



**SINTEF Fiskeri og havbruk AS**  
Foredlingsteknologi

Postadresse: 7465 Trondheim  
Besøksadresse:  
SINTEF Sealab  
Brattørkaia 17B

Telefon: 4000 5350  
Telefaks: 932 70 701

E-post: fish@sintef.no  
Internett: www.sintef.no

Foretaksregisteret: NO 980 478 270 MVA

# SINTEF RAPPORT

TITTEL

**Undersøkelse av buksprenging i pelagiske fiskearter ved hjelp av ikke-destruktive metoder**

FORFATTER(E)

Emil Veliyulin, Eva Falch, Iciar Martinez og Hanne Digre

OPPDRAGSGIVER(E)

FHL Pelagisk forum

RAPPORTNR. <b>STF80 A055046</b>	GRADERING Åpen	OPPDRAGSGIVERS REF. Jan Thorsen	
GRADER. DENNE SIDE Åpen	ISBN 82-14-03547-3	PROSJEKTNR. <b>850143/163347/i10 (NFR)</b>	ANTALL SIDER OG BILAG 20/11
ELEKTRONISK ARKIVKODE SINTEF_RAPPORT_FINAL2.doc		PROSJEKTLEDER (NAVN, SIGN.) Hanne Digre	VERIFISERT AV (NAVN, SIGN.) Iciar Martinez
ARKIVKODE	DATO 2005-09-28	GODKJENT AV (NAVN, STILLING, SIGN.) Marit Aursand (forskningsjef)	

## SAMMENDRAG

Målsettingen med prosjektet var å øke kunnskapen om buksprenging i pelagiske fiskearter ved å studere intakt fisk i tidsperspektiv ved hjelp av ikke-destruktive metoder. Metodene vi valgte å benytte var MRI (Magnetic Resonance Imaging) og NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spektroskopi.

Resultatene viste at man kan studere morfologiske endringer knyttet til buksprengingen i pelagisk fisk ved hjelp av MRI (Magnetic Resonance Imaging). Prosjektet har gitt helt ny kunnskap om fenomenet buksprenging. Vi har påvist, for første gang, ved bruk av ikke-destruktiv metode, MRI, at buksprengning vanskelig kan ha sin opprinnelse i magesekken, da dette organet var tilnærmet intakt selv etter 40 timer ved romtemperatur. Dette indikerer at det sannsynligvis er annen proteolytisk aktivitet enn pepsin som er aktiv under buksprenging i sild. Videre viser arbeidet at tarmregionen begynte å løsne og fløt ut fra fisken, samtidig som buken (muskel og skinn) også mistet sin integritet ved å sprekke og til slutt forsvinne.

Både for fiskerne og industrien har åte og kvalitetsforringelsen som skjer som følge av dette vært et stort problem og vanskelig å forholde seg til med hensyn til å gradere og typebestemme åteinholdet. Forventningene til å finne en enkel metode for å måle åteinhold ombord på fiskebåtene har derfor vært en ønsket målsetning. Selv om at vi fra start av var klar over at det var et behov for grunnforskning, ser det ut som om problemstillingen er mer komplisert en først antatt. Vi ser derfor et stort behov for at forskningen på åte forsetter slik at brukervennlige metoder for vurdering av åteinhold kan utvikles.

STIKKORD	NORSK	ENGELSK
GRUPPE 1	Buksprenging	Belly bursting
GRUPPE 2	Sild	Herring
EGENVALGTE	MRI (Magnetic Resonance Imaging)	MRI (Magnetic Resonance Imaging)
	NMR (Kjerne magnetisk resonans)	NMR (Nuclear Magnetic Resonance)

## **INNHOLDSFORTEGNELSE**

<b>1</b>	<b>Innledning.....</b>	<b>2</b>
1.1	Målsetting .....	5
<b>2</b>	<b>Material og metode.....</b>	<b>6</b>
2.1	Fiskeprøver .....	6
2.2	MRI undersøkelser.....	6
2.3	Høyoppløsnings NMR spektroskopi.....	8
<b>3</b>	<b>Resultater.....</b>	<b>10</b>
3.1	MRI undersøkelser av buksprenging .....	10
3.2	Høyoppløsnings NMR spektroskopi.....	14
<b>4</b>	<b>Oppsummering og konklusjon .....</b>	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>Fremtidige arbeider .....</b>	<b>17</b>
	<b>Referanser.....</b>	<b>18</b>
	<b>Vedlegg.....</b>	<b>19</b>

## 1 Innledning

En av de store utfordringer i pelagisk sektor er kvalitetsforringelse av råstoffet som fører til buksprenging, dvs. at buken på pelagisk fisk sprekker. Såkalt ”buksprenging” kan forekomme når fisken spiser store mengder dyreplankton (åte), og råstoffet blir, til tider, forringet i en slik grad at det ikke er egnet for konsum. Buksprengingen og den generelle kvalitetsforringelsen antas å ha sammenheng med stor enzymaktivitet som bryter ned fiskens proteiner (protolyse). Enzymaktiviteten er forårsaket av fiskens egne fordøyelsesenzymmer og/eller av enzymer i åten. Innholdet av åte i fangsten kan variere fra art til art (sild, lodde, makrell), fra år til år, gjennom året og mellom ulike fangstfelt. Med kunnskap om slike variasjoner og eventuelle sammenhenger kan en til en viss grad redusere problemene.

I dag foregår vurderingen av åteinhold/enzymaktivitet ombord i fartøyet, basert på fiskernes erfaringer. Vurderingen er meget subjektiv (skala fra 0 til 3) og kan variere svært mye fra fartøy til fartøy. Det finnes også en rekke arter hvor man kan ha problemer med visuell bedømmelse av åteinholdet, slik at enzymaktiviteten kan være høy uten at det foreligger synlige tegn før etter flere dager. Spesielt landindustrien/ fiskekjøperne opplever dette som et problem, da råstoffet ikke har den kvalitet som man forutsetter under kjøpet. Fartøyene på sin side har behov for å vite noe om fiskens tilstand slik at nødvendige tiltak kan treffes i tide (f.eks. fyllingsgrad i tanker, kjøling, lagrings- og transporttid).

I forprosjektet ”Pelagisk kvalitet – Kit for måling av enzymaktivitet i pelagiske fangster”, som ble finansiert av NFR i 2002, var målsettingen å utføre forundersøkelser, samt å gjennomføre forsøk for å avdekke mulighetene for å utvikle kit eller en hurtigtester som fiskerne kan benytte *in situ* for objektiv vurdering av enzymaktivitet i pelagiske fangster. Prosjektet fokuserte i hovedsak på sild (*Clupea harengus*) og pepsin. Resultatene viste at det er mulig å lage (1) et kit for å måle pepsinaktivitet og (2) et kit for å måle pepsin-proteinet, men at det var nødvendig å klargjøre først hvilken, eller hvor mange, av flere typer enzymatiske aktiviteter i tillegg til pepsinet, som var ansvarlig for buksprengingen. En rekke studier utført innen samme tema på 80- og tidlig 90-tall fokuserte på fordøyelsesenzymmer i fisken, men resultatene kan tyde på at også type og mengde mageinnhold, i tillegg til bakterieinnholdet i tarmen, har betydning for ødeleggelsen av pelagisk fisk. I ansjos (*Engraulis encrasicolus*) er det vist at buksprengingen kan skyldes trypsinaktivitet (Martinez *et al*, 1988; Martinez og Gildberg, 1988; Martinez og Serra, 1989), mens i lodde (*Mallotus villosus*) er fenomenet assosiert med lekkasje av magesyre som gjør collagen mer mottagelig for nedbryting av proteaser (Gildberg, 1982). I den senere tid har man kommet frem til at matriks metalloproteaser (MMP) deltar i nedbrytingen av muskel *post mortem* hos torsk (*Gadus morhua*), steinbit (*Anarhichas minor*) og laks (*Salmo salar*) (Lødemel og Olsen, 2003; Lødemel, Mæhre, Winberg og Olsen, 2004). Tidligere studier av buksprengning av lodde utført av Gildberg (1982) har indikert at det sannsynligvis er flere ulike faktorer som forårsaker problemene.

Å studere denne problemstillingen er en krevende oppgave, og vi takker NFR for å ha støttet ytterligere finansiering ved å bevilge et PhD-studie innenfor emnet (NFR-

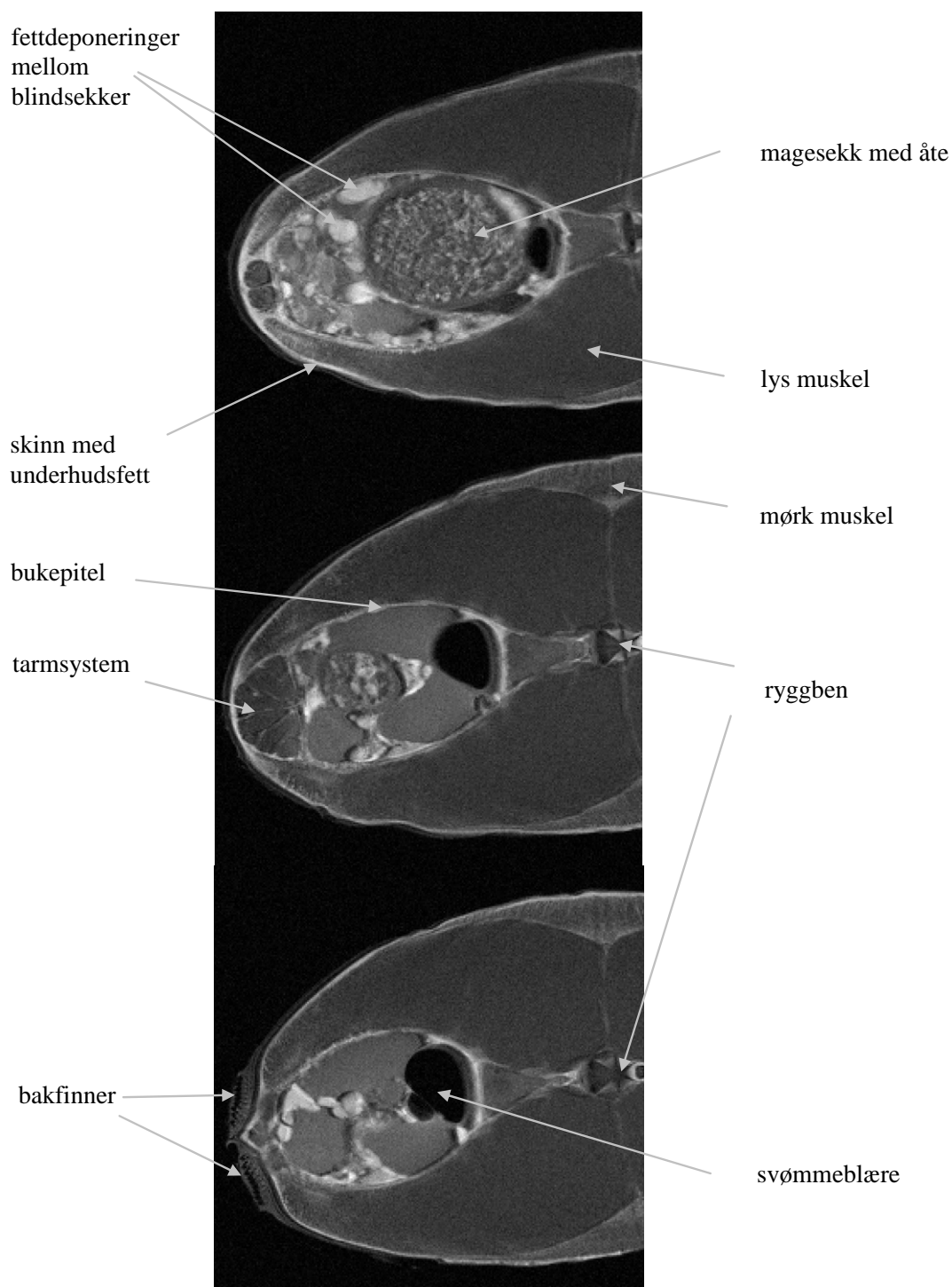
prosjekt ”Onboard preservation of the quality of pelagic species”). Stipendiat Hanne Solvang Felberg har allerede undersøkt sild fanget våren 2005. Resultatene tyder på stor enzymatiske aktivitet i sildens magemuskulatur, som kan være forsterket av trypsin-lekkasje etter fiskens død og muligens forårsaket av stort åteinhold i hele mage- og tarmsystemet (Felberg og Martinez, 2005). Dette er helt nye resultater om den enzymatiske aktiviteten i silda som hittil har vært ukjent, og som understreker relevansen av forskningsarbeidet for å forstå og kontrollere eller unngå forringelse av fisken. Imidlertid, krever disse biokjemiske og enzymatiske studiene at fisken åpnes og at prøveuttaket for analysene velges av medarbeidere, dvs. de er destruktive metoder.

I dette prosjektet har vi studert problemstillingen rundt årsaken til buksprenging av sild ved å studere intakt fisk ved hjelp av ulike MR-teknikker (MRI og NMR). MRI (Magnetic Resonance Imaging) er en kjent teknikk innenfor medisinsk diagnostisering. Teknikken kan benyttes på mennesker, dyr og fisk. Sammenlignet med medisinske MRI helkroppssystemer har moderne MRI forskningsinstrumenter som regel betydelig mindre åpning og samtidig høyere resonansfrekvens (dvs. styrken på magnetfeltet). Typisk verdi av resonansfrekvens på et medisinsk system er 64 MHz, mens på forskningsinstrumentet benyttet i prosjektet er det 300 MHz. Høyere frekvens betyr at man kan lage MRI bilder av mindre dyr og fisk på kortere tid og med bedre kvalitet (dvs. høyere signal til støy forhold). MRI er derfor en veldig effektiv måte for å studere fiskeanatomi på. Høyoppløsning MRI instrumenter kan skaffe bilder av fiskens indre med pikselstørrelse på 10-15 $\mu$ m. Slike bilder illustrerer morfologiske endringene i fisken på et svært detaljert nivå. Kontinuerlig tidsutvikling av disse endringene kan relativt enkelt studeres ved lange observasjonstider ved å sette opp et automatisk bildeopptak i de spesifikke områdene i fisken (f.eks. et bilde blir tatt hver 15 min over 30 timer). MRI bør derfor kunne lokalisere området der buksprengingen starter i en intakt fisk.

En annen type teknikk som bruker magnetisk resonans er NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spektroskopi. Mens MRI gir informasjon om morfologi, er NMR spektroskopi en av de kraftigste metodene for å få detaljert informasjon om kjemisk sammensetning i et biologisk system. Prosesser som for eksempel dannelse av melkesyre i muskelen post-mortem kan bli studert både i intakt fisk (volume selective spektroskopi), i små biopsi-prøver eller i ekstrakter (Gribbestad et al., 2005). Økt forringelse av muskelvev visualiseres i NMR spektroskopiske studier som en økning i mengde (både antall og størrelse) av signaler fra små molekyler, og kan derfor muligens brukes som en indikasjon på buksprenging.

Første forsøk i dette prosjektet var å etablere de optimale tekniske betingelsene for å kjøre MRI analysene på fisk. Dette ble gjennomført høsten 2004 på norsk vårgytende sild, og resultatene er gitt i vedlegg 1, notat datert 21.12.2004. Vi påviste at MRI er et godt verktøy for å få informasjon om størrelse og lokalisering av indre organer i intakt fisk, og fikk detaljerte bilder av magesekk, tarmer og svømmeblære (se *Figur 1*). Resultatene tydet på at metoden kan gi informasjon om fyllingsgrad i mage og tarmsystemet. Ved hjelp av MRI kan man lage snittbilder i alle retninger (aksiale, koronare og sagitale snitt) og dermed studere morfologi og lokalisering av ulike strukturelle endringer i fisken, f.eks. ved buksprengning. For å komme videre i

problemstillingen var vi helt avhengig av råstoff som med stor sannsynlighet ville få buksprenging. Dette råstoffet var tilgjengelig i mai 2005 og det er resultatene fra dette som rapporteres her.



**Figur 1. Tre MRI snitt gjennom sild som tydelig viser ulike organer og strukturer i fisken som indikert på figuren.**

## 1.1 Målsetting

Målsettingen med prosjektet var å øke kunnskapen om buksprenging i pelagiske fiskearter ved å studere intakt fisk i tidsperspektiv ved hjelp av ikke-destruktive metoder.

### Delmål:

- Studere morfologiske endringer knyttet til buksprengingen i pelagisk fisk ved hjelp av MRI (Magnetic Resonance Imaging)
- Studere kjemiske endringer knyttet til buksprengingen i pelagisk fisk ved hjelp av ulike NMR-teknikker (Nuclear magnetic resonance).
- Undersøke hvordan mengde mageinnhold og lagringstid påvirker grad av buksprenging.

### Viktigste nytteverdier:

- Få informasjon om hovedårsak til buksprenging gjennom morfologisk lokalisering og kjemiske endringer i fisken ved ulike forhold (lagringstid og matinntak).
- Gi et solid grunnlag for å finne hovedårsaken til buksprenging i pelagiske fiskearter
- Skape et grunnlag for å utvikle teknologi ombord i fartøy for sortering og klassifisering av pelagisk fisk, siden dette er en av de større utfordringene i pelagisk fangst- og fiskeindustri. I tillegg vil man kunne optimalisere lagringsforholdene ombord for å minimalisere kvalitetsforringelsen av pelagisk fisk.

## 2 Material og metode

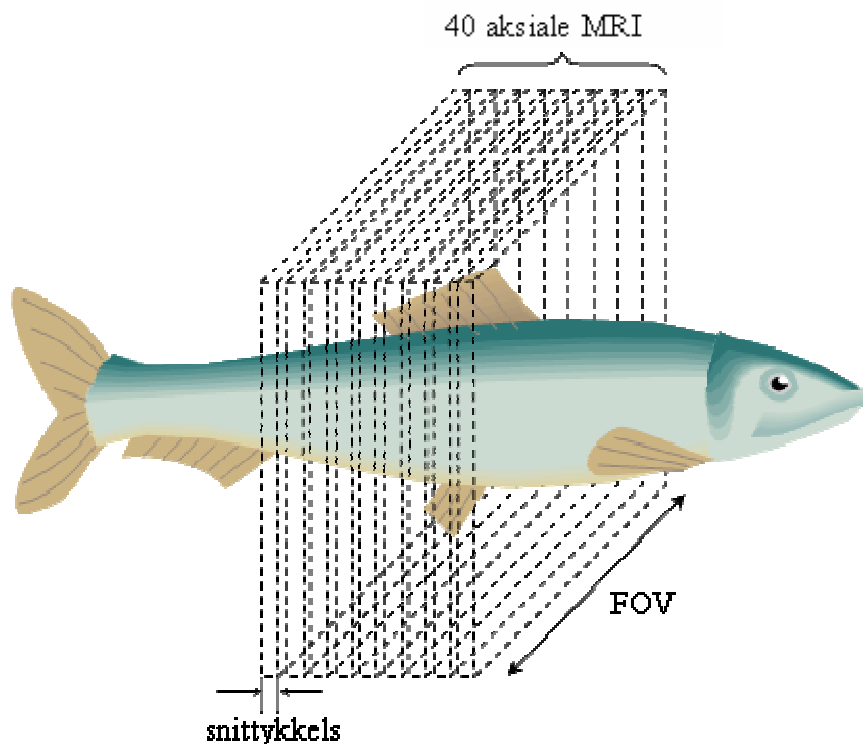
### 2.1 Fiskeprøver

Råstoffet som ble benyttet var fanget 22.mai 2005 (nordsjøsil) i Nordsjøen. Sil ( *Clupea harengus* L.) var fanget av et norsk kommersielt ringnot fartøy. Fartøyet gikk fra Sotra kl. 00.00 den 21.05.2005 og ankom fiskefeltet 8 timer senere. Se vedlegg 2 for detaljert informasjon om fangsten og toktet. Fisken ble levert i Danmark den 24.05.2005.

Fisken (81 stk) ble delt i to grupper. Fiskene fra den første gruppen (20 stk) ble frosset ned ombord umiddelbart etter fangst. Den andre gruppen (61 stk) ble kontinuerlig observert i løpet av 32 timer etter fangst for forekomst av synlige tegn på buksprengning. Sil ble visuelt klassifisert i 3 ulike grupper avhengig av grad av buksprengning (1: ingen buksprengning, 2: synlige tegn på buksprengning og 3: fisken er buksprengt).

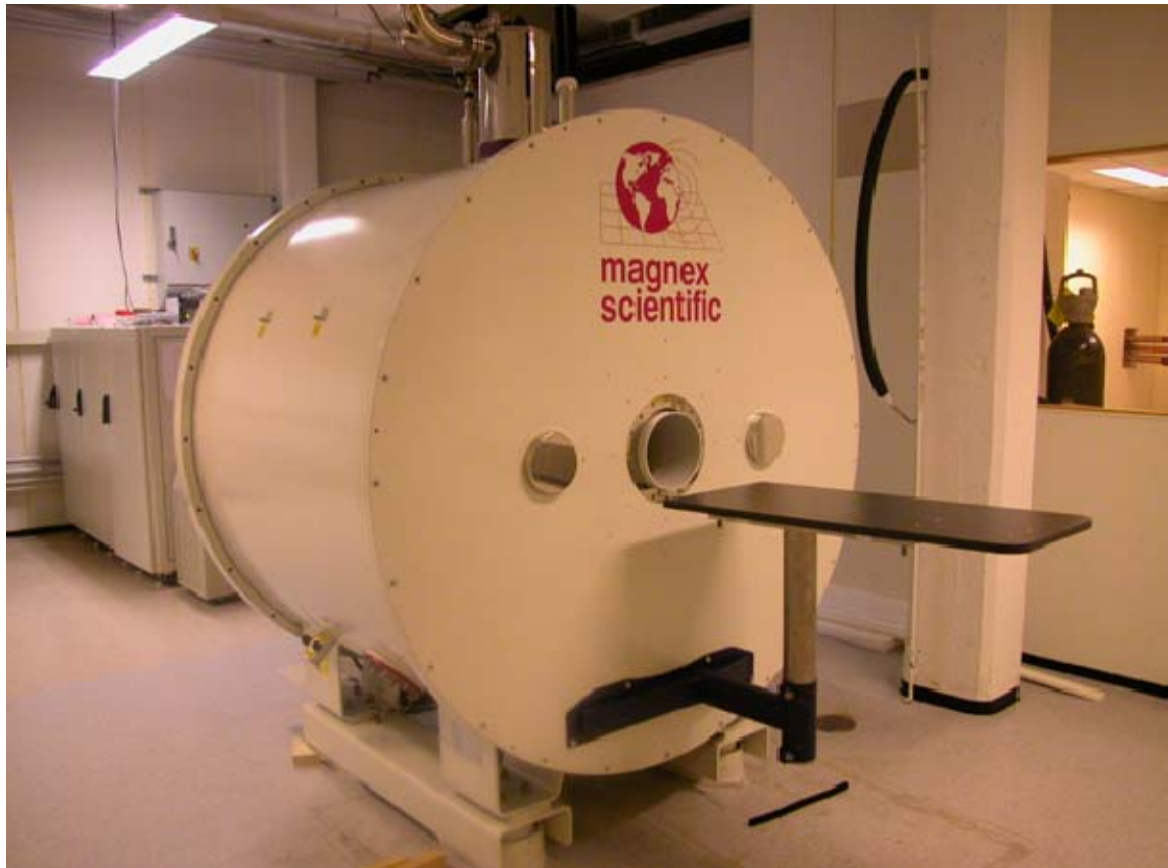
### 2.2 MRI undersøkelser

Buksprengning ble studert i ulike individer gjennom observasjon av endringer i anatomisk struktur (indre og ytre endringer). Dette ble gjennomført ved å ta en tidsserie av flere aksiale MRI snittbilder i hel sil (på tvers av fisken) som dekket et område fra gjeller til gattåpning som vist i *Figur 2*.



*Figur 2. Lokalisering av MRI aksiale snitt i fisken*

Alle MRI undersøkelser var utført på Bruker Avance AV300 dyremagnet (Bruker Optik GmbH, Tyskland) utstyrt med 72 mm  $^1\text{H}$  volum probe (se *Figur 3*). Feltstyrken i denne magneten er 7 Tesla som tilsvarer 300 MHz i proton resonansfrekvens. Systemet har en horisontal åpning med avbildningsområde på 6 cm i diameter og 10 cm i lengde.



***Figur 3. Bruker Avance AV300 dyremagnet (Bruker Optik GmbH, Tyskland) utstyrt med 72 mm  $^1\text{H}$  volum probe***

*Forsøk 1.* I det første eksperimentet ble to sild (en fra hver gruppe, dvs. en uten og en med synlige tegn til buksprengning) tint opp ved romtemperatur (20 °C) i ca. 3 timer. *Figur 4* viser fisken etter tining. Deretter ble hver fisk pakket inn i plastfolie og begge fiskene ble plassert på en pleksiglassholder før plassering i magneten. Fiskene ble plassert ved siden av hverandre med buken opp og gattåpningene justert likt i forhold til hverandre. Et tynt rør av glass (ca. 1 mm diameter og 1 cm lengde) ble fylt med vann og lukket i begge ender. Denne ble satt inn mellom fiskene på linje med deres gattåpning. Røret med vann er synlig i MRI bildet og markerer det aksiale snittet som går gjennom gattåpningen.





**Figur 4. Opptint sild med og uten synlige tegn til buksprengning før MRI analyse i forsøk 1.**

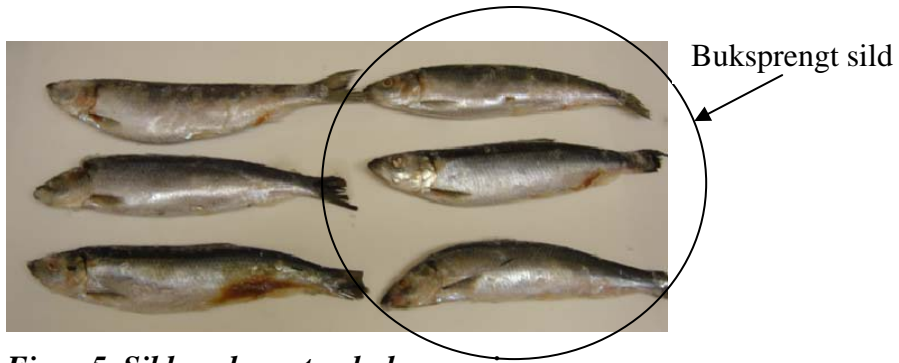
I dette studiet ble 18 identiske MRI opptak utført med ulike tidsforsinkelser mellom hvert opptak. I løpet av hele eksperimentet har fisken vært uberørt for å unngå endringer i geometrien. Hele tidsserien tok omtrent 40 timer. MRI bildene ble tatt vha RARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) protokoll med følgende parametre: antall ekko = 8, inter-ekkotid (TE) = 10.3 ms, ventetid (TR) = 3.1 s, matrisestørrelse =  $256 \times 256$ , avbildet område (FOV) = 9 cm, snittykkelse = 2 mm og antall repetisjoner (NA) = 8, antall snitt = 35. Den totale opptakstiden for hvert eksperiment i tidsserien var 28 min. Romlig oppløsning var på 0,35 mm/piksel.

Forsøk 2. I forsøk 2 ble kun en fisk fra gruppen med synlige tegn til buksprengning avbildet. Opptak ble utført kun av bukområdet for å få en bedre romlig oppløsning i bildene. Bildene ble tatt vha MSME (Multi-Slice Multi-Echo) protokoll med følgende parametre: ekkotid (TE) = 10.2 ms, ventetid (TR) = 620 ms, matrisestørrelse =  $256 \times 256$ , avbildet område (FOV) = 32 mm, snittykkelse = 2 mm og antall repetisjoner (NA) = 6. Den totale opptakstiden for hvert eksperiment i tidsserien var 16 min.

Bruk av TR som er kortere enn  $5 \cdot T_1$ , hvor  $T_1$  er gjennomsnittlig "spin-lattice" relaksasjonstid i sild (ca. 400 - 600 ms), sørget for  $T_1$  vekting i bildene. Dette er en vanlig fremgangsmåte for å oppnå bedre intensitetskontrast mellom kollagen- eller fettvev og muskelvev i biologiske systemer.

### 2.3 Høyoppløsnings NMR spektroskopi

Høy oppløsnings NMR spektroskopi, ved bruk av magic angle spinning teknikken, er benyttet til å studere intakte muskelprøver av sild med og uten buksprengning. Selv om denne teknikken strengt tatt ikke kan betraktes som ikke-destruktiv (siden man må velge en liten vevsprøve som skjæres bort fra fisken og settes i en spesiell prøvebeholder), gir den nyttig informasjon om prøven, da metoden ikke krever ekstraksjon av de relevante molekylene. I innledende studier ble det gjennomført ulike analyser av sild med og uten tegn til buksprengning hvor optimale NMR oppsett ble valgt for problemstillingen (ref. vedlegg 1). Spektrene viste at det er mulig å oppnå informasjon om detaljert kjemisk sammensetning i prøvene uten noen form for ekstraksjon før analyse. Siden  $^1\text{H}$  NMR viste ulikheter i spektrene ble det valgt å studere denne metoden videre ved uttak av 6 sild som var lagret nøyaktig like lenge i RSW tank, hvorav 3 ble betraktet som buksprengt og de andre 3 var uten tegn til buksprengning (se Figur 5). Prøveuttakene er vist i Figur 6.



*Figur 5. Sild med og uten buksprenging*



*Figur 6. Prøveuttak av silda til høyfelts NMR spektroskopi.*

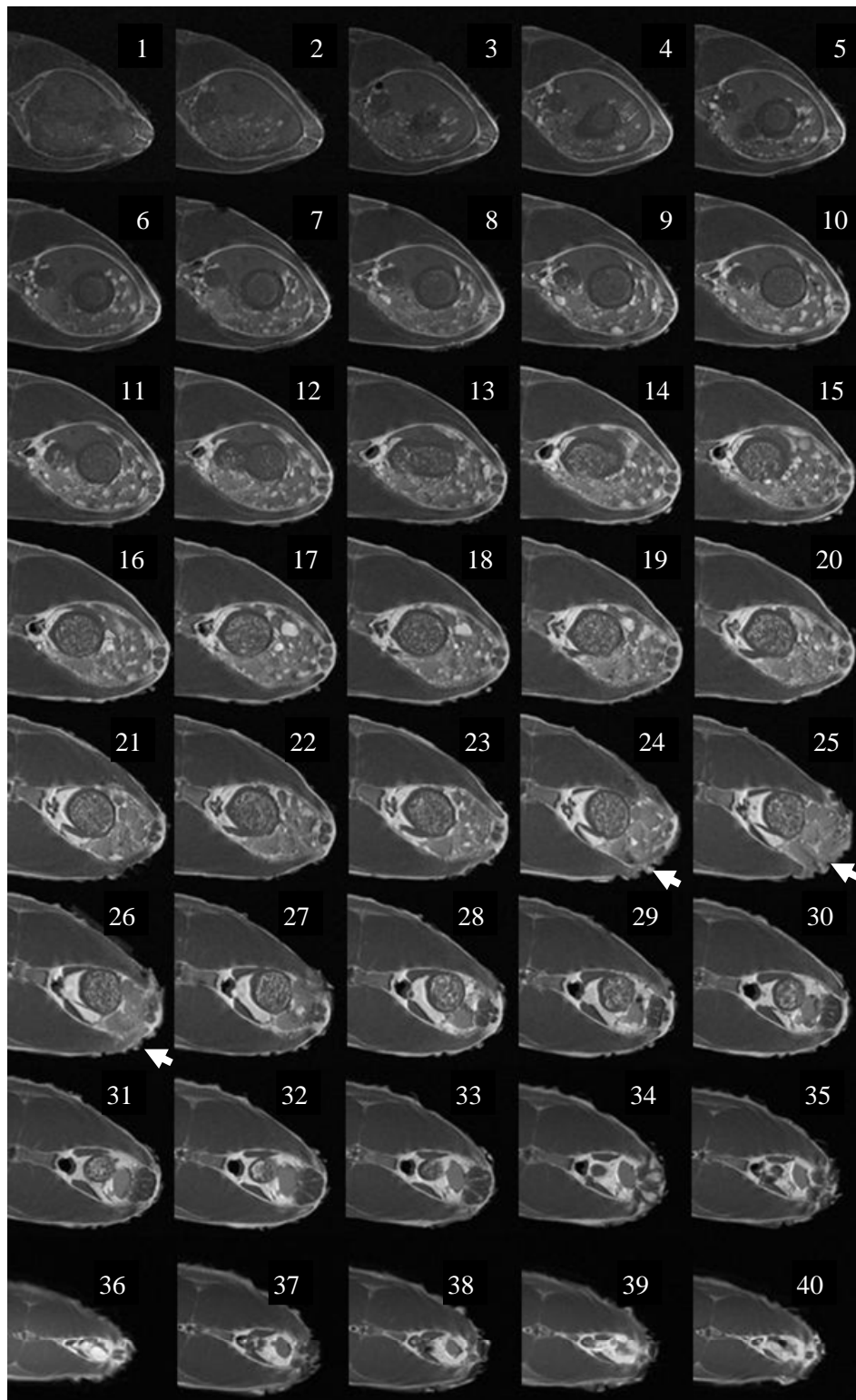
### 3 Resultater

#### 3.1 MRI undersøkelser av buksprenging

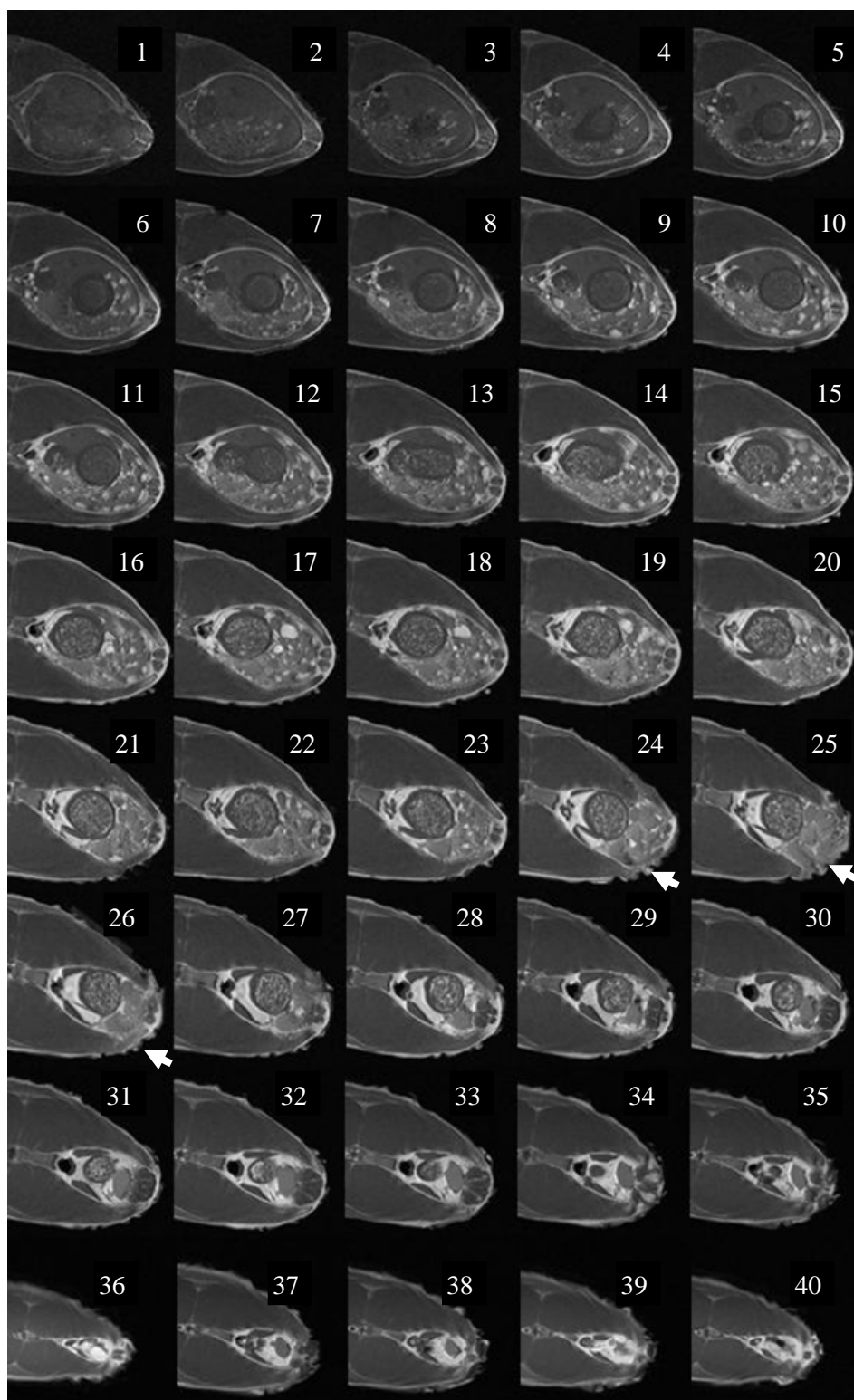
*Forsøk 1.* Figur 7 viser bilder av snitt nummer 1 (første snitt fra hodesiden) fra forsøk 1 (tidsstudie av to sild). Tidspunkt fra forsøksstart (første bildet,  $t = 0$ ) er indikert på hvert bilde. Flere indre organer og strukturer er gjenkjennelig på bildene: magesekken, tarm, rød muskel og piloric caeca.

Vi ser at med tiden endres fiskens geometri og de blir trykket sammen i vertikal retning. Dette kan forklares av generell endring i vevsteksturen samt gravitasjonsstyrke. Mageinnhold (merket med "m" i bildet) har ikke fått synlige ødeleggelse og er i hovedsak inntakt selv etter 40 timer. Bildeserien viser at bildet som er tatt 13 timer og 29 min etter forsøksstart at fisken til venstre (gruppe 1: buksprengt) har utviklet et stort hull i bukdelen (merket med en asterisk) som ekspanderer med tiden. Fisken til høyre (gruppe 2) har ingen synlige ødeleggelse ved samme tidspunkt. Fisken til høyre har fått et lignende hull 18 timer og 46 min etter forsøksstart, mens fisken til venstre har fått en mye større ødeleggelse (frafall) av bukdelen på samme tidspunkt. Dette tyder på at aktiviteten av vevs-ødeleggende enzymer i buken sannsynligvis var større i fisk med synlige tegn til buksprengning sammenlignet med fisk uten tegn på buksprenging.

#### Forsøk 2.

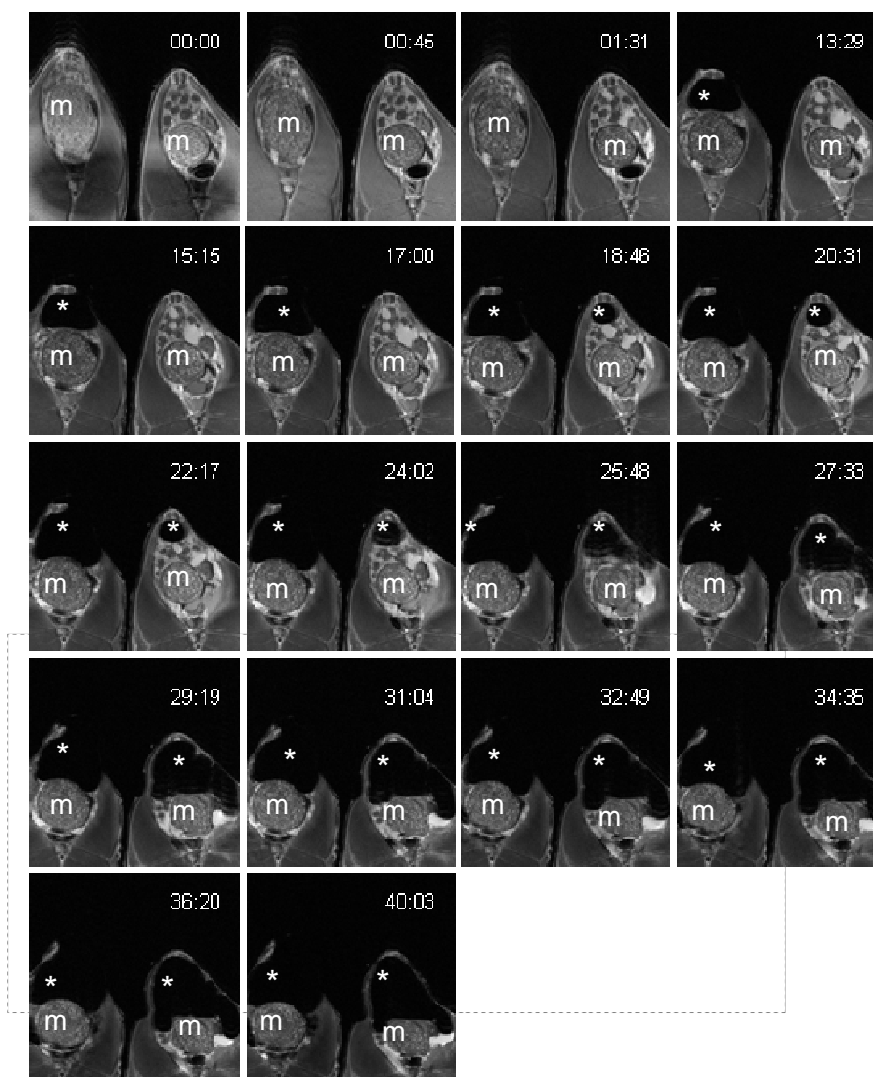


**Figur 8** viser bilder av alle snitt fra første studium (ved  $t = 0$ ) i Forsøk 2. Indre organer og strukturer er mer synlige på disse bildene enn de fra Forsøk 1 pga. bedre romlig oppløsning (0,125 mm/piksel). Som vi ser i

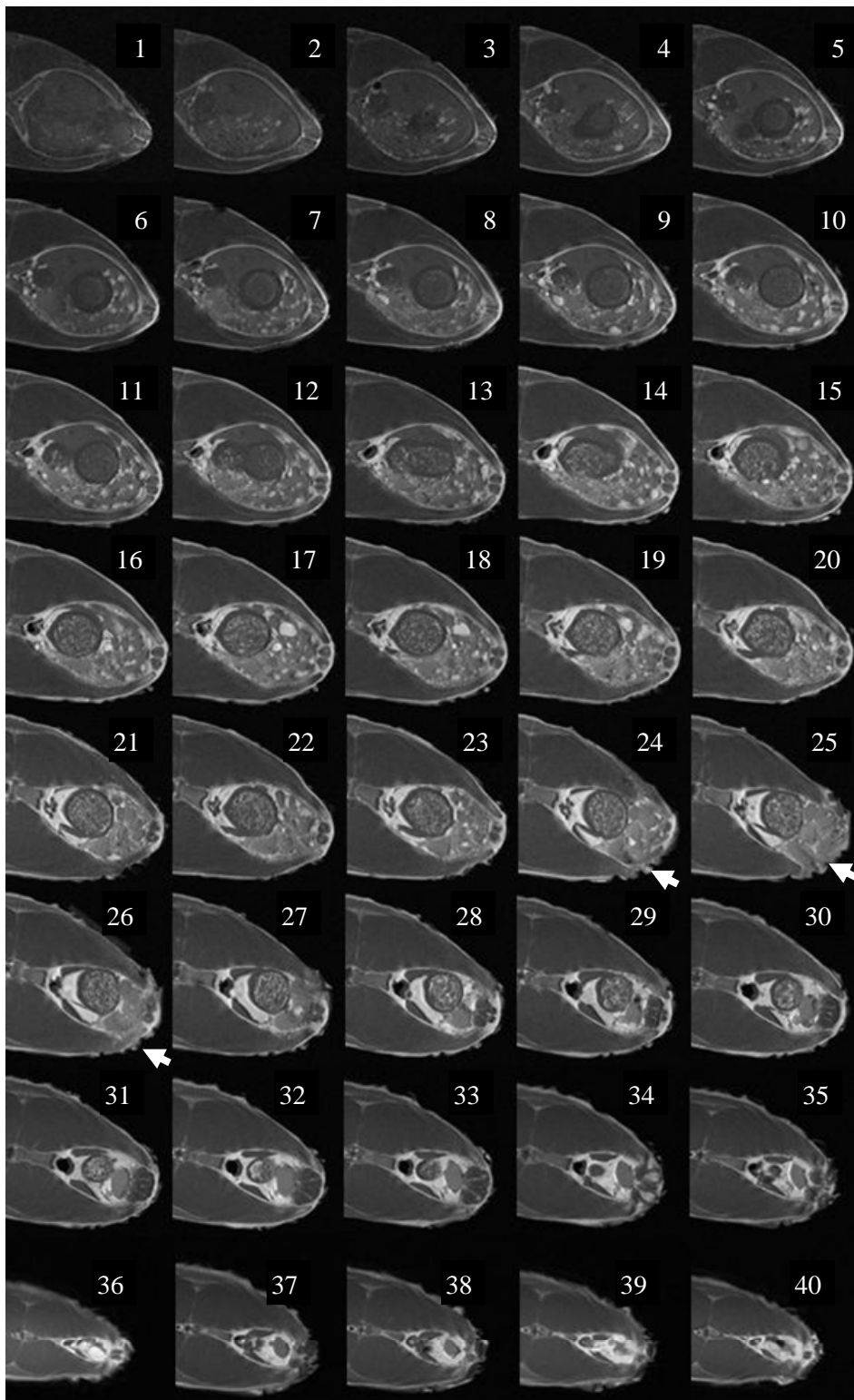


Figur 8, er muskel og skinn på magesiden av fisken (bukken) ødelagt i snittene 24 t.o.m. 26. Dette tilsvarer stedet på fisken der buken har en utvendig synlig mekanisk sprekk på overflaten. Tidsutvikling av snitt nummer 25 (midt på fisken, snitt med mekanisk sprekk på skinn side) er vist i Figur 9. Tidsforsinkelse mellom de ulike bildene i serien var ca. 2 timer som indikert på bildene.

Etter forsøket ble fisken tatt ut av magneten og fotografert uten å fjerne innpakningen fra toppen og fra undersiden (se *Figur 10*). Betydelige mengder av væske hadde runnet ut av fisken og samlet seg på undersiden mellom fisken og pakningen. Som i forsøk 1 så vi at fisken ble over tid trykt sammen i vertikal retning grunnet endring i teksturen, og vi observerte heller ingen synlige ødeleggelser av mageinnhold

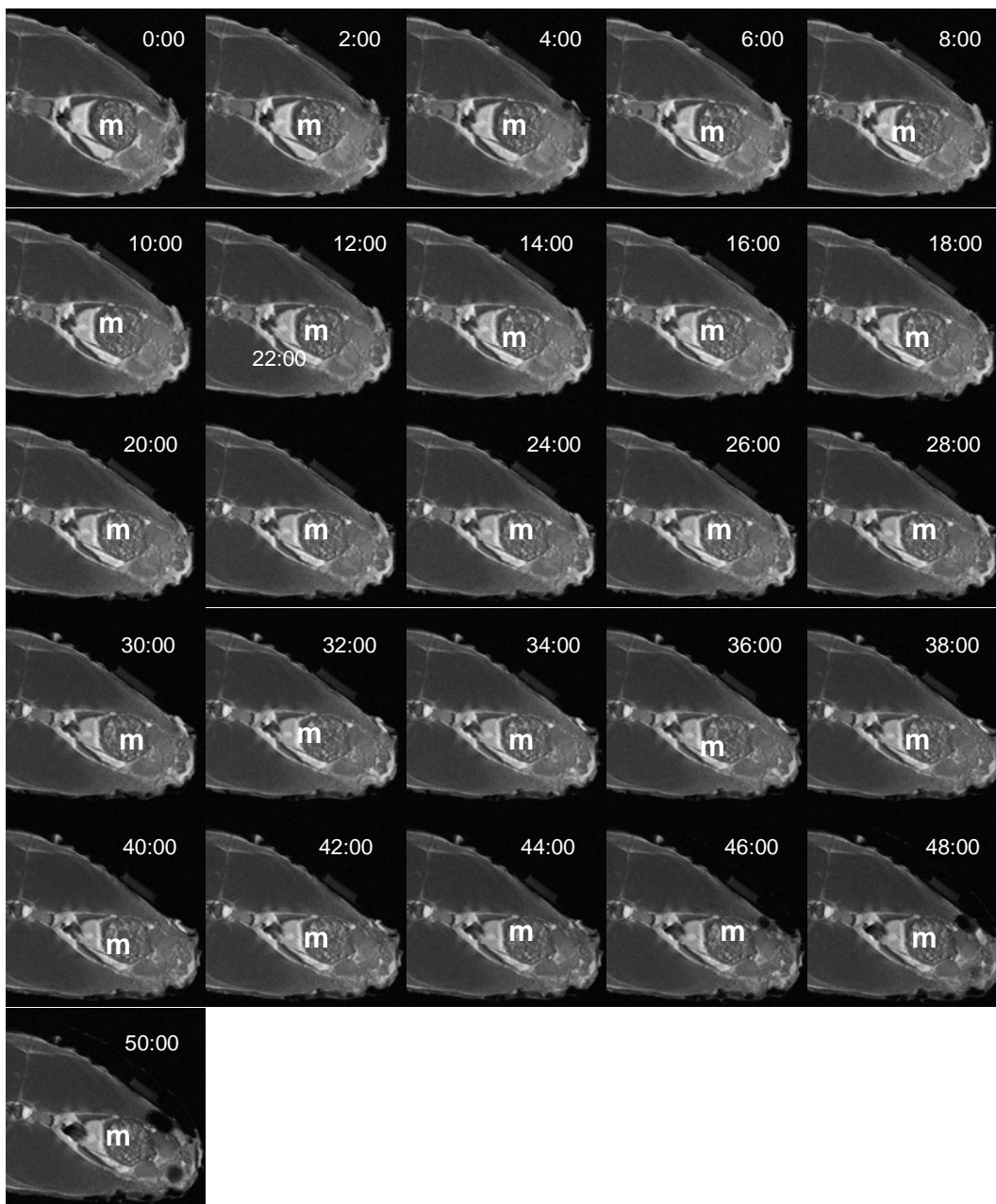


**Figur 7. Resultater av forsøk 1 – tidsserie av MRI bilder av snitt nummer 1 (hodeside). Sild til venstre hadde synlige tegn til buksprengning før frysing ombord, mens sild til høyre ble frosset ned helt fersk. Forløpt tid fra forsøksstart er vist på hvert bilde. Tidsforsinkelse mellom de ulike bildene i serien var ikke lik på grunn av teknisk feil i automatisk eksperimentell. M, magesekken; \*, hull ibukkdelen nevnt i teksten.**



**Figur 8. MRI bilder av alle snitt fra første opptak ( $t = 0$ ) i forsøk 2. Nummereringer på snittene starter fra hodesiden (snitt 1) til halesiden (snitt 40). Pilen indikerer hvor buken begynner å løse seg opp.**





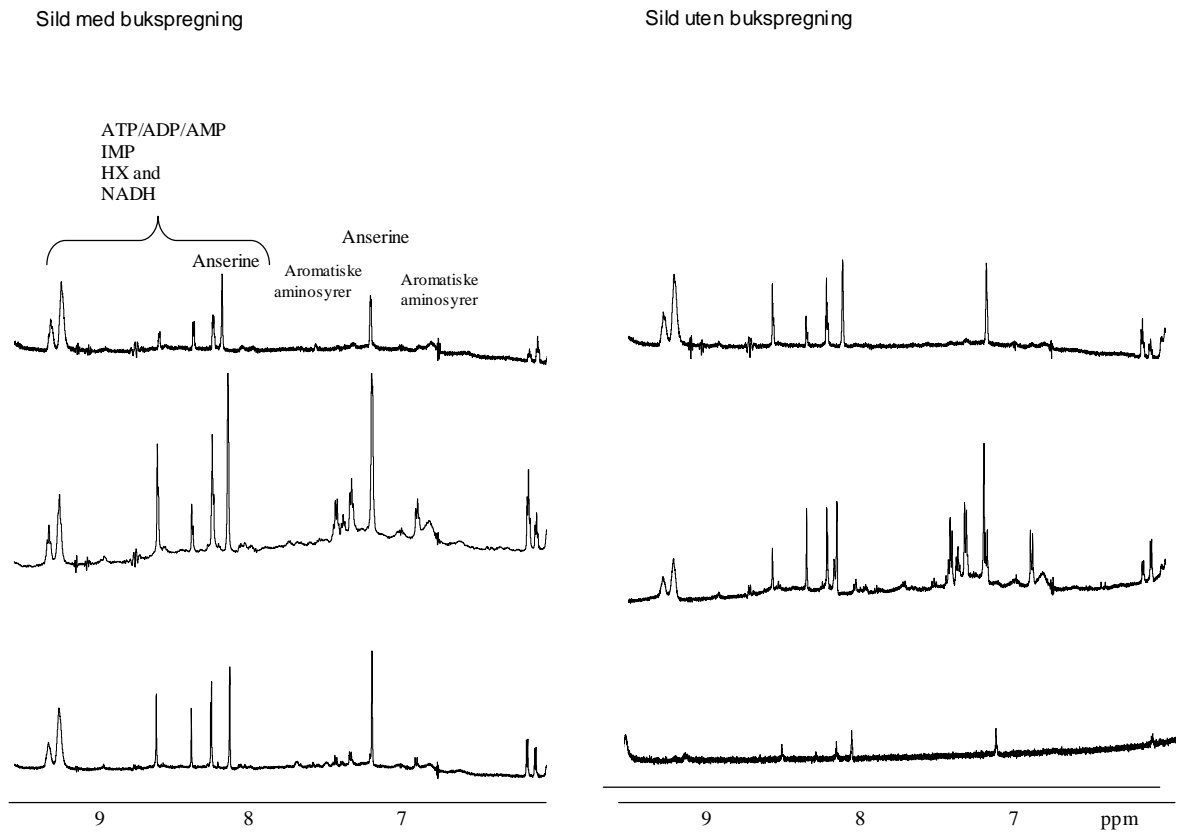
*Figur 9. Forsøk 2 – tidsserie av MRI bilder (snitt nummer 25 - midt på fisken). Forløpt tid fra forsøksstart er vist på hvert bilde. m, magesekken*



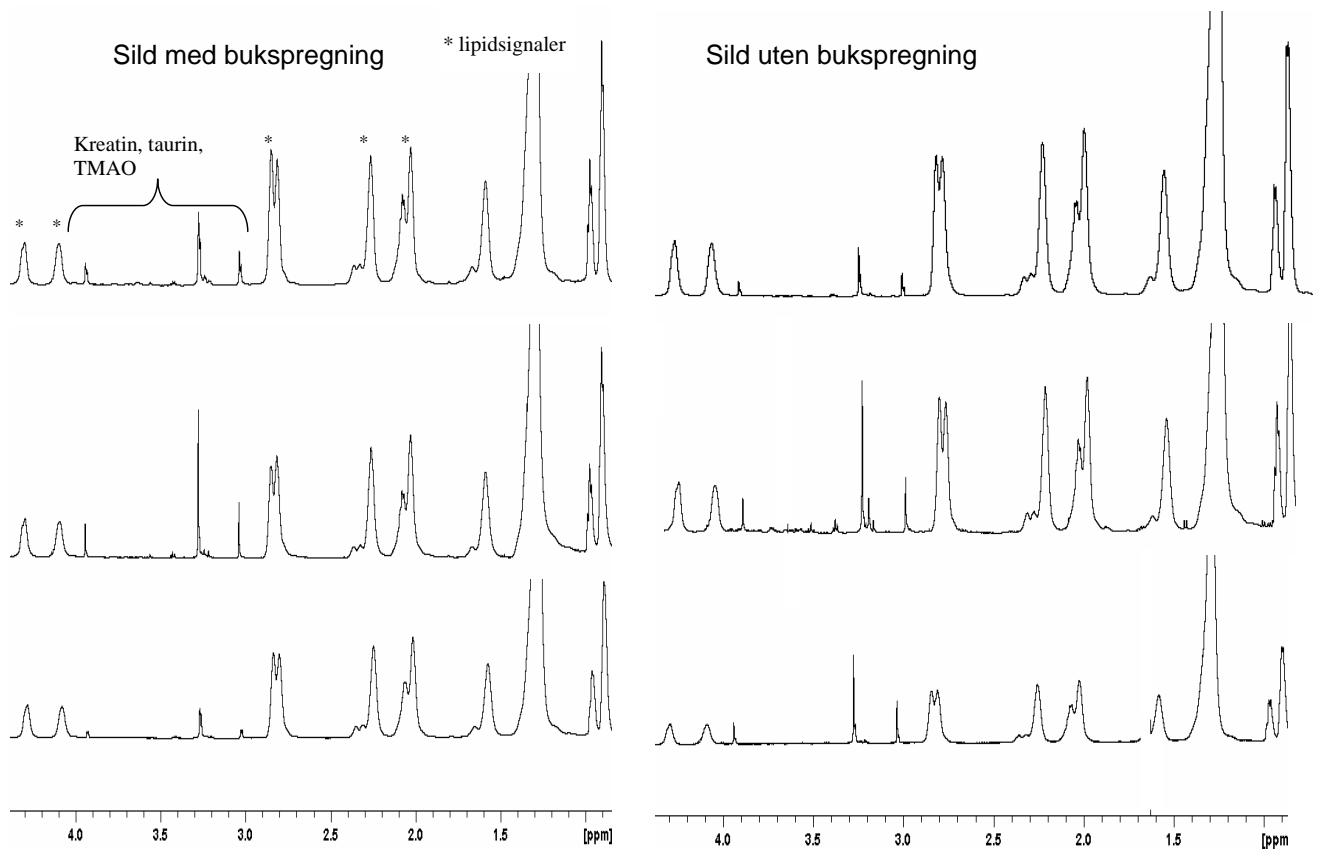
**Figur 10.** Fisken tatt ut av magneten etter tidsserie ble (Forsøk 2) fotografert uten å fjerne innpakningen fra toppen (venstre bilde) og fra undersiden. Betydelige mengder av væske har trukket ut av fisken og samlet seg på undersiden mellom fisk og pakning (bildet til høyre).

### 3.2 Høyoppløsnings NMR spektroskopi

Spektrene viste forskjellig intensitet av ulike komponenter i prøven, eksempelvis aromatiske aminosyrer, ulike adenosinfosfater (ATP, ADP og AMP), IMP og hypoxanthin (nedbrytingsprodukter av ATP) samt TMAO (se *Figur 11* og *Figur 12*). Studier av disse komponentene viste ingen konsekvent forskjell mellom fiskeprøver med og uten buksprengning. Forskjell i innhold av adenosinfosfater og hypoxanthin i fisken kan like gjerne forklares ut i fra ulike forhold i fangstprosessen (stress og håndtering av fisken), som forskjell mht. grad av buksprengning. Vi har dermed ikke funnet klare indikatorer på buksprengning gjennom disse analysene. Dette kan trolig forklares ut i fra hvor prøven ble tatt ut av fisken. Fiskene som var klassifisert som buksprengt hadde disse visuelle sprekkene i ulike partier av buken (*Figur 6*). Det ble bevisst valgt å ta ut prøver på nøyaktig samme sted på hver sild, slik at man kunne eliminere opprinnelige forskjeller i kjemisk sammensetning som kunne skyldes forskjeller i ulike partier av fisken. Sprengt vev egner seg ikke til prøvetaking, da det får fort en flytende konsistens som gjør prøvebehandlingen vanskelig og det er umulig å unngå kontaminering. I tillegg er det høyst sannsynlig at plasseringen av fisken under lagring påvirker hvor sprengning skjer, da lekkasje fra mage/tarm-innhold under lagring følger gravitetskraften. Vi tok prøvene fra et område hvor væsken renner fra, og ikke hvor væsken blir samlet inn. Dette på grunn av den flytende konsistensen og for å unngå kontaminering.



**Figur 11. Utdrag av HR MAS spektra (6-10 ppm) av sildemuskel med og uten buksprengning. Områder med ulik signalintensitet er avmerket.**



**Figur 12. Utdrag av HR MAS spektra (1-5 ppm) av sildemuskel med og uten bukspregning. Områder med ulik signalintensitet er avmerket.**

#### **4 Oppsummering og konklusjon**

Vi har påvist, for første gang, ved bruk av MRI (Magnetic Resonance Imaging) at sprengning kan vanskelig ha sin opprinnelse i magesekken, da dette organet var tilnærmet intakt selv etter 40 timer ved (varm, 20-25°C) romtemperatur. Dette indikerer at det sannsynligvis er annen proteolytisk aktivitet enn pepsin som er aktiv under buksprengning i sild. Videre viser arbeidet at tarmregionen begynte å løsne og fløt ut fra fisken, samtidig som buken (muskel og skinn) også mistet sin integritet ved å sprekke og til slutt forsvinne. Disse resultater bekrefter de biokjemiske analysene som Felberg oppnådde i sine undersøkelser, og hypotesen om en mulig lekkasje av trypsin-lignende enzymer.

Ved bruk av NMR spektroskopi fant vi derimot ingen klare indikatorer på buksprengning i silda. Magic Angel Spinning (teknikken vi har brukt i dette studium) er muligens ikke optimalt for slike studier, da man kun kan benytte mindre områder av fisken.

#### **5 Fremtidige arbeider**

Både for fiskerne og industrien har åte og kvalitetsforringelsen som skjer som følge av dette vært et stort problem og vanskelig å forholde seg til med hensyn til å gradere og typebestemme åteinholdet.

Forventningene til å finne en enkel metode for å måle åteinhold ombord på fiskebåtene har derfor vært en ønsket målsetning. Selv om at vi fra start av var klar over at det var et behov for grunnforskning, ser det ut som om problemstillingen er mer komplisert en først antatt. Vi ser derfor et stort behov for at forskningen på åte forsetter slik at målsetningen kan oppnås.

Det er høyst sannsynlig, etter fiskerens erfaring, at forskjellige type åte påvirker på forskjellige måter utviklingen (både i tid og intensitet) av buksprengning. Vi ønsker derfor å forsette dette arbeidet med å kartlegge åte-type (ved å finne genetiske markører for å identifisere åte-art) og samtidig dets enzymatiske egenskaper, mens den fremdeles befinner seg i sildens fordøyelsessystem.

## Referanser

Felberg, H.S. & Martinez, I. (2005) Degrading enzyme activities in herring (*Clupea harengus*) muscle and stomach. 35<sup>th</sup> WEFTA Conference; September 19-22 2005, Antwerp, Belgium.

Gildberg, A. [1982] Autolysis of fish tissue – general aspects. Dr. Scient. Thesis, Institute of Fisheries, University of Tromsø, Norway.

Gribbestad, I.S., Aursand, M. and Martinez, I. (2005) High resolution <sup>1</sup>H Magnetic Resonance Spectroscopy of whole fish, fillets and extracts of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) for quality assessment and compositional analyses. *Aquaculture*. In press.

Lødemel, J.B. & Olsen, R.L. [2003] Gelatinolytic activities in the muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*), spotted wolffish (*Anarhichas minor*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Sci. Food. Agric.* **83**: 1031-1036

Lødemel, J.B., Mæhre, H.K., Winberg, J-O., & Olsen, R.L. [2004] Tissue distribution, inhibition and activation of gelatinolytic activities in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol. Part B* Article in press

Martinez, A. & Gildberg, A. [1988] Autolytic degradation of belly tissue in anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Int. J. Food. Sci. Technol.* **23**: 185-194.

Martinez, A., Olsen, R.L. & Serra, J.L. [1988] Purification and characterization of two trypsin-like enzymes from the digestive tract of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Comp. Biochem. Physiol.* **91B**: 677-684

Martinez, A. & Serra, J.L. [1989] Proteolytic activities in the digestive tract of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Comp. Biochem. Physiol.* **93B**: 61-66

**Vedlegg**

1. Notat 21.12.2004: "Undersøke buksprenging i pelagiske fiskearter ved hjelp av ikke-destruktive metoder" (Prosjektnr.: 163347/i10), 10 s.
2. Opplysninger over råstoff og tokt, 1 s.

**Tabell: Detaljerte opplysninger over råstoff/tokt**

Kast	1	2	3	4	5
Fangststed			N 59 (grad) 57 (min) Ø 002 (g) 20 (m)		N 59 (g) 40 (m) Ø 002 (g) 42 (m)
Værforhold	Regn, frisk bris	Regn, sørlig bris	Litt regn, tendens til sol, bris		Laber bris, litt sol og regn
Sjøvannstemp.	9,12 °C	9,18 °C	9,02 °C		9,00 °C
Fangstdato	21.05	22.05	22.05	22.05	22.05
Tidspunkt, hiv	kl. 13.50	kl. 09.40	kl. 12:45		kl. 18:00
Tidspunkt, kast	kl. 15:10	kl. 11:05	kl. 13:45		kl 19:30
Start/stopp pumping			13:40/14:15		19:00/19:30
Lagringstank			BB2 og SB2		BB3 og SBC3
Forhold fisk/vann			BB2: 58 m <sup>3</sup> sild til 212 m <sup>3</sup> vann. SB2: 59/212 m <sup>3</sup>		BB3: 50 m <sup>3</sup> til 157 m <sup>3</sup> vann. SBC3: 30/108 m <sup>3</sup>
Fangstmengde	bomkast	bomkast	110 tonn	bomkast	70 tonn
Snittvekt			155 g		159 g