

## **Pre-rigor produksjon av røkt laks** **Slaktestress og utbløding, effekt på pigment, farge og oksidasjon**

Leif Akse, Sveinung Birkeland, Karsten Heia, Torbjørn Tobiassen og Gustav Martinsen





Nofima er et næringsrettet forskningskonsern som sammen med akvakultur-, fiskeri- og matnæringen bygger kunnskap og løsninger som gir merverdi. Virksomheten er organisert i fire forretningsområder; Marin, Mat, Ingrediens og Marked, og har om lag 470 ansatte. Konsernet har hovedkontor i Tromsø og virksomhet i Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Averøy.

Hovedkontor Tromsø  
Muninbakken 9–13  
Postboks 6122  
NO-9291 Tromsø  
Tlf.: 77 62 90 00  
Faks: 77 62 91 00  
E-post: [nofima@nofima.no](mailto:nofima@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)



Vi driver forskning, utvikling, nyskaping og kunnskapsoverføring for den nasjonale og internasjonale fiskeri- og havbruksnæringa. Kjerneområdene er avl og genetikk, fôr og ernæring, fiskehelse, bærekraftig og effektiv produksjon samt fangst, slakting og primærprosessering.

Nofima Marin AS  
Nofima Marin  
Muninbakken 9–13  
Postboks 6122  
NO-9291 Tromsø  
Tlf.: 77 62 90 00  
Faks: 77 62 91 00  
E-post: [marin@nofima.no](mailto:marin@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

# Rapport

ISBN: 978-82-7251-760-0 (trykt)  
 ISBN: 978-82-7251-761-7 (pdf)

Rapportnr:  
 12/2010

Tilgjengelighet:  
**Åpen**

<p><i>Tittel:</i>  <b>Pre-rigor produksjon av røykelaks</b>  <b>Slaktestress og utbløding, effekt på pigment, farge og oksidasjon</b></p>		<p><i>Dato:</i>            23. mars 2010</p>	
		<p><i>Antall sider og bilag:</i>            27</p>	
<p><i>Forfatter(e):</i>            Leif Akse, Sveinung Birkeland, Karsten Heia, Torbjørn Tobiassen og Gustav Martinsen</p>		<p><i>Prosjektnr.:</i>            20637</p>	
<p><i>Oppdragsgiver:</i>            FHF-fondet / Norske Sjømatbedrifters Servicekontor (NSS)</p>		<p><i>Oppdragsgivers ref.:</i>            Kristin Lauritzsen</p>	
<p><i>Tre stikkord:</i>            Røykelaks, farge, oksidasjon</p>			
<p><i>Sammendrag: (maks 200 ord)</i>            Forsøket dokumenterer effekter av slaktestress og utblødning på retensjon av astaxanthin, muskelfarge og oksidasjon under pre- og post-rigor prosessering av røykt laks. Hovedeffekter av designfaktorene viser at retensjon av astaxanthin ble signifikant påvirket av hvorvidt råstoffet var blodtappet eller ikke (høyest astaxanthin nivå og retensjonen i ubløgget), men ble ikke signifikant påvirket av hvorvidt fisken var stresset eller ikke før slakting, eller hvorvidt filetene var pre- eller post rigor ved salting. Røykte fileter som var pre rigor ved start prosessering var signifikant mindre lyse og røde, mer gule og hadde en gulere fargetone enn fileter som var post rigor ved start prosessering. Utblødningsgrad hadde ingen signifikant effekt på farge. Fileter av fisk med lavt stress før slakting var signifikant lysere enn fileter av fisk med høyt stress. Lagring av røykte fileter (4 uker) førte til en signifikant reduksjon i lyshet, rødhet og gulhet. I røykte fileter som var lagret vakuumpakket i 2 uker ble det ikke funnet signifikante forskjeller i undersøkte oksidasjonsrespons (peroksidtall, anisidintall og TotOks) mellom seks ulike prosessprotokoller, men det var tendens i materialet til at post-rigor filetene i snitt hadde høyere totale oksidasjonsverdier enn pre-rigor filetene og at filetene av stresset og ubløgget fisk i snitt hadde høyere verdier enn filetene av ustresset fisk. Etter 4 uker lagring var bildet mer variert.</p>			
<p><i>English summary: (maks 100 ord)</i>            The experiments document how slaughtering stress (high/low) and bleeding (good/poor) affects the loss of astaxanthine, colour and oxidation during pre- and post-rigor processing and chilled storage of smoked Atlantic salmon filets.</p>			

## **Forord**

Prosjektet "Fargeegenskaper i muskel ved pre-rigor produksjon av røykt laksefilet" startet i 2008 og videreføres ut 2010. Prosjektet er finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF), der det har prosjekt nr FHF-900076 og FHF-900420. Kristin Lauritzsen hos Norske Sjømatbedrifters Landsforening (NSL) er prosjektleder på vegne av FHF. Forskningsarbeidet i prosjektet blir utført av Nofima Norconserv AS og Nofima Marin AS, med Sveinung Birkeland, Nofima Norconserv AS som hovedansvarlig hos Nofima.

# Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning .....</b>	<b>1</b>
1.1	Bakgrunn.....	1
1.2	Mål .....	1
<b>2</b>	<b>Material og metode.....</b>	<b>2</b>
2.1	Gjennomføring av forsøket.....	2
2.1.1	Råstoff og slakting.....	2
2.1.2	Filetering.....	2
2.1.3	Salting.....	2
2.1.4	Kaldrøyking.....	3
2.1.5	Vakuumpakking.....	3
2.1.6	Lagring og prøveuttak i lagringstiden .....	3
2.2	Målinger, analyser og prøveuttak.....	4
2.2.1	Slaktestress .....	4
2.2.2	Restblod i muskelen .....	4
2.2.3	Endring i filetvekt og -lengde .....	4
2.2.4	Salt .....	4
2.2.5	Tørrestoff, vann og fett .....	5
2.2.6	Astaxanthin og totalt pigment .....	5
2.2.7	Fargemåling (Digital Photo Imaging).....	5
2.2.8	Oksidasjon.....	5
2.2.9	Statistiske metoder.....	5
<b>3</b>	<b>Resultater.....</b>	<b>7</b>
3.1	Råstoff.....	7
3.1.1	Stressnivå før slakting .....	7
3.1.2	Restblod i filetene – målt spektroskopisk .....	8
3.1.3	Kjemisk sammensetning og farge .....	9
3.2	Endring i filetvekt og -lengde gjennom prosessering og lagring.....	10
3.2.1	Vektendring .....	10
3.2.2	Lengdeendring.....	11
3.3	Pigment og farge gjennom prosess og lagring.....	12
3.3.1	Pigment og tørrestoff i råstoffet og i de ulike prosessprotokollene.....	12
3.3.2	Hovedeffekter av rigor status, utblødningsgrad, stressnivå og prosesstrinn på pigment og tørrestoff i filet .....	13
3.3.3	Retensjon av astaxanthin i de ulike prosessprotokollene.....	15
3.3.4	Hovedeffekter av rigor status, utblødningsgrad og stressnivå på retensjon av astaxanthin i muskel .....	15
3.3.5	Fargeegenskaper etter 2 og 4 uker lagring i de ulike prosessprotokollene	17
3.3.6	Hovedeffekter av rigorstatus, utblødningsgrad, stressnivå og lagring på fargeegenskaper i røykte fileter .....	17
3.4	Oksidasjon etter prosessering og lagring.....	18
3.4.1	Effekter av produksjonsprotokollene på oksidasjon i røykte fileter.....	19
3.4.2	Hovedeffekter av rigorstatus, utblødningsgrad, stressnivå og lagring på oksidasjonsparameter i røykte fileter .....	20
<b>4</b>	<b>Oppsummering.....</b>	<b>22</b>
<b>5</b>	<b>Referanser.....</b>	<b>24</b>
	<b>Vedlegg .....</b>	<b>1</b>

# 1 Innledning

## 1.1 Bakgrunn

Salting og røyking av laksefisk gjennomføres vanligvis post-rigor (3-5 dager etter slakting). I de senere årene er det imidlertid blitt mulig å prosessere laksefisk pre-rigor, da redusert slaktestress og nye slaktemetoder har medført at inntreden av rigor mortis kan kontrolleres bedre og kommer på et senere tidspunkt. Pre-rigor filetering har vist seg å gi signifikant bedring av kvalitetsparametere som muskelfarge, spalting og tekstur i røkt laks.

Egnetheten av pre-rigor filet til salting og etterfølgende røyking har blitt undersøkt i et tidligere prosjekt innenfor Handlingsplan Laks 2005-2006 (FHF), der det ble konkludert med at pre rigor produksjon av røkt laks er fullt mulig ved bruk av egnet teknologi og tilpassede prosessprotokoller. Som en videreføring av dette er det i det forsøket som rapporteres her undersøkt hvordan slaktestress og grad av utblødning påvirker kvaliteten i pre- og post-rigor prosesserte produkter. I tillegg er det i andre forsøk innenfor samme prosjektet dokumentert effekter av individuelle trinn i en prosessprotokoll (salting, tørking, røyking, pakking og lagring) på spesifikke kvalitetsegenskaper i produktene. Kunnskap generert i dette prosjektet bidrar til å optimalisere prosessbetingelsene ved pre-rigor produksjon av røykelaks.

Det eksperimentelle arbeidet i FHF-prosjektet "Fargeegenskaper i muskel ved pre-rigor produksjon av røkt laksefilet" som helhet, er delt inn i tre forsøk som i hovedsak er utført med både pre- og post-rigor råstoff. Det er spesielt fokusert på retensjon av astaxanthin, oksidasjon og farge under prosessering og lagring:

Forsøk 1: Dokumentere effektene av prosesstrinn i en kaldrøykingsprotokoll (salting, tørking, røyking, lagring) på viktige kvalitetsegenskaper som muskelfarge, retensjon av astaxanthin og oksidasjonsstatus, med fokus på effekten av salting og saltemetoder. Disse resultatene er presentert i Nofima Rapport 8/2010 (Birkeland et.al 2009).

Forsøk 2. Dokumentere effekter av slaktebetingelser som grad av slaktestress/utmattning og utblødning på kvalitetsegenskapene muskelfarge, retensjon av astaxanthin og oksidasjonsstatus i pre-rigor prosessert røykelaks. Disse resultatene presenteres i denne rapporten.

Forsøk 3: Effekter av pakkemetoder og lagringstemperaturer på farge og oksidasjonsstatus i pre-rigor prosessert røkt laks. Disse resultatene blir presentert i en egen Nofima rapport om effekter av pakkemetode og lagringstemperatur.

## 1.2 Mål

Forsøket skal dokumentere effekter av betingelser under slakting av laks, som grad av slaktestress/utmattning og utblødningsgrad, på retensjon av astaxanthin, muskelfarge og oksidasjonsstatus under pre- og post-rigor prosessering og lagring av røkte laksefileter.

## 2 Material og metode

### 2.1 Gjennomføring av forsøket

#### 2.1.1 Råstoff og slakting

Forsøket omfattet tre råstoffgrupper, med ulike nivå av stress/utmattning og utblødning:

- Godt utblødd, ustresset (n = 5)
- Godt utblødd, stresset (n = 5)
- Ubløgget, stresset (n = 5)

15 lakser (vekt usløyd  $6474 \pm 1092$  (g), lengde  $77,4 \pm 4,9$  (cm), k-faktor usløyd  $1,4 \pm 0,1$ ) ble hentet fra Havbruksstasjonen i Tromsø. Stressing, avliving og utblødning av fisken ble utført på anlegget, før den ble transportert til Nofima Marin der den ble sløyd, vasket og filetert.

Stressing/utmattning av fisken: Dagen før forsøket startet ble 24 lakser sortert ut og satt i en egen merd. Tidlig morgenen etter ble 16 fisker flyttet over i avkastnot og trent opp slik at den hadde minimalt med sjø. Fisken sto hardt opptrengt i 2 timer, inntil den var synlig stresset/utmattet (begynte å legge seg over på siden). De øvrige 8 fiskene fikk gå rolig i merden inn til de ble håvet ut og avlivet med et slag i hodet umiddelbart etter optak.

Avliving, bløgging, utblødning: En og en fisk ble håvet ut og avlivet med et slag i hodet, glucose og lactat i blod ble målt i 8 stressa og 8 ustressa fisker. 16 fisker, 8 stressa og 8 ustressa, ble bløgget og pH ble målt i blodet. De 16 fiskene blødde ut 25 min i rennende sjøvann og av disse ble 5 stressa og 5 ustressa fisker av jevn kvalitet (uten tegn til gytemodning) valgt ut til forsøket. 8 stressa fisker ble ikke bløgget (ubløgget) og 5 av disse ble valgt ut til forsøket.

Kjøling, sløyning og vasking: Laksen i de tre råstoffgruppene ble transportert usløyd på is til Nofima Marin, der fisken ble sløyd, vasket og filetert pre-rigor. Råstoffet som skulle fileteres post-rigor ble lagt i plastposer og iset i isoporkasser som ble lagret på kjølerom ( $2-4$  °C).

#### 2.1.2 Filetering

Høyre filet ble skåret av manuelt og trimmet umiddelbart etter ankomst Nofima (<3 timer etter slakt; pre-rigor), mens venstre filet ble bevart på beingrinda og skåret av manuelt og trimmet etter 3 døgn lagring på is (post-rigor). Gjennomsnittlig vekt og lengde av pre-rigor skåret filet var  $1758 \pm 302$  g og  $52 \pm 4$  cm og for post-rigor skåret filet  $1664 \pm 286$  g og  $53 \pm 4$  cm.

#### 2.1.3 Salting

Filetene ble injeksjonssaltet (25 % saltlake, ca.  $10$  °C) i pre- eller post-rigor tilstand med en Fomaco Injector ved bruk av et injeksjonstrykk på 1.5 bar og en nålehastighet på 30 slag/min (0.6 L lake/nåleslag). Filetene ble kjørt en gang gjennom injektoren.

### 2.1.4 Kaldrøyking

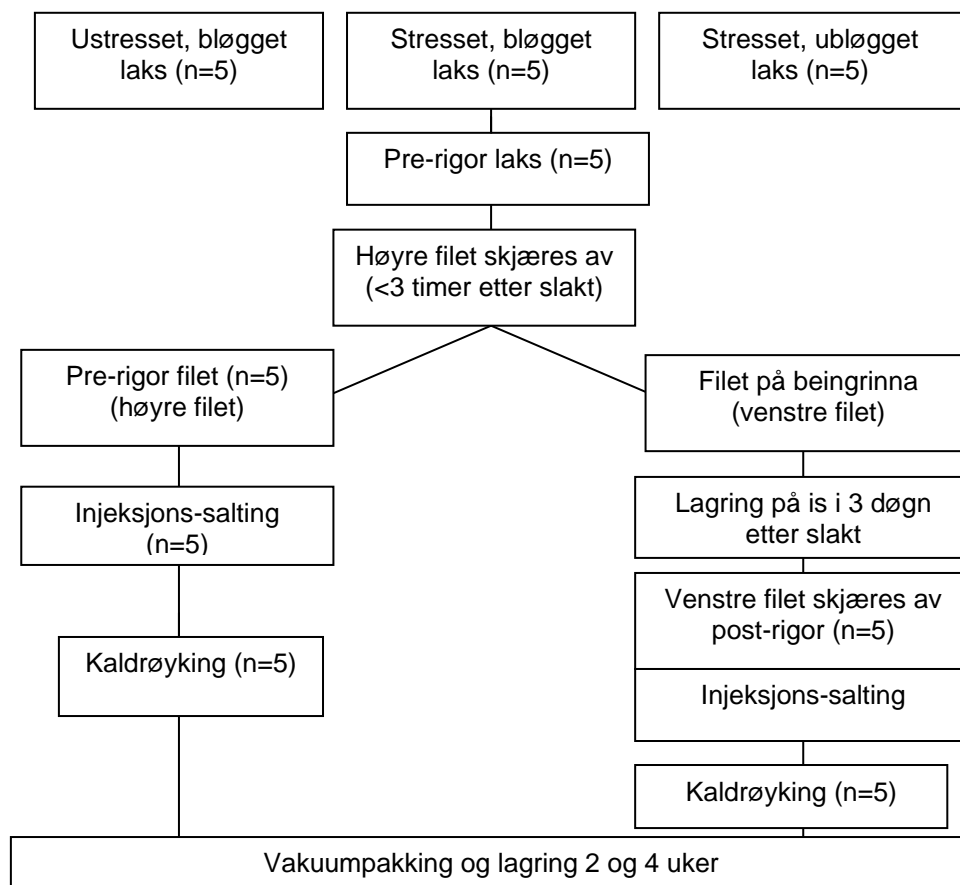
10 fileter i hver av de 3 råstoffgruppene ble røykt, 5 pre-rigor og 5 post-rigor. Tørking og røyking ble utført i et Kerres Smoke-air® Kombikammer CS 700 EL. Det ble kjørt et fem timers tørke-/røykeprogram, som omfattet 2 timer tørking etterfulgt av 3 timer røyking, temperatur i skapet 20–25 °C. Både i pre- og post-rigor kjøringene ble de 15 filetene fra alle tre forsøksgruppene tørket og røkt i samme skapfylling.

### 2.1.5 Vakuumpakking

Etter røyking sto filetene 1 time på brettene for kjøling (4°C) og utjevning, før prøveuttak og vakuumpakking ved 99 % vakuum. De vakuumpakkede filetene ble kjølelagret (2-4 °C) i 30 dager før siste prøveuttak.

### 2.1.6 Lagring og prøveuttak i lagringstiden

Etter en uke kjølelagring hos Nofima Marin ble vakuumpakkede fileter sendt med fly til Nofima Norconserv AS i Stavanger for videre lagring (4 °C) og prøveuttak til henholdsvis lengde og vekt (2 og 4 uker lagring), fargemåling i DigiEye fotoboks (2 og 4 uker lagring), oksidasjonsanalyser (2 og 4 uker lagring) og pigmentanalyser (4 uker lagring). Figur 1 viser flytdiagram over hvordan forsøket ble gjennomført



Figur 1 Flytdiagram over hvordan prosessering og lagring av prøvene ble gjennomført.



## 2.2 Målinger, analyser og prøveuttak

De kjemiske analysene var saltinnhold (%), tørrstoff (%), fett (%), astaxanthin/totalt pigment og oksidasjon, mens de ikke-destruktive målingene var slaktestress (glucose, lactat, pH i blod), restblod i filetene, instrumentell overflatefarge (Digital Photo Imaging), vektendring (vekt %) og endring av filetlengde (%) gjennom prosessering.

### 2.2.1 Slaktestress

Glucose, Lactat og pH ble målt i blodet på 8 fisker i hver av gruppene Ustresset (US), stresset (S) og ubløgget (UB). Målingene ble utført med et kit for måling av blodparametere (i-STAT Portable Clinical Analyzer) og stikkelektrode for måling av blod-pH.

### 2.2.2 Restblod i muskelen

Høyrefiletene ble skåret av 15 lakser <3 timer etter slakting, mens venstrefiletene ble stående på beingrinden gjennom rigor til dag 3. Etter filetering ble filetene kjørt gjennom avbildende spektrograf. De multispektrale bildene ble analysert ved hjelp av programvare utviklet i IDL. Ved avbildende spektroskopi dannes et bilde av fileten der hvert punkt på fileten er representert ved et spekter. Avbildningen ble gjennomført i interaktansmodus hvor prøven belyses av 2 parallelle lysstriper og det måles hvor mye lys som kommer ut av prøven midt mellom stripene og på samme side. De multispektrale bildene ble analysert ved ENVI/IDL (ITT Visual Information Solutions). Referansespekter med hensyn til å kunne påvise generelt forhøyet blodnivå i fileter ble hentet fra de ustressede, godt utblødde filetene i forsøket under antagelse om at de hadde minst blod i muskelen. Dette så ut til å fungere bra for pre-rigor filetene og litt mindre bra for post-rigor filetene, men tilstrekkelig godt for sortering også for post-rigor filetene.

### 2.2.3 Endring i filetvekt og -lengde

Vektendring og endring i filetlengde etter ulike prosesstrinn ble registret som prosentvis endring i forhold til vekt/lengde av filet før behandling med det aktuelle prosesstrinnet. Totalt prosessutbytte/endring i lengde ble registret som endring i filetvekt/lengde i forhold til rå filet.

### 2.2.4 Salt

Salt i filetene etter røyking pre- og post-rigor ble målt i "Norsk kvalitetssnitt" (NQC, n=3). Målingene ble utført med et Dicromat II Salt Analyzer, setpoint for målinger i området 0,0–10,3 % NaCl i laksemuskel.

Saltinnhold i de utstansede prøvene til pigmentmålinger ble analysert ved at prøven (ca.1 g) ble tilsatt deionisert vann (30 ml), homogenisert (9500 omdr/min, 54 s) med en Ultra-Turrax og deretter kokt (100 °C, 10 min). Etter koking ble prøvene avkjølt og fortynnet i en volumetrisk flaske (100 ml). Innholdet av salt (NaCl) ble bestemt etter filtrering på en Chloride Analyzer (Model 926, Sherwood Scientific Ltd).

### 2.2.5 Tørrstoff, vann og fett

For å karakterisere råstoffet ble fett, vann og protein målt i NQC fra 3 fisker. Totalt fett ble bestemt ved Soxhlet-ekstraksjon. Vann og tørrstoff ble bestemt gravimetrisk etter tørking ved 105 °C. Protein ble målt med Kjeldahls-metode.

Tørrstoff i de utstansede prøvene til pigmentmålinger ble bestemt ved at homogenisert prøve (ca. 2.5 g) ble tørket (105 °C, 24 timer) til stabil vekt og tørrstoffinnhold bestemt gravimetrisk (ISO 6496 1983).

Fett i de utstansede prøvene til pigmentmålinger ble bestemt ved at prøvene ble ekstrahert sammen med carotenoidene, og totalt innhold kvantifisert etter en modifisert metode av Bligh og Dyer (1959).

### 2.2.6 Astaxanthin og totalt pigment

Carotenoidene, astaxanthin, idoxanthin og lutein, i homogeniserte prøver (ca. 1 g) ble ekstrahert etter en modifisert metode av Bligh og Dyer (1959). Analysene ble utført på en Luna 5µ CN 100A, 250\* 4.6 mm, Phenomenex®, USA, HPLC kolonne. Carotenoidene ble detektert ved 470 nm med heksan:acetone (80:20) som mobilfase (isokratisk, flow 1.5 ml/min). Standard 3', 4'-*cis* and 3', 4'-*trans* isomerer av idoxanthin ble laget ved reduksjon av astaxanthin med NaBH<sub>4</sub> i absolutt etanol (15 min). Reaksjonen ble stoppet ved å tilsette mettet saltlake og ekstrahert med metylenklorid. Astaxanthin, idoxanthin og lutein ble kvantifisert ved responsfaktorer (RF-verdier) basert på standarder. Total mengde carotenoider ble bestemt fra HPLC-kromatogrammene som summen av astaxanthin, idoxanthin og lutein.

### 2.2.7 Fargemåling (Digital Photo Imaging)

Produktenes overflatefarge (CIE L\*a\*b\*) ble målt ved å bruke Digital Photo Imaging fargemålingssystem (DigiEye full system, VeriVide Ltd., Leicester, UK). Filetene ble plassert i en lyskasse med standard dagslys (6400K) og fotografert med et digitalt kamera (Nikon D80, 35 mm linse, Nikon Corp., Japan). Bildene ble analysert med DigiPix software (VeriVide Ltd., Leicester, UK) og fargen kvantifisert. L\* beskriver produktets lyshet (L\* = 100 = hvit og L\* = 0 = svart), a\* beskriver intensiteten av farge på rød-grønn aksene (a\*>0 = rød og a\*<0 = grønn) og b\* beskriver intensiteten av farge på gul-blå aksene (b\*>0 = gul og b\*<0 = blå). Bokstaven h\* beskriver fargetone.

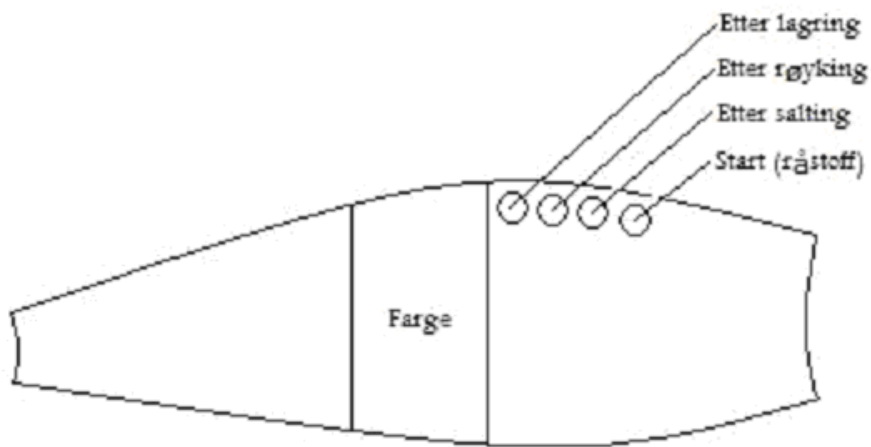
### 2.2.8 Oksidasjon

Harskning i de røkte produktene ble målt som peroksidtall (primære oksidasjonsprodukter) og anisidintall (sekundære reaksjonsprodukter), etter 2 og 4 uker lagring av de røkte filetene, vakuumpakket ved 2-4 °C. Total oksidasjonsverdi (TotOks) ble også beregnet, som (anisidintall + 2\* peroksidverdi).

### 2.2.9 Statistiske metoder

Students T-test; One-way ANOVA og ANOVA General Linear Modelling (GLM). Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test.

Figur 2 og bilde 1 viser hvor på fileten prøveuttakene ble gjort for de kjemiske (destruktive) analysene og fargemålingene (ikke-destruktiv).



Figur 2 Illustrasjon av hvor på fileten prøveuttakene til kjemiske analyser og hvor fargemålingene ble utført.



Bilde 1 Prøver til pigmentanalyse ble stanset ut fra ryggmuskelen; før salting, etter salting, etter røyking og etter 4 uker kjølelagring av vakuumpakkede røykte fileter.

### 3 Resultater

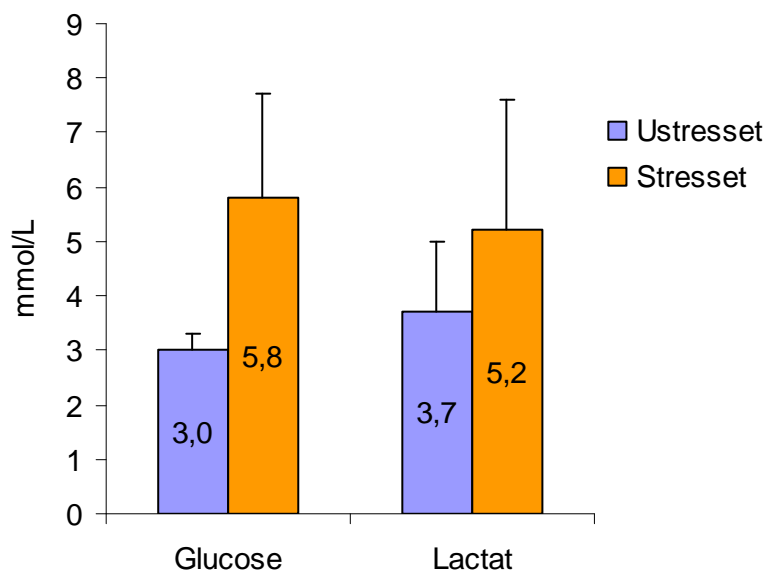
#### 3.1 Råstoff

##### 3.1.1 Stressnivå før slakting

Tabell 1 Glucose, Lactat og pH målt i blod før og etter stressing/utmattning av laksen (n=8).

	Ustresset (mmol/L)	Stresset (mmol/L)	Effekt av stressing <sup>1</sup>
Glucose	3.0±0.3	5.8±1.9	P<0.001
Lactat	3.7±1.3	5.2±2.4	P=0.076
pH-blod	7.5±0.1	7.5±0.1	P=0.191

<sup>1</sup>Students T-test



Figur 3 Glucose og Lactat målt i blod før og etter stressing/utmattning av laksen (n=8).

Ved avliving var det signifikant høyere nivå ( $p < 0.001$ ) av glucose i blodet i den gruppen av laks som hadde vært stresset/utmattet ved trenging i avkastnoten før slakting (tab.1, fig. 3). Også lactat i blod var høyest i den stressede gruppen ( $p = 0.08$ ). At både glucose og lactat er noe forhøyet indikerer at det ble oppnådd et relativt moderat nivå av utmattning under stressing av fisken før slakting. Både glucose- og laktatverdiene er innenfor det andre har målt ved tilsvarende trenging av Atlantisk laks.

Måling av pH i blodet ved avliving viste ingen signifikant forskjell mellom den stressede og den ustressede gruppen av laks.

### 3.1.2 Restblod i filetene – målt spektroskopisk

#### 3.1.2.1 Pre-rigor fileter

Tabell 2 viser rangeringen av fileter skåret av pre-rigor laks, med hensyn til restblod. Det var en del variasjon i blodinnhold internt i alle undergruppene. Mellom gruppene var det også forskjeller, men ikke entydig. Både den fileten der det ble målt lavest blodinnhold og den der det ble målt høyest, var fra ubløgget laks (UB3 og UB2). Det refereres også til vedlegg.

Tabell 2 *Rangering av fileter fra de tre gruppene; ustresset, stresset og ubløgget laks; filetert pre-rigor. I hver gruppe er filetene rangert fra venstre til høyre etter økende blodmengde. Vertikal pil indikerer generelt økende restblod i gruppene, fra ustresset/bløgget til ubløgget.*

↓	→					
	Gruppe	Filet ID				
	Ustresset	US 3	US 5	US 2	US 1	US 4
	Stresset	S 2	S 1	S 5	S 4	S 3
	Ubløgget	UB 3	UB 5	UB 1	UB 4	UB 2

Basert på måleresultatene rangerer tabell 2 pre-rigor filetene internt i de tre undergruppene med hensyn på restblod. Visuelle observasjoner av filetene indikerte også at det generelt var mest blod i filetene i den ubløggede undergruppen, både var det flere blodfylte årer og flere blodflekker i overflatene, særlig langsetter der hvor ryggbeinet var fjernet.

#### 3.1.2.2 Post-rigor fileter

Filetene som er skåret av post-rigor laks så tilsynelatende ut til å ha lavere blodinnhold enn tilsvarende pre-rigor fileter. Dette er nok ikke tilfelle, men et utslag av problem med utvelgelse av blodfritt muskelspekter. Det var noe blod i tykkfisken på filetene fra ustressa laks, og det er fra disse filetene at standard muskelspektra ble hentet.

Selv om ikke analyseresultatet på blodnivået i post-rigor gruppene kan direkte relateres til pre-rigor gruppene er det rimelig å bruke analyseresultatene for å sortere undergruppene etter blodnivå. For hver av undergruppene; ustresset laks, stresset laks og stresset og ubløgget laks er filetene i tabell 3 rangert med hensyn på blodinnhold.

Tabell 3 *Rangering av fileter fra de tre gruppene; ustresset, stresset og ubløgget laks; filetert post-rigor. I hver gruppe er filetene rangert fra venstre til høyre etter økende blodmengde. Vertikal pil indikerer generelt økende restblod i gruppene, fra ustresset/bløgget til ubløgget*

↓	→					
	Gruppe	Filet ID				
	Ustresset	US 7	US 8	US 6	US 9	US 10
	Stresset	S 8	S 10	S 9	S 7	S 6
	Ubløgget	UB 9	UB 10	UB 8	UB 6	UB 7

Tilsvarende som for pre-rigor filetene indikerte visuelle observasjoner at det også for post-rigor filetene var generelt mer blod igjen i muskelen i den ubløggede gruppen, enn i de to andre gruppene som var bløgget.

### 3.1.3 Kjemisk sammensetning og farge

Tabell 4 viser fett, vann og protein målt i NQC fra 9 tilfeldig valgte fisker, fordelt med 3 fisker i hver av gruppene ustresset, stresset og ubløgget.

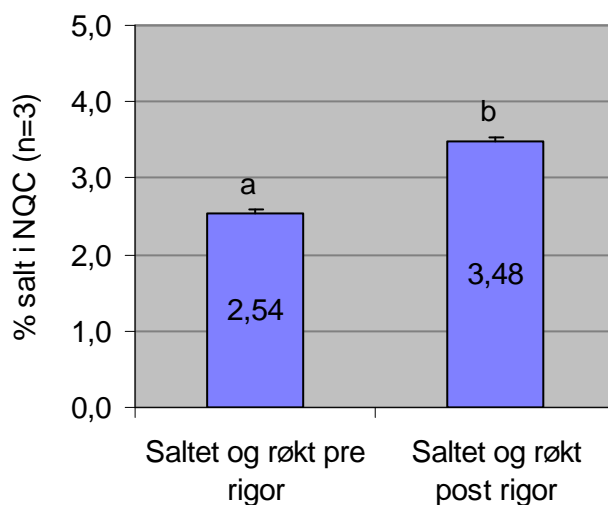
Tabell 4 Fett, vann og protein målt i NQC, gjennomsnitt % w/w og standardavvik, n = 9.

	Protein	Fett	Vann
Gjennomsnitt	18.7	14.4	65.5
Stdav.	1.3	2.7	3.5

Rødfarge i pre- og post-rigor råstoff ble målt til score 31 i LaRoche Fargevifte, det var ingen signifikant forskjell i rødfarge mellom filetene som ble målt pre-rigor rett etter slakting og filetene som ble målt post-rigor 3 døgn senere. Etter røyking var det signifikant høyere saltinnhold ( $P < 0.001$ ) i fileter prosessert post-rigor (3,5 %) enn i fileter prosessert pre-rigor (2,5 %), målt i NQC. Dette var som ventet ut fra tidligere forsøk (tabell 5, figur 4).

Tabell 5 Salt analysert i røkte fileter, samleprøve av 3 fileter i hver gruppe (S, US, UB).

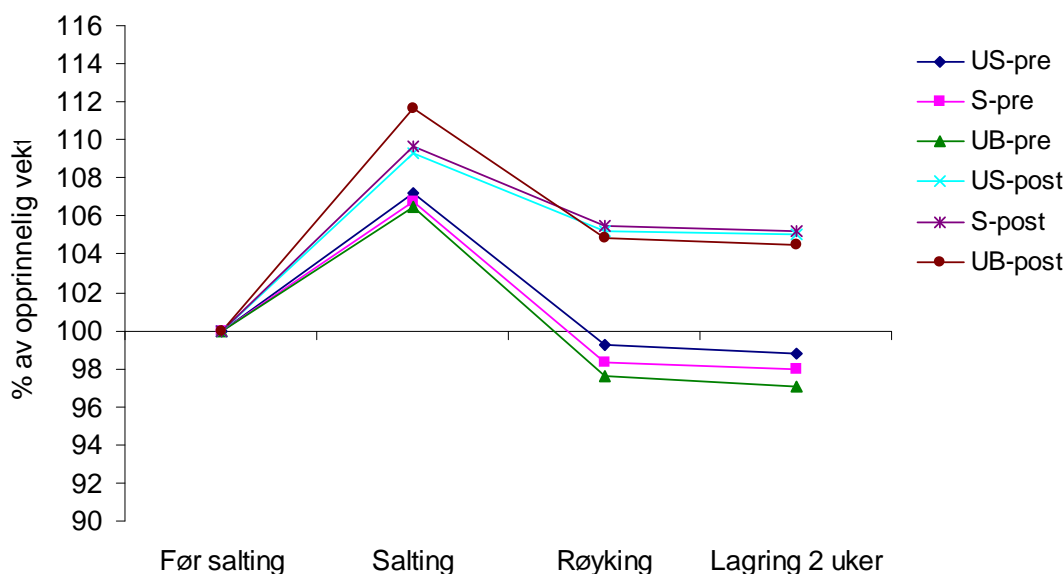
Gruppe	% salt	
	Pre-rigor	Post-rigor
Stresset (S)	2.6	3.5
Ustresset (US)	2.5	3.4
Ubløgget (UB)	2.6	3.5



Figur 4 Salt målt i røkte fileter, prosessert henholdsvis pre- og post-rigor, n = 3, ulike bokstaver over søylene viser signifikant forskjell ( $p < 0.001$ ).

## 3.2 Endring i filetvækt og -lengde gjennom prosessering og lagring

### 3.2.1 Vektendring



Figur 5 Vektendring gjennom hele forsøket, fra filetering til etter 2 uker lagring av røkte fileter, vist som % av opprinnelig filetvækt. N = 5.

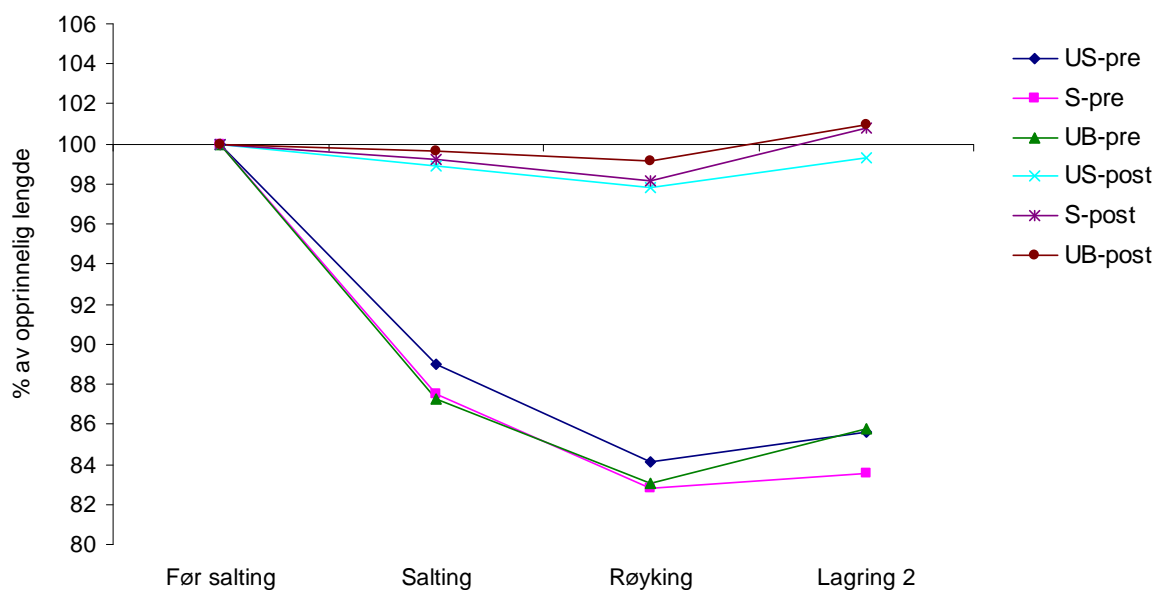
Tabell 6 Vektutbytter etter salting, etter røyking og etter 2 uker lagring av røkte fileter som % av filetvækt før salting, og drypptap (%) under lagring av røkte fileter i 2 uker. N = 5.

	Før Salting	Etter salting	Etter røyking	Etter lagring i 2 uker	Drypptap u/ lagring
US-pre	100	107.2	99.2	98.8	0.4
S-pre	100	106.7	98.3	98.0	0.3
UB-pre	100	106.5	97.6	97.2	0.4
<i>Snitt pre-rigor</i>	<i>100</i>	<i>106.8</i>	<i>98.4</i>	<i>98.0</i>	<i>0.4</i>
US-post	100	109.3	105.3	105.0	0.3
S-post	100	109.7	105.5	105.2	0.4
UB-post	100	111.7	104.9	104.5	0.4
<i>Snitt post-rigor</i>	<i>100</i>	<i>110.2</i>	<i>105.2</i>	<i>104.8</i>	<i>0.4</i>

Under saltinjisering økte pre-rigor filetene signifikant mindre i vekt enn post-rigor filetene ( $p < 0.001$ ). Dette viser mindre opptak av lake og dermed lavere saltinnhold i pre-rigor filetene. Utbyttet etter røyking var signifikant lavere ( $p < 0,001$ ) i pre-rigor gruppene (98,4 %) enn i post-rigor gruppene (105,2 %). Både nivå og forskjell mellom pre- og post-rigor er i samsvar med det som er observert i tidligere forsøk med pre- og post-rigor salting og røyking av laks. Internt i pre- og post-rigor prosessering var det ingen signifikante forskjeller mellom råstoffgruppene (US, S og UB), verken etter salting, røyking eller lagring (figur 5 og tabell 6).

Drypptapet under 2 uker lagring etter røyking var ubetydelig i alle variantene og det var ingen signifikant forskjell mellom pre- og post-rigor gruppene (tabell 6).

### 3.2.2 Lengdeendring



Figur 6 Filetlengde; endringer (krymping) gjennom prosessen fra filetering til etter lagring i 2 uker, vist som % av opprinnelig filetlengde ved filetering (n = 5).

Tabell 7 Filetlengde; endring (krymping) gjennom prosessen fra filetering til etter lagring i 2 uker, vist som % av opprinnelig filetlengde ved filetering (n = 5).

	Filetering (før salting)	Etter salting	Etter røyking	Etter 2 uker lagring
US-pre	100	89.0	84.2	85.6
S-pre	100	87.5	82.8	83.5
UB-pre	100	87.2	83.1	85.8
<i>Snitt pre-rigor</i>	<i>100</i>	<i>87.8</i>	<i>83.3</i>	<i>85.0</i>
US-post	100	98.9	97.8	99.3
S-post	100	99.3	98.2	100.8
UB-post	100	99.6	99.2	101.0
<i>Snitt post-rigor</i>	<i>100</i>	<i>99.3</i>	<i>98.4</i>	<i>100.4</i>

Rigorstatus ved saltetidspunktet hadde stor effekt på krymping av filetene gjennom salting og røyking. Lengden av fileter som var pre-rigor ved saltetidspunktet ble redusert signifikant mer ( $p < 0.001$ ) gjennom prosessering, sammenlignet med filetene som var post-rigor ved salting. Internt i pre- og post-rigor prosessering var det ingen signifikante forskjeller mellom råstoffgruppene (US, S og UB), verken etter salting, røyking eller lagring (figur 6 og tabell 7). Under lagring vakuumpakket i 2 uker etter røyking går krympingen av filetene litt tilbake, både i pre- og post-rigor prosesserte fileter (Figur 6 og Tabell 7).



### 3.3 Pigment og farge gjennom prosess og lagring

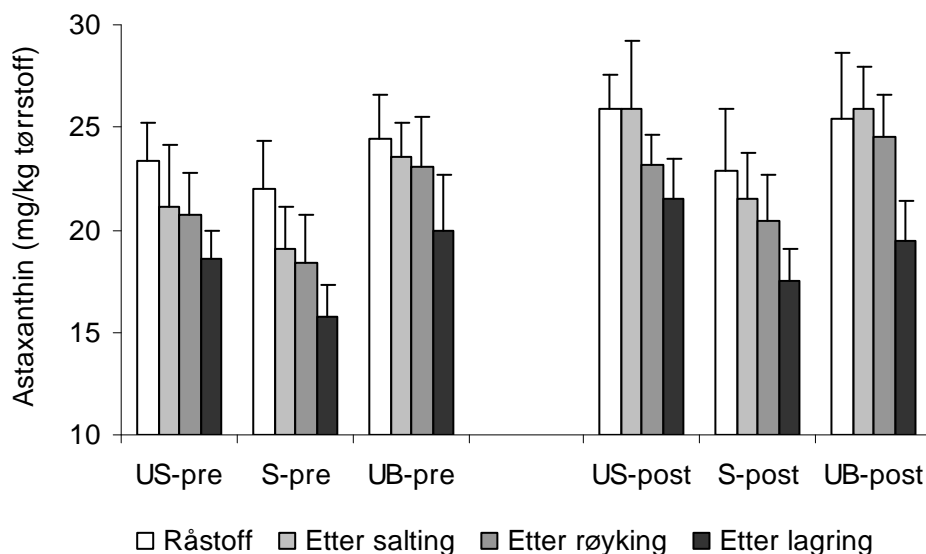
#### 3.3.1 Pigment og tørrstoff i råstoffet og i de ulike prosessprotokollene

Tabell 8 viser innholdet av total pigment og astaxanthin (mg/kg tørrstoff), og tørrstoff (%) i rå fileter som ble brukt i de seks prosessprotokollene. Det var ingen signifikante forskjeller i de undersøkte responsene mellom fileter fra de ulike protokollene. Gjennomsnittsinholdet av total pigment, astaxanthin og tørrstoff i samtlige av filetene som ble brukt i forsøket var på henholdsvis 25.4±1.6 mg/kg tørrstoff, 24.0±1.5 mg/kg tørrstoff og 25.0±1.1 %.

Tabell 8 Innhold (gjennomsnitt±std.avvik)<sup>1</sup> av total pigment (astaxanthin, idoxanthin og lutein) og astaxanthin (mg/kg tørrstoff), og tørrstoff (%) i de utstansede prøvene fra rå uprosesserte fileter fra de seks prosessprotokollene; ustresset pre-rigor (US-pre), ustresset post-rigor (US-post), stresset pre-rigor (S-pre), stresset post-rigor (S-post), ubløgget pre-rigor (UB-pre) og ubløgget post-rigor (UB-post).

Protokoll	N	mg/kg tørrstoff		%
		Total pigment	Astaxanthin	Tørrstoff
US-pre rigor	5	24.9±2.1	23.4±1.9	25.6±1.8
US-post rigor	5	27.4±1.7	25.8±1.7	23.7±2.0
S-pre rigor	5	23.2±2.4	22.0±2.3	25.8±1.7
S-post rigor	5	24.1±3.3	22.9±3.0	25.6±1.1
UB-pre rigor	5	25.9±2.3	24.5±2.1	25.7±2.4
UB-post rigor	5	26.8±3.3	25.4±3.2	23.6±2.0
Effekt av protokoll (P-verdi)		0.130	0.131	0.195

<sup>1</sup>Gjennomsnittene innen hver variabel ble rangert med one-way ANOVA og Tukeys Pairwise Comparison Test.



Figur 7 Innhold (gjennomsnitt±std.avvik) av astaxanthin (mg/kg tørrstoff) i utstansede prøver fra råstoffet og på hvert prosesstrinn i de seks prosessprotokollene, ustresset pre-rigor (US-pre), stresset pre-rigor (S-pre), ubløgget pre-rigor (UB-pre), ustresset post-rigor (US-post), stresset post-rigor (S-post) og ubløgget post-rigor (UB-post). N = 5.

Figur 7 og tabell 9 visere innholdet av astaxanthin og total pigment (mg/kg tørrstoff), og tørrstoff (%) i råstoffet før prosessering og i filetene på hvert av de ulike trinnene under prosessering og lagring i de seks protokollene.

**Tabell 9** Innhold (gjennomsnitt±std.avvik) av total pigment (astaxanthin, idoxanthin og lutein) og astaxanthin (mg/kg tørrstoff), og tørrstoff (%) i de utstansede prøvene på hvert prosesstrinn, fra fileter i de ulike protokollene, ustresset pre-rigor (US-pre), stresset pre-rigor (S-pre), ubløgget pre-rigor (UB-pre), ustresset post-rigor (US-post), stresset post-rigor (S-post) og ubløgget post-rigor UB-post). N = 5.

Protokoll	Prosesstrinn	N	mg/kg tørrstoff		%
			Total pigment	Astaxanthin	Tørrstoff
US-pre	Råstoff	5	24.9±2.1	23.4±1.9	25.6±1.8
	Saltet	5	22.4±3.3	21.1±3.0	29.1±2.5
	Røkt	5	22.0±2.1	20.7±2.0	28.5±4.2
	lagret 4 uker	5	19.6±1.5	18.6±1.4	30.4±3.7
S-pre	Råstoff	5	23.2±2.4	22.0±2.3	25.8±1.7
	Saltet	5	20.3±2.1	19.1±2.0	30.0±2.7
	Røkt	5	19.4±2.6	18.4±2.4	31.0±1.8
	lagret 4 uker	5	16.5±1.8	15.8±1.6	34.3±1.9
UB-pre	Råstoff	5	25.9±2.3	24.5±2.1	25.7±2.4
	Saltet	5	24.9±1.6	23.6±1.6	27.8±2.1
	Røkt	5	24.6±2.6	23.1±2.5	28.8±1.5
	lagret 4 uker	5	21.0±3.0	19.9±2.7	31.1±1.3
US-post	Råstoff	5	27.4±1.7	25.8±1.7	23.7±2.0
	Saltet	5	27.5±3.7	25.9±3.3	24.4±2.2
	Røkt	5	24.5±1.4	23.2±1.4	28.2±2.7
	4 uker	5	22.6±2.1	21.5±1.9	28.0±1.9
S-post	Råstoff	5	24.1±3.3	22.9±3.0	25.6±1.1
	Saltet	5	22.7±2.5	21.5±2.2	25.8±1.2
	Røkt	5	21.5±2.6	20.5±2.3	28.3±1.2
	4 uker	5	18.4±1.8	17.5±1.6	30.9±1.7
UB-post	Råstoff	5	26.8±3.3	25.4±3.2	23.6±2.0
	Saltet	5	27.4±2.2	25.9±2.1	23.6±1.7
	Røkt	5	25.9±2.0	24.6±2.0	27.5±1.7
	4 uker	5	20.3±1.8	19.5±1.9	29.4±0.5

### 3.3.2 Hovedeffekter av rigor status, utblødningsgrad, stressnivå og prosesstrinn på pigment og tørrstoff i filet

Tabell 10 viser hovedeffektene av designfaktorene rigorstatus, utblødningsgrad, stressnivå og prosesstrinn, på total pigment og astaxanthin (mg/kg tørrstoff), og tørrstoff (%) i filetene. Hovedeffektene tar hensyn til alle målingene under prosessering og lagring: Etter salting, røyking og 4 uker lagring vakuumpakket.

Som hovedeffekt har fileter som var post-rigor ved start prosessering signifikant høyere ( $P < 0.001$ ) innhold av total pigment og astaxanthin og signifikant lavere ( $P < 0.001$ ) innhold av tørrstoff (2.9 % -enheter) sammenlignet med fileter som var pre-rigor ved salting.

Tilsvarende trend observeres for fileter med ulik utblødningsgrad, der ubløggede fileter har signifikant ( $P<0.001$ ) høyere innhold av total pigment og astaxanthin og signifikant lavere ( $P<0.001$ ) innhold av tørrstoff, sammenlignet med bløggede fileter.

Tabell 10 Hovedeffekter<sup>1</sup> (gjennomsnitt $\pm$ S.E.M) av rigor status (pre- og post-rigor), utblødningsgrad (bløgget og ubløgget), stressnivå før slakting (lavt og høyt) og prosesstrinn (etter salting, etter røyking og etter lagring) på pigment og tørrstoff i laksefilet.

Design faktor	N	mg/kg tørrstoff <sup>2</sup>		%
		Total pigment	Astaxanthin	Tørrstoff
<b>Rigor</b>				
Post rigor	45	24.7 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	23.4 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	26.7 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>
Pre rigor	45	22.4 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	21.2 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	29.6 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>
Effekt av rigor status (P-verdi)		$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$
<b>Utblødningsgrad</b>				
Ubløgget	30	25.7 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	24.3 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>	27.1 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>
Bløgget	60	21.5 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	20.3 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>	29.1 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
Effekt av utblødning (P-verdi)		$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$
<b>Stressnivå før slakt</b>				
Høy	60	21.9 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	20.8 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>	29.0 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
Lav	30	25.3 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	23.8 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	27.3 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>
Effekt av stress (P-verdi)		$P<0.001$	$P<0.001$	$P=0.001$
<b>Prosesstrinn</b>				
Etter salting	30	25.5 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	24.0 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	26.2 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>
Etter røyking	30	24.2 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	22.9 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	28.1 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>
Etter lagring (4 uker)	30	21.0 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>	20.0 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	30.2 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>
Effekt av prosesstrinn (P-verdi)		$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$

<sup>1</sup>ANOVA, General Linear Modelling (GLM). Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt av variable med ulik opphøyd bokstav innen hver design faktor er signifikant forskjellig.

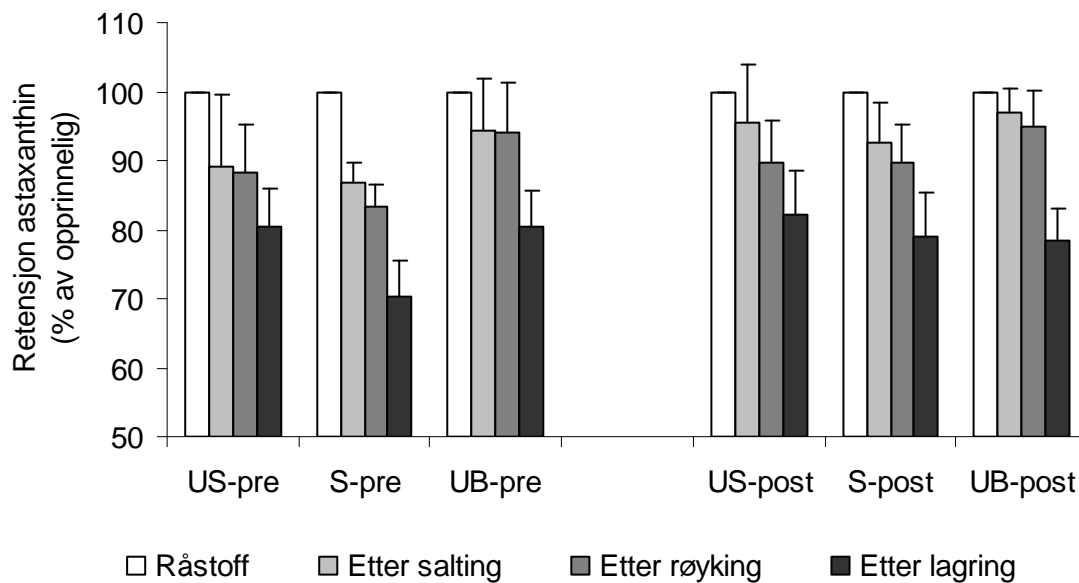
<sup>2</sup>Tørrstoffinnholdet er korrigert for ulikt saltinnhold i prøvene.

Et lavt stressnivå før slakting fører til at filetene som hovedeffekt har et signifikant høyere ( $P<0.001$ ) innhold av total pigment og astaxanthin og et signifikant lavere ( $P<0.001$ ) innhold av tørrstoff, sammenlignet med fileter med opphav i fisk som hadde et høyt stressnivå før slakting.

Innholdet av total pigment og astaxanthin reduseres signifikant ( $P<0.001$ ) etter lagring, sammenlignet med etter salting og røyking, mens innholdet av tørrstoff øker signifikant ( $P<0.001$ ) etter hvert av de undersøkte prosesstrinnene.

### 3.3.3 Retensjon av astaxanthin i de ulike prosessprotokollene

I figur 8 er retensjon av astaxanthin gjennom prosessering- og lagring beregnet som mengde astaxanthin (mg/kg tørrstoff) i prøven etter det aktuelle prosesstrinnet i % av opprinnelig mengde i råstoffet før prosessering.



Figur 8 Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig innhold i rå filet, gjennomsnitt og std.av) etter hvert trinn i de seks prosessprotokollene; ustresset pre-rigor (US-pre), stresset pre-rigor (S-pre), ubløgget pre-rigor (UB-pre), ustresset post-rigor (US-post), stresset post-rigor (S-post) og ubløgget post-rigor UB-post). N = 5.

Figur 8 viser at det var betydelig spredning med hensyn til retensjon av astaxanthin, mellom de seks prosessprotokollene og individuelt internt i protokollene. Den høyeste retensjonen av astaxanthin etter lagring hadde protokollen Ustresset post-rigor ( $82,3 \pm 6,3$ ), og den laveste protokollen Stresset pre-rigor ( $70,4 \pm 5,1$ ).

Etter salting, røyking og lagring har filetene i snitt av alle de seks prosessprotokollene tapt henholdsvis 4,6 %, 9,4 % og 21,5 % av opprinnelig mengde astaxanthin i råstoffet, og 4,4 %, 9,4 % og 22,0 av opprinnelig mengden totalt pigment (astaxanthin + idoxanthin + lutein).

### 3.3.4 Hovedeffekter av rigor status, utblødningsgrad og stressnivå på retensjon av astaxanthin i muskel

Tabell 11 viser hovedeffektene av rigor status, utblødningsgrad og stressnivå på retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) etter ulike prosesstrinn (salting, røyking og lagring).

Det er ingen signifikant effekt ( $P = 0.063-0.891$ ) av rigor status på retensjonen av astaxanthin ved noen av prosesstrinnene, men for både post- og pre-rigor fileter er det signifikant effekt ( $P < 0.020$ ) av prosesstrinn. Etter salting er retensjonen 90-94 % og etter røyking 88-90 %. Etter lagring er retensjonen på 83 %, og signifikant lavere sammenlignet med etter salting og røyking. Det vil si at totalt 17 % astaxanthin tapes gjennom prosesseringen.

Tabell 11 Hovedeffekter<sup>1</sup> (gjennomsnitt±S.E.M) av rigor status (pre-, post-rigor), utblødningsgrad (ubløgget og bløgget) og stressnivå før slakt (høyt og lavt) på retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) etter ulike prosesserstrinn.

Design faktorer	N	Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig)			Effekt prosesserstrinn <sup>2</sup>
		Etter salting	Etter røyking	Etter lagring	
<b>Rigor status</b>					
Post rigor	15	94±1.7 <sup>A</sup>	90±1.2 <sup>A</sup>	83±2.3 <sup>B</sup>	P<0.001
Pre rigor	15	90±1.7 <sup>A</sup>	88±1.2 <sup>AB</sup>	83±2.3 <sup>B</sup>	P=0.020
<i>Effekt av rigor status</i>					
(P-verdi)		0.063	0.125	0.891	
<b>Utblødningsgrad</b>					
Ubløgget	10	94±2.2 <sup>aA</sup>	92±1.6 <sup>aA</sup>	84±3.1 <sup>B</sup>	P<0.001
Bløgget	20	89±1.3 <sup>ba</sup>	86±0.9 <sup>ba</sup>	81±1.8 <sup>B</sup>	P=0.001
<i>Effekt av utblødning</i>					
(P-verdi)		0.047	0.006	0.378	
<b>Stressnivå før slakt</b>					
Høy	20	91±1.3 <sup>A</sup>	89±0.9 <sup>A</sup>	80±1.8 <sup>B</sup>	P<0.001
Lav	10	92±2.2	89±1.6	85±3.1	P=0.109
<i>Effekt av stress</i>					
(P-verdi)		0.800	0.885	0.175	

<sup>1</sup>ANOVA, General Linear Modelling (GLM). Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt av variable med ulik liten opphøyd bokstav (a, b) innen hver design faktor er signifikant forskjellig.

<sup>2</sup>One-way ANOVA. Gjennomsnittene er rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt av variable med ulik stor opphøyd bokstav (A, B) mellom hvert prosesserstrinn er signifikant forskjellig.

Etter både salting og røyking er retensjonen signifikant høyere (P=0.006-0.047) i de ubløggede filetene sammenlignet med de bløggede filetene (Tabell 11). Etter lagring er det ikke signifikant forskjell mellom ubløggede og bløggede fileter. Prosesserstrinn påvirker retensjonen signifikant i både bløggede og ubløggede fileter, der retensjonen etter lagring (81-84 %) er signifikant lavere enn etter røyking (86-92 %) og salting (89-94 %). Totalt tap av astaxanthin (etter lagring) er dermed 16-19 % i forhold til opprinnelig nivå.

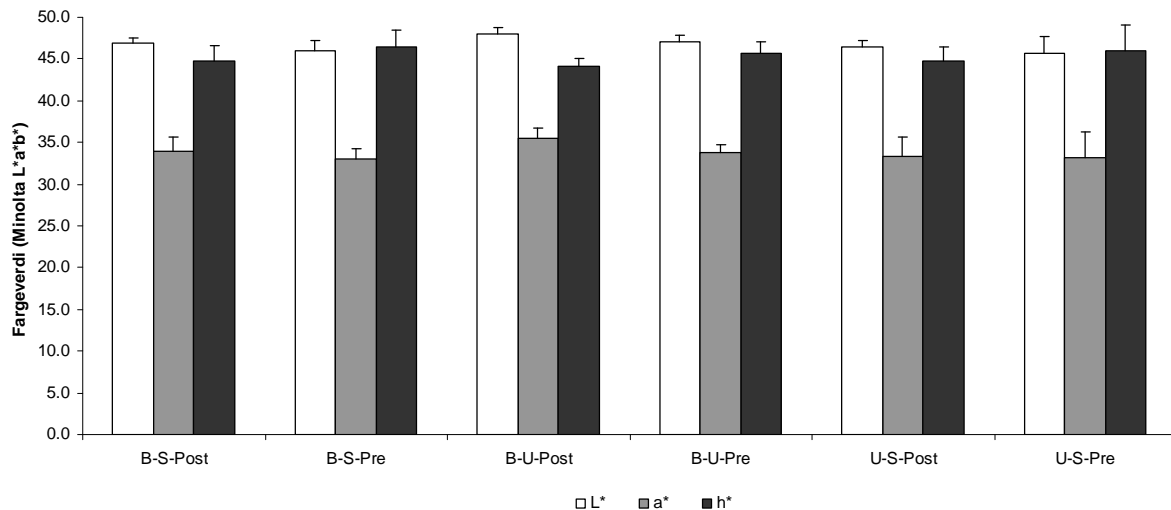
Ulikt stressnivå ved slaktetidspunktet (høy og lav) fører ikke til noen signifikante forskjeller (P=0.175-0.885) ved de ulike prosesserstrinnene. For fileter med bakgrunn i høyt stressnivå ved slakt, reduseres retensjonen signifikant fra etter salting og røyking til etter lagring (80 %). Prosesserstrinn har ingen signifikant effekt på retensjon i fileter med opphav i lavt stressnivå.

### 3.3.5 Fargeegenskaper etter 2 og 4 uker lagring i de ulike prosessprotokollene

Fargen ble målt på røykte fileter etter 2 og 4 uker lagring, vakuumpakket ved 4 °C.

Mellom produksjonsprotokollene ble det ikke funnet signifikante forskjeller ( $P=0.133-0.561$ ) i fargeegenskapene lyshet ( $L^*$ ), rødhet ( $a^*$ ) og fargetone ( $h^*$ ) i røykte fileter som var lagret i 4 uker, vakuumpakket ved 4 °C (figur 9). Det ble heller ikke funnet signifikante forskjeller i gulhet ( $b^*$ ) mellom produksjonsprotokollene (data ikke vist).

Tilsvarende mønster ble observert etter 2 ukers lagring (data ikke vist).



Figur 9 Fargeegenskaper, lyshet ( $L^*$ ), rødhet ( $a^*$ ) og fargetone ( $h^*$ ) i røykte fileter produsert etter de ulike produksjonsprotokollene: B-S-Post = bløgget, stresset post-rigor; B-S-Pre = bløgget, stresset, pre-rigor; B-U-Post = bløgget, ustresset, post-rigor; B-U-Pre = bløgget, ustresset, pre-rigor; U-S-Post = ubløgget, stresset, post-rigor; U-S-Pre = ubløgget, stresset, pre-rigor. Ved måling var filetene lagret i 4 uker, vakuumpakket, etter røyking.

### 3.3.6 Hovedeffekter av rigorstatus, utblødningsgrad, stressnivå og lagring på fargeegenskaper i røykte fileter

Tabell 12 viser hovedeffekter av designfaktorene rigor, utblødning, stress og lagringstid.

Rigor status ved start prosessering hadde signifikante effekter på lyshet ( $L^*$ ), rødhet ( $a^*$ ), gulhet ( $b^*$ ) og fargetone ( $h^*$ ) i de kaldrøykte produktene. Fileter som var pre rigor ved start prosessering var signifikant mindre lyse ( $P=0.017$ ) og røde ( $P=0.049$ ), mer gule ( $P=0.002$ ) og hadde en gulere fargetone ( $P=0.001$ ) sammenlignet med fileter som var post rigor ved start prosessering.

Utblødningsgrad (bløgget eller ubløgget) hadde ingen signifikante effekter ( $P=0.333-0.997$ ) på fargeegenskapene i røykte fileter.

Stressnivå i forkant av slakting (lavt og høyt) hadde liten effekt på de fleste fargeegenskapene i røykte fileter (rødhet, gulhet og fargetone,  $P=0.088-0.745$ ), men fileter av fisk med lavt stress i forkant av slakting var signifikant lysere ( $P=0.016$ ) sammenlignet med fileter av fisk med høyt stress.

Lagring av filetene i 4 uker (4 °C, vakuum) førte til en signifikant reduksjon ( $P < 0.001$ ) i lyshet, rødhet og gulhet, sammenlignet med 2 ukers lagring. Fargetone ble ikke signifikant påvirket av lagringen ble forlenget fra 2 til 4 uker.

Tabell 12 Hovedeffekter<sup>1</sup> (gjennomsnitt±S.E.M) av rigor status (pre- og post-rigor), utblødning (ubløgget og bløgget), stressnivå før slakt (høyt og lavt) og lagringstid (2 uker og 4 uker) på lyshet ( $L^*$ ), rødhet ( $a^*$ ), gulhet ( $b^*$ ) og fargetone ( $H^*$ ) i kaldrøykt laksefilet. Fargemålingene ble utført på loin.

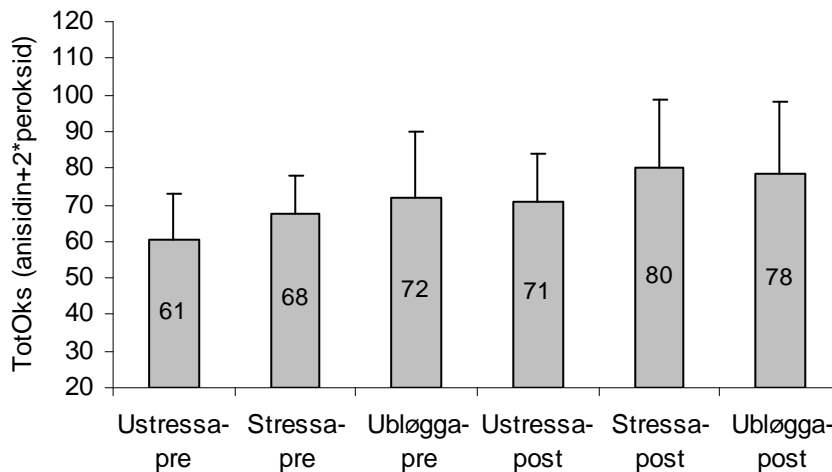
	N	Fargeparameter (CIE Lab)			
		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$h^*$
<b>Rigor status</b>					
Post-rigor	24	49.6±0.3	36.4±0.4	35.6±0.2	44.4±0.3
Pre-rigor	24	48.7±0.3	35.4±0.4	36.6±0.2	45.9±0.3
<i>Effekt av rigor status (P-verdi)</i>		0.017	0.049	0.002	0.001
<b>Utblødning</b>					
Ubløgget	16	49.0±0.4	35.9±0.5	36.0±0.3	45.2±0.5
Bløgget	32	49.4±0.2	36.0±0.3	36.2±0.2	45.2±0.3
<i>Effekt av utblødning (P-verdi)</i>		0.333	0.849	0.716	0.997
<b>Stress</b>					
Høyt	32	48.6±0.2	35.5±0.3	35.8±0.2	45.2±0.3
Lavt	16	49.7±0.4	36.4±0.5	36.4±0.3	45.1±0.5
<i>Effekt av stressnivå (P-verdi)</i>		0.016	0.161	0.088	0.745
<b>Lagring</b>					
2 uker	24	51.6±0.3	38.0±0.4	38.0±0.2	45.0±0.3
4 uker	24	46.8±0.3	33.9±0.4	34.2±0.2	45.3±0.3
<i>Effekt av lagring (P-verdi)</i>		<0.001	<0.001	<0.001	0.643

<sup>1</sup>ANOVA, General Linear Modelling (GLM). Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test. P-verdier < 0.05 for hver fargerrespons innen hver designfaktor betyr at gjennomsnittene er signifikant forskjellige.

### 3.4 Oksidasjon etter prosessering og lagring

Harskning ble analysert som anisidin- og peroksidtall to og fire uker etter salting og røyking. Etter røyking ble filetene vakuumpakket og kjølelagret ved 4 °C. Peroksid tall gir et mål for primære oksidasjonsprodukter, mens anisidintall måler sekundære reaksjonsprodukter som kommer opp lengre ute i harskningsforløpet. De to måleenhetene har derfor tidsmessig ulikt forløp med hensyn til topp-punkt, peroksidverdien kan ha passert toppen og begynner å avta når anisidinverdien når sitt topp-punkt. Måleenheten total oksidasjon (anisidin + 2\*peroksid) tar hensyn til begge verdiene og gir derfor et bedre bilde av oksidasjonstatus i prøvene.

### 3.4.1 Effekter av produksjonsprotokollene på oksidasjon i røykte fileter



Figur 10 Totaloksidasjon i røykte laksefileter produsert etter de ulike produksjonsprotokollene, lagret vakuumpakket ved 2-4 °C i 2 uker etter røyking. Figuren viser gjennomsnittsverdier og standardavvik for 3 fileter.

Figur 10 indikerer at det etter 2 uker lagring vakuumpakket kan være en (ikke signifikant) tendens i materialet til at post-rigor filetene i snitt har høyere totale oksidasjonsverdier enn pre-rigor filetene, og at filetene av stresset og ubløgget fisk i snitt har høyere verdier enn filetene av ustresset fisk. Individvariasjonen er imidlertid høy. Etter 4 uker lagring er bildet mer variert (tabell 13) og uten samsvar med mulig rangering etter 2 uker lagring.

Tabell 13 viser peroksidverdi, anisidintall og totalt oksidasjonstall i de seks prosess-protokollene etter 2 og 4 ukers lagring. Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller i de undersøkte oksidasjonsresponsene mellom de ulike protokollene i røykte fileter etter 2 ukers lagring (P-verdi = 0.068-0.735).

Etter 4 ukers lagring hadde filetene fra protokollen "Ustresset post-rigor" (US-post  $44.3 \pm 8.3$ ) et signifikant lavere ( $P=0.036$ ) total oksidasjonstall sammenlignet med protokollene "Stresset post-rigor" (S-post), "Ubløgget post-rigor" (UB-post) og "Ustresset pre-rigor" (US-pre) (Total oksid.=77-99). I tillegg hadde protokoll "Stresset post-rigor" (Post-B-S  $99.0 \pm 1.9$ ) et signifikant høyere totalt oksidasjonstall sammenlignet med protokollen "Ubløgget pre-rigor" (UB-pre  $68.7 \pm 25.0$ ).

Det ble også observert en signifikant nedgang ( $P=0.026$ ) i peroksidverdi fra  $31.1 \pm 5.0$  mEkv/Kg til  $19.5 \pm 2.9$  mEkv/kg og i totalt oksidasjonstall ( $P=0.044$ ) fra  $70.8 \pm 13.4$  til  $44.3 \pm 8.3$  ved utvidet lagringstid fra 2 til 4 uker for protokoll "Ustresset post-rigor" (US-post).

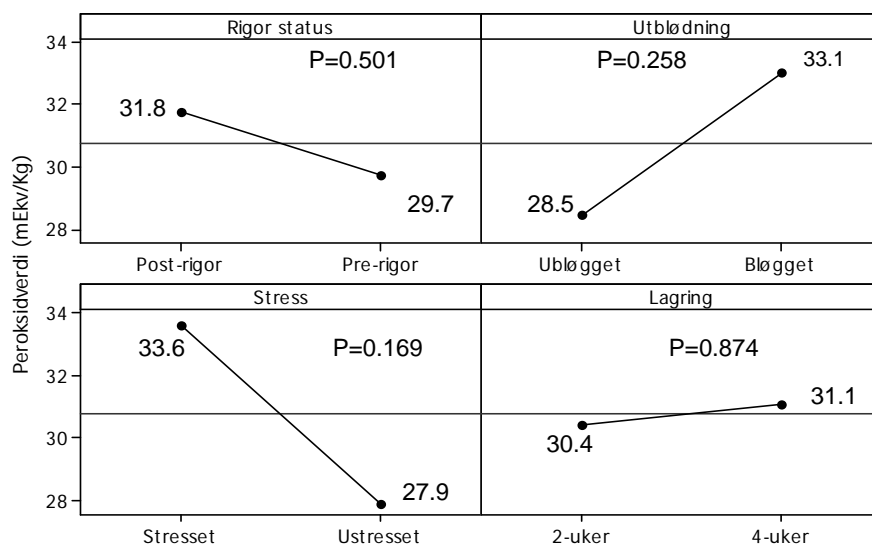


Tabell 13 Peroksidverdi (mEkv/Kg), anisidintall og totalt oksidasjonstall i røykte fileter fra de ulike produksjonsprotokollene etter 2 og 4 ukers lagring.

Protokoll	Peroksidverdi		Effekt lagring <i>P</i> -verdi	Anisidintall		Effekt lagring <i>P</i> -verdi	Totalt oksidasjonstall		Effekt lagring <i>P</i> -verdi
	2 uker	4 uker		2 uker	4 uker		2 uker	4 uker	
S-post	34.9±9.3	45.7±3.0	0.130	10.0±0.0	7.7±6.3	0.559	79.9±18.7	99.0±1.9 <sup>a</sup>	0.152
US-post	31.1±5.0	19.5±2.9	0.026	8.7±3.5	5.3±2.5	0.252	70.8±13.4	44.3±8.3 <sup>c</sup>	0.044
UB-post	34.9±8.3	34.8±8.9	0.996	8.7±3.5	7.3±5.1	0.729	78.4±19.8	77.0±20.5 <sup>ab</sup>	0.936
S-pre	30.6±4.8	37.8±16.3	0.497	6.3±4.2	16.3±7.1	0.103	67.5±10.3	62.4±0.0 <sup>abc</sup>	0.711
US-pre	28.2±5.9	38.2±6.1	0.108	4.3±2.1	3.7±1.5	0.678	60.7±12.4	80.1±13.5 <sup>ab</sup>	0.141
UB-pre	28.3±7.6	31.4±12.9	0.738	15.3±6.7	6.0±1.0	0.074	71.9±17.9	68.7±25.0 <sup>bc</sup>	0.868
<i>P</i> -verdi	0.735	0.065		0.068	0.065		0.699	0.036	

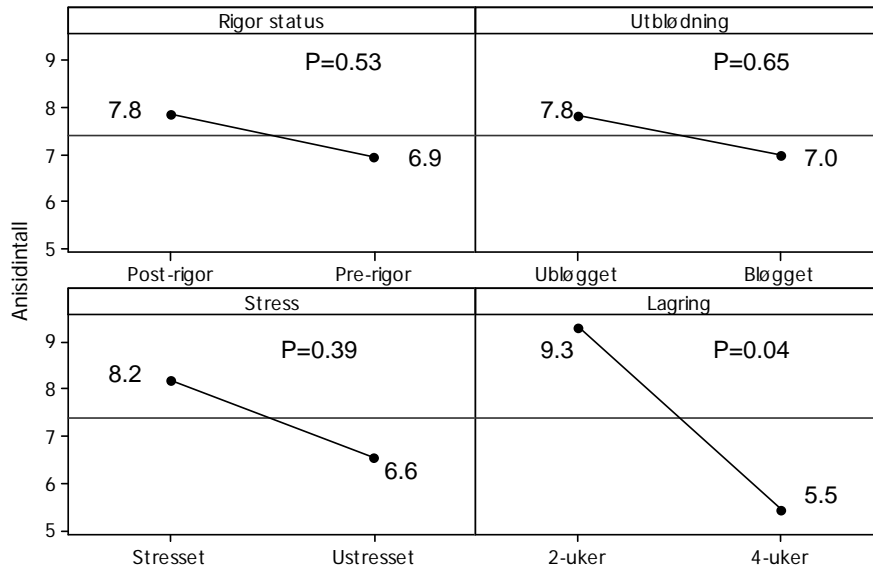
### 3.4.2 Hovedeffekter av rigorstatus, utblødningsgrad, stressnivå og lagring på oksidasjonsparameter i røykte fileter

For peroksidverdi (primære oksidasjonsprodukter) målt i røykte produkter (mEkv/kg) ble det ikke observert noen signifikante hovedeffekter (*P*-verdi = 0.169-0.874) av de undersøkte designfaktorene rigorstatus, utblødningsgrad, stress før slakting og lagringstid (Figur 11). Gjennomsnittlig peroksidverdi for de ulike designfaktorene varierte i området 28-34 mEkv/Kg.



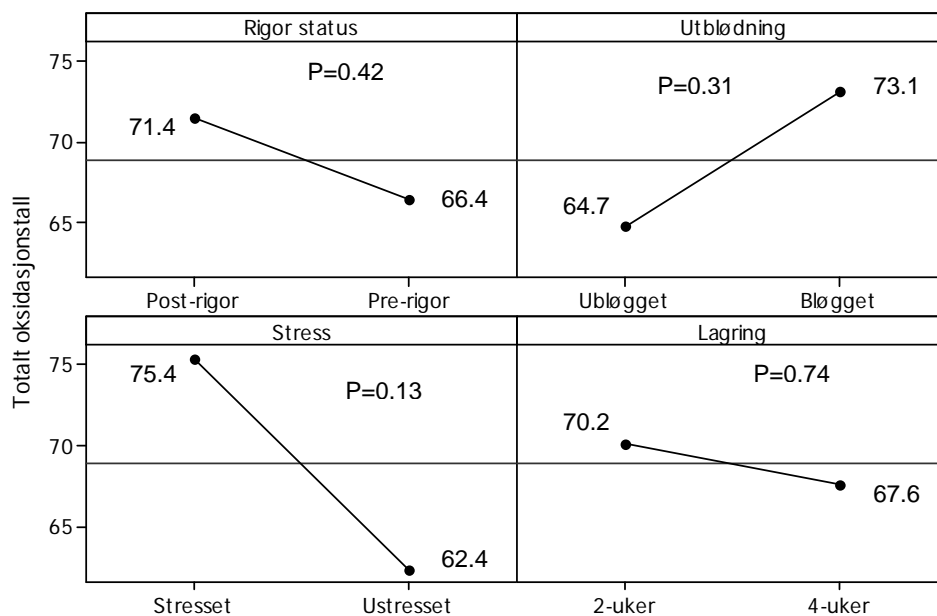
Figur 11 Hovedeffekter av design faktorene rigor status, utblødningsgrad, stress før slakting og lagringstid på peroksidverdi (mEkv/kg) i røykte laksefileter. Figuren viser gjennomsnittlig peroksidverdi og *P*-verdi (ANOVA, General Linear Modelling; GLM, gjennomsnitt rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test). GLM er utført med fettinnhold (%) som covariat.

For anisidintall (sekundære reaksjonsprodukter) er hovedeffektene av de undersøkte designfaktorene vist i figur 12. Det ble ikke funnet signifikante effekter (*P*-verdi = 0.397-0.655) av rigor status, utblødningsgrad og stressnivå før slakting på anisidintall i røykte fileter. Fra 2 til 4 ukers lagring av de røykte filetene observeres det en signifikant nedgang (*P*=0.044) i anisidintallet fra 9.3±5.2 til 5.5±5.4.



Figur 12 Hovedeffekter av design faktorene rigor status, utblødningsgrad, stress før slakting og lagringstid på anisidintall i røykte laksefileter. Figuren viser gjennomsnittlig anisidintall og P-verdi (ANOVA, General Linear Modelling; GLM, gjennomsnitt rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test). GLM er utført med fettinnhold (%) som covariat.

For totalt oksidasjonstall ble det ikke funnet noen signifikante hovedeffekter av designfaktorene på det totale oksidasjonstallet (Figur 13).



Figur 13 Hovedeffekter av design faktorene rigor status, utblødningsgrad, stress før slakting og lagringstid på total oksidasjonstall i røykte laksefileter. Figuren viser gjennomsnittlig totalt oksidasjonstall og P-verdi (ANOVA, General Linear Modelling; GLM, gjennomsnitt rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test). GLM er utført med fettinnhold (%) som covariat.

## 4 Oppsummering

Pigment- og tørrstoffinnholdet i råstoffet som ble brukt i de ulike prosessprotokollene var ikke signifikant forskjellig. Tidligere forsøk i prosjektet har vist at det er liten variasjonen i kjemisk sammensetning i det området langsetter fileten der prøver til pigmentmåling ble stanset ut.

Vekt- og lengdeendring (%) av filetene under prosessering påvirkes av både rigorstatus ved salting og de ulike prosesstrinnene, men ikke av hvorvidt fisken er stresset eller ustresset før slakting, eller om den er bløgget eller ikke.

I prosessen ser man signifikante effekter av prosesstrinnene salting, røyking og lagring på den kjemiske sammensetningen av filetene (tørrstoff og pigment). Innholdet av tørrstoff øker signifikant etter hvert prosesstrinn mens pigment er redusert signifikant etter røyking og lagring. Årsaken til dette er sannsynligvis en kombinasjon av endringer forårsaket av vektendringer (tilførsel/fjerning av salt og vann) og spesielt for astaxanthin, en utvasking og nedbryting av pigment. Etter salting, røyking og lagring har filetene i snitt av alle de seks prosessprotokollene (US-pre, S-pre, UB-pre, US-post, S-post og UB-post) tapt henholdsvis 4,4 %, 9,4 % og 22 % av den opprinnelige totale pigmentmengden i råstoffet. Tilsvarende har filetene tapt 4,6 %, 9,4 % og 21,5 % av den opprinnelige mengden astaxanthin i råstoffet.

Undersøkelser av hovedeffektene av designfaktorene rigorstatus, utblødning og stressnivå viser at fileter som var post-rigor ved start prosessering har signifikant høyere innhold av total pigment og astaxanthin og signifikant lavere innhold av tørrstoff, enn fileter som var pre-rigor. Tilsvarende har ubløggede fileter signifikant høyere innhold av pigment og signifikant lavere innhold av tørrstoff enn bløggede fileter. Fileter av fisk med lavt stressnivå før slakting har som hovedeffekt signifikant høyere innhold av pigment og lavere innhold av tørrstoff, enn fileter av fisk med høyt stressnivå.

Hovedeffektene av designfaktorene (rigor, utblødning og stress) viser at retensjon av astaxanthin etter salting og røyking ble signifikant påvirket av hvorvidt råstoffet var blodtappet (bløgget) eller ikke (ubløgget). Både astaxanthin nivået og retensjonen var høyest i ubløggede fileter. Retensjon av astaxanthin ble ikke signifikant påvirket av hvorvidt fisken var stresset eller ikke før slakting, eller hvorvidt filetene var pre- eller post rigor ved salting.

Fargen ble målt instrumentelt på røykte fileter etter 2 og 4 uker lagring. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i fargeegenskapene lyshet ( $L^*$ ), rødhet ( $a^*$ ), gulhet ( $b^*$ ) og fargetone ( $h^*$ ) mellom hver enkelt av de seks produksjonsprotokollene.

Undersøkelser av hovedeffektene av designfaktorene (rigor, utblødning og stress) viser at de røykte filetenes fargeegenskaper ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  og  $h^*$ ) påvirkes signifikant av rigorstatus ved start prosessering. Fileter som var post-rigor ved start prosessering var lysere, rødere, mindre gule og hadde en mindre gul fargetone, enn fileter som var pre-rigor ved start prosessering. Utblødningsgrad hadde ingen signifikante effekter på fargeegenskapene i røykte fileter. Stressnivå hadde liten effekt på rødhet, gulhet og fargetone i røykte fileter, men fileter av fisk med lavt stress før slakting var signifikant lysere enn fileter av fisk med høyt stress.

Lagring av røykte fileter i 4 uker førte til signifikant reduksjon i lyshet, rødhet og gulhet, sammenlignet med 2 ukers lagring. Fargetonen ( $h^*$ ) ble ikke signifikant påvirket av at lagringen ble forlenget fra 2 til 4 uker.

Harskning ble analysert som anisidin- og peroksidtall, to og fire uker etter salting og røyking. Total oksidasjon ble også beregnet som: (anisidin + 2\*peroksid). I røykte fileter som var lagret vakuumpakket i 2 uker ble det ikke funnet signifikante forskjeller i noen av de undersøkte oksidasjonsresponsene, men det er en tendens (ikke signifikant) i materialet som indikerer at post-rigor filetene har høyere totale oksidasjonsverdier enn pre-rigor filetene og at filetene av stresset og ubløgget fisk i snitt har høyere verdier enn filetene av ustresset fisk. Etter 4 uker lagring er resultatene ikke i samsvar med tendensen etter 2 uker.

Peroksidtall gir et mål for primære oksidasjonsprodukter, mens anisidintall måler sekundære reaksjonsprodukter som kommer opp lengre ute i harskningsforløpet. Disse måleenhetene har derfor ulikt forløp tidsmessig med hensyn til toppunkt, peroksidverdien kan ha passert toppen og begynner å avta når anisidinverdien når et toppunkt. Måleenheten total oksidasjon som tar hensyn til begge verdiene kan derfor gi et bedre bilde av oksidasjons status i prøvene. De noe uoversiktlige resultatene, særlig etter 4 uker, stiller imidlertid spørsmål ved om de valgte metodene var godt egnet til å beskrive oksidasjonsforløpet i dette forsøket. Det er heller ikke mulig ut fra oksidasjonsparameterne som ble målt å si noe om produktenes sensoriske egenskaper. I senere forsøk vil det derfor være ønskelig også å utføre sensoriske analyser som kan detektere om ulik oksidasjonsgrad eventuelt gir målbare utslag på produktenes spisekvalitet.

## 5 Referanser

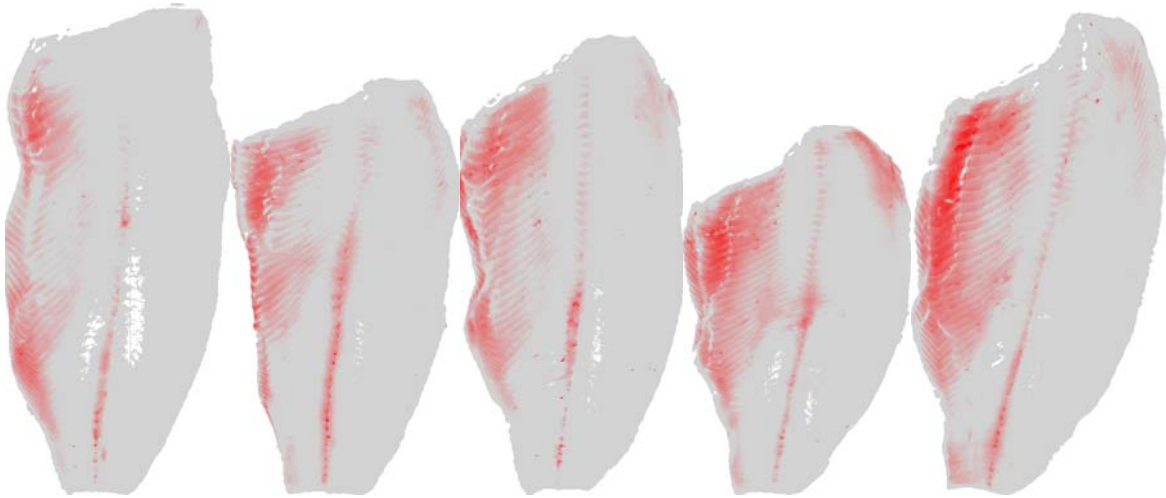
- ISO 6496 (1983). *Determination of Moisture and other Volatile Matter Content*. Genf, Switzerland: The International Organization for Standardization.
- Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 3, 911-917.
- Birkeland S., Akse L., Lerfall J. (2010) Effekt av rigorstatus og saltemetode på fargeegenskaper og retensjon av astaxanthin under produksjon og lagring av kaldrøykte laksefiletet. Nofima rapport 8/2010.

## Vedlegg

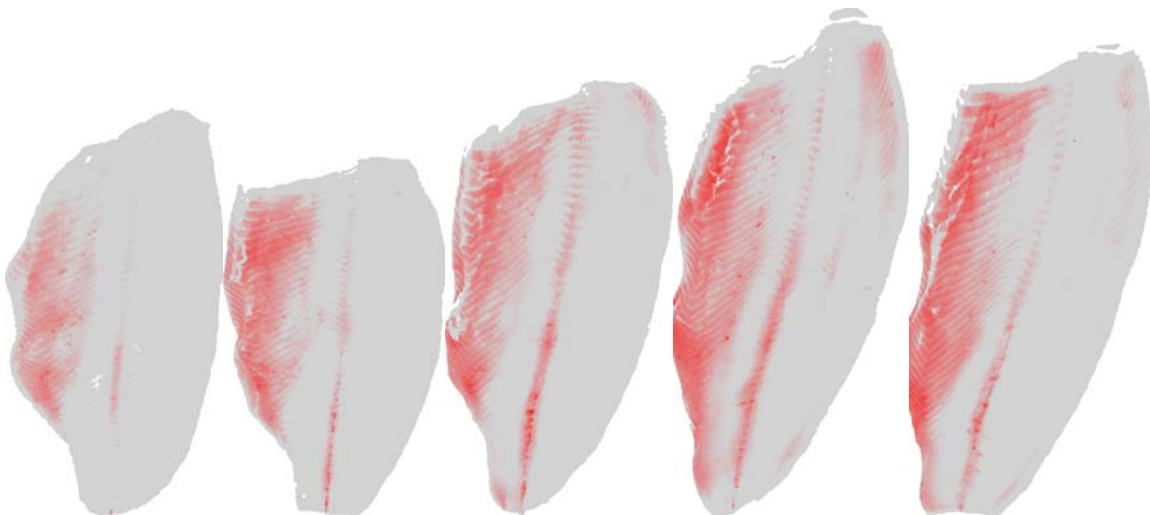
### Restblod i filetene målt spektroskopisk

#### Pre-rigor fileter

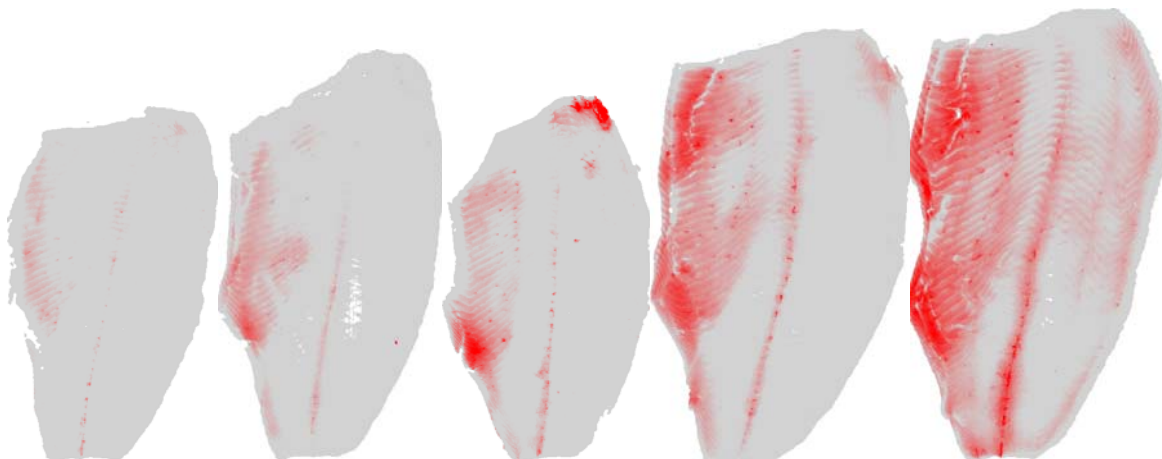
Figurene 4-6 viser analyseresultatene for fileter skåret av pre-rigor laks. Som bildene viser er det en god del variasjon i blodinnhold internt i undergruppene. Mellom gruppene er det også forskjeller, men ikke entydig. Både den fileten som har lavest blodinnhold og den som har høyest, er fra stresset ubløgget laks. (UB3 og UB2). For hver av undergruppene; ustresset laks (Figur 4), stresset laks (Figur 5) og stresset og ubløgget laks (Figur 6) er filene sortert fra venstre mot høyre med hensyn på økende blodinnhold.



Figur 4 Analyse av laksefileter fra ustresset laks filetert pre-rigor. Fra venstre til høyre med økende blodmengde: US3, US5, US2, US1, US4.



Figur 5 Analyse av laksefileter fra stresset laks filetert pre-rigor. Fra venstre til høyre med økende blodmengde: S2, S1, S5, S4, S3.



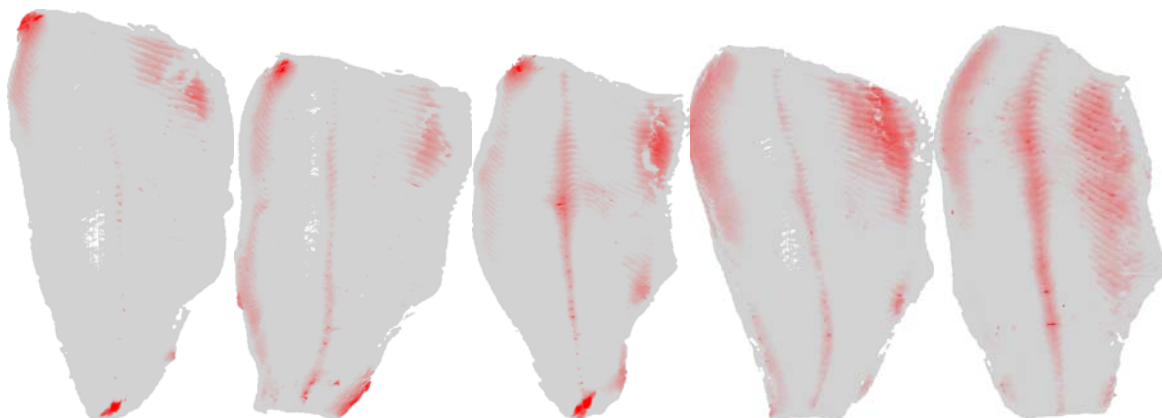
*Figur 6 Analyse av laksefileter fra stresset og ubløgget laks filetert pre-rigor. Fra venstre til høyre med økende blodmengde: UB3, UB5, UB1, UB4, UB2.*

Resultatene fra spektrografen viser ikke entydig at det var mer blod i gruppen av ubløgget, stresset fisk enn i de to andre gruppene. Visuelle observasjoner av filtene gav imidlertid gode indikasjoner på generelt mer blod i den ubløggede gruppen, det var flere blodfylte årer og mer blodflekker i overflatene, særlig langsetter der hvor ryggbeinet var fjernet.

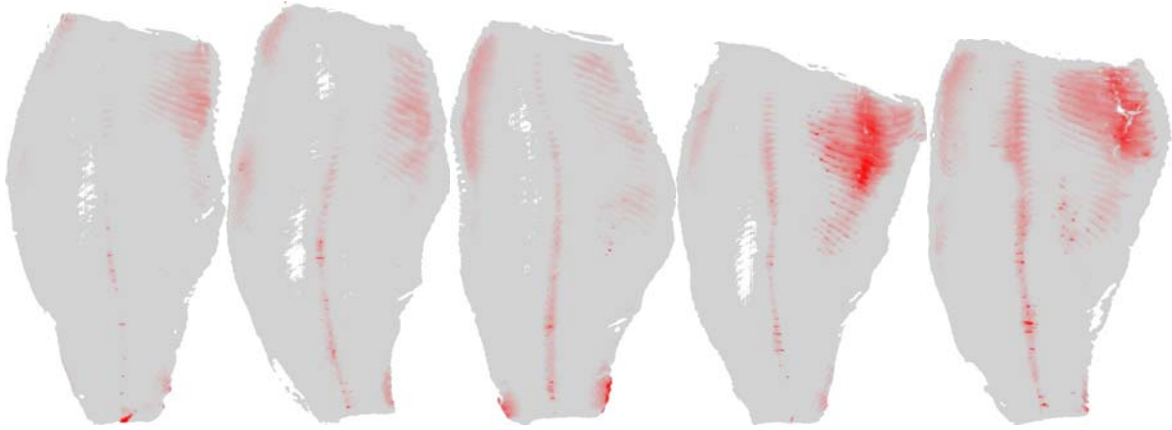
#### **Post-rigor fileter**

Filetene som er skåret av post-rigor laks ser tilsynelatende ut til å ha lavere blodinnhold, Figur 7-9, enn tilsvarende pre-rigor fileter, Figur 4-6. Dette er nok ikke tilfelle, men et utslag av problem med utvelgelse av blodfritt muskelspekter. Som det vises i Figur 7 er det en del blod i tykkfisker på filetene fra ustressa laks, og det er fra disse filetene at standard muskelspektra hentes.

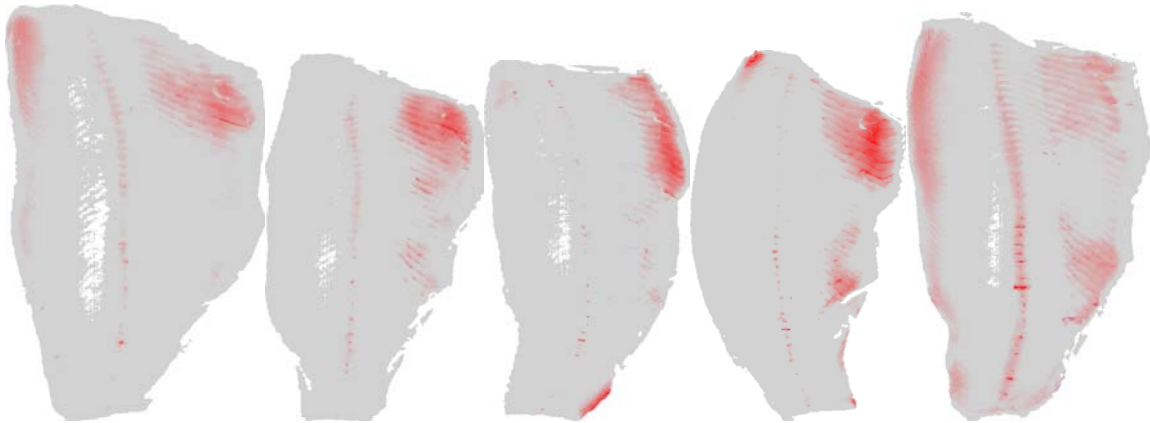
Selv om ikke analyseresultatet på blodnivået i post-rigor gruppene kan direkte relateres til pre-rigor gruppene er det rimelig å bruke analyseresultatene for å sortere undergruppene etter blodnivå. For hver av undergruppene; ustresset laks (Figur 7), stresset laks (Figur 8) og stresset og ubløgget laks (Figur 9) er filene sortert med hensyn på blodinnhold.



*Figur 7 Analyse av laksefileter fra ustresset laks filetert post-rigor. Fra venstre til høyre med økende blodmengde: US7, US8, US6, US9, US10.*



*Figur 8 Analyse av laksefileter fra stresset laks filetert post-rigor. Fra venstre til høyre med økende blodmengde: S8, S10, S9, S7, S6.*



*Figur 9 Analyse av laksefileter fra stresset og ubløgget laks filetert post-rigor. Fra venstre til høyre med økende blodmengde: UB9, UB10, UB8, UB6, UB7.*

Tilsvarende som for pre-rigor filetene viste visuelle observasjoner av filetene at det også for post-rigor fileter var generelt mer blod igjen i muskelen i den ubløggede gruppen, enn i de to andre gruppene.



