

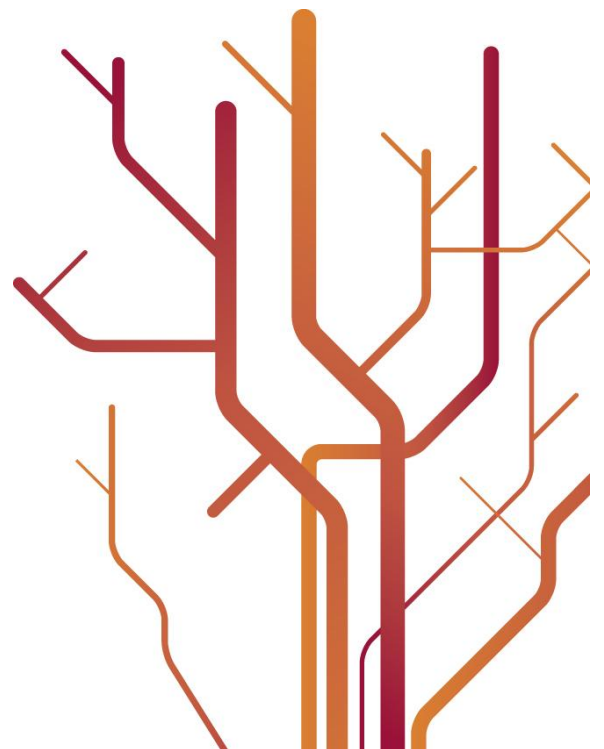
# **Frysing av pre-rigor produserte torskefileter**

**Effekt på rigorkontraksjon, pH-utvikling og vekttap etter tining**

**Jan Tore Didriksen**

Masteroppgave i fiskeri og havbruksvitenskap  
Studieretning - Sjømatvitenskap (60 stp)

Mai 2013





## Forord

Denne masteroppgaven ble gjennomført ved fakultetet for biovitenskap, fiskeri og økonomi ved Norges fiskerihøgskole (UIT) og markerer slutten på et langt men interessant 5-årig studie. Fisken som inngår i dette forsøket ble finansiert gjennom UIT og forskningsorganisasjonen Nofima (CRISP) arbeidspakke 5.1. Det er flere personer som på den ene eller den andre måten har vært med å bidra i denne oppgaven, og dette setter jeg stor pris på.

Først og fremst vil jeg takke professor Ragnar L. Olsen ved UIT og Ph.D. Stein H. Olsen ved Nofima for eminent veiledning, gode råd, tålmodighet, støtte og omfattende kunnskap. Jeg er virkelig takknemmelig for deres bidrag og samarbeid. Det har vært emosjonelt og minneverdig.

Jeg vil også rette en stor takk til Kull 2008, og spesielt mine medstudenter Hans, Jon, Anja og Heidi på mastergradsrommet A-356 for sosiale og faglige aktiviteter gjennom disse år. Det har vært en mental støtte i en tøff studietid.

Jeg vil også takke rådgiver Rune Larsen for artikkelbidrag, og ellers alle bekjente studenter og ansatte ved NFH.

Til slutt vil jeg takke min familie for økonomiske bidrag, støtte og motivasjon. Uten dere ville det blitt vanskelig å få gjennomført studiet. Til min kjære kone, takk for din kjærlighet, disiplin, motivasjon, støtte og oppmuntring som har betydd alt for meg.



## Sammendrag

Tradisjonelt har villfanget fisk blitt filetert post-rigor, det vil etter at dødsstivheten (*rigor mortis*) har blitt oppløst 3 – 5 dager etter fangst. På grunn intensjonen om bedre fangstbehandling ombord i trålere og ikke minst satsingen på levende fangst av torsk og annen hvitfisk, vil pre-rigor filetering bli mer aktuelt. Slik filetering har flere positive sider slik som en tidligere og lengre salgperiode for filetene, mindre filetspalting og lavere transportkostnader på grunn av at bare filetene eksporteres. Antakelig vil slik filetering gjøre utnyttelse av hoder, rygger og avskjær lettere. En ulempe ved pre-rigor fileting er imidlertid at filetene trekker seg ganske kraftig sammen under utvikling av *rigor mortis*. Dette fører til større vekttap under lagring på is enn ved vanlig post-rigor filetering.

Hovedmålet med oppgaven var å studere ulike kvalitetsaspekter som følge av pre-rigor filetering og tining av pre-rigor fileterte frosne torskfileter. Det ble gjennomført 4 slakte og lagringsforsøk. I arbeidet ble det fokusert på graden rigorkontraksjon, utvikling av muskel-pH og vekttap under lagring på is av filetene. Et forsøk gikk ut på å studere hvordan tidspunktet for filetering under pre-rigor perioden påvirket disse egenskapene, mens i tre forsøk ble fokusert effekter av ulike frysebetingelser.

Resultatene viste at fryselauret pre-rigor produsert torskfilet oppfører seg på tilsvarende måte som laksefilet når tiningen foregår sakte på kjølerom. Svært liten tinerigor observeres. Muskelen går tydeligvis gjennom *rigor mortis* hovedsakelig når muskelen er immobilisert av is. Den tinte torskfileten hadde imidlertid et høyere væsketap under videre lagring på is enn islagrede ferske pre-rigor produserte fileter på tross av sistnevntes kraftige sammentrekning.

Tidspunktet for filetering under pre-rigor fasen hadde bare mindre utslag på rigor kontraksjon, endelig pH og væsketap under lagring på is av fersk torskfilet. Filetering 1 time *post mortem* resulterte imidlertid i 3 – 4 % mer kontraksjon og 1,5 – 2 % mer vekttap etter 8 dagers lagring på is enn det man fikk for fileter produsert pre-rigor 5 timer etter slakting.

Resultatene i oppgaven viste at muskel-pH faller raskere når den fryses i pre-rigor form enn under lagring på is. Dette må bety at hastigheten på de reaksjonene som bestemmer pH-fallet går raskere under innfrysingsfasen når temperaturen er minus 1 – 2 °C enn ved 0 °C (lagring på is). Det ble også observert at pre-rigor produsert fileter fryselauret i 5 timer for å simulere en innfrysingsperiode, førte til en raskere etablering av *rigor mortis* enn ved bare lagring på is. Sistnevntes lagringsform førte imidlertid til noe kraftigere kontraksjon.



## Summary

Traditionally, wild caught fish were filleted post-rigor, which means after *rigor mortis* has been dissolved 3-5 days after capture. Because of the intention of improving catch treatment on board trawlers and especially focus on the live catch of cod and other groundfish, the pre-rigor filleting will be more appropriate. Such filleting has several positive aspects such as earlier and longer sales period for fillets, less gaping and lower transportation costs because only the fillets is exported. Such filleting will also probably lead to easier utilization of heads, backs and trimmings. However, a disadvantage of pre-rigor filleting causes the fillets to pull quite strongly together during development of *rigor mortis*. This leads to greater weight loss during the usual post-rigor filleting during ice storage.

The main aim of this thesis was to study different quality aspects arising from pre-rigor filleting and thawing of frozen pre-rigor cod fillets. It was carried four slaughter and storage experiments. The work was focused on the degree of rigor contraction, development of muscle pH and weight loss of fillets during ice storage. One experiment was to study how the time of filleting during the pre-rigor period influenced these attributes, while in three other experiments the focus where effects of various freezing conditions.

The results showed that frozen stored pre-rigor produced cod fillets behave in a similar manner as salmon filet when defrosting takes place slowly in cold storage. Very little thaw rigor is observed. The muscle is apparently through *rigor mortis* mainly when the muscle is immobilized by ice. However, the thawed cod fillets had a higher fluid loss during further storage on ice than fresh ice storage produced pre-rigor fillets in spite of the latter's strong contraction.

The time of filleting during pre-rigor phase had only minor effects on rigor contraction, final pH and water loss during storage on ice of fresh cod fillets. However, filleting 1 hours post mortem resulted in 3 – 4 % more contraction, and 1,5 – 2% more weight loss after 8 days of storage on ice than we did for fillets produced pre-rigor 5 hours after slaughter.

The results in the thesis showed that muscle pH in fish falls rapidly when frozen in pre-rigor shape than during ice storage. This must mean that the speed of the reactions that determines the pH fall is faster during the freezing stage when the temperature is minus 1 – 2 °C than at 0° C (storage on ice). It was also observed that pre-rigor fillets produced and stored frozen for 5 hours to simulate a freezing period, led to a more rapid establishment of *rigor mortis* than by just storing on ice. However, the latter storage form resulted in a slightly stronger contraction.





## Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b> .....	<b>III</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>V</b>
<b>Summary</b> .....	<b>VII</b>
<b>1. Innledning</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Generell bakgrunn</b> .....	<b>3</b>
2.1 Muskelstrukturen hos fisk .....	3
2.2 Strukturen i kontraksjonsmekanismen .....	5
2.3 Postmortale endringer i muskel og rigor mortis .....	6
2.4 Vekttap og utvikling av muskel-pH post mortem .....	8
2.5 Kjølelagring på is, frysing og tinerigor .....	9
<b>3. Materialer og metode</b> .....	<b>11</b>
3.1 Råstoff og slaktemetode .....	11
3.2 Forsøk 1. Tining av pre-rigor produserte fileter fryselagret ved – 25 °C i 6 dager. ....	11
3.3 Forsøk 2. Filetering av torskefileter i pre-rigor perioden 1, 3 og 5 timer etter slakting. ....	12
3.4 Forsøk 3. Utvikling av muskel-pH under innfrysing, fryselagring og tining av pre-rigor prod. fileter. ....	13
3.5 Forsøk 4. Effekter av en 5 timers innfrysingsperiode på egenskaper til pre-rigor produserte fileter. ....	15
3,6 Muskelkontraksjon.....	16
3,7 Måling av pH.....	16
3,8 Vekttap .....	16
3,9 Statistiske analyser av resultatene .....	17
<b>4. Resultater</b> .....	<b>19</b>
4.1 Biologisk råstoffdata av oppdrettstorsk .....	19
4.2 Forsøk 1. Tining av pre-rigor produserte fileter fryselagret ved – 25 °C i 6 dager. ....	19
4.3 Forsøk 2. Filetering av torskefileter i pre-rigor perioden 1, 3 og 5 timer etter slakting. ....	23
4.4 Forsøk 3. Utvikling av muskel-pH under innfrysing, fryselagring og tining av pre-rigor prod. fileter. ....	27
4.5 Forsøk 4. Effekter av en 5 timers innfrysingsperiode på egenskaper til pre-rigor produserte fileter. ....	31
<b>5. Diskusjon</b> .....	<b>35</b>
5.1 Biologiske egenskaper for oppdrettstorsk .....	36
5.2 Forsøk 1. Tining av pre-rigor produserte fileter fryselagret ved – 25 °C i 6 dager. ....	36
5.3 Forsøk 2. Filetering av torskefileter i pre-rigor perioden 1, 3 og 5 timer etter slakting. ....	38
5.4 Forsøk 3. Utvikling av muskel-pH under innfrysing, fryselagring og tining av pre-rigor prod. fileter. ....	39
5.5 Forsøk 4. Effekter av en 5 timers innfrysingsperiode på egenskaper til pre-rigor produserte fileter. ....	40
<b>6. Konklusjon</b> .....	<b>43</b>
<b>7. Referanser</b> .....	<b>45</b>
<b>8. Appendix</b> .....	<b>50</b>



## 1. Innledning

Den norske sjømatnæringen er viktig for norsk økonomi. Den totale eksporten av norsk sjømat i 2012 viste et volum på 2,3 millioner tonn, og hadde en eksportverdi på 51,6 milliarder norske kroner. Havbruk utgjorde den største andelen av verdien med 61 % (31,5 mrd) mens fiskeri stod for 39 % (20,1 mrd) (Anon, 2013).

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) er en av de viktigste kommersielle artene i Nord Atlanteren. I Norge er det hovedsakelig to råstoffvarianter som brukes til produksjon av torskeprodukter; ferskt og frosset råstoff. Fersk råstoff leveres hovedsakelig av mindre kystfartøy etter fangst med redskaper som garn, snurrevad og line. Råstoff som fryses om bord fanges hovedsakelig av havgående autoline- og trålfartøy hvor fisken prosesseres og fryses om bord før *rigor mortis* setter inn (pre-rigor). Av de totale torskelandingene fanges ca. 70 % av fisken med bunntål og de resterende 30 % fanges av andre fangstredskaper (Olsen et al., 2013). Fisken som fanges med bunntål blir som oftest hodekappet, sløyd i pre-rigor tilstand og nedfrosset i store blokker (25 – 50 kg) og supplerer fiskeindustrien med frosset råstoff. Prosessen ved å fryse fisk pre-rigor om bord på båter har økt og har ført til større tilgjengelighet av hel torsk og torskefilet (Cappeln and Jessen, 2001). Det selges i dag store mengder fisk i frosset tilstand, og selv om frysing medfører reduksjon i noen kvalitetsparametere er det fortsatt en akseptert og effektiv måte å konservere på. Hovedgrunnene til tapt kvalitet ved frysing og tining er proteindenaturering og celledrengning med påfølgende væsketap og misfarging (Garthwaite, 1997). For frosset fisk vil flere faktorer som innfrysningshastighet, fryselagringstemperatur, lagringstid og tinebetingelser påvirke kvaliteten (Love, 1962, Love and Haq, 1970, Sikorski and Pan, 1994). Sensorisk kvalitet som følger av et godt sluttprodukt avhenger av flere faktorer som for eksempel sesongvariasjoner, fangst og prosesseringsmetoder og transport. Under de innledende fasene (høsting og slakting), vil fisk oppleve forskjellige grad og typer av fysiologisk stress (Poli et al., 2005, Veiseth et al., 2006, Erikson et al., 2006, Gatica et al., 2010). Det fysiologiske stresset kan føre til lav muskel pH, kortere pre-rigor periode, økt gaping og potensielt redusert bloduttømming som videre fører til en betydelig innvirkning på produktutbytte, kvalitet, holdbarhet og lønnsomhet (Margeirsson et al., 2007, Bjørnevik and Solbakken, 2010, Digre et al., 2010, Borderías and Sánchez-Alonso, 2011).

I gjennom de siste 20 årene har fangstbasert akvakultur med snurrevad som fiskeredskap blitt utviklet i Norge. Det å levere et råstoff av høy kvalitet til industrien har medført at fiskerne mottar bedre pris ca. 30 – 45 % i forhold til leveranser av død fisk iset i kasser

(Dreyer et al., 2006, Midling et al., 2012). I dette fiskeriet blir fisken fanget om våren og oppbevart med eller uten foring i merder, med den hensikt å supplere industrien med fersk høykvalitets fersk råstoff gjennom hele året (Midling et al., 2012).

Slakting og pre-rigor filetering er en relativt ny metode å bearbeide fisk på. Metoden har erstattet den tradisjonelle foredlingsmåten hvor fisken blir kjølelagret på is i 3 – 5 dager før filetering (Sørensen et al., 1997, Einen et al., 2002). Det er kjent at det å gjennomføre filetering mens fisken er dødsstiv gir redusert kvalitet og utbytte (Love, 1988, Kristoffersen et al., 2006a). Pre-rigor fileteringsmetode gjør det mulig å foredle fisken umiddelbart etter slakting som følger av optimale og tilpassete betingelser og prosedyre før slakting. Betingelsene innebærer nedkjøling (temperatur) samt redusert ante mortem stress som bevarer et høyt innhold av ATP i muskelen, og resulterer i et lengre tidsintervall før fisken blir dødsstiv (Skjervold et al., 1999, Skjervold et al., 2001a, Einen et al., 2002). Den økte tiden kan dermed utnyttes til å filetere fisken pre-rigor (Erikson et al., 2006).

Hovedmålet med oppgaven var å studere ulike kvalitetsaspekter som følger av pre-rigor filetering og tining av pre-rigor fileterte frosne torskefileter.

Konkrete delmål:

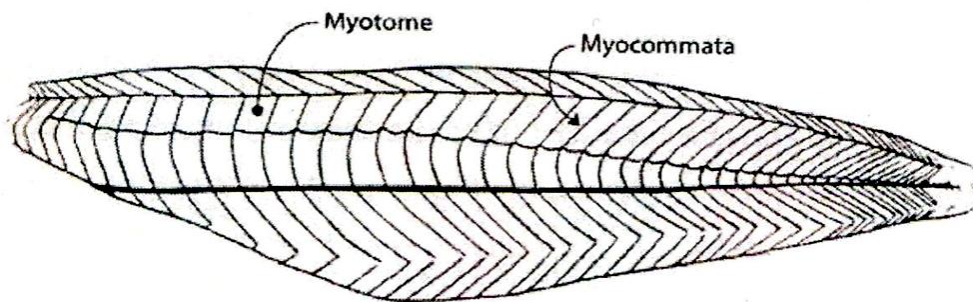
- Å studere rigor kontraksjon, utvikling av muskel-pH og vekttap for kjølelageret ferske pre-rigor fileter, og for pre-rigor fileterte frosne torskefileter etter tining (forsøk 1).
- Å studere rigor kontraksjon, utvikling av muskel-pH og vekttap hos islagrede ferske torskefileter filetert 1, 3 og 5 timer etter slakting (forsøk 2).
- Å undersøke hvordan muskel-pH utvikler seg under innfrysning og frysnelagring av torskefilet og under tining av disse, samt sjekke tykkfiskmuskelens homogenitet (forsøk 3).
- Å undersøke rigor kontraksjon, utvikling av muskel-pH og vekttap under tining av pre-rigor fileterte torskefileter frysnelagret i 5 timer (forsøk 4).

## 2. Generell bakgrunn

### 2.1 Muskelstrukturen hos fisk

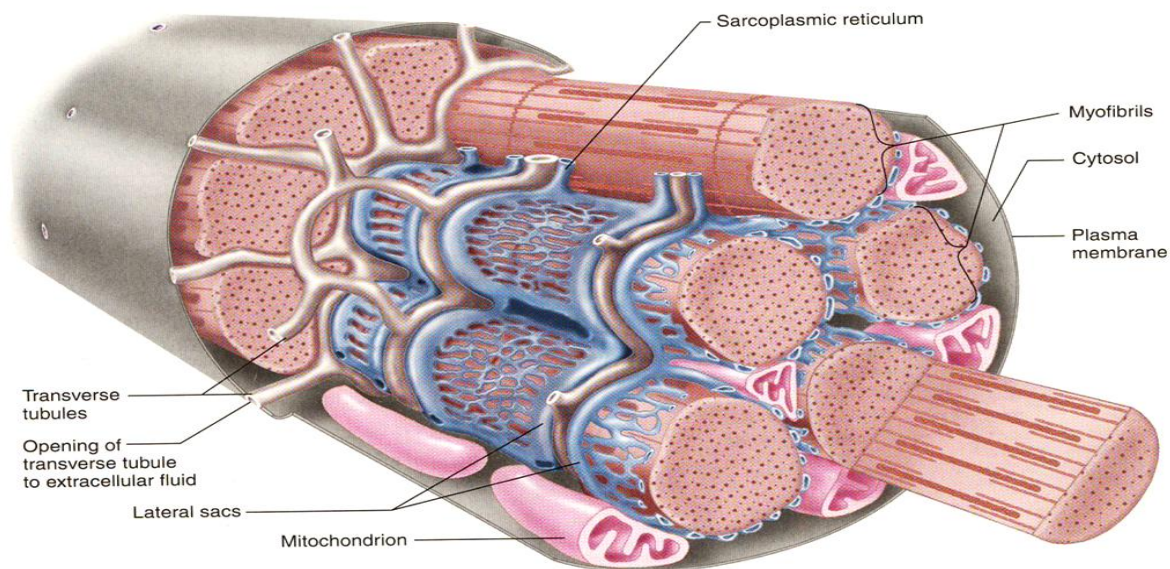
For å forstå rigorforløpet, pH utvikling og vekttap i en fiskemuskel må man se nærmere på muskelens oppbygging og metabolisme. Den generelle muskulaturen hos fisk går fra hode, langs ryggbeinet og mage på begge sider og avsluttes ved halepartiet. Fiskemuskulaturen regnes for å utgjøre ca. 50 % av den totale vekten på fisken for de fleste med kommersiell betydning i våre farvann. Hos noen arter kan fiskemuskulaturen være opp mot 70 % (Jobling, 1995).

Lys muskel er bygd opp og delt inn i parallelle segmenter/blokker kalt myotomer som er bundet sammen av et intracellulært bindevev kalt myocommata (myosept). Denne segmentale ordningen av muskelsegmenter setter opp den karakteristiske W-formen av myotomene når man observerer fiskens filet fra siden, hvor muskelens W-form (bøyingsform) deles inn i en forover og to bakover mønster (fig. 1).

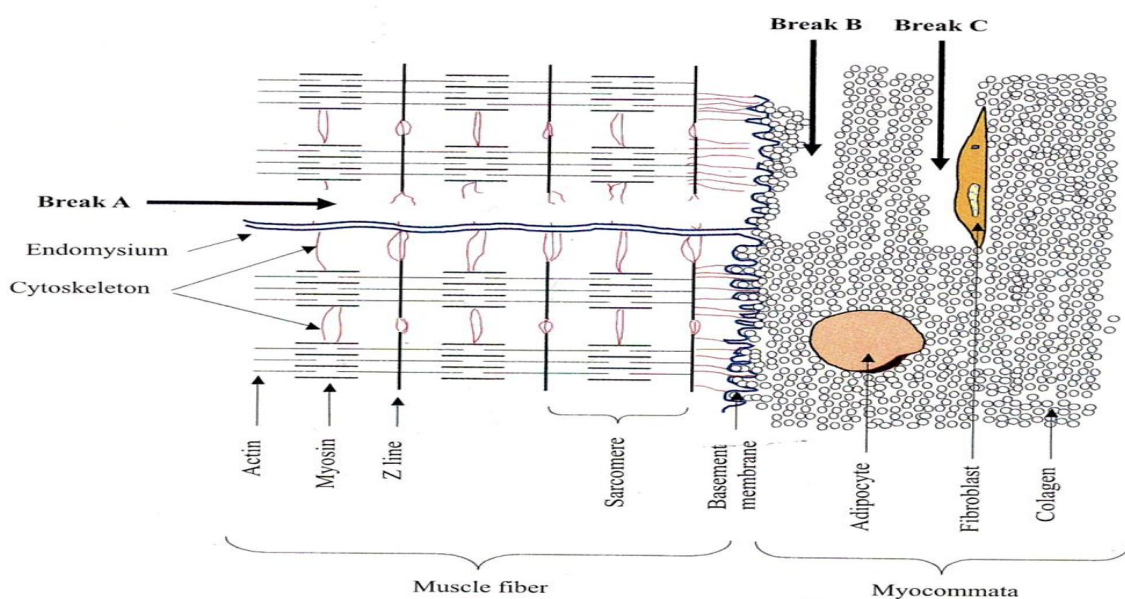


Figur 1: Skjematisk framstilling av muskelstrukturen til en torskefilet separert fra skjelettet (Love et al., 1969)

Inne i myotomene finner man mange muskelbunter som igjen inneholder mange parallelle muskelfibrer (muskelceller) (Bremner, 1992). Hver muskelcelle har flere cellekjerner og omslutes av en cellemembran (sarkolemma) bestående i hovedsak av fosfolipider og proteiner. Sarkolemma isolerer i tillegg sarkoplasma (cytoplasma) fra miljøet rundt. Hver enkelt myofibrill er dekket av sarkoplasmatiske retikulum som er forbundet med transvers tubulisystemet (T-tubular) (fig. 2). Tubulisystemet omringer også hver enkelt myofibrill, i tillegg er systemet plassert i områdene ved Z-linjen, I-bandene og A-bandene (Luther et al., 1995). På utsiden av muskelcellen finnes ekstracellulær matrix, som i hovedsak består av kollagener, proteoglykaner og glykoproteiner; som ikke har kollagen lignende egenskaper.



Figur 2: Billedlig framvisning av transvers tubulisystemet og sarkoplasmatisk retikulum struktur som omringer bunter av parallelle myofibriller i en skjelettmuskulatur fiber (celle) (Widmaier et al., 2010).



Figur 3: Illustrasjon av en bindevevsdel (myocommata) og del av en muskelfiber (myotom). Utenfor cellemembran (sarkolemma) finnes et tettpakket nettverk som kalles "basement" membran. Deretter følger endomysium, som er et tynt lag av bindevev som omringer hver muskelcelle. I tillegg sammenkobler endomysium til perimysium og er sammenhengende med myocommata (Skjervold, 2002).

Utenfor muskelcellene finner man basalmembraner som hovedsakelig består av kollagen, og intramuskulært bindevev; "intramuscular connectiv tissue" (IMCT). IMCT er lag med fine

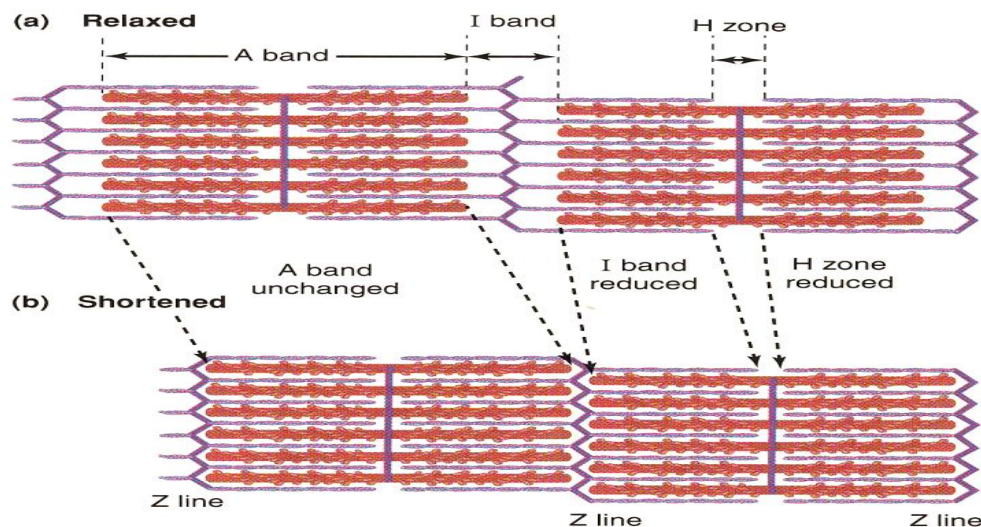
kollagenfibre (endomysium) av typen kollagen I og V som dekker bunter med muskelfibrer (perimysium) (Sato et al., 1989, Bremner, 1992), og er sammenhengende videre til myocommata (fig. 3) (Bremner and Hallett, 1985, Skjervold, 2002, Ofstad et al., 2006). Myocommata inneholder blant annet kollagener, glykoproteiner, proteoglykaner, elastiske fibrer og celler, og bindevevet er forankret både i skjelettet og skinnet (Huss, 1995).

## 2.2 Strukturen i kontraksjonsmekanismen

Inne i muskelcellene finnes det mange myofibriller. Myofibrillene danner mesteparten av volumet i cellene, og inneholder i tillegg det kontraktile systemet. Myofibrillene består av mange langstrakte og overlappende sarkomerer, og sarkomerene består i hovedsak av tynne (aktin) og tykke (myosin) filamenter (fig. 2 og 3). To sett med aktinfilamenter (lokalisert i I-bandet) overlapper hvert myosinfilament og er forankret i et bindevevsprotein nettverk kalt Z-linjen med to kryssbindinger av alfa – aktin (Luther et al., 1995, Huff-Lonergan and Lonergan, 2005). I-bandet er området mellom hvert myosinfilament og inneholder kun aktinfilamenter og en Z-linje. Avstanden mellom en Z-linje til den neste nærliggende kalles for en sarkomer, og myosinfilamentene er lokalisert sentralt inne i hver sarkomer. Myosinfilamentene som er lokalisert inne i midten av hver sarkomer er kjent som A-band. A-bandet er i tillegg formulert der hvor aktin og myosinfilamenter overlapper hverandre. Avstanden mellom aktinfilamentene i dette området kalles H-band, og sentret av H-bandet kalles for M-linjen. M-linjen utgjør sammenbindingen mellom nærliggende myosinfilamenter, og finnes i midten av hvert myosinfilament (fig. 4).

Myosinfilamentenes oppbygning består av flere hoder og haleregioner, og inneholder en varierende mengde myosin molekyler (Small et al., 1992, Venugopal and Shahidi, 1996, Foegeding et al., 1996). Selve halen er anordnet slik at den langs aksene danner skaftet hvor det kuleformete hodet strekker seg ut fra siden, og består av to tungkjedete og spiralformet alfa-helix og har en super sekundærstruktur. Hodet innehar strukturer og bindingssteder til aktin og ATP-aser som gir midlertidig bindingsevne til aktinfilamentene. Aktinfilamentenes oppbygning består av en tropomyosin proteinkjede hvor aktin monomerer som har kuleform er kveilet sammen i en dobbel helix struktur. Utenpå helix strukturen finnes proteinet troponin som består av tre subenheter, der hver subenhet av troponin har distinkte funksjoner. Troponin C regulerer kalsium til den kontraktile prosessen via aktinfilamentene, troponin I hemmer sterkt ATP-ase aktiviteten når aktin og myosin er sammenbundet og troponin T er sterkt tilknyttet i området der troponin bindes sammen med tropomyosin (Foegeding et al., 1996). Ved sammenbinding av de tykke og tynne filamentene kobles de reaktive hodene til

myosinfilamentene seg fast til aktinet, deretter trekker de to settene av aktinfilamenter fra Z-linjen mot hverandre og sørger for muskelkontraksjon. I denne tilstanden når aktin og myosin er sammenkoblet, dannes det et kompleks som kalles for et aktomyosin. I levende muskel blir komplekset naturlig dissosiert ved tilstedeværelse av ATP, men i en *post mortem* tilstand vil ATP bli brukt opp av *post mortem* metabolisme og danner et vedvarende aktomyosinkompleks som medfører at muskelfilamentene trekkes sammen (fig. 4).



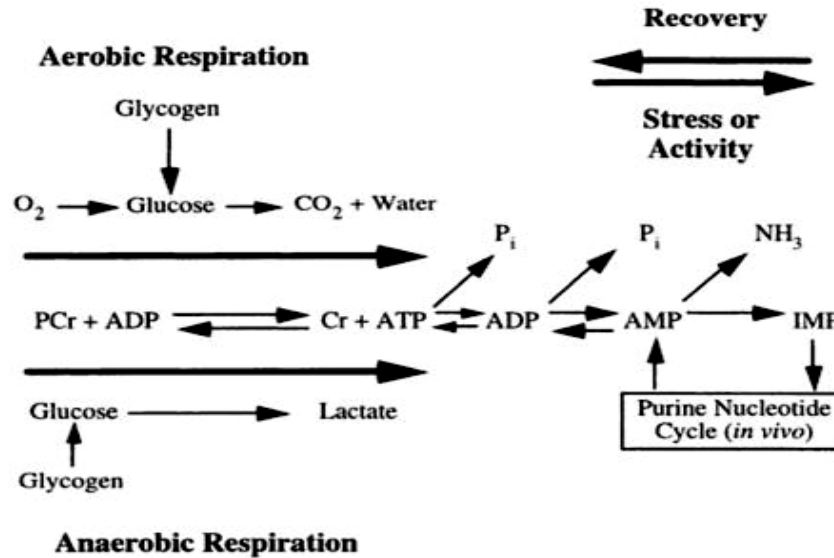
Figur 4: Kontraksjon i en skjelettmuskulatur, hvor myosinfilamentet og aktinfilamentet i hver sarkomer overlapper hverandre. I denne sammentrykte fasen er det kun I-bandet og H-sonen som reduseres, og A-bandet, aktin myosinfilamentene er uforandret (Widmaier et al., 2010).

### 2.3 Postmortale endringer i muskel og *rigor mortis*

Når fisken avlives skjer det biokjemiske og strukturelle forandringer i fiskemuskelen. Som følge av døden stopper blodsirkulasjonen opp, og fratår cellene tilførselen av oksygen og næring. Cellene går over i en anaerob metabolisme og produserer melkesyre (laktat) (fig. 5).

*Rigor mortis* (rigor) oppstår på grunn av mangel på energi i muskelen og økt osmotisk trykk i muskelcellene. Uavhengig av størrelse på energilageret etter død og innvirkende faktorer før død, vil muskelen etter hvert stivne og bli ubøyelig. Tidspunktet når rigor inntreffer bestemmes av den biologiske tilstanden hos artene, som for eksempel ante mortem stress, artsforskjeller, individuelle forskjeller og lagringstemperatur (Haard, 1992).





Figur 5: Energimetabolisme i hvit fiskemuskel under hvile (aerobisk) stress eller aktivitet (anaerobisk) (Robb, 2002)

Muskelsystemet er et svært spesialisert vev hvor lett mobiliserbar energi er påkrevd for raskt å kunne operere det kontraktile muskelsystemet. Ved forbrenning av glukose gjennom glykolysen og sitronsyresyklusen dannes det slike små og energirike forbindelser i form av adenosintrifosfat (ATP), og mengden ATP som blir dannet er avhengig av glykogen som er lagret i muskelen. Litt energi er lagret som kreatinfosfat og ved høy aktivitet kan ATP i en kort periode regenereres fra adenosindifosfat (ADP) ved hjelp av kreatinfosfat. Hvis muskelaktiviteten er høy i en periode før avlivning, vil innholdet av kreatin fosfat være oppbrukt før slakting og mengden glykogen og glukose være redusert. Når fisken avlives vil cellene i muskelen benytte energilageret inne i cytoplasma for å opprettholde metabolismen. Dette betyr at ATP spaltes til mellomprodukter katalysert av enzymer kalt ATP-aser. Enzymene aktiveres av kalsiumioner ( $Ca^{2+}$ ) som lekker ut fra sarkoplasmatiske retikulum og reagerer som koenzym. Når  $Ca^{2+}$  ioner lekker inn i myofibrillene, starter myosinene spaltningen av ATP og frigjør energi slik at det dannes kjemiske bindinger mellom aktin og myosin (aktomyosinkompleks) som gir muskelsammentrekningskraft. Fenomenet *Rigor mortis* oppstår som et resultat av at mengden adenosintrifosfat (ATP) er lavt ( $< 1 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) i cellen (Huss, 1995) og dette resulterer i en opphopning av kalsium som gjør at bindingssetet mellom aktin og myosin forblir åpent. Aktin og myosin har dermed muligheten til å låse seg i et aktomyosinkompleks. Etter hvert som glykogenreservene og nukleotidene er degradert til flere mindre molekyler (melkesyre, rester av nukleotiddegradering og ioner), vil det osmotiske

trykket inne i cellen øke. Økt osmotisk trykk inne i cellen fører til at vann som ligger mellom cellene diffunderer inn i gjennom cellemembranen og t-tubuli for å utjevne trykket og cellene begynner å svulle, samtidig som de kontraktile filamentene i cellen trekkes sammen. Muskelcellene vil dermed bli utspent, og det er dette som er årsak til selve stivheten (Pearce et al., 2011). Varigheten av rigor bestemmes i hovedsak av konsentrasjonen av aktive enzymer og lagringstemperatur, men det er enighet om at det er en multienzymatisk prosess som er hovedårsaken til svekkelsen (nedbryning) av aktomyosinkomplekset i myofibrill strukturen og dermed terminering av rigorfasen (Delbarre-Ladrat et al., 2006, Chéret et al., 2007). De strukturelle endringene ved oppløst rigor vises å være aktinfilamentenes forankring i Z-linjen og ikke oppløsning av aktomyosinkomplekset (Mestre Prates, 2002, Delbarre-Ladrat et al., 2006). Når cellene er blitt fri for ATP vil de etter hvert miste evnen til å kontrollere den biokjemiske og strukturelle likevekten. Enzymer som blant annet katepsiner og kalpainer vil kunne lekke ut av organeller (lysosomer) og gjøre skade (Dutson, 1983, Delbarre-Ladrat et al., 2004). Det er dette man tror skjer når *rigor mortis* løses opp etter en periode. Figur 3 viser break A, B og C hvor kollagen som er bundet til cytoskjelettet brytes ned av proteaser, kolagenaser, kalpainer og katepsiner.

#### 2.4 Vekttap og utvikling av muskel-pH *post mortem*

I løpet av en lagringsperiode vil fiskefileter tape væske som fører til vekttap. Væsken inneholder proteiner og lav molekylære komponenter som blant annet peptider, frie aminosyrer, vannløselige vitaminer og mineraler (Offer and Knight, 1988). Hovedmengden av muskelvæsken er lokalisert inne i myofibrillene, nærmere bestemt i rommet mellom myosin og aktinfilamentene (Offer and Trinick, 1983, Hamm, 1986). Væsken holdes tilbake i strukturen av kapillærlignende krefter og begrenser mobiliteten av vannmolekylene (Offer and Trinick, 1983). Det er i midlertidig hendelser etter avlivning som påvirker muskelens evne til å holde på væske, og resulterer at væsken til slutt lekker ut. Ut i fra det strukturelle perspektiv for *post mortem* muskelstruktur er det tre endringer som skyldes væsketap (Offer and Knight, 1988). Den første forandringen skyldes muskelkontrasjon hvor filamentene sammentrekkes i forbindelse med *rigor mortis*, og hvor det dannes et aktomyosinkompleks. Den neste skyldes den synkende pH verdi som resulterer i at myofibrillproteinene nærmere seg det isoelektriske punkt, og gir redusert elektrostatisk frastøtning i proteiner og mellom proteiner i cellen. Den siste endringen som skyldes væsketap er aktivering av de endogene enzymene som kan degradere myofibrillære proteiner. De strukturelle endringene fører til krymping av myofibrillene, og intracellulær væske presses dermed ut av cellen og

akkumuleres i det ekstracellulære rom (Offer and Cousins, 1992). Integriteten i cellemembranen endres under rigor, noe som gjør den er mer gjennomtrengelig for vann og oppløste stoffer (Currie and Wolfe, 1983). Tyngdekraften fører deretter vann ut av muskelen hvor det vandrer i ekstracellulære kanaler og videre bryter overflaten hvor det vises som drypp (Honikel et al., 1986, Offer and Knight, 1988). Muskelens pH påvirker vannbindingsevnen i en fiskemuskel (Ofstad et al., 1996). Vannbindingsevnen er på det laveste i en fiskemuskel ved pH 5 – 5,5 noe som korresponderer til det isoelektriske punkt for myofibrill proteinene. Når pH i fiskemuskelen er lik det isoelektriske punkt, er den elektrostatiske frastøtningen mellom filamentene lavest. Dette fører til større krymping i filamentene sammenlignet med høyere muskel-pH, og gir redusert vannbindingsevne i muskelcellene ettersom en krympet proteinstruktur har mindre evne til å binde vann.

## 2.5 Kjølelagring på is, frysing og tinerigor

Lagringstid og temperatur er viktige faktorer som påvirker hastigheten for tap av kvalitet og holdbarhet i fisk og fiskeprodukter. Ved lave lagringstemperaturer senkes hastigheten av biokjemiske prosesser samtidig med at mikroorganismer vokser sakte (Foegeding et al., 1996).

Frysing av fisk og fiskeprodukter er en utmerket måte å bevare kvaliteten over lengre perioder, ettersom de kjemiske og enzymatiske prosesser i fisk senkes eller opphører helt ved lave temperaturer. I tillegg vil mikroorganismer ikke kunne vokse i et frosset produkt. Effektiviteten av frysing stammer av dannelse av iskrystaller, immobilisering av vann og senkning av temperatur. I en muskelcelle vil det i tillegg til vann også finnes oppløste stoffer derav ioner, mineraler, aminosyrer samt nedbrytningsprodukt i form av nukleotider, som videre har betydning for frysepunktet. Frysepunktet i en fiskemuskel synker med konsentrasjon og tilstedeværelse av oppløste stoffer (Mackie, 1993). Ved frysing dannes det vannkrystaller av is, mens konsentrasjonen av oppløste stoffer stiger i restvannet i cellen. Graden av oppløste stoffer i restvannet er temperaturavhengig og bestemmes i henhold til innfrysningstemperaturen. Ved for høy innfrysningstemperatur fryser vannet sakte og konsentrasjonene av blant annet salter og enzymer øker i cellerestvannet, som videre forårsaker en kjemisk reaksjon kalt frysedenaturering. Saltet som inneholder ioner og enzymer påvirker proteinene og reduserer vannbindingsevnen i muskelcellene, og den økte konsentrasjonen av enzymer akselerer de autolytiske nedbrytningsprosessene. I tillegg vil cellevannet ved for høy innfrysningstemperatur danne store iskrystaller som videre medfører at celleveggen ødelegges. Ved tilstrekkelig lav innfrysningstemperatur dannes det mindre

iskrystaller som ikke vil skade cellemembranen, og i tillegg minsker konsentrasjon av salt og enzymer som følger av et mindre restvannvolum (Sun and Zheng, 2006, Burgaard, 2010).

Fisk og fiskeprodukter som fryses i en pre-rigor tilstand vil kunne gi et betydelig krympeproblem ved tining i høye temperaturer. Fenomenet kalles "tinerigor" og kan lede til tap av vann og oppløste stoffer spesielt for fiskefileter som fører til hard og tørr tekstur (McDonald and Jones, 1976, Cappeln et al., 1999). I en hel fisk hvor muskelen er festet til beinene, kan spenningen som utvikles i segmentene under tine-rigor fasen bryte bindevev og dermed gi mye filetspalting ved industriell filetering (Jones, 1969, Cappeln and Jessen, 2001). Fileter som fryses pre-rigor vil under tining krympe som følger av ikke å være festet til skjelettet (Jones, 1965, Stroud, 1968, Cappeln and Jessen, 2001). Effekten av tine rigor representerer både et økonomisk og et kvalitetsmessig tap for fiskeindustrien, men kan begrenses gjennom riktig innfrysning og fryselagring. En kontrollert tine prosedyre foreslått av Bito, (1986) som omhandler tining ved lave temperaturer kan redusere tine-rigor problematikken (Bito, 1986).

### 3. Materialer og metode

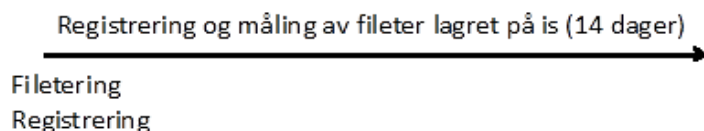
#### 3.1 Råstoff og slaktemetode

Et antall på 23 oppdrettstorsk fra 1,8 – 6,5 kg ble avlivet på Havbruksstasjonens sjøanlegg på Ringvassøya i månedene oktober 2012 – mars 2013. Sjøtemperaturen varierte fra 3,3 – 8,1 °C Alle fiskene som ble brukt i disse forsøkene ble fanget med hov fra samme merd og gjennomgikk en slakteprosedyre som innebar slag mot hode, gjellekutt for utblødning i en balje med rennende/utskiftende ferskvann og is i ca. 30 minutter. Deretter ble fisken veid (g) med og uten slog, samt målt i lengde (cm) for utregning av slog prosent og K-faktor. K-faktoren ble beregnet ut i fra Fultons formel:  $K = (\text{vekt (g)/lengde (cm)}^3) * 100$  (Nash et al., 2006). Etter sløyting og hodekapping ble fisken rensset og vasket. Fisken ble kjølelagret på is enten i sløyd eller filetert form, og transportert til Nofima. Totalt ble det gjennomført 4 fileteringsforsøk.

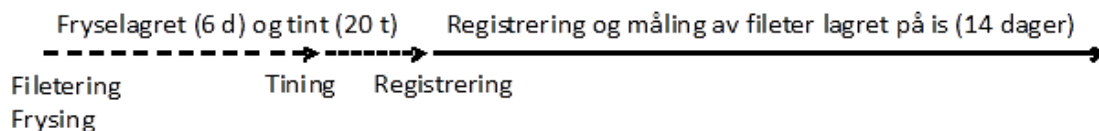
#### 3.2 Forsøk 1. Tining av pre-rigor produserte fileter fryselagret ved – 25 °C i 6 dager.

I det første forsøket (oktober 2012) ble 8 oppdrettstorsk mellom 1,8 og 3,9 kg filetert (16 fileter) 3 timer *post mortem*. Det eksperimentelle oppsettet for forsøket inkluderte 2 grupper med 8 pre-rigor fileter i hver gruppe, henholdsvis behandlet fersk og frosset (fig. 6).

##### Pre-rigor fersk (3 t. P.M.)



##### Pre-rigor frosset (3t. P.M.)



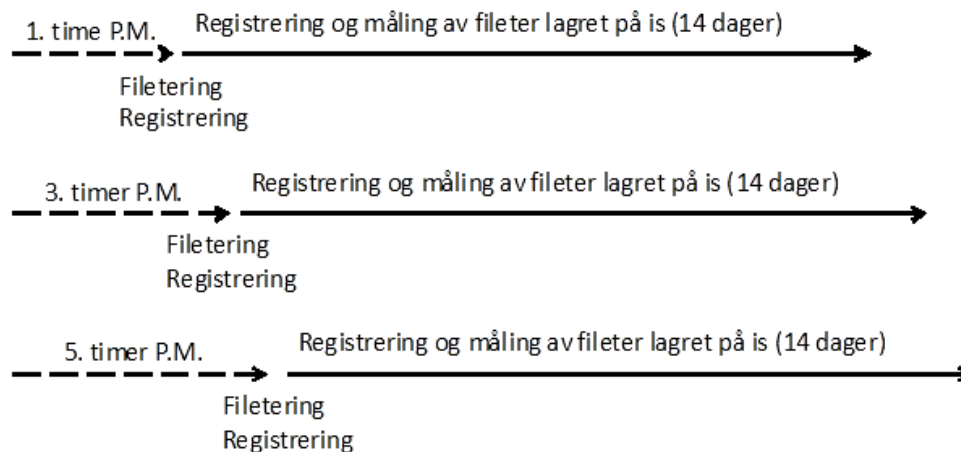
Figur 6: Skjematisk beskrivelse av det eksperimentelle forsøket for ferske og frosne pre-rigor fileter 3 timer *post mortem*. Den heltrukket linjen illustrerer måling og registrering av rigor kontraksjon, pH utvikling og vekt tap i perioden hvor filetene er kjølelagret på is ved 0 °C temperatur. Starten på denne linjen indikerer også første måling ( $T_0$ ) for begge gruppene. Den stiplede linjen illustrerer både fryselagring ved – 20 °C i 6 dager og en tineperiode på 20 timer ved 1 °C temperatur.

De 2 gruppene ble ved fileteringstidspunktet registrert med hensyn på lengde (cm), vekt (g) og pH. Alle filetene i begge gruppene ble etter filetering og registrering oppbevart i egne gjennomsiktige poser (30 x 40cm) med lås for væskeansamling og registrering av vekttap. Filetene ble i tillegg strekt ut i posen slik at man for de frosne filetene også kunne måle en mulig fryse-/tinerigor ved endt fryselaeringsperiode. For gruppen med frosne fileter ble disse øyeblikkelig etter å ha kommet i poser, nedfrosset på et fryserom i – 20 °C temperatur, og fryselaeringsperioden hadde en varighet på 6 dager. Ved uttak til tining ble filetlengden målt for å registrere en mulig rigorsammentrekning. Filetene ble videre tint i luft ca. 1 °C i ca. 20 timer på et kjølerom. Etter tineperioden ble første måling ( $T_0$ ) registrert for gruppen frosne pre-rigor fileter, og filetene ble videre lagret i 332 timer i en kasse tildekt med is (kjølelagret på is) ved 0 °C temperatur. For gruppen med fileter behandlet fersk ble disse kjølelagret på is gjennom hele forsøket (336 timer). Første måling ( $T_0$ ) skjedde ved fileteringstidspunktet. Selve målingene for rigorkontraksjon og pH ble gjennomført med 2 timers intervaller de første 20 timene, hovedsakelig grunnet optimale registreringer for rigorsammentrekningen og hvordan pH-verdiene korresponderer ut fra krympingen. Deretter avtok intervallene til 2 x 4 timer, 1 x 6 time, 1 x 8 og tilslutt hver 24 time gjennom forsøksperioden. Selve registreringen foregikk på et kjølerom ved 1 °C temperatur gjennom hele forsøksperioden.

### **3.3 Forsøk 2. Filetering av torskefileter i pre-rigor perioden 1, 3 og 5 timer etter slakting.**

I det andre forsøket ble 4 oppdrettstorsk (fra november 2012) mellom 2 – 3,6 kg filetert (8 fileter) 1 og 5 timer post mortem. Gruppen 1 time ble filetert ved Havbruksstasjonen i Tromsø, pakket ned og transportert som filet. Gruppen 5 timer ble filetert 4 timer seinere i forsøkshallen på Nofima AS (fig. 7). Det eksperimentelle oppsettet for forsøket inkluderte 2 grupper med 8 pre-rigor fileter i hver gruppe, henholdsvis filetert ved to ulike tidspunkt *post mortem* (fig. 7). Som i forsøk 1 ble begge gruppene (1 time og 5 timer) registrert ved fileteringstidspunktet med hensyn på lengde (cm), vekt (g) og pH. Alle filetene i begge gruppene ble også i dette forsøket oppbevart i egne gjennomsiktige poser med lås og lagret i kasser tildekt med is (kjølelagret på is). Forsøket varighet for de ferske pre-rigor filetene med ulike fileteringstidspunkt 1 og 5 timer varte i 188 timer (ca. 8 dager). Resultatet fra forsøk 1 for gruppen fersk 3 timer *post mortem*, er inkludert i dette forsøket til sammenligning.

### Pre-rigor fersk



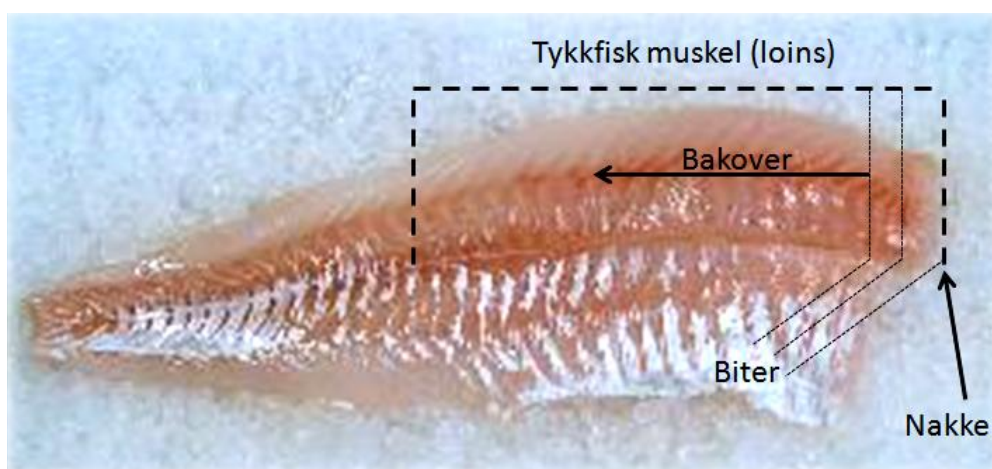
Figur 7: Skjematisk beskrivelse av det eksperimentelle forsøket for ferske pre-rigor fileter filetert 1, 3 og 5 timer *post mortem*. Den heltrukket linjen illustrerer måling og registrering av rigor kontraksjon, pH utvikling og vekt tap under lagringsperioden for filetene ved 0 °C temperatur. Starten på denne linjen indikerer også første måling ( $T_0$ ) for alle gruppene. Den stiplede linjen illustrerer de forskjellige tidene 1, 3 og 5 timer *post mortem* før filetering. Det presiseres at gruppen 3 timer *post mortem* er resultatene fra forsøk 1 og er tatt med til sammenligning i dette forsøket.

### 3.4 Forsøk 3. Utvikling av muskel-pH under innfrysing, fryselagring og tining av pre-rigor prod. fileter.

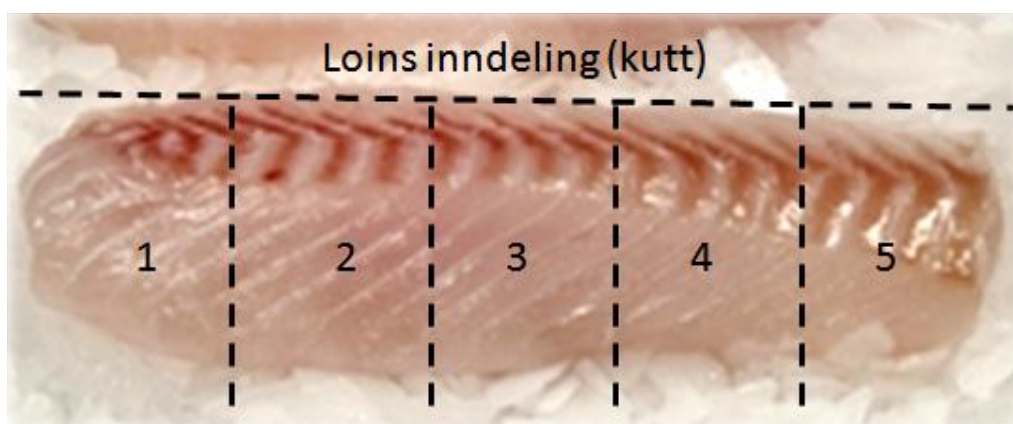
I det tredje forsøket (februar 2013) ble 3 oppdrettstorsk mellom 4,1 og 6,4 kg filetert (6 fileter) 3 timer *post mortem*. Det eksperimentelle oppsettet for forsøket inkluderte 6 ulike behandlinger for alle 6 pre-rigor fileter. For å gjøre dette forsøket enklest mulig, ble forsøket inndelt i tre deler.

I den første delen ble tykkfiskmuskelen (loinsen) skåret ut fra høyre og venstre filetene av fisk 1. Loinsen ble videre kuttet i biter (fra nakke og bakover) med vekt mellom 12,1 og 31,7 gram (fig. 8), og lagt i merkede nummererte poser (10 x 15 cm) med lås. Bitene som stammet fra høyre loins ble frosset inn ved - 20 °C, og bitene fra venstre loins fra samme fisk ble frosset inn ved - 30 °C. Måling av pH ble gjort med Bendalls metode (Bendall, 1973). Første måling ( $T_0$ ) for den første merkede (1) for begge gruppene ble gjort direkte ved kutting av bitene (ikke frosset). Det ble videre tatt ut biter fra gruppene ved intervaller på 2 timer de første 10 timene og videre etter time 20, 30, 44, 56, 68, 80, 92 og 162 *post mortem*. De siste bitene ble tatt ut etter time 162 og tint i luft ca. 1 °C i 12 timer og deretter målt for pH verdier etter time 174 *post mortem*.

I den andre delen av forsøk 3 ble to hele pre-rigor høyre- og venstrefileter fra samme fisk (fisk 2), frosset inn direkte ved filetering i de samme temperaturer  $-20$  (høyre) og  $-30$  (venstre)  $^{\circ}\text{C}$  som i den første delen. Filetene ble videre fryselagret i 43 timer og deretter tatt ut til tining i luft ved  $1^{\circ}\text{C}$  temperatur. Ved uttak til tining (første måling =  $T_0$ ) ble biter mellom 9,1 og 25,7 gram fra de to ulike filetene skåret ut fra nakke og bakover (fig. 8) samt registrert med hensyn på vekt (g) og så homogenisert på samme måte som i del 1 (Bendalls metode). Deretter ble de homogeniserte løsningene registrert med hensyn på pH verdier. Denne prosessen ble gjort under intervallene 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 42 og 54 timer tining og kjølelagring.



Figur 8: Billedlig fremvisning av en helfilet av oppdrettstorsk hvor tykkfisk muskelen (loins) er markert (tykk stiplet linje), og hvor biter av loinsen ble kuttet av (tynn stiplet linje), registrert for vekt og tilsatt lik mengde 0,15 M KCl løsning for pH måling. Pilene indikerer hvor nakken starter og retningen prøvene (bitene) ble gjort.



Figur 9: Billedlig fremvisning av en loins inndelt og kuttet i 5 deler (tykk stiplet linjer), hvor de ulike delene ble registrert for vekt og deretter homogenisert i lik mengde 0,15 M KCL løsning for maling av pH.



For å dokumentere innfrysning og tinekurve ble høyrefiletene fra fisk 3 (del 3) tilkoblet til sammen 2 temperaturlogger (Testo 177, GmbH, Germany) plassert med lik avstand, og deretter innpakket forsiktig i en gjennomsiktig pose av plast og lukket med tape. Filetene ble videre satt i en fryseboks og oppbevart i ca. 43 timer ved  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatur. Deretter ble fileten tatt ut av fryseboksen til tining i luft ( $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) ca. 2 timer og videre kjølelagret på is i 52 timer.

For venstrefileten (fisk 3) ble loinsen skåret ut og delt inn i 5 deler (fig. 9). Hver del ble så registrert med hensyn på vekt (g) og videre homogenisert ved bruk av Bendalls metode for registrering av pH.

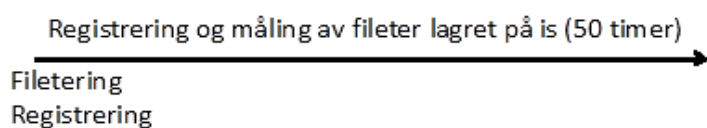
### **3.5 Forsøk 4. Effekter av en 5 timers innfrysingsperiode på egenskaper til pre-rigor produserte fileter.**

I det fjerde og siste forsøket (mars 2013) ble 4 oppdrettstorsk mellom 2,4 – 3,8 kg filetert (8 fileter) 3 timer *post mortem*. Det eksperimentelle oppsettet for forsøket inkluderte 2 grupper med 3 pre-rigor fileter som ble behandlet henholdsvis fersk og frosset (fig. 10). I tillegg ble en filet tilkoblet en temperaturlogger for dokumentasjon av frysekurve. Den åttende fileten ble ikke inkludert i forsøket. De to gruppene ble ved fileteringstidspunktet registrert med hensyn på filetlengde (rigorkontraksjon) vekt (vekttap) og pH-verdier.

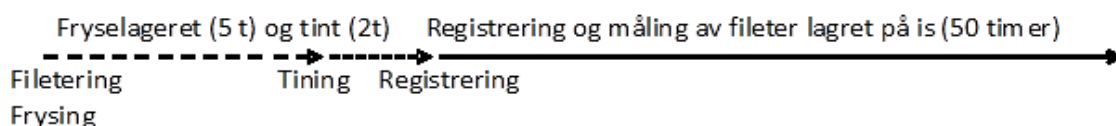
Den ferske gruppen (venstrefiletene) ble kjølelagret på is under hele forsøket. Første måling ( $T_0$ ) for denne gruppen var ved fileteringstidspunktet (3 timer *post mortem*), og deretter ble gruppen kjølelagret på is i fem timer før neste måling. De videre registreringsintervallene for denne gruppen var 8 x 2 timer (t), 2 x 4 t, 1 x 6 t, 1 x 9 t og 1 x 6 (t). Summert og tilsvarende filetalder 50 timer *post mortem*.

Den frosne gruppen (høyrefiletene) og fileten med tilkoblet temperaturlogging ble etter filetering frosset ned i 5 timer ved  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatur for så å tine 2 timer i luft ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatur, og deretter kjølelagret på is for resten av forsøkestiden. Første måling ( $T_0$ ) for gruppen er etter fryseperioden (5 timer) og lufttining (2 timer), det vil si 10 timer *post mortem* eller 7 timer etter fileteringstidspunkt. Fileten med temperaturlogging ble aldri målt eller åpnet, men ble kun liggende urørt for temperaturlogging. Registreringsintervallene for denne gruppen var den samme som for den ferske gruppen.

### Pre-rigor fersk (3 t. P.M.)



### Pre-rigor frosset (3t. P.M.)



Figur 10: Skjematisk beskrivelse av det eksperimentelle forsøket for ferske og frosne pre-rigor fileter ( $n = 3$ ) filetert 3 timer *post mortem*. Den heltrukket linjen illustrerer måling og registrering av rigor kontraksjon, pH utvikling og vekt tap i perioden hvor filetene er kjølelagret på is ved  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatur. Starten på denne linjen indikerer også første måling ( $T_0$ ) for begge gruppene. Den stiplede linjen illustrerer både fryselagring ved  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 5 timer og en tineperiode på 2 timer ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatur.

## 3,6 Muskelkontraksjon

Muskelkontraksjon evaluert ved å måle lengden på fileten etter filetering og på ulike tidspunkt senere. Muskelkontraksjon er uttrykt i prosent av opprinnelig lengde:  $100 - (L_t * 100 / L_0)$ , hvor  $L_0$  representerer filetlengden ved starten av fileteringspunktet for fersk filet, og første måling etter tineperioden for frosne fileter. Variabelen  $L_t$  representerer filetlengden ved tidspunkt  $t$  etter filetering.

## 3,7 Måling av pH

Måling av pH ble utført med et WTW330/set-1 pH-meter (Wissenschaftliche- Technische Werkstätten, Weilheim, Germany) som var utstyrt med en glasselektrode (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Switzerland) som ble stukket inn på samme sted ca. midt i tykkfiskmuskelen (loinsen) under ryggfinneren. I tillegg ble pH noen ganger malt med å blande sammen 1 del  $0,15\text{ M KCl}$  og en del muskel (1/1 forhold) og homogenisert i ca.  $2 \times 10$  sekunder ved hjelp av en stavmikser (Bendall, 1973). Deretter ble det foretatt pH målinger med vanlig pH meter av samme type ovenfor.

## 3,8 Vekttap

Filetene ble registrert ved vekt etter filetering ( $V_0$ ), deretter ble vekttapet beregnet ved dag 2, 4, 6, 8, 10, 12 og 14 ( $V_d$ ). Filetene ble oppbevart i gjennomsiktige plastikkposer med

lås gjennom hele forsøksperioden, men posene ble byttet ut med nye poser hver andre dag. Fileten ble etter dag 2 tatt ut av posen og registrert for vekt, for så å bli lagt i en ny pose. Posen med fileten ble lagt tilbake i kassen og dekt med is. Samme prosess ble gjort for hver registreringsdag. Vekttapet ble bestemt ved innveining av filetene ved forskjellige tidspunkt under lagring, og vekttap (%) ble kalkulert ved:  $\text{Vekttap (\%)} = 100 - (V_d \cdot 100 / V_0)$ .  $V_0$  representerer filettevekten ved fileteringstidspunktet og første måling for begge gruppene, og variabelen  $V_d$  tilsvarer vekten ved dagen  $d$  etter første måling.

### **3,9 Statistiske analyser av resultatene**

For å analysere signifikante forskjeller ( $P < 0,05$ ) i forsøkene ble det brukt Microsoft Excel og en tosidig student T-test med ulike varians.



## 4. Resultater

### 4.1 Biologisk råstoffdata av oppdrettstorsk

Oppdrettstorsken brukt i forsøkene (1 – 4) hadde en relativ stor variasjon i rundvekt (tab.1). I forsøk 1 var vekten  $2872 \pm 913$  gram, i forsøk 2:  $2882 \pm 513$  gram, forsøk 3:  $5083 \pm 969$  gram og forsøk 4:  $2906 \pm 612$  gram. Slog prosenten utgjorde for forsøk 1:  $26 \pm 5,2$  %, forsøk 2:  $26 \pm 2,5$  %, forsøk 3:  $28 \pm 5,7$  og forsøk 4 utgjorde  $31 \pm 4,6$  %. K-faktoren for forsøk 1 viste  $1,33 \pm 0,13$ , forsøk 2:  $1,38 \pm 0,16$ , forsøk 3:  $1,45 \pm 0,13$  og forsøk 4 viste  $1,35 \pm 0,24$ .

Tabell 1: Biologiske data for oppdrettstorsk filetert pre-rigor (n = 23). Dataen inkluderer fiskens rund vekt i gram, vekt uten slog i gram, slog innhold i %, lengde i centimeter og utregnet k-faktor (vekt/lengde<sup>3</sup>) x 100.

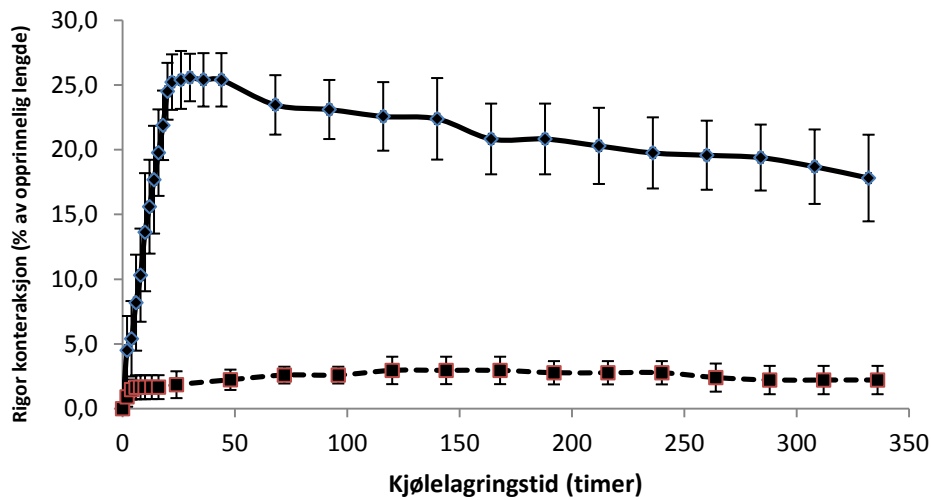
Biologisk data	Lengde (cm)	Rund vekt (g)	Sløyd vekt (g)	Slog (%)	K-faktor
<b>Forsøk 1 (n=8) okt. 2012</b>	59,3 ± 5,8	2872 ± 913	2080 ± 566	26 ± 5,2	1,33 ± 0,13
<b>Forsøk 2 (n=8) nov. 2012</b>	59,3 ± 2,9	2882 ± 513	2138 ± 388	26 ± 2,5	1,38 ± 0,16
<b>Forsøk 3 (n=3) feb. 2013</b>	70,3 ± 2,6	5083 ± 969	3630 ± 498	28 ± 5,7	1,45 ± 0,13
<b>Forsøk 4 (n=3) mar. 2013</b>	60,0 ± 4,7	2906 ± 612	2010 ± 411	31 ± 4,6	1,35 ± 0,24

### 4.2 Forsøk 1. Tining av pre-rigor produserte fileter fryselagret ved - 25 °C i 6 dager.

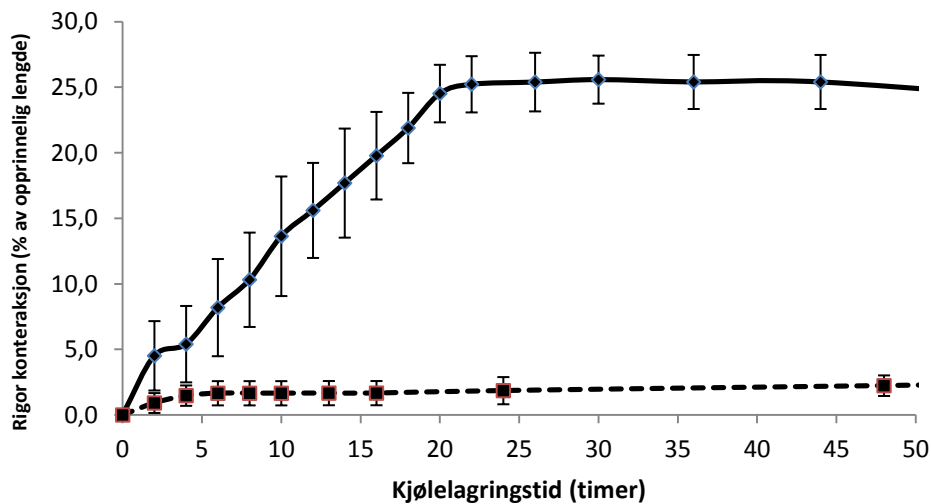
Rigorkontraksjon, pH og vekttap ble undersøkt hos 8 pre-rigor fileterte oppdrettstorsk (16 fileter) 3 timer *post mortem*, hvor høyrefiletene ble lagret fersk tildekket med is, og venstrefiletene ble nedfrosset i 6 dager i - 20 °C + 20 timer tining i luft ca. 1 °C. Målingene startet direkte etter filetering for ferske fileter (T<sub>0</sub>), mens for de frosne filetene startet T<sub>0</sub> etter at fiskens temperatur ble endret fra - 20 °C til ca. 0 °C (se 2.2). Den potensielle tinerigor perioden på 20 timer ble også registrert (tab.2). Figur 11a tilsvare resultatet for hele forsøkets varighet ved 336 timer (ca. 14 dager), og figur 11b viser samme resultat men kun for forsøkets første 50 timer. Det samme gjelder for figur 12a og 12b (pH målinger).

Det ble funnet en svært markert rigorkontraksjon for de ferske pre-rigor filetene i forsøket (fig. 11a). Den maksimale kontraksjonen fant sted etter 30 timer kjølelagring, og resulterte i ca. 26 % sammentrekning (fig. 11b). Etter 332 timer (ca. 14 dager) kjølelagring hadde sammentrekningen avtatt til ca. 16 % av opprinnelig lengde (fra T<sub>0</sub>). Rigor kontraksjonen i frossen fileter tilsvarte bare ca. 3 % av opprinnelig lengde og var signifikant lavere gjennom den totale lagringsperioden. Med tineperioden (20 timer) tatt i betraktning resulterte den totale rigorkontraksjon på ca. 6,3 %. Sammentrekningen for de frosne filetene avtok også litt i

forhold til maks rigor, og etter den totale kjølelagringstiden (336 timer) målte filetene 5,5 % rigor fra  $T_0$ .



Figur 11a: Utvikling av rigor kontraksjon (% av filetens lengde i utgangspunktet) hos torsk filetert pre-rigor (3 timer *post mortem*). Kontraksjonen i fersk filet er relatert i forhold til lengden ved fileteringspunktet (hel trukket linje). Pre-rigor produsert filet fryselagret i 6 døgn ved  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  og deretter tint ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 20 timer før registrering av lengdeforandringene (stiplet linje). Lengde ved tid = 0 er ved første måling etter opptining.  $n = 8$  i begge grupper. Gruppen fersk hadde signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere verdi sammenlignet med frosset med hensyn på kontraksjon gjennom hele forsøket (se appendix 1).



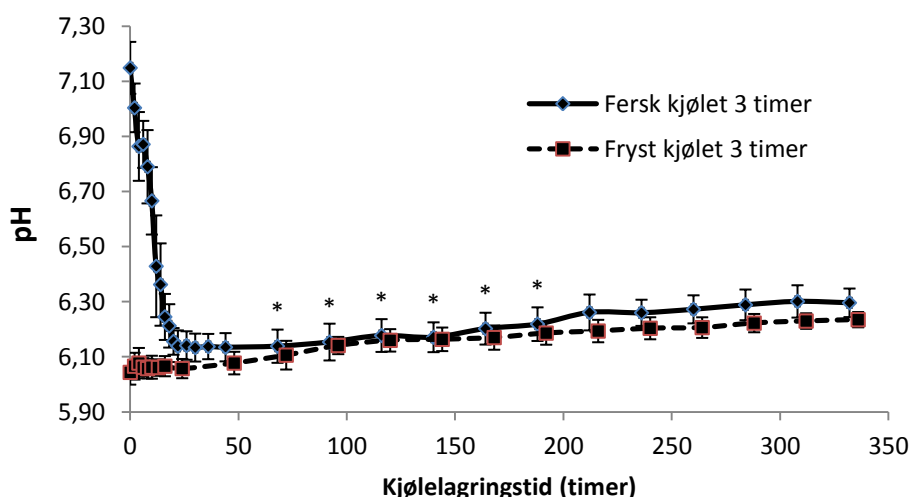
Figur 11b: Utvikling av rigor kontraksjon (% av filetens lengde i utgangspunktet) hos torsk filetert pre-rigor (3 timer *post mortem*). Kontraksjonen i fersk filet er relatert i forhold til lengden ved fileteringspunktet (hel trukket linje). Pre-rigor produsert filet fryselagret i 6 døgn ved  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  og deretter tint ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 20 timer før registrering av lengdeforandringene (stiplet linje). Lengde ved tid = 0 er ved første måling etter opptining.  $n = 8$  i begge grupper. Gruppen fersk hadde signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere verdi sammenlignet med gruppen fryst med hensyn på kontraksjon gjennom hele forsøket (se appendix 1).

Tabell 2: Utvikling av fryse-/tinerigor kontraksjon hos fersk torsk (n = 8) filetert pre-rigor (3 timer *post mortem*). % av filetlengde ved fileteringstidspunkt, gjennom en periode på 6 døgn frosset og 20 timer tining før første måling.

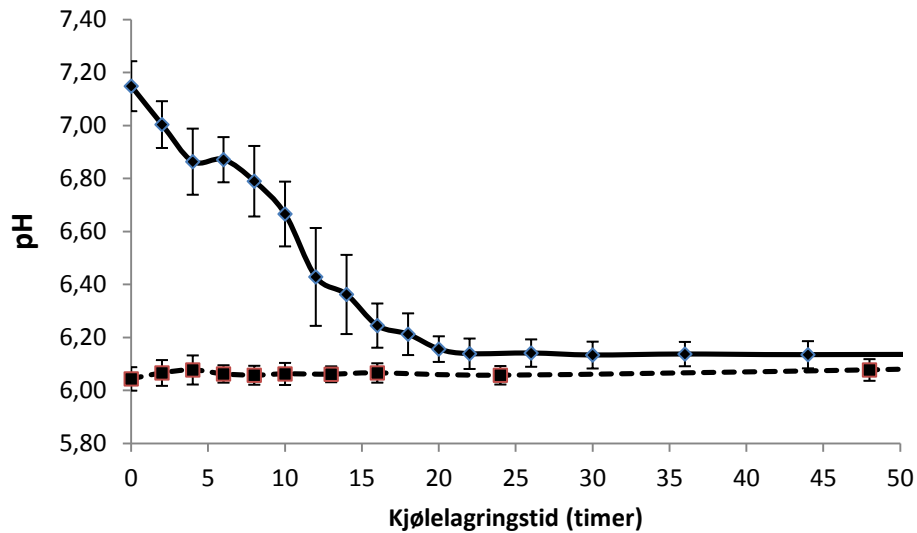
	Før frysing	Etter tining	Før frysing	Etter tining	
Biologisk data	Lengde (cm)	Lengde (cm)	pH	pH	Krymping (%)
Oppdrettstorsk (n = 8)	35 ± 1,7	34 ± 1,6	7,14 ± 0,1	6,04 ± 0,0	2,7 ± 1,3

Resultatene for pH-målingene viste svært markerte forskjeller i starten av forsøket mellom ferske og frosset pre-rigor fileter, men verdiene fulgte hverandre resten av den totale lagringstiden (figur 12a). For ferske pre-rigor fileter viste pH-målingen 7.14 ved T<sub>0</sub> og avtar kraftig til pH 6.28 etter 12 timer (figur 12b). Bunnpunktet for pH målingen skjer likevel ikke før etter 30 timer hvor pH-verdien gradvis avtok til 6,13. Deretter steg pH-verdien litt utover i den totale kjølelagringsperioden til pH 6,30.

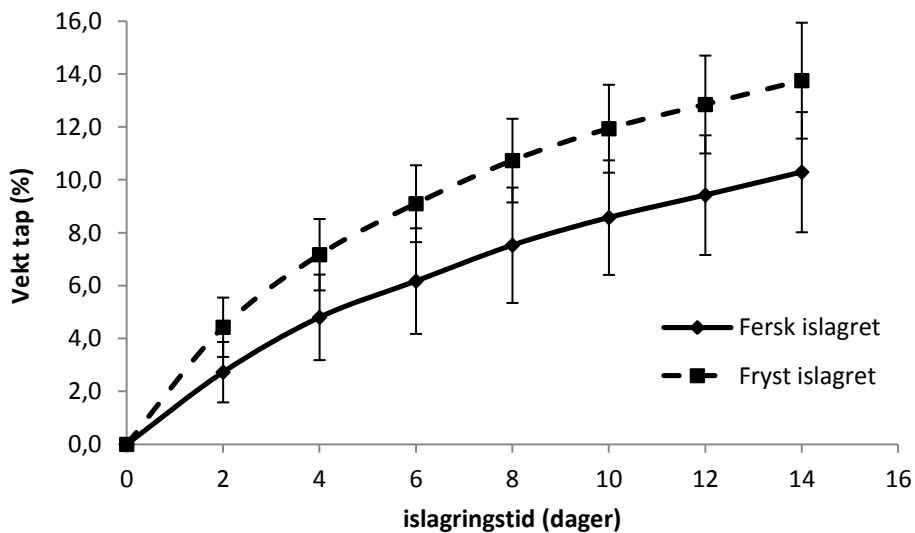
For de frosne pre-rigor filetene ble den laveste pH-målingen registrert etter første måling etter tineperioden og målte 6,04. Dette pH-nivået for frosne pre-rigor fileter er betydelig lavere enn pH-nivået observert for de ferske pre-rigor fileter. Gruppen med frosne pre-rigor fileter hadde også en gradvis økning i pH fra første måling gjennom den totale lagringsperioden, og målte pH 6,24 ved siste måling etter 336 timer.



Figur 12a: Utvikling av pH hos torsk filetert pre-rigor (3 timer *post mortem*). Fersk filet (hel trukket linje). Pre-rigor produsert filet fryselagret i 6 døgn ved -20 °C og deretter tint ved 1 °C i 20 timer før registrering av pH utvikling (stiplet linje). pH-verdi ved tid = 0 er ved fileteringstidspunktet for fersk filet og ved første måling for den opptinte fileten. n = 8 i begge grupper. Perioden med punktene 68 (fersk) og 72 (frosset) – 188 (fersk) og 192 (frosset) markert med stjerne viser hvor gruppene ikke har signifikante (P > 0,05) forskjeller mellom seg (se appendix 1).



Figur 12b: Utvikling av pH hos torsk filetert pre-rigor (3 timer *post mortem*). Fersk filet (hel trukket linje). Pre-rigor produsert filet fryselagret i 6 døgn ved  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  og deretter tint ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 20 timer før registrering av pH utvikling (stiplet linje). pH-verdi ved tid = 0 er ved fileteringstidspunktet for fersk filet og ved første måling for den opptinte fileten.  $n = 8$  i begge grupper. Gruppen fersk hadde signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) verdi sammenlignet med gruppen frosset med hensyn på pH de første 50 lagringstimene (se appendix 1).



Figur 13: Utvikling av vekt tap (% av filettekten i utgangspunktet) hos torsk filetert pre-rigor (3 timer *post mortem*). Vekt tap i fersk (hel trukket linje) og frosset (stiplet linje) filet er relatert i forhold til vekten ved fileteringstidspunktet. Fersk pre-rigor filet ble lagret i 2 døgn før første registrering etter fileteringstidspunktet. Frosset pre-rigor produsert filet ble lagret i 6 døgn ved  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  og ble videre tint ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 20 timer og deretter lagret i 2 døgn før førstemåling etter fileteringstidspunktet.  $n = 8$  i begge grupper. Gruppen fersk hadde signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) verdi sammenlignet med gruppen frosset med hensyn på vekt tapet gjennom alle forsøksdagene (se appendix 1).



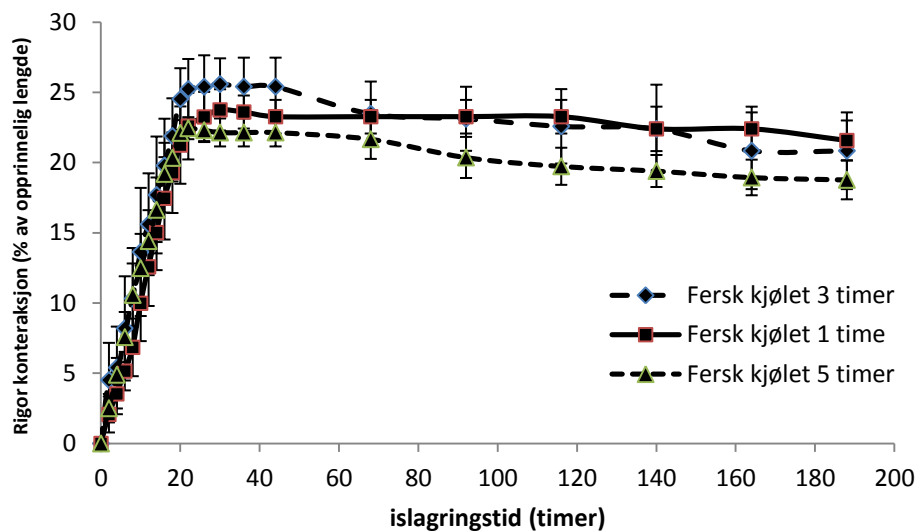
Vekttapet gjennom 14 dager lagring på is for de eksperimentelle pre-rigor filet gruppene fersk og frosset, øker gjennom hele perioden (fig. 13). Vekttapet var lavest for de ferske pre-rigor filetene med ca. 10,3 % vektreduksjon gjennom 14 dager lagring på is. For gruppen frosset pre-rigor fileter var det et betydelig større vekttap med 13,8 %, noe som gir en differanse mellom gruppene fersk og frosset pre-rigor fileter på 3,5 %. Gjennom lagringsperioden (14 dager) for gruppene fersk og frosset viste tendensen med hensyn på vekttap differanse mellom gruppene å være svært økende i starten for så å avta, men tendensen var økende i alle målte dager.

### 4.3 Forsøk 2. Filetering av torskefileter i pre-rigor perioden 1, 3 og 5 timer etter slakting.

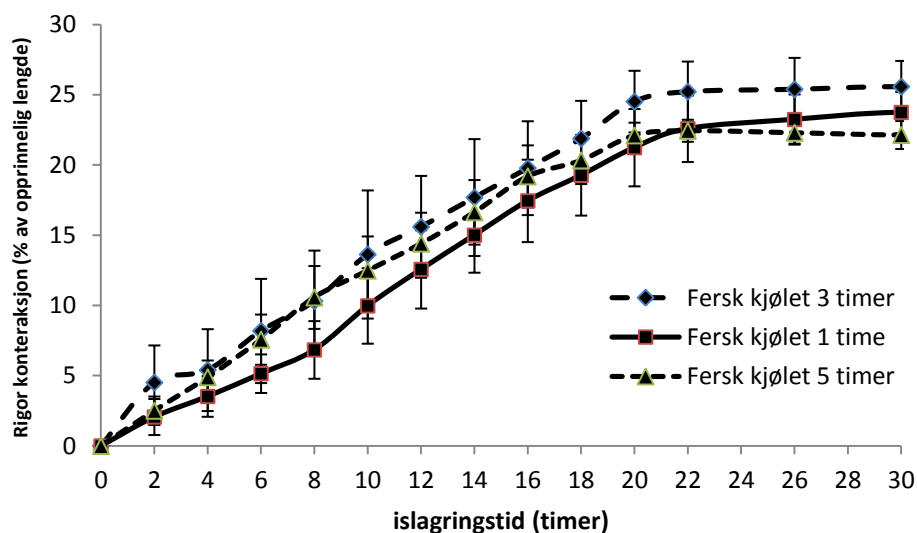
Rigorkontraksjon, pH og vekttap ble undersøkt hos 4 pre-rigor fileterte oppdretts torsk (8 fileter) fordelt på 2 grupper, med forskjellig fileteringstidspunkt 1 og 5 timer *post mortem*. Resultatet for pre-rigor filet produsert 3 timer *post mortem* fra forsøk 1. Fisk i gruppen 3 timer *post mortem* hadde ulik slaktemåned (oktober), mens gruppene 1 og 5 timer *post mortem* ble slaktet i november. Målingene startet ved fileteringstidspunktet for begge gruppene henholdsvis 1 og 5 timer *post mortem* ( $T_0$ ). Figur 14a tilsvare resultatet for hele forsøket varighet ved 188 timer (ca. 8 dager), og figur 14b viser samme resultat men kun for forsøket første 50 timer. Det samme gjelder for figur 15a og 15b.

Det ble funnet relativt små ulikheter mellom gruppene pre-rigor fileter produsert 1, 3 og 5 timer *post mortem* med hensyn på rigorkontraksjon (fig. 14a). Hvis vi isolerer gruppene pre-rigor fileter 1 og 5 timer *post mortem* fra gruppen 3 timer *post mortem* ettersom de stammer fra samme slaktedag og samme batch, kan man se at kurven for gruppen 1 time har en litt slakere kurve opp mot maksimum rigor sammenlignet med gruppen 5 timer (fig. 14b). Etter 22 timer lagret på is krysser gruppene seg. Gruppe 1 har sin maksimale kontraksjon på 23,7 % etter 30 timer lagring på is. og gruppen 5 timer *post mortem* var allerede med maksimum kontraksjon 22,4 % etter 22 timer lagring på is. Gruppen pre-rigor 3 timer *post mortem* har sin maksimale kontraksjon 25,6 % etter 30 timer lagring på is. Hvis vi ser utover i lagringstiden holder gruppen 1 time *post mortem* seg relativt stabil, men kontraksjonen avtar litt fra maksimum (2,1 %) til 21,6 % etter 188 timers lagring på is. Gruppen pre-rigor 5 timer *post mortem* avtar 3,6 % til 18,8 %. For den siste isolerte gruppen (3 timer *post mortem*) avtar kontraksjonen mest (4,8 %) til 20,8 % etter 188 timer lagring på is. Gruppen 3 timer ble påvist signifikant høyere kontraksjon sammenlignet med gruppen 1 time i tidspunktet 20 – 44 timer

lagring på is. En sammenligning mellom gruppe 1 og 5 viste at gruppen 1 time hadde signifikant høyere kontraksjon mellom 68 – 188 timer lagring på is. Sammenligningen mellom gruppen 3 og 5 viste at gruppen 3 timer hadde signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) kontraksjon fra 20 – 140 timer lagring på is. Det ble påvist enkeltpunkter hvor gruppene 3 timer var signifikant høyere sammenlignet med gruppen 1 time etter 2, 8, lagringstimer i tillegg til punktene 20, 22, 26 og 30. I tillegg var gruppen 5 timer signifikant høyere sammenlignet med gruppen 1 time etter 6 og 8 lagringstimer i tillegg til punkt 30. Gruppen 3 timer var signifikant høyere sammenlignet med gruppen 5 timer i tidspunktet 20 – 30 timer lagring på is.



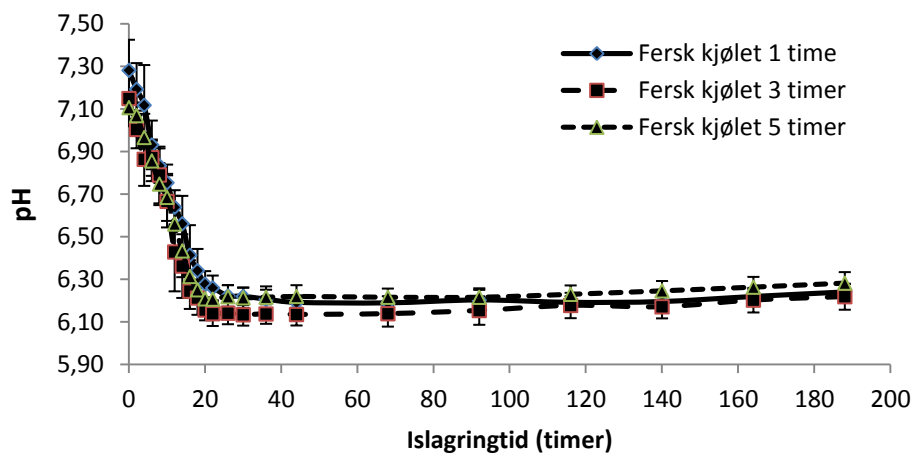
Figur 14a: Utvikling av rigor kontraksjon (% av filetlengden i utgangspunktet) i kjølelagrede fileter produsert pre-rigor 1,3 og 5 timer *post mortem* (1 time = hel trukket linje, 3 timer = tykk stiplede linje, 5 timer = tynn stiplede linje).  $n = 8$  i alle tre grupper. Gruppen 3 timer hadde signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) kontraksjon sammenlignet med gruppen 1 time i tidspunktet 20 – 44 timer lagring på is. En sammenligning mellom gruppe 1 og 5 viste at gruppen 1 time hadde signifikant høyere kontraksjon mellom 68 – 188 timer lagring på is. Sammenligningen mellom gruppen 3 og 5 viste at gruppen 3 timer hadde signifikant høyere kontraksjon fra 20 – 140 timer lagring på is (se appendix 2).



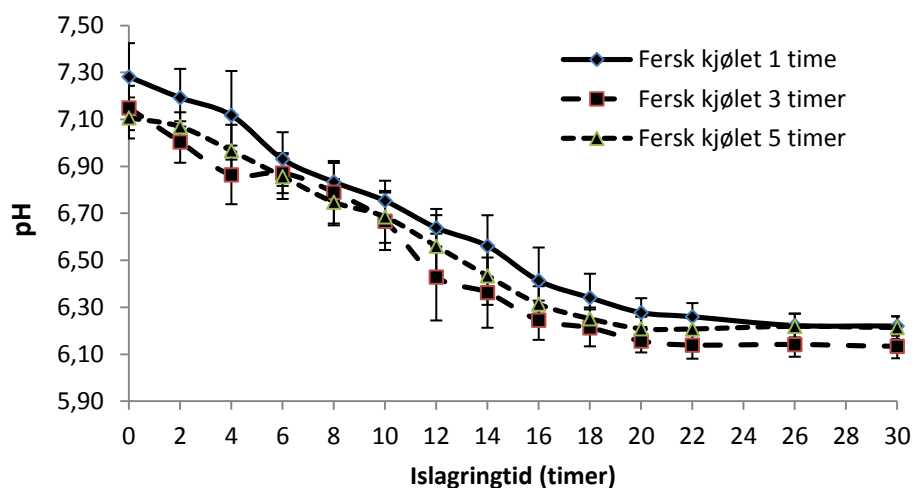
Figur 14b: Utvikling av rigor kontraksjon (% av filetlengden i utgangspunktet) i kjølelagrede fileter produsert pre-rigor 1,3 og 5 timer *post mortem* (1 time = hel trukket linje, 3 timer = tykk stiplet linje, 5 timer = tynn stiplet linje).  $n = 8$  i alle tre grupper. Det ble påvist enkeltpunkter hvor gruppene ”3 timer” var signifikant høyere sammenlignet med gruppen ”1 time” etter 2, 8 timer kjølelagring i tillegg 20, 22, 26 og 30 timer kjølelagring. I tillegg var gruppen ”5 timer” signifikant høyere sammenlignet med gruppen ”1 time” etter 6 og 8 lagringstimer i tillegg til punkt 30. Gruppen ”3 timer” hadde signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) kontraksjon sammenlignet med gruppen ”5 timer” i tidspunktet 20 – 30 timer kjølelagring (se appendix 2)

Resultatene for pH-målingene viste tilnærmet ingen forskjeller mellom de ulike gruppene pre-rigor fileter 1, 3 og 5 timer *post mortem* i forsøket (fig. 15a). Man kan likevel bemerke seg at gruppen pre-rigor fileter 1 time *post mortem* hadde høyest pH-verdi (7,28) mot gruppen pre-rigor fileten 5 timer *post mortem* verdi (7,11) ved  $T_0$  (fig. 15b). Disse to gruppene fulgte hverandre tilnærmet parallelt til ca. 20 timer lagring på is hvor gruppen 5 timer traff sitt bunnpunkt (pH 6,21). Etter 26 timers lagring på is krysser grafene seg mellom de to nevnte gruppene, og gruppen 1 time når ikke sitt pH bunnpunkt (pH 6,19) etter 44 timers lagring på is. Gruppen pre-rigor fileter 3 timer *post mortem* inneholder fisk fra en tidligere batch (oktober) og er derfor vanskelig å sammenligne med. Men vi ser at pH verdien med fileteringstidspunkt  $T_0$  måler 7,15 og ligger i mellom de to andre nevnte gruppene 1 og 5 timer. Det er også verd å merke seg at bunnpunktet for gruppen 3 timer også faller midt i mellom de to andre gruppene. Men resten av forsøket ligger stort sett pH-verdien for gruppe 3 timer lavest. Alle gruppene har en liten økning i pH-verdien (0,05, 0,17 og 0,07) for henholdsvis pre-rigor fileter produsert 1, 3 og 5 timer *post mortem* etter 188 timer. Gruppen 1 time var signifikant høyere sammenlignet med gruppen 3 timer fra 0 – 4, og 12 – 44 timer lagring på is. Gruppen 1 time var signifikant høyere sammenlignet med gruppen 5 timer fra 0

– 2, og 18 – 20 timer kjølelagret på is. Gruppen 5 timer var signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) sammenlignet med gruppen 3 timer fra 22 – 98 og 140 – 188 timer kjølelagret på is.

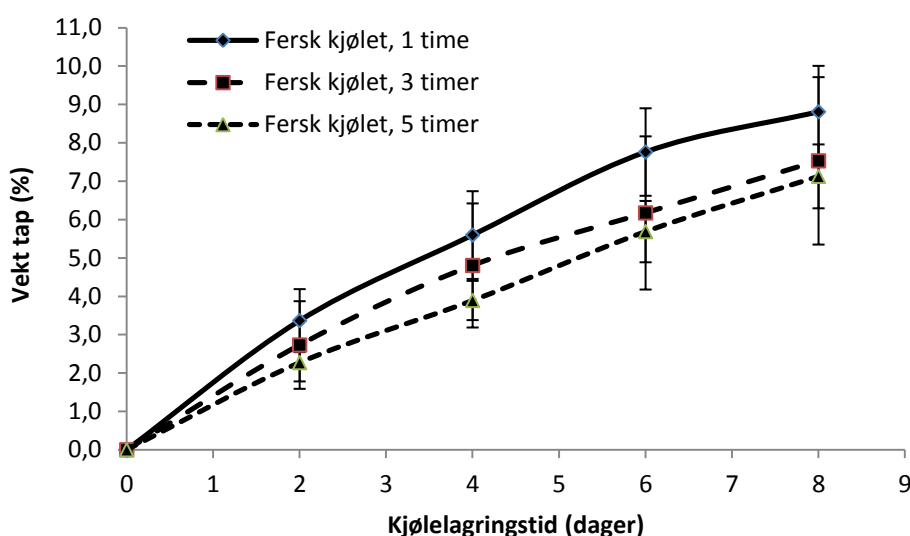


Figur 15a: Utvikling av pH i fileter produsert pre-rigor (1, 3 og 5 timer *post mortem*). 1 time (heltrukket linje), 3 timer (tykkstiplet linje) og 5 timer (tynnstiplet linje). pH-verdi ved tid = 0 er ved fileteringstidspunktet.  $n = 8$  i alle gruppene. Gruppen 1 time var signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere sammenlignet med gruppen 3 timer fra 0 – 4, og 12 – 44 timer lagring på is. Gruppen 1 time var signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) sammenlignet med gruppen 5 timer fra 0 – 2, og 18 – 20 timer kjølelagret på is. Gruppen 5 timer var signifikant høyere sammenlignet med gruppen 3 timer fra 22 – 98 og 140 – 188 timer kjølelagret på is (se appendix 2).



Figur 15b: Utvikling av pH i fileter produsert pre-rigor (1, 3 og 5 timer *post mortem*). 1 time (heltrukket linje), 3 timer (tykkstiplet linje) og 5 timer (tynnstiplet linje). pH-verdi ved tid = 0 er ved fileteringstidspunktet.  $n = 8$  i alle gruppene. Gruppen 1 time var signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere sammenlignet med gruppen 3 timer fra 0 – 4 og 12 – 30 timer kjølelagret på is. Gruppen 1 time var signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere sammenlignet med gruppen 5 timer fra 0 – 2 og 18 – 20 timer kjølelagret på is. Gruppen 5 timer var signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere sammenlignet med gruppen 3 timer fra 22 – 30 timer kjølelagret på is (se appendix 2).

Vekttapet gjennom 8 dager lagring på is for pre-rigor filet gruppene produsert 1, 3 og 5 timer *post mortem*, økte gjennom hele perioden (fig. 16). Vekttapet var høyest for gruppen 1 time med 8,8 % etter 8 dagers lagring på is, mens for gruppen 3 timer og 5 timer var vekttapet henholdsvis 7,5 og 7,1 %. Dette utgjør en differanse mellom den høyeste (8,8 %) og den laveste (7,1 %) henholdsvis gruppe 1 time og 5 timer på 1,7 % vekt tap med 4 timer forskjellig fileteringstidspunkt. Gruppen 1 time var signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere sammenlignet med gruppen 5 timer *post mortem*.

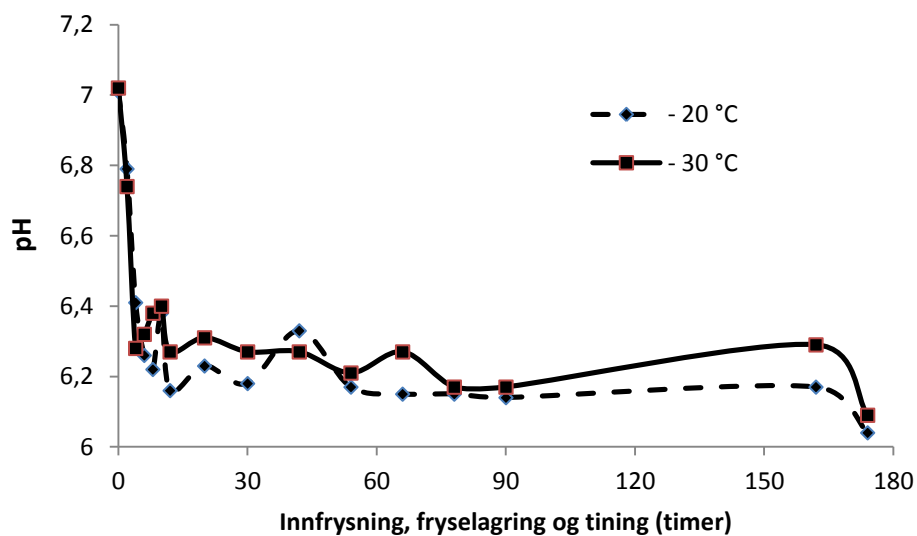


Figur 16: Utvikling av vekt tap (% av filettevkten i utgangspunktet) i fileter produsert pre-rigor 1, 3 og 5 timer *post mortem*. Vekttap i 1 time (hel trukket linje), 3 timer (tykkstiplet linje), og 5 timer (tynnstiplet linje) filet er relatert i forhold til vekten ved fileteringstidspunktet.  $n = 8$  i alle gruppene. Gruppen 1 time hadde signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) vekttap enn gruppen 5 timer (se appendix 2)

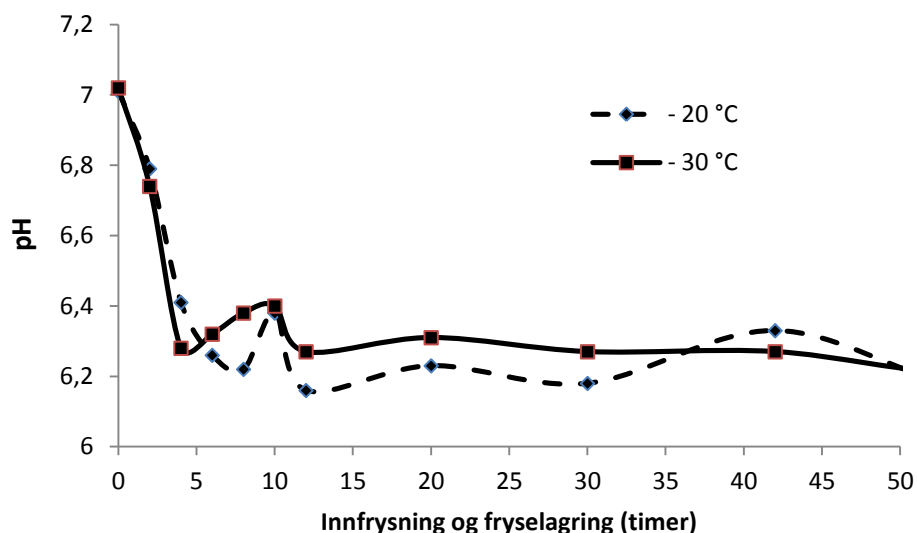
#### 4.4 Forsøk 3. Utvikling av muskel-pH under innfrysing, fryselagring og tining av pre-rigor prod. fileter.

Resultatene i dette forsøket er tredelt. I den første delen (del 1) var hovedhensikten å kartlegge samt, registrere pH-forskjeller på pre-rigor produsert filet 3 timer *post mortem* fra fileteringstidspunktet ( $T_0$ ) til fisken var innfrosset ved to ulike temperaturer, henholdsvis  $-20$  og  $-30$  °C (innfrysingsperiode). Registrering av pH av samme fisk ble også gjort under 162 timer fryselagring og 12 timer tining. Figur 17a tilsvarer pH resultatet ved innfrysning, fryselagring og tining for hele forsøkets varighet på 174 timer, og figur 17b fokuserer mer forsøkets fryselagringsfase de første 50 timene.

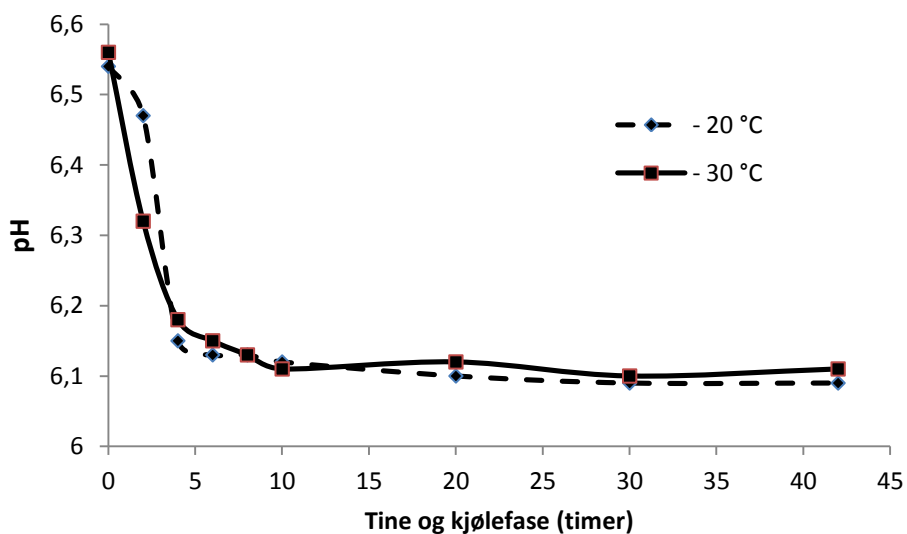
Det ble registrert en tilnærmet lik pH tendens for begge gruppene ( $-20$  og  $-30$  °C) gjennom hele forsøket (fig. 17a). Begge gruppene fikk et raskt fall i pH fra  $T_0$  hvor gruppene målte henholdsvis 7,01 og 7,02 for gruppene lagret ved  $-20$  og  $-30$  °C (fig. 17b). Gruppen som ble lagret i  $-30$  °C hadde tilsynelatende et litt rakere fall og var etter allerede 4 timer ved pH 6,28. Til sammenligning målte gruppen som ble lagret ved  $-20$  °C pH 6,41 etter 4 timer fryselagring, og pH 6,26 etter 6 timer lagring. Den laveste (ultimate) pH for begge gruppene var etter 90 timer fryselagring, hvor pH verdiene viste henholdsvis 6,14 og 6,17 for gruppene ( $-20$  og  $-30$  °C). Perioden mellom 90 og 162 timer lagring var tendensen for pH verdiene svak økende for begge gruppene med målte pH 6,17 og 6,29 etter 162 timer. Perioden mellom 162 og 174 timer lagring ble fisken tint på et kjølerom i luft ved  $1$  °C, og resulterte etter 12 timer tining i et pH fall for begge gruppene til pH 6,04 og 6,09.



Figur 17a: Utvikling av pH for biter av torskeloins (12,1 – 31,7 g) frosset inn ved ulike temperaturer  $-20$  °C (stiplet linje) og  $-30$  °C (hel trukket linje), gjennom en innfrysingsfase og fryselagrings- og tineperiode. Bitene er skåret og nummerert fra nakke og bakover i loinsen. Bitene ble homogenisert ved måling av pH.



Figur 17b: Utvikling av pH for biter av torskeloins (12,1 – 31,7 g) frosset inn ved ulike temperaturer - 20 °C (stiplet linje) og - 30 °C (hel trukket linje), gjennom en innfrysningsfase og fryselagrings- og tineperiode. Bitene er skåret og nummerert fra nakke og bakover i loinsen. Bitene ble homogenisert ved måling av pH.



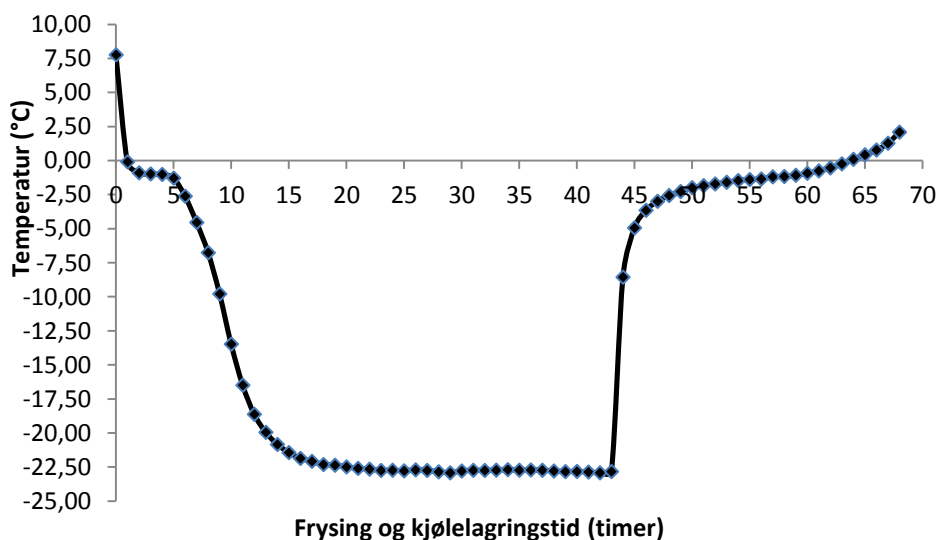
Figur 18: Utvikling av pH under tining av torskefilet produsert pre-rigor (3 timer *post rigor*) og frosset inn i 48 timer. Første måling ble gjort ved uttak av fileten fra frysen til kjølen. Første måling er gjort ved å sage/kutte biter fra nakke på loinsen og resterende målinger videre bakover. Bitene ble homogenisert ved måling av pH.

I den andre delen av forsøk 3 var hensikten å kartlegge pH forandringene ved tining av fileter produsert 3 timer *post mortem* og deretter fryselagret i etter 48 timer ( $T_0$ ), ved to ulike temperaturer (- 20 og - 30 °C). Fiskens høyre og venstre filet hadde en pH verdi på 7,06 og 7,07 ved filetering før innfrysning. Etter 48 timer fryselagring ble fisken overført til et

kjølerom og påbegynt tining i luft ved 1 °C temperatur, hvor høyre og venstre filetene målte henholdsvis pH 6,54 og 6,56. Begge gruppene får en markant nedgang i pH-verdi de første 4 timene under tineperioden (fig. 18). Tendensen mellom filetene lagret ved ulik temperatur var at fileten som var lagret i – 30 °C hadde et litt raskere fall i pH de første 2 timene i timefasen, men hvor de har etter 4 timer og resten av forsøksperioden (42 timer) relativt lik pH utvikling.

I den tredje delen av forsøk 3 var formålet å kartlegge temperaturen i en filet ved innfrysning og fryselagring over en periode på 43 timer under – 25 °C i en fryseboks. For den andre fileten var formålet å måle pH i 5 ulike deler av fersk tykkfiskmuskel (loins). Loinsen ble inndelt i 5 deler (fra nakke og bakover), registrert for vekt, tilsatt lik mengde 0,15 M KCl løsning og homogenisert ved hjelp av en stavmikser.

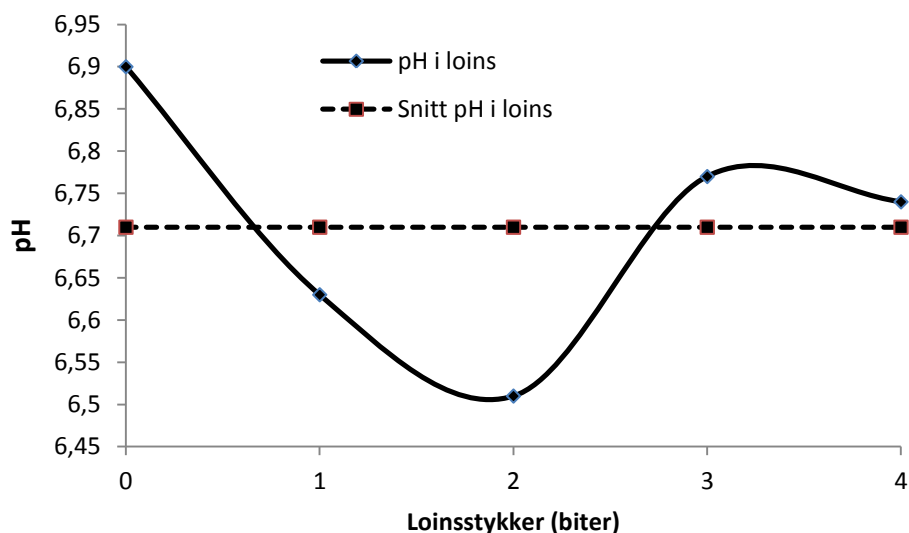
Resultatet bak temperaturloggingen viser at temperaturen i muskelen faller fra ca. 8 °C til under 0 °C etter bare en times lagring i – 25 °C (fig. 19). Temperaturen holder seg relativt stabil ved ca. – 1 °C de første 5 timene, for deretter å falle raskt ned mot – 20 °C mellom 6 og 13 timer fryselagret. Videre i den resterende fryselagringsperioden på ca. 30 timer senkes temperaturen gradvis ned mot den laveste maksimum temperatur registrert – 23 °C etter 43 timer fryselagring. Under tining i luft ved 1 °C viste resultatene fra temperaturloggingen en kraftig stigning i temperatur i fileten de første to timene (fra – 23 til – 3,5 °C). Deretter stiger temperaturen bare gradvis og passerer 0 °C etter ca. 64 timer.



Figur 19: Resultat fra to temperaturloggere tilkoblet en pre-rigor torskefilet som viser gjennomsnitt temperaturutvikling for en innfrysings- og tineperiode på totalt 68 timer. Fileten var pakket og teipet inn i en gjennomsiktig plastpose og lagt utstreckt på et Brett med skinnsiden ned, samt frosset ned ved - 25 °C.



Resultatene bak pH målingene for fem inndelte loinsbitene (fra nakke og bakover) viste relativt store variasjoner og et tilnærmet heterogent miljø i muskelen. Bitene av inndelt loins varierte mellom pH 6,9 for bit 1 (nakke) og 6,51 i bit 3 (midtstykke) med en differanse på 0,39 (fig. 20). Gjennomsnittlig pH-verdien for alle bitene (0 – 4) målte 6,71.



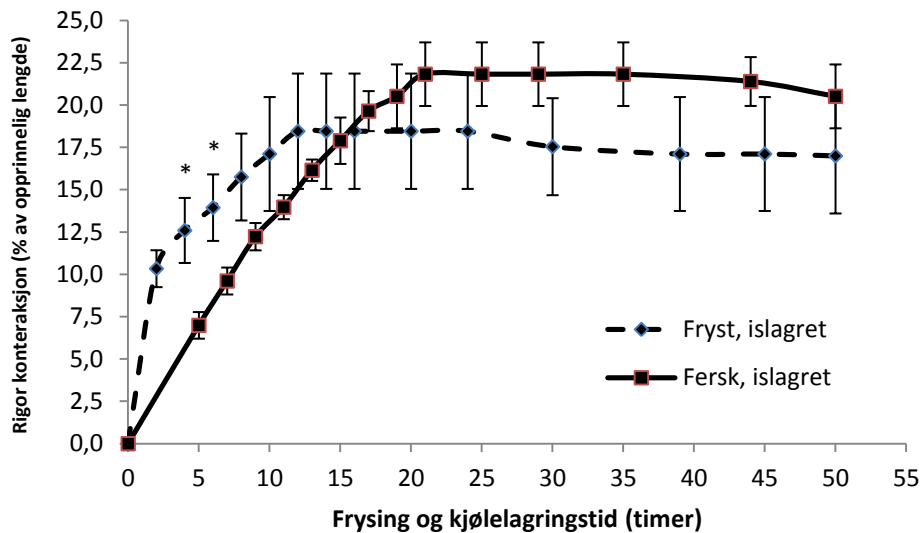
Figur 20: pH i ulike deler av en torskeloins ved uttak fra fryseren. Punktet 0 representerer den fremste delen (nakken) av loinsen og hvor de resterende (1 – 4) representerer loinsen stykkevis bakover. Den heltrukket linjen viser variasjonen i pH fra de ulike stykkene, og den stiplede linjen viser gjennomsnitts pH for hele loinsen (0 – 4).

#### 4.5 Forsøk 4. Effekter av en 5 timers innfrysingsperiode på egenskaper til pre-rigor produserte fileter.

Formålet med forsøk 4 var å kartlegge rigorkontraksjon, pH og vekttap under tining og kjølelagring av pre-rigor produserte fileter fryselaagret i 5 timer. Som kontroll ble de andre filetene bare kjølelagret på is. I tillegg ble en filet temperaturlogget under innfrysing, tining og kjøleperioden.

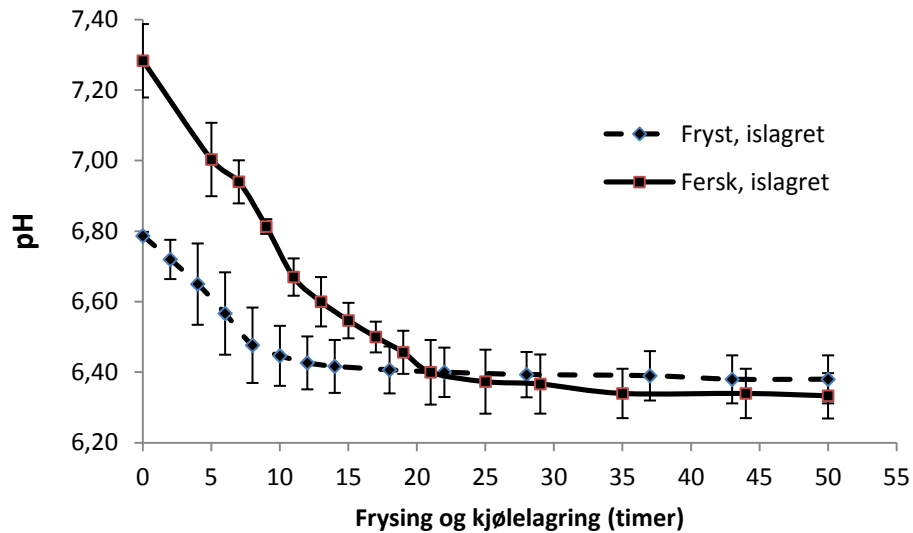
Resultatene for gruppene pre-rigor produserte fileter som ble behandlet frosset og fersk viser en tydelig forskjell i rigorkontraksjon (fig. 21). Gruppen som ble frosset i 5 timer og lagret 2 timer i luft ved 1 °C før første måling ( $T_0$ ), hadde en maksimum kontraksjon på 18,5 % av opprinnelig filetlengde. Samme gruppe fikk også en brattere kurve mot maksimum kontraksjon, noe som bidro til en tidligere topp i kontraksjonskurven. Dette hendte ved ca. 2 timer luftlagring og 10 timer lagring på is. Til sammenligning ble det målt for de ferske filetene en maks rigor kontraksjon på 21,8 %, og tidspunktet for dette hendte ved ca. 21 timer

lagring på is. Perioden med punktene 5 timer (fersk) og 4 timer (frosset) og 7 timer (fersk) og 6 timer (frosset) markert med stjerne viser at gruppen frosset hadde en signifikant ( $P < 0,05$ ) høyere kontraksjon på disse tidspunktene sammenlignet med gruppen fersk.



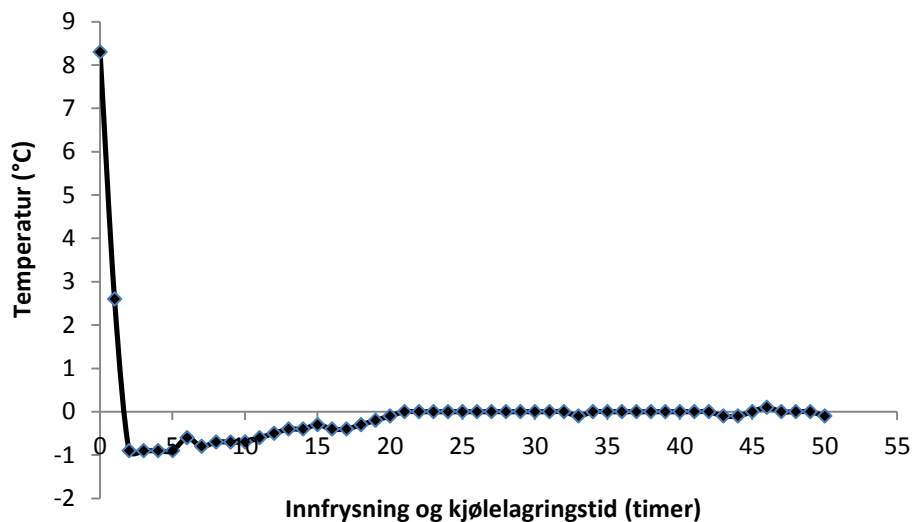
Figur 21: Utvikling av rigor kontraksjon under tining og kjøling av fileter produsert pre-rigor og frys-lagret i 5 timer. Kontroll: Kontraksjonen i fersk filet relatert i forhold til lengden ved fileteringspunktet (hel trukket linje). Pre-rigor produsert filet frys-lagret i 5 timer ved  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  og deretter tint i luft ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 2 timer før registrering av lengdeforandringene (stiplet linje). Lengde ved tid = 0 er ved første måling etter start av opptining.  $n = 3$  i begge grupper. Perioden med punktene 5 (fersk) og 4 (frosset) og 7 (fersk) og 6 (frosset) markert med stjerne viser at gruppen frosset har signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) kontraksjon sammenlignet med gruppen fersk (se appendix 3).

Resultatene for pH målingene for gruppen fersk og frosset viste markante forskjeller i starten av forsøket (fig 22). For gruppen fersk ved første måling ( $T_0$ ) viste pH målingene 7,28 og dette var signifikant høyere ( $P < 0,05$ ) pH enn frosset filet. Tendensen i verdiene var sterkt fallende de første 11 timene og fortsatte litt roligere de neste 10 timene for så og nesten flate helt ut videre i lagringsperioden. Den ultimate pH (bunnpunktet) ble registrert ved siste måling etter 50 timers lagring på is og målte pH 6,33. For gruppen frosset viste målingen 6,79 ved ( $T_0$ ), og hadde også et relativt rask fall i pH og er signifikant lavere de første 12 timer av kjølelagringen, sammenlignet med fersk filet (se appendix 3). Deretter flater kurven ut for resten av forsøks tiden på 42 timer, og gruppen har også sitt bunnpunkt ved siste pH måling på 6,38 som er tilsvarende lik gruppen som ble pre-rigor filetert og kjølelagret på is.



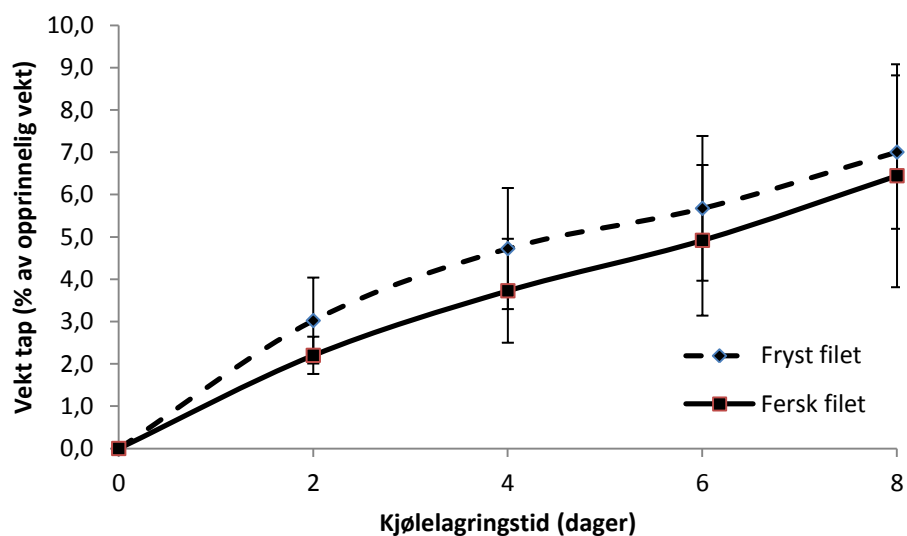
Figur 22: Utvikling av pH under tining og kjølelagring av fileter produsert pre-rigor og fryselaagret i 5 timer. Fersk filet (hel trukket linje). Pre-rigor produsert filet fryselaagret i 5 timer ved  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatur, deretter tint i luft ved  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  i 2 timer før registrering av pH utvikling (stiplet linje). pH-verdi ved tid = 0 er ved fileteringstidspunktet for fersk filet og ved første måling for den opptinte fileten ( $n = 3$ ) i begge grupper.

Resultatene for temperatur loggingen viser at temperaturen i fileten faller fra  $8,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  ned til  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  på bare på 2 timer hvor den holder seg stabil etter 5 timers fryselaagring (fig. 23). Ved laagring på is (etter 2 timer tining i luft) ser man at kurven gradvis stiger opp og treffer  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  etter 21 timer laagring og holder seg stabil resten av forsøks tiden.



Figur 23: Resultat fra en temperaturlogger tilkoblet en pre-rigor produsert filet fryselaagret i 5 timer og så kjølelaagret i is ( $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Filetene som ble fryselagret hadde et litt høyere vekttap under lagringen enn de ferske filetene (fig 24.). Forskjellen oppsto i hovedsak etter de to første dagene hvor gruppene også hadde størst vekttap henholdsvis 2,2 % for fersk og 3 % for frosset i perioden. Vekttapet økte under den videre lagringen, men forskjellen mellom gruppene var relativt stabil. Standardavvikene innen gruppene var imidlertid relativt store.



Figur 24: Utvikling av vekt tap under tining og kjølelagring av fileter produsert pre-rigor og fryselagret i 5 timer (stiplet linje). Vekt tap i fersk (hel trukket linje) og tidligere frosset filet er relatert i forhold til vekten ved fileteringstidspunktet. n = 3 i begge grupper.

## 5. Diskusjon

De viktigste utfordringer innenfor de norske torskefiskeriene idag ligger i styringsstrukturen i fiskeriene og tilgjengeligheten på råstoff. En kombinasjon av restrukturerte fartøy med en portefølje av kvoter og en kort fangstsesong har ført til en situasjon der effektivitet er mer lønnsomt enn med optimalisert kvalitet (Hermansen and Dreyer, 2010). Men det er imidlertid et økende fokus på miljømessig og bærekraftig fiske, forutsigbare og høykvalitets produkter samt akvatisk dyrevelferd (Thrane et al., 2009, Catchpole and Gray, 2010, Svanes et al., 2011).

Den havgående flåte som fryser råstoffet står for det største fangstvolumet av Nordøst-Atlantisk torsk, og regnes derfor for å være det viktigste satsningsområde for å implementere forskjellige mekanismer som fronter kvalitetshåndtering. Kvaliteten på frossent råstoff fra trålflåten avhenger av biologiske og teknologiske faktorer under fangst, håndtering, prosessering og distribusjon (Boknes et al., 2001, Olsen et al., 2013). De biologiske forhold som påvirker kvalitet er art, størrelse, fangstsesong, kjønnsmodning og fangstområde (Love, 1988). De teknologiske faktorer som påvirker kvaliteten blir ansett for å være fangstmetoder, håndtering, ferskhetsgrad ved frysing, frysetemperatur, fryseperiode, dobbelt frysing, pakke og tinemetoder (Botta et al., 1987, Haard, 1992, Sikorski and Kołakowska, 1995, Cappeln et al., 1999)

Pre-rigor filetering er en teknologisk metode som betyr å filetere fisken før den går inn i *rigor mortis* (dødsstivhet). Pre-rigor filetering av fisk forutsetter lav temperatur og redusert stress før død slik at perioden fra avlivning til fisken inntar *rigor mortis* (pre rigor fase) blir lang nok slik at bearbeiding kan foretas (Skjervold et al., 1996, Erikson et al., 2006). Pre-rigor fileteringsmetode for fileter gir blant annet en forflyttet salgsperiode som resulterer i økt ferskhetsgrad, fastere konsistens, redusert gaping, høg pH ved filetering, miljøbesparelser i form av emballasje og is, redusert transportkostnader (kun filet) og reduserte lagringskostnader (Skjervold et al., 2001a, Lauritzsen et al., 2004, Stien et al., 2005, Kristoffersen et al., 2006a, Kristoffersen et al., 2006b, Tobiassen et al., 2006).

Det finnes også ulemper ved en pre-rigor produksjon slik som filetkrymping (kontraksjon) og økt væsketap. Krymping er et viktig tema for denne oppgaven. Det er også kjent at krymping som følger av *rigor mortis* er avhengig av den evnen muskelen har til å sammentrekke fritt og ikke være festet til ryggbeinet (Sørensen et al., 1997, Einen et al., 2002). Når muskelvevet blir eksponert for store osmotiske krefter og sammentrekninger, kan

man anta at synergetiske effekter oppstår med hensyn på utseende og væske utslipp i muskelvevet (Kristoffersen et al., 2006a).

## 5.1 Biologiske egenskaper for oppdrettstorsk

Av praktiske årsaker og tilgjengelighet ble det i denne oppgaven brukt oppdrettstorsk for å se effekten av korttids innfrysning. Ved å bruke oppdrettsfisk vil man kunne få en fisk med høy muskelenergi i form av glukose og ATP og vil i tillegg kunne gi kraftigere sammentrekninger og lavere ultimat pH enn vill torsk. I denne oppgaven var det en relativt stor variasjon mellom i sloginnholdet mellom gruppene. Årsak til dette kan være i sammenheng med tidspunktet de ble slaktet. I forsøk 1 og 2 (okt. 2012 og nov. 2012) er slog prosentvis lavest sammenlignet med fisk fra forsøk 3 og 4 fanget henholdsvis februar og mars 2013. Det kan enten bety at fisken har hatt et større forinntak eller at kjønnsmodningsprosessen i form av gonadeutvikling har startet ettersom arten gyter i månedsskiftet mars – april.

## 5.2 Forsøk 1. Tining av pre-rigor produserte fileter fryselagret ved - 25 °C i 6 dager.

I forsøk 1 viste rigor kontraksjon for gruppen pre-rigor kjølelageret på is en maks sammentrekning på 26 % av opprinnelig lengde etter 30 timer lagring på is, og deretter avtok kontraksjonen til 18 % etter 332 timer lagring på is. Dette resultatet er i samsvar med tidligere arbeid gjort med hensyn på rigor målinger på ferske torskfileter produsert pre-rigor (Sørensen et al., 1997, Lauritzsen et al., 2004, Mørkøre, 2006, Kristoffersen et al., 2006a, Tobiassen et al., 2006). I tillegg ser det ut som krymping hos pre-rigor filetert torsk kan være et større problem sammenlignet med for eksempel pre-rigor filetert laks (Sørensen et al., 1997, Skjervold et al., 2001a, Skjervold et al., 2001b, Einen et al., 2002). Bakgrunnen for dette er ikke kjent, men det diskuteres om eksempel fettinnhold kan være årsaken til forskjellen (Ofstad et al., 1996). Torsken er en mager fisk og lagrer hovedsakelig fett i leveren. Dette gir mer plass til vann i fiskemuskel. Oppdrettslaks er en fet fisk og lagrer fett i muskelen og dette vil muligens gjøre at fiskemuskel ikke krymper i like stor grad, eller taper tilsvarende mengde vann. Selve krympingen av pre-rigor torskfileten endret utseende til å bli bredere og tykkere. Gruppen frosne pre-rigor fileter hadde til sammenligning bare en total sammentrekning på 6,3 %, men avtok til 5,5 % i løpet av lagringsperioden. Dette indikerer at torsken i liten grad gjennomgår en tinerigor under kontrollerte tine forhold ved 0 °C temperatur. For frosset fisk vil frysetemperatur og tineregimet være viktige faktorer for de

biologiske prosessene under tining. Når fisk fryses raskt blir sammentrekningen forhindret. Styrken av rigor ser ut til å være relatert til mengde gjenstående ATP i muskelen etter tinging, ettersom redusert ATP konsentrasjon grunnet stress før slaktning eller for høge frysetemperaturer ( $> -19\text{ °C}$ ) er kjent for å redusere tinerigor (Ma et al., 1993). Det er videre kjent at nedgradering av ATP i frosset torskemuskel skjer selv ved lave ( $< -20\text{ °C}$ ) temperaturer (Cappeln et al., 1999). Hvis man tiner fisken for hurtig ved for høge temperaturer etter en fryselagringsperiode ved lave temperaturer, kan det fortsatt være tilstrekkelige mengder energi tilstede i muskelen, og som kan forårsake muskelkontraksjon etter tining. Dette er i samsvar med anbefalinger for å unngå tinerigor med påfølgende negative effekter på tekstur og drypptap (Love, 1988).

Når det gjelder pH målingene i muskel, viste første måling for den ferske gruppen en muskel pH på 7,14. I løpet av 30 timer lagring på is ( $0\text{ °C}$ ) falt pH gradvis ned til den ultimate pH på 6,13. Dette er noe lavere enn det andre har målt på oppdrettstorsk (Kristoffersen et al., 2006a, Kristoffersen et al., 2006b, Kristoffersen et al., 2007).

Gruppen frosset pre-rigor filet hadde signifikant lavere pH verdi sammenlignet med fersk pre-rigor fileter de første 68 timene ved i forsøket. Noe som betyr at energilagrene i pre-rigor filet tappes fullstendig gjennom 6 døgn med innfrysning, fryselagring og tining. Muskel pH på tinetidspunktet ble målt til ca. pH 6,04. Dette er en pH som er 0,1 lavere enn ultimat pH til fersk filet. Årsak til at ultimat pH i frosset og tint råstoff er noe lavere er usikkert. Trolig kan dette ha med endring i ionebalansen eller redusert bufferkapasitet etter tining. En slik lav pH etter tining og at den er lavere enn hos fersk filet er også funnet hos laks (Einen et al., 2002).

Høy laktat dannelse under innfrysning og tining kan neppe forklare helheten for det lave ultimale pH i muskel etter tining. Man antar at frysing og tining kan forårsake krymping av muskelcellene noe som fører til økt ekstracellulært rom og andre relaterte celledskader. Dette kan forandre den osmotiske likevekten og ionestyrken i cellen og kan ha en effekt på muskelens pH (Mackie, 1993, Sikorski and Pan, 1994, Sigurgisladottir et al., 2000). Utviklingen i pH økte gradvis i løpet av 14 dager og denne stigningen kommer trolig som følge av bakteriell omsetning av frie aminosyre og dannelse av aminer (ammoniakk, trimetylamin) og biogene aminer.

Når det gjelder væsketap under lagring var det signifikant lavere tap hos fersk sammenlignet med tidligere frosset filet. Dette er i samsvar med tidligere funn på torsk (Lauritzsen et al., 2004, Mørkøre and Lilleholt, 2007) og atlantisk laks (Einen et al., 2002). Differansen mellom fersk og frosset kan forklares med redusert vannbindingsevne som følge

av dehydrering av celler, skader på cellemembranen, proteindenaturering, samt væske- og is-aggregering finner sted under innfrysing og tining (Mackie, 1993, Sikorski and Pan, 1994, Foegeding et al., 1996, Lauritzsen et al., 2004, Mørkøre and Lilleholt, 2007). Parallelt med iskrystall dannelse ved frysing vil man få økt konsentrasjoner av vannløselige komponenter (ioner, mineraler, frie aminosyrer, sporstoff og peptider) i vannet som ikke er frosset. Dette har en dehydrerende effekt på cellene og bidrar til proteindenaturering (aggregering), noe som fører til stort væsketap under tining (Mackie, 1993, Foegeding et al., 1996, Garthwaite, 1997). Det store væsketapet resulterer også i tap av viktige frie aminosyrer, peptider, vitaminer og sporstoff (Larsen et al., 2007, Larsen and Elvevoll, 2008). Spesielt viktig er temperaturen under innfrysning. Ved høy frysetemperatur går innfrysningen sent og store iskrystaller dannes i og rundt cellene. Disse store iskrystallene påfører cellemembranene skader og påvirker musklens evne til å holde på vann ved tining. Dannelse av store iskrystaller kan også skje ved sen tining og resultere i skade på celler og bindevev (Burgaard, 2010).

### **5.3 Forsøk 2. Filetering av torskfileter i pre-rigor perioden 1, 3 og 5 timer etter slaktning.**

I dette forsøket ble det undersøkt om forskjellig pre-rigor fileteringstidspunkt påvirket krymping, muskel pH og væsketap. Rigor kontraksjon viste at gruppen filetert 1 time *post mortem* hadde en lavere krympehastighet og nådde maks sammentrekning 8 timer senere, enn fisk som ble filetert etter 5 timer. Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene de første 26 timene, men etter 30 timer hadde fisken som ble filetert 1 time *post mortem* en signifikant kraftigere sammentrekning (mer krymping) enn fisk filetert 5 timer *post mortem*. Årsaken til at fisken som ble filetert 5 timer *post mortem* hadde raskere krymping i starten, kan forklares med at denne gruppen trolig var på vei inn i rigor ved fileteringstidspunktet. Det er foreslått at rigor inntreer når ATP verdiene er mindre en 1  $\mu\text{mol/g}$  i muskelen (Huss, 1995). Det er også kjent at kjøling forlenger pre-rigor perioden (Skjervold et al., 1999). Det vil si at fisk som blir hurtig kjølt og har mye energi i form av ATP igjen i muskelen ved filetering får en langsommere krympekurve, sammenlignet med fisk som er dårlig kjølt og har lave verdier av ATP igjen i muskelen ved filetering. Tidspunktet for filetering, muskelens energinivå og hurtig nedkjøling er dermed avgjørende for hvor hurtig krympingen skjer. Vi ser også at ved å utsette fileteringen 5 timer så reduserer sammentrekningene ut over i lagringsforløpet, sammenlignet med filetering etter 1 time *post mortem*. Det er samtidig interessant å se at det virker som at vekttapet også blir mindre, det vil si jo mindre kontraksjon jo mindre blir vekttapet.



Utover i lagringen øker filetlengden for begge gruppene. Dette har trolig sammenheng med tap av rigor. Ved tap av rigor skjer det enzymatiske prosesser i muskelen som degraderer de strukturelle proteinene og cellemembraner i muskelen. Muskelstrukturen endres og taper sin fasthet og fører til at fileten strekker seg litt ut (Dutson, 1983, Mestre Prates, 2002, Delbarre-Ladrat et al., 2004, Delbarre-Ladrat et al., 2006, Chéret et al., 2007).

#### **5.4 Forsøk 3. Utvikling av muskel-pH under innfrysing, fryselagring og tining av pre-rigor prod. fileter.**

Resultatene i forsøk 3 for del en viste ingen markant forskjell i pH for biter av torskeloins innfrosset og fryselagret i to ulike temperaturer – 20 °C og – 30 °C temperatur. Begge gruppens pH falt raskt de første fire timene i innfrysingsperioden. Som følge av de fysiologiske endringene i muskelen ved frysing, virker det som om innfrysingsprosessen har effekt på hastigheten av de biokjemiske og enzymatiske prosesser i muskelen. Årsaken til dette er at vann i cellene starter å fryse ut som følger av at temperaturen senkes til under – 1,5 °C (Mackie, 1993). Når vann i og rundt cellene starter å fryse reduseres vanninnholdet i cellene, og konsentrasjonen av oppløste stoffer øker (restvann) (Mackie, 1993, Foegeding et al., 1996). Den økte konsentrasjonen av oppløste stoffer kan være årsaken til hurtig fall i pH de første fire timene i dette forsøket. Blant annet vil cellene under innfrysning bruke energi i form av ATP aktivt til å forsøke å opprettholde membranfunksjonene. Dette er kanskje årsaken til at pH faller raskere under frysing av fileten enn under fersk lagring på is.

Når det gjelder resultatene fra innfrysning ved – 20 °C og – 30 °C var det fortsatt relativt høy pH i muskelen ved starten av tineperioden, men under tining oppstår et ytterligere signifikant dropp i pH i muskelen fra rundt 6,5 – 6,1 og det var ingen markante forskjeller i pH mellom gruppene som var frosset ved – 20 °C og – 30 °C. Dette kan forklares med at de biokjemiske prosessene i muskel aktiveres igjen under tiningen, i tillegg er trolig bufferkapasiteten i muskelen sprengt og dette medfører et ekstra fall i pH etter tining.

Når det gjelder innfrysingskurven for fileten frosset ved – 25 °C er det et raskt fall i filetemperatur fra ca. 7,5 °C temperatur til ca. – 1 °C etter bare 1 time. Deretter stabiliserer temperaturen seg i 6 – 7 timer rundt – 1,5 til – 5,0 °C før temperaturen faller raskt ned til mot – 25 °C. Det er i dette området mesteparten av vannet fryser ut og man får en nølefasen før temperaturen faller ytterligere. Når fisken tas ut til tining øker temperaturen raskere i fileten sammenlignet med innfrysingsfasen, men flater også ut når temperaturen når tilbake til – 5 °C. Årsaken er at vannet igjen er i ferd med å endre fase og til det trengs energi.

Filettemperaturen holder seg stabil i ca. 20 timer fra  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  til  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sen tining er forårsaket av at fisken er lagret ved  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  og lav temperaturforskjell bidrar til sen tining. Lav temperatur og sen tining er positivt da man kan unngå tinerigor ved at ATP blir brukt mens fileten delvis er frosset. Enzymreaksjoner i muskel går også saktere ved lav temperatur og gir mindre skader på membranen, slik at væsketapet blir noe lavere. Resultatet fra del tre (b) viste relativt store variasjoner i pH i forskjellige deler av tykkfisken. Variasjonen kan være reelle, men dette må undersøkes grundigere ved å bruke flere fileter og gjentatte målinger på samme sted.

### **5.5 Forsøk 4. Effekter av en 5 timers innfrysingsperiode på egenskaper til pre-rigor produserte fileter.**

I forsøk 3 ble det observert et raskt fall i muskel pH de første timene under innfrysning. Som kjent er fall i pH *post mortem* et tegn på anaerob energiomsetning i muskel (glykolyse og nukleotid degradering). Gruppen frosset pre-rigor filet hadde signifikant lavere pH verdi sammenlignet med fersk pre-rigor fileter de første 13 timene i forsøket. Noe som betyr at ved å oppbevare fileter i lave temperaturer ( $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) i 5 timer, tappes noe av energilagrene i pre-rigor filet. Muskel pH på tinitidspunktet ble målt til ca. 6,8. Dette er en pH som er 0,75 høyere enn pH verdien målt på den tinte fisken fra forsøk 1. Ultimat pH for den frosne gruppen målte etter 50 lagringstimer var ikke signifikant forskjellig, sammenlignet med gruppen fersk kjølelagret på is. Årsak til at ultimat pH i frosset og tint råstoff er tilnærmet likt i dette forsøket er usikkert. Trolig kan dette ha med at fisken ikke ble frosset i samme grad som i forsøk 1, og dermed beholdt tilnærmet samme energimengde, ionebalanse og eventuell bufferkapasitet som den ferske gruppen etter tining. I følge teorien vil rigor sammentrekningen påvirkes av temperaturen og energimengden ved død. Det er blitt mer vanlig å produsere pre-rigor filet som superkjøles før den sendes ut på markedet. Det er kjent at superkjøling kan redusere krymping, men påfører en del fryseskader gjennom formasjon av store intra- og ekstracellulære iskrystaller i muskelen (Bahuaud et al., 2008). Det ble derfor avgjørende i forsøk 4 å se om fisken gikk gjennom rigor i delvis frosset tilstand, i et forsøk på å redusere mulig filetkrymping.

Resultatet for forsøket for fersk pre-rigor fileter kjølelagret på is hadde en maks sammentrekning på 21,8 % etter 21 timer lagring på is, og deretter avtok kontraksjonen til 20,5 % etter 50 timer lagring på is. Dette var noe lavere enn resultatet fra gruppen fersk fra forsøk 1 (26 %), og som også er funnet av andre i tidligere arbeid gjort med hensyn på torsk. Pre-rigor filet som ble frosset i 5 timer oppnådde til sammenligning en maks sammentrekning

på 18,5 % etter bare 12 timer lagring på is. Dette viser at den frosne gruppen hadde en signifikant raskere rigor kontraksjon (krymping) enn gruppen fersk. I tillegg krympet de frosne filetene mindre enn den ferske kjølelagrede fileten, men på grunn av store standardavvik og få fisk var det ikke signifikante forskjeller. Årsaken til dette kan forklares med at mesteparten av energien er brukt under innfrysningen. I tillegg har en del av rigor sammentrekningen trolig foregått i delvis frosset tilstand og så snart det ytterste laget med is som har holdt fileten utspilt var smeltet oppstod en hurtig rigor sammentrekning. En delvis innfrysning kan ha sine fordeler ved at man forlenger lagringstiden der fileten fortsatt er delvis frossen. Man kan for eksempel sende fileten som er delvis frosset for så å la rigor forløpet skje under transport ut til kunden og ved opptining vil man forhåpentligvis få betydelig redusert krymping. En annen fordel med å sende fileten i delvis innefrosset tilstand eller superkjølt, er at isen som dannes i muskelen kan fungere som kjølebuffer under transport. Dette kan redusere mengden is i transportkasser og eventuelt redusere kostnader knyttet til transport av unødvendige mengder med is. Uansett, før man kan si at dette er løsningen på problemet rundt krymping av pre-rigor fileten, må det gjennomføres forsøk i en større skala. Blant annet må det gjennomføres forsøk med forskjellige tidsintervall i frosset tilstand, for å finne ut hvor lenge fileten må ligge i delvis frosset tilstand før krympingen uteblir.

Når det gjelder væsketap under lagring på is ble det ikke påvist signifikante forskjeller mellom gruppene på noen av uttaksdagene 2 – 8. Den ferske gruppen hadde et vekttap på 6,4 % etter 8 dager lagring på is (0 °C). Den frosne gruppen i dette forsøket hadde til sammenligning et vekttap på 7 %, noe som ga en differanse på 0,6 %. Dette viser at gruppen frosset 5 timer i dette forsøket oppnår tilnærmet samme resultat som begge ferske kjølelagrede gruppene for forsøk 1 og 4, noe som kan bety at det ikke dannes ødeleggende iskrystaller som fører til dehydrering av muskelceller, ubetydelig proteindenaturering og opprettholdelse av cellemembraner i muskel. I dette forsøket ser det dermed ut til at muskelens evne til å holde på vann, og viktige lav molekylære stoffer som frie aminosyrer, vitaminer og mineraler ikke reduseres ved å fryse fileter i 5 timer ved – 25 °C temperatur. Uansett, med tanke på at forsøket er gjennomført på lavt antall fileter, må det også her gjennomføres forsøk i større skala. Dette for å avdekke eventuell drypptap og frysedenaturering, da det er velkjent at lang oppholdstid i temperaturområdet – 1,0 til – 5,0 °C er uheldig med tanke på muskelkvaliteten (Burgaard, 2010).



## 6. Konklusjon

Resultatene i oppgaven har vist at fryselaagret pre-rigor produsert torskefilet oppfører seg på tilsvarende måte som laksefilet når tiningen foregår sakte på kjølerom. Svært liten tinerigor observeres. Muskelen går tydeligvis gjennom *rigor mortis* hovedsakelig når muskelen er immobilisert av is. Den tinte torskefileten hadde imidlertid et høyere væsketap under videre lagring på is enn islagrede ferske pre-rigor produserte fileter på tross av sistnevntes kraftige sammentrekning.

Tidspunktet for filetering under pre-rigor fasen hadde bare mindre utslag på rigor kontraksjon, endelig pH og væsketap under lagring på is av fersk torskefilet. Filetering 1 time *post mortem* resulterte imidlertid i 3 – 4 % mer kontraksjon og 1,5 – 2 % mer vekttap etter 8 dagers lagring på is enn det man fikk for fileter produsert pre-rigor 5 timer etter slakting.

Resultatene i oppgaven viste at muskel-pH faller raskere når den fryses i pre-rigor form enn under lagring på is. Dette må bety at hastigheten på de reaksjonene som bestemmer pH-fallet går raskere under innfrysningsfasen når temperaturen er minus 1 – 2 °C enn ved 0 °C (lagring på is). Det ble også observert at pre-rigor produsert fileter fryselaagret i 5 timer for å simulere en innfrysningsperiode førte til en raskere etablering av *rigor mortis* enn ved bare lagring på is. Sistnevnte lagringsform førte imidlertid til noe kraftigere kontraksjon.



## 7. Referanser

- ANON. 2013. *Aarstallskonferanse 2012. Eksportutvalget for fisk* [Online]. <http://seafood.no/Nyheter-og-media/Konferansekalender/%C3%85rstallskonferanse-2012>
- BAHUAUD, D., MØRKØRE, T., LANGSRUD, Ø., SINNES, K., VEISETH, E., OFSTAD, R. & THOMASSEN, M. 2008. Effects of -1.5° C Super-chilling on quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) pre-rigor Fillets: Cathepsin activity, muscle histology, texture and liquid leakage. *Food chemistry*, 111, 329-339.
- BENDALL, J. 1973. Postmortem changes in muscle. In: H., B. G. (ed.) *The structure and function of muscle*. Academic Press, New York., 244-309.
- BITO, M. 1986. The influence of freshness of the fish, freezing temperature, thawing rate and thawing temperature on thaw rigor. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, 119, 25-31.
- BJØRNEVIK, M. & SOLBAKKEN, V. 2010. Preslaughter stress and subsequent effect on flesh quality in farmed cod. *Aquaculture Research*, 41, e467-e474.
- BOKNES, N., GULDAGER, H. S., STERBERG, C. & NIELSEN, J. 2001. Production of high quality frozen cod (*Gadus morhua*) fillets and portions on a freezer trawler. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 10, 33-47.
- BORDERÍAS, A. J. & SÁNCHEZ-ALONSO, I. 2011. First processing steps and the quality of wild and farmed fish. *Journal of food science*, 76, R1-R5.
- BOTTA, J., BONNELL, G. & SQUIRES, B. 1987. Effect of method of catching and time of season on sensory quality of fresh raw Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Science*, 52, 928-931.
- BREMNER, A. & HALLETT, I. C. 1985. Muscle fiber-connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macruronus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. *Journal of Food Science*, 50, 975-980.
- BREMNER, H. 1992. Fish flesh structure and the role of collagen—its post-mortem aspects and implications for fish processing. *Quality assurance in the fish industry*, 30, 39-62.
- BURGAARD, M. G. 2010. *Effect of frozen storage temperature on quality-related changes in fish muscle*. Ph.D., Danmarks Tekniske Universitet Lyngby, Denmark.
- CAPPELN, G. & JESSEN, F. 2001. Degradation of ATP and glycogen in cod (*Gadus morhua*) muscle during freezing. *Journal of food biochemistry*, 25, 555-567.
- CAPPELN, G., NIELSEN, J. & JESSEN, F. 1999. Synthesis and degradation of adenosine triphosphate in cod (*Gadus morhua*) at subzero temperatures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1099-1104.
- CATCHPOLE, T. L. & GRAY, T. S. 2010. Reducing discards of fish at sea: a review of European pilot projects. *Journal of Environmental Management*, 91, 717-723.
- CHÉRET, R., DELBARRE-LADRAT, C., LAMBALLERIE-ANTON, M. D. & VERREZ-BAGNIS, V. 2007. Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*, 101, 1474-1479.
- CURRIE, R., W. & WOLFE, F., H. 1983. An assessment of extracellular space measurements in post-mortem muscle. *Meat science*, 8, 147-161.
- DELBARRE-LADRAT, C., CHÉRET, R., TAYLOR, R. & VERREZ-BAGNIS, V. 2006. Trends in postmortem aging in fish: Understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46, 409-421.
- DELBARRE-LADRAT, C., VERREZ-BAGNIS, V., NOËL, J. & FLEURENCE, J. 2004. Relative contribution of calpain and cathepsins to protein degradation in muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Food chemistry*, 88, 389-395.
- DIGRE, H., HANSEN, U. J. & ERIKSON, U. 2010. Effect of trawling with traditional and 'T90' trawl codends on fish size and on different quality parameters of cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus*. *Fisheries Science*, 76, 549-559.

- DREYER, B., NØSTVOLD, B. H., HEIDE, M., MIDLING, K. & AKSE, L. 2006. Fangstbasert akvakultur-status, barrierer, og potensial. Fiskeriforskning. Rapport Nr. 2006/19.
- DUTSON, T. R. 1983. Relationship of pH and temperature to disruption of specific muscle proteins and activity of lysosomal proteases. *Journal of Food Biochemistry*, 7, 223-245.
- EINEN, O., GUERIN, T., FJÆRA, S. O. & SKJERVOLD, P. O. 2002. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 212, 129-140.
- ERIKSON, U., HULTMANN, L. & ERIK STEEN, J. 2006. Live chilling of Atlantic salmon (*Salmo salar*) combined with mild carbon dioxide anaesthesia: I. Establishing a method for large-scale processing of farmed fish. *Aquaculture*, 252, 183-198.
- FOEGEDING, E., LANIER, T. & HULTIN, H. 1996. Characteristics of edible muscle tissues. In: FENNEMA, O. R. (ed.) *Food chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York, 879-942.
- GARTHWAITE, G. 1997. Chilling and freezing of fish. *Fish processing technology*. Springer, 93-118.
- GATICA, M., MONTI, G., KNOWLES, T., WARRISS, P. & CALLO, C. 2010. Effects of commercial live transportation and preslaughter handling of Atlantic salmon on blood constituents. *Arch Med Vet*, 42, 73-78.
- HAARD, N. F. 1992. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*, 25, 289-307.
- HAMM, R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In: J., B. P. (ed.) *Muscle as food*. Academic Press, Inc, New York, 135-199.
- HERMANSEN, Ø. & DREYER, B. 2010. Challenging spatial and seasonal distribution of fish landings—The experiences from rural community quotas in Norway. *Marine Policy*, 34, 567-574.
- HONIKEL, K. O., KIM, C. J., HAMM, R. & RONCALES, P. 1986. Sarcomere shortening of prerigor muscles and its influence on drip loss. *Meat Science*, 16, 267-282.
- HUFF-LONERGAN, E. & LONERGAN, S. M. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71, 194-204.
- HUSS, H. H. 1995. *Quality and quality changes in fresh fish*, FAO Rome.
- JOBLING, M. 1995. *Environmental Biology of Fishes*, London, Chapman & Hall. p 456.
- JONES, N. 1965. Freezing fillets at sea. *Fish Quality at Sea*, 81-95.
- JONES, N. 1969. Fish as a raw material for freezing: Factors influencing the quality of products frozen at sea. *R. Kreutzer, Freezing and irradiation of fish*, 31-39.
- KRISTOFFERSEN, S., TOBIASSEN, T., ESAIASSEN, M., OLSSON, G. B., GODVIK, L. A., SEPPOLA, M. A. & OLSEN, R. L. 2006a. Effects of pre-rigour filleting on quality aspects of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture research*, 37, 1556-1564.
- KRISTOFFERSEN, S., TOBIASSEN, T., STEINSUND, V. & OLSEN, R. L. 2006b. Slaughter stress, postmortem muscle pH and rigor development in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *International journal of food science & technology*, 41, 861-864.
- KRISTOFFERSEN, S., VANG, B., LARSEN, R. & OLSEN, R. L. 2007. Pre-rigor filleting and drip loss from fillets of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research*, 38, 1721-1731.
- LARSEN, R. & ELVEVOLL, E. O. 2008. Water uptake, drip losses and retention of free amino acids and minerals in cod (*Gadus morhua*) fillet immersed in NaCl or KCl. *Food Chemistry*, 107, 369-376.
- LARSEN, R., STORMO, S. K., DRAGNES, B. T. & ELVEVOLL, E. O. 2007. Losses of taurine, creatine, glycine and alanine from cod (*Gadus morhua* L.) fillet during processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 396-402.
- LAURITZSEN, K., AKSE, L., JOHANSEN, A., JOENSEN, S., SØRENSEN, N. K. & OLSEN, R. L. 2004. Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by the state of rigor and freezing prior to salting. *Food research international*, 37, 677-688.
- LOVE, R. 1962. Protein denaturation in frozen fish. VI.—Cold-storage studies on cod using the cell fragility method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 13, 269-278.



- LOVE, R. & HAQ, M. 1970. The connective tissues of fish III. The effect of pH on gaping in cod entering rigor mortis at different temperatures. *International Journal of Food Science & Technology*, 5, 241-248.
- LOVE, R. M. 1988. *The Food Fishes—Their Intrinsic Variation and Practical Implications*. , Farrand Press, London.
- LUTHER, P. K., MUNRO, P. M. & SQUIRE, J. M. 1995. Muscle ultrastructure in the teleost fish. *Micron*, 26, 431-459.
- MA, L., YAMANAKA, H., WADA, S. & TAKAI, R. 1993. Influences of death and thawing conditions on thaw-rigor in carp muscle. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 59.
- MACKIE, I. 1993. The effects of freezing on flesh proteins. *Food Reviews International*, 9, 575-610.
- MARGEIRSSON, S., JONSSON, G. R., ARASON, S. & THORKELSSON, G. 2007. Influencing factors on yield, gaping, bruises and nematodes in cod (*Gadus morhua*) fillets. *Journal of food engineering*, 80, 503-508.
- MCDONALD, I. & JONES, N. 1976. Control of thaw rigor by manipulation of temperature in cold store. *International Journal of Food Science & Technology*, 11, 69-71.
- MESTRE PRATES, J. A. 2002. Factors and mechanisms responsible for meat ageing. *Revue Med. Vet*, 153, 499-506.
- MIDLING, K. Ø., KOREN, C., HUMBORSTAD, O.-B. & SÆTHER, B.-S. 2012. Swimbladder healing in Atlantic cod (*Gadus morhua*), after decompression and rupture in capture-based aquaculture. *Marine Biology Research*, 8, 373-379.
- MØRKØRE, T. 2006. Relevance of dietary oil source for contraction and quality of pre-rigor filleted Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, 251, 56-65.
- MØRKØRE, T. & LILLEHOLT, R. 2007. Impact of freezing temperature on quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of texture studies*, 38, 457-472.
- NASH, R. D., VALENCIA, A. H. & GEFFEN, A. J. 2006. The origin of Fulton's condition factor—setting the record straight. *Fisheries*, 31, 236-238.
- OFFER, G. & COUSINS, T. 1992. The mechanism of drip production: formation of two compartments of extracellular space in muscle post mortem. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 107-116.
- OFFER, G. & KNIGHT, P. 1988. The structural basis of water-holding in meat. Part 2: Drip losses. *Developments in meat science*, 4, 173-241.
- OFFER, G. & TRINICK, J. 1983. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat science*, 8, 245-281.
- OFSTAD, R., KIDMAN, S., MYKLEBUST, R., OLSEN, R. L. & HERMANSSON, A. M. 1996. Factors Influencing Liquid-holding Capacity and Structural Changes During Heating of Comminuted Cod (*Gadus morhua* L.) Muscle. *LWT-Food Science and Technology*, 29, 173-183.
- OFSTAD, R., OLSEN, R., TAYLOR, R. & HANNESSON, K. 2006. Breakdown of intramuscular connective tissue in cod (*Gadus morhua* L.) and spotted wolffish (*Anarhichas minor* O.) related to gaping. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 1143-1154.
- OLSEN, S. H., TOBIASSEN, T., AKSE, L., EVENSEN, T. H. & MIDLING, K. Ø. 2013. Capture induced stress and live storage of Atlantic cod (*Gadus morhua*) caught by trawl: Consequences for the flesh quality. *Fisheries Research*, In press.
- PEARCE, K. L., ROSENVOLD, K., ANDERSEN, H. J. & HOPKINS, D. L. 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes—A review. *Meat science*, 89, 111-124.
- POLI, B., PARISI, G., SCAPPINI, F. & ZAMPACAVALLLO, G. 2005. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International*, 13, 29-49.
- ROBB, D. 2002. The killing of quality: the impact of slaughter procedures on fish flesh. *Seafoods—Quality, Technology and Nutraceutical Applications*. Springer, 7-16.

- SATO, K., YOSHINAKA, R., ITOH, Y. & SATO, M. 1989. Molecular species of collagen in the intramuscular connective tissue of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 92, 87-91.
- SIGURGISLADOTTIR, S., INGVARSDOTTIR, H., TORRISSEN, O. J., CARDINAL, M. & HAFSTEINSSON, H. 2000. Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*, 33, 857-865.
- SIKORSKI, Z. & PAN, B. S. 1994. Preservation of seafood quality. *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*. Springer, 168-195.
- SIKORSKI, Z. E. & KOŁAKOWSKA, A. 1995. Changes in proteins in frozen stored fish. *Seafood proteins*. Springer, 99-112.
- SKJERVOLD, P., FJÆRA, S. & CHRISTOFFERSEN, K. 1996. Pre-mortal chilling of farmed salmon. *Science et Technique du Froid*.
- SKJERVOLD, P. O. 2002. *Live-chilling and pre-rigor filleting of salmonids: technology affecting physiology and product quality*. Ph.D. Thesis, Agricultural University of Norway.
- SKJERVOLD, P. O., FJÆRA, S. O. & ØSTBY, P. B. 1999. Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. *Aquaculture*, 175, 93-101.
- SKJERVOLD, P. O., FJÆRA, S. O., ØSTBY, P. B. & EINEN, O. 2001a. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 192, 265-280.
- SKJERVOLD, P. O., FJÆRA, S. O., ØSTBY, P. B., ISAKSSON, T., EINEN, O. & TAYLOR, R. 2001b. Properties of salmon flesh from different locations on pre-and post-rigor fillets. *Aquaculture*, 201, 91-106.
- SMALL, J. V., FÜRST, D. O. & THORNELL, L. E. 1992. The cytoskeletal lattice of muscle cells. *European Journal of Biochemistry*, 208, 559-572.
- STIEN, L. H., HIRNAS, E., BJØRNEVIK, M., KARLSEN, Ø., NORTVEDT, R., RØRÅ, A. M. B., SUNDE, J. & KIESSLING, A. 2005. The effects of stress and storage temperature on the colour and texture of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture research*, 36, 1197-1206.
- STROUD, G. 1968. Rigor in fish: The effect on quality. *Torry Advisory Note no. 36*. Aberdeen: Torry Research Station Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Scotland: Aberdeen.
- SUN, D.-W. & ZHENG, L. 2006. Innovations in freezing process. *Handbook of frozen food processing and packaging*, 175-195.
- SVANES, E., VOLD, M. & HANSEN, O. J. 2011. Environmental assessment of cod (*Gadus morhua*) from autoline fisheries. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 16, 611-624.
- SØRENSEN, N., BRATAAS, R., NYVOLD, T. & LAURITZEN, K. 1997. Influence of early processing (pre-rigor) on fish quality. *Developments in Food Science*, 38, 253-264.
- THRANE, M., ZIEGLER, F. & SONESSON, U. 2009. Eco-labelling of wild-caught seafood products. *Journal of Cleaner Production*, 17, 416-423.
- TOBIASSEN, T., AKSE, L., MIDLING, K., AAS, K., DAHL, R. & EILERTSEN, G. 2006. The effect of pre-rigor processing of cod (*Gadus morhua* L.) on quality and shelf life. *Seafood research from fish to dish*, 149-159.
- VEISETH, E., FJÆRA, S. O., BJERKENG, B. & SKJERVOLD, P. O. 2006. Accelerated recovery of Atlantic salmon (*Salmo salar*) from effects of crowding by swimming. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 144, 351-358.
- VENUGOPAL, V. & SHAHIDI, F. 1996. Structure and composition of fish muscle. *Food Reviews International*, 12, 175-197.
- WIDMAIER, E., P., RAFF, H. & STRANG, K., T 2010. *Vander's human physiology, 12th ed.*, New York, McGraw-Hill Higher Education. p 784.



## 8. Appendix

Appendix 1: Signifikans (p-verdi) i rigor, pH og vek tap mellom fersk og frosset filet (Forsøk 1).

Tid (timer)	Rigor	pH	Dag	Vekt tap
0	0	0,00	0	0
2	0,01	0,00	2	0,01
4	0,01	0,00	4	0,01
6	0,00	0,00	6	0,01
8	0,00	0,00	8	0,01
10	0,00	0,00	10	0,00
16	0,00	0,00	12	0,01
22	0,00	0,01	14	0,01
44	0,00	0,03		
68	0,00	0,27		
92	0,00	0,64		
116	0,00	0,50		
140	0,00	0,76		
164	0,00	0,23		
188	0,00	0,24		
212	0,00	0,03		
236	0,00	0,02		
260	0,00	0,01		
284	0,00	0,01		
308	0,00	0,01		
332	0,00	0,01		

Appendix 2: Signifikans (p-verdi) i rigor, pH og vek tap for fileteringstidspunkt 1, 3 og 5 timer *post mortem* (Forsøk 2).

Tid (timer)	Rigor			pH			Dag	Vekt tap		
	1 og 3	1 og 5	3 og 5	1 og 3	1 og 5	3 og 5		1 og 3	1 og 5	3 og 5
0	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,37	0	0,00	0,00	0,00
2	0,04	0,46	0,08	0,00	0,03	0,11	2	0,22	0,01	0,32
4	0,13	0,06	0,66	0,01	0,08	0,10	4	0,28	0,00	0,16
6	0,06	0,01	0,68	0,26	0,18	0,74	6	0,08	0,00	0,54
8	0,04	0,00	0,86	0,44	0,08	0,48	8	0,17	0,01	0,64
10	0,08	0,07	0,54	0,12	0,19	0,75				
12	0,08	0,17	0,44	0,02	0,18	0,13				
14	0,15	0,21	0,54	0,01	0,06	0,32				
16	0,16	0,20	0,69	0,01	0,11	0,11				
18	0,08	0,39	0,19	0,01	0,05	0,26				
20	0,02	0,42	0,02	0,00	0,03	0,05				
22	0,03	0,88	0,01	0,00	0,07	0,02				
26	0,05	0,20	0,01	0,01	0,89	0,01				
30	0,04	0,02	0,00	0,00	0,78	0,01				
36	0,05	0,02	0,00	0,01	0,68	0,01				
44	0,03	0,06	0,00	0,02	0,22	0,01				
68	0,83	0,03	0,08	0,06	0,16	0,01				
92	0,87	0,00	0,01	0,14	0,56	0,04				
116	0,52	0,00	0,02	0,57	0,05	0,06				
140	1,00	0,00	0,03	0,30	0,02	0,01				
164	0,19	0,00	0,10	0,51	0,05	0,04				
188	0,52	0,00	0,08	0,42	0,09	0,04				

Appendix 3: Signifikans (p-verdi) i rigor, pH og vek tap mellom fersk og filet frosset 5 timer (Forsøk 4).

Tid (timer)						
Fersk	frosset	Rigor	pH	Dag	Vekt tap	
0	0	0,00	0,80	0	0,00	
5	4	0,02	0,02	2	0,30	
7	6	0,04	0,02	4	0,41	
9	8	0,12	0,03	6	0,62	
11	10	0,15	0,03	8	0,78	
13	12	0,36	0,04			
15	14	0,81	0,08			
17	16	0,62	0,12			
19	20	0,42	0,35			
25	24	0,11	0,92			
29	30	0,12	0,81			
44	45	0,12	0,77			
50	50	0,12	0,45			



