



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

BACHELOROPPGAVE 2020

20 studiepoeng

Kvalitetsaspekter i pre- og post-rigor oppdrettslaks (*Salmo salar*) under frysing ved forskjellige temperaturer

Utført av

Peter Kristoffer Alexandersen
Emil Støp Nilsen
Robert Sandaunet Fredriksen

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

Sammendrag

Frysing senker vannaktiviteten, reduserer biokjemiske reaksjoner og mikrobiell aktivitet. Samtidig kan frysing føre til strukturelle skader; langsom frysing gir større iskrystaller, mer strukturelle skader og vanntransport til ekstracellulært rom. Rask innfrysning, lave og stabile lagringstemperaturer er derfor viktig for god sluttkvalitet. Etter slakt fileteres laks enten pre- eller post-rigor. Om fisken prosesseres post-rigor vil den i forkant ligge på is i 3-5 dager. Dette for å unngå ulemper knyttet til å behandle fileter i dødsstivhet, som kan gi feilskjæring og svinn. Pre-rigor filetering er derimot mulig med moderne logistikk og teknologi. Noe som kan bidra til en rekke fordeler som økt restholdbarhet, innenlands viderefordeling/verdiskaping, økt bærekraft og lønnsomhet. Rigorstatusen har også vist seg å påvirke kvalitet i både fersk og fryst filet som blant annet vannholdningskapasitet, drypptap, farge og tekstur. I tillegg er det dokumentert at pre-rigor filet innehar en større andel av vannet intracellulært, hvor dette er antatt å gi mindre strukturelle skader under frysing. På den andre siden kan muskelkontraksjoner under tining (tinerigor) føre til kvalitetstap ved høye tinetemperaturer.

Hovedformålet med denne oppgaven var å undersøke kvalitetsparameterne i pre- og post-rigor laks etter frysing. Hvor tre forskjellige lagringstemperaturer og ett tineregime ble valgt: -20, -40 og -80°C i 24 timer, etterfulgt av tining ved 4 °C i 30 timer. Dette for å belyse sammenhengen mellom frysetemperaturer og rigorstatus opp mot kvalitetsparameterne drypptap, farge og tekstur. Grunnet nedtegnelse av campus ble forsøket ikke fullført. Prosjektet ble omgjort til en teoretisk oppgave hvor et litteraturstudie står til grunn for å belyse planlagt forsøk slik at prosjektets hovedmål kunne bli nådd.

I litteraturstudiet ble det funnet at kvaliteten bevares bedre ved pre-rigor frysing. Hvorav størrelsen og lokasjonen til iskrystallene som formes under frysing påvirker de valgte kvalitetsparameterne. Det ble observert at pre-rigor frysing kan gi lavere drypptap, høyere bruddstyrke og en mer stabil farge. Det ble også funnet at valgte kvalitetsparameterne svekkes generelt sett ved en økning av fryse- og tinetemperatur.

Abstract

Freezing lowers the water activity, reduces biochemical reaction rate and microbial activity. However, freezing leads to structural damage, since slow freezing yields bigger ice crystals, more structural damage and water transport to extracellular space. Hence, rapid freezing, low and stable storage temperature is a necessity for product quality. Prior to freezing, the fish is either fileted pre- or post-rigor. Fish being processed post-rigor remains on ice for 3-5 days. This storage period is chosen to avoid processing the fish in the state of rigor, which may lead to inaccurate cutting and wastage during processing. Pre-rigor filleting is possible with modern logistics and technology, which can contribute to numerous advantages i.e. enhanced shelf life, domestic redistribution, sustainability and profitability. The state of rigor has been shown to affect the quality in both fresh and frozen fillets i.e. water-holding capacity, drip loss, colour and texture. Further literature has shown post-rigor muscle to retain more water intracellular, which is presumed to cause less structural damage during freezing. Contrarily, muscle contractions during thawing (thaw rigor) leads to loss of quality during high thawing temperatures.

The main purpose of this thesis was to examine the different quality parameters in post- and pre-rigor salmon, after frozen storage. Three different storage temperature and one thawing method was chosen: -20,-40 and -80°C for 24 hours, followed by 30 hours thawing at 4°C. This was done to enlighten the relationship between different freezing temperatures and rigor status against different quality parameters being drip loss, colour and texture. Due to campus shutdown, the experimental part of this thesis could not be completed. Therefore, the project was changed to a review study, where the main goal was to shed light on the planned focus area for the experimental study.

In this review study it was found that the quality is better preserved by pre-rigor freezing. The size and location of the ice crystals formed during freezing affected the selected quality parameters. It was observed that pre-rigor freezing can result in lower drip loss, higher breaking force and a more stable color after thawing. The selected quality parameters were additionally reduced by an increase in freezing temperature.

Forkortelser

ATP - Adenosintrifosfat

BNP – Brutto nasjonal produkt

CIE - Den internasjonale kommisjon for belysning

C* - Fargemetning (Chroma)

°C - Celcius varmegrader

EEC – Europeisk økonomisk fellesskap

h* - Fargevinkel (hue)

HQL - High Quality Life

IRR- International institute of refrigeration

K – Temperatur kelvin (kan også omhandle fargetemperatur)

L* - Lyshet (Lightness)

LCA - livssyklusanalyse

mm– Millimeter

N – Newton

NQC – Norsk kvalitetssnitt

PSL - Practical Storage Life

QIM – Quality Index Method

SPC - Soyaproteinkonsentra

TPA – Textur profil analyse

TMAO - Trimethylamine oxide

T_g - Temperatur for glassaktig tilstand

WHC – Water Holding capacity (Vannholdningskapasitet)

Forord

Denne bacheloroppgaven er utført gjennom studieprogrammet matteknologi ved institutt for bioteknologi og matvitenskap. Oppgaven representerer avslutningen på tre utrolig flotte studieår. Arbeidet relatert til oppgaven har vært lærerikt og utfordrende. Særlig på grunn av omstillingsprosessen fra praktisk til teoretisk oppgave grunnet nedtegnelsen av campus. Dette da mye av forarbeidet til prosjektet og logistikken rundt analysearbeidet var gjort i forkant. Prosjektarbeidet ble i etterkant omorganisert, hvor all samhandling skjedde via digitale plattformer. Dette ga oss mange verdifulle erfaringer som kan være gode å ha med seg videre ut i arbeidslivet – i takt med en økende digitalisering.

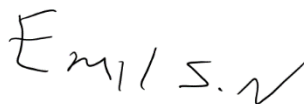
Valg av problemstilling ble inspirert av gruppas interesse for oppdrettsnæringen og sjømat. Laks har vokst i eksportverdi i senere tid, og vil være av stor økonomisk verdi for norsk næringsliv fremover. Sammenhengen mellom fryseprosessen, kvalitetsaspekter og holdbarhet ble oppfattet som interessant og lærerikt av forfatterne. Og kunnskapen vil være av nytte ved fremtidig arbeid innen havbruksnæringen.

I forbindelse med prosjektarbeidet vil vi først og fremst takke hovedveileder Kirill Mukhatov. I tillegg ønskes det også å rette en takk til Ignat Tolstorebrov og Jørgen Lerfall for innspill og inspirasjon til valg av tema.

Til kull 2017, tusen takk for tre fantastiske år!







Innholdsfortegnelse

1 Innledning	1
2 Teoretisk grunnlag	3
2.1 Laksens rolle i miljø, samfunn og økonomi	3
2.1.1 Økonomi	3
2.1.2 Miljø og bærekraft	4
2.2 Rigor mortis	5
2.2.1 Muskelkontraksjon	6
2.2.2 Biokjemiske mekanismer bak rigor mortis	7
2.3 Frysing av fisk	9
2.3.1 Fryseprosessen	10
2.3.2 Iskrystaldannelse	12
2.3.3 Rekrystallisering	14
2.3.4 Tining	15
2.4 Kvalitet ved frysing og tining	16
2.4.1 Drypptap og vannholdningskapasitet (WHC)	18
2.4.2 Farge	21
2.4.3 Tekstur	22
2.5 Måling av kvalitetsparametere	23
2.5.1 Måling av Farge	23
2.5.2 Måling av Tekstur	24
3 Metode	27
3.1 Måling av drypptap	29
3.2 Fargeanalyse	29
3.3 Teksturanalyse	29
4 Resultater og vurdering	31
4.1 Resultater og vurdering av drypptap	31
4.2 Resultater og vurdering av farge	34
4.3 Resultater og vurdering av tekstur	37
4.4 Vurdering av metode og videre arbeid	40
5 Konklusjon	42
6 Referanseliste	44

1 Innledning

Global distribusjon av frossen laks er en god måte å tilby kvaliteten og holdbarheten det globale markedet etterspør. Frysing tillater at produktet lagres over lengre tid, samtidig som at næringsinnhold og utseende ivaretas på en god måte; ved lavere temperaturer reduseres biokjemiske reaksjoner og mikrobiell aktivitet. Optimalisering av hele frysekjeden er derfor særlig viktig for distribusjonen, forbrukeraksepten og sluttkvaliteten til produktet.

Optimaliseringen av hele fryseforløpet beror i stor grad på kapasitet og midler som er tilgjengelig i hele verdikjeden. Dette med tanke på utstyr og logistikk rundt primærproduksjonen, viderefordelingen og kjølekjeden. I Nord-Europa er kommersiell fryselagring vanligvis under -25°C , etter distribusjon stiger derimot temperaturen til mellom -18 og -20°C (Ozogul 2020, s. 33). I verdikjeden er rask innfrysningshastighet i kombinasjon med en jevn og lav lagringstemperatur avgjørende for god kvalitet ut til siste ledd i kjeden – forbrukeren. Likevel må innsatsfaktorene i hele verdikjeden som økonomi, energi og kapasitet balanseres opp mot de kvalitetsmessige fordelene.

Etter slakt fileteres laksen enten før inntreden av dødsstivhet (pre-rigor) eller etter (post-rigor). Om fisken prosesseres post-rigor legges den på is i 3-5 dager etterfulgt av filetering. Dette for å unngå ulemper ved mekanisk filetering av laksen mens den er dødsstiv, som kan gi feilskjæring og svinn (Einen *m.fl.* 2002). En stor andel av post-rigor laks blir slaktet og lagt på is på oppdrettsanlegget etterfulgt av viderefordeling til filetprodukter i utlandet før den når markedet. Moderne logistikk og teknologi bidrar derimot til at laksen kan fileteres raskt før dødsstivhet inntreffer. Logistikken og teknologien tillater at tiden før inntreden av rigor forlenges slik at viderefordelingen kan skje nært laksemerdene. Dette muliggjør filetering og salg av en ferskere laks. Samtidig holdes viderefordelingen og dermed verdiskapingen innad i Norge. Pre-rigor filetering er derfor et viktig satsningsområde for Norge i fremtiden. Raskere nedkjølt fisk gir også bedre restholdbarhet ettersom 3-5 dager på is unngås. Økt lønnsomhet og bærekraft kan også oppnås på grunn av et mindre forbruk av is, kutting av transportledd og fullstendig prosessering ved samme lokalitet (Ozogul 2020, s. 39).

Videre har rigorstatusen i laks også vist seg å ha innvirkning på en rekke kvalitetsparametere i både ferskt og fryst tilstand, som blant annet drypptap, farge og tekstur (Einen *m.fl.* 2002; Skjervold *m.fl.* 2001). Disse egenskapene er viktig for kvaliteten og forbrukeraksepten i fryste

laksefileter. Hovedformålet med denne oppgaven vil derfor være å undersøke disse tre kvalitetsparameterne i post- og pre-rigor laks. Hvor tre forskjellige lagringstemperaturer ble valgt: -20, -40 og -80°C. Dette for å kunne belyse sammenhengen mellom frysetemperaturene og laksens rigor-status opp mot drypptap, farge og tekstur. Frysetemperaturene ble valgt på grunnlag av temperaturspredning og tilgjengelig utstyr. Disse frysetemperaturene har også overføringsverdi for både kommersiell frysing, lagring og distribusjon av frosne laksefileter.

Grunnet nedstenging av campus ble laboratoriearbeidet i forbindelse med prosjektet avlyst. Oppgaven ble derfor omgjort til en teoretisk oppgave for å kunne nå hovedmålet beskrevet ovenfor. Hvor litteraturstudier og teori står til grunn for resultatene og vurderingen i lys av valgt forsøksdesign.

2 Teoretisk grunnlag

2.1 Laksens rolle i miljø, samfunn og økonomi

2.1.1 Økonomi

Norges kystmiljø har gjort det lett å utvikle og utvide lakseoppdrettsnæringen de siste 60-årene. Lakseoppdrett i Norge er i dag en moderne og internasjonalt konkurransedyktig næring (Beamish og Jones 2011, s. 153). Eksportverdien av laks fra Norge var 64,58 milliarder norske kroner 2017, og 67,78 milliarder kroner i 2018. Altså var det en økning på 5% mellom disse årene (se *tabell 2.1*). Totalt sett utgjorde laks 68,5% av den totale verdien av norsk sjømateksport i 2018 (SSB 2019). Oppdrettsnæringen er en viktig verdiskaper og sysselsetter i små lokalsamfunn langs norskekysten. (Olsen og Osmundsen 2017, s. 1)

Tabell 2.1. Eksport av laks fordelt på produkt. Mengde I tonn, Verdi I millioner. (Fiskeridirektoratet 2018, s. 21)

Produkt	2017			2018		
	Mengde	Verdi	Prist/kg	Mengde	Verdi	Prist/kg
Fersk hel	932 325	50 623	54,30	900 873	54 156	54,65
Fersk filet	115 537	7 049	61,01	119 815	7 477	62,41
Fryst hel	24 755	1 403	56,68	19 852	1 056	53,21
Fryst filet	69 464	4 772	68,70	65 001	4 275	65,76
Andre produkt	11 816	733	62,05	12 393	818	66,04
Totalt	1 153 897	64 580	55,97	1 207 933	67 782	56,11

Hovedmarkedene for eksport av norsk laks er EU, USA og Storbritannia (se *tabell 2.2*). 84% av laksen som eksporteres fra Norge er ikke bearbeidet før eksport. Det er flere faktorer som fører til at importører ikke ønsker å kjøpe ferdig bearbeidet laks. Bearbeiding av laks er en stor sysselsetter rundt om i Europa, da spesielt i Polen som er den største importøren av Norsk Laks. Norsk arbeidskraft er også veldig dyr i forhold til andre land, dette gjør ferdig bearbeidet laks lite gunstig som en importvare grunnet den høye kiloprisen i forhold til hel ubearbeidet laks. Mange land som kjøper store mengder Norsk laks bearbeider og fryser den selv før videresalg, prisen disse landene kan sette på bearbeidet og fryst laks grunnet den billige arbeidskraften gjør deres produkter mye mer attraktivt for innkjøp av andre nasjoner.

Samlet sysselsettingseffekt av Norsk sjømat var i 2018 66 000 årsverk, der en stor andel av disse var innen lakseoppdrett. I 2018 passerte for første gang den samlede BNP-en (brutto nasjonalt produkt) for sjømatnæringen 100 milliarder kroner. (SSB 2019)

Tabell 2.2. Største importører av Norsk laks 2018 (SSB 2019)

	Verdi (mill. kr) 2018
Alle land	67748
Polen	8772
Frankrike	7114
Danmark	5208
USA	4509
Storbritannia	4303
Spania	4046
Nederland	3826
Tyskland	2938

2.1.2 Miljø og bærekraft

Selv om havbruksnæringen er av stor betydning for sysselsetning og BNP, byr næringen som mange andre næringer innen matproduksjon på utfordringer når det kommer til miljø og bærekraft. Næringen er karakterisert av å være svært kompleks, innehar mange kontroversielle temaer og dens miljøpåvirkning tenderer å dominere mediedebatten (Olsen og Osmundsen 2017). I 2009 ga Regjeringen ut rapporten «Strategi for en miljømessig bærekraftig havbruksnæring». I denne handlingsplanen ble det kommet frem til at havbruksnæringen påvirker miljøet på fem ulike områder: genetisk påvirkning/rømming, forurensning/utslipp, sykdom (inkludert parasitter), arealforbruk og fôrressurser (kystdepartementet 2009).

I studier hvor det har blitt utført livssyklusanalyser (LCA) - en metode for å danne et helhetlig bilde av miljøpåvirkning et produkt innehar i sin livssyklus, har det flere ganger blitt kommet frem til at fôret og drivstoffbruket er av størst betydning for miljøpåvirkningen til laks. Miljøpåvirkningen er også i stor grad varierende på individnivå ettersom det er mange variabler i livssyklusen til produktet. (Ziegler *m.fl.* 2013; Boissy *m.fl.* 2011) Sett i internasjonal kontekst kommer derimot norsk lakseproduksjon godt ut i dens belastning sammenlignet med flere andre store land innen oppdrett av laks. I en LCA-studie der produksjon av oppdrettslaks i Norge, England, Canada og Chile ble undersøkt, kom Norge

best ut på de aller fleste av belastningskategoriene til undersøkelsen (Pelletier *m.fl.* 2009). Når en sammenligner marine proteinkilder i norsk havbrukssektor, har laks høyere belastning på klima enn villfisk. Om en derimot sammenligner norsk oppdrettslaks opp mot andre landlige animalske proteinkilder, viser blant annet en undersøkelse gjort av SINTEF i 2017 at utslippene er lavere om man sammenligner med europeisk produksjon av svin og storfe. (Ziegler *m.fl.* 2020, s. 8, 55)

Siden rapporten til regjeringen ble gitt ut har komposisjonen av fôret blitt mer plantebasert, hvor soyaproteinkonsentrat (SPC) har erstattet mer av fiskemelet. I karbonavtrykk har SPC derimot nesten det dobbelte i avtrykk sammenlignet med fiskemel. Fremover er det derfor en rekke tiltak som kan gjøres for å kutte klimagassutslippene innen oppdrett av laks. Disse tiltakene dreier seg om å endre fôrkomposisjonen og forbedre fôrutnyttelsen, oppnå bedre bruk av restråstoff, redusere transport og finne andre alternativer enn flytransport. Samt bruke fornybar energi og øke energieffektiviteten. Av disse områdene er mulighetene for forbedring stort, og dersom det gjøres endringer på disse områdene er det potensiale for å nærmere halvere utslippene i fremtiden. (Ziegler *m.fl.* 2020, s. 8, 70)

Når det kommer til laks og frysing er det antatt at selve innfrysingsprosessen er en liten andel av det totale energiforbruket, men at selve lagringstiden før og etter prosessering har mer innvirkning. (Ziegler *m.fl.* 2020, s. 8, 55) Det er viktig å påpeke at selv om lagringstiden har miljøpåvirkning, så tilater frysing at produktet bevares over lengre tid - optimalisering av frysekjeden er derfor viktig for å minimere matsvinn. Det er lett å tro at fersk fisk har mindre miljøpåvirkning enn fryst fisk på grunn av fryselagringen, dette er ikke tilfellet ettersom fersk fisk har en annen type miljøpåvirkning gjennom logistikk og lagringsforløpet; fersk fisk blir lagret på is i kasser, mens fryst fisk kan derimot lagres mer kompakt. Klimaavtrykket i fryselagret fisk overgår derfor ikke avtrykket til fersk fisk på grunn av den effektive transporten uten iskasser og fordelene med mer kompakt lagring. (Ozogul 2020, s. 39)

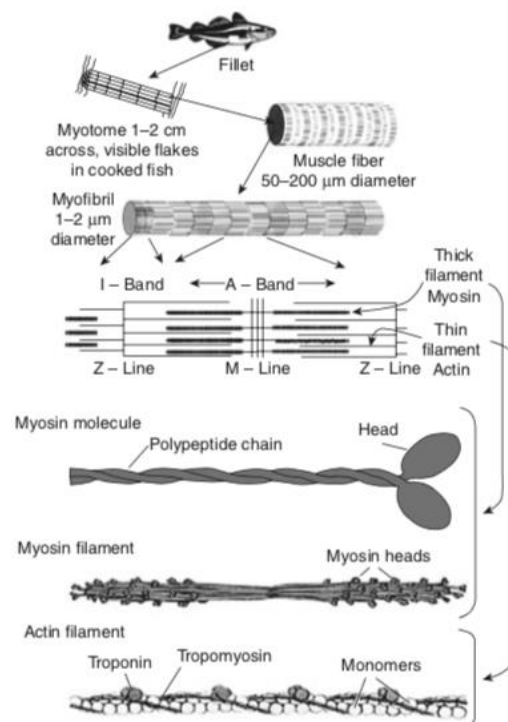
2.2 Rigor mortis

Rett etter dødsinntreden vil fiskemuskelene være myke og fleksible, og muskelen har fortsatt evne til kontraksjon etter død. Denne tilstanden omtales som pre-rigor (før dødsstivhet). Etter dette, avhengig av tid og en rekke andre parametere vil fisken miste evnen til muskelkontraksjon og bli stiv. Dette skjer ved inntreden av rigor mortis (dødsstivhet). Etter

inntreden av rigor mortis vil muskelen gradvis bli mykere og fleksibel igjen, men mister evnen til kontraksjon. Den sies da å ha gjennomgått rigor og omtales som post-rigor. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 44)

2.2.1 Muskelkontraksjon

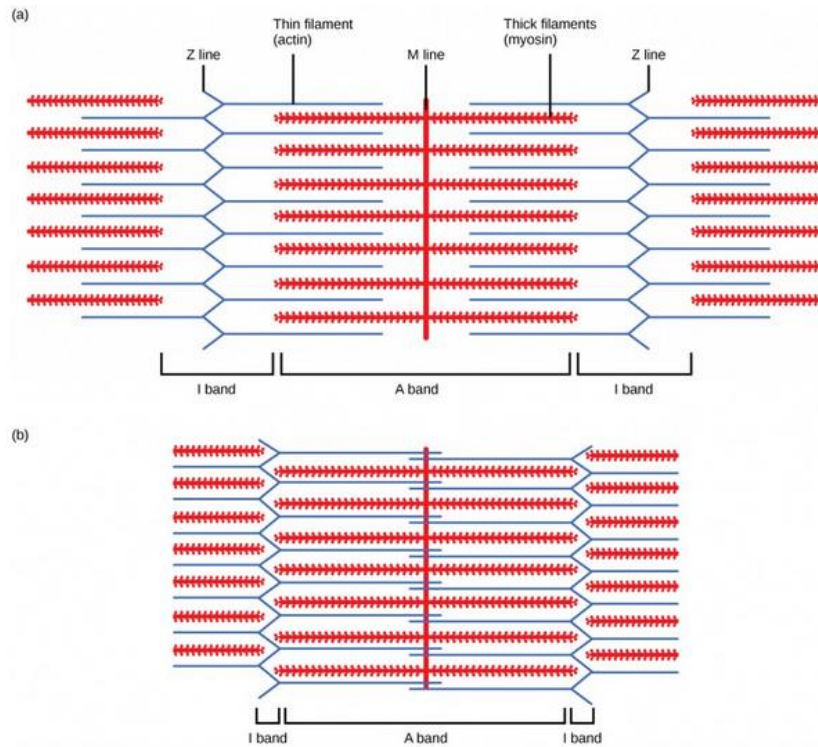
For å kunne forstå mekanismene bak rigor mortis er det viktig å ha kjennskap til muskeloppbyggingen og hvordan kontraksjon foregår i fiskemuskel. *Figur 2.1* nedenfor illustrerer hvordan myotomene (muskelskivene) er oppbygd av flere muskelceller/-fibre, som består av flere myofibriller. Myofibrillene er igjen parallelt satt sammen på langs av enheter som har evne til kontraksjon. Disse enhetene kalles sarkomer. Sarkomene er videre oppbygd av to proteiner som gir muskelens evne kontraksjon: aktin og myosin. Muskelcellene er satt sammen av flere slike sarkomer som igjen er adskilt av Z-linjer. (Squire 1997)



Figur 2.1 viser hierarkiet i oppbyggingen av en fiskemuskel (Tahergorabi m.fl. 2011).

Før muskelkontraksjon blir det sendt nerveimpulser som leder til at kalsiumioner transporteres til myofibrillene fra sarkoplasmatiske retikulum. Kalsiumioner binder seg på troponinkomplekset som sitter i aktinfilamentene (*se figur 2.1*). På grunn av bindingen vil det skje en endring i struktur, og bindingssete på aktinmolekylet blir på denne måten åpent slik at

myosinhodet kan bindes til. Bindingen mellom aktin og myosinhodet gir et aktin-myosin-kompleks som trekker sammen I-båndet og muliggjør muskelkontraksjon (*se figur 2.2*). (Squire 2019)



Figur 2.2 viser et sarkom før (a) og etter (b) kontraksjon (Molnar og Gair 2015).

Når fisken er levende blir aktin-myosin-komplekset oppløst gjennom at kalsiumionene (Ca^{2+}) blir pumpet tilbake til sarkoplasmatiske retikulum, dette skjer gjennom forbruk av ATP; for at muskelen skal strekke seg ut må den forbruke ATP. Etter død vil derimot ATP gradvis bli forbrukt, noe som gjør at aktin-myosinkomplekset ikke blir løst opp og trekker sammen muskelfilamentene vedvarende. (Behrmann *m.fl.* 2012) Generelt i fisk starter sammentrekningen i haleregionen og utvikler seg i retning mot hodet, mens i laks starter den derimot i nakkeregionen (Rehbein og Oehlenschläger 2009, s. 70).

2.2.2 Biokjemiske mekanismer bak rigor mortis

Etter fiskens død stanser oksygentilførselen til fiskemusklene slik at aerobisk glykolyse av ATP gradvis stanser opp. Etterfulgt av dette fortsetter muskelen å holde seg i live ved å forbruke energikilder (anaerobt) som kreatinfosfat, glykogen og ATP (Espe 2008). Av kreatinfosfat og glykogen er det hovedsakelig glykogen som forbrukes til omdannelse av ATP

(Mørkøre *m.fl.* 2008). Etter at ATP syntetiseres gjennom anaerob glykolyse forbrukes glykogen i muskelen, det dannes melkesyre og pH synker. Dette fortsetter så lenge det er tilstrekkelig med glykogen til stede i muskelen eller frem til lav pH ender opp med å hemme aktiviteten til de glykolytiske enzymene (Boziaris 2014, s. 34).

Etter at ATP-konsentrasjonen synker til 1-2 μg per gram muskel er det ikke tilstrekkelig ATP igjen til å bryte bindingene som oppstår mellom aktin-myosin-komplekset. Muskelen blir stiv som følge av en opphopning av kalsiumioner (Ca^{2+}) inne i cellen på grunn av at kalsiumpumpen i sarkoplasmatiske retikulum slutter å fungere. (Rehbein og Oehlenschläger 2009, s. 70) Muskelfilamentene vil være kryssbundet, muskelen blir stiv og går inn i rigor mortis (Boziaris 2014, s. 35). Tiden for inntreden vil være avhengig av energilageret i muskelen ved død, dette vil også gi utslag i endelig pH i muskelen. Om fisken ikke har blitt stresset eller har forbrukt mye glykogen, og har høy energistatus vil tiden før inntreden av rigor forlenges, i tillegg vil også endelig pH i muskelen bli lavere (Espe 2008). For å minimere stress før slaktning av laks er det utbredt med utsulting av laksen, eksempelvis kan fem ukers sulting av laksen øke terskelen mot stress under slakt og derfor gi mindre post-mortem nedbrytning av glykogenlagrene som gir laktat. I tillegg til dette kan det gi et mindre forbruk av ATP og kreatinfosfat (Mørkøre *m.fl.* 2008). Inntreden, intensiteten og lengden av rigor påvirkes også av en rekke andre parametere som blant annet metoder/miljø rundt slakt og fangst, temperaturer, størrelse og behandling før/etter slakt (Rehbein og Oehlenschläger 2009, s. 70).

Etter inntreden av rigor vil muskelen gå fra å være stiv som følge av aktin og myosin-bindingene til å gradvis bli mykere. Tiden for tilbaketrekkingen av rigor (post-rigor) vil vanligvis ta mellom tre til fem dager for laks (Mørkøre *m.fl.* 2008). Forut tilbaketrekkingen skjer det en aktivering av autolytiske enzymer, disse blir aktivert av lav pH og en økende konsentrasjon av kalsiumioner (Ca^{2+}) inne i muskelcellene. De bakenforliggende prosessene til hvordan dette utarter seg er noe omdiskutert, men det er antatt å overordnet sett være på grunn av proteolytiske enzymer og degradering av bindevev. (Boziaris 2014, s. 35; Rehbein og Oehlenschläger 2009, s. 70)

2.3 Frysing av fisk

Frysing av fiskeprodukter gir bedre holdbarhet ved å opprettholde sensorisk og mikrobiologisk produktkvalitet. Hvorav bederving av sjømat hovedsakelig tilknyttes mikrobiell og enzymatisk aktivitet. Degradering av sjømat går derimot raskere sammenlignet med en rekke andre næringsmidler, noe som er årsaken til at fryst fisk kan inneha bedre spisekvalitet sammenliknbar med fersk fisk. Dette gjelder ved korrekt behandling, prosessering og stabil fryselagring over perioder fra 3 til 6 måneder. Frysing gjør det dermed mulig å kunne tilby kvalitetsprodukter selv ved transport over lange avstander, ved varierende etterspørsel eller sikre produkttilgjengelighet ved sesongbaserte variasjoner. (Ozogul 2020, s. 28)

En sammenheng mellom temperaturnedsettelse og krystallisering vil redusere mikrobiell og enzymatisk aktivitet. Dette som følge av redusert vannaktivitet, mobilitet og reaksjonshastighet ved lave temperaturer. Noen bakterier vil inaktiveres ved gitte temperaturer under frysepunkt, samtidig som frysing kan ta livet av eventuelle parasitter. Selv om frysing senker biologiske, kjemiske og fysiske endringer i produktet, vil fortsatt negative kvalitetsendringer som fargeendringer, teksturnedsettelse, enzymatisk aktivitet, oksidasjon og strukturelle skader som følge av iskrystalldannelse kunne forekomme. (Dawson *m.fl.* 2018, s. 1-2)

Frysekjeden for fiskeprodukter kan normalt deles inn i tre deler; forkjøling, fryseprosessen og lagring/distribusjon. (Kennedy 2000, s. 96-97). Ved frysing av sjømat benyttes temperaturer fra -18°C , og lavere sammen med minimale temperatursvingninger for å bevare kvalitet. Temperaturen ble anbefalt av *International insitute of refrigeration* (IRR) i 1964 og det europeiske økonomiske felleskap (EEC) i 1989, og gjelder ved lagring og distribusjon av frysede næringsmidler (EEC 1989, s. 2). Liknende anbefalinger finnes på det norske mattilsynets hjemmesider (Mattilsynet 2016). Likevel er det dokumentert at benyttelse av lavere lagringstemperaturer (under -25°C) gir kvalitetsfordeler for de fleste fete fiskearter. (Ozogul 2020; Eikevik *m.fl.* 2015)

Transport av frysede fiskeprodukter ses ofte på som mindre omfattende og komplisert sammenliknet med transport av kjølte produkter. Få kvalitetstap oppstår gitt at produkttemperatur holdes under -18°C . Energibehov ved transport av frysede produkter vil

generelt være lavere sammenliknet med distribusjon ferske produkter. Med god holdbarhet har fryste produkter ulike behov, og kan derfor ta nytte av mer kostnads- og energieffektive transportløsninger. En annen årsak ligger i dagens praksis hvor fersk kjølelageret fisk ofte transporteres på is, som resulterer i en høy andel ikke-omsettbar lastevækt. Transport av fryste produkter kan lede til kvalitetstap, som for eksempel rekrystallisering og vekst av iskrystaller grunnet temperaturvariasjoner, enzymaktivitet, avdamping/vanntap og mikrobiell forringelse ved høyere temperaturer. Likevel vil fryste produkter ofte tåle høyere temperatursvingninger enn kjølte produkter. (Sun 2011, s. 218-220)

2.3.1 Fryseprosessen

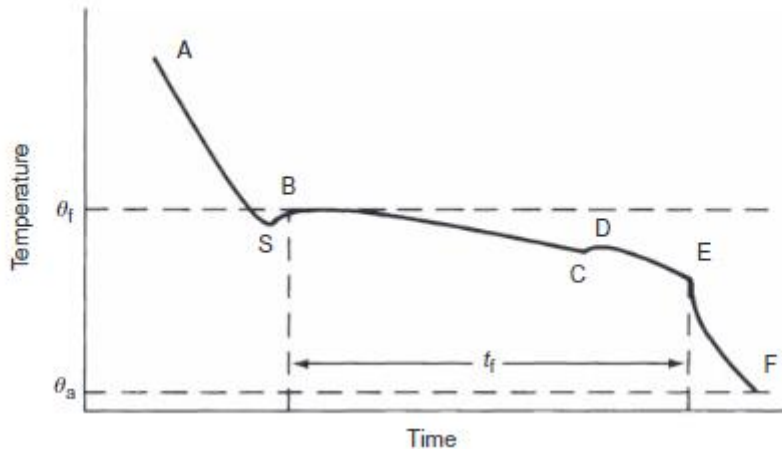
Frysekvalitet ses ofte sammen med frysehastighet grunnet sammenhengen mellom effektiv frysing og iskrystallstørrelse/lokasjon. Det er kjent at rask frysing gir bedre kvalitet. Prosessen kan defineres som rask dersom det tar under 2 timer og endre temperatur fra 0°C til -5°C i den tykkeste delen av fisken (Nollet *m.fl.* 2012, s. 482). Frysetid vil avhenge av utstyr, benyttet temperatur, lufthastighet (ved luft som medium), og from/tykkelsen til produktet (Menon 2005, s. 112). Under fryseprosessen vil termiske egenskaper til produktet endres. Etersom vann i produktet går fra flytende til fast form vil massetetthet, termisk konduktivitet, varmeinnhold og spesifikk varmekapasitet endres gradvis ettersom temperaturen senkes under frysepunkt (Singh *m.fl.* 2008, s. 510).

Normalt sett inneholder en fiskemuskel ca. 60-80% vann. Fryseprosessen omhandler fjerning av varme under faseovergang til vann, fra flytende til fast form ved iskrystaldannelse. Frysepunktet som må passeres for igangsettelse av iskrystallisering ligger under frysepunktet til vann (0°C), og vil variere avhengig av oppløste substanser i flytende fase. Vann i fryste næringsmidler kategoriseres ofte som frysbar vann eller ufrysbar vann. Hvor begrepet ufrysbar vann benyttes om vann som ikke ligger i fast form ved temperaturer lavere enn -40°C (Tolstorebrov *m.fl.* 2016, s. 37). 90-95% av frysbar vann i en fiskemuskel vil normalt være i form av iskrystaller ved -25°C. (Kennedy 2000, s. 97-102; Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 174-175) Det skilles ofte mellom to mønstre under frysing:

- Krystallisering som er avhengig av produktet sammensetning, omtales som likevekttilstander.
- Økning i viskositet istedenfor krystallisering (glassformasjon), tilknyttes ofte frysekonsentrering og skjer ved lavere temperaturer enn krystallisering. Løsningen blir

gradvis mer viskøs ved nedkjøling til glassformasjon oppnås. Dette anses som en ikke-likevekts tilstand.

(Charoenrein og Harnkarnsujarit 2017, s. 41)



Figur 2.3 viser tid og temperatur data under frysing (Fellows 2017, s. 888).

Figur 2.3 viser den generelle fryseutviklingen for næringsmidler. Ved frysing vil produktet først avkjøltes til frysepunkt (θ_f). Ved punkt S på figuren forblir vannet flytende selv etter at temperaturen går under frysepunktet (superkjøling). Ved iskrystaldannelse (SB) vil latent krystalliseringsvarme frigjøres som fører til en hurtig temperaturøkning. Videre vil varme fjernes fra produktet i samme hastighet som før, men den latente varmen fjernes når det dannes is (BC). Temperaturer holdes nesten konstant ved frysepunktet inntil det senkes grunnet frysekonsentrering. Når en av løsningene blir overmettet og krystalliserer vil den latente krystalliseringsvarme frigjøres (CD), noe som gir en temperaturøkning opp til den eutektiske temperaturen for den mettede løsningen. Etter denne temperaturøkningen vil krystallisering av vann og oppløste stoffer fortsette, og temperaturen senkes gradvis (DE). Totale tid (t_f) for vekst av iskrystaller avhenger av hastigheten til masseoverføring av flytende vann til frysekjerner, og hastigheten på varmeoverføringen. Om temperaturnedsettelsen fortsetter vil også isdannelsen fortsette. Konsentrasjonen av oppløste stoffer vil øke til det ikke er mulig å fryse mer vann i produktet. Når følbare varme fjernes fra isen vil temperaturen falle kraftig ned mot (θ_a) som er «glassovergangstemperaturen». Når konsentrasjonen av oppløste stoffer øker vil viskositeten øke, når tilstrekkelig høy viskositet oppnås vil den fysiske tilstanden endres fra viskoelastisk væske til amorft solid glass (solidifisering). (Fellows 2017, s. 888)

2.3.2 Iskrystalldannelse

Mye av iskrystalldannelsen skjer fra -1 til -5 °C, i temperaturintervallet som kalles for kritisk sone. Sonen er omtalt kritisk av to hovedårsaker som påvirker produktkvalitet; Dannelse av iskrystaller og enzymaktivitet. Rask passering av temperaturintervallet gir færre store iskrystaller. Videre er enzymaktivitet, og proteindenaturering til stede i dette temperaturområdet, som kan forårsake uønsket forringelse. Ved iskrystalldannelse vil oppløste substanser og kolloider senke frysepunktet ettersom temperaturen endres, som konsekvens av oppkonsentrering av stoffer i ufryst vann (frysekonsentrering). Nødvendig temperatur for krystallisering av fritt vann vil senkes ettersom vannet mettes med salter, ioner, enzymer og substrater. (Kennedy 2000, s. 97-102; Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 175)

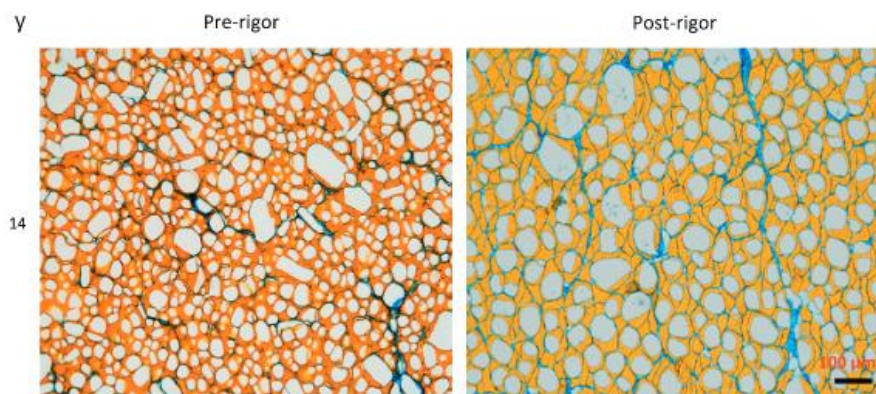
Utgangspunktet for frysing av næringsmidler er faseovergangen til vann fra flytende til fast tilstand. Iskrystalldannelse omhandler to hovedprosesser: dannelse av iskrystaller (kjernedannelse) og økning av krystallstørrelse (vekst). For dannelse av iskrystaller i næringsmidlet må produktet gjennomgå superkjøling. Superkjøling (underkjøling) refererer til at temperaturen senkes under frysepunkt til rent vann (0 °C) for å igangsette kjernedannelse (nukleasjon/nucleation). Rent vann kan underkjøles til temperaturer ned til -40 °C uten krystalldannelse dersom det er fritt for partikler som fungerer som senter for kjernedannelse (eks. salter eller støv). Kjernedannelse beskriver prosessen hvor minimumskriteriene for dannelse av en iskrystall tilfredsstilles, og frysing foregår ved videre ekspansjon og vekst. Latent varme for fast fase frigjøres, og molekylene danner et aggregat av tilfredsstillende størrelse for å fungere som et sete for videre krystalldannelse. (Sun 2011, s. 10; Evans 2018, s. 4-5)

Kjernedannelse kan enten være heterogen eller homogen. Heterogen kjernedannelse er den dominerende prosessen i næringsmidler. Denne prosessen skjer ved at vannmolekyler aggregerer til en krystallstruktur ved kontakt med en kjernedannende komponent, som for eksempel en aktiv overflate. Gitt at en stabil frysekjerne dannes vil videre vekst skje ved tilførsel av molekylene til fast-flytende mellomfase (likevekt). Iskrystallvekst påvirkes av hvor effektivt latent varme fjernes i faseovergangen sammen med hastigheten til masseoverføring (molekylene faseendring). (Sun 2011, s. 10-13)

Hvor raskt iskrystaller dannes påvirkes av flere faktorer som; temperaturen til produktet, varmetransport og temperaturforskjellen mellom overflaten og kjølemediet. Dersom

temperaturen i produktet senkes raskt og den latente varmen for frysing kan fjernes på kort tid, vil mange små iskrystaller dannes. Iskrystalldannelse påvirkes av frysehastighet; rask nedfrysning gir mer kjernedannelse. Krystallstørrelse er videre en konsekvens av antall frysekjerner dannet. Ved effektiv kjøling dannes mange kjerner og dermed fordeles volum over flere små krystaller. Mindre, men flere iskrystaller gir mindre strukturelle skader og minimerer vanntransport til ekstracellulært rom. Ved høyere temperaturer vil færre frysekjerner dannes som leder til at disse vokser til færre, men større krystaller. (Sun 2011, s. 12-13; Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 167)

Ved hurtig frysing kan små iskrystaller dannes både innen og mellom muskelceller. Sen frysing vil indusere krystallisering eksternt i forhold til myofibrillene, noe som resulterer i høyere ekstracellulær saltkonsentrasjon. Dette vil videre føre til diffusjon av vann fra cellene til ekstracellulært område via osmose. Hvor krystallene som allerede er dannet vil øke i størrelse. Formasjon av iskrystaller kan påvirke kvalitet avhengig av form og størrelse. Store iskrystaller i ekstracellulært leder til ødelagte celler (cellespregning), noe som også frigjør intracellulære komponenter som enzymer eller substrater. Store iskrystaller tilknyttes kvalitetstap i form av strukturelle skader, samt drypptap under tining og oppvarming. (Boziaris 2014, s. 38-39)



Figur 2.4 viser iskrystaller undersøkt ved mikroskopi i post-og pre-rigor laks etter 14 dager fryselagring. (Kaale og Eikevik 2013b)

Rigorstatus kan påvirke lokasjonen og størrelsen til iskrystaller da pre-rigor fisk har større andel vann lokalisert intracellulært sammenliknet med post-rigor. Dette gir mer intracellulær krystalldannelse, og mindre iskrystaller sammenliknet med post-rigor fisk fryst under like betingelser. Likevel er også her krystallstørrelse i stor grad påvirket hvor raskt temperaturen i

produktet senkes. *Figur 2.4* over viser iskrystaller i post- og pre-rigor laks fra en studie av Kaale og Eikevik (2013b), hvor frysehastighet, iskrystallstørrelse og rigorstatus i rød (mørk) muskulatur ble undersøkt. Forskjell i antall og størrelse av iskrystaller ble tilknyttet lokasjonen til vann i muskelcellene (Kaale og Eikevik 2013b). (Boziaris 2014, s. 38-40)

2.3.3 Rekrystallisering

Temperaturvariasjoner under lagring og frakt av frysede matprodukter kan føre til rekrystallisering. Prosessen involverer at små iskrystaller forsvinner og store krystaller vokser og smelter sammen. Små iskrystaller er assosiert med god frysekvalitet mens store iskrystaller har vist seg å påføre næringsmidler strukturelle skader under frysing. Årsaken for rekrystallisering kobles til at iskrystaller er ustabile grunnet et høyt overflate-volum forhold, og har derfor overskudd av overflatespenning (høy fri energi i overflaten). For å redusere spenningen vil antall iskrystaller reduseres mens gjennomsnittlig krystallstørrelse øker. Prosessen kan redusere fordelene av effektiv innfrysingsprosess. Høykvalitetsprodukter behandlet med en effektiv frysemetode kan ende opp med dårligere kvalitet enn forventet, som konsekvens av dårlig temperaturstyring ved distribusjon og frysing. (Sun 2011, s. 26)

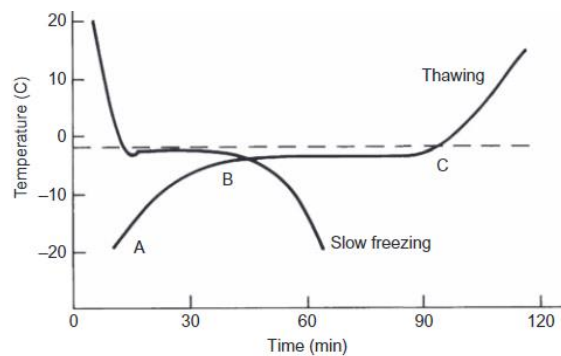
Det eksisterer flere kjente mekanismer for rekrystallisering. Ved konstant lagringstemperatur finnes det to; «Ostwald ripening» omhandler vekst av store krystaller på grunn av forflytning av vann fra små krystaller, «accretion» (tilvekst) omhandler sammensmelting av to krystaller. Viskositeten i ufrostat fase påvirker iskrystallenes forflytning, diffusjon og forandring i stor grad. Temperatursvingninger ved frysing og transport kan ofte være vanskelig å unngå. Forandringene fører til delvis smelting og gjenfrysing. Prosessen kan også foregå under tining, som er en av årsakene for at et produkt bør tines effektivt fremfor over en lengre periode. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 167-168; Charoenrein og Harnkarnsujarit 2017, s. 46)

Rekrystallisering skjer raskt dersom produktet har en temperatur nær smeltepunktet til is. Syamaladevi *m.fl.* (2012) undersøkte påvirkningen av temperaturforandringer i atlantisk laks. I resultatene kom det frem at iskrystallvekst kan forekomme selv ved temperaturer under T'_g (Temperatur for glassaktig tilstand). Lagringstiden var også av stor betydning i dette forsøket sammen med temperaturforandringene. Disse resultatene fremhever poenget med viktighet å

lagre næringsmidler ved stabile og lave temperaturer for å hindre kvalitetstap som følge av rekrystallisering. (Syamaladevi *m.fl.* 2012)

2.3.4 Tining

Tining er praktisk talt den omvendte prosessen av frysing; ved frysing dannes iskrystaller mens ved tining smelter disse. Normalt benyttes væske eller luft som medium for varmetransport, og produktet tines gradvis fra utsiden og inn mot kjernen. Vann har lavere konduktivitet enn is, noe som resulterer i at overført energi reduseres etter hvert som energien må gjennom et økende lag av vann. Resultatet er at vann virker isolerende for produktet som tines og isolasjonseffekten øker desto lengre inn i prosessen produktet er. Tining krever derfor vesentlig lengere tid sammenliknet med frysing dersom produktet utsettes for sammenliknbare forhold. (Fellows 2017, s. 896-897)



Figur 2.5. Frysetid satt opp mot nødvendig tid for gjennomtining (Fellows 2017, s. 897)

Figuren over (figur 2.5) sammenlikner en generell frysekurve mot en tinekurve for næringsmidler. Nødvendig tid for å gjennomtine produktet er i hovedsak avhengig av to faktorer; temperaturdifferanse mellom tinemedium og produkt, karakteristikkene til is og vann (termisk konduktivitetskoeffisient, termisk diffusjonskoeffisient). Temperaturen til is endres ni ganger raskere enn vann. Den raske økningen (AB) i figuren skyldes lite vann i produktets ytre lag, deretter følger en lang periode hvor temperaturen holdes nær frysepunkt til is. (Fellows 2017, s. 897; Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 208-209)

Tinehastigheten bør være rask ved lave temperaturer for å hindre mikrobiell forringelse. Dette kan være en utfordring da prosessen ofte er energikrevende. Under kritisk sone (fra -1°C til -5°C), gjelder det samme ved tining som ved frysing; sonen bør passeres raskt for å bevare

produktkvalitet. Produktpåvirkninger forårsaket av frysing og lagring vil fortsette under tining. Mesteparten av tiningen vil foregå rundt frysepunktet til produktet noe som betyr at biokjemiske reaksjoner, fysiske endringer og rekrystallisering kan foregå. Rask tining bidrar derfor til å hindre kvalitetstap. Etter gjennomgått tining er produktet utsatt for forringelse dersom det har forgått celledregning som følge store iskrystaller. Slipp av næringsrik væske fra cellene gir gode vekstvilkår (celledregning) for mikroorganismer og kan gi en vektreduksjon i form av drypptap. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 209-210)

2.4 Kvalitet ved frysing og tining

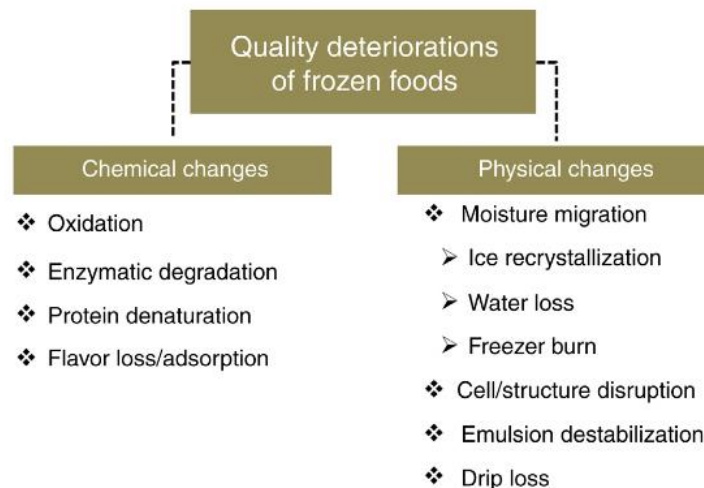
Kvalitet er et bredt begrep som benyttes for å beskrive alt fra holdbarhet, mattrygghet sensorisk kvalitet, næringsinnhold, laksens tilstand før prosessering eller miljøpåvirkninger som følge av produksjon. Fisk deles ofte inn i primær- og sekundærkvalitet. Primærkvalitet omhandler råvarens biologiske kvalitet (størrelse, sesong, miljøforhold), produksjons/prosesseringskvalitet (korrekt utførelse av snitt, bløgging, filetering, bearbeiding) og produktegenskaper (sensorisk, teknologisk og etisk). Sekundærkvalitet beskriver handelskvalitet (pris, sortering, emballering) og opplevd konsumkvalitet (produkt i henhold til forventninger). Fra et næringsmiddelperspektiv beskriver begrepet i all hovedsak, næringsinnhold, mattrygghet og hvor attraktivt produktet vurderes av forbruker. Studier relatert til fisk har vist at forbrukere vurderer kvalitet med følgende vektning: utseende (40%), smak og aroma (40%) og tekstur (20%). (Alasalvar *m.fl.* 2002, s. 8-9; Thomassen og forskningsråd 2007, s. 30-31)

Næringsinnhold og sensorisk kvalitet i oppdrettsfisk påvirkes av mange faktorer som: gener og avl, sesong, kaloriinnhold i diet, endringer i førsammensetning og tilgang til lys. Ved oppdrett av atlantisk laks og andre lakseslekter kan fettinnhold og fettløselige stoffer i stor grad manipuleres basert på tidligere nevnte faktorer. Tekstur og utseende har vist seg å ha en sterk tilknytning til håndtering før slakt samt selve slakteprosessen (Alasalvar *m.fl.* 2002, s. 8-12). En fiskemuskel av høy kvalitet innehar farge, tekstur og smak som appellerer til forbrukeren, og som samtidig ivaretar høy mikrobiologisk og ernæringsmessig kvalitet. (Lie 2008, s. 241, 252)

Tabell 2.3 viser PSL og HQL for mager og fet fisk (Nollet *m.fl.* 2012, s. 480)

Fish species	Shelf life in months			
	-18°C		-30°C	
	PSL	HQL	PSL	HQL
Lean fish (e.g., cod)	7	3	12	6
Big fatty fish (e.g., salmon)	7	3	18	6
Small fatty fish (e.g., herring)	5	2	10	5

Holdbarhet for fryste produkter defineres ofte i form av utrykk som HQL (High quality shelf life) og PSL (Practical storage life). PSL angir hvor lenge et produkt av høy kvalitet kan lagres å oppfattes som akseptabel for konsument og videre prosessering, mens HQL angir lagringsperiode til 70% av et sensorisk panel er i stand til detektere forskjell sammenliknet med en nullprøve (Evans 2018, s. 237). PSL og HQL for henholdsvis mager og store/små viskearter illustreres i *tabell 2.3* (Nollet *m.fl.* 2012, s. 480). Legg merke til holdbarhetsforskjeller ved en temperaturendring fra -18 til -30°C. Holdbarhet vil påvirkes av en rekke sammenhengende fysiske og kjemiske kvalitetsforringelser illustrert i *figur 2.6* (Charoenrein og Harnkarnsujarit 2017, s. 40). Flere av disse prosessene sammen med dødsstivhet (rigor-mortis) vil ha en påvirkning på produktets drypptap, farge og tekstur. (Dawson *m.fl.* 2018, s. 3-4)



Figur 2.6 viser kvalitetsendringer i fryste næringsmidler (Charoenrein og Harnkarnsujarit 2017, s. 40).

Fryst fisk vil i utgangspunktet ha høy holdbarhet. Likevel er produktet utsatt for kvalitetsendringer som oksidasjon av lipider, frysebrenning og avdamping under langtidslagring. I fryste produkter benyttes ofte vakuumballasje for å redusere slike

kvalitetsendringer. Vakuumballasje regnes som en form av modifisert atmosfære da vakuum genereres og opprettholdes ved bruk av pakkematerialer med lav permeabilitet for oksygen og vann (Sun 2011, s. 862). Utenom å fungere som en barriere, har emballasjen hovedfunksjon å fjerne tilgjengelighet av O₂ noe som både inhiberer oksidasjon samt vekst av uønskede mikroorganismer. (Nollet *m.fl.* 2012, s. 523-524)

Sammenlignet med post-rigor fileter er pre-rigor fileter fastere, tykkere og fargen er ofte mer intens (Skjervold *m.fl.* 2001). For å utnytte disse fordelene maksimalt er det viktig at laksen ikke blir stiv før behandling. Noe som kan føre til påvirkning av strukturelle egenskaper, ufullstendig utnyttelse av råstoffet og filetspalting (Mørkøre *m.fl.* 2008). Om laksen behandles før inntreden av rigor fører det i tillegg til mindre filetspalting, bedre farge og fasthet sammenlignet med fryste/tinte post-rigor fileter (Einen *m.fl.* 2002). Produktet vil også være ferskere ettersom lagring på is i 3-5 dager unngås.

Slik som nevnt i *kapittel 2.2.2* inneholder pre-rigor fiskemuskel mer ATP, som kan brukes til muskelkontraksjon under og etter tining. Fenomenet hvor muskelen kontraheres etter tining omtales ofte som tinerigor, og er uønsket ettersom det fordrer drypptap, krymping, filetspalting og gir en gummiaktig tekstur. For å unngå tinerigor er det derfor fordelaktig at pre-rigor fisk blir tint sakte og ved lav temperatur slik at ATP blir degradert og syntetisert mens muskelen er i delvis fryst tilstand - dette fører til mindre kontraksjon. En metode for å unngå dette kalles kondisjonering («conditioning»). Og betyr at temperaturen i fisken senkes til temperaturer hvor muskulatur er frossen, men samtidig kan gjennomgå en sakte rigor før den fryses ned ytterligere til ønsket sluttemperatur. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 211)

2.4.1 Drypptap og vannholdningskapasitet (WHC)

Vannholdningskapasiteten er definert som evnen en gitt prøve har til å holde på sitt eget vann eller eksternt (absorbent) vann under spesifikke betingelser. Drypptap er derimot definert som væskeutslipp under bestemte betingelser og er normalt gitt som et forholdstall.

Væskeutslippet blir veid, delt på opprinnelig vekt og gitt i prosentvis tap. (Fennema 2007)

Vannholdningskapasiteten til fiskemuskel påvirkes av en rekke faktorer før og etter slaktning. Som for eksempel stress og sulting før slakt, sesong, lokasjon og rigorstatus. I tillegg påvirkes også vannholdningskapasiteten av pH, hvorav en pH nær det isoelektriske punkt

svekker kapasiteten til muskelen. Vannholdningskapasiteten innvirker videre på vektendringen under transport og lagring, drypptap under tining, vekttap og krymping under varmebehandling, i tillegg til produktets saftighet og mørhet. Egenskapen fiskemuskelcellen har til å holde på vannet er derfor sterkt knyttet opp mot produktkvalitet og tap av vann (drypptap). (Kaale *m.fl.* 2013c)

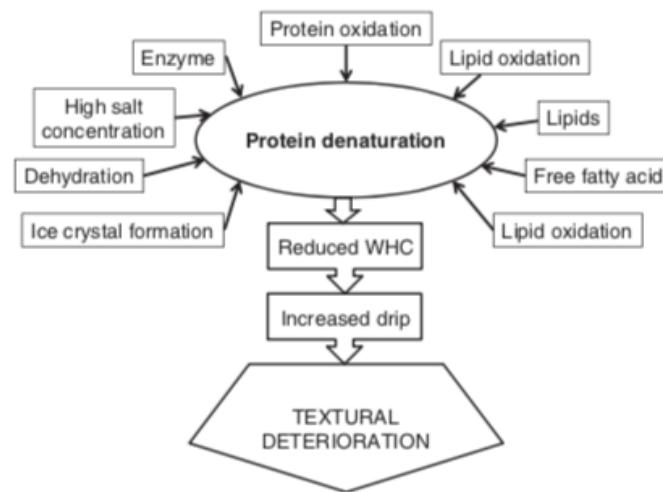
Drypptapet skjer grunnet strukturelle endringer i muskelen som reduserer kapasiteten den har til å holde på vann. Mesteparten av vannet finnes inne i og mellom myofibrillene, i sarcoplasma, mellom muskelceller og mellom grupper av muskelceller. Vannet er i tillegg bundet via hydrogenbindinger i proteiner, hvor vannbindingskapasiteten til proteinet er avhengig av pH (nettoladningen) og polariteten til proteinet. (Rotabakk *m.fl.* 2018) I laksefileter består drypptapet hovedsakelig av vann, proteiner og lipider. Hvor proteinene som går ut i drypptap er hovedsakelig vannløselige sarcoplasmatiske proteiner. Grunnet tap i nevnte bestanddeler involverer derfor drypptap også tap av produktets ernæringsmessige verdi. I tillegg vil det gi tap av smak, og i stor forekomst gi et mindre visuelt attraktivt og seigt/tørt produkt. I lakseindustrien er det normalt å forvente rundt en til to prosent drypptap, drypptapet kan derimot være helt opptil fem prosent i fisk dersom fryse-/tineregimet er dårlig. Ettersom laks betales etter kilopris, er drypptap direkte proporsjonalt med økonomisk tap/svinn for produsenten. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 210-212; Rotabakk *m.fl.* 2018; Kaale *m.fl.* 2013c)

Et stort drypptap gir også utslag i svekkelse av fiskens mikrobielle status; drypptapet bidrar til god tilgang på næringsstoffer for mikroorganismer. I tineprosessen benyttes ofte temperaturer under 15°C noe som gir gode vekstforhold for overlevende psykrotrofe mikroorganismer. Sammen med temperaturområdet, god næringstilgang og en våt overflate blir vekstforholdene gode. Drypptapet er derfor viktig for mattryggheten til tinte fiskeprodukter. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 211-212)

Om man sammenligner ferske pre- og post-rigor laksefileter er det dokumentert at pre-rigor-filet vil ha et høyere drypptap, men dette er på grunn av at post-rigor-fileten fileteres senere og at hel fisk har mindre drypptap enn filet. Når det kommer til forskjeller i vannholdningskapasitet i fersk laks, viser det seg også at det er forskjeller på rigorstatus. Her viser forsøk at vannholdningskapasiteten til pre-rigor er høyere enn i post-rigor laksefileter. (Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 210-212; Rotabakk *m.fl.* 2018; Nofima 2015)

Slik som nevnt i *kapittel 2.3.2* innvirker frysetid og -temperatur på lokasjon, størrelse og dannelsen av iskrystaller på omfanget av de strukturelle skadene som skjer i muskelen. Det ble også nevnt at pre-rigor laks gir mindre iskrystaller på grunn av lokasjonen av vannet er intracellulært. Overnevnte faktorer påvirker derfor omfanget av strukturelle skadene (denaturering) som påvirker tap av vannholdningskapasitet. I forhold til husdyr er proteinene i fisk generelt mer utsatt for denaturering ved frysing. Særlig gjennom denatureringen og aggregeringen av de myofibril-proteinene. Noe som gjør at vannholdningskapasiteten i fisk generelt sett er mer ømfintlig for frysing. (Devahastir 2010, s. 584; Nollet *m.fl.* 2012)

Denaturering av proteinene under frysing (også kalt frysedenaturering) er derfor sentralt når det kommer til tap av laksens vannholdningskapasitet, og slik som illustrert nedenfor i *figur 2.7* gir de forskjellige pådriverne bak proteindenatureringen også utslag i drypptap, som igjen gir en nedsettelse av teksturen.



Figur 2.7 viser sammenheng mellom proteindenaturering, redusert vannholdningsevne og teksturnedsettelse (Boziaris 2014, s. 41)

Endringene i proteinene som beskrevet i *figur 2.7* kan videre kategoriseres inn i fire forskjellige mekanismer:

1. Dehydrering av proteiner under frysning.
2. Økt andel av salter i ufryst fase.
3. Interaksjoner mellom proteiner og lipider, frie fettsyrer og/eller oksidasjonsprodukter.

4. Enzymet TMAOase som degraderer TMAO og gir endeprodukter som kan danne kryssbindinger med sidegrupper i proteiner.

(Devahastir 2010, s. 283-284)

2.4.2 Farge

En matvare med riktig farge assosieres ofte med høy sensorisk kvalitet av forbrukere, og er derfor også av økonomisk interesse. For oppdrettsfisk kan farge være en indikator på både fiskevelferd og kvalitet. Ønsket farge i lakseslekter er i stor grad avhengig av konsentrasjon av pigmentene astaxanthin og cantaxanthin i fiskemuskulaturen. Astaxanthin er et pigment av xhantofyll-familien, og står ofte for hovedinnholdet av pigmenter tilsatt i fôr ved lakseoppdrett. Hovedfunksjonen for tilsetningen er utvikling av den karakteristiske rød/rosa fargen ettersom oppdrettslaks selv ikke har naturlig tilgang til karotenoider. Utenom sin fargegivende effekt fungerer også pigmentet som antioksidant. Høyt fettinnhold i oppdrettslaks kan forårsake fortykning av astaxanthin og påvirker hvordan farge observeres. Dette gjør at regioner med høyt fettinnhold som eksempelvis området ved bukfinnen vil kunne fremstå lysere sammenliknet med mer mager muskulatur over laterallinjen. Samtidig kan oksidasjon av lipider under langtidslagring også påvirke observerbar farge (Indergård *m.fl.* 2014, s. 28). Videre har det også blitt påvist at observerbar farge kan påvirkes av stress påført i slakteprosess, hvor fisk med høy muskelaktivitet har gitt et lysere produkt. (Higuera-Ciapara *m.fl.* 2006, s. 185; Erikson og Misimi 2008, s. C50)

Visuell farge er både en funksjon av pigment og fysiske strukturelle egenskaper som påvirker lysspredning. I flere sammenhenger har det vist seg at rask frysing kan gi en lysere farge når næringsmidlet er i fryst tilstand. Dette skyldes dannelse av små iskrystaller som sprer lyset i større grad. laksefileter som fryses ved høy hastighet observeres som lyse, og mindre rød/rosa. Fargen som endres under effektiv frysing har vist seg å ha liten påvirkning på sluttproduktets farge etter tining. Dette skyldes at fargeendringen i fryste laksefileter i større grad er tilknyttet formasjon av iskrystaller og ikke en reduksjon i konsentrasjon av pigment (Kono *m.fl.* 2017)



Figur 2.8. Øverste bildet viser laks innfrost ved forskjellige temperaturer (fra venstre -15,-20,-40,-80 °C og flytende nitrogen), nedre del viser laksen etter tining (Ottestad m.fl. 2011, s. 426).

Figur 2.8 viser visuell forskjell i fryst atlantisk laks ved forskjellige temperaturer før og etter tining. Interessen rundt raske industrielle frysemetoder er i større grad tilknyttet andre kvalitetshensyn enn farge. Frysningstemperaturer mellom -40 og -60°C anses å være optimale for kvaliteten etter tining, da med hensyn til blant annet proteinoppløselighet, vannbinding og strukturforandringer. Lavere frysetemperaturer har vist seg å gi lysere produkt i frossen tilstand. Noe som betyr at en lys filett i frossen tilstand kan være et tegn på både lav frysetemperatur og god kvalitet. Selv om fisken kan virke lysere når den er fryst, har det vist seg at endringen ofte er reverserbar etter tining da konsentrasjon av astaxanthin ikke påvirkes. Likevel vil også andre faktorer som lagringstid, temperatur og tinemetodikk kunne ha en påvirkning. Dersom produktet er utsatt for oksidasjon under lagring kan karotenoider oksidere å gi et fargetap i lakseprodukter. (Ottestad *m.fl.* 2011, s. 423-426; Gökoglu og Yerlikaya 2015, s. 196)

2.4.3 Tekstur

Tekstur er definert som «den sensoriske og funksjonelle manifesteringen av de strukturelle og mekaniske egenskapene til næringsmidler gjennom sansene syn, hørsel, berøring og kinetikk» (Boziaris 2014, s. 378). I fisk er tekstur særlig knyttet opp mot oppfattelsen av ferskhet (Ólafsdóttir *m.fl.* 1997).

Teksturen i laks er sammensatt og bestemt av flere komplekse faktorer. Slik som tettheten av muskelfibrene, innholdet av fett og kollagen, størrelse, diett og industripraksis (slakting, stress, lagringstid og temperatur) (Dawson *m.fl.* 2018; Cheng *m.fl.* 2014). Etter død påvirkes videre teksturen i muskelen av autolytiske og mikrobiologiske prosesser (Olafsdottir *m.fl.* 2004). Gjennom frysning påvirkes den gjennom strukturelle endringer i muskelen som følge av krystallisering/rekrystallisering, som gir proteindenaturering og aggregering, samt dehydrering (Duun og Rustad 2008; Dawson *m.fl.* 2018). Hvor særlig sakte frysing og tining, og/eller gjentatt frysing og tining påvirker teksturen negativt ettersom det fremmer tap av vannholdningskapasitet og gir økt drypptap (Zhu *m.fl.* 2004). Selv om frysing av fileter, både pre- og post-rigor gir dårligere tekstur, er det en tendens til at fryste pre-rigor fileter har fastere tekstur, særlig når det kommer til brytekraft (Einen *m.fl.* 2002). Slik som nevnt under del 2.3.2 gir frysing av pre-rigor gir mindre iskrystaller, og derfor mindre strukturelle skader knyttet opp mot frysingen/tingingen, noe som kan bidra til å gi en bedre tekstur. På den andre siden kan en kraftig tining-rigor slik beskrevet i *kapittel 2.4* bidra til å svekke teksturen om tiningen skjer ved høy tiningtemperatur.

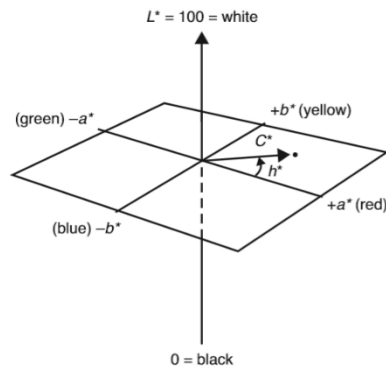
2.5 Måling av kvalitetsparametere

2.5.1 Måling av Farge

Det finnes flere forskjellige metoder for å analysere og kvantifisere objektiv farge i fiskefileter, hvor enten instrumentelle, kjemiske eller sensoriske metoder kan benyttes. Hvordan farge observeres er avhengig av tre hovedfaktorer: kjemisk og fysisk sammensetning, fargespektrum til lyskilden og øyets sensitivitet. Roche salmofan er et system som baserer seg på konsentrasjon av pigmentet astaxanthin. Hvor farge rangeres etter farescore basert på verdier fra lys rød/rosa til mørk rød/rosa (Bjerkeng *m.fl.* 1997). Systemet kan benyttes under sensoriske analyser hvor farge sammenliknes med fargekort med en gitt score, eller vurderes eller ved benyttelse av maskinsyn. (Boziaris 2014, s. 377)

Det benyttes i hovedsak to grupper Instrumenter for fargeanalyser: Kolorimeter og spektrofotometer. Kolorimetre benytter modell hvor farge kvantifiseres basert på menneskets oppfattelse av farge: i tre dimensjoner basert på Lyshet, rød/grønn og blå/gul (Boziaris 2014, s. 377). Modellen er basert på det første funksjonelle systemet for fargemåling navngitt CIE 1931 hvor fargene angis i form av koordinatene x,y,z (Shcubring 2009, s. 127). Modellen har senere blitt videreutviklet flere ganger og i dag benyttes ofte CIE L* a* b* (CIELAB)

(Macdougall 2010, s. 320). Mens typiske kolorimetre baseres på benyttelse av tre fargede lenser, kan enklere anvendbare metoder hvor en kombinasjon av fotokamera og maskinlæring gi gode sammenliknbare resultater (Shcubring 2009, s. 131).



Figur 2.9 CIELAB diagram som viser sammenheng mellom rød/grønn (a^* +/-), gul/blå (+/-), L^* og h^* (Macdougall 2010, s. 322)

For analyse ved bruk av systemer bygget på CIE standard vil belysning av analyseobjekt være av stor relevans. Ved simulering av dagslys benyttes en ultrafiolett komponent og en fargetemperatur på ca. 6500 K. Men kan justeres i henhold til forventede omgivelser. Figur 2.9 viser tredimensjonal CIELAB modell for farge hvor L^* beskriver produktets lyshet fra hvit til sort, a^* gir intensitet av farge på rød/grønn akse og b^* på gulblå akse. En skiftning av verdier på positiv eller negativ side av origo vil gi en fargeendring. Chroma (C^*) representerer fargemetning og h^* gir fargevinkel, eksempelvis i overgang mellom rød og gul. C^* kan kalkuleres ved benyttelse av likning 2.1, og h^* ved 2.2. (Macdougall 2010, s. 323)

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}} \quad (2.1)$$

$$h^* = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (2.2)$$

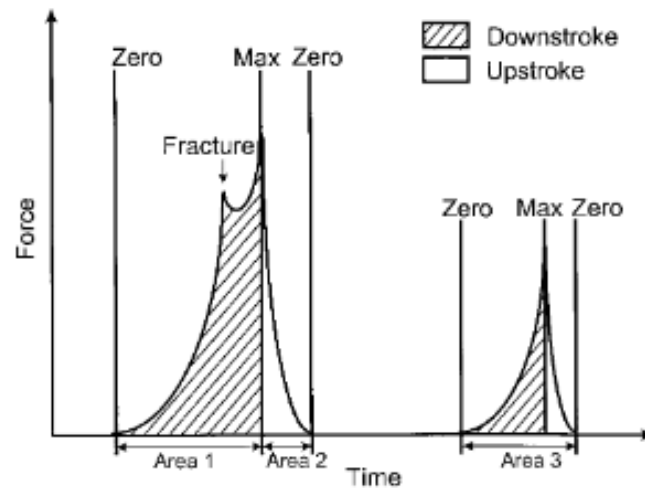
2.5.2 Måling av Tekstur

Det finnes flere utbredte metoder å måle tekstur på, hvor de overordnet sett kan skilles mellom hvorvidt de måles instrumentelt eller sensorisk. Ofte er de sensoriske metodene mer tidkrevende og kostbare, da de krever kalibrerte tester og et trent panel. Av hensyn til dette brukes ofte en rekke forskjellige instrumentelle metoder som for eksempel Kramer-test og teksturprofil analyse (TPA). Hvorav begge disse metodene bruker en probe eller et blad til å måle maksimalt trykk en kan påføre prøvene (Rehbein og Oehlschläger 2009, s. 214) (Cho

2016, s. 42-43) (Fellows 2017, s. 60) I nyere tid har det også blitt utviklet metoder for å analysere tekstur ved bruk av maskinlæring (Zhou *m.fl.* 2019).

Innenfor instrumentelle teknikker er det fire ulike som brukes til å måle og vurdere tekstur i fisk: Kompresjon, punktering, slitestyrke og skjærekraft. Disse avleses i en kraftdeformasjonskurve som gir variabler som vurderer kraft, deformering, stigning og område (areal under graf). (Cheng *m.fl.* 2014) Ofte angis kraft på y-aksen (eks. newton), mens tidsenhet angis i x-aksen. Fra grafen kan en derfor objektivt analysere disse variablene. Det er også ønskelig å analysere mer enn en av disse variablene nevnt ovenfor for å gi et bredere bilde av den helhetlige teksturen i fisken. Av disse er kraft den vanligste indeks for måling av teksturkvalitet, mens de andre (deformering, stigning og område) er variabler som angir hardhet. (Casas 2006)

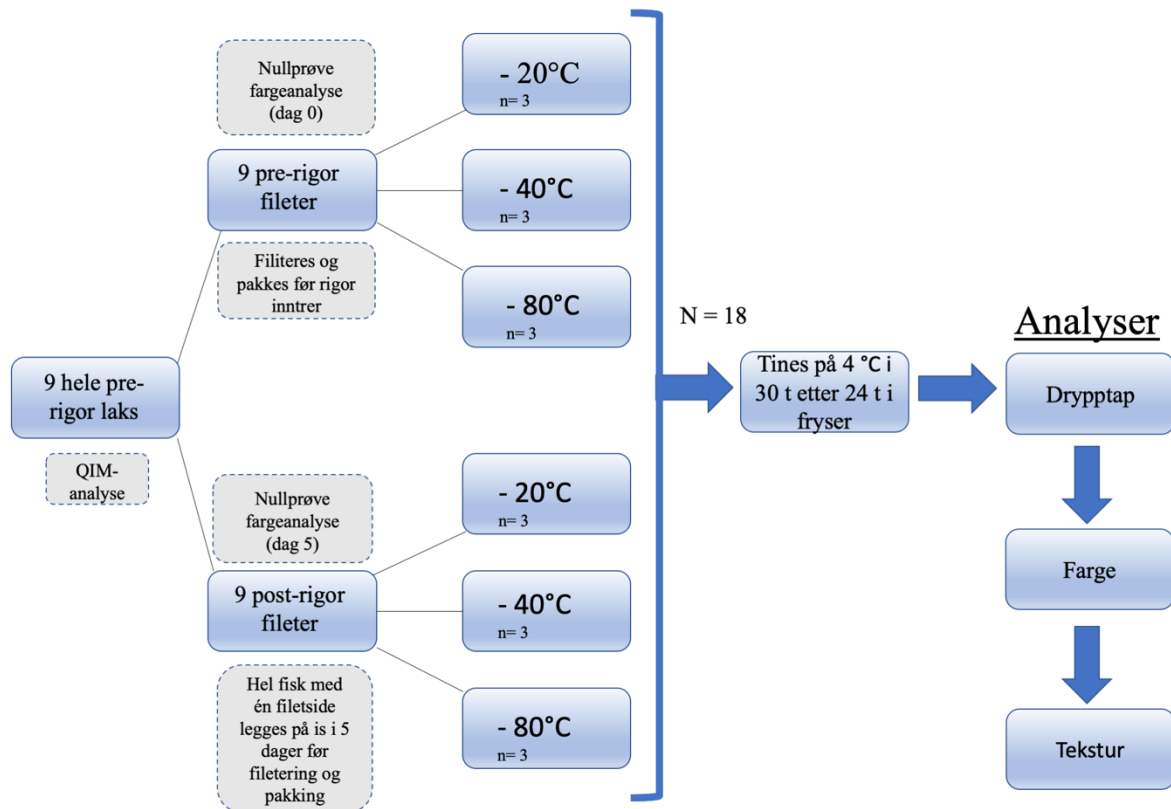
Av de ulike teksturmålemetodene er TPA ofte brukt som standardmetode for å beskrive og analysere tekstur i fisk. Særlig kan en dobbel kompresjon-metode med TPA angir en rekke viktige teksturelle egenskaper. (Cheng *m.fl.* 2014) *Figur 2.10* viser en slik dobbel kompresjons-test gjort med instrumentet Texture Analyzer TA-XT2 (SMS Ltd., Surrey, England). Kurven på figuren angir kraft og tid brukt ved å presse et objekt (eks. probe, sylnder) gjennom en prøve ved konstant hastighet, hvor kraften påført registreres i sanntid. Ut fra innsamlet datamateriale kan en rekke egenskaper objektivt fastsettes: Den maksimale mengden av kraft som er brukt for å presse objektet ned i prøven til en bestemt andel eller dybde i prøven er et mål på hardheten (maks på *figur 2.10*). Fastheten til prøven kan leses av kraft-tid-kurven gjennom å finne total kraft anvendt på prøven gjennom å ta integralet (areal) av kurven (angitt som area 1 på *figur 2.10*); total kraft som skal til for å presse objektet gjennom prøven. Videre kan også bruddstyrken defineres gjennom å finne den første toppen på kurven, dette punktet angir hvor objektet punkterer fileten (fracture på *figur 2.10*). (Boziaris 2014, s. 224-225; Veland og Torrissen 1999) Andre teksturegenskaper som for eksempel hvor mye prøven henger sammen eller hvor elastisk til prøven kan også defineres ved å gjenta kompresjonstesten på samme prøvepunkt (dobbel kompresjon). (Nishinari *m.fl.* 2013)



Figur 2.10 viser en kraft-tidkurve med teksturprofil analyse (TPA) (Veland og Torrissen 1999).

Sett bort fra de instrumentelle metodene måles ofte tekstur i lakseindustrien med "fingermetoden". Dette skjer ved at en finger trykkes ned på fileten, her blir derimot fastheten vurdert ut fra tekstur ved fingertrykk og hvordan formen til fingermerket tar (Sigurgisladottir *m.fl.* 1999). Denne metoden er derimot subjektiv og instrumentelle teksturmålinger vil være mer presise (Cheng *m.fl.* 2014)

3 Metode



Figur 3.1 Viser forsøksdesignet til prosjektet

Figur 3.1 viser designet til planlagt forsøk i prosjektet. Prøvematerialet vil være ni hele nyslaktede Atlantisk laks (4-5 kg) hentet på mottaket til Lerøy Midt AS avdeling Hitra. Laksen vil bli lagt hel på is i isoporkasser etter dødsinntreden, markert med individnummer og fraktet til prosesslaboratoriet på NTNU Akvinn Kalvskinn.

Ved mottak på prosesslaboratoriet vil det noteres vekt og gjennomføres en QIM-analyse. QIM-analyse er en sensorisk vurdering av fersk fisk som gir et overblikk over restholdbarheten til laksen. Restholdbarheten kalkuleres ved å gi observerbare kvalitetsparametere karakter fra null til tre, der null er best (Se vedlegg 1). QIM-analysen utføres slik at man kan konstatere at mottatt laks er av høy kvalitet, og at eventuelle avvik ikke er grunnet den opprinnelige kvaliteten til laksen (Lerfall 2019, s. 10-11). Etter kalkulering av restholdbarhet vil den ene filetsiden skjæres av (pre-rigor), skinnen fjernes og

filet veies (tre desimaler). Filetene på motsatt side som enda henger fast i ryggvirvelen legges på is (0 °C) i 5 dager, slik at de gjennomgår rigor. Etter gjennomgått rigor fileteres gjenværende side (post-rigor fileter), før de videre blir skippet og veies. Alle filetene i det eksperimentelle oppsettet vil derfor ha opphav i samme fisk, slik at de er direkte sammenlignbare for utsatt behandling. Derav unngås eventuelle hypotetiske individvariasjoner i oppsettet.

Som illustrert i *figur 3.1* lagres det tre paralleller for hver frysetemperatur, for både pre- og post-rigor. Filetene lagres ved temperaturene -20,-40 og -80°C i ca. 24 timer, tilstrekkelig til at filetene oppnår lagringstemperatur. Etter prøvegruppene blir filetert, skippet og veid, vakuumpakkes de og fryses. Disse temperaturintervallene ble valgt på grunnlag av tilgjengelighet og at de representerte en større temperaturspredning. Det vil også bli utført fargeanalyse (nullprøve) av alle filetene før frysingen for å kunne påvise fargeforskjeller på prøvegruppene etter gjennomgått frysing. Det vil derimot ikke bli utført nullprøver for tekstur ettersom dette vil ha skadet filetene, noe som kunne ha påvirket analyseresultatene.

Etter frysing tines filetene kontrollert i skap ved 4 °C i ca. 30 timer, slik som beskrevet av Einen *m.fl.* (2002). Tiningen utføres sakte for å hindre en sterk tinerigor. Som forklart i *kapittel 2.4 Kvalitet ved frysing og tining* kan en sterk tinerigor føre til uønskede kvalitetsendringer i filetene, og dermed påvirke resultater for drypptap, farge og tekstur.

Etter filetene gjennomgår behandlingen beskrevet ovenfor, utføres kvalitetsanalysene i nevnt rekke følge: Drypptap analyseres ved bruk av metode beskrevet av *kapittel 3.1*. Farge analyseres etter metode beskrevet i *kapittel 3.2* ved bruk av DigiEye full system. Mens teksturanalysen blir gjort med Texture Analyzer TA-XT2 via metoden beskrevet i *kapittel 3.3*.

3.1 Fastsettelse av drypptap i tint laksefilet

Drypptap angis etter metode beskrevet av Kaale, Eikevik, Rustad og Nordtvedt (2013). Før hver enkelt innfrysning blir alle prøvene veid og notert vekt av. Etter frysing vil hver filet bli tint på 4 °C i 30 timer. Væske (drypptapet) som har oppsamlet seg vil deretter bli veid og notert. Deretter uttrykkes drypptapet som prosentvis tap av startvekt til hver enkelt filet.

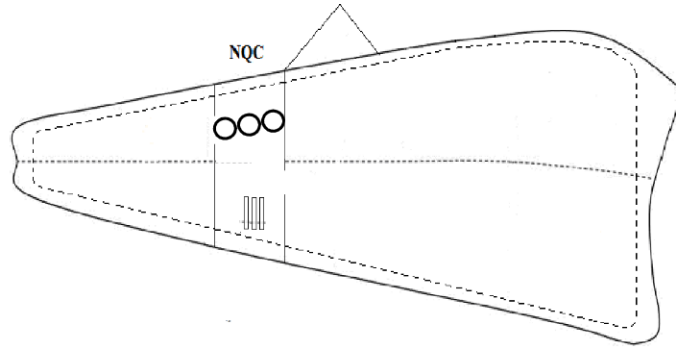
$$\text{Drypptap} = \frac{\text{Væsketap [gram]}}{\text{Filetekt før frysing [gram]}} \times 100 \% \quad (3.1)$$

3.2 Fargeanalyse

Overflatefarge måles av fileter ved benyttelse av digitale foto-fargemålinger og (DigiEye full system, Verivide Ltd., Leicester, uk) og metode etter Lerfall *m.fl.* (2015). Hvor pre-rigor fileter analyseres umiddelbart før frysing og post-rigor fileter analyseres etter gjennomgått rigor (fire døgn på is). Videre analyseres filettene etter tining. Ved analyse plasseres fileter i en standardisert boks som simulerer dagslys (6500 k) og fotograferes ved bruk av et kalibrert digitalkamera (Nikon D80, 35 mm lens, Nikon Corp., Japan). Videre vil bildene analyseres med DigiPix software (VeriVide Ltd., Leicester, uk) hvor farge kvantifiseres. Verdier for (L*, h* og C*) sammenliknes gjennom prosess og variasjoner mellom prøver.

3.3 Teksturanalyse

Teksturanalysen utføres ved bruk av instrumentet Texture Analyzer TA-XT2 (SMS ltd., Surrey, England), og utstyres med en 25 kg lastcelle etter metode fra Lerfall *m.fl.* (2015). En flat sylindersonde (20 mm diameter, type p / 1SP) Benyttes. Kraft-tid-graf registreres av datamaskin med programvaren Texture Exponent light. Videre vil det analyseres bruddstyrke, hardhet og fasthet til filetene. Tekstur måles i 3 paralleller fra samme filet på utskjæret område definert som norsk kvalitetssnitt (NQC) som vist under i *figur 3.2*.



Figur 3.2 viser definert området for Norsk kvalitetsnett (Lerfall 2019, s. 14).

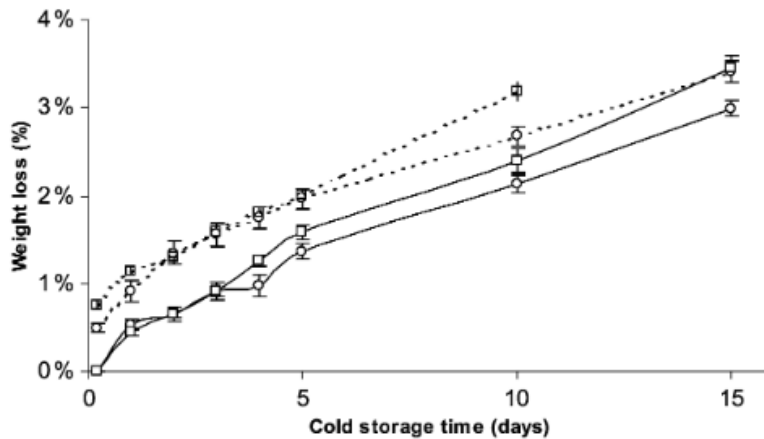
4 Resultater og vurdering

Oppgaven hadde som hovedmål å undersøke sammenheng mellom rigorstatus i laksefileter og frysetemperaturer. Dette ved å analysere kvalitetsparameterne farge, tekstur og drypptap. Grunnet endringer i omstendighetene ble oppgaven omgjort til en teoretisk oppgave for å kunne nå målet. Hvor et litteratursøk samt teori står til grunn for resultater og vurdering.

4.1 Resultater og vurdering av drypptap

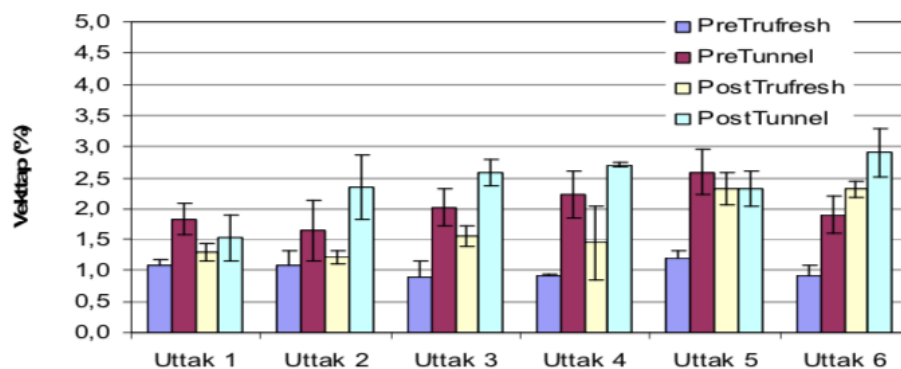
I en studie gjort på regnbueørret av Burgaard og Jørgensen (2011) ble drypptap og en rekke andre kvalitetsparametere målt etter innfrysning og fryselagring fra -10 til -80 °C (i 10-gradersintervaller) i en til åtte måneder. Studien viste at prøvene som ble lagret ved høye temperaturer ga høyest drypptap, og drypptapet minket ved lavere temperaturer. Dette var også utfallet i en studie gjort på pre-rigor laks over lengre fryseperioder på ulike temperaturer (-25, -45 og -60°C) av Indergård *m.fl.* (2014). Noe som stemmer med teori beskrevet i *kapittel 2.3.2 og 2.4.1* og skyldes i hovedsak tap av vannholdningskapasiteten til proteinene i fiskemuskelen og den mekaniske skaden på cellene som forekommer på grunn av store iskrystaller ved frysing av fisk.

Einen *m.fl.* (2002) sammenlignet pre- og post-rigor fileter under fryse- og kjølelagring. I forsøket ble filetene innfrost i nitrogen, lagret ved -25°C i fire dager og deretter tint i løpet av 30 timer ved 4 °C. Alle prøvene ble analysert opptil 15 dager kjølt etter behandling/tining. Forsøket viste at drypptapet økte på grunn av selve frysingen, men at det derimot ikke var noen signifikant forskjell i om hvorvidt pre- eller post-rigor filetering ga forskjell i drypptap etter tining. Det var kun signifikant forskjell etter 10 dager kjølelagring, hvor post-rigor hadde et høyere drypptap. Etter 15 dager var derimot forskjellen mellom fryst pre- og post-rigor lik. *Figur 4.1* viser også at det var tendens til noe lavere drypptap på dag 0 for fryst/tint pre-rigor enn tilsvarende hos post-rigor.



Figur 4.1 viser resultat fra drypptap til studiet av Einen *m.fl.* (2002). Hvor rå pre-rigor = (—o—), pre-rigor fryst/tint = (- - - o - - -), post-rigor rå = (—□—), post-rigor fryst/tint = (- - -□ - - -).

I forbindelse med en Nofima-rapport av Tobiassen *m.fl.* (2008) ble blant annet drypptap ved frysing av pre- og post-rigor laksefileter (ca. 150 gram) undersøkt over en periode på 18 måneder. Fryselagringen skjedde ved $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, hvorav to innfrysingsmetoder ble benyttet: tunellfrysing og TRUFRESH® (dyppet i fryselake og innfryst ved $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$). Filetene i forsøket ble tint ved $0\text{--}2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Figur 4.2 fra forsøket viser at drypptapet fra pre-rigor laksefiletene var lavt og ikke endret seg betraktelig i løpet av fryselagringen ved bruk av fryselakemetoden. De andre prøvene: pre-rigor med tunellfrysing, post- og pre-rigor med TRUFRESH® hadde derimot et stigende drypptap i tråd med lagringstiden.



Figur 4.2. illustrerer en sammenligning i drypptapprosent mellom pre- og post-rigor laksefileter over en fryselagringsperiode på 18 måneder ved bruk av to innfrysingsmetoder. Hvor Uttak 1 = 1 mnd., uttak 2 = 4 mnd., uttak 3 = 7 mnd., uttak 4 = 11 mnd., uttak 5 = 14 mnd., uttak 6 = 18 mnd. (Tobiassen *m.fl.* 2008)

Resultatene til Tobiassen *m.fl.* (2008) ga ingen forskjell mellom pre- og post-rigor innfryst i tunell. Ved bruk av lakefrysingsmetoden var det derimot påvist signifikant lavere drypptap i hele uttaksperioden i pre-rigor laksefilet sammenlignet med de tre andre prøvegruppene.

Forsøkene som ble funnet relevant i litteratursøket sammenlignet ikke drypptap i pre- og post-rigor laks fryst på ulike temperaturer slik som denne oppgaven baserte seg på. Slik som nevnt i *kapittel 2.3.2* er det kjent at frysing av pre-rigor fisk gir utslag i mindre iskrystaller på grunn av at mesteparten av vannet befinner seg intracellulært i fiskemuskel. Noe som vil gi mindre strukturelle skader under frysing/tining. I *kapittel 2.4.1* ble det også gått inn på at pre-rigor laks har høyere vannholdningskapasitet, og at generelt i fisk vil en lavere vannholdningskapasitet gi utslag i et høyere drypptap. Ut fra nevnt teori kan man derfor anta at pre-rigor filetering av laks før frysing vil bidra til lavere drypptap.

Forsøket av Einen *m.fl.* (2002) pekte derimot på at det ikke var noen signifikant drypptapsforskjell ved frysing av pre- og post-rigor laksefileter, men at det var tendenser til at drypptap var lavere for pre-rigor (fryst) enn post-rigor (fryst). Forsøksdesignet til Einen *m.fl.* (2002) hadde i likhetstrekk med problemstillingen til denne oppgaven å belyse forskjellene i rigorstatus og frysing ved å eliminere selve lagringsperioden som parameter. På den andre siden avvirket studiet i forhold til problemstillingen ved bruk av ulike lagringstemperaturer og innfrysningsmetode. I studien ble det benyttet nitrogen som er den raskeste og mest effektive innfrysningsmetoden tilgjengelig (Ozogul 2020, s. 29). Dette vil gi mindre iskrystaller og derav mindre strukturelle skader som oppstår ved lavere innfrysningshastigheter. Endring i lagringstemperaturer lik denne oppgavens problemstilling ville derfor ha pekt mer presist på eventuelle forskjeller på forholdet mellom rigorstatus, lagringstemperaturer og drypptap.

Resultatene til Tobiassen *m.fl.* (2008) viser at det er antydninger til forskjeller på frysing av pre- og post-rigor, men at forskjellen ikke ble påvist ved bruk av tunellfrysing og kun ved bruk av lakeinnfrysningen. Det antas derfor at denne gruppen kunne ha blitt utsatt for mindre strukturelle skader grunnet rask innfrysning og at rigorstatusen spilte en viktig rolle ettersom post-rigor av samme prøvegruppe derimot hadde et stigende drypptap utover lagringstiden. I lys av teori fra *kapittel 2.3.2* kan denne forskjellen forklares ved at pre-rigor fiskemuskel har mer av vannet lokalisert intracellulært, og at post-rigor vil ha mer vann liggende mellom cellene. Intracellulær krystalldannelse vil gi mindre iskrystaller som igjen gir mindre mekaniske skader på cellen, noe som fordrer drypptap. Til tross for dette vil frysehastigheten være med på å påvirke krystallstørrelsen. Det antas derfor at pre-rigor gruppen innfrost med tunell ble mer påvirket av dette. Forsøket til Tobiassen *m.fl.* (2008) viser derfor en trend om at

pre-rigor laksefileter som innfryses raskt kan gi et mindre drypptap både ved kort og lang fryselagring kontra post-rigor laks som utsettes for samme behandling.

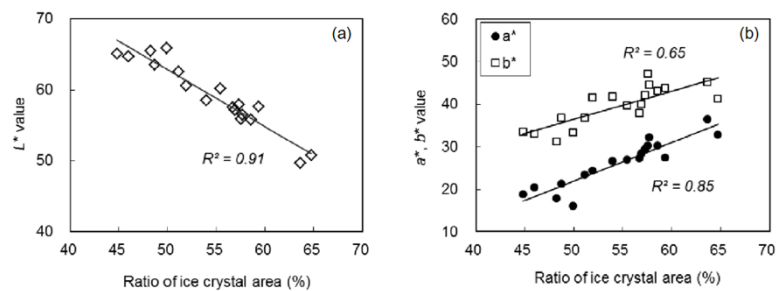
For å belyse disse trendene grundigere trengs det derimot mer dokumentasjon om hvordan rigorstatus og drypptap påvirkes av ulike fryseparametere som innfrysningshastighet og ulike lagringstemperaturer.

4.2 Resultater og vurdering av farge

Som nevnt i teoretisk *kapittel 2.4.2* er observerbar farge i lakseslekter avhengig både av pigment og muskelstruktur. En studie gjennomført av Sheehan *m.fl.* (1998) undersøkte stabiliteten til astaxanthin og canthaxanthin i fersk og røkt laks ved fryselagring (-20°C, 0-6 uker). Prøvematerialet besto av laks hvor sammenlikningsgrunnlaget var hovedpigment (astaxanthin eller canthaxanthin) tilsatt i fôr. Rapporten konkluderte med at canthaxanthin virket mindre stabil under fryselagring sammenliknet med astaxanthin, men at konsentrasjonen av begge pigmentene reduseres under fryselagring. I et annet studie hvor laks ble langtidslagret ved forskjellige temperaturer (-25,-45 og -60°C) gjennomført av Indergård *m.fl.* (2014) ble også farge undersøkt. Det ble her konkludert med at fargeendring påvirkes av lagringstid og lipidoksidasjon. I forsøksdesignet til denne oppgaven ble frysetid satt til 24 timer, for å kunne ekskludere fargetap som følge av oksidasjon og stabilitet. Dermed vil forsøket isolere fargeendringene tilknyttet til innfrysning, korttidslagring, rigorstatus og krystallisering. Videre vil vakuumballering som ble inkludert i planlagt forsøk kunne begrense oksidasjon (*kapittel 2.4*). Innsikt i fargeendring under langtidslagring vil likevel være viktig da hovedpoenget med frysing er langtidslagring.

Sammenhengen mellom pre-mortem stress, rigor mortis, lagring på is og farge ble undersøkt i Atlantisk laks av Erikson og Misimi (2008). Håndteringsstress viste seg å signifikant påvirke flere fargeparametere i skinn og filet. Signifikant endring i farge ble påvist i pre-rigor og overgang til rigor som følge av endring i myofibrillenes tilstand (Reduserte L^* verdier etter rigor). Studiet viser en sammenheng mellom kontraksjon, stress og fargeendringer som følge av rigor-mortis. Samtidig ble det påvist at håndteringsstress kan påvirke grad av fargeendring. Informasjonen fra studiene viser viktigheten av kunnskap om sammenheng mellom forbehandling og slakteprosess for produktkvalitet.

Ottestad *m.fl.* (2011) undersøkte fargeendring mellom fersk og fryst laks. Farge ble analysert i prøvene før frysing, i fryst tilstand og etter tining. Prøvene ble fryst ved -15, -20, -40, -80°C og i flytende nitrogen. Ved fargemålinger i fryst tilstand ble det registrert en avtagende intensitet i sammenheng med lavere frysetemperaturer. Dette med tilsvarende effekt som redusert konsentrasjon av astaxanthin. Endringen ble tilknyttet lysspredning som følge av mindre iskrystaller, da fargen ble gjenvunnet etter tining. Denne sammenhengen ble også undersøkt av Kono *m.fl.* (2017), som så på effekt av frysehastighet, iskrystallstørrelse og overflatefarge i coho laksefileter (*Onco-rhynchus kisutch*). Farge i fryste prøver endret seg i korrelasjon med prosentvis dannelse av iskrystaller. Filettene ble lysere (L^* verdi) i fileter med mindre krystallareal gitt ved raskere frysing, sammen med synkende verdier for a^* og b^* (figur 4.3).

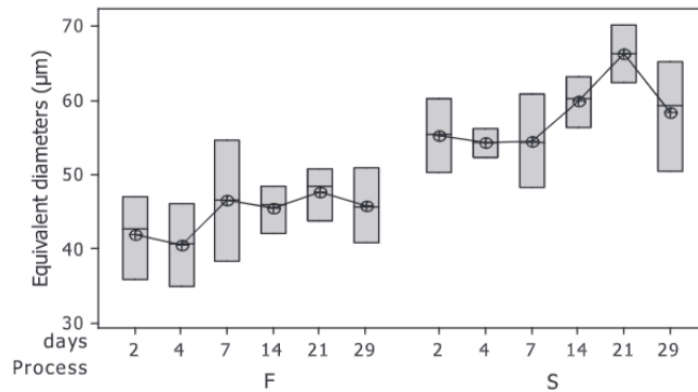


Figur 4.3 viser sammenheng mellom areal til iskrystaller og CIELAB verdier, (a): L^* verdi, (b): a^* og b^* verdi. (Kono *m.fl.* 2017)

De to nevnte studiene undersøkte farge ved forskjellige temperaturer, men så ikke på sammenhengen mellom farge og rigorstatus. Samtidig sier forsøkene mest om farge under frysing, noe som primært vil ha en verdi fra forbrukerperspektiv som vurderer et fryst produkt i eksempelvis en frysedisk. Alternativt dersom produktet tines industrielt før salg da fargen i forsøket ble observert som reverserbar.

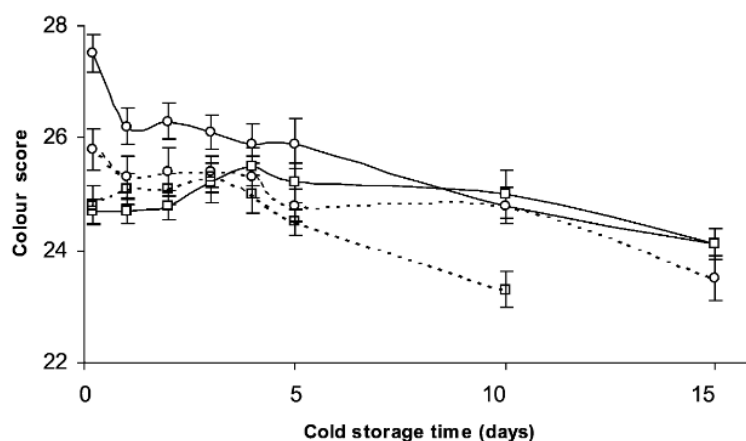
Iskrystallstørrelse påvirkes som kjent av både frysehastighet og rigor-status. Lokasjon og størrelse vil igjen påvirke sluttproduktets produktets struktur. Kaale og Eikevik (2013b) så på denne sammenhengen i rød muskulatur i pre-rigor laksefileter ved definert rask (-30°C, 227 W/m²K, 2.1 min) og sen (-20°C, 153 W/m²K, 4.2 min) frysing. Fileter ble delvis fryst ved benyttelse av en impingmentfryser, til oppnådd 20% isdannelse. Krystaller i pre-rigor laks ga signifikant mindre iskrystaller sammenliknet med post-rigor fryst ved like betingelser (Kaale og Eikevik 2013b). I lys av at krystaller tilknyttes strukturelle endringer som videre vil påvirke produktets farge, vil det være plausibelt å koble rask frysing sammen med mindre

grad av fargeendringer. Videre ble krystallstørrelse sammenliknet med benyttet valg av fryseparametere vist i *figur 4.4* under. Figuren viser en samsvarende trend mellom krystallstørrelse og rask (F) /sen (S) fryseprosess. Samme forfattere gjorde også et liknende studie på hvit muskulatur med liknende resultater (Kaale og Eikevik 2013a).



Figur 4.4 illustrerer plot av krystalldiameter i rød muskulatur ved rask (F) og sen (S) frysing (Kaale og Eikevik 2013b)

Som nevnt i *kapittel 4.2 drypptap* undersøkte Einen *m.fl.* (2002) kvalitetsaspekter ved pre- og post-rigor for fryst og fersk laks. I forsøket ble fersk fisk sammenliknet med fryst, samt effekten av post-/pre-rigor. Fryste/tinte Post-rigor fileter viste seg oppnå signifikant lavere fargeverdier (salmofan) sammenliknet med pre-rigor fileter som gjennomgikk tilsvarende behandling (*figur 4.5*). Fargeendring for pre-rigor fileter i størst grad kunne tilknyttes endring i verdier for L^* (lyshet), da det ikke ble påvist signifikant endring i verdier for a^* og b^* .



Figur 4.5. Salmofan fargescore for fersk, fryst, post- og pre-rigor laks (Einen *m.fl.* 2002). Hvor rå pre-rigor = (—○—), pre-rigor fryst/tint = (- - -○- - -), post-rigor rå = (—□—), post-rigor fryst/tint = (- - -□- - -).

Farge er blant de første kvalitetsparametere en forbruker vil vurdere et produkt etter. Basert på utvalgte studier inkludert i oppgaven kommer det frem at farge i oppdrettslaks er avhengig

av flere sammenhenger og bør ses helhetlig. Både innhold av pigmenter i muskulatur og rigorkontraksjon vil kunne påvirke hvordan farge observeres. Noe som betyr at startkvalitet ved frysing (dag 0) vil kunne variere. Fargeendringer som følge av fryseprosessen tilknyttes ofte teksturendringer, som påvirkes av frysehastighet og iskrystallenes lokasjon og størrelse. Samtidig er det dokumentert at ved frysing av pre-rigor laks vil iskrystaller i større grad dannes intracellulært, noe som påvirker muskulær struktur og dermed også farge. Einen *m.fl.* (2002) var studiet som representerte mulige resultater til det planlagte forsøket i størst grad. Selv om studiet viser at en fargeendring forekommer, vil frysemetoden (nitrogen) være lite anvendbar for industriell bruk grunnet kostnader. Det ble her påvist signifikante lavere fargescorere i post-rigor fileter sammenliknet med pre-rigor, som viser en sammenheng mellom frysing av pre-rigor fisk og bedre bevarelse av farge. Per forfatterens kjennskap er det ikke gjennomført studier som isolert ser på fargeendringer i sammenheng med rigorstatus og varierende frysetemperaturer.

4.3 Resultater og vurdering av tekstur

Teksturparameterne som skulle undersøkes i studiet var hardhet, fasthet og bruddstyrke. I litteratursøket ble det derimot bare funnet relevante studier som bruker bruddstyrke som teksturparameter. Det tenkes at bruddstyrke ble valgt som eneste teksturparameter grunnet den direkte sammenhengen med tyggemotstand. Som forklart i *kapittel 2.5.2* er bruddstyrke nødvendig kraft for å trenge gjennom overflaten til fileten. Denne sammenhengen gjør at man kan argumentere for at bruddstyrke er et sentralt parameter for forbrukeraksept.

I en studie utført av Skjervold *m.fl.* (2001) på fersk laks ble virkningen av pre-rigor filetering satt opp mot post-rigor filetering. Dette ble gjort for å se eventuelle fordeler ved å filetere laksen før den gjennomgår rigor. Analysene utført på pre-rigor filetene ble gjort etter filetering, mens post-rigor ble kjølelagret ved 0-2 °C i 5 dager før filetering. Teksturanalysen viste at bruddstyrken i gjennomsnitt er to ganger høyere i en pre-rigor filet kontra post-rigor filet. Denne forskjellen i bruddstyrke sank under kjølelagring, men pre-rigor filetene hadde en betydelig høyere bruddstyrke gjennom hele lagringsløpet (*se tabell 4.1*).

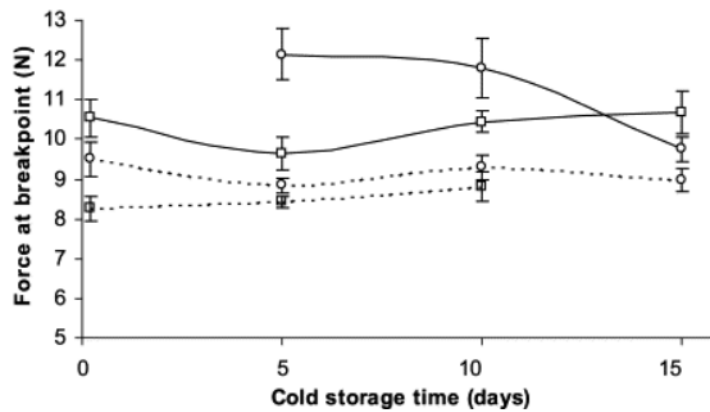
Studiet til Skjervold *m.fl.* (2001) beviste at ferske pre-rigor fileter har en signifikant høyere bruddstyrke enn post-rigor fileter gjennom 15 dagers lagring. Den største forskjellen mellom post- og pre-rigor fileter var ved dag 0. Dette viser at pre-rigor fileter vil være av høyere kvalitet, men at kvaliteten vil senkes med tiden. Det er derimot viktig å påpeke at pre-rigor og

post-rigor filetene ikke var fra samme laks slik som i metoden forklart i *kapittel 3*. Individuelle forskjeller blant laksen kan dermed være med på å påvirke resultatene. Einen *m.fl.* (2002) mener forskjellen i bruddstyrke mellom post- og pre-rigor ser ut til å være forårsaket av rigorsammentrekninger. I en pre-rigor filet vil muskelen være fjernet fra ryggvirvelen som fører til at muskelen er i stand til å trekke seg sammen fritt. Dette fører til at man unngår muskelspenninger, og dermed hindrer brudd i muskelstrukturen som fører til en mykere tekstur.

Tabell 4.1. Gjennomsnittlig bruddkraft for 16 pre- og 16 post-rigor fileter målt over 15 dager. $*(p<0.05)$ er en signifikant forskjell mellom post- og pre-rigor. (Skjervold *m.fl.* 2001)

		Gjennomsnitt bruddstyrke (N)
Dag 0	Post-rigor	7.6±0.14*
	Pre-rigor	17.3±1.16*
Dag 6	Post-rigor	8.0±0.22*
	Pre-rigor	10.1±0.21*
Dag 15	Post-rigor	8.9±0.23*
	Pre-rigor	10.3±0.26*

Som forklart i *kapittel 2.4.3* vil tekstur i laks påvirkes av autolytiske og mikrobiologiske prosesser. Frysing vil også påvirke tekturen til laksen gjennom strukturelle endringer i muskel som følge av iskrystallisering, og kan føre til proteindenaturering, aggregering og dehydrering. Som nevnt i de to tidligere kapitlene undersøkte Einen *m.fl.* (2002) kvalitet i pre- og post-rigor laksefileter. I studiet ble ferske og fryste fileter av pre- og post-rigor laks sammenliknet. Analysene viser at det er signifikante forskjeller på bruddstyrken til filetene som ble fryst og filetene som ble kjølelageret (*Figur 4.6*). Frysing og tining av filetene resulterte i en lavere bruddstyrke i både pre- og post-rigor filetene. Det var derimot en tendens til høyere bruddstyrke i frossen- og tinte fileter fra pre-rigor kontra post-rigor. *Figur 4.6* viser også at det er en signifikant forskjell mellom frossen/tint pre- og post-rigor fileter ved dag 0, men at dette avtar gjennom kjølelagring. Studiet til Einen *m.fl.* (2002) viser altså at de fleste positive effektene på bruddstyrken til pre-rigor fileter går tapt under frysing og tining. Studiet beviste også at fryste pre-rigor fileter vil ha bedre tekstur enn fryste post-rigor fileter. Det er derimot viktig å poengtere at et tineregime som utnytter høyere temperaturer kan gi motsatt resultat.



Figur 4.6. Tekstur målt som bruddstyrke (N) under kjølelagring av laksefileter utsatt for forskjellig behandling før kjølelagring. Rå pre-rigor filet (—○—), frossen/tint pre-rigor filet (- - -○- - -), rå post-rigor filet (—□—) og frossen/tint post-rigor filet (- - -□- - -) (Einen *m.fl.* 2002).

Som nevnt i *kapittel 2.4* er tinerigor en reaksjon som kan endre teksturkvaliteten til en pre-rigor filet. Ved frysing av en pre-rigor filet vil musklene inneholde mer ATP, denne kan brukes for å igangsette muskelkontraksjoner under tining. Metoden benyttet av (Einen *m.fl.* 2002) kan benyttes for å unngå tinerigor, altså at fileten tines sakte ved lave temperaturer. Det forventes derfor at metoden beskrevet i *kapittel 3* ikke vil føre til tinerigor. Og at tining ved høyere temperaturer kan føre til en sterkere tinerigor, som igjen vil føre til en mykere tekstur.

En studie av (Cappeln *m.fl.* 1999) viste at ATP i torskefileter var stabil ved fryselagring under -40°C . I studien ble derimot ATP-en degradert ved -20°C , dette betyr at pre-rigor torskefileter går inn i rigor under frysing ved -20°C . Basert på studier fra litteratursøk kan man altså anta at laksefileter fryst ved -40 og -80°C vil ha en signifikant høyere bruddstyrke ved kort lagring enn filetene fryst ved -20°C . Det er derimot verdt å merke at muskeloppbyggingen i torsk skiller seg fra muskeloppbyggingen i laks. Så videre forskning er nødvendig for å kunne påvise innvirkningen til de forskjellige temperaturene på pre-rigor laksefileter.

4.4 Vurdering av metode og videre arbeid

Metoden i *kapittel 3* hadde som hensikt å isolere endringer tilknyttet frysing av post- og pre-rigor laks under korttidslagring. Noe som ville ha gitt verdifull innsikt i sammenhengen mellom rigorstatus og de kortsiktige kvalitetsendringene ved frysning. Etter forfatterens kjennskap er det ikke gjennomført tilsvarende studier slik som planlagt i oppgaven. Det kan derfor anbefales at videre arbeid på området burde inkludere oppgavens valgte eksperimentelle oppsett. Utvalget i oppgavens oppsett ble valgt grunnet økonomi og kapasitet. Det kunne allikevel vært fordelaktig med et større utvalg ettersom det kan påvise eventuelle forskjeller mellom gruppene med større signifikans.

Et annet parameter som har sammenheng med endringer i drypptap, farge og tekstur er krystallstørrelse. Ved å bruke metoden fra Kaale og Eikevik (2013b) kan man undersøke iskrystallstørrelse og lokasjon ved bruk av mikroskop etter frysing. Dette vil gi en bedre oversikt over påvirkningen til iskrystaller på valgte kvalitetsparametere. Videre kan studiet utvides med flere analyser for å se på sammenhenger. Det vil blant annet kunne være interessant å undersøke kvalitetsparametere med et sensorisk panel. Dette gjør at en kan undersøke sammenhengen mellom analyserte verdier og om disse kan detekteres av mennesker.

I resultater og vurdering kom det frem at forsøkene til Einen *m.fl.* (2002) og Tobiassen *m.fl.* (2008) brukte lave tinetemperaturer. Noe som er kjent til å gi mindre tinerigor, som igjen kan gi mindre endringer i drypptap, farge og tekstur. Om forbrukere eksempelvis tiner i romtemperatur kan det derfor gi et feilaktig bilde. Videre arbeid burde derfor undersøke andre tineregimer opp mot disse kvalitetsparametere. Et annet parameter som også ville ha vært hensiktsmessig å kartlegge i videre arbeid er vannholdningskapasiteten. Dette siden pre-rigor fileter innehar en høyere vannholdningskapasitet, som igjen kan gi et lavere drypptap.

I tidlig fase av metodeplanlegging ble det planlagt å undersøke kjernetemperatur ved benyttelse av tid-/temperaturloggere, for å undersøke frysetid til en gitt temperatur (Eksempelvis -20°C). Slike målinger sammen med simulering (beregninger ved eksempelvis Pham's metode) av frysetid vil gi en bedre indikator på sammenhengen mellom rask frysehastighet og kvalitetsendringer. En annen måte å gi mer helhetlige resultater på, kan være å benytte planlagt metode sammen med fryselagring over lengere perioder (eksempelvis

6-12 mnd.). Som kjent vil fryselagring kunne medføre rekrystallisering og dermed påføre produktet ytterligere kvalitetsnedsettelse. Det er dermed interessant å se endringen i drypptap, farge og tekstur ved lagring av pre- og post-rigor fileter over lengre perioder ved forskjellige temperaturer. Dersom forsøket utvides med lagringstid, burde kjemiske analyser også vurderes. Eksempelvis vil analyser for konsentrasjonsendringer av pigmenter, oksidasjon av proteiner og lipider kunne gi et større resultatgrunnlag for diskusjon.

5 Konklusjon

Hovedmålet med prosjektet var å undersøke drypptap, farge og tekstur i pre- og post-rigor laks (N=18) ved tre forskjellige fryse-/tineregimer (- 20,-40 og -80°C i 24 timer med tining ved 4°C i 30 timer, n=3). Dette for å belyse hvordan frysetemperaturene og rigorstatus påvirker kvalitetsparametrene. Forsøket ble ikke fullført, istedenfor ble en litteraturstudie lagt til grunn for å nå målet.

Lav frysehastighet gir større iskrystaller som kan føre til økt drypptap. Hvorvidt det eksisterer noen forskjeller i drypptap mellom pre- og post rigor laksefileter, samt hvordan det påvirkes av ulike fryseparametere trengs det mer kunnskap rundt. Det ble derimot observert at pre-rigor laks som raskt ble innfrost hadde tendenser til lavere drypptap enn post-rigor. Noe som kan skyldes større grad av intracellulær iskrystalldannelse og mindre iskrystaller.

Kontraksjon og frysing vil påvirke produktets struktur, som videre kan føre til fargeendringer. Samtidig har studier vist at laksefileter kan bli lysere ved lave frysetemperaturer som følge av lysspredning ved dannelse av små krystaller. Slike endringer gjelder kun i fryst tilstand da den har vist seg å være reverserbar ved tining. Ved frysing av pre-rigor fileter har det blitt påvist mindre fargeendringer ved langtidslagring. Dette viser en tendens til mindre endringer i frysede pre-rigor fileter. For bedre forståelse for hvordan farge endres som følge av kontraksjon og frysing ved forskjellige temperaturer vil det være av interesse og gjennomføre forsøket i rapporten.

Frysing av laksefileter vil ha konsekvenser på tekstur. Innfrysningstemperatur, rigorstatus og tineregime vil være med å påvirke graden av teksturendringer. Litteratursøket viste at pre-rigor fileter har høyere bruddstyrke kontra post-rigor fileter. Dette var også tilfellet etter fryselagring i korte perioder. Videre kan lavere frysetemperatur føre til mindre strukturelle endringer hos filetene, som igjen hindrer nedsatt bruddstyrke. Det ble ikke funnet studier som beviser hvilke av de valgte temperaturene som kan gi best tekstur. Når det kommer til tineregime har dette stor betydning for tekturen til frysede pre-rigor fileter. Studier viser at tineregimer som benytter lav temperatur, slik som beskrevet i metode vil påvirke kvaliteten til filetene i mindre grad. Man kan derfor forvente at dette vil være fordelaktig for å ivareta bruddstyrken til pre-rigor laks.

Rigorkontraksjon og iskrystallisering vil påvirke strukturen til en laksefilet. Både høy frysehastighet og pre-rigor frysing kan gi små intracellulære iskrystaller ved frysing. Flere, mindre og intracellulære iskrystaller vil gi mindre strukturendringer. Gjennom litteratursøket kom det frem at drypptap, farge og tekstur påvirkes av slike endringer som følge av frysing. Utførelse av metoden som beskrevet i oppgaven kan gi forståelse av kvalitetsendringene som skjer under frysing ved varierende temperaturer knyttet opp mot rigorstatus.

6 Referanseliste

- Alasalvar, C., Taylor, T. og European Conference on Fish, P. (2002) *Seafoods : quality, technology and nutraceutical applications*. Berlin: Springer.
- Beamish, R. J. og Jones, S. (2011) *Salmon lice : an integrated approach to understanding parasite abundance and distribution*. John Wiley & Sons.
- Behrmann, E., Müller, M., Penczek, P., Mannherz, H., Manstein, D. og Raunser, S. (2012) Structure of the Rigor Actin-Tropomyosin-Myosin Complex, *Cell*, 150, s. 327-338. doi: 10.1016/j.cell.2012.05.037.
- Bjerkeng, B., Refstie, S., Fjalestad, K. T., Storebakken, T., Rødbotten, M. og Roem, A. J. (1997) Quality parameters of the flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by dietary fat content and full-fat soybean meal as a partial substitute for fish meal in the diet, *Aquaculture*, 157(3-4), s. 297-309. doi: 10.1016/S0044-8486(97)00162-2.
- Boissy, J., Aubin, J., Drissi, A., van der Werf, H. M. G., Bell, G. J. og Kaushik, S. J. (2011) Environmental impacts of plant-based salmonid diets at feed and farm scales, *Aquaculture*, 321(1), s. 61-70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.08.033>.
- Boziaris, I. S. (2014) *Seafood Processing: Technology, Quality and Safety*. 1. utg. John Wiley & Sons, Ltd.
- Burgaard, M. G. og Jørgensen, B. M. (2011) Effect of Frozen Storage Temperature on Quality-Related Changes in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(1), s. 53-63. doi: 10.1080/10498850.2010.538894.
- Casas, C. (2006) Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods, *Food control*, v. 17(no. 7), s. 511-515. doi: 10.1016/j.foodcont.2005.02.013.
- Charoenrein, S. og Harnkarnsujarit, N. (2017) *Chapter 2 - Food Freezing and Non-Equilibrium States*. Elsevier Ltd.
- Cheng, J.-H., Sun, D.-W., Han, Z. og 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(1), s. 52-61. doi: 10.1111/1541-4337.12043.
- Cho, Y. J., Kang, S. (2016) *Emerging Technologies for Food Quality and Food Safety Evaluation*. 1. utg. CRC Press.

- Dawson, P., Al-Jeddawi, W. og Remington, N. (2018) Effect of Freezing on the Shelf Life of Salmon, *International Journal of Food Science*, 2018. doi: 10.1155/2018/1686121.
- Devahastir, S. (2010) *Physiochemical aspects of food engineering and processing*. CRC Press.
- Duun, A. S. og Rustad, T. (2008) Quality of superchilled vacuum packed Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at -1.4 and -3.6°C , *Food Chemistry*, 106(1), s. 122-131. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.051>.
- EEC (1989) Council Directive 89/108/EEC of 21 December 1988 on the approximation of the laws of the Member States relating to quick-frozen foodstuffs for human consumption, *Official Journal of the European Communities*, EUR-LEX. Tilgjengelig fra: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:31989L0108&from=EN> (Hentet: 08/05-2020).
- Eikevik, T., Tolstorebrov, I., Bantle, M. og et al. (2015) Challenges of the usage of ultra-low temperatures for fish freezing and storage: International Institute of Refrigeration (IIR). doi: 10.18462/iir.icr.2015.0115.
- Einen, O., Guerin, T., Fjæra, S. O. og Skjervold, P. O. (2002) Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon, *Aquaculture*, 212(1-4), s. 129-140. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00874-2.
- Erikson, U. og Misimi, E. (2008) Atlantic Salmon Skin and Fillet Color Changes Effected by Perimortem Handling Stress, Rigor Mortis, and Ice Storage, *Journal of Food Science*, 73(2), s. C50-C59. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00617.x.
- Espe, M. (2008) 9 - Understanding factors affecting flesh quality in farmed fish, i Lie, Ø. (red.) *Improving Farmed Fish Quality and Safety*. Woodhead Publishing, s. 241-264.
- Evans, J. A. (2018) *Frozen Food Science and Technology*. Blackwell Publishing Ltd.
- Fellows, P. (2017) *Food processing technology : principles and practice*. 4. utg. Duxford: Woodhead.
- Fennema, O. (2007) Comparative water holding properties of various muscle foods, *Journal of Muscle Foods*, 1, s. 363-381. doi: 10.1111/j.1745-4573.1990.tb00373.x.
- Fiskeridirektoratet (2018) Nøkkeltall fra norsk havbruksnæring, s. 26. Tilgjengelig fra: <https://fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Statistiske-publikasjoner/Noekkeltall-for-norsk-havbruksnaering> (Hentet: 11.05.2020).
- Gökoglu, N. og Yerlikaya, P. (2015) *Seafood chilling, refrigeration and freezing: Science and technology*. John Wiley & Sons, Ltd.

- Higuera-Ciapara, I., Felix-Valenzuela, L. og Goycoolea, F. M. (2006) Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2), s. 185-196. doi: 10.1080/10408690590957188.
- Indergård, E., Tolstorebrov, I., Larsen, H. og Eikevik, T. M. (2014) The influence of long-term storage, temperature and type of packaging materials on the quality characteristics of frozen farmed Atlantic Salmon (*Salmo Salar*), *International Journal of Refrigeration*, 41(C), s. 27-36. doi: 10.1016/j.ijrefrig.2013.05.011.
- Kaale, L. D. og Eikevik, T. M. (2013a) A histological study of the microstructure sizes of the red and white muscles of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets during superchilling process and storage, *Journal of Food Engineering*, 114(2), s. 242-248. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.08.003.
- Kaale, L. D. og Eikevik, T. M. (2013b) A study of the ice crystal sizes of red muscle of pre-rigor Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets during superchilled storage, *Journal of Food Engineering*, 119(3), s. 544-551. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.06.002.
- Kaale, L. D., Eikevik, T. M., Rustad, T. og Nordtvedt, T. S. (2013c) Changes in water holding capacity and drip loss of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle during superchilled storage, *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), s. 528-535. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.021>.
- Kennedy, C. J. (2000) *Managing frozen foods*. Cambridge: Woodhead Pub.
- Kono, S., Kon, M., Araki, T. og Sagara, Y. (2017) Effects of relationships among freezing rate, ice crystal size and color on surface color of frozen salmon fillet, *Journal of Food Engineering*, 214, s. 158-165. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.06.023.
- kystdepartementet, F.-o. (2009) *Strategi for en miljømessig bærekraftig havbruksnæring*. Regjeringen. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/no/dokumenter/strategi-for-en-miljomessig-barekraftig-/id571066/>.
- Lerfall, J., Roth, B., Skare, E., Henriksen, A., Betten, T., Dziatkowiak-Stefaniak *m.fl.* (2015) Pre-mortem stress and the subsequent effect on flesh quality of pre-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during ice storage, *Food Chemistry*, 175, s. 157-165. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.11.111.
- Lerfall, J. (2019) Produksjon av kaldrøkt laks. Laboratorieoppgaver Matteknologi, *NTNU - Institutt for bioteknologi og matvitenskap*.
- Lie, Ø. (2008) *Improving Farmed Fish Quality and Safety*. Elsevier Science.
- Macdougall, D. B. (2010) *Colour measurement of food: principles and practice*. Cambridge, England .:

- Menon, V. (2005) *Seafood processing: Adding value through quick freezing, retortable packaging, and cook-chilling*.
- Molnar, C. og Gair, J. (2015) *Concepts of Biology - 1st Canadian Edition*.
- Mørkøre, T., Mazo T, P. I., Tahirovic, V. og Einen, O. (2008) Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L), *Aquaculture*, 277(3), s. 231-238. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.036>.
- Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., Funami, T. og Bourne, M. (2013) Parameters of Texture Profile Analysis, *Food Science and Technology Research*, 19, s. 519-521. doi: 10.3136/fstr.19.519.
- Nofima (2015) Prosjektåret 2015, *Næringsnytte*.
- Nollet, L. M. L., Boylston, T., Chen, F., Coggins, P., Hydlig, G., McKee, L. H. m.fl. (2012) *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality, Second edition*. Wiley.
- Olafsdottir, G., Nesvadba, P., Di Natale, C., Careche, M., Oehlenschläger, J., Tryggvadóttir, S. a. V. m.fl. (2004) Multisensor for fish quality determination, *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), s. 86-93. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.08.006>.
- Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I. m.fl. (1997) Method to evaluate fish freshness in research and industry, *Trends in Food Science & Technology*, 8, s. 258-265. doi: 10.1016/S0924-2244(97)01049-2.
- Olsen, M. S. og Osmundsen, T. C. (2017) Media framing of aquaculture, *Marine Policy*, 76, s. 19-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2016.11.013>.
- Ottestad, S., Enersen, G. og Wold, J. P. (2011) Effect of Freezing Temperature on the Color of Frozen Salmon, *Journal of Food Science*, 76(7), s. S423-S427. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02313.x.
- Ozogul, Y. (2020) *Innovative Technologies in Seafood Processing*. 1. utg. CRC Press.
- Pelletier, N., Tyedmers, P., Sonesson, U., Scholz, A., Ziegler, F., Flysjo, A. m.fl. (2009) Not All Salmon Are Created Equal: Life Cycle Assessment (LCA) of Global Salmon Farming Systems, *Environmental Science & Technology*, 43(23), s. 8730-8736. doi: 10.1021/es9010114.
- Rehbein, H. og Oehlenschläger, J. (2009) *Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Rotabakk, B. T., Melberg, G. L. og Lerfall, J. (2018) Effect of Season, Location, Filleting Regime and Storage on Water-Holding Properties of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo*

- salar L.), *Food Technology and Biotechnology*, 56(2), s. 238-246. doi: 10.17113/ftb.56.02.18.5346.
- Shcubring, R. (2009) Colour Measurement *Fishery Products: Quality, safety and authenticity*. s. 127-172.
- Sheehan, E. M., O'Connor, T. P., Sheehy, P. J. A., Buckley, D. J. og Fitzgerald, R. (1998) Stability of astaxanthin and canthaxanthin in raw and smoked atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage, *Food Chemistry*, 63(3), s. 313-317. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00048-X.
- Sigurgisladottir, S., Hafsteinsson, H., Jonsson, A., Lie, Ø., Nortvedt, R., Thomassen, M. *m.fl.* (1999) Textural Properties of Raw Salmon Fillets as Related to Sampling Method, *Journal of Food Science*, 64(1), s. 99-104. doi: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb09869.x.
- Singh, R. P., Singh, R. P. og Heldman, D. R. (2008) *Introduction to Food Engineering*. Elsevier Science.
- Skjervold, P., Rørå, A., Fjæra, S., Vegusdal, A., Skuland, A. og Einen, O. (2001) Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon, *Aquaculture*, 194, s. 315-326. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00531-7.
- Squire, J. (2019) Special Issue: The Actin-Myosin Interaction in Muscle: Background and Overview, *International journal of molecular sciences*, 20(22), s. 5715. doi: 10.3390/ijms20225715.
- Squire, J. M. (1997) Architecture and function in the muscle sarcomere, *Current Opinion in Structural Biology*, 7(2), s. 247-257. doi: [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(97\)80033-4](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(97)80033-4).
- SSB (2019) Statistikk akvakultur, *Statistisk sentralbyrå*. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/jord-skog-jakt-og-fiskeri/statistikker/fiskeoppdrett/aar> (Hentet: 17/03/2020).
- Sun, D. W. (2011) *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging, Second Edition*. Taylor & Francis.
- Syamaladevi, R., Manahiloh, K., Muhunthan, B. og Sablani, S. (2012) Understanding the Influence of State/Phase Transitions on Ice Recrystallization in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) During Frozen Storage, *Food Biophysics*, 7(1), s. 57-71. doi: 10.1007/s11483-011-9243-y.
- Tahergorabi, R., Hosseini, S. V. og Jaczynski, J. (2011) 6 - Seafood proteins, i Phillips, G. O. og Williams, P. A. (red.) *Handbook of Food Proteins*. Woodhead Publishing, s. 116-149.

- Thomassen, M. S. og forskningsråd, N. (2007) *Aquaculture research : from cage to consumption*. Oslo: Research Council of Norway.
- Tobiassen, T., Akse, L., Carlehög, M., Eilertsen, G. og Dahl, R. (2008) *Frysing av pre-rigor laksefilet - Kvalitet og holdbarhet under fryselagring og etter tining*. (15/2008). Tromsø: Nofima.
- Tolstorebrov, I., Eikevik, T. M. og Bantle, M. (2016) Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish, *International Journal of Refrigeration*, 63(C), s. 37-47. doi: 10.1016/j.ijrefrig.2015.11.003.
- Veland, J. O. og 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(12), s. 1737-1746. Tilgjengelig fra: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199909\)79:12<1737::AID-JSFA432>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199909)79:12<1737::AID-JSFA432>3.0.CO;2-Y).
- Zhou, L., Zhang, C., Liu, F., Qiu, Z. og He, L. (2019) Application of Deep Learning in Food: A Review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18. doi: 10.1111/1541-4337.12492.
- Zhu, S., Ramaswamy, H. S. og Simpson, B. K. (2004) Effect of high-pressure versus conventional thawing on color, drip loss and texture of Atlantic salmon frozen by different methods, *LWT - Food Science and Technology*, 37(3), s. 291-299. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.09.004>.
- Ziegler, F., Winther, U., Hognes, E. S., Emanuelsson, A., Sund, V. og Ellingsen, H. (2013) The Carbon Footprint of Norwegian Seafood Products on the Global Seafood Market, *Journal of Industrial Ecology*, 17(1), s. 103-116. doi: 10.1111/j.1530-9290.2012.00485.x.
- Ziegler, F., Winther, U., Hognes, E. S. og Jafarzadeh, S. (2020) *Greenhouse gas emissions of Norwegian seafood products in 2017*. (2019: 01505): Sintef Ocean AS. Tilgjengelig fra: https://www.sintef.no/contentassets/0ec2594f7dea45b8b1dec0c44a0133b4/report-carbon-footprint-norwegian-seafood-products-2017_final_120220.pdf.

Kvalitetsparametere		Beskrivelse	Poeng
Skinn	Farge/utseende	Perlemorskinnende over hele skinnen	0
		Redusert perlemorskinn	1
		Fisken er gulaktig, særlig ved bukhulen	2
	Slim	Klart, ikke klumpet	0
		Melkeaktig, klumpet	1
		Gult og klumpete	2
	Lukt	Frisk, tangaktig, nøytral	0
		Agurk, metall, høy	1
		Sur, kjøkkenklut	2
		Råtten	3
	Tekstur	I rigor	0
		Fingertrykk forsvinner hurtig	1
Fingertrykk etterlater merke i over 3 sekunder		2	
Øyne	Pupiller	Klare, mørke og metallskinnende	0
		Mørk grå	1
		Matt, grå	2
	Form	Konveks	0
		Flat	1
		Innsunket	2
Gjeller	Farge	Rød/mørk brun	0
		Blek rød, rosa/lysebrun	1
		Gråbrun, brun, grå eller grønn	2
	Slim	Klart, transparent	0
		Melkeaktig, klumpet	1
		Brunt, klumpet	2
	Lukt	Frisk, tangaktig	0
		Metall, agurk	1
		Sur, muggen	2
		Råtten	3
Bukhule	Blod i bukhole	Blodet er rødt / ikke blod	0
		Blodet er mer brunt og gulaktig	1
	Lukt	Nøytral	0
		Agurk, melon	1
		Sur, minner om fermentering	2
		Råtten	3
	Kvalitetsindeks		