

Mikrobiologisk kvalitet og vekttap hos islagrede laksefileter produsert *pre- og post rigor*



av

Thommy R. Holmvåg

Masteroppgave i fiskerifag
Studieretning marine næringsmidler (60 stp)

Institutt for marin bioteknologi
Norges fiskerihøgskole
Universitetet i Tromsø
Mai 2007



Forord

Denne hovedfagsoppgaven markerer slutten på mitt fiskerikandidatstudie ved Norges fiskerihøgskole, og 5 flotte år i Tromsø. Disse årene har gått fort og jeg har hatt det både faglig og ikke minst sosialt meget flott her i nordens Paris. Det er en mange som har hjulpet meg gjennom min utdanning og fortjener en stor takk. I forbindelse med masteroppgaven vil jeg takke min veileder Ragnar L. Olsen for all inspirasjon og hjelp jeg har fått. Jeg vil også rette en stor takk til Silje Kristoffersen og resten av de ansatte på Instituttet for marin bioteknologi (IMAB) som har hjulpet meg med det praktiske og labtekniske arbeidet.

En stor takk går også til alle på kull- 2002 for mange kollokviégrupper før eksamener og utallige kaffepauser i kantinen gjennom studietiden. Spesielt har Ole, Christian, Ingvill og Line vært flotte medstudenter og venner gjennom tiden her på fiskerihøgskolen.

Sist men ikke minst vil jeg takke min familie for all støtte og økonomisk hjelp gjennom studieperioden.

Thommy R. Holmvåg

Tromsø, mai 2007

Sammendrag

Oppdrett av Atlantisk laks (*Salmo salar*) har hatt en eventyrlig utvikling og er en av Norges viktigste næringer. Forbedrete slakteprosedyrer har gjort det mulig å prosessere oppdrettslaks *pre-rigor* før dødsstivheten (*rigor-mortis*) inntreffer. Mikrobiell vekst bestemmer holdbarheten til fersk fisk. Siden kvalitetsforringelsen inkludert bakterievekst i fisken begynner ved slaktetidspunktet er det naturlig å relatere kvalitetsforandringene i laksefilet i forhold til dette, ikke fileteringstidspunktet. Formålet med denne oppgaven har vært å sammenligne mikrobiologisk vekst og vekttap etter slakting ved *pre-* og *post-rigor* filetering. Mikrobiologisk vekst ble undersøkt på 20 islagrede laksefileter produsert *pre-rigor* etter slakting, og 20 islagrede laksefileter produsert *post-rigor* etter slakting. Resultatene viste at laksefileter produsert *pre-rigor* ($\log 4,70 \pm 0,57$ cfu/g) hadde signifikant høyere bakterievekst de 13 første lagringsdagene etter slakting i forhold til *post-rigor* ($\log 3,80 \pm 0,82$ cfu/g) produserte laksefileter. Sulfidproduserende bakterievekst var også høyere hos *pre-rigor* fileter ($n=8$, $\log 4,73 \pm 1,25$ cfu/g) etter 22 dager lagring etter slakting sammenlignet med *post-rigor* fileter ($n=9$ $\log 3,92 \pm 0,81$ cfu/g). *Pre-rigor* ($6,1 \% \pm 1,1$) produserte laksefileter hadde et høyere vekttap enn *post-rigor* ($5,6 \% \pm 1,44$) produserte laksefileter 22 dager etter slakting. Lengdereduksjonen var høyere etter 22 dagers islagring for *pre-rigor* ($10,2 \% \pm 3,12$) produserte laksefileter i forhold til *post-rigor* ($4,3 \% \pm 2,3$) produserte laksefileter etter slakting.

Resultatene i denne oppgaven har vist at *pre-rigor* produserte fileter har en raskere mikrobiell vekst, høyere vekttap og lengdereduksjon etter slakting i forhold til *post-rigor* produserte fileter, og dette må taes i betraktning viss *pre-rigor* prosessering skal utføres på laks.

Nøkkelord: Atlantisk laks; *pre-* og *post-rigor* filetering, mikrobiell vekst, drypptap, lengdereduksjon

Bildet på fremsiden er hentet fra Eksportutvalget for fisk.

Innholdsfortegnelse

Forord	3
Sammendrag	5
1.0 Teori	9
1.1 Bakgrunn	9
2.0 Generell bakgrunn	11
2.1 Kvalitet av laks	11
Kvalitetsgradering av oppdrettsfisk:	11
2.2 Kjølslagring av laks	11
2.3 Slakteprosedyren av laks	12
2.4 Filetering	14
2.5 Mikrobiologisk bedømmelse av fisk	15
2.5.1 Bakterier på fisk	15
2.5.2 Bakterier på fersk fisk og konserverte fiskeprodukter	15
3.0 Materialer og metoder	17
3.1 Råstoff og slakting	17
3.2 Filetering, islagring og prøvetaking	17
3.3.1 Vekttap og filetforkortning.....	18
3.3.2 Tørrstoff	18
3.3.3 pH i muskel	18
3.3.4 Totalt flyktig nitrogen (TVN)	18
3.3.5 Statistisk analyse av resultatene	18
4.0 Resultater	19
4.1 Kimtallsutviklingen under islagring av laksefileter produsert pre- og post-rigor	19
4.2 Sulfidproduserende bakterier under islagring av laksefileter produsert pre- og post-rigor	21
4.3 Vekttap under islagring av laksefileter produsert pre- og post-rigor	23
4.4 Lengdereduksjon mellom pre- og post-rigor filetert laks lagret på is	25
4.5 Andre egenskaper	27
5.0 Diskusjon	28
6.0 Konklusjon	31
7.0 Referansliste	33
8.0 Vedlegg	36

1.0 Teori

1.1 Bakgrunn

Oppdrett av laks har hatt en eventyrlig utvikling i Norge siden midten av 1970 tallet. Som kyst og eksportnæring har lakseoppdrett fått en stor betydning for bosetting og økonomi i Norge. Oppdrettsanleggene ligger langs hele kysten, og havbruk har blitt en av Norges største næringer. Og 2006 var det første året der eksportinntektene fra havbruk (52 %) var større enn den tradisjonelle fiskerinæringen (48 %). Eksportverdien fra havbruk endte på 18,7 milliarder kroner, som var en økning på 25 % i forhold til 2005. I 2006 produserte Norge 597 000 tonn atlantisk laks, som var en økning på 25 000 tonn fra 2005 og en fordobling av produksjon siden 1996. Frankrike, Danmark, Russland, Polen og Storbritannia er blant Norges viktigste markeder for eksport av laks (Eksportutvalget for fisk 2006).

Laks omsettes som fersk eller dypfrost i skiver, filet, hel sløyd fisk, gravet eller røkt filet. Oppdrettslaksen er ernæringsmessig et godt produkt. Den inneholder mye omega-3 fettsyrer og er rik på de fettløselige vitaminene A og D. I tillegg har den et høyt innhold av de vannløselige vitaminene B12 og pyridoksin. Som i annen fisk er proteinkvaliteten i laks også optimal.

Når oppdrettslaks er klar for å slaktes blir fisken ført til slakteriet i brønnbåt. Ved slakteriet blir fisken kjølt ned og bedøvet, for deretter å bli bløgget med gjellekutt. Fisken blør så ut, før den blir sløyd. Etter laksen har blitt sløyd går den gjennom *rigor mortis* (dødsstivhet) i 3-5 dager før den kan bli videre prosessert. Behandling av fisk mens den er i *rigor*, resulterer i økt filetspalting og skal dermed unngås (Love, 1988) I denne lagringsfasen kan enten fisken bli eksportert som sløyd, rund fisk eller den kan bli kjølelagret i Norge for filetering her. Et alternativ er *pre-rigor* filetering, hvor laksen blir filetert innen 2-3 timer etter slakting. Siden laksen da ikke lagres 3-5 dager før filetering, vil filetene være tilgjengelige for forbrukerne i ferskere tilstand.

Forbedrete slakteprosedyrer ved hjelp av levende kjøling og redusert stress før slakting, har gitt muligheten for å prosessere fisken *pre-rigor* (2-3 timer *post mortem*). Slik prosessering reduserer filet spaltningen, og senker transport kostnadene sammenlignet med hel sløyd fisk (Sigholt et al., 1997, Robb et al., 2000; Skjervold et al., 2001a, Skjervold et al., 2001b. Kristoffersen et al., 2006). Men *pre-rigor* prosessering fører til lengdereduksjon av filetene (Sørensen et al., 1997). Hvordan den mikrobiologiske kvaliteten og holdbarheten av laksen påvirkes ved *pre-rigor* filetering er lite kjent (Rosnes et al., 2003). Tidligere forsøk som har blitt utført på vekttap ved *pre-* og *post-rigor* filetering av laks (Einen et al., 2002) og torsk (Tobiassen et al., 2006) har vært relatert til tiden etter filetering og ikke til tiden etter slakting.

Forsøk utført med hensyn på mikrobiell vekst på laks ved *pre-og post-rigor* filetering av laks har i all hovedsak vært relatert til tid etter filetering og ikke til tiden etter slakting (Rosnes et al., 2003). Etter vår mening er det mer hensiktsmessig å evaluere kvaliteten av fiskeprodukter ved samme tid *post mortem* (Kristoffersen et al., 2007).

Det overordnede målet med oppgaven har vært å undersøke hvordan viktige kvalitetsparametere til laks påvirkes av *pre-rigor* filetering. Det har vært lagt stor vekt på å undersøke et så stort antall individer at eventuelle statistiske forskjeller kan påvises.

Delmål:

1. Bestemme bakterievekst (kimtall) i *pre-* og *post-rigor* produserte fileter.
2. Bestemme vekst av sulfidproduserende bakterier i *pre-* og *post-rigor* produserte fileter.
3. Sammenligne vekttap og lengdereduksjon i *pre-* og *post-rigor* produserte fileter.
4. Analysere kjemiske egenskaper (TVN, pH) som påvirkes av mikrobiell vekst i *pre-* og *post-rigor* produserte fileter. Tørrstoff ble også registrert i filetene.

2.0 Generell bakgrunn

2.1 Kvalitet av laks

Kvalitet er et vidt begrep men kan beskrives som produktets evne til å tilfredsstillere brukerens behov, ønsker, krav og forventninger. For sløyd laks er størrelse, form og utseende typiske kriterier for kvalitet. Konsumentene har store forventninger og krav til tekstur, smak/lukt og farge hos norsk laks. I tillegg omfatter kvalitet flere krav enn kun at fisken skal være fersk. Kunden krever også dokumentasjon på fiskens kjemiske innhold og under hvilke betingelser fisken er produsert (etisk kvalitet), herunder fôrtype og sammensetning. Konsumenten vil i dag være sikker på at maten som blir inntatt er trygg og sikker, samt at den er fremstilt under betingelser som ikke er i konflikt med dyrevernloven (Espe et al., 2001).

Kvalitetsgradering av oppdrettsfisk:

(Eksportutvalget for fisk, 1999)

- Superior fisk: Et førsteklasses produkt med egenskaper som gjør det velegnet til alle formål. Produktet er uten betydelige feil, skader eller mangler og har et positivt helhetsinntrykk.
- Ordinær fisk: Et produkt med begrensede ytre eller indre feil, skader eller mangler. Produktet skal ikke ha vesentlige feil, skader eller mangler som vanskeliggjør videre anvendelse.
- Produksjons fisk: Fisk som ikke tilfredsstiller kravene til Superior eller Ordinær på grunn av feil, skader eller mangler sorteres i klassen Produksjon. Fisken leveres hodekappet.

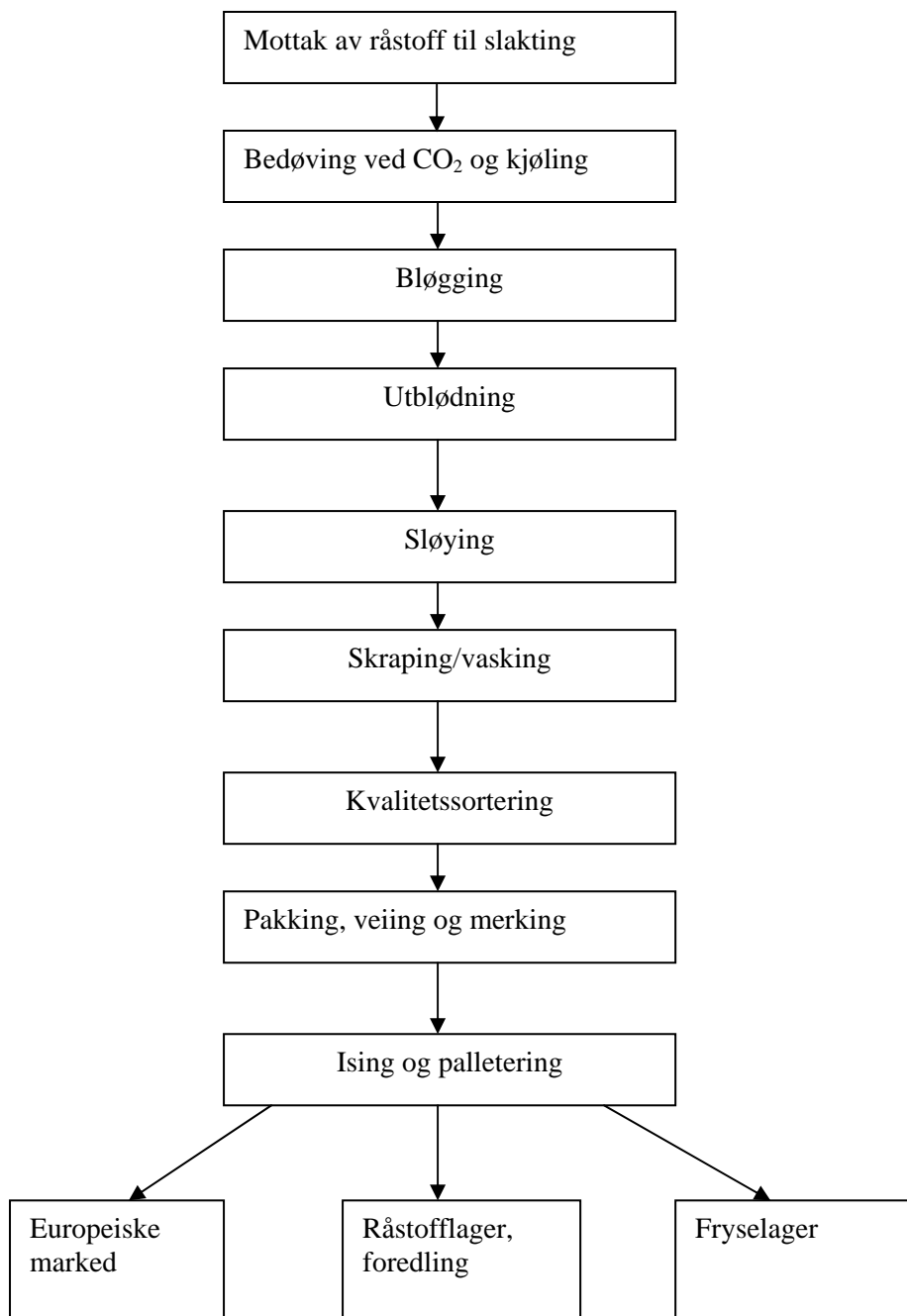
2.2 Kjølelagring av laks

Når fisken dør starter degradering av muskelen, og dette skyldes delvis fiskens egne enzymer og etter hvert bakteriell innvirkning. Ved lagring i fersk tilstand vil disse prosessene gå raskere, og etter en gitt tid vil laksen være uspiselig. Temperatur er en av hovedfaktorene som påvirker kvaliteten og holdbarheten til fisk på grunn av dens effekt på både enzymatiske og mikrobiologiske aktivitet *post mortem*. Fisk er unike dyr siden de er poikilotermiske og kroppstemperaturen i levende tilstand kan bli manipulert ved å endre vanntemperaturen (Kiessling et al., 2006). Norsk lakseoppdrett har adoptert levende kjøling som en effektiv metode for å redusere kroppstemperaturen før slakting. Vanligvis blir fisk kjølt ned i sjøvann med en temperatur på 1 °C i 30-60 min til fisken oppnår en temperatur på mindre enn 4 °C før slakting (Skjervold et al., 1996). Reduksjon av stress og kjøling før og etter slakting vil både utsette oppløsningen av *rigor* og forsinke inntreden av *rigor mortis*. Forlenget *pre-rigor*

tilstand vil kunne tillate filetering før fisken begynner å bli dødsstiv (Skjervold et al., 1999). Lagring av fisk ved lav temperatur har tradisjonelt vært bevaringsmetoden for å forsinke mikrobiologisk vekst i sjømat.

2.3 Slakteprosedyren av laks

Laks føres fram til slaktestørrelse, vanligvis 3-5 kg, i løpet av 1-2 år. Før laksen blir avhentet med brønnbåt skal den sultes slik at fôrrester ikke kan påvises i mage eller tarm. Tømming av tarmen vil i tillegg hindre at ekskrementer forurenses transportvannet, og reduserer stoffskiftet og dermed oksygenbehov under transport. Laksen sultes om sommeren i en uke, mens om vinteren er det vanlig med to ukers sulting. Forskjellen i sultetid mellom sommer og vinter henger sammen med at fiskens metabolisme og energiomsetning (forbrenning) går raskere ved høye vanntemperaturer (Akse et al., 2005). Ved slakteriet blir den pumpet eller håvet over i ventemerder, eller overført direkte inn til slakteriet. Når fisken kommer inn i slakteriet blir den nedkjølt, bedøvd og slaktet på en forskriftsmessig metode (se figur 1). Som ferskvare blir laksen pakket i kasser med is, merket med slaktedato, slakteriets offisielle godkjenningsnummer, fiskeart og oppdretters registrerings- og lokalitetsnummer. Dette sikrer god sporbarhet av produktet. Videre bearbeiding i Norge er i all hovedsak produksjon av skinn og beinfrie porsjonsstykker (Akse et al., 2005).



Figur 1: Flytskjema av slaktelinja ved SalMar as (Ervik, 2006).

2.4 Filetering

I dag er *post-rigor* filetering mest vanlig i fiske og havbruksindustrien, inkludert laksenæringen. Det vil si at fisken blir bløgget, sløyd og iset/lagret i kasser etter slakting eller fangst. Dersom fisken blir håndtert, for eksempel filetert når den er dødsstiv vil kjøttet kunne skades (filetspaltning). Laksen blir distribuert eller lagret mens den er i *rigor*, og videre prosessering skjer når *rigor* har oppløst seg, vanligvis 3- 5 dager etter slakting (Einen et al., 2002).

Ved *pre-rigor* filetering blir fisken slaktet, bløgget og filetert ca to timer etter slakting før *rigor mortis* oppstår. En slik prosess strategi muliggjør rask leveranse av fileten til markedet. Sammenlignet med *post-rigor* filetering hvor laksen først må gjennomgå *rigor mortis* før videre bearbeiding (3- 5 dager), kan *pre-rigor* fileter være ute på markedet 3-5 dager tidligere enn det som har vært vanlig. I praksis kan dette bety at en ferskere fisk kan tilbys kunden, lengre tid på markedet før produktet må trekkes tilbake og reduserte utgifter til lagerhold og transport.

Ulike kvalitets parametere ved *pre-rigor* filetering av atlantisk laks har vært rapportert (Skjervold et al., 2001a). *Pre-rigor* fileter hadde nesten ikke filetspaltning sammenlignet med *post-rigor* produserte fileter. Selv om *pre-rigor* fileter har hatt en mer ”kompakt” *rigor*, er det ulike forklaringer på hvorfor det er mindre filetspaltning i *pre-rigor* fileter. Når man prosesserer *pre-rigor*, vil muskel fibrene fortsatt være veldig fleksibel, noe som kan skape en redusert spenning i fileten. I tillegg vil *pre-rigor* filetering atskille filetene fra ryggvirvel søylen, noe som tillater filetene å trekke seg sammen og dermed redusere spenningen inne i fileten (Bremner, 1999).

Tradisjonell *pre-rigor* prosessering er mest kjent fra produksjon av frosne fileter om bord på industriskip. For den landbaserte fiskeindustrien har ikke *pre-rigor* prosessering vært et alternativ før oppdrettsnæringen kom. Det er nå stor fokus i dagens havbruksnæring på tilførsel av ferske fiskeprodukter til markedet. Og interessen for *pre-rigor* filetering har derfor økt (Tobiassen et al., 2006).

2.5 Mikrobiologisk bederelse av fisk

2.5.1 Bakterier på fisk

Mikroorganismer er hovedårsaken til bederelse av de fleste ferske sjømatprodukter. Det er flere viktige spesifikke faktorer som påvirker mikrobiologisk bederelse av fisk. Disse faktorene er blant annet høy *post mortem* pH i fiskemuskelen (vanligvis > 6,0), tilstedeværelsen av NPN (non-protein-nitrogen), trimetylaminoksid (TMAO), hygieniske forhold og lagringstemperatur. På levende fisk er bakterier etablert på gjeller, skinn og tarm, og dens naturlige forsvarssystem vil forsvinne etter død og bakterier kan trenge inn i fisken. Mikrofloraen på fisk i tempererte/kalde områder domineres av psykotrofe Gram negative, stavformede bakterier tilhørende slektene *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrionaceae* og *Aeroomonadaceae*, men også Gram positive bakterier som *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* og *Corynebacterium* kan bli funnet i varierende mengder (Liston, 1980).

Mikrobiologisk vekst kan være identifiserbar som en misfarge/slimdannelse, eller være observert som kolonier. Termen "uakseptabel" når det gjelder bakterievekst i mat er produktspesifikk. For eksempel så er ammoniakk odør ønskelig i noen tørket og fermenterte fiskeprodukter, men ikke akseptabelt i de fleste ferske og lett preserverte sjømatprodukter (Gram et al., 2002).

2.5.2 Bakterier på fersk fisk og konserverte fiskeprodukter

Hovedsakelig er det Gram negative fermentative bakterier; *Pseudomonas* spp. og *Shewanella* spp. som er mest dominerende på fersk, iset fisk. Ved vakuumpakking dominerer *Photobacterium phosphoreum* og melkesyrebakterier bakterieveksten på fisk. Tørking eller tørke-salting av fisk vil begrense bakterieveksten og disse produktene kan bli forurenset av sopp eller insekt infeksjoner. Ulike fiskeprodukter som er behandlet med mild varmebehandling, kan tillate sporformede bakterier (*Clostridium* eller *Bacillus*) å vokse, spesielt viss de er usaltet (Gram et al., 2002).

En viktig faktor relatert til fiskekjøttet er høy *post mortem* pH (> 6,0). Dette får viktige konsekvenser for mikrobiologien i fisk siden dette tillater den pH sensitive bakterien *Shewanella* å vokse (Gram et al., 1996). I sin enkleste form er matbederelse et resultat av mikrobiell vekst, og blir påvist ved synlig vekst (sopp, pigmenterte eller ikke-pigmenterte, slimete bakterielle kolonier). I slike tilfeller er det en direkte sammenheng mellom totalt antall mikroorganismer og graden av nedbrytning. Ofte er forurensing eller bederelse av fisk et resultat av produksjonen av negative lukter og smaker forårsaket av bakteriell metabolisme. I

denne sammenhengen er det liten korrelasjon mellom det totalt antall bakterier og nedbrytning siden bare en liten del av den totale bakteriefloraen deltar i nedbrytningen (Gram et al., 1996). Bedervelsesflora og bedervelsesbakterier er det viktig å skille imellom, siden det førstnevnte uttrykket beskriver bakteriene som er tilstede på den bedervede fisken, mens det sistnevnte uttrykket skildrer den spesifikke gruppen som produserer negativ lukt og uønsket smak assosiert med bederelse. Det er en utfordrende oppgave å bestemme hvilke av bakteriene isolert fra den bedervede fisken som forårsaker bederelse, og det behøves sensoriske, mikrobiologiske og kjemiske studier. Under aerob lagring vil verdier på 10^8 - 10^9 cfu/g av spesifikk bedervelsesbakterier være nødvendig for å skape bederelse av iset fisk. Bederelse av vakuumpakket fisk er observert ved et lavere antall av 10^7 *P. phosphoreum* per gram (Dalgaard et al., 1993). Disse relativt lave bakteriecelletallene er på grunn av den store størrelsen (5 μ m) til bakterien, noe som resulterer i en høy mengde TMA per celle (Dalgaard, 1995), og derfor en høyere bedervelsesaktivitet. De negative luktene og smakene som utvikler seg i fisk lagret i luft er i all hovedsak avhengig av fiskeart og opphavet til fisken. Bederelse av marin fisk fra tempererte kalde farvann er karakterisert ved en råttne svovellignende lukt forårsaket av sulfidproduserende bakterier (Gram et al., 1996).

3.0 Materialer og metoder

3.1 Råstoff og slakting

Atlantisk laks fra Skulgalmbukt Havbruksstasjon i Tromsø ble benyttet. Fisken ble bedøvd med slag i hodet og lagt til utblødning i ca 30 min i kar med ferskvann (4 °C), før den ble sløyd. Deretter ble laksen lagt i kasser med is og fraktet til Norges fiskerihøgskole.

3.2 Filetering, islagring og prøvetaking.

Ved ankomst Norges fiskerihøgskole ble 20 lakser filetert *pre-rigor* for hånd (2 timer *post mortem*). 20 laks ble islagret med buken ned i kasser på kjølerom (0-2 °C). Etter 5 dagers lagring ble laksene filetert *post-rigor* for hånd. Av praktiske årsaker ble forsøket gjennomført i 3 omganger. Der det i forsøk 1 ble benyttet 8 lakser, hvorav 4 lakser var filetert *pre-rigor* og 4 lakser *post-rigor*. I de 2 neste forsøkene ble 16 lakser benyttet begge gangene, hvorav 8 lakser ble filetert *pre-rigor* og 8 lakser filetert *post-rigor*. Venstre filet av laksene ble benyttet til mikrobiologiske analyser, mens høyre filet av laksene ble benyttet til vekttap og lengdereduksjon. Alle filetene ble lagret med skinnet på.

3.3 Mikrobiologiske analyser

Muskelstykker uten skinn med en vekt på ca 5 gram ble tatt med steril teknikk og overført til stomacherpose. Prøvene ble fortynnet 1:10 med peptonvann 0,9 % NaCl og homogenisert i 120 sekunder i en stomacher (Stomacher 400 Laboratory Blender).

Fiskeprøvene ble fortynnet 10^1 , 10^2 , 10^3 og 10^4 (0,1 ml prøve + 0,9 ml peptonvann 0,9 % NaCl) og det ble laget tre paralleller for hver fortynning. Deretter ble 50 µl pipettert på petriskåler med jernagar (Iron Agar Lyngby, CM 964; Oxoid, Basingstoke, UK) med L-cystein. Platene ble lagret ved romtemperatur i tre dager før senere avlesning. Muskeluttak til mikrobiologiske analyser ble utført på dag 8, 13, 18 og 22 etter slakting. Mellom hvert uttak av mikrobiologiske analyser ble fisken lagret i poser på is i kjølerom (0-2 °C). Svarte kolonier ble telt som H₂S produserende bakterier. Totalt aerob kimtall (TVC) ble estimert som totalt hvite og svarte kolonier. I utgangspunktet ble 20 fileter i hver gruppe undersøkt, men hos enkelte fileter ble det ikke observert bakterievekst og derfor kan resultatene være < n=20.

3.3.1 Vekttap og filetforkorting

Vekttapet (%) som følge av drypptap under lagring av filetene ble bestemt ved å måle vektendringene etter filetering med en Combics 2 vekt, (Sartorius AG Göttingen CI52 TN). Totalt ble 16 fileter produsert *pre-rigor* og 16 fileter produsert *post-rigor* registrert på dag 9, 14, 17 og 21 etter slakting. Filetforkorting ble beregnet som % lengdereduksjon av opprinnelig lengde ved filetering.

3.3.2 Tørrstoff

Tørrstoff ble estimert i ovn ved 90 °C. Fiskemuskel uten skinn på ca nøyaktig 7 gram ble plassert i varmeovn i et døgn og deretter veid for å finne tørrstoffinnholdet.

3.3.3 pH i muskel

20 gram opphakkert fiskemuskel ble blandet med 20 ml 0,15 M kaliumklorid (KCl) i et begerglass. pH ble målt med å dyppe pH-meteret (Mettler Toledo MP 220) i blandinga.

3.3.4 Totalt flyktig nitrogen (TVN)

10 gram muskel veies inn på et veiepapir og overføres til et Kjeldahl destillasjonsrør. Veiepapiret følger med i røret. Deretter tilsettes 50 ml vann, parafilm settes på røret og innholdet blandes sammen ved å riste. Etter dette helles 10 ml borsyreløsning i en 250 ml E-kolbe, som settes i en Kjeltex 1002 destillering unit. Så overføres 3 ml rensert parafin og 1 g MgO. Kjeldahl- røret ristes så og settes inn i destilleringsenheten. Destillering startes ved å åpne "steam" og kjøres i seks minutter, deretter titreres med 0,1 M HCl til man ser fargeomslag fra grønt til rosa. Som blindprøve kjøres veiepapir og de andre reagensene. Gjennomsnittet ble funnet ved å måle 3 paralleller.

Kontroll av denne prosedyren ble gjort som følger: En prøve med kjent innhold av TVN analyseres for å sjekke at metoden får med seg all flyktig nitrogen. Ved å overføre 0,1364 g trimetylammin- hydroklorid til en 100 ml målekolbe og tilsette vann til merket, vil løsningen inneholde 20 mg N/100 g. Av denne løsningen overføres 10 ml til et Kjeldahl destillasjonsrør og prosedyren beskrevet tidligere gjennomføres. Dette forsøket bekrefter at metoden påviser alt flyktig nitrogen. Resultatet av analysen viste at prøven inneholdt 19,98 mg N/100 g, dvs at 99,99 % av nitrogeninnholdet i prøven ble gjenfunnet.

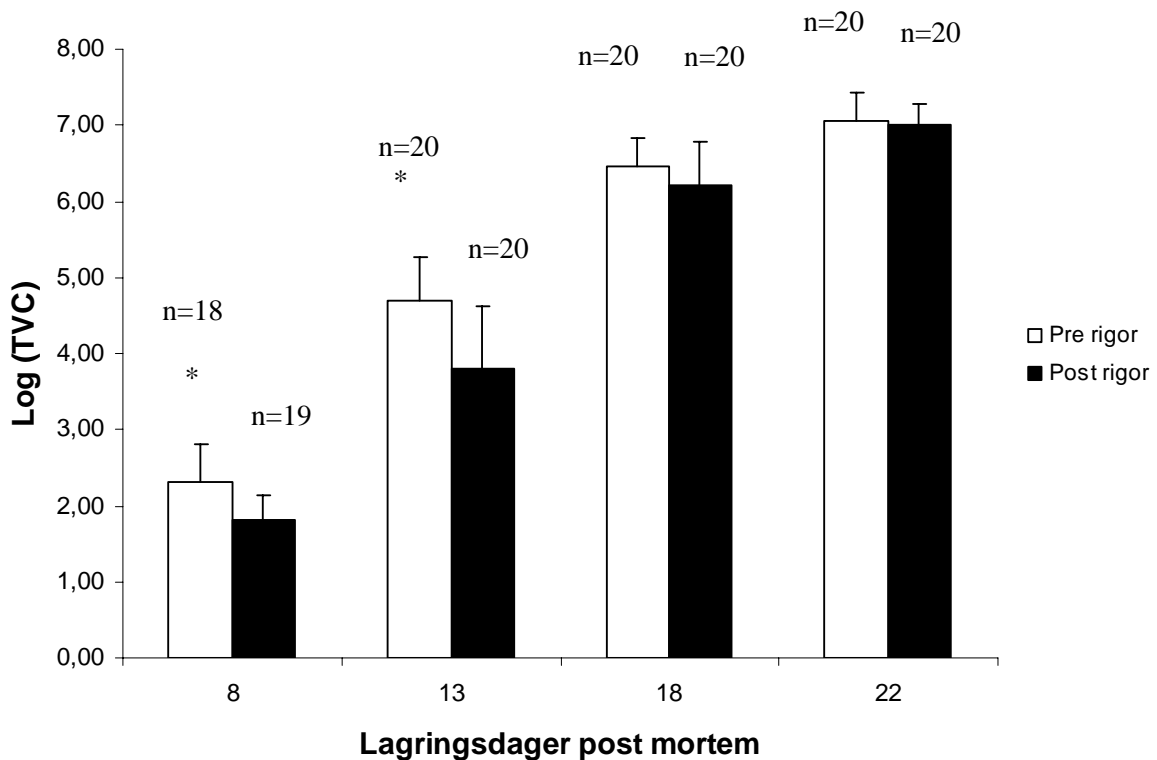
3.3.5 Statistisk analyse av resultatene

T- test ble benyttet for bestemme om det var signifikante forskjeller mellom *pre-* og *post rigor* produserte fileter.

4.0 Resultater

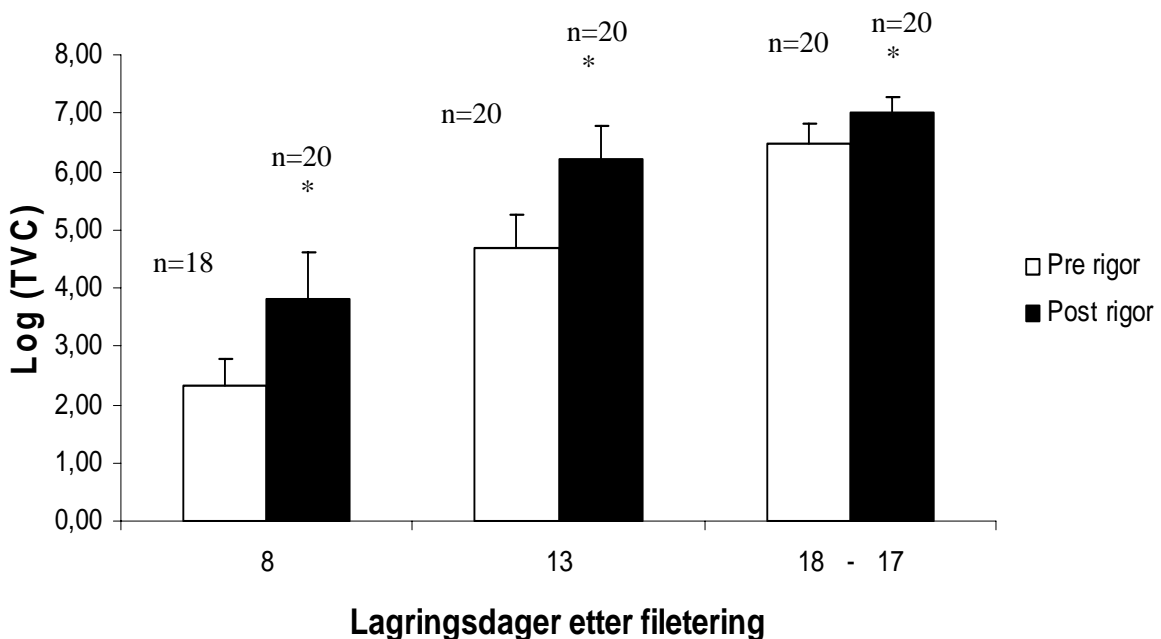
4.1 Kimtallsutviklingen under islagring av laksefileter produsert *pre-* og *post-rigor*

Utviklingen av kimtall under islagring av *pre-* og *post-rigor* produserte laksefileter er vist i figur 2. Kimtallsutviklingen var relatert til slaktetidspunktet. Som det fremkommer var kimtallet på dag 8 for *pre-rigor* laksefiletene $\log 2,31 \pm 0,49$ cfu/g, mens for de *post-rigor* produserte filetene på samme tidspunkt $\log 1,81 \pm 0,33$ cfu/g. Forskjellene mellom de to ulike gruppene var signifikante ($p=0,001$). På dag 13 etter slakting var det også signifikant høyere kimtall i de *pre-rigor* produserte filetene ($\log 4,70 \pm 0,57$ cfu/g), sammenlignet med *post-rigor* filetene ($\log 3,80 \pm 0,82$ cfu/g). På dag 18 og 22 var det ikke signifikante forskjeller. Ved dag 18 var bakterietallet for *pre-rigor* på $\log 6,46 \pm 0,37$ cfu/g og *post-rigor* $\log 6,22 \pm 0,55$ cfu/g. På dag 22 for mikrobiologisk uttak var bakterieveksten for *pre-rigor* fileter $\log 7,05 \pm 0,39$ cfu/g, mens for *post-rigor* fileter $\log 7,01 \pm 0,26$ cfu/g.



Figur 2: Kimtall i *pre-* og *post-rigor* produsert laksefileter lagret i 8, 13, 18 eller 22 dager etter slakting. *signifikant forskjell mellom de to typer filetene lagret like lenge etter slakting ($p=0,001$).

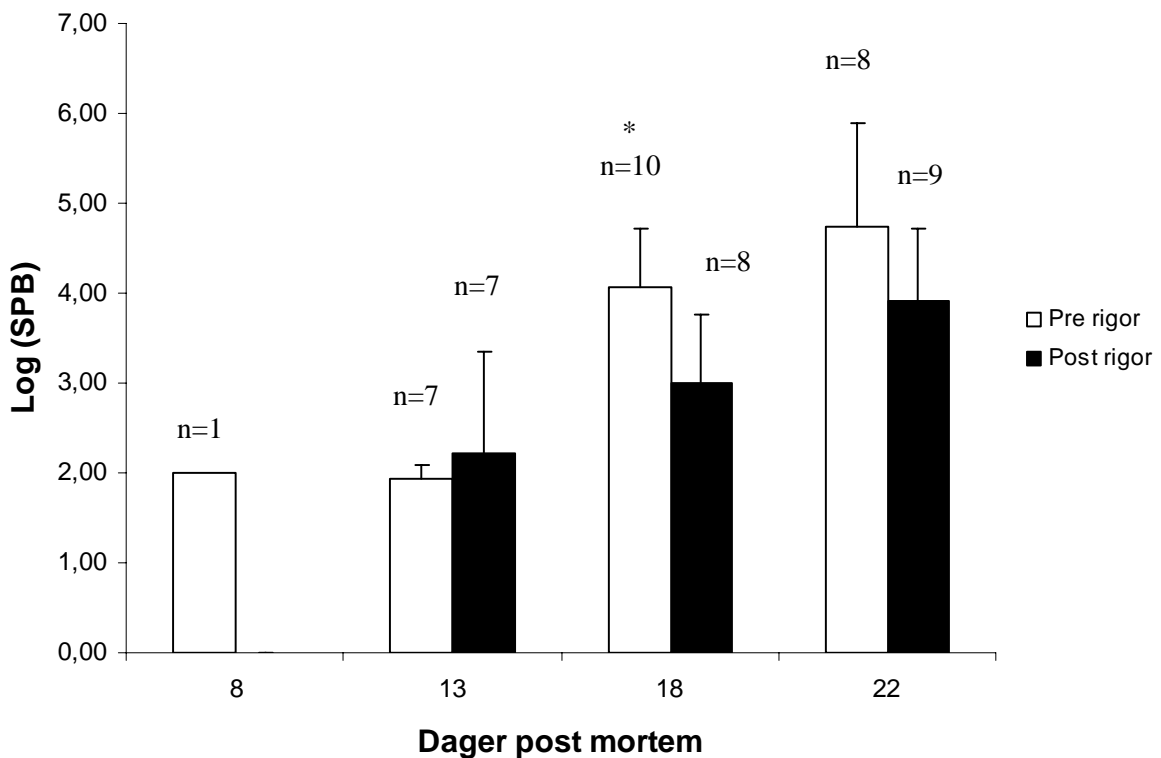
Kimtallsutviklingen i laksefiletene ble også relatert til fileteringstidspunktet (figur 3). Som det fremkommer var det signifikant høyere kimtall i de *post-rigor* produserte filetene ($p= 0,001$) ved dag 8, 13 og 17 etter filetering sammenlignet med de *pre-rigor* produserte filetene lagret i 8, 13 og 18 dager etter filetering. Ved dag 8 var det hos de *pre-rigor* fileterte laksene bakterievekst på $\log 2,31 \pm 0,49$ cfu/g, og *post-rigor* $\log 3,80 \pm 0,82$ cfu/g. På dag 13 etter filetering var bakterieveksten hos *pre-* og *post-rigor* fileter på henholdsvis $\log 4,70 \pm 0,55$ cfu/g og $\log 6,22 \pm 0,55$ cfu/g. Ved dag 18 hadde *pre-rigor* produsert filet $\log 6,46 \pm 0,37$ cfu/g, og på dag 17 på *post-rigor* $\log 7,01 \pm 0,26$ cfu/g.



Figur 3: Kimtall i *pre-rigor* produserte fileter ved 8, 13 og 18 dager etter filetering og i *post-rigor* produserte fileter ved 8, 13 og 17 dager etter filetering. *signifikant forskjell mellom *pre-* og *post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter filetering ($p=0,001$).

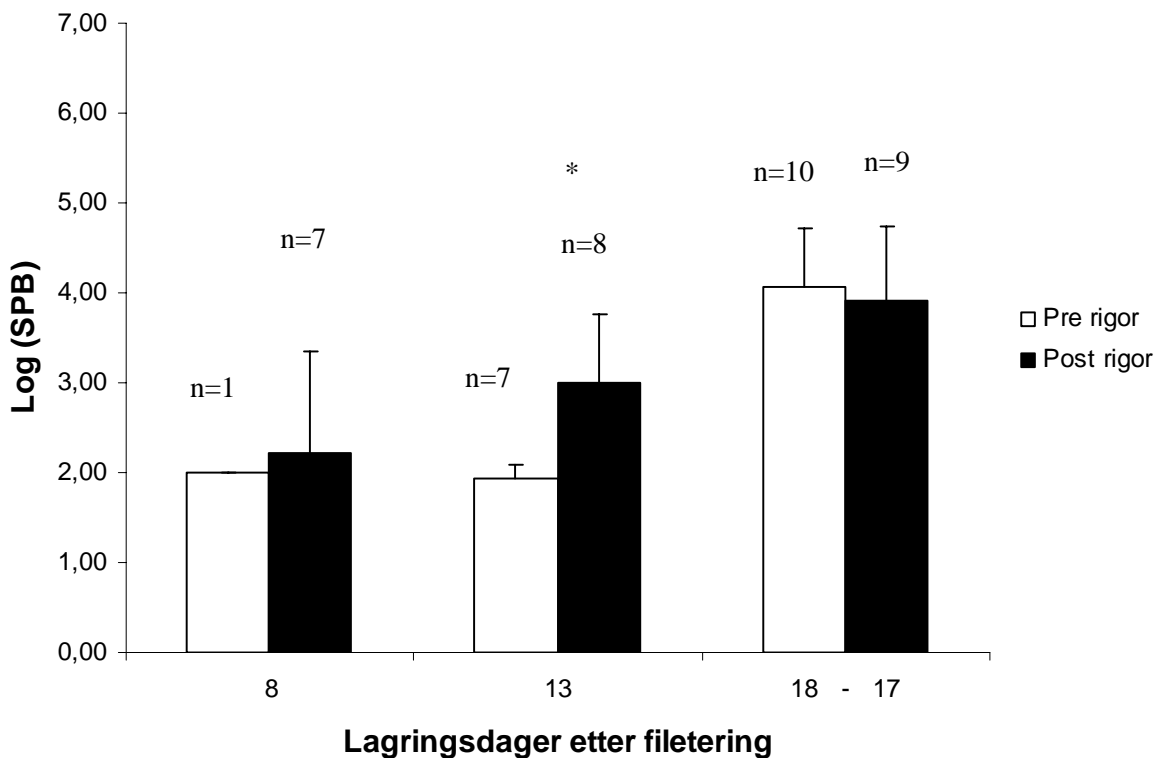
4.2 Sulfidproduserende bakterier under islagring av laksefileter produsert *pre-* og *post-rigor*

Utviklingen av sulfidproduserende bakterier relatert til slaktetidspunktet under islagring av laksefileter produsert *pre-* og *post-rigor* er vist i figur 4. Som det fremkommer var det på dag 8 kun 1 *pre-rigor* produsert laksefilet (log 1,99 cfu/g) som hadde vekst av svarte kolonier. På dag 13 etter slakting var det 7 *pre-rigor* fileter (log 1,93 ±0,16 cfu/g), og 7 *post-rigor* fileter (log 2,21 ±1,15 cfu/g) som hadde vekst, men det var ingen signifikant forskjell. På dag 18 etter slakting hadde de *pre-rigor* produserte filetene (n=10) en signifikant (p=0,05) høyere vekst (log 4,07 ±0,65 cfu/g) av sulfidproduserende bakterier enn de *post-rigor* produserte filetene (n=8, log 2,99 ±0,78 cfu/g). *Pre-rigor* produserte fileter på dag 22 hadde 8 fileter med vekst (log 4,73 ±1,25 cfu/g), mens *post-rigor* hadde 9 fileter med vekst (log 3,92 ±0,81cfu/g). Det var imidlertid ikke signifikant forskjell på dette tidspunktet.



Figur 4: Sulfidproduserende bakterier i *pre-* og *post-rigor* produsert laksefileter lagret i 8, 13, 18 eller 22 dager etter slakting. *signifikant forskjell mellom *pre-* og *post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter slakting (p=0,05).

Vekst av sulfidproduserende bakterier etter filetering av laksefileter produsert *pre-* og *post-rigor* lagret på is er vist i figur 5. Veksten av bakterier relateres til fileteringstidspunktet. Ved dag 8 hadde *pre-rigor* produsert fileter (n=1, log 1,99 cfu/g), mens *post-rigor* produserte fileter (n=7) hadde log 2,21 ±1,15 cfu/g etter filetering. Ved mikrobiologisk uttak på dag 13 etter filetering var det signifikant (p=0,05) høyere vekst i *post-rigor* fileter (n=8, log 2,99 ±0,71 cfu/g), i forhold til *pre-rigor* fileter (n=7, log 1,93 ±0,16 cfu/g). Ved dag 18 var veksten av sulfidproduserende bakterier for *pre-rigor* fileter (n=10, log 4,07 ±0,65 cfu/g), mens *post-rigor* fileter (n= 9) på dag 17 hadde log 3,92 ±0,81 cfu/g.

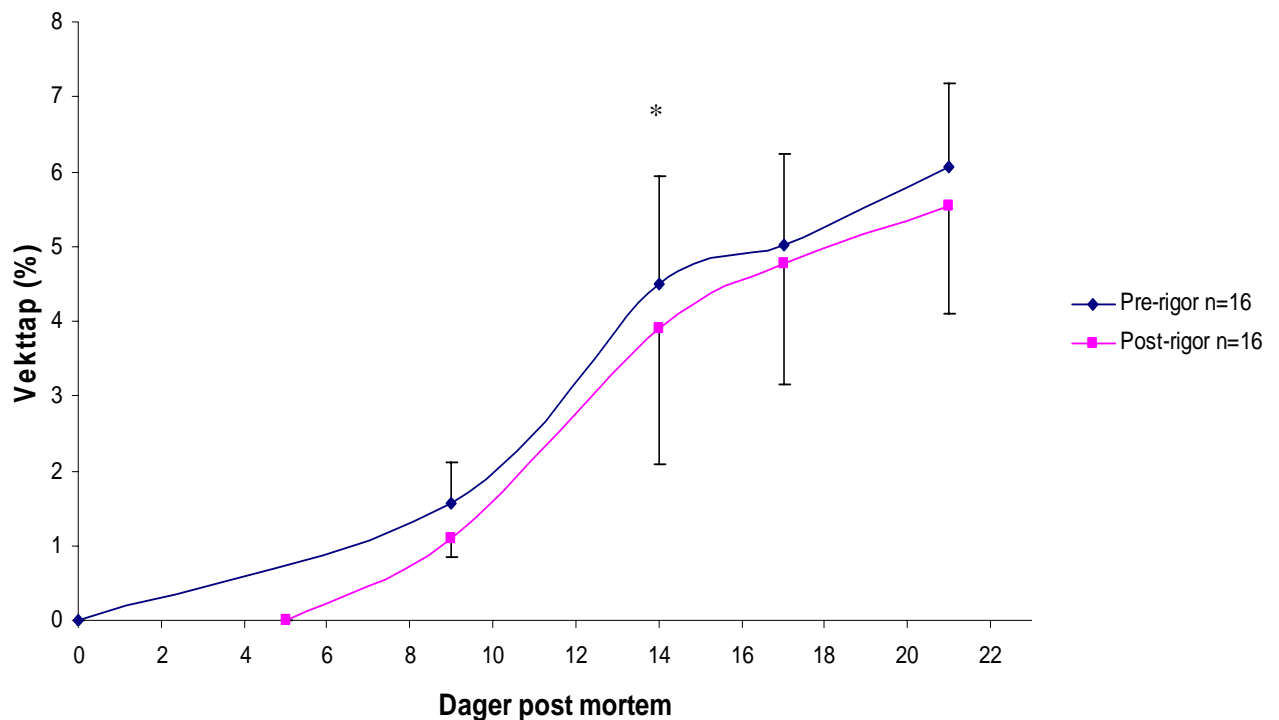


Figur 5: Sulfidproduserende bakterier i *pre-rigor* produserte fileter ved 8, 13 og 18 dager etter filetering og i *post-rigor* produsert fileter ved 8, 13 og 17 dager etter filetering.*signifikant forskjell mellom *pre-*og *post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter filetering (p=0,05).

Totalt kimtall og sulfidproduserende bakterier i de enkelte filetene ved de forskjellige lagringstidspunktene er vist i vedlegg 1-4.

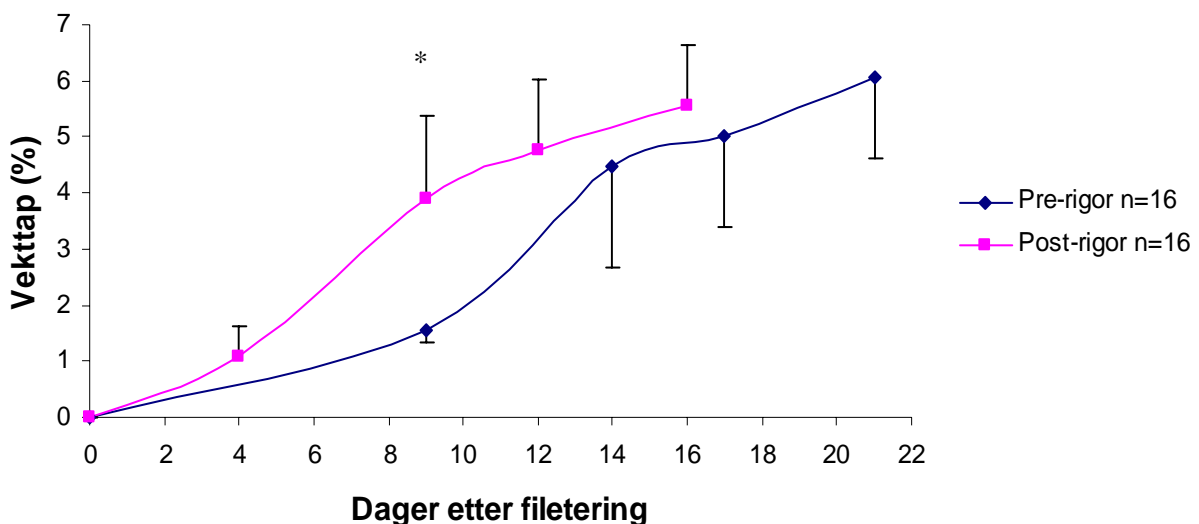
4.3 Vekttap under islagring av laksefileter produsert *pre- og post-rigor*

Vekttapet ble registrert på *pre-rigor* produserte laksefileter (n=16), og *post-rigor* produserte laksefileter (n=16) på dag 9, 14, 17 og 21 etter slakting. På dag 9 hadde *pre-rigor* produserte fileter et vekttap på 1,6 % \pm 0,54, mens *post-rigor* produserte fileter et noe mindre vekttap på 1,1 % \pm 0,24. Ved neste registrering på dag 14 hadde vekttapet for *pre-rigor* fileter steget til 4,4 % \pm 1,46, mens *post-rigor* fileter hadde steget til 3,9 % \pm 1,81. Her var det signifikant (p=0,05) høyere vekttap for de *pre-rigor* produserte filetene. På dag 17 hadde *pre-rigor* fileter et vekttap på 5,0 % \pm 1,23, mens *post-rigor* fileter 4,8 % \pm 1,62. Dag 22 som var siste målingsdag gav et endelig vekttap på 6,1 % \pm 1,10 for *pre-rigor* produserte fileter, og 5,6 % \pm 1,44 for *post-rigor* produserte fileter.



Figur 6. Vekttapet (%) som følge av dryp tap under lagring av filetene (prosent av opprinnelig filet vekt ved fileteringstidspunkt) gjennom kjølelagring av *pre- og post-rigor* filetert laks etter slakting. *signifikant forskjell mellom *pre- og post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter slakting (p=0,05).

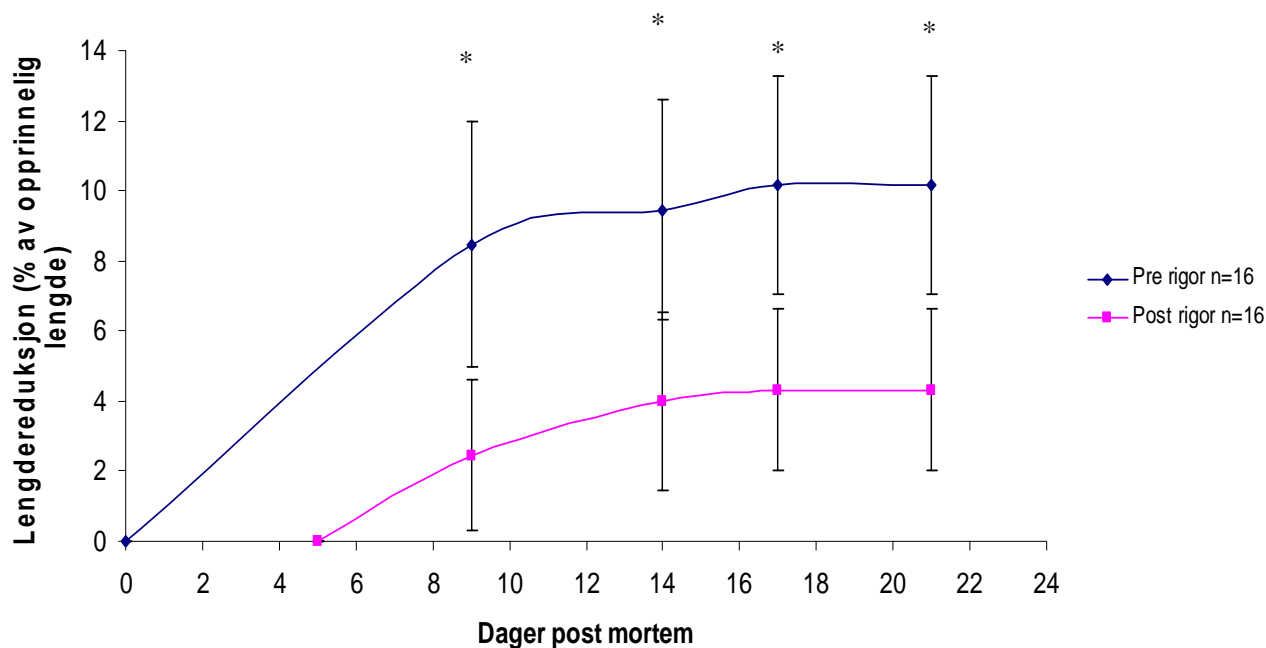
Vekttapet ble registrert på *pre-rigor* produsert laksefileter (n=16) ved dag 9, 14, 17 og 21 etter filetering og for *post-rigor* produsert laksefileter (n=16) ved dag 4, 9, 12 og 16 etter filetering (figur 7). På dag 4 hadde *post-rigor* fileter et vekttap på 1,1 % \pm 0,24. På dag 9 var det signifikant høyere (p=0,05) vekttap for de *post-rigor* produserte filetene (3,9 % \pm 1,81) sammenlignet med de *pre-rigor* produserte filetene (1,6 % \pm 0,54). Ved neste registrering på dag 12 hadde *post-rigor* fileter et vekttap på 4,8 % \pm 1,62, mens *pre-rigor* fileter hadde på dag 14 et vekttap på 4,49 % \pm 1,46. Ved siste registrering på dag 16 for *post-rigor* fileter ble det et endelig vekttap på 5,6 % \pm 1,44, mens *pre-rigor* fileter hadde på dag 17 og 21 et vekttap på henholdsvis 5,0 % \pm 1,23 og 6,1 % \pm 1,10. Ved sammenligning av vekttap på forskjellige dager etter filetering ble det ikke gjennomført statistisk analyse.



Figur 7. Vekttapet (%) som følge av dryp tap under lagring av filetene (prosent av opprinnelig filet vekt ved fileteringstidspunkt) i *pre-rigor* produserte fileter ved dag 9, 14, 17 og 21 etter filetering, og i *post-rigor* produserte fileter ved dag 4, 9, 12 og 16 etter filetering. *signifikant forskjell mellom *pre*-og *post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter filetering (p=0,05).

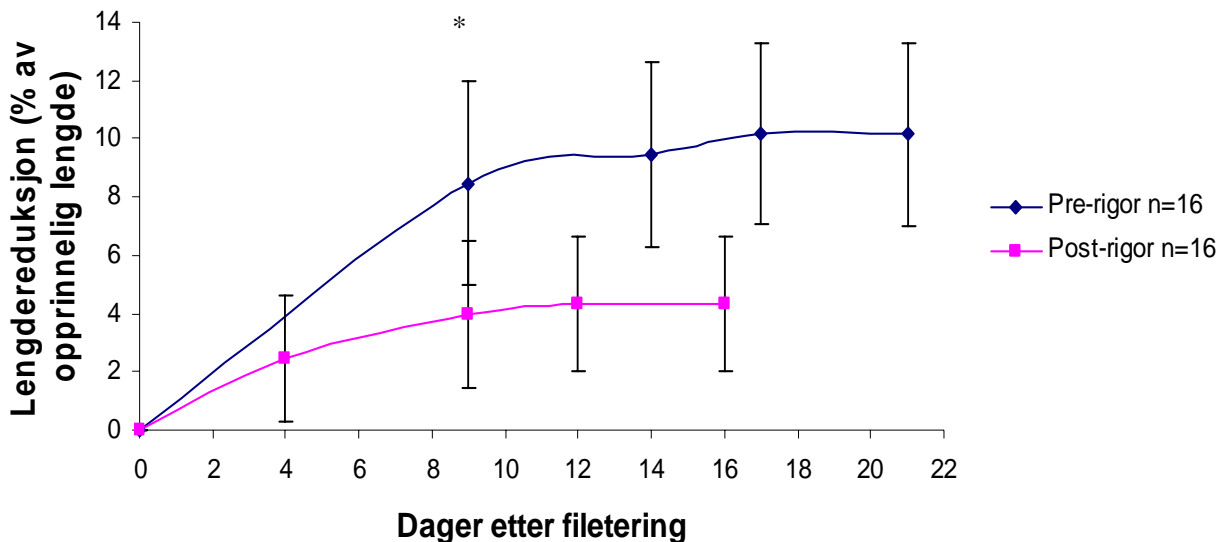
4.4 Lengdereduksjon mellom *pre-rigor* og *post-rigor* filetert laks lagret på is

Lengdereduksjonen ble registrert på *pre-rigor* produsert laksefileter (n=16), og *post-rigor* produserte laksefileter (n=16) på dag 9, 14, 17 og 22 etter slakting (figur 8). Som det fremkommer var det signifikant ($p=0,001$) høyere lengdereduksjon i de *pre-rigor* produserte filetene ved dag 9, 14, 17 og 21 etter slakting sammenlignet med de *post-rigor* produserte filetene lagret like lenge etter slakting. Ved dag 9 hadde *pre-rigor* fileter en lengdereduksjon på $8,5 \% \pm 3,52$, mens *post-rigor* fileter $2,5 \% \pm 2,14$. Deretter på dag 14 hadde reduksjonen av lengde for *pre-rigor* fileter økt til $9,5 \% \pm 3,15$, mens *post-rigor* fileter hadde en reduksjon på $3,9 \% \pm 2,55$. På dag 17 og 22 jevnet lengdereduksjonen seg ut både for *pre-* og *post-rigor* fileter. *Pre-rigor* fileter hadde $10,2 \% \pm 3,12$ tap av lengde på de to siste målingsobservasjonene, mens *post-rigor* fileter hadde $4,3 \% \pm 2,30$ tap av lengde på de to siste observasjonsdagene.



Figur 8: Lengdereduksjon (prosent av opprinnelig lengde) mellom *pre-* og *post-rigor* filetert laks gjennom kjølelagring etter slakting. *signifikant forskjell mellom *pre-* og *post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter slakting ($p=0,001$).

Lengdereduksjonen ble registrert for *pre-rigor* produserte laksefileter (n=16) ved dag 9, 14, 17 og 21 etter filetering, og for *post-rigor* produserte laksefileter (n=16) ved dag 4, 9, 12 og 16 etter filetering (figur 9). Ved første registrering for *post-rigor* laksefileter hadde de en lengdereduksjon på 2,5 % \pm 2,14. Det var signifikant forskjell (p=0,001) mellom *pre-rigor* laksefileter (8,5 % \pm 3,52) og *post-rigor* laksefileter (3,9 % \pm 2,55) på dag 9 etter filetering. Ved dag 12 hadde *post-rigor* fileter en lengdereduksjon på 4,3 % \pm 2,30, mens *pre-rigor* fileter hadde på dag 14 en lengdereduksjon på 9,45 % \pm 3,15. Ved siste registrering for *post-rigor* fileter på dag 16 etter filetering hadde de en lengdereduksjon på 4,3 % \pm 2,30. *Pre-rigor* fileter hadde lik lengdereduksjon på dag 17 og 21 etter filetering (10,2 % \pm 3,12). Ved sammenligning av krymping ulike dager etter filetering ble det ikke gjennomført statistisk analyse.



Figur 9. Lengdereduksjon (prosent av opprinnelig lengde) mellom *pre-* og *post-rigor* filetert laks gjennom kjølelagring etter filetering. *signifikant forskjell mellom *pre-* og *post-rigor* produserte fileter lagret like lenge etter filetering (p=0,001).

4.5 Andre egenskaper

Totalt flyktig nitrogen (TVN) og pH ble registrert i islagrede fileter 22 dager etter slakting. Hensikten var å undersøke om forskjellene i mikrobiologisk vekst i de to gruppene kunne påvises med disse analysene. I *pre-rigor* fileter var TVN nivået 24,9 mgN/100 g, og i *post-rigor* fileter 23,2 mgN/100 g. Som det fremkommer var det ingen signifikante forskjeller i totalt flyktig nitrogen mellom *pre-* og *post-rigor* produserte fileter.

Surhetsgraden var også lik i de to gruppene (pH=6,3). Det var ingen signifikante forskjeller mellom disse to gruppene. Tørrstoff innholdet i filetene ble undersøkt på dag 9 etter slakting for *pre-* og *post-rigor* fileter. Her var det heller ingen signifikante forskjeller, og det ble registrert likt for begge gruppene (28,8 %).

Tabell 1: Oversikt over TVN (mgN/100g) og pH registrert etter 22 dager islagring etter slakting for *pre-* og *post-rigor* fileter av laks. Tørrstoff av *pre-* og *post-rigor* fileter av laks etter 9 dager islagring etter slakting.

<u>TVN (mgN/100 g) dag 22</u> <i>Pre-rigor</i> n= 16 <i>Post-rigor</i> n=16	24,9 ± 2,57 23,2 ± 3,42
<u>pH dag 22</u> <i>Pre-rigor</i> n=8 <i>Post-rigor</i> n=8	6,3 ± 0,073 6,3 ± 0,032
<u>Tørrstoff dag 9</u> <i>Pre-rigor</i> n=8 <i>Post-rigor</i> n=8	28,8 % ± 2,26 28,8 % ± 1,24

5.0 Diskusjon

Mikrobiologisk vekst bidrar sterkt til kvalitetsreduksjon av ferske matvarer, inkludert fisk, og er i realiteten det som bestemmer holdbarheten. Når fisken er i live er muskelen fri for bakterier. Etter døden vil fisken tape naturlige forsvarssystemer som hindrer at bakteriene kan trenge inn i organene og vokse der. Lagringstida etter slakting er derfor avgjørende for den mikrobiologiske holdbarheten. Resultatene i denne oppgaven viste at fileter produsert *pre-rigor* (< 2 timer etter slakting) hadde en signifikant raskere mikrobiologisk vekst de første 13 dagene, i forhold til *post-rigor* produserte fileter (5 dager etter slakting). Årsaken til dette er den tidlige eksponeringen av fiskemuskelene for mikrobiell kontaminasjon og vekst i de *pre-rigor* produserte filetene. Dersom bakteriell vekst ble relatert til fileteringstidspunktet viste resultatene at *post-rigor* produserte fileter hadde høyest vekst.. På dag 13 hadde *post-rigor* fileter passert log 5 (grense for god kvalitet), mens *pre-rigor* fileter var under grenseverdien. Årsaken til dette er at *post-rigor* produserte fileter vil være 5 dager eldre enn *pre-rigor* produserte fileter. 17 dager etter filetering har i realiteten *pre-rigor* fileter vært lagret i 17 dager etter slakting som fileter, mens *post-rigor* fileter har vært islagret i 5 dager som sløyd fisk og i ytterligere 17 dager som filet.

Resultatene i denne oppgaven viste at fileter produsert *pre-rigor* (< 2 timer etter slakting) hadde høyere vekst av sulfidproduserende bakterier. Denne gassen blir ved høye kimtall registrert som en stikkende lukt. I likhet med kimtall resultatene kan denne økte veksten skyldes den tidlige åpningen av fiskemuskelene for mikrobiologiske bakterier. Resultatene uttrykt i forhold til filetering viste en noe høyere vekst av svarte kolonier hos *post-rigor* fileter. Tilsvarende fant Rosnes et al., 2003 lavere H₂S verdier på *pre-rigor* fileter gjennom 14 dagers lagring etter filetering.

Det ble registrert en liten vekst av H₂S produserende bakterier på *pre-* og *post-rigor* produserte fileter. Noe av årsaken til den mangelfulle veksten kan skyldes en endring av tilsetningsmedium til jernagaren. Under testforsøkene ble Lab Lemco pulver brukt som ingrediens til jernagar, men på grunn av det ikke var tilgjengelig på dette kjemikalet etter at det gikk tomt, ble kjøtttekstrakt brukt som substitutt. Dette kan ha påvirket veksten på de sulfidproduserende bakteriene.

Det har vært gjort få undersøkelser av mikrobiologiske forskjeller mellom *pre-* og *post-rigor* filetering hos laks. Et tilsvarende forsøk har blitt gjort av Rosnes et al 2003., der kimtall ble relatert til fileteringstidspunktet for *pre-* og *post* rigor fileterte laksefileter. Rosnes et al., 2003 fant også signifikant høyere kimtall i *pre-rigor* fileter sammenlignet med *post-rigor* fileter i perioden 5- 12 dager etter slakting, men ikke 14 dager etter lagring og konkluderte med at *pre-rigor* filetering av laks var kvalitetsmessig å foretrekke fremfor *post-rigor* filetering.

Tilsvarende kimtallforsøk har blitt gjort på torsk (Tobiassen et al., 2006). Torsk filetert *pre-rigor* hadde en høyere bakterievekst etter slakting i forhold til *post-rigor* filetert torsk.

I forhold til slaktetidspunktet vil holdbarheten til fileter produsert *pre-rigor* være kortere enn fileter produsert *post-rigor*. Siden *post-rigor* fileter må lagres i 3-5 dager før filetering kan derimot *pre-rigor* fileter eksporteres tidligere ut på markedet. Ved å filetere laksen i Norge kan det oppnås en økt verdiskapning ved å benytte seg av bein og avskjær til biprodukter. Norge er gunstig geografisk plassert med tanke på eksport av laks (sløyd rund fisk). Laksen som ligger iset ned i kasser blir transportert primært med trailer til utlandet, gjennomgår *rigor-mortis* under transport, modnes, og ved ankomst er den klar for foredling, eksempelvis til filet. Men ved å eksportere fileter istedenfor hel fisk reduseres volumet som skal transporteres ut i markedet, noe som kan ha positive kostnads og miljøeffekter (Tobiassen et al., 2006). Men den totale holdbarheten blir kortere.

Vekttap som følge av drypp økte utover lagringstiden, og nådde et maksimalt nivå på 6,1 % for *pre-rigor* produserte fileter, og 5,6 % for *post-rigor* produserte fileter etter slakting. *Pre-rigor* fileter hadde gjennom hele lagringsfasen et høyere drypptap (signifikant forskjell på dag 14) enn *post-rigor* fileter. Det har tidligere vært rapporter på drypptap hos Atlantisk laks (Einen et al., 2002). Disse forskerne sammenlignet vekttapet med utgangspunkt i fileteringstidspunktet og fant som oss at da er drypptapet størst hos de *post-rigor* produserte filetene. Det er kvalitetsmessig mer hensiktsmessig å sammenligne produktkvaliteten ved samme tid *post mortem*. En sannsynlig årsak til det høyere drypptapet hos *pre-rigor* fileter kan være den sterke muskelsammentrekningen etter filetering og at muskelen er blitt eksponert. Sammenlignet med *pre-rigor* filetert torsk har *pre-rigor* filetert laks mindre tap av væske. *Pre-rigor* fileter av torsk har på dag 9 et drypptap på rundt 8 % (Kristoffersen et., al 2007), mens *pre-rigor* fileter av laks har på samme tidspunkt et drypptap under 2 % noe som demonstrerer artsforskjellene. En *pre-rigor* laksefilet vil mest sannsynlig miste en del mer næringsverdi (tap av proteiner og andre næringsstoffer) gjennom drypptapet sammenlignet med *post-rigor* laksefilet.

Pre-rigor fileter hadde et signifikant høyere lengdereduksjon etter slakting gjennom hele lagringsfasen enn *post-rigor* fileter. Maksimum lengdereduksjon for *pre-* og *post-rigor*, ble observert på dag 17 med henholdsvis 10,2 % og 4,3 %.

Lengdereduksjon på *pre-rigor* fileter av laks er betydelig mindre enn på *pre-rigor* fileter av torsk (Kristoffersen et al., 2007). Årsaken til ulikhetene i lengdereduksjon og drypptap, er ikke kjent. Det er likevel sannsynlig at både strukturelle kjennetegn og komposisjon av muskelen er bidragene faktorer, og hos laks kan det være en mer stabilitet av muskelproteinene enn hos torsk (Ofstad et al., 1996).

En sannsynlig årsak til at *post-rigor* fileter gjennomgår en mindre lengdereduksjon enn *pre-rigor* fileter er at fileten gjennomgår *rigor* festet til ryggraden og trekker seg dermed ikke sammen i like høy grad som en fisk som gjennomgår *rigor* avskilt fra ryggraden.

Flyktig nitrogenforbindelser vil danne kraftig mikrobiologisk vekst (NH₃, TMA) og totalt flyktig nitrogen (TVN) ble undersøkt for å finne om det var signifikante forskjeller mellom *pre-* og *post-rigor* fileter, samt å sammenligne TVN-bedømmelse med kimtall. Resultatene viste ingen signifikante forskjeller. De flyktige nitrogenforbindelsene som dannes er basiske og vil kunne øke pH når mengden blir stor nok. Det var her heller ingen signifikant forskjell i pH mellom de to ulike gruppene. Siden fileter som taper vekt får en økning av tørrstoff ble tørrstoffinnholdet i *pre-* og *post-rigor* fileter undersøkt for å finne eventuelle ulikheter. Ingen signifikante forskjeller ble registrert.

6.0 Konklusjon

Mikrobiell vekst bestemmer holdbarheten til fersk fisk. Siden kvalitetsforringelsen inkludert bakterievekst i fisken begynner ved slaktetidspunktet er det naturlig å relatere kvalitetsforandringene i laksefilet i forhold til dette, ikke fileteringstidspunktet. I motsetning til Rosnes et al., 2003 som konkludere med at *pre-rigor* filetering gir en bedre kvalitet på laks, har resultatene i denne oppgaven vist at mikrobiell vekst var lavere gjennom 22 dagers islagring etter slakting hos laksefileter produsert *post-rigor* i forhold til fileter produsert *pre-rigor*. Fileter produsert *pre-rigor* vil altså nå grensen for utløpsdato raskere enn om filetene hadde blitt produsert *post-rigor*. Vekttapet (%) var høyest hos *pre-rigor* produserte fileter i forhold til *post-rigor* produserte fileter gjennom hele lagringsfasen registrert etter slakting.

Lengdereduksjonen var høyere gjennom 22 dagers islagring for *pre-rigor* produserte fileter i forhold til *post-rigor* produserte fileter.

Resultatene i denne oppgaven har vist at *pre-rigor* produserte fileter har en raskere mikrobiell vekst, høyere vekttap og lengdereduksjon etter slakting i forhold til *post-rigor* produserte fileter, og dette må taes i betraktning viss *pre-rigor* prosessering skal utføres på laks.

7.0 Referansliste

- Akse, L., Mejdell, M. C., Stenvik, M. C., Erikson, U., Midling, K., Robertsen, R. (2005). Rapport- behandling av laks- viktige momenter relatert til slakting og Pre Rigor produksjon. FHL.
- Bremner, H.A. (1999). Gaping in fish flesh. In: Extracellular matrix of fish and shellfish. Pandalai, S. G (Ed), Research Signpost, India, pp 81-94.
- Dalgaard, P., Gram, L. og Huss. H. H. (1993). Spoilage and shelf-life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, **19**, 283- 294.
- Dalgaard, P. (1995). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food Microbiology*, **26**, 319- 333.
- Einen, O., Guerin, T., Fjæra, S. O., Skjervold, P. O. (2002). Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon, *Aquaculture*, **212**, 129-140.
- Ervik, S. (2006). Filetspalting og utblødning hos laks (*Salmo salar* L.) etter slakting. Fiskerikandidatoppgave, marine næringsmidler. Norges fiskerihøgskole, Tromsø.
- Espe, M., Lie, Ø. (2001). Kvalitet, In: Fiskeernæring. Waagbø, R., Espe, M., Hamre, K., og Lie, Ø.(Redaktører). Kystnæringen Forlag og Bokklubb as, Bergen, 269-284.
- Gram, L., Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria- problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, **13**, 262-266.
- Gram, L., Huss., H..H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, **33**, 121-137.
- Huss, H. H. (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish. *FAO Fish. Tech. Pap.*, **348**, FAO Rome, Italy.
- Kiessling, A., Stien, L. H., Torslett Ø., Suontama J., Slinde, E. (2006). Effect of pre- and post-mortem temperature on rigor in Atlantic salmon muscle as measured by four different techniques, *Aquaculture*, **259**, 390-402.
- Kristoffersen, S., Tobiassen, T., Steinsund, V. og Olsen, R. L. (2006). Slaughter stress, post mortem muscle pH and rigor development in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.), *International Journal of Food Science and Technology*, **41**, 861-864.
- Kristoffersen, S., Vang, B., Larsen, R., Olsen, R. L. (2007). Pre-rigor filleting and drip loss from fillets of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) *Innsendt Aquaculture Research*.
- Liston, J. (1980). Microbiology in fishery science. In; *Advances in Fishery Science and Technology*, J.J Conell (editor), Fishing News Books, Farnham, England: 138-157

- Ofstad, R., Egelanddal, B., Kidman, S., Myklebust, R., Olsen, R. L og Hermansson, A. M. (1996). Liquid loss as effected by post mortem ultrastructrual changes in fish muscel: cod (*Gadus morhua* L.) and salmon (*Salmo salar*). Journal of the Science of Food and Agriculture, **76**, 301-312.
- Love, R. M. (1998). Gaping. The Food Fishes, their Intrinsic Variation and Practical Implications. Farrand Press, London, UK. 161-180.
- Robb, D. H. F., Kestin, S. C og Warriss, P. D. (2000). Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. Aquaculture, **182**, 261-269.
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T. S og Seland, A. (1997). Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*), Journal of Food Science, **62**, 898-905.
- Skjervold, P. O., Fjæra, S. O., Christoffersen, K. (1996). Pre-mortal chilling of farmed salmon (*Salmo salar*). Presented at: Refrigeration and Aquaculture, International Institute of Refrigeration, Commission C2 Meeting, Bordeaux, March 20-22, 1996. International Institute of Refrigeration, Paris, France. pp. 167-173, Conference Proceedings.
- Skjervold, P.O., Fjæra, S.O., Østbø, P.B. (1999). Rigor in salmon as effected by crowding stress prior to chilling before slaughter, Aquaculture **175**, 93-101.
- Skjervold, P. O., Rørå, A.M.B., Fjæra, S.O., Vegusdal, A., Vorre, A., Einen, O. (2001a). Effects of pre-, in-, or post rigor filleting of live chilled Atlantic salmon, Aquaculture, **194**, 315-326.
- Skjervold, P.O., Fjæra, S.O., Østbø, P.B., Isakson, T., Einen, O og Taylor, R. (2001b). Properties of salmon flesh from different locations on pre- and post rigor fillets, Aquaculture, **201**, 91-106.
- Sørensen, N. K., Brataas, R., Nyvold, T. E. og Lauritsen, K. (1997). Influence of early processing (pre-rigor) on fish quality. In: Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality. (ed. By J.B Luten, T. Børresen og J. Oehlenschläger).
- Tobiassen, T., Akse, L., Midling, K., Aas, K., Dahl, R., og Eilertsen, G. (2006). The effect of pre-rigor processing of cod (*Gadus morhua* L.) on quality and shelf life. In: Seafood research from fish to dish. (ed. By J. B Luten, C. Jacobsen, K. Bekaert, A. Sæbø og J. Oehlenschläger). pp. 149-159, wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

Rosnes, J. T., Vorre, A., Folkvord, L., Hovda, M., Fjæra, S. O., Skjervold, P. O. (2003).
Effects of Pre-, In-, and Post-rigor Filleted Atlantic Salmon (*Salmo salar*) on microbial
Spoilage and Quality Characteristics During Chilled Storage. *Journal of Aquatic Food
Product Technology*, **12**, 17-31.

8.0 Vedlegg

Vedlegg 1.: Kimtall (log) *pre-rigor* i produsert laksefilet islagret i 8, 13, 18 eller 22 dager etter slaktning ved 3 forskjellige forsøk (-; ikke påvist).

Pre Rigor n=20				
Forsøk- Fisk	Dag 8	Dag 13	dag 18	dag 22
1 - 1	3,04	4,71	6,11	6,15
1 - 2	2,85	5,18	6,67	7,08
1 - 3	2,70	5,00	6,93	7,15
1 - 4	2,60	5,40	6,60	6,61
2 - 1	3,04	4,34	6,26	6,96
2 - 2	2,28	4,38	6,38	6,60
2 - 3	2,08	3,94	5,51	6,04
2 - 4	-	3,77	5,85	6,83
2 - 5	2,36	3,90	6,76	7,04
2 - 6	-	4,23	6,63	6,90
2 - 7	1,48	4,49	6,45	6,97
2 - 8	2,20	4,26	6,45	6,68
3 - 1	2,23	4,72	6,60	7,75
3 - 2	2,85	4,77	6,61	6,44
3 - 3	2,73	5,41	5,91	7,23
3 - 4	1,85	5,87	6,68	6,97
3 - 5	2,90	5,33	6,80	6,92
3 - 6	3,10	5,13	6,89	7,23
3 - 7	3,39	4,49	6,49	7,01
3 - 8	2,55	4,65	6,72	7,19

Vedlegg 2.: Kimtall (log) *post-rigor* i produsert laksefilet lagret i 8, 13, 18 eller 22 dager etter slakting i is ved 3 forskjellige forsøk (-; ikke påvist).

Post rigor n=20				
Forsøk- Fisk	Dag 8	Dag 13	dag 18	dag 22
1 - 1	2,18	4,66	6,76	7,04
1 - 2	2,04	4,78	6,72	6,78
1 - 3	2,04	4,85	6,90	7,20
1 - 4	2,34	4,90	6,83	7,26
2 - 1	1,90	2,75	5,65	6,85
2 - 2	1,90	3,57	5,93	6,90
2 - 3	0,90	3,72	6,26	7,04
2 - 4	-	3,46	6,58	7,18
2 - 5	2,20	3,51	6,96	7,04
2 - 6	1,60	2,98	6,00	7,23
2 - 7	1,48	3,38	6,51	6,72
2 - 8	1,48	3,99	6,36	7,36
3 - 1	1,60	2,14	4,86	6,71
3 - 2	1,90	3,08	6,00	6,46
3 - 3	1,60	2,83	5,49	6,68
3 - 4	2,04	3,38	5,49	6,43
3 - 5	2,00	4,40	6,67	6,82
3 - 6	1,78	4,81	6,21	7,06
3 - 7	1,78	4,60	6,14	7,06
3 - 8	1,60	4,12	6,07	7,06

Vedlegg 3: Sulfidproduserende bakterier (log) *pre-rigor* i produsert laksefilet islagret i 8, 13, 18 eller 22 dager etter slakting ved 3 forskjellige forsøk (-; ikke påvist).

Pre-rigor n=20				
Forsøk- Fisk	Dag 8	Dag 13	Dag 18	Dag 22
1 - 1	-	1,85	3,18	3,23
1 - 2	-	1,90	3,28	4,15
1 - 3	-	1,90	4,77	5,15
1 - 4	-	2,28	3,38	3,41
2 - 1	-	-	-	-
2 - 2	-	-	-	-
2 - 3	-	-	-	-
2 - 4	-	-	-	-
2 - 5	-	-	4,60	-
2 - 6	-	-	4,60	-
2 - 7	-	-	-	-
2 - 8	-	-	-	-
3 - 1	-	-	-	-
3 - 2	-	-	-	-
3 - 3	-	-	-	-
3 - 4	-	-	-	-
3 - 5	1,99	-	3,77	3,97
3 - 6	-	1,89	4,79	6,00
3 - 7	-	1,78	3,89	6,73
3 - 8	-	1,90	4,48	5,20

Vedlegg 4: Sulfidproduserende bakterier (log) *post-rigor* i produsert laksefilet islagret i 8, 13, 18 eller 22 dager etter slakting ved 3 forskjellige forsøk (-; ikke påvist).

Post rigor n=20				
Forsøk- Fisk	Dag 8	Dag 13	Dag 18	Dag 22
1 - 1	-	1,85	3,82	3,83
1 - 2	-	4,78	3,45	3,85
1 - 3	-	1,48	3,77	4,11
1 - 4	-	-	3,68	4,26
2 - 1	-	-	-	-
2 - 2	-	-	-	-
2 - 3	-	-	-	-
2 - 4	-	-	-	1,89
2 - 5	-	-	-	-
2 - 6	-	1,60	-	-
2 - 7	-	-	-	-
2 - 8	-	-	-	-
3 - 1	-	-	-	-
3 - 2	-	-	-	-
3 - 3	-	-	-	-
3 - 4	-	-	-	-
3 - 5	-	1,89	2,77	4,25
3 - 6	-	1,90	2,30	4,52
3 - 7	-	1,96	2,00	4,64
3 - 8	-	-	2,14	3,89