

Anders Hansen Nyborg
Vilde Sæther Stadsøy
Even Svegaard Bye

Effekt av lagringstemperatur på mikrobiologisk- og sensorisk kvalitet i fersk laksefilet

Hovedoppgave i Matvitenskap, teknologi og bærekraft

Veileder: Sunniva Hoel

Mai 2023





NTNU - Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

BACHELOROPPGAVE 2023

15 studiepoeng

Effekt av lagringstemperatur på mikrobiologisk- og sensorisk kvalitet i fersk laksefilet.
The effect of storage temperature on microbial- and sensory quality in fresh salmon fillets.



Utført av

Anders Hansen Nyborg

Even Svegaard Bye

Vilde Sæther Stadsøy

Dette arbeidet er gjennomført som ledd i bachelorutdanningen i matvitenskap, teknologi og bærekraft ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU. Bruk av oppgavens innhold skjer på eget ansvar.

Forord

Bacheloroppgaven er en avslutning på et treårig studieprogram i matvitenskap, teknologi og bærekraft.

Vi valgte å skrive om holdbarhet på laks. Dette er et tema alle på gruppen ville lære mer om fordi lakseindustrien er svært viktig for Norge og det er fremtidsrettet.

Vi vil gjerne takke for samarbeidet med Nova Sea gjennom denne bacheloroppgaven. Nova Sea har bidratt med fisk og kunnskap til denne oppgaven, som vi har satt stor pris på. Vi har i tillegg fått støtte i reisen til Lovund for å hente laks. På Lovund-turen ble vi tatt godt imot av hyggelige mennesker med lunsj og omvisning i lokalene. Det var på Lovund problemstillingen ble formet i diskusjon mellom Nova Sea og Vilde Sæther Stadsøy våren 2022. Tusen takk for et fint samarbeid!

Samtidig vil vi også takke Sunniva Hoel som har vært veilederen vår. Hun har gitt oss støtte under laboratoriearbeid samtidig som hun har gitt gode tilbakemeldinger gjennom hele prosessen. Tusen takk for all motivasjon og lærdom.

Innholdet i denne oppgaven står for forfatterens regning.

Vilde S. Stadsøy
Evan Bye

Anders Nyborg

Sammendrag

Fersk laks har i utgangspunktet samme holdbarhetstid, men kjøletemperaturene i kjølekjeden kan variere. 2°C, 4°C og 6°C er tre reelle temperaturer laksen kan holdes på gjennom lagringsperioden. Denne bacheloren skal se nærmere på effekten av lagringstemperatur på mikrobiologisk- og sensorisk kvalitet i fersk laksefilet.

Mikrobiell vekst ble påvist på agar og ved Real-Time PCR. Kvantifisering av totalt psykrotroft kintall ble utført på Long and Hammer agar. Kvantifisering av totalt mesofilt kintall og H₂S-produserende bakterier ble utført på jernagar. Kvalitativ testing av *Listeria monocytogenes* for å se om bakterien ble påvist eller ikke, ble utført med Real-Time PCR. AX. T Texture analyser og DigiEye Colour Measurement målte henholdsvis teksturen og fargen til laksefiletene gjennom prøveperioden.

Etter vurdering av resultatene ble det konkludert at laksefilet lagret på 2°C hadde lengst mikrobiell holdbarhet med 15 dager. Ved en økning fra 2°C til 4°C ble den mikrobielle holdbarheten redusert med fem dager. En temperaturøkning fra 4°C til 6°C reduserte den mikrobielle holdbarheten med ytterligere fire dager. Det ble ikke påvist *Listeria monocytogenes* som funksjon av lagringstemperatur eller lagringstid. H₂S-produserende bakterier ble sporadisk påvist gjennom lagringsperioden. Fargen til laksefiletene ble bedre bevart ved lagring på 2°C i forhold til 4°C og 6°C, fire dager etter den satte holdbarhetsdatoen. Samtidig ble ingen signifikant forskjell observert på fasthet i laksefiletene som funksjon av lagringstemperatur.

Abstract

Fresh salmon has inherently the same shelf life, but the storage temperatures may vary. 2°C, 4°C and 6°C are three realistic temperatures the salmon may be stored at throughout the storage period. This bachelor's thesis will take a closer look at the effect different storage temperatures have on the microbiological- and sensory quality of fresh salmon fillets.

Microbial growth was detected on agar and with Real-Time PCR. Quantification of total psychrotroph germ count was done using Long and Hammer agar. Quantification of total mesophile germ count and H₂S-producing bacteria was done using Iron agar. Qualitative detection of *Listeria monocytogenes* was done with Real-Time PCR. AX. T Texture analyzer and DigiEye Colour Measurement was used to measure texture and colour in the salmon fillets throughout the storage period.

After assessing the results, it was concluded that the salmon fillets stored at 2°C had the longest shelf life based on microbial growth. With an increase in temperature from 2°C to 4°C, the microbial shelf life of the salmon fillets was reduced by five days. An increase in temperature from 4°C to 6°C, the microbial shelf life was reduced further by four days. *Listeria monocytogenes* was not detected as a function of storage temperature or time. H₂S-producing bacteria was sporadically detected throughout the storage period. The colour of the salmon fillets was better preserved at a storage temperature of 2°C compared to 4°C and 6°C, four days after the set expiration date. At the same time, no significant difference was observed in the firmness of the salmon fillets as a function of storage temperature.

Innholdsfortegnelse

1 Innledning	1
2 Teoretisk bakgrunn	2
2.1 Norsk lakseoppdrett	2
2.2 Prosessering av laks	2
2.3 Kvalitetsparametre i laks	4
2.3.1 Tekstur	4
2.3.2 Farge	5
2.3.3 Mikrobiota i laks	6
2.3.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	7
3 Metodisk teori	8
3.1 Long & Hammer agar	8
3.2 Jernagar	8
3.3 PCR	8
3.4 Real-Time PCR	9
3.5 DigiEye Colour Measurement	9
3.5.1 Tolkning av L, a* og b* fargeskalaen (CIELAB)	10
3.5.2 Tolkning av hue, Chromatic og L fargeskalaen (CIELCH)	10
3.6 AX. T Texture analyzer	11
4 Materialer og metode	12
4.1 Lagringsforsøk	12
4.2 Klargjøring av fisk	13
4.3 Tillaging av agar og fortynningsvæske	14
4.3.1 Long & Hammer agar	15
4.3.2 Jernagar	16
4.3.3 Peptonvann	17
4.3.4 24 LEB	17
4.4 Mikrobiologisk analyse av laks	18
4.4.1 Kvantifisering av totalt psykrotroft og mesofilt (H ₂ S-produserende kolonier) kimtall med LH og JA	18
4.4.2 Kvalitativ påvisning av <i>L. monocytogenes</i> ved PCR	18
4.5 Sensorisk analyse av laks	19
4.5.1 Fargeanalyse	19

4.5.2 Trykktest	19
5 Resultat	20
5.1 Kontroll av lagringstemperatur	20
5.2 Kvantifisering av psykrotroft kimtall	21
5.2.1 Temperaturavhengig vekstkinetikk	22
5.3 Kvantifisering av mesofilt kimtall	23
5.3.1 Temperaturavhengig vekstkinetikk	24
5.4 H ₂ S-produserende bakterier	25
5.5 Kvalitativ påvisning av <i>L. monocytogenes</i>	26
5.6 Bestemmelse av farge (L, a*, b*, chromatic, hue)	29
5.6.1 Lyshet (L)	29
5.6.2 Rød/grønn spekter (a*)	30
5.6.3 Gul/blå spekter (b*)	30
5.6.4 Chromatic	31
5.6.5 hue	32
5.7 Bestemmelse av fasthet	33
5.8 Lukt	33
6 Diskusjon	34
6.1 Gjennomføring	34
6.2 Vurdering av kjølelagring	35
6.3 Sammenhengen mellom lagringstemperatur og mikrobiell vekst	35
6.3.1 H ₂ S-produserende bakterier	37
6.4 <i>L. monocytogenes</i>	38
6.5 Sammenheng mellom lagringstemperatur og sensorikk	38
6.5.1 Fargeendring over tid	38
6.5.2 Endring i fasthet	39
6.5.3 Endring i lukt	40
7 Konklusjon	41
7.1 Forslag til videre arbeid	41
Referanser	42
Vedlegg	

1 Innledning

Lakseprodusenter har en intern holdbarhet på egen kjølelagret fersk laks. Likevel kan laksen holdes på ulike temperaturer under transport, i butikk eller i kjøleskapet hjemme. Animaliehygieneforskriften har satt et krav om at emballerte ferske fiskerivarer bør kjøles ned til under 2°C i alle ledd (Mattilsynet (a), 2023; Animaliehygieneforskriften, 2022). Samtidig er det generelle utgangspunktet for kjølelagring 4°C ifølge Mattilsynet (Mattilsynet (b), 2023). Ved mye åpning av kjøleskapsdøra eller dersom kjøleskapet holder en høyere temperatur enn innstilt, kan lagringstemperaturen overstige kravene som stilles i Animaliehygieneforskriften og temperaturen anbefalt av Mattilsynet. I denne oppgaven ble 6°C benyttet for å undersøke hvilke effekter dette kunne ha. Sammen er dette tre reelle kjøletemperaturer som fersk laks kan bli lagret på, men har dette noe å si for den mikrobiologiske og sensoriske kvaliteten på laks? Denne bacheloroppgaven skal se nærmere på hvordan ulike lagringstemperaturer kan påvirke utviklingen av mikrobiologisk- og sensorisk kvalitet til fersk laksefilet. Dette ved å sjekke forskjeller i mikrobiell vekst, fargeendringer og teksturendringer på laksefilet lagret ved temperaturene 2°C, 4°C og 6°C. Samtidig ble det gjennomført en kvalitativ test av *Listeria monocytogenes*, for å undersøke om bakterien var til stede som funksjon av lagringstid og lagringstemperatur.

Det ble i denne oppgaven valgt å ikke gjennomføre Quality Index Method, da dette ikke lot seg gjennomføre praktisk med tanke på mengden laks som måtte tas ut og fraktes til laboratoriene ved NTNU i Trondheim.

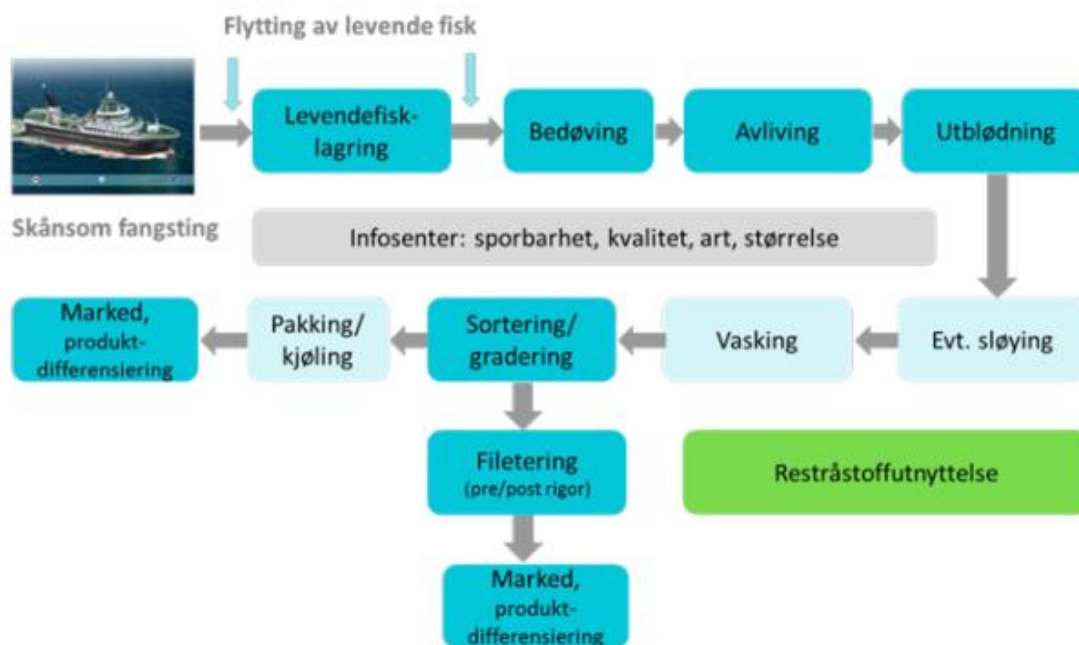
2 Teoretisk bakgrunn

2.1 Norsk lakseoppdrett

Norsk lakseoppdrett er en viktig del av Norges økonomi og bidrar til landets eksport. I 2022 var total eksport av laks 1 022 398 tonn, både frossen og kjølt (Statistisk sentralbyrå, 2023). Norge er en av verdens største produsenter av oppdrettslaks, og oppdrettsnæringen skaper mange arbeidsplasser langs kysten (Laksefakta, u.å.; Aasen, 2009). Ifølge Sjømat Norge gir en arbeidsplass på sjøen seks andre arbeidsplasser i nærområdet, og skaper et viktig grunnlag for at folk trives og vil bo i kystområdene (Aasen, 2009). Lakseoppdrett i Norge er kjent for å være av høy kvalitet med fokus på mattrygghet (Norges Sjømatråd, 2021). Dette kan gjenspeiles i at Norge stiller strenge krav til oppdrett av laks og kvaliteten er avhengig av helsen og velferden til laksen (Mattilsynet (a), 2022). Samtidig er oppdrettsnæringen regulert av strenge lover og standarder for å opprettholde en bærekraftig og miljøvennlig produksjon (Laksefakta, 2023).

2.2 Prosessering av laks

Slakteprosessen er en effektiv prosess utført av maskiner, med kontrollpunkter og justeringer som gjennomføres av opplærte ansatte. Fisken blir fraktet fra havmerdene i brønnbåt. Deretter blir fisken pumpet ut i ventemerder utenfor slakteriet, hvor fisken får stresset ned etter transporten før den pumpes videre inn til slakteriet (SinkabergHansen, 2021). Ikke alle anlegg benytter ventemerder. De som ikke har det, pumper fisken rett inn i slakteriet fra brønnbåten isteden. I slakteriet blir fisken bedøvet med strøm eller ved slag i hodet, etterfulgt av et bløggesnitt, før fisken sendes videre inn i et utblødningskar (FHF, u.å.). Videre kommer fisken ut på et etterkontrollbånd for å sjekke at alle fiskene er avlivet på rett måte. Deretter føres fisken videre inn i en sløyemaskin hvor innmaten blir fjernet med kniver og vakuum. Laksen fraktes videre til en kjøletank for å nedkjøles før fisken pakkes. Dersom fisken skal fileteres, blir den sendt videre til en egen filetavdeling i stedet for pakking. Hodet kappes før fisken sendes inn i fileteringsmaskinen som fjerner ryggbein. Filetene føres videre til en trimmingsmaskin hvor fisken får ønsket trimmingsgrad. Deretter vil filetene pakkes og kjøles før laksen blir sendt ut (SinkabergHansen, 2021). Figur 2.1 illustrerer verdikjeden fra fangst til ferdig produkt (Olsen et al., 2014).



Figur 2.1: Flytskjema over slakteprosessen fra levende laks til ferdig produkt ut i marked (Olsen et al., 2014).

Mattilsynet har utgitt en veileder på hvilke krav som må følges ved slakting av oppdrettsfisk. Veilederen tar for seg hvem dette gjelder, gjeldende regelverk, godkjenning av slakteri, og hvilke krav som stilles til driften (Mattilsynet (b), 2022).

Trimningsgraden sier noe om avskjæringen som er utført på fileten og vil beskrives ut fra Seaborn sin trimming guide (Seaborn, u.å.) (vedlegg 1). A-trim er en filet hvor kun bukbein og ryggbein er fjernet. B-trim er en videre beskjæring fra A-trim ved at i tillegg ryggfinner, kragebein og bukfinnen er tatt bort. C-trim er videre prosessert fra B-trim ved at pinnebeinene er fjernet fra fileten. D-trim er en grad videre fra C-trim ved at fileten har fått trimmet bort halestykke, bukhinne, ryggfett, bukfett og nakkestykke. E-trim normal er en grad videre fra D-trim ved at skinnen er fjernet. E-trim dyp har videre fått fjernet buklisten (Seaborn, u.å.).

Kvaliteten på laks påvirkes av flere biokjemiske reaksjoner som inntreffer etter at laksen er slaktet. En viktig faktor er pH-nivået i muskelen til laksen. pH påvirkes hovedsakelig ved nedbrytning av glykogenlagrene til laksen. Denne prosessen skjer anaerobt da respirasjonen til fisken har stoppet (Rotabakk & Lerfall, 2021). pH rundt 7 vil være normalt i en nyslaktet laks, og etter slakting vil pH-nivået synke raskt de første timene. Når laksen legges på is vil pH stabiliseres (Fjellheim et al., 2016; Einen et al., 2002). Dersom laksen slaktes etter mye muskelaktivitet ved for eksempel stress, vil musklene inneholde mye melkesyre grunnet anaerob respirasjon. Dette medfører at pH synker og adenosintrifosfat (ATP) syntese vil stoppe. Sammen vil disse faktorene framskynde *rigor mortis*, også kalt dødsstivhet (Borderias

& Sanchez, 2011). En rask død som forhindrer mye muskelaktivitet grunnet lite stress, vil forsinke *rigor mortis* da fallet i ATP blir forsinket. Slutt-pH i fisken vil imidlertid ikke være forskjellig selv om *rigor mortis* inntreffer på ulike tidspunkt. Det er også vist at langsommere *rigor mortis*-utbrudd resulterer i en mer langsom muskelnedbrytning når fisken lagres på is. Dette er målt i forholdet mellom nedbrytningsprodukter fra ATP, nukleosider og nukleotider (K-verdi) (Borderias & Sanchez, 2011).

2.3 Kvalitetsparametre i laks

Sensorisk- og mikrobiell kvalitet er to kategorier som omhandler kvaliteten på laks. Kvalitet som kan oppfattes bevisst eller ubevisst når man ser, tar, lukter og smaker på produktet kalles sensorisk kvalitet. Disse parameterne kan testes ved å for eksempel måle teksturen, gjennomføre fargeanalyser eller gjennomføre en Quality Index Method (QIM) av produktet. En teksturmåler kan benyttes for å måle hvor hardt, seigt e.l. et produkt er. Fargeanalyser gir en objektiv analyse av fargen på fileten og skinnet til fisken, som kan benyttes for å tolke ferskheten til fisk (Alasalvar et al., 2010; Kraugerud, 2022).

QIM er en metode for å enkelt kunne få en indikasjon på ferskheten til fisk. QIM består av flere parameter en fisk kan bli målt på. Blant annet lukt, tekstur og utseende på øyer og gjeller. Hver parameter blir målt fra 0 til 3, der 0 er helt fersk fisk. Karakterene for hver parameter blir lagt sammen, og en lav karakter vil bety en ferskere fisk. Ved å se på QIM-verdien kan man også gjøre antagelser på hvor lang holdbarheten fisken vil ha med rundt en og en halv dags feilmargen (FHF, 2013; Sveinsdottir, et al., 2003).

Fiskens mikrobielle kvalitet påvirkes av bakterier man potensielt kan finne på fisk, som kan deles inn i tre bakteriegrupper. Én gruppe er bakterier som finnes naturlig i fiskens mikrobiota. Videre er det bakterier som finnes grunnet fekal forurensning, og til slutt bakterier som er blitt tilført produktet, enten via prosessering, lagring eller tillaging av andre produkter (Alasalvar et al., 2010).

2.3.1 Tekstur

Teksturen til laks varierer fra hodet og helt ned til sporen på fileten, og på individnivå. Generelt sett vil sporen ha en fastere tekstur i forhold til kjøttet foran ryggfinner. Årsaken til disse forandringene kan ha noe med bredde på muskelsegmenter, mengde bindevev og mengde fett. Dersom muskelen inneholder mye bindevev, kryssbindinger og lavt fettinnhold vil teksturen

oppleves som fastere. Lite bindevev, kryssbindinger og høyt fettinnhold vil gjøre teksturen bløtere. I tillegg kan laks fra samme merd som er oppdratt i samme miljø ha store individsforskjeller når det gjelder tekstur (Mørkøre, 2008).

Teksturen er en av de første sensoriske egenskapene som endrer seg etter fisken har blitt slaktet (Huss, 1995). Rett etter avlivning vil muskelmassen til fisken være avslappet før den etter to timer til et døgn vil få en kraftig muskelkontraksjon kalt *rigor mortis* (Boge, 2022). *Rigor mortis* vil kunne holde i rundt en dag, i noen tilfeller lengre, og underveis i muskelkontraksjonen vil fisken være helt stiv, uten noen form for fleksibilitet. Når *post-rigor* inntreffer vil muskelen igjen slappe av, men noe elastisitet vil forsvinne (Huss, 1995). Kvalitetstap som følge av *rigor mortis* kan være filetspalting som igjen vil gi dårligere tekstur og utseende (Huss, 1995). Filetspalting er en uønsket kvalitetsforringelse som oppstår når bindevevet som holder muskelsegmentene sammen sprekker (Mørkøre, 2008). Filetspaltingen vil være mer omfattende dersom fisken fileteres underveis i *rigor*, enn om fisken fileteres *pre-* eller *post-rigor*. Ettersom fileten er helt stiv i *rigor* vil mye mekanisk bearbeiding føre til mer filetspalting da fileten ikke har så mye elastisitet, og fisken blir fysisk brutt opp (Boge, 2022). Filetering kan også resultere i mer filetspalting ettersom når *rigor* inntretr så vil musklene trekke seg sammen, samtidig som fileten fremdeles sitter fast i ryggbeinet. Dersom fileten separeres fra beinene *pre-rigor*, vil fileten trekke seg sammen i *rigor*. Det kan resultere i at fileten krymper (filetforkortning), blir tykkere og gir en mørkere farge (Huss 1995; FHF, u.å.). De lyse musklene kan på det meste krympe opp mot 15% av total lengde, mens de mørke musklene kan krympe opp mot 52% (Huss, 1995).

2.3.2 Farge

Fargen til laksen kan være en kvalitetsindikator. Ved en mørkere rød farge på fiskekjøttet, vil fisken ha fått mer astaxanthin (pigment) i fôret (Hægermark, 2012; Kraugerud, 2021). Forbrukere liker også at laksen er mørkere, som gjør at prisen på laks per kilo øker desto mer rød farge den inneholder. Er fisken lys i fargen kan den enten ha fått mindre astaxanthin i fôret eller så kan andre faktorer som oppdrettsforhold, fôringsregime, slaktemetode og lagringsforhold spille inn. Etter slakting vil fargen gradvis avta og det er vist at mengde blod i fisken kan spille en viktig rolle i forhold til dette. Når oksygen og hemoglobinet i blodet reagerer med hverandre vil det dannes en gulbrun farge. Fargevariasjonene per fisk og hvor fargeprøven blir tatt på fileten vil da bli større. Mengde blod som er igjen i fisken etter slakting,

vil være påvirket av hvor god utblødningen var, om fisken har vært stresset like før slakting, og slakteprosessen inne i slakteriet (Hægermark, 2012; Borderias & Sanchez, 2011).

2.3.3 Mikrobiota i laks

Temperatur er en viktig faktor mtp. holdbarheten til fisk og annen sjømat. Mikrobiell vekst og autolysen bremses ved lavere temperaturer, slik at en ubrutt kjølekjede og god temperaturkontroll, er viktig for å ivareta god kvalitet på produktet (Rotabakk & Lerfall, 2021). Det er vesentlige sammenhenger mellom holdbarhet og temperatur i en tabell utviklet av Ratkowsky et al. (1982). Tabellen viser en halvering i holdbarhet ved å øke temperaturen fra 2°C til 4°C. Senkes derimot temperaturen ned fra 0°C til -2°C, vil holdbarheten øke med 50%. Den viktigste og vanligste årsaken til forringelse av fersk fisk er mikrobiell aktivitet. Mikrobiota til fisken vil være vant til kalde omgivelser og det trengs kaldere miljø for å hemme veksten til bakteriene (Huss, 1995; Rotabakk & Lerfall, 2021).

Kjøttet til en levende og nyslaktet frisk fisk inneholder minimalt med bakterier (Huss, 1995; Rotabakk & Lerfall, 2021). Det har noe med at fiskens immunsystem holder bakteriene unna slik at de ikke får vokse opp i musklene. Ved *post-mortem* vil ikke immunsystemet fungere lenger, som gjør at bakteriene kan trenge lettere inn i kjøttet. Musklene er et godt vekstmedium for bakteriene å formere seg i da det er et miljø med høyt vanninnhold og god næring (Huss, 1995). Samtidig når fisken er slaktet blir den åpnet og det sterile kjøttet blir eksponert for bakterier fra omgivelsene som kan komme fra gjeller, innvoller, skinn, ansatte og produksjonslokalet (Huss, 1995; Rotabakk & Lerfall, 2021).

Mikrobiota til laks består av gram-negative psykrotrofe bakterier. Disse kan vokse ved temperaturer ned mot 0°C, men 25°C er optimumstemperaturen. Eksempler på slike bakterier er *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Photobacterium*, *Acinetobacter* og *Vibrio*. Ettersom fiskekjøttet i seg selv inneholder lite bakterier like etter slakting, vil man finne disse bakteriene i eksponerte områder som skinn, gjeller og i tarmen til fisken (Høyen, 2017). *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* og *Photobacterium* er også bakterier som kan kategoriseres som spesifikke forringelsesorganismer (SFO). SFO er bakterier som er forringende for laksen, med at de for eksempel kan produsere H₂S, ketoner, aldehyder, tioler og estere (Huss, 1995).

Shewanella og *Aeromonas* er organismer som ofte finnes i laks og som kan produsere H₂S, noe som gjør at de kan kategoriseres som H₂S-produserende bakterier (Undrum, 2015). Disse

flyktige svovelforbindelsene gir vondt lukt og det trengs kun små mengder av dem for å gi kvalitetsforringelse på fisk og fiskeprodukter (Huss, 1995).

2.3.4 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes er en type ikke-sporedannende, gram-positiv bakterie som er i stand til å overleve og formere seg i mange ulike miljøer. En av egenskapene som gjør den så overlevelsesdyktig er at den er fakultativ anaerob som vil si at den både kan vokse aerobt og anaerobt. Den har i tillegg evnen til å vokse i en stor variasjon av temperaturer fra 1-45°C, og kan formere seg ved relativt høye konsentrasjoner av salt og lav vannaktivitet (Sæbø & Klæboe, 2002). *L. monocytogenes* er utbredt i naturen og kan finnes i elver, jord, vegetasjon, slam, tjern, vegetasjon og i tarmen hos dyr. Dette gjør at den lett kan kontaminere ferskvarer av planter og dyr (Jay et al., 2005).

Fuktighetsgraden i et lakseslakteri er høy samtidig som det er mye organisk materiale på maskiner, gulv, vegger ol. Dette gir gode forhold for dannelse av biofilm som *L. monocytogenes* vokser godt i. Biofilm beskytter bakterien mot ytre stress som for eksempel desinfeksjon, mekanisk stress og uttørking. Biofilmer som har fått etablert seg er vanskeligere å fjerne enn enkeltceller av bakterien. Det er derfor viktig med god og systematisk rengjøring for å unngå biofilmdannelse, som igjen hindrer at *L. monocytogenes* får oppformert seg og blir vanskeligere å fjerne (Møretrø & Langsrud, 2004).

Det er stort fokus på forebygging av *L. monocytogenes* i matindustrien, da den kan forårsake den livstruende sykdommen listeriose. Dødeligheten på listeriose strekker seg fra 25-30% av de som får infeksjonen og over 92% blir innlagt på sykehus (Henriksen, 2020). Den øvre grensen for *L. monocytogenes* i spiseklare produkter ligger på 100 cfu/g for voksne, og 0 cfu/g for barn og risikogrupper (Næringsmiddelhygieneforskriften, 2021).

3 Metodisk teori

3.1 Long & Hammer agar

Ved undersøkelser av totalkim i fisk finnes det hovedsakelig to typer agar som blir benyttet, Plate Count Agar (PCA) og Long and Hammer agar. PCA er et generelt medium som blir brukt til testing av totalt kimtall på ulike produkter og overflater. Den blir også anbefalt av International Organization of Standardization (ISO) som et referansemedie. Likevel anbefaler Nordisk metodikkomité for næringsmidler (NMKL) å benytte Long and Hammer som inneholder mer salter og mineraler, noe som gjør den mer selektiv for marine mikroorganismer (Broekart, et al., 2011).

3.2 Jernagar

Jernagar benyttes for å påvise totalt mesofilt kimtall, og for å påvise vekst av H₂S-produserende mikroorganismer. H₂S produsert av bakteriekoloniene vil reagere med jern i agaren og danne jernsulfid som har en svart farge, og er dermed lett synlig på agaren (Undrum, 2015; Broekart, et al., 2011).

3.3 PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) er en metode som brukes til å identifisere eller påvise hvilke gener eller DNA-fragment som er til stede i f.eks. et matprodukt. Disse DNA-fragmentene eller genene kan være med på å bestemme hvilken dyreart, bakterie, virus e.l. det kommer fra (Rodríguez-Lázaro, 2013).

PCR er en in-vitro DNA syntese. In-vitro vil si å utføre syntesen utenfor organismen og i et laboratorium. Ordet in-vitro betyr "i glass" som representerer blant annet petriskåler og reagensglass i laboratoriet (Kåss, 2021). Utførelse av PCR startes ved å blande inn DNA polymerase, nukleotider, primere, buffer og sterilt vann. Deretter vil DNA-strengen gå gjennom tre steg der den først denaturerer dsDNA-et. Det som skjer, er at dsDNA-et blir påført varme slik at det blir dannet to ssDNA. Temperaturen som må til for at dsDNA-et skal splittes er 93-96°C. Deretter vil temperaturen senkes til 55-65°C som gjør at oligonukleotider (primere) vil hybridisere seg til ssDNA-et og feste seg på 3' enden. Primere er derfor viktig for å bestemme hvor på ssDNA-et den skal feste seg. Deretter vil DNA polymerase lage en ny DNA

tråd fra 5' → 3' ved å lese den fra 3' → 5', ved hjelp av dNTP som er frie nukleotider. Dette vil lage to nye dsDNA (Rodríguez-Lázaro, 2013).

DNA syntesen skjer eksponentielt og hvis man denaturerer, hybridiserer og polymeriserer 30-40 ganger blir det dannet billioner av DNA-strenger (Rodríguez-Lázaro, 2013).

3.4 Real-Time PCR

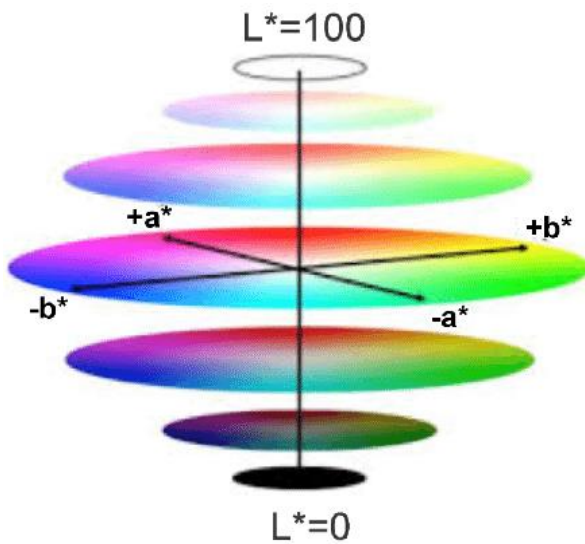
Real-Time PCR (qPCR) bruker samme prinsipp som konvensjonell PCR. PCR-reaksjonen og deteksjonen av PCR-produktet skjer samtidig, som gjør det mulig for qPCR å monitorere amplifiseringen av syklusene. Fluorescens benyttes til å detektere "target" genomet, altså det genomet man vil undersøke om er til stede. Hvis det er overskudd av "target" genomet i en qPCR-prøve, vil fluorescensen som blir avgitt være høyere enn bakgrunns-fluorescensen. Signalet vil dobles etter hver syklus som gir en eksponentiell økning. Ved endt analyse vil programmet vise en graf for hver enkelt prøve (Rodríguez-Lázaro, 2013; Bio-rad, u.å).

Fordelen med å bruke qPCR framfor konvensjonell PCR er at lukket PCR rør blir brukt gjennom hele prosessen som minimerer sannsynligheten for kontaminasjon fra andre DNA-holdige objekter. Det er samtidig en lett og rask metode for å detektere tilstedeværelse av en bestemt bakterie i en prøve. qPCR er også mer pålitelig og sensitiv i forhold til konvensjonell PCR (Rodríguez-Lázaro, 2013).

3.5 DigiEye Colour Measurement

DigiEye Colour Measurement er et system som benytter null-kontakt bildesystem, som kan måle fargen til et materiale eller produkt med stor nøyaktighet og presisjon. Å måle fargen til et materiale eller produkt kan være viktig for produsenter der farge er viktig for produktet (Cromocol, u.å.). To av metodene for å tolke resultatene fra DigiEye er L+a*+b* (CIELAB) (figur 3.1) og L+Chromatic+hue (CIELCH) (figur 3.2).

3.5.1 Tolkning av L, a* og b* fargeskalaen (CIELAB)



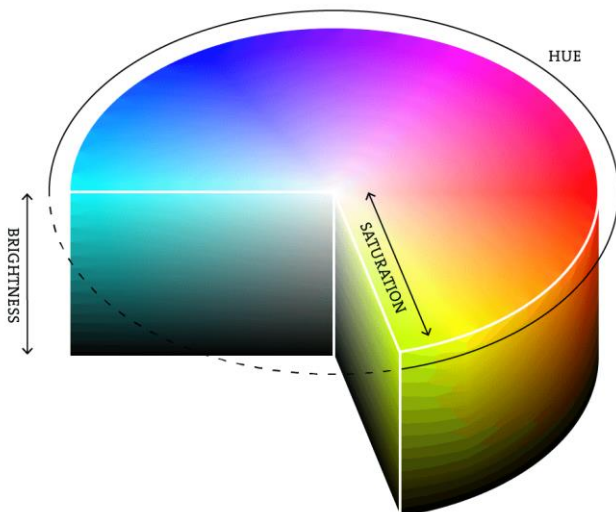
a*: Måler fargen i en skala fra rødt ($a^* > 0$) til grønt ($a^* < 0$)

b*: Måler fargen i en skala fra gult ($b^* > 0$) til blått ($b^* < 0$)

L: Hvor mye lys som blir reflektert; svart (0% reflektert lys) og hvitt (100% reflektert lys) (Choubert et al., 1997).

Figur 3.1: Fargeskala gitt L, a* og b*-verdier (Kumah et al., 2019)

3.5.2 Tolkning av hue, Chromatic og L fargeskalaen (CIELCH)



hue: Måler fargen i en fargesirkel (360°), derav rødt (0°), gult (90°), grønt (180°) og blå (270°).

Chromatic: Måler metningsgrad av farge, ingen farge (0%) og full mettet farge (100%).

L: Hvor mye lys som blir reflektert; svart (0% reflektert lys) og hvitt (100% reflektert lys) (Choubert et al., 1997).

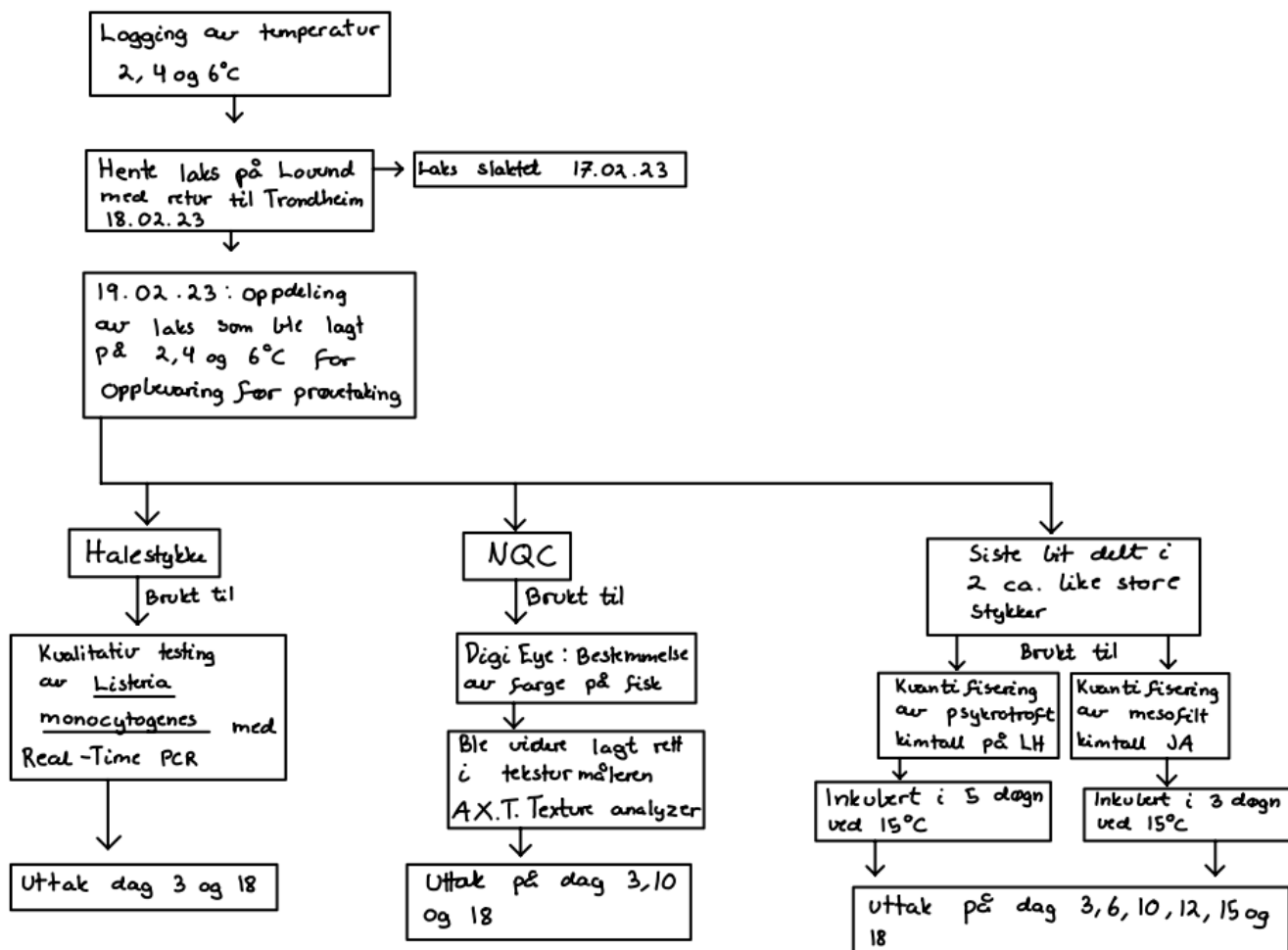
Figur 3.2: Viser fargeskala gitt hue, chromatic (saturation) og L (brightness) verdier (Shiffman, u.å.).

3.6 AX. T Texture analyser

AX. T Texture analyser er en teksturmåler som brukes mye i blant annet matindustrien for å måle ulike parameter som påvirker teksturen til ulike produkter. Noen av disse parameterne er hardhet, fasthet og strekkbarhet (Stable micro systems, 2023).

4 Materialer og metode

Figur 4.1 er et overordnet flytskjema for hva som har blitt gjort før og under prøvetaking. Det har blitt logget temperaturer, hentet laks, forberedning av laks for uttak, og uttak av laksen.



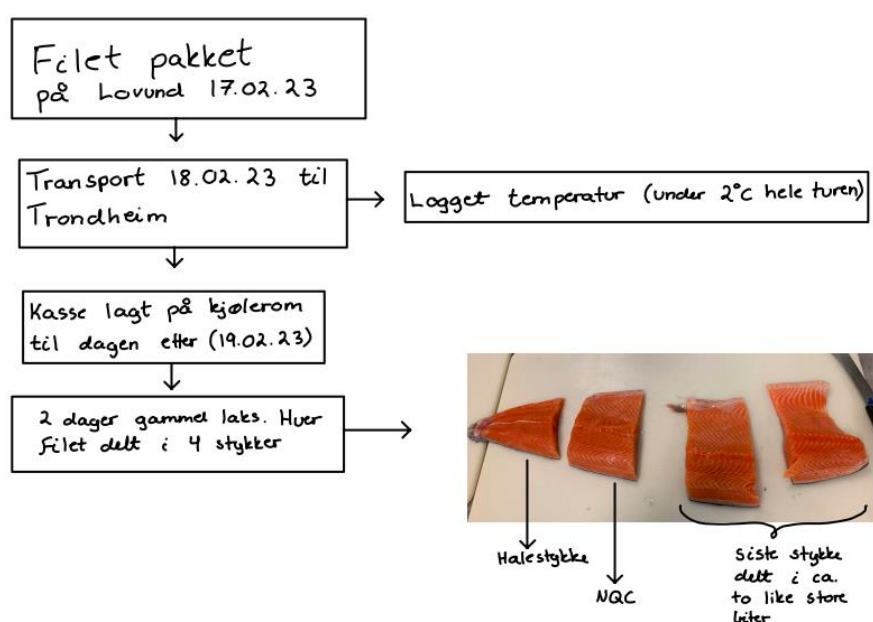
Figur 4.1: Overordnet flytskjema for analysene utført i denne studien.

4.1 Lagringsforsøk

Før laksen ankom Trondheim, ble det utført logging av temperaturer i ulike kjøleskap. Dette ble gjort for å se om kjøleskapene kunne opprettholde temperaturen som ble innstilt. En logger ble lagt i flere ulike kjøleskap som var innstilt på 2°C og 4°C.

4.2 Klargjøring av fisk

Laksen ble oppdrettet i Storvika og slaktet på Lovund for bedriften Nova Sea. Slaktedato var den 17.02.2023, hvor fisken hadde en gjennomsnittsvekt på 3-4 kg. Helside filet med skinn av type A-trim (vedlegg 1) ble pakket i en ikke-lufttett pose i isoporkasser med is som skulle holde under 2°C hele veien til Trondheim. Temperaturen ble kontrollert med temperaturloggere nederst og inn mot midten av kassene hvor det er antatt å ha høyest temperatur like etter pakking i følge termodynamikkens andre lov (UIO, 2022). Dette fordi isen legges på toppen i kassene, og ettersom fisken er varmere enn isen, må isen kjøle ned fisken fra toppen og ned mot bunnen. Når kassene oppnår en likevekt og kjølemediet ikke lenger klarer å opprettholde lav temperatur, vil oppvarming av filetene begynne. Da vil det være varmest i toppen av kassene og kaldest ned mot bunnen og midten av kassen. I Trondheim ble kassen lagt på et kjølerom innstilt på 4°C før fisken skulle deles opp dagen etter. Laksen var 2 dager gammel da hver filet ble delt opp i halestykke, en bit i henhold til Norwegian Quality Cut (NQC) og to andre biter fra lengre fram på fileten (se bilde i figur 4.2). NQC er et snitt mellom ryggfynnens bakre kant og gattåpningen (Rørdal & Pettersen, 2016). Halestykkene ble benyttet til *L. monocytogenes* Real-Time PCR-test. NQC-snittene ble benyttet til sensorisk test. De gjenværende bitene ble benyttet til test av totalkim og test av H₂S-produserende bakterier ved hjelp av Long and Hammer- og Jernagar. Figur 4.2 viser flytskjemaet til laksefiletene fra en laksekasse på Lovund til ferdig oppdeling i Trondheim.



Figur 4.2: Flytskjema for klargjøring av fisk; fra henting av laks til lagring under gitte temperaturer.

4.3 Tillaging av agar og fortynningsvæske

Agarene som ble benyttet i dette forsøket var Long & Hammer agar og Jernagar. Long & Hammer agar (LH) ble benyttet til å kvantifisere totalt psykrotroft kimtall (marine bakterier). Jernagar (JA) ble benyttet for kvantifisering av totalt kimtall og H₂S-produserende bakterier, henholdsvis som hvite og sorte kolonier. Peptonvann ble benyttet til fortynningsvæske. 24 LEB ble også benyttet til fortynningsvæske og oppformeringsmedium hos prøvene som skulle testes for *L. monocytogenes*.

4.3.1 Long & Hammer agar

Tillaging av Long & Hammer agar (LH) ble utført i henhold til NMKL No.184 (NMKL, 2006) (tabell 4.1). Etter autoklaving (121°C, 15 min) og temperering til ca. 50°C ble 2,5 ml_{Fe(III)NH₄-Citrat}/1000 ml_{LH-agar} Fe(III)NH₄-Citrat oppløsning (konsentrasjon) tilsatt ved sterilfiltrering (sluttkonsentrasjon 0,025%).

Tabell 4.1: Oppskrift Long & Hammer agar (NMKL, 2006).

Ingrediens	Mengde
Proteose-peptone no.3 (Gibco)	20 g
Gelatin (Oxoid)	40 g
Kaliumfosfat (K ₂ HPO ₄) (EMSURE)	1,0 g
Natriumklorid (NaCl) (VWR CHEMICALS)	10,0 g
Agar (VWR CHEMICALS)	15,0 g
Destillert vann	1000 ml
Fe(III)NH ₄ -Citrat	
Fe(III)NH ₄ -citrat (SIGMA)	1,0 g
Destillert vann	10 ml

4.3.2 Jernagar

Jernagar (Lyngbys) (Oxoid, CM0964) ble tillaget i henhold til produsentenes anvisning (Thermo Fisher Scientific (a), u.å.). Etter autoklaving (121°C, 15 min) og temperering til ca. 50°C ble 8 ml_{L-cystein}/1000 ml_{Jernagar} av en 5% L-cystein-løsning (Sigma-Aldrich) tilsatt til sluttkonsentrasjon 0,04% L-cystein (tabell 4.2).

Tabell 4.2: Oppskrift jernagar (Thermo Fisher Scientific (a), u.å.).

Ingrediens	Mengde
Iron agar (Lyngby), CM0964 (Oxoid)	43,6 g
Destillert vann	1000 ml
L-Cystein	
L-cystein (SIGMA)	5,0 g
Destillert vann	100 ml

4.3.3 Peptonvann

Peptonvann ble brukt som fortynningsvæske (tabell 4.3). Denne ble tillagt i henhold til NMKL No. 184 (NMKL, 2006).

Tabell 4.3: Oppskrift peptonvann (NMKL, 2006).

Ingrediens	Mengde
Natriumklorid (NaCl) (VWR CHEMICALS)	8,5 g
Bacto pepton (Oxoid)	1 g
Destillert vann	1000 ml

4.3.4 24 LEB

24 Listeria Enrichment Broth (24 LEB), ble tillagt i henhold til produsentenes anvisning (Thermo Fisher Scientific (b), u.å.) (tabell 4.4). Etter autoklivering (121°C, 15 min) ble mediet tilsatt 10 ml 24 LEB Selective supplement (Oxoid) per liter 24 LEB (Oxoid).

Tabell 4.4: Oppskrift 24 LEB (Thermo Fisher Scientific (b), u.å.).

Ingrediens	Mengde
24 LEB (Oxoid)	21,75 g
Destillert vann	500 ml
Autoklaveres	
24 LEB selective supplement (Oxoid)	5 ml

4.4 Mikrobiologisk analyse av laks

Prøver fra laks lagret ved 2°C, 4°C og 6°C ble analysert for totalt mesofilt kimtall og H₂S-produserende bakterier på jernagar. H₂S-produserende bakterier ble vist som svarte kolonier og det totale mesofile kimtallet ble vist som svarte og hvite kolonier. Det ble også testet for totalt psykrotroft kimtall på Long & Hammer agar på laks lagret ved samme temperaturer. Prøver ble tatt 3, 6, 10, 12, 15 og 18 dager etter slaktedato.

I tillegg ble det gjennomført en kvalitativ test på *L. monocytogenes* med Real-Time PCR. Prøvene ble tatt 3 og 18 dager etter slaktedato.

4.4.1 Kvantifisering av totalt psykrotroft og mesofilt (H₂S-produserende kolonier) kimtall med LH og JA

Prøvene ble navngitt ved hjelp av agartype, grader-uttak, parallell og fortynningsgrad. Eksempelvis LH 2-1a⁻², som betyr at det er en LH plate med prøve fra laks lagret på 2°C fra uttak 1 og fortynningsgrad 10⁻².

10 gram prøvemateriale ble tatt ut og fortynnet med 90 ml peptonvann i en stomacherpose. Prøvene ble ekstrahert fra midten av laksestykket for å standardisere prøvene og for å redusere muligheten for kontaminasjon fra skinnet. Dette ble homogenisert i en Stomacher (400 Circulator) i 120 sekunder. Deretter ble prøvene overført fra posen til prøverør for så å bli fortynnet i en 10-fold-fortynningsserie til en passende fortynning. Hver prøve hadde tre paralleller og det ble benyttet to ulike platespredningsmetoder. Strykemetode ble benyttet på LH for å spre prøvematerialet. Dette ble gjort ved å tilsette 1 ml fra hver parallell i petriskålene før prøven ble strøket utover med en engangsplatespreder. Innstøping ble benyttet på JA hvor et tynt lag med medium ble tilsatt i petriskåler slik at bunnen akkurat ble dekket. Dette skulle størkne før 1 ml fortynnet prøvemateriale fra hver parallell ble tilsatt i petriskåler. Videre ble et nytt dekkende lag med medie påført som et topplag. Inkuberingstiden var 5 døgn ved 15°C for LH, og 3 døgn ved 15°C for JA.

4.4.2 Kvalitativ påvisning av *L. monocytogenes* ved PCR

Det ble tatt ut 25 gram prøvemateriale som ble fortynnet med 225 gram 24 LEB (Oxoid) og 10 gram 24 LEB buffer supplement i en stomacherpose. Dette ble gjennomført med 5 paralleller per temperatur (totalt 15 prøver). Disse ble homogenisert i en stomacher (400 Circulator) i 120

sekunder før de ble forflyttet til en inkubator og inkubert ved 37°C i 1 døgn. Etter 1 døgn i inkubatoren ble prøvene overført fra posene til mikrorør.

Lyseringen startet med å overføre prøvene fra mikrorør til lyseringstuber. Lyseringstubene inneholdt Lysis reagens 1 & 2, og Proteinase K. Deretter ble prøvene lysert i en thermocycler (Doppio, VWR), før det ble utført Real-Time PCR med QuantStudio 5. Prosessene og tilsats av reagenser ble utført i henhold til SureTech *Listeria monocytogenes* PCR Assay (Thermo Fisher Scientific, 2020).

4.5 Sensorisk analyse av laks

4.5.1 Fargeanalyse

Fargeanalyse av laksefiletene ble gjennomført ved hjelp av DigiEye Colour Measurement. Før bruk måtte kamera varmes opp, og videre kalibreres ved å bruke en medfølgende fargetavle.

Etter kalibrering ble et NQC-snitt av laksen plassert i en lystett beholder før bildet ble tatt. For å standardisere fargeanalysen ble alle prøver testet på back loin (ryggstykket) av NQC-snittet. Det ble også gjennomført fargeanalyse på tre paralleller fra hver lagringstemperatur for å minimere påvirkning av individforskjeller på resultatene. Rådataene ble registrert som lysthet (L), rød-grønne spekteret (a^*), blå-gule spekteret (b^*), posisjon på fargesirkelen (hue) og metningsgrad av fargen (Chromatic).

4.5.2 Trykktest

Teksturmåling av laksefiletene ble gjennomført ved hjelp av en AX.T Texture analyser med en kuleprobe. Teksturmåleren ble stilt inn på 1 g force og 10 mm fra kontaktpunktet. Før bruk ble teksturmåleren kalibrert for høyde og kraft, ved å først la proben bevege seg helt ned til bunnen, og deretter ved å plassere en 5 kg vekt på teksturmåleren.

For å minimere individforskjeller ble det målt tekstur på tre paralleller fra hver temperatur. For å standardisere trykktesten ble alle prøver testet på back loin av NQC-snittet. Hver prøve ble plassert i en metallbakke med papir i bunnen for å unngå at prøvene skulle flytte på seg under målingene. Bakken ble deretter plassert under proben, målingen startet ved at proben beveget seg langsomt ned i fileten. Rådataene fra målingene ble registrert i programmet Exponent Lite som tilhører teksturmåleren. I dette programmet var det mulig å få en grafisk fremstilling av dataene, og deretter bestemme høyeste verdi for fasthet.

5 Resultat

5.1 Kontroll av lagringstemperatur

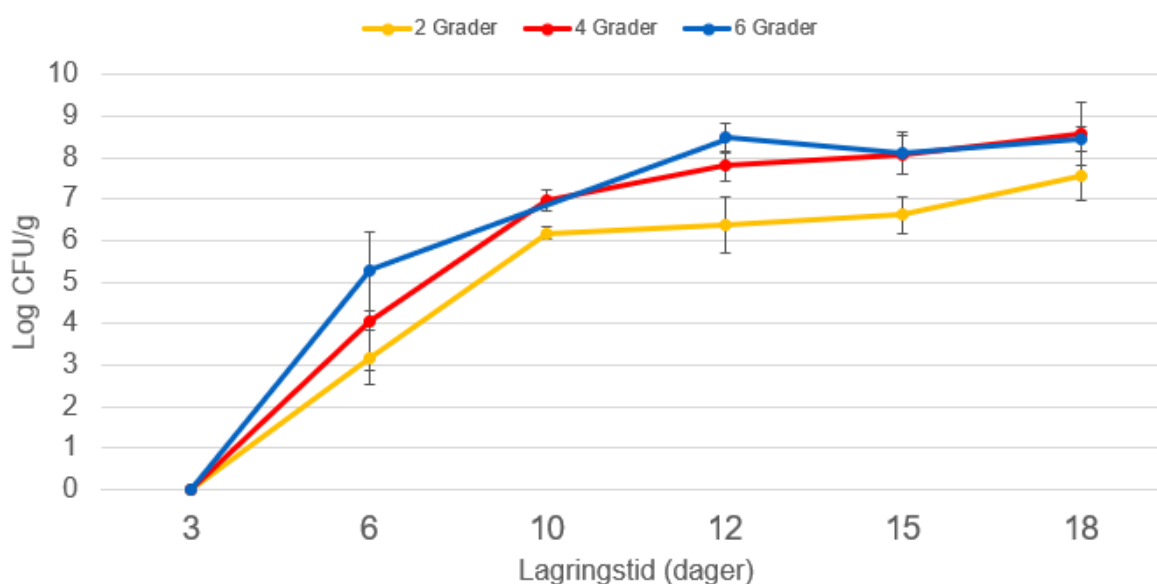
Lagringstemperatur ble kontrollert i flere kjøleskap, men det ble til slutt valgt to kjøleskap som skulle benyttes i forsøket. Kjøleskapet som var innstilt på 2°C hadde et gjennomsnitt på 1,78°C ± 0,05°C. Kjøleskapet som var innstilt på 4°C hadde et gjennomsnitt på 4,05°C ± 0,06°C.

Temperaturen ble logget i en kasse med laks ved transport fra Lovund og til Trondheim. Loggeren viste at kassen sank i temperatur til under 2°C på rundt 3 timer. Deretter var det en svak, men jevn synking i temperaturen. Når kassene ble plassert på kjølerommet, lå temperaturen stabilt på 0,6°C frem til kassene ble tatt ut dagen etter (vedlegg 2).

5.2 Kvantifisering av psykrotroft kimtall

Kvantifisering av psykrotroft kimtall ble gjennomført med Long & Hammer agar som ble inkubert i 5 døgn ved 15°C. Det ble gjennomført en anova test for å finne signifikante forskjeller som funksjon av lagringstemperatur.

Det var ingen signifikant forskjell mellom psykrotroft kimtall i laks lagret ved 4°C og 6°C gjennom hele lagringsperioden ($p > 0,05$). Etter dag 10 ble det observert et signifikant lavere psykrotroft kimtall i laks lagret ved 2°C sammenlignet med de to andre temperaturene ($p < 0,05$). Den signifikante forskjellen ble observert frem til dag 15. Etter 18 dagers lagring var det ingen signifikant forskjell mellom psykrotroft kimtall i laks lagret ved de ulike temperaturene ($p > 0,05$). På dag 10 var det ikke mulig å kvantifisere kimtallet ved 6°C pga overvekst på alle paralleller, derfor ble det benyttet et estimat ($\text{Log}(10^7)$) ved statistisk utregning for det psykrotrofe kimtallet ved 6°C denne dagen (figur 5.1).



Figur 5.1: Psykrotroft kimtall (LH 15°C) i laksefilet lagret ved 2°C (gul linje), 4°C (rød linje) og 6°C (blå linje) i 18 dager. Vertikale feilbarer viser ± 1 SD. Det finnes ikke data for punktet 10 dager for laks lagret ved 6°C på grunn av overvekst (vedlegg 3).

5.2.1 Temperaturavhengig vekstkinetikk

Basert på psykrotroft kimtall ble ComeBase benyttet for å estimere maksimal veksthastighet (μ_{max}) og maksimal populasjonstetthet (Y_{max}) for hver temperatur (tabell 5.1). Ved økning i lagringstemperatur med 2°C økte maksimal veksthastighet med 0,120 log cfu/g/døgn. Y_{max} var også høyere ved 4°C og 6°C sammenlignet med laks lagret på 2°C.

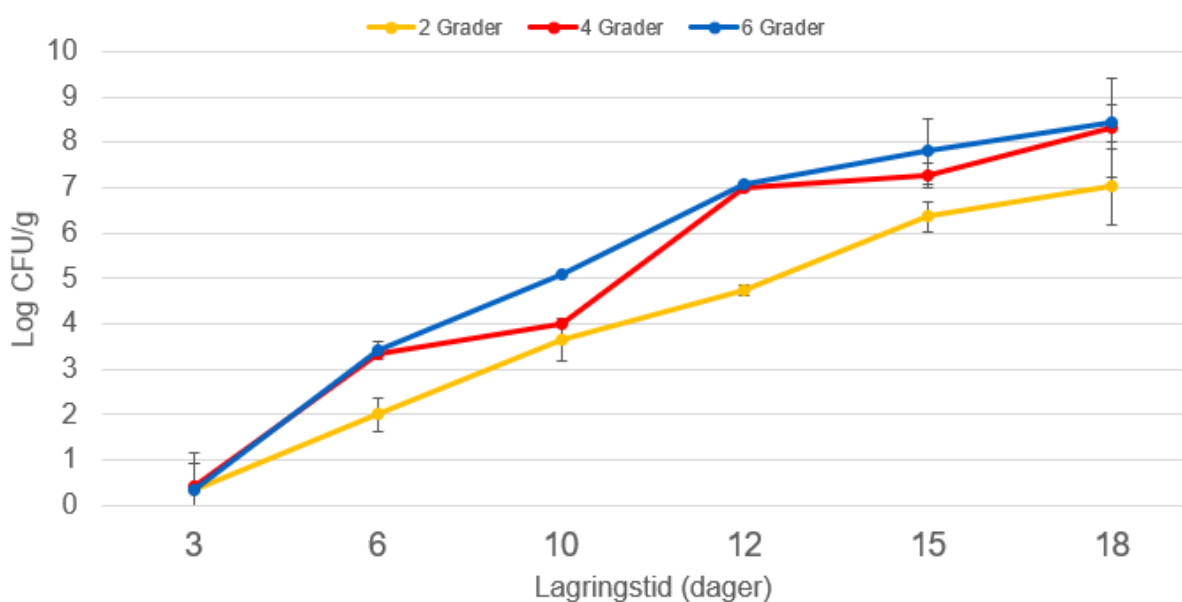
Tabell 5.1: Maksimal veksthastighet (μ_{max}) for psykrotroft kimtall i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C estimert ved bruk av Baranyi og Roberts primære vekstmodell (Baranyi & Roberts, 1994).

Baranyi og Roberts vekstmodell for psykrotroft kimtall			
	2°C	4°C	6°C
Høyeste veksthastighet (log cfu/g/døgn)	0,650 ± 0,111	0,771 ± 0,122	0,896 ± 0,290
Y_{max} (log cfu/g)	7,136 ± 0,619	8,401 ± 0,656	8,384 ± 0,802
Tilpasning til vekstmodell	$R^2 = 0,934$	$R^2 = 0,945$	$R^2 = 0,904$

5.3 Kvantifisering av mesofilt kimtall

Kvantifisering av mesofilt kimtall ble gjennomført på jernagar som ble inkubert i 3 døgn ved 22°C. Det ble gjennomført en anova test for å finne signifikante forskjeller som funksjon av lagringstemperatur.

Det var ingen signifikant forskjell ($p > 0,05$) mellom mesofilt kimtall lagret ved 4°C og 6°C i løpet av lagringsperioden, mens ved dag 6 og dag 12 ble det observert et signifikant ($p < 0,05$) lavere mesofilt kimtall i laks lagret ved 2°C. På dag 10 var det ingen signifikant forskjell mellom mesofilt kimtall lagret ved 2°C, 4°C og 6°C, ettersom at det kun var en parallell som kunne kvantifiseres ved 4°C og 6°C. På dag 15 ble det observert et signifikant lavere mesofilt kimtall lagret ved 2°C i forhold til 6°C, mens på dag 18 ble det ikke observert en signifikant forskjell ($p > 0,05$) mellom mesofilt kimtall lagret ved 2°C, 4°C og 6°C (figur 5.2).



Figur 5.2: Mesofilt kimtall (Jernagar 22°C) i laksefilet lagret ved 2°C (gul linje), 4°C (rød linje) og 6°C (blå linje) i 18 dager. Vertikale feilbarer viser ± 1 SD (vedlegg 4).

5.3.1 Temperaturavhengig vekstkinetikk

Basert på mesofilt kimtall ble ComeBase benyttet for å estimere maksimal veksthastighet (μ_{max}), maksimal populasjonstetthet (Y_{max}) og varighet av lagfase (døgn) for hver temperatur (tabell 5.2). Ved økning av lagringstemperatur av laks med 2°C økte det mesofile kimtallet med 0,9 cfu/g/døgn. Maksimal populasjonstetthet økte også ved økning i lagringstemperatur fra 2°C til 4°C og 6°C, samtidig som logfasen ble kortere ved høyere temperatur.

Tabell 5.2: Maksimal veksthastighet (μ_{max}) for mesofilt kimtall i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C estimert ved bruk av Baranyi og Roberts primære vekstmodell (Baranyi & Roberts, 1994).

Baranyi og Roberts vekstmodell for mesofilt kimtall			
	2°C	4°C	6°C
Veksthastighet (log cfu/g/døgn)	0,527±0,038	0,619±0,160	0,71±0,116
Ymax (log cfu/g)	7,29±0,37	8,315±1,144	8,325±0,554
Lagfase (døgn)	2,671±0,774	1,682±2,797	1,945±1,588
Tilpasning til vekstmodell	$R^2 = 0,994$	$R^2 = 0,92$	$R^2 = 0,969$

5.4 H₂S-produserende bakterier

Kvantifisering av H₂S-produserende bakterier ble gjennomført på jernagar som ble inkubert i 3 døgn ved 22°C. Det ble gjennomført en anova test for å finne signifikante forskjeller som funksjon av lagringstemperatur.

H₂S-produserende bakterier ble kvantifisert som sorte kolonier på jernagar. Det var ingen signifikant forskjell på kimtall mellom de ulike temperaturene for laks lagret i 3, 6, 10, 12 og 18 dager ($p > 0,05$ for alle dagene). For laks lagret i 15 dager var det likevel en signifikant forskjell ($p < 0,05$) i kimtall, der det ble kvantifisert signifikant lavere kimtall på laks lagret ved 4°C sammenlignet med laks lagret ved 6°C (tabell 5.3).

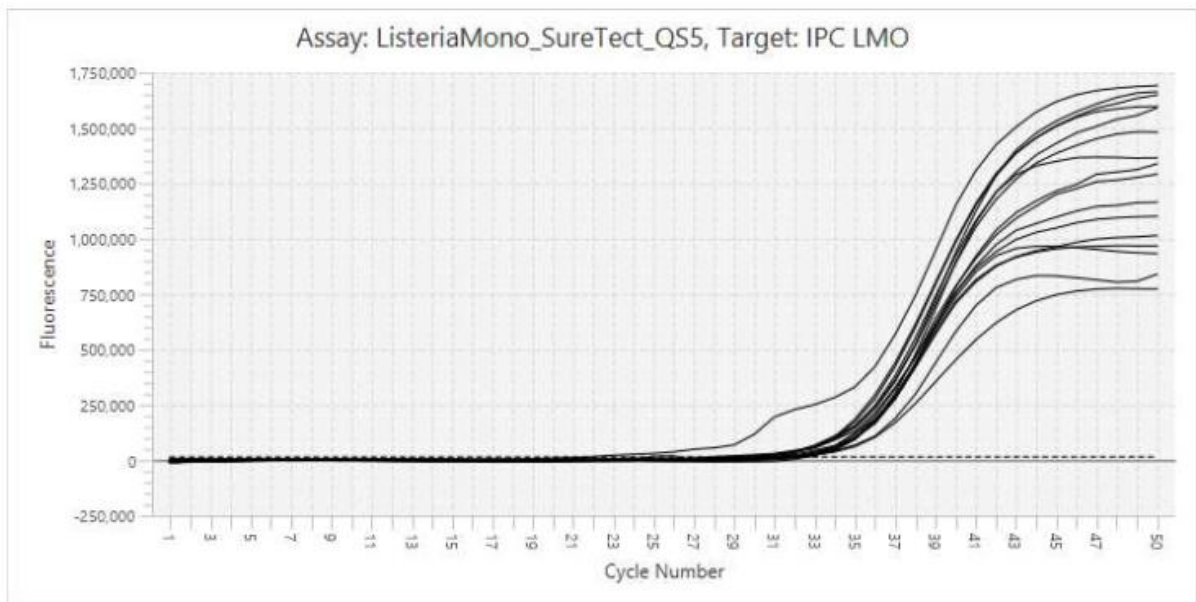
*Tabell 5.3: H₂S-produserende bakterier. Tabellen viser gjennomsnittet av prøvene med H₂S-produserende bakterier som ble kvantifisert. Forskjellige små bokstaver indikerer statistiske sign. forskjeller mellom gruppene (pr. rad) ($p < 0,05$). * = Kun påvist vekst i en eller to paralleller. ** = Overvekst på en eller flere paralleller, disse er derfor estimat.*

H ₂ S-produserende kolonier			
Lagringstid (dager)	2°C (log cfu/g ± 1SD)	4°C (log cfu/g ± 1SD)	6°C (log cfu/g ± 1SD)
3	Ikke påvist	1*	Ikke påvist
6	Ikke påvist	1,92±0,31*	2,23*
10	2,70±1,80*	2,73±1,83**	4,69±0,26**
12	2,69±0,62*	4,32±1,59	3,69±1,52
15	5,38±0,53* ^{AB}	4,29±0,3 ^A	6,10±0,63* ^B
18	4,56±0,73	8,34*	6*

5.5 Kvalitativ påvisning av *L. monocytogenes*

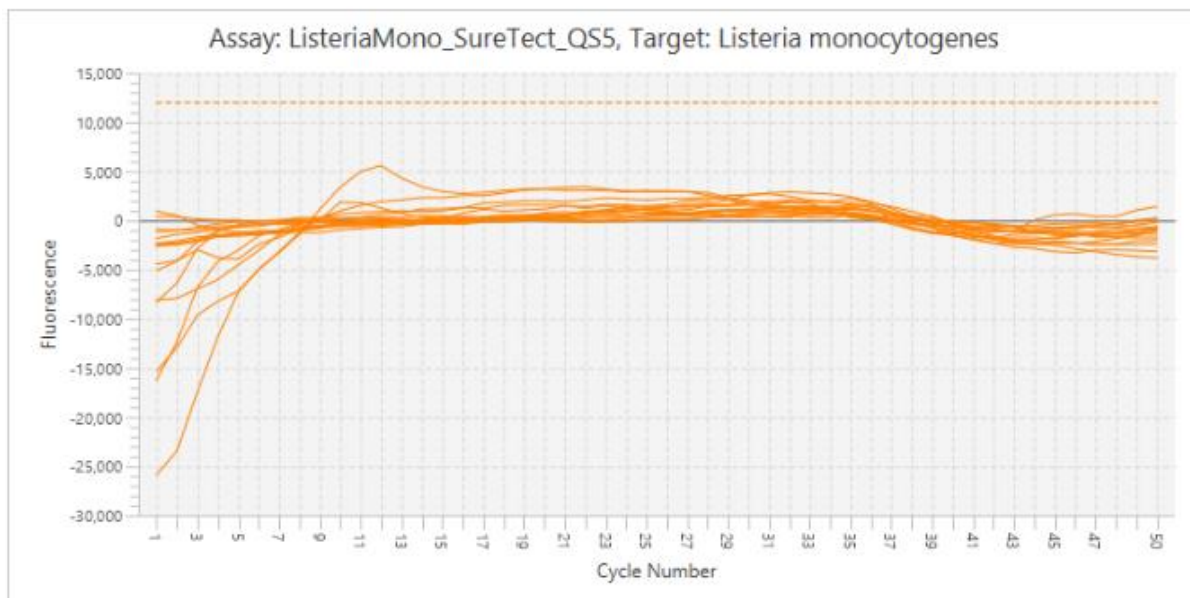
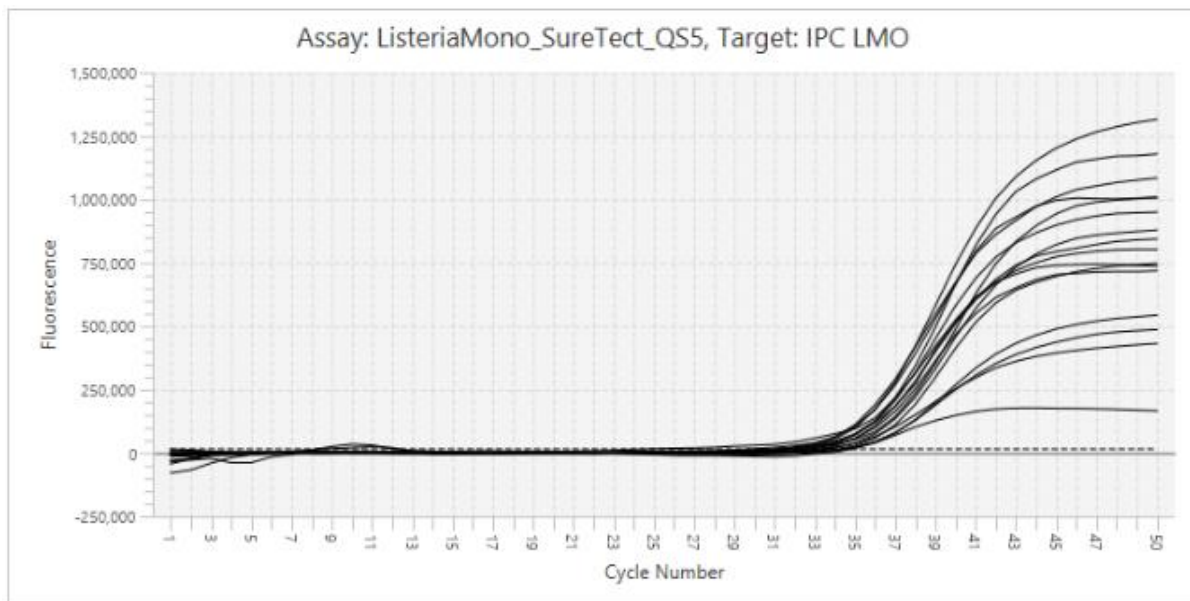
Kvalitativ påvisning av *L. monocytogenes* ble gjennomført med fem paralleller fra hver temperatur, i tillegg til en blankprøve som ikke inneholdt noe prøvemateriale. I begge testene ble det gjennomført en intern amplifiseringskontroll (IAC), for å kontrollere at testen hadde blitt gjennomført korrekt. Det ble også benyttet en non-template control (NTC), for å kontrollere om prøvene var tilsatt alle reagensene og at reagensene ikke var kontaminert.

Det ble ikke påvist *L. monocytogenes* i laks prøvetatt på dag 3. En prøve hadde høyere fluorescens i forhold til de andre (vedlegg 5), men likevel var fluorescensen så lav at prøven ble tolket som negativ. IAC var positiv for alle reaksjoner, samtidig som NTC var godkjent (figur 5.3).



Figur 5.3: Øverst: Amplifiseringskurve som viser positivt resultat for den interne amplifiseringskontrollen (IAC), testen ble gjennomført korrekt. Nederst: Resultat av PCR *L. monocytogenes* dag 3 som viser negative prøver, inkludert non-template control (NTC).

Det ble heller ikke påvist *L. monocytogenes* i laks prøvetatt på dag 18. Også her var IAC positiv for alle reaksjoner, samtidig som NTC var godkjent. (figur 5.4) (vedlegg 6).



Figur 5.4: Øverst: Amplifiseringskurve som viser positivt resultat for den interne amplifikasjonskontrollen (IAC), testen ble gjennomført korrekt. Nederst: Resultat av PCR *L. monocytogenes* dag 18 som viser negative prøver, inkludert non-template control (NTC).

5.6 Bestemmelse av farge (L, a*, b*, chromatic, hue)

Bestemmelse av farge ble gjennomført med DigiEye Colour Measurement. Det ble også gjennomført en anova test for å finne signifikante forskjeller som funksjon av lagringstemperatur og lagringstid.

5.6.1 Lyshet (L)

Laks lagret ved 2°C ble signifikant mørkere etter 10 dagers lagring ($p < 0,05$), men laksen ble ikke mørkere ved lagring i 18 dager. Laks lagret ved 6°C ble også signifikant mørkere etter 10 dagers lagring ($p < 0,05$), men ikke etter 18 dagers lagring (tabell 5.4).

Tabell 5.4: Gjennomsnitt av lyshet målt i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C i 3, 10 og 18 dager \pm 1 SD (n=3 for hvert prøvepunkt).

Lyshet (%)			
Lagringstid (dager)	2°C (%)	4°C (%)	6°C (%)
3	60,70% \pm 0,75%	61,42% \pm 0,45%	61,00% \pm 1,13%
10	56,81% \pm 2,31%	58,60% \pm 2,37%	56,81% \pm 1,82%
18	56,67% \pm 0,96%	59,15% \pm 3,12%	60,36% \pm 0,68%

5.6.2 Rød/grønn spekter (a*)

Det ble ikke observert noen signifikante endringer i rød/grønt spekter ($p > 0,05$) mellom prøvene som funksjon av temperatur og lagringstid (tabell 5.5).

Tabell 5.5: Gjennomsnitt av rød/grønt spekter (a*) målt i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C i 3, 10 og 18 dager ± 1 SD (n=3 for hvert prøvepunkt).

Rød (+)/grønn spekter (-) (a*)			
Dag	2°C (a*)	4°C (a*)	6°C (a*)
3	33,81 \pm 2,44	34,96 \pm 1,48	34,70 \pm 2,45
10	32,30 \pm 1,34	33,81 \pm 1,82	32,29 \pm 0,73
18	33,08 \pm 3,24	32,11 \pm 0,79	31,89 \pm 2,08

5.6.3 Gul/blå spekter (b*)

Det ble ikke observert noen signifikante endringer i gul/blått spekter ($p > 0,05$) mellom prøvene som funksjon av lagringstemperatur og lagringstid (tabell 5.6).

Tabell 5.6: Gjennomsnitt av gul/blått spekter (b*) målt i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C i 3, 10 og 18 dager ± 1 SD (n=3 for hvert prøvepunkt).

Gul (+)/blå (-) spekter (b*)			
Dag	2°C (b*)	4°C (b*)	6°C (b*)
3	35,20 \pm 2,76	37,33 \pm 1,56	36,56 \pm 2,74
10	34,60 \pm 1,81	35,55 \pm 2,27	33,65 \pm 0,67
18	34,63 \pm 4,25	31,02 \pm 0,73	30,58 \pm 2,39

5.6.4 Chromatic

Metningsgraden på fargen til laksen ble observert å være signifikant mindre på laks lagret ved 4°C etter 18 dagers lagring sammenlignet med 3 dagers lagring ($p < 0,05$). Det ble ikke funnet noen signifikante endringer ($p > 0,05$) som funksjon av temperatur (tabell 5.7).

Tabell 5.7: Gjennomsnitt av chromatic målt i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C i 3, 10 og 18 dager \pm 1 SD (n=3 for hvert prøvepunkt).

Chromatic (%)			
Dag	2°C	4°C	6°C
3	48,81% \pm 3,65%	51,15% \pm 2,14%	50,41% \pm 3,67%
10	47,34% \pm 2,23%	49,06% \pm 2,88%	46,64% \pm 0,79%
18	47,90% \pm 5,31%	44,65% \pm 0,98%	44,19% \pm 3,14%

5.6.5 hue

Det ble ikke observert noen signifikant endring ($p > 0,05$) i hue grader mellom 4°C og 6°C i løpet av lagringsperioden. Etter lagring i 18 dager var laks lagret på 2°C signifikant mindre rød ($p < 0,05$) sammenlignet med 4°C og 6°C. Det ble også observert en signifikant endring i hue på laks lagret ved 4°C og 6°C. De hadde en signifikant rødere farge ($p < 0,05$) etter 18 dagers lagring, sammenlignet med lagring i 3 og 10 dager. Laks lagret på 2°C endret ikke farge, men laks lagret på 4°C og 6°C ble rødere gjennom lagringsperioden (tabell 5.8).

Tabell 5.8: Gjennomsnitt av hue (°) målt i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C i 3, 10 og 18 dager ± 1 SD ($n=3$ for hvert prøvepunkt).

Hue (°)			
Dag	2°C (°)	4°C (°)	6°C (°)
3	46,14 \pm 0,55°	46,88 \pm 0,25°	46,49 \pm 0,21°
10	46,96 \pm 0,42°	46,42 \pm 0,45°	46,19 \pm 0,75°
18	46,26 \pm 0,70°	44,02 \pm 0,55°	43,78 \pm 0,46°

5.7 Bestemmelse av fasthet

Bestemmelse av fasthet ble gjennomført med AX. T Texture Analyzer, og en anova test for å finne signifikante forskjeller som funksjon av lagringstemperatur og lagringstid.

Laks lagret på 2°C ble signifikant fastere gjennom lagringsperioden ($p < 0,05$). Laks lagret på 4°C og 6°C ble også fastere etter 10 dagers lagring, men hadde ingen endring etter dette. Det ble ikke observert noen signifikant forskjell som funksjon av temperatur (tabell 5.9).

Tabell 5.9: Gjennomsnitt av fasthet målt i laksefilet lagret ved 2°C, 4°C og 6°C i 3, 10 og 18 dager ± 1 SD ($n=3$ for hvert prøvepunkt).

Trykktest (g)			
Dag	2°C (g)	4°C (g)	6°C (g)
3	360,7g \pm 40,75g	401,31g \pm 165,53g	569,77g \pm 87,27g
10	1030,60g \pm 159,10g	997,70g \pm 292,52g	957,59g \pm 203,37g
18	1221,06g \pm 216,78g	968,81g \pm 309,84g	954,69g \pm 235,31g

5.8 Lukt

I tillegg til testene som ble gjennomført, ble det gjort en subjektiv vurdering av lukt. Det ble i løpet av prøveuttakene observert en endring i lukt. Utover i forsøksperioden ble det observert at enkelte laksefileter fikk en sterkere lukt. Spesielt laksefiletene lagret ved 4°C og 6°C fikk en kraftig lukt av forringet fisk mot slutten av forsøksperioden. Laks lagret ved 2°C fikk også en lignende lukt mot slutten av forsøksperioden, men ikke i like stor grad som laks lagret ved 4°C og 6°C.

6 Diskusjon

Målet med denne oppgaven var å undersøke hvor stor påvirkning lagringstemperaturene 2°C, 4°C og 6°C har på den mikrobiologiske- og sensoriske kvaliteten til ferske laksefileter i løpet av lagringsperioden. Dette kan igjen si noe om holdbarheten til laksefiletene. Animaliehygieneforskriften sier at transporten av ferske fiskerivarer ikke bør overstige 2°C i transporttiden (Mattilsynet (a), 2023; Animaliehygieneforskriften, 2022). I denne oppgaven er det derfor blitt forsøkt å gjenspeile de faktiske lagringsbetingelsene næringen benytter under transport. Etter transport kan derimot lagringsbetingelsene variere noe, der spesielt lagringstemperaturen var den parameteren som skulle undersøkes.

Parameterne som ble benyttet for å måle kvalitetsutvikling i denne oppgaven var vekst av psykrotrofe og mesofile bakterier, samt *L. monocytogenes*, og en sensorisk analyse av farge og fasthet. Det ble i tillegg vurdert å gjennomføre QIM, men dette ble ikke gjennomført da dette ville kreve en betydelig mengde laks. Fargeanalyse og trykktest ble derfor gjennomført som erstatning for denne.

6.1 Gjennomføring

God hygiene var viktig å opprettholde gjennom alle praktiske oppgaver for å unngå unødvendig kontaminasjon. Når filetene lå i kassene, ble kjøttssidene lagt mot hverandre med skinnsidene ut for å unngå at bakterier fra skinnet skulle kontaminere kjøttet. Ved oppdeling av laksefiletene ble knivene spritet og brent mellom hvert snitt for samme grunn i å unngå å smitte av bakterier fra skinnet og inn i kjøttet ved nytt snitt. Skjærefjølene ble også spritet mellom hver filet. Prøveuttak ble gjennomført med aseptisk teknikk.

Det var viktig i prosjektet å få randomisert prøvene. Dette ble gjort ved å plassere laksefiletene i poser, for så å fordele posene tilfeldig ved de forskjellige temperaturene. På denne måten ble hver filet spredt tilfeldig på de tre lagringstemperaturene. Dette ble gjort for å minimere sannsynligheten for individsforskjeller i forhold til om hele fileter ble lagt på samme temperatur. Ved gjennomføring av de mikrobielle prøvene ble prøvemateriale tatt fra samme punkt på laksestykket for standardisering av prøvene. Det ble tatt midt i stykket for å få så lik mengde med overflate som mulig i prøvene. På trykktesten og ved bestemmelse av farge ble samme punkt testet på alle stykkene. Her ble back loinen valgt for å ha et standardisert punkt.

På turen hjem fra Lovund ble det logget temperatur i en av totalt tre kasser med laks. Grunnen til dette er fordi det kun var en logger tilgjengelig på dette tidspunktet. Loggeren ble lagt i kassen som ble antatt å holde høyest temperatur. Det var kassen som lå øverst i bagasjerommet og som var mest utsatt for varmen som sto på i bilen. De to nederste kassene ble isolert av kassen over. Loggeren viste at kassen som ble logget hadde en temperatur på under 2°C hele turen (vedlegg 2).

6.2 Vurdering av kjølelagring

For å undersøke om kjøleskapene var i stand til å levere en stabil, lav temperatur innenfor ønsket temperaturområde, ble flere kjøleskap innstilt på disse temperaturene og deretter logget. De to kjøleskapene som ble valgt til oppbevaring på 2°C og 4°C var i stand til å holde henholdsvis $1,78^{\circ}\text{C} \pm 0,05^{\circ}\text{C}$ og $4,05^{\circ}\text{C} \pm 0,06^{\circ}\text{C}$ over ett døgn. Dette ble vurdert som akseptable verdier ettersom det på forhånd var en usikkerhet på om kjøleskapet som skulle holde 2°C ville bli for varmt, eller at de to andre skulle bli for kalde og dermed føre til lagring på overlappende temperaturer. Disse kjøleskapene var også de som klarte å holde en mest mulig stabil temperatur av de tilgjengelige kjøleskapene.

Det manglet flere kjøleskap som var i stand til å holde stabil temperatur, derfor ble det benyttet et inkubatorskap til lagring av laksefileter på 6°C. Ettersom at denne ikke ble logget kan det ikke med sikkerhet konkludere at temperaturen som ble innstilt holdt 6°C.

6.3 Sammenhengen mellom lagringstemperatur og mikrobiell vekst

Det finnes ingen spesifikke lovpålagte grenseverdier for aerobt kimtall hos spiseklar laks. Likevel finnes det noen retningslinjer for tilfredsstillende, akseptable og utilfredsstillende kimtall i spiseklar laks, som kan benyttes som utgangspunkt for å vurdere mikrobiologisk kvalitet. Aerobt kimtall under 6 cfu/g kan klassifiseres som tilfredsstillende, 6-7 cfu/g kan klassifiseres som akseptabelt og verdier over 7 cfu/g kan klassifiseres som utilfredsstillende (NSW Food Authority, 2008; Center for Food Safety, 2007). Noen studier påpeker at det må være 6-8 log cfu/g for å merke en sensorisk forringelse på fisk (Boziaris & Parlapani, 2017; Dalgaard, 1995). Dette kan bety at selv om fisken overstiger de akseptable verdiene for mikrobiologisk kvalitet trenger den ikke å være sensorisk forringet eller motsatt. Ettersom det ikke ble gjennomført en formell sensorisk vurdering på lukt og utseende, ble det benyttet 7 log cfu/g som akseptabel kvalitetsverdi ved vurdering av mikrobiell holdbarhet.

Ved å benytte den akseptable verdien for mikrobiologisk kvalitet er det mulig å estimere når et produkt er forringet. Det gjennomsnittlige psykrotrofe kimtallet til laks lagret ved 6°C var under 7 log cfu/g på dag 6, og overstiger denne verdien på dag 10. Dette er raskere i forhold til det mesofile kimtallet som var tilfredsstillende på dag 10. Ettersom at det ikke ble gjennomført flere uttak på psykrotroft kimtall blir den mikrobielle holdbarhetstiden til laks lagret ved 6°C, ble estimert til å være 6 dager.

Det gjennomsnittlige psykrotrofe kimtallet til laks lagret ved 4°C var under 7 log cfu/g på dag 10, og overstiger denne verdien på dag 12. Dette gjelder også for det gjennomsnittlige mesofile kimtallet til laks lagret ved 4°C. Ettersom at den gjennomsnittlige mesofile kimtallet var lavere i forhold til psykrotrofe kimtallet i laks lagret ved 4°C er det mulig at det mesofile kimtallet overstiger 7 log cfu/g senere i forhold til det psykrotrofe kimtallet til laks lagret ved 4°C. Dette betyr at den mikrobielle holdbarheten til laks lagret ved 4°C, ble estimert til å være 10 dager.

Det gjennomsnittlige psykrotrofe kimtallet til laks lagret ved 2°C var under 7 log cfu/g på dag 15, men overstiger denne verdien på dag 18. Dette gjelder også for det gjennomsnittlige mesofile kimtallet til laks lagret ved 2°C (vedlegg 3 og 4). Dette betyr at den mikrobielle holdbarheten til laks lagret ved 2°C, ble estimert til å være 15 dager.

Den estimerte mikrobielle holdbarheten til laks lagret ved 2°C er 15 dager, som er en dag lengre i forhold til holdbarheten Nova Sea har satt på laksefilet (14 dager) (Nova Sea, personlig kommunikasjon, 17. februar 2023). Laks lagret ved 2°C hadde estimert lengst mikrobiell holdbarhet og ved å øke temperaturen med 2°C vil den estimerte holdbarheten basert på akseptable verdier for mikrobiologisk kvalitet senkes med 40-50%. Dette støttes opp av det som ble beskrevet tidligere (2.3.3). Selv om den mikrobielle holdbarheten til fisk lagret ved 2°C er 15 dager er dette betraktelig kortere i forhold til den mikrobielle kvaliteten i fisk lagret i modifisert atmosfære pakking (MAP) (Fernández et al, 2009).

En forklaring på at laks lagret ved 2°C hadde en lengre holdbarhet, kan ha en sammenheng med at veksthastigheten til bakteriene er lavere. Både hos psykrotroft og mesofilt kimtall er veksthastigheten 10-18% lavere dersom temperaturen reduseres med 2°C (i temperaturintervallet 2°C-6°C). Dette gjør at det tar lengre tid for laks lagret ved 2°C å oppnå like høye verdier som det gjør hos 4°C og 6°C. Dette er også viktig dersom det evt. blir brudd på kjølekjeden i den eksponentielle fasen som beskrevet i teori (2.3.3).

Tilpasning til vekstmodellen for temperaturintervallene både til psykrotroft kimtall og mesofilt kimtall ligger på området 0,90-0,99. Verdiene tilsier at grafen har en tilpasningsgrad med 90-99% sikkerhet, som er akseptabelt. For en bedre tilpasning til vekstmodellen, kunne flere uttak gjennom hele lagringsperioden blitt gjennomført. Da hadde også verdien for maksimal veksthastighet og estimering av holdbarhet blitt mer nøyaktig. Det skulle også ha blitt brukt flere fortynningsrekker med et bredere spekter av fortynningsgrader da den eksponentielle veksten av mikroorganismer var høyere enn forventet.

6.3.1 H₂S-produserende bakterier

H₂S-produserende bakterier går under kategorien spesifikke forringelsesorganismer (SFO). Ved påvisning av H₂S-produserende bakterier i laksefiletene, varierte det om disse ble påvist eller ikke. I enkelte uttak ble det påvist flere kolonier og i andre ingen. Denne variasjonen fortsatte gjennom hele forsøket. Når fisken lagres aerobt, vil det være konkurranse mellom aerobe gram-negative bakterier. *Pseudomonas spp.* er en gram negativ bakterie som er vist å kunne hemme vekst av H₂S-produserende gram-negative bakterier, fordi *Pseudomonas spp.* kan produsere sideroforer. Sideroforer hemmer jernopptaket til H₂S-produserende bakterier som resulterer i at veksten hemmes (Sallam, 2007; Gram, 1994). Dette kan indikere at konkurrerende mikroflora under gunstige lagringsforhold kan påvirke veksten av H₂S-produserende bakterier.

Det er ingen eller få retningslinjer på hvor mye H₂S-produserende bakterier det skal være i et produkt før det blir forringet, men i en studie gjort på torsk ble det bevist at for å få en vond lukt knyttet til H₂S måtte det være 10⁸ cfu/g av *Shewanella putrefaciens* (Dalgaard, 1994). Ettersom at det er *S. putrefaciens* og *Aeromonas spp.* som dominerer ved temperaturene rundt 0-5°C (Huss, 1995) kan dette gi en indikasjon på hvor mye H₂S-produserende bakterier som trengs for å oppfatte vond lukt hos laksen i denne oppgaven. Det var kun en parallell på laks lagret ved 4°C som oversteg denne verdien på dag 18. Det er også denne parallellen som kan oppfattes som forringet (>7 log cfu/g) hvis det forholdes til akseptabel grense for aerobt kimtall på 6-7 log cfu/g.

6.4 *L. monocytogenes*

Listeria monocytogenes kan forårsake den bakterielle sykdommen kalt listeriose. Som tidligere nevnt (2.3.4), er denne bakterien svært overlevelsesdyktig, spesielt om den får mulighet til å danne en biofilm. I 2021 gjennomførte Mattilsynet en kontroll på norske lakseslakterier for å undersøke hvor stort problem *Listeria* er hos norske bedrifter. Der ble det oppdaget at flere norske lakseslakterier hadde positive prøver for *L. monocytogenes*, både på råvarer og på utstyr. Kontrollen ble gjennomført på grunn av flere store utbrudd av listeriose knyttet til fiskerinæringen i Europa de siste årene (News Desk, 2021).

I et forsøk gjennomført av Bajard et al. (1996), ble det observert en tredobling av veksthastigheten til *L. monocytogenes* ved å øke lagringstemperaturen fra 1,5°C til 5,5°C. Dette viser hvor viktig det er å holde næringsmidler der *L. monocytogenes* kan vokse ved så lav temperatur som mulig. I tillegg ble det funnet av Fernández et al. (1997) at en kombinasjon av lav temperatur (4°C) og en høy konsentrasjon av CO₂ (100%) kunne forlenge lag-fasen og hemme veksten til *L. monocytogenes* i kaldrøkt laks.

L. monocytogenes ble ikke påvist i noen prøver på hverken dag 3 (vedlegg 5) eller 18 (vedlegg 6). Dette vil bety at laksen oppfyller kravene til “spiseferdige næringsmidler der *L. monocytogenes* kan vokse, enn spiseferdige næringsmidler beregnet på spedbarn og til spesielle medisinske formål”, som bestemt i næringsmiddelhygieneforskriften (2021). Da det ikke ble påvist *L. monocytogenes* i prøvene ble det bestemt at det ikke skulle gjennomføres en selektiv platespredning for denne bakterien.

6.5 Sammenheng mellom lagringstemperatur og sensorikk

6.5.1 Fargeendring over tid

Ved tolkning av fargeendring ble det benyttet to forskjellige modeller som er beskrevet i 3.5. Det benyttes henholdsvis CIELAB og CIELCH.

Tolkning av verdiene ved hjelp av CIELAB, viste at det ikke var noe forskjell på fargen mellom fisken lagret ved de ulike temperaturene. Som beskrevet i teori (2.3.2), vil fargeutvikling i stor grad påvirkes av mengde blod som er igjen i fisken, da hemoglobinet i blodet og oksygen reagerer med hverandre. Dette vil kunne danne en gulbrun farge som kan øke individsforskjellene per fisk i større grad. Mengde blod som er igjen i fisken vil samtidig

påvirkes av utblødningen til fisken, stress før slakting, og slakteprosessen (Hægermark, 2012; Borderias & Sanchez, 2011). Den ønskelige fargen på fisken er en mørk rødfarge (Hægermark, 2012). Det er kun laks lagret ved 2°C som har hatt en endring på lyshet, og dermed blitt mørkere.

Ved en tolkning med CIELCH er det en forskjell mellom temperaturene. Hue verdien hos laks lagret ved 2°C hadde en høyere verdi i forhold til 4°C og 6°C på dag 18. Laks lagret ved 4°C og 6°C hadde også fått en reduksjon i hue-verdi i løpet av forsøket. Dette kan tolkes som at laks lagret ved 4°C og 6°C hadde fått en farge som var nærmere det røde sjiktet, i forhold til laks lagret ved 2°C som hadde opprettholdt den opprinnelige fargen bedre.

Bildene av laksen (vedlegg 7, 8 og 9) kunne benyttes for visuell vurdering om det er noe forskjell på laksen. Det ble i dette forsøket ikke benyttet et sensorisk panel for å vurdere om det var en signifikant endring på utseende på laksefiletene. Likevel ble det gjennomført en intern vurdering på utseende av laksefiletene. Her ble det observert at laksen lagret ved 2°C hadde en klarere farge i forhold til 4°C og 6°C på dag 18. Det ble også gjennomført en vurdering på når laksen var forringet ved de ulike temperaturene. Laks ble vurdert ut ifra kriteriene appetittlig utseende; slimlag og væsketap. Laks lagret ved 6°C fikk et betydelig slimlag og væsketap på dag 10 (vedlegg 8), noe som gjorde at den ble vurdert som forringet. Laks lagret ved 2°C og 4°C ble vurdert som forringet på dag 18 ettersom at de også fikk et betydelig slimlag og væsketap (vedlegg 9). Laks lagret ved 2°C hadde et mindre slimlag i forhold til laks lagret ved 4°C.

Det skulle likevel blitt gjort en analyse på farge og appetittlig utseende nærmere enden av holdbarheten til laksen. Ettersom at dette ikke skjedde i denne oppgaven, kan det ikke fastslås at det ble en fargeendring innen holdbarhetstiden eller om det appetittlige utseende til laks lagret ved 2°C og 4°C var uappetittlig før holdbarhetstiden.

6.5.2 Endring i fasthet

Det var ingen signifikant forskjell på fasthet i laksefiletene som funksjon av lagringstemperatur, noe som også ble observert av Sigholt et al. (1997). Det ble likevel observert en endring i fasthet hos laksefilet lagret ved 2°C. Ved lagring på 2°C ble laksefileten fastere som funksjon av lagringstid, der laksefiletene var signifikant fastere etter 10 og 18 dagers lagring sammenlignet med laksefiletene som var lagret i 3 dager. Sveinsdottir et al. (2002) observert at laksen ble mindre fast i løpet av lagringstiden. Dette kan bli forklart med

at Sveinsdottir et al. (2002) gjennomførte trykktest på mindre biter av laksen, uten skinn. En annen grunn kan være individforskjeller, eller lagring på is istedenfor kjølig på 2°C.

6.5.3 Endring i lukt

Det ble ikke gjennomført noen formell sensorisk vurdering av lukt, men det ble likevel observert en endring i lukt gjennom lagringsperioden. Da dette ikke ble gjennomført i en formell test, vil det ikke være mulig å vite om det var noen signifikant forskjell mellom laks lagret på forskjellige temperaturer. Lukten kan likevel gi en indikasjon på at det har vært noe høyere vekst av forringelsesbakterier, inkludert H₂S-produserende bakterier, på spesielt laks lagret ved 6°C. Dette støttes av resultatene fra kvantifisering av psykrotroft og mesofilt kimtall, som også viser at det var en større vekst av bakterier på 6°C sammenlignet med 2°C ved flere prøveuttak.

Det er også en mulighet for at andre spesifikke forringelsesorganismer (SFO) var til stede, noe som resulterte i en dårligere fiskelukt. Det ble tidligere nevnt (6.3.1) at enkelte bakterier som *Pseudomonas spp.* kan hemme vekst av noen H₂S-produserende bakterier, dette kan bety at *Pseudomonas spp.* var den dominerende SFO i laksen det ble tatt prøver av. *Pseudomonas spp.* er en SFO som kan produsere ketoner, aldehyder, estere og tioler. Disse stoffene kan produsere en lukt som kan forbindes med et forringet produkt (Huss, 1995). For å få en sensorisk forringelse knyttet til lukt fra SFO, må det være mellom 6-8 log cfu/g (Bozaris & Parlapani, 2017; Dalgaard, 1995). Etersom det ikke ble gjennomført en spesifikk test av SFO, kan det ikke konkluderes med at lukten kommer fra SFO.

En annen mulighet for dårlig lukt kan skyldes at fisken har gjennomgått lipidoksidasjon. Marine fettsyrer harskner lettere ettersom de inneholder mye flerumettede fettsyrer (Hansen, 2013). Noe annet som kunne ha forårsaket lipidoksidasjon var høy oksygentilførsel under lagring. Kim et al. (2010) beskriver at fettsyrer harskner raskere ved lagring med et høyt innhold av oksygen, noe laksen ble i dette forsøket. Laks er også en fet fisk som gjør at den har større potensial for å harskne.

7 Konklusjon

Denne bacheloren har sett på effekten av lagringstemperatur på mikrobiologisk- og sensorisk kvalitet i fersk laksefilet. Den mikrobielle holdbarheten ble estimert til å være 15 dager på 2°C, 10 dager på 4°C og 6 dager på 6°C. Ved en økning av temperaturen fra 2°C til 4°C, ble holdbarheten redusert med 5 dager. Å øke temperaturen fra 4°C til 6°C, reduserte holdbarheten med ytterligere 4 dager. Uavhengig av temperatur og tid, ble det ikke påvist *L. monocytogenes* på laksefiletene. H₂S-produserende bakterier ble påvist sporadisk gjennom lagringsperioden.

SFO som kan ha produsert illeluktende forringelseskomponenter har trolig vokst mer i laksefiletene lagret ved 4°C og 6°C. Dette fordi laksefiletene lagret ved disse temperaturene hadde en kraftigere lukt av forringet fisk sammenlignet med laks lagret på 2°C. Likevel er det ikke mulig å fastslå dette, da det hverken ble gjennomført en formell sensorisk test på lukt eller en spesifikk mikrobiell test for å påvise hvilke SFO som var til stede.

Det ble observert en fargeendring på laks lagret ved 4°C og 6°C, som hadde en lavere hue verdi i forhold til laks lagret ved 2°C. Laks lagret ved 2°C hadde bevart den opprinnelige fargen bedre i forhold til laks lagret ved 4°C og 6°C. Endringen ble observert på dag 18, som var 4 dager etter fisken hadde gått ut på dato.

Ved lagring av laks ved aerobe miljø er det mest gunstig å lagre den ved 2°C i forhold til 4°C og 6°C, ettersom den mikrobielle- og sensoriske kvaliteten beholdes bedre ved denne temperaturen.

7.1 Forslag til videre arbeid

For å generere mer pålitelige data om vekstkinetikk i laks lagret ved 2°C, 4°C og 6°C vil det være hensiktsmessig å gjennomføre flere og hyppigere prøveuttak gjennom lagringsperioden. Dette vil gi flere datapunkter som grunnlag for utregning av lagfase og veksthastighet. Det vil også være hensiktsmessig å benytte flere fortyninger for å unngå overvekst på agar som gjør det vanskelig eller umulig kvantifisere kimtall nøyaktig.

For å få en bedre forståelse for utviklingen av den sensoriske kvaliteten til laks lagret ved de ulike temperaturene hadde det vært hensiktsmessig å gjennomføre en fullstendig QIM. Det ble heller ikke gjort noe forsøk på å undersøke hvilke forringelsesmetabolitter eller forringelsesorganismer som var til stede i laksen i løpet av lagringsperioden.

Referanser

- Aasen, S. B. (2009). *Laksen gir robuste arbeidsplasser*. SjømatNorge. Hentet 10. mai 2023 fra <https://sjomatnorge.no/laksen-gir-robuste-arbeidsplasser/>
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K., & Wanasundara, U. (2010). *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Animaliehygieneforskriften. (2022). *Forskrift om særlige hygieneregler for næringsmidler av animalsk opprinnelse*. (FOR-2022-07-08-1331). Lovdata.no. <https://lovdata.no/forskrift/2008-12-22-1624>
- Bajard, S., Rosso, L., Fardel, G. & Flandrois, J. P. (1996). The particular behaviour of *Listeria monocytogenes* under sub-optimal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 29(2), 201-211. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(95\)00031-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(95)00031-3)
- Baranyi, J. & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3-4), 277-294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Bio-rad. (u.å.). *What is Real-Time PCR (qPCR)?* Hentet 11. april 2023 fra <https://www.bio-rad.com/en-no/applications-technologies/what-real-time-pcr-qpcr?ID=LUSO4W8UU>
- Boge, L. M. (2022). *Hvor fort bør fisk behandles?* Nofima. Hentet 2. mai 2023 fra <https://nofima.no/fakta/hvor-fort-bor-fisk-behandles/>
- Borderias, A. J. & Sanchez, I. A. (2011). First Processing Steps and the Quality of Wild and Farmed Fish. *Journal of Food Science*, 76(1), R1-5. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01900.x>
- Bozaris, I.S. & Parlapani, F.F. (2017). Specific spoilage organisms (SSOs) in fish. *The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers*, s. 61-98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100502-6.00006-6>
- Broekart, K., Heyndrickx, M., Herman, L., Devlieghere, F. & Vlaemynck, G. (2011). Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. *Food microbiology*, 28(6), 1162-1169. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.03.009>

Center for Food Safety. (2007). *Microbiological Guidelines for Ready-to-eat Food*. Hentet 12. mai 2023 fra

https://www.cfs.gov.hk/english/whatsnew/whatsnew_act/files/MBGL_RTE%20food_e.pdf

Choubert, G., Blanc, J.-M. & Vallee, F. (1997). Colour measurement, using the CIELCH colour space, of muscle of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed astaxanthin: effects of family, ploidy, sex, and location of reading. *Aquaculture Research*, 28(1), 15–22.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.t01-1-00824.x>

Cromocol. (u.å.). *DigiEye system*. Hentet 10. mai 2023 fra

<https://cromocol.se/en/produkter/digieye-system/>

Dalgaard, P. (1994). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, 26(3), 319-333.

[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00137-U](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00137-U)

Dalgaard, P. (1995) Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, 26(3), 319–333.

[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00137-U](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00137-U)

Einen, O., Guerin, T., Fjæra, S. O. & Skjervold, P. O. (2002). Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 212(1-4), 129-140. [https://doi.org/10.1016/S0044-](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00874-2)

[8486\(01\)00874-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00874-2).

Fernández, K., Aspe, E. & Roeckel, M. (2009). Shelf-life extension on fillets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using natural additives, superchilling and modified atmosphere packaging. *Food Control*, 20(11), 1036–1042. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.12.010>

Fernández, P. S., George, S. M., Sills, C. C. & Peck, M. S. (1997). Predictive model of the effect of CO₂, pH, temperature and NaCl on the growth of *Listeria monocytogenes*.

International Journal of Food Microbiology, 37(1), 37-45. [https://doi.org/10.1016/S0168-](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(97)00043-3)

FHF. (2013). *Faktaark om kvalitetsindeksmetoden QIM*. Hentet 27. februar 2023 fra

<https://www.fhf.no/nyheter/nyhetsarkiv/faktaark-om-kvalitetsindeksmetoden-qim/>

FHF. (u.å.). *Moderne slakting av laks*. [Brosjyre]. Sjømat Norge. https://sjomatnorge.no/wp-content/uploads/importedmedia/FHL_slaktebrochure_A5.PDF

Fjellheim, A. J., Erga, O. K. H., Attramadal, K., Vadstein, O. (2016). Resirkulering av vann i settefiskproduksjon (2. utg). *Bakgrunnshefte til kurs i resirkuleringsteknologi for settefiskproduksjon*. https://folk.ntnu.no/skoge/diplom/prosjekt19/more-info-on-projects/RAS/7127-2017%20-%20RAS%20guide_NO_low.pdf

Gram L. (1994). Siderophore-Mediated Iron Sequestering by *Shewanella putrefaciens*. *Applied and environmental microbiology*, 60(6), 2132–2136. <https://doi.org/10.1128/aem.60.6.2132-2136.1994>

Hansen, M. H. F. (2013). *Kvalitet og holdbarhet til bearbejdede produkter fra marint råstoff* [Masteroppgave, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet]. https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/246053/690223_FULLTEXT01.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Henriksen, K. G. (2020). *Forekomst av Listeria monocytogenes i et matfiskanlegg i Hardangerfjorden* [Masteroppgave, Universitetet i Stavanger]. https://uis.brage.unit.no/uis-xmlui/bitstream/handle/11250/2680129/Henriksen_Karine.pdf?sequence=1

Huss, H. H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. <https://www.fao.org/3/V7180E/V7180e06.htm#5.3%20Bacteriological%20changes>

Hægermark, W. A. (2012). *Overvåker laksens kvalitet*. *Forskning.no*. Hentet 12. mars 2023 fra <https://forskning.no/mat-fisk-partner/overvaker-laksens-kvalitet/714225>

Høyen, C. D. (2017). *Økt holdbarhet på laks: Studier av superkjøling, salting og biokonservering* [Masteroppgave, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet]. https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/2615517/14327_FULLTEXT.pdf?sequence=1

Jay, J. M., Loessner, M. J. & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology*. Springer Science & Business Media.

Kim, Y. H., Huff-Lonergan, E., Sebranek, J. G., & Lonergan, S. M. (2010). High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. *Meat Science*, 85(4), 759–767. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.001>

- Kraugerud, R. L. (2021). *Vil finne ut hvordan fôr, stress og laksefarge henger sammen*. Nofima. Hentet 10 mars. 2023 fra <https://nofima.no/pressemelding/vil-finne-ut-hvordan-for-stress-og-laksefarge-henger-sammen/>
- Kraugerud, R. L. (2022). *Slik sjekker du hvor fersk fisken er*. Nofima. Hentet 15. mai 2023 fra <https://nofima.no/fakta/slik-sjekker-du-hvor-fersk-fisken-er/>
- Kumah, C., Zhang, N., Raji, R., Pan, R. (2019). Color Measurement of Segmented Printed Fabric Patterns in Lab Color Space from RGB Digital Images. *Journal of Textile Science and Technology*, 5, 1-18. <https://doi.org/10.4236/jtst.2019.51001>
- Kåss, E. (2021). *In vitro*. Store medisinske leksikon. Hentet 7. mars 2023 fra https://sml.snl.no/in_vitro
- Laksefakta. (2023). *Hva er bærekraft?* Hentet 19. mars 2023 fra <https://laksefakta.no/laks-og-miljo/hva-er-barekraft/>
- Laksefakta. (u.å.). *Norsk havbrukshistorie*. Hentet 19. mars 2023 fra <https://laksefakta.no/>
- Mattilsynet (a). (2022). *Fiskevelferd*. Hentet 19. mars 2023 fra https://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/fiskevelferd/
- Mattilsynet (a). (2023). *Temperaturkrav til ferske fiskerivarer*. Hentet 16. Mai 2023 fra <https://www.mattilsynet.no/mat-og-drikke/matproduksjon/fisk-og-sjomat/temperaturkrav-til-ferske-fiskerivarer>
- Mattilsynet (b). (2022). *Veileder fiskeslakterier krav til fiskehelse og fiskevelferd ved slakting av oppdrettsfisk*. Hentet 4. mai 2023 fra https://www.mattilsynet.no/om_mattilsynet/gjeldende_regelverk/veiledere/veileder_fiskeslakterier_fiskehelse_og_velferd_ved_slakting_av_oppdrettslaks.45441/binary/Veileder%20Fiske%20slakterier:%20Fiskehelse%20og%20velferd%20ved%20slakting%20av%20oppdrettslaks
- Mattilsynet (b). (2023). *Holdbarhetsmerking*. Hentet 8. mai 2023 fra <https://www.mattilsynet.no/mat-og-drikke/merking-av-mat/holdbarhetsmerking-pa-matvarer>
- Møretrø, T., & Langsrud, S. (2004). *Listeria monocytogenes*: Biofilm formation and persistence in food-processing environments. *Biofilms*, 1(2), 107-121. <https://www.doi.org/10.1017/S1479050504001322>

- Mørkøre, T. (2008). *Tekstur i oppdrettslaks* (Rapport 32/2008). Nofima. <https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/bitstream/handle/11250/2576859/Rapport+32-2008.pdf?sequence=2>
- News Desk. (2021). Norway checks Listeria controls at salmon producers; finds challenges. In *Food Safety News [BLOG]*. <https://www.proquest.com/blogs-podcasts-websites/norway-checks-listeria-controls-at-salmon/docview/2605023754/se-2?accountid=12870>
- NMKL 184. (2006). *Kimtal og spesifikke fordærvelsesbakterier i fisk og fiskevarer*. Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler.
- Norges Sjømatråd. (2021). *Norsk laks - verdens mest populære fisk*. Hentet 19. mars 2023 fra <https://seafood.no/aktuelt/nyheter/norsk-laks--verdens-mest-populare-fisk/>
- NSW Food Authority. (2008). *Microbiological quality guide for ready-to-eat foods*. Hentet 12. mai 2023 fra <https://www.foodstandards.gov.au/publications/Pages/reportonfoodhandling4154.aspx>
- Næringsmiddelhygieneforskriften. (2021). *Forskrift om næringsmiddelhygiene (FOR-2021-10-29-3145)*. Lovdata.no. <https://lovdata.no/forskrift/2008-12-22-1623>
- Olsen, S. H., Digre, H., Grimsmo, L., Toldnes, B., Eilertsen, A., Evensen, T. H., Midling, K. Ø. (2014). *Implementering av teknologi for optimal kvalitet i fremtidens prosesslinje på trålere "OPTIPRO" - Fase 1*. Nofima. <https://www.fhf.no/prosjekter/prosjektbasen/900930/>
- Ratkowsky, D.A., J. Olley, T.A. McMeekin & A. Ball. (1982). Relationship Between Temperature and Growth-Rate of Bacterial Cultures. *Journal of Bacteriology*, 149(1), 1-5. <https://doi.org/10.1128/jb.149.1.1-5.1982>
- Rodríguez-Lázaro, D. (Red.). (2013). *Real-time PCR in Food Science : Current Technology and Applications*. Caister Academic Press. s. 3-6
- Rotabakk, B. T. & Lerfall, J. (2021). *Konserveringsmetoder for sjømat - Muligheter for forlenget holdbarhet til laks*. Nofima. <https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/2981873/Rapport+14-2021+Konserveringsmetoder+for+sj%C3%B8mat.pdf?sequence=1>

- Rørdal, E. & Pettersen, T. V. (2016). *Benchmarking av fôrregimer til atlantisk laks (Salmo salar) - en sammenligning av fire kommersielle fôrprodusenter* [Masteroppgave, Nord universitet]. <https://nordopen.nord.no/nord-xmlui/bitstream/handle/11250/2425592/Pettersen.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18(5), 566–575. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.02.002>
- Seaborn. (u.å.). *Trimguide*. Hentet 1. mai 2023 fra <https://seaborn.no/produkter/foredling-vap/trimguide>
- Shiffman, D. (u.å.). *Color*. Hentet 8. mai 2023 fra <https://processing.org/tutorials/color>
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nortvedt, T. S. & Seland, A. (1997). Handling stress and storage temperatur affect meat quality of farmed-raised Atlantic Salmon (*Salmo Salar*). *Jornal of Food Science*, 62(4), 898-905. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb15482.x>
- SinkabergHansen. (2021). *Slakting og foredling* [Video]. Hentet 7. mai fra <https://sinkaberghansen.no/timeline/14-4-mai-2021-slakting-og-foredling/>
- Stable Micro Systems. (2023). *Why measure texture?* Hentet 8. Mai 2023 fra <https://www.stablemicrosystems.com/TextureAnalysis.html>
- Statistisk sentralbyrå. (2023). *Eksport av laks*. Hentet 17. mars 2023 fra <https://www.ssb.no/statbank/table/03024/>
- Sveinsdottir, K., Hyldig, G., Martinsdottir, E., Jørgensen, B. & Kristbergsson, K. (2003). Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Quality and Preference*, 14(3), 237-245. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(02\)00081-2](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(02)00081-2)
- Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Hyldig, G., Jørgensen, B., & Kristbergsson, K. (2002). Application of Quality Index Method (QIM) Scheme in Shelf-life Study of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, 67(4), 1570–1579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10324.x>

Sæbø, M. & Klæboe, H. (2002). *Listeria monocytogenes*: i lakseprodukter og utprøving av ulike påvisnings metoder [Masteroppgave]. Høgskolen i Telemark.

Thermo Fisher Scientific (a). (u.å.). *Oxoid quality assurance product specification: Iron agar (Lyngby) without L-cysteine CM0964*. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Specification-Sheets/PS-CM0964-V3.pdf>

Thermo Fisher Scientific (b). (u.å.). *Dehydrated Culture Media*. Hentet 15. mai 2023 fra http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1107&c=UK&lang=EN

Thermo Fisher Scientific. (2020). *SureTect Listeria monocytogenes PCR Assay: Lysis and real-time PCR detection of Listeria monocytogenes in food and environmental samples*

UiO. (2022) Entropi. I *Universitetet i Oslos leksikon*. Hentet 16. Mai 2023 fra <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/e/entropi.html>

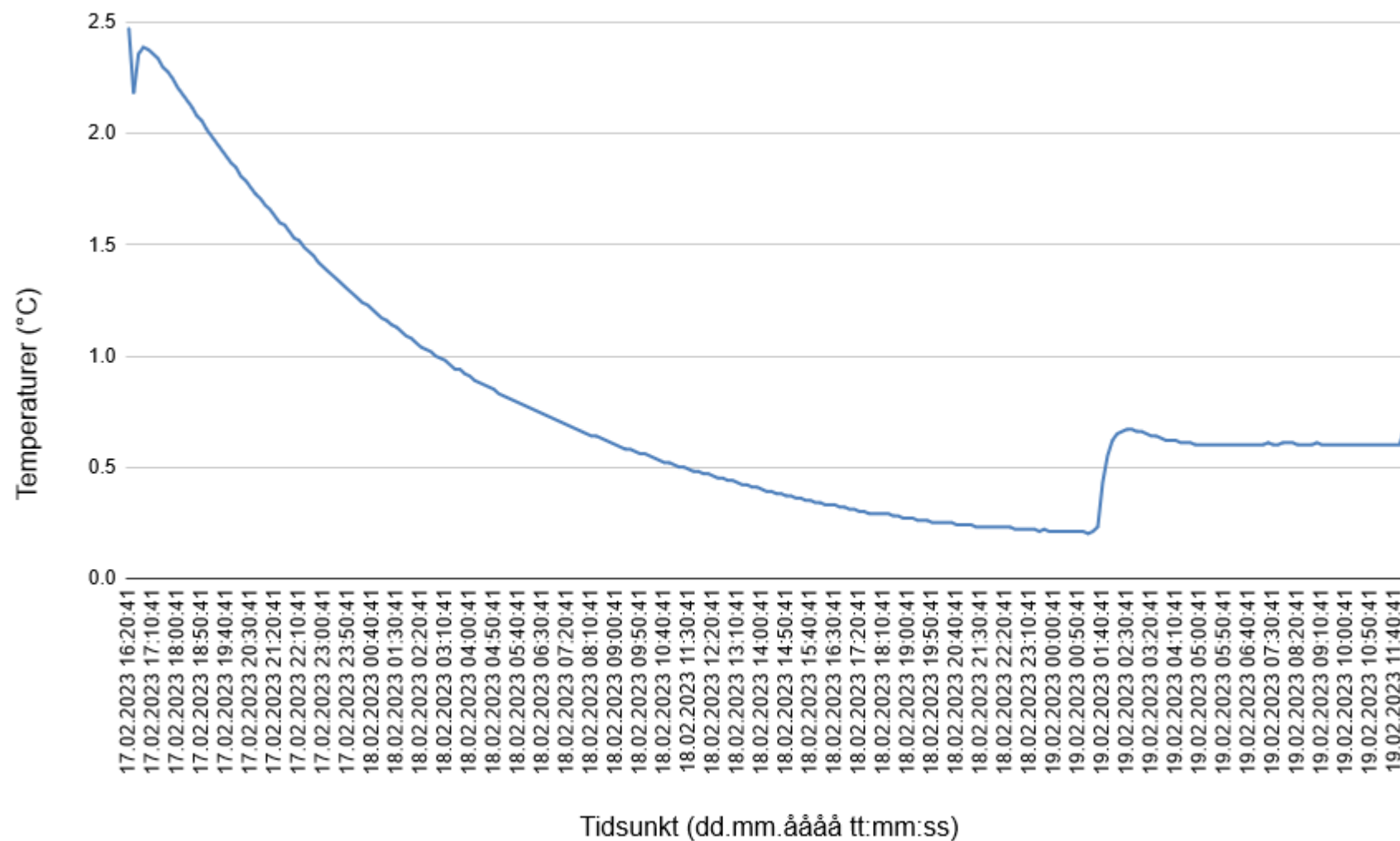
Undrum, E. (2015). Identifisering og karakterisering av hydrogensulfidproduserende bakterier fra prosesseringsanlegg for laks [Masteroppgave]. Norges miljø- og biovitenskapelige universitet.

Vedlegg

Trimming guide pdf fra Seaborn (Seaborn, u.å.)



Temperatur på laks ved transport fra Lovund til Trondheim



Gjennomsnitt kvantifisert Psykrotroft kimtall (log cfu/g \pm 1SD), ikke kvantifisert kimtall på dag 10, 6°C, på grunn av overvekst. Gule felter betyr en eller flere paralleller med overvekst.

Uttak	Dag	Long & Hammer							
		2 Grader	Standardavvik		4 Grader	Standardavvik		6 Grader	Standardavvik
1	3	Ingen Påvisning	----		Ingen påvisning	----		Ingen Påvisning	----
2	6	3,181467759	0,661076873		4,070677813	1,208649667		5,270692596	0,9537253223
3	10	6,171679321	0,1517217132		6,973265431618	0,2617667733		----	----
4	12	6,363593946	0,669059359		7,793005036	0,373671441		8,468105868	0,3564865931
5	15	6,613831305	0,4458641239		8,071110247	0,4579618722		8,106118763	0,524783036
6	18	7,539373647	0,5932635081		8,572430784	0,7590686578		8,438449587	0,2844440208

Gjennomsnitt kvantifisert mesofilt kimtall (log cfu/g \pm 1 SD). Gule felter betyr en eller flere paralleller med overvekst.

Uttak	Dag	Jernagar							
		2 Grader	Standardavvik		4 Grader	Standardavvik		6 Grader	Standardavvik
1	3	0,3333333333	0,5773502692		0,4198791035	0,7272519403		0,3333333333	0,5773502692
2	6	2,009043498	0,3685749574		3,349640004	0,04820464899		3,420479874	0,1871668058
3	10	3,666175005	0,4695842333		4,011685758325	----		5,079181246047	----
4	12	4,744057504	0,1266504766		7,012686526399	0,09506052418		7,079904467666	----
5	15	6,373282611	0,3332326458		7,273648909	0,2912387003		7,803844157	0,7220085584
6	18	7,02616207	0,8347471657		8,319258281	1,095779475		8,436151147	0,4092563366

Resultat rapport Real Time PCR dag 3

Results Table

Weil	Sample	Type	Assay	Call	Assessment	Assay Lot	Description	Ct Values
A1	2-1a	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.64 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
A2	4-1d	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.17 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
B1	2-1b	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 32.39 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
B2	4-1e	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.43 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
C1	2-1c	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 32.06 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
C2	6-1a	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 29.16 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
D1	2-1d	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.48 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
D2	6-1b	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 29.54 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
E1	2-1e	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 32.17 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
E2	6-1c	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 30.60 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
F1	4-1a	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.90 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
F2	6-1d	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 21.77 (+) Listeria monocytogenes: 30.79 (-)

Weil	Sample	Type	Assay	Call	Assessment	Assay Lot	Description	Ct Values
G1	4-1b	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 30.92 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
G2	6-1e	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 29.93 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
H1	4-1c	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 28.32 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
H2	NP	NTC	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Pass			IPC LMO: 32.77 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)

Resultat rapport Real Time PCR dag 18

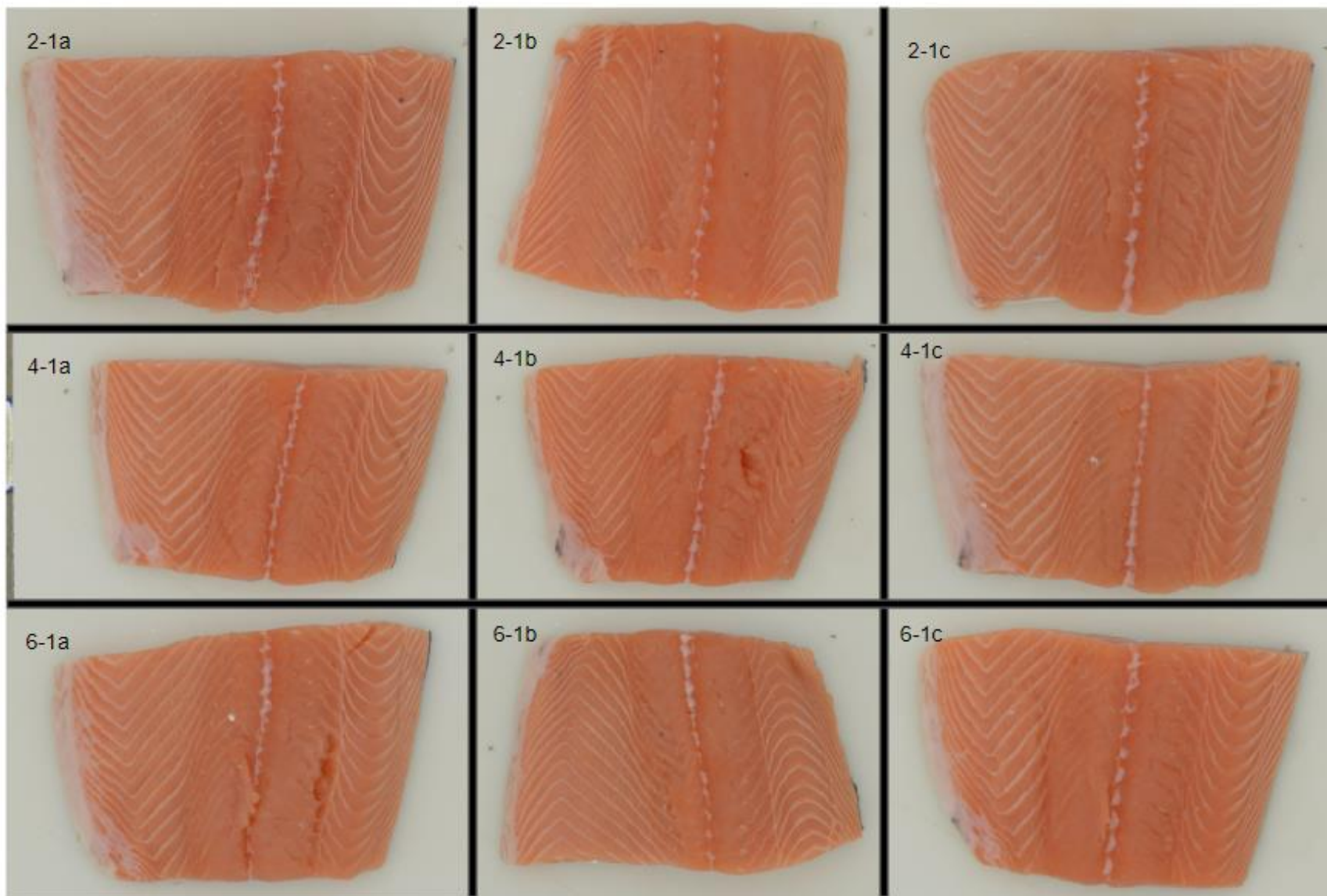
Results Table

Well	Sample	Type	Assay	Call	Assessment	Assay Lot	Description	Ct Values
A1	2-6A	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 34.31 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
A2	4-6D	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 34.44 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
B1	2-6B	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 33.36 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
B2	4-6E	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 33.39 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
C1	2-6C	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.16 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
C2	6-6A	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.69 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
D1	2-6D	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 29.82 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
D2	6-6B	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.72 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
E1	2-6E	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 32.80 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
E2	6-6C	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 31.32 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
F1	4-6A	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 32.62 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
F2	6-6D	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 24.66 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)

Well	Sample	Type	Assay	Call	Assessment	Assay Lot	Description	Ct Values
G1	4-6B	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 33.77 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
G2	6-6E	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 34.79 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
H1	4-6C	Unknown	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Negative			IPC LMO: 34.59 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)
H2	NP	NTC	ListeriaMono_Sur eTect_QS5	Negative	Pass			IPC LMO: 31.65 (+) Listeria monocytogenes: NA (-)

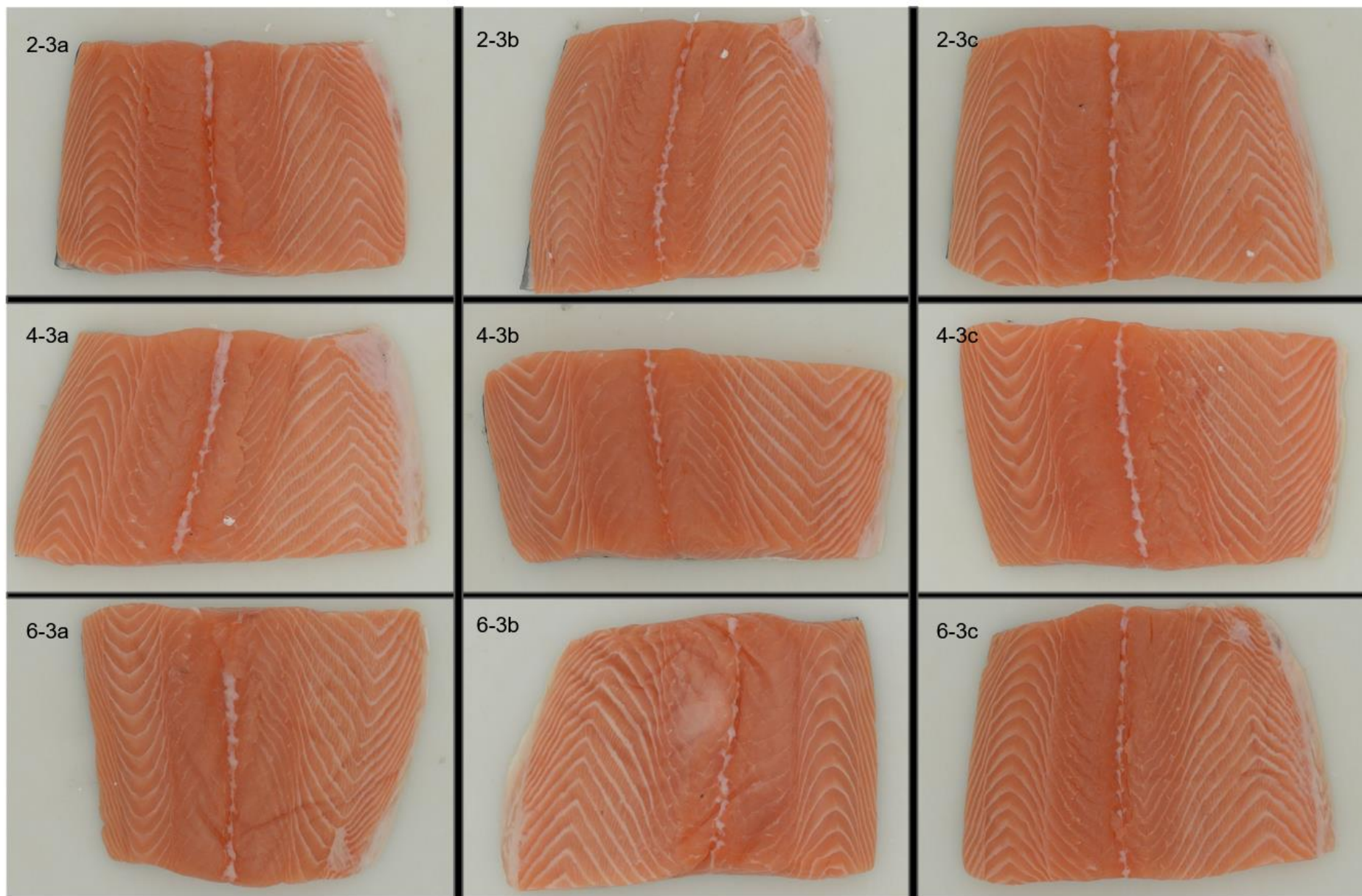
Bilder av laksen ved uttak 1 (dag 3)

Uttak 1



Bilder av laksen ved uttak 3 (dag 10)

Uttak 3



Bilder av laksen ved uttak 6 (dag 18)

Uttak 6

