



UIT

NORGES  
ARKTISKE  
UNIVERSITET

Norges fiskerihøgskole – Fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi

# Effekt av langvarig fryselagring på kokte cluster av kongekrabbe

**Øyvind Jøstensen**

Masteroppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap  
Studieretning: Sjømatvitenskap (60 stp.)  
Mai 2019





## **Forord**

Denne oppgaven markerer slutten på fem fine år på Norges fiskerihøgskole. Tiden som student har vært eventyrlig, og det er med skrekkblandet fryd jeg forlater Universitetet i Tromsø. Jeg setter stor pris på alle mine medstudenter som har bidratt til å gjøre denne tiden så fantastisk, og en stor del av meg kommer til å savne studentlivet.

Selv om det er mitt navn som står på oppgaven har jeg hatt god hjelp til å komme i mål. Jeg vil først takke min veileder, Margrethe Esaiassen for gode råd og veiledning i skriveprosessen. Jeg ønsker også å takke min bi-veileder Grete Lorentzen for muligheten til å skrive denne oppgaven og Federico Lian ved Nofima. Dere har alltid satt av tid til å hjelpe meg, selv når dere har hatt det travelt selv. Takk til alle på Nofima for et fantastisk arbeidsmiljø.

Takk til min familie, som gjennom studietiden alltid har stått klar med middag, selv etter jeg flyttet hjemmefra. Til slutt, takk til min kjæreste, Julie, som har vært der for meg gjennom hele denne prosessen.

Tromsø, mai 2019

Øyvind Jøstensen



## Sammendrag

Kongekrabbe har blitt fisket kommersielt i Norge siden 2002 og har blitt en viktig art for den norske sjømatindustrien, med stor økonomisk betydning i lokalsamfunn langs Finnmarkskysten. Med en eksport på 2000 tonn, til en verdi av 579 millioner kroner var kongekrabbe verdimestende den nest største arten i skalldyrkategorien i 2018. Mesteparten av kongekrabbe blir eksportert levende mens de resterende mengdene i all hovedsak blir prosessert på land til cluster, og eksportert frossent.

Til tross for at fryste cluster av kongekrabbe er en viktig eksportartikkel er det ikke funnet forskningsresultater som omhandler hvordan frysing påvirker kvaliteten til prosesserte cluster. Hovedmålet med denne masteroppgaven var derfor å undersøke hvordan frysing påvirker kvalitetsegenskaper til kokte cluster av kongekrabbe gjennom å sammenligne ferske og tinte, kokte cluster. Det ble også undersøkt om levendelagringstid og -temperatur før prosessering påvirket kvalitetsegenskaper til produktet etter frysing.

Utgangsmaterialet for denne oppgaven var kongekrabbe som var levendelagret i 0, 41, 62 og 92 dager ved enten 5 eller 10 °C før prosessering, og som deretter ble frysing i to år. Som referanse ble fersk kongekrabbe prosessert i tilknytning til denne oppgaven.

Ved å sammenligne prosesserte cluster av kongekrabbe med cluster som var prosessert, fryst og tint, uten forutgående levendelagring, ble det funnet at tint cluster av kongekrabbe har lengre holdbarhet enn fersk. Dette er basert på at nølefasen knyttet til bakterievekst er lengre samtidig som det ble funnet lav til ingen vekst av *Pseudomonas* spp. Det ble også funnet at fryst kongekrabbe mister vekt under lagringstiden og har større vekttap i forbindelse med tining og kjølelagring enn fersk, samt at den har en hardere tekstur.

Det var imidlertid utfordrende å trekke sikre slutninger vedrørende hvorvidt levendelagring før prosessering hadde en effekt på kvalitetsegenskaper til frysing cluster av kongekrabbe. Årsaken ligger i begrenset råstoffmengde, samt at en del av krabbene ved slutten av levendelagringstiden var gått inn i skallskifte, noe som gjør det urimelig å sammenligne egenskapene direkte med krabber som ikke er i denne fasen.



# Innholdsfortegnelse

1. Innledning .....	1
2. Generell bakgrunn .....	3
2.1 Biologi .....	3
2.2 Levendelagring.....	4
2.3 Mikrobiologi.....	5
2.4 Frysing .....	7
2.5 Holdbarhet i tinte produkter .....	8
3. Material og metode.....	9
3.1 Råstoff.....	9
3.1.1 Fryselagret kongekrabbe.....	9
3.1.2 Kokt-fersk kongekrabbe .....	9
3.1.3 Kjølelagring .....	11
3.2 Analyser .....	12
3.3 Statistiske analyser .....	16
4. Resultater og diskusjon.....	17
4.1 Effekt av fryselagring .....	17
4.1.1 Vektendring under tining og kjølelagring .....	17
4.1.2 Totalkim.....	19
4.1.3 <i>Pseudomonas</i> spp.....	21
4.1.4 Holdbarhet.....	22
4.1.5 Fysikalske egenskaper .....	23
4.2 Effekt av levendelagring uten fôr .....	26
4.2.1 Vekttap under fryselagring .....	26
4.2.2 Vektendring under tining og kjølelagring .....	27
4.2.3 Mikrobiologi .....	29
4.2.4 Vanninnhold og vannbindingsevne .....	31
4.2.5 Muskeltetthet .....	32
4.2.6 Hardhet .....	33
4.2.7 pH .....	35
4.2.8 Effekt av levendelagringstid og levendelagringstemperatur .....	36
5. Betrachninger for industrien og oppgavens begrensning .....	38
6. Konklusjon.....	40
7. Referanser .....	41
8. Vedlegg .....	46



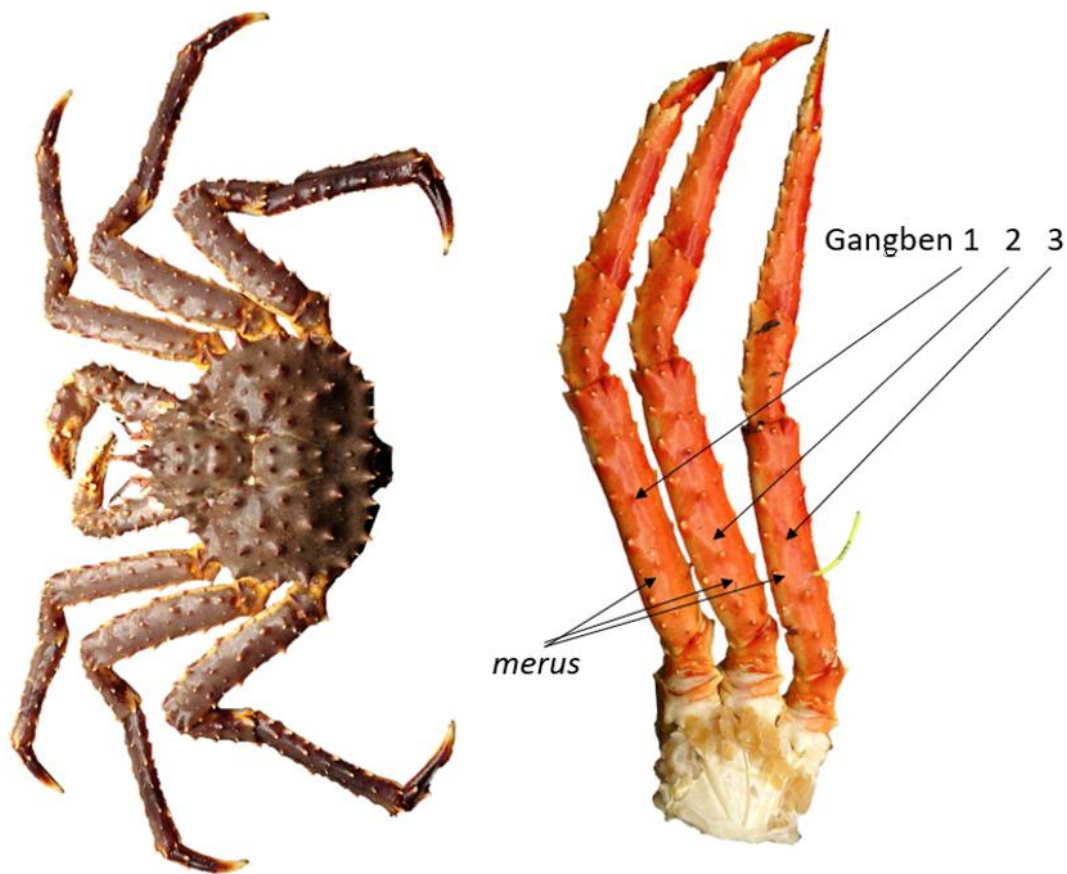


# 1. Innledning

Kongekrabbe (*Paralithodes camtschaticus*, Tilesius 1815) (Figur 1) har sin naturlige utbredelse fra Beringhavet til Korea. Etter utsettelse av kongekrabbe i den russiske delen av Barentshavet på 1960-tallet (Orlov & Ivanov, 1978) har arten spredd seg inn i norske farvann (Jørgensen & Nilssen, 2011). I dag er kongekrabbe utbredt vestover langs hele Finnmarkskysten til området rundt Sørøya i Finnmark (Sundet & Hoel, 2016; Sundet, 2014). Enkeltobservasjoner av kongekrabbe har vært dokumentert så langt sør som Bergen (Sundet, 2018), men disse observasjonene har med stor sannsynlighet andre årsaker enn naturlig vandring (Pinchukov & Sundet, 2011).

Kongekrabbe har blitt fisket kommersielt i Norge siden 2002 (Sundet & Hoel, 2016) og har blitt en viktig art for den norske sjømatindustrien (Lorentzen et al., 2017) med stor økonomisk betydning i lokalsamfunn langs Finnmarkskysten (Finnmark fylkeskommune, 2011). Dagens kommersielle fiske består av et kvoteregulert område øst for 26 ° Ø (omtrent ved Nordkapp) og et område vest for 26 ° Ø med fri fangst, for å begrense videre spredning av kongekrabbe vestover (Fiskeridirektoratet, 2019).

Med en eksport på 2000 tonn til en verdi av 579 millioner kroner var kongekrabbe verdimessig den andre største arten i skalldyrkategorien i 2018 (Norges Sjømatråd, 2019b). Kongekrabbe blir eksportert over hele verden og de største markedene er Sør-Korea og USA. I 2017 og 2018 ble henholdsvis 52 og 71 % av kongekrabbe landet i Norge eksportert levende (Norges Sjømatråd, 2019a). De resterende mengdene blir i all hovedsak prosessert på land til «cluster» og eksportert frossent. Ved prosessering av kongekrabbe blir det ferdige produktet omtalt som et cluster som vanligvis inkluderer de tre gangbeinene og skulderen (Lorentzen et al., 2017) (Figur 1). Prosessering innebærer slakting, koking og eventuell frysing av produktene. Selv om det i dagens marked er størst etterspørsel etter levende kongekrabbe eksporteres fortsatt omtrent 570 tonn i form av cluster hvorav 560 tonn eksporteres frossent (Norges Sjømatråd, 2019a).



**Figur 1:** Hel levende kongekrabbe (Foto: Federico Lian, 2019) (*Paralithodes camtschaticus*) (til venstre) og kokt cluster av kongekrabbe (til høyre), etter to års fryselagring (Foto: Øyvind Jøstensen, 2018).

Forskningen på kongekrabbe har i stor grad vært rettet mot dens biologiske effekt som en invaderende art og hvordan forvaltningen av en slik art bør gjennomføres. Når det gjelder kvalitetsegenskaper hos kokte cluster av kongekrabbe er det få undersøkelser. Lorentzen et al. (2014) studerte holdbarheten til kjølelagrede kokte cluster, mens Lorentzen et al. (2019b) dokumenterte hvilken effekt levendelagring uten fôring og levendelagringstemperatur har på kvaliteten til kokte, ferske cluster. Størsteparten av kokte cluster eksporteres som nevnt fryst, men det er ikke tilgjengelig forskningsresultater som omhandler hvordan frysing påvirker kvaliteten til prosesserte cluster. Hvordan levendelagring påvirker kvalitetsegenskaper til fryst kongekrabbe er heller ikke beskrevet.

Hovedformålet med denne masteroppgaven var å undersøke hvordan fryselagring påvirker kvalitetsegenskaper til kokte cluster av kongekrabbe. Det ble også undersøkt om levendelagringstid og -temperatur før prosessering påvirket kvalitetsegenskaper til produktet etter fryselagring.

## 2. Generell bakgrunn

### 2.1 Biologi

Det er flere arter som omtales som kongekrabber (Stevens & Lovrich, 2014). I det følgende vil kongekrabbe referere til den største av disse artene, «Red king crab», *Paralithodes camtschaticus*.

Kongekrabben har tre velutviklede gangben som er tydelig segmentert (Figur 1) (Donaldson & Byersdorfer, 2014). Det spiselige kjøttet i kongekrabbe er muskelmasse lokalisert i leggbenene og skulderen, med den største kjøttmengden i segmentet *merus* av clusteren (Figur 1) (Lorentzen et al., 2017). Hos skalldyr som kongekrabbe er muskelmassen i hvert segment løst festet til skallet med større muskelfester i starten av hvert segment (Venugopal, 2006).

Kongekrabbe er systematisk plassert under ordenen *Decapoda*, infraordenen *Anomura* og familie *Lithodidae* (McLaughlin, 2014). De største individene kan veie opp mot 11 kg og ha et spenn fra leggspiss til leggspiss på 1,8 m (Stevens & Lovrich, 2014). Kongekrabben er en kaldvannsart som i sitt opprinnelige utbredelsesområde er påvist å oppholde seg ved et stort spenn av temperaturer mellom -1,8 til 13 °C (Stevens & Lovrich, 2014). I den utsatte populasjonen i Barentshavet som har spredd seg langs norskekysten er den påvist å oppholde seg i temperaturer mellom -0,8 og 8,5 °C hvor de fleste observasjonene er gjort rundt 5-6 °C (Pinchukov og Sundet, 2011). I forsøk hvor kongekrabbe fritt fikk bevege seg langs et basseng med temperaturgradient fra 1 til 14 °C, valgte kongekrabben temperaturer i den laveste delen av skalaen og unngikk temperaturer over 4 °C (Christiansen et al., 2015). Tilpasningen til kalde omgivelser gjør at voksne individer ofte oppholder seg ved kjøligere omgivelser på dyp mellom 5 til 400, avhengig av årstid og livsstadiet til kongekrabben (Sundet, 2018).

Kongekrabber har et hardt ytre skall kalt eksoskjelett, hovedsakelig bestående av kitin, som beskytter organismens vev (Donaldson & Byersdorfer, 2014). Dette rigide skallet skaper begrensinger ved vekst slik at kongekrabber med jevne mellomrom må produsere et nytt og større eksoskjelett for videre vekst. I denne prosessen felles det eksisterende eksoskjelettet (Fukuhara, 1985). Prosessen blir omtalt som skallskifte, og hunnkrabber skifter skall i forbindelse med parring mens hannkrabber skifter skall mer uregelmessig hvor økende størrelse gir minkende sannsynlighet for å gjennomgå skallskifte (McCaughran & Powell, 1977; Nilssen & Sundet, 2006). Skallskiftet inntreffer vanligvis i mars hos krabber fra Barentshavet (James et al., 2013). Tidspunkt for skallskifte har også blitt påvist å være påvirket av temperatur, hvor

høyere temperatur gir større sannsynlighet for skallskifte (Stoner et al., 2010; Lorentzen et al., 2019b).

Fysiologiske forberedelser til skallskifte starter opp mot to måneder i forkant av skallskifte hvor mineraler og næringsstoffer re-absorberes fra skallet (Stevens & Jewett, 2014). Like før skallskifte inntreffer absorberer kongekrabben vann som fører til at den sveller opp og skallet sprekker, slik at krabben kan forlate det gamle skallet gjennom en svært trang åpning. For at dette skal kunne gjennomføres mister skalldyr 30-60 % av muskelmassen før skallskifte, i form av proteiner (Mykles & Skinner, 1990). Rett etter skallskiftet er skallet mykt og det kan ta flere måneder før det nye skallet når maksimal hardhet (Stevens & Jewett, 2014).

Kongekrabbe har i likhet med andre krepsdyr et sirkulasjonssystem som er åpent, hvor blodet mer spesifikt kalles haemolymfe (Maynard, 1960). Det åpne sirkulasjonssystemet gjør at kongekrabbe har stor mengde fri kroppsvæske hovedsakelig bestående av haemolymfe og vil strømme ut av lemmene når eksoskjellet blir brutt (Mizuta et al., 2001). Den frie kroppsvæsken sirkulerer gjennom gjellene hvor kongekrabben respirerer (Donaldson & Byersdorfer, 2014).

## **2.2 Levendelagring**

Fangst av kongekrabbe gjennomføres med firkantede boks-teiner med agn (Lorentzen et al., 2017) og lagres levende om bord, enten tørt eller i kar (Siikavuopio et al., 2011). Dette innebærer stress for dyrene på grunn av stor grad av manuell håndtering. Samtidig kan levestandardene være svekket under lagring om bord på grunn av mangel på oksygen eller dårlig vannkvalitet (Siikavuopio et al., 2014).

Levendelagring har derfor blitt aktuelt for å øke dyrevelferden samt øke kvaliteten på kongekrabbe før de prosesseres eller selges levende (Siikavuopio & James, 2015). Dette gjelder særlig ved transport av levende kongekrabber fanget rett etter skallskifte. I denne perioden er krabbene mer sårbare på grunn av et tynt og mykt skall (James et al., 2013). Levendelagring gir også industrien mulighet til å bestemme tidspunkt for transport av levende krabber eller prosessering (Lorentzen et al., 2017). Dette vil fristille industrien til å kontrollere eventuell produksjon og salg.

Levendelagring kan gjennomføres både med og uten fôring i lagringsperioden. Siikavuopio et al. (2014) viste at både fôret og ikke-fôret kongekrabbe har høy velferdsscore etter 3 måneders levendelagring. Det skal her nevnes at velferdsscoren var noe lavere for ikke-fôret kongekrabbe og at levendelagring uten fôr førte til lavere kjøttfylde i gangbeinene som ikke er akseptabelt i mange markeder. For å opprettholde et verdifullt produkt er det derfor

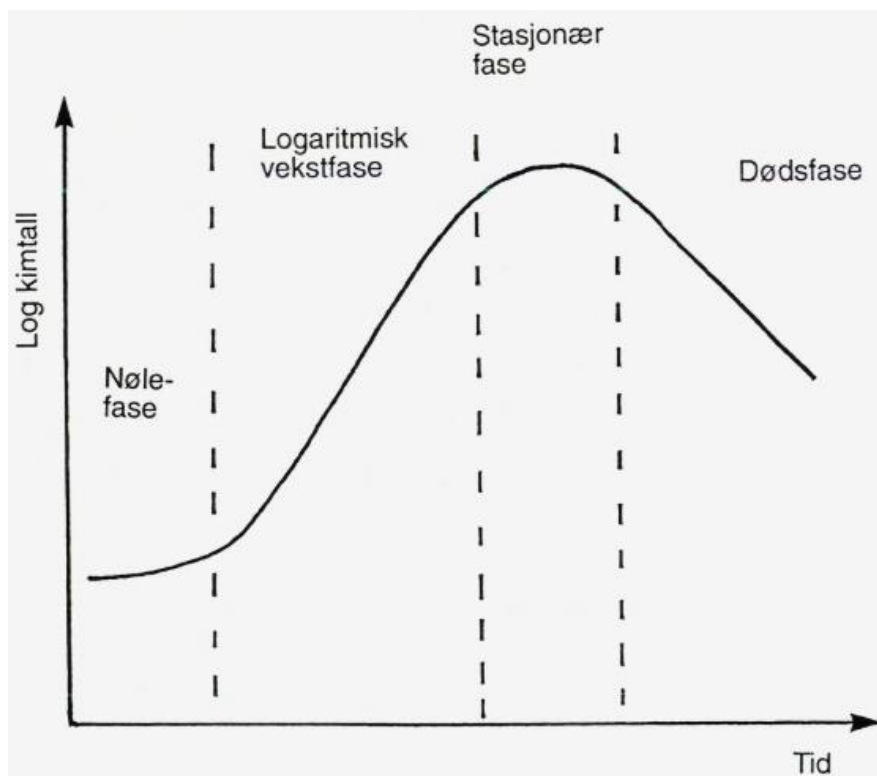
anbefalt å fôre kongekrabben under levendelagringstiden (Siikavuopio et al., 2011). Ved levendelagring av kongekrabbe uten fôring viste Lorentzen et al. (2019b) at kjøttfyllden sank ved økt levendelagringstid. Samtidig endret ikke krabbevekten seg gjennom levendelagringstiden, men utbyttet fra ferdig prosesserte cluster var lavere ved økt levendelagringstid. Dette kommer av at kongekrabben kompenserer muskelreduksjonen med fri kroppsvæske som dreneres ut ved slaktning (Mizuta et al., 2001) og koking (Lorentzen et al., 2019b).

Kongekrabben er som nevnt tidligere en kuldetilpasset art som lever i temperaturer mellom 1 og 10 °C (Christiansen et al., 2015). Ved levendelagring vil det derfor være ønskelig med lave temperaturer. Siikavuopio & James (2015) viste at det ikke oppstod dødelighet ved 110 dager levendelagring med fôring i kongekrabber holdt ved 4 °C mens det oppstod dødelighet ved 8 og 12 °C. I samme undersøkelse ble det påvist at fôrintaket og oksygenforbruket ble høyere ved økt levendelagringstemperatur selv om kjøttfyllden ikke endret seg. Ved levendelagring av kongekrabbe blir det derfor anbefalt å ha en vanntemperatur på 4 °C (Siikavuopio & James, 2015).

## 2.3 Mikrobiologi

Sjømat og spesielt skalldyr som kongekrabbe er lett bedervelig, og kvalitetsforringelse forårsakes hovedsakelig av mikrobiell vekst (Gram og Huss, 1996). Høy *post mortem* ultimate pH (> 6,0), stor tilgjengelighet av frie aminosyrer og kuldetilpasset mikroflora gjør de særlig utsatt for mikrobiell aktivitet (Lynum, 1997, side 159-160). Bedervelse oppstår på grunn av produksjon av uønsket lukt og smak, forårsaket av bakteriell metabolisme (Gram og Huss, 1996). Det er derimot ikke en direkte korrelasjon mellom bedervelse og antall bakterier i produktet da kun en fraksjon av mikroorganismene tilstede deltar direkte i bedervelsesprosessen. I stedet for skiller det mellom bedervelsesbakterier og de som er tilknyttet denne prosessen (Gram og Huss, 1996). Bedervelsesbakteriene er de bakteriene som spesifikt produserer uønsket lukt og smak (Lynum, 1997, side 155). *Shewanella putrefaciens* og *Pseudomonas* spp. blir ofte pekt på som de viktigste spesifikke bedervelsesorganismene i sjømat da *S. putrefaciens* og enkelte arter av *Pseudomonas* spp. produserer den svært illeluktende forbindelsen H<sub>2</sub>S (Lynum, 1997, side 155-156).

Mikrobiell vekst deles ofte inn i fire faser; nølefasen, logaritmisk vekstfase, stasjonær fase og dødsfase (Figur 2) (Lynum, 1997, side 149-150). I nølefasen vil bakteriene forberede seg på deling. Lengden av nølefasen avhenger av tilgangen på næringsstoffer og hvorvidt mikroorganismene er klar for celledeling.



**Figur 2:** Vekstkurve for bakterier. Hentet fra Lynum, 1997, side 149.

Senere i den logaritmiske vekstfasen vil cellene dele seg uten begrensning og vekstkurven vil stige eksponentielt. Ved den stasjonære fasen vil veksten ha stoppet opp og det vil være likevekt mellom antall celler som deler seg og som dør. Til slutt vil dødsfasen sette inn og celledelingen vil avsluttes på grunn av næringsmangel eller andre faktorer. Holdbarheten i sjømatprodukter avhenger i stor grad av hvor lang tid det tar før den mikrobielle populasjonen er på et uakseptabelt nivå (Lynum, 1997, side 150). På grunn av den eksponentielle veksten er det derfor i hovedsak nølefasen som setter begrensninger for holdbarheten.

Undersøkelse av holdbarhet i kokte cluster av kongekrabbe har tidligere blitt gjennomført av Lorentzen et al. (2014). Det ble her vist at deteksjon av H<sub>2</sub>S produserende organismer kun ble gjort sporadisk i kjøtt fra *merus*. Dette indikerer at H<sub>2</sub>S produserende organismer ikke er en like god indikator på grad av kvalitetsforringelse i kongekrabbe som den er for annen sjømat. *Pseudomonas* spp. er derfor en bedre indikator på kvalitetsforringelse i kongekrabbe enn *Shewanella putrefaciens*. Holdbarheten til kokt kongekrabbe ble i samme undersøkelse satt til 5 dager hvor totalalkim og totalt antall *Pseudomonas* spp. på det tidspunktet var henholdsvis 4,6 og 3,7 log CFU g<sup>-1</sup>

## 2.4 Frysing

Frysing er en ofte brukt konserveringsmetode brukt for å bevare kvalitet over lengre perioder. Konservering ved frysing baserer seg på at temperaturen og vannaktiviteten i produktet senkes (Lynum, 2005, side 141-142). Hastigheten på biokjemiske prosesser vil da opphøre eller skje svært sakte samtidig som veksten av mikroorganismer stopper opp (Borgstrom, 1975). Selv om frysing kan bevare kvalitet over lang tid vil frysing også kunne føre til endringer som senker kvaliteten i produktet.

Under innfrysning vil fritt vann i muskelen danne iskrystaller. Ved sakte innfrysning vil det bli dannet store ekstracellulære iskrystaller som kan skade cellemembranene i muskelen (Sahagian & Goff, 1996). Punktering og skader av cellemembranene vil føre til væsketap ved tining (Lynum, 2005, side 157-162). Ved rask innfrysning vil det dannes flere små iskrystaller som i mindre grad vil skade cellemembranene. Temperaturendringer under fryselagring vil også påvirke dannelsen av iskrystaller. Ved temperaturøkninger under fryselagring vil mindre iskrystaller kunne tine slik at en fremtidig reduksjon av temperatur vil føre til at vannet fryser på andre iskrystaller. Prosessen kalles rekrystallisering og danner større iskrystaller som kan skade cellemembraner (Kaale et al., 2011).

Fryselagring medfører også denaturering av proteiner i muskelen (Mackie, 1993). Det er særlig denaturering og aggregering av myofibrillproteiner som gir endret tekstur samt redusert vannbindingsevne og saftighet (Mackie, 1993; Burgaard, 2010). I fisk vil fryselagring føre til et hardere og tørrere produkt (Löndahl og Nilssen, 2003). Omfanget av kvalitetstapet vil være påvirket av innfrysningshastigheten, varigheten av frysing, temperatur og temperatursvingninger ved lagring, og tinehastigheten (Boonsumrej et al., 2007).

I reker og andre skalldyr forårsakes kvalitetsforringelse ved fryselagring hovedsakelig av oksidasjon, denaturering av proteiner, sublimering og rekrystallisering (Löndahl, 1991). Sublimering er overgangen av vann fra is til gassform uten at vannet er flytende i mellomtiden (Lynum, 2005, side 155). Forskjell i damptrykk mellom overflaten av produktet og omgivelsene fører til sublimasjon som gir vekttap og risiko for nedsatt kvalitet (Löndahl og Nilssen, 2003). Dette vil ikke oppstå om produktet er pakket i et tettsittende damptett materiale slik at fordampingen ikke kan finne sted, for eksempel i vakuuerte plastposer.

Effekt av fryselagring i fisk og skalldyr blir særlig synlig ved tining av produktet. Nedsatt vannbindingsevne på grunn av denaturering og aggregering av proteiner samt dannelse av iskrystaller vil resultere i væsketap ved tining (Lynum, 2005, side 157-162).

## 2.5 Holdbarhet i tinte produkter

En av de viktigste årsakene til kvalitetsforringelse av sjømat er vekst av mikroorganismer. Ved frysing stopper veksten av mikroorganismer og produkter kan dermed lagres over lengre tidsperioder. Ved innfrysning og langvarig fryselagring er det påvist at noe av mikrofloraen i produktet inaktiveres eller dør, men selv ved svært lave temperaturer kan mikroorganismer overleve og vil formere seg ved opptining (Lynum, 2005, side 169-171). På grunn av celledød og stress hos mikroorganismer i produktet under fryseprosessen, har tinte produkter ofte et lavere totalkim enn ferske produkter. Samtidig er det stor variasjon i mikroorganismenes reaksjon på frysing (Lynum, 2005, side 169-171). Enkelte arter kan overleve frysing uten å ta skade mens andre ikke tåler frysing. Lorentzen et al. (2019a) observerte en signifikant reduksjon i totalkim i fryselagrete cluster av snøkrabbe (*Chionoecetes opilio*). De observerte også lavere nivåer av *Pseudomonas* spp. i tint snøkrabbe, sammenlignet med fersk. Vekst av mikroorganismer etter tining avhenger derfor i stor grad av hvor mange og hvilke typer bakterier som er gjenlevende etter fryselagring (Lynum, 2005, side 169-171). I forbindelse med frysing vil det ofte oppstå skader på mikroorganismene som må repareres før celledeling kan oppstå (Lynum, 2005, side 169-171). Tinte produkter har derfor ofte en forlenget nølefasen. Lengden på nølefasen avgjør i stor grad holdbarheten i produktet da veksten etter nølefasens slutt er eksponentiell. Frysing, kjøling og bruk av konserveringsmidler er alle metoder som forlenger denne fasen.



## 3. Material og metode

### 3.1 Råstoff

Fangst, levendelagring og prosessering av fryselauret kongekrabbe brukt i dette forsøket er beskrevet av Lorentzen et al. (2019b) og er gjengitt i Vedlegg 1 i denne oppgaven. Krabbene beskrevet i det publiserte forsøket ble delt i to grupper med et cluster fra hver krabbe i hver gruppe. Den ene gruppen ble analysert i fersk tilstand etter prosessering, og resultatene er publisert: Lorentzen et al. (2019b). Den andre gruppen ble fryst og benyttet i denne oppgaven som beskrevet nedenfor. Krabbene ble før innfrysning levendelagret uten føring i 0, 41, 62 eller 92 dager ved enten 5 eller 10 °C. Etter 62 dager oppstod skallskifte for enkelte krabber holdt ved 10 °C, og etter 92 dager oppstod skallskifte i begge temperaturgruppene. En oversikt over det eksperimentelle designet og gjennomføring av prosessering er illustrert i Figur 3.

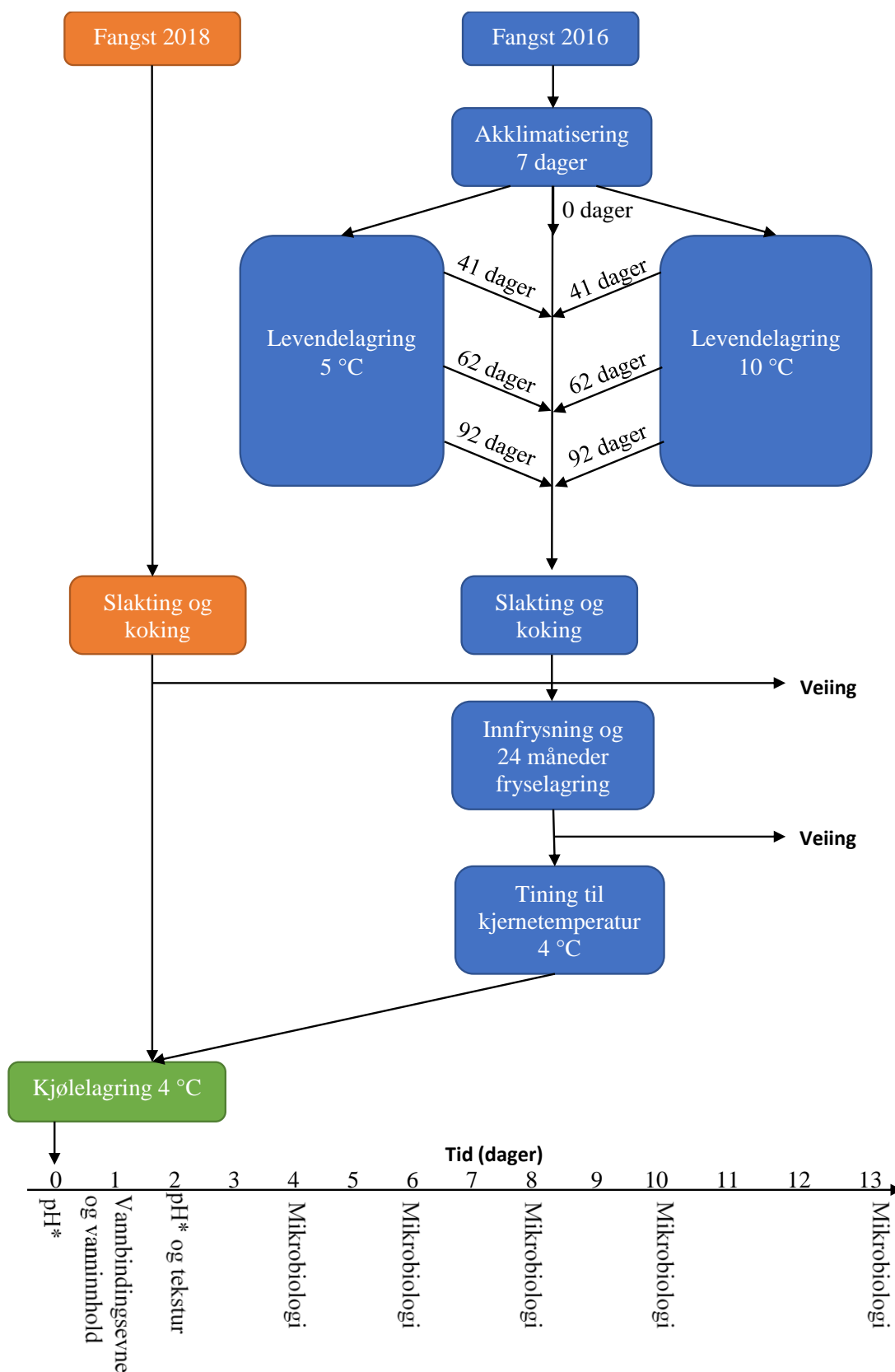
#### 3.1.1 Fryselauret kongekrabbe

Innfrysning av cluster ble gjort i «Air blast» fryser på -40 °C med lufthastighet 2,39 m/s i 75 minutter. Deretter ble de individuelt pakket i plastposer (90 my, 220x600 mm) (Finnvacum Sverige AB, Bandhagen, Sverige) holdt lukket med binders, og har videre blitt oppbevart i fire ulike frysere på -20 °C i 24 måneder.

Clusterene ble tint i klimaskap (Model KBF 720, Binder GmbH, Tuttlingen, Tyskland) ved 4 °C og ble ansett som tint når temperatur i *merus* var omtrent 4 °C. For å bestemme tintetid ble to kongekrabber med normal kjøttfylde prosessert som beskrevet av Lorentzen et al. (2019b) og plassert i fryser ved -20 °C i tre døgn. Temperaturen i *merus* ble ved tining målt med «K-type thermocouple» festet til en datalogger (model 175H1, Testo, Ltd., Hampshire, Storbritannia) og målt hvert 10. minutt. Tinetid ble fastsatt til 27 timer (Vedlegg 2).

#### 3.1.2 Kokt-fersk kongekrabbe

Krabber av lik størrelse og kjøttfylde (n=9), med en gjennomsnittsvekt på 2294 g ( $\pm$  296), ble fisket i november 2018 i området rundt Nordkapp. Kongekrabbene ble transportert levende i flykasser dekket av «Gel ice» (Cold Ice Inc., Oakland, CA, USA) fra Honningsvåg til Nofima i Tromsø. Krabbene ble lagret over natt i flykassene ved 4 °C og prosessert til cluster som beskrevet av Lorentzen et al. (2019b) dagen etter. Temperaturforløp i *merus* under koking og nedkjøling ble registrert og er illustrert i Vedlegg 3. Etter prosessering ble clusterene pakket i plastposer (120 my, 200x600mm) (AZ-Pack, Kaunas, Litauen). Det ble ikke observert dødelighet blant krabbene under transport eller før prosessering.



**Figur 3:** Flytskjema for fangst, levendelagring, prosessering, fryselagring og kjølelagring av råstoff.  
 \* pH ble analysert enten etter 0 eller 2 dager kjølelagring.

### **3.1.3 Kjølelagring**

Under kjølelagring ble cluster oppbevart i plastposer med skulderen vendt ned i klimaskap som var stilt inn til å holde 4 °C med 60 % viftehastighet. Temperaturen i klimaskapet ble målt hvert 10. minutt (Vedlegg 4).

## 3.2 Analyser

Analyser ble gjennomført hos Nofima i Tromsø med oppstart i september 2018 og avslutning i februar 2019. Tilgjengelig mengde råstoff var forskjellig avhengig av levedelagringstiden og levedelagringstemperaturen i det fryste råstoffet, og for enkelte uttak var det begrenset mengde tilgjengelig for analyser. Begrensning i råstoffet skyldtes også lavere kjøttfylde i krabber med lengre levedelagringstid (Lorentzen et al., 2019b). Råstoff med levedelagringstid på 62 og 92 dager hadde derfor betydelig mindre muskelmasse tilgjengelig for analyser.

På grunn av de nevnte utfordringene knyttet til kjøttfylde og tilgjengelig råstoff ble ikke utførelsen av analysene lik for hver gruppe og enkelte av analysene kunne ikke gjennomføres. En oversikt over hvilke analyser som er gjennomført på hvilket råstoff er beskrevet i Tabell 1. I samme tabell er det også en detaljert beskrivelse av analysetidspunkt, antall individer per analyse og antall analytiske replikater i hver gruppe.

**Tabell 1:** Oversikt over gjennomføring av analyser. Skallskifte annoteres med 0 (ikke skallskifte) og 1 (skallskifte). Blanke felter markerer at analysen ikke er gjennomført for gruppen. n = antall individer. ar = analytiske replikater per individ. SP = samleprøve, i så tilfelle vil «ar» ikke være gjeldende per individ men antall analytiske replikater for samleprøven.

Levedelagringstid	Fersk	Fryselagret									
	0 (2018)	0 (2016)	41		62			92			
Levedelagrings temperatur			5	10	5	10	10	5	5	10	10
Skallskifte	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Vektendring ved tining og kjølelagring	n=7	n=6	n=3		n=3						
Mikrobiologi (individer per analysedag)	n=5	n=3	n=3		n=3			n=3			
Vanninnhold og vannbindingsevne	n=5 ar = 4	n=5 ar = 4	n=3 ar = 4	n=3 ar = 4	n=3 ar = 4	n=3 ar = 4	SP n=3 ar = 5	n=3 ar = 4	n=3 ar = 4	n=3 ar = 3	SP n=4 ar = 5
pH (Analysetidspunkt i parentes)	n=3 (Dag 0)	n=3 (Dag 0)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)	n=3 (Dag 2)
Tekstur	n=5	n=5	n=3	n=3	n=3	n=3	n=3	n=3	n=3	n=3	n=4
Kjøttfylde	n=20										

### Vektendring

Vekttap under fryselagring ble målt ved veiing av hele cluster. Vekttapet blir uttrykt prosentvis basert på vekt før og etter fryselagring, hvor  $V_{FI}$  er vekten før innfrysning og  $V_{EF}$  er clusterens vekt etter fryselagring, før tining.

$$\text{Vekttap under frysing (\%)} = [(V_{EF} - V_{FI}) / V_{FI}] * 100$$

Vektendring under tining ble målt ved veiing av hele frosne cluster ( $V_{FRYST}$ ) og cluster etter tining ( $V_{TINT}$ ). Ved veiing av clusterene etter tining ble væske som var oppsamlet i posen fjernet og clusterene veid uten pose.

$$\text{Vektendring (\%)} = [(V_{FRYST} - V_{TINT}) / V_{FRYST}] * 100$$

Vektendring under kjølelagring ble gjennomført ved daglig veiing av hele cluster gjennom 6 dager. Ved veiing av clusterene ble væske som var oppsamlet i posen fjernet og clusterene veid uten pose. Vektendringen blir uttrykt prosentvis basert på vekt før tining og kjølelagring ( $V_{FØR}$ ) og ved et gitt tidspunkt ( $V_{X-TID}$ ):

$$\text{Vektendring (\%)} = [(V_{FØR} - V_{X-TID}) / V_{FØR}] * 100$$

Vektendringen under kjølelagring til fryste cluster tok utgangspunkt i vekt før tining mens ferske cluster tok utgangspunkt i vekt etter prosessering.

### Vanninnhold

Skallet rundt *merus* ble fjernet og den røde «hinnen» rundt muskel og brusken som går gjennom *merus* ble fjernet med pinsett. Muskelbuntene ble videre separert fra hverandre til muskelfibre med tykkelse på ca. 1 mm og lengde på ca. 2 cm. Omtrent 2 g prøve ble overført til prøveskåler og spredd ut over skålen. Prøveskålene ble så satt i tørkeskap (Model FD-53, WTC Binder Labortechnik BmbH, Tuttingen, Tyskland) som holdt 105 °C i 48 timer. Etter 48 timer ble skålene avkjølt i eksikator i en time før prøvene ble veid. Vanninnholdet blir uttrykt som prosentvist innhold hvor  $V_V$  prøvens våtvekt mens  $V_T$  er vekt som forsvinner i prøven under tørking:

$$\text{Vanninnhold (\%)} = (V_T / V_V) * 100$$

### Vannbindingsevne

Vannbindingsevne ble analysert som beskrevet av Skipnes et al. (2007) med modifisering. Prøvematerialet ble gjort klart som beskrevet ved analyse av vanninnhold. Omtrent 2 g prøve ble overført til sentrifugetube med falsk bunn (30 mm diameter) og lagt på gitter med maskevidde ca. 0,25 mm. Sentrifugen GS-6R Centrifuge (Beckman, Palo Alto, USA) ble temperert til 4 °C før forsøket startet. Prøvene ble så sentrifugert ved 3500 rpm (1646g) i 10 minutter. Etter endt sentrifugering ble kjøttet i tuben fjernet med pinsett og tuben veid med vann i sylindren tilstede og vannbindingsevne kunne beregnes.  $V_0$  er det opprinnelige vanninnholdet i prøven (%) og  $\Delta S$  er den prosentvise mengden vann som filtreres under sentrifugering.

$$\text{Vannbindingsevne (\%)} = [(V_0 - \Delta S) / V_0] * 100$$

### pH

Omtrent 15 g muskel fra *merus* ble overført til målebeholder av glass og tilsatt romtemperert 0,15M KCl til 1:1 forhold mellom KCl og prøve, som beskrevet av Lorentzen et al. (2016). Prøven ble så homogenisert med ultra Turrax T25 Basic (IKA Labor Technik, Staufen, Tyskland) på lav fart (11000 rpm) i 30 sekunder. PHM210 Standard pH Meter (Radiometer Analytical, Villeurbanne Cedex, Frankrike) med glasselektrode ble brukt til å lese av pH. Glasselektroden ble mellom hver avlesning rensert med destillert vann. pH-meter ble kalibrert 2-3 timer før analyser i henhold til brukermanualen.

### Kjøttfylde

To tverrsnitt med bredde på 1 cm ble laget i midten av *merus* med skalpell. Tverrsnittene ble plassert liggende i fotoboks (Salmon Colour Box, Skretting, Stavanger, Norge) med belysning (TLD 18W/95, Philips, Amsterdam, Nederland) og fotografert med kamera (model DSC-RX100M3, Sony, Tokyo, Japan) plassert på kamerastativ som beskrevet av Lian et al. (2018). Bildene ble analysert for kjøttfylde med digital bildeanalyse (ImageJ, Versjon 1.51j8, National Institutes of Health, USA). Ved å markere det totale arealet til skallet ( $A_S$ ) og muskelen ( $A_m$ ) ble kjøttfylden beregnet.

$$\text{Kjøttfylde (\%)} = [A_m / A_S] * 100$$

### Teksturanalyse

Hele muskelen fra *merus* ble tatt ut fra skallet og undersøkt intakt med tilstedeværelse av bruskenet med TA.HDplus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Surrey, Storbritannia) i en kompresjonstest. Muskel fra *merus* ble plassert liggende og en flat avrundet probe med diameter på 12,2 mm ble benyttet til teksturanalyse. Kraften (g) som ble benyttet på proben for å trenge 50 % ned i prøven ble fulgt i programmet Exponent (Versjon 6.1.14.0, Stable Micro Systems). Analysen startet ved 5,0 g motstand med en testfart på 2,0 mm/s. Før teksturanalyse ble muskelen veid og lengdemålt, og en provisorisk muskeltetthet utregnet:

$$\text{Muskeltetthet (g/cm)} = \text{vekt muskel} / \text{lengde muskel}$$

Kraften (g) brukt for å nå 50 % ned i prøven og muskeltettheten ble brukt til å beregne hardhet i prøvene.

$$\text{Hardhet} = \text{g kraft} / \text{muskeltetthet}$$

### Mikrobiologi

To tverrsnitt på ca. 3 cm ble laget i *merus* med skalpell og muskelen ble tatt ut av skallet med steriliserte pinsetter og overført til stomacherpose (Steward Medical Ltd., London, Storbritannia). Prøvene ble fortynnet med sterilt vann tilsatt 0,9 % NaCl og 0,1 % pepton (Difco Laboratories, Sparks, USA) til en fortytning på 1:5 ble oppnådd. Prøvene ble så bearbeidet i Lab Blender 400 Stomacher (Steward Medical Ltd.) i 2 minutter. Fortyningsserie med en faktor på 10 ble så gjennomført og strøket ut på vekstmedium med L-formet utstrykningsstav (VWR, Pennsylvania, USA). Totalkimbestemmelse ble gjennomført ved vekst på Plate Count Agar (CM0463, Oxoid Ltd, Basingstoke, Storbritannia) tilsatt 0,5 % NaCl. *Pseudomonas* Agar Base (CM0559, Oxoid Ltd.) tilsatt Cephaloridine Fucidin Cetricimide selective Agar Supplement (SR0103E, Oxoid Ltd.) ble brukt til bestemmelse av antall *Pseudomonas* spp. Prøvene ble inkubert i temperaturregulerte inkubatorskap (Model MIR-153, Sanyo Electric Biomedical Co., Tokyo, Japan).

Totalkim ble inkubert ved 12 °C i 8 døgn mens *Pseudomonas* spp. ble inkubert ved 20 °C i 4 døgn. For fryselauret kongekrabbe levendelauret i 0 døgn ble i midlertidig totalkim inkubert ved 20 °C i 4 døgn mens *Pseudomonas* spp. ble inkubert ved 12 °C i 8 døgn. Ved endt inkuberingstid ble antall kolonier talt og oppgitt som logaritmsk gjennomsnittsverdi for individene og uttrykt som log CFUg<sup>-1</sup>. For individer hvor det ikke ble observert vekst ble den

mikrobielle populasjonen satt til deteksjonsgrensen ( $0,70 \log \text{CFUg}^{-1}$ ). Nølefasens avslutning ble bestemt subjektiv basert på tidspunktet det ble observert en markant økning i bakterievekst.

### **3.3 Statistiske analyser**

Alle data er testet for normalfordeling. Statistiske analyser ble gjennomført i Statistica (Versjon 13.5.0, TIBCO, USA) med konfidensnivå på 95 %. Ved sammenligning av to grupper ble Students t-test utført. Ved sammenligning av flere enn to grupper ble to-veis ANOVA variansanalyse gjennomført. Ved signifikante forskjeller mellom grupper ble Dunnett's test brukt når det var ulikt antall individer i gruppene. Ved sammenligning av mikrobiologi med flere enn to grupper ble TukeyHSD sammenligningstest brukt. To-veis faktorial ANOVA ble gjennomført med tid og temperatur som faktor. Alle verdier er oppgitt som gjennomsnittsverdi av individer  $\pm$  standardavvik.



## 4. Resultater og diskusjon

Effekten av fryselagring på kvalitetsegenskaper i kokte cluster av kongekrabbe blir gjort rede for i kapittel 4.1 ved å sammenligne fersk og tint kongekrabbe. Fersk kongekrabbe ble fanget og prosessert i desember 2018 (kapittel 3.1.2). Kongekrabbe fanget i 2016 og levendelagret i 0 døgn før prosessering og frysing, etterfulgt av tining i 2018 omtales i kapittel 4.1 som «tint» kongekrabbe (kapittel 3.1.1).

Effekt av levendelagring før prosessering og fryselagring blir gjort rede for i kapittel 4.2. Krabbene vil i hovedsak behandles kategorisk basert på levendelagringstiden (0, 41, 62 og 92 dager) og temperaturen (5 og 10 °C) de ble utsatt for under levendelagring i det opprinnelige forsøket i 2016.

### 4.1 Effekt av fryselagring

Både den ferske og tinte kongekrabben som ble benyttet i forsøket var av lik størrelse og kjøttfylde (Tabell 2) slik at disse faktorene ikke vil påvirke resultatene.

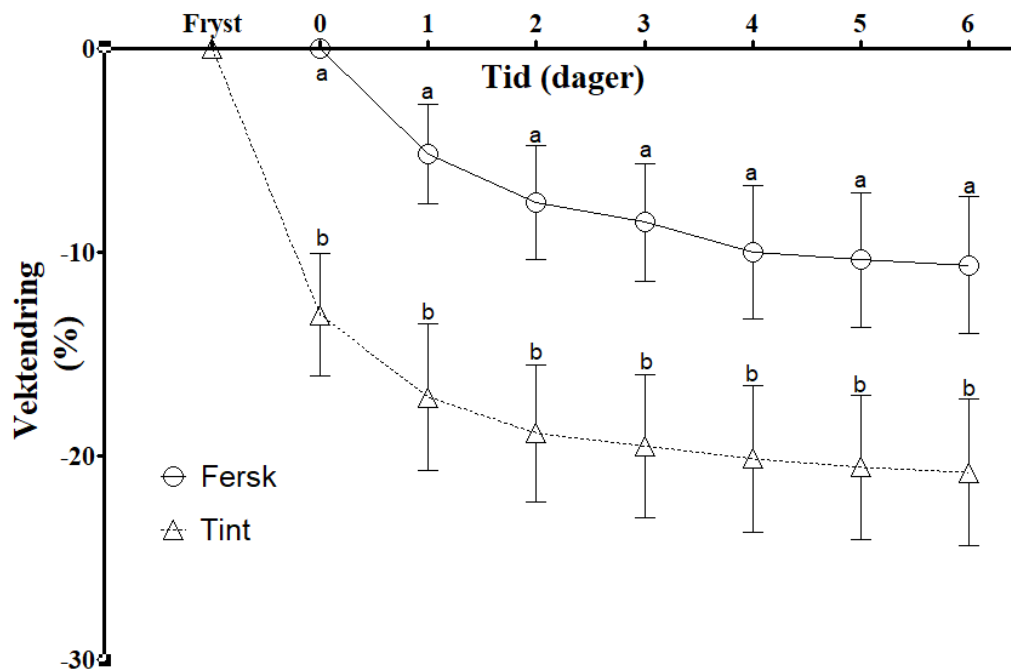
**Tabell 2:** Oversikt over hel krabbevekt og kjøttfylde i fersk og tint kongekrabbe.

	Fersk	Tint
Krabbevekt (g)	2294 ± 296	2379 ± 273*
Kjøttfylde (%)	78,3 ± 4,8	87,0*

\* Resultater fra Lorentzen et al. (2019b)

#### 4.1.1 Vektendring under tining og kjølelagring

Tint kongekrabbe har signifikant høyere vektendring enn fersk gjennom hele tine- og kjølelagringstiden (Figur 4). Etter seks dager har fersk kongekrabbe en vektendring på -10,6 % ( $\pm 3,4$ ) og tint kongekrabbe har en tilsvarende endring på -20,8 % ( $\pm 3,6$ ). Over halvparten av vektetapet til tint kongekrabbe oppstod under tining av krabbene, hvor de mister 13,1 % ( $\pm 3,0$ ). Ved tining mister tint kongekrabbe mer vekt enn fersk kongekrabbe gjør gjennom hele kjølelagringsperioden, men etter tining er forløpet ved kjølelagring likt for fersk og tint kongekrabbe.

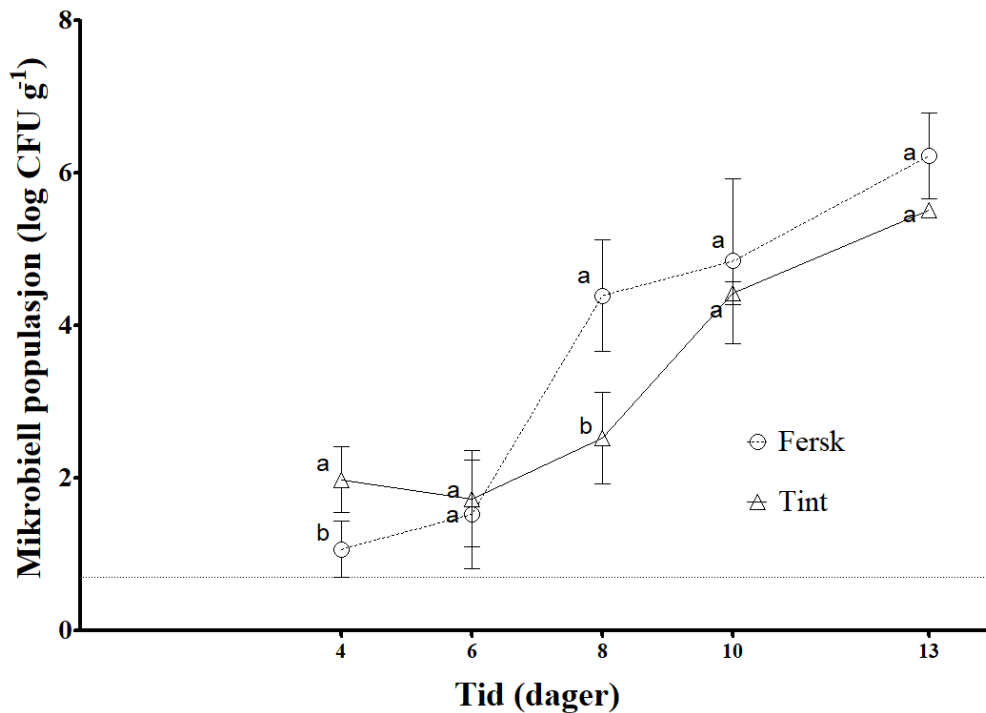


**Figur 4:** Vektendring under tining og kjølelagring av tint kongekrabbe og kjølelagring av fersk kongekrabbe. Ulik bokstavannotasjon markerer signifikant forskjell mellom gruppene.

Dette stemmer overens med eksisterende litteratur om effekt av frysing (Mackie, 1993) hvor frysing fører til denaturering av proteinene som gir lavere vannbindingsevne slik at væsken slippes ved tining. Samtidig vil også iskrystaller under innfrysning og frysing punktere celleveggen til celler, slik at væske slippes ved tining (Löndahl og Nilsson, 2003). Tint kongekrabbe har under frysing i tillegg blitt oppbevart i frysere som under lagringsperioden har blitt brukt til andre formål. Temperatursvingninger under frysing kan derfor ha ført til rekrystallisering som øker sannsynligheten for punktering av celleveggene og dermed vekttap ved tining. Høyere vekttap i tinte produkter har også blitt observert i snøkrabbe av Lorentzen et al. (2019a) hvor vektendringen etter endt kjølelagring var dobbelt så stor i tinte produkter enn i ferske.

#### 4.1.2 Totalkim

Fersk og tint kongekrabbe har signifikant forskjellig totalkim etter 4 og 8 dager kjølelagring (Figur 5). For begge gruppene stiger totalkim under kjølelagring. Fersk kongekrabbe har fra og med 8 dager kjølelagring høyere totalkim enn tint, selv om forskjellen ikke er signifikant for dag 10 og dag 13. Fersk kongekrabbe har på sin siste analysedag 6,2 log CFU g<sup>-1</sup> ( $\pm 0,6$ ) mot 5,5 log CFU g<sup>-1</sup> ( $\pm 0,1$ ) hos tint kongekrabbe.



**Figur 5:** Totalkim (log CFU g<sup>-1</sup>) under kjølelagring av fersk og tint kongekrabbe. Horisontal stiplet linje indikerer deteksjonsnivået ved analysene. Ulik bokstavannotasjon markerer signifikant forskjell mellom gruppene.

Totalkim i fersk kongekrabbe stemmer overens med tidligere undersøkelser av holdbarhet gjennomført av Lorentzen et al. (2014). I deres undersøkelse hadde fersk kongekrabbe totalkim på ca. 4,9 og 6,5 log CFU g<sup>-1</sup> etter henholdsvis 8 og 13 dager kjølelagring. Til sammenligning ble det i denne oppgaven funnet totalkim på 4,4 og 6,2 CFU g<sup>-1</sup> etter henholdsvis 8 og 13 dager kjølelagring hos fersk kongekrabbe.

Undersøkelser av snøkrabbe etter 3 måneders frysing ved -20 °C avdekket en forskjell i fersk og tint snøkrabbe på rundt 2 log-enheter (Lorentzen et al., 2019a), med høyere mikrobielt nivå i fersk snøkrabbe. En forskjell på 2-3 log-enheter har også blitt observert ved undersøkelser av «blue crab» (*Portunus pelagicus*) (Subramanian, 2007) og «Jonah crab» (*Cancer borealis*) (Rebach et al., 1990). En like stor forskjell ble ikke observert i tilknytning til

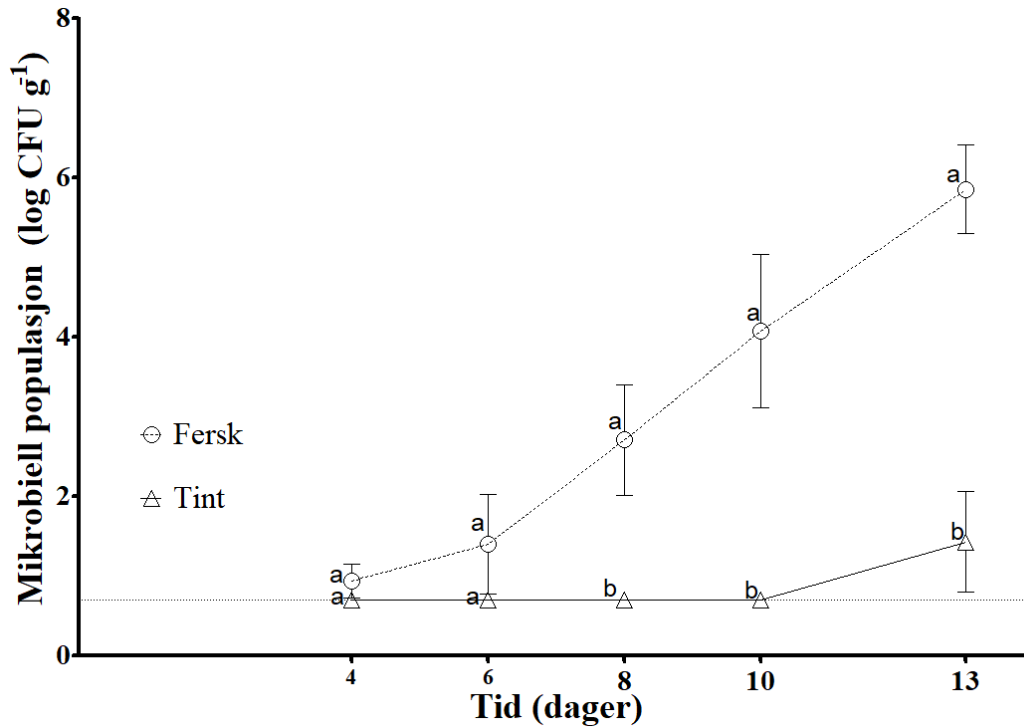
denne oppgaven hvor forskjellen mellom tint og fersk var på én log-enhet. Dette indikerer at fryselagring på  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  har en effekt på mikrofloraen til tint kongekrabbe, men ikke i like stor grad som i andre liknende arter.

Lavere totalkim i tint kongekrabbe stemmer overens med eksisterende litteratur, da det er antatt at frysing og fryselagring vil drepe og inaktivere mikroorganismer (Lynum, 2005, side 169-171). Etter tining vil det være en forlenget nølefasen hvor fryseskadete mikroorganismer vil reparere skadene, før de starter forberedning til vekst i den eksponentielle fasen. Dette blir særlig tydelig ved dag 8 da forskjellen mellom fersk og tint kongekrabbe er signifikant. Fersk kongekrabbe er allerede i eksponentiell vekstfase ved dag 8 mens tint kongekrabbe er i avslutningen av nølefasen.

Det må nevnes at betingelsene under inkubering ikke var lik for fersk og tint kongekrabbe. På grunn av en feiltakelse ble totalkim for tint kongekrabbe inkubert ved  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 4 dager istedenfor  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 8 dager. Dette ble oppdaget før planlagt analyse etter 10 dager kjølelagring. Ved mikrobiologisk uttak etter 10 og 13 dager kjølelagring ble prøvene analysert i duplikat og inkubert ved begge temperaturene. Det ble ikke observert forskjellig totalkim ved de ulike temperaturene, selv om det tok lengre tid for vekst ved  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Det antas derfor at forskjellen i inkubasjonstemperatur ikke hadde en konsekvens for totalkimet.

#### 4.1.3 *Pseudomonas* spp.

*Pseudomonas* spp. i fersk og tint kongekrabbe er signifikant forskjellig fra og med 8 dagers kjølelagring (Figur 6). Det ble først detektert *Pseudomonas* spp. i tint kongekrabbe etter 13 dager kjølelagring, med et nivå på 1,4 log CFU g<sup>-1</sup> (± 0,63). Tilsvarende har fersk kongekrabbe 5,9 log CFU g<sup>-1</sup> etter 13 dager kjølelagring.



**Figur 6:** *Pseudomonas* spp. (log CFU g<sup>-1</sup>) under kjølelagring av fersk og tint kongekrabbe. Stiplet horisontal linje indikerer deteksjonsnivået ved analysene. Ulik bokstavannotasjon markerer signifikant forskjell mellom gruppene.

Dette viser at frysning dreper og inaktiverer *Pseudomonas* spp. Deteksjon av *Pseudomonas* spp. etter 13 dager kjølelagring viser at det er tilstedeværelse av *Pseudomonas* spp. i tint kongekrabbe. Frysing har derimot ført til inaktivering eller død av *Pseudomonas* spp. til en slik grad at nivået er under deteksjonsgrensen. Lorentzen et al. (2019a) observerte tilsvarende i snøkrabbe frysning i 3 måneder ved -20 °C.

Resultatene ved bestemmelse av *Pseudomonas* spp. samsvarer med sensoriske observasjoner av lukt under lagringsforsøket. For tint kongekrabbe ble det i løpet av lagringsperioden ikke observert lukt som tilsvarte uakseptabel kvalitet. Krabbene mistet over tid sin «ferske» lukt, men det ble ikke observert lukt av en særskilt negativ karakter. For fersk kongekrabbe ble det derimot observert markant stram lukt fra clusterene etter 8 dager kjølelagring. Lukten forverret seg gjennom kjølelagringen og var ved dag 13 så ille at den

fremkalte brekninger. Observasjoner av lukt samsvarer med økt nivå av *Pseudomonas* spp. og indikerer at *Pseudomonas* spp. virker som en bedervelsesorganisme i kongekrabbe og er en god indikator på kvalitetsforringelse.

Tilsvarende som ved bestemmelse av totalkim ble ikke inkubering av prøver fra fersk og tint kongekrabbe gjennomført likt for bestemmelse av *Pseudomonas* spp. På grunn av en feiltakelse ble tint kongekrabbe inkubert ved 12 °C i 8 døgn istedenfor 20 °C i 4 døgn. I likhet med totalkim ble analyser etter 10 og 13 dager analysert i duplikat ved begge inkubasjonstemperaturene. Det ble ikke observert forskjellig nivå *Pseudomonas* spp. ved de ulike temperaturene, selv om det tok lengre tid for vekst ved 12 °C. Det antas derfor at forskjellen i inkubasjonstemperatur ikke hadde en konsekvens for antall *Pseudomonas* spp.

#### **4.1.4 Holdbarhet**

Nølefasen ved bestemmelse av totalkim varer to dager lengre i tint kongekrabbe enn hos fersk, og varer i henholdsvis 8 og 6 dager (Figur 5). Ved bestemmelse av *Pseudomonas* spp. er nølefasen betydelig lengre hos tint kongekrabbe (13 dager) enn hos fersk kongekrabbe (6 dager) (Figur 6). Lengre nølefase kombinert med ingen detektert vekst av *Pseudomonas* spp. før 13 dager kjølelagring viser at tint kongekrabbe har lengre holdbarhet sammenlignet med fersk kongekrabbe. Dette samsvarer med de sensoriske undersøkelsene av clusterene hvor dårlig lukt i fersk kongekrabbe ble observert etter 8 dager.

#### 4.1.5 Fysikalske egenskaper

Under to års fryselagring mister cluster av kongekrabbe 4,6 % av sin totale vekt (Tabell 3) og kommer mest sannsynligvis av sublimering under lagringstiden. Det var derimot forventet at skallet til kongekrabben skulle beskytte muskelen fra sublimering, men vekttapet under frysing indikerer at skallet ikke har hatt en slik beskyttende effekt. Fryseboksene har vært brukt til andre formål under fryselagingsperioden som gjør at temperaturvariasjoner i fryseboksene kan ha oppstått og dermed sublimasjon i produktet. Clusterene har heller ikke vært skjermet fra omgivelsene da de er pakket i plastposer uten vakuumering. Det er derimot usikkert hvor vekttapet under fryselagring oppstår. *Merus* er omgitt av et tykt skall og burde være beskyttet fra omgivelsene og dermed sublimering. Skulderen er i større grad åpen mot omgivelsene da det ikke er noe skall som beskytter hele massen i skulderen. Det er derfor mulig at vekttapet under frysing kommer av vektendringer i skulderen og ikke i *merus*. Det vil i fremtiden være interessant å gjennomføre undersøkelser hvor vektendringer i skulder og selve leggbenet blir overvåket separat.

**Tabell 3:** Vekttap under frysing, vanninnhold, vannbindingsevne, pH, muskeltetthet og hardhet hos fersk og tint kongekrabbe. Ulik bokstavannotasjon markerer signifikant forskjell mellom gruppene

	Fersk	Tint
Vekttap under frysing (%) *	-	4,6 ± 1,9
Vanninnhold (%)	79,3 ± 0,4 a	78,4 ± 0,7 b
Vannbindingsevne (%)	65,2 ± 2,4 a	66,9 ± 4,6 a
pH	7,0 ± 0,1 a	7,3 ± 0,1 b
Muskeltetthet (g/cm muskel)	4,8 ± 0,3 a	4,2 ± 0,7 a
Hardhet (g kraft / (g/cm muskel)	283,0 ± 30,8 a	385,3 ± 71,2 b

\* n=9

Vanninnholdet er signifikant høyere i fersk kongekrabbe med 79,3 % enn i tint med 78,4 %. Denaturering og aggregering av proteiner samt cellemembraner som punkteres av iskrystaller under frysing forårsaker væsketap ved tining og kan forklare lavere vanninnhold i tint kongekrabbe. Det ble observert store forskjeller i vektendring under tining og kjølelagring (Figur 4) som støtter opp om denne antakelsen. Det er derimot noe overraskende at den store vektendringen under tining i tint kongekrabbe ikke reflekteres i vanninnholdet. Analyse av vanninnhold ble gjort i *merus* slik at det er mulig at vektendringen opplevd i kapittel 4.1.1 ikke kan forklares av endringer i vanninnholdet i *merus*. I stedet er det mulig at vektendringen under tining oppstår i skulderen. Dette blir kun spekulasjoner, men med så stor vektendring

under tining var det forventet enda lavere vanninnhold enn det som ble observert i denne oppgaven.

Selv om forskjellen mellom tint og fersk kongekrabbe er signifikant burde det påpekes at differansen mellom gjennomsnittene kun er 0,89 %. Det observerte vanninnholdet i fersk og tint kongekrabbe skiller seg ikke vesentlig fra det som ble observert av Lorentzen et al. (2019b) i fersk kongekrabbe med et vanninnhold på 78,5 % ( $\pm 0,8$ ). Det er overraskende at det observerte vanninnholdet i tint kongekrabbe er tilsvarende det som ble observert av Lorentzen et al. (2019b) i fersk kongekrabbe. Dette indikerer at fryselagring ikke har hatt en like stor påvirkning på vanninnholdet i *merus* som det var antatt at det skulle ha.

På grunn av fryselagringen var det forventet at denaturering av proteiner skulle oppstå og dermed resultere i lavere vannbindingsevne i tint kongekrabbe enn i fersk. Tint kongekrabbe har derimot høyere vannbindingsevne med 66,9 % mot 65,2 % i fersk uten at forskjellen er signifikant. Det er vist at frysing og fryselagring fører til denaturering og aggregering av proteiner i torsk (*Gadus morhua*), spesielt ved -10 til -20 °C (Burgaard, 2010) og det forventes derfor lavere vannbindingsevne i tinte produkter. Schubring (2005) har vist at vannbindingsevnen i fryselagret torsk varierte avhengig av temperaturen under fryselagring. Lavere fryselagringstemperatur (-28 °C) ga minimale forskjeller i vannbindingsevne sammenlignet med fersk torsk, mens det ble observert tydelige forskjeller i torsk lagret på -14 °C. Det er utfordrende å trekke konklusjoner basert på undersøkelser gjennomført på torsk, men det kan indikere at lagringstemperaturen under frysing til tint kongekrabbe har vært tilstrekkelig lav slik at vannbindingsevnen ikke ble påvirket.

Det er mulig at pH i muskel kan ha påvirket vannbindingsevnen. Ved det isoelektriske punktet (pH 4,5 - 5,5) er vannbindingsevnen i muskelproteiner lavest (Lynum, 1997, side 115-116). Vannbindingsevnen vil bli lavere desto nærmere pH i muskel er dette punktet. pH i fersk kongekrabbe ble målt til 7,0 og er signifikant forskjellig fra tint kongekrabbe som har pH 7,3 og kan forklare høyere vannbindingsevne i tint kongekrabbe.

I tidligere undersøkelser på fersk kongekrabbe ble det observert pH på 7,2 og 7,3 av henholdsvis Lorentzen et al. (2019b) og Lorentzen et al. (2014). Metoden for analyse av pH i denne oppgaven er lik som i de nevnte undersøkelsene og kan ikke forklare de vesentlige forskjellene mellom undersøkelsene.

Det er mer sannsynlig at stress før prosessering kan ha bidratt til lavere pH. Fersk kongekrabbe prosessert i 2018 ble ikke akklimatisert etter transport fra Nordkapp, mens tint kongekrabbe prosessert i 2016 ble akklimatisert i 7 dager før prosessering og frysing. I pilotundersøkelse av Siikavuopio et al. (2011) ble det observert høye nivåer av laktat hos



kongekrabber som var transportert tørt på grunn av forhøyet stressnivå i krabbene. Økt stressrespons før død er forbundet med lavere pH i muskel og påvist i laks (*Salmo salar*) (Mørkøre et al., 2008). Ved tørr transport av kongekrabber vil avfallsstoffer akkumuleres i blodet og det vil ta tid for krabbene å kvitte seg med disse stoffene (Siikavuopio et al., 2011). Mangel på akklimatisering av krabbene i sjøvann kan derfor ha ført til at fersk kongekrabbe hadde høyere stressnivå og ikke fikk skilt ut avfallsstoffer. Dette vil resultere i lavere pH i muskel.

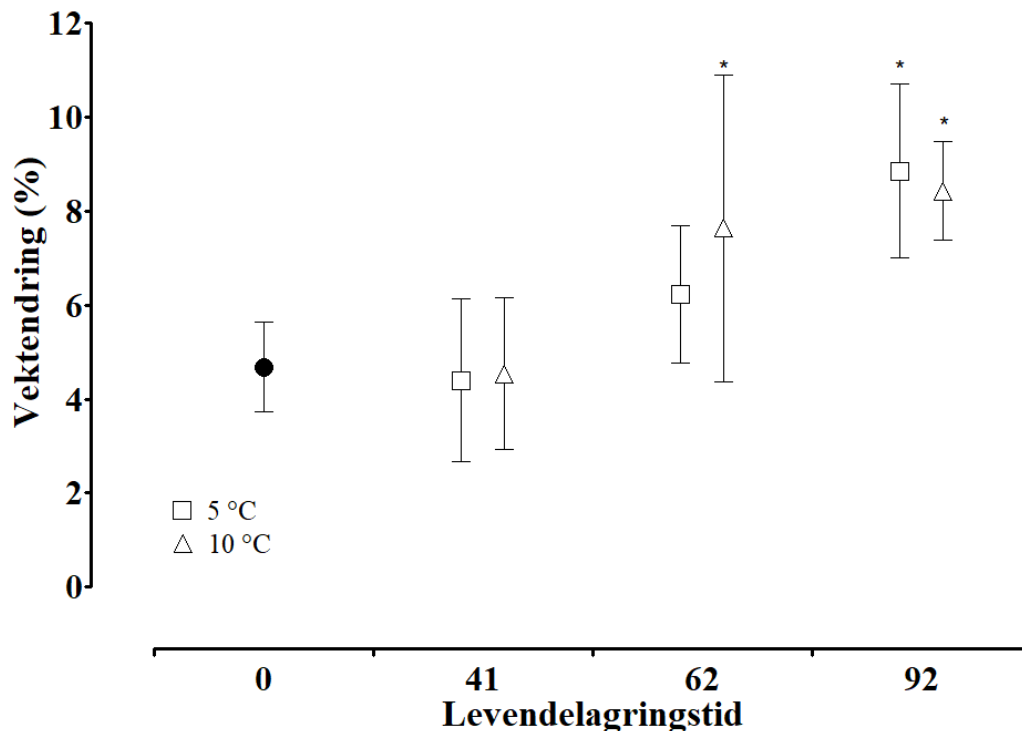
Det må påpekes at analysetidspunktet for pH og vannbindingsevne var ulikt, hvor pH ble analysert ved starten av kjølelagringen og vannbindingsevne etter en dag. pH endres gjennom kjølelagring men da det går like lang tid mellom analyse av pH og vannbindingsevne for begge gruppene blir det antatt at endring i pH ville vært lik for begge.

Muskeltettheten i fersk kongekrabbe er høyere enn i tint selv om forskjellen ikke er signifikant. Selv om muskeltettheten av muskel er høyere i fersk kongekrabbe er hardheten signifikant lavere sammenlignet med tint. Fersk kongekrabbe har en hardhet på 283,0 mens tint kongekrabbe har hardhet på 385,3. Det ville vært logisk at en høyere muskeltetthet i fersk kongekrabbe ville ført til større hardhet i fersk kongekrabbe. Det er derimot sannsynlig at denaturering og aggregering av proteiner under fryselagring fører til at tint kongekrabbe har signifikant høyere hardhet selv om tettheten er lavere.

## 4.2 Effekt av levendelagring uten fôr

### 4.2.1 Vekttap under fryselagring

Under fryselagring varierer vekttapet mellom 4,5 og 8,9 % med økende vekttap etter 62 dager levendelagring (Figur 7). Kongekrabbe levendelagret i 62 dager ved 10 °C samt begge temperaturgruppene som er levendelagret i 92 dager er signifikant forskjellig fra kongekrabbe som er levendelagret i 0 døgn. Det virker ikke å være en trend knyttet til temperaturen under levendelagring.



**Figur 7:** Vekttap under fryselagring som en funksjon av betingelsene under levendelagring før prosessering. \* indikerer gjennomsnittsverdier som er signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelagret i 0 dager.

I kapittel 4.1.5 ble det diskutert hvorvidt sublimering førte til vekttap under fryselagring og hvorvidt vekttapet oppstod i skulderen eller i *merus*.

Samtidig er det mulig at skallskifte har hatt en påvirkning på frysetapet og kan forklare forskjellene mellom gruppene. Utover levendelagringstiden ble det observert skallskifte etter 62 og 92 dager levendelagring (Lorentzen et al., 2019b). Kongekrabbe vil i tilknytning til skallskifte ha et tynnere og mykere skall (James et al., 2013; Mizuta et al., 2001) som vil være skjørt. Et tynt og skjørt skall vil ha større sannsynlighet for dannelse av sprekker og hull i

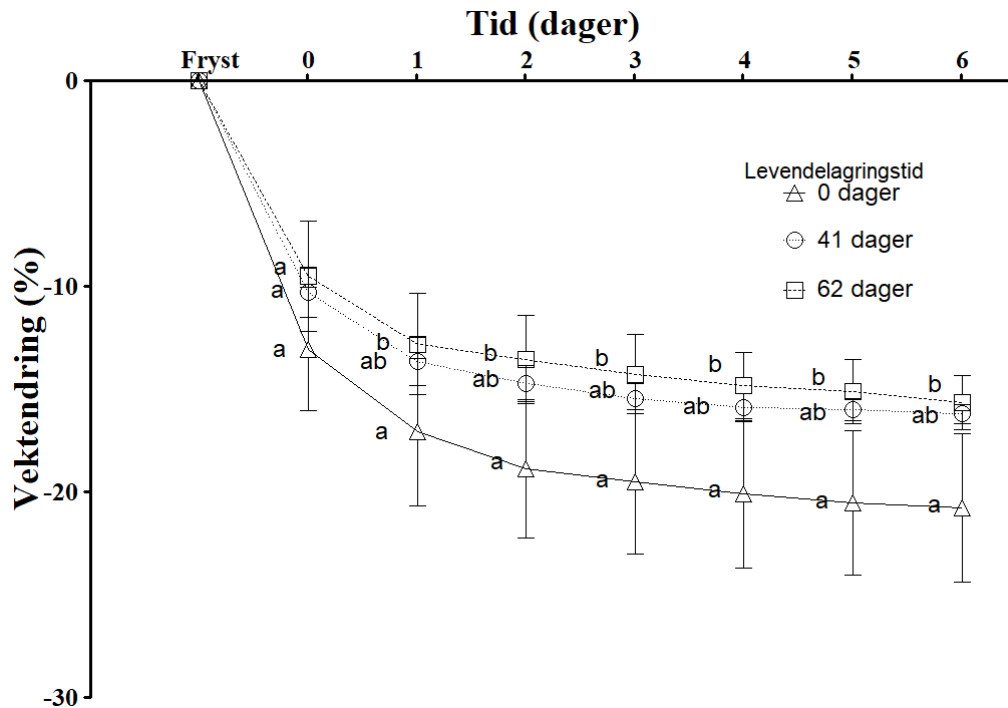
clusteret. På grunn av lavt antall individer til analyse er krabber som har gjennomgått skallskifte inkludert i utregning for vektendring under fryselaagring. Sprekker i skallet åpner opp muskelen for omgivelsene slik at sublimasjon kan oppstå. Det er dermed mulig at sublimering i *merus* har oppstått i disse gruppene, i tillegg til ellers i clusteret, og stemmer overens med økt vekttap under fryselaagring i gruppene som er signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelaagret i 0 dager.

Kjøttfylde kan også ha hatt en innvirkning på frysetapet. Gjennom levendelaagringstiden i 2016 opplevde Lorentzen et al. (2019b) lavere kjøttfylde med økt levendelaagringstid. Kongekrabbe levendelaagret i 0 og 41 dager har begge høy kjøttfylde (> 72 %). For at sublimasjon skal oppstå må luft være tilstede og med høy kjøttfylde kommer mindre luft i kontakt med muskelen. Ved lav kjøttfylde som etter 62 og 92 dagers levendelaagring (henholdsvis 67 og 49 % kjøttfylde) vil det være mer luft i kontakt med produktet. Det er mulig at lav kjøttfylde kombinert med temperaturvariasjoner i fryseboksen vil kunne gjøre at vekttapet under fryselaagring er større. Dermed kan skallet hos kongekrabber levendelaagret i 0 og 41 dager hatt en beskyttende effekt på muskelen i *merus* mens kongekrabber levendelaagret i 62 og 92 dager ikke hadde en slik effekt og opplevde større vekttap under fryselaagring.

Vekttap under fryselaagring har også blitt observert i snøkrabbe av Lorentzen et al. (2019a) hvor det ble observert 1,6 – 2 % vekttap etter 3 måneders fryselaagring.

#### **4.2.2 Vektendring under tining og kjølelaagring**

Kongekrabbe levendelaagret i 0 dager hadde den høyeste totale vektendringen ved tining og kjølelaagring og mistet 20,8 % av vekten (Figur 8). Fra og med kongekrabbene er kjølelaagret 1 døgn er kongekrabbe levendelaagret i 0 dager signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelaagret i 62 dager. Kongekrabbe som var levendelaagret i 41 dager er ikke signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelaagret i 0 og 62 dager. Total vektendring for kongekrabbe levendelaagret i 41 og 62 dager er henholdsvis 16,2 og 15,7 %. Selv om kongekrabbe levendelaagret i 41 dager ikke er signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelaagret i 0 eller 62 dager er den i større grad sammenlignbar med kongekrabbe levendelaagret i 62 dager.



**Figur 8:** Vektendring under tining og kjølelagring hos cluster med ulik levendelagringstid på 0, 41 og 62 dager ved 5 °C. Gjennomsnittsverdier med ulik bokstannotasjon er signifikant forskjellige.

Den største andelen av vekttapet oppstår ved tining, hvor gruppene mister mellom 9,5 og 13,1 % av vekten, som utgjør over halvparten av det totale vekttapet.

Det har tidligere blitt diskutert hvordan denaturering og aggregering av proteiner kan være årsaken til at tint kongekrabbe har høyere vektendring under kjølelagring (kapittel 4.1.1). Samtlige grupper i Figur 8 har vært gjennom samme fryse- og tineprosess, som indikerer at det er levendelagringen som forårsaker forskjellen mellom gruppene. Ved levendelagring av snøkrabbe uten føring er det vist at muskelsammensetningen endres (Mayrand et al., 2000). Det er derfor tenkelig at det under levendelagring av kongekrabbe også vil oppstå en endring i muskelsammensetningen. Endret muskelsammensetning kombinert med at muskelmassen erstattes med fri kroppsvæske gjør at clusterene mister væske og dermed vekt under prosessering ved økt levendelagringstid (Lorentzen et al., 2019b). Forskjellene mellom kongekrabber levendelagret i 41 og 62 dager og kongekrabbe levendelagret i 0 dager kan derfor komme av at væsketapet hos de forutnevnte gruppene allerede har funnet sted under prosessering i 2016. Etter to års fryselaagring vil derimot denaturering og aggregering av proteinene gjøre at kongekrabben ikke klarer å holde på vannet, noe som resulterer i et høyere vekttap hos kongekrabbe levendelagret i 0 dager.

### 4.2.3 Mikrobiologi

Totalkim øker gjennom kjølelagringen for samtlige grupper (Tabell 4). Kongekrabbe levendelagret i 41 dager oppnår høyest totalkim med  $5,9 \log \text{CFU g}^{-1} (\pm 1,0)$  og er noe høyere enn kongekrabbe levendelagret i 0 dager ( $5,5 \pm 0,1$ ). Kongekrabbe som ble levendelagret i 62 og 92 dager har lavere totalkim med henholdsvis  $3,9 (\pm 1,1)$  og  $2,8 \log \text{CFU g}^{-1} (\pm 1,8)$  etter 13 dager. Det var ingen signifikant forskjell i totalkim for noen av analysedagene. Dette på tross av tidvise forskjeller på over 2,5 log enheter. Dette kommer i all hovedsak av store individuelle forskjeller innad i gruppene som vises i tidvis store standardavvik. Samtidig er det et lavt antall individer per analysedag som svekker de statistiske analysene.

**Tabell 4:** Totalkim og totalt antall *Pseudomonas* spp. ( $\log \text{CFU g}^{-1} \pm$  standardavvik) under kjølelagring ved ulike levendelagringstid på 5 °C. Ulik bokstavannotasjon indikerer signifikant forskjell.

Totalkim	Kjølelagringstid				
	4	6	8	10	13
0 dager *	$2,0 \pm 0,4a$	$1,7 \pm 0,6a$	$2,5 \pm 0,6a$	$4,4 \pm 0,2a$	$5,5 \pm 0,1a$
41 dager	$1,1 \pm 0,6a$	$1,5 \pm 1,4a$	$2,8 \pm 1,0a$	$4,9 \pm 0,8a$	$5,9 \pm 1,0a$
62 dager	$1,8 \pm 0,8a$	$1,3 \pm 0,9a$	$1,9 \pm 1,1a$	$2,0 \pm 2,2a$	$3,9 \pm 1,1a$
92 dager	$0,7 \pm 0,0a$	$1,2 \pm 0,8a$	$1,8 \pm 0,2a$	$1,4 \pm 0,9a$	$2,8 \pm 1,8a$
<i>Pseudomonas</i> spp.					
	4	6	8	10	13
0 dager *	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$1,4 \pm 0,6a$
41 dager	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$1,6 \pm 0,9a$	$4,9 \pm 0,7b$	$5,6 \pm 0,2b$
62 dager	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$
92 dager	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$	$0,7 \pm 0,0a$

\* Har ikke samme inkuberings- tid og temperatur som de resterende gruppene.

På grunn av de store standardavvikene og mangel på signifikante forskjeller blir det utfordrende å diskutere hvilken effekt levendelagringstid har på vekst av mikroorganismer etter frysing. Det kan påpekes at kongekrabbe levendelagret i 0 og 41 dager skiller seg betraktelig fra kongekrabbe levendelagret i 62 og 92 dager, selv om forskjellene ikke er signifikant. Ved levendelagring uten fôr vil kjøttfylde bli mindre gjennom levendelagringstiden (Lorentzen et al., 2019b) og det er dermed antatt at muskelsammensetningen endres. Det er tenkelig at kongekrabben etter lang tids levendelagring har brukt opp en svært stor andel frie energigivende næringsstoffer for å opprettholde

metabolismen. Det er mulig at disse næringsstoffene ikke er brukt opp i kongekrabber levendelagret i 0 og 41 dager som gir et bedre grunnlag for vekst av mikroorganismer. Det ville vært interessant å gjennomføre analyse av lavmolekylære energigivende forbindelser for å se om dette er tilfellet. Uavhengig av dette gjør antall individer per analysedag det utfordrende å trekke konklusjoner og det vil være hensiktsmessig med flere individer i framtidige analyser.

Hos kongekrabbe levendelagret i 0 dager ble det først registrert vekst av *Pseudomonas* spp. etter 13 dager kjølelagring med  $1,4 \log \text{CFU g}^{-1} (\pm 0,6)$  (Tabell 4). Det ble ikke registrert vekst av *Pseudomonas* spp. hos kongekrabbe levendelagret i 62 og 92 dager. Kongekrabbe som ble levendelagret i 41 dager har vekst av *Pseudomonas* spp. etter 8 dager og stiger videre gjennom kjølelagring med en endelig populasjon på  $5,6 (\pm 0,2)$  og er signifikant forskjellig fra de resterende gruppene etter 10 og 13 dager kjølelagring.

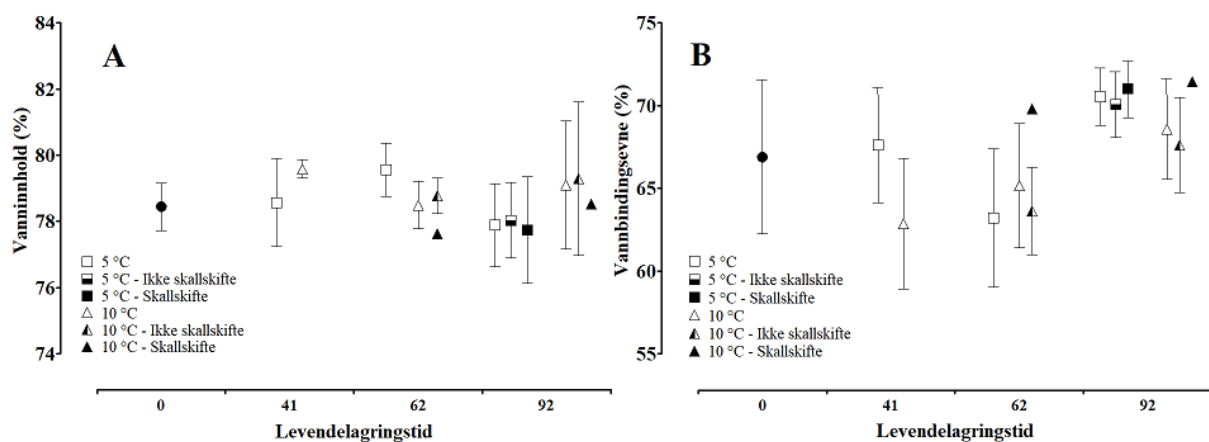
Kongekrabbe levendelagret i 0, 62 og 92 dager støtter opp om fryselaagringens effekt på *Pseudomonas* spp. Som nevnt i kapittel 4.1.3 stemmer dette også overens med eksisterende litteratur og undersøkelser. Det er derfor overraskende med en så stor vekst av *Pseudomonas* spp. i kongekrabbe som var levendelagret i 41 dager. Prosessering, frysing og fryselaagring skal ha vært gjennomført likt for samtlige grupper. Fryseboksene har vært stilt inn på  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  og er utstyrt med sensorer som varsler om langvarige temperaturøkninger, uten at slike varsler har oppstått.

Det er mulig at kongekrabbe levendelagret i 41 dager har hatt annerledes forhold under fryselaagringen som gjør at *Pseudomonas* spp. ikke blir drept eller slått ut. Eventuelt kan det være biokjemiske endringer eller dannelsen av stoffer i muskelmassen som beskytter *Pseudomonas* spp. En slik analyse av muskelmassen ble ikke gjennomført i denne oppgaven og gjør det utfordrende å trekke slutninger. Det er knyttet stor usikkerhet til dette og det vil være interessant å se resultater fra liknende undersøkelser i fremtiden.

Sensoriske observasjoner under laagringsforsøket samsvarer med nivået *Pseudomonas* spp. Kongekrabber levendelagret i 41 dager hadde lukt som tilsvarte uakseptabel kvalitet etter 10 dager. Det ble ikke observert lukt av en slik karakter i kongekrabber levendelagret i 0, 62 og 92 dager.

#### 4.2.4 Vanninnhold og vannbindingsevne

Vanninnholdet varierer mellom 77,9 og 79,6 % (Figur 9, A) og er lavere enn det som ble observert i ferske cluster som varierte mellom 80,5 - 82,8 % gjennom levendelagringstiden (Lorentzen et al., 2019b). Mulige årsaker til lavere vanninnhold i tinte produkter er gjort rede for i kapittel 4.1.1. Det er derimot ingen grupper som er signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelagret i 0 dager. Det har tidligere blitt observert økt vanninnhold i ferske snøkrabber som har gjennomgått skallskifte (Mizuta et al., 2001), men en slik forskjell i kongekrabber som var gått gjennom skallskifte ble ikke observert her.



**Figur 9:** Vanninnhold (A) og vannbindingsevne (B) (%) ved ulike levendelagringstider og levendelagringstemperaturer.

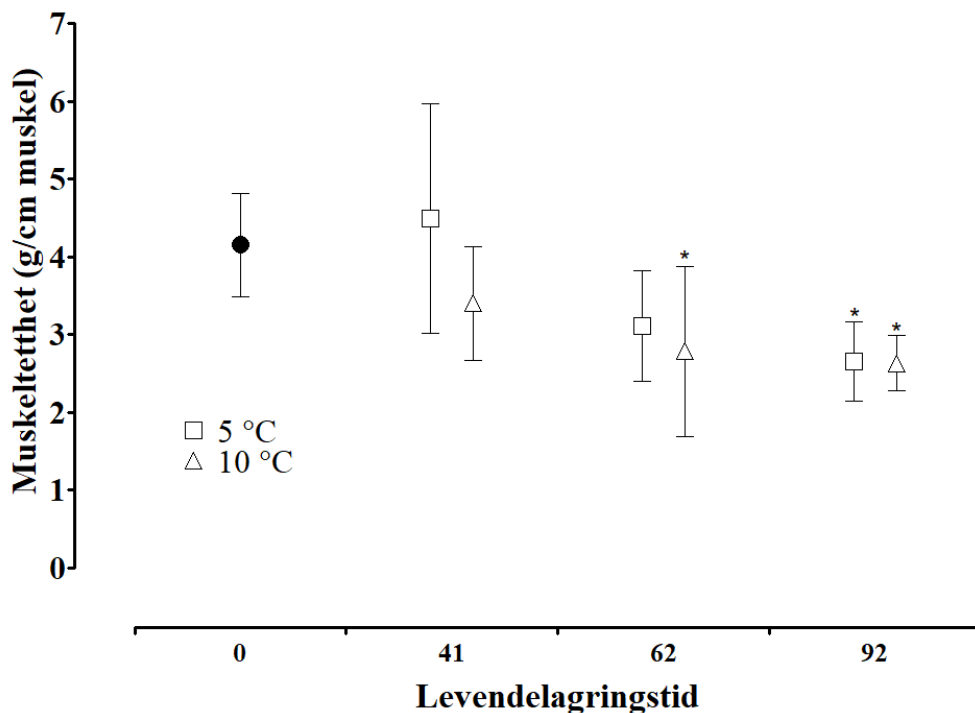
Det er ingen signifikante forskjeller i vannbindingsevne mellom gruppene og kongekrabbe levendelagret i 0 dager (Figur 9, B). Det er derimot interessant å merke seg at krabber som har gjennomgått skallskifte har høy vannbindingsevne, sammenlignet med krabber som ikke har gått gjennom skallskifte ved lik levendelagringstid og -temperatur. Ved skallskifte absorberes vann og saliniteten i den frie kroppsvæsken øker (Mizuta et al., 2001). Økt salinitet vil øke vannbindingsevnen i muskelen (Lynum, 1997, side 117-119). Dette kan indikere at krabber som har gjennomgått skallskifte vil ha høyere vannbindingsevne. Økt nivå av salt i muskel har tidligere vært knyttet til økt vannbindingsevne i torsk (Thorarinsdottir et al., 2002).

Det må her nevnes at kongekrabber levendelagret i 62 og 92 dager ved 10 °C som har gått gjennom skallskifte hadde så lav kjøttfylde at det ikke var mulig å analysere individene hver for seg. Analyse av disse gruppene ble derfor gjennomført med en samleprøve av flere individer. Samleprøven vil gi et bilde av den gjennomsnittlige vannbindingsevnen men vil ikke

kunne si noe om variasjonen mellom individene. Videre fører mangelen på råstoff til at statistiske analyser blir svak ved sammenligning av gruppene.

#### 4.2.5 Muskeltetthet

Muskeltetthet i fryselauret kongekrabbe med ulik levendelagringstid og -temperatur varierte mellom 2,3 og 4,5 g/cm (Figur 10). Kongekrabbe levendelauret i 41 dager ved 5 °C hadde den høyeste muskeltettheten men var ikke signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelauret i 0 dager. På tross av dette ble det observert lavere muskeltetthet avhengig av lengden på levendelagring uten føring. Kongekrabbe levendelauret i 62 dager ved 10 °C og begge temperaturgruppene ved 92 dager levendelagring har signifikant lavere muskeltetthet enn kongekrabbe levendelauret i 0 dager.



**Figur 10:** Muskeltetthet (g/cm muskel) i *merus* ved ulik levendelagringstid og levendelagringstemperatur. \* indikerer gjennomsnittsverdier som er signifikant forskjellig fra kongekrabbe levendelauret i 0 dager.

Lorentzen et al. (2019b) observert lavere kjøttfylde ved økt levendelagringstid og det ble antatt at tapt muskelmasse ble kompensert med fri kroppsvæske i muskelen som gikk tapt under prosessering. Ved å kompensere tapt muskelmasse med fri kroppsvæske som dreneres ut under prosessering er det ikke overraskende at krabber med lang levendelagringstid har lavere muskeltetthet. Vekten i muskelen vil da bli lavere samtidig som lengden fortsatt er lik. Samtidig

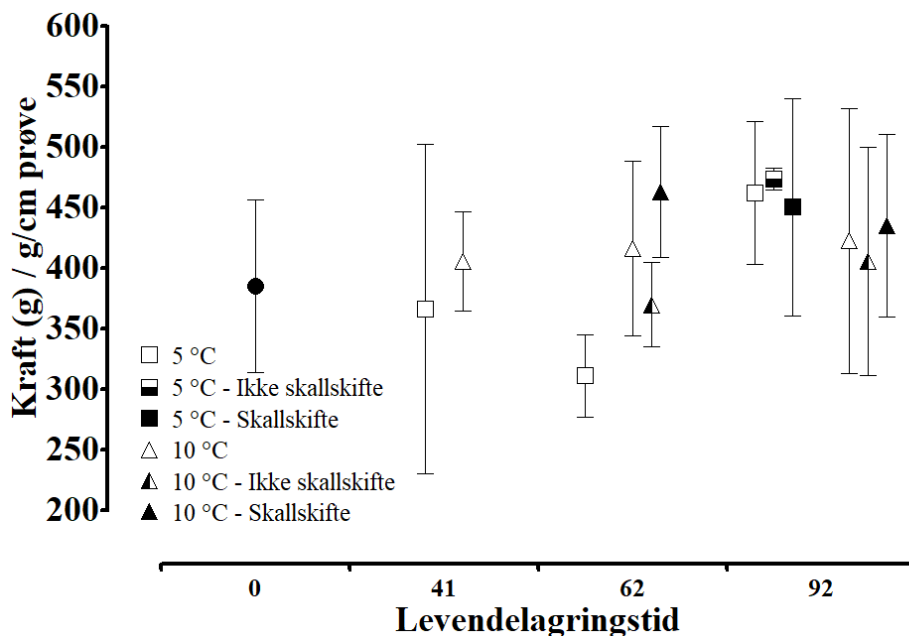


har Mayrand et al. (2000) og Mykles & Skinner et al. (1990) observert at antall muskelceller under levendelagring uten fôring vil minke i snøkrabbe levendelagring uten fôr. Dette vil resultere i lavere muskeltetthet, som også observeres i Figur 10.

Det har tidligere blitt observert høyere metabolisme i kongekrabbe ved levendelagring på 10 °C enn ved 4 °C (Siikavuopio & James, 2015). Økt metabolisme vil gi større energibehov og dermed mer vekt som må erstattes av fri kroppsvæske. Resultatene i Figur 10 støtter opp om dette da kongekrabbe som var levendelagret ved 10 °C har lavere muskeltetthet sammenlignet med de som var levendelagret ved 5 °C. Forskjellene er ikke signifikante for noen av gruppene, men indikerer at økt metabolisme under levendelagring vil gi lavere muskeltetthet.

#### 4.2.6 Hardhet

Det er en tendens til økende hardhet ved lengre levendelagringstid men de individuelle variasjonene er svært store som synliggjøres med store standardavvik (Figur 11). De store variasjonene kombinert med få antall individer for hver gruppe gjør at ingen grupper er signifikant forskjellige fra kongekrabbe levendelagret i 0 dager.

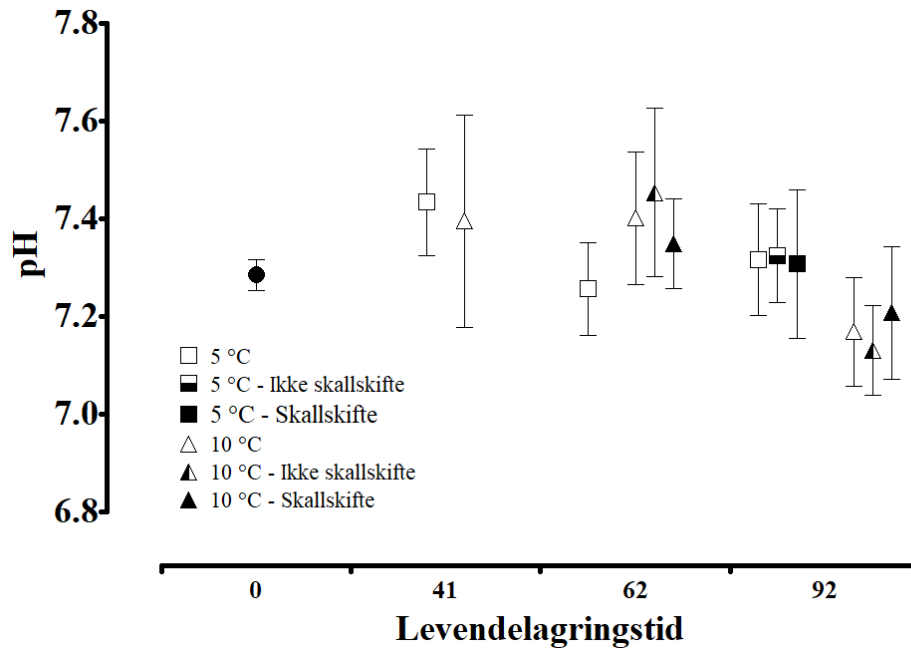


**Figur 11:** Hardhet ved ulike levendelagringstid og levendelagringstemperatur.

Det er overraskende at hardheten har en tendens til å øke ved lengre levendelagringstid. I kapittel 4.2.5 ble det vist at det var signifikant lavere muskeltetthet ved lengre levendelagringstid. Lav tetthet burde resultert i lav hardhet. Det er derimot mulig metoden for å beregne hardhet i kongekrabbe kunne vært forbedret. Ulik muskelhøyde i råstoffet gjorde det nødvendig å ta høyde for dette ved utregning av hardhet, da større muskelhøyde vil kreve større kraft for å nå 50 % ned i prøven. De store standardavvikene tyder på at prøveoppsettet ikke er optimalt eller at det er svært store individuelle variasjoner i gruppene. Det ville vært ønskelig med høyere antall individer for analyse, samtidig som det burde evalueres om det er en bedre metode for utregning av hardhet. Metode for teksturanalyse av kongekrabbe er enda ikke beskrevet og det er mulig forskjeller mellom gruppene kunne vært observert ved valg av bedre analysemetode.

#### 4.2.7 pH

Det er ingen gruppe som har signifikant forskjellig pH sammenlignet med kongekrabbe levendelagret i 0 dager (Figur 12). Det virker heller ikke å være en overordnet trend knyttet til levendelagringstid, levendelagringstemperatur eller skallskifte.



**Figur 12:** pH ved ulike levendelagringstid og levendelagringstemperatur.

I fersk prosessert kongekrabbe observerte Lorentzen et al. (2019b) en økning i pH ved økt levendelagringstid. Denne trenden ble ikke observert ved analyse på tint kongekrabbe. Det skal nevnes at kongekrabbe levendelagret i 0 dager ble analysert like etter tinetidspunktet mens de resterende gruppene ble analysert for pH to dager etter tinetidspunkt på grunn av manglende råstoff. Dette gjør det utfordrende å sammenligne gruppene med kongekrabbe levendelagret i 0 dager da det antas at pH i muskel vil endres over tid. Endret pH i muskel ved kjølelagring er tidligere observert av Lorentzen et al. (2014). Det ble da observert en økning i pH fra 7,3 til 7,8 gjennom kjølelagringstiden på 14 dager.

Selv med ulikt analysetidspunkt er det ingen grupper som er signifikant forskjellige fra kongekrabbe levendelagret i 0 dager. Som ved analyse av vanninnhold og vannbindingsevne kommer dette av få individer per gruppe kombinert med store variasjoner som svekker de statistiske analysene.

#### 4.2.8 Effekt av levedelagringstid og levedelagringstemperatur

For å undersøke om effekten av levedelagringstid, levedelagringstemperatur og interaksjonen mellom disse faktorene kan forklare forskjeller i vanninnhold, vannbindingsevne, pH og hardhet ble faktorial ANOVA gjennomført.

**Tabell 5:** Faktorial ANOVA for vanninnhold, vannbindingsevne, pH og hardhet. Levedelagringstid og -temperatur ble ansett som kategoriske faktorer i ANOVA modellen.

	Faktor	df.	SS	p-verdi
Vanninnhold	Tid	2	1,7	0,577
	Temperatur	1	0,8	0,474
	Tid x Temperatur	2	5,9	0,172
	Error	17	25,7	
Vannbindingsevne	Tid	2	133,76	<b>0,008</b>
	Temperatur	1	13,46	0,270
	Tid x Temperatur	2	36,68	0,199
	Error	17	175,65	
pH	Tid	2	0,152	<b>0,026</b>
	Temperatur	1	0,004	0,650
	Tid x Temperatur	2	0,126	<b>0,0441</b>
	Error	21	0,365	
Hardhet	Tid	2	33684	0,120
	Temperatur	1	7552	0,316
	Tid x Temperatur	2	26585	0,180
	Error	22	157767	

*Anmerkning.* df., degrees of freedom; SS, Sum of Squares.

Levedelagringstemperaturen er ikke signifikant for noen av variablene. Faktoren tid er signifikant for vannbindingsevne (Tabell 5). Det har tidligere blitt stipulert at vannbindingsevnen er høyere etter skallskifte. I faktorial ANOVA er ikke skallskifte tatt med som en egen faktor og individer som har gjennomgått skallskifte inngår i deres respektive levedelagringstid og -temperatur. Dette kan være med å forklare hvorfor faktoren tid signifikant forklarer endringer i vannbindingsevne.

Faktoren tid er også signifikant for pH. Dette er noe overraskende da det på bakgrunn av Figur 12 ikke synes å være noen overordnede trender, verken med tanke på tid eller skallskifte. Interaksjonen mellom tid og temperatur er også signifikant for pH.

Lorentzen et al. (2019b) observerte at vanninnholdet i kongekrabbe ble signifikant påvirket av levedelagringstiden, noe som ikke ble observert i denne oppgaven. På grunn av

ulik metodikk ved analyse av vannbindingsevne er det ikke mulig å sammenligne resultatene i denne oppgaven med Lorentzen et al. (2019b).

På grunn minkende kjøttfylde ved lang tids levendelagring av kongekrabbe (Lorentzen et al., 2019b) ble det antatt at det også ville oppstå fysiske endringer i muskelen som hos snøkrabbe (Mayrand et al., 2000). Det var også antatt at disse forskjellene fortsatt ville være tilstede etter frysing. Det var derfor overraskende at det ble avdekket få forskjeller mellom gruppene og at forskjeller mellom gruppene i så liten grad kunne forklare av levendelagringstid og -temperaturen. Det er mulig at frysing fører til at forskjeller observert av Lorentzen et al. (2019b) forsvinner og at det ikke er noen forskjeller mellom gruppene. Eventuelt blir antallet individer i datagrunnlaget begrenset, slik at usikkerheten blir for stor. Et lavt antall individer ved faktorial ANOVA svekker undersøkelsen og muligheten for å få signifikante resultater senkes.

## 5. Betraktninger for industrien og oppgavens begrensning

En dypere forståelse av eventuelle forskjeller mellom fryst og fersk prosessert kongekrabbe vil gjøre det lettere for industrien å forstå konsekvensene av å selge prosesserte cluster av kongekrabbe fersk eller fryst.

For industrien vil økt holdbarhet i tint kongekrabbe sammenlignet med fersk være positivt ved salg og konsum. Økt holdbarhet er i seg selv en fordel i tint kongekrabbe, men evnen til å fryselaagre den over lengre tid kan være like verdifullt. Cluster av kongekrabbe blir eksportert over store avstander, slik at salg av frysede cluster vil være hensiktsmessig all den tid fersk kongekrabbe kun har holdbarhet et fåtall dager etter prosessering. De største markedene for norsk kongekrabbe, Sør-Korea og USA, krever lang frakt slik at det er mer hensiktsmessig med frysede cluster av kongekrabbe, istedenfor ferske. Fryselagring vil også gi muligheten for produsentene å velge salgstidspunkt og kan dermed selge på tidspunkt med høyere priser. Fersk kongekrabbe må på sin side bli solgt og transportert umiddelbart etter prosessering. Vekttap under frysing og ved tining, kombinert med hardere tekstur i tint kongekrabbe er ikke ønskelig. Uavhengig av disse negative aspektene gjør distansen knyttet til frakt at holdbarheten blir viktigere. Dette gjenspeiler også eksporttallene da knapt 2 % av eksporten av prosesserte cluster er ferske (Norges Sjømatråd, 2019a). Knyttet til levendelagring er det begrenset med betraktninger som er relevante for industrien avdekket av denne oppgaven. Det vil uansett ikke anbefales å levendelagre kongekrabbe uten fôr i mer enn 41 dager da det fører til lav kjøttfylde som ikke er akseptabelt i markedet.

Effekt av frysing på kvalitetsegenskaper i cluster av kongekrabbe er i så måte gjort rede for, men det ville vært hensiktsmessig med et større antall individer for å ha større sikkerhet i målingene.

Hvilken effekt levendelagring har på fryselagret kongekrabbe er mer utfordrende å stadfeste. Manglende råstoff er den største begrensende faktoren knyttet til undersøkelse av effekt av levendelagring etter fryselagring. Analysene gjennomført i denne oppgaven indikerer at forskjellene mellom gruppene er små, samtidig som det er store individuelle forskjeller innad i gruppene. Det er fullt mulig at det ikke er noen forskjell mellom gruppene men selv det blir utfordrende å stadfeste med lavt antall individer i hver gruppe. Med flere individer per analyse vil mye av støyen og usikkerheten knyttet til analysene forsvinne. Det er først da det kan stadfestes hvorvidt langvarig levendelagring uten fôring etterfulgt av prosessering og fryselagring er en hensiktsmessig framgangsmåte for industrien. Mangel på råstoff fører også

til at færre analyser kan gjennomføres. Det er fullt mulig at forskjeller eller mangel på forskjeller i denne oppgaven kunne vært forklart ved å gjennomføre andre analyser.

## 6. Konklusjon

Under langvarig fryselagring mister cluster av kokt kongekrabbe vekt. Samtidig er vekttapet ved tining og kjølelagring betydelig større i tint kongekrabbe sammenlignet med fersk kongekrabbe. Fryseprosessen vil føre til et stort vekttap knyttet til tining og vil også føre til et hardere produkt. Det endelige totalvolumet var sammenlignbart for tint og fersk kongekrabbe men nølefasen var to dager lengre i tint kongekrabbe. Det ble heller ikke detektert *Pseudomonas* spp. i tint kongekrabbe før etter 13 dager kjølelagring og den lave veksten av *Pseudomonas* spp. ga et produkt som ikke hadde ille-luktende lukt gjennom kjølelagringen. Lengre nølefase kombinert med lav til ingen vekst av *Pseudomonas* spp. gjør at tint kongekrabbe har lengre holdbarhet enn fersk.

Ved undersøkelse av hvilken effekt levendelagring hadde på kokte cluster av kongekrabbe etter fryselagring, gjorde det begrensede råstoffet det utfordrende å trekke slutninger. Det vil derfor i videre undersøkelser være hensiktsmessig med et høyere antall individer per analyse for å kunne undersøke effekten av levendelagring. Samtidig var en del av krabbene ved slutten av levendelagringstiden gått inn i skallskifte, noe som gjør det urimelig å sammenligne egenskapene direkte med krabber som ikke er i denne fasen. Det vil likevel ikke anbefales å levendelagre kongekrabbe uten fôr i mer enn 41 dager på grunn av lav kjøttfylde ved lengre levendelagringstid, som ikke vil være akseptabelt i markedet.



## 7. Referanser

- Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T. & Takai, R. (2007). Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, 80(1), 292-299.
- Borgstrom, G. (1975). Freezing. I: Borgstrom, G. (Red.), *Principles of Food Science. Volume I. Food Technology*, (206-241). Toronto, Ontario, Canada: The Macmillan Company.
- Burgaard, M. G. (2010). Effect of frozen storage temperature on quality-related changes in fish muscle. Changes in physical, chemical and biochemical quality indicators during short- and longterm Storage. Doktorgradsavhandling. DTU Food. National Food Institute, Løbenhavn, Danmark.
- Christiansen, J. S., Sparboe, M., Sæther B. S. & Siikavuopio, S. I. (2015). Thermal behaviour and the prospect spread of an invasive benthic top predator onto the Euro-Arctic shelves. *Diversity and Distributions*, 21, 1004-1013.
- Donaldson, W. E. & Byersdorfer, S. (2014). Anatomy of King Crabs. I: Stevens, B. G. (Red.), *King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management* (73-80). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Finnmark fylkeskommune (2011). *Fiskeri- og havbruksstrategier for Finnmark 2011-2014. Et hav av kvalitet*. Vadsø, Norge: Finnmark Fylke.
- Fiskeridirektoratet (2019). *Kongekrabbe (for yrkesfiskere)*. Hentet 04.04.19 fra: <https://www.fiskeridir.no/Yrkesfiske/Tema/Kongekrabbe>
- Fukuhara, F. M. (1985). Biology and Fishery of Southeastern Bering Sea Red King Crab (*Paralithodes camtschatica*, Tilesius). *NWAFRC Processed Report 85-11*.
- Gram, L. & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 121-137.
- James, P., Vasiliyev, R., Siikavuopio, S., Kovatcheva, N., Samuelson, T. A., Mundheim, H., & Carlehög, M. (2013). The effects of varying the percentage of herring versus salmon protein in manufactured diets on the survival, meat content, hepatosomatic index and meat sensory quality of adult red king crab *Paralithodes camtschaticus* held in captivity. *Aquaculture*, 416-417, 390-395.

- Jørgensen, L. L. & Nilssen, E. M. (2011). The Invasive History, Impact and Management of the Red King Crab *Paralithodes camtschaticus* off the Coast of Norway. I: Galil, B. S., Clark, P. F. & Carlton, J. T. (Red.), *In the Wrong Place – Alien Marine Crustaceans: Distribution, Biology and Impacts*, (521-536). Dordrecht: Springer.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T. & Kolsaker, K. (2011). Superchilling of food: A review. *Journal of Food Engineering*, 107, 141-146.
- Lian, F., Måge, I., Lorentzen, G., Siikavuopio, S. I., Øverbø, K., Vang, B. et al. (2018). Exploring the effect of inhibitors, cooking and freezing on melanosis in snow crab (*Chionoecetes opilio*) clusters. *Food Control*, 92, 255-266.
- Lorentzen, G., Skuland, A. V., Sone, I., Johansen, J. O. & Rotabakk, B. T. (2014). Determination of the shelf life of cluster of the red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) during chilled storage. *Food Control*, 42, 207-213.
- Lorentzen, G., Rotabakk, B. T., Olsen, S. H., Skuland, A. V. & Siikavuopio, S. I. (2016). Shelf life of snow crab clusters (*Chionoecetes opilio*) stored at 0 and 4 °C. *Food Control*, 59, 454-460.
- Lorentzen, G., Voldnes, G., Withaker, R. D., Kvalvik, I., Vang, B., Solstad, R. G., Thomassen, M. R. & Siikavuopio, S. I. (2017). Current Status of the Red King Crab (*Paralithodes camtschaticus*) and Snow Crab (*Chionoecetes opilio*) Industries in Norway. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 26(1), 42-54.
- Lorentzen, G., Lian, F., Røhme, A. A., Johannessen, E., Grastveit, K. V., Grip, A. E. & Siikavuopio, S. I. (2019a). Effect of freezing-thawing on weight loss, melanosis, and microbial growth in mildly cooked snow crab (*Chionoecetes opilio*) clusters. *Food Science and Technology*, 108, 283-288.
- Lorentzen, G., Lian, F., Siikavuopio, S. I. (2019b). Quality parameters of processed clusters of red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) – Effects of live holding at 5 and 10 °C up to 92 days without feeding. *Food Control*, 95, 142-149.
- Lynum, L. (1997). *Fisk som råstoff: Holdbarhet og kvalitetssikring* (2. utgave) Trondheim: Tapir Forlag.
- Lynum, L. (2005). *Videreforedling av fisk*. Trondheim: Tapir Akademiske Forlag.

- Löndahl, G. (1991). Freezing of crustaceans and mollusks. *Infofish International*, 3, 53-56.
- Löndahl, G. & Nilsson, T. (2003). Freezing. Storage of Frozen Foods. I: Caballero, B. (Red.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)* (2732-2735). Baltimore, Maryland, USA: Academic Press.
- Mackie, I. M. (1993). The effects of freezing on flesh proteins. *Food Reviews International*, 9(4), 575-610.
- Maynard, D. (1960). Circulation and Heart Function. I: Waterman, T. H. (Red.), *The Physiology of Crustacea. Vol. 1.* (161-226). New York: Academic Press.
- Mayrand, E., Dutil, J. D. & Guderley, H. (2000). Changes in muscle of postmoult snow crabs *Chionoecetes opilio* (O. Fabricius) fed different rations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 243, 95-113.
- McCaughran, D. A. & Powell, G. C. (1977). Growth model for Alaska king crab (*Paralithodes camtschatica*). *Journal of Fisheries Research Board of Canada*, 34(7), 989-995.
- McLaughlin, P. A. (2014). Systematics of King Crab. I: Stevens, B. G. (Red.), *King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management* (31-46). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Mizuta, S., Kobayashi, Y., & Yoshinaka, R. (2001). Chemical and histological characterization of raw muscle from soft and hard crabs of snow crab *Chionoecetes opilio*. *Journal of Food Science*, 66(2), 238-241.
- Mykles, D. L. & Skinner, D. M. (1990) Atrophy of Crustacean Somatic Muscle and the Proteinases That Do the Job. A Review. *Journal of Crustacean Biology*, 10(4), 577-594.
- Mørkøre, T., Mazo, P. I., Tahirovic, V. & Einen, O. (2008). Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L). *Aquaculture*, 277, 231-238.
- Nilssen, E. M. & Sundet, J. H. (2006). The introduced species red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) in the Barents Sea II. Growth increments and moulting probability. *Fisheries Research*, 82, 319-326.
- Norges Sjømatråd (2019a). *Nøkkeltall*. Hentet 04.04.19 fra: <https://nokkeltall.seafood.no/>
- Norges Sjømatråd. (2019b). *Sjømateksport for 99 milliarder i 2018*. Hentet 04.04.19 fra: <https://seafood.no/aktuelt/nyheter/sjotateksport-for-99-milliarder-i-2018-/>

- Orlov, Y. I. & Ivanov, B. G. (1978). On the introduction of the Kamchatka king crab *Paralithodes camtschatica* (Decapoda: Anomura: Lithodidae) into the Barents Sea. *Marine Biology*, 48, 373-375.
- Pinchukov, M. A. & Sundet, J. H. (2011). Red king crab. I: Jacobsen, T. & Ozhigin, V. K. (Red.), *The Barents Sea: Ecosystem, resources, management: Half a century of Russian–Norwegian cooperation* (160-166). Trondheim, Tapir Academic Press.
- Rebach, S., Stribling, J. & Wilber, M. (1990). Frozen storage quality changes in whole Jonah crabs. *Journal of Food Quality*, 13(3), 203-208.
- Sahagian, M. E. & Goff, H. D. (1996). Fundamental Aspects of the Freezing Process. I: Jeremiah, L. E. (Red.), *Freezing Effects on Food Quality*, (1-50). New York: Marcel Dekker.
- Schubring, R. (2005). Changes in texture, water holding capacity, colour and thermal stability of frozen cod (*Gadus morhua*) fillets: Effect of frozen storage temperature. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 101(11), 484-493.
- Siikavuopio, S. I. & James, P. (2015). Effects of temperature on feed intake, growth and oxygen consumption in adult male king crab *Paralithodes camtschaticus* held in captivity and fed manufactured diets. *Aquaculture Research*, 46, 602-608.
- Siikavuopio, S. I., James, P., Midling, K. Ø. & Evensen, T. H. (2011). Fangst, mellomlagring, vedlikeholdsfôring og transport av levende kongekrabbe. *Nofima rapport 47/2011*. Utgitt desember 2011.
- Siikavuopio, S. I., James, P., Mortensen, A., Olsen, B. R., Midling, K. Ø. & Evensen, T. (2014). Forbedring av miljøbetingelsene ved levendelagring av kongekrabbe. *Nofima rapport 18/2004* Utgitt februar 2014.
- Skipnes, D., Østby, M. L., & Handrickx, M. E. (2007). A method for characterising cook loss and water holding capacity in heat treated cod (*Gadus morhua*) muscle. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 51-58.
- Stevens, B. G. & Jewett, S. C. (2014). Growth, Molting, and Feeding of King Crabs. I: Stevens, B. G. (Red.), *King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management* (315-362). Boca Raton, FL: CRC Press.

- Stevens, B. G. & Lovrich, G. A. (2014). King Crabs of the World: Species and Distributions. I: Stevens, B. G. (Red.), *King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management* (1-30). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Stoner, A. W., Ottmar, M. L. & Copeman, L. A. (2010). Temperature effects on the molting, growth, and lipid composition of newly-settled red king crab. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 393, 138-147
- Subramanian, T. A. (2007). Effect of processing on bacterial population of cuttle fish and crab and determination of bacterial spoilage and rancidity developing on frozen storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 31(5), 345-350.
- Sundet, J. H. (2014). Red King Crab in the Barents Sea. I: Stevens, B. G. (Red.), *King Crabs of the World: Biology and Fisheries Management* (485-500). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Sundet, J. H. (2018). Kongekrabbe. I: Bakketeig I. E., Hauge, M. & Kvamme, C. (Red). *Havforskningsrapporten 2017. Ressurser og miljø langs kysten og i havet. Fisken og havet, særnummer I.* (side 42). 2017.
- Sundet, J. H. & Hoel A. H. (2016). The Norwegian management of an introduced species: The Arctic red king crab fishery. *Marine Policy*, 72, 278-284.
- Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., Geirsdottir, M., Bogason, S. G. & Kristbergsson, K. (2002). Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77(3), 377–385.
- Venugopal, V. (2006). Nutritional value and processing effects. I: Venugopal, V. (Red.), *Seafood Processing: Adding Value Through Quick Freezing, Retortable Packaging, and Cook-Chilling.* (425-446) Boca Raton, FL: CRC Press.

## 8. Vedlegg

### Vedlegg 1

#### Fiske og levendelagring

Voksne hannkjønn kongekrabber ble i desember 2016 fisket i området rundt Nordkapp med kommersielle firkantede kongekrabbeteiner. Krabbene ( $n=78$ ) ble transportert levende i tørre omgivelser dekket av «gel ice» (Cold Ice Inc., Oakland, CA, USA) i polystyrenbokser med fly og bil til Havbruksstasjonen i Tromsø. Krabbene ble umiddelbart plassert i 6 m<sup>3</sup> tanker med tilførsel av naturlig sjøvann (4 °C, 34 ‰ salinitet) som kontinuerlig ble UV-behandlet og filtrert gjennom et 150 µm sandfilter med en sirkulasjonshastighet på 4 L min<sup>-1</sup> (kg krabbe)<sup>-1</sup>.

Etter en akklimatiseringsperiode på syv dager ble første prøveuttak gjennomført ( $n=18$ , levendelagringstid 0 dager) og de resterende krabbene ( $n=60$ ) ble likt fordelt i seks sirkulære tanker (700 L volum) med tilførsel av kontinuerlig UV-behandlet, filtrert og sirkulerende vann som beskrevet tidligere. Halvparten av tankene fikk tilført vann som holdt en vanntemperatur på 5 °C ( $\pm 0,2$ ) og de resterende tankene holdt en temperatur på 10 °C ( $\pm 0,2$ ). Gjennom levendelagringstiden mottok ikke krabbene fôr og det ble tatt ut krabber til undersøkelser fra begge temperaturgruppene etter 41, 62 og 92 dager.

Ved hvert prøveuttak ble krabbene transportert fra Havbruksstasjonen til Nofima sine lokaler i Tromsø. Krabbene ble transportert og oppbevart tørt i polystyrenbokser dekket med «gel ice» og prosessert til individuelt pakkekluster den påfølgende dagen, senest 15 timer etter ankomst. 18 krabber ble prosessert på dag 0 og ni krabber fra hver temperaturgruppe ble prosessert på dag 41 og 62. Ved dag 92 av forsøket ble 11 krabber holdt ved 5 °C og 7 krabber holdt ved 10 °C prosessert.

Vekten på krabbene i forsøket varierte mellom 2158 og 2790 g, med en gjennomsnittlig vekt på 2379 g ( $\pm 273$ ). Hos krabbene som ble holdt ved 10 °C ble det både ved 62 og 92 dager observert skallskifte hos enkelte individer. Det tilsvarende ble observert ved krabber holdt på 5 °C, men først etter 92 dager. Krabbene som hadde påbegynt skallskifte ble prioritert ved prøveuttak og analysert ved første mulige prøveuttak. Det ble ikke observert dødelighet blant krabbene under forsøket.

#### Prosessering av prøvematerialet

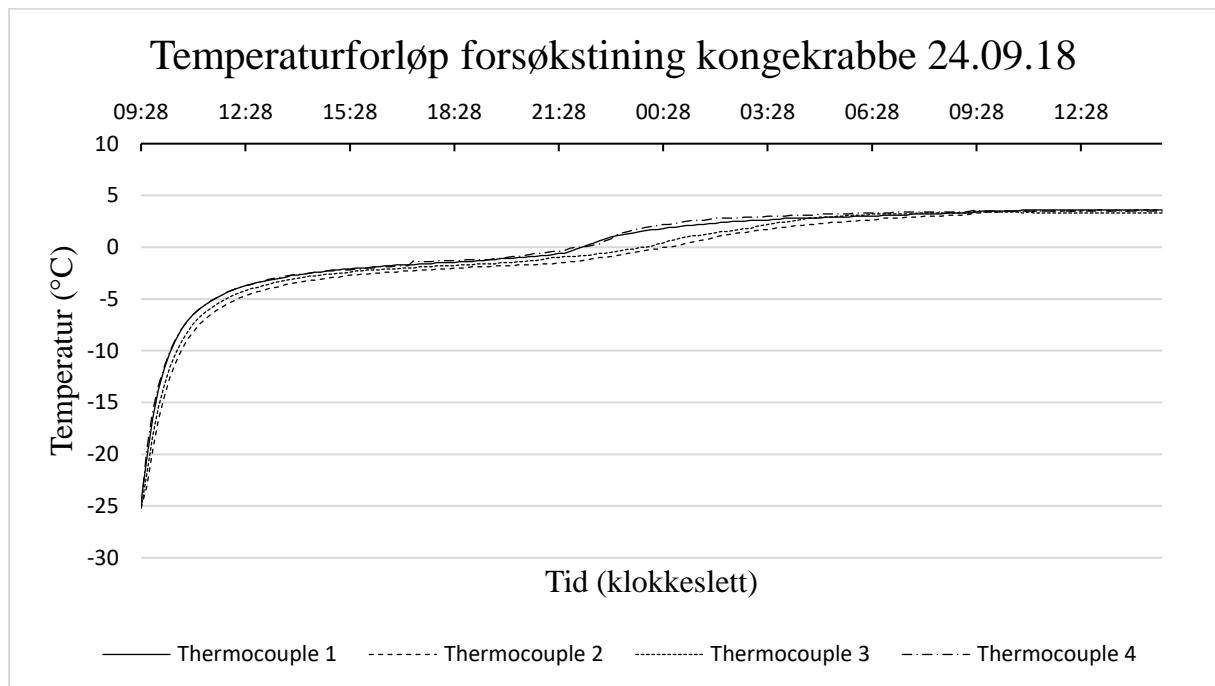
Prosedyren for prosessering av kongekrabbene var lik gjennom hele forsøket og gjenspeiler de industrielle metodene for prosessering av kongekrabbe. Prosessering startet med merking av

høyre og venstre cluster med T-bar tags (Floy tag, Inc., Seattle, WA, USA) samt vektmåling av hele krabben. Krabbene ble så delt i to cluster ved hjelp av et “butchering iron” og gjenværende rester av gjeller og viscera ble fjernet fra skulderleddet med kniv. Gjennom denne delen av prosesseringen ble clusteren holdt med skulderen vendt ned slik at clusteren kunne tømmes for fri kroppsvæske.

Vekten til clusteret ble registrert og plassert i nettingbur med skulderen vendt ned for å legge til rette for tømming av fri kroppsvæske. Burene med cluster ble plassert i en tank med ferskvann (85 L) som holdt 1-2 °C i 30 minutter for videre fjerning av fri kroppsvæske, også kalt utblødning. Burene ble fjernet fra tanken, tømte seg for væske i minimum 15 minutter og veid.

Clusterene ble så plassert horisontalt i nettingbur og senket ned i kokende vann. Målet for kokeprosessen var å oppnå en kjernetemperatur på 92 °C i *merus* og ble oppnådd etter ca. 16 minutter. For å være sikker på at en slik temperatur ble oppnådd ble enkelte cluster temperaturmålt hvert tredje sekund med «K-type thermocouple» som var festet til en datalogger (model 175H1, Testo, Ltd., Hampshire, Storbritannia) plassert i midten av *merus*. Etter koking ble clusterene kjølt ned i tank med isvann (85 L) som inneholdt 3,5 % NaCl i 21 minutter. Clusterene ble tømt for væske i 15 minutter med skulderen vendt ned og vekten av hvert cluster ble registrert.

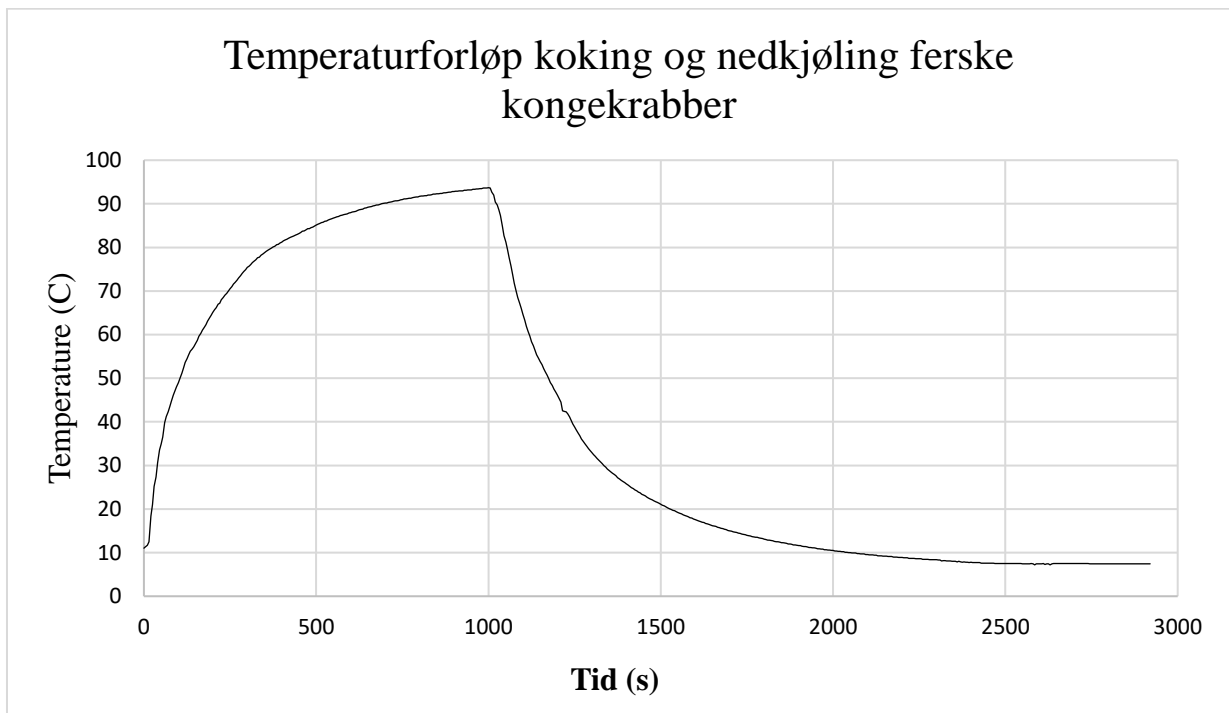
## Vedlegg 2



Temperaturprofil for temperatur i *merus* hos kongekrabbe ved tining i klimaskap som holdt 4 °C. Temperaturmåling hvert 10. minutt.



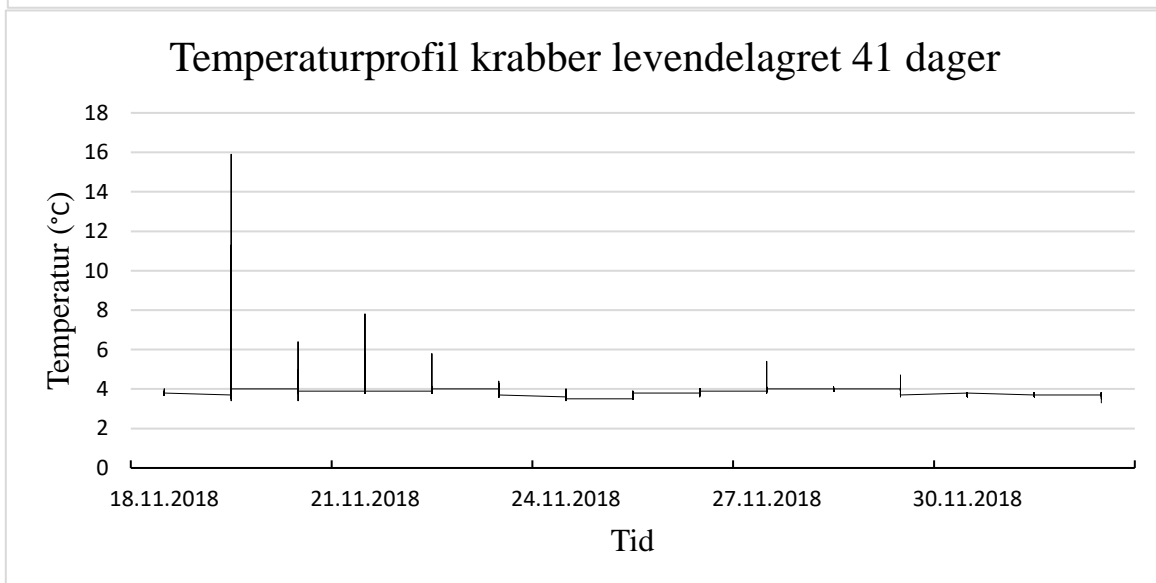
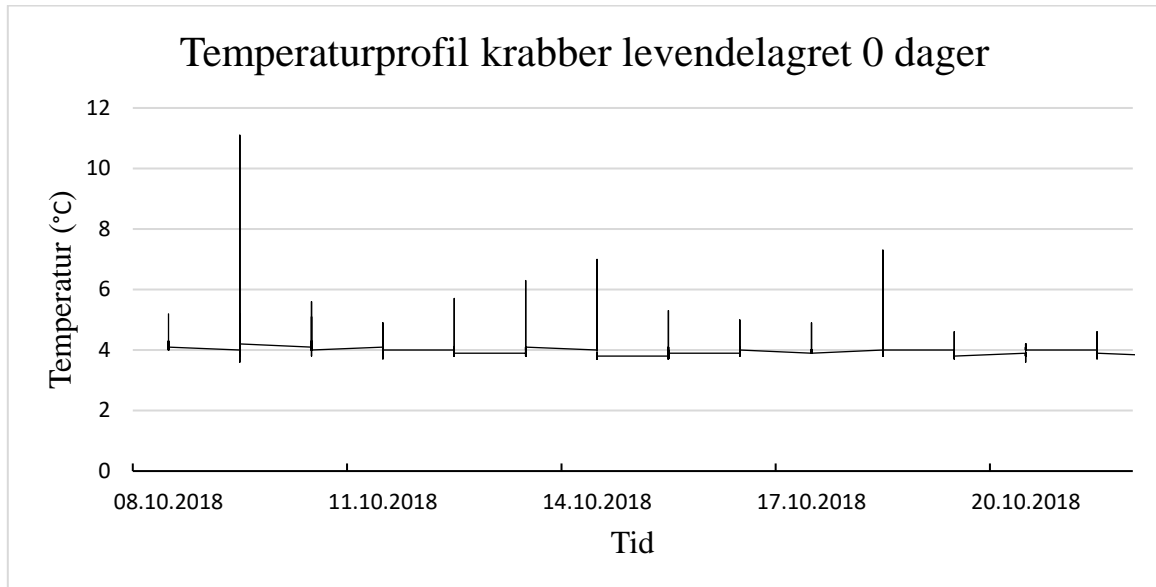
### Vedlegg 3



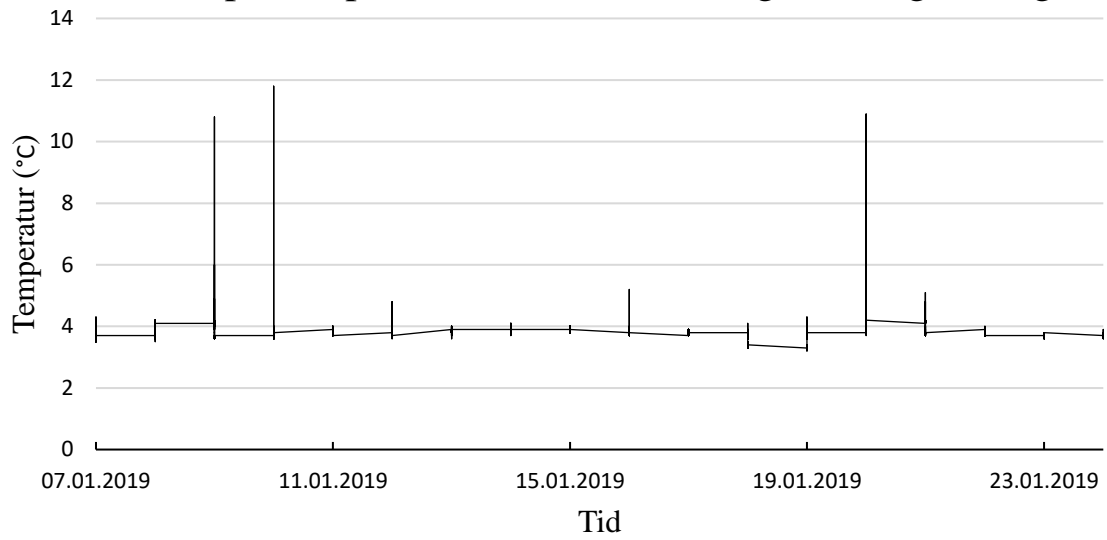
Temperaturprofil for temperatur i *merus* hos kongekrabbe ved koking og nedkjøling knyttet til prosessering av ferske kongekrabber. Temperaturmåling hvert 5. sekund.

## Vedlegg 4

Temperaturprofiler for temperatur i klimaskap ved tining og oppbevaring av kongekrabber i klimaskap. Temperaturmåling hvert 10. minutt.



### Temperaturprofil krabber levendelagret 62 og 92 dager



### Temperaturprofil fersk kongekrabbe

