

Effekt av rigor status og saltemetode på fargeegenskaper og retensjon av astaxanthin under produksjon og lagring av kaldrøykte laksefileter

Sveinung Birkeland, Leif Akse og Jørgen Lerfall





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

Internett: www.nofima.no



Nofima Mat arbeider med foredling av mat fra sjø og land: mat og helse, råvarekvalitet og prosessering, mattrygghet, industriell gastronomi, produktutvikling, forbrukerforskning, sensorikk og innovasjon. Vi er ca. 200 medarbeidere lokalisert på Ås og i Stavanger.

Nofima Mat skal bidra til verdiskaping, innovasjon og forbedret konkurransevne i næringsmiddelbedrifter, ved å levere fremragende forskning og rådgiving innen mat, matforedling og forbrukeradferd

Nofima Norconserv AS
Nofima Mat
Måltidets Hus
Richard Johnsens gt 4
Postboks 327
NO-4002 Stavanger

Tlf.: 51 84 46 00
Faks: 51 84 46 50
E-post: post.st@nofima.no

Rapport

ISBN: 978-82-7251-752-5 (trykt)
 ISBN: 978-82-7251-753-2 (pdf)

Rapportnr:
 8/2010

Tilgjengelighet:
Åpen

<p><i>Tittel:</i> Effekt av rigor status og saltemetode på fargeegenskaper og retensjon av astaxanthin under produksjon og lagring av kaldrøykte laksefileter</p>	<p><i>Dato:</i> 31.01.2010</p> <p><i>Antall sider:</i> 21</p>
<p><i>Forfatter(e):</i> Sveinung Birkeland¹, Leif Akse¹ og Jørgen Lerfall² ¹Nofima ²Høgskolen i Sør-Trøndelag, Matteknologisk utdanning, Trondheim</p>	
<p><i>Oppdragsgiver:</i> Norske Sjømatbedrifters Landsforening</p>	<p><i>Oppdragsgivers ref.:</i> Kristin Lauritzsen</p>
<p><i>Stikkord:</i> Røyskt laks, rigor status, saltemetode, farge, astaxanthin</p>	
<p><i>Sammendrag:</i> Denne rapporten beskriver effektene av ulike produksjonsprotokoller (injeksjonssalting vs. tørrsalting) på retensjon av astaxanthin og fargeegenskaper i fileter med ulik rigor status (pre-rigor vs. post-rigor) ved starten av prosesseringen.</p> <p>De ulike prosesstrinnene (salting, røyking, lagring) bidrar signifikant til en redusert retensjon av astaxanthin, der pre- og post-rigor tørrsaltede fileter gjennomsnittlig har en retensjon av astaxanthin etter salting, røyking og lagring på henholdsvis 89 %, 82 % og 73 %. Det vil si at det totale tapet av astaxanthin gjennom produksjonen for disse produksjonsprotokollene er på 27 %.</p> <p>Gjennomsnittlig retensjon for pre- og post-rigor injeksjonssaltede fileter etter de ulike trinnene er på henholdsvis 87 % (etter salting), 82 % (etter røyking) og 77 % (etter lagring). Retensjonen av astaxanthin er også vist å variere i ulike lag innen hver filet og variasjonen er ulik ved bruk av de ulike produksjonsprotokollene.</p> <p>Filetenes fargeegenskaper påvirkes signifikant av rigor status ved start prosessering, saltemetode og de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene, der reduksjonen i rødhet (a*) gjennom produksjonen frem til sluttproduktet øker med protokollene som følger; pre-rigor injeksjonssalting < post-rigor injeksjonssalting < post-rigor tørrsalting < pre-rigor tørrsalting.</p>	

Innhold

1	Bakgrunn	1
2	Eksperimentelt	2
2.1	Råstoff	2
2.2	Filetering	2
2.3	Salting.....	2
2.3.1	Injeksjonssalting	2
2.3.2	Tørrsalting.....	2
2.4	Kaldrøyking	2
2.5	Vakuumpakking	2
2.6	Målinger, analyser og prøveuttak.....	3
2.6.1	Saltinnhold	3
2.6.2	Tørrstoff og fett	3
2.6.3	Konsentrasjon av astaxanthin og totalt pigment	3
2.6.4	Fargemåling (Digital Photo Imaging)	4
2.6.5	Vektendringer og endringer i filetlengde (krymping)	4
2.6.6	Forsøksoppsett	5
3	Resultater	6
3.1	Råstoffets kjemiske sammensetning.....	6
3.2	Endringer i filettvekt og –lengde gjennom prosessering.....	7
3.3	Hovedeffekter av rigor status, saltemetode og prosesstrinn på kjemisk sammensetning i filet.....	8
3.4	Saltfordeling i filet ved bruk av ulike produksjonsprotokoll	10
3.5	Hovedeffekter av rigor status og saltemetode på retensjon av astaxanthin i muskel etter ulike prosesstrinn	12
3.6	Retensjon av astaxanthin etter de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene	12
3.7	Hovedeffekter av rigor status, saltemetode og prosesstrinn på fargeegenskaper i filet	14
3.8	Fargeendring forårsaket av de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene.....	15
3.9	Retensjon av astaxanthin i ulike lag av fileten etter prosesstrinnene i produksjonsprotokollene	16
4	Oppsummering	20
5	Referanser	21

1 Bakgrunn

Salting og røyking av laksefisk gjennomføres vanligvis post-rigor (3-5 dager etter slakting). En viktig årsak til dette er rask inntreden av rigor. I løpet av 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. Egnetheten av pre-rigor filet til salting og etterfølgende røyking har blitt undersøkt i et tidligere prosjekt i Handlingsplan Laks 2005-2006 (FHF), der det ble konkludert med at pre rigor produksjon av røykt laks er fullt mulig ved bruk av egnet teknologi og tilpassede prosessprotokoller. Som en videreføring av dette er det naturlig å undersøke hvordan slaktestress og grad av blodtapping/utblødning påvirker kvaliteten i pre-rigor prosesserte produktene. I tillegg er det behov for å dokumentere effekten av individuelle trinn i en prosessprotokoll (salting, tørking, røyking, lagring/pakkemetode) på spesifikke kvalitetsegenskaper i produktene. Kunnskap om dette vil kunne bidra til ytterligere å optimalisere prosessbetingelsene ved pre-rigor produksjon av røykt laks og legge grunnlag for differensiert produksjon mht. ulike kvalitetsegenskaper. I dette prosjektet vil det spesielt bli fokusert på muskelfarge, retensjon av astaxanthin og oksidasjonsstatus gjennom produksjonsprotokollene.

Denne rapporten undersøker effektene av ulike produksjonsprotokoller på retensjon av astaxanthin og fargeegenskaper i fileter med ulik rigor status (pre-rigor vs. post-rigor) ved starten av prosesseringen.

Prosjektet er finansiert gjennom Fiskeri og Havbruksnæringens Forskningsfond (FHF) og administrert av Norske Sjømatbedrifters Landsforening (NSL/NSS). PhD-student Jørgen Lerfall ved Høgskolen i Sør-Trøndelag har bidratt i stor grad til de kjemiske analysene i dette prosjektet, og utvalgte resultater fra prosjektet vil derfor kunne inngå i studentens faglige avhandling.

2 Eksperimentelt

2.1 Råstoff

Laks (vekt=3623±280 g, lengde=73±2 cm, kondisjonsfaktor=0.9±0.05, n=10) ble tatt ut ved et lokalt slakteri, og transportert som sløyd fisk på is til Nofima Norconserv AS.

2.2 Filetering

Høyre filet ble skåret av og trimmet manuelt umiddelbart etter ankomst Nofima (<6 timer etter slakt; pre-rigor), mens venstre filet ble bevart på beingrinna og skåret av og trimmet manuelt etter 4 dagers lagring på is (post-rigor). Gjennomsnittlig vekt og lengde av pre-rigor skåret filet var henholdsvis 1072±98 g og 47±2 cm og for post-rigor skåret filet henholdsvis 1065±75 g og 47±2 cm. Filetene ble videre saltet og røykt med skinnet på.

2.3 Salting

2.3.1 Injeksjonssalting

Filetene ble injeksjonssaltet (25 % saltlake, ca. 10-12°C) i *pre-* eller *post-rigor* tilstand med en Guenther Brine Injector ved bruk av et injeksjonstrykk på 1.5 bar og en nålehastighet på 30 slag/min (0.4 L lake/nåleslag). Filetene ble kjørt en gang gjennom injektoren (standard nåletetthet).

2.3.2 Tørresalting

Tørresalting ble utført på rist i kjølerom (3-4 °C, 22.5 t) på pre- og post-rigor skåret fileter.

2.4 Kaldrøyking

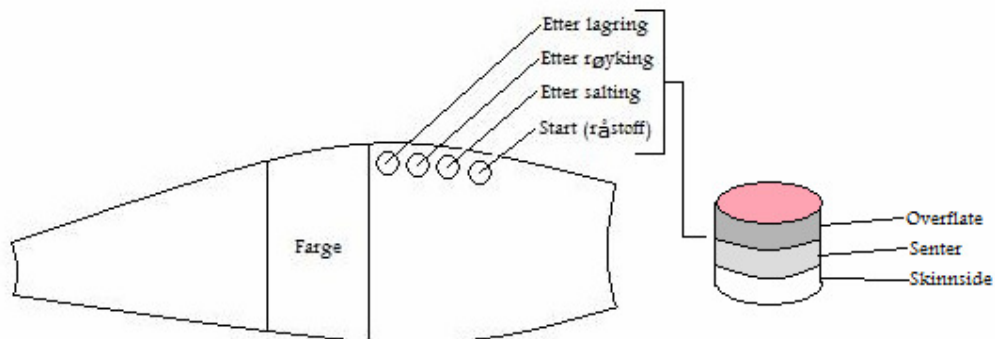
Røykeprogrammet som ble brukt inneholdt 5 tørke- og 4 røykesekvenser, der prosessen starter med en 60 min tørkesekvens, etterfulgt av 4 alternerende røyke- og tørkesekvenser a henholdsvis 50 og 10 minutter. Total prosessetid er 300 minutter og gjennomsnittlig temperatur for de fire kjøringene i forsøket var; 23.0±2.3°C, 23.1±2.1°C, 23.1±2.5°C og 23.3±1.6°C. Lufthastigheten var 0.4-0.8 m/s og relativ fuktighet på 75-83 %.

2.5 Vakuumpakking

Etter røyking ble filetene satt ved romtemperatur (ca. 15°C) i 30-45 minutter før vakuumpakking ved 99 % vakuum (Poser: PA/PE 90 µ). Filetene ble kjølelagret (4.3±0.5°C) i 30 dager før prøveuttak.

2.6 Målinger, analyser og prøveuttak

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



Figur 1. Illustrasjon av hvor på fileten prøveuttakene til kjemiske analyser og hvor fargemålingene ble utført. Figuren viser også hvordan hver prøve ble delt i tre før kjemisk analyse.

De kjemiske analysene var saltinnhold (%), tørrstoff (%), fett (%) og konsentrasjon av astaxanthin og totalt pigment, mens de ikke-destruktive målingene var instrumentell overflatefarge (Digital Photo Imaging) og gravimetrisk registrering av vektendring gjennom prosessering (vekt %). Det ble også registrert endring av filetlengde (%) gjennom prosessering.

2.6.1 Saltinnhold

Prøvene (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 Analyser (Model 926, Sherwood Scientific Ltd).

2.6.2 Tørrstoff og fett

Homogenisert prøve (ca. 2.5 g) ble tørket (105 °C, 24 timer) til stabil vekt, og tørrstoffinnholdet bestemt gravimetrisk (ISO 6496 1983).

Fett i prøvene ble ekstrahert sammen med carotenoidene, og totalt innhold kvantifisert etter en modifisert metode av Bligh og Dyer (1959).

2.6.3 Konsentrasjon av 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:aceton (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_4 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.

2.6.4 Fargemåling (Digital Photo Imaging)

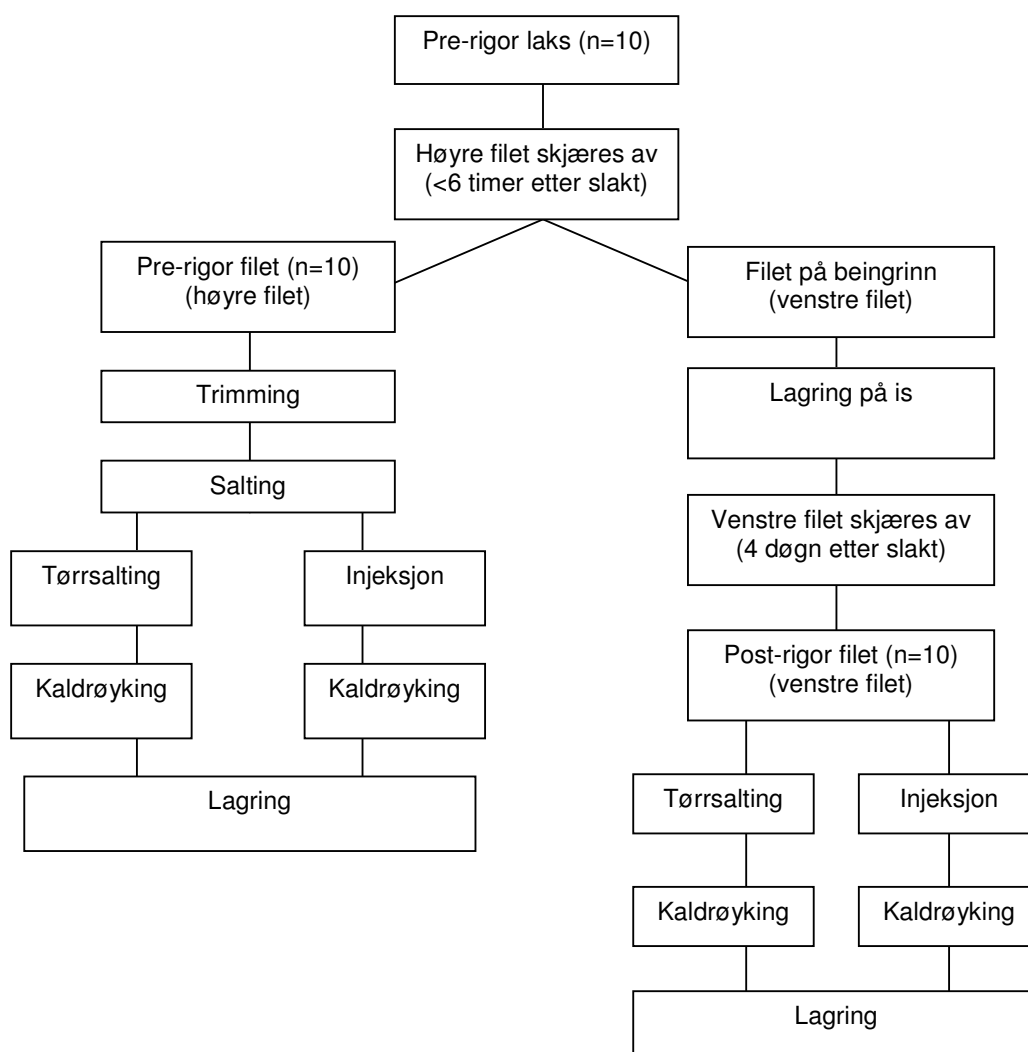
Produktenes overflatefarge (CIE $L^*a^*b^*$) ble målt ved å bruke Digital Photo Imaging fargemålingssystem (DigiEye full system, VeriVide Ltd., Leicester, UK). Filetene ble plassert i en lyskasse med standard dagslys (6400K) og fotografert med et digitalt kamera (Nikon D80, 35 mm linse, Nikon Corp., Japan). Bildene ble så analysert med DigiPix software (VeriVide Ltd., Leicester, UK) og fargen kvantifisert, der 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).

2.6.5 Vektendringer og endringer i filetlengde (krymping)

Vektendringer og endringer i filetlengde etter de ulike prosesstrinnene ble registrert som prosentvis endring i forhold til vekt/lengde av fileten før behandling med det aktuelle prosesstrinn. Totalt prosessutbytte/endring i lengde ble registrert som endring i filettekt/lengde i forhold til rå fileten.

2.6.6 Forsøksoppsett

Figur 2 viser flytdiagram over hvordan forsøket ble gjennomført.



Figur 2. Flytdiagram over hvordan forsøket ble gjennomført.

3 Resultater

3.1 Råstoffets kjemiske sammensetning

Råstoffets kjemiske sammensetning ble dokumentert (n=10). Prøver ble samlet fra pre-rigor muskel (høyre filet) og post-rigor muskel (venstre filet) fra samme individ (Tabell 1). Det ble ikke funnet signifikante forskjeller i saltinnhold (%), tørrstoffinnhold (%), fettinnhold (%), konsentrasjon av astaxanthin og konsentrasjon av totalpigment (mg/kg våtvekt eller mg/kg tørrstoff) mellom pre- og post-rigor filet i råstoffet. Dette viser at de to eksperimentelle gruppene (pre- og post-rigor) som brukes videre i forsøket har et likt utgangspunkt i forhold til de undersøkte variablene før prosessering.

Tabell 1. Råstoffets kjemiske sammensetning. Prøver ble samlet fra pre-rigor muskel (høyre filet) og post-rigor muskel (venstre filet) fra samme individ.

Variabel ¹	Rigor status	Gjennomsnitt±std.avvik (n=10)	Effekt av rigor status (ANOVA)
Tørrstoff (%)	Post	22.5±1.2	<i>P=0.419</i>
	Pre	22.0±1.2	
Salt (%)	Post	0.16±0.05	<i>P=0.673</i>
	Pre	0.15±0.05	
Fett (%)	Post	9.9±2.0	<i>P=0.665</i>
	Pre	10.2±1.9	
Astaxanthin (mg/kg våtvekt)	Post	5.4±0.5	<i>P=0.131</i>
	Pre	5.7±0.8	
Totalpigment (mg/kg våtvekt)	Post	5.9±0.6	<i>P=0.175</i>
	Pre	6.2±0.8	
Astaxanthin (mg/kg tørrstoff)	Post	24.5±3.4	<i>P=0.175</i>
	Pre	26.4±4.7	
Totalpigment (mg/kg tørrstoff)	Post	26.8±3.9	<i>P=0.208</i>
	Pre	28.7±5.0	

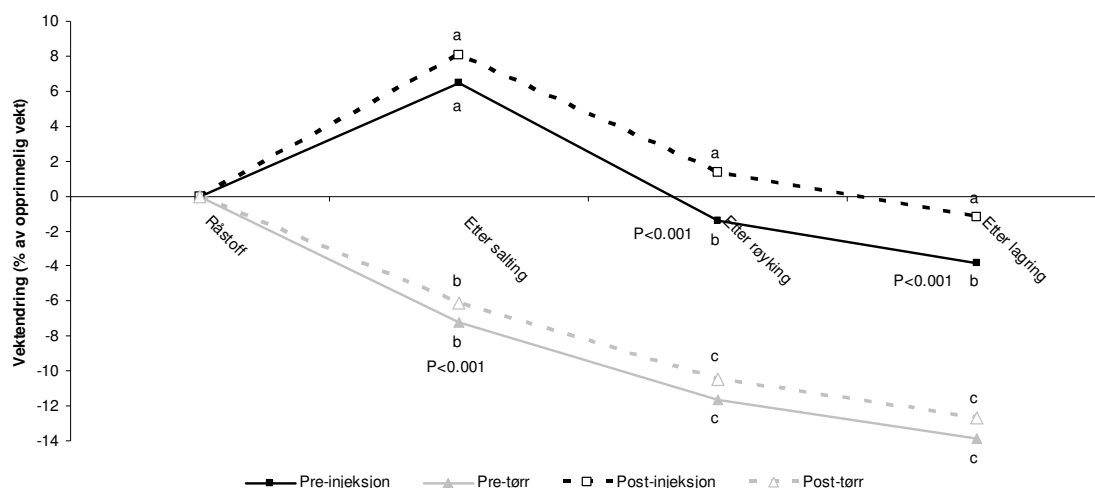
¹Gjennomsnittene innen hver variabel ble rangert med one-way ANOVA og Tukeys Pairwise Comparison Test.

Det ble også undersøkt kjemisk sammensetning i de ulike prøveuttakspunktene (Figur 1) på rå filet (n=3 fileter), som anvendes videre i forsøket og som samples etter salting, etter røyking og etter kjølelagring i vakuum. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller (ANOVA, Tukeys Pairwise Comparison Test, P-verdier = 0.061-0.194) i fettinnhold (%), tørrstoffinnhold (%), konsentrasjon av astaxanthin og total pigment (mg/kg våtvekt og mg/kg tørrstoff) mellom de ulike prøveuttakspunktene i rå filet (Data ikke vist). Dette indikerer at en direkte

sammenligning av de undersøkte variablene fra de ulike prøveuttakspunktene innen en filet gjennom prosessen er gyldig.

3.2 Endringer i filetvækt og –lengde gjennom prosessering

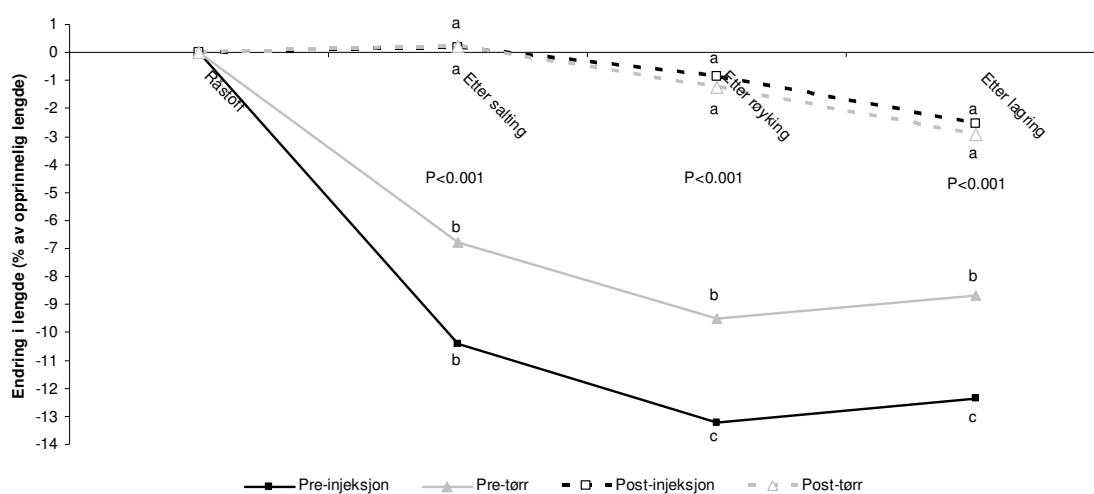
Vektendring av filet gjennom de ulike produksjonsprotokollene ble undersøkt (Figur 3). Etter salting, uavhengig av filetenes rigor status ved saltetidspunktet, fører bruk av injeksjonssalting til at filetene øker i vekt (6.5-8 %) mens tørrsalting fører til at filetvekten reduseres med (6-7 %). Denne forskjellen er signifikant ($P < 0.001$). Etter tørking/røyking ser man at filetene fra alle protokollene mister vekt. De tørrsaltede filetene, uavhengig av rigor status ved saltetidspunktet, har etter røyking mistet mellom 10.5 og 11.6 % av vekten i forhold til den opprinnelige vekten som råstoff, noe som er en signifikant forskjellig vektendring ($P < 0.001$) sammenlignet med de injeksjonssaltede filetene. Rigor status har en signifikant effekt på vektendringen for fileter som blir injeksjonssaltet, der protokollen Post-rigor injeksjon fører til en signifikant forskjellig ($P < 0.001$) vektendring sammenlignet med Pre-rigor injeksjon, der vektendringen var på henholdsvis 1.3 % og -1.4 %. Omgjort til prosessutbytte, vil dette si at etter røyking så er utbyttet for protokollene Post-rigor injeksjon, Pre-rigor injeksjon, Post-rigor tørrsalting og Pre-rigor tørrsalting på henholdsvis 101 %, 99 %, 90 % og 88%. Etter lagring ser man tilsvarende trend som rett etter røyking.



Figur 3. Vektendring (% av opprinnelig vekt) i fileter ved de ulike prosesstrinnene prosessert med fire produksjonsprotokoller (Pre-rigor injeksjon, Post-rigor injeksjon, Pre-rigor tørrsalting og Post-rigor tørrsalting). Gjennomsnittene ble rangert med One-way ANOVA, Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt innen hvert prosesstrinn med ulik bokstav (a, b, c) er signifikant forskjellig.

Både rigor status ved saltetidspunkt og saltemetode har signifikant effekt på endringer i filetlengde (krymping) gjennom prosesseringen (Figur 4). Lengden av fileter som er pre rigor

ved saltetidspunktet reduseres signifikant mer ($P < 0.001$) sammenlignet med fileter som er post rigor ved saltetidspunktet, samt at injeksjonssalting reduserer lengden av pre-rigor fileter signifikant mer ($P < 0.001$) gjennom prosesseringen sammenlignet med pre-rigor fileter som tørrsaltes. Samtidig som en krymping av filetene forekommer, oppstår det økning i filetenes høyde/tykkelse. Saltetrinnet reduserer filetlengden med henholdsvis 6.8 % og 10.4 % for tørrsaltede og injeksjonssaltede pre-rigor fileter. En ytterligere reduksjon i lengden observeres etter røyketrinnet, der total lengdereduksjon for tørr- eller injeksjonssaltede pre-rigor fileter er på 9.5 % og 13.2 %. Ingen ytterligere reduksjon i filetlengde ble observert etter lagring av pre-rigor prosesserte fileter. Med hensyn til post-rigor fileter fører ikke saltetrinnet til noen endring i filetlengden, men en liten reduksjon kan observeres gjennom prosesseringen frem til etter lagring (3 %).



Figur 4. Endring i filetlengde (% av opprinnelig lengde) i fileter ved de ulike prosesstrinnene prosessert med fire produksjonsprotokoller (Pre-rigor injeksjon, Post-rigor injeksjon, Pre-rigor tørrsalting og Post-rigor tørrsalting). Gjennomsnittene ble rangert med One-way ANOVA, Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt innen hvert prosesstrinn med ulik bokstav (a, b, c) er signifikant forskjellig.

3.3 Hovedeffekter av rigor status, saltemetode og prosesstrinn på kjemisk sammensetning i filet

Undersøkelse av hovedeffektene viser at design faktorene har signifikant effekt på enkelte av de undersøkte responsene (Tabell 2). Filetenes rigor status ved saltetidspunktet har signifikant effekt ($P = 0.001$) på saltinnholdet i filetene, der post-rigor fileter (2.8 ± 0.6 %) har et høyere innhold av salt sammenlignet med pre-rigor fileter (1.9 ± 0.5 %). Dette bekrefter de tidligere observasjonene om at det er vanskeligere å tilføre salt til en muskel kort tid etter slaktetidspunktet (pre-rigor) enn betydelig senere i rigor forløpet (post-rigor).

Saltemetode (Injeksjonssalting vs. Tørrsalting) påvirker tørrstoffinnholdet i filetene signifikant ($P < 0.001$), der tørrsalting fører til et høyere innhold av tørrstoff (27.8 ± 2.1 %) sammenlignet

med injeksjonssalting (26.1 ± 2.0 %). En tilsvarende signifikant ($P=0.033$) effekt kan ses med hensyn til fettinnhold, der relativt fettinnhold i tørrsaltede fileter (13.7 ± 2.5 %) er høyere enn i injeksjonssaltede fileter (12.5 ± 2.3 %). Dette er som forventet og som observert tidligere, siden tørrsalting fører til at vann fjernes fra filetene og dermed fører til et høyere relativt innhold av tørrstoff og fett per gram muskel mens injeksjonssalting tilfører vann til filetene og dermed et lavere relativt innhold av tørrstoff og fett per gram muskel. Bruk av injeksjonssalting fører til en signifikant lavere ($P<0.008$) konsentrasjon av astaxanthin og totalpigment (mg/kg tørrstoff) sammenlignet med tørrsalting, der innholdet av astaxanthin og totalpigment etter injeksjonssalting er henholdsvis 20.4 ± 2.7 mg/kg tørrstoff og 22.4 ± 3.0 mg/kg tørrstoff mens etter tørrsalting er konsentrasjonen henholdsvis 22.7 ± 3.9 mg/kg tørrstoff og 24.6 ± 4.3 mg/kg tørrstoff. Dette tyder på at hovedeffekten av å bruke injeksjonssalting i forhold til tørrsalting, uavhengig av rigor status og prosesstrinn, er at innholdet av astaxanthin og totalpigment blir redusert, sannsynligvis som en følge av en kombinasjon mellom fysisk utvasking under salting og en nedbrytning av pigment gjennom prosesseringen.

Etter lagring (prosesstrinn) observeres det en signifikant økning ($P=0.001$) i innholdet av tørrstoff (%) og fett (%) sammenlignet med etter salting og etter røyking, samt at det er en signifikant nedgang ($P<0.001$) i innholdet av astaxanthin og totalpigment fra etter salting til etter røyking. Økningen i det relative innholdet av tørrstoff og fett kan forklares med at væske fjernes (vekttap) under prosessering, mens nedgangen i astaxanthin og totalpigment sannsynligvis er en nedbrytning av disse komponentene under prosessering.

Tabell 2. Hovedeffekter¹ (gjennomsnitt±std. avvik) av rigor status (pre- og post-rigor), saltemetode (injeksjonssalting og tørrsalting) og prosesstrinn (etter salting, etter røyking og etter lagring) på kjemisk sammensetning av laksefilet.

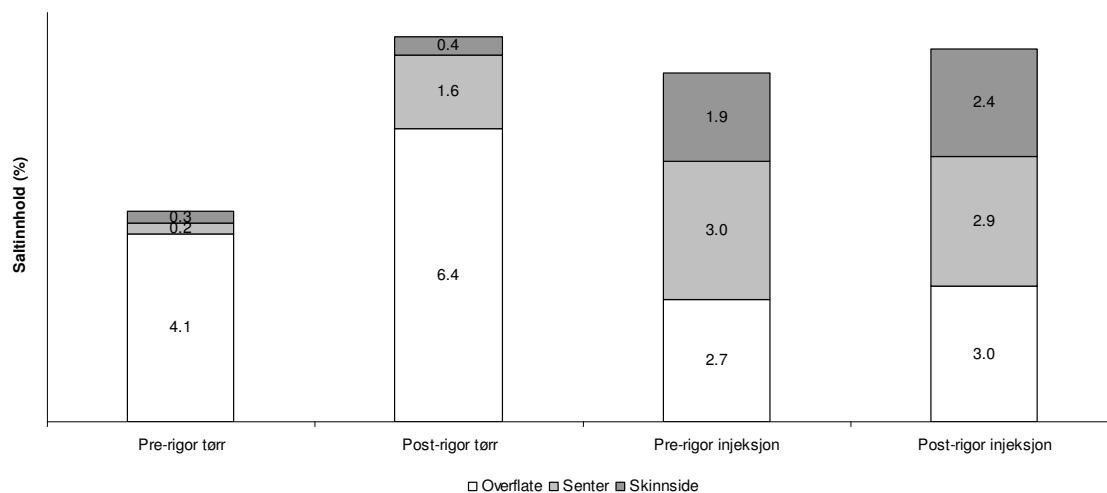
Design faktor	%			mg/kg tørrstoff ²	
	Tørrstoff	Salt	Fett	Astaxanthin	Totalpigment
Rigor status (n=30)					
Post rigor	26.9±2.1	2.8±0.6 ^b	12.8±2.5	20.9±3.2	22.9±3.5
Pre rigor	27.0±2.3	1.9±0.5 ^a	13.4±2.5	22.2±3.8	24.1±4.1
<i>Effekt av rigor status (P-verdi)</i>	<i>0.829</i>	<i>0.001</i>	<i>0.282</i>	<i>0.099</i>	<i>0.136</i>
Saltemetode (n=30)					
Injeksjonssalting	26.1±2.0 ^b	2.3±0.5	12.5±2.3 ^b	20.4±2.7 ^b	22.4±3.0 ^b
Tørrsalting	27.8±2.1 ^a	2.4±0.8	13.7±2.5 ^a	22.7±3.9 ^a	24.6±4.3 ^a
<i>Effekt av saltemetode (P-verdi)</i>	<i><0.001</i>	<i>0.731</i>	<i>0.033</i>	<i>0.003</i>	<i>0.008</i>
Prosesstrinn (n=20)					
Etter salting	25.5±1.5 ^a	2.4±0.8	12.0±2.0 ^a	23.9±3.4 ^b	26.0±3.6 ^b
Etter røyking	26.3±1.5 ^a	2.4±0.7	12.5±2.1 ^a	21.2±3.1 ^a	23.1±3.3 ^a
Etter lagring	29.1±1.7 ^b	2.3±0.6	14.8±2.5 ^b	19.6±2.9 ^a	21.4±3.1 ^a
<i>Effekt av prosesstrinn (P-verdi)</i>	<i><0.001</i>	<i>0.647</i>	<i>0.001</i>	<i><0.001</i>	<i><0.001</i>

¹ANOVA, 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.

²Tørrstoffinnholdet er korrigeret for ulikt saltinnhold i prøvene.

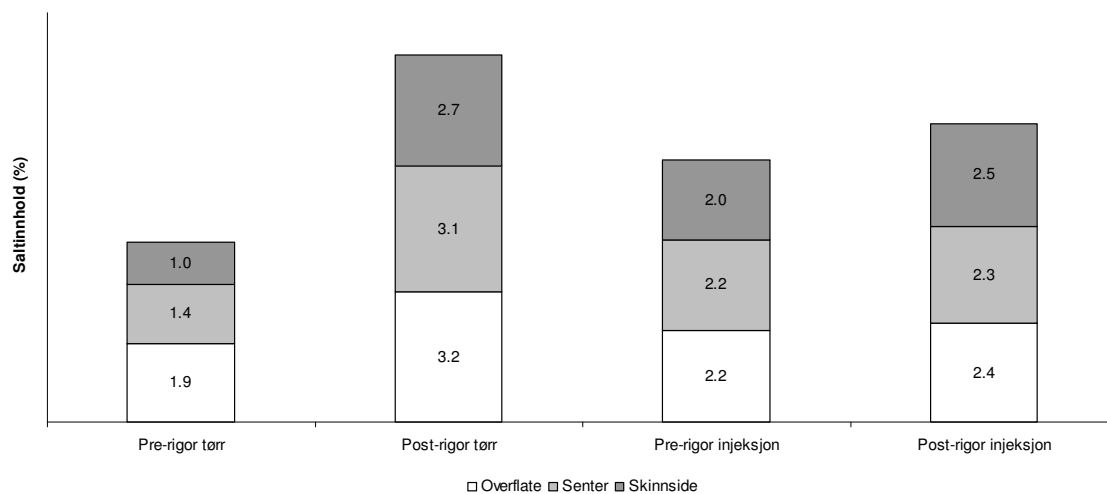
3.4 Saltfordeling i filet ved bruk av ulike produksjonsprotokoll

Saltinnholdet i de tre undersøkte lagene av fileten (overflate, senter og skinnside, Figur 1) umiddelbart etter røyking varierer kraftig avhengig av hvilken produksjonsprotokoll som anvendes. Saltinnholdet i pre-rigor tørrsaltede fileter varierer fra 4.1 % i overflatelaget til 0.3 % i laget mot skinnsiden, mens i post-rigor injeksjonssaltede fileter har de tilsvarende lagene henholdsvis et saltinnhold på 3.0 % og 2.4 % (Figur 5). Figuren viser at rigor status påvirker fordelingen av salt i muskelen kraftig umiddelbart etter røyking for fileter som har blitt tørrsaltet, mens saltinnholdet i de ulike lagene i fileter som har blitt injeksjonssaltet er relativt likt uavhengig av rigor status.



Figur 5. Saltinnhold i de ulike lagene av muskelen (overflate, senter, skinnside) umiddelbart etter røyking. Verdiene viser prosent salt i hvert lag.

Figur 6 viser saltinnholdet i de ulike lagene i fileter fra de undersøkte protokollene etter at filetene har blitt lagret i 30 dager (3-4 °C, vakuum). Innholdet av salt i de tre lagene har jevnet seg ut som en følge av diffusjon av salt under lagring, men fordelingen av salt er fortsatt mest homogen i fileter som har blitt injeksjonssalting sammenlignet med tørrsaltede fileter. Ved tilstrekkelig lagring ville saltinnholdet i de ulike lagene jevnet seg fullstendig ut, det vil si at det ville oppstått en likevekt mellom lagene.



Figur 6. Saltinnhold i de ulike lagene av muskelen (overflate, senter, skinnside) etter kjølelagring i vakuum i 30 dager. Verdiene viser prosent salt i hvert lag.

3.5 Hovedeffekter av rigor status og saltemetode på retensjon av astaxanthin i muskel etter ulike prosesstrinn

Hovedeffektene av rigor status og saltemetode på retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig innhold i rå filet) etter de ulike prosesstrinnene ble undersøkt (Tabell 3). Det ble ikke observert noen signifikante hovedeffekter (ANOVA, General Linear Modeling, P-verdi=0.108-0.801) av de undersøkte designfaktorene på retensjon av astaxanthin ved de ulike prosesstrinnene. Noe av årsaken til dette kan være den store naturlige variasjonen rundt gjennomsnittene som finnes i datamaterialet samtidig som de absolutte forskjellene mellom gjennomsnittlig retensjon er forholdsvis små (0-4.7 %-enheter) i tillegg til at de undersøkte designfaktorene faktisk har relativt liten betydning for tapet av astaxanthin gjennom prosessprotokollen.

Resultatene viser at hvert prosesstrinn (salting, røyking og lagring) bidrar til en signifikant redusert retensjon ($P < 0.01$) av astaxanthin både for fileter med ulik rigor status ved start av prosessering og for fileter som har blitt utsatt for ulik saltemetode. Gjennomsnittlig retensjon av astaxanthin i forhold til innholdet i rå filet etter salting, etter røyking og etter lagring er på henholdsvis 88.3, 82.4 og 75.3 %.

Tabell 3. Hovedeffekter¹ (gjennomsnitt±std. avvik) av rigor status (pre-, post-rigor) og saltemetode (injeksjonssalting, tørrsalting) på retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) etter ulike prosesstrinn.

Design faktor	Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig)			Effekt prosesstrinn ²
	Etter salting	Etter røyking	Etter lagring	
Rigor status (n=30)				
Post rigor	87.4±8.1 ^A	83.5±7.5 ^A	75.1±10.2 ^B	P<0.001
Pre rigor	89.3±10.9 ^A	81.2±11.5 ^B	75.1±12.4 ^B	P<0.001
<i>Effekt av rigor status (P-verdi)</i>	<i>0.455</i>	<i>0.371</i>	<i>0.801</i>	
Saltemetode (n=30)				
Injeksjonssalting	87.1±11.3 ^A	82.8±9.7 ^{AB}	77.8±12.5 ^B	P<0.01
Tørrsalting	89.5±7.4 ^A	81.9±9.9 ^B	73.1±9.5 ^C	P<0.001
<i>Effekt av saltemetode (P-verdi)</i>	<i>0.346</i>	<i>0.732</i>	<i>0.108</i>	

¹ANOVA, 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.

²One-way ANOVA. Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt av variable med ulik stor opphøyd bokstav (A, B, C) mellom hvert prosesstrinn er signifikant forskjellig.

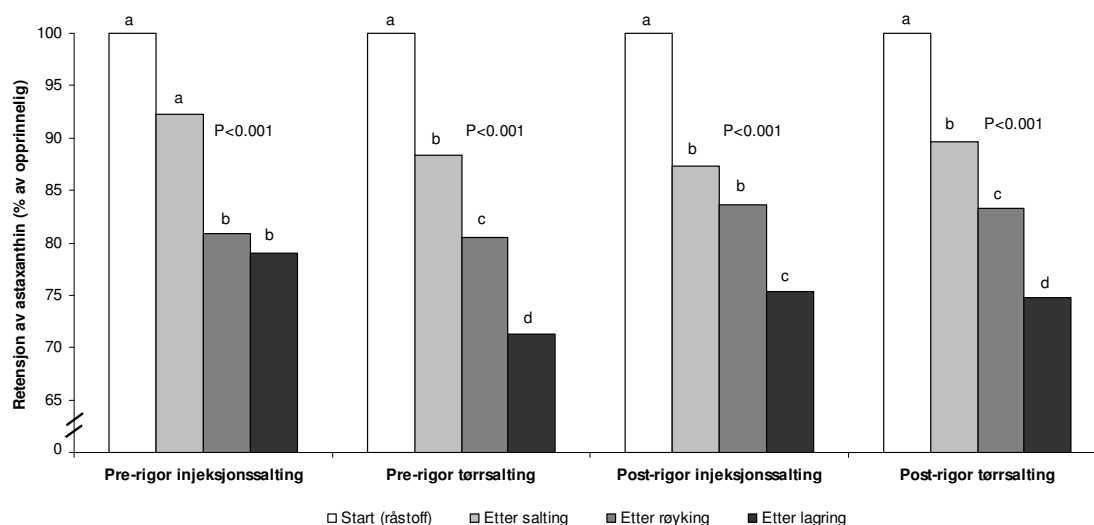
3.6 Retensjon av astaxanthin etter de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene

Figur 7 viser at retensjonen av astaxanthin generelt reduseres signifikant ($P < 0.001$) fra ett prosesstrinn til et annet for de fire individuelle produksjonsprotokollene; Pre-rigor injeksjonssalting, Pre-rigor tørrsalting, Post-rigor injeksjonssalting og Post-rigor tørrsalting.

Ved bruk av tørrsalting som saltemetode reduseres retensjonen av astaxanthin signifikant etter hvert av de undersøkte prosesstrinnene uavhengig av råstoffets rigor status ved saltetidspunktet. Gjennomsnittlig retensjon etter de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene som inkluderer tørrsalting er; 89.5 % (etter salting), 81.9 % (etter røyking) og 73.1 % (etter lagring). Dette viser at det er saltetrinnet som bidrar mest til den reduserte retensjonen (11 %-enheter) mens røykettrinnet og lagring bidrar relativt like mye til den observerte retensjonen, henholdsvis 7.1 % og 8.8 %.

For produksjonsprotokollene som inkluderer injeksjonssalting er utviklingen av astaxanthin retensjon gjennom prosessen noe annerledes, og mindre systematisk, men det er en klar trend mot at hvert av de individuelle prosesstrinnene bidrar til en redusert retensjon av astaxanthin. For protokollen Pre-rigor injeksjonssalting er det ingen signifikant redusert retensjon etter saltetrinnet, men først etter røyking ($P < 0.001$). Lagring synes heller ikke å bidra til en signifikant redusert retensjon for denne protokollen. Det absolutte bidraget til den reduserte retensjonen av astaxanthin fra de individuelle prosesstrinnene er; 7.7 %-enheter (salting), 11.4 %-enheter (røyking) og 1.8 %-enheter (lagring).

Med hensyn til injeksjonssalting av post-rigor filet bidrar saltetrinnet til en signifikant ($P < 0.001$) redusert retensjon av astaxanthin (12.7 %-enheter), mens røykettrinnet ikke har signifikant effekt på retensjonen (3.7 %-enheter). Lagring reduserer retensjonen ($P < 0.001$) ytterligere med 8.3 %-enheter for denne produksjonsprotokollen.



Figur 7. Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig innhold i rå filet) etter de ulike prosesstrinnene salting, røyking og lagring i de fire ulike produksjonsprotokollene. Søylar med ulik bokstav innen hver produksjonsprotokoll er signifikant forskjellig (One-way ANOVA. Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test).

3.7 Hovedeffekter av rigor status, saltemetode og prosessstrinn på fargeegenskaper i filet

Design faktorene har signifikante effekter på de undersøkte fargeegenskapene lyshet (L*), rødhet (a*), gulhet (b*) og fargetone (H*) (Tabell 4) i filetene. Undersøkelse av hovedeffektene viser at fargen av post-rigor fileter er signifikant mer lyse (L*, P<0.001), mer røde (a*, P<0.001), mer gule (b*, P<0.001) og har en mindre gul total fargetone (H*, P=0.040) sammenlignet med pre-rigor fileter.

Hovedeffekten av å anvende injeksjonssalting er at filetene blir signifikant lysere (P<0.001), mer røde (P=0.020) og gule (P<0.001) sammenlignet med fileter som har blitt tørrsaltet. Det var ingen signifikant effekt av saltemetode på filetenes totale fargetone.

Filetenes farge endrer seg signifikant fra rå filet, gjennom de ulike prosessstrinnene og til etter lagring. Den generelle trenden er at lysheten og rødhet reduseres (P<0.001), total fargetone endrer seg mot mer gul (P<0.001) mens gulheten er relativt stabil, der den største (signifikante) fargeendringen generelt sett skjer etter røykestrinnet. Det vil si at rå filet og saltet filet generelt er mest like med hensyn til fargeparametrene mens røykt filet og lagret filet er mest like.

Tabell 4. Hovedeffekter¹ (gjennomsnitt±std. avvik) av rigor status (pre- og post-rigor), saltemetode (injeksjonssalting og tørrsalting) og prosessstrinn (etter salting, etter røyking og etter lagring) på fargeparametere i laksefilet. Fargemålingene ble utført i Norsk Kvalitetssnitt (NKS).

Design faktor	Fargeparameter (CIE Lab)			
	L*	a*	b*	H*
Rigor status ved start				
Post rigor	65.8±0.58 ^a	41.6±0.45 ^a	40.1±0.41 ^a	44.2±0.31 ^b
Pre rigor	59.8±0.58 ^b	37.1±0.45 ^b	37.3±0.40 ^b	45.1±0.31 ^a
<i>Effekt (P-verdi)</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.040
Saltemetode				
Injeksjonssalting	64.9±0.58 ^a	40.1±0.45 ^a	40.0±0.40 ^a	44.9±0.30
Tørrsalting	60.8±0.59 ^b	38.6±0.45 ^b	37.5±0.41 ^b	44.5±0.31
<i>Effekt (P-verdi)</i>	<0.001	0.020	<0.001	0.388
Prosesstrinn				
Fersk	64.6±0.80 ^a	42.6±0.62 ^a	38.8±0.56 ^{ab}	42.7±0.42 ^b
Salt	64.1±0.80 ^a	43.1±0.62 ^a	38.7±0.56 ^{ab}	42.1±0.42 ^b
Røkt	62.8±0.85 ^{ab}	36.3±0.66 ^b	40.0±0.59 ^b	47.4±0.47 ^a
Lagret	59.8±0.82 ^b	35.5±0.64 ^b	37.4±0.58 ^a	46.6±0.44 ^a
<i>Effekt (P-verdi)</i>	<0.001	<0.001	0.026	<0.001

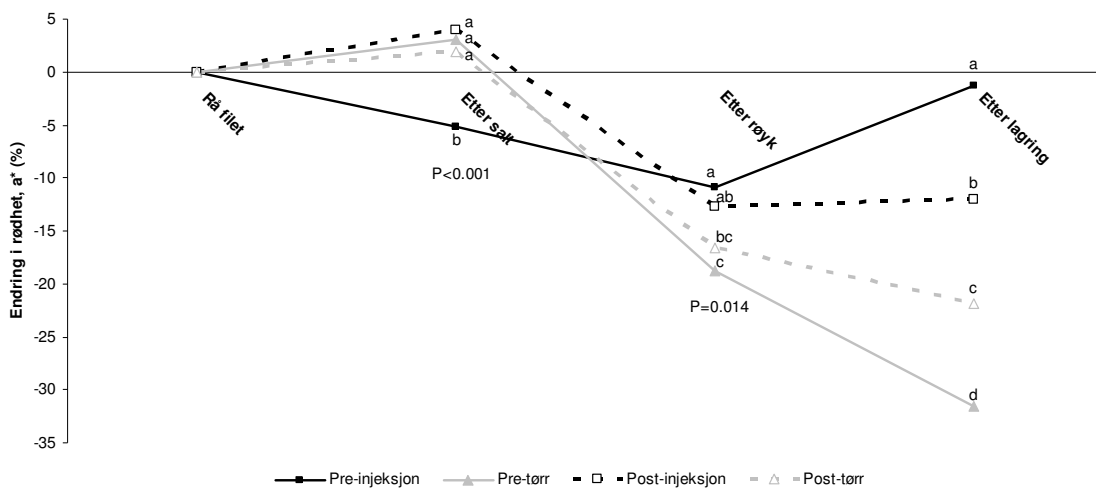
¹ANOVA, General Linear Modelling (GLM). Gjennomsnittene ble rangert med Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt av variable med ulik opphøyd bokstav innen hver design faktor er signifikant forskjellig.

3.8 Fargeendring forårsaket av de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene

Relative fargeendringer i filetenes overflate (% av opprinnelig farge) påvirkes signifikant av de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollene og av hvilken produksjonsprotokoll som anvendes. I det følgende vises resultatene for filetoverflatens rødhet (a^*) og fargetone (H^*), som antas å være de viktigste fargeparametrene, siden a^* korrelerer til en viss grad med konsentrasjonen av astaxanthin i fileten og fargetone er ansett som den fargeparameteren som best beskriver fargen som en forbruker opplever.

Figur 8 viser relativ endring i rødhet, i forhold til fargen i rå filet, etter de individuelle prosesstrinnene i de 4 ulike produksjonsprotokollene. Generelt sett kan man si at de ulike prosesstrinnene reduserer filetenes rødhet, og etter røykettrinnet og etter lagring kan man se en tydelig systematikk i forhold til hvordan prosesstrinnene påvirker fargen i fileter som har blitt behandlet med ulik produksjonsprotokoll. Etter lagring er det signifikante forskjeller ($P < 0.001$) i relativ fargeendring mellom samtlige produksjonsprotokoller; Pre-rigor tørrsalting = -32 %, Post-rigor tørrsalting = -22 %, Post-rigor injeksjonssalting = -12 % og Pre-rigor injeksjonssalting = -1.5 %. Tilsvarende rangering observeres etter røykettrinnet. Dette viser at bruk av tørrsalting fører til desidert størst endring (reduksjon) i røykte fileters rødhet i forhold til opprinnelig farge (rå filet), uavhengig av rigor status ved saltetidspunktet, sammenlignet med injeksjonssalting.

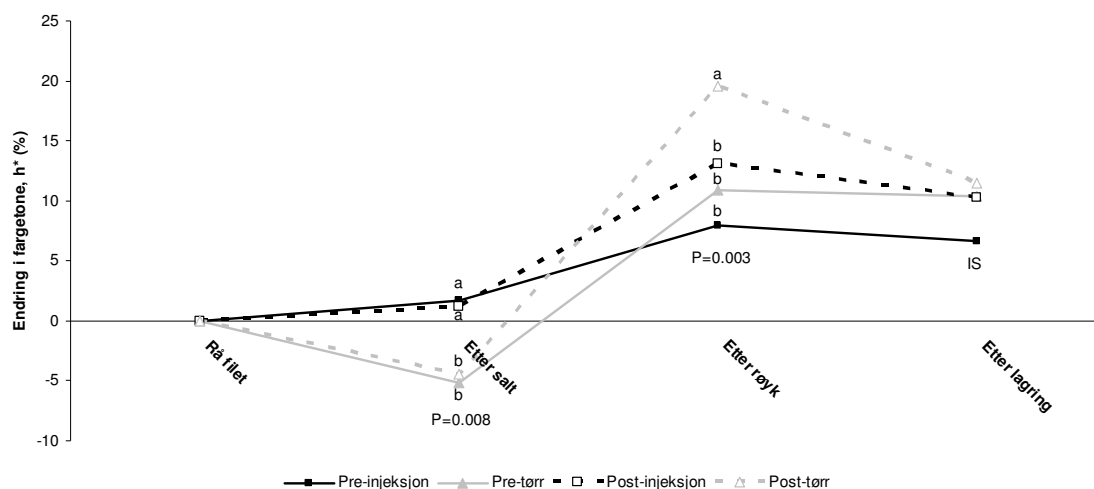
Etter saltetrinnet er bildet noe annerledes enn beskrevet ovenfor, der produksjonsprotokollen Pre-rigor injeksjonssalting fører til en reduksjon i rødhet på -5 %, mens de andre protokollene fører til en økning i rødhet (2-4 %).



Figur 8. Endring i filetoverflatens rødhet (a^*) etter de ulike prosesstrinnene i de 4 produksjonsprotokollene (Pre-rigor injeksjonssalting, Pre-rigor tørrsalting, Post-rigor injeksjonssalting og Post-rigor tørrsalting). Gjennomsnittene

ble rangert med One-way ANOVA, Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt innen hvert prosessstrinn med ulik bokstav (a, b, c) er signifikant forskjellig.

Filetoverflatens fargetone (H^*) er den fargeparameteren som anses å være den parameteren som best beskriver fargen slik en forbruker opplever den. Fargetonen endres signifikant etter de ulike prosessstrinnene i de undersøkte produksjonsprotokollene (Figur 9). Etter saltetrinnet reduseres fargetonen (mindre gul) ved bruk av tørrsalting (ca. -5 %), mens ved bruk av injeksjonssalting økes fargetonen (ca. 1.5 %). Denne endringen er uavhengig av rigor status ved saltetidspunktet. Etter røyking øker fargetonen, i forhold til opprinnelig fargetone i rå filet, der filetene i produksjonsprotokollen Post-rigor tørrsalting har en signifikant større økning (+20 %, $P=0.003$) sammenlignet med filetene fra de andre protokollene (+8-13 %). Etter lagring er det ingen signifikante forskjeller i den observerte fargeendringen i fileter fra de 4 ulike produksjonsprotokollene. I forhold til i rå filet, har prosesseringen ført til en total økning i fargetone på mellom 7-12 % for de ulike produksjonsprotokollene.

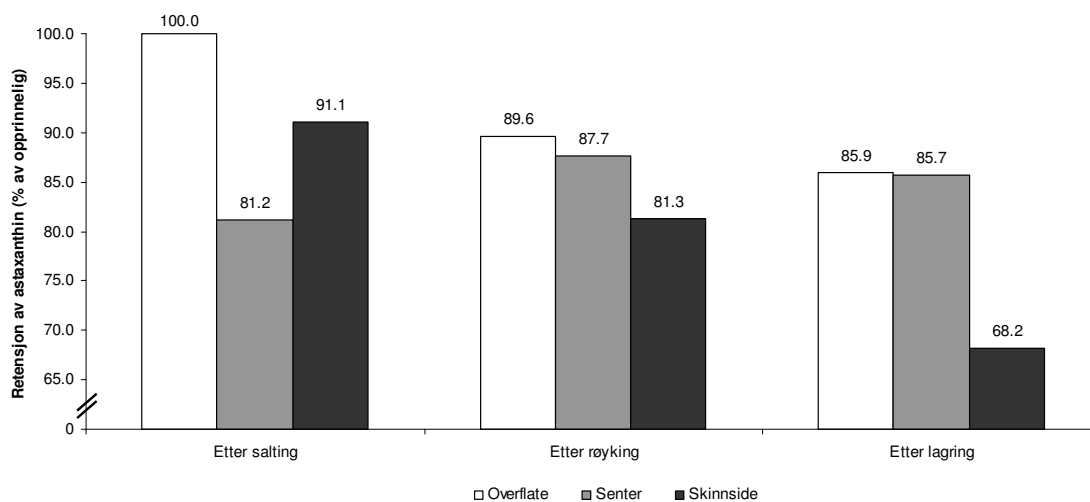


Figur 9. Endring i filetoverflatens fargetone (H^*) etter de ulike prosessstrinnene i de 4 produksjonsprotokollene (Pre-rigor injeksjonssalting, Pre-rigor tørrsalting, Post-rigor injeksjonssalting og Post-rigor tørrsalting). Gjennomsnittene ble rangert med One-way ANOVA, Tukeys Pairwise Comparison Test. Gjennomsnitt innen hvert prosessstrinn med ulik bokstav (a, b, c) er signifikant forskjellig. IS = ikke signifikant.

3.9 Retensjon av astaxanthin i ulike lag av fileten etter prosessstrinnene i produksjonsprotokollene

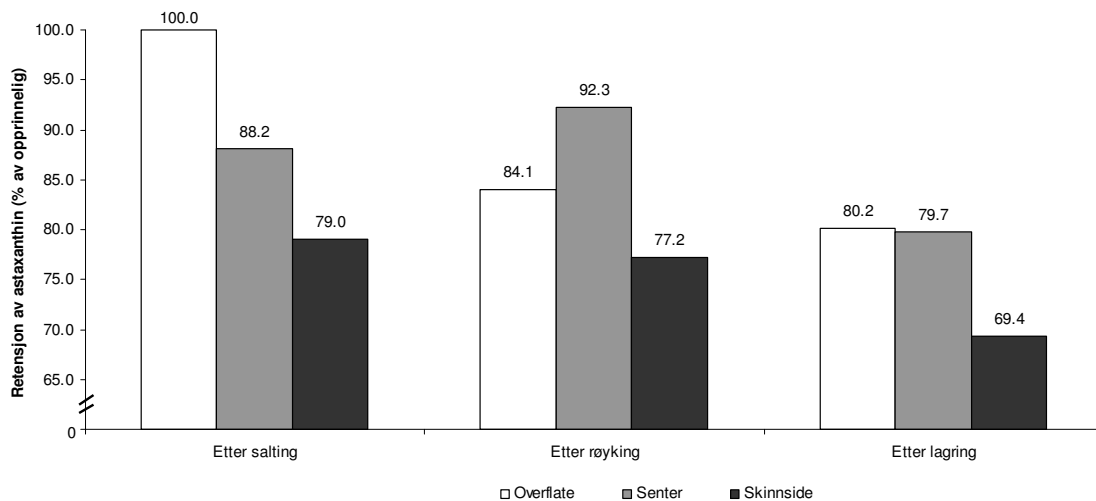
Retensjonen av astaxanthin i tre ulike lag av fileten (overflate, senter og skinnside, Figur 1) for fileter prosessert med protokollen Pre-rigor injeksjonssaltet er vist i Figur 10. Generelt ser man at retensjonen reduseres i de ulike lagene som funksjon av antall prosessstrinn filetene har vært gjennom. Etter injeksjonssalting er retensjonen av astaxanthin i overflatelaget 100 %, mens lagene senter og skinnside påvirkes og har en retensjon på henholdsvis 81 og 91

%. Etter røyking reduseres retensjonen til 90 % i overflaten og 81 % i laget mot skinnsiden, og videre etter lagring til 86 % og 68 % i tilsvarende lag. Røykettrinnet og lagring påvirker retensjonen av astaxanthin i senter-laget lite sammenlignet med retensjonen etter saltetrinnet.



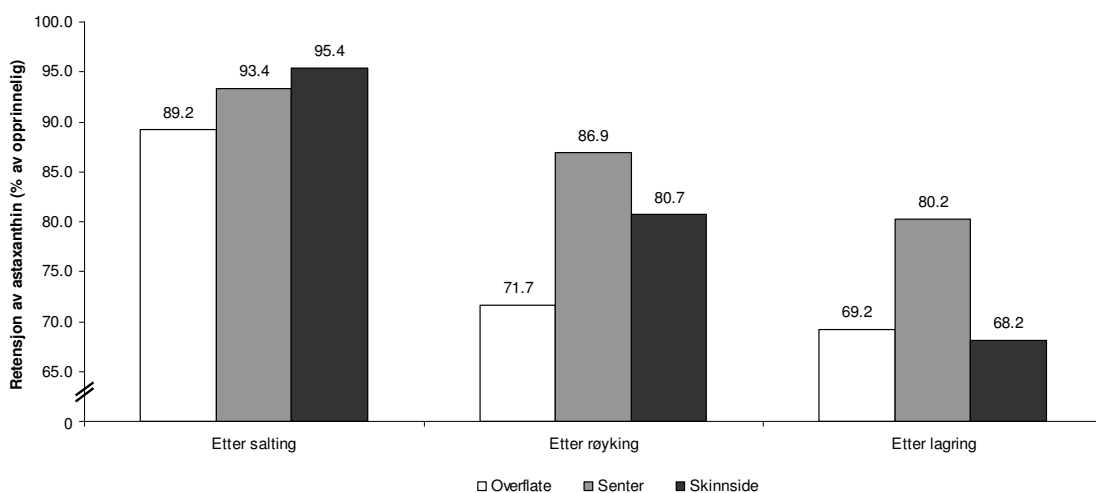
Figur 10. Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) i ulike lag av fileten (overflate, senter og skinnside) i fileter fra produksjonsprotokollen Pre-rigor injeksjonssalting.

For fileter produsert med protokollen Post-rigor injeksjonssaltet er retensjonen i de ulike lagene vist i Figur 11. En tilsvarende trend som beskrevet ovenfor for retensjonen av astaxanthin ser man i disse filetene – redusert retensjon som funksjon av antall prosesstrinn filetene har vært gjennom og overflatelaget påvirkes ikke av saltetrinnet. Etter salting er retensjonen 88 % i senter-laget og 79 % i laget mot skinnsiden, og etter røyking relativt lik (92 % og 77 %). Etter røyking er retensjonen i overflatelaget redusert fra 100 % (etter salting) til 84 %. En ytterligere redusert retensjon i alle lagene observeres etter lagring, 80 % (overflate), 80 % (senter) og 69 % (skinnside).



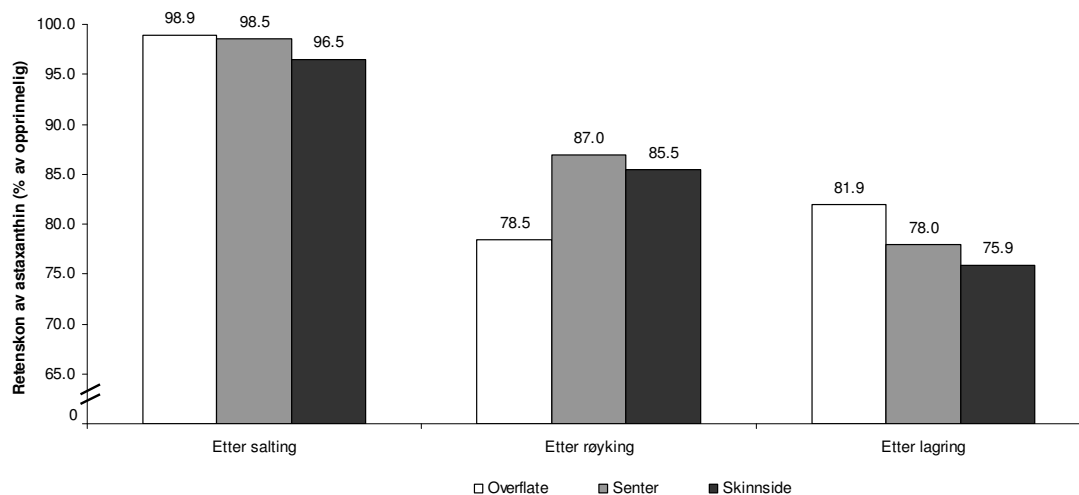
Figur 11. Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) i ulike lag av fileten (overflate, senter og skinnside) i fileter fra produksjonsprotokollen Post-rigor injeksjonssalting.

Retensjonen av astaxanthin i de ulike lagene av fileten for fileter prosessert med protokollen Pre-rigor tørrsalting er vist i Figur 12. Retensjonen i de ulike lagene reduseres som en funksjon av hvor mange prosesstrinn filetene har vært igjennom. Etter saltetrinnet er retensjonen lavest i overflaten (89 %), med en økende gradient nedover i fileten (senter = 93 % og skinnside = 95 %). Etter røyking er retensjonen fortsatt lavest i overflaten (72 %), mens senter (87 %) og skinnside (81 %) er relativt like. Etter lagring har retensjonen i overflaten endret seg lite, mens retensjonen i senter og skinnside har blitt redusert til henholdsvis 80 % og 68 %.



Figur 12. Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) i ulike lag av fileten (overflate, senter og skinnside) i fileter fra produksjonsprotokollen Pre-rigor tørrsalting.

Etter saltetrinnet påvirkes retensjonen av astaxanthin for fileter prosessert med protokollen Post-rigor tørrsalting (Figur 13) relativt lite (retensjon = 97-99 %). Etter røyking har retensjonen blitt redusert til 79 % i overflaten, 87 % i senter og 86 % i laget mot skinnsiden. Etter lagring skjer det lite med retensjonen i overflaten, men i senter og skinnsiden har retensjonen blitt redusert til henholdsvis 78 og 76 %.



Figur 13. Retensjon av astaxanthin (% av opprinnelig) i ulike lag av fileten (overflate, senter og skinnside) i fileter fra produksjonsprotokollen Post-rigor tørrsalting.

4 Oppsummering

Kjemisk sammensetning av råstoffet; pre-rigor og post-rigor filet av laks, som ble brukt i prosesseringen var tilnærmet identisk, samt at prøveuttakslokaliteten internt i filetene var lik mht. kjemisk sammensetning. Vekt- og lengdeendring (%) av filet påvirkes av både rigor status ved saltetidspunktet, av saltemetode, og etter de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollen. Bruk av injeksjonssalting fører til et høyere prosessutbytte (100%) sammenlignet med tørrsalting (89 %). Pre-rigor fileter krymper (endring i lengde) mest ved bruk av injeksjonssalting, men en relativt kraftig krymping observeres også ved bruk av tørrsalting.

Etter prosessering ser man en tydelige hovedeffekter av anvendt saltemetode (injeksjonssalting og tørrsalting) og de ulike prosesstrinnene i produksjonsprotokollen på den kjemiske sammensetningen av filetene. Årsaken til dette er sannsynligvis en kombinasjon av endringer forårsaket av vektendringer (fjerning/tilførsel av vann/lake) og, spesielt for astaxanthin, en nedbrytning/utvasking av komponenter under prosessering.

Undersøkelser av hovedeffektene av designfaktorene viser at retensjonen av astaxanthin (% av opprinnelig innhold i råstoff) ikke påvirkes signifikant av hvilken saltemetode som anvendes og hvilken rigor status filetene har ved saltetidspunktet. De ulike prosesstrinnene (salting, røyking, lagring) bidrar signifikant til en redusert retensjon, der pre- og post-rigor tørrsaltede fileter gjennomsnittlig har en retensjon av astaxanthin etter salting, røyking og lagring på henholdsvis 89 %, 82 % og 73 %. Det vil si at det totale tapet av astaxanthin gjennom produksjonen for disse produksjonsprotokollene er på 27 %. Gjennomsnittlig retensjon for pre- og post-rigor injeksjonssaltede fileter etter de ulike trinnene er på henholdsvis 90 % (etter salting), 82 % (etter røyking) og 77 % (etter lagring). Retensjonen av astaxanthin er også vist å variere i ulike lag innen hver filet og variasjonen er ulik ved bruk av de ulike produksjonsprotokollene.

Filetenes fargeegenskaper ($L^*a^*b^*$) påvirkes av rigor status ved start prosessering, saltemetode og de individuelle prosesstrinnene i produksjonsprotokollene. Fargen av post-rigor fileter er lysere og mer røde og har en mindre gul total fargetone sammenlignet med pre-rigor fileter, mens injeksjonssalting fører til at filetene blir lysere og rødere sammenlignet med fileter som har blitt tørrsaltet. De ulike prosesstrinnene i de individuelle protokollene påvirker også filetenes farge, noe som gjør at fargen i sluttproduktene også er ulike mellom de ulike protokollene.

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.