



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2017 30 stp
Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (KBM)

Faktorer som kan ha innvirkning på lipidoksidasjon i margarin

Factors that may affect lipid oxidation in margarine

Aurora Østberg Olsen
Matvitenskap – Produksjon og utvikling av næringsmidler

Forord

Denne oppgaven har vært en del av masterstudiet i matvitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (KBM). Arbeidet har hovedsakelig blitt utført på Mills DA i Fredrikstad i perioden desember 2016 til mai 2017.

Jeg ønsker aller først å takke min hovedveileder, Paula Varela for god støtte og oppfølging underveis i oppgaven. Bjørg Egelanddal har vært biveileder, takk for at du har delt din uvurderlige kompetanse og pekt meg i rett retning. Jeg ønsker også å takke min eksterne veileder ved Mills DA, Kirsti Forstrøm Christiansen, for at du har bidratt med bred kompetanse, god oppfølging og delt din faglige interesse for margarin.

Jeg ønsker samtidig å rekke en stor takk til andre bidragsyttere, oppgaven ville ikke vært den samme uten! Takk til Mills DA for at dere har ønsket meg velkommen og gitt meg et interessant innblikk i en spennende del av industrien. En spesiell takk rettes til laboranter, laboratorieingeniører, prosjektingeniører, operatører og produktutviklere som har svart på alle mine spørsmål, deres bidrag er uvurderlig. Jeg ønsker også å takke Eurofins, Nofima og DuPont for bidrag til utførelse av analyser det ikke var mulig å utføre ved NMBU eller Mills, det har gitt meg muligheten til å vurdere lipidoksidasjon fra flere vinkler. En spesiell takk rettes til Jens-Petter Wold, Margrethe Hersleth og Gjermund Vogt for deres faglige bidrag og/eller gjennomlesning.

Jeg ønsker også å takke familie, kjæreste og venner for all støtte og oppmuntring. Jeg har satt stor pris på at dere har vært en tålmodig heiagjeng.

Fredrikstad, 11. mai 2017

Aurora Østberg Olsen

Sammendrag

Margarin og andre matvarer med et høyt innhold av flerumettede fettsyrer er utsatt for lipidoksidasjon og vil gi harsk smak, som anses å være en alvorlig kvalitetsfeil, både sensorisk og ernæringsmessig. Holdbarheten til margarin begrenses av lipidoksidasjon, i motsetning til en del matvarer hvor mikrobiologisk vekst er den begrensende faktoren. Lipidoksidasjon i emulsjonssystemer er kompleks og reaksjonsmekanismene for lipidoksidasjon er fremdeles ikke helt forstått, på tross av omfattende forskning siden begynnelsen av det 20. århundre.

Denne masteroppgaven studerte den oksidative stabiliteten hos ni margariner ved hjelp av kjemiske og sensoriske analyser, og var et samarbeid med Mills DA. Fokuset var rettet mot mulige faktorer som kan ha innvirkning på lipidoksidasjon i margarin, som melk, salt, prosessbetingelser eller vanndråpestørrelse. Forsøksdesignet var basert på tre av Mills DA sine kommersielle margariner, hvor innhold av melk, salt og lecitin er ulikt. Disse tre margariner ble fremstilt i pilotskala, i tillegg til tre varianter hvor melk enten ble erstattet med vann eller vann ble erstattet med melk. Prøvene ble lagret ved ulike temperaturer, og analysene ble utført ved ulike stadier i holdbarhetsløpet. Et trent sensorisk panel vurderte de seks pilotprøvene, og dette ble sammenlignet med andre analyser som måler oksidasjon; peroksid-, anisidin-, TBA-verdi, GC-MS og fluorescens spektroskopi.

Resultatene viste at en av margarinprøvene skilte seg klart ut fra de andre med langt høyere verdier for harsk smak og andre oksidasjonsverdier målt ved flere av de andre analysene. Den prøven inneholdt verken melk eller lecitin, men natriumklorid. Det ble produsert en lignende margarin hvor melk ble tilsatt, denne viste signifikant lavere verdier på oksidasjonsanalysene. En annen margarin inneholdt heller ikke melk, men salt og lecitin, denne var også signifikant mindre harsk. Margarinprøvene som inneholdt lecitin og/eller melk var langt mindre oksidert enn prøven som inneholdt hverken av de to råvarene. Basert på denne oppgaven ser det derfor ut til at lecitin og/eller melk(e)proteiner har positiv innvirkning på margariners oksidative stabilitet, enten fordi de fungerer som synergist og fremmer annen antioksidativ aktivitet eller påvirker grenseflateområdet i en positiv retning.

Abstract

Margarines and other foods with a high content of polyunsaturated fatty acids are prone to lipid oxidation, which is considered a serious quality defect from a sensory and nutritional point of view. An oxidatively stable margarine is considerably more economical in terms of shelf life, and will consequently taste better. Despite extensive research since the beginning of the 20th century, lipid oxidation in emulsion systems is complex and the reaction mechanisms for lipid oxidation are still not fully understood.

This master thesis studied the oxidative stability of nine margarines using chemical and sensory analyzes, and was a collaboration with Mills DA. The focus was directed to explore the factors that may affect lipid oxidation in margarine, such as milk, salt, process conditions or water droplet size. The experimental design was based on three of Mills DA's commercial margarines, where the content of milk, salt and lecithin content were different. These three margarines were made in pilot scale, in addition to three variants where milk was either replaced with water or water was replaced with milk. The samples were stored at different temperatures, and the analyzes were performed at different stages of the shelf life. A trained sensory panel assessed the six pilot samples, and this was compared with other analyses that measure oxidation; Peroxide value, anisidine value, TBA value, GC-MS and fluorescence spectroscopy.

The results showed that one of the margarine samples was significantly different from the others with far higher values for rancid taste and other oxidation values as measured by several of the other analyses. That sample did not contain milk or lecithin, but did contain sodium chloride. A similar margarine was produced, where milk was added, and this showed significantly lower values of oxidation. Another margarine did not contain milk, but salt and lecithin, and this was also significantly less rancid. The margarine samples containing lecithin and/or milk were far less oxidized than the sample containing neither of the two raw materials. Based on this thesis, lecithin and/or milk(proteins) therefore appear to have a positive impact on the oxidative stability in margarine, either because they act as synergist and promote other antioxidative activity or because they affect the interface area in a positive way.

Innhold

Forord	iii
Sammendrag	iv
Abstract	v
1 Innledning	1
2 Teori	2
2.1 Margarin	2
2.1.1 Emulsjon	2
2.1.2 Margarinens sammensetning	3
2.1.3 Krystallisering	9
2.1.4 Generell fremstilling av margarin	10
2.2 Lipidkjemi og -oksidasjon	13
2.2.1 Lipidkjemi	13
2.2.2 Lipidoksidasjon i fett og oljer	20
2.2.3 Lipidoksidasjon i emulsjoner	21
2.2.4 Antioksidanter	23
2.3 Sensorisk analyse	23
2.3.1 Kvantitativ beskrivende analyse	25
2.3.2 Partest	25
2.4 Analytiske metoder	26
2.4.1 Mikrobiologisk kontroll	26
2.4.2 Andel fast fett	27
2.4.3 Vanndråpestørrelse og -fordeling	28
2.4.4 TBA-verdi	29
2.4.5 Peroksidverdi	29
2.4.6 Anisidinverdi	29
2.4.7 TOTOX verdi	30
2.4.8 Gasskromatografi-massespektrometri	30
2.5 Statistiske analyser	31
3 Materialer	33
3.1 Forsøksdesign	33
3.2 Resepter og næringsinnhold	35
3.3 Fremstilling av margarin	37
3.3.1 Pilotproduksjon	37
3.3.2 Uttak fra produksjonslinjer	38
4 Metoder	38
4.1 Standard kvalitetskontroll	38
4.1.1 Vanninnhold	38
4.1.2 Saltinnhold	39
4.1.3 Brytningsindeks	39
4.1.4 Mikrobiologisk kontroll	40
4.1.5 Teksturanalyse	41
4.1.6 Steketest	42

4.1.7	Andel fast fett (Nuclear magnetic resonance, NMR).....	43
4.1.8	Sensorisk kvalitetskontroll	43
4.2	Vanndråpestørrelse og -fordeling	45
4.2.1	Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM).....	45
4.2.2	Nuclear magnetic resonance (NMR).....	45
4.3	Fluorescensspektroskopi.....	45
4.4	Kvantitativ beskrivende analyse	46
4.5	Kjemiske analyser for måling av lipidoksidasjon.....	48
4.5.1	Thiobarbitursyre (TBA)	48
4.5.2	Peroksidverdi.....	50
4.5.3	Anisidinverdi.....	50
4.5.4	TOTOX verdi	51
4.6	Gasskromatografi-massespektrometri	51
4.7	Databearbeiding og statistiske analyser.....	51
5	Resultater.....	52
5.1	Standard kvalitetskontroll.....	52
5.1.1	Vanninnhold, saltinnhold og brytningsindeks.....	52
5.1.2	Mikrobiologisk kontroll	52
5.1.3	Steke- og reologiske egenskaper	53
5.1.4	Andel fast fett (SFC)	54
5.1.5	Sensorisk kvalitetskontroll	55
5.2	Vanndråpestørrelse og -fordeling	58
5.2.1	Nuclear magnetic resonance (NMR).....	58
5.2.2	Confocal laserscanning microscopy (CLSM)	58
5.3	Fluorescensspektroskopi.....	59
5.4	Kvantitativ beskrivende analyse (QDA).....	61
5.5	Kjemiske analyser.....	68
5.5.1	TBAR	68
5.5.2	PV, AV og TOTOX	70
5.6	Gasskromatografi-massespektrometri	73
5.7	Korrelasjonsanalyse.....	74
6	Diskusjon.....	80
6.1	Standard kvalitetskontroll.....	80
6.2	Vanndråpestørrelse og -fordeling	82
6.3	Fluorescensspektroskopi.....	83
6.4	Kvantitativ beskrivende analyse	83
6.5	Kjemiske analyser for måling av lipidoksidasjon.....	85
6.5.1	TBA	85
6.5.2	Peroksid-, anisidin- og TOTOX verdi.....	85
6.6	Gasskromatografi-massespektrometri	87
6.7	Korrelasjon	88
6.8	Faktorer som kan ha innvirkning på den oksidative stabiliteten	90
6.8.1	Råvarekvalitet.....	91
6.8.2	Prosessbetingelser og produksjonsbetingelser	91

6.8.3	Salt og spormetaller	92
6.8.4	Lecitin og fosfolipider	94
6.8.5	Proteiner	95
6.8.6	Antioksidanter	96
6.9	Videre arbeid	98
6.10	Konklusjon.....	99
7	Referanser.....	100
8	Vedlegg	I
	Vedlegg 1: Produktdatablad for salt	I
	Vedlegg 2: Produktdatablad for skummet melk	II
	Vedlegg 3: Bedømmelsesskjema for sensorisk vurdering på Mills DA.....	III
	Vedlegg 4: Nomenklatur benyttet ved karaktersetting av margarinprøver på Mills DA	IV
	Vedlegg 5: Utregning og rådata for TBA verdier.....	V
	Vedlegg 6: Metodebeskrivelse for peroksidtall.....	VIII
	Vedlegg 7: Metodebeskrivelse for peroksidtall.....	XI
	Vedlegg 8: Metodebeskrivelse for dynamisk headspace gasskromatografi- massespektrometri	XVI
	Vedlegg 9: Egenskapsforklaring benyttet ved kvantitativ beskrivende analyse	XVII
	Vedlegg 10: Bedømmelsesskjema brukt i kvantitativ beskrivende analyse.....	XX
	Vedlegg 11: Rådata fra statistiske analyser	XXI
	Vedlegg 12: Metodebeskrivelse for Vanndråpestørrelsefordeling (p-NMR).....	XXIV
	Vedlegg 13: Metodebeskrivelse for Confocal laser scanning microscopy (CLSM)	XXVII

1 Innledning

Margarin ble i sin tid oppfunnet som et rimeligere alternativ til smør (Freeman & Melnikov 2005). Med tiden har margarin blitt et svært vanlig produkt i det norske hjem med bruksområder som på brødsdiven, til steking og baking. Til forskjell fra smør er margarin stort sett produsert med vegetabiliske oljer, og med en langt større andel flerumettede fettsyrer er margarin mer utsatt for lipidoksidasjon (Hu & Jacobsen 2016).

Mange matvarer inneholder lipider, eksempelvis kjøtt, meieriprodukter og margarin. Lipidoksidasjon er en av de viktigste mekanismene for nedbrytning av mat som inneholder fett og oljer, og er en vesentlig kvalitetsparameter med hensyn på holdbarhet av slike produkter. Lipidoksidasjon er en alvorlig kvalitetsfeil som har negativ innvirkning på produktets sensoriske kvalitet, og kan i tillegg redusere produktets ernæringsmessige kvalitet ved at sekundære nedbrytningsprodukter dannes (Frankel 2014).

Fokuset i denne oppgaven er rettet mot lipidoksidasjon i margarin og hvorvidt faktorer som tilsetning av melk, salt, ulike emulgatorer og prosessbetingelser vil ha innvirkning på produktets kvalitet. Den oksidative stabiliteten til matvarer som inneholder fett og oljer er avgjørende for å utvikle vellykkede matvarer som står til forbrukernes forventninger med hensyn på ernæring, utseende, smak, tekstur og aroma (Hu & Jacobsen 2016). En oksidativ stabil margarin er hensiktsmessig for å oppnå produkter med høy kvalitet og god holdbarhet.

Formålet med oppgaven er å utforske mulige faktorer som kan ha innvirkning på lipidoksidasjon i margarin. Oppgaven er utarbeidet i samarbeid Mills DA, og følgende hypoteser ble utarbeidet i planleggingsfasen av oppgaven:

- Tilsetning av melk forsinket eller hemmer utvikling av lipidoksidasjon.
- Melk endrer strukturen i emulsjonen og forbedrer dermed den oksidative stabiliteten.
- Melk kamuflerer nedbrytningsprodukter fra lipidoksidasjon som kan avgi smak.
- Det finnes forbedringspunkter i produksjonsmønsteret.

Opgaven har som formål å undersøke hvorvidt disse hypotesene kan forkastes eller bekreftes ved hjelp av ulike analyser for å måle lipidoksidasjon, analyser av vannråpestørrelse- og fordeling og en vurdering av nåværende produksjonsmønster.

2 Teori

2.1 Margarin

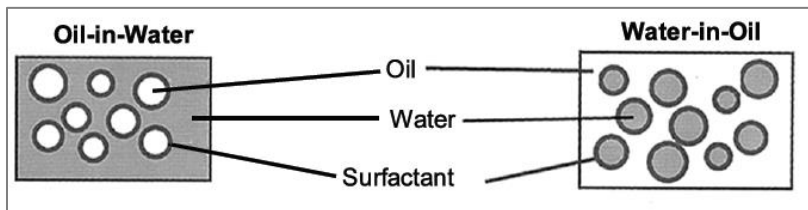
Margarin er en vann-i-olje emulsjon, hvor vanndråper er fordelt i olje ved hjelp av emulgatorer som lecitin og monoglyserider. Margarin ble oppfunnet i 1869, da den franske keiseren Napoleon III tok initiativ til utviklingen av en erstatning for smør. Produktet skulle være mer egnet for forsvaret og mennesker med lav inntekt, og skulle være et rimelig alternativ med god smak som ikke harsknet. Prisen gikk til den franske kjemikeren Hippolyte Mège-Mouriès for hans utvikling av produktet margarin. Han forsøkte å etterligne smør ved å anvende melk, opphakkete vev fra jur og den lavtsmeltende delen av talg fra ku. Han patenterte prosessen, og solgte den videre til to nederlandske smørselgere. De videreutviklet margarin og bygde de første margarinfabrikkene (Kovács et al. 2014). Siden 1869 har margarin videreutviklet seg på mange vis. Det animalske fettet har blitt erstattet med vegetabilsk fett, og det har blitt utviklet flere typer margarin med ulike bruksområder. Steke- og bakemargarin inneholder eksempelvis 80 % fett, mens en bordmargarin og lett-margarin inneholder følgelig 70 % og 40 % fett.

Margarinens bruksområder vil for mange forbrukere være svært lik eller tilsvarende som smør. En av de største forskjellene mellom margarin og smør er fettkilden. Margarin blir produsert med vegetabiliske fettkilder, mens smør blir produsert med animalsk fett. Forbrukt mengde margarin og annet vegetabilsk fett har sunket fra 9,4 kg per person i Norge i 2002 til 5,8 kg per person i 2012. Til sammenligning har mengden smør i samme periode økt fra 0,9 kg per person til 2,6 kg per person (SSB 2012). Margarin inneholder mer flerumettet fett enn smør, som har et høyt innhold av mettet fett. Kroppen kan ikke produsere linolsyre (omega-6 fettsyrer) og linolensyre (omega-3 fettsyrer) selv, og er avhengig av at dette tilføres via kosten for å unngå mangelsykdommer. Helsedirektoratet skriver i sin kosthåndbok fra 2012 at «Innholdet av mettet fett i kostholdet bør begrenses, og økningen bør hovedsakelig bestå av umettede fettsyrer». I sine næringsstoffanbefalinger skriver de at «Matoljer, flytende og myk margarin er gode kilder for flerumettede fettsyrer. Fet fisk og matoljer som rapsolje bidrar med flerumettede omega-3 fettsyrer» (Helsedirektoratet 2012; Helsedirektoratet 2016).

2.1.1 Emulsjon

En emulsjon består av to ikke-blandbare faser, hvorav en av fasene er dispergert i den andre. Næringsmidler som melk og majones er olje-i-vann emulsjoner, mens smør og margarin er

eksempler på vann-i-olje emulsjoner. Begge emulsjonstypene er vist i Figur 1. Emulsjoner er termodynamisk ustabile, fordi det kreves energi for å øke overflatearealet mellom oljen og vannfasen. Dispersjonen hvor en flytende væske inkorporeres i en annen oppnås ved at kraftig røring eller homogenisering tilfører energi til blandingen. Energibehovet reduseres ved å senke overflatespenningen mellom de to fasene ved å tilsette emulgator med overflateaktive egenskaper. Dermed kan man enklere oppnå en finfordeling av den dispergerte fasen og hindre oppflytning. Sluttproduktet vil være mer stabilt, og vil ligne fremstillingen i Figur 1.



Figur 1: Illustrasjon av olje-i-vann emulsjon og vann-i-olje emulsjon med emulgator tilstede (Frankel 2014).

2.1.2 Margarinens sammensetning

Margarin består som tidligere nevnt av to ikke blandbare faser og emulgator. Den kontinuerlige fettfasen består av fett, oljer og fettløselige ingredienser som emulgator og aroma, og vannfasen består av vann og eventuelle tilsetninger som melk, salt og aroma.

Flytende og fast fett

En av de viktigste råvarene i margarin er lipider, også kjent som fett og oljer. Uttrykket fett benyttes som oftest for lipider med mettede fettsyrer og som er i fast form ved romtemperatur (25 °C). For mer grunnleggende teori om lipider henvises det til teorikapittelet 2.2.1

Lipidkjemi. Uttrykket oljer benyttes som oftest for lipider med umettede fettsyrer og som er flytende ved romtemperatur. Margarin og andre produkter som inneholder fett og/eller oljer kan utvinnes fra en rekke ulike kilder, herunder animalske eller vegetabiliske kilder. Som tidligere nevnt anbefaler Helsedirektoratet at inntaket av mettede fettsyrer begrenses, og margarin kan være en god kilde til gunstige flerumettede fettsyrer.

Fett og oljer har ulike plastiske egenskaper, og i vil i noen tilfeller gi tilstrekkelige effekt i sin naturlige tilstand. Det er likevel til tider ønskelig med en modifikasjon av den naturlige tilstanden til fett eller oljen, og det kan oppnås ved prosesser som hydrogenering og omestring. Dette beskrives ytterligere i kapittelet 2.2.1 Lipidkjemi. Valg av fett- og oljekilde vil ikke bare ha innvirkning på den ernæringsmessige kvaliteten, men også egenskaper som

smeltekurven ved ulike temperaturer. Smeltepunktet til et rent triglyserid avhenger av kjedelengden, forgrening, grad av umettethet til fettsyrene og deres posisjon langs glyserolmolekylet. Matvarer inneholder komplekse blandinger av mange ulike triglyserider med ulike smeltepunkter, og de vil av den grunn smelte ved et bredt temperaturområde (Damodaran et al. 2007).

Margarinene i denne oppgaven inneholder rapsolje i tillegg til fullherdet raps og kokos. Rapsolje er en god kilde til fettsyrene Helsedirektoratet anbefaler. Fullherdet raps og kokos er i fast form ved romtemperatur og bidrar til at margarinene får en fastere konsistens med sine mettede fettsyrer. Blandingsforholdet mellom fett og oljer, samt valg av fett og oljer gjør det mulig å skreddersy et sluttprodukt med ulike funksjonelle og ernæringsmessige egenskaper.

Vann

Vann som benyttes i margarinproduksjon skal være av så god kvalitet at det kan drikkes. Om det ikke kan garanteres bør vannet forbehandles ved hjelp av et UV- eller filtersystem (Gerstenberg-Schröder 2012). Mills DA plikter seg til å følge Drikkevannsforskriften og er pliktig til å utføre analyser eller skaffe tilgang til resultater fra analyser som tilfredsstiller forskriftens krav. Det er oppgitt grenseverdier for enkelte parametere, og tiltaksgrenser for andre som Mills DA er pliktig å forholde seg til.

Salt

Salt kan tilsettes i margarin som bindemiddel for vann for å redusere sprut ved steking til en viss effekt og som smakstilsetning og konserveringsmiddel. Natriumklorid består av 40 % natrium og 60 % klorid på vektbasis (Igoe 2011). En 2 % saltkonsentrasjon vil ifølge Chrysan (2005) være svært effektiv i en margarin med 80 % fett mot mikrobiologisk vekst. Mills bruker et raffinert salt som inneholder 99,8 % NaCl. Saltet løses opp og fortynnes til en saltlake med 25 % saltkonsentrasjon. Produktdatabladet ligger vedlagt som vedlegg 1.

Melk

Melk er den naturlige utskillelsen fra brystkjertlene til kvinnelige pattedyr, med hensikt å føde de yngre. Kumelk er det mest vanlige produktet, og uten prosessering består kumelk av ca. 3,5 % fett, 5 % laktose, 3,5 % protein og 0,7 % aske (Walstra et al. 2005). Melk har mange bruksområder, og ved separering og standardisering kan fettprosenten endres til

melkevarianter med høyere og lavere fettinnhold. Mills DA benyttes fersk skummet melk bestilt fra TINE SA, levert med tankbil. Produktdatablad ligger vedlagt som vedlegg 2.

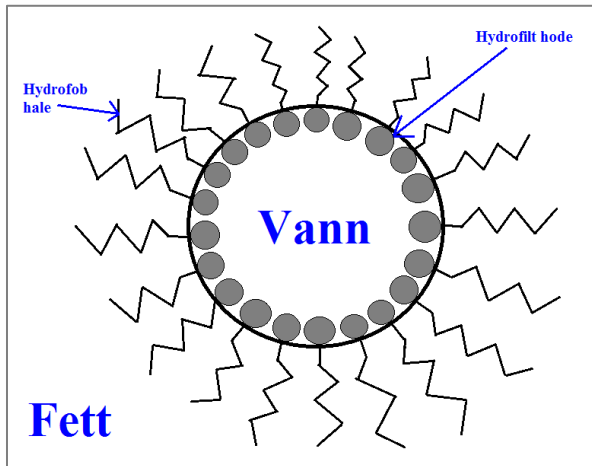
Bruk av melk i margarin øker margarinens smaksstabilitet ved å bidra med en naturlig smak en assosierer med smør (Chrysan 2005). Kulturmilk har tradisjonelt blitt tilsatt i margarin, men det har blitt mer vanlig å bruke skummet melk kombinert med diacetyl eller annen aroma som gir smørsmak (Haighton 1976).

Melk inneholder flere ulike proteiner, og deles ofte i to grupper: kaseiner og serumproteiner (myseproteiner). Protein påvirker margarinprodukter på flere måter, deriblant smak. Det vil oppstå Maillard reaksjon med melkestoffene ved steking, som gir den oppvarmede margارين en nøttebrun farge. Maillardreaksjonen som oppstår når margارين varmes opp vil med andre ord være en god temperaturindikator for anbefalt steketemperatur. Chrysan (2005) viser til en studie hvor melkestoffene fungerer også som en antioksidant ved å binde metaller som promoterer oksidasjon i oljen (Eriksson 1982b). Proteiner har en destabiliserende effekt på vann-i-olje emulsjoner. Vanndråpene i emulsjoner uten melk eller proteiner er mindre, har mer overflateareal, og emulsjonen er følgelig mer stabil. Dersom melk eller andre proteinkilder fjernes fra margارين uten justeringer i prosessbetingelsene vil frigivelsen av smak bli svekket (Chrysan 2005).

Emulgator

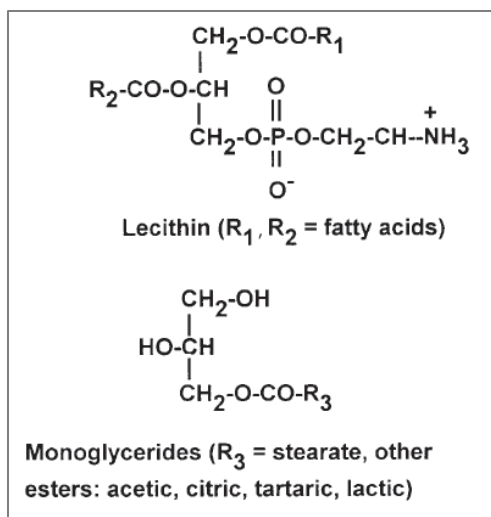
En emulgator er en kjemisk forbindelse som har evnen til å binde to stoffer som normalt ikke kan blandes. Emulgatorer består av en polar gruppe i en ende og en upolar gruppe i den andre enden, hvor den polare delen vil vende ut til vannfasen og den upolare gruppen vil binde seg til oljefasen. Emulgatorer er overflateaktive molekyler som absorberer til overflaten på de nylig dannede dråpene ved bearbeiding, og danner en beskyttende film eller membran som hindrer at dråpene kommer så nær hverandre at de aggregerer. Emulsjonens stabilitet avhenger av dråpestørrelsen og dråpenes fordeling i produktet og eventuell tilsetning av emulgator. Mindre dråper vil gi en mer stabil emulsjon enn større dråper, kreve mindre energi og en lavere konsentrasjon av emulgator i produktet (Frankel 2014). Stabiliteten er avhengig av forskjellen i tetthet mellom de to fasene, viskositeten i den kontinuerlige fasen og

diameteren på vanddråpene. Figur 2 viser en illustrasjon av hvordan en vanddråpe er plassert i fettfasen og emulgatorens plassering.



Figur 2: Illustrasjon av en vanddråpe fordelt i en fettfase med en emulgator i grenseflaten mellom de to fasene.

Gode emulgatorer har evnen til å danne interaksjoner ved grensefasen og danne en sammenhengende film som ikke bryter uten videre. Hvis to dråper kolliderer skal emulsjonsfilmen forbli intakt og hindre koalesens. Emulgatoren skal i stedet sørge for at dråpene driver bort fra hverandre (Vaclavik & Christian 2013). En vann-i-olje emulsjon krever en emulgator med en relativt sterk hydrofil gruppe og en svakere lipofil gruppe og som er hovedsakelig oppløselig i vannfasen, som monoglyserider. Smør og margarin er unike vann-i-olje emulsjoner fordi de er stabilisert ved hjelp av krystallisering i den kontinuerlige fasen. De mest vanlige emulgatorene i næringsmidler er amfifile proteiner (eksempelvis kasein, myse, soya eller egg), fosfolipider (eksempelvis egg eller soyalecitin) og småmolekylære tensider som fettsyrer (Coupland & McClements 1996). Emulgator reduserer overflatespenning, og stabilisator hindrer aggregering av dråper i emulsjonen. Protein kan fungere som begge deler, mens lecitin og monoglyserider kan ikke det. Figur 3 viser den kjemiske oppbyggingen til lecitin og monoglyserider.



Figur 3: Oppbygning til lecitin og monoglyserider (Frankel 2014).

En blanding med flere emulgatorer kan forbedre stabiliteten til kolloide næringsmiddelsystemer ved å styrke filmmembranen og ved å danne interaksjoner mellom emulgatorene ved grensesnittet. Kombinasjoner med fettløselige og vannløselige forbindelser brukes ofte i emulsjoner for å danne en mer stabil emulsjon. (Frankel 2014).

Lecitin

Lecitin er et av de mest populære og kommersielle navnene for en naturlig forekommende blanding av fosfolipider. Fosfolipider ligner triglyserider, men har bare to fettsyrer esterifisert til glyserol. Der den tredje fettsyren sitter er det en polar gruppe som inneholder en fosfatgruppe og som oftest en nitrogenholdig gruppe. De to fettsyrene tiltrekkes fett, mens delen med fosfor og nitrogen tiltrekkes vann. Fosfolipider fungerer derfor som en bro mellom fett og vann, som er to ikke blandbare substanser. Den vanligste fosfolipiden er lecitin (Vaclavik & Christian 2013).

Lecitin varierer i farge fra lys brun til mørk rødbrun og konsistensen kan være flytende eller fast. Soyabønnen er det største kilden for fremstilling av kommersielt lecitin, og er det viktigste biproduktet fra soyaoljefremstilling. Lecitin er en av de mest komplekse og allsidige substansene produsert fra soyabønnen og utvinnes ved raffinering i soyaoljefremstilling, der fuktighetsinnholdet justeres, massen rulles til flak og blir ekstrahert. Lecitin blant annet brukes i margarin og andre vann-i-olje emulsjoner som emulgator, og i margarin har lecitin i tillegg en antispruteffekt (Aoyagi 2016). Lecitin bidrar til destabilisering av emulsjonen og danner flere store vanddråper (Christiansen 2016). Lecitin bidrar også til mindre sprut ved å

hindre koalesens og store utbrudd av damp under steking. I tillegg til å gi et jevnt, stabilt skum under steking bidrar lecitin til en finfordeling av proteinsediment og virker med proteiner, som resulterer i en raskere frigivelse av salt (Chrysan 2005). Lecitin fungerer også som en antioksidant i fett og oljer (Aoyagi 2016).

Monoglyserider

Monoglyserider er andre emulgatorer som også ofte benyttes i margarin, og de består av små, lipofile molekyler. Ved fullstendig hydrolyse av triglyserid dannes det glyserol og tre fettsyrer, mens ved delvis hydrolyse blir kun en eller to av fettsyrekjedene spaltet av og vi får diglyserider og monoglyserider. Monoglyserider har to frie –OH grupper i glyseroldelen og dermed en polar del. Fettsyredelen er upolar, og monoglyserider kan derfor fungere som en emulgator fordi den kan danne en bro mellom triglyseridene som ikke er løselig i vann og vannfasen som ikke er løselig i fett. Monoglyserider adsorberer til grenseflaten, som fører til redusert overflatespenning (Vaclavik & Christian 2013). Destillert monoglyserid brukes blant annet i margarin, peanøttsmør og piskede desserter for å forbedre konsistensen (Igoe 2011).

Øvrige ingredienser

Aroma

Det finnes flere typer syntetiske aromastoffer som gir smørsmak og kan benyttes i margarin. Disse tar utgangspunkt i komponenter som har blitt identifisert som bidragsyttere til smaken i smør, som for eksempel laktoner, etylestere av kortkjedede fettsyrer, ketoner og aldehyder. Diacetyl er en primær, flyktig bestanddel i mange aromablandinger i margarin og bidrar signifikant til en smøraktig aroma i sluttproduktet. Dersom margarin produseres uten syrnet melk kan syntetisk diacetyl tilsettes. Oppfatningen av smaken i margارين vil avhenge av hvor tett emulsjonen er (Chrysan 2005).

Vitaminer

Margarin er blant produktene det er normalt å tilsette fettløselige vitaminer, med hensikt å øke den ernæringsmessige verdien. Margarin nevnes som et av produktene som bidrar med vitamin A, D og E til kosten av Helsedirektoratet. Fett i dietten promoterer adsorpsjonen av de fettløselige vitaminene (Helsedirektoratet 2012; Vaclavik & Christian 2013).

Mange land har forskrifter som krever tilsetning av vitamin A og D i margarin som et tiltak for å sikre en tilstrekkelig ernæringsmessig verdi (Freeman & Melnikov 2005). Det kan enten tilsettes som β -karoten og/eller Vitamin A estere. Karotennivået justeres for å oppnå ønsket farge og de fargeløse esterene som acetat og palmitat brukes for å standardisere vitamininnholdet. Tilsetning av vitamin D er frivillig. Tilsetning av vitamin E er ikke tillatt i USA, men det har blitt dokumentert et naturlig innhold av vitamin E i vegetabiliske oljer (Chrysan 2005).

Farge

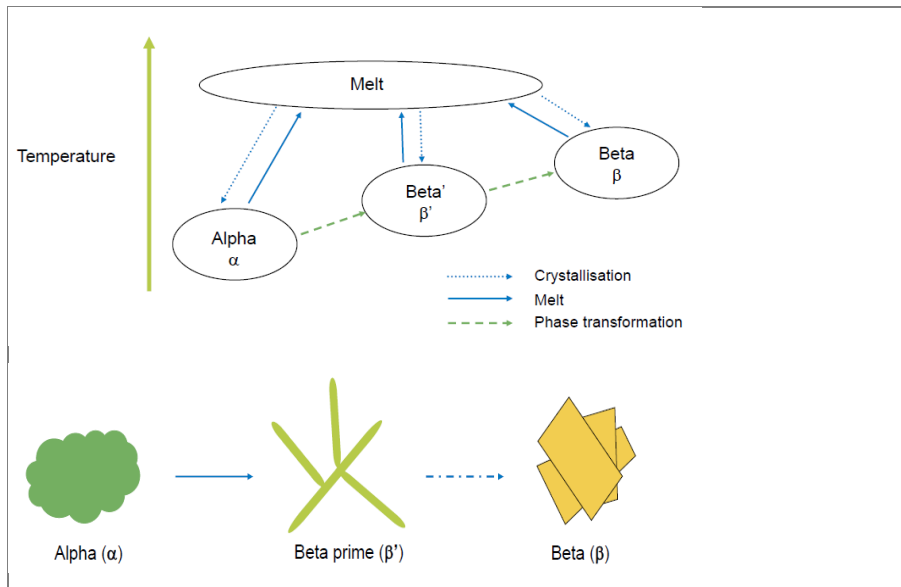
Margarin er i utgangspunktet tilnærmet hvit, og det blir brukt fargestoffer for å etterligne den lysegule, smørlignende fargen. Karotenoider er mest vanlig å benytte, eksempelvis β -karoten fra palmeolje eller syntetisk fremstilt (Freeman & Melnikov 2005).

2.1.3 Krystallisering

Plastisk fett som en finner i margarin består av et gitternettverk av krystaller i en kontinuerlig fettmatrise. De ulike krystallene gir ulik molekylær pakking, og en krystall eller modifikasjon består derfor av molekyler arrangert i et fikset mønster kjent som gitter (Domingues et al. 2015). I fast form kan organiseringen av lipidmolekyler variere, inkludert den overordnede organiseringen av triglyseridmolekylene i forhold til hverandre, vinklingen for molekylene i gitternettverket og pakkingen av hydrokarbonkjedene. Følgelig kan fettkrystaller eksistere i en rekke ulike polymorfe krystallformer, og vil ha innvirkning på fysiske egenskaper, smelteegenskaper og aggregeringen av fettkrystaller i bulk og emulsjoner (Damodaran et al. 2007).

Krystalliseringen som skjer ved fremstilling av margarin kan ha flere ulike krystallstrukturer. Triacylglyseroler kan krystallisere til tre ulike modifikasjoner eller krystaller: α , β' eller β . Førstnevnte er svært ustabil og eksisterer sjeldent i plastisk fett. β' -krystaller er mer stabil, men krystallstrukturen er mindre ordnet enn β -krystaller. Hoerr (1960) konkluderte at β' -krystaller er små, delikate krystaller, mens β -krystaller er større og har høyere smeltepunkt. I margarin er det både ønskelig og mest vanlig med β' -krystaller, da β -krystaller er store og grove og gir uønsket struktur. Hver polymorf har ulikt smeltepunkt, og når smeltet fett kjøles ned raskt vil det normalt sett krystallisere i en ustabil form kjent som α . Med tiden vil α -krystaller mer eller mindre spontant omorganiseres til β eller β' , og danne en stabil modifikasjon ved langsom nedkjøling eller krystallisering fra et løsemiddel (Freeman &

Melnikov 2005). Figur 4 viser krystalliseringen av de ulike krystallene og en skisse av deres utseende.



Figur 4: Krystalliseringsprosessen for fett og oljer, og illustrasjon av strukturen til de ulike krystallene (Lundin & Persson 2017).

Egenskapene til α -krystaller har til forskjell fra de to andre mer voksaktig konsistens, de er ustabile, skjøre og har en størrelse på rundt 5 μm . β -krystaller ligner mer på plater, er stabile og langt større. β' -krystaller er til forskjell så små som 1 μm , danner et tredimensjonalt nettverk og nållignende klynger som vist i figuren. β' -krystaller har langt større overflateareal og har følgelig større evne til å binde flytende fett, som er en viktig egenskap i margarin. β' -krystaller har lavere smeltepunkt enn de to andre, og vil ha mer plastiske egenskaper.

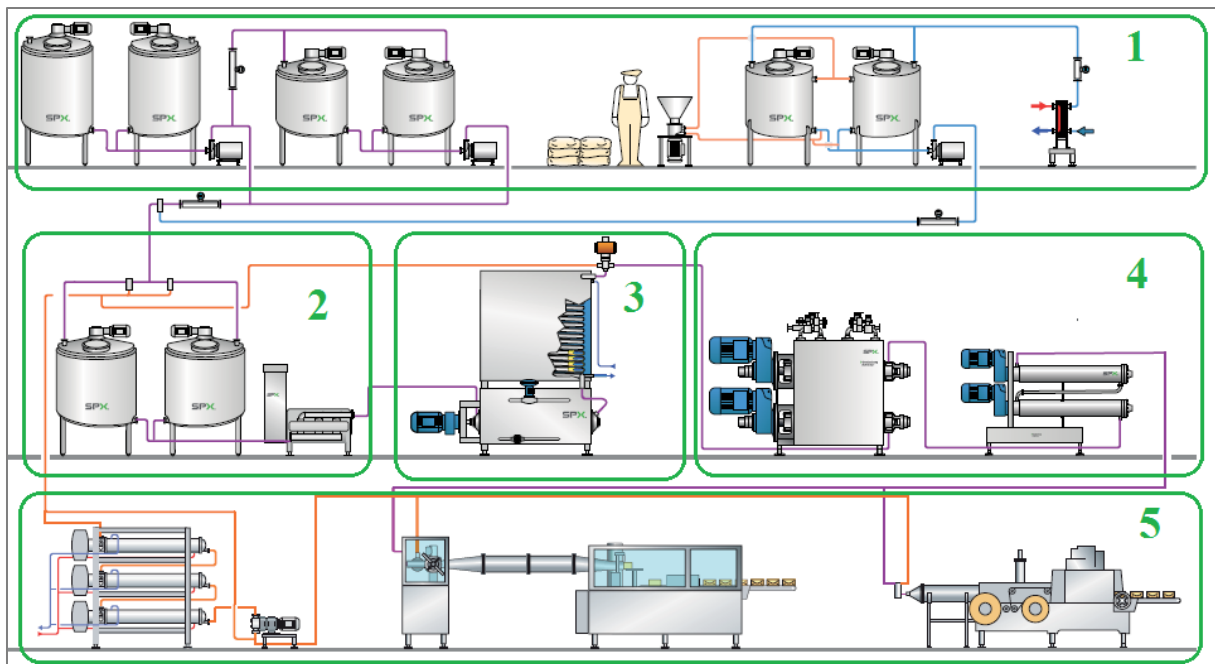
2.1.4 Generell fremstilling av margarin

Margarinprosessen er utformet for å oppnå tre målsetninger:

1. Dispergering av vannfasen i fettfasen som en vann-i-olje emulsjon.
2. Dannelse av fettkrystaller for å stabilisere emulsjonen og danne et krystallnettverk i den kontinuerlige fettfasen som gir produktet ønsket fasthet.
3. Modifisering av krystallnettverket for å produsere ønsket fasthet og ønskelige reologiske egenskaper (Freeman & Melnikov 2005).

Informasjon om fremstilling av margarin på Mills DA er hentet fra muntlig prosessopplæring med prosjektingeniør Øystein Olsen (2017) og senior produktutvikler Kirsti Forstrøm Christiansen (2016), og er kombinert med «White paper» fra SPX Schröder Gerstenbergs (2012). Margarinfremstillingen er beskrevet generelt, og selv om kjørebetingelser for de tre kommersielle margarinene har vært tilgjengelige for forfatter blir de ikke beskrevet i

oppgaven. Prosessbetingelsene vil være spesifikke for et spesifikt prosessanlegg og vil i tillegg være avhengig av produktets sammensetning og ønskede produkttegenskaper. Figur 5 viser en oversikt over et standard oppsett for fremstilling av margarin.



Figur 5: Generell illustrasjon av en margarinproduksjonslinje: Forberedelse av vannfasen og fettfasen (sone 1), emulsjonfremstilling (sone 2), pasteurisering (sone 3), avkjøling, krystallisering og elting (sone 4) og pakking og resmelting (sone 5)

Ved fremstilling av margarin vil bruksområdet for produktet avgjøre produksjonsprosessen og sammensetningen av fettfasen. Et moderne produksjonsanlegg for margarin vil normalt sett bestå av ulike tanker for oppbevaring av olje, andre råvarer som melk, og emulsjonstanker der alle ingredienser blandes og den første grove emulsjonen dannes. Produksjonsanlegg har som regel også et pasteuriseringssystem (Gerstenberg-Schröder 2012).

Fettfasen består hovedsakelig av en blanding fett og oljer. Denne blandingen som tidligere nevnt helt avgjørende for egenskapene til sluttproduktet. De ulike typene fett og oljer oppbevares som oftest i store tanker og typisk utenfor produksjonslokalet. Fett og oljer oppbevares ved 5 – 10 °C over sitt smeltepunkt og med omrøring for å unngå fraksjonering av fett, og sikre en enkel håndtering. I tillegg til fett og oljer inneholder fettfasen ofte fettløselige ingredienser som emulgator, aroma, farge og eventuelle antioksidanter. Disse ingrediensene løses opp i fettfasen før den blandes med vannfasen og emulsjonsprosessen settes i gang. Det er svært kritisk at alt fett og andre fettløselige ingredienser som emulgator er smeltet før videre prosessering for å hindre prekrystallisering. Vannfasen i margارين

forberedes ofte batchvis i en vannfasetank. Vannfasen kan inneholde salt eller saltlake, melk eller melkeproteiner, stabilisator, konserveringsmidler og vannløselig aroma i tillegg til vann (Christiansen 2016; Gerstenberg-Schröder 2012).

Emulsjonen blir fremstilt ved at fettfasen overføres til en emulsjonstank, etterfulgt av vannfasen som skal fordeles i fettfasen. Emulsjonen dannes ved hjelp av intensiv, men kontrollert røring med et røreverk. For å oppnå et mest mulig effektivt system benyttes det som regel system med to emulsjonstanker slik at margarinprosessen går kontinuerlig. På den måten fungerer den ene tanken som en forberedelsestank og den andre tanken som en buffer (emulsjonstank) (Gerstenberg-Schröder 2012).

Fra buffertanken blir emulsjonen pumpet videre til en lavtrykkskrapevarmeveksler eller en platevarmeveksler for pasteurisering. Sistnevnte er anbefalt ved produkter med 80 % fett, da emulsjonen forventes å ha høy viskositet. Pasteurisering har flere fordeler ved fremstilling av margarin, blant annet hemming av bakteriell vekst og vekst av andre mikroorganismer som forbedrer emulsjonens mikrobiologiske stabilitet. Det er mulig å pasteurisere kun vannfasen, men det er foretrukket å pasteurisere hele emulsjonen for å redusere tiden fra pasteurisert produkt til fylling eller pakking av ferdig produkt. Dette er også hensiktsmessig i de systemene hvor et «rework» system er koblet til. Ved pasteurisering av hele emulsjonen blir emulsjonen matet til krystalliseringslinjen ved en konstant temperatur, og sikrer derfor konstante prosessbetingelser, produkttemperatur og produkttekstur. Pasteurisering sikrer også at alt fett, inkludert emulgatorene, er helt smeltet slik at en kontrollert krystallisering sikres uten prekrystallisering (Christiansen 2016; Gerstenberg-Schröder 2012).

Etter pasteurisering blir emulsjonen pumpet til krystalliseringslinjen. Dette skjer ved hjelp av en høytrykkspumpe fordi emulsjonen har høy viskositet etter krystallisering.

Høytrykkspumpen er en svært viktig del av margarinprosessen for å få dannet en finfordelt emulsjon ved hjelp av skjærkrefter. Krystalliseringslinjen består som regel av en eller flere skrapevarmeveksler med ammoniakk (NH₃) eller lignende kjølemedium, og en pinnemikser for ekstra elting og hviletid hvis produktet skal ha en plastisk konsistens. Det finnes flere typer skrapevarmevekslere, og Kombinator og Perfektor er blant de vanligste typene. I begge disse typene blir emulsjonen superkjølt og krystallisert på den indre overflaten i kjølerøret. Emulsjonen blir effektivt skrapet vekk fra overflaten ved hjelp av roterende kniver, og

emulsjonen blir både nedkjølt og eltet i en og samme prosess. Når emulsjonen krystalliserer dannes det et tredimensjonalt nettverk som inneslutter vanndråpene og den flytende oljen, som resulterer i en stabil emulsjon med plastisk semisolid struktur. Her vil det ved optimale betingelser dannes β' -krystaller. Prosessbetingelsene vil variere fra resept til resept, og det benyttes ofte to skrapevarmevekslere i en krystalliseringslinje sammen med pinnemikseren for å sikre optimale betingelser for flere typer margarinprodukter på en og samme linje. Krystalliseringsprosessen har stor innvirkning på sluttproduktets karakteristikk og kvalitet (Christiansen 2016; Gerstenberg-Schröder 2012).

Dersom margارين skal fylles i beger er det ikke nødvendig med et hvilerør. Et hvilerør har som hensikt å gi emulsjonen hviletid før pakking, slik at emulsjonen krystalliserer ytterligere og blir fast nok til at pakking i folie eller lignende emballasje er mulig (Olsen 2017). Figur 6 viser et typisk hvilerør som benyttes i margarinframstilling.



Figur 6: Illustrasjon av et hvilerør som kan benyttes i margarinproduksjon (Gerstenberg-Schröder 2012)

2.2 Lipidkjemi og -oksidasjon

2.2.1 Lipidkjemi

Lipider er en bred gruppe kjemiske forbindelser som er løselig i organiske løsninger. Lipider er også klassifisert som upolare (f. eks triacylglyserol og kolesterol) og polare (eksempelvis fosfolipider) for å indikere deres ulike funksjonelle egenskaper og løselighet. Polare lipider har en hydrofil hodegruppe med en høy affinitet for vann festet til en lipofil halegruppe med høy affinitet for olje. Lipider spiller en sentral rolle i næringsmidler og har stor innvirkning på kvalitet ved å bidra med egenskaper som tekstur, smak, aroma, farge og metthetsfølelse. Ernæringsmessig bidrar lipider med ni kalorier per gram, som er mer enn dobbelt så mye som karbohydrater og proteiner. Upolare faser løser også viktige næringsstoffer som linolsyre, linolensyre og fettløselige vitaminer (A, D, E og K). Hovedkomponenten i lipider i

næringsmidler er triacylglyseroler og blir vanligvis kalt fett og oljer (Damodaran et al. 2007; Frankel 2014).

Sammensetning

Den viktigste karakteristikken ved en fettblanding i margarin er at den inneholder en viss andel fett som er fast ved romtemperatur. Det faste fettet kalles «hardstock» og dens funksjon er å danne et nettverk av fettkrystaller gjennom den ellers flytende oljen og gi en viss fasthet. Margarin rettet mot baking og steking har gjerne en høyere andel av fett som smelter ved en høyere temperatur enn i bordmargarin. Fettfasen består hovedsakelig av blandinger av vegetabiliske oljer eller melkefett (førstnevnte har ofte blitt forbehandlet ved raffinering og andre enhetsoperasjoner, og beskrives ytterligere litt senere i dette delkapittelet). Disse omfatter ikke bare triglyserider, men også ulike mindre komponenter som vist i Tabell 1. Margarinprodusenter kan velge blant en rekke naturlige oljer og fett, og vil avhenge av jordbruk og tilgjengelighet. Soyaolje mest vanlig på verdensbasis som oljekilde, mens i Europa er rapsolje mer vanlig (Freeman & Melnikov 2005). Fett og oljer inneholder svært ulike fettsyresammensetninger som vist i Tabell 2.

Tabell 1: Komponenter og deres andel i vegetabile fett og oljer (Lundin & Persson 2017).

Komponent	Innhold	Funksjon
Triglyserider	90 – 100 %	Energikilde
Partielle glyserider	0 – 5 %	Nedbrytningsprodukter og energikilde
Fettsyrer	0 – 1 %	Nedbrytningsprodukter og energikilde
Aldehyder, ketoner, hydrokarboner	ppb – ppm nivåer	Oksidasjonsprodukter
Fosfolipider	0 – 1 %	Membranlipider, emulgerende effekt
Steroler, sterolestere	500 – 15 000 ppm	Membranlipider
Tokoferoler, tokotrienoler	0 – 3 000 ppm	Antioksidanter

Tabell 2: Fettsyresammensetning i prosent ulike råmaterialer (Lundin & Persson 2017).

	Fettsyre (%)					
	C12	C16	C18	C18:1	C18:2	C18:3
Flytende						
Soya		10	4	23	53	8
Raps		4	2	62	20	10
C18:1 anrikt raps		4	2	74	12	3
Linfrø		6	3	17	15	60
Mais		11	2	27	58	
Bomull		24	3	17	53	
Solsikke		6	4	20	67	
C18:1 anrikt solsikke		4	6	85	5	
Oliven		13	2	71	11	
Fast						
Palme		44	4	40	10	
Palmekjerne	48	8	2	15	2	
Kokos	47	9	3	7	2	
Shea		4	43	45	6	
Illipé		17	44	35	1	
Manho		7	42	43	4	
Kakaosmør		25	36	34	3	

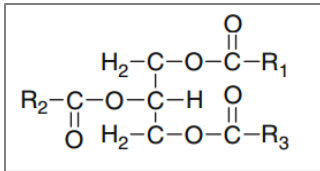
Fettsyrer

Fettsyrer er langkjedede alifatiske forbindelser med en karboksylsyregruppe i enden, og er sammen med triacylglyseroler og fosfolipider fettsyrer ansett som essensielle i fett og oljer. Fettsyrer er generelt enten klassifisert som mettede fettsyrer eller umettede fettsyrer. I mettede fettsyrer er hvert karbonatom bundet til to hydrogenatomer, med unntak av karbonene i endene. I umettede fettsyrer er det minst ett karbonatom som kun har et hydrogenatom bundet til seg og kalles en dobbeltbinding. Fettsyrer med slike dobbeltbindinger har andre fysiologiske og kjemiske egenskaper enn mettede fettsyrer som kun har enkeltbindinger. Fettsyrer har vanligvis 4 – 20 karbonatomer per molekyl, og vegetabiliske oljer har alltid partall (Damodaran et al. 2007).

Triglyserider

Mer enn 99 % av alle fettsyrer som finnes i planter og dyr er esterifisert til glyserol. Acylglyseroler kan eksistere som mono-, di- og triestere, og er bedre kjent som monoglyserider (monoacylglyseroler), diglyserider (diacylglyseroler) og triglyserider (triacylglyseroler). Sistnevnte er den mest vanlige i næringsmidler, men både

monoacylglyseroler og diacylglyseroler kan tilsettes som emulgator eller lignende (Damodaran et al. 2007). De enkleste triacylglyserolene er bygd opp av tre identiske fettsyrer, mens de mer komplekse har to eller tre ulike fettsyrer (Mathews 2012).



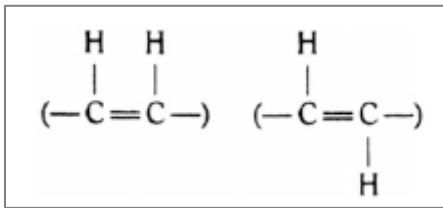
Figur 7: Kjemisk oppbygging for triacylglyserol (Fromm & Hargrove 2012)

Tilstedeværelsen av doble bindinger påvirker smeltepunktet til fettsyrene. Dobbelbindinger i *cis*-konfigurasjonen vil føre til at fettsyren ordne seg i en bøyd konfigurasjon. Umettede fettsyrer er med andre ord ikke lineære, som gjør det vanskelig for dem å orientere seg i en tett pakket konfigurasjon. På grunn av sterisk hindring for pakking er van der Waals-interaksjonene mellom de umettede fettsyrene relativt svake, og de vil hovedsakelig eksistere i flytende tilstand ved romtemperatur. Det gir oljer et lavere smeltepunkt. Etter hvert som antall dobbeltbindinger øker vil molekylet bli mer bøyd og van der Waals interaksjonene vil minke ytterligere og smeltepunktet reduseres.

Cis/trans

Dobbelbindinger i fettsyrer forekommer enten som *cis* eller *trans* konfigurasjon, og som vist i Figur 7 har de ulike isomere strukturer. I *cis* konfigurasjon er hydrogenatomene bundet til karbonatomene i dobbeltbindingen på samme side av dobbeltbindingen. *Trans* konfigurasjon har hydrogenatomene bundet til karbonatomene på motsatt side av dobbeltbindingen, på tvers av hverandre. Denne konfigurasjonen påvirker smeltepunktet og fettsyrens molekylære struktur, og nesten alt naturlig forekommende fett og oljer har *cis* konfigurasjon. Melk, smør og andre produkter fra kumelk og konjugert linolsyre inneholder lave konsentrasjoner av fettsyrer med *trans* konfigurasjon. Ved hydrogenering av oljer vil noen av dobbeltbindingene få *trans* konfigurasjon. The National Cholesterol Education Program har uttalt at transfett øker LDL kolesterolet og inntaket bør reduseres til minimalt (Vaclavik & Christian 2013). Europakommisjonen skriver i sin rapport fra 2015 at risikoen for å dø av hjertesykdommer er høyere når 2 % av det daglige energiinntaket inntas som transfettsyrer fremfor karbohydrater, mettede fettsyrer, enkeltumettede *cis*-fettsyrer og flerumettede *cis*-fettsyrer eller andre typer

fettsyrer, gitt at kalorimengden som byttes ut forblir den samme (European_Commission 2015). Med dette som utgangspunkt har Mills DA et eget krav på < 1 % (Christiansen 2016)



Figur 8: Cis konfigurasjon til venstre og trans konfigurasjon til høyre vist som isomere strukturer av fettsyrer (Vaclavik & Christian 2013)

Tokoferoler

Tokoferoler er en av de mest sentrale, men små bestanddelene i de fleste vegetabile oljer.

Animalsk fett inneholder til forskjell svært lave eller ingen konsentrasjon tokoferoler.

Tokoferoler fungerer som antioksidanter og bidrar til å hindre eller redusere oksidasjon, og er i tillegg en naturlig kilde til vitamin E. Tokoferoler blir delvis inaktivert ved varmebehandling, og kan derfor tilsettes i et senere stadium ved prosessering for å forbedre den oksidative stabiliteten til olje (Vaclavik & Christian 2013). I næringsmidler er det tokoferoler som brukes mest som antioksidant.

Fremstilling av vegetabile oljer og fett

Triglyserider ekstraheres fra både animalske og vegetabiliske kilder, og sistnevnte vil bli beskrevet i korte trekk. Vegetabiliske triglyserider kan isoleres ved pressing (oliven), ved ekstraksjon med et løsemiddel (oljefrø) eller med en kombinasjon av disse to. Ekstraheringen resulterer i en råolje eller -fett som inneholder flere komponenter enn triglyserider som fettsyrer, fosfolipider, proteiner og karbohydrater. Disse komponentene må fjernes for å oppnå olje eller fett med en nøytral farge og smak og en lenger holdbarhet. Dette oppnås ved hjelp av raffinering, nøytralisering, bleking og deodorisering (Damodaran et al. 2007).

Raffinering

Tilstedeværelsen av fosfolipider i oljer og fett kan forårsake dannelse av vann-i-olje emulsjoner. Disse emulsjonene vil gi oljen eller fett et grumsete farge og ved vann tilstede kan det oppstå farlige situasjoner fordi vannet medfører spruting og skumdannelse ved oppvarming over 100 °C. Raffinering er en prosess som fjerner fosfolipider ved at 1 – 3 % vann tilsettes ved 60 – 80 °C i 30 – 60 minutter. Små mengder syre blir ofte tilsatt til vannet for å øke hydrogenmengden i fosfolipidene. Oljen blir så sentrifugert eller filtrert for å fjerne

koaleserte komponenter som vann og fosfolipider. Ved raffinering av soya blir fosfolipidene gjenvunnet og solgt som soyalecitin.

Nøytralisering

Frie fettsyrer må fjernes fra råoljer fordi de kan forårsake dårlig smak, fremskynde lipidoksidasjon, forårsake skumdannelse og forstyrre videre prosesser som hydrogenering og omestring. Nøytralisering oppnås ved å tilsette en blanding med natriumhydroksid til oljen, som fører til at de frie fettsyrer danner løselige såper som kan fjernes ved å separere oljefasen fra vannfasen som inneholder såpen. Mengden natriumhydroksid som må tilsettes avhenger av konsentrasjonen frie fettsyrer i råoljen (Damodaran et al. 2007).

Bleking

Råoljer inneholder ofte pigmenter som for eksempel karotenoider og klorofyll. De gir oljen en uønsket farge og klorofyll kan fremme lipidoksidasjon. Pigmentene fjernes ved å blande den varme oljen (80 – 110 °C) med absorberende stoffer som nøytral leire, syntetiske silikater eller aktivert karbon, som fjernes ved filtrering i etterkant. Prosessen utføres som regel under vakuum fordi absorbentene kan forårsake lipidoksidasjon. Bleking vil i tillegg fjerne eventuelle rester av frie fettsyrer og fosfolipider, samt nedbrytningsprodukter fra lipidoksidasjon som hydroperoksider (Damodaran et al. 2007).

Deodorisering

Råoljer inneholder uønskede aromaforbindelser som aldehyder, ketoner og alkoholer, som enten forekommer naturlig i oljen eller dannes ved lipidoksidasjonen som oppstår ved tidligere prosesser som raffinering. Disse flyktige forbindelsene fjernes ved å utsette oljen for dampdestillering ved temperaturer mellom 180 °C og 270 °C ved lavt trykk. Denne prosessen kan også bryte ned lipidhydroperoksider og gi økt oksidativ stabilitet, men samtidig resultere i dannelsen av trans-fettsyrer. Etter deodoriseringen tilsettes det sitronsyre (0,005 – 0,01 %) for å danne chelater som inaktiverer prooksidante metaller. Chelater er kjemiske forbindelser hvor et flerverdig metallion er bundet til to ulike funksjonelle kjemiske grupper i et større molekylion (Damodaran et al. 2007; Pedersen 2012).

Endring av vegetabile oljer og fett

Egenskapene til fett og oljer kan endres ved flere ulike prosesser. Dette er for eksempel hensiktsmessig om andre teksturegenskaper ønskes. Dette kan oppnås ved å blande ulike

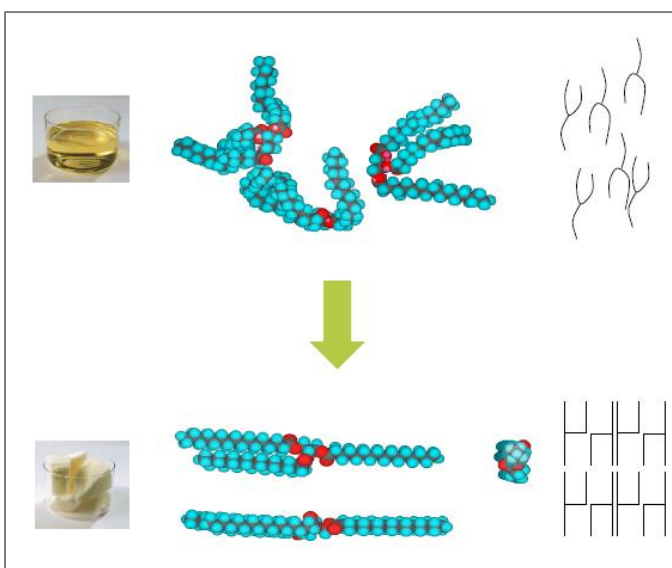
oljer, genetisk manipulering, fraksjonering, omestring eller hydrogenering, og de to siste prosessene vil bli beskrevet i korte trekk.

Omestring

Omestring er en prosess som involverer rearrangering av glyseridene i triglyserider. Det er vanligvis en tilfeldig prosess som resulterer i en triglyseridprofil som er ulik fra det opprinnelige, og gir signifikante endringer i smelteprofilen uten at fettsyresammensetningen endres. Det finnes flere ulike typer omestring, og trans-omestring er den mest anvendte metoden ved endring av egenskaper til bruk i næringsmidler. I denne prosessen blir alkylater av natrium (som for eksempel natriumetylat) benyttet for å akselerere trans-omestringen fordi de er billige og aktive ved lave temperaturer (Damodaran et al. 2007).

Hydrogenering

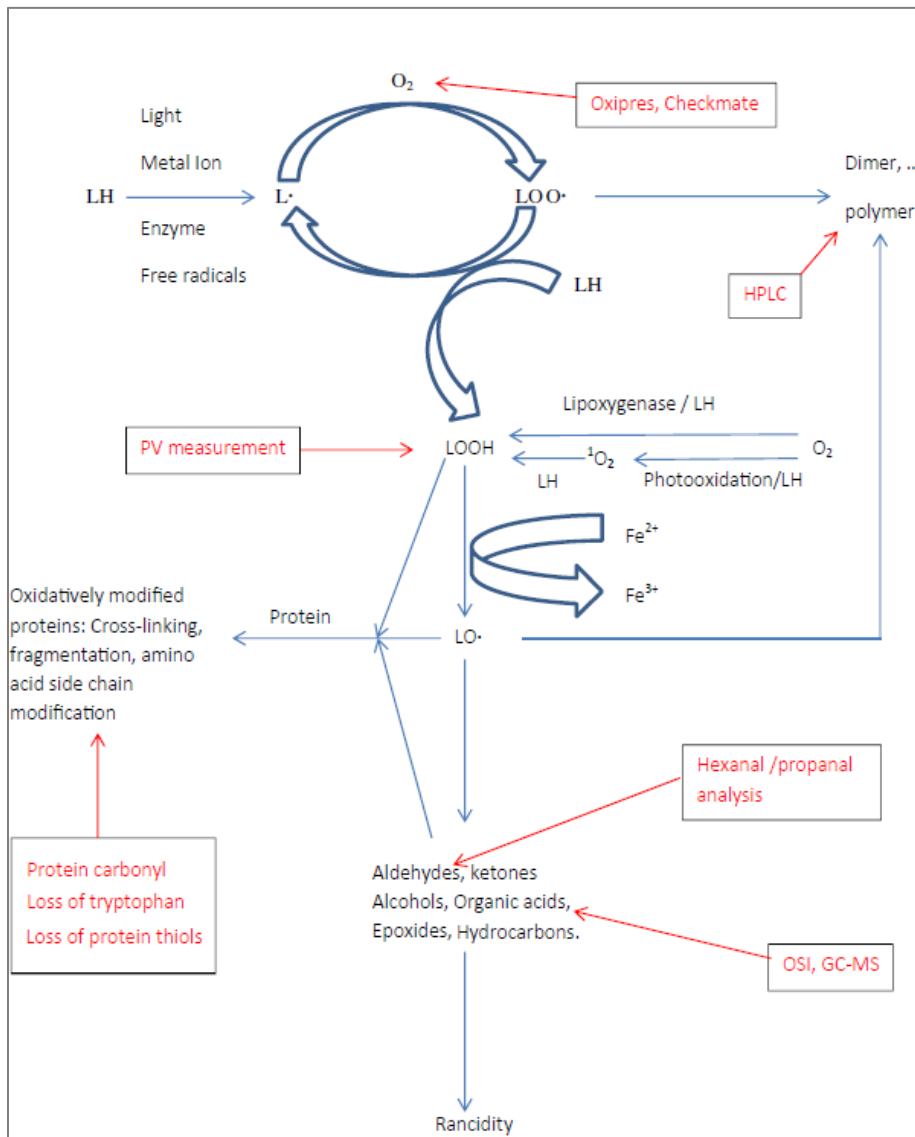
Hydrogenering er en prosess hvor flytende olje blir til fastere fett. Prosessen skjer ved at hydrogen blir tilført under høyt trykk og temperatur med en katalysator som kobber eller nikkel tilstede der hydrogen adderes til karbonatomer assosiert til dobbeltbindinger. Oljen med umettede fettsyrer da omdannes til et fastere fett med mettede fettsyrer. Prosessen kan kontrolleres og stoppes når ønsket hydrogenering er nådd, og graden av hydrogenering styres for å oppnå stabilitet og/eller de fysikalske egenskaper som sluttproduktet krever. Delvis hydrogenering vil medføre at deler av det umettede fettene omdannes til transfettsyrer, og er en uønsket prosess i mange land. Ved fullstendig hydrogenering oppnås et sluttprodukt med mettet fett og som er fast ved romtemperatur (Vaclavik & Christian 2013).



Figur 9: Illustrasjon av hydrogenering fra flytende olje til fast fett

2.2.2 Lipidoksidasjon i fett og oljer

En av de viktigste oppgavene for en produsent av næringsmidler som inneholder fett og oljer er å kontrollere lipidoksidasjonsprosessen for å sikre en akseptabel oksidativ stabilitet og holdbarhet over en viss tid. Oksidasjon i vegetabiliske oljer involverer hovedsakelig fettsyrer bundet til triglyserider, da mesteparten av fosfolipidene og andre komponenter fjernes ved raffinering. Det finnes tre store reaksjonsveier som er ansvarlig for lipidoksidasjon i mat, vist i Figur 10; autooksidasjon, fotooksidasjon og enzymatisk oksidasjon (Hu & Jacobsen 2016).



Figur 10: De tre store reaksjonsveiene ansvarlig for lipidoksidasjon i næringsmidler (Hu & Jacobsen 2016).

Autooksidasjon er en fri radikal kjedereaksjon, som involverer dannelsen av lipidhydroperoksider. I nærvær av initiatorer som lys, spormetaller eller frie radikaler vil umettede fettsyrer (LH) miste et hydrogenatom for å danne et alkylradikal (L•) som reagerer raskt med molekylært oksygen og danner et peroksidradikalet

reagerer videre med en annen umettet fettsyre og danner hydroperoksid (LOOH), et primært oksidasjonsprodukt. Hydroperoksider er smaksløse og luktfrie og har ingen signifikant innvirkning på den sensoriske kvaliteten til fett og oljer. Hydroperoksider er dog ustabil og kan reagerer med toverdige jern (Fe^{2+}) og danne alkoksyldradikal ($\text{LO}\bullet$) som fører til dannelsen av oksidasjonsprodukter som aldehyder (eksempelvis heksanal og propanal), ketoner, alkoholer, organiske syrer (som heksan og propansyre) og hydrokarboner. Disse sekundære oksidasjonsproduktene kan bidra betydelig innvirkning på den sensoriske kvaliteten av fett, oljer og fettholdige varer (Hu & Jacobsen 2016).

Fotooksidasjon oppstår når olje eller fett eksponeres for lys i nærvær av sensitive komponenter som klorofyll for fotooksidasjon type II eller riboflavin for type I fotooksidasjon. Når fotooksidasjon aktiveres av lys vil klorofyll reagere med triplett oksygen (3O_2) for å gi reaktive enkle oksygenatomer (1O_2), som videre reagerer med LH for å danne LOOH.

Den tredje reaksjonsveien er enzymatisk oksidasjon. Lipo-oksygenaser kan innlemme oksygen inn i LH under dannelsen av lipid LOOH, og oppstår som oftest i kyllingkjøtt og soyabønner.

De frie radikalene som dannes gjennom autooksidasjon, som for eksempel peroksidradikaler ($\text{LOO}\bullet$) og alkoksyldradikaler ($\text{LO}\bullet$), kan polymerisere og danne dimerer, trimerer og polymerer. Dette skjer etter at lipidoksidasjon finner sted ved en høy temperatur over lenger tid som ved fritering. Mange næringsmidler inneholder komplekse systemer med både oljer og protein som hovedkomponenter, og antall studier som fokuserer på lipidkooksidasjon med protein øker (Hu & Jacobsen 2016). Margarin inneholder svært lite eller ingen protein, og dette beskrives av den grunn ikke ytterligere.

2.2.3 Lipidoksidasjon i emulsjoner

Lipidoksidasjon i margarin finner sted i den kontinuerlige fettfasen, hvor fettkrystaller er fordelt i den flytende oljefasen, samt i grenseflaten mellom vann og fett. Margarin har derfor en svært ulik fysisk struktur sammenlignet med andre typer emulsjoner, og lipidoksidasjonsmekanismer kan derfor være ulik i margarin (Hu & Jacobsen 2016).

Lipidoksidasjon i emulsjoner skjer oftest i overflaten mellom vannfasen og fettfasen, og fordi emulsjonene har et stort overflateareal er de spesielt utsatte for oksidasjon. Den oksidative stabiliteten til en emulsjon påvirkes av den kjemiske sammensetningen i fettfasen. Jo mer umettet fett, jo mer mottagelig er emulsjonen for oksidasjon. De siste ti årene har det vært stort fokus på å inkorporere flerumettede fettsyrer (PUFA) i kosten, blant annet etter anbefalinger fra EFSA Panel on Dietetic Products i 2010. Økt bruk av flerumettede fettsyrer har resultert i nye utfordringer i næringsmiddelindustrien for å unngå lipidoksidasjon.

Lipidoksidasjon medfører tap av sensorisk kvalitet og næringsmidler som vitaminer og essensielle fettsyrer, og ikke minst kan det resultere i svært reaktive og giftige stoffer (eksempelvis malondialdehyd og 4-hydroksynonenal) som kan være farlige for forbrukere. Det er derfor hensiktsmessig for både industrien og det akademiske miljøet å fokusere på å redusere lipidoksidasjon i matvarer (Hu & Jacobsen 2016).

Modellsystemer har blitt mye brukt til å simulere matvarer i forskning på lipidoksidasjon og kontroll. Selv om forskning på modellsystemer er viktig for utviklingen av kjemiske prinsipper som vil være aktuelle for mange matvarer, kan forskning på noe annet enn «ekte» mat være misvisende fordi grenseflateinteraksjonene forenkles (Frankel 2014).

Utrykket grenseflateoksidasjon («interfacial oxidation») refererer til den komplekse interaksjonen mellom bestanddeler i et flerfaset lipidsystem som enten fremmer eller hemmer lipidoksidasjon. Grenseflateoksidasjon er en overflatereaksjon som er avhengig av oksygendiffusjonens hastighet og dens interaksjon med umettede lipider, metallinitiatorer, radikaldannere og terminatorer, som alle er fordelt i ulike kamre i kolloidale systemer. Sammenlignet med lipidoksidasjon i fett og oljer er lipidoksidasjon i emulsjoner langt mindre forstått. Grenseflateoksidasjonen påvirker en rekke ulike matvarer, som melk, fløte, ost, majones, smør og margarin. For å oppnå en bedre forståelse av lipidoksidasjon i slike flerfasede systemer bør følgende spørsmål vurderes:

1. Hvordan blir oksidasjonsmekanismene påvirket av lipidenes fysiske og kjemiske miljø?
2. Hvilke forskjeller er det mellom lipidoksidasjon i bulkolje og emulgert fett?
3. Hvordan er prooksidant- og antioksidantforbindelser i flerfasesystemer relatert til deres konsentrasjon i ulike faser?

4. Hvilken effekt har overflateaktive forbindelser på konsentrasjonen og interaksjonen av prooksidanter og antioksidanter ved olje-vann grenseflater og deres aktiviteter?

Kunnskap om prooksidanter og antioksidanters virkning i systemer med flere komponenter er essensielt for å kunne forutse den oksidative stabiliteten i komplekse matvarer og biologiske systemer. Mat med forbedret kvalitet kan utvikles dersom drivkreftene til prooksidanter og antioksidanter kan kontrolleres i flerfasesystemer (Frankel 2014).

Grenseflaten

Interfasen mellom olje- og vandrdråpene er bare noen få nanometer tykk, men kan likevel omfatte en betydelig andel av den totale dråpen. Overflateaktive forbindelser med lav molekylvekt danner et monolag ved grenseflaten og vil dekke nesten 100 % av interfasen. Til forskjell vil overflateaktive forbindelser med høy molekylvekt enten danne et monolag eller multilag dersom det er tilstede i høye konsentrasjoner (Hu & Jacobsen 2016).

2.2.4 Antioksidanter

Antioksidanter

Antioksidanter er kjemiske stoffer som hindrer eller reduserer oksidasjon, og de bidrar til å unngå autooksidasjon av for eksempel umettede fettsyrer. Antioksidanter kan hindre autooksidasjon ved å donere et hydrogenatom til dobbeltbindingen samt hindre oksidasjon av en hvilken som helst umettet binding. De stanser kjedereaksjonen langs fettsyren, som hører til oksidasjon. Antioksidanter som kan tilsettes til margarin kan eksempelvis være askorbinsyre eller α - tokoferol. Antioksidanter er effektive ved lave konsentrasjoner, for eksempel $< 0,02$ % (Filip et al. 2009; Igoe 2011).

2.3 Sensorisk analyse

Sensorisk evaluering omfatter et sett av metoder for nøyaktig måling av menneskers opplevelse av mat uten påvirkning av merking og annen produktinformasjon. Sensorisk evaluering forsøker å isolere de sensoriske egenskapene til mat og bidrar med viktig og nyttig informasjon til produktutviklere, forskere og ledere om produktets sensoriske egenskaper (Lawless & Heymann 2010). Sensorisk evaluering har blitt definert som en vitenskapelig metode benyttet for å vekke, måle, analysere og tolke de responsene som oppfattes av sansene, det vil si syn, lukt, berøring, smak og hørsel (Stone & Sidel 2004). Denne definisjonen har blitt akseptert og godkjent av sensoriske bedømmelseskomiteer innenfor ulike faglige organisasjoner som Institute of Food Technologists (Lawless & Heymann 2010).

Når margarin vurderes sensorisk er utseende den første egenskapen som blir vurdert. Produktet må først og fremst ha en tiltalende farge, tradisjonelt har dette vært smørgul. Farge- og smakspreferanse varierer dog fra land til land. Margarin må også ha en glatt, krem lignende tekstur, og skal ikke virke kornete eller fettete. Om margارين selges som en bordmargarin bør den også ha god spredbarhet; det skal være mykt nok til at det enkelt kan smøres på en brøds kive uten synlige klumper eller fritt vann. Margارينen bør i tillegg ha en ønsket smak og munnfølelse. I Europa og mange andre steder i verden settes standarden for god smak til fersk smørsmak, og det har blitt viet mye forskning til å finne en god sammensetning for å etterligne ekte smørsmak. Det har i de siste årene blitt produsert naturlige smør/meieriaromaer, selv om det er mest vanlig å benytte syntetisk aroma.

Munnfølelse er en gjenspeiling av den fysiske endringer som finner sted idet margarin smelter og brytes ned ved hjelp av tungen og tennene, og blandes med spytt i varme omgivelser i munnen. Nedsmeltingen kan oppleves glatt eller klumpete, og noe fett vil ikke smelte og bli oppfattet som et voksaktig belegg i tungen og ganen fordi det smelter ved høyere temperaturer enn 37 °C (Freeman & Melnikov 2005).

Hovedeffekten av lipidoksidasjon blir generelt beskrevet som harsk og forårsaker en redusert sensorisk kvalitet. Fettsyresammensetningen til oljen vil ha innvirkning på nedbrytningsproduktene og oppfatningen av harskhet kan derfor variere. Ulike nedbrytningsprodukter vil avgi aroma og/eller smak, og detekteres ved ulike konsentrasjoner for ulike analyser som opplevd smak og gasskromatografi-massespektrometri. Disse nivåene beskrives ofte som terskelverdier. Flyktige oksidasjonsprodukter som inneholder n-3 dobbeltbindinger derivert fra linolenat har usedvanlig lave terskelverdier, og bidrar til smaksforringelse ved lave peroksidverdier. Heksanal og 2,4-dekadienal er primære produkter fra oksidasjon av linolsyre, mens 2,4-heptadienal, 3-heksanal og 2,4,7-dekatrienal er blant de vanligste nedbrytningsproduktene ved oksidasjon av linolensyre. *Trans-trans-2,4-heptadienal* kan eksempelvis beskrives som en harsk, fet smak. Oljer med høyt innhold av linolensyre som rapsolje og soyaolje utvikler en fiskeaktig bismak ved lagring eller varmebehandling som et resultat av at det dannes 2,4,7-dekatrienal. Graden av utviklingen kan variere blant rapsoljer,

og være vanskelig å måle analytisk. Årsaken til dette er ikke kjent (Decker et al. 2010; Frankel 2014).

Sensoriske egenskaper kan vurderes ved hjelp av en rekke standard tester, eksempelvis med et ekspertpanel eller et trent panel. Et ekspertpanel kan være en gruppe med lang erfaring med vurdering av et spesifikt produkt eller egenskap uten formell trening. Et trent panel har ofte formell trening innenfor beskrivende analyse av egenskaper og vurderer produktene fra et vitenskapelig perspektiv. Panelet er valgt ut basert på sin evne til å beskrive smaks- og lukteegenskaper, og blir kontinuerlig trent, kalibrert og overvåket. Produktene kan testes selvstendig eller mot en kontrollprøve, eller på en absolutt skala mot relevante sensoriske parametere. Prøvene kan enten serveres blindt med umerket emballasje eller med sin ordinære emballasje (Freeman & Melnikov 2005).

2.3.1 Kvantitativ beskrivende analyse

Beskrivende analyser er blant de mest sofistikerte verktøyene innenfor sensorikk. Disse metodene gir en komplett objektiv beskrivelse hvordan produkter oppfattes sensorisk. Kvantitativ beskrivende analyse (QDA) ble utviklet på 1970-tallet som en forbedring til Flavor profile analysis. I QDA blir 10 til 12 dommerne eksponert for flere ulike produkter, og beskriver forskjellene mellom disse. Dommerne utvikler så en egenskapsforklaring for å beskrive de sensoriske forskjellene blant prøvene. Prøvene blir så vurdert på de bestemte egenskapene i separate båser, på en ustrukturert skala for å sikre at hele skalaen benyttes i en større grad. QDA kan benyttes for å få en komplett beskrivelse av den sensoriske opplevelsen assosiert med et produkt fra visuelt inntrykk til ettersmak. Produktene blir objektivt vurdert, og panelet må til enhver tid trenes og kalibreres for å sikre reproduerbare resultater.

QDA gir uavhengige vurderinger fra et trent panel og er mye brukt i både forskning og i næringsmiddelbedrifter. Resultatene kan enkelt analyseres statistisk og kan presenteres grafisk. Data hentet fra QDA kan analyseres statistisk analyser som variansanalyse (Lawless & Heymann 2010).

2.3.2 Partest

En partest er en sensorisk metode hvor dommerne blir bedt om å vurdere prøver i par for å påvise eventuelle forskjeller mellom de to. En partest kan for eksempel benyttes for å vurdere hvorvidt en prøve har høyere intensitet ved en gitt egenskap, som sødme eller oksidert smak. Testen kan

for eksempel presenteres med en bestemt egenskap hvor dommerne bes om å vurdere denne egenskapen spesifikt. Denne metoden kalles «Directional paired comparison», og vil i denne oppgaven benyttes som en del av margarinenes kvalitetskontroll (Lawless & Heymann 2010).

2.4 Analytiske metoder

Det har blitt utviklet mange ulike analytiske teknikker for å studere lipidoksidasjon i oljer og fett. Mange av disse kan også benyttes for å måle lipidoksidasjon i emulsjoner, og på bakgrunn av den kjemiske kompleksiteten i lipidoksidasjon må analysen velges med forsiktighet. Det anbefales å benytte minimum en analyse for å oppnå en tilstrekkelig beskrivelse av prosessen (Shahidi & Zhong 2005).

Frankel (2014) har laget en oversikt over lipidoksidasjonsanalyser rangert i redusert rekkefølge med hensyn på nytteverdien for å forutsi stabiliteten eller holdbarheten til et produkt, og er presentert i Tabell 3. Analysene i kursiv benyttes i denne oppgaven og vil bli beskrevet.

Tabell 3: Rangering av lipidoksidasjonsanalyser

Metode	Sensitivitet	Presisjon	Informasjon
<i>Sensorikk</i>	Høy	Lav	Høy
<i>Flyktige komponenter (GC)</i>	Høy	Lav	Høy
Ultrafiolett absorpsjon	Høy	Høy	Lav
Karbynyler	Lav	Høy	Lav
<i>Anisidinverdi</i>	Lav	Høy	Lav
<i>Peroksidverdi</i>	Lav	Høy	Lav
Oksygenopptak	Lav	Høy	Lav
<i>TBA</i>	Lav	Høy	Lav
Karotenbleking	Høy	Lav	Lav
Flyktige syrer (Rancimat)	Lav	Lav	Lav

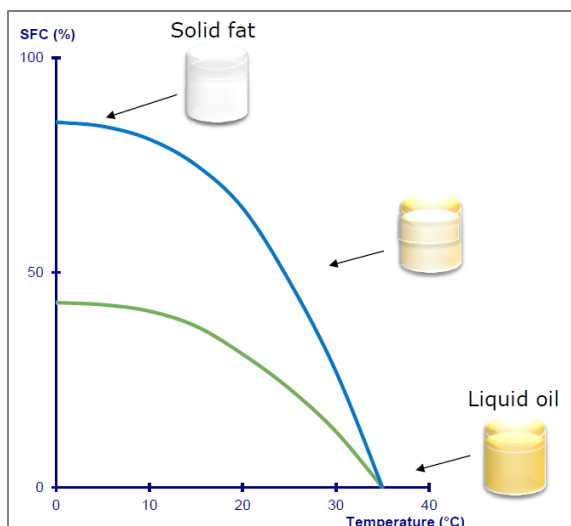
2.4.1 Mikrobiologisk kontroll

For å kontrollere vekst av bakterier, mugg og gjær i et produksjonsanlegg for margarin foreligger følgende tiltak a) en god emulsjon med dråper mindre enn 5 µm har ikke nok næring og er for små til at mikroorganismer kan vokse i dem; b) tilsetning av salt, så vannaktiviteten i vannfasen reduseres; c) justering av pH, slik at bakterier ikke får levedyktige forhold; d) tilsetning av tilsetningsstoffer som kaliumsorbat og e) lave bakterietall allerede i råvarene (Haighton 1976)

Mikrobiologisk sett er vann-i-olje emulsjoner mer stabile enn vannfasen i seg selv, fordi i emulsjonen vil kun en liten del av dråpene være okkupert av mikroorganismer (Chrysan 2005). Det bør likevel eksistere en mikrobiologisk kontroll av kommersiell margarinproduksjon for å sikre en trygg produksjon uten uønskede forurensninger. Familien *Enterobacteriaceae* består av gramnegative, fakultativt anaerobe og stavformede tarmbakterier, og finnes i naturen, dyr og mennesker. Påvisning av *Enterobacteriaceae* indikerer at en prøve er forurenset, og mediet benyttet til denne analysen var et selektivt medium (Jay 2012). Kimtall er et mål på antall bakterier som vokser til synlige kolonier på det benyttede vekstmediet (Lande & Lande 1987). Mediet er sammensatt slik at de fleste bakterier vil kunne vokse frem. Mugg og gjær i næringsmidler kan indikere dårlig kvalitet på råstoff, uriktig behandling eller lagring av næringsmidler og det kontrolleres at forekomsten av mugg og gjær er lav eller ikke eksisterende.

2.4.2 Andel fast fett

Margarin inneholder både flytende olje og fast fett, og forholdet mellom disse avgjør sluttproduktets teksturegenskaper som hardhet og smelteegenskaper. En måte å analysere forholdet mellom fast olje og flytende fett er nuclear magnetic resonance (NMR), som bestemmer andelen fast fett (solid fat content, SFC) i fett og fettblandinger. SFC kan med andre ord gi informasjon om mengden flytende olje og fast fett er blandet riktig i forhold til resepten. SFC måles normalt ved 10, 15, 20, 25, 35 og 40 °C (deMan 2013). Disse temperaturene er bestemt ut fra de fysiske egenskapene en ønsker å vurdere, som for eksempel smeltekurven ved gitte temperaturer. Mengden fast ved 20 °C sier eksempelvis noe om prøvens evne til å motstå oljeutskillelse ved romtemperatur, og mengden fast fett ved 35 °C sier noe om prøvens smelteegenskaper i munnen (O'Brien 2008). Figur 11 viser en oversikt over en typisk smeltekurve for to ulike fettblandinger og konsistensen til oljer ved ulike temperaturer.



Figur 11: Illustrasjon av en SFC kurve for to ulike produkter kan se ut ved ulike temperaturer (Lundin & Persson 2017)

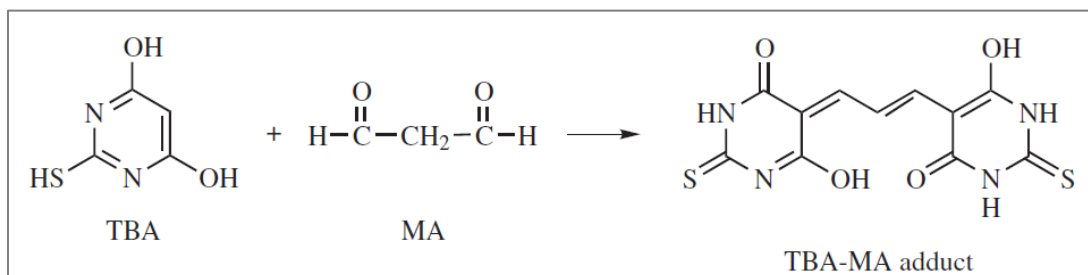
2.4.3 Vanndråpestørrelse og -fordeling

Hvor tett en emulsjon er og dens smeltekarakteristikk har innvirkning på hvor raskt og i hvilken rekkefølge smaker blir oppfattet. Emulsjonens tetthet påvirkes av prosessbetingelsene, emulgatorinnholdet og dannelsen av vannfasen. Dersom vanndråpene er jevnt små eller godt stabilisert av emulgator(er) vil frigivelsen av smak og salt forsinkes. En margarin hvor omtrent 95 % av dråpene har en diameter mellom 1 og 5 μm , 4 % mellom 5 og 10 og 1 % mellom 10 - 20 μm vil gi en behagelig opplevelse i munnen. Dråpestørrelsen har i tillegg innvirkning på produktets mikrobiologiske sensitivitet og til en viss grad konsistens (Chrysan 2005).

Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance (p-NMR) er en metode som kan bestemme dråpestørrelsen i et produkt (Chrysan 2005). Analysen av en margarin vil gi en kurve med fordeling på y-aksen og dråpestørrelse på x-aksen, som gjør det mulig å vurdere hvor mange prosent av dråpene i prøven som er innenfor egne krav eller fordelingen Chrysan (2005) viser til i forrige avsnitt. En annen metode for å vurdere vanndråpestørrelsen og -fordelingen er «Confocal laserscanning microscopy» (CLSM). Lysmikroskopi er en velutviklet og stadig mer brukt teknikk for å studere mikrosystemer i forhold til deres fysiske egenskaper. Det er dog viktig at prøvene ikke har blitt påført skader eller blitt endret når bildene tolkes. Undersøker av mikrostrukturelle endringer i matvarer blir stadig mer vanlig, særlig med den økende tilgjengeligheten av mikroskopiteknikker som CLSM, hvor en kan vurdere *in situ* endringer i mikrostrukturen uten å forstyrre prøvene (Cardona et al. 2013).

2.4.4 TBA-verdi

Ved lipidoksidasjon vil det dannes malonaldehyd (MA), også kalt malondialdehyd (MDA), en mindre komponent av fettsyrer med tre eller flere dobbeltbindinger dannet som et resultat av nedbrytningen av flerumettede fettsyrer. Analysen er basert på at thiobarbitursyre (TBA) reagerer med malonaldehyd, og det dannes et rød-fiolett MA-TBA kompleks som måles spektrofotometrisk ved 532 nm (Shahidi & Zhong 2005).



Figur 12: Reaksjonen mellom 2-thiobarbitursyre (TBA) og malonaldehyd (MA)

Graden av oksidasjon måles som TBA verdi og er uttrykt som milligram MA-ekvivalenter per kilo prøve. Det må i midlertidig bemerkes at alkaner og alkener også kan reagerer med TBA reagensen og danne den rød-fiolette fargen, og er bakgrunnen for at oksidasjonen uttrykkes i TBA-verdi fremfor MA-verdi (Shahidi & Zhong 2005).

2.4.5 Peroksidverdi

Lipidoksidasjon omfatter kontinuerlig dannelse av hydroperoksider som primære oksidasjonsprodukter, som kan brytes ned til en rekke ikke-flyktige og flyktige sekundære komponenter. Dannelsesraten av hydroperoksider oppveier deres dekomponeringsgrad ved den første fasen av oksidasjon, og blir reversert ved senere stadier. Peroksidverdien (PV) er derfor en indikator på innledende stadier av oksidativ endring i et produkt og man kan vurdere om lipidet er i vekst- eller nedbrytningsfasen ved å overvåke mengden hydroperoksider over tid. Peroksidverdier over 100 meq anses som svært oksidert (Frankel 2014).

2.4.6 Anisidinverdi

Anisidinverdien (AV) er definert som absorbansen av en oppløsning som et resultat av 1 gram fett i 100 ml isooktanløsning og reagent (0,25 % p-anisidin i iseddik). Analysen er ment å analysere 2-alkener, men det foreligger ikke direkte bevis for det (Frankel 2014).

Anisidinverdien (p-anisidin value) måler mengden sekundære oksidasjonsforbindelser i en prøve, først og fremst 2-alkenaler og 2,4-alkadienaler grunnet nedbrytning av hydroperoksider. Siden AV representerer innholdet av sekundære oksidasjonsforbindelser blir det ofte benyttet i stedet for eller sammen med PV for å evaluere fett- og oljekvalitet med

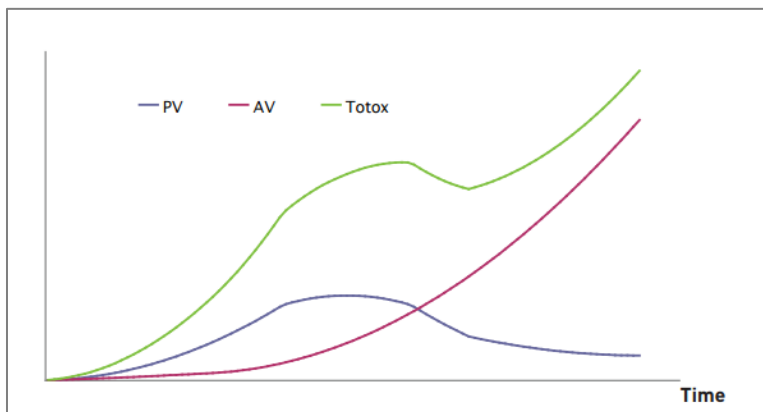
hensyn på lipidoksidasjon (Hu & Jacobsen 2016). Selv om anisidinverdien kan relateres til sensoriske analyser, er andelen smak fra signifikante karbonyler vanskelig å vurdere (Frankel 2014).

2.4.7 TOTOX verdi

TOTOX verdien er en målemetode for total oksidasjon, og inkluderer både primær og sekundær oksidasjon i produktet. Formelen for å finne produktets TOTOX verdi består derfor av peroksid- og anisidinverdien (Shahidi & Zhong 2005):

$$TOTOX = 2 \times PV + AV$$

En olje av god kvalitet bør ha en TOTOX verdi under 4 (Frankel 2014). Som vist Figur 13 kan peroksidverdien synke over tid, så AV- og TOTOX verdien bidrar til et bedre bilde av hele oksidasjonsutviklingen (Miller Ukjent år).



Figur 13: Oksidasjon i olje over tid målt ved AV, PV og TOTOX verdi (Miller Ukjent år).

2.4.8 Gasskromatografi-massespektrometri

Gasskromatografi-massespektrometri (GC-MS) metoder kan måle flyktige oksidasjonsprodukter som enten direkte er ansvarlig for eller fungerer som markører for smaksutvikling i oksiderte lipider. GC-MS kan korreleres med opplevd smak fra sensoriske analyser, og påviser lave nivåer av oksidasjon i ulike oljer og lipider. GC-MS måler hovedsakelig flyktige forbindelser som aldehyder, ketoner og hydrokarboner, og de tre mest vanlige metodene kalles statisk headspace, dynamisk headspace og direkte injeksjon (Frankel 2014). Figur 14 viser en oversikt Frankel (2014) har laget med flyktige oksidasjonsprodukter derivert fra linolenat (n-3 og n-6).

Linoleate volatiles	Threshold values (ppm)	Linolenate volatiles	Threshold values (ppm)
Pentanal	0.15	Propanal	1.6
Hexanal	0.15	2-Pentenal ^a	0.046
2-Heptenal	0.63	3-Hexenal ^a	0.09
2-Octenal	1.0	2,4-Heptadienal ^a	0.055
2-Nonenal/3-nonenal	0.1/0.03	2,6-Nonadienal ^a	0.002
2,4-Decadienal	0.28	3,6-Nonadienal ^a	0.0015
2-Pentyl furan	2.0	2,4,7-Decatrienal ^a	0.15

^a Aldehydes with $n-3$ unsaturation

Figur 14: Sammenligning av terskelverdier mellom flyktige komponenter derivert fra linolenat ($n-6$) og linolenat ($n-3$) (Frankel 2014).

2.5 Statistiske analyser

Moderne statistikk kan benyttes for å finne systematiske mønstre i det som kan anses som et ubeskrivelig kaos. Ronald A. Fisher var blant de første som innså viktigheten av å planlegge eksperimenter på en systematisk måte for å kunne trekke gode konklusjoner i etterkant. Utviklingen frem til i dag har resultert i en rekke statistiske metoder som kan benyttes i mange ulike sammenhenger (Løvås 1999).

Hypotesetesting benyttes hver gang en ønsker å ta stilling til om en hypotese, mistanke eller lignede stemmer eller ikke på bakgrunn av innsamlet data. Enhver slik hypotese har en motsatt hypotese, og kan for eksempel settes opp slik:

H_0 : Margarinprøvene er like

H_1 : Margarinprøvene er ulike

Dette oppsettet er vanlig å benytte i variansanalyse. En hypotesetest kan aldri fastslå helt sikkert hvilken hypotese som er riktig, for det vil alltid være en viss sannsynlighet for at feil konklusjon blir trukket (Løvås 1999).

Variansanalyse er en svært vanlig og anerkjent analyseteknikk som benyttes for å sammenligne gjennomsnitt i mange grupper samtidig. I variansanalyse sammenlignes variasjonen innad i gruppene med variasjonen mellom gruppene. Variansanalysen tester om gjennomsnittet av variansen mellom gruppene er større enn variansen innen gruppene (Løvås 1999).

Variansanalyse vurderer hvorvidt resultatene er signifikante, og det vil si om minst en gruppe eller prøve er forskjellig fra de andre gruppene eller prøvene. Variansanalyse sier derimot ingenting om hvilke grupper som er signifikant ulike fra hverandre, og det er derfor vanlig å utføre *post hoc* tester for å utforske forskjellene mer spesifikt. Den mest brukte metoden innebærer å sammenligne parvis, såkalt «Pairwise comparison». En enkel og ofte brukt metode ble utviklet av Tukey og kalles Tukey HSD (Honestly significant difference) test. Hovedideen bak Tukey HSD er å beregne den signifikante forskjellen mellom to gjennomsnitt ved å benytte statistisk fordeling kalt Q-fordeling (Abdi & Williams 2010).

p-verdi er et nyttig verktøy for å vurdere resultatenes signifikans, og gjør det mulig å forkaste en hypotese. "p-verdien er sannsynligheten for å få et resultat som er like ekstremt som det observerte resultatet - dersom H_0 er riktig". De fleste statistikkprogrammer presenterer slike p-verdier. Ved en lav p-verdi kan en forkaste nullhypotesen uten stor risiko for å gjøre feil. Det er svært vanlig å benytte 0,05 som grense for å forkaste en nullhypotese. Med en grense på 0,05 kan en med 95 % sikkerhet si at nullhypotesen ikke forkastes på feil grunnlag (Løvås 1999).

Korrelasjonsanalyse er et nyttig statistisk verktøy for å undersøke sammenhenger. I denne oppgaven vil korrelasjonsanalyse benyttes for å vurdere hvorvidt ulike analyser viser det samme med hensyn på for eksempel lipidoksidasjon. Multiple factor analysis (MFA) analyserer observasjoner beskrevet av flere blokker eller sett med variabler. MFA søker felles struktur i alle eller noen av datasettene, og er en utvidet analyse av den mer kjente statistiske analysen prinsipalkomponentanalyse. Målet med MFA er å integrere ulike grupper med variabler som beskriver de samme observasjonene (Salkind 2006).

3 Materialer

3.1 Forsøksdesign

Oppgavens forsøksdesign tok utgangspunkt i tre kommersielle margariner i Mills sin portefølje. De tre margarinene var to ulike typer steke- og bakemargariner, og en bakemargarin rettet mot bakeindustrien. Margarinene vil ikke bli omtalt med sine kommersielle navn i denne oppgaven, og navnene baseres derfor på deres hovedforskjeller i reseptene. Oppgaven er basert på Margarin Lsol, Margarin Sa og Margarin MSaLsoy, hvor:

- M = Melk
- Sa = Salt
- Lsoy = Soyalecitin
- Lsol = Solsikkelecitin

Margarin Lsol er en steke- og bakemargarin, og er fri for salt, melk og soya. Margarin MSaLsoy er også en steke- og bakemargarin tilsatt både salt, melk og soyalecitin. Margarin Sa er en bakemargarin fri for både melk og lecitin.

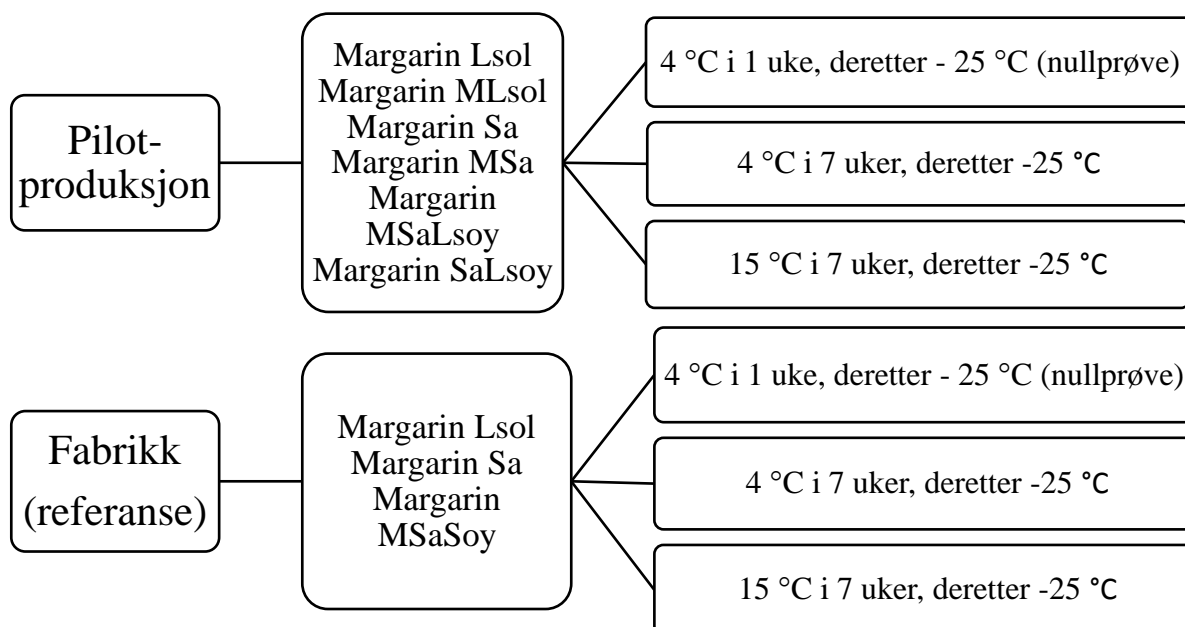
Til oppgaven ble det gjort uttak av disse tre margarinene fra reell produksjon. I tillegg til disse tre prøvene ble det produsert seks ulike typer margarin basert på de tre kommersielle produktene, som presentert i Tabell 4. Tabellen gir oversikt over hvilke margarintyper som inneholder melk, salt og lecitin, samt hvilket anlegg de er produsert ved.

Pilotproduksjonen tok utgangspunkt i de tre fabrikkproduserte prøvene, videre kalt ref. eller referanse. De tre margarinene ble produsert basert på samme resept som i fabrikkskala, og i tillegg ble skummet melk enten tilsatt eller fjernet. I margarinene hvor skummet melk ble tilsatt ble tilsvarende mengde vann fjernet, og i margarinen med melk ble skummet melk erstattet med tilsvarende mengde vann. Fettfasen i margarinene er med andre ord uendret. Pilotproduksjonen ble utført 1. og 2. desember 2016 på Mills DA i Fredrikstad. Uttak fra produksjonslinjene ble utført uken før og påfølgende uke og er oppgitt i Tabell 9.

Tabell 4: Oversikt over margarinprøvene som inngår i oppgaven og hovedforskjellene mellom disse: Innhold av melk, salt og lecitin, samt produksjonslinje.

Produkt	Melk	Salt	Tilsatt lecitin	Produksjonslinje
Lsol ref.	Nei	Nei	0,1 % solsikkelecitin	Fabrikk
Lsol	Nei	Nei	0,1 % solsikkelecitin	Pilot
MLsol	Ja	Nei	0,1 % solsikkelecitin	Pilot
Sa ref.	Nei	Ja	Nei	Fabrikk
Sa	Nei	Ja	Nei	Pilot
MSa	Ja	Ja	Nei	Pilot
MSaLsoy ref.	Ja	Ja	0,25 % soyalecitin	Fabrikk
MSaLsoy	Ja	Ja	0,25 % soyalecitin	Pilot
SaLsoy	Nei	Ja	0,25 % soyalecitin	Pilot

For å kunne vurdere margarinenes kvalitet over tid ble margarinprøvene lagret ved tre ulike temperaturer; 4 °C, 15 °C og -25 °C. Margarintypene benyttet i denne oppgaven var holdbare i 129 dager ved 4 °C, og utløpsdato ble fremskyndet ved å lagre margarinene i syv uker ved 15 °C. Etter syv uker ble samtlige prøver overført til -25 °C, slik at et representativt utvalg for hele holdbarheten var tilgjengelig. Figur 15 viser oppsett for produksjonslinje, resept og lagring. Oppsettet ble ikke balansert etter et bestemt forsøksdesign, og snarere på bakgrunn av Mills Da sitt ønske om å se forskjeller i tre ulike, kommersielle margariner.



Figur 15: Design for prøveuttak til analyser med lagringsbetingelser

3.2 Resepter og næringsinnhold

Etter avtale med Mills DA ble ikke de fullstendige reseptene oppgitt i oppgaven, men de har vært tilgjengelige for forfatter under hele oppgaven. Tabell 5 viser en oversikt over innholdet i de tre kommersielle margarinene. Disse tre margarinene er som tidligere nevnt produsert i pilotskala, i tillegg til at skummet melk er tilsatt eller fjernet. Reseptene hvor fersk skummet melk er fjernet eller tilsatt er derfor ikke inkludert i oversikten, da det er den eneste forskjellen og ikke endrer fettprofilen. MLsol ble ved en feiltagelse produsert med mindre fargestoff enn de andre margarinprøvene, og så derfor synlig lysere ut i fargen enn de andre.

Tabell 5: Varedeklarasjon for de tre kommersielle margarinene

Produkt		
Margarin Lsol	Margarin Sa	Margarin MSaLsoy
Fettfase		
Rapsolje	Rapsolje	Rapsolje
Fullherdet kokos- og rapsolje	Fullherdet kokos- og rapsolje	Fullherdet kokos- og rapsolje
Kokosolje	Kokosolje	Kokosolje
Vitamin A og D		Vitamin A og D
Fargestoff (Betakaroten)	Fargestoff (Betakaroten)	Fargestoff (Betakaroten)
Emulgator (Solsikkelecitin og monoglyserider av fettsyrer)	Emulgator (Monoglyserider av fettsyrer)	Emulgator (Soyalecitin og monoglyserider av fettsyrer)
Vannfase		
Vann	Vann	Vann
Aroma	Aroma	Aroma
	Salt	Salt
		Skummet melk

I Tabell 6 vises næringsinnholdet til de tre kommersielle margarinene per 100 gram. Tabell 7 viser en oversikt over fettsyresammensetning i de tre kommersielle margarinene i prosent.

Tabell 6: Næringsinnhold per 100 g i de tre kommersielle margarinproduktene.

Næringsinnhold per 100 g	Produkt		
	Lsol ref	Sa ref	MSaLsoy ref
Energi	2960 kJ / 720 kcal	2960 kJ / 720 kcal	2960 kJ / 720 kcal
Protein	0 g	0 g	< 0,5 g
Karbohydrater	0 g	0 g	< 0,5 g
<i>Hvorav:</i> <i>Sukkerarter</i>			< 0,5 g
Fett	80 g	80 g	80 g
<i>Hvorav:</i>			
<i>Mettet</i>	34 g	33 g	34 g
<i>Enumettet</i>	28 g	30 g	28 g
<i>Flerumettet</i>	13 g	13 g	13 g
Salt	0 g	2,2 g	2 g
Vitamin A	900 µg		900 µg
Vitamin D	10 µg		10 µg
Vitamin E	14 mg		14 mg

Tabell 7: Fettsyresammensetning i de tre kommersielle margarinene.

Fettsyrer	Produkt		
	Lsol (%)	Sa (%)	MSaLsoy (%)
C4:0-C6:0	0	0	0
C8:0	2	2	2
C10:0	2	2	2
C12:0	15	14	15
C14:0	5	5	5
C15:0	0	0	0
C16:0	6	6	6
C17:0	0	0	0
C18:0	14	13	14
C20:0	1	1	1
C16:1	0	0	0
C18:1	37	38	37
C20:1	1	1	1
C18:2	11	12	11
C18:3	5	6	5
C22:0	0	0	0
Mettet	45	43	45
Enumettet	38	39	38
Flerumettet	17	17	17
Sum	100	100	100

3.3 Fremstilling av margarin

3.3.1 Pilotproduksjon

Ved fremstilling av margarin i pilotanlegget på Mills DA i Fredrikstad ble det gitt prosessopplæring av senior produktutvikler Christiansen (2016) og Olsen (2017). Prosessen startet ved å tilsette rapsolje til emulsjonstanken og varme den opp til ca. 60 °C ved hjelp av kappevann som holdt ca. 80 °C. Videre ble fast fett tilsatt til emulsjonstanken. Det var kritisk at rapsoljen holdt en temperatur høyere enn det faste fettets smeltepunkt for å sikre en homogen fettfase uten krystaller. Etter dette ble resten av ingrediensene fra fettfasen tilsatt og varmet opp til ca. 70 °C. Videre ble ingrediensene i vannfasen tilsatt til emulsjonstanken tilkoblet røreverk med moderat hastighet. Emulsjonen ble så overført til en rørvarmeveksler ved hjelp av en høytrykkspumpe hvor temperaturen ble redusert til 50 – 55 °C. Videre i prosessen ble emulsjonen overført til to skrapevarmevekslere (kjølesone 1 og 2) for ytterligere reduksjon i temperatur og for krystallisering til margarin. Etter kjølesonene ble margارينen ført videre til hvilerøret for å sikre ønskelig konsistens på margارينen ved å gi margارينen hviletid for ytterligere krystallisering.

Da margارينen oppnådde ønsket fasthet ble margارينen pakket manuelt som vist i Figur 16. Figuren viser deler av hvilerøret og oppsettet for manuell pakking av margارينprøvene. Margارينstykkene målte 4 x 4 cm og var mellom 12 og 15 cm lange. Margارينstykkene ble pakket i en tilfeldig valgt folie og overført til et kjølerom som holdt 4 °C for etterkrystallisering i en uke. Tabell 8 viser en oversikt over kjørebetingelsene som ble benyttet til hver av reseptene.



Figur 16: Hvilerør og manuell pakking til ferdig emballert produkt ved fremstilling i pilotskala (Foto: Aurora Olsen).

Tabell 8: Kjørebetingelser for pilotproduksjon av de seks pilotprøvene benyttet i oppgaven.

Prosess		Produkt					
		Lsol	MLsol	Sa	MSa	MSaLsoy	SaLsoy
HTTP	(%)	50	50	50	50	50	50
Emulsjonstank	Produkt (°C)	64,8	65	62,7	65,5	66,3	64,9
Rørvarmeveksler	Kjølevann (°C)	19,0	19,6	18,6	17,7	18,8	18,1
	Produkt (°C)	48,7	58	55,7	51	51,4	53,4
	Settpunkt (°C)	55	55	55	55	55	55
	Pådrag (%)	100	100	100	100	0	0
Kjølesone 1	NH ₃ (°C)	19	20,5	20,5	20,5	20,5	19,5
	Produkt (°C)	27	28,1	29,2	28,4	26,8	26,2
Kjølesone 2	NH ₃ (°C)	-11	-14	-12	-14	-14	-14
	Produkt (°C)	13,9	13,7	13,7	14,4	12,4	12,3
Rotorvann	(°C)	45	44	44	42	42	42

3.3.2 Uttak fra produksjonslinjer

Fra kommersiell produksjon ble det tatt av prøver som ble analysert sammen med pilotprøvene videre i oppgaven. Mills DA har flere prosessanlegg og produksjonslinjer for fremstilling av kommersiell margarin, og har følgelig ulike prosessbetingelser. Disse har vært tilgjengelig i hele perioden, men ble ikke publisert i oppgaven etter avtale med Mills DA. Tabell 9 viser en oversikt over produktene hentet fra produksjonslinjene.

Tabell 9: Produksjonsdato og holdbarhetsdato for produktene fra kommersiell produksjon

	Produkt		
	Lsol	Sa	MSaLsoy
Produksjonsdato	07.12.2016	23.11.2016	08.12.2016
Holdbarhetsdato	15.04.2017	01.04.2017	16.04.2017

4 Metoder

4.1 Standard kvalitetskontroll

Mills har et driftslaboratorium som til daglig kontrollerer produktenes kvalitet fra råvaremottak og til ferdig produkt. Det foreligger et standard oppsett for analyser ethvert produkt skal gjennomgå, og prøvene fra pilotproduksjon ble analysert med samme oppsett.

4.1.1 Vanninnhold

For å sikre at margarinene er produsert med riktig mengde vannfase og fettfase ble margarinenes vanninnhold analysert. Vanninnholdet ble målt samme dag som produksjonen fant sted og uten paralleller.

Et aluminiumsbeger ble tilsatt pimpstein (Swed Handling, Sverige) for å hindre sprut og veid med en New Classic MS vekt (Mettler Toledo, Sveits). Vekten notert med to desimaler. Det ble så tilsatt ca. 10 gram margarin, også her ble vekten notert. Begeret ble overført til en varmeplate av type C-MAG HP 10 (IKA®, Kina) med en temperatur på 385 °C og varmet til alt vannet var fordampet og margarinen endret farge fra gul til nøttebrun. Etter at prøven var avkjølt ble begeret veid på nytt. Vanninnholdet ble regnet ut ved hjelp av følgende formler:

$$\text{Innveid margarin} = \text{Vekt beger med prøve} - \text{vekt beger med pimpstein}$$

$$\text{Fordampet mengde} = \text{Vekt beger med prøve} - \text{vekt beger etter koking}$$

$$\text{Vannprosent} = \frac{\text{Fordampet mengde}}{\text{Innveid margarin}}$$

4.1.2 Saltinnhold

For å måle prøvenes saltinnhold ble det benyttet en automatisk titrator av typen InMotion Flex autosampler (Mettler Toledo, Sveits), hvor prøvene ble titrert mot 0,1 mol/l sølvnitrat, AgNO₃ (VWR, USA). Et 200 ml begerglass ble tilsatt ca. 3 gram margarin, vekten ble notert direkte på titratorens computer fra en New Classic MS vekt (Mettler Toledo, Sveits). Det ble deretter tilsatt ca. 50 ml destillert vann, og begerglasset ble overført til en varmeplate (C-MAG HP 10, IKA®, Kina) for å smelte margarinen. Begerglasset ble rørt i underveis, og når all margarinen var smeltet ned ble glasset overført til titratoren for titrering. Resultatet ble oppgitt i prosent, og målt samme dag som produksjon uten paralleller.

4.1.3 Brytningsindeks

Brytningsindeks er en basis verdi som relateres til molekylær vekt, fettsyrene, grad av umettethet og grad av konjugasjon. Brytningsindeks er graden av avbøyning av en lysstråle som oppstår når den passerer fra et transparent medium til et annet. Brytningsindeks benyttes som en hurtig kontroll for bestemmelse av endepunktet for produktets hydrogeneringsreaksjon (O'Brien 2008). Margarinen brytning ble målt for å kontrollere at margarinen inneholder rett sammensetning fett og oljer, fordi hver olje har sin spesifikke brytningsverdi. Fast fett har en lav brytningsverdi, mens oljer har høyere brytning.

Det ble benyttet et refraktometer av typen RF3M40+ Digital refractometer (Bellingham+Stanley, England). Brytningsindeksen ble målt ved å bruke den fordampede prøven fra 4.1.1 Vanninnhold. Et par dråper fra begeret ble overført til øyet på refraktometeret. Lokket over øyet ble lukket, og refraktometeret leste automatisk prøven og

viste prøvens brytning etter 30 sekunder. Brytningsindeksen ble målt samme dag som produksjon og uten paralleller.

4.1.4 Mikrobiologisk kontroll

Det ble utført mikrobiologiske analyser av de ferdige produktene for å sikre at de er av tilfredsstillende kvalitet og ikke minst trygge å konsumere. Standard kvalitetskontroll inkluderte analysing av produktenes totalantall mikroorganismer, og innholdet av eventuell *Enterobacteriaceae*, mugg og gjær. Følgende petrifilmer ble benyttet for å sikre en effektiv kvalitetskontroll: Aerobic AC (3M, USA), *Enterobacteriaceae* EB (3M, USA) og Rapid Yeast and Mould RYM (3M, USA).

Margarinprøvene ble forberedt til mikrobiologisk kontroll ved at 50 gram margarin ble overført til et sterilt beger (VWR, USA) ved hjelp av en steril skje og smeltet på vannbad ved 45 °C i 30 minutter. 1 ml av vannfasen ble overført til 9 ml peptonvann med en temperatur på 37 °C. Etter prøveforberedelsene ble 1 ml av fortynningen pipettert i senter av bunnfilmen og toppfilmen legges tilbake over prøvematerialet. Væsken ble fordelt mellom de to lagene med film ved å trykke ned toppfilmen med en spreder. Dette var ikke nødvendig med petrifilmen til *Enterobacteriaceae*, men det var viktig at toppfilmen ble rullet ned på prøvematerialet slik at det ikke ble dannet luftbobler. Prøvene ble lagret ved sine anbefalte forhold som vist i Tabell 10 og koloniene ble deretter telt etter oppgitt inkuberingstid. Antall kolonier ble ganget opp med oppgitt fortynning. Ved prøver med mye vekst ble 1 – 4 ruter telt, og gjennomsnittet fra disse ble ganget opp med antall ruter (30 stykker for mugg og gjær, 20 stykker for totalantall).

Tabell 10: Samlet oversikt over mikrobiologisk kontroll med dyrkingsmedie, inkuberingstid og -temperatur, fortynning og beskrivelse av koloniens utseende.

	Analyse		
	Enterobacteriaceae	Totaltall	Mugg og gjær
Dyrkingsmedie	Petrifilm EB	Petrifilm AC	Petrifilm Rapid RYM
Inkuberingstid	24 ± 2 timer	72 ± 3 timer	72 ± 2 timer
Inkuberings-temperatur	37 °C	30 °C	25 – 28 °C
Fortynning	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹
Koloniutseende	Røde kolonier med gass-bobler og/eller gul sone	Alle røde kolonier og mugg	Mugg: Alle kolonier med diffuse kanter og et klart senter. Farge kan variere Gjær: Alle små, brune eller blå-grønne kolonier med definerte kanter, de har ikke et klart senter.

4.1.5 Teksturanalyse

Prøvenes konsistens ble målt en uke etter produksjonsdato ved hjelp av en TA.XT Express Standard (Stable Micro Systems, England). Prøvene ble lagret ved 15 °C og temperaturen ble målt med et håndholdt termometer før analysering. Hardheten ble målt ved at instrumentet førte en sylindrisk probe (TA-40, 10 mm) ned i margarinprøven, plassert minimum 2 cm fra alle kanter. Proben ble løftet opp automatisk fra prøven og hardheten i gram ble lest av på displayet. Dette ble utført tre ganger per prøve med minimum 2,5 cm avstand mellom hvert målepunkt.



Figur 17: Teksturanalyse ble utført med TA.XT Express fra Stable Micro Systems (Foto: Aurora Olsen)

4.1.6 Steketest

For å vurdere stekeegenskapene til de to margarintypene som benyttes til både steking og baking ble det utført en steketest en uke etter produksjonsdato. Det ble brukt en stekepanne (ScanPan, Danmark) med teflonbelegg, en stekeplate av typen IK 35SK (Bartscher, Tyskland) som med ubleket gråpapir plassert over stekepannen som vist i Figur 18. Til steketesten ble 70 gram margarin overført til den romtempererte stekepannen. Stekeplaten ble satt på 180 °C og stekepannen med margarinprøve ble varmet opp uten omrøring. Når margarinen endret farge til nøttebrun og lasermåleren viste 180 °C ble stekepannen dreid to ganger og satt tilbake på varm plate i noen sekunder. Testen ble avsluttet når margarinprøven ikke lenger knitret i pannen, og papiret plassert over pannen ble vurdert. Fordelingen av fettdråper og deres størrelse ble vurdert i henhold til bilder i Figur 19 på en karakterskala fra 1 til 9 hvor 1 er laveste karakter og 9 er høyeste karakter. Alle margariner med stekeegenskaper blir regelmessig testet og må ha karakter 7 eller høyere for å godkjennes til salg. Testen ble utført uten paralleller.



Figur 18: Oppsett for steketest med stekeplate, stekepanne og stativ hvor gråpapiret festes over stekepannen (Foto: Aurora Olsen).

Figur 19 viser DuPonts veiledning for bedømmelse av margariners spredning på det ublekede gråpapiret etter endt steking.



Figur 19: Eksempler på bedømmelse benyttet til karaktersetting av margarinenes stekeegenskaper fra 1 til 9 (Foto: DuPont).

4.1.7 Andel fast fett (Nuclear magnetic resonance, NMR)

De fysikalske, kjemiske og sensoriske egenskapene til en rekke ulike fettholdige produkter kan bestemmes ved å finne andelen fast fett ved en bestemt temperatur (Singh et al. 2002). Dette gjør det eksempelvis mulig å vurdere margarinens smørbarhet rett fra kjøleskapet og smelteevnen i munnen (Freeman & Melnikov 2005). Nuclear magnetic resonance (NMR) kan benyttes for å bestemme andelen fast fett (SFC).

Det ble benyttet NMR for å måle mengde fast fett i margarinprøvene., og instrumentet som ble benyttet heter The Minispec mq 20 NMR analyzer (Bruker, Tyskland). Margarinprøvene ble smeltet ned ved hjelp av et varmeskap på 80 °C og filtrert med filterpapir. 3 ml av fettfasen i prøvene ble overført til fire NMR rør (Samsi, Norge) og plassert på vannbad med en temperatur på 0 °C. Etter en time ble de fire rørene overført til fire ulike vannbad med temperaturer på 35 °C, 30 °C, 20 ° og 10 °C i tretti minutter. Rørene ble tørket fri for vann på utsiden og plassert i Minispec mq 20 for avlesning av mengden fast fett i prosent ved de ulike temperaturene. Analysen ble utført en uke etter produksjonsdato og med tre paralleller.

4.1.8 Sensorisk kvalitetskontroll

En sentral del av kvalitetskontrollen på driftslaboratoriet var en sensorisk vurdering med hensyn på kvalitet. For å følge kvaliteten over tid ble prøvene bedømt fire ganger som vist tabell 11.

Tabell 11: Tidsplan og lagringstemperatur for sensorisk vurdering av kvalitet utført av ekspertpanel på Mills DA.

Tidsplan	Lagringsbetingelser
1 uke	4 °C
5 uker	4 °C
7 uker	15 °C (Utgått holdbarhet)
16 uker	4 °C (Simulert utgått holdbarhet)

Prøvene ble vurdert av et ekspertpanel på det sensoriske rommet på Mills i Fredrikstad. En gruppe på 4 – 9 stykker med ansatte fra laboratoriet og avdeling for produktutvikling. De har begrenset formell opplæring innenfor sensorikk, men lang erfaring med vurdering av kvalitet spesifikt på margarin og er godt kjent med kvalitetsbedømming av margarin. Som presentert i Tabell 12 ble de seks prøvene servert i tre runder, hvor de tre ulike margarintypene ble vurdert i hver sin runde.

Tabell 12 Oppsett for sensorisk bedømmelse

Runde	Produkt 1	Produkt 2
1	Margarin Lsol	Margarin MLsol
2	Margarin Sa	Margarin MSa
3	Margarin MSaLsoy	Margarin SaLsoy

Dommerne ble først bedt om å utføre en partest på prøvene. I denne delen av bedømmelsen ble to prøver vurdert opp mot hverandre i tre par som vist i Tabell 12. Dommerne ble spurt om en av prøvene hadde mer oksidert lukt og smak enn den andre, og markerte dette med +, - eller 0 i skjemaet som vist i vedlagt bedømmelsesskjema. Utførelsen av testen skiller seg noe fra metoden nevnt i teoridelen. Normalt sett blir dommerne bedt om å velge blant en av de to prøvene, mens i denne oppgaven var det også mulig å velge at verken av prøvene ble oppfattet som mer oksidert. Dette ble gjort på bakgrunn av antagelser om at noen av prøvene hadde marginale eller ingen forskjeller og at en tvungen besvarelse derfor kunne medført i konklusjoner på feil grunnlag.

Prøvene ble så vurdert med tilsvarende kvalitetskontrollbedømmelse som fabrikkprodusert margarin. Vedlagt som vedlegg 4 ligger en oversikt med begreper som ble benyttet ved bedømmelsen. I denne delen av bedømmelsen ble det benyttet en skala fra 1 til 9 med hensyn på kvalitet. Karakter 1 er lavest mulig kvalitet og 9 er høyest mulig kvalitet, og karakter 7, 8

og 9 anses som godkjent for salg. Prøvenes samlede lukt, smak og konsistens ble vurdert og eventuelle kommentarer ble notert. Vedlagt som vedlegg 3 ligger skjemaet som ble benyttet til partest og ordinær sensorisk kvalitetsbedømming av prøvene.

Prøvene ble servert i hvite skåler med en tresifret, tilfeldig kode som vist i Figur 20. Margarinprøvenes endestykker ble skjært bort, og de ble servert skiver som var 1,5 cm brede. Dommerne ble instruert til å smake fra prøvenes senter, for å sikre at fotooksidasjon ikke påvirket bedømmelsen. Dommerne smakte på 2 – 3 gram og smakte i flere omganger om nødvendig. Det var viktig at dommerne hadde prøven i munnen lenge nok til at nedsmeltningsevnen også ble vurdert, før de spyttet ut prøven.



Figur 20: Oppsett for servering av prøver ved sensorisk vurdering av kvalitet på Mills DA

4.2 Vanndråpestørrelse og -fordeling

4.2.1 Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM)

Vanndråpestørrelse og -fordeling i margarinene ble bestemt i henhold til vedlegg 13, og ble utført av DuPont ved hjelp av «confocal laser scanning microscopy».

4.2.2 Nuclear magnetic resonance (NMR)

Vanndråpestørrelse og -fordeling i margarinene ble bestemt i henhold til vedlegg 12, og ble utført av DuPont ved hjelp av p-Nuclear magnetic resonance (p-NMR)

4.3 Fluorescensspektroskopi

Fluorescensspektroskopi er en hurtig og ikke-destruktiv metode som har vist god korrelasjon med sensorisk analyse for fotooksidasjon (Veberg et al. 2007). Studier har vist høy korrelasjon mellom fluorescens og sensoriske egenskaper som harsk, syrlig og solsmak som

kan indikere at metoden er relevant for å måle et produkts kvalitet relatert til fotooksidasjon (Wold et al. 2006).

Det henvises til metodebeskrivelse i studiet utført av Veberg et al. (2007). Analysen ble utført av Jens-Petter Wold ved Nofima.

4.4 Kvantitativ beskrivende analyse

Det ble utført en kvantitativ beskrivende analyse (QDA) i forbindelse med oppgaven.

Analysen ble utført over to dager med tre forforsøk 17. januar og hovedforsøket 19. januar.

Dette ble utført hos Nofima på Ås i deres sensoriske laboratorium bygget og innredet i samsvar med kravene i ISO 8589:1988 *General Guidance for the design of test rooms*.

Laboratoriet har separate bedømmelsesbåser, standard belysning og et eget

ventilasjonsystem, og båsene er avbildet i Figur 21. Den beskrivende analysen ble utført av et sensorisk panel bestående av åtte trente dommere. Dommerne er valgt ut på grunnlag av sin evne til å karakterisere lukt og smak som tilfredsstillende krav i ISO-8586-1:1993. Panelet blir regelmessig trent, testet og kontrollert.



Figur 21: Bedømmelsesbåsene og serveringsgangen på Nofimas sensorikklaboratorium

QDA ble utført med et utvalg prøver produsert i pilotskala som vist i

Tabell 13. Tre av ni prøver var frysede og ble overført til et kjølerom med en temperatur på 4 °C et døgn i forkant av analysen. De seks prøvene lagret ved 15 °C ble også overført til 4 °C et døgn i forveien. Samtlige prøver ble først lagret ved 4 °C i en uke.

Tabell 13: Oversikt over prøver og deres lagringsbetingelser benyttet i QDA

Prøve	Lagringsbetingelser
Margarin Lsol Fryst	-25 ° i syv uker
Margarin Lsol	15 ° i syv uker
Margarin MLsol	15 ° i syv uker
Margarin Sa Fryst	-25 ° i syv uker
Margarin Sa	15 ° i syv uker
Margarin MSa	15 ° i syv uker
Margarin MSaLsoy Fryst	-25 ° i syv uker
Margarin MSaLsoy	15 ° i syv uker
Margarin SaLsoy	15 ° i syv uker

I forkant av hovedforsøket ble det sensoriske panelet kalibrert ved hjelp av tre forforsøk. I denne delen ble panelet trent i bruk av de valgte egenskapene. I kalibreringen ble prøvene Margarin MSa og Margarin Lsol benyttet. Gjennom diskusjoner kom dommerne frem til 24 egenskaper som skulle vurderes, oppført i Tabell 14. En mer detaljert beskrivelse ligger vedlagt som vedlegg 9.

Tabell 14: Oversikt over lukt- og smaksegenskaper benyttet i QDA

Lukt	Smak		Tekstur
Total luktintensitet	Total smaksintensitet	Vegetabilsk olje	Fasthet
Syrlig	Syrlig	Oksidert	Smelteevne
Meierismør	Søt	Emmen	Fyldighet
Vegetabilsk olje	Salt	Harsk	Fethet
Oksidert	Bitter	Besk	Glatthet
Emmen	Meierismør		Ettersmak
Harsk			

Margarinprøvene ble servert i hvite plastbegre merket med en tresifret tilfeldig kode. Begrene var dekket med et lokk for å isolere prøvenes aroma. I forforsøk nummer 1 ble prøvene servert i terninger på 1 x 1 x 2 cm. Dette viste seg å være tidkrevende ved tillaging og resulterte i for lite prøvemateriale for dommerne. I forforsøk nummer 2 ble prøvene derfor servert som to halve skiver med en bredde på ca. 1,5 cm hvor dommerne selv kunne velge mengde prøve ved hjelp av en skje som vist Figur 22. Prøvene ble servert ved 17 °C ± 2 °C og ble tatt ut av kjølerommet ti minutter før servering. Ingen av egenskapene ble endret i dette forforsøket, og forforsøk nummer 3 og hovedforsøk ble utført på samme måte som forforsøk nummer 2 som vist i Figur 22.



Figur 22: Servering av prøver i forforsøk 2, 3 og hovedforsøket.

Serveringsrekkefølgen var styrt og prøvene ble derfor servert i en forhåndsbestemte rekkefølge som var ulik for de åtte dommerne. Dommerne bedømte prøvene og noterte prøvens kode og dens karakter. Prøvene ble bedømt med en ustrukturert skala, vist i vedlagt i vedlegg 10 bedømmelsesskjema. Skalaen går fra 1 til 9 fra ingen intensitet til tydelig intensitet med markerte endepunkter. Softwareprogrammet EyeQuestion ble benyttet for å samle dommernes bedømmeler.

4.5 Kjemiske analyser for måling av lipidoksidasjon

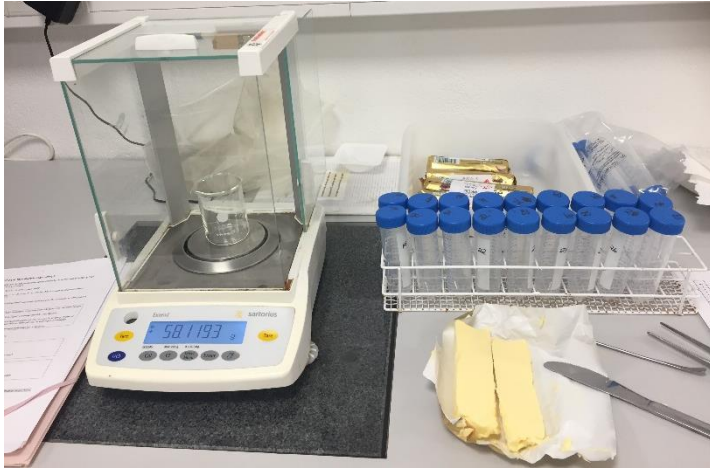
4.5.1 Thiobarbitursyre (TBA)

Metoden benyttet i denne oppgaven for å finne produktens TBA verdi er beskrevet av Buege og Aust (1978). Det ble laget 1 liter TBA stockløsning bestående av 0,375 % TBA og 15 % TCA i 0,25 N HCl. Mengde kjemikalier til stockløsningen er oppført i Tabell 15.

Tabell 15: Kjemikalier benyttet for å lage stockløsning til TBA.

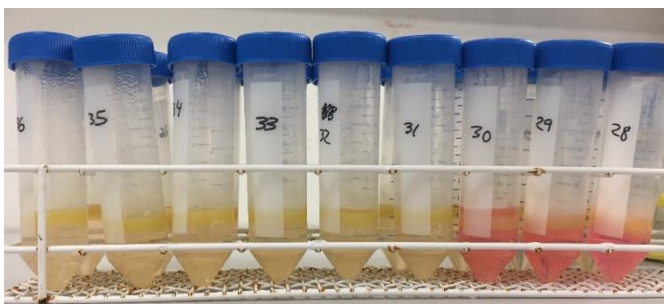
Mengde	Kjemikalie	Leverandør
3,75 gram	TBA	Sigma-Aldrich (Merck), Tyskland
150 gram	TCA	Merck, Tyskland
250 ml	1 M HCl	Merck, Tyskland
Justeres opp til 1 liter totalt med destillert vann		

Kjemikaliene i Tabell 15 ble blandet i en 1 l målekolbe. Målekolben ble først tilsatt litt destillert vann, før 1 M HCl, TBA og TCA ble tilsatt. Det ble til slutt tilsatt destillert vann til et totalt volum på 1 l. TBA pulveret var vanskelig å løse opp, og kolben med stockløsning ble derfor varmet opp i vannbad på 80 °C under konstant røring for å sikre at all TBA kornene ble fullstendig oppløst.



Figur 23: Prøveoppveing til TBA

Det var ønskelig å finne TBA-verdien til samtlige prøver, med andre ord de seks pilotproduserte og de tre referanseprøvene fra fabrikkproduksjon. Prøver lagret ved 15 °C i 7 uker, ved 4 °C i syv uker samt fryst en uke etter produksjonsdato (nullprøve) ble inkludert i analysen, totalt 27 ulike prøver. Det ble laget tre paralleller av samtlige, og følgelig ble TBA verdien analysert i totalt 81 prøver. Først ble margarinprøvene delt i to på langs, og det ble skjært ut margarin fra prøvenes senter. Det ble veid opp 2 gram av hver margarin i 50 ml falconrør (Greiner Bio One, Østerrike). Nøyaktig vekt margarinprøve ble notert, og falconrørene med margarin ble tilsatt 10 ml TBA stockløsning i avtrekksskap. Rørene ble satt på vannbad med en temperatur på 99,9 °C i ti minutter, før de ble avkjørt i en kum med kaldt springvann for å sikre hurtig avkjøling. Mens prøvene fremdeles var varme ble de ristet for hånd for å sikre at TBA stockløsningen var godt blandet med den smeltede margارين. Som vist i Figur 24 var det stor variasjon i fargen på prøvene, og margarinens fettfase stivnet og la seg som et lokk over den flytende fasen bestående av margarinens vannfase og TBA stockløsning.



Figur 24: Eksempel på variasjon i grad av rød-fiolett farget kompleks

Da prøvene var helt avkjølt ble 1,5 ml av hver prøve overført til et 2 ml eppendorfrør (Axygen Scientific, USA). For å hindre at fettfasen ble overført ble det stukket et lite hull i den

stivnede fettfasen og væskefasen ble tilgjengeliggjort for overføring til eppendorfrørene. Rørene ble sentrifugert ved 215 rpm i 25 minutter ved 4 °C. Etter dette ble 200 µl av væskefasen i prøvene overført til hver sin brønn på en mikroplate av typen Microplate 96/u-PP Eppendorf plate (Greiner Bio One, Østerrike). Prøvenes absorbans ble lest av ved 532 nm ved hjelp av en mikroplateleser av typen Biotek synergy H4 Hybrid Reader (Biotek, USA) som vist i Figur 25. Det ble i tillegg overført 200 µl av TBA stockløsningen uten margarin i tre paralleller som ble benyttet som blankprøve i utregningen. Absorbansverdiene ble brukt til å regne ut TBA-verdien til de 27 ulike prøvene, og utregningen ligger vedlagt i vedlegg 5.



Figur 25: Mikroplateleser benyttet til å måle prøvenes absorbans ved 532 nm.

4.5.2 Peroksidverdi

Peroksidverdien i margarinene ble bestemt i henhold til vedlegg 6, og ble utført av DuPont.

For å kunne vurdere PV som en funksjon av tid ble prøvene analysert i tidlig fase (lagret ved -25 °C eller 4 °C) og ved lagring i 7 uker på 15 °C (utløpt holdbarhet). Det ble ikke utført paralleller ved denne analysen.

4.5.3 Anisidinverdi

Anisidinverdien i margarinene ble bestemt i henhold til vedlegg 7 av DuPont.

Analysen ble utført ved de samme lagringsbetingelsene som peroksidverdi, og det ble ikke utført paralleller ved denne analysen.

4.5.4 TOTOX verdi

TOTOX verdien er et resultat av peroksid- og anisidinverdien, og måler total oksidasjon i et produkt (Shahidi & Zhong 2005):

$$TOTOX = 2 \times PV + AV$$

4.6 Gasskromatografi-massespektrometri

Dynamisk headspace-gasskromatografi-massespektrometri (DHS-GCMS) av flyktige oksidasjonsprodukter ble utført på to prøver som ble vurdert som henholdsvis lite harsk og svært harsk ved andre analyser (som beskrevet ovenfor). Analysen ble utført av Nofima og resultatbearbeidelsen ble utført av Gjermund Vogt ved Eurofins. Basert på resultatene fra andre analyser som målte oksidasjonsprodukter i margarinprøvene ble to prøver valgt ut, henholdsvis en prøve med lave oksidasjonsverdier og med høye oksidasjonsverdier. Metodebeskrivelsen finnes vedlagt som vedlegg 8.

4.7 Databearbeiding og statistiske analyser

R Commander (R Studio, USA) ble benyttet for behandling og fremstilling av statistiske analyser, herunder variansanalyse, Tukey's HSD test, korrelasjonsmatrise (Pearsons) og multiple factor analysis. Det trente panelet på Nofima brukte EyeQuestion Software (Logic8 BV, Nederland) for å registrere data fra QDA, og det ble kjørt 2-veis variansanalyse ved hjelp an PanelCheck.

5 Resultater

5.1 Standard kvalitetskontroll

5.1.1 Vanninnhold, saltinnhold og brytningsindeks

Tabell 16 viser en samlet oversikt over margarinprøvenes salt-, vanninnhold og brytningsindeks. Grenseverdiene for de tre kommersielle reseptene er også oppført med øvre og nedre grense, som er kravet til godkjente produktet. Disse vil også benyttes for de tre margarinprøvene hvor melk enten er fjernet eller tilsatt, da denne endringen ikke medfører noen endring i prøvenes innhold av salt, vann eller fettsammensetning.

Tabell 16: Margarinprøvenes salt- og vanninnhold, deres brytningsindeks og grenseverdiene per resept.

Produkt	Vann (%)	Grenseverdier, vann (%)	Salt (%)	Grenseverdier, salt (%)	Brytningsindeks	Grenseverdier, brytningsindeks
Lsol ref.	19,5	20,0 ± 3,5	0	0 ± 0,3	1,4558	1,4558 ± 0,0005
Lsol	19,7		0		1,4558	
MLsol	19,6		0		1,4558	
Sa ref.	19,6	17,8 ± 3,5	2,5	2,2 ± 0,3	1,4560	1,4561 ± 0,0005
Sa	17,9		1,9		1,4560	
MSa	16,3		1,9		1,4561	
MSaLsoy ref.	18,1	17,7 ± 3,5	1,9	1,8 ± 0,3	1,4560	1,4558 ± 0,0005
MSaLsoy	17,6		1,8		1,4559	
SaLsoy	17,5		1,9		1,4559	

Resultatene fra standard kvalitetskontroll av vann, salt og brytning viser at samtlige prøver er innenfor de gitte grenseverdiene. Det er noe variasjon i prøvenes vann- og saltinnhold, og størst variasjon hos Sa ref, Sa og MSa.

5.1.2 Mikrobiologisk kontroll

Tabell 17 gir en oversikt over antall kolonidannende enheter (CFU) på de tre ulike petrifilmene benyttet i standard mikrobiologisk kontroll av margarin på Mills DA Fredrikstad.

Tabell 17: Resultatet fra avlesning av mikrobiologisk kontroll av *Enterobacteriaceae*, mugg, gjær og totalantall oppgitt i CFU med tilhørende grenseverdier.

Grenseverdi	Enterobacteriaceae (CFU) ≤ 100	Mugg (CFU) ≤ 30	Gjær (CFU) ≤ 100	Totalantall (CFU) ≤ 10 000
Lsol ref	<10	<10	<10	<10
Lsol	<10	<10	<10	<10
MLsol	<10	<10	<10	<10
Sa ref	<10	<10	<10	<10
Sa	<10	10	<10	<10
MSa	<10	<10	<10	<10
MSaLsoy ref	<10	<10	10	10 000
MSaLsoy	<10	<10	<10	<10
SaLsoy	<10	<10	<10	<10

Resultatene fra avlesningene som presentert i Tabell 17 viser at samtlige prøver utenom Sa og MSaLsoy ref var godt under maksimumskravet for antall kolonidannende enheter for *Enterobacteriaceae*, mugg, gjær og totalantall. Avlesning av petrifilmen for mugg og gjær viste at både Sa og MSaLsoy ref var 10 CFU, men fremdeles under kravet på henholdsvis maksimalt 30 CFU for mugg og 100 CFU for gjær. Totalantall mikroorganismer i margarinprøven MSaLsoy på grensen med 10 000 CFU.

5.1.3 Steke- og reologiske egenskaper

Tabell 18 viser resultatet fra teksturanalyse og steketest utført på margarinene en uke etter produksjonsdato. Fasthetsmålingen måles i gram, mens steketesten er oppgitt i karakter fra 1 til 9 hvor 1 er dårlig kvalitet med mye sprut og 9 er best med lite eller ingen sprut. Fasthetsmålingen er utført med tre paralleller og viser gjennomsnittet, mens steketesten er utført en gang per prøve. Steketesten ble utført på margarinene hvor bruksområdet inkluderer steking, og er derfor ikke utført på Sa ref, Sa og MSa som er rene bakemargariner.

Tabell 18: Resultat fra teksturanalysen og tilhørende grenseverdier oppgitt i gram og karakter fra steketest fra 1 til 9.

Produkt	Fasthetsmåling (g)	Typiske verdier (g)	Steketest (Karakter 1 – 9)
Lsol ref.	690	450 - 700	7
Lsol	594		8,5
MLsol	537		9
Sa ref.	477	320 - 520	N.A*
Sa	436		N.A*
MSa	482		N.A*
MSaLsoy ref.	504	300 - 600	9
MSaLsoy	483		9
SaLsoy	557		9

* Ikke utført på disse prøvene da de er bakemargarin og ikke stekemargarin.

Fasthetsmålingene viser at samtlige prøver er innenfor grenseverdiene oppgitt i samme tabell. Det er noe variasjon blant prøvene med utgangspunkt i samme resept, men ingen verdier over eller under grenseverdiene som er satt. Karakterene fra steketesten varierer noe blant de ulike produktene, men ingen fikk karakter lavere enn 7. Lsol ref fikk dårligst karakter, mens de pilotproduserte variantene med og uten melk fikk følgelig karakter 9 og 8,5. MSaLsoy ref, MSaLsoy og SaLsoy fikk høyeste mulige karakter og kom best ut i testen.

5.1.4 Andel fast fett (SFC)

Andel fast fett (SFC) ved fire ulike temperaturer ble målt ved hjelp av nuclear magnetic resonance (NMR) og resultatet fra analysen er presentert i Tabell 19. De oppgitte grenseverdiene er standard grenseverdier for de tre kommersielle margarinene. Disse ble også benyttet for pilotprøvene hvor skummet melk enten ble tilsatt eller fjernet da fettfasen i margarinene er uendret.

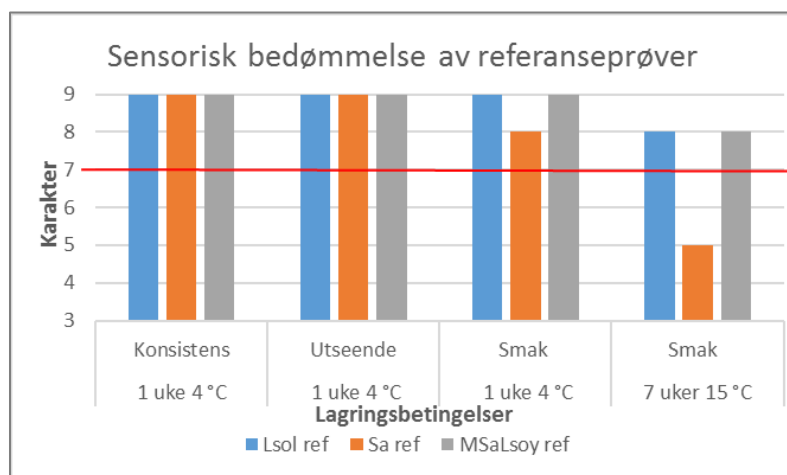
Tabell 19: Mengde fast fett i margarinprøvene i % og tilhørende grenseverdier ved 10 °C, 20 °C, 30 °C og 35 °C. Rød bakgrunnsfarge indikerer verdier utenfor verdigrensen.

Produkt	10 °C (%)	Grense verdi (%)	20 °C (%)	Grense verdi (%)	30 °C (%)	Grense verdi (%)	35 °C (%)	Grense verdi (%)
Lsol ref	33,4	32,2 ± 0,5	19,5	19,4 ± 0,5	7,4	7,5 ± 0,5	4,4	4,6 ± 0,5
Lsol	32,5		19,7		7,2		4,2	
MLsol	31,3		17,6		6,4		4,0	
Sa ref	30,8	30,2 ± 0,5	17,4	17,8 ± 0,5	6,2	6,9 ± 0,5	3,8	4,5 ± 0,5
Sa	31,0		17,9		6,4		3,9	
MSa	32,7		19,4		7,1		4,4	
MSaLsoy ref	32,2	32,2 ± 0,5	18,8	19,4 ± 0,5	7,1	7,5 ± 0,5	4,4	4,6 ± 0,5
MSaLsoy	32,4		19,2		7,1		4,2	
SaLsoy	32,6		19,6		7,3		4,2	

Resultatet fra mengden fast fett ved 10 °C, 20 °C, 30 °C og 35 °C viser at seks av ni margariner har verdier utenfor de fastsatte grenseverdiene. Lsol ref, Sa ref og Sa har for høy andel fast fett ved 10 °C, mens MLsol har for lav andel ved samme temperatur. Ved 20 °C har både MLsol og MSaLsoy ref høyere andel fast fett enn grenseverdiene. Ved 30 °C og 35 °C har MLsol, Sa ref og Sa lavere andel fast fett enn de fastsatte grenseverdiene.

5.1.5 Sensorisk kvalitetskontroll

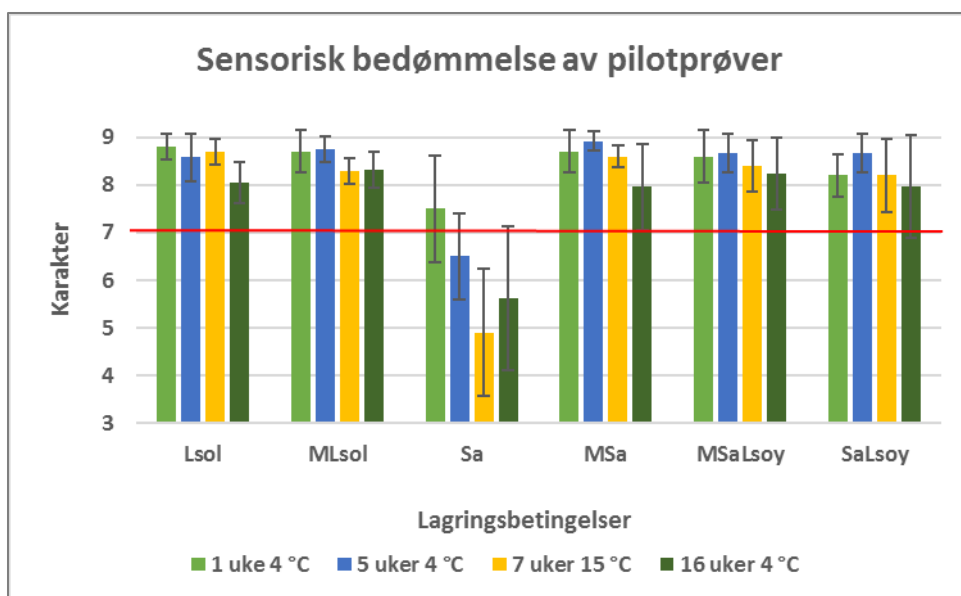
Som en del av standard kvalitetskontroll ble margarinprøvene fra fabrikk vurdert med hensyn på sensorisk kvalitet. Prøvene ble først vurdert sensorisk en uke etter produksjonsdato med hensyn på generell lukt, tekstur og smak, samt med hensyn på sistnevnte etter syv uker. Figur 26 viser resultatet fra denne vurderingen. Den røde linjen indikerer grensen for et godkjent produkt.



Figur 26: Sensorisk bedømmelse av referanseprøver i henhold til standard kvalitetskontroll og en skala fra 1 - 9. Rød linje indikerer kravet til kvalitet for at prøven anses som godkjent.

Resultatet fra den sensoriske bedømmelsen av referanseprøver viser at det kun var Sa ref som ble underkjent, og først etter 7 ukers lagring ved 15 °C. Ved bedømmelsene etter en uke fikk samtlige prøver full score, med unntak av Sa ref med hensyn på smak. Ved bedømmelsen seks uker senere ble Lsol ref og MSaLsoy trukket en karakter, og Sa trukket ned til 5.

Pilotprøvene ble vurdert sensorisk av ekspertpanelet med en hyppigere frekvens, men med tilsvarende krav. Figur 27 viser resultatet fra de fire bedømmelsene, også her med en rød linje som viser grensen for å godkjenne produktet. Margarinenes tekstur og lukt ble også vurdert, men er ikke presentert da det ikke var signifikante forskjeller mellom produktene.



Figur 27: Resultat fra sensorisk bedømmelse av margarinprøvene ved ulike lagringsbetingelser med hensyn på kvalitet. Rød linje indikerer kravet til kvalitet for å godkjenne en prøve, og de svarte markørene indikerer standardavvikene.

Resultatet fra den sensoriske bedømmelsen viser at pilotprøvene Lsol og MLsol scorer høyt og over grensen på 7 ved samtlige bedømmelser. Lsol får marginalt lavere snittkarakter enn MLsol. Tilsvarende trend er også gjeldende for MSaLsoy og SaLsoy, her får begge prøvene høyere karakterer enn 7 ved alle fire bedømmelsene og tidvis lavere score for varianten uten melk. Sa skiller seg klart ut fra de andre med karakter lavere enn 7 på tre av fire bedømmelser, og ble kun godkjent ved første bedømmelse. Tilsvarende pilotprøve tilsatt melk får langt høyere karakter og ingen karakterer under 7.

Det ble også utført en partest av et ekspertpanel for å undersøke hvorvidt det var forskjell på pilotprøvene med og uten melk med hensyn på egenskapen oksidert/harsk smak. Prøvene som

ble vurdert mot hverandre hadde samme resept som utgangspunkt, og skummet melk ble følgelig enten tilsatt eller erstattet av vann. Tabell 20 viser resultatet fra partesten.

Tabell 20: Antall besvarelser, deres besvarelse og krav til antall like besvarelser for å oppnå signifikans på 95 % nivå

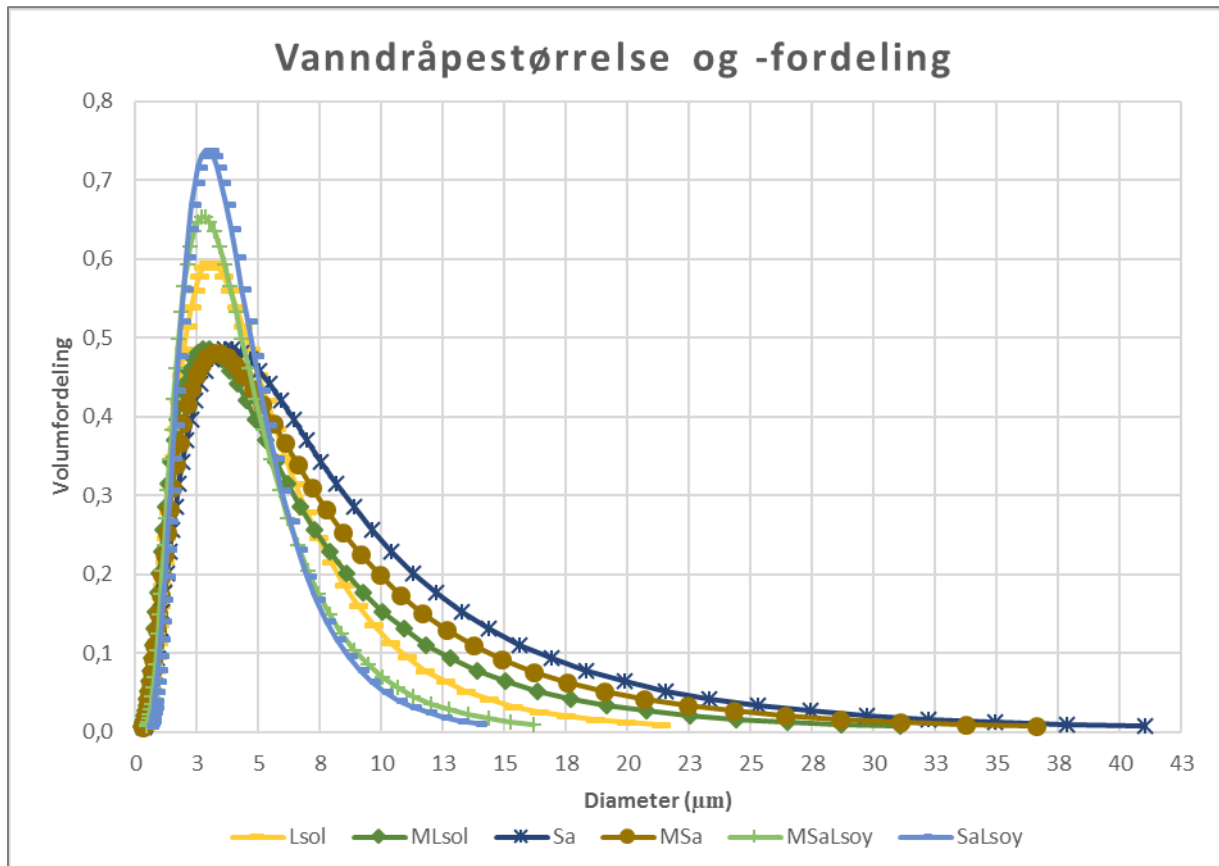
Prøve	Lagrings- betingelser	Antall dommere		
		Deltok	Krav ($p < 0,05$)	Bedømt som mest oksidert
Lsol	1 uke, 4 °C	5	5	0
MLsol		5	5	5
Lsol	5 uker, 4 °C	6	6	3
MLsol		6	6	0
Lsol	7 uker, 15 °C	5	5	0
MLsol		5	5	4
Lsol	16 uker, 4 °C	8	7	5
MLsol		8	7	2
Sa	1 uke, 4 °C	5	5	5
MSa		5	5	0
Sa	5 uker, 4 °C	6	6	6
MSa		6	6	0
Sa	7 uker, 15 °C	5	5	5
MSa		5	5	0
Sa	16 uker, 4 °C	8	7	8
MSa		8	7	0
SaLsoy	1 uke, 4 °C	5	5	0
MSaLsoy		5	5	1
SaLsoy	5 uker, 4 °C	6	6	1
MSaLsoy		6	6	1
SaLsoy	7 uker, 15 °C	5	5	1
MSaLsoy		5	5	1
SaLsoy	16 uker, 4 °C	8	7	3
MSaLsoy		8	7	2

Resultatet fra partesten viser at MLsol kun ble ansett som mest oksidert ved lagring i en uke ved 4 °C, men ikke ved bedømmelse med lenger lagringsperiode. Sa ble vurdert som mest oksidert ved fire av fire bedømmelser. Verken Lsol, MSa, MSaLsoy eller SaLsoy ble vurdert som mest oksidert ved noen av bedømmelsene.

5.2 Vanndråpestørrelse og -fordeling

5.2.1 Nuclear magnetic resonance (NMR)

Figur 28 viser vanndråpestørrelse og -fordelingen til de seks pilotprøvene produsert i forbindelse med oppgaven analysert ved hjelp av NMR.



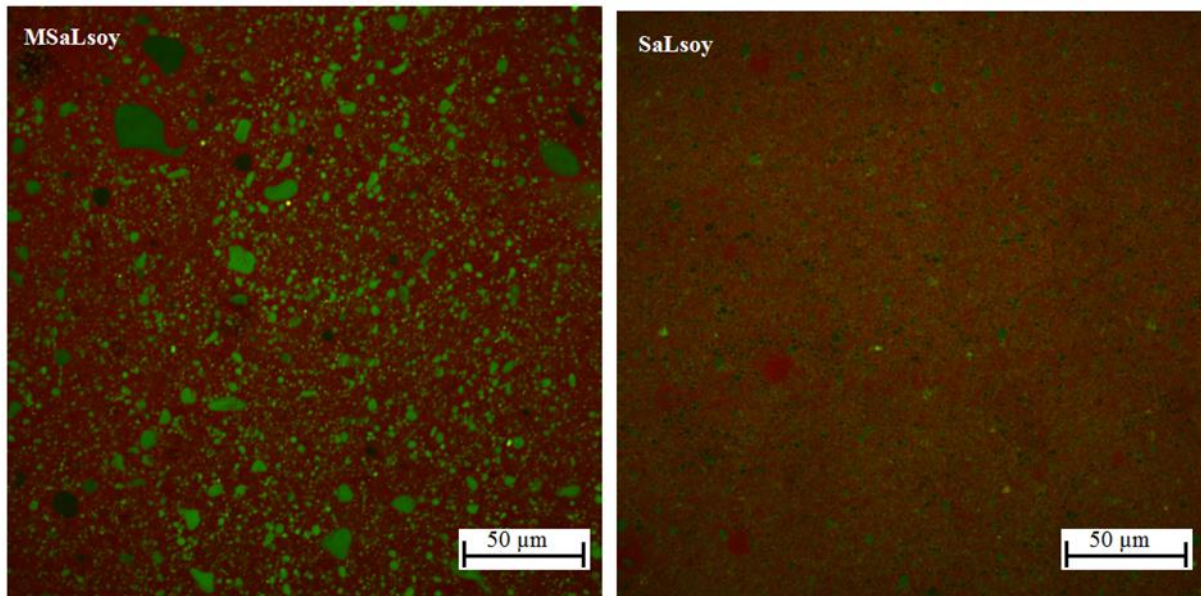
Figur 28: Dråpefordeling og dråpestørrelse oppgitt i µm for de pilotproduserte margarinprøvene, hvor y-aksen viser fordelingen og x-aksen viser dråpestørrelsen fra 0 til 1..

Den høyeste toppen i kurven er margarinprøven SaLsoy, denne prøven har med andre ord den største andelen dråper som er mindre enn 5 µm. MSaLsoy har også en høy topp og en stor andel med dråper mindre enn 5 µm. Litt under de to andre toppen ligger Lsol, og har til sammenligning med MLsol en større andel mindre dråper. Når SaLsoy sammenlignes med MSaLsoy og Lsol med MLsol har begge variantene med melk en mindre andel små vanndråper. Tilsvarende trend er ikke like synlig for Sa og MSa, hvor Sa har en minimalt synlig høyere topp enn MSa.

5.2.2 Confocal laserscanning microscopy (CLSM)

Det ble tatt fire bilder av hver av de ni margarinprøvene inkludert i oppgaven. Figur 29 viser to CLSM bilder av MSaLsoy og SaLsoy, og er valgt ut på bakgrunn av at de viser stor forskjell i

28. Resten av bildene er ikke tatt med i oppgaven, og årsaken til dette blir diskutert i diskusjonsdelen.

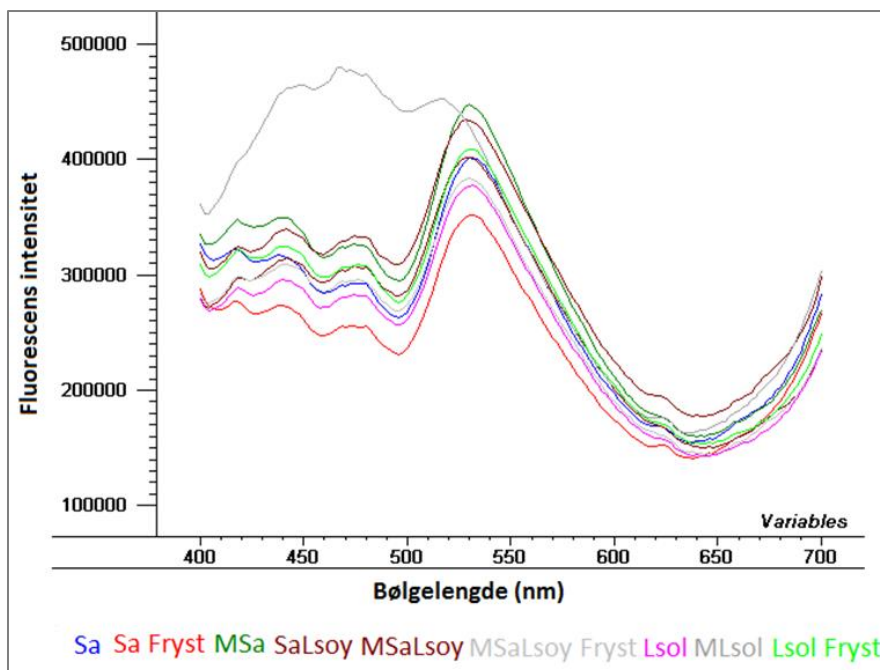


Figur 29: CLSM bilder av MSaLsoy og SaLsoy. Måleindikatoren viser 50 μm .

Bildene varierer veldig i forhold til hvor mange dråper man ser, og det er langt flere godt synlige vanddråper på bildet tatt av MSaLsoy. MSaLsoy har både store og små dråper, mens SaLsoy ser ut til å ha svært få store dråper sammenlignet med MSaLsoy.

5.3 Fluorescensspektroskopi

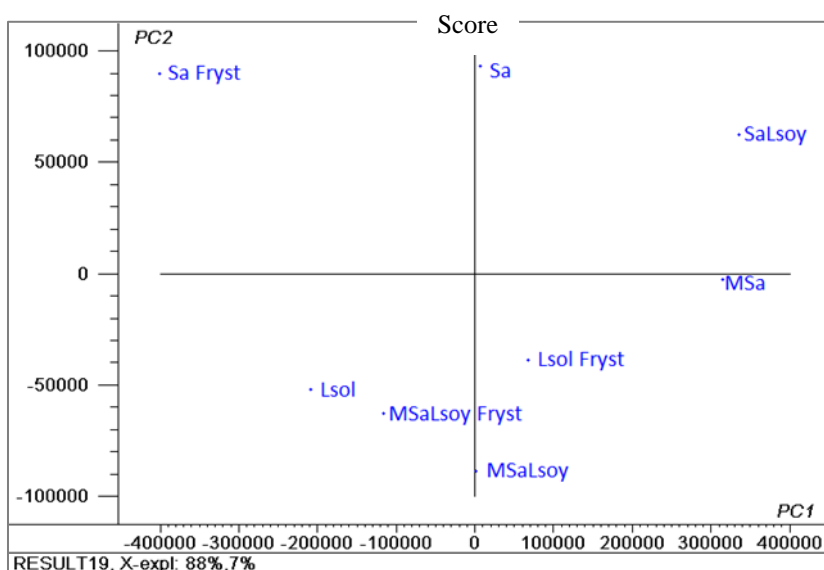
Figur 30 viser resultatet fra fluorescensspektroskopi utført på seks av pilotprøvene lagret ved 15 °C i syv uker, og tre pilotprøver som ble lagret ved -25 °C like lenge. MLsol ble som nevnt i materialer og metoder tilsatt for lite farge og var en del lysere enn de andre prøvene, som har gitt utslag på fluorescensspektroskopi. Prøven blir derfor ikke vurdert.



Figur 30: Fluorescens emisjonsspektrum av lyseksponerte margarinprøver lagret mørkt i folie ved 15 °C i syv uker og ved -25 °C. Fluorescensintensiteten er oppgitt på y-aksen og bølgelengden i nanometer på x-aksen.

Resultatet fra fluorescensspektroskopi viser at prøvene viser en nokså lik fluorescens intensitet ved de samme bølgelengdene, med unntak av MLsol. Sa Fryst ble målt med lavest intensitet, og høyere verdier for Sa. Den samme trenden vises også for MSaLsoy, men ikke for Lsol og Lsol fryst.

Figur 31 viser et plott fra prinsipalkomponentanalyse for åtte av de ni analyserte margarinprøvene. Da MLsol ikke kan tas med i vurderingen grunnet farge er den fjernet fra analysen.



Figur 31: Prinsipal komponentanalyse plot resultatene fra fluorescensspektroskopien.

Plottet viser ingen tette grupperinger, men en antydning til en gruppering med Lsol, Lsol Fryst, MSaLsoy og MSaLsoy Fryst. På x-aksen er 88 % av variasjonen forklart, mens 7 % er forklart ved y-aksen. Både Sa og Sa Fryst ligger et godt stykke fra de andre prøvene.

5.4 Kvantitativ beskrivende analyse (QDA)

Nofimas trente panel utførte en kvantitativ beskrivende analyse på ni margarinprøver.

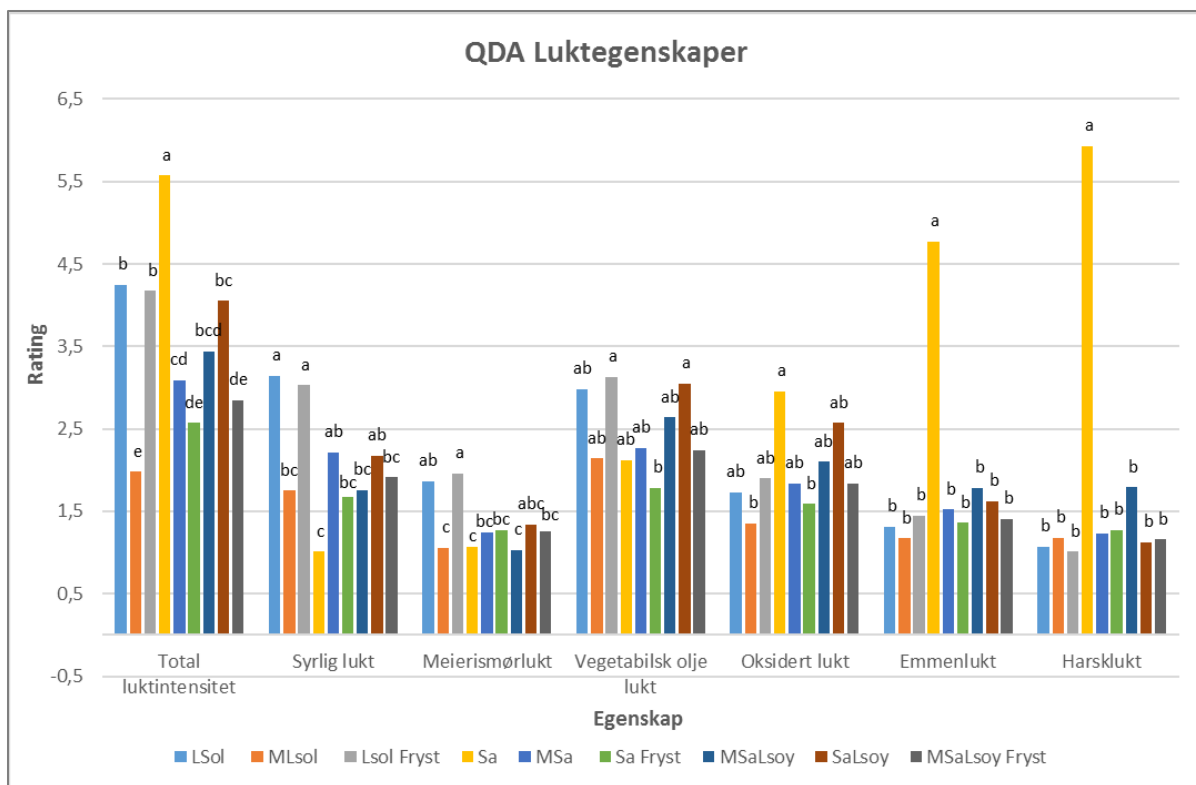
Margarinene fra pilotproduksjon ble prioritert, og prøvene ble lagret ved 15 °C i 7 uker. Disse seks margarinprøvene ble vurdert sammen med de tre fryste pilotprøvene produsert med samme resept som de kommersielle produktene (Lsol, Sa og MSaLsoy).

Gjennomsnittsverdiene fra QDA ligger vedlagt som vedlegg 11. Tabell 21 viser en oversikt over hvilke egenskaper som ga signifikans på 95 % nivå.

Tabell 21: p-verdi fra QDA med hensyn på egenskap utført ved hjelp av variansanalyse

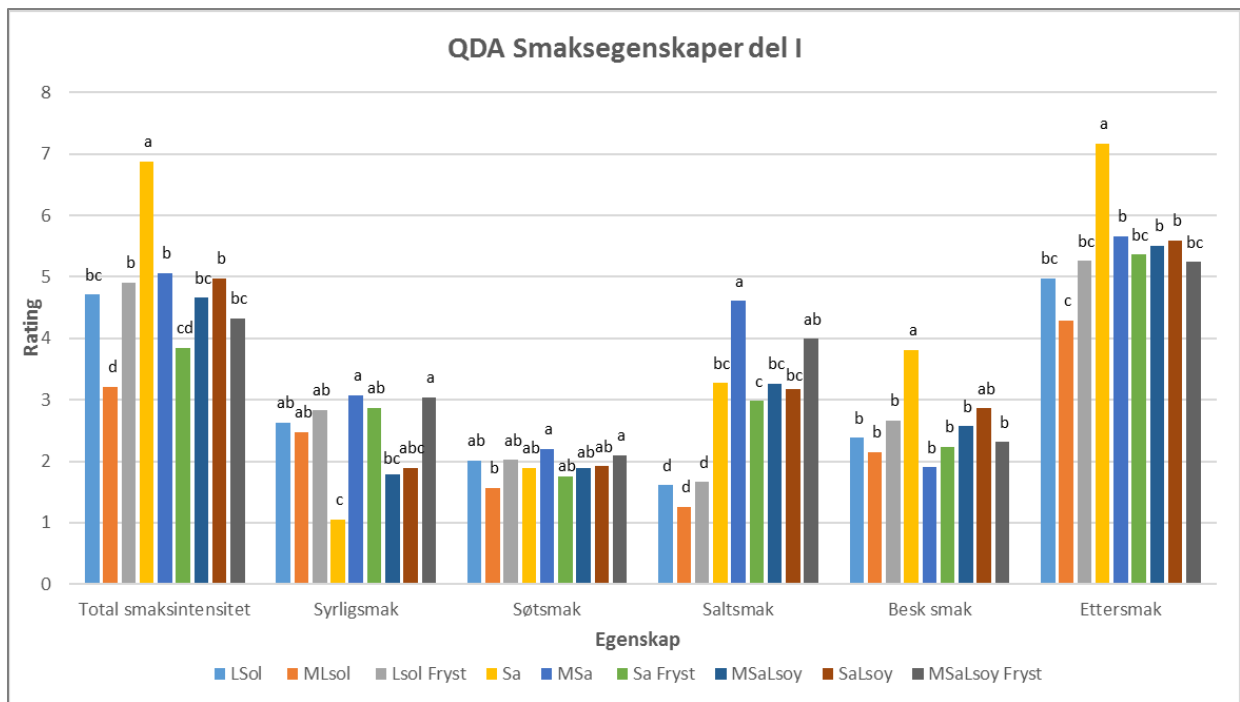
Egenskap	p-verdi	Egenskap	p-verdi
Total luktintensitet	<0.001	Meierismørsmak	<0.001
Syrlig lukt	<0.001	Vegetabilsk olje smak	<0.001
Meierismørslukt	<0.001	Oksidert smak	0,001
Vegetabilsk olje lukt	0,004	Emmensmak	<0.001
Oksidert lukt	0,006	Harsk smak	<0.001
Emmenlukt	<0.001	Besk smak	<0.001
Harsklukt	<0.001	Fasthet	<0.001
Total smaksintensitet	<0.001	Smelteevne	0,001
Syrligsmak	<0.001	Fyldighet	0,059
Søt smak	0,009	Fethet	0,01
Saltsmak	<0.001	Glatthet	0,216
Bittersmak	0,002	Ettersmak	<0.001

Tabellen viser at for to av de 24 bestemte egenskapene var det ingen signifikant forskjell på 5 % nivå. Figur 32 ,33, 34 og 35 viser prøvene sortert per egenskap på intensitet.



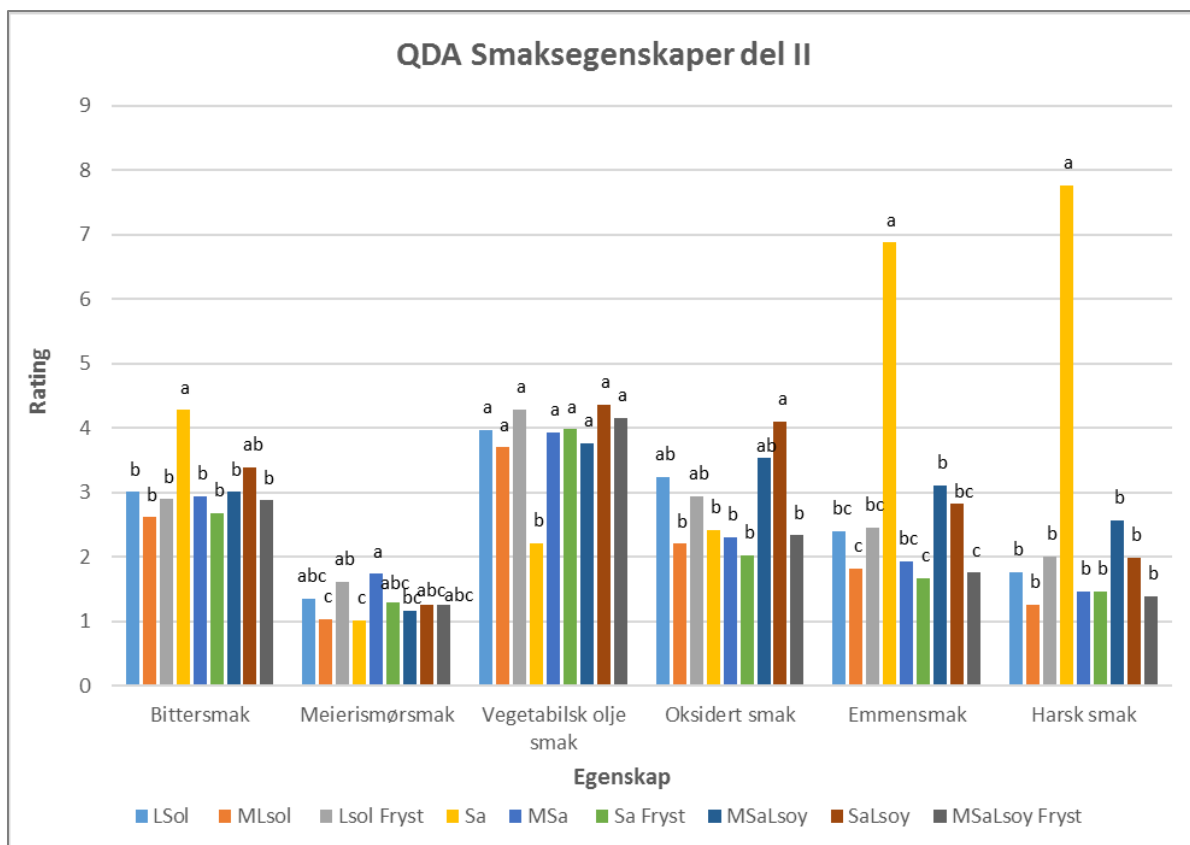
Figur 32: Luktegenskaper fra QDA, presentert som gjennomsnittsscore fra 1 til 9. Søyler som har ulike bokstaver er signifikant ulike fra hverandre.

Margarinprøvenes luktegenskaper varierte, og flere av de utvalgte egenskapene viste signifikante forskjeller. Sa skilte seg eksempelvis en del fra de andre med signifikant høyere total luktintensitet, mer oksidert, emmen og harsk lukt. Lsol og Lsol fryst hadde signifikant høyere verdi for syrlig lukt, og Sa har signifikant lavere intensitet med hensyn på denne egenskapen. Det var generelt lav intensitet for meierismørlukt, og den Lsol fryst var signifikant høyere sammenlignet med de andre margarinprøvene. Den vegetabilske oljelukten viste liten variasjon blant prøvene, men noen signifikante forskjeller. Lsol hadde eksempelvis signifikant høyere intensitet enn den Sa Fryst. For oksidert lukt var det signifikante forskjeller mellom Sa mot Sa Fryst og MLsol, ellers var det ingen signifikante forskjeller. Med unntak av Sa var det ingen signifikante forskjeller blant prøvene på emmen og harsk lukt.



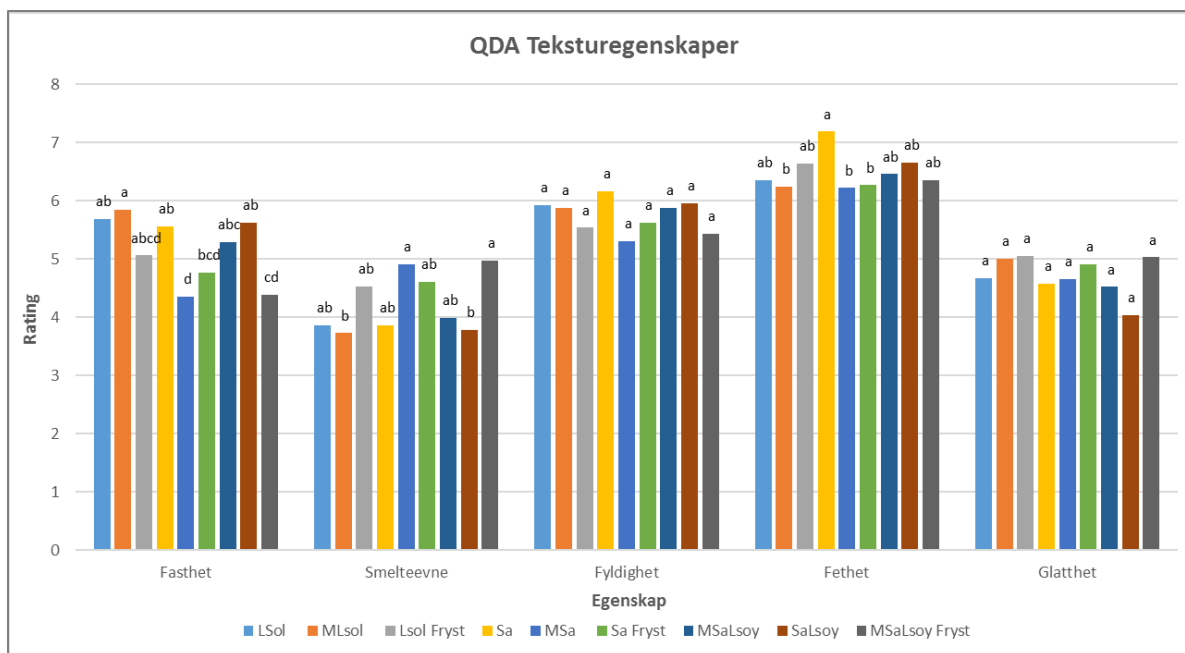
Figur 33: Smaksegenskaper fra QDA, presentert som gjennomsnittsscore fra 1 til 9. Søyler som har ulike bokstaver er signifikant ulike fra hverandre.

Figur 33 viser en oversikt over seks av tolv smaksegenskaper som ble vurdert av de trente dommerne. Den totale smaksintensiteten er signifikant høyere for Sa fra resten av prøvene. Lsol, Lsol Fryst, MSa, MSaLsoy, SaLsoy og MSaLsoy Fryst er ikke signifikant ulike, mens MLsol hadde signifikant lavere enn samtlige prøver. Syrlig smak i prøvene ble også vurdert, og Sa er signifikant mindre syrlig enn de andre margarinprøvene. MSaLsoy er eksempelvis signifikant mindre syrlig enn MSaLsoy fryst. Det er ingen signifikante forskjeller blant Lsol, MLsol og Lsol Fryst. Det er små forskjeller og få signifikante forskjeller på søt smak i margarinprøvene. MLsol skilte seg fra MSa og MSaLsoy Fryst, de ble vurdert som signifikant søtere enn førstnevnte. Salt smak varierer blant de ni prøvene, og de tre margarinene som ikke inneholder salt er i samme gruppe og signifikant forskjellig fra resten. MSa skiller seg ut som signifikant salttere enn Sa Fryst. Det er ingen signifikant forskjell på MSaLsoy og SaLsoy. Besk og emmen smak viste få signifikante forskjeller, med unntak av Sa som hadde signifikante forskjeller og høyere intensitet for begge egenskapene sammenlignet med de åtte resterende prøvene.



Figur 34: Smaksegenskaper fra QDA, presentert som gjennomsnittsscore fra 1 til 9. Søyler som har ulike bokstaver er signifikant ulike fra hverandre.

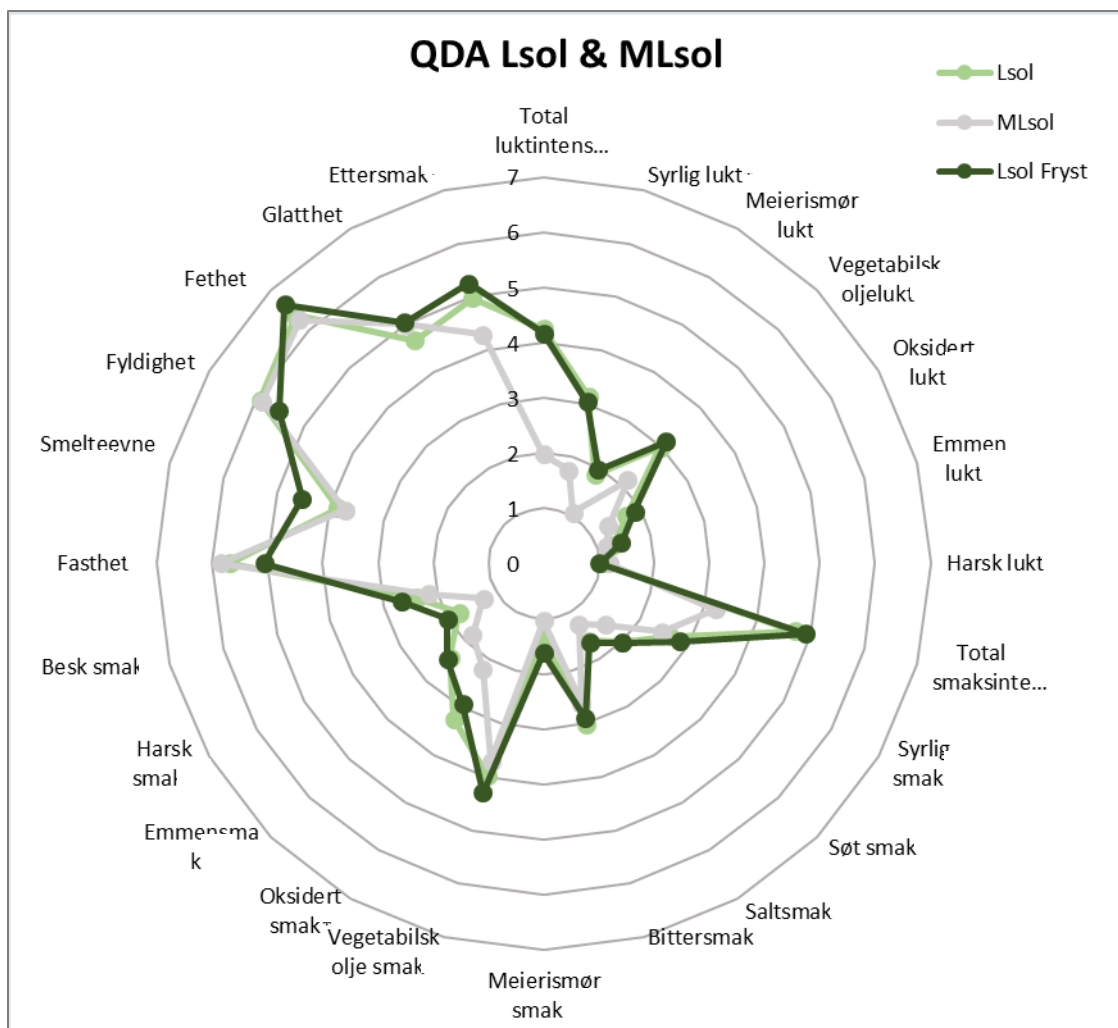
Figur 34 viser margarinprøvenes intensitet for de seks resterende smaksegenskapene sortert etter egenskaper. Bitter smak ble vurdert, og det var få signifikante forskjeller. Sa er signifikant ulik fra resten av margarinene utenom SaLsoy. Prøvenes meierismørsmak ble generelt vurdert med lav intensitet, og heller ikke her er det mange signifikante grupperinger. MLsol er signifikant ulik fra Lsol og Lsol Fryst, mens MSa er kun signifikant ulik fra Sa og ikke Sa Fryst. Det er ingen signifikante forskjeller blant den siste reseptgruppen MSaLsoy, SaLsoy og MSaLsoy fryst. Den vegetabilske oljesmaken er signifikant ulik for Sa, med unntak av denne prøven er resten av margarinprøvene i samme gruppering. Den melkefrie varianten av MSaLsoy, SaLsoy, ble vurdert med høyere intensitet på oksidert smak enn de andre prøvene. Den er signifikant forskjellig fra MLsol, Sa, MSa, Sa Fryst og MSaLsoy Fryst. Margarinprøven Sa fikk betydelig høyere score på både emmen og harsk smak, og er signifikant ulik fra resten av prøvene ved begge smaksegenskaper. Fem av åtte dommere kommenterte



Figur 35: Teksturegenskaper fra QDA, presentert som gjennomsnittsscore fra 1 til 9. Søyler som har ulike bokstaver er signifikant ulike fra hverandre.

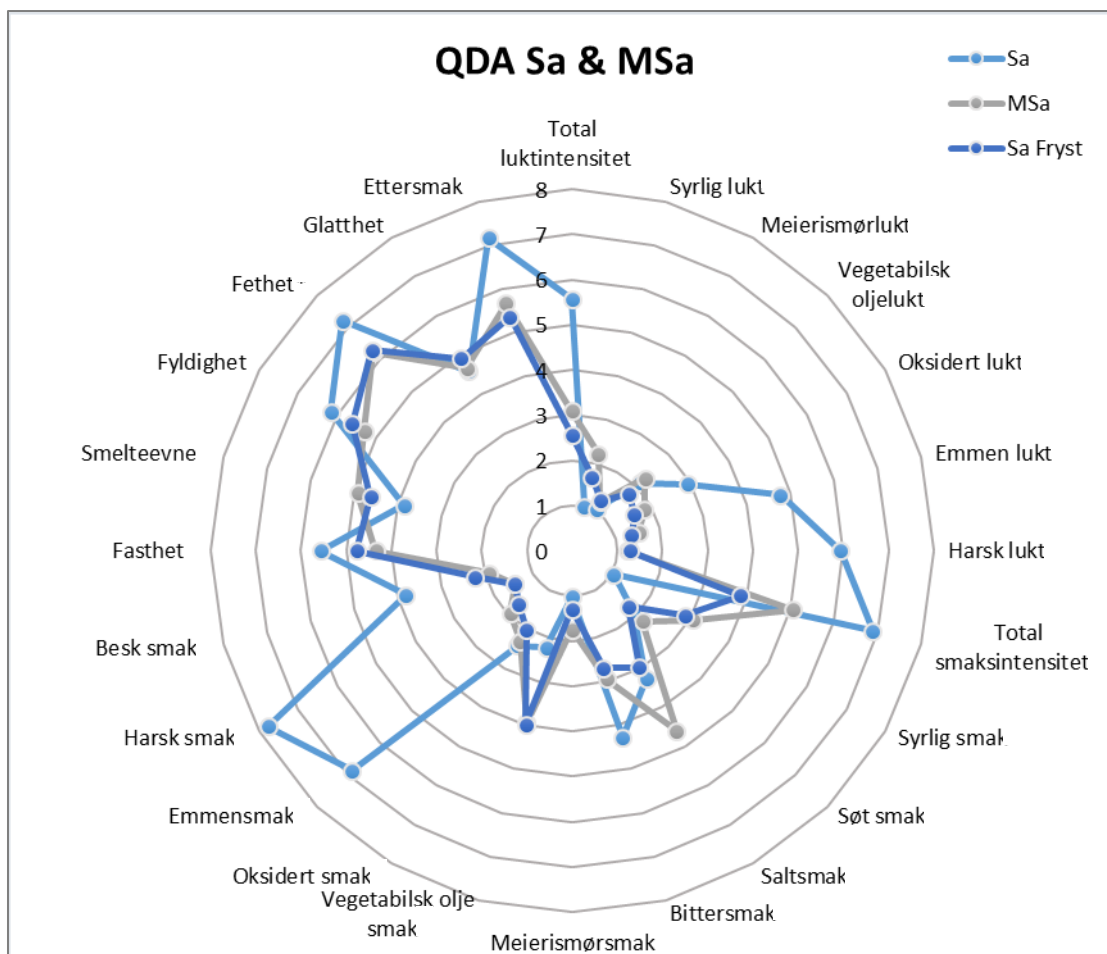
Margarinenes teksturegenskaper viser generelt færre signifikante forskjeller enn for lukt- og smaksegenskapene og er presentert i Figur 35. For fyldighet og glatthet var eksempelvis ingen prøver som var signifikant ulike. Margarinenes fasthet ga fire grupperinger, hvor MLsol og MSa var signifikant ulike fra de andre prøvene. Smelteevnen ble også vurdert, og på denne egenskapen ble SaLsoy (b), MSa (a) og MSaLsoy Fryst (a) karakterisert som signifikant ulike fra hverandre. Margarinenes fethet varierte lite blant de ni prøvene, hvor Sa var signifikant ulik fra MLsol, MSa og Sa Fryst.

Resultatene fra QDA er også presentert i Figur 36, 37 og 38 som radardiagrammer hvor de tre pilotprøvene med utgangspunkt i samme kommersielle resept er samlet. De 24 egenskapene margarinene ble vurdert på er inkludert i plottene.



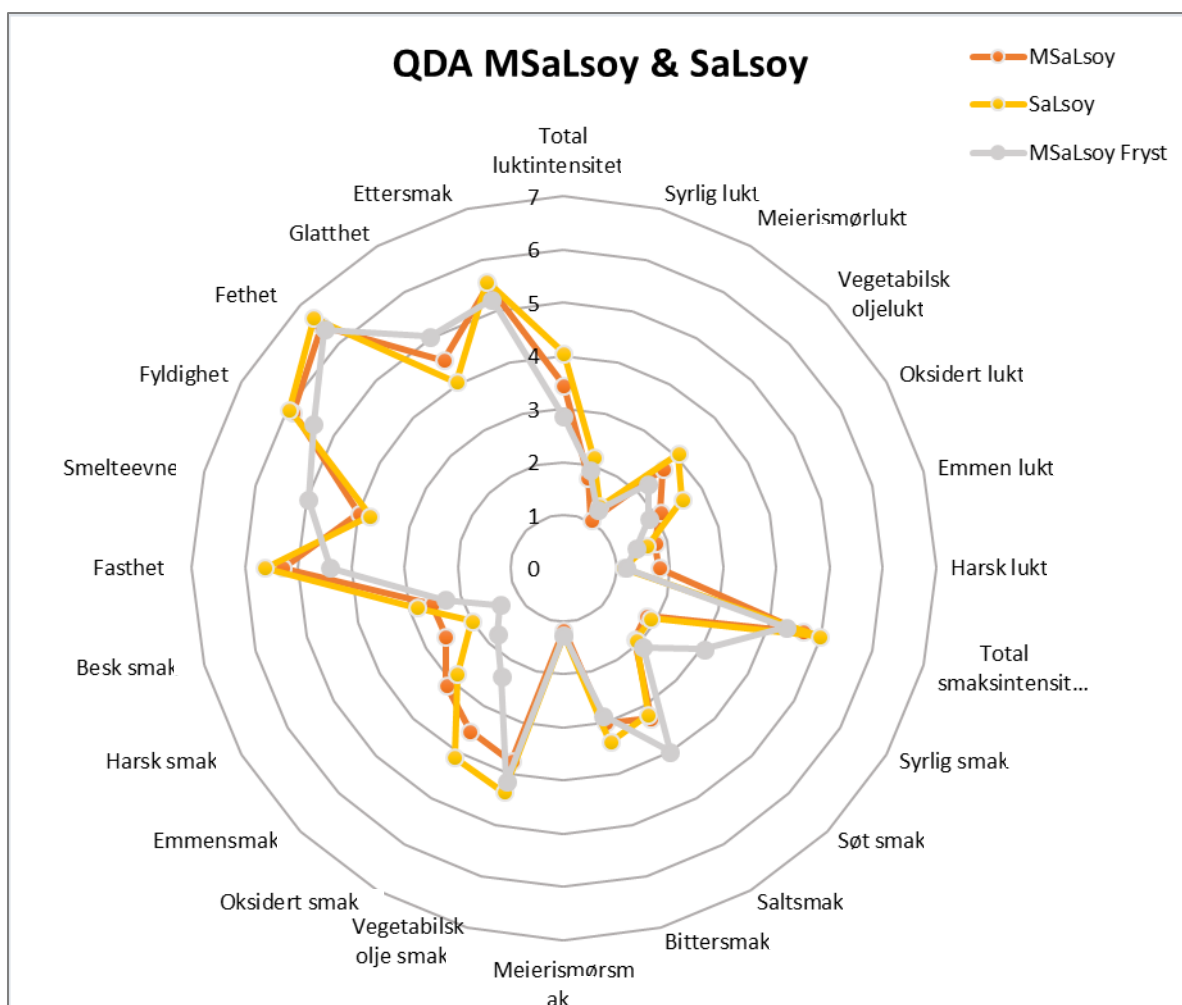
Figur 36: Resultat fra QDA for Lsol og MLsol med intensitet fra 1 til 9 for de 24 bestemte egenskapene.

Figur 36 viser forskjellene blant de tre pilotprøvene produsert basert på den kommersielle margarinen Lsol. Det var generelt små forskjeller i intensitet mellom Lsol og Lsol fryst, og oksidert smak og fasthet fikk noe høyere score for Lsol. MLsol ble med unntak av fasthet vurdert med lavere eller lik score sammenlignet med Lsol og Lsol Fryst.



Figur 37: Resultat fra QDA for Sa og MSa med intensitet fra 1 til 9 for de 24 bestemte egenskapene.

Radardiagrammet for Sa, MSa og Sa Fryst viser at Sa skiller seg mest fra MSa og Sa Fryst. Sa ble vurdert med høyere intensitet for meierismørklukt, oksidert lukt, emmen lukt, harsk lukt, total smaksintensitet, bitter smak, emmen smak, harsk smak, besk smak, fasthet og ettersmak. Flere av disse egenskapene anses som negative egenskaper ved kvalitetsvurdering av margarin på Mills, som vist i vedlagt nomenklatur (vedlegg 4). MSa og Sa har generelt lav intensitet for lukteegenskaper og smakeegenskaper som emmen, harsk og besk. MSa og Sa Fryst ble vurdert med høyere intensitet for vegetabilsk oljesmak enn Sa.



Figur 38: Resultat fra QDA for MSaLsoy og SaLsoy med intensitet fra 1 til 9 for de 24 bestemte egenskapene.

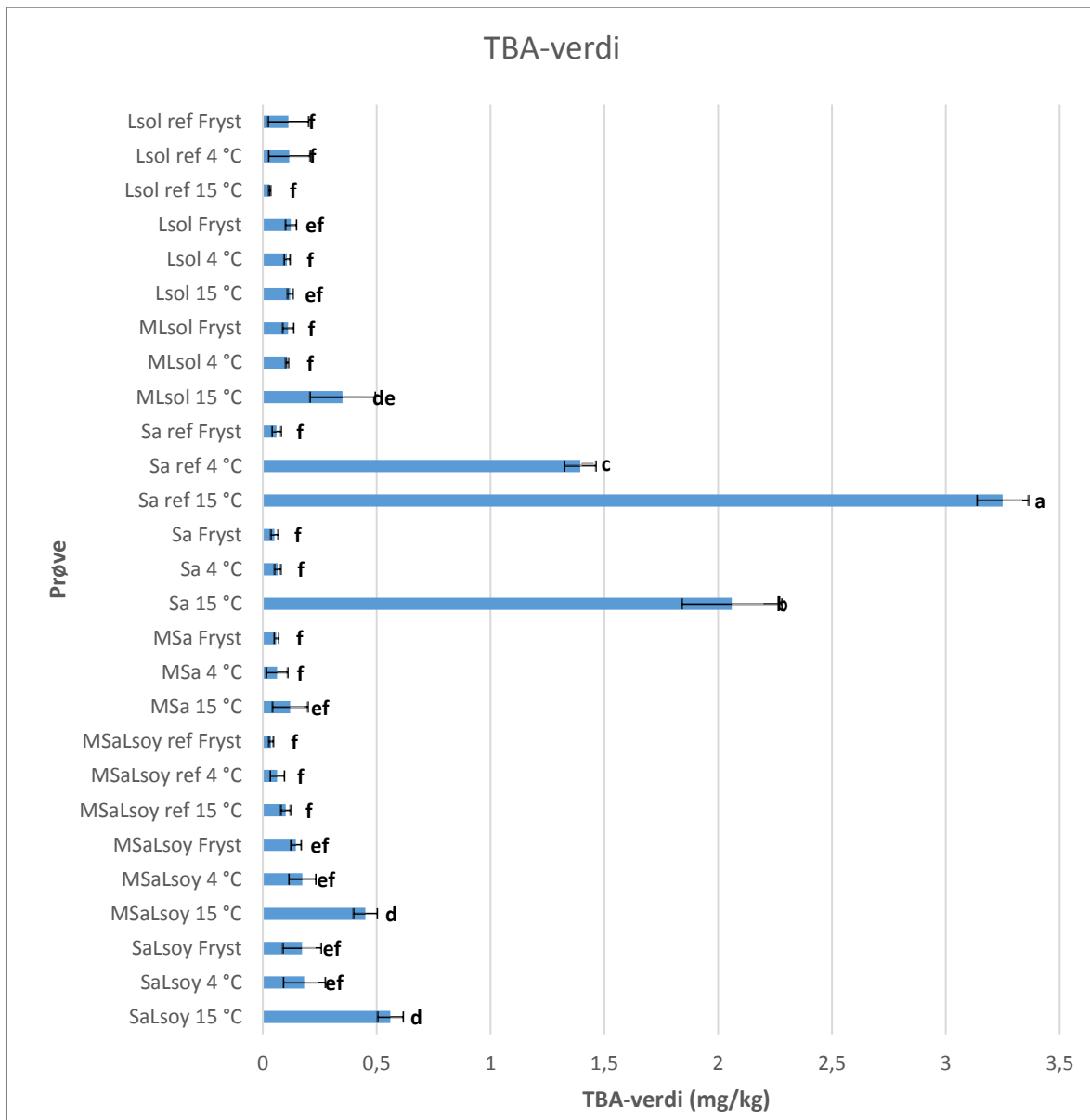
Radardiagrammet med intensiteten for MSaLsoy, SaLsoy og MSaLsoy Fryst viser nokså liten variasjon blant de tre prøvene. Harsk smak, ettersmak, meierismørslukt, bitter smak og meierismørsmak er eksempler på egenskaper hvor det er liten forskjell blant de tre margarinprøvene. Det er noe forskjell på prøvenes intensitet når det kommer til syrlig smak, vegetabilsk oljesmak, oksidert smak, emmen smak, harsk smak og fasthet, hvor SaLsoy ble vurdert med høyere intensitet på blant annet oksidert smak. MSaLsoy fikk høyest score på saltsmak blant de tre prøvene.

5.5 Kjemiske analyser

5.5.1 TBAR

Prøvenes TBA-verdi ble målt ved tre ulike stadier i holdbarheten for å vurdere margarinens innhold av nedbrytningsproduktet malonaldehyd. Figur 39 viser gjennomsnittsverdien fra tre paralleller, standardavvik og Tukey test på 95 % nivå. Det ble også utført variansanalyse på

resultatene, som ga en p-verdi på $2,2 \times 10^{-16}$. Ytterligere verdier fra variansanalysen ligger vedlagt som vedlegg 11 og vedlegg 5 viser utregning og rådata.



Figur 39: TBA-verdi i gjennomsnitt og standardavvik for de ni prøvene ved tre ulike stadier i holdbarheten. Oppgitt i mg/kg. På stolpene vises også resultatet fra Tukey test, og prøver som har ulike bokstaver er signifikant ulike fra hverandre.

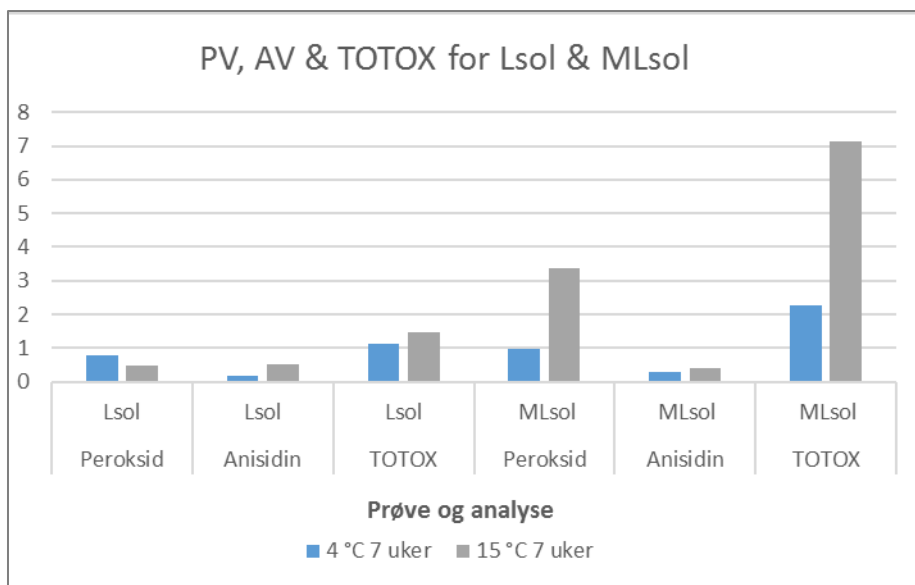
Lsol ref hadde en lav TBA-verdi og sank ved lagring over tid, og Tukey test bekrefter at de ikke er signifikant forskjellig fra hverandre. Lsol viste heller ingen økning fra nullprøve til syv uker 4 °C og 15 °C, og er ikke signifikant ulike. MLSol viste ingen økning i TBA-verdi fra nullprøve til syv uker 4 °C, men en økning til syv uker 15 °C. Forskjellen mellom syv uker 15 °C og de to andre er signifikant forskjellig.

Sa ref har lav TBA-verdi ved analysering av nullprøven, og øker både ved begge holdbarhetsstadiene. Tukey bekrefter at prøvene er signifikant forskjellig fra hverandre. Sa viste en marginal økning i TBA-verdi fra nullprøve til syv uker 4 °C, de er ikke signifikant ulike fra hverandre. Analysen viser en større økning i TBA-verdi til prøven lagret i syv uker ved 15 °C, og denne TBA-verdien er signifikant ulik fra de to andre. MSa viser en lav økning i begge trinnene, og de er ikke signifikant ulike fra hverandre.

MSaLsoy ref øker noe i verdi fra nullprøve til syv uker 4 °C og videre til syv uker 15 °C, men de er i samme gruppe i Tukey test og dermed ikke signifikant forskjellig fra hverandre. MSaLsoy viser en liten økning fra nullprøven til syv uker 4 °C, men de er ikke signifikant forskjellig fra hverandre. De er derimot signifikant ulike fra prøven lagret i syv uker ved 15 °C. TBA-verdien til SaLsoys nullprøve øker noe til syv uker 4 °C, men forblir i samme gruppe i Tukey test. Videre til syv uker 15 °C øker TBA-verdien noe mer, og denne verdien er signifikant ulik fra nullprøven og syv uker 4 °C.

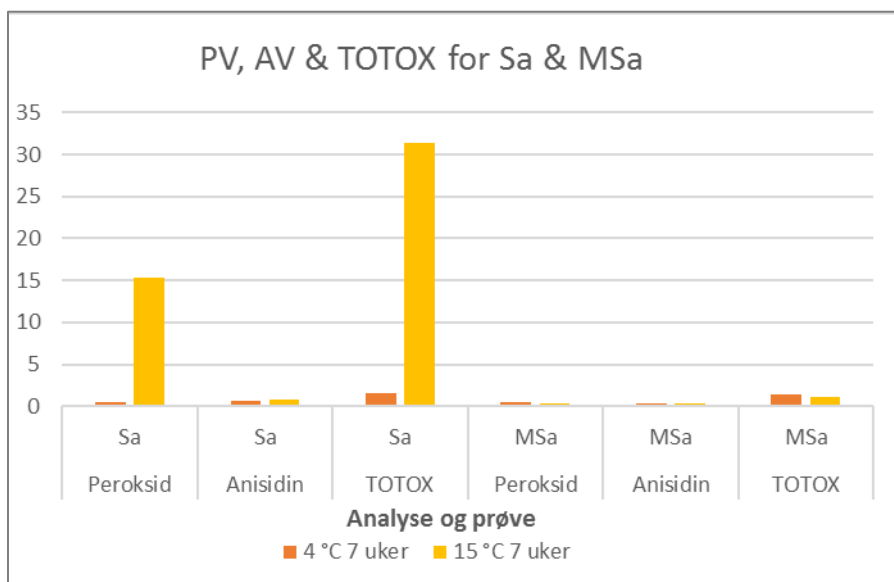
5.5.2 PV, AV og TOTOX

Figur 40, 41, 42 og 43 viser en oversikt fra bestemmelsen av prøvenes peroksid- og anisidin verdi, og følgelig utregnet TOTOX verdi. Da disse analysene ikke er utført med paralleller har det ikke vært mulig å utføre statistiske analyser. Som tidligere nevnt i materialer og metoder tilsvarer lagring i syv uker ved 15 °C lagring i 18 uker ved 4 °C. Peroksidverdiene er oppgitt i meq/kg, og anisidinverdien er definert som 100 ganger absorbansen målt i en 1 cm kuvette med en løsning av 1 gram prøve i 100 ml blanding av prøve og reagens. TOTOX verdiene er dimensjonsløse.



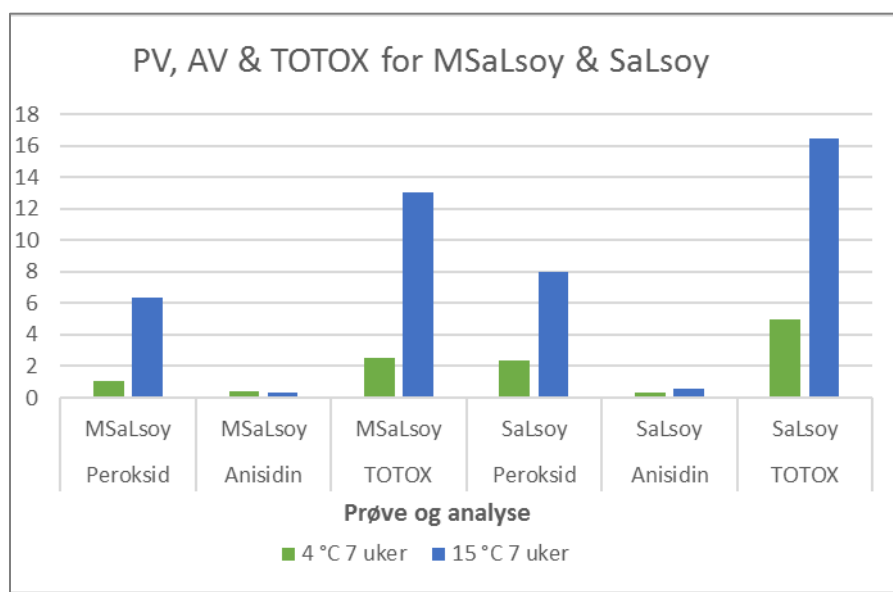
Figur 40: Peroksid-, anisidin-, og TOTOX-verdi lagret ved 4 °C og 15 °C for Lsol og MLsol. Peroksidverdiene er oppgitt i meq/kg, og anisidinverdien er definert som 100 ganger absorbanse målt i en 1 cm kuvette med en løsning av 1 gram prøve i 100 ml blanding av prøve og reagens. TOTOX verdien er dimensjonsløs.

Figur 40 viste at peroksidnivået til Lsol sank ved lagring, mens anisidin- og TOTOX-verdiene økte. TOTOX-verdien er noe høyere for prøvene lagret ved 15 °C enn ved 4 °C lagring. Både peroksid- og anisidinverdien til MLsol øker ved begge lagringsbetingelsene og følgelig øker TOTOX verdiene til høyere verdier for MLsol enn for Lsol. TOTOX-verdien for MLsol lagret ved 15 °C er høyere enn ved 4 °C.



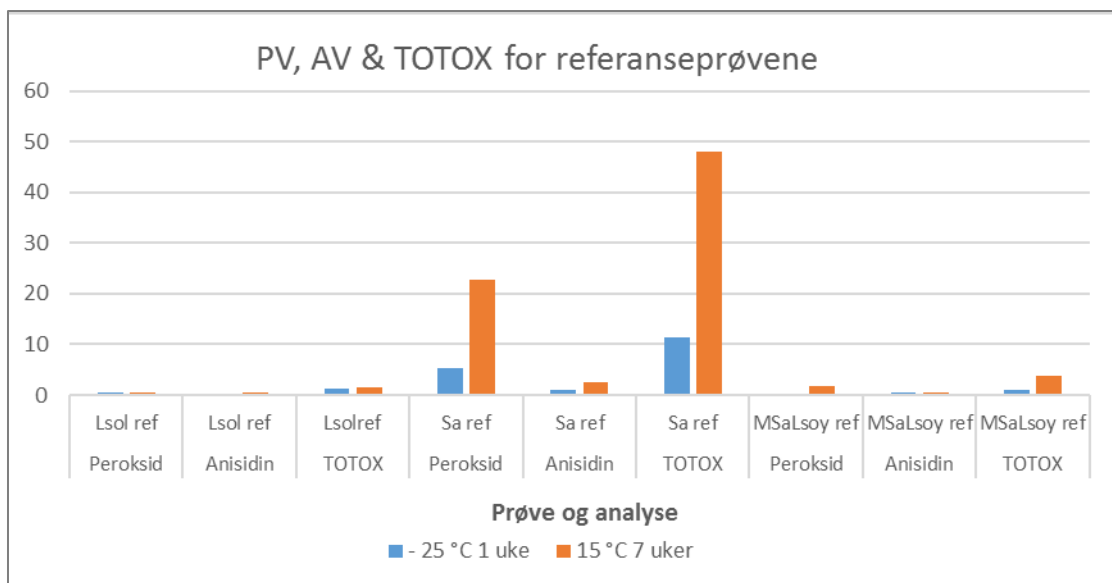
Figur 41: Peroksid-, anisidin-, og TOTOX-verdi oppgitt i lagret ved 4 °C og 15 °C for Sa og MSa. Peroksidverdiene er oppgitt i meq/kg, og anisidinverdien er definert som 100 ganger absorbanse målt i en 1 cm kuvette med en løsning av 1 gram prøve i 100 ml blanding av prøve og reagens. TOTOX verdien er dimensjonsløs.

Peroksid-, anisidin-, og TOTOX-verdien i margarinprøven Sa er svært lav i prøven lagret ved 4 °C i 7 uker. Peroksidverdien øker betydelig i prøven lagret ved 15 °C like lenge, og får følgelig en høy TOTOX verdi. Sa lagret ved 15 °C har det høyeste peroksid- og TOTOX-verdien blant pilotprøvene som ble analysert i denne oppgaven. Margarinprøven MSa har betydelig lavere verdier for alle tre analysene, og det er marginale forskjeller mellom de to prøvene med ulike lagringsbetingelser.



Figur 42: Peroksid-, anisidin-, og TOTOX-verdi lagret ved 4 °C og 15 °C for MSaLsoy og SaLsoy. Peroksidverdiene er oppgitt i meq/kg, og anisidinverdien er definert som 100 ganger absorbanse målt i en 1 cm kuvette med en løsning av 1 gram prøve i 100 ml blanding av prøve og reagens. TOTOX verdien er dimensjonsløs.

Utviklingen av peroksidverdien har nokså lik stigning for MSaLsoy og SaLsoy, hvor sistnevnte har noe høyere verdier ved begge lagringsbetingelser. Anisidinverdien for lave for både MSaLsoy og SaLsoy, og høyest for SaLsoy lagret ved 15 °C i syv uker. TOTOX-verdien er lavere for MSaLsoy ved begge lagringsbetingelsene enn SaLsoy. Felles for begge er at peroksid- og TOTOX-verdien øker ved lagring på høyere temperatur.



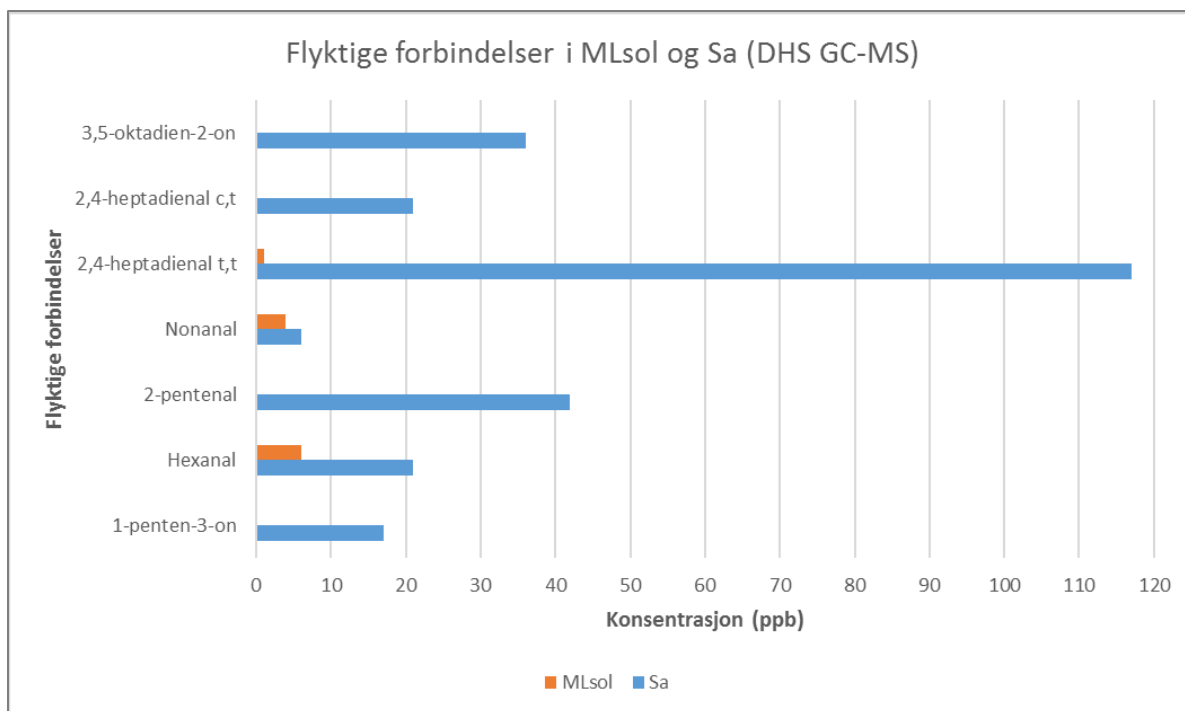
Figur 43: Peroksid-, anisidin-, og TOTOX-verdi lagret ved -25 °C (Nullprøve) og 15 °C for referanseprøvene. Peroksidverdiene er oppgitt i meq/kg, og anisidinverdien er definert som 100 ganger absorbansen målt i en 1 cm kuvette med en løsning av 1 gram prøve i 100 ml blanding av prøve og reagens. TOTOX verdien er dimensjonsløs.

Peroksid-, anisidin- og TOTOX-verdien er svært lav for Lsol ref, det er en marginal økning ved lagring på 15 °C sammenlignet med 4 °C. Sa ref skiller seg godt ut ved høyere verdier både ved 4 °C og 15 °C, og med høyeste peroksidverdi blant alle de analyserte prøvene.

TOTOX verdien ved 15 °C er følgelig den høyeste målte. Både peroksid- og anisidinverdien øker ved lagring på høyere temperatur. Prøven MSaLsoy viser en økning i peroksidverdi, men en reduksjon i anisidinverdien ved lagring på høyere temperatur.

5.6 Gasskromatografi-massespektrometri

Figur 44 viser utvalgte flyktige forbindelser i MLsol og Sa målt ved hjelp av dynamisk headspace-gasskromatografi- massespektrometri. Disse to prøvene ble valgt ut på bakgrunn av sine store forskjeller i oksidasjonsverdier i de andre analysene som målte oksidasjon. De syv utvalgte er de oksidasjonsproduktene som ble funnet i høyest konsentrasjon. Prøvene er lagret ved 15 °C i syv uker og deretter fryst frem til analysering.

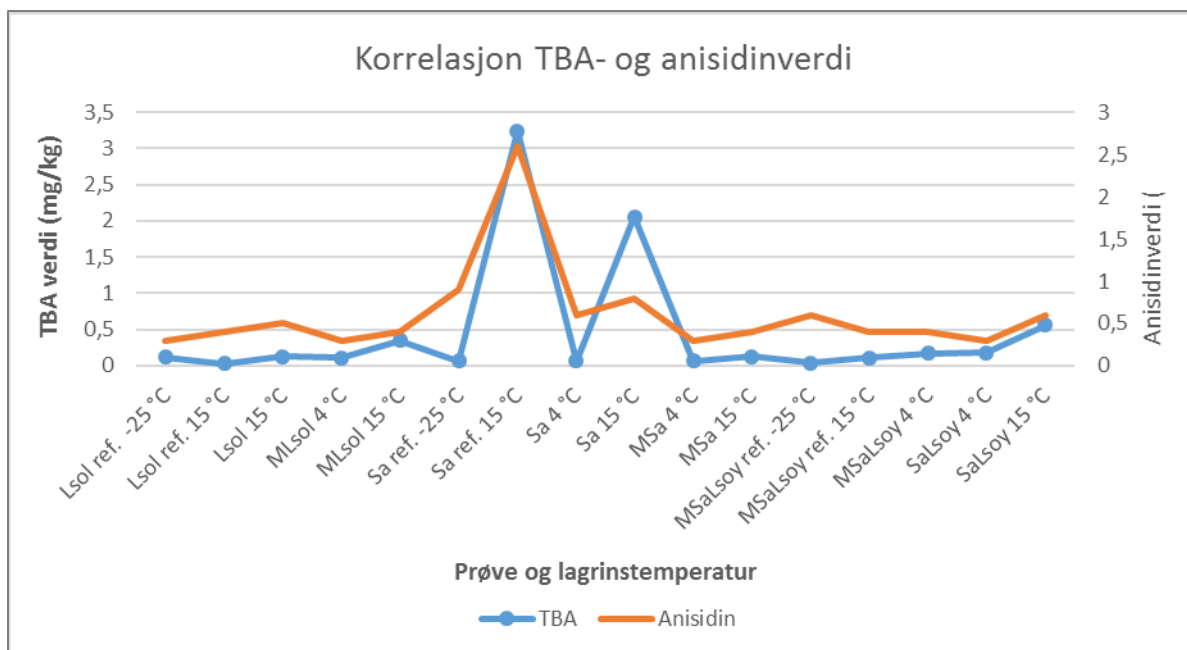


Figur 44: De syv oksidasjonsproduktene funnet med høyest konsentrasjon i MLsol og Sa lagret i syv uker ved 15 °C målt ved DHS GC-MS oppgitt i ppb.

Resultatet fra gasskromatografi-massespektrometri viser stor variasjon i innhold av flyktige komponenter i de to margarinprøvene. MLsol viste ingen innhold av 3,5-oktadien-2-on, 2,4-heptadienal cis,trans, 2-pentenal eller 1-penten-3-on. Sa har til forskjell konsentrasjoner av samtlige utvalgte flyktige forbindelser, og betydelig høyest konsentrasjon av 2,4-heptadienal trans,trans.

5.7 Korrelasjonsanalyse

Figur 45 viser korrelasjonen mellom TBA og anisidin på prøvenivå. Analysen ble utført med 16 observasjoner.



Figur 45: Korrelasjon mellom TBA-verdi og anisidinverdi på prøvenivå for margarinprøvene ved ulike lagringstemperaturer

Figur 45 viser korrelasjonen mellom TBA-, og anisidin-verdien, som begge måler sekundære oksidasjonsprodukter. Variasjonen ser ut til å være største ved Sa ref lagret ved -25 °C og Sa lagret ved 15 °C.

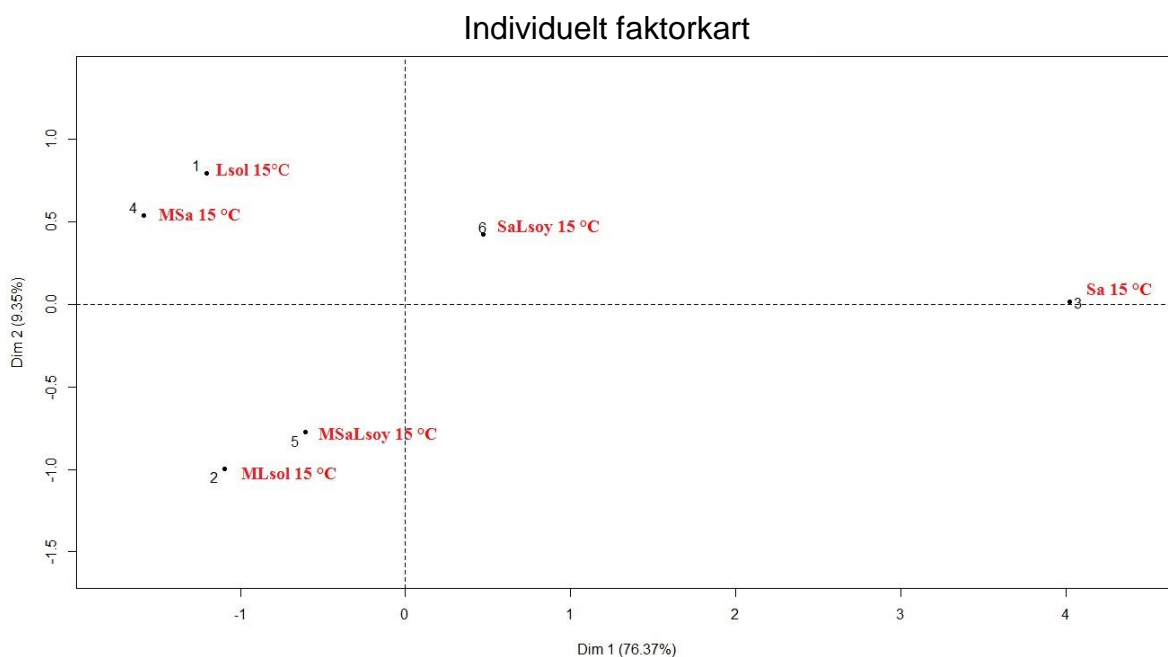
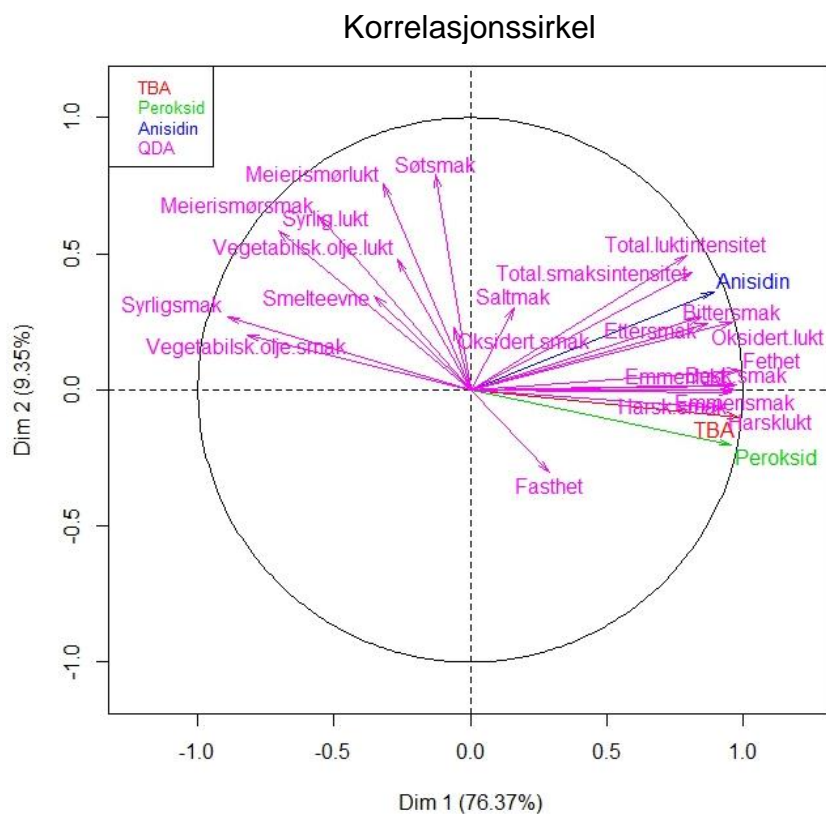
Tabell 22 viser en oversikt over Pearsons korrelasjonsanalyse utført med de kjemiske oksidasjonsverdiene TBA, peroksid og anisidin mot fem signifikante egenskaper fra QDA. Korrelasjonsanalysen ble utført med 6 observasjoner, og tabellen viser korrelasjon fra 0 – 1 og tilhørende p-verdi.

Tabell 22: Korrelasjon for kjemiske analyser mot utvalgte egenskaper fra QDA. Oppgitt i korrelasjon fra 0 - 1 og p-verdi. Grønn bakgrunnsfarge signifikans på 5 % nivå.

	Anisidin	Peroksid	TBA	Harsk smak	Harsk lukt	Oksidert smak	Oksidert lukt	Syrlig smak
Anisidin	1							
Peroksid	0,7623 0,0781	1						
TBA	0,8357 0,0383	0,9433 0,0047	1					
Harsk smak	0,8050 0,0533	0,8858 0,0188	0,9767 0,0008	1				
Harsk lukt	0,7691 0,0738	0,8600 0,0280	0,9729 0,0011	0,9924 <0,0001	1			
Oksidert smak	-0,0172 0,9742	0,0706 0,8943	-0,1988 0,7057	0,211 0,6882	-0,3242 0,5308	1		
Oksidert lukt	0,7900 0,0615	0,8663 0,0256	0,8001 0,0559	0,7915 0,0607	0,7296 0,0998	0,311 0,5486	1	
Syrlig smak	-0,6623 0,1518	-0,9652 0,0018	-0,8705 0,0241	-0,8306 0,0406	-0,7887 0,0622	-0,2217 0,6729	-0,8176 0,0469	1

Korrelasjonsanalysen viser at anisidin kun er signifikant korrelert med TBA, og ingen av de sensoriske egenskapene. Peroksid er derimot signifikant mot flere av egenskapene, inkludert positiv korrelasjon med harsk smak og negativ korrelasjon med syrlig smak. TBA verdien er signifikant korrelert med samtlige utenom oksidert smak og lukt. Harsk smak viser signifikant korrelasjon med peroksid, TBA, harsk lukt og syrlig smak. Harsk lukt korrelerer med peroksid, TBA i tillegg til harsk lukt som tidligere nevnt. Oksidert smak korrelerer ikke med noen av de utvalgte oksidasjonsverdiene eller lukt- og smaksegenskapene på et signifikant nivå, mens oksidert lukt korrelerer med peroksid og syrlig smak.

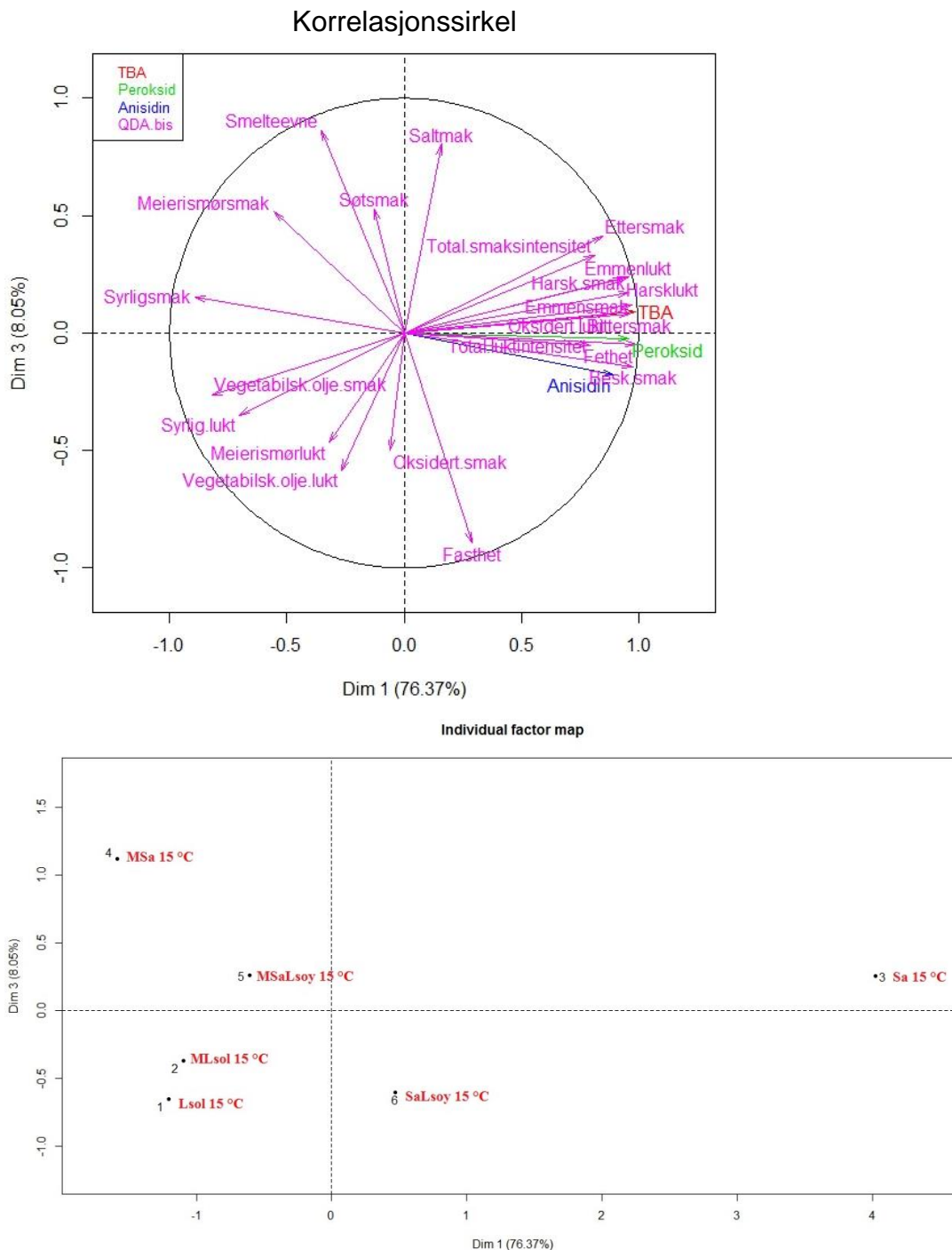
Det ble også utført Multiple Factor Analysis (MFA) for å vurdere korrelasjonen mellom analysene og hvilke prøver som har likheter og ulikheter basert på TOTOX-verdien, TBA-verdien og de 22 signifikante egenskapene fra QDA. Figur 46 og 47 viser korrelasjonssirkel og individuelt faktorkort for henholdsvis første- og andreakse, og første- og tredjeakse.



Figur 46: Korrelasjonssirkel og individuelt faktorkart med dimensjon 1 og 2 for de 22 signifikante egenskapene vurdert i QDA mot TBA og TOTOX.

MFA viser at førsteakse forklarer en god andel av variasjonen i datasettet med 76,4 %, mens andreakse forklarer 9,4 % av variasjonen. TBA-, peroksid- og anisidinverdiene sammen med egenskaper fra QDA som harsk lukt, harsk smak, oksidert lukt, bittersmak og besk smak trekker mot høyre. I motsatt retning finner vi egenskaper som meierismør lukt, syrlig lukt og smak, vegetabilsk smak og lukt. Oksidert smak ligger nesten i origo og er dårlig forklart med

første- og andreakse. Individuelt faktorkart viser at margarinprøven Sa trekker langt mot høyre på x-aksen sammenlignet med de andre prøvene og dermed egenskapene som harsk smak, emmen smak og oksidert lukt. MSa og Lsol trekker opp mot meierismørsmak og sammen med Lsol og MLsol er de langt unna egenskapene som trekker Sa mot høyre. MSaLsoy og SaLsoy er dårlig forklart med disse to aksene, fordi det er få egenskaper som trekker mot deres posisjon i individuelt faktorkart.



Figur 47: Korrelasjonssirkel og individuelt faktorkart med dimensjon 1 og 3 for de 22 signifikante egenskapene vurdert i QDA mot TBA og TOTOX.

I plottene med første- og tredjeakse er 8,05 % av variasjonen forklart ved tredjeaksen, og egenskapen oksidert smak trekker mer ut av origo og nedover langs y-aksen. Peroksid-, anisidin- og TBA-verdiene trekker fremdeles langt ut på den positive siden av x-aksen, sammen med egenskaper som total smaksintensitet, oksidert lukt, harsk smak, emmen lukt og harsk lukt. Saltsmaken er dårligere forklart med disse dimensjonene. Det individuelle faktorkartet viser at Sa fremdeles trekker langt ut på den positive siden av X-aksen. De andre prøvene har flyttet noe på seg i forhold til forrige plott, som kan forklares av at egenskapene i korrelasjonssirkelen har spredt seg mer. MSa trekkes mot meierismørsmak, syrlig smak og vekk fra oksidert smak og fasthet. MSaLsoy ligger nært origo er mindre forklart i dette plottet. MLsol og Lsol ligger langt tettere i dette plottet, og egenskaper som vegetabilsk oljesmak, syrlig lukt, meierismørslukt og vegetabilsk oljelukt trekker prøvene i negativ retning på begge aksene. SaLsoy trekker mer oksidert smak og fasthet, og vekk fra egenskaper som smelteevne, meierismørsmak og syrlig lukt

6 Diskusjon

6.1 Standard kvalitetskontroll

Standard kvalitetskontroll av margarinprøvene fra pilotanlegg og reell produksjon viste at vanninnhold, saltinnhold og brytningsindeks var innenfor Mills sine oppgitte grenseverdier. Den mikrobiologiske kvalitetskontrollen, steketesten og teksturanalysen utført på prøvene viste også tilfredsstillende kvalitet. Siden disse egenskapene ikke nødvendigvis relateres til lipidoksidasjon i margarin blir ikke resultatene diskutert ytterligere.

Andel fast fett (SFC) i margarinprøvene viste avvik fra grenseverdiene for noen av margarinprøvene. Prøvene med lavere prosentandel fast fett enn grenseverdiene ved 10 og 20 °C antas å ha for lite fast fett tilsatt, og det ble trolig tilsatt for lite fullherdet kokos som smelter ved 25 °C. Prøvene med for høy prosentandel fast fett antas å inneholde mer fullherdet kokos enn resepten oppgir. Variasjonen er noe utenfor kvalitetskriteriene til Mills, men ikke avgjørende for produktens bruksområde. Mills benytter SFC for å vurdere margarinens smelteprofil ved ulike temperaturer og anses som mer sentralt for margarintyper hvor spredbarhet og smelteevne i munnen er viktig (Christiansen 2016). Det antas at feilkilden ved pilotprøvene skyldes manuell blanding av ingrediensene, hvor det er større rom for unøyaktig innveining enn ved større skala hvor ingrediensene tilsettes automatisk.

Sensorisk kvalitetskontroll

Den sensoriske vurderingen av margarinprøvene benyttet en skala fra 1 til 9 med hensyn på total kvalitet, hvor beskrivelser som smak av maling og stearin har negativ innvirkning på kvaliteten. Karakterer lavere enn 7 medfører underkjent produkt og blir ikke godkjent for salg. Referanseprøvene ble godkjent ved vurdering en uke etter produksjon, samtlige med karakter ni på konsistens, utseende og smak. Sa ref ble trukket én karakter på total smaksvurdering ved den første vurderingen, og helt ned til 5 ved smaksvurdering seks uker senere. De to andre referanseprøvene ble trukket ned til 8 ved lagring i syv uker, og Sa ref er dermed det eneste underkjente produktet. Lagring i syv uker ved 15 °C skal som nevnt i materialer og metoder fremskynde endt holdbarhet, og Sa ref med ble andre ord vurdert som underkjent ved utløpt holdbarhetsdato. Årsaken til underkjennelse av produktene var harsk smak og lukt.

Pilotprøvene ble vurdert med en hyppigere frekvens, og totalt fire ganger fra ferdig produkt til utløpsdato. Samtlige prøver sank i karakter gjennom lagringstiden, og kun margarinprøven Sa fikk en snittkarakter lavere enn kravet til godkjent produkt. Denne prøven ble ved bedømmelsen en uke etter produksjonsdato vurdert med karakter over grensen, og videre bedømmelser ga karakterer under 7.

Pilotprøven Sa hadde høyere standardavvik enn de andre margarinprøvene. Det antas at dette skyldes manglende kalibrering av skala blant deltagerne ekspertpanelet. De fleste i ekspertpanelet vurderer margariners kvalitet daglig og er godt kjent med egenskapene som skiller en god margarin fra en dårlig margarin. Basert på standardavviket ser det derimot ut til at skalaen benyttes ulikt, og spesielt ved karakterer lavere enn 7. Gjennomføringen av de sensoriske kvalitetsvurderingene på Mills ga inntrykk av at skalaen ikke ble benyttet til det fulle. Karakterer fra 7 og oppover benyttes mest, da det er som forventet at Mills DA produserer produkter av høy kvalitet. Skillet mellom karakterene under 7 virket på sin side ikke like viktige, da produktene uansett underkjennes såfremt karakteren er lavere enn 7. Det antas derfor at det er noe usikkerhet ved karaktersetting under 7.

Pilotprøvene ble også presentert i en partest, hvor dommerne ble bedt om å vurdere hvilken prøve som var mest oksidert eller harsk. Margarinprøven MLsol ble vurdert som signifikant mest oksidert ved bedømmelsen en uke etter produksjonsdato, men ikke på de senere vurderingene. Denne prøven ble vurdert med en total karakter på over 8 i den sensoriske bedømmelsen, og da ekspertpanelet har langt mer erfaring med bedømming av sensorisk kvalitet sammenlignet med en partest antas det at den sensoriske bedømmelsen gir et mer korrekt resultat å diskutere videre. Pilotprøven Sa ble vurdert som signifikant mest oksidert ved samtlige bedømmelser, og er sammen med MLsol den eneste prøven som ble vurdert med signifikant mer oksidert smak og lukt. Partesten er utført med et lavt antall dommere, og de fleste er på grensen for å kunne konkludere signifikant resultat. Det ble derimot ansett som sentralt i denne vurderingen at deltagerne var kjent med egenskapen oksidert smak for å potensielt kunne skille de to prøvene, og det begrenset tilgangen på kvalifiserte deltagere. Resultatet vil diskuteres ytterligere i sammenligning med andre oksidasjonsanalyser litt senere i diskusjonsdelen.

6.2 Vanndråpestørrelse og -fordeling

Kurven som viser pilotprøvenes vanndråpestørrelse og -fordeling viser at SaLsoy har en høyere andel mindre vanndråper enn MSaLsoy, hvor sistnevnte inneholder melk. Samme trend vises for Lsol og MLsol, men ikke for Sa og MSa. Chrysan (2005) skriver at emulsjoner uten melk får mindre vanndråper, og for MSaLsoy, SaLsoy, Lsol og MLsol stemmer dette med teorien. Forskjellen mellom disse margarinprøvene og margarinprøvene Sa og MSa er sammensetningen av fettfasen og innholdet av lecitin. Verken Sa eller MSa er tilsatt lecitin, men det ser ikke ut til å eksistere litteratur eller tilgjengelige studier som dokumenterer at lecitin har innvirkning på vanndråpestørrelsen i vann-i-olje emulsjoner.

CLSM bildene av MSaLsoy og SaLsoy viser nokså tydelig at førstnevnte har flere større dråper enn SaLsoy, men også langt flere dråper. SaLsoy ser ut til å ha svært få store dråper, men heller ikke så mange små dråper. Det er forventet flere og mindre vanndråper i margariner som ikke inneholder melkeproteiner (Chrysan 2005). CLSM bilder viser riktignok et svært lite utvalg fra en margarinprøve, og er ikke nødvendigvis representativt for hele populasjonen. Store dråper kan eksempelvis skjule mindre dråper, og det vil ikke bli trukket konklusjoner basert på CLSM bildene i denne oppgaven.

Chrysan (2005) viser til at dråpestørrelse er svært avhengig av prosessbetingelser og at tilstrekkelig kontroll på prosessen er kritisk. Singh (2011) skriver at lipidoksidasjon generelt reduseres ved økning i proteinkonsentrasjon, men Singh viser til at det er ulike resultater for effekten av dråpestørrelse på lipidoksidasjon. Det har blitt rapportert mer lipidoksidasjon ved små dråper (Gohtani et al. 1999; Lethuaut et al. 2002), mens andre rapporterer om mer lipidoksidasjon for større dråper (Let, Mette B et al. 2007; Nakaya et al. 2005). Disse studiene er utført på olje-i-vann emulsjoner, og hvorvidt dette kan sammenlignes med vann-i-olje emulsjoner er ikke dokumentert. Hvilke forbindelser som er tilstede i grenseflaten vil også ha stor betydning, i tillegg til andre råvarer og fettsyresammensetningen i fettfasen. I denne oppgaven ser det ikke ut til at vanndråpestørrelse og -fordeling har direkte innvirkning på emulsjoners oksidative stabilitet, og det antas at hypotesen om dette nevnt innledningsvis kan forkastes. Dette antas på bakgrunn av hvilke margarinprøver som scorer høyt på samtlige oksidasjonsanalyser: Sa og Sa ref. Disse margarinprøvene har svært lik fordelingskurve som MSa, men har eksempelvis signifikant ulike TBA verdier. Til forskjell

har MSaLsoy og SaLsoy lagret ved 15 °C i 7 uker svært ulike fordelingskurver, men har ikke signifikant forskjellige TBA verdier.

6.3 Fluorescensspektroskopi

Fluorescensspektroskopi har i andre studier vist god korrelasjon med blant annet TBA-verdi og oksidasjon i smør (Veberg et al. 2007). Fluorescensintensiteten i margarinprøvene viser derimot ikke den samme trenden som de sensoriske og kjemiske analysene viser, som at Sa ser ut til å være langt mer oksidert enn i andre. Fluorescensspektroskopi er et effektivt måleverktøy for å måle fotooksidasjon i produkter som smør og kjøtt, men det er svært få eller ingen tilgjengelige studier som har undersøkt hvorvidt dette kan brukes for margarin. I arbeidet som er utført i uttesting av margariner har prøvene blitt lagret i lystett emballasje i mørke kjøle- og fryserom, og det ser derfor ikke ut til at det har forekommet fotoinitert oksidasjon. I tillegg virker det ut i fra fluorescensanalysene at lipidoksidasjonen i margarinprøvene ikke skyldes fotooksidasjon, og det antas derfor at det skyldes autooksidasjon.

Fluorescensspektroskopi viste ingen signifikante forskjeller eller en trend som kan relateres til andre resultater i oppgaven. Proteiner må være tilstede i produktet for å få utslag på fluorescensintensiteten i bølglengdeområdet som er benyttet i denne oppgaven. Dette fordi aminosyrer må binde oksidasjonsprodukter og danne stabile forbindelser som lar seg måle med fluorescens (Wold 2017). Den mest oksiderte margarinprøven målt kjemisk og sensorisk inneholder ikke melk, og dermed ingen proteiner. Margarinprøvene som inneholder melk og som kunne gitt utslag på fluorescensspektroskopi har lave verdier i de andre oksidasjonsanalysene. Det antas at det er årsaken til at fluorescensspektroskopi ikke viser signifikante forskjeller eller en trend man kunne konkludert noe fra. Det ser derfor ut til at fluorescensspektroskopi ikke er en egnet metode for å måle oksidasjon i margarin som ikke inneholder proteiner eller andre strukturer med aminogrupeer.

6.4 Kvantitativ beskrivende analyse

Den kvantitative beskrivende analysen viser i denne oppgaven hvor nøyaktig produkter kan vurderes sensorisk. Av de 24 egenskapene som ble vurdert ble 22 av dem vurdert med signifikante forskjeller blant prøvene.

Basert på resultatene fra de sensoriske vurderingene utført på Mills og fra de kjemiske analysene for måling av lipidoksidasjon var det forventet signifikante utslag på oksidert smak og lukt, spesielt for Sa lagret ved 15 °C i syv uker. Ved sensorisk vurdering av meieriprodukter, fett og oljer er lipidoksidasjon generelt beskrevet med egenskaper som papp, papir, maling, talg og fisk (Claassen & Lawless 1992). Som vist i vedlagt egenskapsforklaring har det sensoriske panelet ved Nofima benyttet beskrivelsen papp for oksidert smak og lukt, i tillegg til at egenskaper som gress, høy, stearin og maling beskriver harsk lukt og smak. I den kvantitative beskrivende analysen ble prøver med smaks- og lukteegenskaper mot papp vurdert som begynnende oksidert eller svakt oksiderte, mens prøver med egenskaper som gress, høy, stearin og maling har gått videre til harsk lukt og/eller smak. Med unntak av Sa får prøvene generelt sett høyere score for oksidert smak og lukt enn harsk smak og lukt, mens Sa scorer langt høyere på sistnevnte. Det ser derfor ut til at ved den sensoriske vurderingen utført av det trente panelet blir alle prøvene utenom Sa vurdert til tidlig eller ingen oksidasjon, mens Sa er svært oksidert/harsk.

Som nevnt i teoridelen skriver Decker et al. (2010) at oljer med høyt innhold av linolensyre, som for eksempel rapsolje og soyaolje, kan utvikle en mer fiskeaktig bismak ved lagring fordi det dannes 2,4,7-dekatrienal. Terry og Heinrich (2004) oppgir at 2,4-heptadienal vil kunne avgi smak som beskrives som fet, nøtteaktig og fritert. Som diskutert litt senere i oppgaven ble det funnet høye konsentrasjoner 2,4-heptadienal i margarinprøven Sa, som ble ansett som vært harsk av det sensoriske panelet til Nofima. Dette tyder på den benyttede egenskapsforklaringen for oksidert smak ikke er helt tilpasset margarinenes høye innhold av linolensyre sammenlignet med andre vegetabiliske oljer eller produkter. Fem av åtte paneldeltagere kommenterte at Sa lagret ved 15 °C i syv uker hadde en marin- eller fiskeaktig oljesmak, som støtter under teorien om at oksiderte prøven med høyt innhold av linolensyre kan avgi en slik smaksopplevelse. Hvorvidt prøvene ville blitt ansett som mer oksidert med en revidert egenskapsforklaring med marin- eller fiskeaktig oljesmak som beskrivelse for oksidert smak er uvisst, men basert på kommentarene Sa prøven og litteraturen er dette en mulighet.

Resultatene fra QDA viser også at andre egenskaper overdøves ved høy score på harsk lukt og smak. Det ble utført korrelasjonsanalyse mellom harsk smak og syrlig smak, og de korrelerer

negativt med signifikans på 95 % nivå. I margarinprøven Sa ser en for eksempel at den syrlige smaken er målt med signifikant lavere intensitet enn de andre, og følgelig høyere score for harsk smak. Mielnik et al. (2002) utførte en studie på pølser laget av mekanisk utbeinet kjøtt fra fjørkre, og fant signifikant korrelasjon mellom høyere score på bismak og en reduksjon i syrlig smak ved beskrivende analyse. Dette stemmer godt med antagelsene om at harsk smak vil overdøve andre smaksegenskaper som syrlig smak og vegetabilsk oljesmak.

6.5 Kjemiske analyser for måling av lipidoksidasjon

6.5.1 TBA

TBA analysen brukes hyppig for å vurdere den oksidative tilstanden til en rekke ulike matvarer, til tross for sine begrensninger som mangler på spesifisitet og følsomhet. For å finne spesifisitet for denne analysen kreveres det en separering av reaksjonsprodukter ved hjelp av HPLC eller GC etterfulgt av identifisering av produktene ved å sammenligne reaksjonsproduktene med standarder eller ved sammenkobling med massespektrometerdetektorer. På tross av sine begrensninger er TBA analysen en utmerket metode for å evaluere lipidoksidasjon i en rekke matvarer, spesielt på et komparativt nivå. (Hu & Jacobsen 2016; Shahidi & Zhong 2005). På bakgrunn av litteraturens anbefalinger om å tolke TBA analysen komparativt ser man fra resultatene i oppgaven at både Lsol ref, Lsol og MLsol har lave TBA verdier, og det er kun MLsol lagret ved 15 °C i syv uker som er signifikant ulik fra Lsol ref, Lsol og MLsol ved de andre lagringsbetingelsene. Sa ref og Sa skiller seg fra resten av prøvene med de høyeste TBA verdiene og signifikante forskjeller, mens TBA verdiene til MSaLsoy ref, MSaLsoy og SaLsoy er generelt lave og kun signifikant forskjellig for SaLsoy lagret ved 15 °C i syv uker.

6.5.2 Peroksid-, anisidin- og TOTOX verdi.

Peroksidverdien i margarinprøvene ble målt, og viser store variasjoner blant de ulike prøvene. Lsol, MSa og Lsol ref var de eneste prøvene med peroksidverdier under 1 meq/kg ved analysering i både tidlig fase og etter lagring i syv uker ved 15 °C. MLsol, MSaLsoy, SaLsoy og MSaLsoy ref hadde verdier under 3 meq/kg i tidlig fase, men opptil 8 meq/kg ved lagring i syv uker ved 15 °C. Prøvene Sa og Sa ref skiller seg mest ut med verdier over 15 meq/kg. Freeman og Melnikov (2005) skriver at margarin bør ha peroksidverdier lavere enn 1 meq/kg, og sammenlignet med dette har flere av prøvene for høye peroksidverdier. Hvorvidt denne kan benyttes som direkte sammenligning er uvisst, da Freeman & Melnikov viser til en margarin produsert på maisolje og ikke rapsolje. Allikevel vil en anta at man tar utgangspunktet i samme verdier siden det høye innhold av linolensyre og dets reaktivitet kan

veie opp for den høye konsentrasjonen av linolsyre i en maisolje. Imidlertid vil man anta at smaksprofilen vil bli forskjellig på en margarin laget av maisolje i forhold til en rapsolje på grunn av dannelsen av ulike sekundære oksidasjonsprodukter med ulike aromaer og terskelverdier

Olje utvunnet fra soya og raps har et høyt innhold av linolenat (esterformen av linolensyre), og er kjent for sin smaksforringelse allerede ved usedvanlige lave nivåer av oksidasjon, og noen ganger ved peroksidverdier under 1 meq/kg (Chrysan 2005). Flyktige komponenter fra oljer med høyt linolensyreinnhold har en signifikant større innvirkning på den sensoriske kvaliteten og har lavere terskelverdier enn flyktige komponenter derivert fra oljen med et høyt innhold av linolsyre (mais og solsikke). Aldehydet med signifikant mest sensorisk effekt er linolenatderivert og er karakteristisk ved å ha n-3 umettethet. Dette er årsaken til at linolensyreoljer som raps- og soyaolje utvikler uønsket lukt og smak ved langt lavere oksidasjonsnivåer (peroksidverdier under 1 meq/kg) sammenlignet med linolsyreoljer (peroksidverdier under 10 meq/kg). Peroksidverdier over 100 meq/kg anses som svært oksiderte av Chrysan (2005) og uspiselige. Sammenlignet med dette har samtlige margariner lave peroksidverdier, men margarinprøven Sa scorer allikevel høyt på de sensoriske analysene hvor oksidert og/eller harsk smak og lukt blir vurdert.

Anisidinverdien gir nyttig informasjon om ikke-flyktige karbonylforbindelser som dannes under prosessering, og denne typen nedbrytning kan være utfordrende i oljer som inneholder linolenat (soya og raps) og langkjedede n-3 fettsyrer (Frankel 2014). Dannelsen av anisidin reaktive produkter øker med mengden umettede fettsyrer, så analysen er mest følsom for oljer fra soya, raps, linfrø, samt fiskoljer (Hu & Jacobsen 2016). Margarinprøvene i denne oppgaven viste generelt sett lave anisidinverdier. Med unntak av Sa ref lagret ved 15 °C i 7 uker hadde samtlige margarinprøver verdier under 1. Denne analysen er ikke blant standardanalysene Mills DA utfører, og de har av den grunn ingen anbefalt grenseverdi. Hu og Jacobsen (2016) skriver at ferske oljer bør ha anisidinverdier under 2, og med unntak av Sa ref var samtlige prøver under kravet for ferske oljer. Denne anbefalingen kan sannsynligvis ikke benyttes som en direkte fasit, da margarin har en ulik fettsyresammensetning enn rene oljer og i dette tilfelle er produktene også lagret over en lengre periode. Det indikerer likevel

at margarinprøvene i snitt har lave anisidinverdier, da det stilles høye krav til ferske oljer, som ingen eller svært nøytral smak (Frankel 2014).

I teoridelen ble en kurve for utviklingen av peroksid-, anisidin- og TOTOX verdi over tid presentert, og på bakgrunn av denne kurven kan det se ut til at margarinene ikke har utviklet seg langt nok med hensyn på oksidasjon til at høye anisidinverdier blir synlig ved analysing. Som tidligere nevnt anses peroksidverdier over 100 meq/kg som svært oksidert, og da ingen av margarinprøvene har så høye verdier antas det at hele utviklingskurven som vises i figuren ikke har blitt analysert i denne oppgaven. Hvorvidt margarinene ville utviklet seg tilsvarende kurvene i figuren er uvisst, men med analysing over en lenger periode enn satt opp i forsøket ville man forventet en reduksjon i peroksidverdien og en økning i anisidinverdien. Da ville imidlertid produktet vært så oksidert at det ikke ville vært egnet til humant konsum.

TOTOX verdiene i margarinprøvene diskuteres kun i korte trekk, da peroksid- og anisidinverdiene allerede er diskutert. Anisidintallet bidrar ikke vesentlig til TOTOX verdien og gjenspeiler mer eller mindre den allerede diskuterte peroksidverdien. Både Frankel (2014) og Hu og Jacobsen (2016) viser til at TOTOX verdier for ferske oljer bør være under 4. I tilgjengelig litteratur vises det ikke til en slik grense for margarin, så heller ikke her vil en direkte sammenligning med litteraturen være gunstig. Margarinprøvene MLsol, Sa, MSaLsoy, SaLsoy og Sa ref målte TOTOX verdier over 4, hvor Sa og Sa ref skilte seg ut med høyest verdier. TOTOX verdien sier i dette tilfellet lite om sekundære oksidasjonsprodukter, da anisidinverdiene er så lave sammenlignet mer peroksidverdiene. Det anses derfor som mer riktig å vurdere de to analysene separat fremfor samlet slik TOTOX verdien gjør.

6.6 Gasskromatografi-massespektrometri

Dynamisk headspace-gasskromatografi-massespektrometri (DHS-GCMS) av flyktige oksidasjonsprodukter ble utført på to prøver som ble vurdert som henholdsvis lite harsk (MLsol) og svært harsk (Sa). Dette ble utført i håp om å se hvilke flyktige komponenter som ga sensorisk utslag på harsk margarin, spesielt på bakgrunn av lave anisidinverdier.

Analysen viser store forskjeller blant de to prøvene på flere flyktige komponenter, med langt høyere verdier for Sa. Når det sammenlignes med terskelverdiene presentert i teoridelen for flyktige forbindelser har MLsol ingen konsentrasjoner over de gitte terskelnivåene. Sa har til

forskjell konsentrasjoner over terskelverdien, eksempelvis har 2,4-heptadienal en grenseverdi på 10 ppb og Sa har følgelig konsentrasjon på 55 ppb for 2,4-heptadienal t,t og 21 ppb for 2,4-heptadienal c,t. Heksanal har som presentert i teoridelen en terskelverdi på 150 ppb, og ingen av margarinprøvene har verdier nær dette. Det kan derfor tyde på at det finnes bedre markører for oksidert smak for margarinprøvene som inneholder linolensyre enn heksanal (Frankel 2014).

Hydroperoksidet epidioksid dannet fra autooksidert metyllinolenat produserer flyktige komponenter som forventet fra spaltningsreaksjonene av linolenathydroperoksider, og signifikante mengder av den unike forbindelsen 3,5-oktadien-2-on. Dette vinylketonet har en lav terskelverdi og et minimum detekterbart nivå og kan bidra til smaksopplevelsen i oljer som inneholder oksidert linolenat. Margarinprøven Sa har ble målt med en konsentrasjon på 36 ppb, mens det ikke ble detektert noe av 3,5-oktadien-2-on i MLsol. I teoridelen ble en oversikt over noen flyktige komponenter presentert. Denne oversikten viser at mesteparten av de flyktige forbindelsene som ble funnet i margarinprøvene dannes fra omega-3 fettsyrer, som C18:3. Med et høyt innhold av rapsolje i margarinprøvene, som har et høyt innhold av C18:3 fettsyrer ser det ut til at oljer med lavere innhold av denne typen fettsyrer kunne gitt en lavere konsentrasjon av de flyktige forbindelse som har gitt negativt utslag på produktenes sensoriske opplevelse (Frankel 2014).

I motsetning til analysen for måling av anisidintall viste GC MS langt større forskjeller mellom disse to prøvene. På bakgrunn av dette antas det at den oksiderte smaken og lukten skyldes andre oksidasjonsprodukter enn anisidinanalysen viser, eller at det har oppstått feil ved selve analyseringen. På bakgrunn av at det ikke ble utført anisidinanalyse med paralleller eller analysert på nytt kan ikke sistnevnte konkluderes.

6.7 Korrelasjon

Et viktig aspekt ved denne oppgaven var å se hvorvidt ulike oksidasjonsanalyser korrelerer. Dette spesielt på bakgrunn av få andre studier med margarin som utgangspunkt, og at valgt metode for måling av TBA-verdi ikke har blitt benyttet på margarin tidligere. Som vist i korrelasjonsanalysene i resultatdelen er det flere av analysene som viser korrelasjon på signifikant nivå. Korrelasjonsanalysen er dog utført på 6 observasjoner og er derfor ikke nødvendigvis representativ for alle prøvene som faktisk er analysert. Årsaken til dette er at noen av analysene er utført ved ulike lagringstemperaturer og -tider.

Peroksidverdien måler innholdet av hydroperoksider, som er smakløse forbindelser. Disse kan derimot dekomponere videre til sekundære forbindelser som har innvirkning på smak og lukt, og kan følgelig ha indirekte korrelasjon med andre oksidasjonsanalyser. Peroksidanalysen korrelerer blant annet med TBA analysen og trekker i samme retning som harsk lukt, emmen smak, harsk smak med flere i korrelasjonssirkelen. Det er svært vanlig å se på forholdet mellom peroksidverdien og sensorisk kvalitet i fett, oljer og fettbaserte produkter, men det er ikke tilstrekkelig studert til å være gi pålitelige konklusjoner. Hu og Jacobsen (2016) viser blant annet til studier hvor peroksidverdien korrelerte med utvikling av malingslukt i vanlig rapsolje og rapsolje med lavt innhold av linolensyre (Malcolmson et al. 1996), og en annen studie hvor på palmeolje hvor peroksidverdi og sensorikk korrelerer dårlig (Idris et al. 1992). Videre viser de til en studie med god korrelasjon i laks (Aubourg et al. 2005), og ingen signifikant korrelasjon i forbehandlet karbonade av biff (precooked beef patties) (Thongtan et al. 2005). Selv om det ikke kan konkluderes noe fra disse studiene skriver de videre at faktorer som fettsyresammensetning spiller en viktig rolle. I denne oppgaven er det funnet signifikant korrelasjon mellom peroksidverdiene og blant annet egenskapene harsk lukt, samt smak og oksidert lukt.

Anisidinverdien hadde kun signifikant korrelasjon med TBA-verdiene, og ikke med egenskaper fra QDA som harsk og oksidert smak. Med så store forskjeller i de andre analyser som også målte lipidoksidasjon og margarinens høye innhold av linolensyre var det forventet høyere utslag på anisidinverdiene. Margarinprøven Sa viste høye verdier og utslag på oksidasjonsanalysene peroksidverdi, TBA og QDA. Den skilte seg derimot lite ut på anisidinanalysen, og det var generelt svært lave verdier i forhold til hva en forventet. Azizkhani et al. (2011) studerte ulike tokoferolers effekt på oksidasjon i margarin, og observerte anisidinverdier opp mot 19 meq/kg, riktignok lagret ved 60 °C i en langt kortere periode. Slike verdier er ikke å finne i denne oppgaven, og det var derfor ønskelig å sammenligne anisidinverdiene med resultatene fra GC-MS. GC-MS analysen høye konsentrasjoner av flyktige komponenter Frankel (2014) viser til at har sterk innvirkning på smaksopplevelsen, og det konkluderes av den grunn ingenting på bakgrunn av anisidinverdiene.

Sensorisk analyse, og herunder QDA, anses som en viktig metode for å vurdere kvalitet (Hu & Jacobsen 2016). Den sensoriske vurderingen av margarinprøven Sa og MLsol er svært forskjellige, og en av årsakene til at GC-MS ble utført på akkurat disse produktene. Egenskapene harsk og oksidert lukt og smak korrelerer godt med at det var høyere konsentrasjoner flyktige forbindelsene i Sa som blir beskrevet med beskrivelser som gress og oksidert fiskeolje (Frankel 2014). GC-MS analysen ble utført på margarin med og uten melk, og som nevnt innledningsvis ble oppgaven utarbeidet med en delhypotese om at melk kamouflerer nedbrytningsprodukter fra lipidoksidasjon som kan avgi smak. Med utgangspunkt i at MLsol ble vurdert med lav intensitet for oksidasjonsegenskaper og følgelig hadde lave konsentrasjoner av flyktige komponenter som avgir uønsket smak. Til forskjell ble Sa vurdert som svært harsk, og hadde høye konsentrasjoner av flere ulike flyktige komponenter som anses som gode markører for lipidoksidasjon (Frankel 2014). Det ser derfor ut til at denne delhypotesen kan forkastes.

Jacobsen (2010) viser til heksanal som en markør for oksidasjon i produkter som inneholder linolensyre, og at studier viser god korrelasjon mellom TBA verdier og heksanalkonsentrasjon målt ved GC-MS. I denne oppgaven ble eksempelvis margarinprøven Sa målt med TBA verdier over 2 mg/kg, og en heksanalkonsentrasjon på 21 ppb analysert ved GC-MS. Da litteraturen har anbefalt å vurdere TBA verdier komparativt er det for lite grunnlag til å konkludere hvorvidt 21 ppb gir utslag på smak, spesielt når Frankel (2014) viser til et terskelnivå på 150 ppb for heksanal.

Mielnik et al. (2002) målte lipidoksidasjon i kjøttdeig fra fjørkre med høy korrelasjon mellom TBA og fluorescensspektroskopi. Som tidligere diskutert i denne oppgaven var ikke forsøksdesignet satt opp med hensyn på at proteiner må være tilstede for å måle lipidoksidasjon ved hjelp av fluorescens, og følgelig var det ingen synlig korrelasjon mellom TBA verdiene og fluorescensintensiteten ved de valgte bølgelengdene.

6.8 Faktorer som kan ha innvirkning på den oksidative stabiliteten

Lipidoksidasjon i emulsjoner er svært kompleks ettersom det kan omfatte oksidasjon eller elektronoverføringer i alle de ulike fasene i systemet. Dette fører til at lipidoksidasjon i emulsjoner kan være svært ulik og langt mer kompleks enn i bulkolje. Selv om de grunnleggende oksidasjonsreaksjonene til lipider i emulsjoner er like som i bulkoljer, er det

andre faktorer som gir signifikante forskjeller mellom de to. Oksidasjonsreaksjonene i vann-i-olje emulsjoner kan være ulike fra olje-i-vann emulsjoner. Det finnes mange studier som vurderer og konkluderer ulike faktorerens effekt på lipidoksidasjon i olje-i-vann emulsjoner, som for eksempel dråpestørrelsefordeling, valg av emulgator, pH og prosessbetingelser. Det er derimot for få studier utført på vann-i-olje emulsjoner til å kunne konkludere at disse faktorene har signifikant effekt på lipidoksidasjon når fett er den kontinuerlige fasen og ikke vann. Det finnes kun et fåtall studier tilgjengelig i den vitenskapelige litteraturen hvor andre faktorer enn tilsetning av antioksidanter blir vurdert (Hu & Jacobsen 2016).

Lipidoksidasjonsreaksjoner kan påvirkes av indre elementer, samt eksterne faktorer. Faktorer som tilgang til oksygen, temperatur, lys, lipidenes fysiske tilstand, fettsyresammensetningen, pH, pro- og antioksidanter kan ha innvirkning på lipidoksidasjonen i et produkt (Damodaran et al. 2007). Flere av disse faktorene er like for produkter med svært ulik grad av lipidoksidasjon, som tilgang til oksygen og lyseksposering. Flere potensielle faktorer er like for samtlige produkter og blir derfor ikke diskutert, som for eksempel emballasje, lagringsbetingelser og lystilgang ved lagring.

6.8.1 Råvarekvalitet

Råvarekvaliteten til produkter som inneholder fett og oljer er en kritisk og en viktig faktor for å oppnå oksidativt stabile produkter (Hu & Jacobsen 2016). Råvarekvaliteten i denne oppgaven vurderes å være generelt god for samtlige ingredienser. Denne vurderingen gjøres på bakgrunn av at produktene fremstilt i pilotanlegget på Mills DA er produsert med de samme råvarene på samme dag, og flere av margarinprøvene viser god kvalitet ved endt holdbarhet både kjemisk og sensorisk.

6.8.2 Prosessbetingelser og produksjonsbetingelser

Som nevnt innledningsvis var en av hypotesene potensielle forbedringspunkter i produksjonsmønsteret, og underveis i oppgaven ble dette vurdert i korte trekk. Det finnes dog svært få eller ingen tilgjengelige studier som vurderer effekten av prosessbetingelser i margarin eller vann-i-olje emulsjoner. Horn et al. (2012) sammenlignet effekten av å benytte en to-steps homogenisator eller en mikrofluidisator på lipidoksidasjon i 10 % fiskeolje-i-vann emulsjon. Det ble konkludert at sammensetningen av proteiner i interfasen var en langt viktigere faktor enn prosessbetingelsene.

Det ble forsøkt å finne et potensielt mønster i produksjonen som kunne forklart variasjonen i den oksidative stabiliteten i margarinprøvene. Ved hjelp av standard kvalitetskontroll har det blitt hentet ut rapporter fra tidligere produksjoner, med informasjon som sensorisk karakter. Margarinprøven Sa ref har i snitt fått høye verdier for oksidasjonsprodukter i denne oppgaven, og produseres kun på én produksjonslinje. Denne linjen produserer derimot også MSaLsoy ref, som får gode karakterer med hensyn på sensorisk kvalitet. Det ser derfor ikke ut til at det skyldes selve produksjonslinjen eller faktorer relatert til denne.

En annen teori gikk ut på at emulsjonsblandingen ble holdt ved for høy temperatur over for lange perioder før nedkjølings- og krystalliseringsprosessen ble igangsatt, men heller ikke dette så ut til å være en avgjørende årsak. To produksjoner av Sa ref ble vurdert underveis i oppgaven, hvor den ene emulsjonsblandingen ble stående ved temperatur over 60 °C i over tolv timer før den ble overført til skrapevarmevekslerne for nedkjøling, krystallisering og videre til emballering grunnet sykdom. To uker senere ble samme margarin produsert, og i dette tilfellet ble emulsjonsblandingen overført til skrapevarmevekslerne umiddelbart. En forventet derfor en potensiell forskjell i sensorisk kvalitet. I samarbeid med laboratoriet på Mills ble prøver fra begge disse produksjonene vurdert en uke etter produksjonsdato, og ble bedømt som like oksidert.

6.8.3 Salt og spormetaller

Som tidligere nevnt finnes det få studier som tar for seg lipidoksidasjon spesifikt i margarin eller vann-i-olje emulsjoner med sterke likhetstrekk til sammensetningen i margarinene i denne oppgaven. Saltets innvirkning er derimot studert i mat- og modellsystemer med visse likhetstrekk. I maisoljeemulsjoner stabilisert ved hjelp av SDS (natriumdodecylsulfat) virket salt som en prooksidant i nærvær av jern, men som en antioksidant ved fravær av jern. Natriumklorid hadde derimot ingen effekt på lipidoksidasjon i emulsjoner stabilisert med Brij (polyoksyetylen 10 lauryl eter) eller DTAB (dodecyltrimetylammoniumbromid) (Mei et al. 1998). Basert på dette foreslo forfatterne at natriumkloridinhivering av oksidasjon skyldes færre jern-lipid interaksjoner grunnet natriums evne til å redusere jernbindingen ved dråpeoverflaten ved å danne jernkloridkomplekser. Depree og Savage (2001) vurderte oksidasjonsegenskapene i majonesemulsjoner og konkluderte at natriumklorid kan fremme oksidasjon i fravær av antioksidanter, men at effekten er nøytralisert av antioksidanter. Disse forfatterne foreslo at de oksidasjonsfremmende egenskapene til salter sannsynligvis ikke er avgjørende for næringsmiddelprodusenter fordi salt bidrar med andre viktige egenskaper som

smak og emulsjonsstabilitet (Osborn 2003). Det er som tidligere nevnt ikke mulig å konkludere tilsvarende effekt for vann-i-olje emulsjoner.

Bess (2011) skriver at natriumklorid alene fungerer som en prooksidant, og metallforurensninger i saltblandinger som kobber og jern kan bidra til lipidoksidasjon. Mills DA benytter et raffinert salt, og kobber- og jerninnholdet er oppgitt i vedlegg 1. Hvorvidt disse konsentrasjonene av spormetaller som kobber og jern er høye nok til at de har negativ innvirkning på sluttproduktets oksidative stabilitet er ikke undersøkt i denne oppgaven.

Mekanismen som kan starte lipidoksidasjon har blitt diskutert i mange år. Den mest sannsynlige initieringsprosessen er metallkatalysert nedbrytning av allerede hydroperoksider som allerede har blitt dannet. Den termiske oksidasjonen av umettede lipider er normalt sett autokatalytisk og involverer initiering av nedbrytning ved hydroperoksider, som generelt sett anses å være metallkatalysert fordi det er svært vanskelig eller nesten umulig å eliminere spormetaller som kraftige katalysatorer for reaksjoner involvert i lipidoksidasjon (Frankel 2014). Tilstedeværelsen av tungmetaller kan forårsake utvikling av metallisk bismak i margarin i løpet av få dager. Kobber har den sterkeste prooksidierende effekten, og den sterkeste mengden kobber som kan tolereres er ifølge Mertens et al. (1971) indikert å være i størrelsesorden 0,02 ppm (0,02 mg/l) (Chrysan 2005). Toverdig jern (Fe^{2+}) er kjent som den biologiske aktive formen av jern grunnet sin sterke oksidasjonsaktivitet. I nærvær av lipider reagerer Fe^{+2} med hydrogenperoksid og danner hydroksylradikaler via Fenton-reaksjonen (Osborn 2003).

I denne oppgaven hadde margarinprøvene Sa og Sa ref signifikant høyere peroksidverdier enn de andre margarinprøvene. Som tidligere nevnt reagerer Fe^{2+} med hydroperoksider og danner hydroksylradikaler, og med høyere innhold av hydroperoksider tilsier det også at disse to prøvene har flere hydroperoksider tilgjengelig, gitt at Fe^{+2} også er tilstede. Det er dog andre prøver som også inneholder salt, men som ikke har like høye peroksidverdier. MSa, MSaLsoy og SaLsoy inneholder også 2 – 2,2 % salt, hvor MSa har peroksidverdier under 1 meq/kg og MSaLsoy og SaLsoy har peroksidverdier mellom 6 og 8 meq/kg. Den eneste forskjellen mellom Sa og MSa er tilsetningen av 5 % skummet melk i sistnevnte, og den potensielle

årsaken til at melk har innvirkning på dannelsen av hydroperoksider blir derfor diskutert senere i oppgaven. Dannelsen av sekundære oksidasjonsprodukter som kan ha innvirkning på opplevd smak ser ut til å variere blant produktene. Blant de nevnte margarinprøvene i dette avsnittet er det kun Sa som har høye utslag på harsk, besk og emmen smak. Det kan ikke konkluderes med sikkerhet at salt i seg selv eller spormetaller fra saltblandingen er en faktor som fremmer lipidoksidasjon i margarinprøvene i denne oppgaven, men antas å være en mulighet.

6.8.4 Lecitin og fosfolipider

Fosfolipider anses generelt å ha en antioksiderende effekt i mat, men ved oppvarming vil effekten kunne svekkes fordi det dannes reducerende bruningsmateriale. Fosfolipidene spiller en viktig rolle i stabiliseringen av vegetabiliske oljer ved prosessering og fungerer som en synergist ved å fremme aktiviteten til antioksidanter. Lecitin kan fungere som en synergist i oljer fordi den binder ioner og molekyler til metallioner (chelatering). I emulsjoner vil lecitin ved hjelp av sine overflateaktive egenskaper forbedre kontakten mellom de polare fenole antioksidantene og de mindre polare lipidsubstratene. Eriksson (1982a) skriver at flere rapporterer at fosfolipider fra melk og lecitin har antioksiderende effekter, men det virker i midlertidig som om de fungerer mer som synergister til andre oksidanter eller som antioksidanter selv, som Olcott og Veen (1963) skriver.

Etter anbefalinger fra Frankel (2014) bør det ikke konkluderes at tilsvarende effekter vil være tilfelle i vann-i-olje emulsjoner, men på bakgrunn av lite litteratur tilgjengelig med vann-i-olje emulsjoner i fokus har studier utført på andre matsystemer blitt inkludert. Fomuso et al. (2002) så på effekten av emulgator på lipidoksidasjon i fiskeoljebaserte olje-i-vann emulsjoner, og påstår at lecinstabiliserte emulsjoner kan ha hatt lavere TBA verdier fordi det spesifikke overflatearealet som karakteriserte emulsjonen og dråpestabiliteten resulterte i «creaming» (migrasjon av den dispergerte fasen, under påvirkning av oppdrift). Ramadan (2012) vurderte antioksidantaktiviteten hos ulike fosfolipider i lipidmatriser, og konkluderte at oksidativ stabilisering er en kompleks prosess og at ulike fosfolipider vil ha ulik effekt.

I denne oppgaven kan det se ut til at lecitin har hatt positiv innvirkning på den oksidative stabiliteten. Den mest oksiderte margarinprøven, Sa, er ikke tilsatt lecitin. Til sammenligning er margarinprøven SaLsoy tilsatt nesten like mye salt som Sa, samt soyalecitin. Denne prøven

har langt lavere oksidasjonsverdier. Fire av de seks margarinprøvene produsert ved pilotskala er tilsatt lecitin, og har langt lavere oksidasjonsverdier enn margarinprøven Sa. En mulig årsak er lecitinens evne til å binde metaller som Fomuso et al. (2002) beskriver.

Margarinprøven MSa, som til forskjell fra Sa inneholder melk har også signifikant lavere oksidasjonsverdier enn Sa. Dette diskuteres ytterligere i neste delkapittel.

6.8.5 Proteiner

Proteiner og mange andre komponenter i mat har en beskyttende virkning og fungerer som en synergist for andre hemmere, og styrker effekt til antioksidanter. Aminogrupeer i proteiner reagerer med lipidperoksider, som fører til at mengden frie radikaler tilgjengelig i produktet reduseres. Dette gir produktet en bedre oksidativ stabilitet (Rahman 2007).

Proteiner i mat gjennomgår komplekse interaksjoner gjennom ulike varmebehandlinger, som enten promoterer eller forsinker oksidasjon. Ved økt temperatur kan fosfolipider produsere antioksidantforbindelser ved bruningsreaksjon, mens proteiner kan denaturere og frigi sulfhydrylgrupper (–SH-grupper) som øker den oksidative stabiliteten til oppvarmet produkt. Det finnes derimot svært lite eller ingen litteratur som direkte konkluderer melk eller proteiners effekt på lipidoksidasjon spesifikt i margarin, som gjør det vanskelig å trekke egne konklusjoner. Denne oppgaven har derimot variasjoner målt i oksidasjon som tyder på at melk(e)proteiner har en positiv effekt på oksidativ stabilitet.

Horn et al. (2013) vurderte effekten av homogeniseringsbetingelsene på lipidoksidasjon på to ulike emulsjoner, og så at tilstedeværelsen av proteiner i interfasen og vannfasen i begge emulsjonen var viktig for den oksidative stabiliteten (Hu & Jacobsen 2016). Chrysan (2005) viser til at margariner produsert fra vegetabiliske oljer tilsatt melkeproteiner er stabile i 6 måneder ved 4,4 °C uten tilsetning av antioksidanter (Kanematsu et al. 1972). Frankel (2014) skriver at det er observert synergier ved blandinger av fenole komponenter med lecitin, sukkeralkoholer og aminosyrer. I litt eldre studier er det observert at flere ulike proteiner har inhibert lipidoksidasjon, som for eksempel melkeprotein (Elnegoumy & Ku 1968; Kajimoto & Kamo 1964; Taylor & Richardson 1980) og soyaproteiner (Pratt 1972).

Proteiner kan danne en barriere mot penetrasjon av oksidasjons- eller andre kvalitetsforringende forbindelser i olje-vann grenseflaten, og i noen tilfeller kan de antioksidierende og metallbindende egenskapene til noen melkeproteiner være fordelaktige mot dette. β -laktoglobulin har vist milde antioksidierende egenskaper, hovedsakelig på grunn av den frie tiolgruppen. Kasein og laktoferrin har også blitt beskrevet med antioksidierende egenskaper fordi de begge kan binde jern (Livney 2010; Medina et al. 2002). Noen av margarinprøvene i denne oppgaven er tilsatt skummet melk, og følgelig melkeproteiner. På bakgrunn av disse prøvene ser det ut til at melken bidrar til oksidativ stabilitet, og margarinene Sa og MSa er gode eksempler på dette. Margarinprøven Sa har utviklet signifikante mengder oksidasjonsprodukter, mens MSa har svært lave verdier for blant annet TBA og peroksid. Tilsetningen av melk er eneste forskjellen mellom disse margarinene, og melken ser derfor ut til å ha en signifikant effekt på reduksjon av lipidoksidasjon som antydnet i delhypotesen innledningsvis. Margarinen Lsol og SaLsoy inneholder heller ikke melk, og det er langt mindre forskjeller mellom disse og MLsol og MSaLsoy. Disse inneholder derimot lecitin, som i forrige delkapittel ble antatt å ha positiv effekt på den oksidative stabiliteten.

6.8.6 Antioksidanter

Ved lipidoksidasjon i margarin er tilsetning av antioksidanter en meget sentral bidragsyter til oksidativ stabilitet. Reaksjonsmekanismene for lipidoksidasjon er som nevnt innledningsvis fremdeles ikke helt forstått, på tross av omfattende forskning siden begynnelsen av det 20. århundre. Dette gjelder spesielt i lipidmatriser med antioksidanter tilstede. Slik kunnskap er høyst ønskelig for å kunne utvikle nye antioksidantstrategier for å beskytte de mer ernæringsmessige lipidene fra oksidative endringer (Ramadan 2012). Sett fra et industrielt perspektiv er det derimot konsekvenser ved tilsetning av antioksidanter en må ta hensyn til, og dermed ikke alltid en mulig løsning. Dagens marked ønsker produkter med minst mulig tilsetningsstoffer, uavhengig av deres funksjon og kilde.

Bruk av antioksidanter kan være nødvendig for å opprettholde kvalitet over tid i margariner med et signifikant innhold av animalsk fett, men disse tilsettes normalt sett ikke i de fleste margariner som kun inneholder olje fra vegetabiliske kilder. Det kan derimot bli nødvendig med tilsetning av antioksidanter i fremtiden for å opprettholde oksidativ stabilitet ved bruk av fett med høy andel umettet fett, som for eksempel uhydrogenert fiskeolje (Chrysan 2005). Tilsetning av rett type antioksidant vil være en mulig løsning for å sikre oksidativ stabilitet i margariner som er utsatt for lipidoksidasjon. Hydrofile antioksidanter er eksempelvis mer

effektive i bulkoljer, mens lipofile antioksidanter er mer effektive i systemer med høy overflate/volum ratio, som i emulsjoner og membraner (Lucas et al. 2010). Fenole antioksidanter fungerer også som synergister ved å forsterke antioksidantegenskapene til laktoferrin i ulike lipidsystemer hvor jern er supplert for ernæringsformål (Frankel 2014).

Sitronsyre, sitrater og salter av etylendiamintetraeddiksyre (EDTA) fungerer som sekvenseringsmidler for inaktivering av metaller som kan være tilstede. EDTA har vist seg å være meget effektivt for å hindre bismak på grunn av kobberindusert nedbrytning og tilsettes ofte i melkefrie margariner i form av kalsiumdinatriumsalt. Melnick (1966) har patentert en fremgangsmåte for krystallisering av saltet i nærvær av EDTA for å redusere innholdet av tungmetaller. Et slikt salt av høy renhet er tilgjengelig for bruk i margarin Saltets renhet kan være avgjørende for saltets innvirkning på lipidoksidasjon (Chrysan 2005). Let, Mette B. et al. (2007) vurderte ulike antioksidanters effekt i fiskeolje-riket salatdressing, og konkluderte at EDTA tilsynelatende var blant de mest effektive antioksidantene, og anslår at det skyldes chelatering av spormetaller.

Det finnes blant annet tre studier som vurderer effekten av ulike antioksidanter i margarin, og samtlige konkluderte med en positiv effekt ved tilsetning av antioksidanter (Azizkhani et al. 2011; Dwyer et al. 2012; Filip et al. 2009). Hvorvidt de ulike antioksidantene som ble studert i disse tilfellene ville hatt effekt på margarinene i denne er uvisst, da margarinene blant annet er produsert med ulik fettsammensetning. På grunn av kompleksiteten i mat er det nødvendig å undersøke enhver tilsetning av antioksidanter for å stabilisere akkurat dette materialet og for å optimalisere blandingen av hemmere (Rahman 2007). I denne oppgaven antas det at konsentrasjonen antioksidanter som finnes naturlig i råvarene er av så små konsentrasjoner til at det ikke har en betydelig effekt. Vegetabiliske oljer inneholder eksempelvis noe tokoferoler, men mesteparten forsvinner ved varmebehandlingen oljen gjennomgår ved raffinering (Vaclavik & Christian 2013). De seks margarinprøvene tar utgangspunkt i tre resepter, og i tillegg til disse blir skummet melk enten tilsatt eller fjernet. Det er med andre ord ingen andre justeringer enn innholdet av melk, og som tidligere diskutert antas det at melkeproteinene er årsaken til forskjellene i målt oksidasjon.

6.9 Videre arbeid

Denne oppgaven har åpnet dørene for videre muligheter, som forhåpentligvis kunne gitt flere konklusjoner enn oppnådd. Ytterligere prøveproduksjoner med et balansert utvalg prøver anbefales, slik at hver enkelt av de diskuterte faktorene kunne blitt bedre vurdert. Ideelt sett kunne oppgaven (eller videre arbeid) blitt basert på én resept som utgangspunkt fremfor tre ulike, slik at resepten i seg selv ikke ble en forskjell i vurderingen. Videre kunne det blitt produsert ytterligere varianter av samme resept, hvor tilsetning av salt, melk, lecitin og eventuelle bidragsyttere til oksidativ stabilitet var satt opp i et balansert utvalg.

Mye av litteraturen har analysert sine prøver ved langt flere punkter over tid enn hva som ble utført i denne oppgaven. Eksempelvis ble peroksid- og anisidinverdien undersøkt ved to ulike stadier i holdbarhetsspekteret, og ved presentering og diskusjon av disse resultatene sammenlignet med litteraturen ville det vært ideelt om oppsettet lignet mer. Anisidinverdiene var forventet å korrelere godt med andre analyser som TBA, QDA og GC-MS, og når resultatene ikke har stemt med litteraturen ville det vært ideelt med en reanalysering av disse resultatene for å se om de samme verdiene gjentok seg eller om resultatene fra første analysering burde forkastes. Ved QDA ble det benyttet egenkapsforklaringer på oksidert lukt og smak som ville passet bedre om margarinene var produsert med soyaolje, og en revidert versjon som retter fokuset mer mot egenskapsforklaring knyttet til oljer med høyt innhold av linolensyre bør vurderes.

Det kunne også vært interessant å analysere mengden frie fettsyrer og undersøkt om denne konsentrasjonen var lik i alle produktene. Som nevnt i teoridelen om nøytralisering av råolje kan frie fettsyrer redusere oljens oksidative stabilitet, og kunne forklart økt grad av harskning i margarinprøven Sa og Sa ref.

Margarinprøven Sa og Sa ref har i denne oppgaven skilt seg godt ut fra de andre med signifikant høyere oksidasjonsverdier, spesielt ved de sensoriske vurderingene. Det antas derfor at det kan bli aktuelt å endre på margarinens resept med hensikt å forbedre den oksidative stabiliteten. Fra et industrielt perspektiv vil det være mer hensiktsmessig å fjerne potensielle ingredienser som fremmer lipidoksidasjon fremfor tilsetning av ingredienser som

hemmer lipidoksidasjon. Salt kan i denne oppgaven se ut til å fremme lipidoksidasjon dersom margarinen ikke inneholder proteiner eller lecitin, og hvis salt fjernes antas det å være mer eller mindre uproblematisk for forbruker å tilsette salt i sluttproduktet selv. Ved tilsetning av melk, lecitin eller antioksidanter vil bruk av allergener redusere bruksområdet betydelig, og om margarinen benyttes i videre produksjon vil det også kreve et omfattende arbeid med endring av videre varedeklarasjoner. Basert på resultatene i denne oppgaven kan det antas at en betydelig reduksjon eller fullstendig fjerning av salt vil ha positiv innvirkning på den oksidative stabiliteten til margariner uten melk og fosfolipider, og nye prøveproduksjoner vil forhåpentligvis bekrefte dette. Dette vil i tillegg være gunstig fra et ernæringsmessig perspektiv hvor det anbefales at dagens saltinntak bør halveres.

6.10 Konklusjon

Målet med denne oppgaven var å utforske ulike faktorer som kan ha innvirkning på lipidoksidasjon i margarin. I den sammenheng ble ni margarinprøver studert ved hjelp av ulike analyser for å måle lipidoksidasjon og vurdere prøvenes emulsjonsegenskaper.

Det antas at lipidoksidasjon i margarinprøvene i denne oppgaven er en metallkatalysert initieringsprosess, og tilstedeværelsen av spormetaller er uønsket men også unngåelig. Det er heller ikke ønskelig med oksygen tilstede, men da emballering og lagring har vært lik for de ulike produktene har ikke det vært en variabel i denne oppgaven. Basert på analysene utført i denne oppgaven kan det se ut til at margariner tilsatt lecitin og/eller proteiner har bedre oksidativ stabilitet enn margariner uten, og at margariner tilsatt salt er mer utsatt hvis det verken er lecitin eller proteiner tilstede i emulsjonen. Margarinen hadde ulik fordeling av vanndråper med hensyn på størrelse, men det så ikke ut til at andelen små eller store vanndråper korrelerte med økt eller redusert oksidativ stabilitet.

7 Referanser

- Abdi, H. & Williams, L. J. (2010). Tukey's honestly significant difference (HSD) test. *Encyclopedia of Research Design. Thousand Oaks, CA: Sage: 1-5.*
- Aoyagi, W. S. A. (2016). *History of Lecithin and Phospholipids (1850-2016): Extensively Annotated Bibliography and Sourcebook, Including Phosphatides and Liposomes:* Soyinfo Center.
- Aubourg, S. P., Vinagre, J., Rodríguez, A., Losada, V., Larrain, M. A., Quitral, V., Gómez, J., Maier, L. & Wittig, E. (2005). Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107 (6): 411-417.
- Azizkhani, M., Kamkar, A. & Nejad, A. S. M. (2011). Effects of tocopherols on oxidative stability of margarine. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 33 (1): 134-137.
- Bess, K. N. (2011). *Effects of various salt purity levels on lipid oxidation and sensory characteristics of ground turkey and pork:* University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Buege, J. A. & Aust, S. D. (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 52: 302-310.
- Cardona, J. A. R., Iriart, C. H. & Herrera, M. L. (2013). *Applications of Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) in Foods:* INTECH Open Access Publisher.
- Christiansen, K. F. (2016). *Prosessopplæring pilotskala* (01.12.2016).
- Chrysan, M. M. (2005). Margarine and Spreads. I: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products:* John Wiley & Sons, Inc.
- Claassen, M. I. & Lawless, H. A. T. (1992). Comparison of Descriptive Terminology Systems for Sensory Evaluation of Fluid Milk. *Journal of Food Science*, 57 (3): 596-600.
- Coupland, J. N. & McClements, D. J. (1996). Lipid oxidation in food emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 7 (3): 83-91.
- Damodaran, S., Parkin, K. L. & Fennema, O. R. (2007). *Fennema's food chemistry:* CRC press.
- Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. (2010). *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications: Management in Different Industry Sectors:* Elsevier Science.
- deMan, J. M. (2013). *Principles of Food Chemistry:* Springer US.
- Depre, J. & Savage, G. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12 (5): 157-163.
- Domingues, M. A. F., Ribeiro, A. P. B., Kieckbusch, T. G., Gioielli, L. A., Grimaldi, R., Cardoso, L. P. & Gonçalves, L. A. G. (2015). Advances in Lipids Crystallization Technology. I: *Advanced Topics in Crystallization:* InTech.
- Dwyer, S. P., O'Beirne, D., Ní Eidhin, D. & O'Kennedy, B. T. (2012). Effects of Green Tea Extract and α -Tocopherol on the Lipid Oxidation Rate of Omega-3 Oils, Incorporated into Table Spreads, Prepared using Multiple Emulsion Technology. *Journal of food science*, 77 (12): N58-N65.
- Elnegoumy, A. & Ku, P. (1968). *Effect of l-cysteine whole casein k-casein nordihydroguaiaretic acid (NDGA) and alpha-tocopherol on oxidative behavior of some milk lipid fractions in model systems.* Journal of dairy science: Elsevier science Inc 360 Park Ave South, New York, NY 10010-1710 USA. 928-+ s.
- Eriksson, C. E. (1982a). Lipid oxidation catalysts and inhibitors in raw materials and processed foods. *Food Chemistry*, 9 (1-2): 3-19.
- Eriksson, C. E. (1982b). Lipid oxidation catalysts and inhibitors in raw materials and processed foods. *Food Chemistry*, 9 (1): 3-19.


- European Commission. (2015). Report from the commission to the European parliament and the council regarding trans fats in foods and in the overall diet of the Union population, COM(2015) 619. Brüssel.
- Filip, V., Hradkova, I. & Šmidrkal, J. (2009). Antioxidants in margarine emulsions. *Czech J Food Sci*, 27: S9-S11.
- Fomuso, L. B., Corredig, M. & Akoh, C. C. (2002). Effect of emulsifier on oxidation properties of fish oil-based structured lipid emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50 (10): 2957-2961.
- Frankel, E. N. (2014). *Lipid Oxidation*: Elsevier Science.
- Freeman, I. P. & Melnikov, S. M. (2005). Margarines. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.
- Fromm, H. J. & Hargrove, M. (2012). *Essentials of Biochemistry*: Springer Berlin Heidelberg.
- Gerstenberg-Schröder. (2012). Margarine Production - Technology and Process.
- Gohtani, S., Sirendi, M., Yamamoto, N., Kajikawa, K. & Yamano, Y. (1999). Effect of droplet size on oxidation of docosahexaenoic acid in emulsion system. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 20 (5): 1319-1325.
- Haighton, A. J. (1976). Blending, chilling, and tempering of margarines and shortenings. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53 (6): 397-399.
- Helsedirektoratet. (2012). *Kosthåndboken – veileder i ernæringsarbeid i helse- og omsorgstjenesten*: Helsedirektoratet. Tilgjengelig fra: <https://helsedirektoratet.no/Lists/Publikasjoner/Attachments/51/Kosthaandboken-IS-1972.pdf> (lest 04.05.2017).
- Helsedirektoratet. (2016). Helsedirektoratet. Tilgjengelig fra: <https://helsedirektoratet.no/folkehelse/kosthold-og-ertering/neringsstoffanbefalinger-#fett> (lest 04.05.2017).
- Hoerr, C. W. (1960). Morphology of fats, oils, and shortenings. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37 (10): 539-546.
- Horn, A., Barouh, N., Nielsen, N., Baron, C. & Jacobsen, C. (2013). Homogenization pressure and temperature affect composition of proteins in the aqueous phase and oxidative stability of fish-oil-in-water emulsions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90: 1541-1550.
- Horn, A. F., Nielsen, N. S., Jensen, L. S., Horsewell, A. & Jacobsen, C. (2012). The choice of homogenisation equipment affects lipid oxidation in emulsions. *Food chemistry*, 134 (2): 803-810.
- Hu, M. & Jacobsen, C. (2016). *Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats*: Elsevier.
- Idris, N. A., Abdullah, A. & Halim, A. (1992). Evaluation of palm oil quality: Correlating sensory with chemical analyses. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69 (3): 272-275.
- Igoe, R. S. (2011). *Dictionary of Food Ingredients*: Springer US.
- Jacobsen, C. (2010). 6 - Understanding and reducing oxidative flavour deterioration in foods A2 - Decker, Eric A. I: *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*, s. 122-142: Woodhead Publishing.
- Jay, J. M. (2012). *Modern Food Microbiology*: Springer US.
- Kajimoto, G. & Kamo, K. (1964). Influence of food constituents on the rancidity of oil. *Eiyo To Shokuryo*, 16: 510.
- Kanematsu, H., Morise, E., Niiya, I., Imamura, M., Matsumoto, A. & Katsui, G. (1972). Influence of tocopherols on oxidative stability of margarines. *J Jpn Soc Food Nutr*, 25: 343-348.

- Kovács, L., Csupor, D. & Lente, G. b. (2014). *100 Chemical Myths : Misconceptions, Misunderstandings, Explanations*. 100 Chemical Myths. Cham: Springer International Publishing.
- Lande, A. & Lande, A. P. M. (1987). *Lyngdalselva 1986. Vurdering av vannkvalitet*.
- Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*: Springer New York.
- Let, M. B., Jacobsen, C. & Meyer, A. S. (2007). Ascorbyl Palmitate, γ -Tocopherol, and EDTA Affect Lipid Oxidation in Fish Oil Enriched Salad Dressing Differently. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (6): 2369-2375.
- Let, M. B., Jacobsen, C., Sørensen, A.-D. M. & Meyer, A. S. (2007). Homogenization conditions affect the oxidative stability of fish oil enriched milk emulsions: lipid oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (5): 1773-1780.
- Lethuaut, L., Métro, F. & Genot, C. (2002). Effect of droplet size on lipid oxidation rates of oil-in-water emulsions stabilized by protein. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (5): 425.
- Livney, Y. D. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15 (1–2): 73-83.
- Lucas, R., Comelles, F., Alcántara, D., Maldonado, O. S., Curcuroze, M., Parra, J. L. & Morales, J. C. (2010). Surface-active properties of lipophilic antioxidants tyrosol and hydroxytyrosol fatty acid esters: a potential explanation for the nonlinear hypothesis of the antioxidant activity in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58 (13): 8021-8026.
- Lundin, J. & Persson, M. (2017). *Possibilities with vegetable fats & oils*. Innovation day at Mills DA 31.03.2017.
- Løvås, G. G. (1999). *Statistikk - for universiteter og høyskoler*. Oslo: Universitetsforl.
- Malcolmson, L., Vaisev-Genser, M., Przybylski, R., Ryland, D., Eskin, N. A. & Armstrong, L. (1996). Characterization of stored regular and low-linolenic canola oils at different levels of consumer acceptance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73 (9): 1153-1160.
- Mathews, C. K. (2012). *Biochemistry*: Pearson.
- Medina, I., Tombo, I., Satué-Gracia, M. T., German, J. B. & Frankel, E. N. (2002). Effects of Natural Phenolic Compounds on the Antioxidant Activity of Lactoferrin in Liposomes and Oil-in-Water Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (8): 2392-2399.
- Mei, L., McClements, D. J., Wu, J. & Decker, E. A. (1998). Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl. *Food chemistry*, 61 (3): 307-312.
- Melnick, D. (1966). *High fat food products and methods of preparing same*: Google Patents.
- Mertens, W. G., Swindells, C. E. & Teasdale, B. F. (1971). Trace metals and the flavor stability of margarine. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48 (10): 544-546.
- Mielnik, M. B., Aaby, K., Rolfsen, K., Ellekjær, M. R. & Nilsson, A. (2002). Quality of comminuted sausages formulated from mechanically deboned poultry meat. *Meat Science*, 61 (1): 73-84.
- Miller, M. (Ukjent år). *Oxidation of food grade oils*. Plant & Food Research. Tilgjengelig fra: <http://www.oilsfats.org.nz/documents/Oxidation%20101.pdf> (lest 21.04.2017).
- Nakaya, K., Ushio, H., Matsukawa, S., Shimizu, M. & Ohshima, T. (2005). Effects of droplet size on the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Lipids*, 40 (5): 501-507.
- O'Brien, R. D. (2008). *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications, Third Edition*: CRC Press.

- Olcott, H. & Veen, J. (1963). Role of individual phospholipids as antioxidants. *Journal of Food Science*, 28 (3): 313-315.
- Olsen, Ø. (2017). *Prosessopplæring med prosjektingeniør Øystein Olsen* (28.03.2017).
- Osborn, H. T. (2003). *Influence of molecular environment on lipid oxidation of structured lipid-based model emulsions*: uga.
- Pedersen, B. (2012). *Chelater*. Store Norske Leksikon. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/chelater> (lest 08.05.2017).
- Pratt, D. E. (1972). Water soluble antioxidant activity in soybeans. *Journal of Food Science*, 37 (2): 322-323.
- Rahman, M. S. (2007). *Handbook of Food Preservation, Second Edition*: CRC Press.
- Ramadan, M. F. (2012). Antioxidant characteristics of phenolipids (quercetin-enriched lecithin) in lipid matrices. *Industrial Crops and Products*, 36 (1): 363-369.
- Salkind, N. J. (2006). *Encyclopedia of Measurement and Statistics*: SAGE Publications.
- Shahidi, F. & Zhong, Y. (2005). Lipid Oxidation: Measurement Methods. I: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*: John Wiley & Sons, Inc.
- Singh, A., McClements, D. & Marangoni, A. (2002). Comparison of ultrasonic and pulsed NMR techniques for determination of solid fat content. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (5): 431-437.
- Singh, H. (2011). Aspects of milk-protein-stabilised emulsions. *Food Hydrocolloids*, 25 (8): 1938-1944.
- SSB. (2012). *Forbruksundersøkelsen*: Statistisk sentralbyrå. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/statistikkbanken/selectvarval/saveelections.asp> (lest 04.05.2017).
- Stone, H. & Sidel, J. L. (2004). Introduction to Sensory Evaluation-1.
- Taylor, M. & Richardson, T. (1980). Antioxidant activity of skim milk: effect of heat and resultant sulfhydryl groups. *Journal of Dairy Science*, 63 (11): 1783-1795.
- Terry, A. & Heinrich, A. (2004). *Flavornet* Tilgjengelig fra: <http://www.flavornet.org/flavornet.html> (lest 09.05.2017).
- Thongtan, K., TOMA, R. B., Reiboldt, W. & Daoud, A. Z. (2005). Effect of rosemary extract on lipid oxidation and sensory evaluation of frozen, precooked beef patties. *Journal of Foodservice*, 16 (3-4): 93-104.
- Vaclavik, V. A. & Christian, E. W. (2013). *Essentials of Food Science*: Springer New York.
- Veberg, A., Olsen, E., Nilsen, A. & Wold, J. (2007). Front-face fluorescence measurement of photosensitizers and lipid oxidation products during the photooxidation of butter. *Journal of dairy science*, 90 (5): 2189-2199.
- Walstra, P., Wouters, J. & Geurts, T. (2005). *Dairy Science and Technology*: CRC Press Taylor & Francis Group, LLC.
- Wold, J., Bro, R., Veberg, A., Lundby, F., Nilsen, A. & Moan, J. (2006). Active photosensitizers in butter detected by fluorescence spectroscopy and multivariate curve resolution. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54 (26): 10197-10204.
- Wold, J. P. (2017). *Samtale vedrørende resultater fra fluorescensspektroskopi* (25.04.2017).

8 Vedlegg

Vedlegg 1: Produktdatablad for salt

		GC RIEBER SALT	PRODUKTDATABLAD
---	--	----------------	-----------------

FINT RAFFINERT SALT

Produktbeskrivelse

Fint raffinert salt er velegnet til alle formål innenfor næringsmiddelindustrien, hvor det brukes som smakstilberedning og konserveringsmiddel.

Fint raffinert salt inneholder ingen oppløselige stoffer og urenheter og har høy oppløselighet/hastighet.

Lagring og holdbarhet

Salt oppbevares tørt og temperert.

Holdbar i 10 år fra produksjonsdato (Europall)
Holdbar i 5 år fra produksjonsdato (Plastpall)

Sertifisering

ISO 9001
ISO 14001
FSSC 22000

HACCP-informasjon

Produktet er:
- fri for GMO
- fri for allergener
- Kosher-godkjent
- Halal-godkjent

Produsent

Akzo Nobel Salt

Opprinnelsesland

Danmark

Forpakkingsstørrelser

Emballasje	25 kg PE	1000 kg HB
Pall	42 stk.	1 stk.

Kontaktinformasjon

GC Rieber Salt AS
Skar 86 Sjursoya
0193 Oslo

Telefon: 22 03 51 00
Faks: 22 49 77 07
E-post: salt@grieber.no

Spesifikasjoner

NaCl	≥	99,8	%
SO ₄	≤	1100	mg/kg
K	<	70	mg/kg
Ca	<	15	mg/kg
Fe	≤	0,3	mg/kg
Mg	≤	0,5	mg/kg
Cu	<	0,1	mg/kg
H ₂ O		0,15	%
H ₂ O-oppløselig	≤	50	mg/kg
USS	<	9	mg/kg
% av tørstoff			


Fysikalske data

Oppløselig i vann	350	g/l (20°C)
Tetthet	ca 1,250	g/cm ³
Farge		Hvitt

Siktefraksjoner

> 0,125 mm	>	95	%
< 0,50 mm	<	25	%
> 1,00 mm	<	1	%

Salt endret: 15.01.2015



Vedlegg 2: Produktdatablad for skummet melk

TINE Produktdatablad	
TineMelk Skummet	
Dato: 13.04.2016 Side 1	Artikkel nr.: 209, 238, 239, 245, 246, 254, 215, 230, 4269, 4270, 4007

P1031 Versjon 50

VAREBETEGNELSE

Skummet melk

NÆRINGSINNHold

100g vare gir ca.:

energi 140 kJ (33 kcal)

fett 0,1 g

-hvorav mettede fettsyrer 0,1 g

karbohydrat 4,6 g

-hvorav sukkerarter 4,6 g

protein 3,4 g

salt 0,1 g

riboflavin 0,15 mg (11 % *)

vitamin B12 0,5 µg (20 % *)

kalium 171 mg (9 %)

kalsium 134 mg (17 % *)

fosfor 115 mg (17 % *)

jod 19 µg (13 %)

* av referanseverdien

Saltinnholdet er beregnet fra melkens naturlige innhold av natrium

PRODUKTBeskrivelse

Fettfattig melk som skal inneholde maksimum 0,3 % melkefett. Pasteurisert.

Sensorisk beskrivelse:

Utseende: homogen, lettflytende væske med hvitaktig farge.

Lukt/smak: ren svak søtlig lukt og smak.

Sensorisk	Norm:	Avvik:
Utseende, poeng	≥ 4,0	≤ 3,3
Lukt/smak, poeng	≥ 4,0	≤ 3,3

Mikrobiologisk	Norm:	Avvik:
Enterobakterier/ml:	Ikke påvist	Påvist
B.cereus/ml:	< 100	>100
Totaltall/ml:	<10 000	>50 000

Kjemisk:

pH, norm: ca 6.7

Beregnet egenvekt: 1,035 kg/l

ANVENDELSE

Skummet melk har mange anvendelses-muligheter som ingrediens i næringsmidler.

En kan nevne produkter som:

- kjøtt- og fiskefarseprodukter.
- brød og bakverk
- desserter
- supper og sauser
- iskrem
- margariner

ENHETSSTØRRELSE

Artikkelnr.4269: TineMelk Skummet 800-5000 l

Artikkelnr.209: TineMelk Skummet bib 10 liter

Artikkelnr.215: TineMelk Skummet 1 liter

Artikkelnr.230: TineMelk Skummet 1 liter CONT.

Artikkelnr.4270: TineMelk Skummet 800-5000 l

Artikkelnr.238: TineMelk Skummet 5000-14000 l

Artikkelnr.239: Skummetmelk over 14000 liter

Artikkelnr.245: Skummetmelk under 14000 liter

Artikkelnr.4007: TineMelk Skummet 200 liter minitank

Artikkelnr.246: Skummetmelk over 14000 liter

Artikkelnr.254: TineMelk Skummet bib slim 10 l

HOLDBARHET OG OPPBEVARING

Uåpnet TINE-emballasje: Maks. 11 dager ved 0°C - 4°C.

Åpnet TINE-emballasje: 3-4 dager ved 0°C - 4°C (ikke utover holdbarhetstiden på maks. 11 dager)

Skummet melk levert på tankbil: ansvar for holdbarhet overtas av kunden ved mottak.

For tank: egen instruks for renhold fås fra TINE Ingrediens.

EMBALLASJE

Tank/container

200 liter bag in box.

10 liter Bag-in-box.

MERKING

Container/emballasje eller følgedokument merkes foruten navn og artikkelnr., med holdbar til; dag og mnd. samt kode for produksjonsanlegg og produksjonsdag.

MERKEPLIKTIGE ALLERGENER

(ref. Rådsforordning (EU) nr 1169/2011, vedlegg II)

Gluten:	Nei
Skalldyr:	Nei
Egg:	Nei
Fisk:	Nei
Peanøtter:	Nei
Soya:	Nei
Melk:	Ja
Nøtter:	Nei
Selleri:	Nei
Sennep:	Nei
Sesam:	Nei
Sulfit:	Nei
Lupin:	Nei
Bløtdyr:	Nei

GMO

Produktet inneholder ikke GMO. Eventuelle spormengder av eller fra GM-materiale er utilsiktet, og under de grenseverdier som er satt for innhold av eller fra EU-godkjente og risikovurderte GMOer (hvh. 0,9% og 0,5%). Spor av andre GMOer og rester av genmateriale fra GMOer som koder for antibiotikaresistens skal ikke forekomme.

FORURENSENDE STOFFER

Produktet inneholder ikke forurensende stoffer (tilførte eller prosessfremkaltede kjemiske kontaminanter), rester av medisiner eller plantevernmidler eller mikrobiologiske kontaminanter over til enhver tid gjeldende forskriftsgrenser. Kjent innhold av nevnte stoffer ligger på et akseptert lavt nivå, normalt langt under grenseverdier.

TINE SA
Lakkegt. 23, Pb. 25, 0051 OSLO
Telefon 03080 Telefaks 22 96 72 05
E-post firmapost@tine.no www.tine.no



® Sertifisert virksomhetsstyring etter NS-EN ISO-9001:2008 med HACCP i henhold til Codex Alimentarius inkludert i sertifikatet. Sertifikat nr 283 fra Moody International Certification.

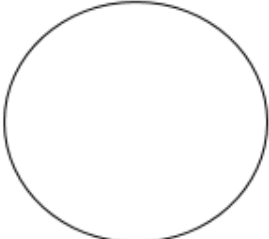
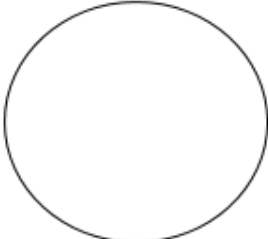
Vedlegg 3: Bedømmelsesskjema for sensorisk vurdering på Mills DA

[DATO]

Navn:

Sensorisk vurdering [periode] Masteroppgave Aurora

Du skal vurdere disse 2 prøvene mot hverandre med tanke på oksidert lukt og smak. Marker om de er like eller om den ene er mer oksidert enn den andre

XXX	XXX	Marker med +,- eller 0 i figuren for å markere hvilken prøve som er mest oksidert
		

Vurder deretter prøvene etter kriteriene du vanligvis bruker når du bedømmer margarin, og gi karakter. Konsistens, lukt og smak vurderes. Eventuell forskjell på de 2 prøvene kommenteres. Ved trekk i karakter skal det kommenteres hva som er årsak til trekk.

Prøvenummer	Lukt	Smak	Konsistens	Karakter	Kommentar
XXX					
XXX					

Vedlegg 4: Nomenklatur benyttet ved karaktersetting av margarinprøver på Mills DA

Sensorisk bedømmelse av margarin

Nomenklatur som kan benyttes til å beskrive feil ved et produkt.

Utseende:	Konsistens:	Smak:
Merking	Bløt	Lite/ mye aroma
Dekorfeil	Salvet	Uren
Delaminering	Fast	Bismak
Annen emballasje feil	Kort	Oksydert/ harsk
Fylling	Melet	Talget
Sprukken	Grynet	Kokt
Fremmedlegemer	Sandet	Emulgatorsmak
Fuktig	Tungtløselig	Emballasjesmak
Misfarget	Fromasj	Syrlig
Matt		Stearin
Blank		Såpe
Oljeutskillelse		Parafin
Luftlommer		Salt- mye- lite
Marmorert		Muggsmak
Gelantinklumper		Bønnesmak

Vedlegg 5: Utregning og rådata for TBA verdier

Faktisk absorpsjon = Målt absorpsjon – absorpsjon stockløsning (blank).

Faktisk absorpsjon / 156) * (12 / innveid mengde prøve) = TBA verdi i mmol/l

TBA verdi i mmol/l * 72,1 = TBA verdi i mg/kg

Prøve	Innveid prøve (g)	Abs 532 nm	Abs minus blank	mmol/L	mg/kg	Snitt	Standard-avvik
Stock løsning		0,1	0,097				
Stock løsning		0,092					
Stock løsning		0,099					
Lsol F	2,0157	0,147	0,05	0,0019081	0,1375739	0,1233066	0,0235732
Lsol F	2,0777	0,133	0,036	0,0013328	0,0960974		
Lsol F	1,9946	0,146	0,049	0,0018897	0,1362486		
Lsol 4	2,0086	0,14	0,043	0,0016468	0,1187318	0,1055186	0,0126447
Lsol 4	2,0208	0,135	0,038	0,0014465	0,1042923		
Lsol 4	2,0161	0,131	0,034	0,0012972	0,0935317		
Lsol 15	1,9971	0,14	0,043	0,0016562	0,1194155	0,1227937	0,011636
Lsol 15	2,0084	0,138	0,041	0,0015703	0,1132206		
Lsol 15	2,002	0,146	0,049	0,0018827	0,135745		
MLsol F	2,0016	0,132	0,035	0,0013451	0,0969801	0,1106086	0,0237561
MLsol F	2,0052	0,132	0,035	0,0013427	0,096806		
MLsol F	2,0089	0,147	0,05	0,0019146	0,1380396		
MLsol 4	1,9954	0,137	0,04	0,001542	0,1111788	0,106213	0,0062136
MLsol 4	1,9988	0,136	0,039	0,0015009	0,1082149		
MLsol 4	2,0118	0,133	0,036	0,0013765	0,0992452		
MLsol 15	2,013	0,283	0,186	0,0071076	0,5124613	0,3500769	0,1427304
MLsol 15	2,0045	0,203	0,106	0,0040678	0,2932863		
MLsol 15	1,9963	0,185	0,088	0,0033909	0,2444831		
Sa F	2,0092	0,113	0,016	0,0006126	0,0441661	0,0507602	0,0163872
Sa F	2,0065	0,111	0,014	0,0005367	0,0386973		
Sa F	1,9974	0,122	0,025	0,0009628	0,0694172		
Sa 4	1,995	0,118	0,021	0,0008097	0,0583806	0,0646541	0,0136076
Sa 4	2,0053	0,117	0,02	0,0007672	0,055315		
Sa 4	2,0038	0,126	0,029	0,0011133	0,0802667		
Sa 15	1,9997	0,754	0,657	0,025273	1,8221849	2,0560177	0,2186057
Sa 15	2,0067	0,913	0,816	0,0312798	2,2552756		
Sa 15	2,0056	0,853	0,756	0,0289957	2,0905925		
MSa F	2,008	0,118	0,021	0,0008045	0,0580026	0,0589282	0,0098062
MSa F	2,012	0,115	0,018	0,0006882	0,0496177		
MSa F	2,0047	0,122	0,025	0,0009593	0,0691644		

MSa 4	2,0115	0,105	0,008	0,0003059	0,0220578	0,0619046	0,0470381
MSa 4	2,0021	0,115	0,018	0,0006916	0,049863		
MSa 4	1,9983	0,138	0,041	0,0015783	0,1137929		
MSa 15	1,9928	0,172	0,075	0,002895	0,2087322	0,1240714	0,0778858
MSa 15	2,0024	0,136	0,039	0,0014982	0,1080204		
MSa 15	2	0,117	0,02	0,0007692	0,0554615		
MSaLsoy F	2,0034	0,145	0,048	0,001843	0,1328818	0,1449546	0,0233434
MSaLsoy F	2,0008	0,159	0,062	0,0023837	0,171862		
MSaLsoy F	2,0033	0,144	0,047	0,0018047	0,1301199		
MSaLsoy 4	2,0036	0,182	0,085	0,0032634	0,235288	0,1727177	0,0585415
MSaLsoy 4	2,0003	0,156	0,059	0,0022689	0,163587		
MSaLsoy 4	1,9994	0,14	0,043	0,0016543	0,1192781		
MSaLsoy 15	2,0148	0,28	0,183	0,0069868	0,5037454	0,4500236	0,0515738
MSaLsoy 15	1,9921	0,241	0,144	0,0055604	0,4009067		
MSaLsoy 15	2,0047	0,258	0,161	0,0061778	0,4454187		
SaLsoy F	2,0064	0,179	0,082	0,0031438	0,226667	0,1718818	0,0841753
SaLsoy F	1,9954	0,174	0,077	0,0029684	0,2140192		
SaLsoy F	1,9977	0,124	0,027	0,0010397	0,0749593		
SaLsoy 4	2,0046	0,125	0,028	0,0010745	0,077468	0,1815422	0,0918194
SaLsoy 4	2,0023	0,175	0,078	0,0029966	0,2160515		
SaLsoy 4	2,0099	0,188	0,091	0,0034828	0,251107		
SaLsoy 15	2,0076	0,309	0,212	0,008123	0,5856668	0,558483	0,0558407
SaLsoy 15	2,0086	0,276	0,179	0,0068551	0,4942555		
SaLsoy 15	2,0023	0,312	0,215	0,0082597	0,5955267		
Lsol ref F	2,0063	0,164	0,067	0,0025688	0,1852127	0,1124358	0,0885593
Lsol ref F	2,0044	0,102	0,005	0,0001919	0,0138349		
Lsol ref F	2,0057	0,147	0,05	0,0019176	0,1382598		
Lsol ref 4	2,0087	0,155	0,058	0,0022211	0,1601418	0,1161073	0,091339
Lsol ref 4	1,9999	0,101	0,004	0,0001539	0,0110929		
Lsol ref 4	2,0044	0,161	0,064	0,0024561	0,1770873		
Lsol ref 15	2,0022	0,106	0,009	0,0003458	0,0249303	0,0257922	0,0042003
Lsol ref 15	2,0097	0,108	0,011	0,000421	0,0303566		
Lsol ref 15	2,0086	0,105	0,008	0,0003064	0,0220896		
Sa ref F	1,9912	0,114	0,017	0,0006567	0,0473507	0,0600871	0,0198202
Sa ref F	2,0065	0,127	0,03	0,0011501	0,0829228		
Sa ref F	1,9971	0,115	0,018	0,0006933	0,0499879		
Sa ref 4	2,0142	0,593	0,496	0,0189424	1,3657493	1,3942104	0,0688018
Sa ref 4	2,0176	0,586	0,489	0,0186436	1,3442056		
Sa ref 4	1,996	0,627	0,53	0,0204255	1,4726761		
Sa ref 15	1,9997	1,308	1,211	0,0465839	3,3587	3,2449071	0,1125361
Sa ref 15	2,0133	1,274	1,177	0,0449702	3,2423499		
Sa ref 15	1,9964	1,225	1,128	0,0434628	3,1336714		
MSaLsoy ref F	2,0126	0,106	0,009	0,000344	0,0248014	0,0358782	0,009954

MSaLsoy ref F	2,0134	0,113	0,016	0,0006113	0,0440739		
MSaLsoy ref F	2,0033	0,111	0,014	0,0005376	0,0387591		
MSaLsoy ref 4	2,079	0,129	0,032	0,001184	0,0853665	0,0627396	0,0306754
MSaLsoy ref 4	1,9932	0,107	0,01	0,0003859	0,0278254		
MSaLsoy ref 4	1,9959	0,124	0,027	0,0010406	0,0750269		
MSaLsoy ref 15	2,0102	0,135	0,038	0,0014541	0,1048422	0,1041534	0,0214324
MSaLsoy ref 15	2,0196	0,127	0,03	0,0011426	0,0823849		
MSaLsoy ref 15	1,9929	0,142	0,045	0,0017369	0,125233		

Vedlegg 6: Metodebeskrivelse for peroksidtall

Emne: Peroxidtal (potentiometisk i DCDK)

Side: 1 af 3

Rev. nr.: 0

Udarb./Rev. af: MBH

Godk. af: ANJ

Eks. nr.:

Dato: 13-01-2004

<u>Anvendelsesområde:</u>	Animalske og vegetabiliske olie og fedt samt emulgator. Til olier kan A0033-1 alternativt bruges, i denne indgår chloroform ikke i opløsningsmidlet.
<u>Definition:</u>	Et fedtstofs peroxidtal er et mål for dets indhold af reaktionsvilligt ilt udtrykt som milliækvivalenter ilt per 1000 g fedt.
<u>Princip:</u>	Peroxider vil i sur væske oxidere jodid til frit jod, der derefter kan bestemmes ved titrering med natriumthiosulfat.
<u>Analysetid:</u>	1 time.
<u>Sikkerhedsforskrifter:</u>	Chloroform – Kræftfremkaldende Eddikesyre – Se arbejdshygiejnisk brugsvejledning. Kaliumjodid – Se arbejdshygiejnisk brugsvejledning.
<u>Reagenser:</u>	<u>Opløsningsmiddel:</u> 400 ml chloroform + 600 ml eddikesyre. Mærkning: sundhedsskadelig – ætsende. <u>Mættet kaliumjodid:</u> 160 g KI + 100 ml dest. vand (opl. Skal være klar, hvis den er gul laves ny opl.) <u>0,1 N Natriumthiosulfat:</u> Se normalvæske <u>0,01 N Natriumthiosulfat:</u> 50,00 ml 0,1N Natriumthiosulfat (kendt normalitet) ad 500,00 ml dest. vand (holdbar 1 dag). Millipore vand kan bruges, hvis det er frisk aftappet. Den nøjagtige normalitet beregnes ud fra normaliteten på 0,1 N Natriumthiosulfat)
<u>Håndtering af affald:</u>	Halogenerede opløsningsmidler.
<u>Kontrolprøve:</u>	Ingen.
<u>Apparatur:</u>	Magnetomrører Stopur 50 ml fuldpipette eller tilsvarende

Emne: Peroxidtal (potentiometisk i DCDK)

Side: 2 af 3

Rev. nr.: 0

Udarb./Rev. af: MBH

Godk. af: ANJ

Eks. nr.:

Dato: 13-01-2004

Procedure	Bemærkninger
<p>Der startes med at lave en blindprøve på reagenserne, efter samme procedure som beskrevet nedenfor.</p>	<p>Blindprøven må ikke forbruge mere end 0,5 ml ved potentiometisk titrering. Hvis forbruget er større, laves nyt opløsningsmiddel og ny blindprøve.</p>
<p>Prøvebeholderen åbnes, og de øverste 2 cm af prøven bortskræbes. Derefter afvejes ca. 5,00 g i en 100 ml konisk kolbe med slib.</p>	<p>Hvis prøven skal opsmeltes, udtages en delmængde til opsmeltingen. Prøven må kun opsmeltes en gang.</p>
<p>Der tilsættes straks 40 ml opløsningsmiddel.</p>	<p>Ryst ikke for meget.</p>
<p>Kolben opvarmes meget forsigtigt, indtil prøven er fuldstændigt opløst.</p>	<p>Undgå at der kommer stof på proppen under omrøringen.</p>
<p>Når prøven er afkølet til stuetemp., tilsættes 0,5 ml mættet kaliumjodid, proppen påsættes og kolben omrøres på magnetomrører i 60 ± 5 sek.</p>	<p>Undgå at der kommer stof på proppen under omrøringen.</p>
<p>Derefter tilsættes 40 ml 30% eddikesyre.</p>	<p>Eddikesyren skal stå klar til at hælde på opløsningen.</p>
<p>Der titreres straks med 0,01 N Natriumthiosulfat under kraftig omrøring (magnet), idet man benytter stivelse som indikator.</p>	<p>Omslag fra blå til hvid, eller stoffets egen farve.</p>
<p>Sættes op på Tinet 2.4 system. Der titreres til omslagspunkt.</p>	<p>Se brugsvejledning : Metrodata og vejledning til Tinet 2.4 – peroxidtal som ligger på S:\PLE\vådkemisk\vejledning til Tinet 2.4 – peroxidtal. Alle data gemmes på følgende sti: S:\PLE\peroxidtal\dato(år,månede,dag).mdb.</p>

Emne: Peroxidtal (potentiometisk i DCDK)

Side: 3 af 3

Rev. nr.: 0

Udarb./Rev. af: MBH

Godk. af: ANJ

Eks. nr.:

Dato: 13-01-2004

Beregninger:

$$\text{Peroxidtal} = \frac{(a - b) \times N \times 1000}{g}$$

Hvor a = ml Natriumthiosulfat forbrugt til prøve.
b = ml Natriumthiosulfat forbrugt til blindprøve.
N = normaliteten på Natriumthiosulfaten.
g = gram afvejet stof.

Repeterbarhed og nøjagtighed:

Resultatinterval	Repeterbarhed r95%	Repeterbarhed r99%
<2	0,17	0,23
>2	0,80	1,05
Blindprøver må højst afvige	0,08	0,11

Kilde:

IUPAC, 7th Revised and Enlarged edition, 2.501
A.O.C.S. Cd 8-53
D.G.F.-Einheitsmetoden C VI 6a (61)
V.C. Mehlenbacher: "The Analysis of Fats and Oils", The Garrard Press Publishers, 1960.

Vedlegg 7: Metodebeskrivelse for peroksidtall



Internal use only

ANALYTICAL MANUAL

A 0401-2

Subject: Determination of p-anisidine (Food Protection Antioxidants)

Page: 1 of 5

Rev. No.: 0

Date of issue: 18.07.2016

Prep./Rev. by: TES

Appr. by: HLK

Copy No.:

Effective date:

Field of application:

The method is applicable to unsaturated animal- and vegetable oils and fats, and unsaturated emulsifiers.

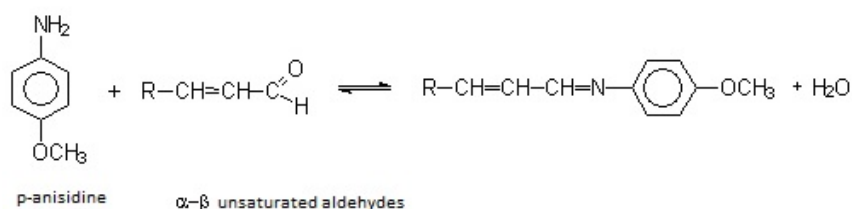
Definition:

p-anisidine value is defined as 100 times the absorbance, measured in a 1 cm cuvette of a solution of 1 g of sample in 100 ml of a mixture of solvent and reagent, as described in the method.

Principle:

p-anisidine reacts to the presence of the samples content of aldehydes. The absorbance of the reaction product is measured spectrophotometric at 350 nm.

Aldehydes having a double bond in conjugation to the carbonyl group form reaction products, which absorb 4-5 times stronger at 350 nm than the aldehydes without a conjugated double bond.



Time of analysis:

Approximately 1 hour per sample



Internal use only

ANALYTICAL MANUAL

A 0401-2

Subject: Determination of p-anisidine (Food Protection Antioxidants)

Page: 2 of 5

Rev. No.: 0

Date of issue: 18.07.2016

Prep./Rev. by: TES

Appr. by: HLK

Copy No.:

Effective date:

Reagents:

All chemicals should be handled in a fume hood

Chemicals	Pictograms	QR-code
<u>Acetic acid (glacial)</u> min. 99.8 % CAS no. 64-19-7		N/A
<u>2,2,4- trimethylpentane (isooctane)</u> of $\geq 99\%$ HPLC: CAS no. 540-84-1 optically pure		N/A
<u>Tetrahydrofuran</u> HPLC $\geq 99.9\%$ CAS no. 109-99-9 optically pure		N/A
<u>p- anisidine 99%</u> : CAS no. 104-94-9		N/A

The optical purity of isooctane and THF can be checked by measuring the absorbance of the pure solvent in a 1 cm cell with ion-exchanged water as a reference. The measured absorbance should be less than 0,005 at 350 nm.

All reagents should be handled in a fume hood

Reagents	Pictograms
p- <u>anisidine</u> solution	

Preparation: In a 50 mL volumetric flask weigh off 0.1250 g (± 0.010 g) p-anisidine, and fill flask with acetic acid.

Durability: 1 day at room temperature. Store in the dark (tin foil)

p- anisidine solution must have an absorbance of less than 0.200 at 350 nm in a 1 cm cell with acetic acid used as a reference. This is checked before use.

Waste handling:

p-anisidine solution and acetic acid are poured into the "Acetic acid waste"
Other solvents are poured into "Solvents without halogens"

Dirty glassware with residue of acetic acid is placed in a fume hood overnight and then rinsed in 3 x water, 1 x ethanol before being sent on to the standard washing procedure.

Other dirty glassware is placed in a fume hood overnight before being sent to the standard washing procedure.



Internal use only

ANALYTICAL MANUAL

A 0401-2

Subject: Determination of p-anisidine (Food Protection Antioxidants)

Page: 3 of 5

Rev. No.: 0

Date of issue: 18.07.2016

Prep./Rev. by: TES

Appr. by: HLK

Copy No.:

Effective date:

Control sample:

Not relevant

Apparatus:

Shimadzu UV - 1650PC
1 cm quartz cuvette with the flow cell connected
50 ml flasks
Centrifuge tube (12ml) with lid
2ml pipette, 10ml pipette
Technical balance (2 decimals)
Analytical balance (4 decimals)



Internal use only

ANALYTICAL MANUAL
A 0401-2

Subject: Determination of p-anisidine (Food Protection Antioxidants)

Page: 4 of 5

Rev. No.: 0

Date of issue: 18.07.2016

Prep./Rev. by: TES

Appr. by: HLK

Copy No.:

Effective date:

Procedure

1. An appropriate amount of sample is weighed into a 50 ml volumetric flask (see Table 1)

2. The weight is noted in journal. At least perform duplicates - typically we make triple determination

3. Fill the volumetric flask with solvent and stir on a magnetic stirrer to dissolve

4. The absorbance of the sample (A1) is measured in a 1 cm cuvette at 350nm with the solvent as reference

Repeat step 4 until all samples are measured.

5. Dispense 10ml solvent with a pipette into a centrifuge tube

6. Pipette 2ml p-anisidine solution to the centrifuge tube, put the lid on and shake well for 5sec

7. After 10 min. ($\pm \frac{1}{2}$ min.) make a baseline on the spectrophotometer using this sample

8. Dispense 10 ml of the sample solution with pipette in a new centrifuge tube

9. Pipette 2 ml p-anisidine solution to the centrifuge tube, put the lid on and shake well for 5sec

10. After 10 min. ($\pm \frac{1}{2}$ min.) measure the sample absorbance (A2) in a 1 cm cuvette at 350nm

Repeat steps 8-10 until all samples are measured

Remarks

Table 1:

p- <u>anisidine</u> value	Weigh off/50ml
Under 3	6g
3-7	4g
7-12	2g
More than 12	1g

Fats and oils are dissolved in isooctane. Other products are dissolved in tetrahydrofuran (THF)

Make a spectrum between 360-340 nm

Make a spectrum between 360-340nm



Internal use only

ANALYTICAL MANUAL
A 0401-2

Subject: Determination of p-anisidine (Food Protection Antioxidants)

Page: 5 of 5

Rev. No.: 0

Date of issue: 18.07.2016

Prep./Rev. by: TES

Appr. by: HLK

Copy No.:

Effective date:

Calculation:

Spectrophotometer:

$$p - \text{Anisidine value} = 50 \times \frac{(1,2 \times A_2) - A_1}{g}$$

Where

A1 = Absorbance of the sample solution

A2 = absorbance of the sample solution after the reaction with p-anisidine solution

g = Number grams weighed

1.2 = Dilution

50 = Constant according to the definition of p-anisidine and the use of 50 ml flask (according to procedure)

Repeatability and accuracy:

Unknown

Literature:

IUPAC 7th ed . 2,504

DGF Einheitsmethoden C- VI 62

A0401 - p-anisidine value

Vedlegg 8: Metodebeskrivelse for dynamisk headspace gasskromatografi-massespektrometri

10 gram margarin ble veid inn i en 250 ml erlenmeyerkolbe med sliff. Og tilsatt 1 μ l av 400 μ g/ml elylheptanat i metanol som intern standard. Prøvene ble deretter satt på vannbad ved 70°C og gjennomblåst med 100ml/min nitrogen. Flyktige komponenter ble samlet opp på en adsorber (Tenax GR). Absorberte komponenter ble desorbert ved 280°C i 5 minutter på en Markes termisk desorbsjonsenhet før injeksjon på en Agilent 6890GC koblet til en Agilen 7973MS massesenlektiv detektor (EI, 70eV). Flyktige komponenter ble separert på en DB-WAXetr kolonne (30 m, 0.25 mm i.d., 0.5 μ m film) med et temperaturprogram med start ved 30 °C i 10 min, økende 1 ° /min til 40 °C, 3 ° /min til 70°C, og 6.5 ° /min til 230 °C, med en holdetid på 5 min. Toppene ble integrert og tentativt identifisert med HP Chemstation software, og NIST11 Mass Spectral Library. Prøvene ble analysert som paralleller.

Vedlegg 9: Egenskapsforklaring benyttet ved kvantitativ beskrivende analyse

BEDØMMELSE AV MARGARIN

Egenskapsforklaring

LUKT

Total luktintensitet	Styrken av alle lukter i produktet Ingen intensitet = ingen lukt Tydelig intensitet = tydelig lukt
Syrlig lukt	Relateres til en frisk, balansert lukt som skyldes organiske syrer Ingen intensitet = ingen syrlig lukt Tydelig intensitet = tydelig syrlig lukt
Meierismørklukt	Relateres til lukt av meierismør Ingen intensitet = ingen meierismørklukt Tydelig intensitet = tydelig meierismørklukt
Veg. olje lukt	Lukt av vegetabiliske oljer (solsikke, soya, raps) Ingen intensitet = ingen vegetabilisk oljelukt Tydelig intensitet = tydelig vegetabilisk oljelukt
Oksidert lukt	Relateres til lukt som skyldes oksidering, f. eks papp Ingen intensitet = ingen oksidert lukt Tydelig intensitet = tydelig oksidert lukt
Emmen lukt	En ufrisk / kvalmende lukt Ingen intensitet = ingen emmen lukt Tydelig intensitet = tydelig emmen lukt
Harsklukt	Relateres til lukt av oksiderte fettstoff for eksempel: (gress, høy, stearin, maling) Ingen intensitet = ingen harsk lukt Tydelig intensitet = tydelig harsk lukt

SMÅK

Total smaksintensitet	Styrken av alle smaker i produktet Ingen intensitet = ingen smak Tydelig intensitet = tydelig smak
Syrligsmak	Relateres til en frisk, balansert smak som skyldes organiske syrer Ingen intensitet = ingen syrlig smak Tydelig intensitet = tydelig syrlig smak
Søt smak	Relateres til grunnsmaken søt (sukrose) Ingen intensitet = ingen søt smak Tydelig intensitet = tydelig søt smak
Saltsmak	Relateres til grunnsmaken salt (NaCl) Ingen intensitet = ingen saltsmak Tydelig intensitet = tydelig saltsmak
Bitter smak	Relateres til grunnsmaken bitter (koffein) Ingen intensitet = ingen bitter smak Tydelig intensitet = tydelig bitter smak
Meierismørsmak	Relateres til smak av meierismør Ingen intensitet = ingen meierismørsmak Tydelig intensitet = tydelig meierismørsmak
Veg. olje smak	Smak av vegetabiliske oljer (solsikke, soya, raps) Ingen intensitet = ingen vegetabilisk oljesmak Tydelig intensitet = tydelig vegetabilisk oljesmak
Oksidert smak	Relateres til smak som skyldes oksidering, f. eks papp Ingen intensitet = ingen oksidert smak Tydelig intensitet = tydelig oksidert smak
Emmen smak	En ufrisk / kvalmende smak Ingen intensitet = ingen emmen smak Tydelig intensitet = tydelig emmen smak
Harsk smak	Relateres til smak av oksiderte fettstoff for eksempel: (gress, høy, stearin, maling) Ingen intensitet = ingen harsk smak Tydelig intensitet = tydelig harsk
Besk	Relateres til en skarp/bitter smak i meieriprodukter (for eksempel lagret/gammel cottage cheese/gulost) Ingen intensitet = ingen besk smak Tydelig intensitet = tydelig besk smak

TEKSTUR

Fasthet	<p>Mekanisk teksturegenskap som relateres til kraften som trengs for å oppnå en gitt deformasjon eller gjennomtrengning av prøven. Dette oppfattes i munnen ved å presse sammen produktet mellom tungen og ganen.</p> <p>Ingen intensitet = ingen fasthet myk Tydelig intensitet = fast</p>
Smelteevne	<p>Relateres til tid det tar et produkt å bli flytende i munnen.</p> <p>Ingen intensitet = blir langsomt flytende Tydelig intensitet = blir hurtig flytende. Prøven smelter med det samme</p>
Fyldighet	<p>Mekanisk teksturegenskap som er relatert til strømningsmotstand. En fyldig fornemmelse fra prøven i munnen</p> <p>Ingen intensitet = ingen fyldighet, Tydelig intensitet = tydelig fyldighet, fyldig munnfølelse</p>
Fethet	<p>Overflateteksturell egenskap relatert til oppfatningen av mengde fett i et produkt.</p> <p>Ingen intensitet = ingen fethet, tørr Tydelig intensitet = fethet, oljet</p>
Glatthet	<p>Geometrisk teksturegenskap knyttet til partikkelstørrelse og partikkelform i et produkt</p> <p>Ingen intensitet = ingen glatthet (ujevn, tydelige partikler) Tydelig intensitet = tydelig glatthet, jevn ingen partikler</p>
Ettersmak	<p>Styrke av smaken som sitter igjen i munnen etter 15 sekunder etter at prøven er fjernet fra munnen.</p> <p>Ingen intensitet = ingen ettersmak Tydelig intensitet = tydelig ettersmak</p>

Vedlegg 10: Bedømmelsesskjema brukt i kvantitativ beskrivende analyse

LUKT

Total luktintensitet	1	ingen	tydelig
Syrlig lukt	2	ingen	tydelig
Meierismør- lukt	3	ingen	tydelig
Veg. oljelukt	4	ingen	tydelig
Oksidert lukt	5	ingen	tydelig
Emmenlukt	6	ingen	tydelig
Harsklukt	7	ingen	tydelig

SMAK

Total smaksintensitet	8	ingen	tydelig
Syrligsmak	9	ingen	tydelig
Søtsmak	10	ingen	tydelig
Saltsmak	11	ingen	tydelig
Bittersmak	12	ingen	tydelig
Meierismør smak	13	ingen	tydelig
Veg. olje smak	14	ingen	tydelig
Oksidert smak	15	ingen	tydelig
Emmensmak	16	ingen	tydelig
Harsksmak	17	ingen	tydelig
Besk smak	18	ingen	tydelig

TEKSTUR

Fasthet	19	ingen	tydelig
Smelteevne	20	ingen	tydelig
Fyldighet	21	ingen	tydelig
Fethet	22	ingen	tydelig
Glatthet	23	ingen	tydelig
Ettersmak	24	ingen	tydelig

Vedlegg 11: Rådata fra statistiske analyser

Variansanalyse utført med TBA-verdiene for de ni margarinprøvene lagret ved tre ulike temperaturer.

```
Anova Table (Type III tests)
Response: avg
      Sum Sq Df F value    Pr(>F)
(Intercept) 11.494  1 2229.36 < 2.2e-16 ***
sample      41.281 26  307.96 < 2.2e-16 ***
Residuals   0.278 54
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Utklipp fra Tukey's HSD legges også ved.

```
> Anova(LinearModel.2, type="III")
Anova Table (Type III tests)
Response: tba_value
      Sum Sq Df F value    Pr(>F)
(Intercept) 11.494  1 2229.36 < 2.2e-16 ***
PRODUCT     41.281 26  307.96 < 2.2e-16 ***
Residuals   0.278 54
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

> cld(simple.g1ht(LinearModel.2,'PRODUCT', level=0.95))
Tukey's HSD
Alpha: 0.05

      Mean G1 G2 G3 G4 G5 G6
P24 3.24490708 A
P9  2.05601765  B
P23 1.39421035  C
P18 0.55848298  D
P15 0.45002356  D
P6  0.35007688  D E
P17 0.18154218  E F
P14 0.17271770  E F
P16 0.17188181  E F
P13 0.14495458  E F
P12 0.12407137  E F
P1  0.12330664  E F
P3  0.12279370  E F
P20 0.11610735  F
P19 0.11243583  F
P4  0.11060856  F
P5  0.10621298  F
P2  0.10551858  F
P27 0.10415340  F
P8  0.06465408  F
P26 0.06273958  F
P11 0.06190456  F
P22 0.06008711  F
P10 0.05892822  F|
P7  0.05076018  F
P25 0.03587817  F
P21 0.02579217  F
```

Egenskap	Produkt								
	Lagringsbetingelser								
	Lsol 15 °C 7 uker	MLsol 15 °C 7 uker	Lsol -25 °C 1 uke	Sa 15 °C 7 uker	MSa 15 °C 7 uker	Sa -25 °C 1 uke	MSaLsoy 15 °C 7 uker	SaLsoy 15 °C 7 uker	MSaLsoy -25 °C 1 uke
Total luktintensitet	4,25 (B)	1,98 (E)	4,17 (B)	5,57 (A)	3,09 (CD)	2,57 (DE)	3,44 (BCD)	4,05 (BC)	2,85 (DE)
Syrlig lukt	3,14 (A)	1,75 (BC)	3,03 (A)	1,01 (C)	2,21 (AB)	1,68 (BC)	1,76 (BC)	2,17 (AB)	1,91 (BC)
Meierismørklukt	1,86 (AB)	1,06 (C)	1,96 (A)	1,07 (C)	1,24 (BC)	1,27 (BC)	1,03 (C)	1,34 (ABC)	1,26 (BC)
Vegetabilsk olje lukt	2,98 (AB)	2,14 (AB)	3,13 (A)	2,12 (AB)	2,27 (AB)	1,78 (B)	2,64 (AB)	3,05 (A)	2,24 (AB)
Oksidert lukt	1,73 (AB)	1,35 (B)	1,90 (AB)	2,95 (A)	1,84 (AB)	1,59 (B)	2,10 (AB)	2,57 (AB)	1,84 (AB)
Emmenlukt	1,31 (B)	1,17 (B)	1,45 (B)	4,77 (A)	1,52 (B)	1,36 (B)	1,78 (B)	1,62 (B)	1,41 (B)
Harsklukt	1,07 (B)	1,18 (B)	1,01 (B)	5,93 (A)	1,23 (B)	1,27 (B)	1,79 (B)	1,12 (B)	1,16 (B)
Total smaksintensitet	4,71 (BC)	3,21 (D)	4,91 (B)	6,88 (A)	5,06 (B)	3,85 (CD)	4,66 (BC)	4,98 (B)	4,33 (BC)
Syrligsmak	2,63 (AB)	2,48 (AB)	2,83 (AB)	1,05 (C)	3,07 (A)	2,87 (AB)	1,79 (BC)	1,89 (ABC)	3,04 (A)
Søtsmak	2,01 (AB)	1,57 (B)	2,02 (AB)	1,89 (AB)	2,20 (A)	1,75 (AB)	1,89 (AB)	1,92 (AB)	2,10 (A)
Saltsmak	1,61 (D)	1,26 (D)	1,66 (D)	3,27 (BC)	4,61 (A)	2,98 (C)	3,26 (BC)	3,18 (BC)	3,99 (AB)
Bittersmak	3,01 (B)	2,62 (B)	2,90 (B)	4,28 (A)	2,94 (B)	2,69 (B)	3,01 (B)	3,39 (AB)	2,88 (B)
Meierismørsmak	1,36 (ABC)	1,04 (C)	1,62 (AB)	1,02 (C)	1,74 (A)	1,29 (ABC)	1,17 (BC)	1,26 (ABC)	1,26 (ABC)
Vegetabilsk olje smak	3,97 (A)	3,70 (A)	4,29 (A)	2,22 (B)	3,94 (A)	3,98 (A)	3,77 (A)	4,37 (A)	4,16 (A)
Oksidert smak	3,25 (AB)	2,21 (B)	2,94 (AB)	2,42 (B)	2,31 (B)	2,03 (B)	3,54 (AB)	4,11 (A)	2,34 (B)

Emmensmak	2,40 (BC)	1,83 (C)	2,46 (BC)	6,88 (A)	1,94 (BC)	1,68 (C)	3,12 (B)	2,83 (BC)	1,76 (C)
Harsk smak	1,77 (B)	1,26 (B)	2,01 (B)	7,77 (A)	1,47 (B)	1,47 (B)	2,57 (B)	1,99 (B)	1,39 (B)
Besk smak	2,38 (B)	2,15 (B)	2,66 (B)	3,81 (A)	1,90 (B)	2,23 (B)	2,57 (B)	2,86 (AB)	2,31 (B)
Fasthet	5,69 (AB)	5,85 (A)	5,06 (ABCD)	5,56 (AB)	4,35 (D)	4,77 (BCD)	5,29 (ABC)	5,62 (AB)	4,39 (CD)
Smelteevne	3,86 (AB)	3,73 (B)	4,53 (AB)	3,86 (AB)	4,91 (A)	4,61 (AB)	3,99 (AB)	3,78 (B)	4,97 (A)
Fyldighet	5,93 (A)	5,88 (A)	5,54 (A)	6,16 (A)	5,31 (A)	5,62 (A)	5,88 (A)	5,96 (A)	5,44 (A)
Fethet	6,36 (AB)	6,25 (B)	6,64 (AB)	7,19 (A)	6,22 (B)	6,27 (B)	6,46 (AB)	6,66 (AB)	6,36 (AB)
Glatthet	4,67 (A)	5,01 (A)	5,05 (A)	4,58 (A)	4,66 (A)	4,91 (A)	4,52 (A)	4,04 (A)	5,03 (A)
Ettersmak	4,98 (BC)	4,29 (C)	5,26 (BC)	7,17 (A)	5,66 (B)	5,36 (BC)	5,51 (B)	5,59 (B)	5,24 (BC)

Vedlegg 12: Metodebeskrivelse for Vanddråpestørrelsefordeling (p-NMR)

DCDK METODEBESKRIVELSE



Emne: p-NMR–Vanddråbestørrelsesfordeling i w/o emulsioner.

Nr.: 23.8220.35

Side: 1 af 3

Rev. nr.: 6

Dato: 19.09.2016

Ansvarlig: EVH

Godk. af: BTA

Titel

Bestemmelse af vanddråbestørrelse i vand/olie emulsioner.

Anvendelsesområde

Margariner, low-fat spread, m.m..

Definition

Analyseresultatet afleveres som en fordeling – ved 2,5 %, 50.0 % og 97,5 % - i μm med to betydende cifre. Tallene repræsenterer gennemsnitsværdier ud fra volumen og antals fordeling, samt bredden af log normalfordelingen (Sigma).

Princip

Basis for målemetoden er de fysiske love omkring nedsat diffusion i vanddråber. Ved hjælp af specielle gradient sekvenser kan den matematiske fordeling bestemmes.

Analyse tid

Påfyldning af rør: ca. 5 min. pr. prøve.

Påfyldning af flydende N_2 og tilslutning af lille tank: ca. 10 min.

Indstilling af temperatur: ca. 30 min.

Kalibrering af NMR'en: ca. 10 min.

Måling af prøve: ca. 15-20 min. for en enkeltbestemmelse.

Resultatbehandling: ca. 5 min.

} i alt ca. 75 min.

Effektiv analyse tid: 40 min. for dobbeltbestemmelse – 60 min. for trippelbestemmelse.

Reagenser

Flydende N_2 .

Apparatur

The minispec mq20 NMR analyser – med Probehoved til Probe temp. fra -100 til 200°C .

Probe/måletemperatur: 5°C \sim 276.5°Kelvin , som app. måler i.

Teflon spacer: Den største (ca. 3.5cm).

Program: Water droplet size v5_2r4a årstal

Stålsprøjte fremstillet af Bruker

Procedure

Der laves mindst dobbeltbestemmelse af hver prøve.

Prøverør:

Der fyldes med speciel stålsprøjte (Bruker) ca. 1cm. i NMR rør. Der udtages prøve 2-3

forskellige steder i prøven, der sættes prop på og rørene opbevares i køleskab til de skal måles.

DCDK METODEBESKRIVELSE



Emne: p-NMR–Vanddråbestørrelsesfordeling i w/o emulsioner.

Nr.: 23.8220.35

Side: 2 af 3

Rev. nr.: 6

Dato: 19.09.2016

Ansvarlig: EVH

Godk. af: BTA

Instrument:

Isætning af teflon spacer, påfyldning af lille flydende N₂ beholder, tilslutning og indstilling af måletemperatur – se under opstart (1.) i analyseforskrift – p-NMR.

Kalibrering af apparatet } se under dråbestørrelse vand/olie, kalibrering og måling
Måling af prøve } (3.) i analyseforskrift – p-NMR.

Beregninger

Resultatet mærkes op og kopieres over i Excel, (skema hentes på S:\AR\Lab_Essentials\Excel_calculations\Active_Excel_macros_UO\Skema vanddråbestr. til 10 prøver) på sheet **raw data**. Dataene for den enkelte prøve kopieres minus dem fra kolonne A (run nr.) over i sheet **Data**, hvorefter gennemsnit og standardafvigelse v/2,5 %, 50,0 %, 97,5 % automatisk beregnes. Tast sample ID ind i kolonne R. Resultatet afleveres med 2 betydende cifre (kopier skema kolonne K til O over på AR-sedlen).

Grafer: Kan kun laves hvis Sigma (standardafvigelsen på målinger) er >0.

I Excel sheet **Graph data** hentes graf dataene (gennemsnits resultatet) ind ved hjælp af Excel macro, A1/B1 til prøve nr.1 og C1/D1 til prøve 2 osv. (2 kolonner pr. prøve – en til dråbe og en til volumen).

Åbn Excel macro: S:\AR\Lab_Essentials\Excel_calculations\Active_Excel_macros_UO\Water droplet size distribution 14012010 ⇒ vælg View ⇒ Macros ⇒ Macro1 ⇒ Run. Indtast 1 ⇒ OK, indtast 1 ⇒ OK, indtast (med punktum) middeldråbestørrelsen (v/50 %) ⇒ OK, indtast (med punktum) spredningen (sigma) ⇒ OK. Tjek at 2,5 %, 50 % og 97,5 % svarer til gennemsnittet af målingerne. Vælg sheet **DATA** og kopier fra C2 ⇒ D62 (C kolonnen = logdråbestørrelse og D kolonnen = Funktionsværdi) over i Excel skema arket (stå A2 for 1.prøve og C2, E2 osv. ved efterfølgende prøver).

Excel-arket gemmes på: S:\AR_DATA\Data\Årstal*_Data_Årstal**p-NMR\AR nr.

Grafen laves i et nyt Excel-ark. Indtast Sample ID. Data til grafen hentes fra Excel-arket med raw data, data og graph data.

Overskrift på grafen:

Log-normal droplet size distribution.

X-aksen (C kolonnen) = Diameter, µm og Y-aksen (D kolonnen) = Volume distribution.

DCDK METODEBESKRIVELSE



Emne: p-NMR-Vanddråbestørrelsesfordeling i w/o emulsioner.

Nr.: 23.8220.35
Side: 3 af 3
Rev. nr.: 6
Dato: 19.09.2016

Ansvarlig: EVH

Godk. af: BTA

Excel-arket med graf(er) der afleveres skal se således du:



Excel grafen gemmes på: S:\AR_DATA\Data\Årstal*_AR-Request_Årstal**VAR nr.. Det der afleveres er: gennemsnittet og standardafvigelsen på målingerne og Excel arket med graf(er).

Kilde

1. Van den Enden J.C., Waddington D., van Aalst H., Kralingen C.G. og Packer K.J.J. Colloid Interface Sci. (1990) 140:105.
2. Packer K.J. og Reese C., J. Colloid Interface Sci. (1972) 40:206.

Vedlegg 13: Metodebeskrivelse for Confocal laser scanning microscopy (CLSM)

Metodebeskrivelse er utarbeidet av DuPont.

Protein farves med FITC, der bliver grønt. Fedt farves med Nile Red, der bliver rød.

Begge er fluorescerende farver, der opløses i acetone.

På et indfarvet dækglass lægges og trykkes let et stykke 1.5x1x0.5cm LFS eller margarine.

Lægges til indfarvning i køleskab min. 30 minutter.

Nikon Eclipse Ti Inverted Microscope

Imaging software: NIS Elements ver 4.0

Laser 487,5 nm and 543,5 nm

4 billeder med x 40 obj.

4 billeder med x 40 obj zoom²



Norges miljø- og biovitenskapelig universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway