUSKRÁ

Tafla 1. Yfirlit yfir sýnahópa af þorsklifur við mat á stöðugleika lifrar í frosti.....	6
Tafla 2 Fylgni (<i>Pearson correlation</i>) milli mismunandi tilraunabreyta og mælinga sem voru skoðaðir í tilraununum. p-gildi er sýnt skáletrað og í sviga undir hverjum fylgnistuðul.19	

1 INNGANGUR

Síðustu 20 árin hefur orðið gífurleg aukning á framleiðslu aukaafurða úr sjávarafla hérlendis en nýting á aukaafurðum eru mjög mikilvæg fyrir sjávariðnaðinn, þar sem slík nýting er ekki bara jákvæð fyrir efnahaginn heldur líka útfrá næringarfræðilegum og umhverfislegum sjónarmiðum. Árið 1992 var heildarframleiðsla sjávarútvegsins um 1667 tonn, en var árið 2010 tæplega 48.000 tonn. Á sama tíma hafa fiskistofnar og aflatölur minnkað í heiminum og dróst afli á þessu tímabili um tæplega 27%. Lækkunin er svo mun meiri sé horft 40 ár aftur í tímann og því ljóst að þörfin fyrir fullnýtingu sjávarafllans hefur aukist mikið og hafa Íslendingar verið duglegir að nýta það. En betur má ef duga skal segir gamalt orðatiltæki og á það vel við t.d. um nýtingu lifrar. Hérlendis er þekktasta aukaafurðin úr lifur lýsi en niðursuða hefur einnig skipað sér tiltölulegan stóran sess. Síðustu árin hefur útflutningur á lýsi og niðursoðinni lifur aukist töluvert sem hefur skilað í allt að 87% meiri verðmætum (Mynd 1). Aukin eftirspurn af þessum afurðum kalla eftir hágæða hráefni, en eins og staðan er í dag þá er talsvert um að framleiðendur þurfi að flytja inn hráefni erlendis frá.

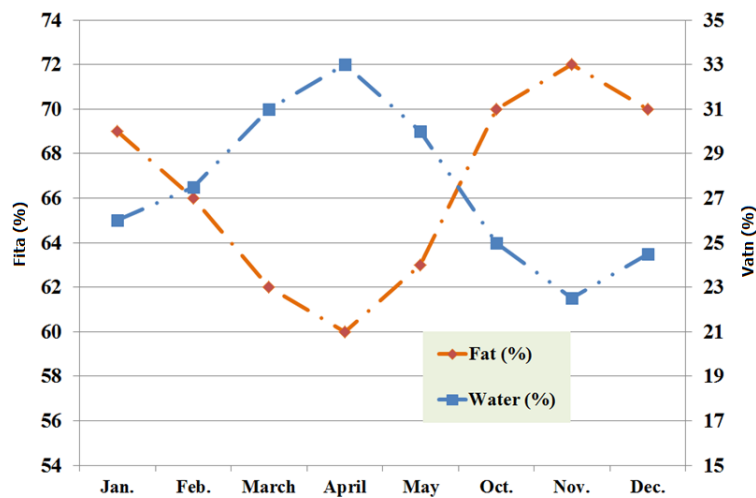


Mynd 1. Magn (tonn) og verðmæti (þús. ISK fob) af útfluttu lýsi (t.v.) og niðursoðinni lifur (t.h.) á árunum 2006-2011 (Heimild: Hagstofa Íslands).

Vinnsla á lifur getur verið vandasöm þar sem geymsluskilyrði hennar eru ekki þau sömu og fiskvöðva og er því þ.a.l. mun viðkvæmara en annað hráefni.

Efnagreiningar í gegnum tíðina á þorsklifur hafa leitt í ljós árstíðarbundnar sveiflur á magni fitu og vatni (Mynd 2) sem og hlutfalli próteina af fitufríu þurrefni. Sveiflur geta verið mismiklar milli ára en almennt má segja að fita sé í hámarki í janúar og febrúar en í mars lækkar fituhlutfall og er oft lægst í apríl. Í maí helst það ýmist svipað og í apríl eða fer hækkandi. Hlutfall próteina í fitufríu þurrefni í þorskalifur fellur hratt á tímabilinu janúar-mars og nær

lágmarki í mars (Gudmundsson & Olafsson 1973). Rannsóknir hafa einnig sýnt að samsetning fitu er ekki einsleit eftir stærð fiskanna (Jonsdottir *et al.* 2002).



Mynd 2. Árstíðarbundnar sveiflur í magni fitu og vatns í þorskalifur (Gudmundsson & Olafsson 1973).

Innihald og efnasamsetning fosfólípíða svo og fitusýrusamsetning fisks er breytileg eftir árstíma, sem ákvarðast af hitastigi, næringu og æxlun (Vaskovsky 1989). Við sveltí gengur meira á þríglýseríð eða forðafituna en fosfólípíðin, og þess vegna eykst hlutfallslegt innihald fosfólípíða í sveltí. Vegna þess geta ómega-3 fitusýrur í lifur verið allt að tvöfalt hærri á sumrin en á vorin (Rustad *et al.* 2004).

Mjög fáar heimildir, bæði héraendis sem og erlendis, eru til um stöðugleika lifur í frosti, en niðurbrot fitu í frosnum sjávarafurðum er bæði vegna ensímvirkni og oxunar. Þorsklifur inniheldur hátt hlutfall ómettaðra fitusýra, sem er mjög æskilegt m.t.t. ýmissa heilsufarsþátta s.s. hjartasjúkdóma, en þessar fitusýrur eru mjög viðkvæmar gagnvar þránun þ.e. súrefni hvarfast við tvíbindingana og sem veldur því að hlutfall þessara fitusýra lækkar. Myndefnin, t.d. peroxíð og frír radikalar, eru mjög óstöðugar sameindir sem geta valdið oxun á litarefnum, bragðefnum og vítamínum (A, D og E). Það eru því ekki bara lífsnauðsynlegu fitusýrurnar sem tapast heldur einnig þessi fituleysanleg vítamín, en slíkt tap getur haft veruleg áhrif á lokaafurð eins og lýsi til manneldis (Deshpande *et al.* 1996; Malone *et al.* 2004). Erfitt getur verið að koma í veg fyrir þránun, en lækkun hitastigs við frystingu, útilokun ljóss og lofts (súrefnis), notkun andoxunarefna og efna sem hvarfast við málma, ásamt góðum umbúðum, geta dregið allverulega úr henni (Olcott 1962). Hraði frystingar sem og hitastig í geymslu hafa áhrif á virkni

ensíma sem brjóta niður fitu. Virkni þeirra eykst á ákveðnu hitastigsbili við frystingu vegna aukins styrks uppleystra efna. Virkinn er mest í upphafi geymslu en minnkar eftir því sem líður á geymslutímum vegna afmyndunar á ensímum.

Rannsóknir Matís gefa til kynna að ensímvirkni í lifur er í öfugu hlutfalli við fituhlutfall, þ.e. er lágt í janúar þegar fituhlutfallið er hátt og fari svo hækkandi með lækkandi fituhlutfalli (Karlsdóttir *et al.* 2015). Sama rannsókn sýndi einnig að geymsluhitastig í frosti sem og árstími hafði veruleg áhrif á þrámyndun. Sveiflur í hitastigi við frostgeymslu geta einnig haft áhrif á myndun frírra fitusýra og oxun fitu en máli skiptir hvað þær eru miklar (Bilinski *et al.* 1981). Myndun frírra fitusýra (FFA) (vegna aukinnar ensímvirkin) hefur í för með sér lakari nýtingu lifrarinnar í lýsisvinnslu. Sem dæmi má nefna að ef hlutfall FFA er 5% í lifur þá fellur nýtingin við lýsisframleiðslu niður um 10%.

2 MARKMIÐ

Meginmarkmið verkefnisins *Hágæðalifur – Lifrargull* var að auka nýtingu og um leið þekkingu á stöðugleika þorsklifrar í frosti eftir árstíma. Með aukinni þekkingu á áhrifum árstíma, hráefnisgæða og geymsluaðstæðna á stöðugleika lifrar í frosti er hægt að tryggja að hráefni fyrir áframhaldandi vinnslu sé fáanlegt allt árið um kring. Mjög fáar rannsóknir hafa verið gerðar á þessum þáttum og mun verkefnið skapa mikilvægar upplýsingar á breytileika og stöðugleika fitunnar sem skilar sér í stýrðari vinnslu á lifur og auka þar með nýtinguna til muna.

Þessi skýrsla fjallar um áhrif árstíma, blæðingaraðferða og geymsluhitastigs á gæði og stöðugleika frosinna þorsklifra. Matsþættir voru meðal annars ensímvirkni (fríar fitusýrur) og þránun fitu.

3 FRAMKVÆMD

3.1 Hráefni og tilraunaskipulag

Þorsklifrum var safnað af tveim mismunandi árstíðum 2013, apríl og júlí, frá ísfiskstogara (Klakkur SK-5) og frystitogara (Kleifarberg RE 70) (Tafla 1). Lifrum var safnað af þorsk sem var blóðgaður og slægður á mismunandi hátt:

- i. Fiskur blóðgaður og slægður í einu skrefi – lifur fryst í landi.
- ii. Fiskur blóðgaður og slægður í tveimur skrefum (fiskur fyrst blóðgaður og látið blæða, og síðar slægður) – lifur fryst í landi.
- iii. Fiskur blóðgaður og slægður í einu skrefi – lifur fryst um borð.

Lifur af ísfiskstogara var flutt á ís til Matís þar sem henni var pakkað í plastpoka og fryst niður í -20 °C. Lifur frá frystitogara var blokkfryst um borð. Við komu til Matís var lifrablokkinn söguð niður í um það bil 500 gr. einingar og pakkað á sambærilegan hátt og lifur úr ísfiskstogara. Allir sýnahópar voru geymdir við -18 °C og -25 °C í allt að 6 mánuði. Þessu til viðbótar var gerð tilraun með að ensím meðhöndla lifur (af ísfiskstogara) fyrir frystingu með það að markmiði að fjarlægja himnuna. Notaður var alkalasi við meðhöndlunina.

Tafla 1. Yfirlit yfir sýnahópa af þorsklifur við mat á stöðugleika lifrar í frosti.

Árstími	Skip	Blæðing	Ensím meðhöndlun fyrir frystingu	Geymsluaðstæður
Apríl	Ísfiskstogari	Eitt skref	Nei	Við -18 °C & -25 °C í allt að 6 mánuði
		Tvö skref	Nei	
	Frystitogari	Eitt skref	Nei	
Júlí	Ísfiskstogari	Eitt skref	Já	
		Eitt skref	Nei	
	Frystitogari	Eitt skref	Nei	

3.2 Efnamælingar

Vatnsinnihald (g/100g) var metið út frá massatapi við þurrkun sýnis í fjórar klukkustundir við 105 °C (ISO, 1983). Fituúrdráttur var framkvæmdur skv. aðferð Bligh & Dyer (1959). Klóróformfasinn var notaður til þess að meta fituinnihald sýnanna, magn fosfólípíða, fitusýrusamsetningu, magn frírra fitusýra sem og til þess að ákvarða þriðjastigs myndefni þránunar.

3.3 Niðurbrot fitu

3.3.1 Fríar fitusýrur (FFS) - ensímvirkni

Fríar fitusýrur (g/100g af fitu) voru metnar samkvæmt aðferð Lowry & Tinsley (1976) með breytingum frá Bernardez *et al.* (2005). Styrkur FFS var reiknaður út frá staðalkúrfu af oleic sýru á styrkbilinu 2 - 22 $\mu\text{mól}$.

3.3.2 Peroxíð gildi (PV)

Fyrstastigs myndefni þránunar (peroxíðgildi, PV) var ákvarðað með ferric thiocyanate aðferð Santha & Decker (1994) með breytingum (Karlsdottir *et al.* 2014). Peroxíðgildi sýnanna (mmol PV/kg sýnis) var ákvarðað út frá staðalkúrfu af cumene hydroperoxides.

3.3.3 Thiobarbituric reactive substances (TBARS)

Til að mæla annarstigs myndefni þránunar (TBARS) var notuð aðferð Lemon (1975) með breytingum (Karlsdottir *et al.* 2014). TBARS gildi ($\mu\text{mol MDA/kg sýni}$) var ákvarðað út frá staðalkúrfu af tetraethoxypropane.

3.3.4 Anisidin gildi (AV)

Annarstigs myndefni þránunar var einnig metið samkvæmt IUPAC (1979) II.D.26 með því að mæla *p*-Anisidin gildi

3.4 Úrvinnsla gagna

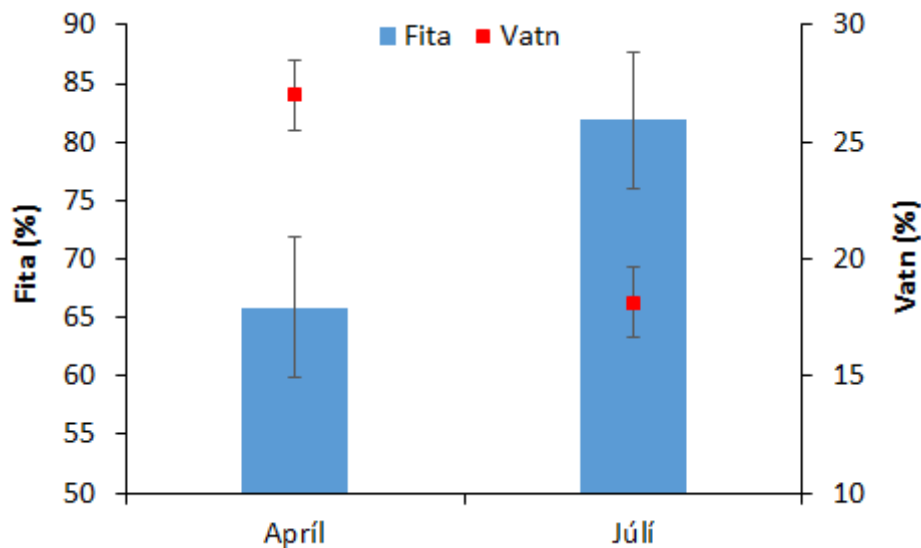
Tölfræðileg úrvinnsla var framkvæmd með Microsoft Excel 2010 og SigmaStat 3.5. ANOVA (one way variance analysis) ásamt samanburðarprófi Duncan's voru notuð til að meta marktækan mun á milli hópa. Í úrvinnslu var miðað við 95% öryggismörk ($p < 0,05$).

4 NIÐURSTÖÐUR

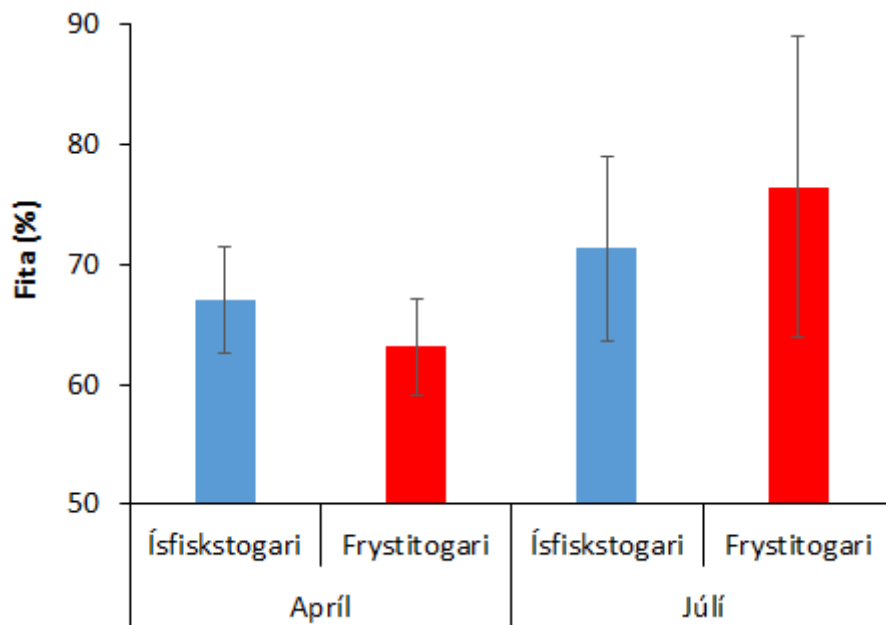
4.1 Fituinnihald

Mynd 3 sýnir meðal fitu- og vatnsinnihald í lifur úr þorski veiddum í apríl og júlí 2013. Greinilegur munur er á milli árstíða þar sem lifur frá júlí er með marktækt hærra fitumagn samanborið við lifur frá apríl. Áhugavert er einnig að bera saman fituinnihald lifra frá ísfiskstogara og frystitogara (Mynd 4).

Meiri munur sést á milli árstíða hjá lifur frá frystitogara samanborið við frá ísfiskstogara. Hérna getur spilað inn í á hvaða mið skipin eru að sækja, en frystitogarar sækja almennt mun lengra samanborið við ísfiskstogara.



Mynd 3. Fitu- og vatnsinnihald (%) í þorsklifur frá fiski veiddum í apríl og júlí 2013.



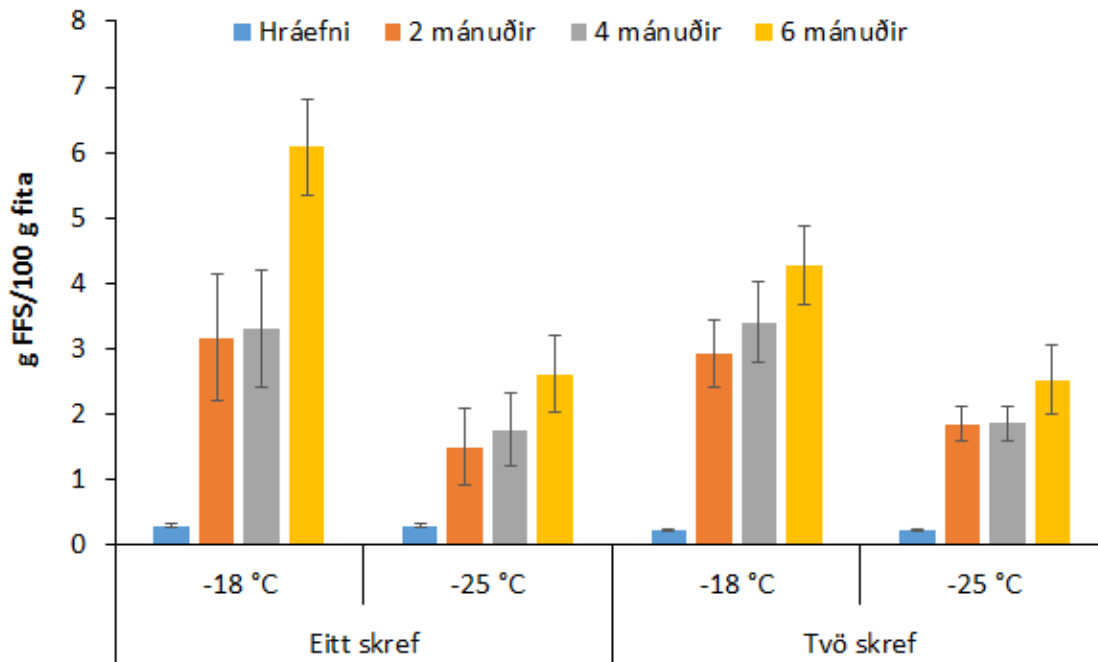
Mynd 4. Fitunnihald (%) í lifur frá ísfiskstogara (bláar súlur) og frystitogara (rauðar súlur) frá þorsk veiddum í apríl og júlí.

4.2 Fríar fitusýrur (FFS)

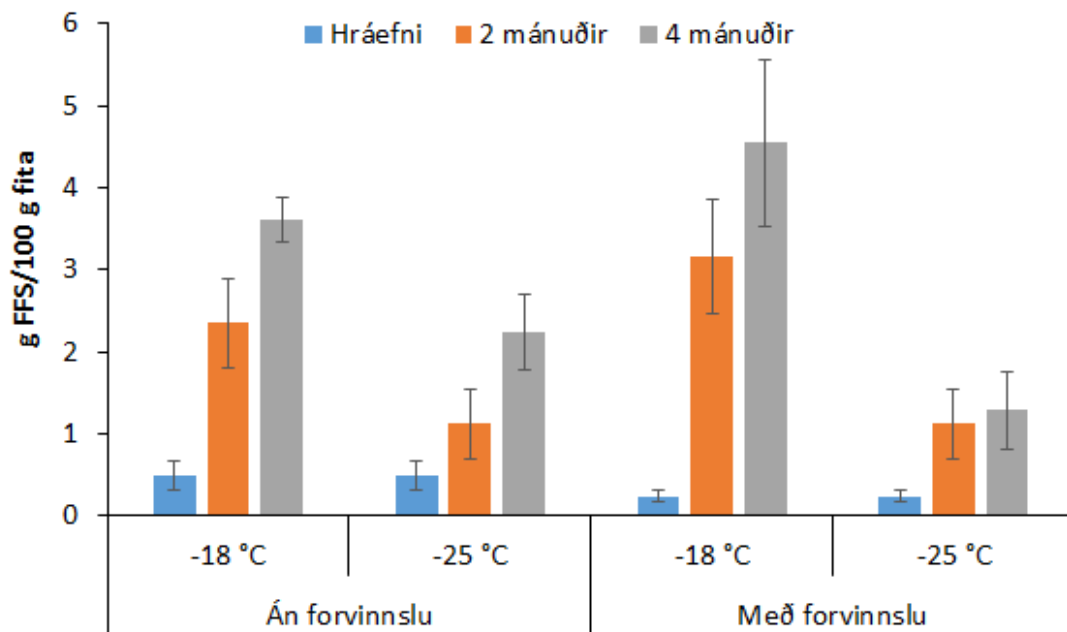
Magn frírra fitusýrur (FFS) var mælt til þess að meta ensímvirkni þorsklifranna. Mynd 5 sýnir þorsklifrar sem safnað var í apríl (ísfiskstogari) þar sem fiskurinn var blóðgaður á mismunandi hátt (1 skref vs. 2 skref), og geymd síðan við -18 °C og -25 °C í 6 mánuði. Áhrif hitastigs á ensímvirkni þessara lifra eru greinilega þar sem lifur geymd við -25 °C hafði marktækt minna magn FFS samanborið við lifur geymd við -18 °C. Áhrif blóðgunaraðferða voru almennt lítilsháttar hjá þessum sýnahópum. Aftur á móti má greina greinilegan mun hjá lifrum sem geymdar voru við -18 °C, þar sem lifur úr fiski sem var blóðgaður og slægður í tveimur skrefum hafði marktækt minni ensímvirkni eftir 6 mánaða geymslu samanborið við lifur úr fiski sem var blóðgaður og slægður í einu handtaki.

Mynd 6 sýnir þorsklifrar sem safnað var í júlí (ísfiskstogari; blóðgað í einu skrefi). Eftir löndun var lifrin fryst strax eða ensím meðhöndluð fyrir frystingu til þess að losa um himnuna og undirbúa lifrina fyrir niðursuðu. Svipað og fyrir apríl lifrina þá hafði geymsluhitastig marktæk áhrif á myndun FFS í júlí. Auk þessa þá hafði forvinnslan einnig áhrif á myndun FFS í lifur sem geymd var við -18 °C, en eftir 4 mánaða frostgeymslu hafði ensím meðhöndluð lifur marktækt hærra magn FFS samanborið við ómeðhandlaða lifur.

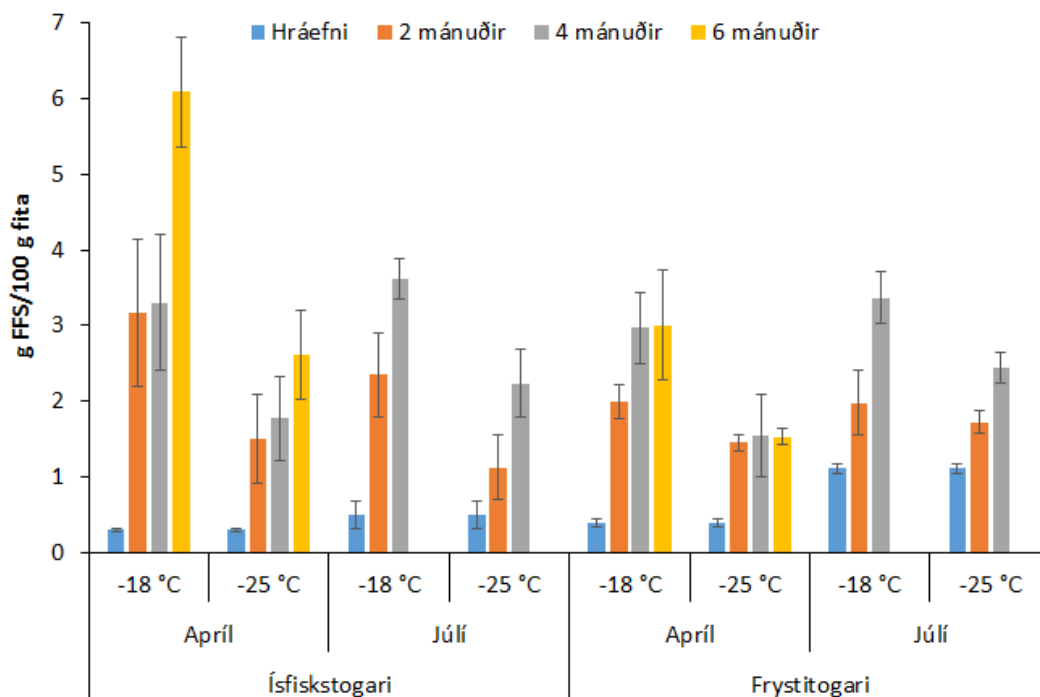
Mynd 7 sýnir samanburð á milli lifra safnað af ísfiskstogara og frystitogara (blóðgað í einu skrefi), sem og samanburð á milli árstíða og geymsluhitastigs. Munur á milli geymsluhitastigs var almennt meiri fyrir lifrar frá apríl samanborið við lifrar frá júlí, þar sem -25 °C varðveitti gæði þeirra marktækt betur. Einnig var áberandi munur á milli lifra í apríl frá ísfiskstogara og frystitogara þar sem frystitogara lifur var almennt stöðugri ef geymt við -18 °C. Munur á lifur frá ísfiskstogara og frystitogara var ekki afgerandi í júlí.



Mynd 5. Magn frírra fitusýra (g FFS/100 g fita) í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



Mynd 6. Magn frírra fitusýra (g FFS/100 g fita) í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



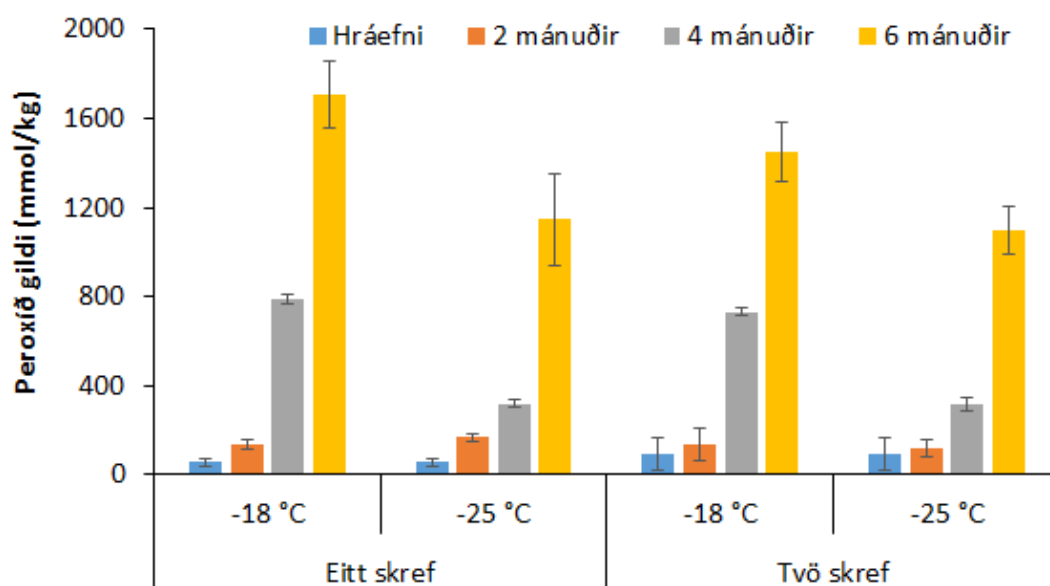
Mynd 7. Magn frírra fitusýra (g FFS/100 g fita) í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.

4.3 Peroxíð gildi

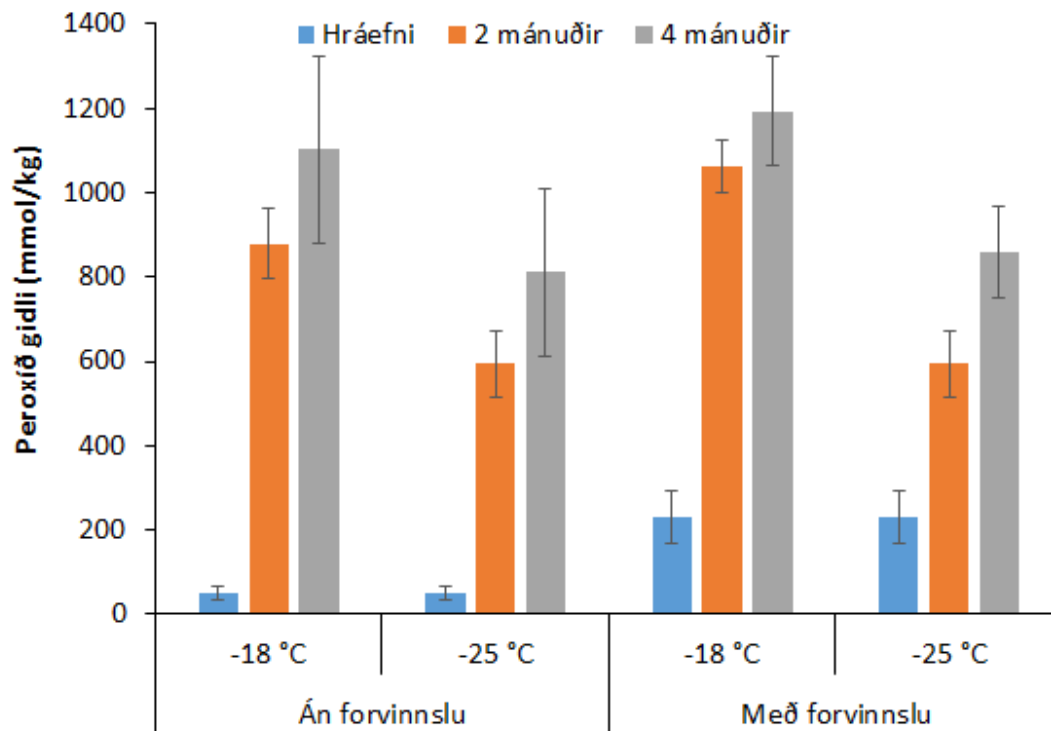
Lagt var mat á fyrstastigs myndefni þránunar með því að mæla peroxíð gildi (PV) lifranna. Mynd 8 sýnir þorsklifrar sem safnað var í apríl (ísfiskstogari) þar sem fiskurinn var blóðgaður á mismunandi hátt (1 skref vs. 2 skref), og geymd síðan við -18 °C og -25 °C í 6 mánuði. Áhrif hitastigs á peroxíð gildi þessara lifra eru greinilega þar sem lifur geymd við -25 °C hafði marktækt lægra PV samanborið við lifur geymd við -18 °C. Það að blóðga og slægja fiskinn í einu handtaki (eitt skref) og að blóðga fyrst og síðan slægja (tvö skref) hafði ekki marktæk áhrif á peroxíð gildi lifranna í þessari tilraun.

Mynd 9 sýnir þorsklifrar sem safnað var í júlí (ísfiskstogari; blóðgað í einu skrefi). Eftir löndun var lifrin fryst strax eða ensím meðhöndluð fyrir frystingu til þess að losa um himnuna og undirbúa lifrina fyrir niðursuðu. Svipað og fyrir apríl lifrina þá hafði geymsluhitastig marktæk áhrif á myndun fyrsta stigs myndefni þránunar. Áhrif forvinnslu hafði áhrif á peroxíð gildi lifranna fyrir frystingu, þar sem ensím meðhöndlaðar lifrar voru með marktækt hærra peroxíð gildi samanborið við ómeðhöndlaðar. Eftir frystingu og við geymslu var munurinn á milli sýnahópanna óverulegur.

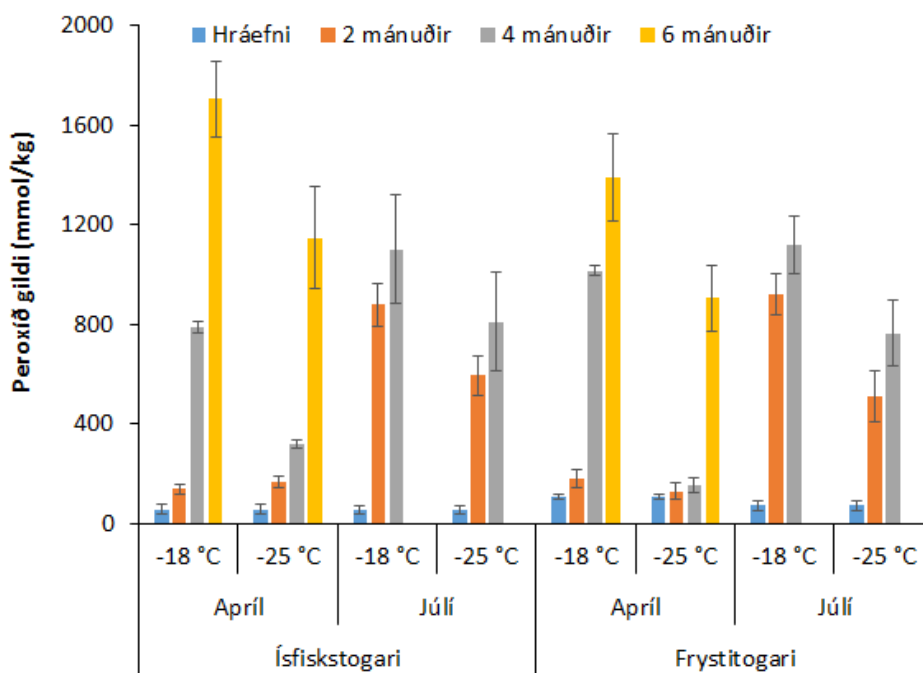
Mynd 10 sýnir samanburð á milli lifra safnað af ísfiskstogara og frystitogara (blóðgað í einu skrefi), sem og samanburð á milli árstíða og geymsluhitastigs. Ekki reyndist afgerandi munur á milli árstíma né tegund skips með tillit til peroxíð gildi lifranna.



Mynd 8. Peroxíð gildi (mmól/kg) í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



Mynd 9. Peroxíð gildi (mmól/kg) í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



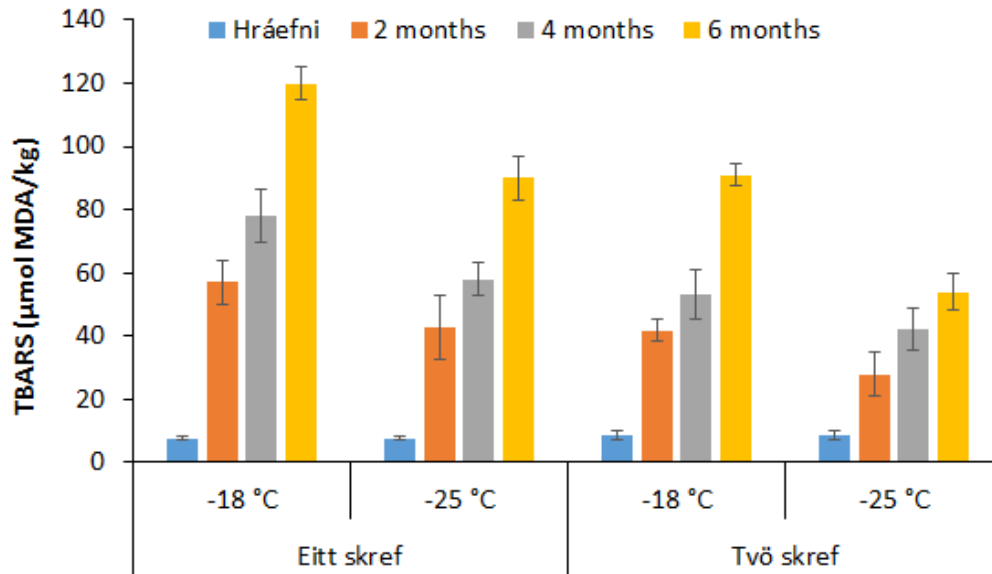
Mynd 10. Peroxíð gildi (mmól/kg) í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.

4.4 TBARS

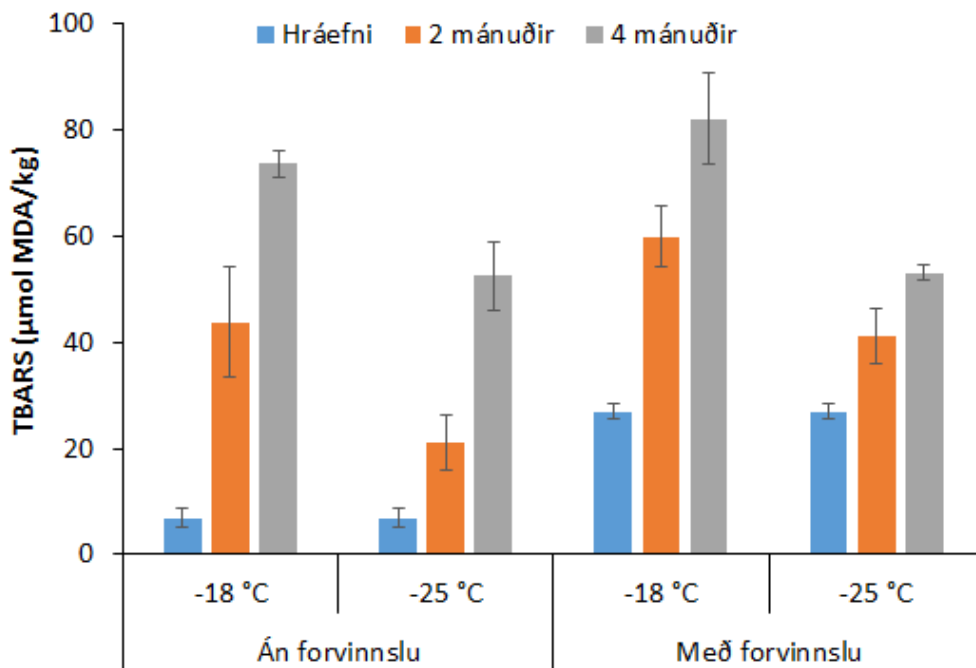
Lagt var mat á annars stigs myndefni þránunar með því að mæla TBARS (thiobarbituric reactive substances) lifranna. Mynd 11 sýnir þorsklifrar sem safnað var í apríl (ísfiskstogari) þar sem fiskurinn var blóðgaður á mismunandi hátt (1 skref vs. 2 skref), og geymd síðan við -18 °C og -25 °C í 6 mánuði. Áhrif hitastigs á TBARS gildi þessara lifra eru greinilega þar sem lifur geymd við -25 °C hafði marktækt lægra TBARS gildi samanborið við lifur geymd við -18 °C. Áhrif blóðgunaraðferða voru greinileg hjá þessum sýnahópum. Lifur úr fiski sem var blóðgaður og slægður í tveimur skrefum hafði marktækt minna TBARS gildi eftir 6 mánaða geymslu samanborið við lifur úr fiski sem var blóðgaður og slægður í einu handtaki.

Mynd 12 sýnir þorsklifrar sem safnað var í júlí (ísfiskstogari; blóðgað í einu skrefi). Eftir löndun var lifrin fryst strax eða ensím meðhöndluð fyrir frystingu til þess að losa um himnuna og undirbúa lifrina fyrir niðursuðu. Svipað og fyrir apríl lifrina þá hafði geymsluhitastig marktæk áhrif á myndun fyrsta stigs myndefni þránunar. Áhrif forvinnslu hafði sambærileg áhrif á TBARS gildi lifranna fyrir frystingu eins og á peroxíð gildi, þar sem ensím meðhöndlaðar lifrar voru með marktækt hærra TBARS gildi samanborið við ómeðhöndlaðar. Eftir frystingu og við geymslu var munurinn á milli sýnahópanna óverulegur.

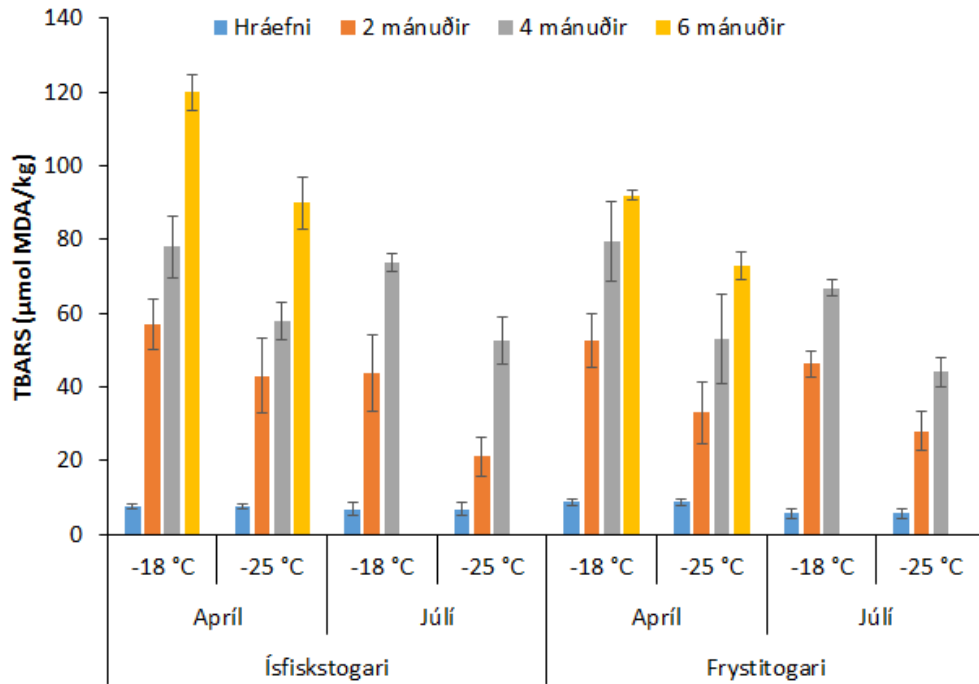
Mynd 13 sýnir samanburð á milli lifra safnað af ísfiskstogara og frystitogara (blóðgað í einu skrefi), sem og samanburð á milli árstíða og geymsluhitastigs. Ekki reyndist afgerandi munur á milli árstíma með tillit til TBARS gildi lifranna. Aftur á móti sést greinilegur munur á milli lifra í apríl frá ísfiskstogara og frystitogara þar sem frystitogara lifur var almennt stöðugri. Munur á lifur frá ísfiskstogara og frystitogara var ekki afgerandi í júlí.



Mynd 11. Thiobarbituric reactive substances (TBARS; $\mu\text{mol MDA/kg}$) í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



Mynd 12. Thiobarbituric reactive substances (TBARS; $\mu\text{mol MDA/kg}$) í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



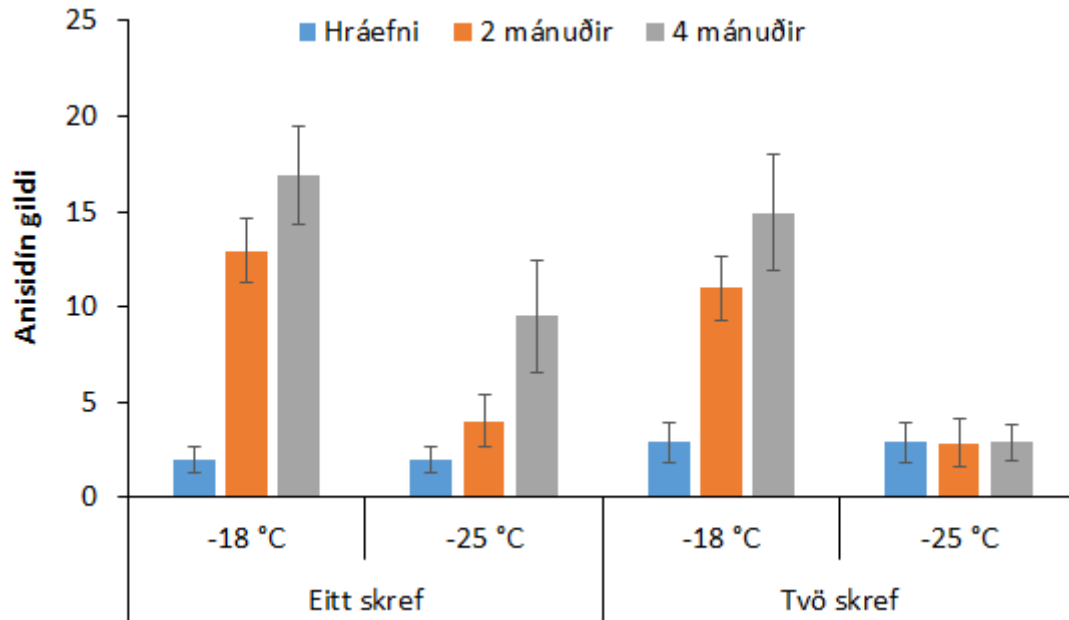
Mynd 13. Thiobarbituric reactive substances (TBARS; $\mu\text{mol MDA/kg}$) í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrinn var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C .

4.5 Anisidín gildi

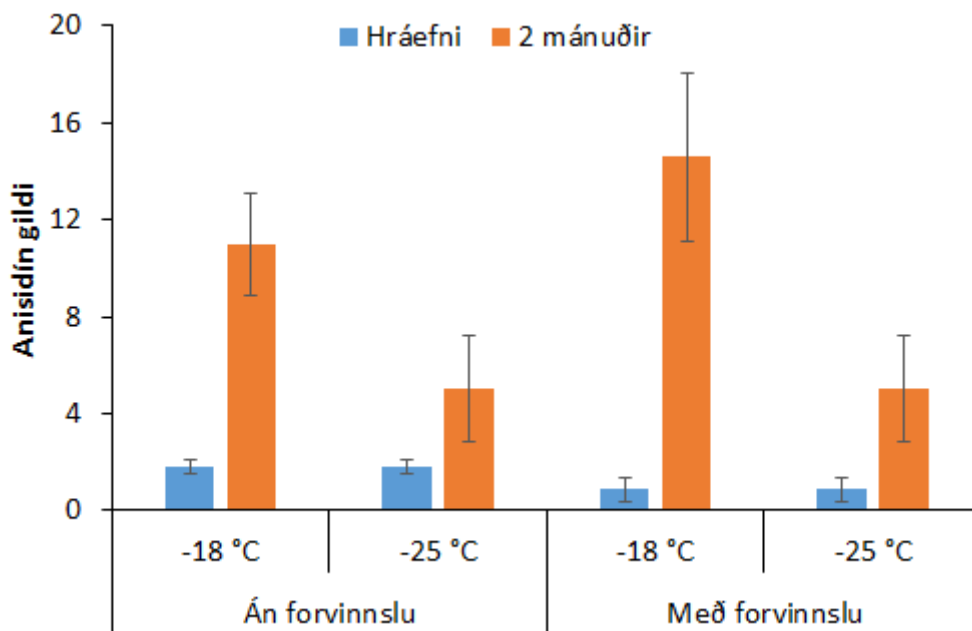
Einnig var lagt var mat á annars stigs myndefni þránunar með því að mæla Anisidín gildi lifranna. Mynd 14 sýnir þorsklifrar sem safnað var í apríl (ísfiskstogari) þar sem fiskurinn var blóðgaður á mismunandi hátt (1 skref vs. 2 skref), og geymd síðan við -18 °C og -25 °C í 6 mánuði. Áhrif hitastigs á Anisidín gildi þessara lifra eru greinilega þar sem lifur geymd við -25 °C hafði marktækt lægra Anisidín gildi samanborið við lifur geymd við -18 °C . Áhrif blóðgunaraðferða voru greinileg hjá þeim sýnahópum sem geymd voru við -25 °C . Lifur úr fiski sem var blóðgaður og slægður í tveimur skrefum hafði marktækt minna Anisidín gildi eftir 4 mánaða geymslu samanborið við lifur úr fiski sem var blóðgaður og slægður í einu handtaki.

Mynd 15 sýnir þorsklifrar sem safnað var í júlí (ísfiskstogari; blóðgað í einu skrefi). Eftir löndun var lifrin fryst strax eða ensím meðhöndluð fyrir frystingu til þess að losa um himnuna og undirbúa lifrina fyrir niðursuðu. Svipað og fyrir apríl lifrina þá hafði geymsluhitastig marktæk áhrif á Anisidín gildi lifranna. Forvinnslan hafði ekki marktæk áhrif á Anisidín gildi lifranna.

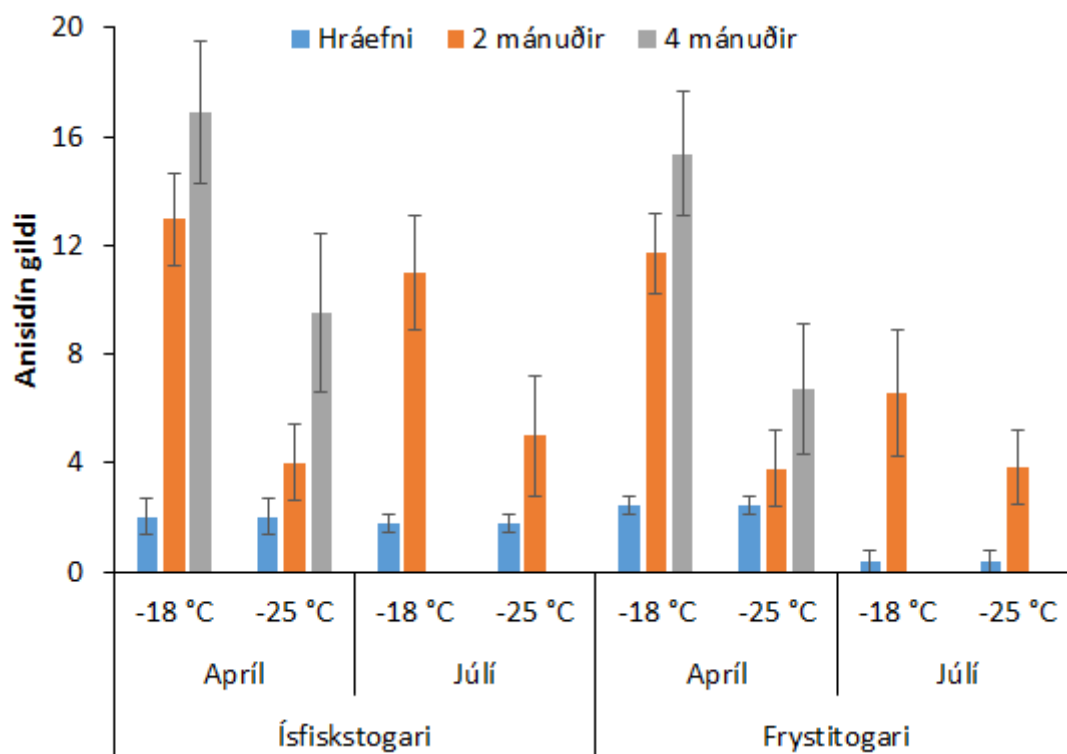
Mynd 16 sýnir samanburð á milli lifra safnað af ísfiskstogara og frystitogara (blóðgað í einu skrefi), sem og samanburð á milli árstíða og geymsluhitastigs. Ekki reyndist afgerandi munur á milli árstíma né tegund skips með tillit til Anisidín gildi lifranna.



Mynd 14. Anisidín gildi í þorsklifur veidd í apríl. Fiskurinn var annars vegar blóðgaður og slægður samdægurs (eitt skref) og hins vegar blóðgaður og blæddur fyrir slægingu (tvö skref). Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



Mynd 15. Anisidín gildi í þorsklifur veidd í júlí. Fyrir frystingu var lifrin ensím meðhöndluð til þess að fjarlægja himnu lifrarinnar (Með forvinnslu). Til samanburðar var lifur sem fékk enga forvinnslu fyrir frystingu. Lifrin var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 4 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.



Mynd 16. Anisidín gildi í þorsklifur veidd í apríl og júlí af ísfiskstogara og frystitogara. Fiskurinn var blóðgaður í einu skrefi. Lifrinn var greind fersk (hráefni) og síðan eftir allt að 6 mánaða geymslu við -18 °C og -25 °C.

4.6 Fylgnimælingar

Framkvæmdar voru fylgnimælingar til þess að leggja mat á samband mismunandi breyta (tilraunabreytur og mælibreytur) sem voru metnar í tilrauninni (Tafla 2). Almennt var marktæk fylgni á milli mælibreytanna (peroxíð gildi, TBARS gildi, anisidín gildi og fríar fitusýrur). Af tilraunabreytunum þá var samband þeirra við mældar breytur eftirfarandi:

- Árstími sýndi eingöngu jákvæða fylgni við fituinnihald lifranna ($p < 0,05$) sem undirstrikar frekar árstíðarbreytileika á milli lifranna.
- Tegund skips, blóðgunaraðferð og forvinnsla fyrir frystingu sýndi enga marktæka fylgni við mældar breytur.
- Eins og við var að búast þá fékkst almennt góð fylgni milli mældra breyta og geymslutíma sem og geymsluhitastigs.

Tafla 2. Fylgni (*Pearson correlation*) milli mismunandi tilraunabreyta og mælinga sem voru skoðaðir í tilraununum. p-gildi er sýnt skáletrað og í sviga undir hverjum fylgnistuðul.

	Tími	Blóðgun	Skip	Forvinnsla	Hitastig	PV	TBARS	Fita	FFS	AV
Árstími	-0,265 (0,119)	-0,415 (0,012)	0,000 (1,000)	0,475 (0,003)	0,070 (0,684)	0,146 (0,397)	-0,217 (0,203)	0,385 (0,020)	-0,106 (0,540)	-0,241 (0,256)
Tími		0,110 0,523	0,000 (1,000)	-0,126 (0,465)	-0,651 (0,000)	0,774 (0,000)	0,863 (0,000)	-0,568 (0,000)	0,671 (0,000)	0,645 (0,001)
Blóðgun			-0,347 (0,038)	-0,197 (0,249)	-0,029 (0,866)	-0,076 (0,661)	-0,090 (0,603)	0,003 (0,988)	0,089 (0,606)	-0,011 (0,959)
Skip				-0,284 (0,093)	0,000 (1,000)	-0,047 (0,788)	-0,049 (0,776)	0,012 (0,947)	-0,137 (0,427)	-0,097 (0,653)
Forvinnsla					0,033 (0,847)	0,129 (0,453)	0,033 (0,849)	-0,033 (0,847)	-0,040 (0,818)	-0,016 (0,941)
Hitastig						-0,346 (0,039)	-0,476 (0,003)	0,386 (0,020)	-0,357 (0,033)	-0,362 (0,082)
PV							0,828 (0,000)	-0,340 (0,042)	0,750 (0,000)	0,631 (0,001)
TBARS								-0,475 (0,003)	0,848 (0,000)	0,860 (0,000)
Fita									-0,321 (0,057)	-0,372 (0,074)
FFS										0,887 (0,000)

5 ÁLYKTANIR

Í þessari rannsókn var lagt mat á áhrif árstíma, blæðingaraðferða og geymsluhitastigs á gæði og stöðugleika frosinna þorsklifra. Þessu til viðbótar var rannsakað hvort ensím meðhöndlun fyrir frystingu, með það að markmiði að fjarlægja himnu sem þekur yfirborð lifrar, hafi áhrif á stöðugleika lifranna í frosti.

Árstími hafði marktæk áhrif á efnasamsetningu og ensímvirkni lifranna. Það endurspegladist í hærra fituinnihaldi og hærra magni af fríum fitusýrum í lifur sem safnað var í júlí samanborið við lifur frá apríl. Stöðugleiki í frosti var einnig breytilegur eftir árstíma þar sem lifur frá júlí var viðkvæmari gagnvart myndun peroxíðs (fyrstastigs myndefni þránunar). Þessi breytileiki er m.a. vegna þess að í apríl er fiskurinn að koma úr hrygningu auk þess sem forði hans er lítill eftir veturinn. Aftur á móti í júlí er fiskurinn í miklu æti þar sem hann er að safna forða fyrir komandi vetur.

Mismunandi blóðgunaraðferðir (blóðgun og slæging í einu handtaki (eitt skref) og að blóðga fyrst og slægja svo (tvö skref)) höfðu almennt lítil áhrif á efnasamsetningu og ensímvirkni lifranna. Blóðgunaraðferðirnar höfðu aftur á móti marktæk áhrif á myndun annarstigs myndefni þránunar (TBARS og Anisidín gildi) við frostgeymslu þar sem lifur frá fiski blóðgaður í 2 skrefum var minna þrá samanborið við lifur frá fiski blóðgaður í einu skrefi. Þekkt er að innihaldsefni blóðs, s.s. hemóglóbín og járn, eru miklir hvatar þránunar. Þessar niðurstöður gefa til kynna meiri blóðtæmingu ef fiskurinn er blóðgaður áður en hann er slægður.

Geymsluhitastig og tími höfðu afgerandi áhrif á stöðugleika lifranna í frosti. Út frá fyrirbyggjandi niðurstöðum er ráðlagt að geyma frosna lifur við -25 °C heldur en -18 °C til þess að hægja á skemmdarferlum.

6 ÞAKKARORÐ

Höfundar skýrslunnar þakka AVS rannsóknarsjóði í sjávarútvegi (R 079-13) fyrir veittan styrk til verkefnisins. Fyrirtækum sem tóku þátt í þessu verkefni er sérstaklega þakkað fyrir þeirra framlag.

7 HEIMILDIR

- Bernardez, M., L. Pastoriza, G. Sampedro, J. J. R. Herrera and M. L. Cabo (2005). "Modified method for the analysis of free fatty acids in fish." J. Agric. Food Chem. **53**: 1903-1906.
- Bilinski, E., R. E. F. Jonas and M. D. Peters (1981). "Treatment affecting the degradation of lipids in frozen Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*)." Canadian Institute of Food Science and Technology Journal **14**: 123-127.
- Bligh, E. G. and W. J. Dyer (1959). "A rapid method of total extraction and purification." Can. J. Biochem. Physiol. **37**: 911-917.
- Deshpande, S. S., U. S. Deshpande and D. K. Salunkhe (1996). Nutritional and aspects of food antioxidants. Food antioxidants. Technological, toxicological, and health perspectives. S. S. Madhavi, D. K. Deshpande and D. K. Salunkhe. New York, Marcel Dekker: 361-470.
- Gudmundsson, J. and P. Olafsson (1973). "Árstíðarbreytingar á lýsismagni þorsklifrar/Seasonal changes of amount oil in cod liver." Rannsóknarstofnun fiskiðnaðarins, Skúlagötu 4, 121 Reykjavík.
- Jonsdóttir, R., K. A. Thorarinsdóttir and S. Arason (2002). Variation in fat content and fatty acids composition of liver and viscera from different cod species. Conference presentation at "Lipidforum". Trondheim, Norway.
- Karlsdóttir, M., S. Arason, K. Thorarinsdóttir, M. Van Nguyen and H. Kristinsson (2015). "Lipid degradation of cod liver during frozen storage as influenced by temperature, packaging method and seasonal variation." Journal of Aquatic Food Product Technology: Doi: 10.1080/10498850.10492014.10932315.
- Karlsdóttir, M. G., K. Sveinsdóttir, H. G. Kristinsson, D. Villot, B. D. Craft and S. Arason (2014). "Effects of temperature during frozen storage on lipid deterioration of saithe (*Pollachius virens*) and hoki (*Macruronus novaezelandiae*) muscles." Food Chemistry **156**(0): 234-242.
- Lemon, D. W. (1975). "An improved TBA test for rancidity." New Series Circular No. 51, Halifax Laboratory, Halifax, Nova Scotia.
- Lowry, R. and I. Tinsley (1976). "Rapid colorimetric determination of free fatty acids." JAOCS **53**: 470-472.
- Malone, C., N. B. Shaw and J. P. Kerry (2004). "Effect of Season on Vitamin E, Fatty Acid Profile, and Nutritional Value of Fish By-Products from Cod, Saithe, Ling and Haddock Species Caught in Southern Irish Coastal Waters." Journal of Aquatic Food Product Technology **13**(3): 127-149.
- Olcott, H. S. (1962). Oxidation of fish lipids. Fish in nutrition. E. Heen and R. Kreuzer. London, Fishing News (Books): 112-116.
- Rustad, T., M. Aursand, S. Arason, N. B. Shaw, K. Pommer, H. van de Vis and J. P. Berge (2004). "Óbirt skýrsla til Evrópusambandsins."
- Santha, N. C. and E. A. Decker (1994). "Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids." Association of Official Analytical Chemists International **77**: 421-424.
- Vaskovsky, V. E. (1989). Phospholipids. Marine biogenic lipids, fats and oils. R. G. Ackman. Boca Raton, CRC Press: 199-242.