

Effekt av fileterings- og frysetidspunkt på kvalitet av ferske og tinte *pre-rigor* produserte laksefileter

Jóan Karl Joensen

Masteroppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap

Studieretning: Sjømatvitenskap (60 stp.)

Mai 2014

Forord

Denne masteroppgave ble utført ved Norges fiskerihøgskole (NFH) ved fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi (BFE) ved Universitetet i Tromsø (UiT) og markerer slutten av en spennende og utfordrende femårig utdanning i fiskeri- og havbruksvitenskap. Fisken til forsøkene var oppdrettet av Havbruksstasjonen i Tromsø på sjøanlegget i Skulgambukta, mens forsøkene ble gjennomført på Nofima i Tromsø og på Norges fiskerihøgskole. I denne forbindelse er det mange personer som fortjener en takk.

Først og fremst vil jeg takke min hovedveileder professor Ragnar L. Olsen ved UiT for fremragende veiledning og stort bidrag med kunnskap. Du har vært fantastiske hjelpsom gjennom hele forløpet.

Stort takk til mine biveiledere Torbjørn Tobiassen og Leif Akse fra Nofima for god og konstruktiv veiledning i forbindelse med oppsett og utførelse av forsøk. Også en takk til avdelingsingeniør Guro K. Edvinsen fra Norges fiskerihøgskole og Reidun Dahl fra Nofima for hjelpen på labben.

Jeg vil også rette en stor takk til fiskerifag kull 2009 for sosial og faglig støtte gjennom disse fantastiske studieårene. Særlig vil jeg takke mine medstudenter på mastergradsrommene A-360 og A-356 for gode råd, mental støtte og ikke minst for gode kaffepauser med kortspill og gode historier!

Takk til min kjæreste Lisbeth, for all kjærlighet, støtte og oppmuntring som har betydd alt for meg. En spesiell takk for din motivasjon og disiplin den siste tiden med oppgaveskriving. Til slutt vil jeg takke mine foreldre og to søstre for støtte og omtanke gjennom hele studietiden.

Tromsø, 15. mai 2014



Jóan Karl Joensen

Sammendrag

Norsk oppdrettslaks har tradisjonelt vært eksportert som hel, sløyd fersk fisk, som senere eventuelt videreføres i utlandet til filetoprodukter. I dag satses det imidlertid mer på filetering lokalt rett etter at fisken har blitt slaktet og sløyd, dvs. filetering før inntreden av *rigor mortis*, også kalt *pre-rigor* filetering. *Pre-rigor* produserte laksefileter har flere kvalitetsmessige fordeler med blant annet mindre filetspalting, rødere farge og fastere tekstur. En ulempe med *pre-rigor* filetering er at filetene kan trekke seg kraftig sammen og få en uvanlig form samtidig med økt væsketap når *rigor mortis* etableres. Det er økende interesse for å konservere *pre-rigor* produserte fileter med frysing, men tining av *pre-rigor* muskel kan under visse betingelser også medføre en kraftig muskelkontraksjon og økt væsketap, noe som blir benevnt «tinerigor». Fordeler og ulemper med ferske *pre-rigor* produserte laksefileter er rimelig godt dokumentert, men det er gjort få undersøkelser av hvordan fileterings- og frysetidspunkt av laksefileter i *pre-rigor* fasen påvirker kvalitetsparametere på ferske og tinte fileter.

Hovedformålet med oppgaven var å undersøke hvilken effekt fileterings- og frysetidspunkt har på kvalitet av ferske og tinte *pre-rigor* produserte laksefileter. Innledningsvis ble muskel-pH i *pre-rigor* laksefileter studert.

Resultatene i oppgaven viste at muskel-pH reduseres raskere i nakkeområdet enn i andre deler av fileten i *pre-rigor* perioden. I tillegg ble det funnet at oppmaling av *pre-rigor* muskel fører til en kraftig akselerasjon i fallet av muskel-pH. For å få et riktig bilde av forandringen i pH bør stikkelektrode brukes på intakt *pre-rigor* muskelvev. Et mindre godt alternativ er å tilsette iodoacetat som inaktiverer et sentralt enzym i glykolysen, ved oppmaling av muskel i *pre-rigor* tilstand. Det ble også dokumentert at reduksjon i muskel-pH skjer mye raskere ved minus 2-3 °C, dvs. ved dannelse og smelting av iskrystaller, under innfrysing og tining av fileten enn ved kjølelagring på is (0 °C).

Tidlig filetering (2 timer *post mortem*, pm) i *pre-rigor* fasen medførte saktere filetkontraksjon og mindre utvidelse i løpet av en lagringsperiode på is i forhold til senere filetering (12 og 24 timer pm). Dette kan tyde på mindre skader på muskelvev på grunn av sakte filetkontraksjon. Filetering 2 timer pm førte til lavere filetspalting i de ferske filetene under islagring sammenlignet med filetering på de to senere tidspunktene. Væsketap og tekstur ble derimot ikke påvirket av de forskjellige fileteringstidspunktene. De ulike fileteringstidspunktene *pre-rigor* hadde ingen tydelig kvalitetseffekter på tinte laksefileter.

Fryselagring i fire dager ved -30 °C og tining ved 2 °C over natt med etterfølgende islagring medførte mindre filetforkortelse, lavere muskel-pH, høyere væsketap og mer filetspalting enn fersk lagring på is. I tillegg medførte frysing og tining en lavere bruddstyrke på av muskelfibrene og hardere muskeltekstur.

Summary

Norwegian farmed salmon has traditionally been exported as whole, gutted fresh fish, which later may be processed into fillet products abroad. Today, however, the focus has switched on to filleting locally a short time after the fish has been slaughtered and gutted, i.e. filleting before onset of *rigor mortis*, also called *pre-rigor* filleting. *Pre-rigor* produced salmon fillets have several good properties including less gaping, a more intense red colour and a firmer texture. A drawback of *pre-rigor* filleting is that the fillets can go through a strong *rigor* contraction and get an unusual form along with increased drip loss. There is a growing interest in preserving *pre-rigor* produced fillets by freezing, but the thawing of *pre-rigor* muscle under certain condition can also cause a strong muscle contraction and increased drip loss, which is referred to as “thaw rigor”. Pros and cons of fresh *pre-rigor* produced salmon fillets are reasonably well documented, but there have been few studies on how the time of filleting and freezing in the *pre-rigor* phase affects the quality parameters of fresh and thawed fillets.

The main objective of this thesis was to investigate how various times of filleting and freezing effect the quality of fresh and thawed *pre-rigor* produced salmon fillets. As a start the muscle pH in *pre-rigor* salmon fillets was studied.

The results showed that muscle pH declined faster in the neck area than in other parts in the fillet in the *pre-rigor* period. In addition, it was found that grinding of *pre-rigor* muscle led to an accelerated decline in muscle pH. To get an accurate indication of the change in pH in *pre-rigor* muscle, the pH electrode should be inserted directly into intact muscle. An alternative is to add iodoacetat that inactivates a key enzyme in the glycolysis when grinding the muscle in *pre-rigor* condition. There was also found evidence that the reduction in muscle pH occurs much faster at minus 2-3 °C i.e. when the formation and melting of ice crystals occurs during freezing and thawing than in cold storage on ice (0 °C).

Early filleting (2 hours *post mortem*) in the *pre-rigor* stage resulted in a slower *rigor* contraction and less extension of the fillets during the storage period on ice compared to later filleting (12 and 24 hours *post mortem*). This may indicate that less damage of muscle tissue occurred due to slow fillet contraction. Filleting 2 hours pm led to less gaping in the fresh fillets during ice storage compared to filleting 12 and 24 hours after slaughter. Drip loss and texture were however not affected by the different times of filleting. The time of filleting had no apparent effects on quality of thawed salmon fillets.

Frozen storage in four days at -30 °C and thawing at 2 °C overnight followed by ice storage caused less *rigor* contraction, lower muscle pH, higher drip loss and more gaping compared with fresh storage on ice. In addition freezing and thawing led to a lower breaking strength of muscle fibres and higher muscle hardness.

Forord	III
Sammendrag	V
Summary	VII
1. Innledning	1
2. Generell bakgrunn	3
2.1 Muskeloppbygning hos fisk	3
2.2 Post mortale endringer hos fisk	7
2.2.1 <i>Rigor mortis</i>	7
2.2.2 <i>Post mortem</i> glykolyse og pH-utvikling	8
2.2.3 Proteolytisk nedbryting	10
2.3 Væsketap i fiskemuskel.....	11
2.4 Frysing og tining av fiskemuskel	13
2.5 Tekstur.....	15
2.5.1 Metoder for måling av tekstur	15
2.5.2 Faktorer som påvirker tekstur	18
3. Materialer og metode	22
3.1 Kjemikalier.....	22
3.2 Råstoff og slaktemetode	22
3.3 Kjemiske analyser	23
3.4 Måling av pH.....	24
3.5 Muskel-pH i ulike deler av oppdrettslaks	25
3.6 Sammenligning av metoder for måling av muskel-pH	25
3.7 Muskel-pH under frysing og tining av <i>pre-rigor</i> fileter.....	26
3.8 Fileteringstidspunkt <i>pre-rigor</i> og kvalitet av ferske og tinte fileter.....	27
3.9 Vekttap og forkortelse	28
3.10 Filetspalting.....	29
3.11 Teksturmålinger	29
3.12 Statistiske analyser	30
4. Resultater	31
4.1 Sammensetning av laksefiletene	31
4.2 Muskel-pH i ulike deler av oppdrettslaks	31
4.3 Sammenligning av metoder for måling av muskel-pH	33
4.4 Muskel-pH under innfrysing og tining av <i>pre-rigor</i> laksefileter	34
4.5 Fileteringstidspunkt <i>pre-rigor</i> og kvalitet av ferske og tinte fileter.....	36
4.5.1 Forkortelse av filetene	36
4.5.2 Utviklingen av muskel-pH	38
4.5.3 Muskel-pH i forhold til filetforkortelse.....	39
4.5.4 Væsketap	41
4.5.5 Filetspalting.....	42
4.5.6 Tekstur.....	43
5. Diskusjon	45
6. Konklusjoner og videre arbeider	55
7. Referanser	56

1. Innledning

Oppdrettsnæringen har siden oppstarten i 1970 vokst seg til å være en viktig del av norske økonomien både i form av sysselsetning og som eksportverdi. I 2013 ble det eksportert laks fra Norge for 39,8 milliarder norske kroner, noe som i volum tilsvarte 960.000 tonn laks (Norges sjømatråd, 2014). Tradisjonelt har mesteparten av slaktet oppdrettslaks blitt solgt som hel, sløyd fersk fisk. Fisken går gjennom *rigor mortis* (dødsstivhet) under transport til kunder i andre land før den eventuelt videreforedles til for eksempel filetprodukter og så distribueres til utsalgsstedene. Alternativt så kan hel, sløyd laks selges til super- eller hypermarkeder. I dag satses det imidlertid mer på filetering lokalt rett etter at fisken har blitt slaktet og sløyd, dvs. filetering før inntreden av *rigor mortis*, også kalt *pre-rigor* filetering.

Pre-rigor filetering har både kvalitetsmessige og økonomiske fordeler. Fileter som er produsert *pre-rigor* har mindre filetspalting, rødere farge og fastere tekstur enn *post-rigor* produserte fileter (Skjervold *et al.*, 2001c; Einen *et al.*, 2002). *Pre-rigor* produserte fileter kan også bli tilbudt konsumentene 3-5 dager tidligere enn *post-rigor* produserte fileter (Rosnes *et al.*, 2003; Tobiassen *et al.*, 2006). Dermed oppnås en lengere salgsperiode, noe som er en viktig økonomisk faktor. Antakelig vil *pre-rigor* produksjon også reduserte kostnader i forbindelse med lagring og transport. I tillegg vil en lokal videreforedling i tilknytning til slakteriet bidra til flere lokale arbeidsplasser, samtidig som alt av biprodukter (hode, rygg og annet avskjær) vil være samlet på en plass og kan derved lettere utnyttes kommersielt.

Pre-rigor filetering har også sine utfordringer. Når dødsstivheten etableres i en filet som ikke er festet til ryggbeinet vil den trekke seg sammen og få en noe uvanlig form samtidig med økt væsketap og forandret tekstur sammenlignet med *post-rigor* produserte fileter (Einen *et al.*, 2002; Akse *et al.*, 2007). Fjerning av pinnebein («pin bones») fra *pre-rigor* laksefileter er imidlertid en stor utfordring fordi de sitter så sterkt fast i bindevev at beinene brekker ved forsøk på å nappe dem ut (Pedersen *et al.*, 2013). Pinnebenene må skjæres bort hvis de ønskes å fjernes, noe som antakeligvis vil øke produksjonskostnadene og redusere filetutbytte. Alternativt kan de nappes ut av filetene *post-rigor* lengere ute i verdikjeden. I *post-rigor* laksemuskel er pinnebenene løse og kan derved trekkes ut uten å skade muskelen betydelig.

Industrien ønsker nå også salg av frosne, *pre-rigor* produserte fileter eller deler av fileter, for eksempel tjukkfisken («loins»). Muskel som blir frossen inn *pre-rigor* inneholder typisk mye energi, som kan medføre en kraftig muskelkontraksjon da fisken går gjennom *rigor mortis* under tining. Dette fenomenet har blitt benevnt «tinerigor» og kan gi opphav til minst like store utfordringer som hos fersk, *pre-rigor* produsert filet (McDonald & Jones,

1976; Einen *et al.*, 2002; Imamura *et al.*, 2012). Degraderingen av ATP under tining av *pre-rigor* frossen torsk er rask i temperaturintervallet fra minus 5 til 0 °C (Cappeln *et al.*, 1999) og en forlenget tineperiode i dette temperaturintervallet kan derfor redusere energitilstanden i muskelen og antakeligvis redusere effekten av tinerigor. Det er imidlertid få som har studert tinerigor på oppdrettslaks.

Fordeler og utfordringer med *pre-rigor* filetering i forhold til *post-rigor* filetering er rimelig godt dokumentert for både oppdrettslaks (Skjervold *et al.*, 2001b; Skjervold *et al.*, 2001c; Einen *et al.*, 2002; Akse *et al.*, 2007; Tobiassen *et al.*, 2008) og oppdrettstorsk (Kristoffersen *et al.*, 2006a; Tobiassen *et al.*, 2006; Kristoffersen *et al.*, 2007), men det er gjort få undersøkelser av hvordan fileterings- og frysetidspunkt av *pre-rigor* laksefileter påvirker kvalitetsparametere til ferske og tinte laksefileter.

Hovedformålet med oppgaven var å undersøke hvilken effekt fileterings- og frysetidspunkt har på kvalitet av ferske og tinte *pre-rigor* produserte laksefileter. Dette omfatter undersøkelse av både vekttap, filetforkortelse, pH-utvikling, filetspalting og tekstur.

Følgende delmål ble studert:

- Utvikling i muskel-pH i ulike deler av laksefilet.
- Metoder for måling av muskel-pH i *pre-rigor* laksemuskel.
- Utvikling i muskel-pH under innfrysing og tining av *pre-rigor* laksemuskel.
- Effekten av fileterings- og frysetidspunkt på utviklingen av muskel-pH, filetforkortelse, vekttap, filetspalting og tekstur på *pre-rigor* laksemuskel.

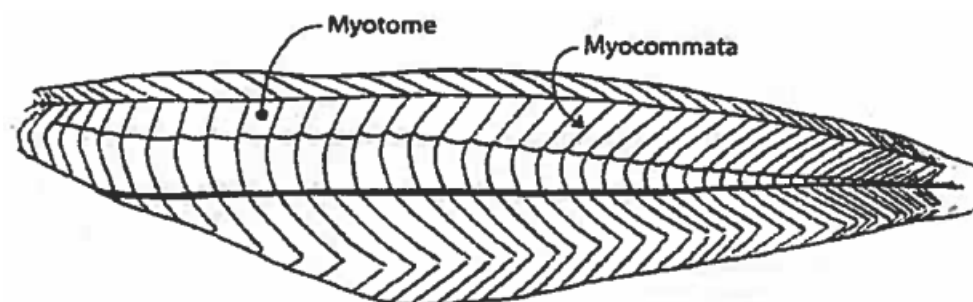
2. Generell bakgrunn

2.1 Muskeloppbygning hos fisk

Fiskemuskel deles histologisk vanligvis opp i tre hovedtyper: glatt muskulatur, hjertemuskulatur og skjelettmuskulatur. Skjelettmuskulaturen utgjør en stor del av fiskens kroppsmasse. Denne omfatter både den store svømmemuskulaturen, som vanligvis utgjør 40 til 60 % av fisken kroppsmasse, og andre mindre muskler som blant annet brukes for viktige funksjoner i hoderegionen (gjeller, kjeve, øyne osv.) (Døving & Reimers, 1992). Den store svømmemuskulaturen er lateralt lokalisert på begge sider av fisken. Fiskemuskel består av rød (mørk) og hvit (lys) muskel. De relative mengdene av rød og hvit muskel er avhengige av levesett til de ulike fiskeartene.

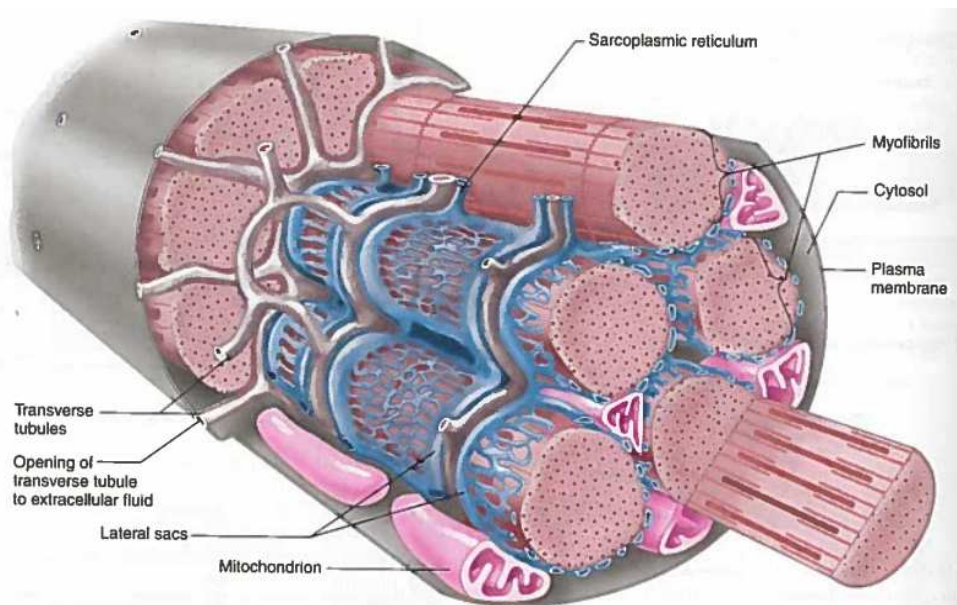
Den kjemiske sammensetningen er litt forskjellig mellom de to muskeltypene. Mørk muskel har blant annet høyere nivå av lipider og hemproteiner (Huss, 1995; Dulavik *et al.*, 1998). Glykogen er hovedsakelig energikilden i den hvite muskulaturen, mens rød muskel også kan bruke lipider som energikilde for produksjon av ATP. Rød muskel har aerob metabolisme og høy tetthet av mitokondrier, mens den hvite muskelen for det meste har anaerob metabolisme. Hos pelagiske arter (aktive svømmere) vil andelen av rød muskulatur være mye høyere enn hos bunnlevende fisk (Huss, 1995). Laks og makrell er aktiv langdistanse svømmere og har en betydelig andel mørk muskulatur.

Muskelfibrene i fisk er delt inn i parallelle segmenter kalt myotomer, som er separert av bindevev kalt myocommata (myosepta). Sett fra siden vil orienteringen av muskelsegmentene typisk danne en W-lignende form (Figur 1).



Figur 1: Skjematisk fremstilling av orienteringen av skjelettmuskulaturen til fisk. Muskelsegmenter (myotomer) er separert av bindevev (myocommata), og danner et W-lignende mønster. Fileten har også som indikert langsgående bindevevsstriper. Modifisert etter Love (1970).

Hver muskelfiber (muskelcelle) består av mange parallelle myofibriller. Sarkoplasmatisk retikulum (SR) danner en serie av segmenter rundt hver myofibrill. I enden av hvert SR segment er to forstørret regioner, som blir kalt lateralsekkene (lateral sacs) (Figur 2). Det er her at Ca^{2+} blir oppbevart og utskilt i forbindelse med muskelkontraksjon (Widmaier *et al.*, 2011).

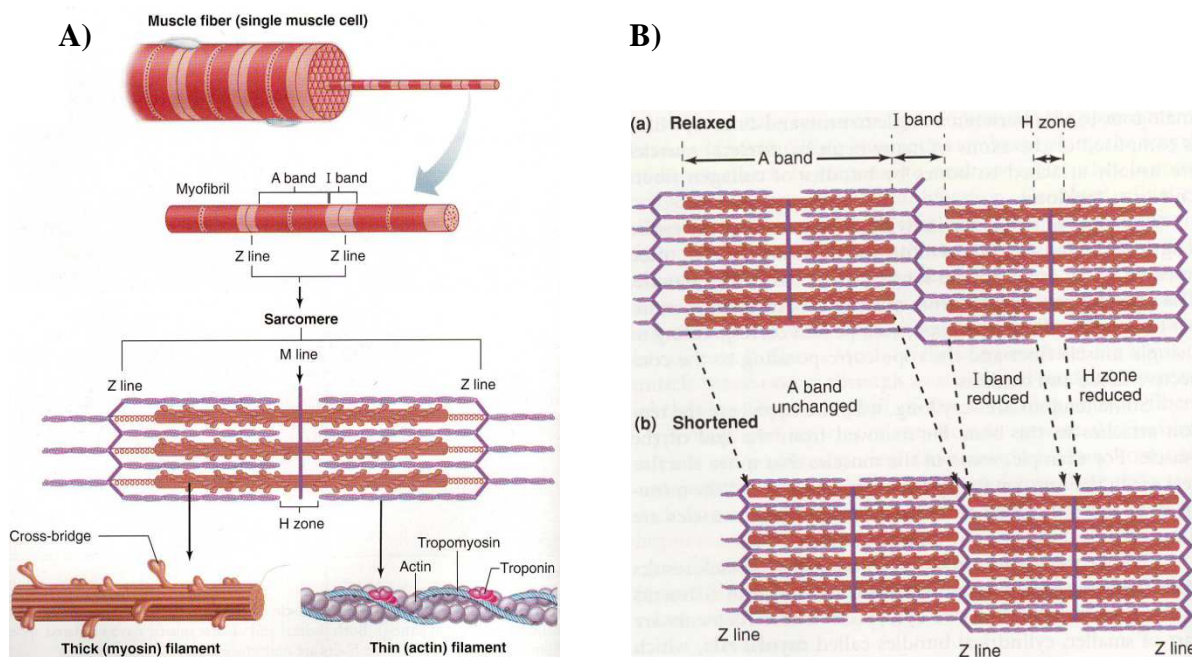


Figur 2: Skjematiske fremstillinga av tverrsnittet av en muskelfiber (muskelcelle). Viser blant annet orienteringen av myofibriller, mitokondrier, sarkoplasmatisk retikulum og transverse tubules i en enkelt muskelfiber (Widmaier *et al.*, 2011).

Kontraktile muskelsystemet

Hver myofibrill består av repeterende funksjonelle enheter kalt sarkomere som er separert med tversgående proteinskiver kalt z-linjer. Hver sarkomer består av mange tykke og tynne myofilamenter. De tykke filamentene består av proteinet myosin, mens de tynne filamentene består hovedsakelig av proteinet aktin i tillegg til tropomyosin og et troponin kompleks.

De tykke filamentene er lokalisert i midten av hver sarkomer og er kjent som A-båndet (Figur 3). Videre er et sett av tynne filamenter lokalisert i hver ende av sarkomeret. De tynne filamentene er festet til z-linjen på den ene enden, mens de i den andre enden overlapper en del av myosinfilamentene. Den delen av aktinrådene som ikke overlapper myosinrådene vil under elektronmikroskop vise seg som et lyst bånd (I-bånd), som strekker seg mellom A-båndene til to sideliggende sarkomere. I midten av det mørke A båndet går et smalt lyst bånd (H-sonen), som tilsvarer lengden mellom to sett av aktinråder i hvert sarkomere. I midten av H-sonen er en proteinskive (M-linje) som binder sideliggende myosinråder sammen (Widmaier *et al.*, 2011).

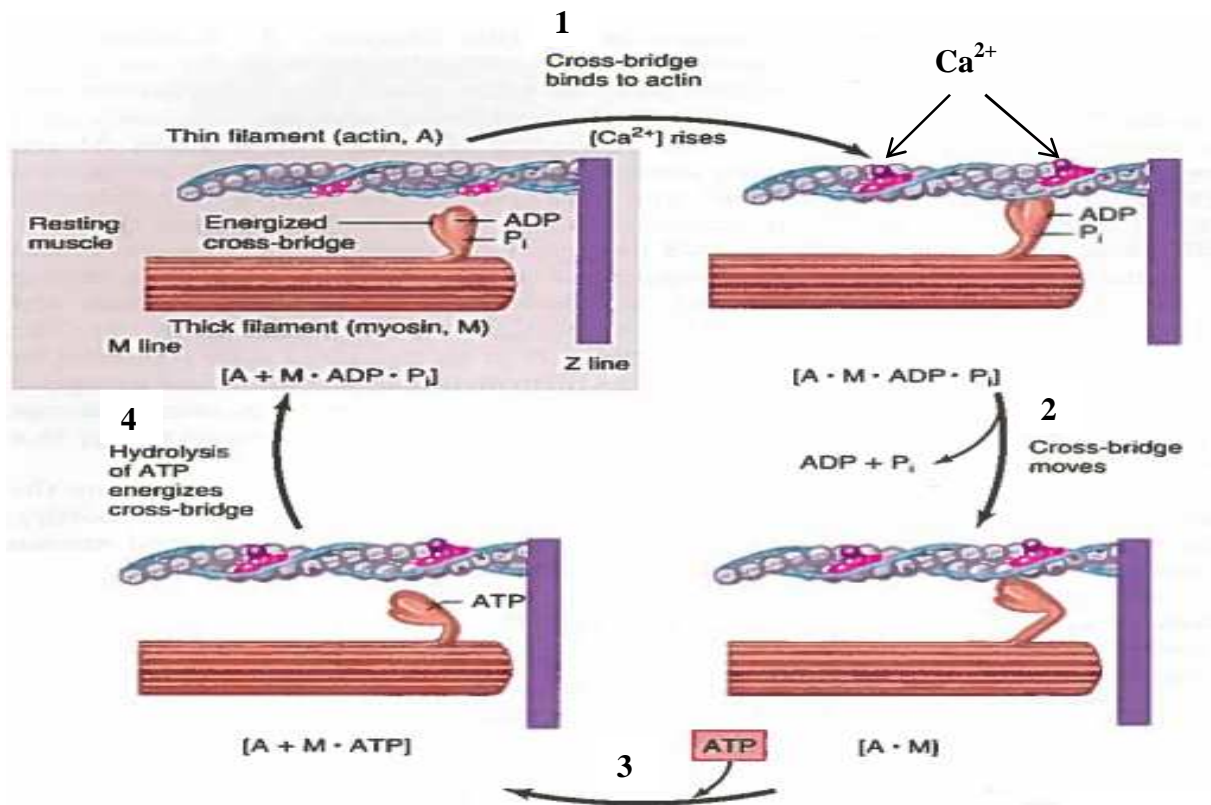


Figur 3: A) En muskelfiber er bygd opp av mange myofibriller, som igjen er bygd opp av repeterende strukturelle enheter (sarkomerer). Hver sarkomer består videre av tykke filamenter (myosin) og tynne filamenter (aktin) som strekker seg mellom to z-linjer. B) Orienteringen av tykke og tynne filamenter ved avslappet (a) og sammentrukket (b) muskel (Widmaier *et al.*, 2011)

Muskelkontraksjon oppnås ved at overlappende myosin og aktin filamenter i hver sarkomer beveger seg langs etter hverandre ved den såkalte «sliding filament mechanism» (Figur 3B). Ved en slik kontraksjon skjer det ingen forkortelse av aktin eller myosin filamentene, men lengden av hele sarkomeret forkortes. Lengden av A-båndet vil være uendret, men lengden av I-båndet og H-sonen vil reduseres (Figur 3B).

Kontraksjon av en muskelcelle innledes med nerveimpulser som fører til at kalsiumioner (Ca^{2+}) blir transportert fra sarkoplasmatiske retikulum (SR) til myofibrillene. Kalsiumionene binder seg deretter til troponinkomplekset på de tynne filamentene. Dette medfører strukturelle endringer i komplekset og videre en forflytting av tropomyosin slik at bindingssetene på aktintrådene blir frie og myosinhodet kan binde seg til aktin. Syklusen der aktin og myosin forårsaker muskelkontraksjonen deles vanligvis opp i fire steg (Figur 4). Første vil myosin-ADP- P_i (energirikt myosinhode) binde seg til aktin (steg 1). Dette medfører en øyeblikkelig bøyning av myosinhodet slik at aktin og myosintrådene forflyttes langs hverandre, samtidig som ADP og fosfat (P_i) blir frigitt (steg 2). Binding av et nytt ATP molekyl til myosinhode reduserer affiniteten hos myosin for aktin og derved brytes aktin-myosin bindingen (steg 3). Etterfølgende hydrolyse av myosin-ATP til myosin-ADP- P_i vil regenerere høye energitilstanden hos myosinhodet og føre til at myosinhodet oppnår sin opprinnelige posisjon (steg 4). Hvis konsentrasjonen av Ca^{2+} fremdeles er høy nok (ledige

bindingssteder på aktintråden) vil myosinhodet binde seg til et nytt bindingssete og syklusen gjentas. Muskelen avslappes igjen da Ca^{2+} aktivt transporteres tilbake til SR. Fjerning av Ca^{2+} medfører strukturelle endringer i troponinkomplekset og forflytting av tropomyosin slik at bindingssteder på aktintrådene blir utilgjengelige for myosin. De tykke og tynne filamentene glider dermed tilbake til sin opprinnelige posisjon for avslappet muskel (Widmaier *et al.*, 2011). Etter død vil den aktive transporten av Ca^{2+} stoppe opp og Ca^{2+} vil diffundere over i myofibrillene. Bindingssetene på aktintrådene vil derved være ledige.



Figur 4: Skjematisert oversikt over de fire stegene (1-4) som inngår i kontraksjon av muskel (Widmaier *et al.*, 2011).

2.2 Post mortale endringer hos fisk

Etter død går fisk igjennom flere ulike faser. Dette inkluderer for eksempel inntreden og oppløsning av *rigor mortis*, autolyse og videre bakteriell nedbrytelse. Autolytiske endringer i *post mortem* fiskemuskel omfatter blant annet anaerobe nedbryting av glykogen gjennom glykolysen, spalting av ATP og kreatinfosfat, samt proteolytisk nedbryting.

2.2.1 Rigor mortis

Etter død vil blodtransporten rundt i kroppen stoppe opp og derved stoppes også tilførselen av oksygen til muskelvev. Dette medfører at *post mortem* energiproduksjon (produksjonen av ATP) hovedsakelig skjer via anaerobisk nedbrytelse av glykogen via glykolysen. I glykolysen blir et glukose molekyl omdannet til 2 pyruvat molekyler og netto produksjonen er kun 2 ATP per glukosemolekyl (Figur 6A). I anaerobiske forhold vil pyruvat videre nedbrytes til melkesyre. Dette er en lite effektiv energiproduksjon i forhold til fullstendig aerobisk nedbrytelse i levende muskel, som gir 36 ATP per glukoseenhet.

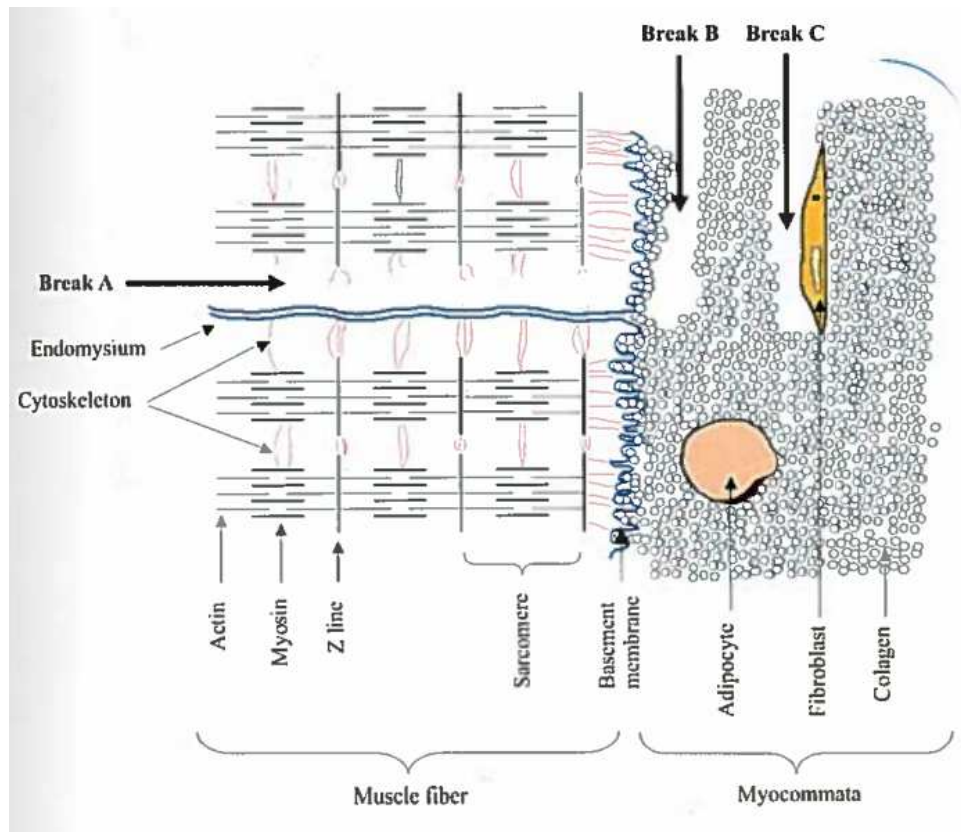
Spalting av ATP begynner rett etter død, men ATP konsentrasjonen blir holdt på et relativt stabilt nivå i en tid på grunn av anaerobiske nedbrytelsen av glykogen og refosforisering fra kreatinfosfat (Cappeln & Jessen, 2001b). Kreatinfosfat er kjent som et raskt energilager for refosforisering av ATP og ved hard behandling av fisk under fangst eller slakteprosessen kan dette lager være helt oppbrukt ved slakt (Cappeln & Jessen, 2001b). Enzymet adenylat kinase kan også omdanne 2 ADP til ATP og AMP og derved bidra til ATP nivået opprettholdes i en kort periode.

Konsentrasjonen av ATP i en fungerende muskel er 7-10 $\mu\text{mol}/\text{gram}$ og når konsentrasjonen er blitt redusert til cirka 1 $\mu\text{mol}/\text{gram}$ vil *rigor mortis* kunne inntre (Huss, 1995). Inntredelsen av *rigor* oppstår på grunn av at ATP ikke tilgjengelig for å løse bindingen mellom myosin og aktin (steg 3 i Figur 4) derved låses myosin og aktin til et aktomyosinkompleks og muskelen stivner.

Tidspunktet for inntredelse av *rigor mortis* påvirkes av både biologiske faktorer (mengde glykogen i muskel), *ante mortem* stress, artsforskjeller og lagringstemperatur (Love, 1988; Haard, 1992; Skjervold *et al.*, 2001a).

Mekanismen bak oppløsning av *rigor* er lite kjent, men det skyldes hverken bryting av aktomyosin komplekset ved regenerering av ATP eller ved enzymatisk degradering av komplekset (Bendall, 1973; Cappeln *et al.*, 1999). Man er sikker på at oppløsningen av *rigor* skjer på grunn av proteolytisk degradering av strukturelle proteiner i muskelen. Det kan være nedbryting av proteiner som binder muskelfibrene til bindevevshinden (Break B og C i Figur

5) (Skjervold, 2002; Taylor *et al.*, 2002). Andre mener det kan være proteiner knyttet til z-linjen som blir nedbrutt med påfølgende *rigor* oppløsning (Strasburg *et al.*, 2007)



Figur 5: Illustrasjon av en del av myocommata og myotome. Utenfor plasmamembranen (sarkolemma) er et tynt nettverk kaldt basalmembranen (Basement membrane), og utenfor dette igjen er et tynt lag av bindevev som omringer hver muskelfiber kalt endomysium. Illustrerer også brytingen mellom to muskelfibrer (Break A), samt brytingen mellom muskelfibrene og bindevevshinden (Break B og C) (Skjervold, 2002).

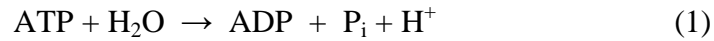
2.2.2 Post mortem glykolyse og pH-utvikling

Glykolyse blir vanligvis beskrevet som en 10 stegs prosess, hvor et glukose molekyl blir omdannet til 2 pyruvat molekyler (Stryer, 1988; Campbell & Farrell, 2008). Figur 6A viser stegene i glykolyse og hvilke enzymer som inngår prosessen. I levende fisk vil pyruvat videre gjennomgå fullstendig oksidativ nedbryting i sitronsyresyklusen, men etter at fisken er død vil tilførelsen av oksygen via blodet stoppe opp og pyruvat blir i stedet omdannet til melkesyre under anaerobiske forhold (Campbell & Farrell, 2008).

Det er i hovedsak hydrolyse av ATP og ADP som gir H^+ og derved fall i pH (reaksjonslikning 1 og 2). Dannelsen av melkesyre bidrar bare i mindre grad (Foegeding *et al.*, 1996; Robergs *et al.*, 2004). Det vil allikevel være en klar sammenheng mellom mengde av melkesyre produsert og reduksjonen i muskel-pH, men denne sammenhengen skyldes at

det er tilnærmet lineære sammenheng mellom produksjonen av ATP i glykolysen (som videre kan hydrolyseres) og mengden produsert melkesyre (Foegeding *et al.*, 1996).

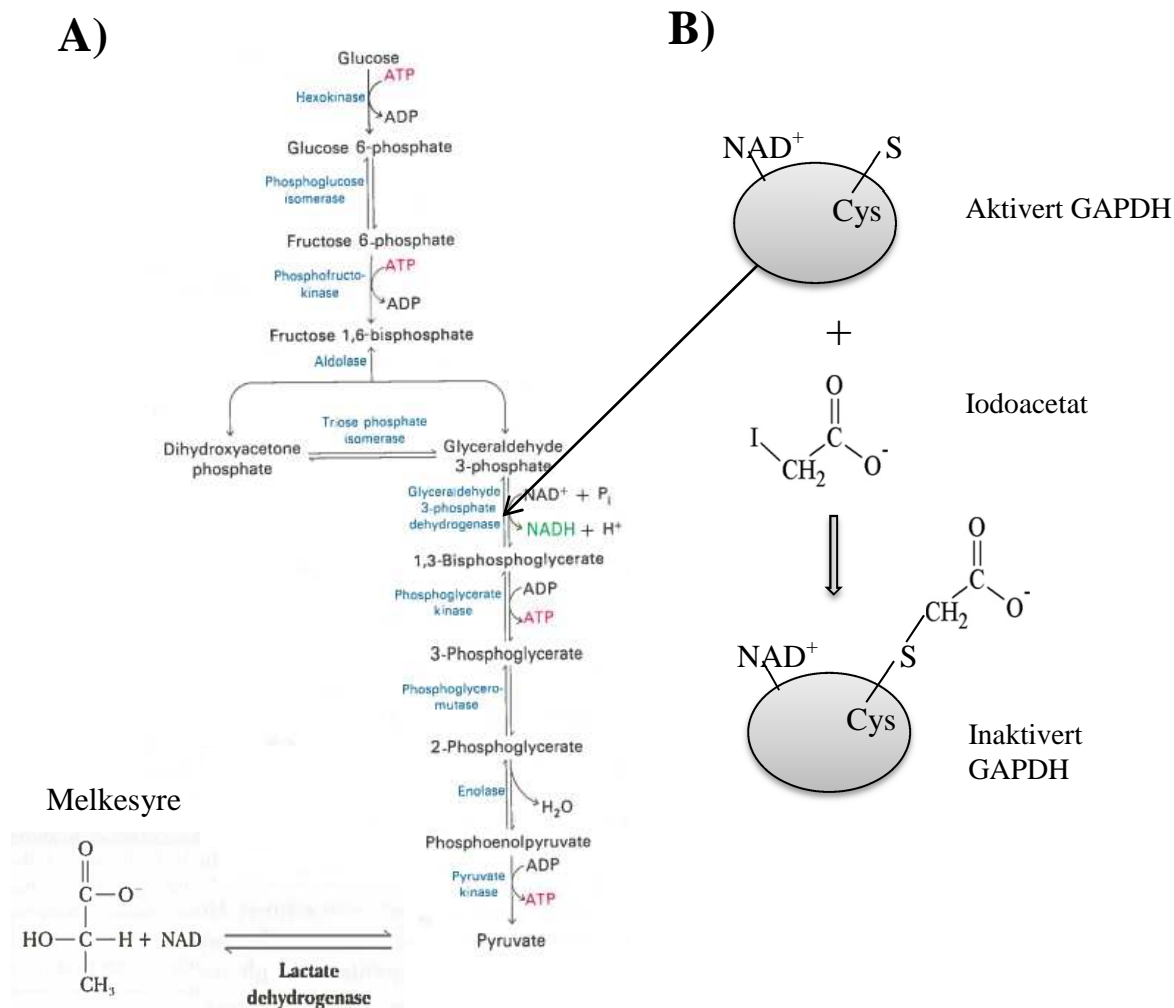
Reaksjonsligninger for hydrolyse av ATP og ADP:



Selv om de eksakte mekanismene bak pH-reduksjonen *post mortem* er litt omdiskutert, så er utviklingen i muskel-pH *post mortem* rimelig godt dokumentert. Muskel-pH i laks vil typisk reduseres raskt de første timene etter slakt, for siden å flate ut i løpet av en lagringsperiode på is (Einen *et al.*, 2002). Muskel-pH rett etter slakt vil være lavere for laks som er stresset før slakt (Sigholt *et al.*, 1997; Mørkøre *et al.*, 2008).

Måling av muskel-pH kan gjøres ved å benytte stikkelektrode i intakt vev (Einen *et al.*, 2002; Kristoffersen *et al.*, 2006b; Midling *et al.*, 2011). Alternativt blir ofte muskelen oppmalt og blandet med lik del 0,15 M KCl (Duun & Rustad, 2008; Wang *et al.*, 2011). I metoden beskrevet av Bendall (1973) inkluderes 5 mM iodoacetat i KCl-løsningen for å stoppe glykolysen før måling av pH.

Tilsettelse av iodoacetat vil inaktivere enzymet glyceraldehyde 3-fosfat dehydrogenase (GAPDH) som omddanner glyceraldehyde 3-fosfat til 1,3-bisfosfoglycerat i glykolysen (Figur 6A). SH gruppen til den essensielle aminosyren cystein, som er lokalisert i det aktive sete til GAPDH vil binde seg til iodoacetat. GAPDH blir derved inaktivert og glykolysen blir hemmet (Figur 6B) (Schmidt & Dringen, 2009).



Figur 6: A) Skisse over stegene i glykolysen der glukose blir nedbrutt til pyruvat og videre anaerobisk nedbryting av pyruvat til melkesyre (laktat). Modifisert etter Stryer (1988). Det er også indikert hvor enzymet glyceraldehyd 3-fosfat dehydrogenase (GADPH) virker i omdannelsen av glyceraldehyd 3-fosfat til 1,3-bisfosfoglycerat. B) Skisse over hvordan GAPDH kan bli inaktivert av iodoacetat. Modifisert etter (Nelson & Cox, 2000).

2.2.3 Proteolytisk nedbryting

Mørning av kjøtt og blødtgjøring av tekstur på fisk er forårsaket av proteaser som er til stede både i muskelcellene og i ekstracellulære matriks (Gaarder *et al.*, 2012). De fleste av proteasene er enten lysosomale (for eksempel kathepsiner) eller sarkoplasmatiske enzymer (for eksempel calpainer). I tillegg spiller matriks metallproteinaser antakelig en viktig rolle i *post mortem* nedbryting av muskelbindevev.

Kathepsiner

Kathepsiner er lysosomale proteaser, som i levende dyr har som hovedfunksjon å bryte ned dødt og skadet muskelvev/proteiner. I tillegg er lysosomene med de hydrolyttiske enzymene involvert i normal omsetning (turnover) av proteiner og andre molekyler i cellene. Etter død

vil kathepsinene frigjøres og gradvis komme i kontakt med resten av muskelen. Lysosomer er kjent å inneha minst 13 typer av kathepsiner, som blir inndelt etter mekanismen i det aktive sete (Kristoffersen, 2007). Kathepsinene B, L, H og D antas å være viktige i mørning av muskel (Chéret *et al.*, 2007), men i blødtgjøring av fiskemuskel har kathepsin H en mindre betydning (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006; Godiksen *et al.*, 2009). I muskel av regnbueørret påviste Godiksen *et al.* (2009) at kathepsin B, D og L påvirket flere proteiner og at denne spesifikke nedbrytingen korrelerte med redusert filettekstur. For atlantisk laks påviste Bahuaud *et al.* (2010) signifikant forskjell i cathepsin B + L aktiviteten mellom familiegrupper med bløt og fast filettekstur 2 dager *post mortem*. Her ble det også påvist at cathepsin L aktiviteten kunne bedre knyttes til blødtgjøring av laksefilet enn aktiviteten av cathepsin B.

Calpain systemet

Calpainer er intracellulære cystein proteaser. Calpain systemet består av μ -calpain og m-calpain, samt deres spesifikke hemmere calpastatin. Både μ -calpain og m-calpain er kalsium avhengige og krever en kalsiumkonsentrasjon på henholdsvis mikro- og millimolar for å være aktive (Wang, 2011). Flere undersøkelser av calpain systemet i kjøtt indikerer at μ -calpain i større grad forårsaker mørning enn m-calpain (Geesink & Koohmaraie, 1999; Veiseth *et al.*, 2001).

Matrix metalloproteinaser

Matrix metalloproteinaser (MMP) er en stor familie av kalsium-avhengige zink-holdige endopeptidaser som kan forårsake endringer i muskelvev og nedbryting av ekstracellulære matriks (ECM), inkludert collagen, elastin, gelatin, matriks glykoproteiner og proteoglykaner (Verma & Hansch, 2007), og denne nedbrytingen er sannsynligvis en viktig årsak til bløtgjøring av fiskemuskel (Kubota *et al.*, 2003). MMP deles vanligvis inn i seks grupper, hvor kollagenaser og gelatinaser er to av dem (Verma & Hansch, 2007; Wang, 2011). Gelatinolytiske proteaser som har lignende egenskaper som MMP er foreslått å delta i *post mortem* degraderingen av fiskemuskel hos flere ulike arter (Wang, 2011), deriblant også atlantisk laks (Lødemel & Olsen, 2003).

2.3 Væsketap i fiskemuskel

Det er kjent at postmortale endringer som for eksempel hastighet og omfang av pH-reduksjon, proteolytisk nedbryting samt protein oksidasjon er viktige faktorer som påvirker muskelens evne til å holde på væske (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005).

Vann oppbevares i muskel på hovedsakelig tre ulike måter; bundet til makromolekyler, tiltrukket av andre molekyler (immobilisert) og i fri form. Vann er et dipolar molekyl og i muskelceller vil en del vann være bundet til ladede molekyler som for eksempel proteiner, og dette vannet vil være relativt stabilt, både overfor frysing og tradisjonell oppvarming (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Andelen av «bundet» vann vil typisk være kun 10 prosent av totale vannet i muskel.

Immobilisert vann er i seg selv ikke bundet til protein, men er svakt tilknyttet andre molekyler ved steriske krefter og/eller tiltrukket av andre vannmolekyler som i utgangspunktet er bundet. I et tidlig tidspunkt *post mortem* vil immobilisert vann ikke flyte fritt i muskelen, men det kan derimot lett fjernes ved tørking, samtidig som det fryses lett. Immobilisert vann vil også påvirkes av *rigor mortis* prosessen. Endring av muskelcellene, samt en reduksjon i pH vil føre til at immobilisert vann vil bli mistet som drypptap (Offer & Knight, 1988; Huff-Lonergan & Lonergan, 2005).

Fritt vann er den tredje formen av vann i muskel. Dette vannet kan flyte fritt rundt, men blir holdt i muskel på grunn av svake overflatekrefter. I *pre-rigor* muskel vil fritt vann vanligvis ikke bli observert, men dette dannes under *rigor* prosessen da forholdene endres og det immobiliserte vannet begynner å bevege på seg (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005).

Største delen av vann i muskel er lokalisert enten i de enkelte myofibriller, mellom myofibriller eller mellom myofibriller og cellemembranen (sarkolemma), samt mellom muskelceller. I pattedyr vil også en del vann være lokalisert mellom muskelbunter (grupper av muskelceller). Fisk har ikke slike muskelbunter. Etter slakt vil lokalisering og mengde av væske i muskelen endres på grunn av flere faktorer relatert til både håndtering og endringer i selve muskelvevet (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Pearce *et al.*, 2011).

Når muskel går inn i *rigor mortis* vil muskelfibrene trekke seg sammen og område for oppbevaring av væske i muskelcellene bli redusert (Figur 3B). Som et resultat kan væske bli presset ut i ekstracellulære matrix, hvor det lettere blir mistet som drypptap (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Pearce *et al.*, 2011).

Muskel-pH kan ha stor påvirkning på muskelens vannbindingsevne. Sidekjedene til aminosyrene i et protein er enten positive ladede (basiske), negativ ladede (sure) eller uladede (hydrofile og hydrofobe). Ladningen vil imidlertid være avhengig av pH i omgivelsene. Ved lav pH (høy konsentrasjon av H^+) vil proteinenes sure grupper være lite dissosiert og for det meste forekomme i nøytral form, mens de fleste basiske sidekjedene vil være ionisert og positiv ladet. I basisk miljø vil den motsatte effekten gjelde og en stor andel av de sure gruppene vil ha en negativ ladning, mens de basiske hovedsakelig vil være nøytrale. Ved høy

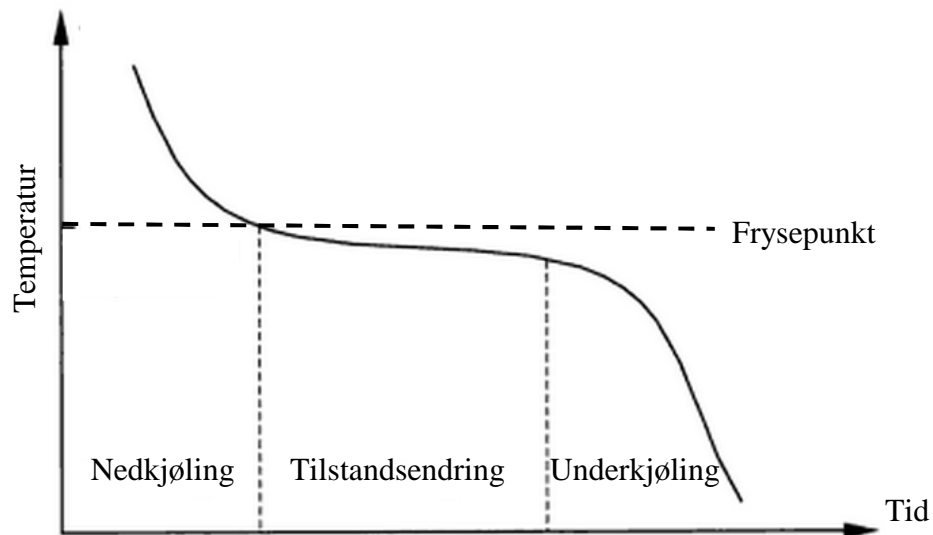
og lav pH vil proteinene derfor ha en nettoladning som fører til frastøting mellom sidekjeder. Derved oppstår det en åpen proteinstruktur med høy vannbindingsevne. Ved et bestemt pH vil nettoladningen til proteinet være nøytral og frastøtingen mellom sidegruppene vil være minimal. Dette pH-punktet kalles det isoelektriske punktet og ved denne pH vil proteinet være kompakt og ha minst vannbindingsevne. Det isoelektriske punktet for fiskemuskel varierer fra pH 4,5 til 5,5 (Huss, 1995). Etter slakt vil en reduksjon i muskel-pH ned mot isoelektriske punktet derfor være med til å redusere muskelens vannbindingsevne.

2.4 Frysing og tining av fiskemuskel

Lav temperatur er den viktigste faktor for forlenget holdbarhet av en matvare, og siden fisk er mer lettbederelig enn animalsk kjøtt, har temperatur en enda større betydning ved lagring av fiskeprodukter. Ved lav temperatur er det hovedsakelig tre metoder som blir brukt. Disse er vanlig kjølelagring på is (0 til 4 °C), superkjøling (-1 til -4 °C) eller tradisjonell fryselagring fra -18 til -40 °C. Frysing av fisk og fiskeprodukter er en god og mye brukt måte for å bevare kvaliteten over lengere lagringsperioder, ettersom hastigheten på de kjemisk og enzymatiske prosesser reduseres eller opphører helt ved lave temperaturer, mens bakterieveksten stopper helt opp.

Fryseprosessen

Under innfrysing av fiskemuskel vil temperaturen i muskelen følge en typisk innfrysingskurve (Figur 7) som kan deles inn i tre ulike faser; nedkjølingsfasen, tilstandsendring og underkjøling (Sun & Zheng, 2006). I nedkjølingsfasen vil temperaturen i muskelen raskt senkes ned til frysepunktet, som for fiskemuskel vil være rundt -1 °C, avhengig av konsentrasjonen av ulike komponenter i muskelvevet. Etter at temperaturen har nådd frysepunktet vil det frie vannet i muskelen endre tilstand og danne iskrystaller. Tilstandsendringen fra vann til is og det faktum at 75-80 % av vannet fryser i perioden mellom 0 og -5 °C (Cappeln, 2000), krever fjerning av mye varmeenergi og frysing tar derfor relativ lang tid. Temperaturkurven vil derfor flate ut i denne fasen (Figur 7), men selv om temperaturen er relativt stabil vil frysepunktet sakte synke på grunn av økt konsentrasjonen av komponenter i muskel. Da mesteparten av frie vannet er dannet til is, vil temperaturen igjen reduseres raskere.



Figur 7: En typisk innfrysingskurve kan deles inn i tre faser: nedkjøling av produktet ned til frysepunktet, tilstandsendring (frysing av vann til is) og underkjøling, der temperaturen i produktet synkes ytterligere og resterende vann fryses. Modifisert etter Sun & Zheng (2006).

Dannelse av iskrystaller

Dannelse av iskjerne (innledende iskrystaller) skjer da temperaturen senkes til frysepunktet for den aktuelle væsken. I helt rent vann dannes kjernen ved tilfeldig orientering og kombinerer av vannmolekylene (homogen kjernedannelse), mens i matvarer dannes kjernene typisk ved at vannmolekylene legger seg til ulike løste komponenter (heterogen kjernedannelse). Kjernedannelsen skjer raskere ved effektiv varmeoverføring, og derfor vil rask innfrysing føre til flere og mindre iskrystaller i produktet enn for sakte innfrysing (Sun & Zheng, 2006).

Ved sakte frysing vil det hovedsakelig bli dannet ekstracellulære iskrystaller. Dette skyldes i første omgang en lavere konsentrasjon av løste stoffer i den ekstracellulære væsken og derfor et høyere frysepunkt. Da ekstracellulære iskrystaller dannes vil den intracellulære væsken fremdeles være litt underkjølt (supercooled). Dette medfører at damptrykket i den intracellulære væsken er høyere enn trykket i den ekstracellulære væsken og iskrystallene. Vann diffunderer derfor over cellemembranen og legges på de ekstracellulære iskrystallene, som derved øker i størrelse. Den ekstracellulære væsken vil fortsette å fryse, hvilket også vil øke konsentrasjonen av løste stoffer. Osmotiske gradienten mellom den ekstracellulære væsken og væsken i muskelcellene vil tilsvarende øke og vann vil gradvis diffundere ut av cellene. Dette medfører innsunkede (dehydrerte) muskelceller samt store ekstracellulære iskrystaller, som igjen kan skade cellemembranene og medføre væsketap, krymping av muskelvev og en helhetlig reduksjon i kvalitet under tining (Sahagian & Goff, 1996; Sun &

Zheng, 2006). Ved rask innfrysing derimot vil flere små, ensformige krystaller dannes både intra- og ekstracellulært samtidig og kvalitetsforringelsen på grunn av frysing kan reduseres betraktelig (Sahagian & Goff, 1996).

En stabil temperatur under fryselagring er også av stor betydning for dannelsen av iskrystaller. En liten økning i lagringstemperatur kan medføre at de minste iskrystallene i produktet tiner, og da temperaturen reduseres igjen vil vannet fryse i på de tilstedeværende iskrystallene. Dermed vil en temperaturvariasjon øke dannelsen av store iskrystaller (Kaale *et al.*, 2011).

I *pre-rigor* muskel er cellevæsken tettere bundet til intracellulære proteinene og diffusjonen av væske ut over cellemembranen er derfor begrenset. Flere intracellulære krystaller dannes derfor under frysing av *pre-rigor* muskel (Shenouda, 1980). I superkjøling av atlantisk laks påviste Kaale *et al.* (2013) færre intracellulære og større ekstracellulære iskrystaller i *post-rigor* laksemuskel i forhold til *pre-rigor* laksemuskel.

2.5 Tekstur

Tekstur er en viktig egenskap for kvalitet av fisk. Det er blitt hevdet at under videreforedling av oppdrettslaks skjer 40 % av nedgraderingen til en lavere prisklasse på grunn av bløt tekstur eller filetspalting (Michie, 2001). Tekstur av mat er et veldig kompleks fenomen, som omfatter mange forskjellige inntrykk da maten kommer i kontakt konsumentens fingrer, tunge, tenner etc. I litteraturen finnes det flere brede og til dels ulike definisjoner av uttrykket tekstur, hvilket tyder på et kompleks fenomen (Hyldig & Nielsen, 2001). En klassisk definisjon er gitt av Szczesniak (1963) som definerte tekstur å være en kombinasjon av den fysiske strukturen av et produkt og karakteristiske egenskapene til produktet under mekanisk bearbeiding.

2.5.1 Metoder for måling av tekstur

I oppdrettsindustrien blir tekstur av rå fileter vanligvis målt ved bruk av «fingermetoden». En finger blir trykket på fileten og fastheten blir vurdert som en kombinasjon av hardheten ved trykket og hvilken form fingermerket i fileten tar (Sigurgisladottir *et al.*, 1999). Slike sensorisk metoder er subjektive og det er påvist at instrumentelle teksturmålinger er mere presise med mindre variasjon på grunn av at menneskelige faktorer utelukkes (Cheng *et al.*, 2014). Instrumentelle målinger av tekstur på fisk deles vanligvis opp i fire hovedteknikker;

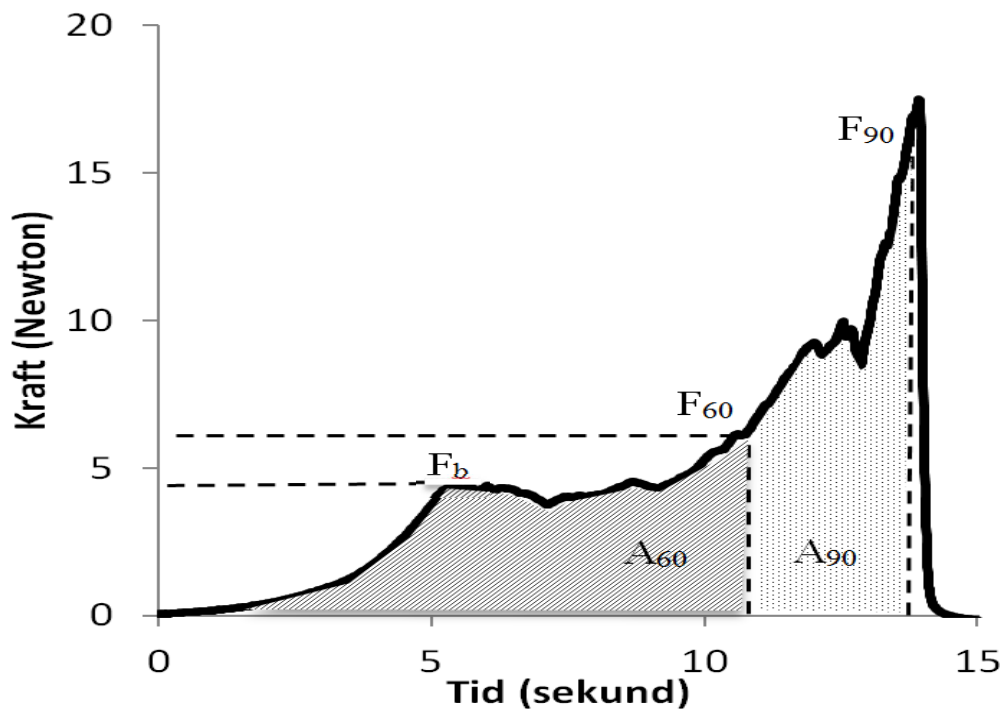
punktering (puncture), kompresjon (compression), skjærkraft (shear force) og slitestyrke (tensile strength) (Torrissen *et al.*, 2001).

Kompresjonstest

Ved en kompresjonstest blir en gjenstand (flat sylinder, kuleformet etc.) trykket ned på prøven med en konstant hastighet, samtidig som den utførte kraften til enhver tid blir registrert. Ut ifra kraft-tid kurven kan den maksimale kraften brukt for å trykke gjenstanden ned i prøven til en bestemt dybde eller prosentandel av prøvetykkelsen registreres. Denne kraften er et mål for hardhet til prøven (Bourne, 1978; Veland & Torrissen, 1999). Ut fra en kraft-tid kurve kan også totale kraften som er brukt for å trykke gjenstanden ned i prøven til en bestemt dybde eller prosentandel beregnes som integralet til kurven (for eksempel areal A_{60} og A_{90} i Figur 8). Dette er et uttrykk for fasthet. For å beregne andre uttrykk for tekstur (elastisitet, cohesiveness etc.) med denne metoden, kan syklusen gjentas opp til flere ganger på samme prøveområde (Bourne, 1978; Veland & Torrissen, 1999; Torrissen *et al.*, 2001).

Punkteringstest

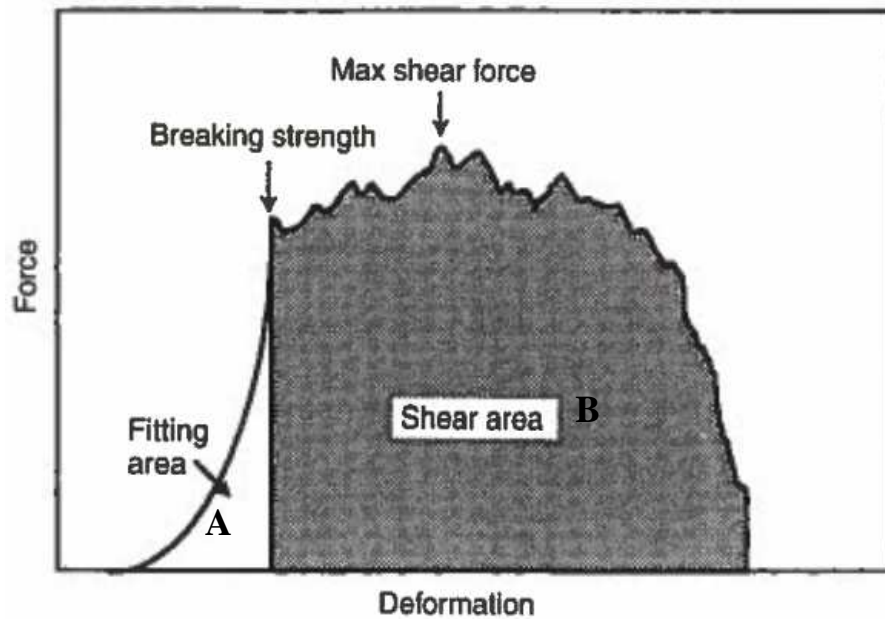
Ved punkteringstest er lignende fremgangsmåte gjeldende som for kompresjonstest, men da trykkes gjenstanden så langt at muskelen punkteres. Ut fra kraft-tid kurven kan den maksimale kraften som muskelen tåler før den punkteres avleses. Rett etter dette punktet avtar den nødvendige kraften for å trykke gjenstanden ytterligere ned i muskelen. Dette punktet vil derfor være den første markante toppen på en tid-kraft kurve (Figur 8, punkt F_b) og tilsvarer muskelens bruddstyrke (Veland & Torrissen, 1999). Ytterligere trykking ned i muskelen vil igjen øke motstanden (kraften) mot målegjenstanden (Figur 8).



Figur 8: Typisk sammenheng mellom tid etter at sylindren begynner å penetrere fileten og kraften (Newton, N) som brukes. Punkt F_b indikerer at muskelfibrene brytes. På dette punktet avtar motstanden i muskelen. Areal A_{60} og areal $A_{60} + A_{90}$ tilsvarer totale kraften som brukes for å nå henholdsvis 60 og 90 % av prøvetykkelsen (fasthet). Punkt F_{60} og F_{90} indikerer tilsvarende maksimale kraften som brukes for å nå 60 eller 90 % av prøvetykkelse (hardhet).

Skjærkraft

Skjærkrafttest er en lignende teknikk som punksjonstest, men her er det et knivblad som trykkes ned i muskelen og skjærer den i to deler. Første delen av kraft-tid kurven vil derfor være lignende kurven for punkteringstest, med en markant topp for bruddstyrke (Figur 9). Ytterligere trykking ned i muskelen vil øke motstanden mot knivbladet frem til punktet for maksimal skjærkraft. Deretter vil motstanden avta gradvis og gå mot null da prøven blir kuttet i to. Skjærkraften er den nødvendige kraften for å skjære prøven i to stykker (Torrissen *et al.*, 2001) og dette tilsvarer integralet til kraft-tid kurven (areal A + areal B i Figur 9).



Figur 9: Skjematisk illustrasjon av en typisk kraft-tid kurve fra en skjærkrafttest. Modifisert etter Torrissen *et al.* (2001).

Slitestyrke

I en slitestyrketest blir prøvemateriale trukket i hver sin retning og kraften som brukes for å bryte prøven registreres. Denne testen er lite brukt på fiskemuskel. Største problemet viser seg å være å finne en metode for å feste muskelen til teksturmaskinen og samtidig unngå svake punkter ved festingen (Barroso *et al.*, 1998; Ashton *et al.*, 2010). I undersøkelser av korrelasjon mellom filetspalting og flere ulike teksturmetoder på atlantisk laks fant Ashton *et al.* (2010) derimot at deres nye slitestyrketest metode viste størst korrelasjon med filetspalting enn de andre kompresjons og skjærkraft testene.

2.5.2 Faktorer som påvirker tekstur

Tekstur på atlantisk laks og regnbueørret varierer både med hensyn på biologiske faktorer (fiskestørrelse, fettinnhold, posisjon på fileten etc.) og industrielle faktorer ved prosessering av fisk (slaktemetode, sulting, fileteringstidspunkt, frysing, samt lagringstid og temperatur). Ved instrumentell måling av tekstur vil også forhold under sjølve målingen har betydning (for eksempel måleretning i forhold til muskelfibrene og prøvetemperatur).

Biologisk faktorer

Veland & Torrissen (1999) påviste at hardheten til laksefilet (6 og 10 mm kompresjon) reduseres ved økende filettykkelse. Hardheten målt ned til en bestemt prosent av filettykkelse

(20, 30 og 40 %) økte derimot i takt med økende filettykkelse, men for 20 % nedtrykkingen var denne økningen liten. Muskelfiberens diameter og lengde vil øke ved økt fiskestørrelse og dette gjør muskelen mer grov. Ifølge Hyldig & Nielsen (2001) fant Dunajski (1980) dog ingen klar sammenheng mellom muskelfiberens diameter og fiskens fasthet.

Andersen *et al.* (1997) påviste at fileter av regnbueørret som var fôret med høy-fett fôr, hadde bløtere tekstur enn fileter av regnbueørret som var foret med lav-fett fôr. For røyket laks fant Einen & Skrede (1998) derimot ingen forskjell i filettekstur for laks fôret med ulik fettinnhold i fôret, selv om fettinnholdet i muskelen økte signifikant for fisken som ble foret med høyt fettinnhold.

Sigurgisladdottir *et al.* (1999) dokumenterte at hardheten til laksefilet målt instrumentelt med skjærkraft eller punkteringstest generelt økte bakover i fileten, og at denne sammenhengen var gjeldende både om prøvene hadde samme tykkelse eller ikke. Disse resultatene stemmer overens med at Casas *et al.* (2006) fant at halepartiet til atlantisk laks hadde både høyere hardhet og bruddstyrke enn både rygg- og bukpartiet. Variasjonene i tekstur langs fileten blir knyttet til fordelingen av fett og pigmenter, samt tettheten og ordningen av kollagenfibrene i muskelvevet (Montero & Borderías, 1989; Sigurgisladdottir *et al.*, 1999; Casas *et al.*, 2006). Sigurgisladdottir *et al.* (1999) påviser videre at variasjonen inne i hver filet i noen tilfeller kan være høyere enn individvariasjonen. Teksturmålingene skal derfor alltid standardiseres med hensyn på lokalisering på fileten.

Industrielt praksis

Industrielt praksis i forbindelse med slakting og prosessering av oppdrettslaks vil påvirke filetenes tekstur. I undersøkelser av slaktemetode (bedøvet med CO₂, strøm eller slag) og filettekstur på oppdrettslaks fant Roth *et al.* (2002) at bedøving med CO₂ førte til en mer stresset laks, tidligere inntredelse av dødsstivhet og signifikant lavere filettekstur målt med skjærkraft enn for de andre slaktemetodene. Bruk av CO₂ til bedøvelse er nå forbudt i Norge. Sigholt *et al.* (1997) undersøkt sammenhengen mellom stressnivå på grunn av håndtering av levende atlantisk laks og tekstur på laksefiletene ved kjøling i to ulike temperaturer (0,4 og 3,3 °C). Det ble påvist filetene av den stressede fisken hadde signifikant lavere fasthet ved begge temperaturer og signifikant lavere bruddstyrke ved 0,4 °C enn ikke-stresset fisk. Mørkøre *et al.* (2008) viste også at *pre-rigor* fileter av stresset oppdrettslaks hadde en lavere bruddstyrke og oppnådde maksimal bruddstyrke tidligere enn fileter av ustresset fisk.

Einen & Thomassen (1998) utførte sultingsforsøk med 7 grupper (sultet 0, 3, 7, 14, 30, 58 og 86 dager før slakt) av atlantisk laks (ca. 5 kg). Ved filetering av laks lagret på is i 4

dager ble det funnet en signifikant økning i hardhet på fileter av laks sultet i 58 og 86 dager i forhold til de andre gruppene. Ved filetering etter 12 dagers lagring ble dog ingen signifikant forskjell i tekstur registrert. Mørkøre *et al.* (2008) påviste også at en sulteperiode på 35 dager før slakt økte bruddstyrken signifikant til *pre-rigor* laksefileter etter både 24 og 72 timer islagring. Det er vanlig praksis oppdrettsnæringen å sulte fisken ca. en uke før slakt for å tømme fiskens innvoller. En slik kortvarig sulting forlenger gjerne fiskens ferskhet ved islagring (Aksnes *et al.*, 1985). Einen og Thomassen (1998) konkluderte derimot med at sulting over en lengere periode er et relativt svak verktøy for styring av kvalitet på atlantisk laks.

En av de viktigste faktorer for økt holdbarhet av matvarer er lagringstemperatur (Duun & Rustad, 2008). Økt lagringstemperatur vil både øke muskelnedbrytingen på grunn av fiskens egne enzymer, samtidig som bakteriell aktivitet økes. Det er godt dokumentert at fileter av laks og regnbueørret får en bløtere tekstur utover en lagringsperiode på is (Andersen *et al.*, 1997; Hyldig & Nielsen, 2001; Einen *et al.*, 2002; Hultmann & Rustad, 2002; Taylor *et al.*, 2002) selv om noen undersøkelser ikke finner denne sammenhengen så tydelig (Hultmann & Rustad, 2004). Nedbryting av ulike bindinger i muskelvevet skjer med ulikt tempo. Taylor *et al.* (2002) påviste at bindingene mellom muskelfibre og bindevevshinnen (myocommata), og bindingene mellom to muskelfibre, nedbrytes ulikt. Etter en dag *post mortem* var bindingene mellom muskelfibre brutt, mens bindinger mellom fibre og bindevev ikke var brutt. Fem dager *post mortem* var både bindingene mellom ulike muskelfibre og bindingene mellom muskelfibre og bindevev brutt. Den kritiske brytingen så ut til å være de costamere proteinene som binder Z- og M linjen til endomysium. I fisk vil de costamere proteinene dystrophin og vinculin nedbrytes innen 24 timer *post mortem*, og dette skjer parallelt med rask nedgangen i skjærkraft (Taylor *et al.*, 2002). Endomysium er rapportert å ha en stabil form 24 timer *post mortem*, og derfor kan det forventes at bryting av fiberbindinger til endomysium har størst påvirkning på fiskens nedgang i fasthet de første 24 timene *post mortem* (Taylor *et al.*, 2002).

I undersøkelser av fileteringstidspunkt (*pre-* eller *post-rigor*) påviste Einen *et al.* (2002) en høyere bruddstyrke på *pre-rigor* produserte fileter etter 5 og 10 dagers lagring på is, men etter 15 dager var ingen forskjell. Denne forskjellen blir knyttet til at *pre-rigor* filetene har større sammentrekning i forhold til *post-rigor* filetene og derved også fastere tekstur (Einen *et al.*, 2002).

Frysing av fisk blir vanligvis knyttet til en tørr og hardere konsistens på den tinte fisken. Ved fryselagring vil både myofibrillprotein og kollagen klumpe seg sammen føre til en

hardere muskel (Montero & Borderías, 1990). Einen *et al.* (2002) fant at fire dagers frysing etterfulgt av en dag tining på kjølerom (4 °C) reduserte bruddstyrken til både *pre-* og *post-rigor* laksefileter. Sigurgisladottir *et al.* (2000) fant også at frosne/tinte laksefileter hadde bløtere tekstur enn ferske islagrede fileter. Dette er i motsigelse til Mackie (1993) og Sikorski & Kolakowska (1995) som påviste at frysing og tining av fisk medfører en økt hardhet på grunn av at lavere proteinløselighet. Mackie (1993) indikerer derimot at økningen at hardheten var avhengig av både fiskestørrelse og art, samt frysetemperatur og fryselagringstid. Det er derfor trolig laksemuskel får bløtere i tekstur etter kortvarig fryselagring (Einen *et al.*, 2002).

Forhold under teksturmåling

Taylor *et al.* (2002) påviste at orientering av muskelfibrene har signifikant påvirkning på målingen av skjærkraft. Muskelfibrer orientert vinkelrett i forhold til målebladene hadde dobbelt så høy skjærkraft som fibrer orientert parallelt med målebladene. Taylor *et al.* (2002) viste videre at skjærkraften målt vinkelrett på muskelfibrene reduserte signifikant over lagringstid ($d_0 > d_1 > d_5$), mens skjærkraften målt parallelt på fibrene hadde en liten men ikke signifikant reduksjon over lagringstid. Taylor *et al.* (2002) viste derfor at det er mer korrekt å måle skjærkraft vinkelrett på muskelfibrene.

Temperaturen på prøven kan ha en stor påvirkning på resultater fra måling av tekstur. Temperaturen skal derfor så vidt som mulig standardiseres under målingene. Som nevnt tidligere påviste Sigurgisladottir *et al.* (1999) at variasjonen inne i hver filet i noen tilfeller var høyere enn individvariasjonen. Disse resultatene stemmer overens med Casas *et al.* (2006) som også fant tydelige variasjoner i hardhet og bruddstyrke mellom ulike posisjoner på oppdrettslaksfilet. Teksturmålingene skal derfor alltid standardiseres med hensyn på lokalisering på fileten.

3. Materialer og metode

3.1 Kjemikalier

Borsyre (H_3BO_3 , nr. 1.00165), bromkresolgrønn (nr. 1.08121), kalium klorid (KCl, nr. 1.04936), methylrødt (nr. 1.06076), natriumhydroksid (NaOH, 32 %, nr. 1.05590), natriumhydroksid (NaOH, 1.0 M Titrisol, nr. 1.09959), natriumsulfat (Na_2SO_4 , vannfri, nr. 1.06649), petroleumsbensin, (extra pure, ki 40-60 °C, nr. 1.00909), saltsyre (HCl, 0,1 mol/liter Titrisol, nr. 1.09973) og svovelsyre (H_2SO_4 , nr. 1.00731) var fra Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland. Natrium iodoacetat (ICH_2COONa , nr. I9148) var fra Sigma-Aldrich, St. Louis, USA. Katalysatortabletter (Kjeltabs, Cu/3,5, nr. 1527-0018) var fra Foss Analytical AB, Hoganas, Sverige

3.2 Råstoff og slaktemetode

Laksen (*Salmo salar* L.) var oppdrettet på sjønlegget til Havbruksstasjonen i Tromsø og fôret med 3.0 mm Spirit Supreme 75-50A (Skretting) og 4.0 mm Ewos Opal 200 (Ewos) etter smoltutsett. Laksen ble slaktet i perioden fra november 2013 til april 2014 (sjøtemperatur 4 – 7 °C). Fisken ble tatt fra oppdrettsmerden med håv, bedøvet med slag i hode, bløgget med gjellekutt og lagt i isvann for utbløding i 30 min. Fisken ble deretter veid, lengdemålt og sløyd. Den sløyde laksen ble kjølelagret på is i isoporkasser og transportert til Nofima i Tromsø for filetering. Gjennomsnittsvekten økte utover forsøks tiden fra 583 gram (rund vekt) ved første forsøk til 949 gram ved siste forsøk. Vekt og kondisjonsfaktor (k-faktor) er derfor oppgitt i beskrivelsen av hvert forsøk separat. Kondisjonsfaktor ble beregnet med formel 1 nedenfor, der V står for rundvekt i gram og L står for lengde i cm.

$$\text{Kondisjonsfaktor} = \frac{V \cdot 100}{L^3} \quad (\text{Formel 1})$$

3.3 Kjemiske analyser

Opparbeiding av prøvemateriale

Fire oppdrettslakser (rundvekt: 665 ± 56 gram, k-faktor: $1,22 \pm 0,06$) ble slaktet og behandlet som beskrevet i «Råstoff og slaktemetode». Laksene ble filetert, og skinn og bukbeinene ble fjernet. Filet fra hver laks ble kuttet opp i stykker og homogenisert med stavmikser i ca. 10 sekund. De homogeniserte prøvene ble deretter lagret på is i begerglass med lokk på for analyse av fett, protein, vann og aske 2-3 timer senere.

Proteininnhold

Mengden protein i laksefileten ble bestemt ved bruk av Kjeldahl's metode. Homogenisert prøve (ca. 1 gram) ble veid nøyaktig i nitrogenfritt veiepapir (VWR, Whatman boats nr. 611-3990) og overført til oppslutningsrør (Nerliens Meszansky AS, nr. 1000-0158). Konsentrert svovelsyre (15 ml) og 2 stk. katalysatortabletter ble tilsatt i hvert oppslutningsrør. Blankprøver ble laget med 15 ml konsentrert svovelsyre og 2 stk. katalysatortabletter i hvert prøverør. Prøvene ble oppsluttet i oppslutningsblokk (Tecator Digestor modell 2020). For å utsette krystalliseringen i prøvene ble 30 ml destillert vann tilsatt hvert prøverør. Destillering og titrering, samt automatisk utregning (basert på Formel 2) ble gjennomført i en analyseenhet (KjeltecTM Analyzer Unit 2300, Foss Analytical, Hillerød, Danmark) i henhold til brukermanualen. Resultatene ble oppgitt som proteinprosent av våtvekt. Gjennomsnittsverdier for tre paralleller per prøve ($n = 4$) ble brukt.

Formel for utregning av proteinprosent:

$$\text{Proteinprosent} = \frac{(\text{pr-bl}) \cdot 14,01 \cdot N \cdot 6,25 \cdot 100\%}{1000 \cdot X} \quad (\text{Formel 2})$$

Der bl er mengde 0,1 M HCl forbrukt ved titrering av blindprøve (ml), pr er mengde 0,1 M HCl forbrukt ved titrering av prøve (ml), N er nøyaktig normalitet av titrervæska (HCl), X er gram innveid prøve (våtvekt), 14,01 er molekylvekt for nitrogen og 6,25 er omregningsfaktor fra nitrogen til animalsk protein.

Fettinnhold

Fettinnhold ble bestemt ved bruk av Soxtec ekstraksjon (Tecator Soxtec System Extraction Unit, type HT 1043, Foss Tecator AB, Høganäs, Sverige) i henhold til brukermanualen. Resultatene ble beregnet som gjennomsnittsverdier for to paralleller per prøve (n = 4) og oppgitt som prosent av våtvekt.

Vann- og askeinnhold

Homogenisert fiskemuskel (ca. 10 gram) ble jevnt fordelt i en porselenskål (Ø 60 mm) og tørket over natten i en tørkeoven (Binder APT FD 53, Binder GmbH, Tuttlingen, Tyskland) ved 103 ± 2 °C. Prøvene ble videre avkjølt i eksikator i 30 min for deretter å bli veid umiddelbart etter uttak fra eksikator. Vektreduksjonen etter tørking tilsvarer vanninnholdet i prøven. Resultatene ble beregnet som gjennomsnittsverdier for to paralleller per prøve (n = 4) og oppgitt i prosent av våtvekt.

For bestemmelse av askeinnhold ble de tørkede prøvene plassert i en akseovn (Carbolite OAF 11/2, Carbolite Ltd., Hope Walley, England) ved 550 °C over natten. Prøvene ble videre avkjølt i eksikator i 30 min for deretter å bli vei umiddelbart etter uttakelse fra eksikator. Askeinnholdet ble bestemt som resten av prøvemateriale som var igjen forbrenning ved 550 °C. Resultatene ble beregnet som gjennomsnittsverdier for to paralleller per prøve (n = 4) og oppgitt som prosent av våtvekt.

3.4 Måling av pH

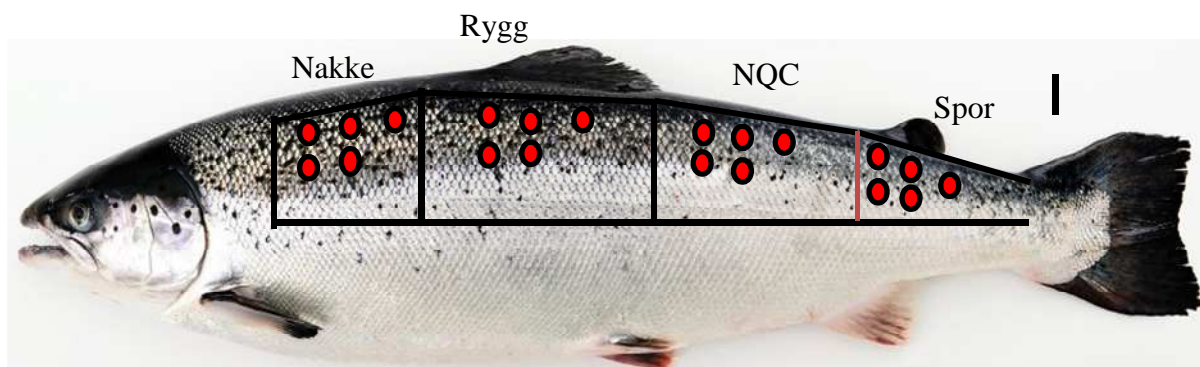
Måling av pH ble utført med et WTW 330i/SET pH-meter (Wissenschaftlich – Technische Werkstätten, Weilheim, Tyskland) utstyrt med en glasselektrode (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Sveits). pH-metere var utstyrt med et termometer og korrigerer automatisk for temperatureffekten på måleelektroden. pH-metere ble kalibrert i henhold til brukermanualen ved en buffertemperatur som tilsvarte temperaturen i prøvemateriale.

Muskel-pH ble målt med tre forskjellige metoder:

- a) Direkte i intakt eller oppmalt muskel (stikkmetode).
- b) I oppmalt fiskemuskel blandet med lik del 0,15 M KCl (modifisert Bendalls metode)
- c) I oppmalt fiskemuskel blandet med lik del av 0,15 M KCl med tilsatt 5 mM natrium iodoacetat i henhold til Bendall (1973) (original Bendalls metode).

3.5 Muskel-pH i ulike deler av oppdrettslaks

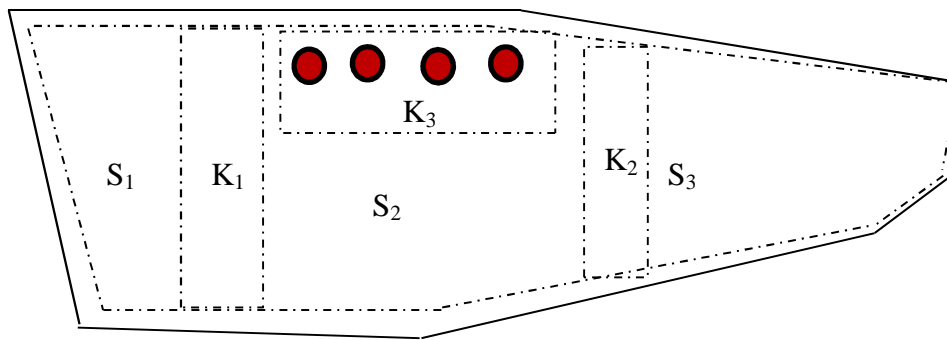
Tolv lakser (rundvekt: 583 ± 210 gram, k-faktor: $1,33 \pm 0,07$) ble slaktet og sløyd som beskrevet i paragraf 3.2 «Råstoff og slaktemetode». Muskel-pH ble målt i fire forskjellige deler av laksen som vist i Figur 10 ved bruk av stikkmetoden. Et lite snitt (ca. 0,5 cm bredt og 1 cm dypt) ble varsomt laget på fisken og måleelektroden ble innført. Målinger av pH ble gjort ved ulike tidspunkt *post mortem* (10 min, 40 min, 2½, 4, 6, 8, 11, 24, 48 og 76 timer). Generell rigortilstand for hele fisken (*pre-rigor*, *in-rigor* eller *post-rigor*) ble også vurdert for hvert tidspunkt.



Figur 10: Områder (nakke, rygg, NQC og spor) for måling av muskel-pH. Sirklene indikerer hvor måleelektroden ble innført i hvert område på begge sider av fisken. NQC = Norsk Kvalitetssnitt (Norwegian Quality Cut).

3.6 Sammenligning av metoder for måling av muskel-pH

For å sammenligne og finne den best passende metoden for måling av pH i *pre-* og *post-rigor* laksemuskel ble stikkmetoden, modifisert Bendalls metode og den originale Bendalls metode benyttet på samme prøvemateriale. Ved bruk av de tre metodene ble muskel-pH i oppmalt laksemuskel og i intakte kontrollstykker målt forskjellige tidspunkt etter oppmaling av muskel. Gjennomsnittsverdier for to paralleller fra samme fisk ble brukt. En laks (690 g) ble slaktet og sløyd som beskrevet i seksjon 3.2 «Råstoff og slaktemetode». Høyrefiletet ble filetert og avskinnnet *pre-rigor* (4 timer pm), og fileten ble kuttet opp i stykker som vist i Figur 11. Resten av fisken ble lagret på is for gjentatt undersøkelse av venstrefiletet i *post-rigor* tilstand (76 timer pm).



Figur 11: Skisse over oppkuttingen av fileten for sammenligning av pH-metoder. Stykkene S1, S2 og S3 ble malt opp med stavmikser i ca. 10 sekunder og brukt for måling av pH ved ulik tidspunkt, mens stykke K1 og K2 ble lagret i intakt form som kontrollstykker frem til oppmaling og måling av pH ved bruk av modifisert Bendalls metode. Stykke K3 ble lagret i intakt form for måling av pH direkte i intakt muskel. De røde sirklene indikerer hvor måleelektroden ble stukket inn.

3.7 Muskel-pH under frysing og tining av *pre-rigor* fileter

Fem lakser (rundvekt: 644 ± 64 gram, k-faktor: $1,21 \pm 0,05$) ble slaktet og sløyd som beskrevet innledningsvis. I *pre-rigor* tilstand (4 timer pm) ble laksene filetert med hånd, avskinnnet og kuttet opp i stykker ($9,8 \pm 1,7$ gram) (Figur 12).

Stykkene fra høyrefiletten ble lagret på is i kjølerom ($2\text{ }^{\circ}\text{C}$) i separerte plastposer med lås (30 x 40 cm), mens stykkene fra venstrefiletten ble frosset inn ved $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ lagret i samme type poser. Målinger av muskel-pH ble gjennomført ved bruk av originale Bendalls metode på tidspunkt 0, 10, 50 og 120 min etter innfrysing ($t_0 = 4$ timer pm). Ved hvert måletidspunkt ble muskelstykkene tilsatt en lik del (w/v) 0,15 M KCl med 5 mM iodoacetat og homogenisert med Ultra Turrax® (IKA T25B, IKA Werke GmbH, Tyskland). Løsningen av KCl og iodoacetat som ble tilsatt de ferske og frosne stykkene hadde en temperatur på henholdsvis 20 og $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, slik at temperaturen etter oppmaling var tilnærmet lik på ca. $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Resten av de frosne stykkene ble lagret i 4 dager på frys ($-30\text{ }^{\circ}\text{C}$) og deretter tint på kjølerom (ca. $2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Videre målinger av muskel-pH ble gjennomført ved tidspunkt 0, 12 og 24 timer etter uttak fra fryser. Ferske og frosne stykker ble undersøkt samtidig. Stykkene ble tilfeldig valgt fra hver pose (posisjon på fileten), men ble fulgt på individ nummer. Kjernetemperaturen i stykkene ble registrert under innfrysing og tining.

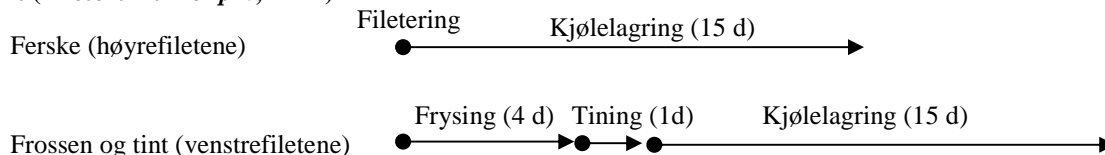


Figur 12: Oppkutting av muskelstykker ($9,8 \pm 1,7$ gram) for måling av muskel-pH.

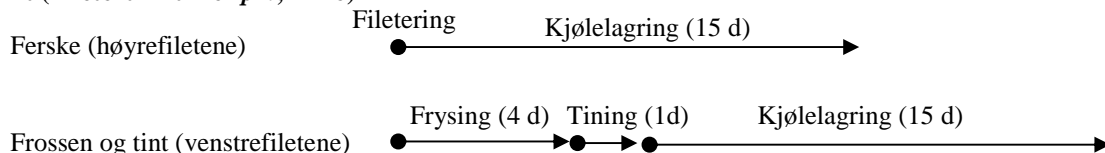
3.8 Fileteringstidspunkt *pre-rigor* og kvalitet av ferske og tinte fileter

Laks (rundvekt: 840 ± 179 gram, k-faktor: $1,19 \pm 0,06$) ble hentet fra Havbruskstasjonen i Skulgambukta i to omganger i uke 5, 2014. Fiskestørrelse og behandling var som tidligere beskrevet. Laksene ble filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (henholdsvis gruppe nr. 2t, 12t og 24t). Gruppe 2t og 24t ble slaktet samme tidspunkt (27/1-14) og gruppe 12t ble slaktet tre dager senere. Etter filetering ble bukbeinene skjært bort, men ellers ble filetene lagret i hel tilstand med skinn på separerte i klare plastposer med lås (30 x 40 cm). Høyrefiletene ble lagret på is i kjølerom (ca. 2 °C). Venstrefiletene ble frosne inn rett etter filetering (-30 °C), fryselaagret i fire dager og tint i en dag (2 °C) (Figur 13). De tinte filetene ble videre lagret på samme måte som de ferske filetene. Ut over lagringsperioden på is ble målinger gjort av vekttap, filetforkortelse, muskel-pH, filetspalting og tekstur.

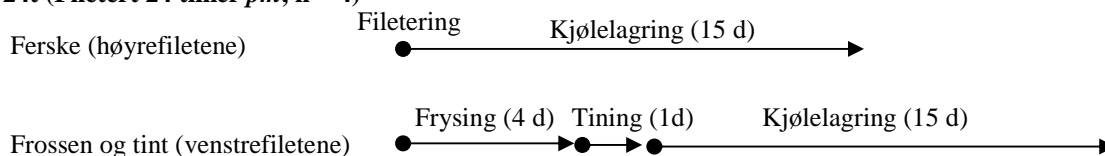
Gruppe 2t (Filetert 2 timer *pm*, n = 4)



Gruppe 12t (Filetert 12 timer *pm*, n = 6)



Gruppe 24t (Filetert 24 timer *pm*, n = 4)



Figur 13: Generelt oppsett av forsøket. Grupper av laks (2t, 12t og 24t) ble filetert henholdsvis 2, 12 og 24 timer *post mortem*. Høyrefiletene ble lagret ferske på is i 15 dager etter filetering. Venstrefiletene ble frosset inn rett etter filetering (-30 °C), fryselagret (4 dager), tint (2 °C, 1 dag) og etterfølgende islagring i 15 dager. Målinger ble gjennomført ut over lagringsperioden på is.

I et separat forsøk ble syv lakser (rundvekt: 949 ± 235 gram, k-faktor: $1,27 \pm 0,09$) slaktet og sløyd som beskrevet i «Råstoff og slaktemetode». Høyre- og venstrefiletene ble filetert av fisken henholdsvis 12 og 24 timer *post mortem*. Filetene ble lagret ferske på is som tidligere beskrevet. Ut over lagringsperioden på is ble målinger gjort av forkortelse og muskel-pH.

3.9 Vekttap og forkortelse

Ved måling ble filetene varsomt tatt ut av posen og plassert på et målebrett, hvor både lengde, vekt, filetpalting og muskel-pH ble målt i samme operasjon. Forkortelse og vekttap av filetene under islagring ble beregnet som prosent av opprinnelig lengde eller vekt.

3.10 Filetspalting

Hver filet ble gitt et spaltingstall (0-3) som beskrevet i Akse *et al.* (2007). Tabell 1 gir en kort beskrivelse av denne poengskala.

Tabell 1: Poengskala som ble brukt i vurderingen av filetspalting (Akse *et al.*, 2007)

Poengskala	Beskrivelse
0	Ingen spalting
1	Begynnende spalting
2	En del spalting, som gir en «løs» filet
3	Mye spalting, meget usammenhengende filet

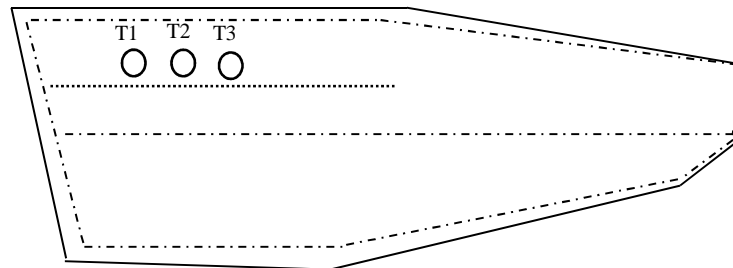
3.11 Teksturmålinger

Det ble gjennomført to teksturforsøk. I første forsøket ble teksturmålinger utført på separerte fisker som var slaktet, filetert og lagret på samme måte som beskrevet i seksjon 3.8. Måletidspunktet var fem dager etter filetering og fem dager etter tining for henholdsvis de ferske og tinte filetene (n = 5 for hvert fileteringstidspunkt).

I det neste forsøket ble kun ferske fileter undersøkt. 14 lakser (rundvekt: 935 ± 155 gram, k-faktor: $1,21 \pm 0,05$) ble slaktet og behandlet som beskrevet i seksjon 3.2 «Råstoff og slaktemetode». Fiskene ble delt opp i to grupper (nr. 1 og 2) med ca. samme størrelsesfordeling. Høyre siden av fiskene i gruppe 1 ble filetert 2 timer pm, og venstre fileten ble filetert 12 timer pm. Høyre og venstre side av fiskene i gruppe 2 ble filetert henholdsvis 12 og 24 timer pm. Filetene ble emballert og islagret som tidligere beskrevet i seksjon 3.8, frem til teksturmålinger ble gjennomført 5 dager etter slakt.

Analyse av filettekstur ble gjennomført instrumentelt (Texture Analyser TA-XT2, Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England) ved å trykke en sylinder med flat ende (12,5 mm diameter, type P/0.5) ned i fileten perpendikulær i forhold til muskelfibrene (Figur 14) med en testhastighet på 1 mm/sekund. Tre parallelle målinger per filet ble gjennomført (T1, T2 og T3 i Figur 14). Instrumentet var utstyrt med en 25 kg lodd og aktiveringskraften ble satt til 5 gram. Høyden på hver filet (prøveområde) ble registrert manuelt ved bruk av en målenål og sylindere ble trykket ned til 90 % av prøvehøyde. Før teksturmålingene ble filetene oppbevart i kjøleskap (4 °C) i en time og for siden å få lik behandling under målingene. Temperaturen ved måletidspunktet var derfor standardisert til ca. 5 °C.

Kraften (Newton, N) som skulle til for å punktere muskelfibrene (bruddstyrken) og kraften som skulle til for å trykke sylindren 5 mm ned i fileten (hardheten) ble avlest ut ifra kraft-tid kurven produsert av instrumentet. Fastheten til filetene ble målt som den totale kraften (kraft x tid) som ble brukt for å nå 60 % av prøvehøyde målt ut fra kraft-tid kurven. (se Figur 8 i bakgrunnskapitlet).



Figur 14: Skisse av hvor teksturmålingene (T1 , T2 og T3) ble gjennomført på laksefiletene. Plasseringen er rett over filetenes pinneben (prikket linje).

3.12 Statistiske analyser

Statistiske analyser ble gjennomført i statistikkprogrammet R med et konfidensnivå på 95 % (p -verdi = 0,05). I forsøk med kun to grupper ble det utført Student t-test for analyse av signifikante forskjeller. Det ble det antatt lik varians for begge gruppene. Denne antakelse ble vurdert som gyldig fordi laksene som ble undersøkt var av samme størrelse og var oppdrettet under samme betingelser (fôr, temperatur, område osv.). For grupper med prøver fra samme individer (for eksempel der effekten av behandling ble målt på høyre og venstre filet av samme fisk) ble det brukt parret Student t-test. Dermed ble variasjonen som skyldes individforskjeller utelukket.

I forsøk med flere enn to grupper (behandlinger eller måletidspunkter) ble ANOVA variansanalyse gjennomført og forskjeller ble rangert ved bruk av TukeyHSD multippel sammenligningstest i R. For grupper med prøver fra samme individer ble toveis ANOVA gjennomført med fisk nummer som blokker. Dermed ble variasjonen som skyldes individforskjeller utelukket.

Forskjeller i spalting ble testet ved bruk av Pearson's Chi-kvadrattest. Forutsetningen om antall observasjoner og forventet fordeling (Lind *et al.*, 2012) var ikke oppnådd i forsøket og testen ble derfor kun brukt til å gi en indikasjon om forskjeller i spaltingstall var signifikante.

4. Resultater

4.1 Sammensetning av laksefiletene

Analysene viste at filetene fra atlantisk laks (rundvekt: 665 ± 56 gram, k-faktor: $1,22 \pm 0,06$) inneholdt 20,3 % protein, 4,9 % fett, 72,7 % vann og 1,7 % aske (Tabell 2)

Tabell 2: Næringsinnhold i skinnfri laksefilet (n = 4)

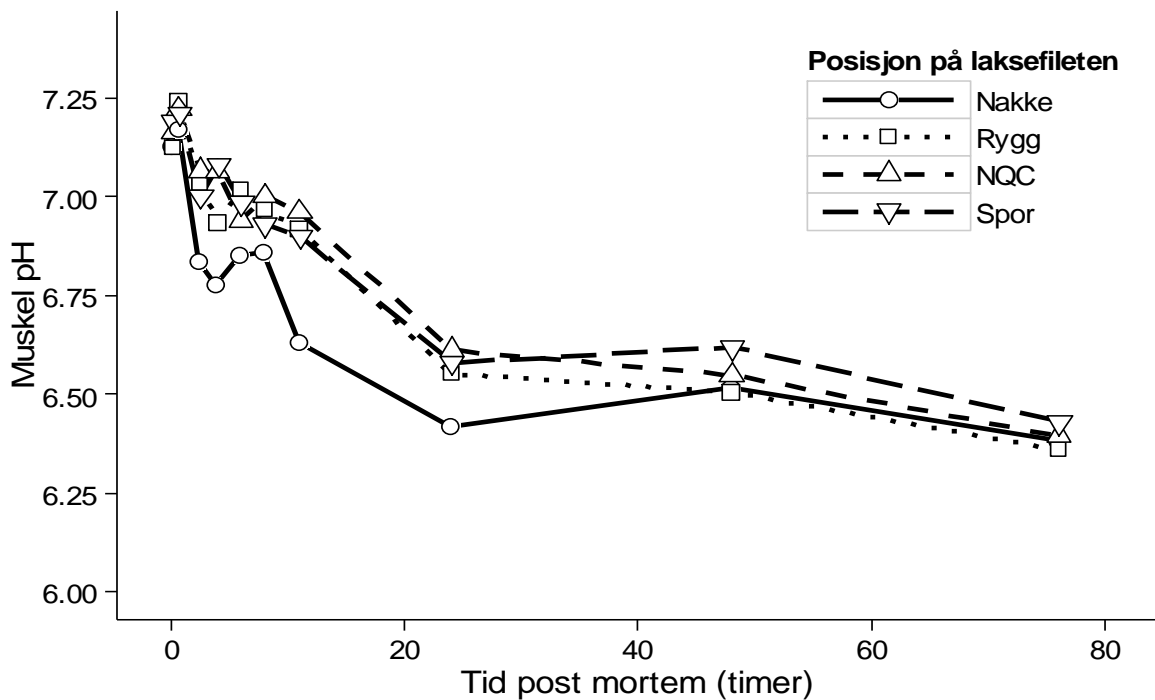
Næringskomponent	Protein	Fett	Vann	Aske
Innhold (%*)	$20,3 \pm 0,4$	$4,9 \pm 1,2$	$72,7 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,2$

* Verdier er oppgitt som gjennomsnitt \pm standardavvik

4.2 Muskel-pH i ulike deler av oppdrettslaks

I dette forsøket ble muskel-pH målt i fire ulike deler av laksefileten ved bruk av stikkmetode. Første måling ble gjennomført 10 min *post mortem* og deretter ved ulike tidspunkt til 76 timer pm. Ved første måletidspunkt ble pH bestemt til 7,15 i gjennomsnitt for alle fire målepunktene. I alle fire områdene av fileten ble pH redusert og ved 24 timer pm var den i gjennomsnitt 6,54. Etter 76 timer var pH 6,39. Det ble også observert en stabilisering i pH mellom 2,5 og 10 timer pm med pH lik 7,0 - 6,8 (Figur 15). Utviklingen i muskel-pH for de ulike områdene på laksen viste samme tendens med fallende pH, men muskel-pH i nakkeområdet var generelt lavere enn i de andre områdene, spesielt i det første døgnet *post mortem*.

Rett etter slakt (10 og 40 min pm) ble det ikke funnet noen signifikant forskjell ($p < 0,05$) i muskel-pH mellom de ulike posisjonene på laksefileten. I perioden fra 2,5 til 24 timer *post mortem* hadde nakkeparti signifikant lavere pH enn NQC med unntak for 6 timer pm (Tabell 3). Ved måling 11 og 24 timer pm hadde nakkepartiet signifikant lavere pH enn de andre målepunktene. *Post-rigor* (76 timer pm) var det ingen signifikant forskjell i muskel-pH mellom de ulike områdene på fileten.



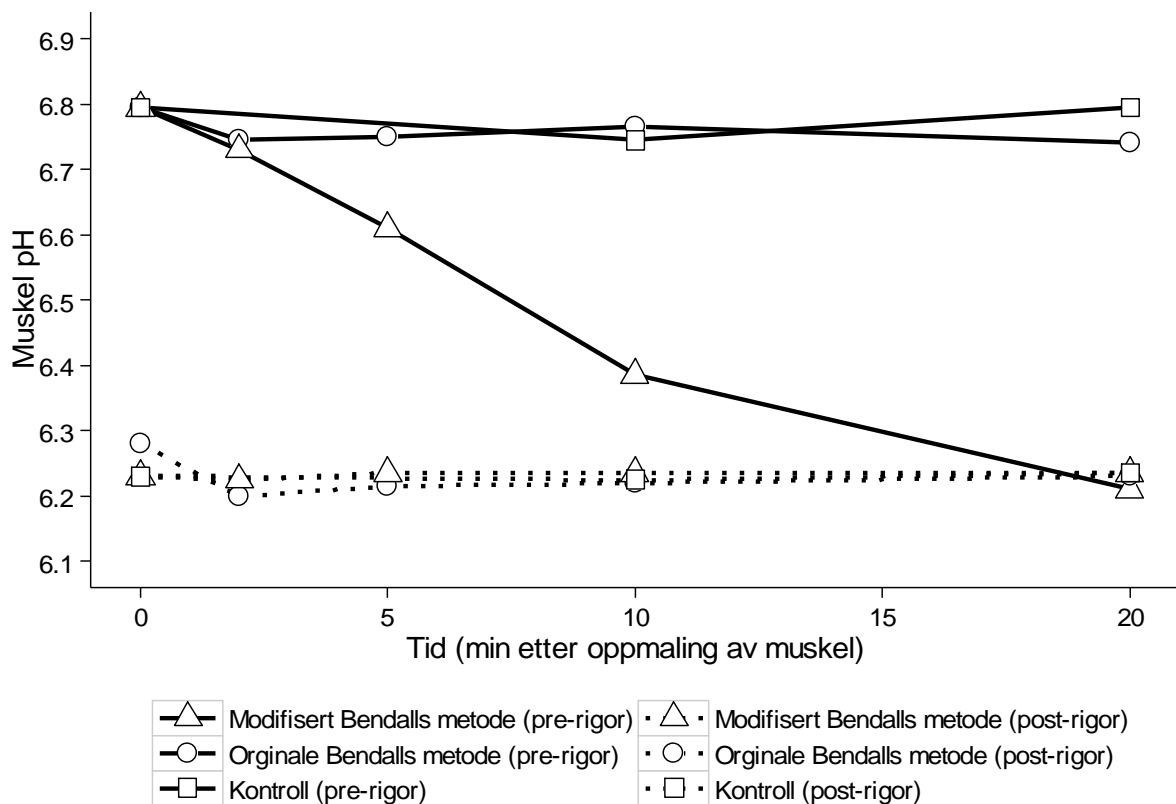
Figur 15: Utviklingen i muskel-pH for ulike områder på fersk islagret oppdrettslaks over tid. Verdier er oppgitt som gjennomsnittlig muskel-pH (n = 12). NQC = Norsk Kvalitetssnitt.

Tabell 3: Muskel-pH i ulike deler av fersk kjølelagret oppdrettslaks (n = 12) ved forskjellig tidspunkt *post mortem*. Verdier er oppgitt som gjennomsnittlig pH ± standardfeil. Signifikant forskjell (p < 0,05) mellom ulike deler av fileten for hvert måletidspunkt er indikert med ulike små bokstaver.

Tid <i>post mortem</i>	Nakke	Rygg	NQC	Spor
10 min	7,13 ± 0,05 ^a	7,12 ± 0,03 ^a	7,16 ± 0,16 ^a	7,19 ± 0,06 ^a
40 min	7,17 ± 0,05 ^a	7,24 ± 0,05 ^a	7,22 ± 0,05 ^a	7,21 ± 0,05 ^a
2,5 timer	6,84 ± 0,06 ^a	7,04 ± 0,05 ^{ab}	7,07 ± 0,03 ^b	7,00 ± 0,06 ^{ab}
4 timer	6,78 ± 0,06 ^a	6,93 ± 0,08 ^{ab}	7,06 ± 0,06 ^b	7,08 ± 0,06 ^b
6 timer	6,85 ± 0,05 ^a	7,02 ± 0,04 ^b	6,94 ± 0,06 ^{ab}	6,98 ± 0,04 ^{ab}
8 timer	6,86 ± 0,07 ^a	6,97 ± 0,07 ^{ab}	7,00 ± 0,05 ^b	6,93 ± 0,06 ^{ab}
11 timer	6,63 ± 0,06 ^a	6,92 ± 0,07 ^b	6,96 ± 0,05 ^b	6,90 ± 0,04 ^b
24 timer	6,42 ± 0,04 ^a	6,55 ± 0,04 ^b	6,61 ± 0,06 ^b	6,58 ± 0,05 ^b
48 timer	6,52 ± 0,05 ^a	6,50 ± 0,03 ^a	6,55 ± 0,04 ^{ab}	6,62 ± 0,06 ^b
76 timer	6,38 ± 0,03 ^a	6,36 ± 0,05 ^a	6,39 ± 0,05 ^a	6,43 ± 0,04 ^a

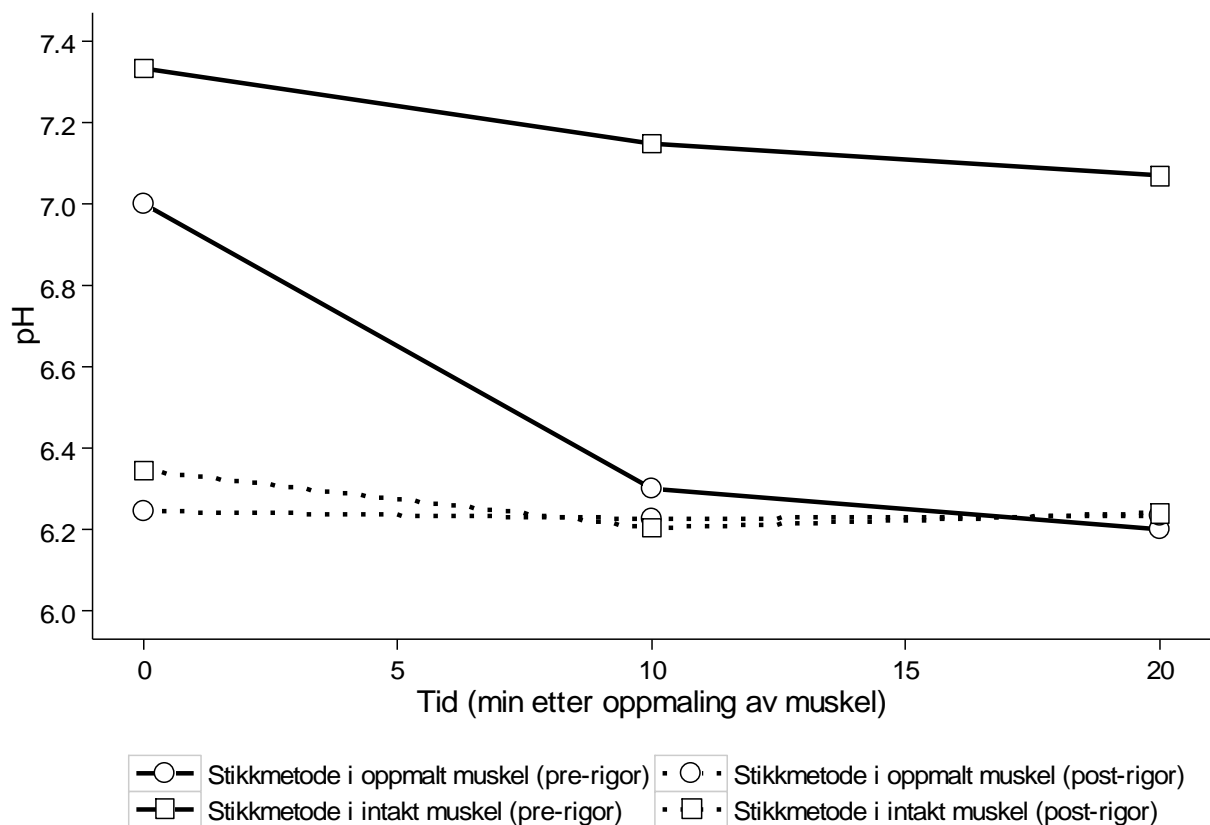
4.3 Sammenligning av metoder for måling av muskel-pH

For å vurdere den beste metoden for måling av muskel-pH i *pre-* og *post-rigor* laksemuskel ble stikkmetode, modifisert Bendalls metode og original Bendalls metode benyttet på samme prøvemateriale. Den første figuren (Figur 16) sammenligner bruk av de to variantene av Bendalls metode. Ved tidspunkt null ble oppmalt laksemuskel blandet 1:1 (w/v) med 0,15 M KCl (modifisert Bendalls metode) eller blandet 1:1 (w/v) med 0,15 M KCl tilsatt 5 mM natrium iodoacetat (original Bendalls metode). Ved bruk av modifisert Bendalls metode ble det funnet en betydelig og rask reduksjon i pH rett etter oppmaling av *pre-rigor* laksemuskel. I den oppmalte muskelen falt pH fra 6,8 rett etter oppmaling ned til 6,39 og 6,21 etter henholdsvis 10 og 20 min (Figur 16). Den originale Bendalls metode med iodoacetat hadde ikke dette fall i pH i den samme perioden. Kontrollstykkene som var lagret i intakt form helt frem til måletidspunktene, der oppmaling og måling skjedde på samme tid, hadde også en stabil pH (Kontroll *pre-rigor*). For *post-rigor* laksemuskel var ingen forskjell på modifisert og original Bendalls metode (Figur 16).



Figur 16: Utvikling i pH over tid rett etter oppmaling av *pre-rigor* (heltrukket linje) og *post-rigor* (stiplet linje) laksemuskel. Tidspunkt null er tidspunkt for oppmaling og blanding 1:1 (w/v) med 0,15 M KCl (modifisert bendalls metode) eller blanding 1:1 (w/v) med 0,15 M KCl tilsatt 5 mM iodoacetate (original Bendalls metode). Kontroll er pH i muskel lagret i intakt form fram til måletidspunkt, der modifisert Bendalls metode ble brukt. Alle målinger er gjort på samme fisk.

Ved måling av pH direkte i oppmalt muskel med stikkmetode ble det registrert en lignende reduksjon fra pH 7,00 rett etter oppmaling til 6,30 og 6,20 etter henholdsvis 10 og 20 min (Figur 17). Ved måling av pH direkte i muskel ble det registrert høyere pH enn ved bruk av Bendalls metode. Målingene med stikkmetoden varierte mye mellom de to parallellene, samtidig som pH hadde vanskelig å stabilisere seg under målingene. Dette var ikke et problem med den modifiserte eller orginale Bendalls metoden. I *post-rigor* tilstand hadde oppmaling ingen effekt på muskel-pH og da var det også liten forskjell mellom målemetodene.

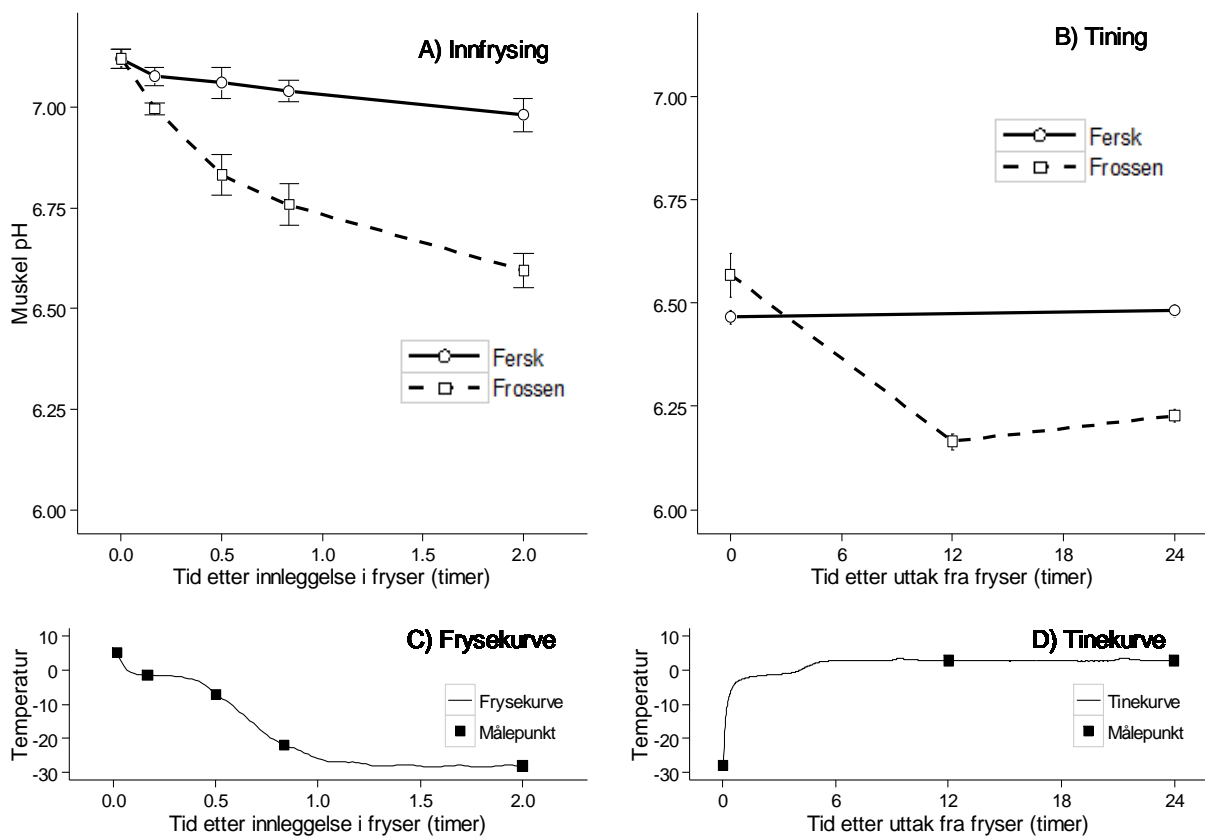


Figur 17: Utvikling i pH over tid rett etter oppmaling av *pre-rigor* (heltrukke linje) og *post-rigor* (stiplet linje) laksemuskel målt ved bruk av stikkmetoden. Figuren viser også pH-utviklingen i et stykke av intakt muskel (Stikkmetode i intakt muskel). Alle målinger er gjort på samme fisk.

4.4 Muskel-pH under innfrysing og tining av *pre-rigor* laksefileter

I dette forsøket ble pH målt i stykker av laksemuskel under innfrysing og ved tining som beskrevet i punkt 3.7 i «Materialer og metoder». Første måling ble gjennomført ved innleggelse i fryser og deretter ved ulike tidspunkt frem til to timer etter innfrysing. Etter fire dagers fryselaagring ble målinger gjennomført 0, 12 og 24 timer etter uttak fra fryser. Som kontroll ble pH også målt i fersk lagret filet. Under innfrysing ble det registrert en rask

reduksjon i muskel-pH fra 7,12 ved innleggelse i fryser (2 °C i laksestykkene) til pH 6,59 etter to timers innfrysing (-29 °C i laksestykkene). Raskeste reduksjonen ble registrert de første 30 minuttene, som tilsvarer perioden der kjernetemperaturen i laksestykkene falt fra 2 °C til minus 7,1 °C (Figur 18A og 18C). Etter fire døgn fryselagring ble muskel-pH målt til 6,57, det såkalte tidspunkt 0 ved tining (Figur 18B). Under tining falt pH raskt til 6,17 etter 12 timers tining på kjølerom (2 °C). 24 timer etter uttak fra fryser var muskel-pH 6,23. Muskel-pH på de ferske stykkene falt fra 7,12 til 6,98 etter to timers lagring på is. Fallet i pH fortsatte under videre lagring og var nede på 6,47 etter 4 dager (nulltidspunkt Figur 18B). Ingen endring i muskel-pH ble registrert det neste døgnet.



Figur 18: Utviklingen av muskel-pH under innfrysing (A) og under tining etter 4 dager fryselagring (B) for stykker av oppdrettslaks (stiplet linje). Utviklingen for ferske stykker lagret på is i tilsvarende tid er også vist (heltrukket linje). Verdier er oppgitt som gjennomsnittlig muskel-pH ($n = 5$) \pm standardfeil. Figuren viser også temperaturutviklingen i laksestykkene under innfrysing (C) og tining (D) med indikerte måletidspunkter.

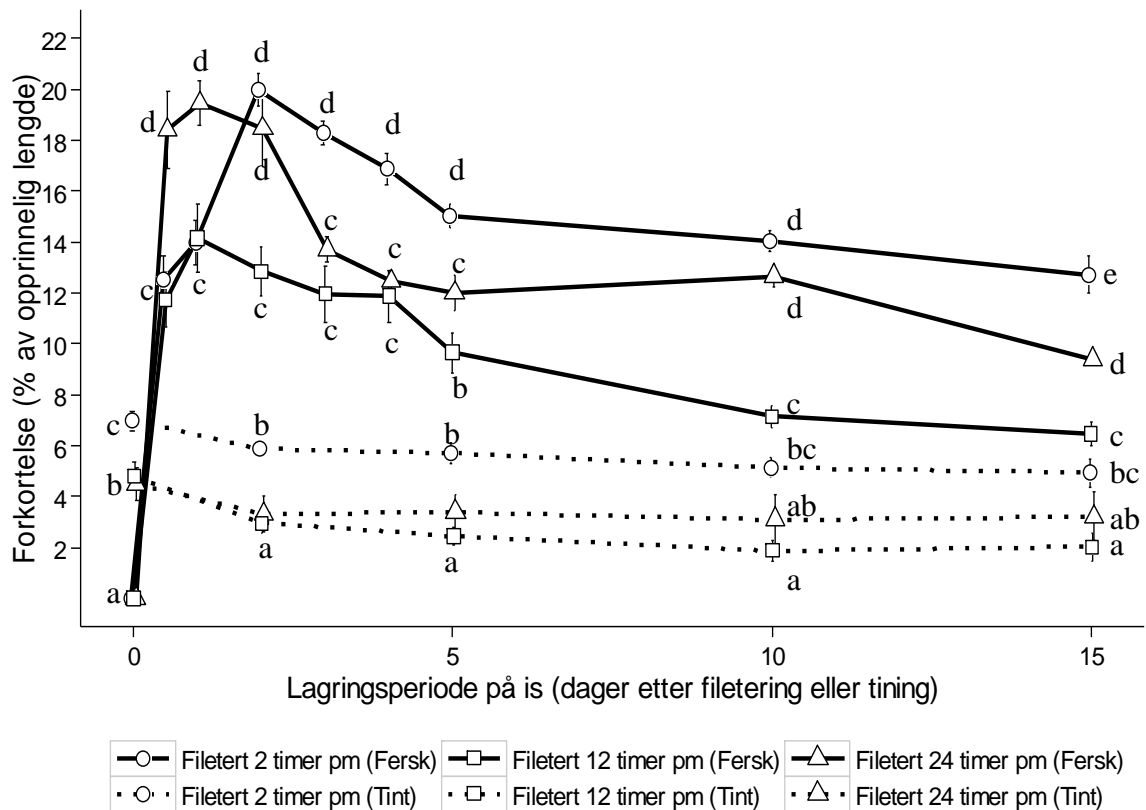
4.5 Fileteringstidspunkt *pre-rigor* og kvalitet av ferske og tinte fileter

I dette forsøket ble effekten av tre ulike fileteringstidspunkt (2, 12 og 24 timer *post mortem*) undersøkt på ferske og tinte fileter laksefileter som beskrevet i seksjon 3.8. Ut over lagringsperioden på is ble målinger av vekttap, forkortelse, muskel-pH, filetpalting og tekstur gjennomført.

4.5.1 Forkortelse av filetene

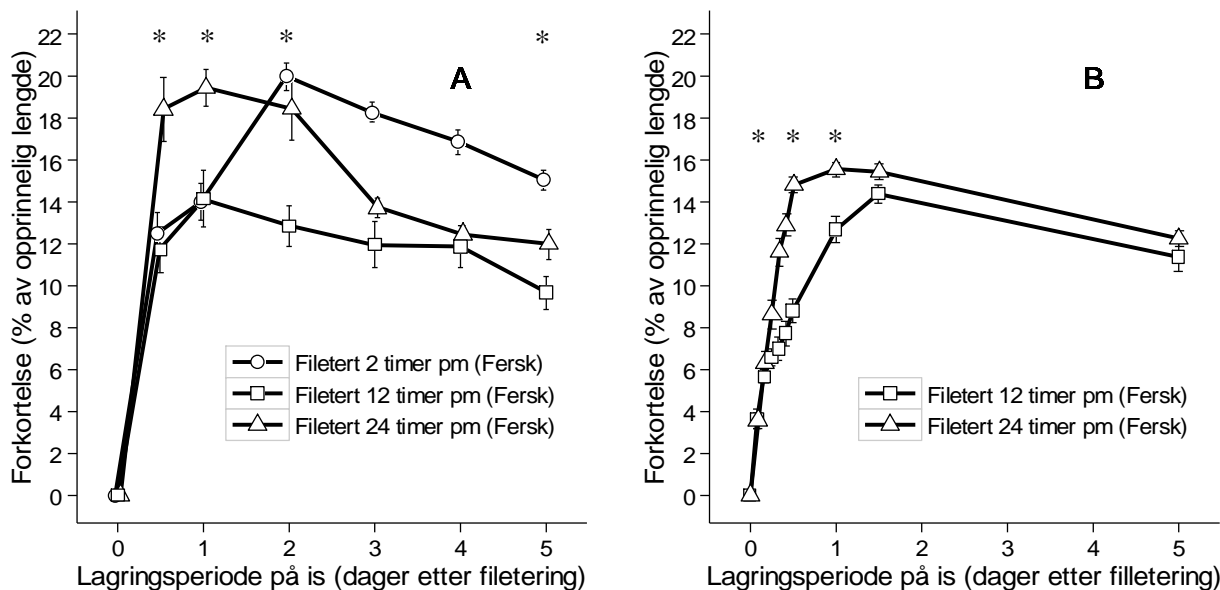
Ferske filetene fikk en kraftig sammentrekning den første tiden etter filetering for siden å utvide seg litt igjen i løpet av lagringsperioden på is (Figur 19). Filetene som var filetert 2 og 24 timer *post mortem* (gruppe 2t og gruppe 24t) hadde størst sammentrekning på henholdsvis 20,0 og 19,5 % av opprinnelige lengde ved filetering. Gruppe 24t utvidet seg litt mer enn gruppe 2t under videre lagring. Filetene som var filetert 12 timer *post mortem* (gruppe 12t) hadde en maksimal sammentrekning på 14,2 %, og sammentrekningen var signifikant ($p < 0,05$) lavere enn både gruppe 2t og 24t ved tidspunkt 2, 5, 10 og 15 dager etter filetering. Maksimal forkortelse av de ferske filetene produsert 12 og 24 timer pm ble registrert ved dag 1 etter filetering. Filetene produsert 2 timer pm fikk oppnådd maksimal forkortelse 2 dager etter filetering. Disse utvidet seg minst i løpet av lagringsperioden. Etter en lagringsperiode på 15 dager på is var sammentrekningen for gruppe 2t, 12t og 24t henholdsvis 12,7 %, 6,5 % og 9,4 %.

De frosne og tinte filetene hadde en signifikant lavere sammentrekning enn de ferske filetene (Figur 19). Under fryse- og tineperioden hadde gruppe 2t, 12t og 24t en sammentrekning på henholdsvis 7,0 %, 4,8 % og 4,5 %. Undersøkelser av noen andre fileter av samme størrelse og under samme tinebetingelser viste at ca. 95 % av sammentrekningen under fryse- og tineperioden ble observert under tining (resultat ikke vist). De tinte filetene utvidet seg kun en liten del i løpet av lagringsperioden på is (Figur 19).



Figur 19: Filetforkortelse for grupper av oppdrettslaks filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (pm) med to ulike lagringsformer etter filetering. Lagret fersk på is ved ca. 2 °C (heltrukket linje) og lagret frossen (-30 °C) i fire dager etterfulgt av 24 timers tining på kjølerom (ca. 2 °C) (stiplet linje). Nulltidspunkt tilsvarer fileteringstidspunkt for ferske filetene og etter tineperioden for de frosne/tinte filetene. Verdier er oppgitt som gjennomsnittsverdier ± standardfeil. Signifikante forskjeller mellom de seks gruppene er indikert med ulike små bokstaver for hvert måletidspunkt.

Det var litt uventet at de ferske filetene i gruppe 12t hadde lavere sammentrekning enn gruppe 24t over hele lagringsperioden (Figur 19 og Figur 20A). For å bekrefte denne sammenhengen ble et separert forsøk gjort med ferske fileter der fileteringstidspunkt var 12 og 24 timer *post mortem* for henholdsvis høyre og venstre side av samme fisker. Her ble det igjen funnet mer forkortelse for gruppe 24t, men forskjellen var kun signifikant det første døgnet etter filetering (Figur 20B). Utviklingen i filetforkortelse for gruppe 12t i det første forsøket (Figur 20A) var veldig lik utviklingen for samme gruppe i det andre forsøket (Figur 20B), med en maksimal sammentrekning på henholdsvis 14,3 og 14,4 %. Etter 5 dager islagring var sammentrekningen redusert til 9,7 og 11,4 % for henholdsvis første og andre forsøket. Maksimale sammentrekningen for gruppe 24t var derimot en del høyere i det første forsøket (19,5 %) enn i det andre forsøket (15,5 %). Etter fem dager islagring var forkortelsen mer lik på 12,0 og 12,2 % for henholdsvis første og andre forsøket.

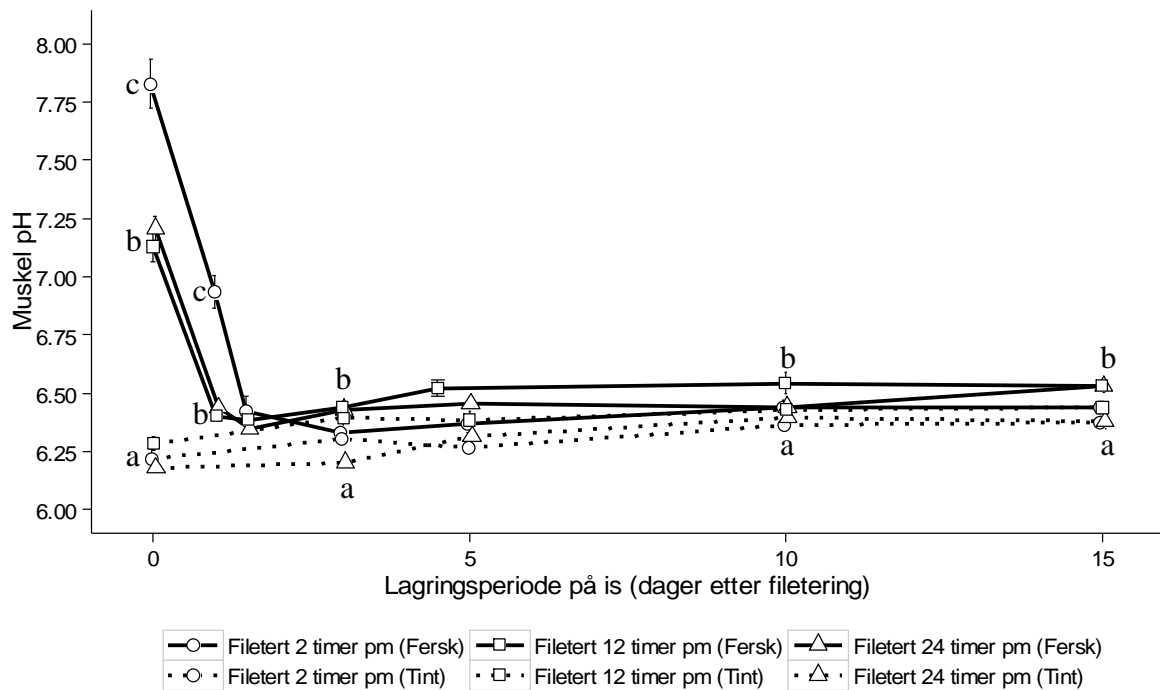


Figur 20: Filetforkortelse ut over lagringstid på is for grupper av oppdrettslaks filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (pm). Nulltidspunkt tilsvarer fileteringstidspunkt. Resultater fra opprinnelige forsøket (A) og gjentatte forsøket (B). Verdier er oppgitt som gjennomsnittsverdier ± standardfeil (n = 4, 6 og 4 for henholdsvis gruppe 2, 12 og 24 timer). Signifikante forskjeller (p < 0,05) mellom filetene filetert 12 og 24 timer *pm* er indikert med * for hvert måletidspunkt.

Figur 20B viser også at filetene produsert 24t pm har oppnådd bortimot maksimal kontraksjon allerede 24 timer etter filetering, mens tilsvarende tidspunkt for 12t filetene var 36 timer etter filetering.

4.5.2 Utviklingen av muskel-pH

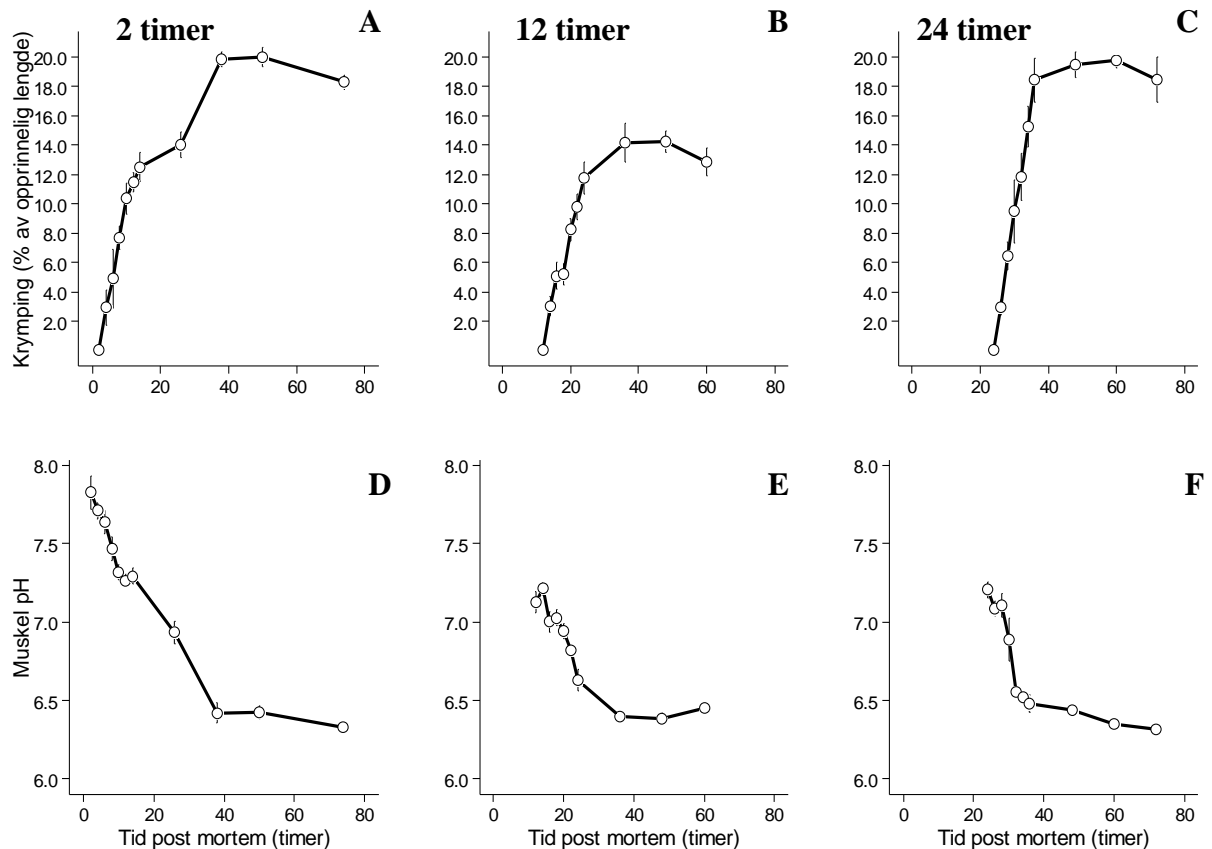
Rett etter filetering ble muskel-pH målt til 7,83, 7,13 og 7,13 for henholdsvis gruppene filetert 2, 12 og 24 timer pm (Figur 21). Etter filetering falt muskel-pH raskt for alle de tre fersk filetgruppene og minimum (endelig) pH på 6,35-6,42 ble oppnådd 24 timer etter filetering for gruppene filetert 12 og 24 timer pm. For gruppen filetert 2 timer pm ble endelig pH registrert 36 timer etter filetering. Deretter holdt pH seg relativt stabil utover lagringsperioden (Figur 21). Rett etter tining hadde de tinte filetene en muskel-pH på 6,22, 6,28 og 6,18 for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t. Ut over lagringsperioden holdt muskel-pH seg stabil med en svak økning til pH 6,38- 6,44 etter 15 dagers islagring.



Figur 21: Utviklingen i muskel-pH for grupper av oppdrettslaks filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (pm) med to ulike lagringsformer etter filetering. Lagret fersk på is ved ca. 2 °C (heltrukket linje) og lagret frosnen (-30 °C) i fire dager etterfulgt av 24 timers tining på kjølerom (ca. 2 °C) (stiplet linje). Nulltidspunkt tilsvarer fileteringstidspunkt for ferske filetene og etter tineperioden for de frosne/tinte filetene. Verdier er oppgitt som gjennomsnittsverdier ± standardfeil (n = 4, 6 og 4 for henholdsvis gruppe 2, 12 og 24 timer). Signifikante forskjeller er indikert med ulike små bokstaver for hvert måletidspunkt.

4.5.3 Muskel-pH i forhold til filetforkortelse

For å oppsummere resultatene ble krymping (forkortelse) og pH-utvikling i filetene relatert til slaktetidspunkt (Figur 22). Filetene som var filetert 2 timer *post mortem* (gruppe 2t) hadde høyst muskel-pH ved filetering, men pH reduserte raskt fra 7,83 ved filetering ned til pH 7,32 ti timer *post mortem*. Her skjedde det en stabilisering og pH holdt seg på dette nivået i 4-6 timer, for deretter å redusere relativt jevnt ned til 6,42 ved 38 timer pm, og videre flate ut (Figur 22D).



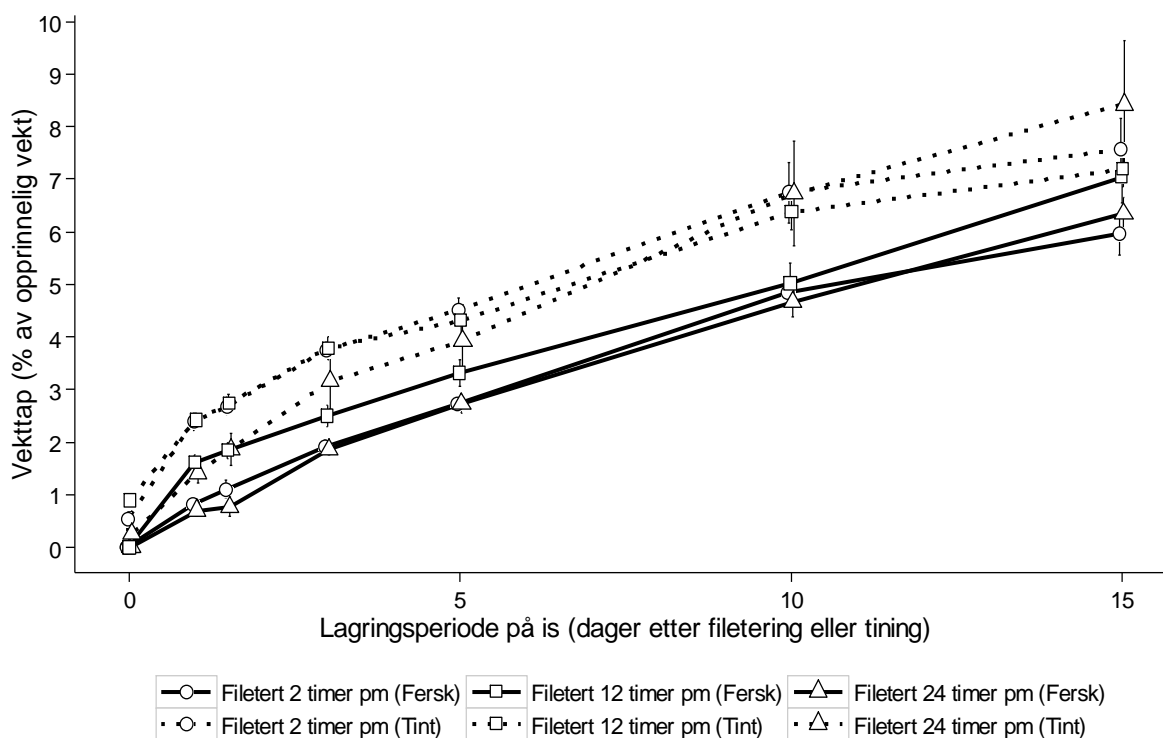
Figur 22: Utvikling i filetforkortelse og muskel-pH i ferske oppdrettslaksfileter som er filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* med etterfølgende lagringsperiode på is. Nulltidspunktet tilsvare slaktetidspunkt. Verdier er oppgitt som gjennomsnittsverdier \pm standardfeil (n = 4, 6 og 4 for henholdsvis gruppe 2, 12 og 24 timer).

Filetene som var filetert 12 timer *post mortem* (gruppe 12t) hadde ved filetering en muskel-pH på 7,13 som reduserte ned til 6,40 ved 36 timer pm, for siden å flate ut (Figur 22E). Økningen i filetforkortelsen korrelerte også godt med reduksjonen i muskel-pH (Figur 22B og E). Maksimum kontraksjon (14,2 %) og minimum muskel-pH (6,40) ble registrert ved samme måletidspunkt.

Filetene som var filetert 24 timer *post mortem* (gruppe 24t) hadde ved filetering en muskel-pH på 7,21, men dette falt veldig raskt og 12 timer etter filetering (36 timer pm) var muskel-pH nede på 6,48. Deretter falt pH sakte og nådde et minimum på 6,35 ved 36 timer etter filetering (60 timer pm) (Figur 22F). Filetforkortelsen økte også veldig raskt opp til 18,4 % 12 timer etter filetering, for siden å flate ut og nå maksimum (19,8 %) 36 timer etter filetering (60 timer pm). En viktig observasjon er hastigheten på krympingen for filetene produsert ved de ulike tidspunktene etter slakting. For filetene produsert 2, 12 og 24 timer *post mortem* foregikk selve krympingen i løpet av henholdsvis 36, 28 og 16 de første timene etter filetering.

4.5.4 Væsketap

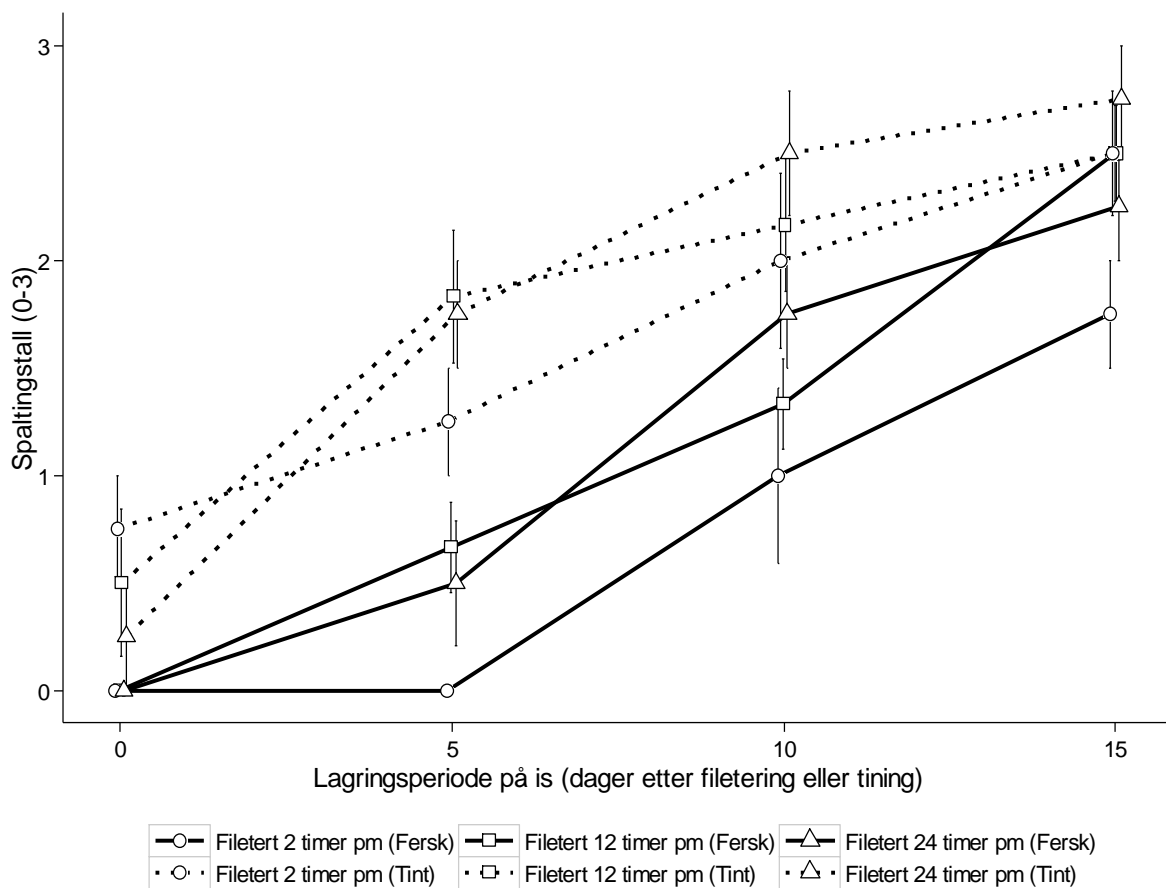
Væsketapet i de ferske filetene økte jevnt utover lagringsperioden etter filetering og etter 15 dagers islagring var væsketapet 6,0, 7,0 og 6,3 % for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t (Figur 23). Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell i væsketap mellom de tre gruppene. Væsketapet for de tinte filetene økte også stabilt utover lagringsperioden etter tining, og var generelt litt høyere enn væsketapet for de ferske filetene (Figur 23). Etter 15 dager islagring var væsketapet på de tinte filetene 7,6, 7,2 og 8,4 % for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t. Forskjellen i væsketap mellom de ferske og tinte var signifikant for de fleste tidspunkt. For tinte filetene ble det ikke funnet noen signifikant forskjell som skyldes fileteringstidspunkt.



Figur 23: Vekttap for oppdrettslaks filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (pm) med to ulike lagringsformer etter filetering. Lagret fersk på is (heltrukket linje) og lagret frossen (-30 °C) i fire dager etterfulgt av 24 timers tining på kjølerom (ca. 2 °C) og deretter lagret på is (stiplet linje). Nulltidspunkt tilsvarer fileteringstidspunkt for ferske filetene og etter tineperioden for de frosne/tinte filetene. Verdier er oppgitt som gjennomsnittsverdier ± standardfeil (n = 4, 6 og 4 for henholdsvis gruppe 2, 12 og 24 timer).

4.5.5 Filetspalting

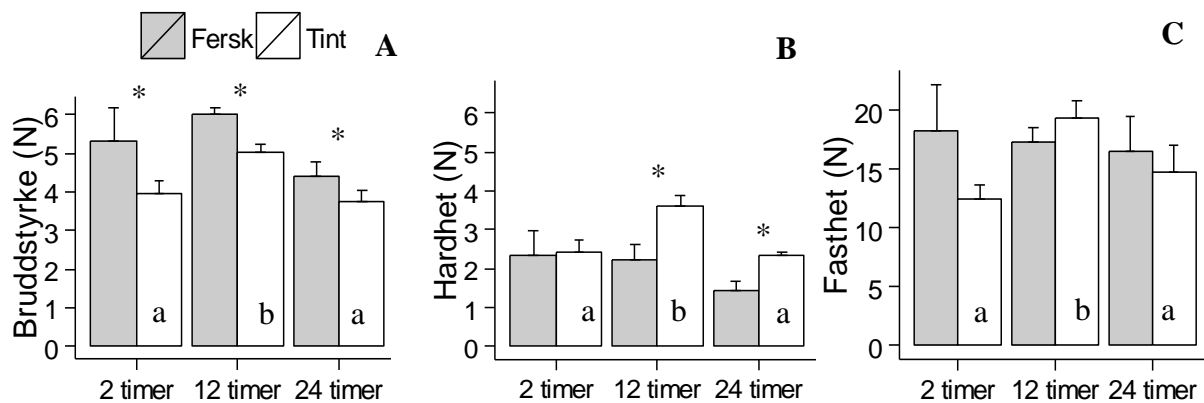
Gjennomsnittlig filetspalting for de ferske filetene økte fra null ved fileteringstidspunkt opp til spaltingstall 1,75, 2,5 og 2,25 for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t etter 15 dager islagring (Figur 24). Filetene som var filetert 2 timer *post mortem* hadde lavest spaltingstall, men forskjellen var ikke signifikant. De tinte filetene hadde mer filetspalting enn de ferske. Gjennomsnittlige spaltingstallene for de tinte filetene økte også utover lagringsperioden fra 0,25-0,75 ved fileteringstidspunkt til 2,5-2,75 etter 15 dager islagring. For de tinte filetene hadde gruppe 2t lavest spaltingstall etter 5, 10 og 15 dagers islagring (Figur 24), men forskjellen var ikke signifikant.



Figur 24: Utviklingen i gjennomsnittlig spaltingstall (0-3) ved islagring av ferske og tinte laksefileter som var filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (pm). Verdier er oppgitt som gjennomsnittverdier \pm standardfeil (n = 4, 6 og 4 for henholdsvis gruppe 2, 12 og 24 timer).

4.5.6 Tekstur

I dette forsøket ble teksturmålinger utført på laksefileter som var filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* (henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t). Høyrefiletene var lagret på ferske på is, mens venstrefiletene var frossen og tint som beskrevet i seksjon 3.8. Måletidspunktet var henholdsvis 5 dager etter filetering og 5 dager etter tining. De ferske filetene hadde en bruddstyrke (Newton, N) på 5,3, 6,0 og 4,4 N for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t (Figur 25A). Individvariasjonen var relativ stor og det ble ikke funnet noen signifikant ($p < 0,05$) forskjell som skyldes fileteringstidspunktet. For de tinte filetene var bruddstyrken 4,0, 5,0 og 3,8 N for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t. Individvariasjonen var litt lavere enn for de ferske filetene og gruppe 12t hadde signifikant høyere bruddstyrke enn gruppe 2t og 24t. De tinte filetene hadde signifikant lavere bruddstyrke enn de ferske filetene for alle gruppene.



Figur 25: Bruddstyrke (A), hardhet (B) og fasthet (C) til laksemuskel i fileter som er filetert ulik tidspunkt etter slakt (2, 12 og 24 timer *post mortem*) og deretter lagret enten i fersk tilstand på is eller først fryst og tint med etterfølgende lagring på is. Måletidspunkt er 5 dager etter fileteringstidspunktet og 5 dager etter tining for henholdsvis ferske og tinte filetene. Verdiene er uttrykket som gjennomsnittlig kraft (Newton, N) \pm standardfeil ($n = 5$). Signifikante forskjeller ($p < 0,05$) mellom de ferske og tinte fileter er indikert med asteriks (*) og mellom fileteringstidspunkt med ulike små bokstaver.

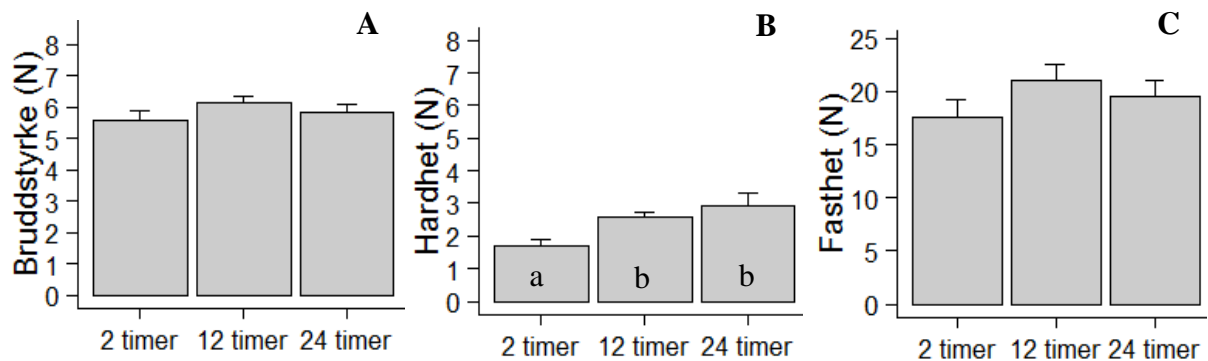
Hardheten på de ferske filetene var 2,3, 2,2 og 1,5 N for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t, og selv om gruppe 2t hadde høyest hardhet, var denne forskjellen ikke signifikant (Figur 25B). De tinte filetene hadde en hardhet på 2,4, 3,5 og 2,4 for henholdsvis 2t, 12t og 24t, hvor gruppe 12t hadde signifikant høyere hardhet enn de andre. De tinte filetene fra gruppe 12t og 24t hadde også signifikant høyere hardhet enn de ferske filetene fra samme grupper.

Fastheten til de ferske filetene var 18,3, 17,4 og 16,6 N for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t, mens tilsvarende verdier på de tinte filetene var 12,5, 20,3 og 14,8 (Figur 25C). Det ble observert relativ stor individvariasjon og det ble kun påvist signifikant forskjell mellom de

tinte filetene fra gruppe 2t og 12t. De tinte filetene fra gruppe 2t og 24t hadde bløtere muskel enn de ferske filetene, men denne forskjell var ikke signifikant.

Nytt forsøk med fileteringstidspunkt 2, 12 og 24 timer *post mortem*

I dette forsøket ble 14 fisk filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem* og lagret ferske på is til 5 dager etter slaktetidspunkt, da instrumentell måling av bruddstyrke, hardhet og fasthet ble gjennomført. Det ble ikke registrert noen store forskjeller i teksturmålingene mellom de tre fileteringstidspunktene. Filetene som var filetert 12 timer *post mortem* hadde litt høyere bruddstyrke og fasthet enn gruppe 2t og 24t, men ingen signifikant forskjell ble registrert (Figur 26). Gruppe 12t og 24t hadde signifikant høyere hardhet enn gruppe 2t.



Figur 26: Bruddstyrke (A), hardhet (B) og fasthet (C) for ferske oppdrettslaksfileter filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem*. Måletidspunkt er 5 dager *post mortem*. Verdiene er uttrykket som gjennomsnittlig kraft (Newton, N) \pm standardfeil (n = 7, 14 og 7 for henholdsvis 2, 12 og 24 timer). Signifikante forskjeller mellom fileteringstidspunkt er indikert med ulike små bokstaver.

5. Diskusjon

Innledningsvis ble kjemiske sammensetningen i den brukte laksen undersøkt. Fettinnholdet i laksefiletene ble funnet å være lavt (4,9 %) noe som er mye lavere enn vanligvis blir funnet i slakteklar oppdrettslaks (Akse *et al.*, 2007; Jensen *et al.*, 2012). Laksene som ble undersøkt var små, og det er vel kjent fra lærebøker at større laks har i gjennomsnitt høyere fettinnhold enn små laks (Espe & Lie, 2001). Fôr til laksesmolt inneholder relativt høy andel av protein og tilsvarende mindre andel fett i forhold til fôr til større laks. Dette gjøres for å stimulere vekst fremfor «oppfetting» (Skretting, 2012), noe som også ses igjen i muskelsammensetningen. Innholdet av vann i de små laksefiletene var tilsvarende mye høyere enn i stor laks rapportert av både Akse *et al.* (2007) og Jensen *et al.* (2012). Det er godt kjent at innholdet av fett og vann i muskel er negativt korrelert og typisk utgjør ca. 80 % av fiskemuskel (Huss, 1995; Strasburg *et al.*, 2007). Dette stemmer godt overens med resultatene som ble funnet. Proteininnholdet i de små laksefiletene var på samme nivå som blant annet Akse *et al.* (2007) og Jensen *et al.* (2012) påviste for slakteklar laks.

Muskel-pH i ulike deler av oppdrettslaks

Muskel-pH i ulike deler av oppdrettslaks ble undersøkt over en lagringsperiode på is. Dette forsøket ble gjort av hovedsakelig to årsaker. Først og fremst ga dette kunnskap som kunne brukes i senere forsøk der muskel-pH skulle måles, og dermed kunne et forbedret forsøksoppsett gjøres og mulige feilkilder kunne minimeres. Ved prosessering av laksefileter i porsjonsstykker kan en variasjon i muskel-pH mellom ulike deler av fileten også ha kvalitetsmessig betydning.

Rett etter slakt ble det observert en rask reduksjon i det gjennomsnittlige muskel-pH for alle de ulike områdene på fisken fra pH 7,15 til 6,54 (Figur 15). Den raske nedgangen i muskel-pH stemmer godt overens med resultater fra blant annet Mørkøre *et al.* (2008) og Einen *et al.* (2002), selv om muskel-pH ved første måling dog var litt høyere i mine undersøkelser. Denne høye muskel-pH kan være et tegn på at laksen har vært lite stresset før og under slakt (Skjervold *et al.*, 2001a; Mørkøre *et al.*, 2008). Det ble også observert en stabilisering i pH på rundt 6,8-7,0 mellom 2,5 og 10 timer *post mortem*. Denne stabiliseringen er også observert for ustresst laks som ved slaktetidspunktet hadde en pH over 7,0 i muskelen (Mørkøre *et al.*, 2008; Midling *et al.*, 2011). Det blir ofte sagt at det er dannelsen av melkesyre under de anaerobe betingelsene som fører til pH-fallet (Love, 1980; Lawrie, 1998; Robb, 2001; Skjervold *et al.*, 2001a). Andre mener derimot at hovedkilden for H⁺ ioner er hydrolyse av ATP til ADP og AMP (Foegeding *et al.*, 1996; Robergs *et al.*, 2004).

Stabiliseringen av muskel-pH i en periode pm er blitt forklart med bufferkapasiteten til muskelproteinene og at melkesyre dannet fra pyruvat faktisk tar opp protoner fordi melkesyre er en svak syre (Kristoffersen *et al.*, 2006b).

Utviklingen i muskel-pH for de ulike områdene på laksen viste samme tendens med fallende pH, men med et raskere fall i nakkepartiet av fileten. I lignende undersøkelse av regnbueørretfilet påviste Mørkøre *et al.* (2002) også en signifikant lavere muskel-pH i nakkeparti enn i halepartiet. En mulig forklaring var at glykogennivået er ujevnt fordelt i fileten og/eller at nedbrytningshastigheten av glykogen *post mortem* varierer mellom filetområdene. Som påvist senere i oppgaven så vil skader på muskelvev også framskynde pH-fallet i muskel.

Det ble ikke funnet signifikant forskjell i muskel-pH mellom ryggparti og NQC ved noen av måletidspunktene. Dette var en viktig observasjon i forhold til planlegging av flere forsøk. I senere undersøkelser av blant annet pH-utviklingen i små laksestykker under innfrysing ble det derfor kun brukt rygg og NQC stykker for å minimere feilkilder ved målingene.

Sammenligning av metoder for måling av muskel-pH

Måling av *post mortem* muskel-pH i fisk blir ofte målt ved å stikke en pH-elektrode direkte i fiskemuskel (stikkemetoden). Denne metoden har ofte blitt brukt på både *pre-rigor* og *post-rigor* fiskemuskel (Einen *et al.*, 2002; Kristoffersen *et al.*, 2006a; Mørkøre, 2006; Midling *et al.*, 2008; Midling *et al.*, 2011). Måling av pH i homogenisert fiskemuskel blandet 1:1 (w/v) med 0,15 M KCl er også mye brukt på *post-rigor* muskel og i noen tilfeller også på *pre-rigor* muskel (Sigholt *et al.*, 1997; Duun & Rustad, 2008; Wang *et al.*, 2011). I KCl-metoden for måling av pH i oppmalt muskel publisert av Bendall (1973) er 5 mM iodoacetat inkludert i KCl-løsningen. Formålet med forsøket i oppgaven var å undersøke betydningen av å inkludere iodoacetat ved denne type måling og samtidig undersøke effekten av oppmaling før måling av pH.

Resultatene presentert dokumenterte flere interessante ting ved måling av pH i *pre-rigor* muskel. Oppmalt muskel blandet med lik del 0,15 M KCl fikk et pH-fall på 0,4 enheter allerede etter 10 min (Figur 16). Dette fallet ble ikke observert dersom 5 mM iodoacetat var inkludert i KCl-løsningen. Dette forklares som beskrevet i bakgrunnskapitlet, med at iodoacetat inaktiverer enzymet glycerinaldehyd 3-fosfat dehydrogenase som omdanner glycerinaldehyd 3-fosfat til 1,3-bisfosfoglycerat i glykolysen og derved stopper den anaerobe omsetningen av glukose (Schmidt & Dringen, 2009). På sammen fisk ble det funnet at måling

av pH med stikkelektrode i intakt *pre-rigor* muskel ved tidspunkt null ga en pH-verdi på 7,3 (Figur 17). Ved oppmaling før bruk av stikkelektrode var pH blitt redusert til 7,0. Etter 10 min var den ytterligere falt med 0,6 enheter. Det ble også observert at måling ved tidspunkt null i oppmalt muskel tilsatt KCl med eller uten iodoacetat, ga en lavere pH-verdi enn måling direkte i oppmalt muskel. En mulig forklaring kan være at oppmalingen har forsinket sjølve pH-målingen og eventuelt også at tilsatt KCl-løsning har ført til raskere enzymreaksjoner i blandingen.

Resultatene fra disse forsøkene med måling av muskel-pH viste at ødeleggelse av muskelstruktur ved oppmaling av vevet fører til en sterk økning i hastigheten av glykolysen. Årsaken kan være at enzymene i glykolysen kommer lettere i kontakt med substratene i reaksjonsvegen som følge av vevsødeleggelsen. Konklusjonen blir at dersom man ønsker å bestemme pH i *pre-rigor* muskel så anbefales det å måle med stikkelektrode i intakt vev. Et mindre godt alternativ er å male opp muskelvevet sammen med 0,15 M KCl og 5 mM iodoacetat. I *post-rigor* tilstand har glykolysen opphørt og da kan alle tre metodene benyttes.

Muskel-pH under innfrysing og tining av pre-rigor laksemuskel

Det er dokumentert at *pre-rigor* produsert og frossen laksefilet har lavere muskel-pH etter tining enn helt fersk *pre-rigor* produsert fileten (Einen *et al.*, 2002). Dette blir gjerne forklart med at enzymene i glykolysen er aktive når fisken tiner sakte på is eller kjøling. Men det er få som har dokumentert om denne reduksjonen i pH skjer under innfrysing eller tining. I mine undersøkelser ble muskel-pH målt i stykker av laksemuskel under innfrysing og ved tining ved bruk av originale Bendals metoden.

Under innfrysing ble det registrert en rask reduksjon i muskel-pH de første to timene etter innfrysing, hvor den raskeste reduksjonen ble registrert de første 30 minuttene, som tilsvarer perioden der kjernetemperaturen i laksestykkene falt fra pluss 2 °C til minus 7,1 °C. Etter at temperaturen var blitt -30 °C skjedde ingen forandring i muskel-pH (Figur 18A og B). Dette samsvarer godt med at raskest spalting av ATP i frossen torsk skjer rett under frysepunktet (Nowlan & Dyer, 1974; Cappeln *et al.*, 1999; Cappeln & Jessen, 2001a). I kylling og storfekjøtt påviste Behnke *et al.* (1973) også at degraderingen av ATP i fryselagret muskel skjer raskest ved minus 3-4 °C grader og betydelig raskere enn i kjølt tilstand. En reduksjon i temperatur alene vil uten tvil redusere hastigheten til ATP spaltingen, men økningen av konsentrasjonen av substratene og enzymene i væsken som ikke er frossen vil antakelig øke reaksjonshastigheten (Behnke *et al.*, 1973). I temperaturintervallet rett under frysepunktet vil effekten av økte konsentrasjonen av substrat og enzym antakelig være større

enn temperatureffekten og derved foregår ATP-spaltingen raskere. I frossen hysemuskel påviste Sharp (1935) også raskest nedbryting av glykogen og med tilsvarende opphoping av melkesyre i temperaturintervallet $-3,2$ til $-3,7$ °C. At pH-fallet stopper når temperaturen nærmer seg -30 °C kan forklares med at nesten alt vann i muskelen da er i frossen tilstand. Dette stemmer godt overens med glykogen i fryselagret torskemuskel er dokumentert å være stabilt ved -26 °C (Fraser *et al.*, 1965). Det er også nevnt i Behnke *et al.* (1973) at iskrystaller som dannes under innfrysing kan ødelegge cellemembraner og bidra til at enzymene kommer i bedre kontakt med substratene og derved føre til økte reaksjonshastigheter. Resultatene fra måling av muskel-pH i intakt og oppmalt fiskemuskel (Figur 16 og 17) bekrefter denne hypotesen.

Etter uttak fra fryser falt muskel-pH raskt fra 6,57 til 6,23 (Figur 18B), som tilsvarte perioden der kjernetemperaturen i laksestykkene økte fra -30 til 0 °C. Dette stemmer godt overens med resultater fra Cappeln *et al.* (1999), som ved tining av små stykker torskemuskel påviste en rask reduksjon i ATP-konsentrasjonen ved temperaturer rett under 0 °C. Dette tyder på at muskelen i mine forsøk har hatt relativt mye ATP og/eller glykogen igjen i muskelen ved tining. I hel fryselagret torsk fant Cappeln & Jessen (2001b) at ATP innholdet reduserte raskere enn glykogeninnholdet i muskelen, og under tining ved 0 °C ble det registrert en midlertidig økning av ATP og en korrelerende reduksjon av glykogen. Det ytterligere pH-fallet under tining i mine undersøkelser kan derfor skyldes hydrolyse av ATP som har vært dannet tidligere i tinefasen fra resterende glykogen. De undersøkte stykkene var små (ca. 10 gram) og dermed ble en veldig rask innfrysing oppnådd (Figur 18C). Dette kan ha medført en relativ lav spalting av ATP og sakte nedbryting av glykogen under fryseperioden og dermed mye energi igjen i muskelen ved etterfølgende tining.

Resultatene i oppgaven kan tyde på at den tinte fileten får en lavere endelig muskel-pH enn den ferske fileten. Tilsvarende ble observert av Einen *et al.* (2002). Det er blitt foreslått at hemming eller inaktivering av involverte enzymer på grunn lav pH bidrar til at glykolysen stopper opp (Foegeding *et al.*, 1996). Det lave pH funnet i tinte filetene kan derfor skyldes en samspillseffekt mellom temperatur og pH. Det vil si at temperaturen også bidrar til inaktivering slik at man får saktere inaktivering ved lavere temperaturer og derved lavere pH når temperaturen er minus $3-4$ °C.

Som konklusjon kan man si at også denne oppgaven dokumenterer at ATP hydrolysen skjer raskere under innfrysingsperioden når temperaturen er rett under 0 °C. Samtidig er det vist at celle- og vevsødeleggelse også fører til dette. Dette bekrefter at iskrystalldannelse må skje på minst mulig celleødeleggende måte, dvs. raskest mulig ved innfrysing.

Fileteringstidspunkt pre-rigor og kvalitet av ferske og tinte fileter

Kvalitetsmessige forskjeller mellom *pre-rigor* og *post-rigor* produserte fileter er rimelig godt dokumentert for både atlantisk oppdrettslaks (Skjervold *et al.*, 2001b; Skjervold *et al.*, 2001c; Einen *et al.*, 2002; Akse *et al.*, 2007) og for oppdrettstorsk (Kristoffersen *et al.*, 2006a; Kristoffersen *et al.*, 2007). Det er derimot få som har dokumentert effekten av ulike fileteringstidspunkt rett etter slakt i *pre-rigor* tilstand. En undersøkelse av dette er interessant i forbindelse med å finne det kvalitetsmessige optimale fileteringstidspunktet for oppdrettslaks. I mine forsøk ble effekten av tre ulike fileteringstidspunkt (2, 12 og 24 timer *post mortem*) undersøkt på ferske og tinte laksefileter.

Forkortelse av filetene

Maksimal forkortelsen av de ferske filetene filetert 2 og 24 timer *post mortem* (gruppe 2t og gruppe 24t) var høy, henholdsvis 20,0 og 19,5 %, mens de som var filetert 12 timer *post mortem* (gruppe 12t) hadde en betydelig lavere forkortelse (14,2 %) (Figur 19). Einen *et al.* (2002) fant maksimale forkortelsen til *pre-rigor* (2 timer pm) produserte fileter av laks (rundvekt: 4-5 kg) å være ca. 14 %, noe som også stemte godt overens med resultater fra Sørensen *et al.* (1997). Dette er en god del lavere enn forkortelsen som ble registrert for gruppe 2t og 24t. Laksen som ble brukt i mine undersøkelser var små (rundvekt: 840 ± 179 gram) og det er godt mulig at små fileter trekker seg relativt mer sammen enn fileter av laks i slakteklar størrelse. Filetene utvidet seg også en del i løpet av lagringsperioden og etter fem dager islagring samsvarte filetforkortelsen for gruppe 2t og 24t godt med resultatene fra Einen *et al.* (2002) og Sørensen *et al.* (1997).

Når *rigor mortis* etableres i en filet som ikke er festet til ryggbeinet vil fileten fritt kunne trekke seg sammen og derfor vil *pre-rigor* produserte fileter oppnå en høyere filetforkortelse enn *post-rigor* produserte fileter. Akse *et al.* (2007) påviste også at laksestykker som er filetert *i-rigor* har høyere forkortelse enn *post-rigor* produserte stykker og lavere forkortelse enn *pre-rigor* produserte laksestykker. Dette kan forklares med at *pre-rigor*, *i-rigor* og *post-rigor* produserte fileter har henholdsvis mye, lite og nesten ingen energi igjen i muskelen ved fileteringstidspunktet. Midling *et al.* (2011) påviste at laks som nylig (7 og 14 timer pm) var gått inn i *rigor* og deretter manipulert ut av *rigor* (bøyd over et rør), gikk inn i nesten full *rigor* igjen etter kort tid. Laks som ble manipulert ut av *rigor* 36 timer *post mortem* gikk derimot ikke inn i *rigor* igjen. Midling *et al.* (2011) forklarte dette med at etter 36 timer var de fleste muskelcellene gått inn i *rigor*, mens det etter 7 og 14 timer kun var en del av muskelcellene som var gått inn i *rigor*.

Ut fra Midling *et al.* (2011), Akse *et al.* (2007) og Einen *et al.* (2002) skulle man forvente at forkortelsen til gruppe 2t var høyere enn gruppe 12t, som igjen skulle vært høyere enn forkortelsen til gruppe 24t. Men dette var ikke tilfelle. Gruppe 2t hadde høyere forkortelse enn gruppe 24t, mens gruppe 12t hadde lavest forkortelse. Dette var interessante resultater, som kunne være en indikasjon på at det finnes et optimalt fileteringstidspunkt for *pre-rigor* laks, med tanke på at redusere filetforkortelse. Fisken i gruppe 12t ble slaktet tre dager senere enn fisken i gruppe 2t og 24t, men håving, slakting og håndfaring før og etter filetering var nøyaktig den samme. Videre var værforholdene de samme på de to slaktetidspunktene. Det kan allikevel ikke utelukkes at forskjellen i filetforkortelse skyldes at fisken ble slaktet på to ulike dager, og derved kanskje utsatt for ulike stressfaktorer. Derfor ble et nytt forsøk gjort der høyre- og venstrefiletene av samme fisker ble filetert henholdsvis 12 og 24 timer *post mortem* (Figur 20B). Igjen ble det funnet lavere forkortelse for gruppe 12t, men forskjellen var kun signifikant det første døgnet etter filetering. Dermed er det trolig at den lave filetforkortelsen som ble observert for gruppe 12t i det første forsøket skyldes at laksen ble slaktet på to forskjellige dager og/eller tilfeldighet på grunn av større variasjon i forkortelsen ved dette fileteringstidspunktet.

Resultatene fra forsøket tyder på at grad av sammentrekning er avhengig av fileteringstidspunktet. Filetering rett etter slakting (2 timer pm) gav fileter som tydelig ikke utvidet seg like mye *post-rigor* som fileter produsert 12 og 24 timer etter slakt (Figur 19 og Figur 20B). En mulig årsak kan være at rigorkontraksjonen foregår over en lengere periode for filetene produsert tidlig (Figur 22). En rask rigorkontraksjon som ses ved 12 og 24 timer filetering kan bidra til mer skade på muskelvev og celler. Derved vil muskelnedbrytende enzymer lettere frigjøres og filetene vil antakeligvis lettere utvide seg.

De tinte filetene fra gruppe 2t, 12t og 24t hadde mye lavere filetforkortelse (4,5-7,0 %) enn de ferske (Figur 19). Dette skyldes trolig at filetene går igjennom *rigor mortis* i løpet av tineperioden, mens muskelen fremdeles holdes sammen av iskrystaller. Den delvis frosne muskelen fungerer som en slags «skjelett» og derved forhindrer en stor sammentrekning da fileten går gjennom *rigor*. Første lengdemåling på de frosne filetene (i tillegg til rett etter filetering) ble gjennomført etter 24 timer tining, og derved ble effekten av innfrysing og tining målt samlet. I mine undersøkelser av andre fileter av samme størrelse og under samme tinebetingelser ble ca. 95 % av sammentrekningen under fryse- og tineperioden observert under tining for alle tre fileteringstidspunkt. Filetforkortelsen for de tinte filetene var mye høyere enn det som Einen *et al.* (2002) påviste for tinte *pre-rigor* produserte fileter (0-2 %). Tineregime i forsøkene til Einen *et al.* (2002) var det samme som i mine forsøk, men mine

fileter var betydelig mindre og gjennomgikk derfor trolig en raskere tining. Muskel som blir frossen inn *pre-rigor* inneholder typisk mye energi, som kan bli brukt for muskelkontraksjon under tining. Dette fenomenet kalles vanligvis «tinerigor». Tinerigor inntreffer antakeligvis på grunn av at iskrystaller ødelegger sarkoplasmatiske retikulum og/eller mitokondrier i *pre-rigor* frossen muskel, slik at kalsium konsentrasjonene i muskelfibrene øker og aktomyosin komplekset dannes (inntredelse av *rigor*) (Foegeding *et al.*, 1996). Degraderingen av ATP i torsk under tining skjer i temperaturintervallet fra minus 5 til 0 °C (Cappeln *et al.*, 1999). En forlenget tineperiode i dette temperaturintervallet kan derfor redusere energitilstanden i muskelen og samtidig redusere effekten av tinerigor. Det kan antas at tineregime i mine forsøk ikke var god nok for å forhindre litt av tinerigor.

Muskel-pH og forkortelse

Filetene som var filetert 2 timer *post mortem* (gruppe 2t) hadde høyst muskel-pH ved filetering, men pH reduserte raskt og nådde minimum ca. 40 timer *post mortem*. Det ble også observert en stabilisering i pH ca. 10-14 timer *post mortem* (Figur 22D) som også var observert i tidligere forsøk (Figur 15). Ved filetering hadde gruppe 12t og 24t en muskel-pH tilsvarende den, hvor stabiliseringen av pH skjedde i gruppe 2t, men etter filetering ble det observert en interessant forskjell i filetforkortelse og pH-reduksjonen mellom gruppe 12t (Figur 22B og E) og 24t (Figur 22C og F). Muskel-pH i gruppe 12t reduserte med en lavere hastighet og filetene oppnådde også en lavere sammentrekning enn gruppe 24t. Muskel-pH i gruppe 24t falt derimot brått og sammentrekningen var tilsvarende veldig kraftig. Gruppe 24t var på vei inn i *rigor* ved fileteringstidspunktet og områder rundt finnene begynte å være stive. En mulig forklaring på den kraftige sammentrekningen kan derfor være en kombinasjon av at muskelcellene var på vei inn i *rigor* samtidig som håndfaring og filetering kan ha økt tilførselen av kalsiumioner fra sarkoplasmatiske retikulum til sarkoplasma, og derved trigget en veldig rask inntredelse av *rigor mortis*. Tidspunktet for høyest filetforkortelse samsvarte godt med tidspunktet for lavest muskel-pH for alle tre gruppene. Dette samsvarer også godt med resultater fra Einen *et al.* (2002).

Væsketap

Væsketapet i de ferske filetene økte jevnt utover lagringsperioden etter filetering og etter 15 dagers islagring var væsketapet 6,0, 7,0 og 6,3 % for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t. Dette er mye høyere enn væsketapet (0,9 - 2,8 %) som tidligere har vært dokumentert på *pre-rigor* produserte laksefileter (Randell *et al.*, 1999; Skjervold *et al.*, 2001c; Einen *et al.*, 2002;

Rosnes *et al.*, 2003; Akse *et al.*, 2007). Som tidligere nevnt hadde filetene i mine forsøk en høyere sammentrekning enn tidligere påvist, og dette kan være en del av forklaringen. Når muskel går inn i *rigor mortis* og muskelfibrene trekker seg sammen vil område for oppbevaring av væske i muskelcellene bli redusert. Som et resultat kan væske bli presset ut i ekstracellulære matriks, hvor det lettere blir mistet som drypptap (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell i væsketap mellom de tre forskjellige fileteringstidspunktene. En kunne forventet et lavere væsketap i filetene i gruppe 12t, fordi denne hadde minst sammentrekning, men dette var ikke tilfelle. Det er også interessant å merke at *pre-rigor* fileter produsert 2 timer pm og som utvider seg mindre *post-rigor*, dvs. som foreslått antakelig har mindre skader, ikke har signifikant mindre væsketap enn gruppe 24t som gjennomgikk en kraftig rigorkontraksjon og hadde en betydelig utvidelse under videre lagring.

Væsketapet i de tinte filetene økte også stabilt utover lagringsperioden etter tining, og var signifikant høyere enn væsketapet i de ferske filetene ved de fleste måletidspunkt. Dette stemmer godt overens med resultater fra for eksempel Einen *et al.* (2002). Frysing og tining er kjent å medføre lavere vannbindingsevne på grunn av skrumping av muskelfibre, skader på celler, lavere protein løselighet samt protein denaturering (Mackie, 1993), og det var derfor også forventet å finne høyere væsketap i de tinte filetene. Det ble ikke registrert noen forskjell i væsketap mellom de tre fileterings- og frysetidspunktene.

Filetspalting

Filetspaltingen i de ferske filetene økte fra null ved fileteringstidspunkt opp til spaltingstall 1,75, 2,5 og 2,25 for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t etter 15 dager islagring. Det er kjent at filetspalting øker ut over lagringstid på is (Andersen *et al.*, 1994; Skjervold *et al.*, 2001c; Einen *et al.*, 2002; Akse *et al.*, 2007) og mine resultater samsvarer godt med dette. Årsaken til den økte filetspaltingen er antakelig endogene enzymer bryter ned bindevevet i myocommata og muskelcellene løsner fra hverandre (Love, 1988). Filetspalting er også avhengig av hvilken mekanisk prosessering filetene gjennomgår (Love & Haq, 1970; Fletcher *et al.*, 1997) og det er trolig at håndtering i forbindelse med måling av lengde, vekt og spalting har ført til en liten økning i filetspalting over tid. Selv om filetene ble håndtert veldig varsomt.

Filetspalting ble vurdert i henhold til poengskala brukt i Akse *et al.* (2007). Denne skala er subjektiv (ingen, en del, mye spalting osv.) og derfor er det vanskelig å sammenligne verdier med andre undersøkelser. Poengskalaen til Andersen *et al.* (1994) er mye brukt for vurderinga av filetspalting, og her kvantifiseres spaltingen med både antall og størrelse av

«spaltingshull». Denne skala ble dog ikke brukt i mine undersøkelser på grunn av at filetene var små og dermed kunne verdiene ikke sammenlignes med andre undersøkelser av stor laks uansett.

De ferske filetene fra gruppe 2t hadde mindre filetspalting enn filetene fra gruppe 12t og 24t. Årsaken kan være at filetene fra gruppe 12t og 24t kan ha hatt mer skader i muskelvev og celler som hentydet tidligere da rigorkontraksjon og utvidelse av filetene ble omtalt.

De tinte filetene hadde mer filetspalting enn de ferske filetene. Dette stemmer overens med resultater fra Einen *et al.* (2002). En økning i filetspalting i tint fisk blir vanligvis knyttet til dannelsen av store iskrystaller (Love, 1980; Mackie, 1993) og en redusert muskel-pH på grunn av frysing og tining kan også øke reaksjonshastigheten til de proteolytiske enzymene som er med i nedbrytingen av myocommata (Mackie, 1993). De store iskrystallene fører til skader på celler og vev, og etter tining vil proteolytiske enzymene og substratene lettere komme i kontakt med hverandre.

Tekstur

Det ble gjennomført to forsøk med måling av tekstur av *pre-rigor* produserte laksefileter filetert 2, 12 og 24 timer *post mortem*. I det første forsøket ble tekstur (bruddstyrke, hardhet og fasthet) bestemt på ferske og tinte fileter (Figur 25). Måletidspunktet var fem dager etter filetering for de ferske og fem dager etter tining for de tinte filetene. De ferske filetene hadde en bruddstyrke (Newton, N) på 5,3, 6,0 og 4,4 N for henholdsvis gruppe 2t, 12t og 24t, noe som er en god del lavere enn det som tidligere er påvist for både *pre-* og *post-rigor* produserte laksefileter av større laks (Skjervold *et al.*, 2001b; Einen *et al.*, 2002; Hultmann & Rustad, 2002). Årsaken kan være tilknyttet til at laksene i mine undersøkelser var små. I de ferske filetene ble det ikke registrert noen signifikant forskjell i bruddstyrke, hardhet eller fasthet mellom de tre fileteringstidspunktene. For de tinte filetene ble det observert høyere bruddstyrke, hardhet og fasthet enn hos de andre filetene. Årsaken er vanskelig å forklare.

Sammenligningen av de ferske og tinte filetene viste at tinte filetene generelt hadde en lavere bruddstyrke og høyere hardhet enn de ferske filetene. Årsaken til dette er forandringer som skjer med filetene når de gjennomgår fryse- og tineprosessen, og er antakelig relatert til samme årsaker som beskrevet for filetspalting og væsketap. I tillegg vil også noen protein bli denaturert gjennom frysing og dette vil også kunne påvirke tekturen. Einen *et al.* (2002) påviste også en lavere bruddstyrke på tinte *pre-rigor* produserte fileter i forhold til ferske fileter. Sigurgisladottir *et al.* (2000) påviste også at frysing og tining av fersk laks medførte en reduksjon i muskelfibrenes diameter og bløtere tekstur i forhold til fersk lagret laks. Frysing

av fisk blir også vanligvis knyttet til en tørr og hardere konsistens på den tinte fisken. Igjennom frossenlagring vil både myofibrillprotein og kollagen klumpe seg sammen føre til en hardere muskel (Montero & Borderías, 1990). Mackie (1993) og Sikorski & Kofakowska (1995) påviste videre at frysing og tining av fisk medfører en økt hardhet på grunn av at lavere proteinløselighet, men Mackie (1993) indikerte derimot at økningen at hardheten var avhengig av både fiskestørrelse og art, samt frysetemperatur og fryselaagringstid. I mine forsøk ble fisken kun lagret i frossen tilstand i 4 dager, og derved vil effekten av fryselaagring antakeligvis være minimal.

I det første forsøket ble målingene utført fem dager etter filetering, dvs. at det var en liten forskjell i alderen på filetene etter slakt. Det er dokumentert at fileter av laks og regnbueørret får en bløtere tekstur utover en lagringsperiode på is (Andersen *et al.*, 1997; Hyldig & Nielsen, 2001; Einen *et al.*, 2002; Hultmann & Rustad, 2002; Taylor *et al.*, 2002), og derfor ble det gjort et nytt forsøk med å måle tekstur på ferske fileter, der måletidspunktet var fem dager etter slakt, dvs. alle filetene var like gamle *post mortem* (Figur 26). Heller ikke her ble det funnet noen signifikant forskjell i bruddstyrke eller fasthet mellom de tre fileteringstidspunktene. Filetene som var filetert 2 timer *post mortem* hadde signifikant lavere hardhet enn filetene som var filetert 12 og 24 timer pm. Det er vanskelig å si noe om årsaken til dette, men det kan ha å gjøre med de mulige mindre skadene på fileten *post-rigor* som omtalt tidligere.

6. Konklusjoner og videre arbeider

Resultatene i oppgaven viste at muskel-pH reduseres raskere i nakkeområdet enn i andre deler av fileten i *pre-rigor* perioden. I tillegg ble det funnet at oppmaling av *pre-rigor* muskel fører til en kraftig akselerasjon i fallet av muskel-pH. For å få et riktig bilde av forandringen i pH bør stikkelektrode brukes på intakt *pre-rigor* muskelvev. Et mindre godt alternativ er å tilsette iodoacetat som inaktiverer et sentralt enzym i glykolysen, ved oppmaling av muskel i *pre-rigor* tilstand. Det ble også dokumentert at reduksjon i muskel-pH skjer mye raskere ved minus 2-3 °C, dvs. ved dannelse og smelting av iskrystaller, under innfrysing og tining av filet enn ved kjølelagring på is (0 °C).

Tidlig filetering (2 timer pm) i *pre-rigor* fasen medførte saktere filetkontraksjon og mindre utvidelse i løpet av en lagringsperiode på is i forhold til senere filetering (12 og 24 timer pm). Dette kan tyde på mindre skader på muskelvev på grunn av sakte filetkontraksjon. Filetering 2 timer pm førte til lavere filetspalting i de ferske filetene under islagring sammenlignet med filetering på de to senere tidspunktene. Væsketap og tekstur ble derimot ikke påvirket av de forskjellige fileteringstidspunktene. De ulike fileteringstidspunktene *pre-rigor* hadde ingen tydelig kvalitetseffekter på tinte laksefileter.

Fryselagring i fire dager ved -30 °C og tining ved 2 °C over natt med etterfølgende islagring medførte mindre filetforkortelse, lavere muskel-pH, høyere væsketap og mer filetspalting enn fersk lagring på is. I tillegg medførte frysing og tining en lavere bruddstyrke på av muskelfibrene og hardere muskeltekstur.

I denne oppgaven ble det benyttet laks av liten størrelse. En viktig oppfølging vil være å undersøke mulige kvalitetseffekter av ulike fileteringstidspunkter *pre-rigor* på slakteklar laks.

7. Referanser

- Akse, L., Carlehög, M., Tobiassen, T., Eilertsen, G. & Dahl, R. (2007). Pre-rigor kjølt laksefilet - Sensorisk kvalitet og holdbarhet, Rapport 14/2007. Nofima.
- Aksnes, A., Halvorsen, K. & Roald, S. (1985). Shelf-life and quality judgments of iced farmed salmon. *Norsk Fiskeoppdrett*, **2**, 20-23.
- Andersen, B., Steinsholt, K., Strømsnes, A. & Thomassen, M. (1994). Fillet gaping in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Norwegian Journal of Agricultural Sciences*, **8**, 165-179.
- Andersen, U. B., Thomassen, M. S. & Rørå, A. M. B. (1997). Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of diet, muscle fat content and time of storage on ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **74**, 347-353.
- Ashton, T. J., Michie, I. & Johnston, I. A. (2010). A novel tensile test method to assess texture and gaping in salmon fillets. *Journal of Food Science*, **75**, 182-190.
- Bahuaud, D., Gaarder, M., Veiseth-Kent, E. & Thomassen, M. (2010). Fillet texture and protease activities in different families of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, **310**, 213-220.
- Barroso, M., Careche, M. & Borderias, A. (1998). Quality control of frozen fish using rheological techniques. *Trends in Food Science & Technology*, **9**, 223-229.
- Behnke, J. R., Fennema, O. & Cassens, R. G. (1973). Rates of postmortem metabolism in frozen animal tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **21**, 5-11.
- Bendall, J. (1973). Postmortem changes in muscle. I: *The structure and function of muscle*. Part 2. 244-309.
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 62-66.
- Campbell, M. K. & Farrell, S. O. (2008). *Biochemistry Sixth Edition*. Brooks/Cole, Belmont, USA.
- Cappeln, G. (2000). *Synthesis and hydrolysis of ATP in frozen fish*. Dr. scient avhandling. Danmarks Fiskeriundersøgelser, Afdeling for Fiskeindustriell Forskning.
- Cappeln, G. & Jessen, F. (2001a). Degradation of ATP and glycogen in cod (*Gadus morhua*) muscle during freezing. *Journal of Food Biochemistry*, **25**, 555-567.
- Cappeln, G. & Jessen, F. (2001b). Glycolysis and ATP degradation in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperatures in relation to thaw rigor. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology*, **34**, 81-88.
- Cappeln, G., Nielsen, J. & Jessen, F. (1999). Synthesis and degradation of adenosine triphosphate in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79**, 1099-1104.
- Casas, C., Martinez, O., Guillen, M., Pin, C. & Salmeron, J. (2006). Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods. *Food Control*, **17**, 511-515.
- Cheng, J. H., Sun, D. W., Han, Z. & Zeng, X. A. (2014). Texture and Structure Measurements and Analyses for Evaluation of Fish and Fillet Freshness Quality: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **13**, 52-61.
- Chéret, R., Delbarre-Ladrat, C., Lamballerie-Anton, M. D. & Verrez-Bagnis, V. (2007). Calpain and cathepsin activities in *post mortem* fish and meat muscles. *Food Chemistry*, **101**, 1474-1479.
- Delbarre-Ladrat, C., Chéret, R., Taylor, R. & Verrez-Bagnis, V. (2006). Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **46**, 409-421.
- Døving, K. B. & Reimers, E. (1992). *Fiskens fysiologi*. John Grieg Forlag AS, Bergen, Norge.
- Dulavik, B., Sørensen, N., Barstad, H., Horvli, O. & Olsen, R. (1998). Oxidative stability of frozen light and dark muscles of saithe (*Pollachius virens* L.). *Journal of Food Lipids*, **5**, 233-245.

- Dunajski, E. (1980). Texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies*, **10**, 301-318.
- Duun, A. S. & Rustad, T. (2008). Quality of superchilled vacuum packed Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at -1.4 and -3.6 degrees C. *Food Chemistry*, **106**, 122-131.
- Einen, O., Guerin, T., Fjæra, S. O. & Skjervold, P. O. (2002). Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture*, **212**, 129-140.
- Einen, O. & Skrede, G. (1998). Quality characteristics in raw and smoked fillets of Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed high-energy diets. *Aquaculture Nutrition*, **4**, 99-108.
- Einen, O. & Thomassen, M. S. (1998). Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*): II. White muscle composition and evaluation of freshness, texture and colour characteristics in raw and cooked fillets. *Aquaculture*, **169**, 37-53.
- Espe, M. & Lie, Ø. (2001). Kvalitet. Kapittel 16. I: Waagbø, R., Espe, M., Hamre, K. & Lie, Ø. (red.). *Fiskeernæring*. Kystnæringen Forlag & Bokklubb AS, Bergen, Norge, 269-284.
- Fletcher, G. C., Hallett, I. C., Jerrett, A. R. & Holland, A. J. (1997). Changes in the Fine Structure of the Myocommata–Muscle Fibre Junction Related to Gaping in Rested and Exercised Muscle from King Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *LWT - Food Science and Technology*, **30**, 246-252.
- Foegeding, E. A., Lanier, R. C. & Hultin, H. O. (1996). Characteristics of Edible Muscle Tissues. I: Fennema, O. R. (red.). *Food Chemistry Third Edition*. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 879-942.
- Fraser, D. I., Weinstein, H. & Dyer, W. (1965). Post-mortem glycolytic and associated changes in the muscle of trap-and trawl-caught cod. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **22**, 83-100.
- Gaarder, M. O., Bahuaud, D., Veiseth-Kent, E., Mørkøre, T. & Thomassen, M. S. (2012). Relevance of calpain and calpastatin activity for texture in super-chilled and ice-stored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food Chemistry*, **132**, 9-17.
- Geesink, G. H. & Koohmaraie, M. (1999). Effect of calpastatin on degradation of myofibrillar proteins by mu-calpain under postmortem conditions. *Journal of Animal Science*, **77**, 2685-2692.
- Godiksen, H., Morzel, M., Hyldig, G. & Jessen, F. (2009). Contribution of cathepsins B, L and D to muscle protein profiles correlated with texture in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, **113**, 889-896.
- Haard, N. F. (1992). Control of chemical-composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*, **25**, 289-307.
- Huff-Lonergan, E. & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, **71**, 194-204.
- Hultmann, L. & Rustad, T. (2002). Textural changes during iced storage of salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **11**, 105-123.
- Hultmann, L. & Rustad, T. (2004). Iced storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*) - effects on endogenous enzymes and their impact on muscle proteins and texture. *Food Chemistry*, **87**, 31-41.
- Huss, H. H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. FAO Fisheries Technical Paper - 348. Roma.
- Hyldig, G. & Nielsen, D. (2001). A review of sensory and instrumental methods used to evaluate the texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies*, **32**, 219-242.
- Imamura, S., Suzuki, M., Okazaki, E., Murata, Y., Kimura, M., Kimiya, T. & Hiraoka, Y. (2012). Prevention of thaw-rigor during frozen storage of bigeye tuna *Thunnus obesus* and meat quality evaluation. *Fisheries Science*, **78**, 177-185.

- Jensen, I., Mæhre, H., Tømmerås, S., Eilertsen, K., Olsen, R. & Elvevoll, E. (2012). Farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is a good source of long chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Bulletin*, **37**, 25-29.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T. & Kolsaker, K. (2011). Superchilling of food: A review. *Journal of Food Engineering*, **107**, 141-146.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T., Nordtvedt, T. S., Bardal, T. & Kjorsvik, E. (2013). Ice crystal development in pre-rigor Atlantic salmon fillets during superchilling process and following storage. *Food Control*, **31**, 491-498.
- Kristoffersen, S. (2007). *Atlantic cod (Gadus morhua L.) in captivity. Muscle quality as effected by slaughter procedures and filleting time*. Dr. scient avhandling. Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø.
- Kristoffersen, S., Tobiassen, T., Esaiassen, M., Olsson, G. B., Godvik, L. A., Seppola, M. A. & Olsen, R. L. (2006a). Effects of pre-rigor filleting on quality aspects of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, **37**, 1556-1564.
- Kristoffersen, S., Tobiassen, T., Steinsund, V. & Olsen, R. L. (2006b). Slaughter stress, postmortem muscle pH and rigor development in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, **41**, 861-864.
- Kristoffersen, S., Vang, B., Larsen, R. & Olsen, R. L. (2007). Pre-rigor filleting and drip loss from fillets of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, **38**, 1721-1731.
- Kubota, M., Kinoshita, M., Takeuchi, K., Kubota, S., Toyohara, H. & Sakaguchi, M. (2003). Solubilization of type I collagen from fish muscle connective tissue by matrix metalloproteinase-9 at chilled temperature. *Fisheries Science*, **69**, 1053-1059.
- Lawrie, R. (1998). *Lawrie's Meat Science*.
- Lind, D. A., Marchal, W. G. & Wathen, S. A. (2012). *Statistical techniques in business & economics*. McGraw-Hill/Irwin, New York, USA.
- Lødemel, J. B. & Olsen, R. L. (2003). Gelatinolytic activities in muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*), spotted wolffish (*Anarhichas minor*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**, 1031-1036.
- Love, R. M. (1970). Chemistry and anatomy. I: *The chemical biology of fishes*. Academic Press, London, USA, 1-59.
- Love, R. M. (1980). Biological factors affecting processing and utilization. I: Connell, J. (red.). *Advances in Fish Science and Technology*. Farnham: Fishing News Books, Surrey, England, 130-138.
- Love, R. M. (1988). *The food fishes: Their intrinsic variation and practical implications*. Farrand Press, London, England.
- Love, R. M. & Haq, M. (1970). The connective tissues of fish III. The effect of pH on gaping in cod entering rigor mortis at different temperatures. *International Journal of Food Science & Technology*, **5**, 241-248.
- Mackie, I. M. (1993). The effects of freezing on flesh proteins. *Food Reviews International*, **9**, 575-610.
- Mcdonald, I. & Jones, N. (1976). Control of thaw rigor by manipulation of temperature in cold store. *International Journal of Food Science & Technology*, **11**, 69-71.
- Michie, I. (2001). Causes of Downgrading in the Salmon Farming Industry. Kapittel 13. I: Kestin, S. C. & Warriss, P. D. (red.). *Farmed Fish Quality*. Fishing New Books—Blackwell Science, Oxford, 129-136.
- Midling, K. Ø., Harris, S., Humborstad, O.-B., Akse, L., Noble, C., Evensen, T. H., Jakobsen, R. & Tobiassen, T. (2011). Slakting direkte fra oppdrettsmerd. Tauranga – fase 3. Rapport 44/2011. Nofima.

- Midling, K. Ø., Mejdell, C., Olsen, S. H., Tobiassen, T., Aas-Hansen, Ø., Aas, K., Harris, S., Oppedal, K. & Fremsteinevik, Å. (2008). Slakting av oppdrettslaks på båt, direkte fra oppdrettsmerd. Rapport 6/2008. Nofima.
- Montero, P. & Borderías, J. (1989). Distribution and hardness of muscle connective tissue in hake (*Merluccius merluccius* L.) and trout (*Salmo irideus* Gibb). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **189**, 530-533.
- Montero, P. & Borderías, J. (1990). Behaviour of myofibrillar proteins and collagen in hake (*Merluccius merluccius* L.) muscle during frozen storage and its effect on texture. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, **190**, 112-117.
- Mørkøre, T. (2006). Relevance of dietary oil source for contraction and quality of pre-rigor filleted Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, **251**, 56-65.
- Mørkøre, T., Hansen, A. A., Unander, E. & Einen, O. (2002). Composition, liquid leakage, and mechanical properties of farmed rainbow trout: Variation between fillet sections and the impact of ice and frozen storage. *Journal of Food Science*, **67**, 1933-1938.
- Mørkøre, T., Mazo T, 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.
- Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2000). *Lehninger principles of biochemistry Third Edition*. Worth Publishet, New York, USA.
- Norges Sjømatråd. (2014). *Rekordhøy verdi for lakseeksporten*. Tilgjengelig: <http://www.seafood.no/Nyheter-og-media/Nyhetsarkiv/Pressemeldinger/Rekordh%C3%B8y-verdi-for-lakseeksporten2>. Hentet: 28.04.2014.
- Nowlan, S. S. & Dyer, W. (1974). Maximum Rates of Glycolysis and Breakdown of High-Energy Phosphorus Compounds in Prerigor Cod Muscle at Specific Freezing Temperatures Between -1 and -4 C. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **31**, 1173-1179.
- Offer, G. & Knight, P. (1988). Structural basis of water-holding in meat. Part 2. Drip losses. I: Lawrie, R. A. (red.). *Developments in Meat Science*. Elsevier Science Publications, London, England, 173-243.
- Pearce, K. L., Rosenfold, K., Andersen, H. J. & Hopkins, D. L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes—A review. *Meat Science*, **89**, 111-124.
- Pedersen, M., Rønning, S. B., Vuong, T. T., Østbye, T., Larsson, T., Kolset, S. O. & Hollung, K. (2013). Connective Tissue and the Attachment of Pin Bone in Salmon and Cod. Presentasjon. I: 43rd WEFTA Meeting 9. -11. oktober 2013, Tromsø, Norge.
- Randell, K., Hattula, T., Skyttä, E., Sivertsvik, M., Bergslien, H. & Ahvenainen, R. (1999). Quality of filleted salmon in various retail packages. *Journal of Food Quality*, **22**, 483-497.
- Robb, D. H. F. (2001). The relationship between killing methods and quality. Kapittel 20. I: Kestin, S. C. & Warriss, P. D. (red.). *Farmed Fish Quality*. Fishing New Books—Blackwell Science, Oxford, England, 220-233.
- Robergs, R. A., Ghiasvand, F. & Parker, D. (2004). Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **287**, 502-516.
- Rosnes, J. T., Vorre, A., Folkvord, L., Hovda, M., Fjæra, S. O. & Skjervold, P. O. (2003). Effects of Pre-, In-, and Post-Rigor Filleted Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) on Microbial Spoilage and Quality Characteristics During Chilled Storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **12**, 17-31.

- Roth, B., Moeller, D., Veland, J., Imsland, A. & Slinde, E. (2002). The effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, **67**, 1462-1466.
- Sahagian, M. E. & Goff, H. D. (1996). Fundamental Aspects of the Freezing Process. Chapter 1. I: Jeremiah, L. E. (red.). *Freezing Effects on Food Quality*. Marcel Dekker, New York, 1-50.
- Schmidt, M. & Dringen, R. (2009). Differential effects of iodoacetamide and iodoacetate on glycolysis and glutathione metabolism of cultured astrocytes. *Frontiers in Neuroenergetics*, **1**, 1-10.
- Sharp, J. G. (1935). Post mortem breakdown of glycogen and accumulation of lactic acid in fish-muscle at low temperatures. *Biochemical Journal*, **29**, 850.
- Shenouda, S. Y. K. (1980). Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances in Food Research*, **26**, 275-311.
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T. S. & Seland, A. (1997). Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, **62**, 898-905.
- Sigurgisladdottir, S., Hafsteinsson, H., Jonsson, A., Lie, Ø., Nortvedt, R., Thomassen, M. & Torrissen, O. (1999). Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *Journal of Food Science*, **64**, 99-104.
- Sigurgisladdottir, S., Ingvarsdottir, H., Torrissen, O. J., Cardinal, M. & Hafsteinsson, H. (2000). Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*, **33**, 857-865.
- Sikorski, Z. E. & Kolakowska, A. (1995). Changes in proteins in frozen stored fish. I: Sikorski, Z. E., Bonnie, S. P. & Fereidoon, S. (red.). *Seafood proteins*. Chapman & Hall Inc, New York, USA, 99-112.
- Skjervold, P. O. (2002). *Live-chilling and pre-rigor filleting of salmonids - technology affecting physiology and product quality*. Dr. agric. avhandling. Norges Landbrukshøgskole, Ås.
- Skjervold, P. O., Fjæra, S. O., Østby, P. B. & Einen, O. (2001a). Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, **192**, 265-280.
- Skjervold, P. O., Fjæra, S. O., Østby, P. B., Isaksson, T., Einen, O. & Taylor, R. (2001b). Properties of salmon flesh from different locations on pre- and post-rigor fillets. *Aquaculture*, **201**, 91-106.
- Skjervold, P. O., Røra, A. M. B., Fjæra, S. O., Vegusdal, A., Vorre, A. & Einen, O. (2001c). Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. *Aquaculture*, **194**, 315-326.
- Skretting. (2012). *Fôr 2012. Hjerneføde*. Tilgjengelig: <http://www.skrettingguidelines.com/readimage.aspx?pubid=cd8a45bd-0e6e-409c-a2ee-1da2b7d19b06>. Hentet: 23.04.2014.
- Sørensen, N., Brataas, R., Nyvold, T. & Lauritzen, K. (1997). Influence of early processing (pre-rigor) on fish quality. *Developments in Food Science*, **38**, 253-264.
- Strasburg, G., Xiong, Y. L. & Chiang, W. (2007). Physiology and Chemistry of Edible Muscle Tissues. I: Damodaran, S., Parkin, K. L. & Fennema, O. R. (red.). *Fennema's Food Chemistry Fourth Edition*. CRC Press, Boca Raton, FL., USA, 923-973.
- Stryer, L. (1988). *Biochemistry Third Edition*. W.H. Freeman and Company, New York.
- Sun, D.-W. & Zheng, L. (2006). Innovations in freezing process. Chapter 8. I: Sun, D.-W. (red.). *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. CRC Press, Florida, 175-195.
- Szczesniak, A. S. (1963). Classification of textural characteristics. *Journal of Food Science*, **28**, 385-389.

- Taylor, R. G., Fjæra, S. O. & Skjervold, P. O. (2002). Salmon fillet texture is determined by myofiber-myofiber and myofiber-myocommata attachment. *Journal of Food Science*, **67**, 2067-2071.
- Tobiassen, T., Akse, L., Carlehög, M., Eilertsen, G. & Dahl, R. (2008). Frysing av pre-rigor laksefilet - kvalitet og holdbarhet under frysing og etter tining, Rapport 15/2008. Nofima.
- Tobiassen, T., Akse, L., Midling, K., Aas, K., Dahl, R. & Eilertsen, G. (2006). The effect of pre-rigor processing of cod (*Gadus morhua* L.) on quality and shelf life. I: Lutén, J. B., Jacobsen, C., Bekaert, K., Sæbø, A. & Oehlenschläger, J. (red.). *Seafood research from fish to dish. Quality, safety and processing of wild and farmed fish*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Nederland, 149-159.
- Torrissen, O., Sigurgisladóttir, S. & Slinde, E. (2001). Texture and Technological Properties of Fish. Kapittel 5. I: Kestin, S. C. & Warriss, P. D. (red.). *Farmed Fish Quality*. Fishing News Books—Blackwell Science, Oxford, England, 31-41.
- Veiseth, E., Shackelford, S., Wheeler, T. & Koohmaraie, M. (2001). Effect of postmortem storage on mu-calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, **79**, 1502-1508.
- Veland, J. O. & Torrissen, O. J. (1999). The texture of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle as measured instrumentally using TPA and Warner-Brazler shear test. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79**, 1737-1746.
- Verma, R. P. & Hansch, C. (2007). Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical–biological functions and (Q)SARs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **15**, 2223-2268.
- Wang, P. A. (2011). *Post mortem proteolytic degradation of myosin heavy chain in skeletal muscle of Atlantic cod*. dr. philosophiae avhandling. Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø.
- Wang, P. A., Vang, B., Pedersen, A. M., Martinez, I. & Olsen, R. L. (2011). Post-mortem degradation of myosin heavy chain in intact fish muscle: Effects of pH and enzyme inhibitors. *Food Chemistry*, **124**, 1090-1095.
- Widmaier, E. P., Raff, H., Strang, K. T. & Vander, A. J. (2011). *Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. McGraw-Hill, New York, USA.