

Kvalitetsavvik sildefilet

Sluttrapport

Bjørn Roth, Karsten Heia, Torstein Skåra, Izumi Sone, Sveinung Birkeland, Ronny Jakobsen, Tor Evensen og Leif Akse





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 400 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra, Averøy og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsensgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
NO-5141 Fyllingsdalen

Sunndalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Averøy:

Ekkilsøy
NO-6530 Averøy

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
Faks: 64 97 03 33
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA

Rapport

Rapport		ISBN: 978-82-8296-126-4 (trykt) ISBN: 978-82-8296-127-1 (pdf) ISSN 1890-579X
Tittel: Kvalitetsavvik sildefilet Sluttrapport		Rapportnr.: 41/2013
		Tilgjengelighet: Åpen
Forfatter(e)/Prosjektleder: Bjørn Roth, Karsten Heia, Torstein Skåra, Izumi Sone, Sveinung Birkeland, Ronny Jakobsen, Tor Evensen og Leif Akse		Dato: 1 oktober 2013
Avdeling: Prosessteknologi, Sjømatindustri, Produksjonsbiologi		Ant. sider og vedlegg: 35
Oppdragsgiver: Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond		Oppdragsgivers ref.: FHF#900518
Stikkord: Sild, kvalitet, bløthale, fangst, stress, pumpe		Prosjektnr.: 10078
Sammendrag/anbefalinger: <p>Målet med forsøket var å avdekke hvilken betydning stress, pumpetrykk og lagrings temperatur hadde på kvaliteten for Norsk vårgytende sild. For å avklare ulike nivåer av stress ble blod, muskel pH og rigor mortis analysert. Etter levering til landanlegg ble andel av pumpeskader evaluert og filet kvalitet målt ved ulike kvalitetsscore i tillegg til tekstur og farge. Nedbrytning av muskelproteiner ble også evaluert. Resultatene viser at til tross for å være en pelagisk art med mye rød muskulatur, viser sild å ha evne å opprettholde til en viss grad aerob forbrenning under trengings situasjon. Riktignok vil silda over tid slite seg ut, men det går langsommere enn hva en kan forvente, 10–30 minutt trengetid for et mindre kast synes å ha mindre effekt med hensyn til tømning av energilagrene. Dette hadde ingen nevneverdig effekt på kvaliteten. Dette kan sees i sammenheng med pumpetrykk da et økt trykk og inntakshastighet vil kunne skade fisken fysisk og medføre økt svinn. Imidlertid er skadene av mer ytre karakter, hvor det økte trykket med biomasse ikke ser ut å skade selve filetkvaliteten. Bløthale er nedbrytning av bindevev som er et sammensatt problem og relateres til sted, tid og temperatur. I dette delforsøket var det ingenting i fangstøyeblikket som skulle tilsi at hovedårsaken til problemet ligger her, hverken med tanke på stress, pumpe, temperatur, lagring, fyllingsgrad eller været. Imidlertid viser forsøket at gaping i sild i likhet med andre næringer er et reelt problem. Ettersom graden av nedbrytning av bindevevsstrukturen alltid vil være en del av den naturlige variasjonen, finnes det en rekke tiltak som kan begrense skadeomfanget. Det gjelder ofte å korte ned på tid mellom fangst og prosessleddet, samt skånsom behandling av fisken frem til prosessering.</p>		
English summary/recommendation: <p>The influence of stress, pumping and storage temperature on the quality of Atlantic herring (<i>Clupea harengus</i>) was investigated. Results show that herring as a pelagic specie were able to maintain an aerobic metabolism during crowding and pumping, but became exhausted after 30 min. This had minor effect on quality measured by colour, gaping and texture softness. The pump pressure was however important, where the proportion of injured fish correlated with the pressure. Softness and gaping increased with storage temperature. Soft texture and gaping in the tail region was a result of breakdown of muscle proteins and connective tissue, related to seasonal effects. In periods with soft texture the time between harvest and processing is vital.</p>		

Innhold

1	Bakgrunn	1
2	Material og metode	4
2.1	Trenging/snurping	4
2.2	Pumpetrykk	4
2.3	Stress og temperatur.....	4
2.4	Blodparametere.....	5
2.5	Muskel-pH og rigor mortis.....	6
2.6	Kvalitetsavvik - ytre faktorer	6
2.7	Kvalitetsavvik- Indre faktorer	6
3	Resultater	12
3.1	Trengning/snurping	12
3.2	Pumpetrykk	14
3.3	Stress og Temperatur	20
4	Diskusjon	25
5	Konklusjon	28
6	Referanseliste	29

1 Bakgrunn

Størrelsen på dagens sildefangster setter svært høye krav til produksjons- og innfrysingskapasitet, og begrenser mulighetene for optimal produkt-differensiering. Kvaliteten på landet råstoff varierer. Ofte består det av fangster fra flere kast, og det vil dermed ha ulik alder og lagringshistorie. Det er dessverre ingen prisdifferensiering på ferskhets og kvalitet. Bedriftene har små muligheter til å bruke kvalitetskriterier ved kjøp, men må ta det de får og er ofte henvist til å ta raske beslutninger med hensyn til hvilket råstoff som velges til ulike produkter (hel, flaps, filet). Industrien erkjenner at cirka 20 % av filetproduktene er preget av ett eller flere kvalitetsproblemer. De viktigste er:

- Bløtt haleparti karakteriseres ved at filetoverflaten, som i utgangspunktet er en glatt snittflate, framtrer som oppløst. Dette er mest framtrædende på filetenes bakre tredjedel, og problemet anses å ha økt de senere år.
- Filetspalting (Gaping) er et velkjent problem for de fleste fiskeslag. I sild viser det seg oftest som langsgående spalter i filetene.
- Blodflekker kan være synlige på filetenes overflate, eller de kan opptre inne i filetene og medføre betydelige problemer dersom filetene videreføres til sildedelikatesser i klare marinader.

Sildenæringen opplever at en del av produktene som mottas av kundene ikke holder den kvaliteten man kunne forvente ut fra vurderingen av produsert råstoff. Dette har økt i omfang de senere år. Man har indikasjoner på at problemene i stor grad oppstår under håndtering av fisken i fangstredskapene og om bord på fartøyene. Men også biologisk variasjon i råstoffet og/eller operasjoner i prosess-/distribusjonskjeden kan ha en effekt.

Det er gjennomført flere prosjekter med fokus på kvalitetsforbedring langs hele verdikjeden i pelagisk sektor, fra fangst til distribusjon av ferdige produkter i markedet. Prosjektet "Pelagisk kvalitet – fra hav til fat" (2002–2006), tok opp flere problemstillinger som er relevante utgangspunkt for videre tiltak som kan forbedre håndteringen av pelagisk råstoff om bord på not- og trålfartøy, for eksempel:

- Effekt av fangstmetoder/forhold mellom redskap og kvalitet
- Prøvetaking av råstoff(kvalitet) før/under fangst
- Utstyr og rutiner i fangsthåndtering om bord
- Skånsom pumping ved lossing av pelagisk fisk
- Årsaker til buksprenging i sild
- Transport av pelagisk fisk

Uansett redskapstype skjer det vesentlige av stressrelatert kvalitetsreduksjon (eks. bløt fisk, filetspalting, høy dødelighet) som følge av fangstfasen. Stressrelatert kvalitetsreduksjon har stor betydning for kjøpers kvalitet- og prisvurdering. Trål er imidlertid en tøffere fangstprosess for pelagisk fisk enn not, og gir en høyere andel død og utmattet fisk som går hurtig i rigor.

Kvalitetsreduksjon i form av skader/merker i skinn og finner, bloduttredelser og klemskader kan relateres til hurtig tørking og pumping og dessuten en logistikk-kjede ombord som ikke er tilpasset skånsom behandling av fisk. Forhold ved pumping fra båt til landanlegg, for eksempel start/stopp av vakuumpumper fører til klemskader og kapping av fisk. "Uforutsette hendelser" som utstyr som svikter i kritiske faser, har også mye å si for kvalitetsproblemene.

Prosjektet "Pelagisk kvalitet fra hav til fat" fokuserte mellom annet på selve fangstoperasjonen, og utvikling/forbedring av trål for pelagisk fisk. Det ble utført et betydelig arbeid med teknisk forbedring av vakuumpumper for lossing av fangst og noen forsøk med utstyr/rutiner i trenging/pumping av fangst fra nota og håndtering om bord.

Prosjektet "Kvalitet i den pelagiske kjeden – verdioptimering gjennom økt kompetanse" (2007–2009), hadde som mål å sikre optimal kvalitet på pelagisk råstoff fra hav til marked gjennom utvikling av objektive målemetoder. Disse utgjør et nyttig grunnlag for det videre arbeidet med håndtering av pelagisk råstoff:

- Teknologi for fettmåling i pelagisk fisk ombord på fartøy og på landanlegg.
- Brukervennlig, objektiv metode for å identifisere åtetyper og proteinnedbrytende enzymatisk aktivitet for kvalitetsvurdering av pelagisk fisk.
- Dokumentasjon for generell hygiene og betydningen av *Listeria monocytogenes* i norsk pelagisk verdikjede.
- Anbefalinger om tiltak som sikrer høy hygienestandard i norsk pelagisk næring.

Selv om det er grunn til å anta at de fleste av årsakssammenhengene mellom operasjoner i fangsthåndteringen og ulike kvalitetsfeil fortsatt er gyldige, så ligger datainnsamlingen i prosjektet "Pelagisk kvalitet fra hav til fat" et stykke tilbake i tid (2003–2005). Nye prosjekter må ta utgangspunkt i det som er dokumentert i de tidligere prosjektene, men prosjektet kvalitetsavvik sildefilet vil i større grad prøve å finne årsakssammenhenger til kvalitetsavvik langs hele fangst og produksjonskjeden som kan forklare hvorfor næringen til tider opplever en økt gaping og bløt fisk.

Foruten endring av råstoffkvalitet som et resultat av sesong og åteforhold er det en rekke kjente flaskehalser i verdikjeden frem til prosessering som kan påvirke kvaliteten til sild. Dette er:

- Fangstøyeblippet: Hvor trengning/snurping kan påvirke fisken fysisk rent direkte og indirekte gjennom stress over tid.
- Pumping: Som under fangst kan påvirke direkte fysisk gjennom hastighet på skovler kombinert med diameter på rør. Også indirekte ved at inntakskapasiteten er bestemmende på hvor lenge fisken ligger i not.
- Håndtering/Lagring: Kjølelagring om bord (temperatur, forhold fisk/sjøvann i tankene, separering/blanding av ulike kast/hal, osv.). Lossing (reduksjon av vannivå i tankene, pumping med vakuum og sil på land). Innveiling og registrering av fangstmengde/-kvalitet.

Ettersom tekniske trinn som pumping og prosessering i utgangspunktet er en standardisert prosess, vil endringer som medfører kvalitetsavvik i større omfang som oftest ha bakgrunn i forutgående prosesser, hvor summen av alle ledd medfører et kvalitetsavvik. Prosjektet har da som resultatmål å:

1. Dokumentere sammenhenger mellom fangst, ombordhåndtering og prosessering og forekomst av kvalitetsavvik på sildefilet.
2. Skaffe oversikt over produsenters og ulike markeders krav og kvalitetsgradering av produkter.
3. Bruke instrumentelle metoder, basert i første rekke på digitalfoto/bildebehandling, samt spektroskopi, for å kvantifisere fargeegenskaper, forekomst av blod (flekker), gaping og oppløst muskel.

Leveranser

1. En oversikt over ulike kvalitetsfeil og kobling til fangst, ombordbehandling og prosessering.
2. Systematisk oppsett av produsenters og ulike markedsoppfatninger av kvalitetsfeil, og gradering av disse.
3. Instrumentelle metoder til bruk i forskning og kvalitetsarbeid, hvor kvalitetsfeil kan kvantifiseres under kontrollerte betingelser.

Prosjektgruppen har derfor hatt som hovedmål å finne årsakssammenhenger mellom silda's fysiologiske respons ovenfor stress i not, effekten av pumpetrykk og lagringsforhold mot kvalitetsavvik som bløthale og gaping. For å nå målet ble det gjennomført tre tokt hvor effekten av dette har blitt undersøkt gjennom bearbeiding/filetering, med sensoriske, biokjemiske analysemetoder, foto og spektroskopi.

2 Material og metode

Gjennom tre tokt i februar, oktober og november 2011, ble NVG-sild fanget med MS Birkeland fra henholdsvis Mørkekysten (februar) og Tromsøflaket (oktober og november).

2.1 Trenging/snurping

Den 02.02.2011 ble 3 grupper på cirka 200 tonn NVG-sild fanget langs Mørkekysten. Målet med forsøket var å kunne avklare betydningen av snurpetid på fysiologien av sild og videre effekt på kvalitet. For å sikre et 0-punkt ble fisk straks de var snurpet tett nok langs båten, tatt opp av sjøen med en hov og slått i hjel, blodet og prøver ble umiddelbart analysert. Deretter ble fisk hentet opp og analysert fortløpende med 5 minutters intervaller. Hele pumpeprosessen varte 15–30 min, som ga et totalt antall på 16 fisk. Muskel-pH og rigor mortis ble målt på enkeltfisk med 3 timers intervaller de neste 24 timene.

I tillegg ble 1 gruppe på cirka 100 fisk, umiddelbart ved starten og slutten plassert i nett-poser og hengt ned i RSW-anlegget for kjøling. Når båten la til kai neste dag ble denne fisken lagt i kasser med is og sendt med fly til Nofima A/S Stavanger for videre kvalitetsanalyser. Kvalitetsanalysene hadde fokus på å avklare forskjeller mellom stress, prosessering og frys, hvor 100 fisk fra henholdsvis begynnelsen og slutten av kastet, ble håndfiletert. Høyre-filet ble brukt til å måle farge og tekstur, mens venstre-filet ble vakumpakket med saltvann og fryselaagret ved -40 °C i 2 måneder før tining og påfølgende farge- og teksturmåling.

2.2 Pumpetrykk

Den 29.11.2011 ble 2 grupper av sild fanget på Tromsøflaket. Fisken ble pumpet om bord med en 24' Karm-sildepumpe, med henholdsvis 80, 120 og 180 bars trykk. Om lag 50 tonn fisk ble fordelt på tre 60–70 m³ tanker, med et bestemt pumpetrykk i hver tank.

Tre dager etter fangst ble fisken levert på Norway Pelagic avd. Liavåg, den 02.12.2011. På mottaksanlegget ble hver tank fulgt opp gjennom hele prosessanlegget. Her ble andel av utsortert fisk notert. Sortert fisk ble enten fryst hel eller videre prosessert som butterflyflaps, vakuum pakket og fryst, og sendt til Nofima for videre analyser.

2.3 Stress og temperatur

Den 18–19 november 2011, på Tromsøflaket, ble det gjennomført et tokt med MS Birkeland på NVG sild som viste seg å inneha bløthale-problematikken. Fangsten bestod av 3 kast på cirka 300–400 tonn i hvert kast, med cirka 6 timers mellomrom. Fangsten ble delt inn i 2 hovedgrupper:

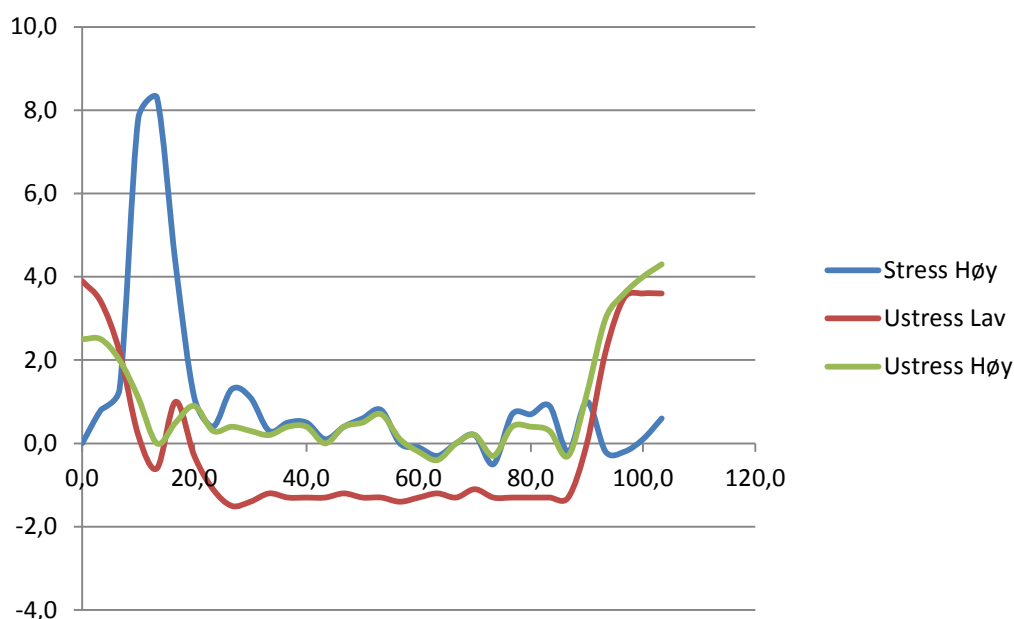
- **Ustress** som var den fisken som ble pumpet i begynnelsen av kastet
- **Stress** som var siste del av kastet, cirka 45 minutter etter start av pumpen

Gruppe A, som består av samme fisk fra samme kast, ble deretter fordelt i to 60–70 m³ tanker (cirka 900 kg/m³), med ulik lagringstemperatur:

1. **Lav** omtalt som minus hvor RSW temperaturen ble hold ned mot -1,4 °C

2. **Høy** omtalt som pluss hvor RSW temperaturen ble holdt mellom 0 til 1°C

Gruppe B ble hentet fra siste kast 18 timer senere og lagret i en RSW-tank med høy temperatur.



Figur 1 Temperaturlogg på lagring av sild om bord MS Birkeland

Ettersom RSW-anlegget om bord i båten var innstilt på -1,4 °C ble temperaturgruppen **Høy** regulert ved å flushe tanken med sjøvann med jevne mellomrom (Figur 1).

Under fangst ble fiskens fysiologiske tilstand målt gjennom blodprøver og pH. Mixed blod ble målt med 2 stk I-stat portable analyzers (Abbot Inc, USA). Blodparametere målt var blod pH, pCO₂, pO₂, Natrium (Na⁺), Kalium (K⁺), Kalsium (iCa⁺), hemotokritt (Hct), Glucose og laktat. I motsetning til 2.1 *Trenging/snurping*, som konsentrerte seg om målinger mot en kontroll i not, ble blod tatt etter pumping over de første 15 minuttene av kastet og sammenlignet mot "stress"-gruppen som ble holdt sammentrengt i 45 minutter.

Muskel-pH ble målt i alle 3 gruppene av fisk fra Not, etter pumping etter 1,5 døgn og 3,5 døgn lagring. Muskel-pH ble målt i dorsal muskel hos sild ved å bruke en stikkelektrode (Mettler Toledo) kalibrert for pH 4, 7 og 10.

Fisken ble levert på Norway Pelagic avd. Austevoll; Gruppe A av ustresset fisk den 22.11. Gruppe B ble levert cirka 18 timer senere. På landanlegget ble fisken prosessert både som singelfilet og som flaps. Disse ble vakuumpakket og fryst før forsendelse til Nofima for videre analyser.

2.4 Blodparametere

For å måle fysiologisk stress ble blod tatt fra hver fisk og analysert med 2 stk I-stat portable analyzers (Abbot Inc, USA). Blodparametere som ble målt var pH, pCO₂, pO₂, Natrium (Na⁺), Kalium (K⁺), Kalsium (iCa⁺), hemotokritt (Hct), Glucose og laktat.

2.5 Muskel-pH og rigor mortis

Muskel pH ble målt i dorsal muskel hos sild ved å bruke en stikkelektrode (Mettler Toledo) kalibrert for pH 4, 7 og 10. Rigor ble målt ved å måle rigor indeks basert på vinkel, hvor halve fiskelengden ble plassert utenfor en bordkant og vinkel fra 0–90 grader ble notert.

2.6 Kvalitetsavvik - ytre faktorer

For å avklare pumpeskader av usortert fisk, ble fisk fra de ulike pumpetrykkene sortert i henhold til ytre skader. Dette gjelder skader på skinn, finner og ikke minst blodfylte hoder. Totalt ble 629 stor og småsild sortert etter blodmengde på hodet, i henhold til skala vist i Figur 2.



Figur 2 Sortering av sild på en skala fra 1 til 3 basert på blodfylt hode.

2.7 Kvalitetsavvik- Indre faktorer

Pumpe

For å avklare effekten av pumpetrykk på muskelkvalitet ble det gjennomført en rekke undersøkelser på filet. Skader som forventes er blodsprenget fiskekjøtt med påfølgende større rødhet. Slag mot muskel som kan gi opphav til bløt tekstur og cellesprengning som frigjør proteolytiske enzymer. En valgte derfor å sammenligne ekstremgruppene, 80 og 160 bars trykk, gjennom fargemålinger, spektroskopi, teksturmålinger og endringer i proteindenaturering ved hjelp av Differential scanning calorimetry (DSC).

Stress og temperatur

For å kvantifisere kvalitetsavvik ble et stort materiale av fisk, totalt 2.994 fileter vurdert på jevn basis over ett år. Prosedyren bestod i at kasser med fileten ble ukentlig tatt ut av -40 °C fryser og plassert i 0 °C vann i 2 dager før forsøk.

En fast stab på tre teknikere ble brukt for å vurdere filetene. For at en skulle oppnå mest mulig objektiv vurdering av materialet ble alle grupper kodet.

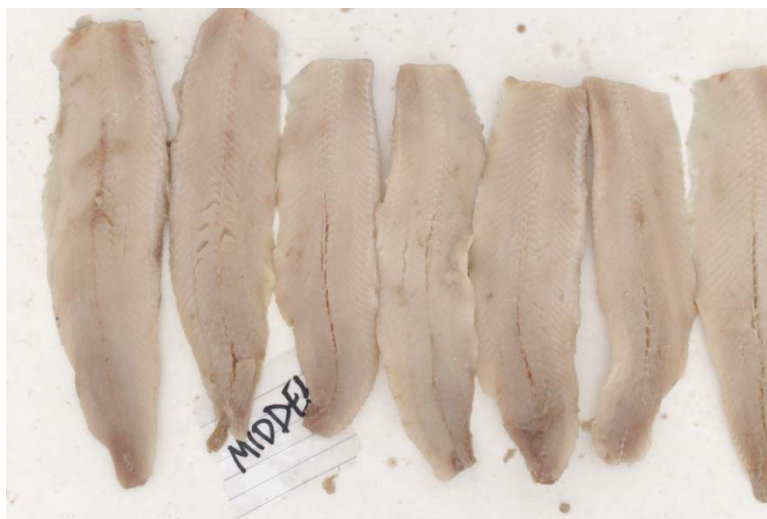
Filetene ble vurdert for følgende parametere:

- Blod i en skala fra 0–2 0 (ikke blod) – 2 (mye blod)
- Gaping i en skala fra 0–5 0 (ingen gaping) – 5 (mye gaping)
- Halegele i en skala 0–5` ...
- Halegaping i en skala 0–5 ...

Ut fra summen av subjektive inntrykk, ble det gitt en kvalitetsscore fra 1 til 3; God, Middels eller Dårlig (Figur 3 abc).



Figur 3a) Kvalitetsscore 1: God



Figur 3b) Kvalitetsscore 2: Middels



Figur 3c) Kvalitetsscore 3: Dårlig

Filetene inndelt som kategori Stress/Ustress og Høy/Lav temperatur, samt inndeling etter bløthale og Kvalitetsscore 1–3 ble analysert gjennom bildebehandling, tekstur og DSC.

Farge CIE L*a*b*

Fargen til sildefilet ble målt som CIE L*a*b* fotometrisk med DigiEye (VeriVide Ltd., Leicester, UK). Hver filet ble plassert i en lysboks (standard uniform 64 K dagslys) og fotografert (Nikon D80, Nikkor objektiv). Fargen ble både målt over hel filet og loin, inklusiv hale. I 2.1 ble fargen målt på 196 filet, i 2.2 ble 183 og i 2.3 156.

Spektrofotometrisk måling av hemoglobin i fiskemuskel

En metode som er rask, enkel og relativt sikker er Hornsey's hem-jern metode (Hornsey, 1956), beskrevet av Carpenter og Clark (1995). Metoden går ut på å omdanne hemoglobinet til et stabilt fargepigment ved hjelp av kjemikalier (Aceton og saltsyre). Hemgruppen i hemoglobinet blir omdannet til surt hematin (Fe^{2+} til Fe^{3+}), som gir et stabilt fargepigment. Et fargepigment har sitt spesielle område hvor lys absorberes og hemjernmetoden måler vannløselige hematinkomponenter ved 512 og 640 nm.

Framgangsmåte:

- Tre paralleller på 5.0 gram muskel veies inn i 50 ml sentrifugerør (En prøve med 4,5 ml destillert vann brukes som blankprøve)
- Vannmengde i 5 gram beregnes i muskel og mer vann tilsettes til hver prøve, slik at den totale vannmengde blir 4,5 ml (vann i muskel + tilsatt vann = 4,5 ml)
- Deretter tilsettes 20,5 ml surt aceton til hver prøve
- Blandingen homogeniseres og settes i kjøleskap i en time for å sikre at hemoglobinet skal omdannes til surt hematin
- Blandingen filtreres gjennom en Whatman filterpapir (No 1)
- Etter filtrering avleses absorpsjonen til supernatanten ved 640 nm eller 512 nm. NB! Ved måling på fet fisk kan fett påvirke målingene, ved at det skapes blakking av filtratet. Hvis så skjer, må prøven filtreres på nytt
- Hemoglobinnmengden i muskelprøven beregnes ved hjelp av standardkurven

Avbildende spektroskopi

Instrumenteringen består av en transportbåndmodul fra Baader, et avbildende spektrometer fra Norsk Elektro Optikk og en spesialtillaget lyskilde. Transportbandet går med en hastighet på 40 cm/s og det avbildende spektrometeret avbilder en stripe på tvers av transportbandet 400 ganger i sekundet. Slike etterfølgende striper settes sammen i datamaskinen til et hyperspektralt bilde. Bildet har en romlig oppløsning på 0.5 mm x 1.0 mm, der hvert piksel kan representeres med et spekter som beskriver energifordeling til lyset med 10 nm oppløsning i området 400–1000 nm. Måleoppsettet refereres til som interaktans der to lyslinjer projiseres ned på prøven, en på hver side av stripen som måles. Ved å projisere lyslinjene ned på prøven i en avstand fra målestripen unngås det at refleksjoner fra overflaten blir målt. Alt lyset som registreres fra stripen som avbildes har beveget seg inne i fisken mellom belysningsstripene og målestripen. Dette illustreres i Figur 4, som viser en laksefilet plassert inne i maskinen slik at begge lysstripene er synlige på fileten. Årsaken til at fileten lyser opp rundt de kraftige lysstripene er lys som har vært inne i fileten og kommer ut igjen.



Figur 4 Laksefilet med projiserte lyslinjer som viser interaktansoppsettet. Spektrografen registrerer hvor mye lys som kommer ut av fileten midt mellom lysstripene.

På denne måten får vi en måling av innsiden av fileten, ikke bare overflaten, og målemetoden kan brukes på fileter både med og uten skinn.

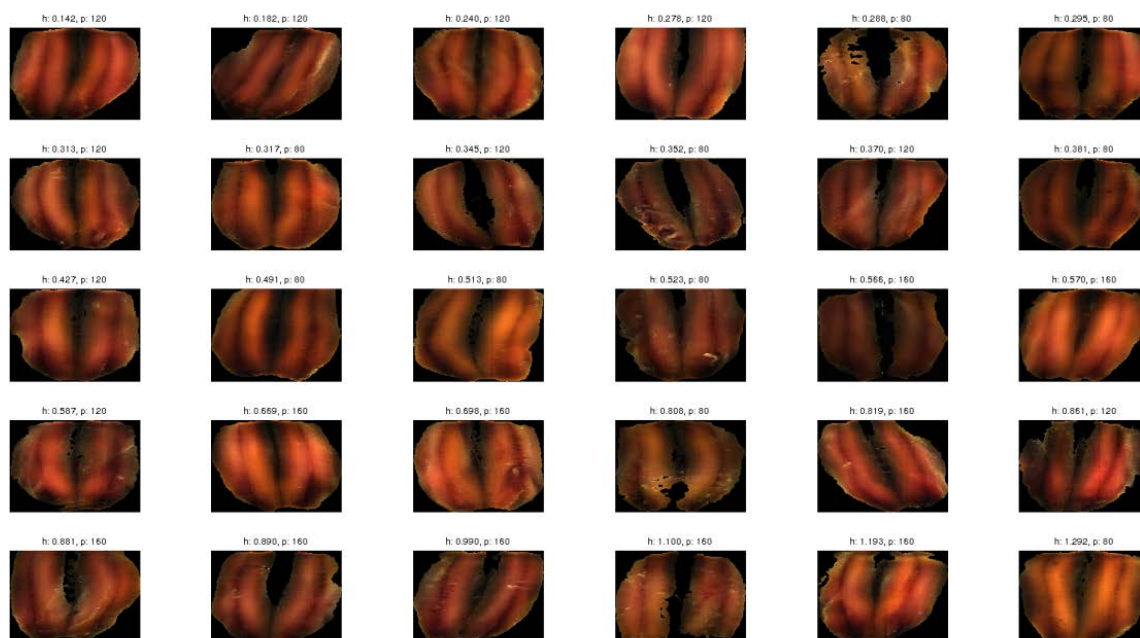
Dataanalyse

I alt 128 sildefileter ble avbildet spektroskopisk. Av de 128 filetene ble 30 analysert for hemoglobinninnhold ved hjelp av Hornsey's hemjernmetode. For å evaluere hvorvidt spektroskopi kan brukes for å måle hemoglobinnholdet i sildefiletene ser vi etter sammenhenger mellom de to metodene. Dette er ikke enkelt, og for å gi et overblikk over datasettet er det i Figur 5 vist rgb-bilder av de 30 filetene hvor hemoglobinninnholdet ble målt, sortert fra minst til mest hemoglobin. I øvre venstre hjørne vises den fileten med minst målt hemoglobinninnhold, mens den med høyest målt hemoglobin er vist i nedre høyre hjørne.

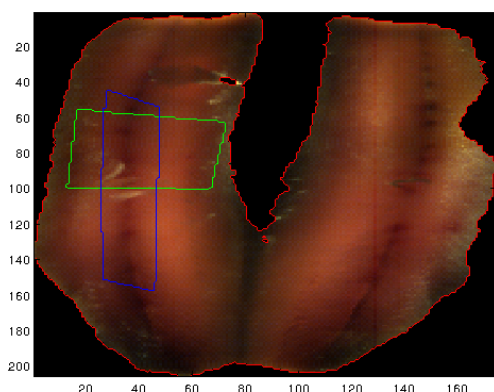
For å kunne sammenligne de to teknikkene trekkes det ut "egenskapsvektorer" fra de målte bildene. Dette er forsøkt gjort i forskjellige områder på fisken. Da det var en del av venstrefileten som ble brukt til Hornsey's analyse har vi ekstrahert eigenskapsvektorer til videre prediksjon fra samme fileten. Figur 6 viser 3 ulike typer masker som er forsøkt brukt.

Umiddelbart er det vanskelig å se en sammenheng mellom rgb-bildene og de målte hemoglobinverdiene, hvilket også er indikert i Figur 7, hvor middelspektre fra alle 30 sildefileter er

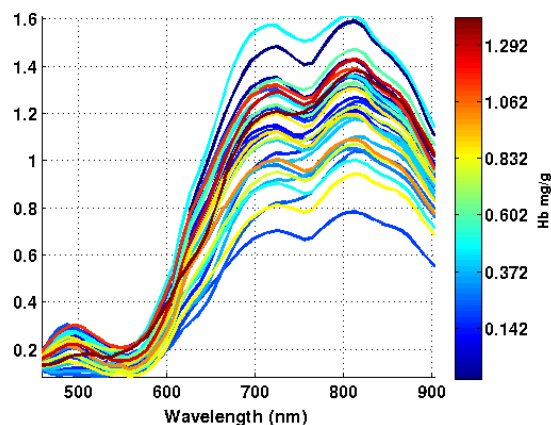
vist og farget etter hemoglobinnhold. En årsak kan være at tykkelsen på sildefiletene har for stor innflytelse på målingene og dermed ødelegger signal- til støyforholdet. Vi har forsøkt å kompensere for denne tykkelsesvariasjon ved å forprosessere bildene. Metodene som er forsøkt brukt til forprosessering er standard normal variate (SNV) og Savitzky Golay's glatting og derivasjon, samt enkel middelverdisentrering.



Figur 5 rgb-representasjon av de 30 filetene med målt hemoglobinnhold.



Figur 6 Masker som er forsøkt brukt til å generere egenskapsvektorer til prediksjonsalgoritmene



Figur 7 Middelspektrum fra hver av de 30 sildefiletene (det er midlet over begge filetene)

Forprosesseringsmetodene ble evaluert ved å lage scoreplots og å bruke forprosesserte spektre i prediksjonsmodellene, men ingen av de undersøkte metodene forbedret ytelsen. Av de egenskapsvektorene vi har forsøkt å bruke har vi ikke funnet noen som er markant bedre enn enkle middelverdier trukket ut fra den grønne konturen i Figur 67.

Tekstur

Tekstur ble målt som hardhet ved 60 % kompresjon, med et teksturmålingsinstrument (TA-XT2® -pro Texture Analyzer, Stable Micro Systems, U.K.) utstyrt med en 10 kg vektcelle, og probe (flat sylinder (Φ 12 mm, med skarp kant). Inntrengingsdybden var satt til 80 % og proben hadde en fart på 1 mm/s. For 2.1 og 2.2 ble tekstur-profilen analysert på to steder, dorsalt langs ryggmuskulaturen. Teksturanalyser ble utført på 122 fileter, tilsvarende 244 målepunkter. For 2.3 ble tekstur målt på 135, fileter tilsvarende 270 målepunkter for rygg og en måling for hale. I 2.3 ble tekturen målt etter kvalitetsscore.

Differential Scanning Calorimeter (DSC)

For 2.2 ble protein denaturering ble målt ved DSC termografene på begge pumpetrykk (80 og 160 bar) i tillegg til de 2 uttakspunktene (øvre del og hale) i sildefilet. For 2.3 ble DSC termografene ble brukt til å sammenligne mellom 3 kvalitetsscore (1, 2, og 3), filet med bløt og normal tekstur i tillegg til de 2 uttakspunktene (øvre del og hale) i sildefilet.

Analysene ble gjennomført ved at muskelprøver (cirka 60 mg) fra myotomene foran på rygg og i hale ble plassert i aluminiumspanner (40 µl) og forseglet. En referansepanne ble fylt med sterilt vann tilsvarende vanninnhold i en sildprøve. Analysen ble utført på DSC1 (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland) med en oppvarmingshastighet på 5 °C/min i området 2 °C -110 °C. Alle kjøringene ble stabilisert ved 2 °C i 1 minutt. Temperaturen observert ved tre toppunkter ble ansett som denatureringspunktet for myosin, sarkoplasmaprotein og aktin, forholdsvis (1) og denatureringsentalpien (ΔH) ble definert som arealet under entalpitoppen avgrenset av en spline baselinje. Entalpitoppene ble integrert ved hjelp av programvaren StarE versjon 9.10 (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland).

Det ble registrert tre topper med DSC som kan tilskrives denatureringspunkt for henholdsvis myosin, sarkoplasma protein og aktin (1) (Figur 5). Myosin og aktin utgjør sammen den største andelen (65 %) av det muskel proteinene og har stor betydning for kvalitetsegenskaper som tekstur. Analyse ble derfor utført kun for denatureringstopper for myosin og aktin i denne rapporten.

Statistikk

For å teste binomisk tallmateriale ble z-test brukt. Likeledes når $n \rightarrow \infty$ vil parametrisk tallmateriale bli normalfordelt slik at ANOVA ble brukt for å teste forskjeller mellom ikke kontinuerlige variabler som gaping, blod og kvalitetsscore. For å teste kontinuerlig mot uavhengige variable ble t-test nyttet for 2 variabler og ANOVA for 3 eller flere variabler. For faktorielle datasett ble Factorial ANOVA nyttet og ANCOVA ble brukt for å teste teksturhardhet, hvor filettykkelse ble lagt inn som en kovariat. Lineær regresjon ble brukt for å teste trender over tid, mens korrelasjonsanalyser ble brukt for å påvise sammenhenger.

3 Resultater

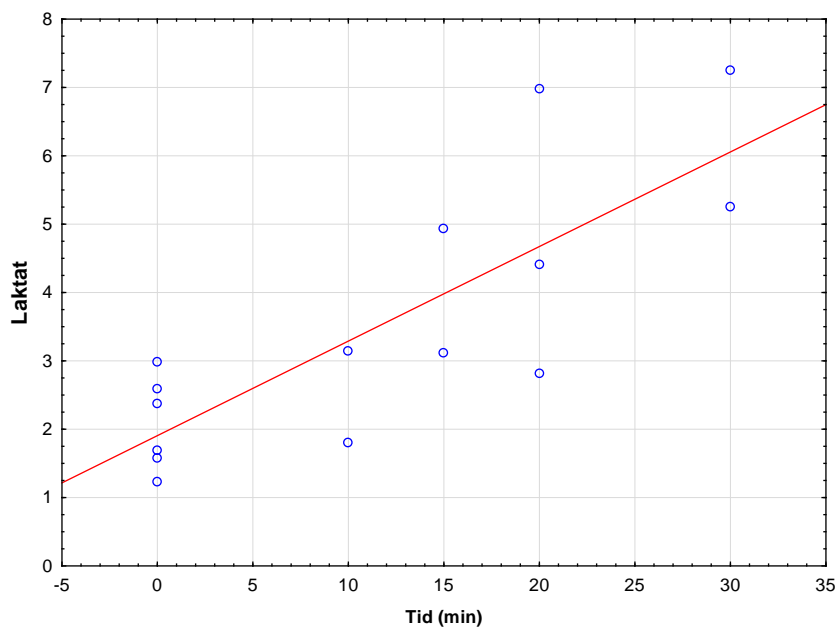
3.1 Trengning/snurping

Som vist i Tabell 1 var det var ingen signifikante forandringer i blodparameteren på sild over tid ($P > 0.05$ lineær regresjon). Resultatene synes å reflektere sild som en pelagisk art med stort aktivitetsnivå og evne til å holde en aerob forbrenning uten at de sekundære stresseffekter synes over et kort tidsrom. Dette kan illustreres ved at pO₂ er høyere ved starttidspunktet og det er tendenser til at de seneste gruppene har tendenser til økte kalium- og kalsiumnivåer i blod.

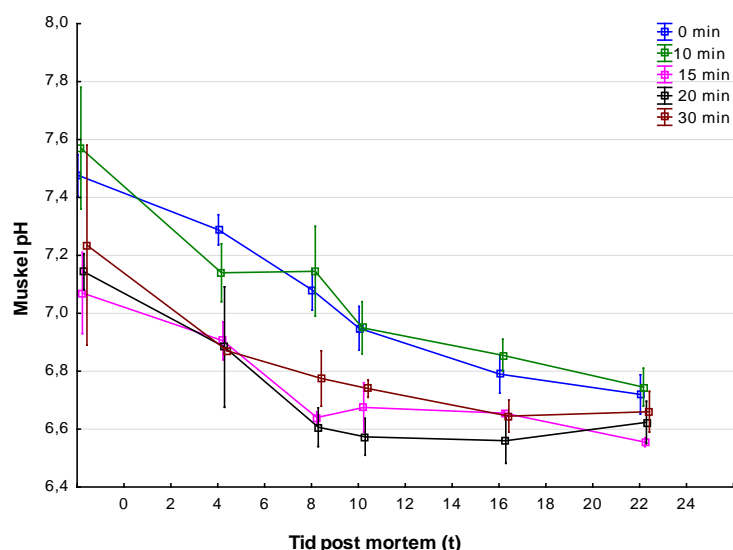
Tabell 1 Blodparemetere på sild snurpet 0–30 minutter

tid	Na ⁺ (mmol/ml)		K ⁺ (mmol/ml)		Ca ²⁺ (mmol/ml)		Glukose (mmol/ml)		Hct (%)		pO ₂ (mmHg)		n
	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	
0	175,0	1,34	4,3	0,41	1,63	0,069	5,5	0,21	36,5	2,08	31	5,1	6
10	170,0	4,00	4,0	0,15	1,70	0,070	5,7	0,15	34,5	0,50	14	5,0	2
15	173,0	3,00	4,0	0,55	1,63	0,060	5,7	0,25	34,0	1,00	19	9,9	2
20	170,3	3,48	4,9	0,57	1,65	0,035	5,6	0,41	35,3	1,20	18	2,0	3
30	176,5	4,50	4,9	-	1,80	0,070	5,7	0,05	31,0	-	24	1,9	2

Imidlertid observerer en over tid en akkumulering av melkesyre i blod (Figur 8) som også gjenspeiles ved lavere pH i muskel (Figur 9) ($P < 0.005$, lineær regresjon).

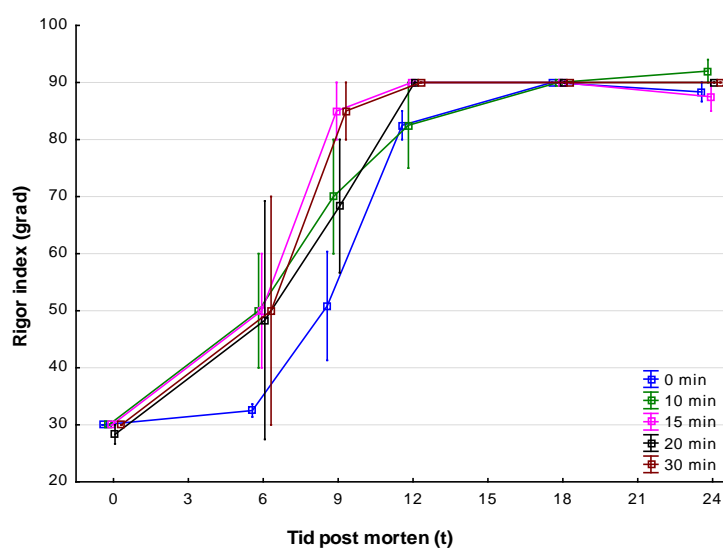


Figur 8 Laktat mmol/ml i blod hos sild målt 0–30 minutter etter snurping



Figur 9 Muskel-pH hos sild over 24 timer etter død fra sild avlivet 0–30 minutter etter snurping

I likhet med pH, viser utviklingen av *rigor mortis* at 30 minutters snurpe-tid har en mindre betydning. Som vist i Figur 10 hadde kontrollfisk en signifikant lavere rigor indeks de første 9 timer ($P < 0.05$, ANOVA) med maks rigorindeks på 12 timer. En økning av trengetid reduserte dette til 9 timer. I likhet med andre studier på oppdrettsfisk, viser tidligere studier på sild pre-rigor tider ned mot 4 t. Dette indikerer at silda i dette forsøket hadde relativt intakte energireserver ved dødsøyeblikket.



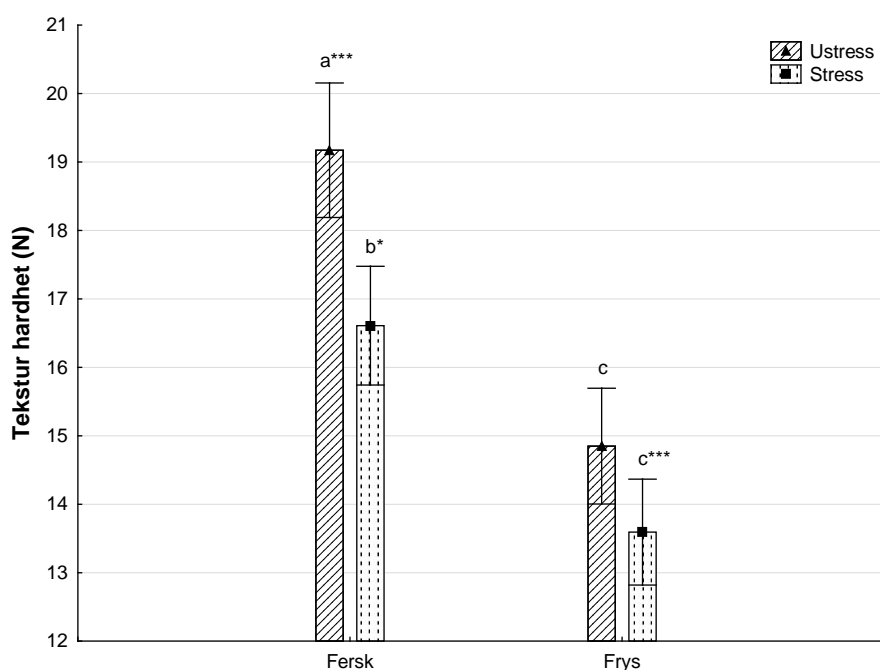
Figur 10 Rigor index (grad) over 24 timer på sild snurpet i 0–30 minutter

Frysing i lake endret fargen betraktelig ved at fileten ble lysere ($P < 0.05$, Factorial ANOVA), hvor stresset fisk hadde en signifikant høyere rødfarge (a^*) og mindre gulfarge (b^*) enn ustresset fishk (Tabell 2)

Tabell 2 Filetfarge CIE Lab målt fra stresset og ustresset fisk før og etter frysing

	Fersk				Etter frys			
	Stress (n=96)		Ustress (n=100)		Stress (n=100)		Ustress (n=100)	
L*	53,2 ^a	6,3	53,3 ^a	5,6	62,2 ^b	7,2	61,2 ^b	6,3
a*	14,3 ^a	3,6	14,3 ^a	3,2	13,2 ^b	2,4	11,3 ^c	1,4
b*	9,6 ^a	2,9	10,5 ^a	2,7	12,9 ^b	2,9	14,8 ^c	2,9

Resultatene fra teksturmålingene viste tilsvarende tendenser (Figur 11); Fersk sild var hardere enn frosset, og Ustresset hardere enn stresset.



Figur 11 Hardhet i fileter fra stresset og ustresset fisk før og etter frysing

3.2 Pumpetrykk

Andelen av utsortert fisk på tilvirkeranlegg økte i takt med økende pumpetrykk (80, 120 og 160 bar) til henholdsvis 4,8 til 12 % (Tabell 1). Den utsorterte fisken hadde i all hovedsak omfattende fysiske skader etter møte med skovlene.

Tabell 3 Prosent skadet fisk utsortert ved tilvirkeranlegget av fisk pumpet på ulike trykk.

	Pumpetrykk (bar)	Mengde (Mt)	Kast nr	Størrelse kast (Mt)	Snittvekt (g)	Skadet fisk (%)
Tank 4.2	80	50	1	350 t	330	4
Tank 4.3	120	50	1	350 t	330	8
Tank 3.3	160	50	2	1250 t	358	12

Imidlertid for fisken som slapp gjennom første sortering viser resultatene at pumpetrykk ga opphav også til større andel av mindre skader. På helfisk gjelder dette delvis avrevne sporer, men ikke minst blodfylte hoder. Som vist i Tabell 4 økte andelen av fisk med blodfylt hode med en score fra 1 til 3 (Figur 1) i takt med pumpetrykket ($P < 0.0005$, z-test).

Tabell 4 Prosentvis skade målt ved blodfylt hode som en funksjon av pumpetrykk. Se Figur 1 for score 1–3

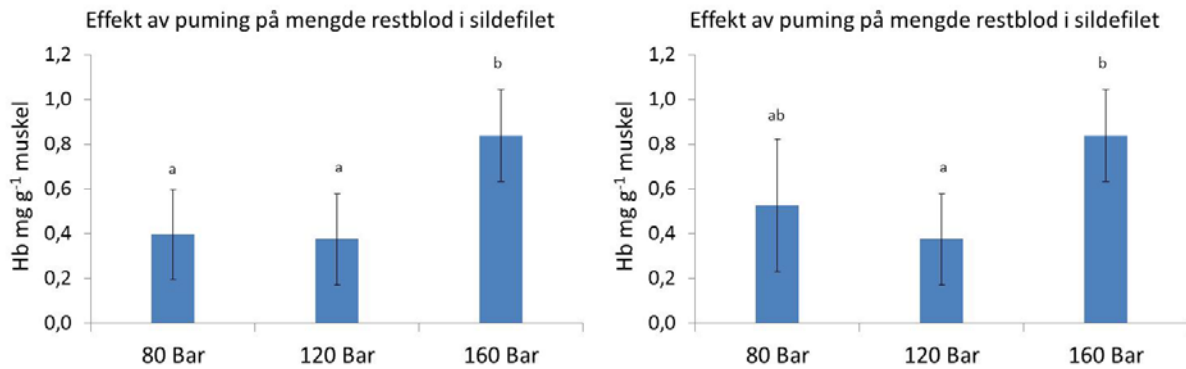
Skader i hodet (%)	Pumpetrykk (bar)		
	80	120	160
Score 1	48 ^a	37 ^{a,b}	33 ^{b*}
Score 2	43 ^a	37 ^a	37 ^a
Score 3	9 ^a	27 ^{b**}	30 ^{b***}
n	90	145	176

Også størrelsen på fisken viste seg å ha en betydning. Ved undersøkelse av stor- og småsild pumpet på 160 bar, viste det seg at småsild hadde en signifikant lavere skadetall (Score = 3, $P < 0.0005$, Z-test, Tabell 5). Imidlertid var andelen av fisk som ikke var skadet (Score = 0) lik for begge grupper.

Tabell 5 Prosentvis skade målt ved blodfylt hode som en funksjon av fiskestørrelse pumpet på 160 bar. Se Figur 1 for beskrivelse av score 1-3

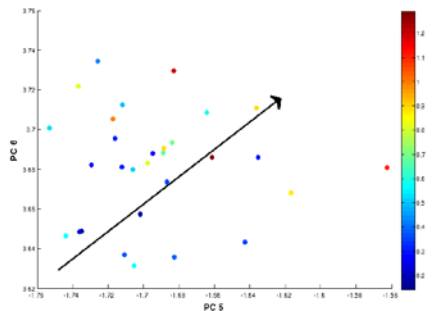
Skader i hodet (%)			P-verdi
	Små sild	Stor sild	
Score 1	33	34	0,4172
Score 2	52	37	0,0015
Score 3	15	30	0,0002
n	218	176	

Når det gjelder mengde hemoglobin i sildemuskel, ser det ut til at pumpetrykket påvirker konsentrasjonen i muskel, men det var stor variasjon innad i enkelte gruppene. I gruppen med filet som ble utsatt for 80 bar pumpetrykk, var det en uteligger med tanke på restblod. Denne uteliggeren bidro til stort standardavvik og ulik varians, sammenlignet med 120 og 160 barsgruppene. En Dunnets test ble derfor benyttet til å predikere mulige signifikante forskjeller mellom gruppene. Vi fjernet først uteliggeren fra 80 bars gruppen (Fig 12b), før vi gjennomførte statistikk beregning av data. Vi ser da at 80 (n=9) og 120 (n=10) bars pumpetrykk medfører signifikant ($P < 0.05$) lavere hemoglobin i muskelen, sammenlignet med sild som ble pumpet ved 160 (n=10) bar. Når uteliggeren fra 80 barsgruppen inkluderes i datamaterialet, ser vi ingen signifikante forskjeller ($P = 0.055$) i hemoglobinnivået i muskel mellom 80 og 160 bar (12b).

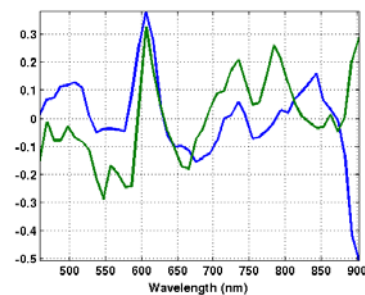


Figur 12 Hemoglobin i muskel på sild pumpet med 80, 120 og 160 bars trykk. a) utelatt en uteligger i analysen $n=[9, 10, 10]$ og b) alle filetene med, $n=[10, 10, 10]$.

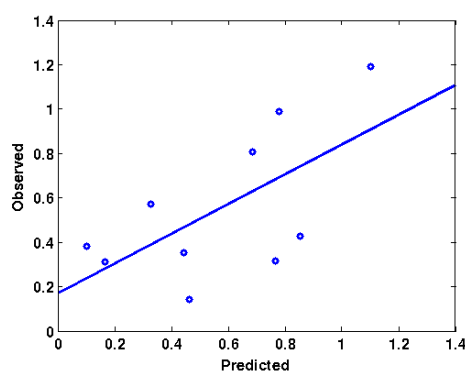
Prediksjon av hemoglobin i sildefilet med utgangspunkt i hyperspektral avbildning har ikke gitt tilfredsstillende resultater. Figur 13 viser PCA plots, hvor de 30 prøvene er vist som scores er farget etter hemoglobininnhold. Figuren viser en svak tendens i 5 og 6 prinsipal komponent. Loadings for disse to variasjonsretninger viser topper omkring 600 nm, vist i Figur 14. En PLS-modell basert på samme egenskaper med 7 komponenter funnet ved trening på 20 observasjoner og evaluert på 10 observasjoner, kan predikere hemoglobininnholdet med en RMSEP på 0.269 (). Denne modellen vises i Figur 15. Brukes denne modellen til å predikere de resterende 98 spektrale bildene fås en hemoglobinfordeling som vist i Figur 16. Det ses at det er negative verdier hvilket skyldes usikkerhet i modellen. Utslagene er store, noe som tyder på en svak modell. Bruk av T-tester indikerer at det kun er signifikant forskjell mellom gruppene 80 og 120 bar på et 5-prosentnivå. Som beskrevet over ble også uteliggere forsøkt fjernet, men det hadde ikke stor innflytelse på resultatet.



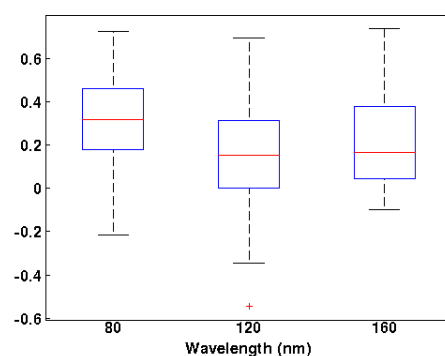
Figur 13 PCA av SNV forprosessert data. 5. og 6. komponent indikerer en mulig tendens



Figur 14 Principalkomponent, 5 og 6 loadings. Disse har begge en positiv top omkring 600 nm. og en kontrast ved 900 nm



Figur 15 Nøyaktighet til PLS-prediksjoner av et ukjent testsett på 10 observasjoner, tatt ut av de 30 målinger vi har analysert.



Figur 16 Estimert hemoglobinnhold fordelt på de 3 gruppene med fisk 80, 120 og 160 bar for de 98 filetene som kun ble målt ved spektroskopisk avbildning

Det er altså indikasjoner på at det kan la seg gjøre å måle hemoglobinnhold ved hjelp av interaktansspektroskopi, men usikkerheten er stor og det vil kreve flere målinger for å avgjøre hvor nøyaktig hemoglobinnholdet kan måles basert på denne teknologien.

Målinger av gjennomsnittsfarge på filetene (Tabell 6) avdekket ingen endringer i rødhet (a^*) eller lyshet (L^*) ($P > 0.13$, ANOVA) som følge av pumpestrykk. I midlertid var det en signifikant økning i b^* og Croma ($P < 0.05$, ANOVA), men en økning på 1 enhet i b^* og C^* er knapt synlig med det blotte øye.

Tabell 6 CIE $L^*a^*b^*$ på sildefileter fra fisk pumpet på 80 og 160 bars trykk.

	Trykk (bar)				p-verdi
	80		160		
	Mean	SD	Mean	SD	
L*	63,9	4,09	64,4	4,38	0,4760
a*	8,3	1,97	7,8	2,71	0,1396
b*	15,7	1,70	16,6	3,08	0,0099
C*	17,9	1,25	18,6	2,89	0,0325
n	99	84			

Resultatene fra teksturmålingene (Tabell 7) viser at pumpetrykk ikke hadde noen negativ innvirkning på teksturen hvor fisk pumpet ved 160 bars trykk hadde en signifikant hardere tekstur ($P < 0.05$, ANCOVA) som var en funksjon av gjennomsnittstykkelsen på fileten ($P < 0.005$, ANCOVA). Sortering etter score (1,3) hadde ingen innvirkning ($P > 0.85$, ANCOVA). Og likeledes var det ingen forskjeller i bruddstyrke ($P > 0.1$, ANCOVA).

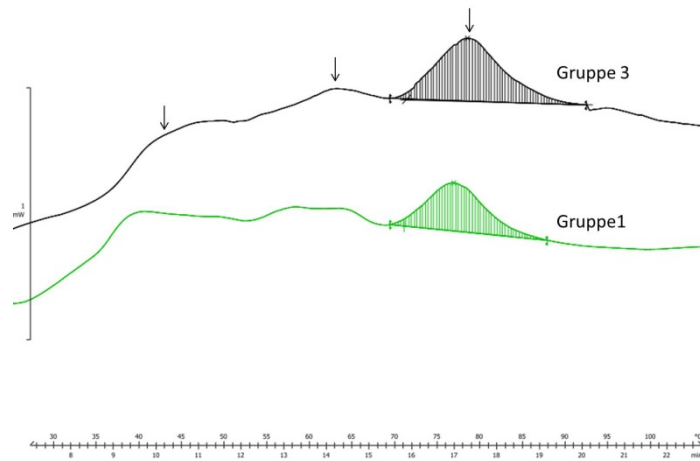
Tabell 7 Instrumententmålt hardhet (Nm) for fisk pumpet på 80 og 160 bars trykk og sortert i score 1 og 3 (Figur 1)

Trykk (bar)	Sortering	Hardhet (Nm)		Brudd (Nm)		n
		mean	SE	mean	SE	
80	1	10,7 ^a	0,26	11,8 ^a	0,33	72
	3	10,3 ^a	0,28	11,6 ^a	0,31	52
160	1	11,2 ^{b**}	0,32	12,2 ^a	0,35	52
	3	11,8 ^{b**}	0,41	12,7 ^a	0,50	68

I likhet med teksturmålingene fant en ingen signifikant effekt på denatureringstemperatur og -entalpi for myosin eller aktin for ulike pumpetrykk. Dette kan tyde på at det ikke er pumping på båten som er årsak til økt proteindenaturering og bløthet i fileten. Denatureringsentalpi for aktin var signifikant ($P < 0.03$) lavere i Score 1 enn Score 3 uavhengig av pumpetrykk og uttakspunkt i fileten mens det ikke var noe signifikant forskjell i denatureringstemperatur. Den høyere entalpiverdien for aktin i Gruppe 3 kan være en indikasjon på at det er mer proteinnedbryting i sildemuskel i denne gruppen enn i Gruppe 1. Dette kan forklares ved at sild i Gruppe 3 var av dårligere kvalitet og preget av høyere bløthet og spalting. For myosin ble det imidlertid ikke observert noen signifikant forskjell i denatureringstemperatur og entalpi. Uttakspunkt i fileten hadde ikke signifikant effekt på denatureringstemperatur og -entalpi for de to proteintypene.

Tabell 8 Gjennomsnittlig denaturerings-temperatur (T) og entalpi (ΔH) for aktin med standardavvik for gruppe 1 og 3 med sildeprøver utsatt for pumpehastighet på 160.

	Gruppe 1		Gruppe 3	
	Øvre	Hale	Øvre	Hale
T [°C]	76,6±0,04	78,1±0,7	75,1±1,6	77,8±0,7
ΔH [J/g]	0,27±0,03	0,27±0,04	0,36±0,00	0,35±0,06



Figur 17 Gjennomsnitt DSC-termogram for gruppe 1 (grønn linje) og 3 (sort linje) tatt med øvre del av sildefilet som var utsatt for pumpetrykk på 160 bar. Pilen viser denatureringstemperatur ved tre topper, henholdsvis (fra venstre til høyre) for myosin, sarkoplasma protein og aktin i hver gruppe. Det merkede arealet under toppunktet er denatureringsentalpi for aktin.

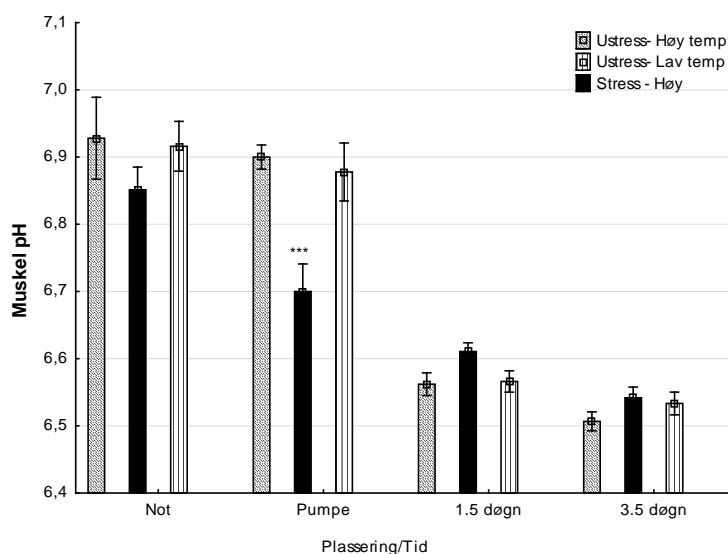
3.3 Stress og Temperatur

Som vist i Tabell 9 var fisken i begynnelsen av kastet allerede preget av fangstsituasjonen, med en relativt lav muskel pH og høyt laktat nivå. I slutten av kastet hadde nesten samtlige blodparametere økt ($P < 0.05$, t-test) hvor fisken foruten å ha høy anarob forbrenning i muskulaturen også bar preg av økning i osmoreguleringen ved forhøyete Na^+ og K^+ nivåer. Analyseverdiene indikerer imidlertid at fisken unngår en respiratorisk svikt; blod-pH er fortsatt stabil til tross for øket pCO_2 og laktat gjennom økt bikarbonatproduksjon.

Tabell 9 Blodparametere hos fisk i begynnelsen (Ustress) og slutten (Stress) av kastet

	Ustress		Stress		df	p-verdi	Ustress	Stress
	Gj.snitt	SD	Gj.snitt	SD			n	n
Blood pH	7,36	0,085	7,40	0,064	16	0,3013	8	10
pCO ₂	6,76	1,116	7,91	0,903	16	0,0289	8	10
HCO ₃	6,51	0,924	8,39	1,164	16	0,0019	8	10
PO ₂ -corr	15,12	4,852	10,72	4,090	23	0,0273	15	10
Muskel pH	6,92	0,192	6,81	0,152	38	0,1053	30	10
Na ⁺	171,13	8,593	>180	2,885	23	0,0022	15	10
K ⁺	4,98	0,693	6,43	1,388	17	0,0067	13	6
Lactat	5,54	2,791	9,54	1,354	38	0,0001	30	10
Glukose	3,52	0,446	4,56	1,143	38	0,0002	30	10
iCa ²⁺	1,44	0,423	2,04	0,428	21	0,0030	13	10

Imidlertid viser målinger av muskel pH (Figur 18) en pH senkning for stressgruppen ($P < 0.05$, ANOVA), spesielt etter pumping ($P < 0.0005$, post hoc). Etter 1,5 døgn var pH i muskulaturen lik i alle gruppene for så å jevne seg ned mot 6,5 etter 3,5 døgn. Ingen pH-effekt kunne påvises som følge av forskjeller i lagringstemperatur ($P > 0.05$, ANOVA)

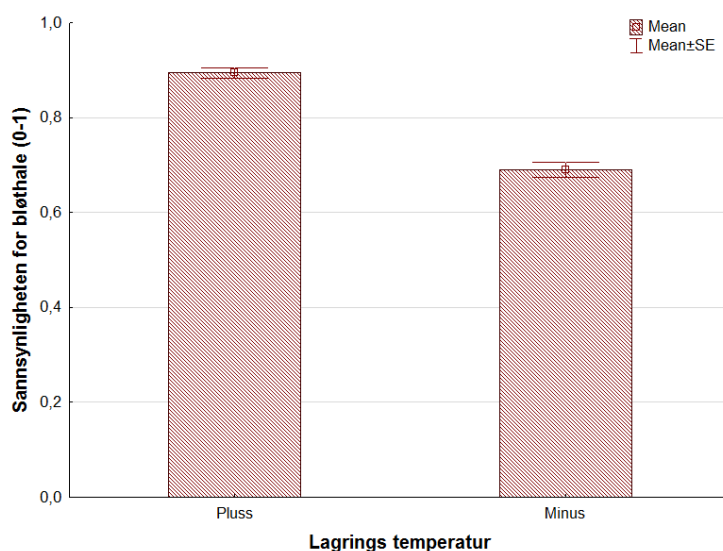


Figur 18 Muskel-pH i stresset og ustresset fisk før og etter pumping, samt påfølgende 3,5 døgn

Som vist i Tabell 10, hadde fisk lagret på pluss-siden av temperaturskalaen signifikant høyere gaping score og markant økning i haleproblematikk gjennom bløthet og gaping ($P < 0.0005$, t-test). Ser en på andelen av fisk som hadde en gaping-score lik 1 eller høyere får en 20 % større sannsynlighet for en bløthale (Figur 19).

Tabell 10 Gjennomsnitt score for gaping, blod mengde, halegele og gaping på sild lagret under 2 forskjellige temperaturer

	Pluss		Minus		p-verdi
	Mean	SE	Mean	SE	
Gaping (0-5)	2,72	0,042	2,27	0,040	< 0.0005
Halegaping (0-5)	1,61	0,045	1,29	0,043	< 0.0005
Halegele (0-5)	1,38	0,027	0,79	0,020	< 0.0005
Blod (0-2)	1,00	0,026	0,50	0,020	< 0.0005
n	834		920		



Figur 19 Sannsynligheten for en hale gaping på en score for 1 eller høyere for fisk lagret på 2 forskjellige temperaturer

For stressgruppen (Tabell 11) er situasjonen reversert. Stresset fisk får en bedre score på alle resultatene ($P < 0.0005$, t-test).

Tabell 11 Gjennomsnittsscore for gaping, blodmengde, halegele og gaping på sild fra begynnelsen og slutten av kastet

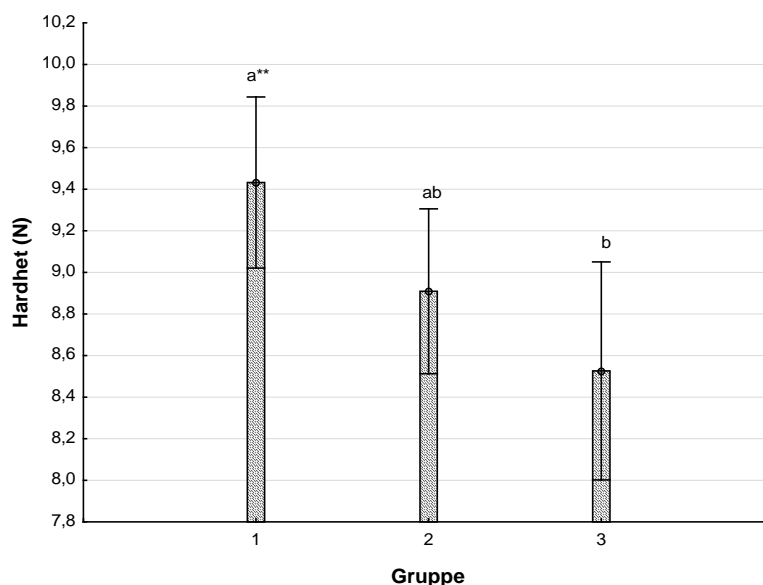
	Stress		Ustress		p-verdi
	Mean	SE	Mean	SE	
Gaping (0-5)	2,10	0,035	2,72	0,042	< 0.0005
Halegele (0-5)	0,89	0,020	1,38	0,027	< 0.0005
Halegaping (0-5)	1,08	0,033	1,61	0,045	< 0.0005
Blod (0-2)	0,52	0,017	1,00	0,026	< 0.0005
n	1238		834		

Ser en samlet på resultatene hvor panelet får muligheten å sortere fisk i tre kvalitetsscore (Tabell 12) etter det totale synsinntrykket, kommer det frem et mønster som kan tyde på at forskjellen nødvendigvis ikke er så stor som statistikken skulle tilsi. Korrelasjonsanalyser viser at panelets vurdering om fisken er god, middels eller dårlig henger dårlig sammen med blod $r^2=0.01$ ($P<0.0005$) og halegaping $r^2=0.22$ ($P<0.0005$), mens valg av gruppe henger hovedsakelig sammen med gapingscore $r^2=0.66$ ($P<0.0005$). Sammensatt at gaping henger delvis sammen med halegaping $r^2=0.28$ ($P<0.0005$). Den samlede vurderingen vil derfor kunne gjelde fisken som et parti og ikke nødvendigvis etter behandling.

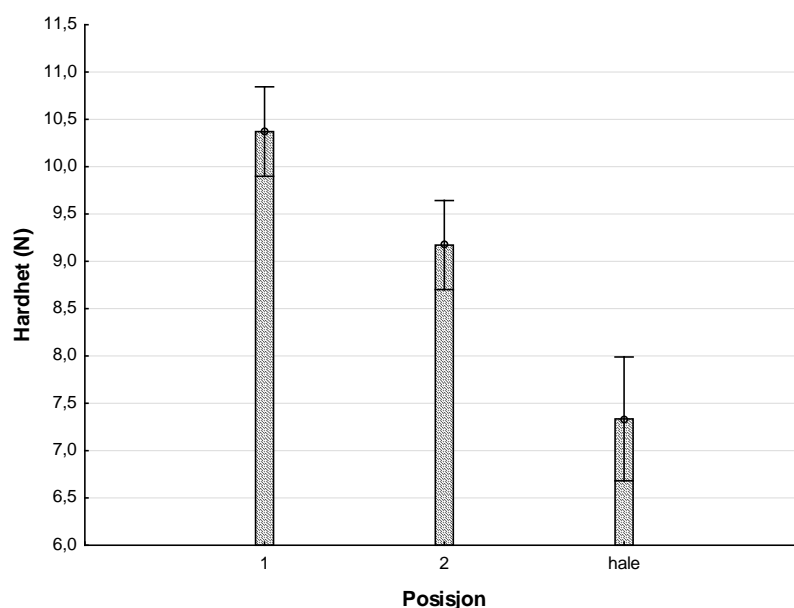
Tabell 12 Prosentvis fordeling av fisk som ble vurdert som Kvalitetsscore 1 (God), 2 (Middels) og 3 (Dårlig) (Figur 3a-c)

	Kvalitetsscore		
	1	2	3
Pluss	28 %	49 %	20 %
Minus	34 %	42 %	24 %
Stress	38 %	44 %	18 %
Ustress	28 %	49 %	20 %

Ser en fisken på gruppenivå hvor utsortert fisk er basert på score uavhengig av behandling, finner en signifikante forskjeller i tekstur basert på kvalitetsscore ($P<0.05$, ANCOVA, Figur 20) og posisjon på fileten ($P<0.0005$, ANCOVA, Figur 21).



Figur 20 Hardhet (N) på fileter sortert inn i score 1–3



Figur 21 Hardhet (N) 3 posisjon i dorsal muskel på posisjon i fra hodet til fileter sortert inn i score 1–3

Som vist i Tabell 13, kunne man kun påvise små signifikante forskjeller i farge mellom fisker med ulik score ($P < 0.05$, ANOVA). Den eneste trenden som kunne måles var at filetene ble svakt gulere og mørkere med økt score, men utslaget var knapt synlig for det blotte øye.

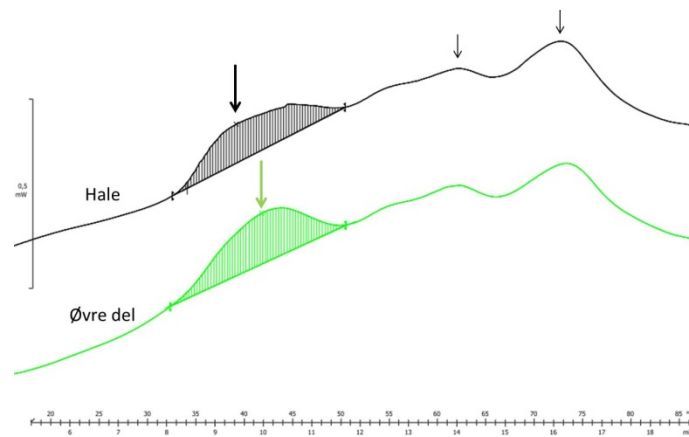
Tabell 13 Gjennomsnittsfarge (SD) av fileter sortert inn i score 1–3

	Score 1 (n=56)		Score 2 (n=44)		Score 3 (n=56)	
L*	70,7*#	1,9	71,4#	1,8	69,9*	2,4
a*	9,5*#	0,79	9,3#	0,8	9,8*	1,1
b*	13,9*	0,7	14,2*#	0,7	14,4#	0,59

Haledelen hos bløt sildefilet hadde signifikant lavere ($P < 0.001$) denatureringstemperatur for myosin enn den øvre delen mens denatureringsentalpien ikke var signifikant forskjellig mellom de to uttakspunktene (Tabell 14 og Figur 22). Forklaringen på dette vil være denaturering av kollagen som har et denatureringspunkt rundt 36 °C noe som vil medføre en forskyvning at myosintoppen til en lavere temperatur ved. Denatureringstemperatur og entalpi for aktin var ikke signifikant forskjellig mellom de to uttakspunktene. Verken kvalitetsscore eller fisk sortert for bløt tekstur hadde signifikant effekt på denatureringstemperatur og entalpi for de to proteintypene.

Tabell 14 Gjennomsnittlig denaturerings-temperatur (T) og entalpi (ΔH) for myosin med standardavvik i hale og øvre delen av sildefilet

	Hale	Øvre del
T [°C]	38,2±1,3	41,1±1,3
ΔH [J/g]	0,21±0,05	0,22±0,04



Figur 22 Gjennomsnitt DSC termograf for hale (grønn linje) og øvre del (sort linje) av sildefilet fra gruppe 1 med normal tekstur. Pilen viser denatureringstemperatur ved tre topper, henholdsvis (fra venstre til høyre) for myosin, sarkoplasmatiske protein og aktin i hver gruppe. Det merkede arealet under toppunktet er denatureringsentalpi for myosin.

4 Diskusjon

Resultatene fra begge toktene, hvor blod ble målt, viser klart at fisken som forventet ble stresset i en fangst/snurpesituasjon. Dette ga utslag i økt aktivitetsnivå som inkluderte anaerob forbrenning i muskel, hvilket medførte økt laktat i blod, og en senkning av muskel-pH. Ettersom stressbelastningen vedvarte førte dette sammen med skjelltap, til at fisken ble utmattet og utviklet osmotiske problemer og til slutt, død. Dette har blitt vist i flere studier på sild hvor blant annet Digre *et al.* (2006) og Hattula *et al.* (1995) til dels beskriver prosessen med forskjell i dødelighet på henholdsvis not og trålfangst mot tid. Også nyere studier på makrell viser en akkumulerende dødelighet som en funksjon av tid, hvor særlig de første 20–30 minutter er av betydning (Digre & Aursand, 2013).

Imidlertid viser resultatet at silda, i motsetning til en rekke andre arter, ikke tar ut sitt fulle energipotensiale på kort sikt. Dette kan ha en viss betydning kvalitetsmessig. Som illustrert i Tabell 1, har sild en god evne til å opprettholde oksygenbalansen. Selv om laktatnivået øker med tiden (Figur 8), vil et laktatnivå på 3–5 (mmol/L) etter 15 minutter være tilsvarende hva en kan forvente på oppdrettsfisk som er trent i merd. Likeledes viser fisken ingen tegn til problemer med osmoreguleringen. Dette samsvarer med resultater på muskel-pH (Figur 9) som viser at fisken i dette forsøket ikke tar ut sitt energipotensial. Tidligere studier viser at trålfangst silde initial-pH kan komme så lavt som 6.3, hvor en pH på 6.8 er rapportert for ringnot (Digre *et al.* 2002). I Figur 9 faller pH på alle grupper jevnt etter død og utjevnes etter 24 timer.

Forholdene i nota er ofte avgjørende for fiskens reaksjon, hvor størrelsen på kast, vær og vind og ikke minst hvor hardt en snurper nota kan ha en påvirkning. Dette kan til en viss grad illustreres i det andre toktet, hvor en over 3 kast i større grad tok blodprøver etter pumping over de første 15 min og sammenlignet dette mot helt i slutten av hvert kast, 45 min senere (Tabell 9). Også her viste fisken å kunne regulere oksygen og syre-/basebalansen, men hvor anaerob forbrenning i muskulaturen hadde et større inntog fra begynnelse til slutt enn foregående tokt. Det kan spekuleres i hvor mye mer silda egentlig hadde å gi av krefter ettersom nivået av blodsukker fortsatt var høyt og med en laktat med et snitt på 9 mmol/l er et stykke fra maks. Dette reflekteres også fra målinger med muskel pH (Figur 18). Imidlertid viste fisken etter 45 minutter å få problemer med sekundære stresseffekter som osmoregulering.

Ser en samlet på dette er det klart at stressbelastningen over den første halvtimen være av kritisk karakter, hvor en etter forholdene kan holde fisken til en viss grad i Status Quo for ikke å ta ut sitt fulle energipotensiale. Uansett så pumpes fisken levende inn i tanker, hvor den i større grad kan ta ut sitt energipotensiale anaerobt dersom forholdene tillater dette, så den praktiske betydning er uvis.

Tid i not er i utgangspunktet avhengig av både størrelsen på kastet, men ikke minst pumpekapasiteten på den enkelte fartøy som kan variere fra 15 minutt til flere timer. Pumpeskader er for såvidt et kjent fenomen, men det finnes per dags dato lite informasjon hvordan dette innvirker på kvaliteten og hvilke forhold som påvirker dette. På makrell er det rapportert cirka 5 % med klemskader og 13 % med blodig gjellelokk etter fangst (Digre & Aursand, 2013), mens for sild finnes det kun dokumentasjon på skader etter vakuumpumper under lossing på land (Digre *et al.*, 2002). Som det fremgår i Tabell 3 og Tabell 4 er det en klar sammenheng mellom arbeidstrykk på pumpa og prosentvis forekomst med pumpeskader. Pumping sammensatt med tid fisken snurpes kan derfor lett bli et vanskelig dilemma. Skovlepumper har uten tvil den store fordel med en formidabel

pumpekapasitet, så med tanke på gevinst bør en i fremtiden undersøke pumpetrykk i relasjon til diameteren på rørsystemet.

Pumpetrykket hadde ingen effekt på filet kvalitet hverken på subjektive vurderinger, DSC eller teksturmålinger. Subjektive inntrykk tenderer mot litt mer blodsprenget fisk uten at dette kommer klart frem, selv med bildebehandling og spektroskopi. I dette tilfelle var det ikke nok materiale for å fatte en entydig konklusjon ettersom det var små forskjeller mellom gruppene, men som illustrert så er det mulig å kvantifisere mengden blod i muskel hos sild med denne teknologien.

For bløthale og gaping viser Figur 3c klart hvor destruktivt dette er for den visuelle kvaliteten og markedsmessige utfordringer når 20 % av fisken har en kvalitetsscore på 3. Når en ser på summen av alle resultater viser alle data at kvalitetsavvik i sildefilet i halepartiet skyldes i all hovedsak nedbrytning av bindevev/collagen, så det er i bunn og grunn en gapingproblematikk. I fisk forekommer kollagen i ulike former og strukturer omtalt som collagen I, II, III ... Kvantifisering av gaping og halegaping omfatter nedbrytning av collagen i myocommata (z-striper) som inneholder kollagen type I og V, hvor problemstillingen er svært synlig da mytomene splittes. Teksturmålinger og DSC prøver er tatt fra myotomer, hvor kollagen inngår i andre former det pericellulære vev som er type I. Nedbrytning av dette kollagenet gir ofte myotomene et bløtt preg og det kan oppleves som fiberiøs.

Resultatene i Tabell 14 viser at halen har mer nedbrytning av kollagen enn fremre parti som heller ikke har en så ustrakt grad av gaping. Spørsmålet er om andre muskelproteiner som aktin og myosin er berørt?

Sammenligner vi resultatene fra DSC med sildefanget 1 måned senere på samme fangstfelt, så viser denaturerings entalpi verdier at mengden myosin er lik, mens for aktin er verdiene dobbelt så høye. Om dette skyldes 1 dags forskjell før fisken var prosessert og fryst er uvisst, men siden myosin verdier er like er det grunn til å anta at partiet med mye gaping også har høyere aktivitet av enzymet Cathepsin D. Ved siden av å bryte ned Aktin proteiner kan Cathepsin D også bryte ned collagen type I. Hvorvidt forholdet av collagen I og V i myocommata er forskjellig i halepartiet fremfor anterior er imidlertid ukjent for sild.

Gaping er på mange måter et kjent fenomen både innen havbruk og fiskerinæringen og har i flere 10 år vært gjenstand for diskusjon. Allerede i 1975 viste Love hvordan gaping i torsk varierte gjennom sesongen med topper innen vekstsesongen. Gaping er ofte relatert til perioder med mye mattilgang og rask vekst, på grunn av økt proteaseaktivitet. Dette sammenfaller med at fisken har en løs bindevevsstruktur for å gi fleksibilitet for fysisk vekst av muskelceller og nydannelser. I perioder med mye mattilgang vil cellene ha høy proteolytisk aktivitet for å omsette proteiner internt. *Post mortem* vil modningsenzymene som collagenaser, cathepsiner L,B,D og calpainer bli frigjort og starte nedbrytningsprosessen av de ulike muskelproteiner. Problemstillingen er svært vanskelig å identifisere på forhånd ettersom teksturen er ofte synes normal i startfasen. Det er den naturlige modningsprosess som akselereres hvor for eksempel kollagen, som er elastisk, ikke lenger kan holde på strukturen og revner under prosessering. Under slike betingelser er tid og temperatur de viktigste faktorer.

Som vist i dette studiet (Tabell 10), kan en temperaturøkning på 1 °C i lagringstanken øke andel gaping og bløthet. Samlet sett er ikke økningen av gaping mellom gruppene så stor som statistikken skulle tilsi (Tabell 12). Sannsynligvis er det heller tiden mellom fangst og prosessering som har forsterket problemet. Ettersom enzymatiske prosesser kan ha eksponensielt aktivitetsnivå ved temperatur økning mot optimal temperatur, kan en teoretisk sett ha mer akselererte post mortem prosesser ved å lagre sild på 2 °C i 1 døgn enn -1 °C i 3 døgn. Slike beregningsmodeller bør utvikles for å kunne anslå maksimum lagringstid sild kan "tåle" i ulike sesonger og under ulike temperatur-betingelser.

5 Konklusjon

Til tross for å være en pelagisk art med mye rød muskulatur, viser sild å ha evne å opprettholde til en viss grad aerob forbrenning under trengingssituasjon. Riktignok vil silda over tid slite seg ut, men det går langsommere enn hva en kan forvente, 10–30 minutt trengetid for et mindre kast synes å ha mindre effekt med hensyn til tømning av energilagrene. Dette hadde ingen nevneverdig effekt på kvaliteten. Dette kan sees i sammenheng med pumpetrykk da et økt trykk og inntakshastighet vil kunne skade fisken fysisk og medføre økt svinn. Imidlertid er skadene av mer ytre karakter, hvor det økte trykket med biomasse ikke ser ut å skade selve filetkvaliteten.

Bløthale er nedbrytning av bindevev som er et sammensatt problem og relateres til sted, tid og temperatur. I dette delforsøket var det ingenting i fangstøyeblikket som skulle tilsi at hovedårsaken til problemet ligger her, hverken med tanke på stress, pumpe, lagring, fyllingsgrad eller været. Imidlertid viser forsøket at gaping i sild i likhet med andre næringer er et reelt problem som relateres til sesong, vekst og lagringsforhold. Det er derfor viktig under fangstleddet å ha tilstrekkelig kjøling, korte ned på tiden til prosessleddet, samt skånsom behandling av fisken frem til prosessering.

Takk

Vi vil med dette takke mannskapet til MS Birkeland og kaptein Alf Oddvar Bjånes for samarbeid og støtte under tokt. Også takk til styringsgruppen ved Øyvind Bergh, Nergård A/S, Åge Eriksen, Hopen Fisk A/S og Oddvin Sørhaug, Norway Pelagic avd Austevoll. For støtte i prosjektarbeidet takkes Arne Johan Blænes Norway Pelagic avd Austevoll, Karin Tranøy, Laila Budal, Bente Husebø og Sigurd Øines. Også takk til FHF og Lars Lovund for finansiell og organisatorisk støtte.

6 Referanseliste

- Digre H. & U. Jes Hansen (2005). Pelagisk kvalitet fra hav til fat; forholdet mellom redskap og kvalitet på pelagisk fisk. Rapport 850145.02, Sintef Fiskeri og havbruk, Trondheim.
- Digre H., S. Jansson, I. Martinez, I.G. Aursand, A. Levsen, B.T. Lunestad B. Eyjolfsson & M. Kjerstad (2006). Pelagisk kvalitet fra hav til fat – **sluttrapport** for prosjektet. Rapport SFH80 A065002, Sintef Fiskeri og havbruk.
- Digre H. & I.G. Aursand (2013). Overpumping av makrell. Rapport A23827. Sintef fiskeri og havbruk.
- Hattula T., T. Luoma, R. Kostianen, J. Poutanen, M. Kallio & P. Suuronen (1995). Effects of catching method on different quality parameters of Baltic herring (*Clupea harengus*). *Fisheries Research*, **23**, pp. 209–221.
- Love, R. M. (1975). Variability of Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the northeast Atlantic: a review of seasonal and environmental influences on various attributes of fish. *Journal of Fisheries Research of Board in Canada*, **32**, pp. 2333–2342.
- Love, R.M. (1973). Gaping of fillets. In *Torry Advis. Note*, 61, Aberdeen: Torry Research Station.

