

KALA- JA RIISTARAPORTTEJA nro 356

*Susanna Airaksinen
Tarja Aro
Olli Norrdahl
Jari Riihimäki
Kari Ruohonen
Markku Vaajala*

Kalojen elävänä jäähdyttäminen ja sen vaikutukset teuraslaatuun

Helsinki 2005



Tekijä(t)

Susanna Airaksinen, Tarja Aro, Olli Norrdahl, Jari Riihimäki, Kari Ruohonen ja Markku Vaajala

Julkaisun nimi

Kalojen elävänä jäädyttäminen ja sen vaikutukset teuraslaatuun

Julkaisun laji

Tutkimusraportti

Toimeksiantaja

Varsinais-Suomen TE-keskus

Toimeksiantopäivämäärä

Projektin nimi ja numero

EläJää (318 115)

Tiivistelmä

Kalan tehokas jäädyttäminen on tärkeä kalan laatuun ja säilyvyyteen vaikuttava tekijä. Elintarvikekalan jäädyttäminen aloitetaan useimmiten vasta perkauksen jälkeen kalaa pakattaessa. Kalan vaihtolämpöisyys tarjoaa kuitenkin mahdollisuuden jäädyttämisen tehostamiseen. Tässä hankkeessa tavoitteena oli tutkia elävänä jäädyttämisen vaikutuksia kasvatetulla kirjolohella ja siialla sekä kalastetulla ahvenella. Elävänä jäädyttäminen voisi olla yksi keino vähentää veden lämpötilasta ja vuodenaikasta aiheutuvaa vaihtelua kalojen teuraslaadussa. Tutkimuksessa keskityttiin kunkin lajin jäädyttämisen seurantaan ja jäädytyksen vaikutusten arviointiin rigor-, stressi- ja teuraslaatumittauksien avulla. Kirjolohella ja ahvenella liian alhainen jäädytyslämpötila aiheutti stressiä ja jäävesijäähditys edellyttää siten ennusteiden luomista, jotta kala heti halutun lämpötilan saavutettuaan voidaan jatkokäsitellä. Oikean jäädytyslämpötilan löytäminen lienee keskeisessä asemassa jäädytyksen positiivisia vaikutuksia optimoitaessa kullekin kalalajille sopivaksi. Kokeiden perusteella jäädytyksen laatuun vaikuttavana mekanismina voidaan pitää lämpötilan vuorovaikutusta kalan aineenvaihdunnan ja stressivasteiden kanssa.

Asiasanat

jäähditys, laatu, rakenne, väri, pH, vedensidontakyky, stressi, ahven, kirjolohi, siika

Sarjan nimi ja numero

Kala- ja riistaraportteja 356

ISBN

951-776-497-9

ISSN

1238-3325

Sivumäärä

19 s. + 1 liite

Kieli

Hinta

Luottamuksellisuus

Jakelu

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos
Turun riistan- ja kalantutkimus
itäinen Pitkätatu 3
20520 Turku
Puh. 0205 7511 Faksi 0205 751 689
<http://www.rktl.fi/tutkimuslaitos/julkaisut> (pdf)

Kustantaja

Riista- ja kalatalouden tutkimuslaitos
Viikinkaari 4, PL 2
00791 HELSINKI
Puh. 020 57511 Faksi 020 5751 201
www.rktl.fi

Sisällys

1 JOHDANTO.....	1
2 AINEISTO JA MENETELMÄT.....	2
2.1 Kalan lämpötilan seuranta.....	2
2.2 Teurastuskokeen koeasetelma.....	2
2.3 Näytteenotto.....	3
2.4 Analyysit.....	5
2.5 Rigorin seuranta.....	6
2.6 Tilastolliset analyysit.....	6
3 TULOKSET.....	7
3.1 Nappikokeet.....	7
3.2 Jäähdytyskokeessa käytetyn kalan lihaksen koostumus.....	8
3.3 Käsittelystressi.....	9
3.4 Laatumittaukset.....	10
3.5 Rigor.....	14
4 TULOSTEN TARKASTELU.....	16
5 YHTEENVETO.....	18
VIITTEET.....	19
Liitteet.....	21

1 Johdanto

Kalan nopea ja tehokas jäädyttäminen on tärkeä kalan laatuun ja säilyvyyteen vaikuttava tekijä. Säilyvyyden ja tuoreuden paraneminen tehokkaassa jäädytyksessä perustuu pitkälti biokemiallisten toimintojen hidastumiseen kalassa sekä mikro-organismien kasvun ja aktiivisuuden hillitsemiseen. Elintarvikekalan jäädyttäminen aloitetaan jo tainnutus- tai verestysaltaassa, kuitenkin useimmiten vasta perkauksen jälkeen kalaa pakattaessa.

Kalan vaihtolämpöisyys tarjoaa mahdollisuuden jäädyttämisen tehostamiseen. Etenkin lämpimänä vuodenaikana alentamalla veden lämpötilaa ennen teurastusta voidaan potentiaalisesti välttää tehotonta lämpimän kalan jäädytystä jäitetyissä laatikoissa. Teurastuksen jälkeiseen jäädytykseen kuluva aika lyhenee merkittävästi ja ero erikoisten kalojen jäädytysnopeudessa häviää. Norjalaisissa tutkimuksissa jäädytystä on testattu esimerkiksi pitämällä kaloja 45-60 min ennen tainnutusta noin 1°C lämpötilassa (Skjervold, 2002). Kuolonjäykkyyden eli *rigorin* alkamista pystyttiin tällöin viivästäämään ja siten jatkamaan aikaa, jona kalat voidaan fileoida ennen rigoria. Elävän kalan jäädyttäminen ei ole kuitenkaan ongelmatonta. Lämpötilan nopea lasku voi aiheuttaa kalalajista riippuen stressiä. Stressi nopeuttaa kuolonjäykkyyden kehittymistä ja voimistaa sitä, millä on epäsuotuisa vaikutus kalan lihan rakenteeseen. Teuraslaadun parantamisen lisäksi stressiä pitäisi kalankäsittelyn yhteydessä välttää myös eläinsuojelun vuoksi.

Teurastuslämpötilan vaikutukset kalan laatuun ja säilyvyyteen voivat olla lajityypillisiä. Tämän koesarjan tarkoituksena oli tutkia elävänä jäädyttämisen vaikutuksia kasvatetun kirjolohen, kasvatetun siian ja kalastetun ahvenen teuraslaatuun. Rigorin kehittymistä seurattiin kullakin kalalajilla ja niille määritettiin rigorkäyrät eri lämpötiloissa. Erityisesti keskityttiin lihaksen rakenne- ja väriominaisuuksien mittaamiseen ennen ja jälkeen säilytyksen. Lisäksi jäädytyksen aiheuttamaa stressiä seurattiin valikoiduilla stressiä indikoivilla mittareilla, joita olivat veren glukoosi ja lihaksen pH. Tavoitteena on arvioida elävänä jäädyttämisen käyttökelpoisuutta Suomessa etenkin lämpimän veden aikaan. Tutkimuksen rahoittajana oli Varsinais-Suomen TE-keskus (Euroopan yhteisön kalatalouden ohjauksen rahoitusväline – KOR).

2 Aineisto ja menetelmät

2.1 Kalan lämpötilan seuranta

Kirjolohen, siian ja ahvenen elävänä jäähtymistä tutkittiin esikokeessa elokuussa 2004 lämpötilanappien (ElcoLog, Elcoplast Oy, Tampere) avulla. Koeasetelmassa mitattiin kuinka nopeasti kalojen lämpötila saavuttaa jäähdytysveden lämpötilan ja pyrittiin löytämään oikea aika kunkin kokoisen kalan jäähdyttämiseen. Lisäksi selvitettiin eroja kalalajeille optimaalisissa jäähdytyslämpötiloissa.

Napit asetettiin kalan nielun kautta vatsaonteloon. Ennen nappien asetusta kalat nukutettiin metomidatilla (5 ppm, Aquacalm®, Syndel International Inc., Vancouver, Kanada). Kokeessa käytetyt ahvenet olivat painoltaan 190-346 g, kirjolohet 822-2408 g ja siiat 666-993 g. Kalojen alkulämpötila oli $15\pm 1^{\circ}\text{C}$ ja jäähdytysveden lämpötilat $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ ja $1\pm 1^{\circ}\text{C}$. Ahvenia ja siikoja jäähdytettiin kaksi kappaletta jokaiseen lämpötilaan. Kirjolohia oli $5\pm 1^{\circ}\text{C}$:een lämpötilassa neljä, joista kaksi oli n. 1000 g painoista ja kaksi n. 2000 g painoista. Muissa lämpötiloissa kirjolohtia oli kaksi.

Lämpötilanappi rekisteröi kalan sisälämpötilaa minuutin välein. Jäähdytysaika oli 75 minuuttia, minkä jälkeen kalat tainnutettiin kolkkaamalla, verestettiin ja perattiin. Lämpötilanappien keräämä tieto luettiin ElcoLog 2.1-ohjelman (ElcoLog, Elcoplast Oy, Tampere) avulla.

2.2 Teurastuskokeen koeasetelma

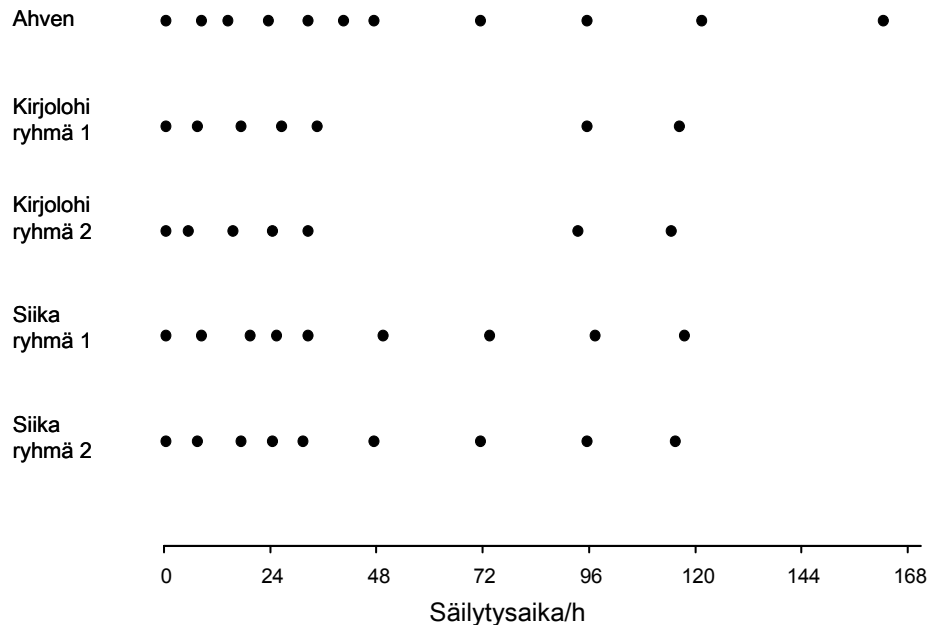
Teurastuskokeet tehtiin loppukesällä lämpimän veden aikaan. Koeasetelma on esitetty taulukossa 1. Kussakin teurastuskokeessa kalojen alkulämpötila oli $15\pm 1^{\circ}\text{C}$ ja jäähdytysveden lämpötila $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ (ahven, kirjolohi ja siika) ja $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ (kirjolohi ja siika). Käsittelyä edeltäväksi kontrollinäytteeksi haavittiin lisäksi 6 ahventa, 10 siikaa ja 10 kirjolohta, jotka tainnutettiin välittömästi kolkkaamalla. Kokeen alkaessa koekalat nostettiin suoraan eri käsittelylämpötiloihin. Ahvenilla siirto tapahtui verkkokassista sisäaltaisiin, kun taas kirjolohella ja siialla sisätiloihin akklimoidut kalat nostettiin koealtaasta toiseen. Kussakin lämpötilassa oli 20 kalaa, joista kymmenen analysoitiin heti verestyksen jälkeen ja kymmenen säilytyksen (0°C) jälkeen päivinä 5 (kirjolohi ja siika) tai 7 (ahven). Jäähdytysajat määräytyivät esikokeen mukaisesti (kuvattu kohdassa 2.1). Jäähtyneet kalat tainnutettiin kolkkaamalla. Muiden kuin jäähdytysvaikutusten eliminoimiseksi kirjolohet ja siiat rauhoitettiin jäähdytyksen alkaessa metomidatilla (0.5 ppm, Aquacalm®, Syndel International Inc., Vancouver, Kanada). Samoin koe lohkotettiin näillä kaloilla kahteen osaan siten, että kokeessa oli kerrallaan 10 kalaa/lämpötila. Kolkkauksen jälkeen kalat pistettiin ja verestettiin jäävedessä normaalin teurastuskäytännön mukaisesti. Tässä raportissa jäähdytyksellä tarkoitetaan nimenomaan kalan elävänä jäähdytystä teurastuksen jälkeisen jäähdytyksen pysyessä vakiona.

Taulukko 1. Koeasetelma. Kaikilla kaloilla lämpötila ennen kokeen aloitusta oli $15\pm 1^{\circ}\text{C}$. Esitetyt jäähdytys- ja verestysajat ovat minimiaikoja. Kokeen alkaessa otettiin kontrollinäyte ns. 0-näyte, perkauksen jälkeen alkunäyte ja säilytyksen jälkeen loppunäyte. Kokeessa käytetyt kalamäärät on ilmoitettu kunkin lajin kohdalla erikseen.

	LÄMPÖTILA	JÄÄHDYTYS	VERESTYS	0-NÄYTE	ALKUNÄYTE	LOPPUNÄYTE
AHVEN	5°C	60 min	45 min	-	10	10
AHVEN	15°C	60 min	45 min	6	10	10
KIRJOLOHI	1°C	135 min	45 min	-	10	10
KIRJOLOHI	5°C	135 min	45 min	-	10	10
KIRJOLOHI	15°C	135 min	45 min	10	10	10
SIIKA	1°C	90 min	45 min	-	10	10
SIIKA	5°C	90 min	45 min	-	10	10
SIIKA	15°C	90 min	45 min	10	10	10

2.3 Näytteenotto

Kalojen kuolonjäykkyyden eli *rigorin* kulkua seurattiin 5-7 vuorokauden ajan raken-
netestauslaitteistoa hyväksikäyttäen (kuva 1). Kirjolohella (n=10) ja siialla (n=10) mit-
tauksien käytettiin loppunäytekaloja. Ahvenilla (n=6) mittaukset tehtiin erillisillä ka-
loilla.



Kuva 1. Rigormittaus. Rigoria seurattiin säilytysjakson ajan kuvan osoittamalla aikataululla. Rigormittauksen ajankohta on merkitty kuvaan pisteellä. Kirjolohet ja siikat jäähdytettiin kahdessa eri ryhmässä.

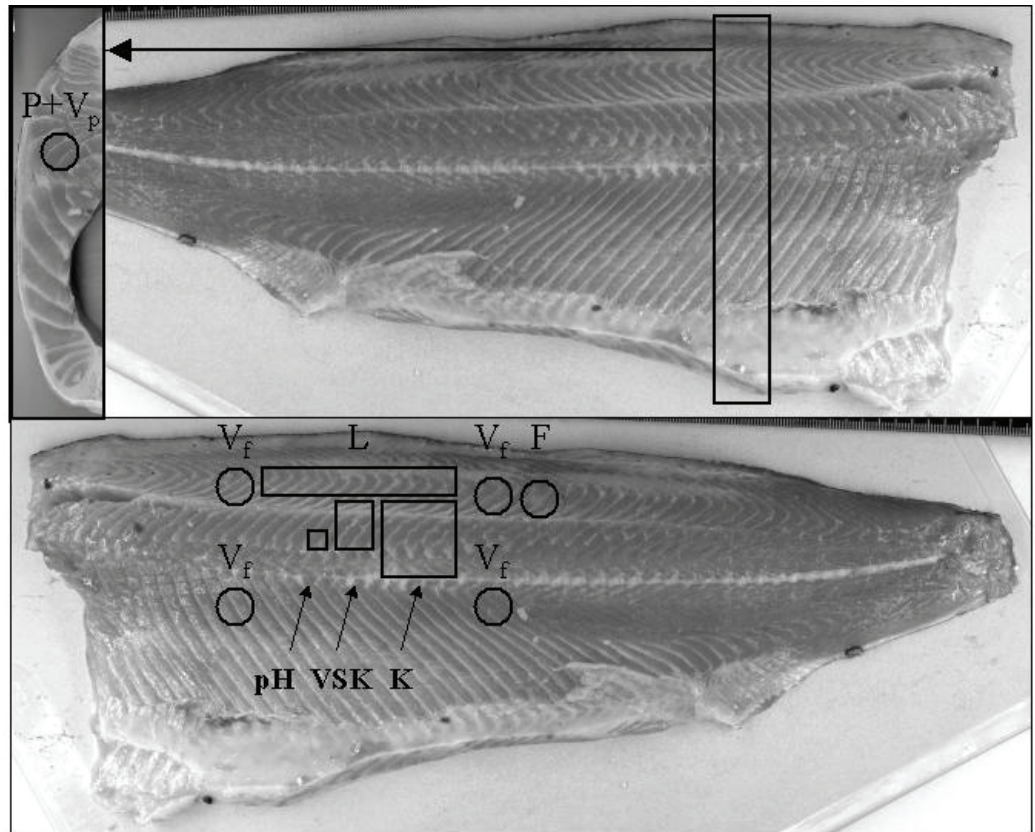
Teurastuksen yhteydessä tarkasteltiin kalojen stressivastetta veren hematokriitin, glu-
koosin ja lihaksen pH:n avulla. Teurastuksen jälkeen teuraslaatua arvioitiin kalan fi-
leen rakenneanalyysillä, lihaksen vedensidontakyvyllä ja värimitauksella vuorokausi-

na 0 ja 5 tai 7. Myös lihaksen pH määritettiin sekä säilytyksen alussa että lopussa. Näytteenottopisteet on kuvattu alla.

Kontrollinäyte (n=6-10) Ennen kokeen alkua määritettiin ahvenen (n=6), kirjolohen (n=10) ja siian (n=10) lähtötason veren hematokriitti ja glukoosi sekä lihaksen pH.

Alkunäyte (n=10) Jäähdytyksen jälkeen kalat kolkattiin ja niistä otettiin toinen verinäyte hematokriitin ja glukoosin määrittämiseksi ennen verestystä. Verestetyt kalat perattiin ja fileoitiin. Oikeasta fileesta leikattiin poikkileikkaus, josta analysoitiin lihaksen rakenne- ja väriominaisuuksia. Vasemmasta fileestä määritettiin edellisten ominaisuuksien lisäksi lihaksen pH, vedensidontakyky sekä koostumus (kuva 2).

Loppunäyte (n=10) Punnitut ja peratut loppunäytekalat jäätettiin styroksilaatikoihin kuolinjäykkyyden eli *rigorin* ajaksi (5-7 vrk). Säilytyksen jälkeen kalat fileoitiin. Kuten alkunäytteessä oikeasta fileestä analysoitiin lihaksen rakenne- ja väriominaisuuksia. Vasemmasta fileestä määritettiin edellisten lisäksi lihaksen pH, vedensidontakyky sekä koostumus (kuva 2).



Kuva 2. Näytekohtien sijainti kalassa. Rakenne analysoitiin lihaspalasta (L), fileestä (F) sekä poikkileikkauksesta (P). Väri analysoitiin sekä poikkileikkauksesta (V_p) että fileestä (V_f). Lisäksi näytteet otettiin vedensidontakyvyn (VSK), pH:n (pH) sekä koostumuksen (K) määrittämistä varten.

2.4 Analyysit

Kolkatuista kaloista otettiin verinäytteet heparinisoiduilla (200 IE/KY/ml, LEO, Tanska) injektioruiskuilla. Verestä määritettiin hematokriitti (12500 rpm, 3 min) sekä veren glukoosi fotometrillä (HemoCue Oy, Espoo) valmistajan ohjeiden mukaisesti. Verinäytteenoton jälkeen kalat pistettiin ja siirrettiin verestymään jäätettyyn veteen vähintään 45 minuutiksi. Verestyneet kalat mitattiin, punnittiin ja perattiin. Perkauksen jälkeen punnittiin kalan perattu paino sekä mahdolliset mätipussit. Kalalle laskettiin gonadosomaattinen indeksi (GSI) laskukaavalla:

$$GSI(\%) = \text{gonadien paino (g)} * 100 / \text{perattu paino (g)}$$

Lihaksen pH määritettiin Jeacocken (1977a, b) kuvaamalla menetelmällä. Noin 250 mg:n pala valkoista lihasta leikattiin koeputkeen natriumjodoasetatipuskuriin (5mM ICH₂COONa, 150 mM KCl) ja leikattiin saksilla pieniksi palasiksi. Liuoksen pH mitattiin huoneenlämmössä (ThermoOrion 720Aplus-mittari, ROSS™ pH-elektrodi, MA, USA).

Vedensidontakyvyn (VSK) määrittämiseksi kromatografiapaperista (3MM, Whatman) leikattiin 2/3-ympyrän muotoisia paloja, jotka esikuivattiin (105°C, yli yön), punnittiin ja asetettiin kartioiksi 50 ml koeputkien pohjalle. Noin 2,5 g pala valkoista lihasta punnittiin ja pilkottiin putkeen. Koeputket fuugattiin (500g, 10 min), lihasnäyte poistettiin ja paperit punnittiin. Paperit kuivattiin ja punnittiin vielä kerran (105°C, yli yön). Vedensidontakyky ilmoitetaan käänteisesti näytteestä vapautuneen veden määränä ja se laskettiin kaavalla: $[P_{lm} - \{P_{ak} + (P_{lk} - P_{ak})\}] / P_{näyte} * 100\%$, jossa P_{ak} on paperin paino alussa, P_{lm} on paperin paino lopussa märkänä, P_{lk} on paperin paino lopussa kuivauksen jälkeen ja $P_{näyte}$ on näytepalan paino.

Vasemmasta fileestä otettiin lihasnäyte (10 g) selkäevän alapuolelta lihaksen koostumuksen määrittämiseksi. Lihasnäytteet homogenisoitiin (LOSmixer) ja niiden proteiini-, rasva- sekä kuiva-ainepitoisuus määritettiin valmistajan ohjeiden mukaisesti infra-puna-analysointilaitteella (FMA2001, MIT, mid-infrared technology, Miris Ab, Uppsala, Ruotsi).

Lihaksen kiinteys määritettiin usealla menetelmällä alku- ja loppunäytteenoton yhteydessä rakennetestaustalaitteistoa käyttäen (TA.XTPlus, Stable Micro Systems, Iso-Britannia). Näytekohtien sijainti kalassa on esitetty kuvassa 2. Veitsitestiä varten leikattiin selkäevän alapuolelta noin 5 cm pituinen ruodoton lihaspala, joka oli standardoitu halkaisijaltaan kullekin lajille sopivan kokoiseksi. Näytepala leikattiin keskeltä poikki Warner-Bratzler terää käyttäen nopeudella 10 mm/s. Testiä edeltävä ja testin jälkeinen terän liikkumisnopeus oli 2 mm/s ja laukaisuherkkyys 10 g. Mittauksessa rekisteröitiin maksimi leikkausvoima (Newton, N) ja leikkauspinta-ala määritettiin näytepalojen skannatuista poikkileikkauksista (Canon, CanoScan3200F, USA) kuva-analyysiohjelmalla (Image-Pro PLUS, Version 4.0 for Windows™, Media Cybernetics, MD, USA).

Ns. sormitestissä filettä painettiin pallomittapäällä (0.5 P) 25%:a näytekohdan korkeudesta (10 mm/s, laukaisuherkkyys 5 g). Näytekohtana käytettiin ruodotonta epaksiaalista aluetta selkäevän takareunan alapuolella (kuva 2). Mittauksessa rekisteröitiin painallukseen käytetty maksimivoima (N) sekä fileen paksuus kyseisessä kohdassa.

Siiialla ja kirjolohella mitattiin lisäksi lihaksen kovuus poikkileikkauksista ns. pistotestillä. Mittapäänä käytettiin sylinteriä (Ø 12,7 mm), joka painettiin 90% poikkileikkauksen paksuudesta nopeudella 2 mm/s (laukaisuherkkyys 2 g). Laitteisto rekisteröi lihaksen kiinteyden voimana (N), joka tarvittiin sylinterin painamiseen sekä poikkileikkauksen paksuuden. Mittauskohtana käytettiin ruodotonta aluetta juuri kylkiviivan yläpuolella (kuva 2).

Värin mittaamiseen käytettiin spektrofotometriä (malli CM-2600d, Minolta, Japani). Tämä värimittari käyttää CIELab-värimallia, jossa väri määritellään $L^*a^*b^*$ -avaruudessa (L^* =vaaleus; a^* =punaisuus; b^* =keltaisuus) ja sen värikylläisyys (C^*) ja sävy (h^*) ilmoitetaan laskennallisesti: $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$ ja $h^*=\tan^{-1}(b^*/a^*)$. Kirjolohella ja siialla väri mitattiin vasemman fileen poikkileikkauksesta. Mittarin aukko asetettiin poikkileikkauspinnalle siten, että mitattavan alueen keskellä oli yksi lihasjaoke (8 mm aukko, 10° havaintokulma, D65 päivänvalo). Kirjolohella väri mitattiin myös fileestä neljän mittauksen keskiarvona (kuva 2).

2.5 Rigorin seuranta

Rigorin kehittymistä mitattiin rakennetestaustilanteistolla (TA.XTPlus, Stable Micro Systems). Testissä käytettiin pallomittapäätä (0.5 P), joka painoi fileetä 10 %:a näytekohdan korkeudesta (10 mm/s, laukaisuherkkyys 5 g). Näytekohta oli n. 1 cm kalan kylkiviivan yläpuolella, selkäevän etuosan kohdalla. Mittauksessa rekisteröitiin painallukseen käytetty maksimivoima (N) sekä fileen paksuus kyseisessä kohdassa.

2.6 Tilastolliset analyysit

Tutkittujen muuttujien riippuvuutta säilytysajasta ja jäähdytyslämpötilasta tutkittiin lineaarisella mallinnuksella kaksisuuntaisen anovan avulla siten, että mallissa tarkasteltiin säilytysajan ja lämpötilan yhdysvaikutuksia ns. lisäneliösumma-periaatteen perusteella. Mallin residuaaleja arvioitiin graafisesti ja ennusteet käsittelyille piirrettiin mallista, jossa olivat mukana tilastollisesti merkitsevät tekijät ja jäähdytyslämpötila (R Core Development Team, 2004).

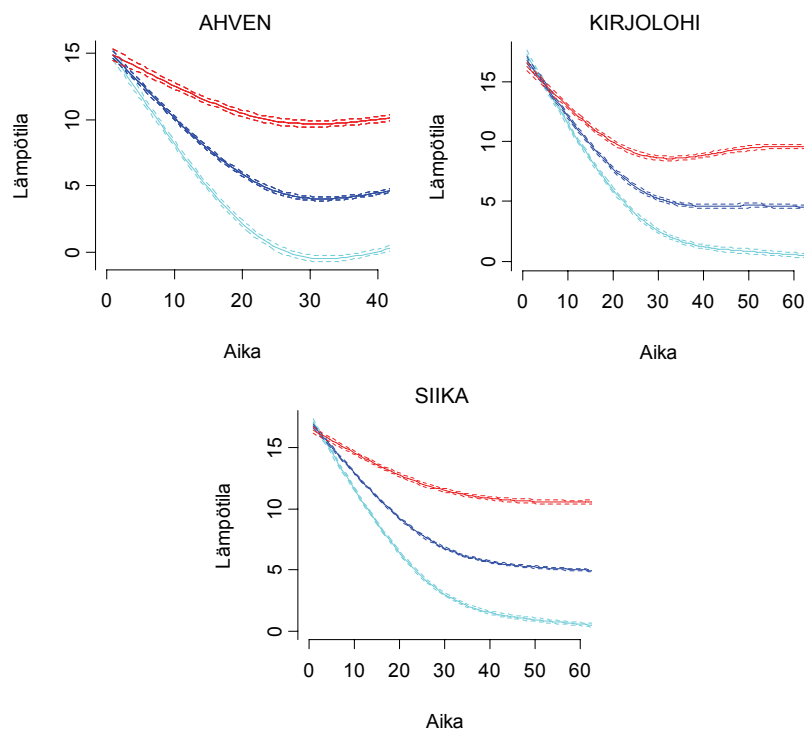
Rigorikäyriä eri jäähdytyslämpötiloissa arvioitiin semiparametrisen regressioanalyysin avulla. Rigorvoiman epälineaarisuutta suhteessa selittäviin muuttujiin tarkasteltiin rajoitetun kuutio splinein avulla. Analyysit tehtiin R-kielen Design-kirjaston avulla (R Core Development Team, 2004; Alzola ja Harrell, 2004)

Tilastolliset mallit muuttujien osalta on esitetty liitteessä 1.

3 Tulokset

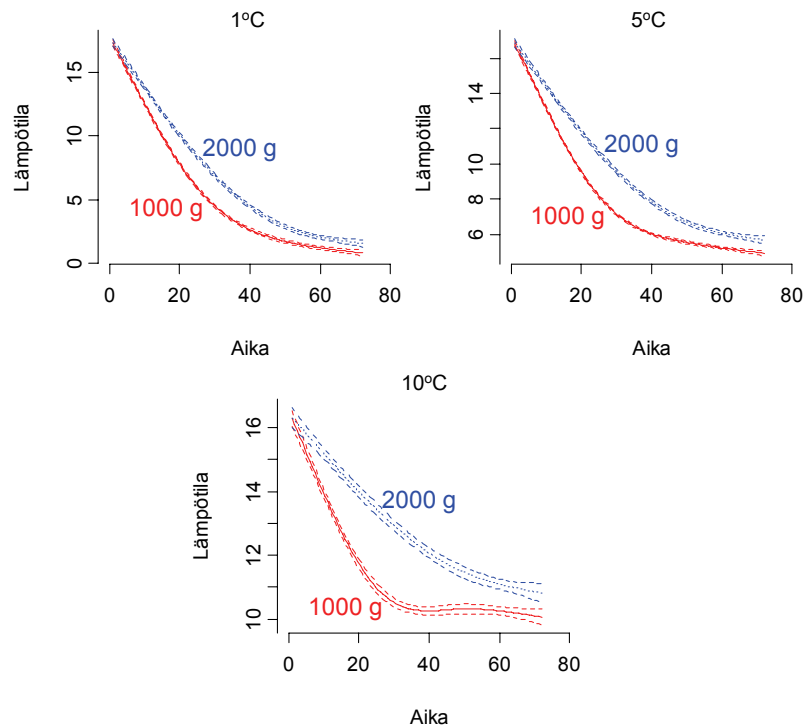
3.1 Nappikokeet

Kalan sisälämpötilaa mitattiin tallentavien lämpötilanappien avulla. Esikokeessa seurattiin kalojen käyttäytymistä jäädytyksen aikana sekä jäähtymisnopeutta eri lämpöisissä vesissä. Jäähtymiskäyrät on esitetty kalalajeittain kuvassa 3. Kalojen koko vaihteli eikä koon vaihtelua ole huomioitu esimerkkikäyrissä. Ahvenella 1°C:n lämpötila jätettiin pois varsinaisesta kokeesta, koska kalojen selviytyminen kylmässä vedessä oli heikkoa. Myös kirjolohella ja siialla yksiasteinen vesi johti kalojen taintumiseen, mutta ne selvisivät kylmäkäsittelystä hyvin, kun ne palautettiin takaisin korkeampaan lämpötilaan. Veden jäädyttäminen 1°C:een jäillä ei edellytä suuria laitehankintoja ja lämpötila otettiin helpon toteutettavuutensa vuoksi mukaan varsinaiseen kokeeseen.



Kuva 3. Ruumiinlämmön aleneminen kalalajeittain jäädytetyssä vedessä. Kalat on siirretty suoraan 1 (—), 5 (—) tai 10 °C:een (—) veteen. Katkoviivat rajaavat lämpötilan 95%:n luottamusvälin. Jäähdytysaika on ilmoitettu minuutteina.

Jäähtymisnopeus riippuu sekä kalan painosta että jäädytysveden lämpötilasta. Kirjolohella testattiin kalan koon vaikutusta jäähtymisnopeuteen. Kuvassa 4. on esitetty ennusteet 1000 ja 2000 gramman painoisen kirjolohen jäähtymiselle 1, 5 tai 10°C:ssa vedessä. Edellä kuvattujen esikokeiden perusteella valittiin kokeeseen jäädytysajat kullekin kalalajille siten, että tavoitelämpötila varmuudella saavutettiin ennen tainnustusta.



Kuva 4. Kirjoloihen jäähtyminen haluttuun lämpötilaan. Kuvassa esitetään 1000 ja 2000 g:n painoisten kirjoloihien ennustettu lämpötilan aleneminen 1, 5 ja 10 °C:ssa. Katkoviivat rajaavat lämpötilan 95%:n luottamusvälin. Jäähdytysaika on ilmoitettu minuutteina.

3.2 Jäähdytyskokeessa käytetyn kalan lihaksen koostumus

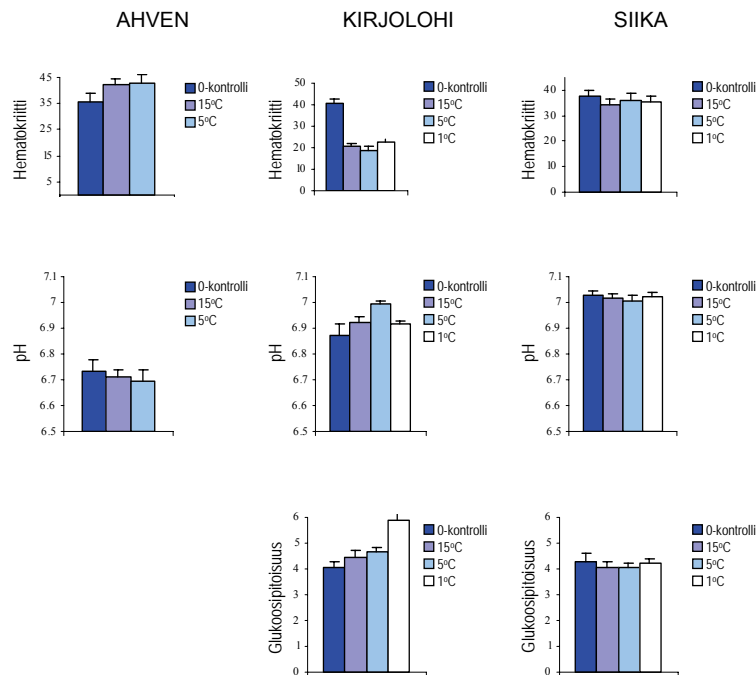
Varsinaisessa jäähdytyskokeessa käytetyt kirjolohet olivat suurikokoisia, niiden keskimääräisen painon ollessa yli 2700 g (taulukko 2). Tämän takia kirjolohille valittiin huomattavasti pidempi jäähdytysaika kuin siialle ja ahvenelle. Kirjoloista 16 % oli martoja. Siioista 49 % oli koiraita ja lisäksi 1 % oli martoja. Gonadosomaattinen indeksi (GSI) osoittaa, että naarassiivat olivat kutukypsiä. Paino- ja koostumustietoja käytettiin taustatietona arvioitaessa jäähdytyksen vaikutuksia kalan rakenteeseen ja väriin.

Taulukko 2. Kalojen paino, kutukypsyys ja lihaksen koostumus. Taulukossa on ilmoitettu jokaisen muuttujan keskiarvo ja vaihteluväli. Koostumus on ilmoitettu märkäpainoa kohti.

	PAINO (g)	GSI (%)	RASVA (%)	PROTEIINI (%)	KUIVA-AINE (%)
AHVEN	206 (123 – 453)	–	0,6 (0,2 – 3,3)	19,7 (17,7 - 21,9)	21,6 (18,9 – 26,0)
KIRJOLOHI	2716 (1384 - 3754)	4 (2 – 7)	7,5 (3,9 - 14,1)	23,9 (22,3 – 25,6)	32,7 (28,8 - 37,7)
SIIKA	1208 (480 - 1863)	24 (10 – 37)	3,7 (0,8 – 12,2)	21,6 (19,9 - 23,5)	26,6 (22,5 – 34,5)

3.3 Käsittelystressi

Verisolujen suhteellinen osuus veressä (hematokriitti), lihaksen pH ja veren glukoosipitoisuus määritettiin kullakin kalalajilla ennen kokeen aloittamista (0-kontrolli) ja välittömästi jäädytyksen jälkeen (alkunäyte) kussakin jäädytyslämpötilassa stressivaikutusten arvioimiseksi (kuva 5). Ahvenella siirto verkkokassista koetilaan tehtiin juuri kokeen alkaessa, mikä selittää korkeammat hematokriittiarvot jäädytyksen jälkeen. Koekalojen lihaksen pH ei poikennut merkittävästi 0-kontrollista, joskin hematokriittiä vastaavasti alhaisemmat pH-arvot indikoivat käsittelyn stressivaikutusta kalojen siirron yhteydessä. Jäädytyksellä (5°C) ei ollut vaikutusta mitattuihin muuttujiin.

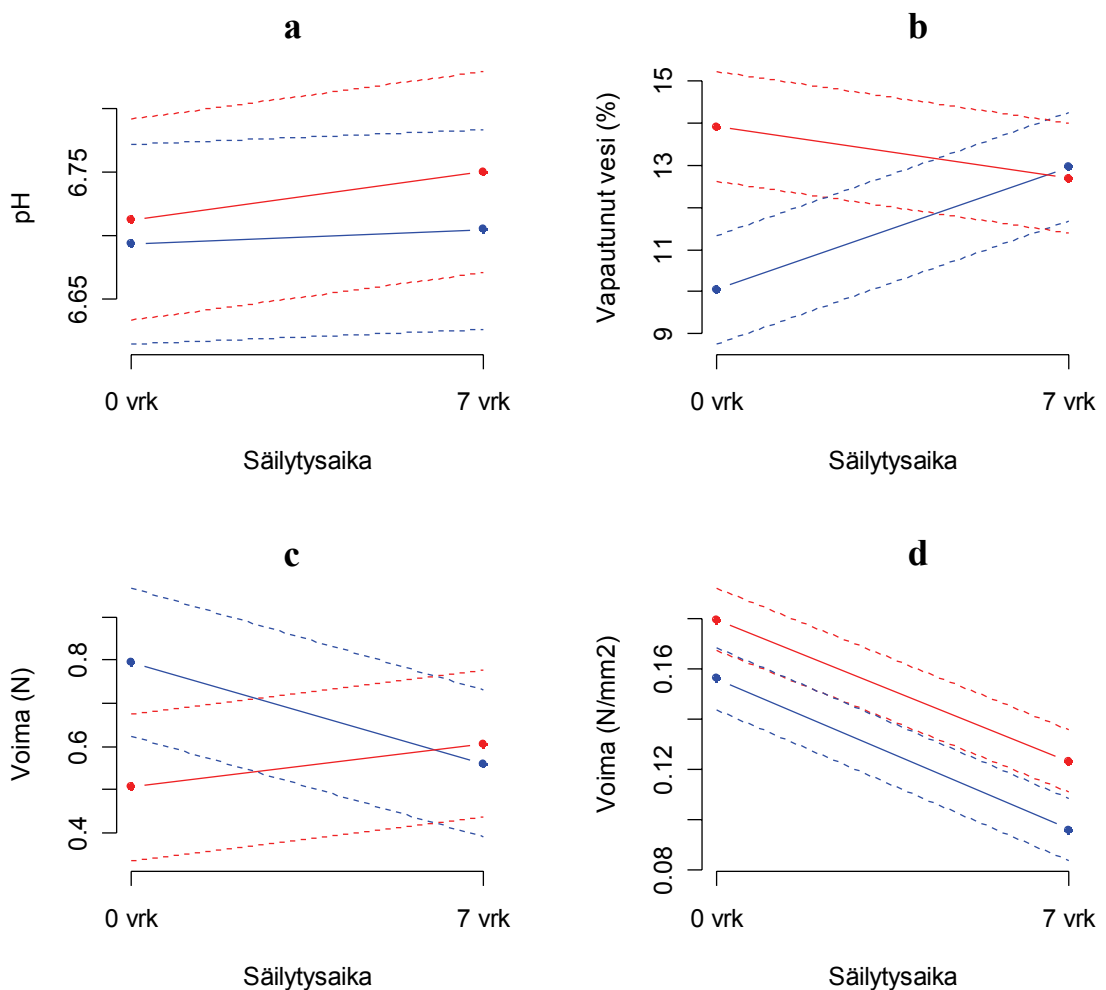


Kuva 5. Hematokriitti (%), lihaksen pH ja veren glukoosipitoisuus (mmol/l) jäädytystä ennen ja sen jälkeen. Ahvenen 0-kontrollinäyte otettiin suoraan verkkokasseista nostetuista kaloista. Kirjolohesta ja siasta 0-kontrollinäyte otettiin koeltaista ennen metomidaatin lisäämistä. Kaikissa tapauksissa kalat tainnutettiin välittömästi kolkaamalla.

Kirjolahella ja siialla käsittelystressin vaikutus eliminoitiin rauhoittamalla koekalat metomidaatilla ennen kokeen aloittamista. Näin pyrittiin tutkimaan ainoastaan lämpötilan vaikutusta stressittömällä kalalla. Rauhoittamattomilla 0-kontrollikirjolahilla haaviminen nosti hematokriittitasoa kaksinkertaiseksi rauhoitettuihin koeryhmiin verrattuna (kuva 5). Koeryhmien välillä ei ollut eroa. Lihaksen pH oli korkein 5°C:een jäädytetyillä kirjolahilla, kun taas veren glukoosi oli korkein 1°C:ssa. Siialla ei havaittu merkittäviä muutoksia mitatuissa muuttujissa verrattuna 0-kontrolliin eikä myöskään koeryhmien välillä (kuva 5).

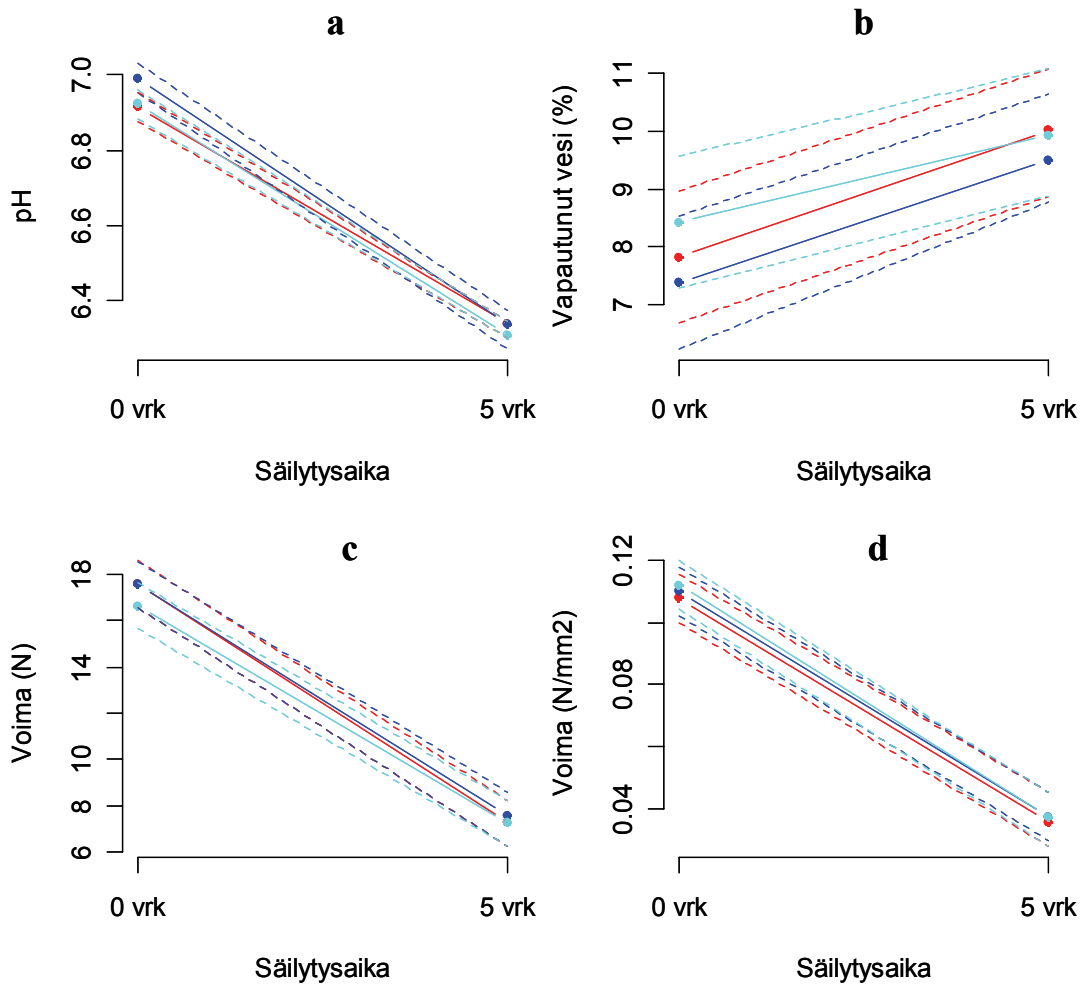
3.4 Laatumittaukset

Lihaksen pH:ta, vedensidontakykyä, rakennetta ja väriä tutkittiin välittömästi lopetuksen jälkeen (alkunäyte) ja seitsemän (ahven) tai viisi (kirjolohi ja siika) vuorokautta jäällä säilyttämisen jälkeen (loppunäyte). Lihaksen pH ei poikennut ahvenella mittausaikakohtien eikä lämpötilojen välillä (kuva 6a). Sen sijaan vedensidontakyky ahvenen lihaksessa oli merkittävästi korkeampi (ts. vapautuneen veden määrä oli alhaisempi) jäähdytetyillä kaloilla välittömästi lopetuksen jälkeen (kuva 6b). Tämä ero hävisi säilytyksen aikana. Ns. sormitestillä mitattaessa jäähdytetyt kalat olivat alkuhetkellä kiinteämpiä kuin 15°C:ssa pidetyt kalat (kuva 6c), kun taas leikkausvoimat olivat pienempiä jäähdytetyillä kaloilla sekä alussa että lopussa (kuva 6d). Veitsitestillä mitattuna havaittiin lihaksen pehmeneminen yhtäläisesti molemmissa ryhmissä (kuva 6d).

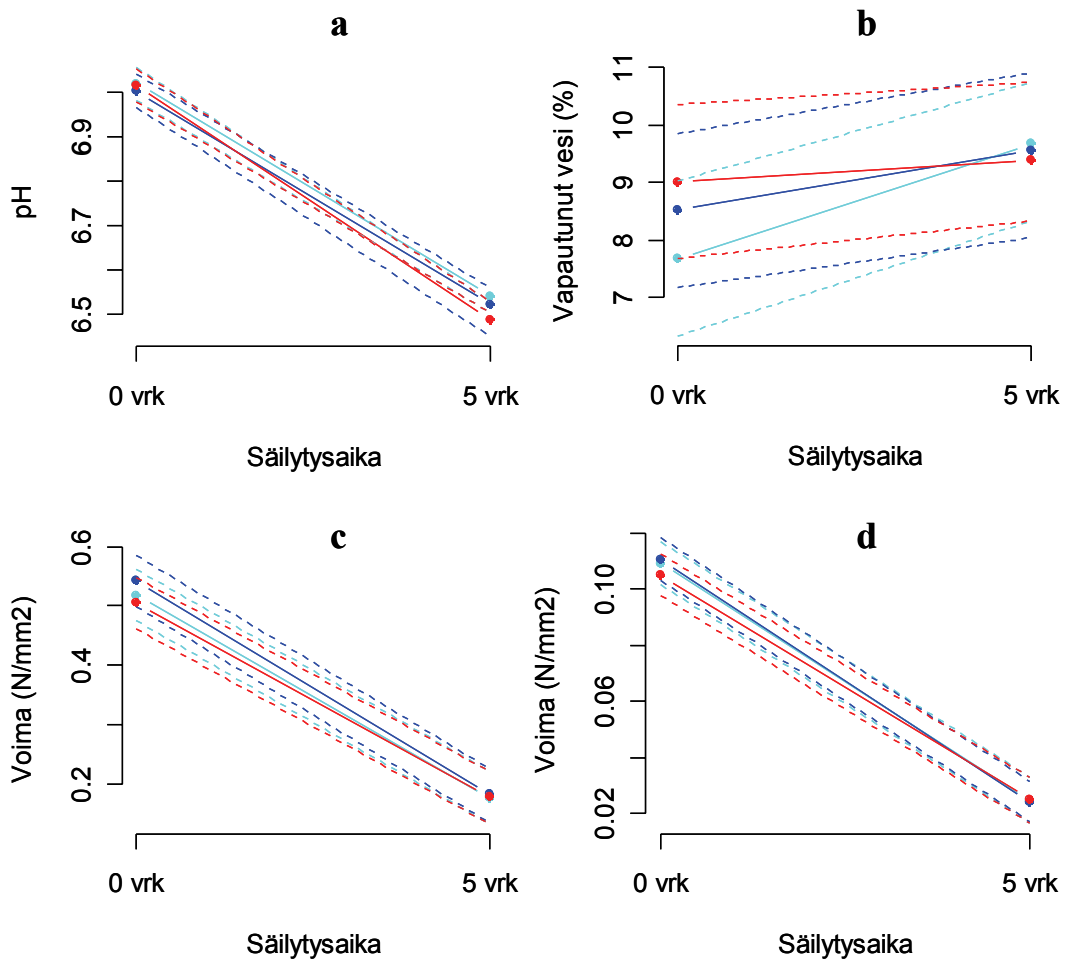


Kuva 6. Ennusteet ahvenen lihaksen ominaisuuksien muutoksille säilytyksen aikana. Lihaksen pH (a), lihaksesta vapautuneen veden määrä painoprosenteina (b) sekä lihaksen kiinteys palloanturilla (c) ja veitsellä (d) mitattuna. Lähtötason lämpötila oli 15°C (—●—) ja jäähdytyslämpötila oli 5°C (—●—).

Kirjolohella ja siialla havaittiin muutoksia laatuominaisuuksissa lähinnä mittausajan-kohtien välillä. Ahveneen verrattuna pH:n lasku säilytyksen aikana (kuvat 7a ja 8a) oli huomattava. Lisäksi kirjolohella lihasen pH 5°C:ssa vedessä oli muita lämpötiloja korkeampi alkutilanteessa. Molemmilla kalalajeilla vedensidontakyky aleni (kuvat 7b ja 8b) ja lihas pehmeni (kuvat 7c, 7d, 8c ja 8d) viiden vuorokauden aikana. Siialla kalan painon lisääntyminen heikensi vedensidontakykyä. Lisäksi siian sukupuoli vaikutti lihasen pH-arvoon; koiraskaloilla pH oli korkeampi.

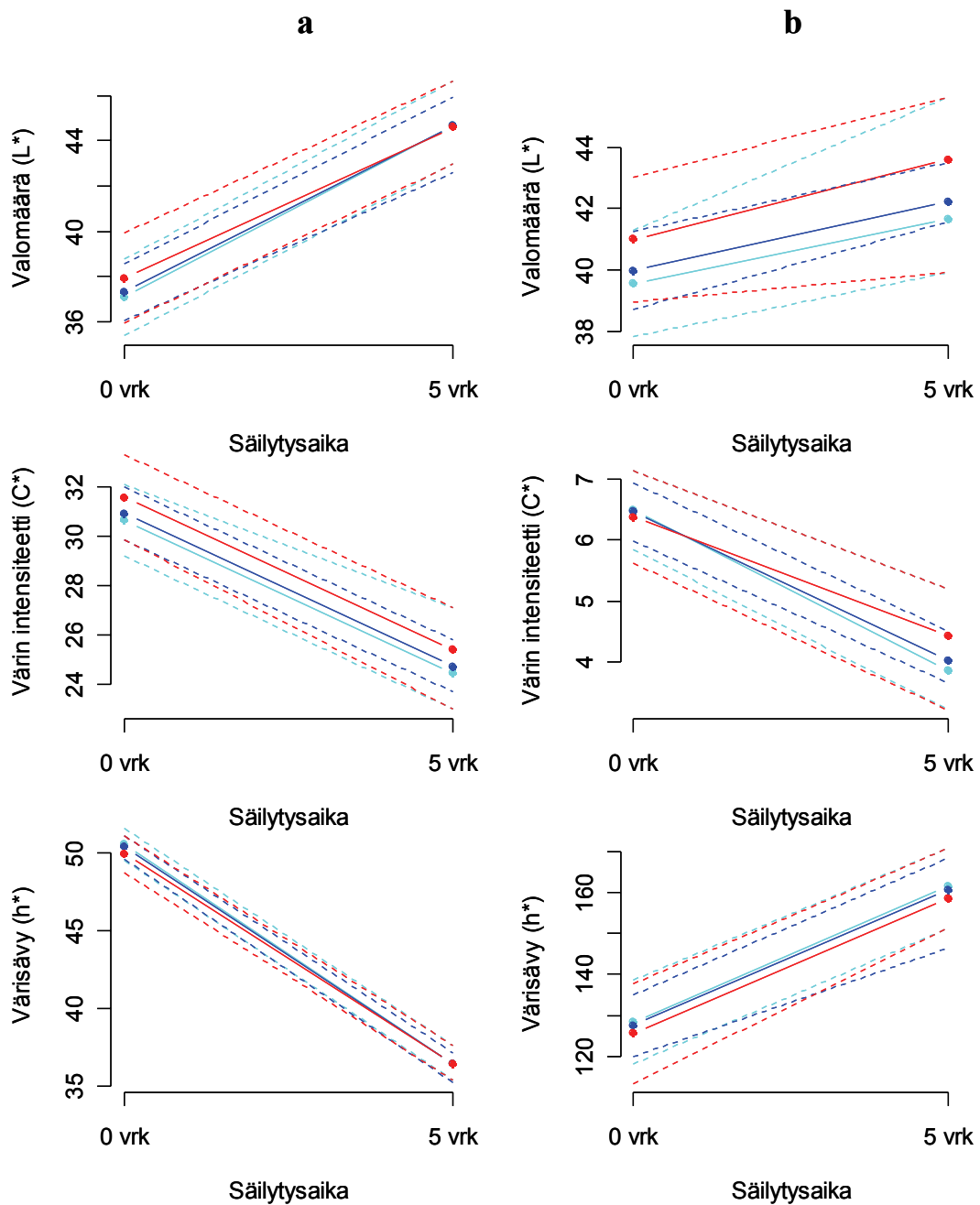


Kuva 7. Ennusteet kirjolohen lihasen ominaisuuksien muutoksille säilytyksen aikana. Lihasen pH (a), lihaksesta vapautuneen veden määrä painoprosenteina (b) sekä lihasen kiinteys sylinterillä (c) ja veitsellä (d) mitattuna. Lähtötason lämpötila oli 15°C (—) ja jäähdtyslämpötilat olivat 5°C (—) ja 1°C (—).



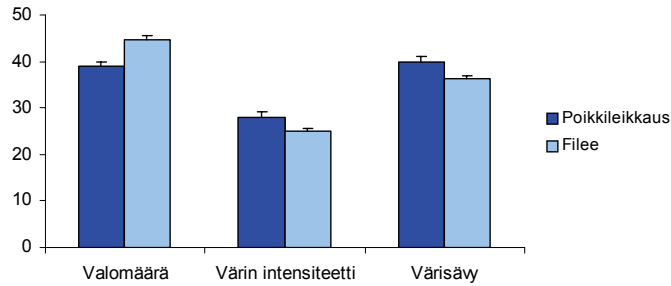
Kuva 8. Ennusteet siian lihaksen ominaisuuksien muutoksille säilytyksen aikana. Lihaksen pH (a), lihaksesta vapautuneen veden määrä painoprosentteina (b) sekä lihaksen kiinteys sylinterillä (c) ja veitsellä (d) mitattuna. Lähtötilan lämpötila oli 15°C (●—) ja jäähdytyslämpötilat olivat 5°C (●—) ja 1°C (●—).

Kirjolohella ja siialla seurattiin säilytyksen aikana lisäksi väriominaisuuksia; vaaleutta eli valomäärää (L^*), värikylläisyyttä eli värin intensiteettiä (C^*) sekä värisävyn (h^*) muutoksia. Kirjolohella fileen väri vaaleni, värikylläisyys pieneni sekä värisävy muuttui punaiseen suuntaan säilytyksen aikana (kuva 9a). Siialla lihaksen värikylläisyys pieneni säilytyksen aikana ja värisävy muuttui kellertävästä vihertävään (kuva 9b). Säilytysaikaa merkittävämmiin siian vaaleutta lisäsi kalan rasvapitoisuuden kasvaminen. Lisäksi naaraskalat olivat koiraita vaaleampia. Jäähdytyslämpötila ei vaikuttanut merkittävästi mitattuihin väriominaisuuksiin.



Kuva 9. Ennusteet lihasen väriominaisuuksien muutoksille säilytyksen aikana. Kirjolohifileen (a) ja siian poikkileikkauksen (b) valomäärä, väriin intensiteetti ja värisävy on esitetty allekkain. Lähtötason lämpötila oli 15°C (—) ja jäähdetylämpötilat olivat 5°C (—) ja 1°C (—).

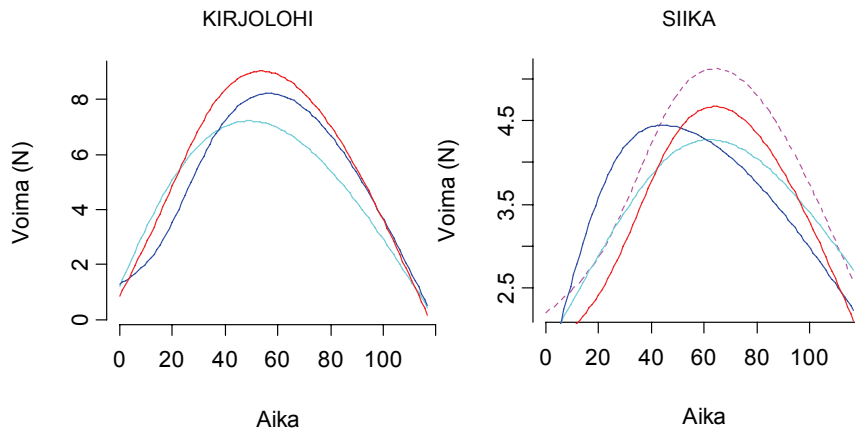
Kirjolohen lihasen väriominaisuuksia mitattiin sekä poikkileikkauksesta että fileen pinnalta. Mittauksissa havaittiin, että lihasen rakenteesta johtuen fileen väri on vaaleampi ja väriin intensiteetti pienempi kuin poikkileikkauksessa (kuva 10). Lisäksi fileen ja poikkileikkauksen värisävyt ovat erilaiset (kuva 10). Lihasen eri kohdista tehdyt värimittaukset eivät siten ole suoraan vertailukelpoisia keskenään.



Kuva 10. Kirjolohden lihaksen väriominaisuudet (keskiarvo+keskiarvon keskivirhe) kahdella eri mittausmenetelmällä mitattuna. Väri mitattiin joko poikkileikkauksesta tai fileen pinnalta. Kunkin fileen väriarvot saatiin neljän mittauksen keskiarvosta.

3.5 Rigor

Rigorinseurannassa käytettiin nopeaa instrumentaalista sormimenetelmää, joka mahdollistaa toistuvat rigormittaukset siten, että mitattava kala ei vahingoitu. Käyttökokemukset kirjolohella ovat osoittaneet menetelmän toimivuuden kyseisellä lajilla (julkaisematon tutkimus Airaksinen ym.), sen sijaan siialla ja ahvenella menetelmää testattiin nyt ensimmäistä kertaa. Kirjolohden ja siian rigorkäyrät on esitetty kuvassa 11a ja 11b.



Kuva 11. Ennusteet rigorin voimakkuudelle 5 vuorokauden aikana kirjolohella ja siialla. Ennen tainnutusta veden lämpötila oli 15°C (—), 5°C (—) tai 1°C (—). Siian kohdalla on esitetty ennuste myös koiraskaloille 15°C:ssa (---). Rigorin voimakkuus mitattiin rakennetestaustilanteistolla kalan kylkeä painamalla ja ilmoitetaan newtoneina (N). Aika on ilmoitettu tunteina tainnutuksesta.

Kirjolohella rigorkäyrät eivät poikenneet merkittävästi eri jäähdytyslämpötiloissa. Myöskään muut tekijät, mittauskohdan korkeutta lukuun ottamatta, eivät vaikuttaneet rigorkäyrien muotoon tai voiman suuruuteen. Siialla rigorkäyrät poikkesivat merkittävästi toisistaan eri lämpötiloissa. Siialla mittauskohdan korkeuden lisäksi kalan sukupuolella oli merkitystä käyrän kulkuun siten, että naaraskalojen rigorvoimat olivat koi-

raskaloja alhaisempia. Ahvenella saman kalan yksittäisten mittauksien arvot heittelivät sattumanvaraisesti peräkkäisten mittauksien välillä, joten rigoria ei voida luotettavasti mitata kyseisellä lajilla tässä kokeessa käytetyllä menetelmällä. Ahvenen ihon painamiseen vaadittava voima on kertaluokkaa suurempi lihaksen painamiseen vaadittavan voiman kanssa ja peittää siten lihaksen rakenteen suhteellisen pienet muutokset rigorin aikana. Sama on huomioitava siikaa tarkasteltaessa. Siialla mitatut voimat olivat lähes puolta pienempiä kirjoloheen verrattuna.

4 Tulosten tarkastelu

Elävän kalan lämpötila on yleensä 0,1-1°C ympäröivän veden lämpötilaa korkeampi. Lämpötila on lajityypillinen, mutta se riippuu myös kalan koosta (Stevens ja Fry, 1974). Edellisen lisäksi veden kierrätys, lämmönjohtuvuus sekä kalan aktiivisuus määrittävät sen, kuinka nopeasti kala kylmään veteen joutuessaan jäähtyy (Stevens ja Sutterlin, 1976; Skjervold ym., 2002). Käytännössä jäähdytettävä kala ei koskaan aivan saavuta jäähdytysveden lämpötilaa. Jäähtyminen kuitenkin nopeutuu lähtölämpötilan ja jäähdytysveden lämpötilan erotuksen kasvaessa, mikä näkyi lämpötila-aikakäyrien jyrkkemisenä alhaisempiin jäähdytyslämpötiloihin siirryttäessä. Tässä kokeessa käytetyillä lämpötilanapeilla (tarkkuus $\pm 0.5^\circ\text{C}$) ei voida määrittää todellisia eri kalalajien välisiä lämpötilaeroja.

Nopea jäähdyttäminen olisi perkaustilanteessa tarkoituksenmukaisinta. Laadulliset ja eettiset näkökohdat huomioiden jäähdyttämisen ei kuitenkaan tulisi aiheuttaa kaloille stressiä eikä ylittää lajin toleranssirajoja. Atlantin lohella lämpötilan laskemisen 0-0,5°C:een on esitetty aiheuttavan vain vähäistä stressiä, jos lainkaan (Skjervold ym., 1999; Rorvik ym., 2000). Tutkittujen lohien keskipaino oli kuitenkin 4-5 kg:n välillä ja lämpötilan pudotus alle 10°C ($\sim 0.35^\circ\text{C}/\text{min}$). Tässä kokeessa esimerkiksi 1°C:een jäähdytetyt ahvenet altistuivat kohtalokkain seurauksin huomattavasti nopeammalle lämpötilan pudotukselle ($\sim 0.7^\circ\text{C}/\text{min}$). Atlantin lohien jäähtymiselle on luotu malli, jonka perusteella pystytään ennustamaan kalan lämpötila tietyn jäähdytysajan kuluttua tai jäähdytysaika tietyn lämpötilan saavuttamiseksi (Skjervold ym., 2002). Vastaavien mallien luominen onkin tärkeä työkalu elävänä jäähdytyksen optimoinnissa uusille lajeille. Lajikohtaisten ennusteiden luominen ei ollut tämän tutkimuksen tavoitteena, mutta vaikka aineisto oli pieni, pystyttiin esikokeen perusteella alustavasti ennustamaan kahden eri kokoisen kirjolohien jäähtymisnopeutta.

Elävänä jäähdyttämisen vaikutukset kalan laatuun ja säilyvyyteen perustuvat kahteen erilliseen, silti vuorovaikutteiseen tekijään. Ensinnäkin alhainen lämpötila hidastaa mikrobitoimintaa lihaksessa lopetuksen jälkeen ja sitä kautta parantaa kalatuotteen säilyvyyttä - seikka, mitä on hyödynnetty kaikkialla herkästi pilaantuvan elintarvikkeen tuotannossa. Toiseksi alhainen lämpötila vaikuttaa elävän kalan aineenvaihduntaan ja stressivasteeseen. Tällä on huomattava vaikutus siihen, miten kala reagoi teurastuksen aikana kokemaansa käsittelyyn ja mitkä ovat sen seuraukset lihaksen laadullisissa ominaisuuksissa.

Koejärjestelyissä stressivaikutukset eliminoitiin kirjolohella ja siialla rauhoittamalla kalat metomidatilla. Metomidatilla rauhoitettu kala ei välitä häiriötekijöistä ja pystyy käsittelystä huolimatta ylläpitämään elektrolyytti- ja stressihormonitasonsa rauhoittamatonta kalaa paremmin. Veren hematokriittiä ja glukoosia sekä lihaksen pH:ta käytettiin kokeessa suunta-antavina stressimittareina. Hematokriitti nousee nopeasti stressin laukaisemana verisolujen määrän lisääntyessä verenkierrossa pernan supistumisen ja punasolujen turpoamisen seurauksena. Ahvenella tämä näkyi sisälle siirretyissä ryhmissä selkeästi korkeampina hematokriittiarvoina kassikaloihin verrattuna. Todellinen lepotaso lienee kuitenkin vielä 0-näytekaloja alhaisempi, mihin viittaavat hematokriittiarvot kirjolohilla ja siioilla. Kirjolohella metomidatit käsittely alensi selkeästi hematokriittiä koeryhmissä 0-näytekaloihin verrattuna. Siialla ei havaittu vastaavaa. Siikojen siirto allastiloihin viivästyivät vesiteknisistä syistä ja on mahdollista, että kalat eivät olleet vielä toipuneet siirtämisen aiheuttamasta stressistä kokeen alkaessa.

Stressitasoa arvioitiin myös lihaksen metabolian sekä veren glukoosipitoisuuden avulla. Stressi aiheuttaa pakoreaktioita ja niistä seuraava lihasrasitus johtaa maitohapon kertymiseen ja pH:n alenemiseen lihaksessa. Lisäksi energian turvaamiseksi glukoosia vapautuu glykokeenivarastoista ja sen kohonneita pitoisuuksia voidaan mitata verenkierrosta. Rauhoittamattomilla ahvenilla lihaksen pH oli kaikissa ryhmissä verrattain alhainen eikä samoin kuin siialla merkittäviä eroja ryhmien välillä havaittu. Kirjolo-

hella sen sijaan jäädyttäminen näytti alentavan lihaksen aineenvaihduntaa ja 5°C:n ryhmässä vaikutus oli merkittävä. Lihaksen pH oli korkeampi samanaikaisesti alhaisen hematokriitin kanssa, minkä perusteella voidaan olettaa, että kalat 5°C:ssa vedessä käyttäytyivät rauhallisemmin muihin käsittelyryhmiin verrattuna. Vastaavasti lihaksen pH 1°C:ssa ei ollut lähtötasoa alhaisempi, mutta korkea glukoosipitoisuus viittaa kalojen tässä lämpötilassa altistuneen stressaaville olosuhteille. Näin alhaisessa lämpötilassa kirjolohella onkin odotettavissa muista stressitekijöistä riippumatta vakavia ongelmia mm. suolatasapainon säätelyssä (Finstad ym., 1988).

Laatuominaisuuksien suhteen näyttää siltä, että etenkin kirjolohella ja siialla jäädytyksen edut perustuvat teurastuksen aikana stressireaktiossa tapahtuviin muutoksiin. Kun kalat rauhoitettiin ja stressivasteet siten minimoitiin, mainittavaa hyötyä jäädyttämisestä ei havaittu. Saman ovat aiemmin raportoineet Skjervold ym. (2001) atlantin lohella. Jäädytys on lohelle stressitekijä, mutta ei verrattavissa korkeasta kalatiheydestä aiheutuvaan stressiin teurastuksen aikana. Kun suureen tiheyteen reagoivat kalat jäädytettiin ennen teurastusta, niiden stressivastetta pystyttiin alentamaan. Onkin oletettavaa, että optimaalisessa lämpötilassa jäädyttämisellä voidaan merkittävästi alentaa stressin haitallisia vaikutuksia teurastuksen aikana. Epäilemättä jäädytyksellä voidaan saavuttaa hyötyjä tuoreuden parantamisessa ja tasalaatuisuuden edistämässä. Jatkokeiden arvioitavaksi jää, kuinka paljon rauhoittamattoman kalan tuotelaatua pystytään elävänä jäädytyksellä parantamaan.

Ahvenella käsittelyt tehtiin rauhoittamattomalla kalalla. Tällöin mm. tuoreen kalan vedensidontakykyä pystyttiin parantamaan jäädytyksellä. Sama on havaittu aiemmin turskalla ja lohella (Slinde ym., 2001). Vedensidontakyvyn heikkeneminen heijastuu kalantuottajalle painohävikkinä ja jalostajalle ja kuluttajalle irrallisena nesteinä pakatussa tai kypsennetyssä kalatuotteessa. Mekaaniseen voimaan perustuvat vedensidontakykymittaukset, kuten tässä työssä käytetty menetelmä, vapauttavat vettä sekä solun ulkoisesta että solun sisäisestä tilasta lihaksessa (Honikel ja Hamm, 1994). Vedensidontakykyä sääteleviä tekijöitä ei kuitenkaan tarkoin tunneta. Aiempien tutkimusten mukaan sitä heikentävät osaltaan alhainen pH ja korkea säilytyslämpötila (Wedekind ja Griese, 2001; Morkore ym., 2002).

Lihaksen pH oli ahvenella huomattavan alhainen jo lähtötilanteessa eikä se merkittävästi muuttunut säilytyksen aikana. Joko ahventen glykogeenivarastot olivat alun alkaen pienet tai ne käytettiin loppuun jo kassisäilytyksen, ja viimeistään sisälle siirtämisen, aikana. Samoin lihaksen kiinteydessä havaitut erot jäivät pieniksi. Fileen kiinteyks oli kuitenkin tuoreella kalalla suurempi jäädytetyssä ryhmässä. Kirjolohilla ja sioilla ei havaittu jäädytyksestä riippuvia eroja rakenteessa. Tämä tulos on odotettavissa tilanteessa, jossa stressin vaikutus on onnistuneesti pystytty poistamaan eikä jäädytyksellä sinällään ole itsenäistä vaikutusta rakenteeseen. Käsittelystressin on osoitettu aiemmin pehmentävän lihasta (Sigholt ym., 1997; Kiessling ym., 2004).

Useissa tutkimuksissa on osoitettu teurastuksen aikaisen stressin johtavan rigorin aikaistumiseen ja/tai voimistumiseen (Sigholt ym., 1997; Skjervold ym., 1999; Thomas ym., 1999; Skjervold ym., 2001; Kiessling ym., 2004). Atlantin lohella rigorin kehittymistä pystyttiin hidastamaan elävänä jäädyttämisen avulla (Skjervold ym., 2001). Eri jäädytyslämpötilojen vaikutusta ei rauhoitetuilla kirjolohilla tässä kokeessa havaittu, mutta rigorhuipun ajoittuminen 40-70 tuntiin lopetuksesta, viittaa viivästyneeseen rigoriin kaikkien ryhmien osalta. Samoin siialla rigorin huippu saavutettiin suhteellisen myöhään ja mitatut voimat olivat lisäksi hyvin alhaisia. On mahdollista, että varovainen mutta toistuva käsittely johti siialla rigorin purkautumiseen. Kirjoloheen verrattavaa voimakasta jäykistymistä ei sillä havaittu missään aikapisteessä.

5 Yhteenveto

Helpoin tapa toteuttaa elävän kalan jäähditys on lisätä veteen jäitä ennen teurastusta. Ainakin kirjolohella ja ahvenella liian alhainen jäähdityslämpötila aiheuttaa kuitenkin stressiä ja edellyttää siten ennusteiden luomista, jotta kala voidaan ottaa jatkokäsittelyyn heti halutun lämpötilan saavutettuaan. Korkeammassa lämpötilassa jäädyttäminen on teknisesti vaativampaa ja myös jäähditysajat tällöin pitenevät. Oikean jäähdityslämpötilan löytäminen voi olla kuitenkin keskeisessä asemassa jäähdityksen positiivisia vaikutuksia optimoitaessa kullekin kalalajille sopivaksi.

Jäähdityskokeessa selvitimme rauhoittamattoman (ahven) ja rauhoitetun (kirjolohi ja siika) kalan jäähditystä ja sen vaikutusta kalan stressiin ja laatuominaisuuksiin. Kokeiden perusteella jäähdityksen laatuun vaikuttavana mekanismina olisi lämpötilan vuorovaikutus kalan aineenvaihdunnan ja stressivasteiden kanssa.

Viitteet

- Alzola, C.F. ja Harrell, F.E., 2004. An Introduction to S and the Hmisc and Design Libraries. <http://biostat.mc.vanderbilt.edu/twiki/pub/Main/RS/sintro.pdf>
- Finstad, B., Staurnes, M., Reite, O.B., 1988. Effect of low temperature on sea-water tolerance in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 72, 319-328.
- Honikel, K. O. ja Hamm, R., 1994. Measurement of water-holding capacity and juiciness. In: *Advances in meat research* (ed. Chapman and Hall), pp. 125-159. Glasgow: Blackie Academic et Professional.
- Kiessling, A., Espe, M, Ruohonen, K. , Mørkøre, T., 2004. Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol and CO2 anaesthesia. *Aquaculture* 236, 645-657.
- Morkore, T., Hansen, A.Å., Unander, E., Einen, O., 2002. Composition, liquid leakage, and mechanical properties of farmed Rainbow trout: Variation between fillet sections and the impact of ice and frozen storage. *Journal of Food Science* 67, 1933-1938.
- Pinheiro, J.C. ja Bates, D.M., 2000. Mixed-Effects models in S and S-Plus. Springer, New York.
- Rorvik, K.-A., Skjervold, P.O., Fjaera, S.O., Steien, S.H., 2000. Distended, water-filled stomach in seawater farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), provoked experimentally by osmoregulatory stress. *Journal of Fish Diseases* 23, 15-18.
- R Development Core Team, 2004. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.r-project.org>).
- Sigholt, T., Erikson, U., Rustad, T., Johansen, S., Nordtvedt, T.S., Seland, A., 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*. 62, 898-906.
- Skjervold, P.O., Fjaera, S.O., Oestby, P.B., 1999. Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. *Aquaculture* 175, 93-101.
- Skjervold, P.O., Fjaera, S.O., Oestby, P.B., Einen, O., 2001. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 192, 265-280.
- Skjervold, P.O., Fjaera, S.O., Snipen, L., 2002. Predicting live-chilling dynamics of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 209, 185-195.
- Slinde, E., Roth, B., Torrissen, O. J., 2001. Osney Mead Oxford OX2 0EL UK [URL:<http://www.blacksci.co.uk>]: Blackwell Science Ltd.
- Stevens, E.D. ja Fry, F.E.J., 1974. Heat transfer and body temperatures in non-thermoregulatory teleosts. *Canadian Journal of Zoology* 52, 1137-1143.
- Stevens, E.D. ja Sutterlin, A.M., 1976. Heat transfer between fish and ambient water. *Journal of Experimental Biology* 65, 131-145.
- Thomas, P.C., Pankhurst, N.W., Bremner, H.A., 1999. The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 54, 1177-1196.
- Wedekind, H. ja Griese, M., 2001. Osney Mead Oxford OX2 0EL UK [URL:<http://www.blacksci.co.uk>]: Blackwell Science Ltd.

Tilastolliset mallit

Tilastollisissa malleissa käytetyt lyhenteet:

hct = veren hematokriitti
 glu = plasman glukoosipitoisuus
 whc = lihaksesta vapautuneen veden määrä painoprosentteina
 fingerF = lihaksen kiinteys mitattuna rakennetestaustilanteiston palloanturilla
 shear = lihaksen kiinteys mitattuna rakennetestaustilanteiston veitsiterällä
 punctF = lihaksen kiinteys mitattuna rakennetestaustilanteiston sylinterianturilla
 LFi/LKo = fileen/poikkileikkauksen valomäärä
 cFi/cKo = fileen/poikkileikkauksen värin intensiteetti
 hFi/hKo = fileen/poikkileikkauksen värisävy
 Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

AHVEN

Nappikoe:

`ols(formula = lämpötila ~ rcs(aika, 4) * jäähdytys)`

Jäähdytyskoe:

`lm(ph-t*time+weight) - Analysis of Variance Table`

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
t	1	0.01037	0.01037	0.6788	0.4156
time	1	0.00600	0.00600	0.3929	0.5348
weight	1	0.00970	0.00970	0.6349	0.4309
t:time	1	0.00056	0.00056	0.0370	0.8486
Residuals	35	0.53465	0.01528		

`lm(whc-t*time+prot) - Analysis of Variance Table`

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
t	1	32.454	32.454	9.0010	0.004947 **
time	1	7.149	7.149	1.9827	0.167930
prot	1	28.118	28.118	7.7984	0.008419 **
t:time	1	36.371	36.371	10.0874	0.003111 **
Residuals	35	126.196	3.606		

`lm(fingerF-t*time+weight) - Analysis of Variance Table`

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
t	1	0.14860	0.14860	2.0554	0.16054
time	1	0.04570	0.04570	0.6321	0.43195
weight	1	0.00003	0.00003	0.0004	0.98498
t:time	1	0.28930	0.28930	4.0017	0.05326 .
Residuals	35	2.53035	0.07230		

`lm(shear-t*time+weight) - Analysis of Variance Table`

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
t	1	0.006512	0.006512	17.9966	0.0001541 ***
time	1	0.034160	0.034160	94.4043	1.791e-11 ***
weight	1	0.000625	0.000625	1.7268	0.1973637
t:time	1	0.000114	0.000114	0.3149	0.5782669
Residuals	35	0.012665	0.000362		

KIRJLOHI

Nappikoe:

`fm1.kl<-ols(lämpötila~rcs(aika,4)*paino+rcs(aika,4)*jäähdytys)`

Analysis of Variance		Response: lämpötila		
Factor		F	d.f.	P
aika (Factor+Higher Order Factors)		3152.63	9	<.0001
All Interactions		516.12	6	<.0001
Nonlinear (Factor+Higher Order Factors)		740.91	6	<.0001
paino (Factor+Higher Order Factors)		389.21	4	<.0001
All Interactions		102.27	3	<.0001
jäähdytys (Factor+Higher Order Factors)		3028.15	4	<.0001
All Interactions		928.89	3	<.0001
aika * paino (Factor+Higher Order Factors)		102.27	3	<.0001

Nonlinear	145.14	2	<.0001
Nonlinear Interaction : f(A,B) vs. AB	145.14	2	<.0001
aika * jäähd. (Factor+Higher Order Factors)	928.89	3	<.0001
Nonlinear	130.71	2	<.0001
Nonlinear Interaction : f(A,B) vs. AB	130.71	2	<.0001
TOTAL NONLINEAR	740.91	6	<.0001
TOTAL INTERACTION	516.12	6	<.0001
TOTAL NONLINEAR + INTERACTION	875.86	8	<.0001
TOTAL	3518.26	11	<.0001

Error d.f.: 580

Jäähdytyskoe:

lm(hct~time, subset=time<2) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
time	1	2958.83	2958.83	106.52	1.408e-12 ***
Residuals	38	1055.50	27.78		

lm(ph-factor(t)*time, subset=time<2)- Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	0.035847	0.017923	6.9113	0.003769 **
Residuals	27	0.070020	0.002593		

lm(glu-factor(t)*time, subset=time<2) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	11.6180	5.8090	9.489	0.0007568 ***
Residuals	27	16.5290	0.6122		

lm(ph-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	0.0264	0.0132	3.7006	0.03118 *
time	1	5.6488	5.6488	1581.2311	< 2e-16 ***
factor(t):time	2	0.0152	0.0076	2.1293	0.12880
Residuals	54	0.1929	0.0036		

lm(whc-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	5.599	2.800	0.8504	0.4328766
time	1	56.653	56.653	17.2094	0.0001193 ***
factor(t):time	2	1.433	0.716	0.2176	0.8051560
Residuals	54	177.766	3.292		

lm(punctF-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	4.37	2.18	0.8814	0.4201
time	1	1470.17	1470.17	593.1579	<2e-16 ***
factor(t):time	2	2.20	1.10	0.4430	0.6444
Residuals	54	133.84	2.48		

lm(shear~factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	0.000098	0.000049	0.3302	0.7202
time	1	0.080306	0.080306	539.4106	<2e-16 ***
factor(t):time	2	0.000018	0.000009	0.0604	0.9415
Residuals	54	0.008039	0.000149		

lm(LFi-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	4.74	2.37	0.2187	0.8042
time	1	777.25	777.25	71.7927	1.713e-11 ***
factor(t):time	2	2.64	1.32	0.1221	0.8853
Residuals	54	584.62	10.83		

lm(cFi-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	25.21	12.60	1.6694	0.1979
time	1	570.18	570.18	75.5142	7.719e-12 ***
factor(t):time	2	5.81	2.91	0.3850	0.6823
Residuals	54	407.73	7.55		

lm(hFi-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	5.08	2.54	0.7041	0.4990
time	1	2886.48	2886.48	800.4169	<2e-16 ***
factor(t):time	2	11.04	5.52	1.5310	0.2256
Residuals	54	194.74	3.61		

ols(formula = rigorvoima ~ rcs(aika, 4) * rcs(lämpötila, 3) + korkeus)

Analysis of Variance Response: voima

Factor	F	d.f.	P
aika (Factor+Higher Order Factors)	17.62	9	<.0001
All Interactions	1.07	6	0.3788
Nonlinear (Factor+Higher Order Factors)	24.93	6	<.0001
lämpötila (Factor+Higher Order Factors)	1.02	8	0.4207
All Interactions	1.07	6	0.3788
Nonlinear (Factor+Higher Order Factors)	1.48	4	0.2099
korkeus	46.45	1	<.0001
aika * lämpöt Factor+Higher Order Factors)	1.07	6	0.3788
Nonlinear	1.26	5	0.2816
Nonlinear Interaction : f(A,B) vs. AB	1.26	5	0.2816
f(A,B) vs. Af(B) + Bg(A)	1.47	2	0.2332
Nonlinear Interaction in aika vs. Af(B)	1.20	4	0.3122
Nonlinear Interaction in lämpöt vs. Bg(A)	1.48	3	0.2206
TOTAL NONLINEAR	19.13	8	<.0001
TOTAL NONLINEAR + INTERACTION	17.02	9	<.0001
TOTAL	24.15	12	<.0001

Error d.f.: 197

SIIKA

Nappikoe:

ols(formula = lämpötila ~ rcs(aika, 4) * jäähdytys)

lm(formula = ph ~ factor(lämpötila) * aika + sukupuoli)

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	7.471021	0.038536	193.871	< 2e-16
factor(t)5	-0.027587	0.053738	-0.513	0.609827
factor(t)15	0.024217	0.053869	0.450	0.654866
aika	-0.477000	0.023957	-19.911	< 2e-16
koiras-sukup.	0.051958	0.014166	3.668	0.000568
factor(t)5:aika	0.006392	0.033999	0.188	0.851598
factor(t)15:aika	-0.033413	0.034146	-0.979	0.332262

Jäähdytyskoe:

lm(ph-factor(t)*time+sex) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	0.0083	0.0042	1.4479	0.2442149
time	1	3.6704	3.6704	1279.0190	< 2.2e-16 ***
sex	1	0.0415	0.0415	14.4508	0.0003733 ***
factor(t):time	2	0.0045	0.0023	0.7907	0.4587841
Residuals	53	0.1521	0.0029		

lm(whc-factor(t)*time+weight) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	2.898	1.449	0.3679	0.69395
time	1	19.415	19.415	4.9289	0.03071 *
weight	1	25.687	25.687	6.5211	0.01357 *
factor(t):time	2	13.445	6.723	1.7067	0.19129
Residuals	53	208.770	3.939		

lm(punct~factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	0.00484	0.00242	0.5180	0.5986
time	1	1.76989	1.76989	379.0189	<2e-16 ***
factor(t):time	2	0.00268	0.00134	0.2866	0.7519
Residuals	54	0.25216	0.00467		

lm(shear~factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	0.000041	0.000021	0.1459	0.8646
time	1	0.101494	0.101494	716.5121	<2e-16 ***
factor(t):time	2	0.000111	0.000055	0.3902	0.6789
Residuals	52	0.007366	0.000142		

lm(LKo-factor(t)*time+sex+fat) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	29.809	14.904	2.8805	0.0651005 .
time	1	79.834	79.834	15.4292	0.0002537 ***
sex	1	188.444	188.444	36.4199	1.696e-07 ***
fat	1	144.952	144.952	28.0144	2.452e-06 ***
factor(t):time	2	6.554	3.277	0.6333	0.5348886
Residuals	52	269.059	5.174		

lm(cKo-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	1.172	0.586	0.3716	0.6914
time	1	82.355	82.355	52.2045	1.774e-09 ***
factor(t):time	2	1.451	0.725	0.4598	0.6338
Residuals	54	85.187	1.578		

lm(hKo-factor(t)*time) - Analysis of Variance Table

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
factor(t)	2	92.2	46.1	0.1173	0.8896
time	1	16495.5	16495.5	41.9499	2.906e-08 ***
factor(t):time	2	203.4	101.7	0.2586	0.7731
Residuals	54	21233.8	393.2		

ols(formula=rigorvoima~rcs(aika, 4)*rcs(lämpötila, 3)+korkeus+sukup)

Analysis of Variance Response: voima

Factor	d.f.	F	P
aika (Factor+Higher Order Factors)	9	20.54	<.0001
All Interactions	6	3.17	0.0051
Nonlinear (Factor+Higher Order Factors)	6	27.43	<.0001
lämpötila (Factor+Higher Order Factors)	8	2.79	0.0056
All Interactions	6	3.17	0.0051
Nonlinear (Factor+Higher Order Factors)	4	3.56	0.0076
korkeus	1	72.57	<.0001
sukupuoli	1	10.60	0.0013
aika * lämpöt. (Factor+Higher Order Factors)	6	3.17	0.0051
Nonlinear	5	3.74	0.0028
Nonlinear Interaction : f(A,B) vs. AB	5	3.74	0.0028
f(A,B) vs. Af(B) + Bg(A)	2	4.69	0.0100
Nonlinear Interaction in aika vs. Af(B)	4	3.82	0.0049
Nonlinear Interaction in lämpöt. vs. Bg(A)	3	4.26	0.0059
TOTAL NONLINEAR	8	21.25	<.0001
TOTAL NONLINEAR + INTERACTION	9	18.93	<.0001
REGRESSION	13	19.18	<.0001
Error df.: 256			