

# **Utvikling av en industritest for evaluering av fasthet og spaltning i laksefilet**

**U. Erikson (Sintef Fiskeri og havbruk)  
K. Oppedal, G. Bye, G. Strømstad m.fl. (Marine Harvest)**

# Industrietest: Fasthet og spaltning av filet

- 20 fisk fra samme gruppe. Evalueres 4 eller 5 dager etter slakting. Fisken er lagret på is (0 - 4°C; frosset/tinet fisk skal ikke benyttes)
- Superior kvalitet av størrelse 3 - 5 kg
- Mål: (1) kjernetemperatur, (2) vekt, (3) lengde ('fork length'), K-faktor (bruk sløyd vekt + 15%)
- Testen må utføres etter at fisken har gått gjennom rigor mortis
- Venstre filet benyttes (C- eller D-trim). Denne må skjæres av først.
- 5 ulike tester gjennomføres og eventuelle kommentarer kan gis
- **Global kvalitet:** Superior, Medium (M), M+, M-, eller Produksjon

# (1) Generell fasthet av hel fisk

- NB! For å unngå forveksling med rigor mortis, må testen utføres minimum 3 dager etter slakting
- Fisken legges på et bord. Halve fiskens lengde (halen) over bordkanten. Mål avbøying. Fast fisk bøyer lite, mens bløt fisk bøyer mye?

Rigor Index-metoden benyttet post rigor:

**Score:**

**0** :  $< 30^\circ$

**1** : mellom  $30^\circ$  og  $60^\circ$

**2** :  $> 60^\circ$

## (2) Bløt stripe

### Score:

- 0** – Ingen, eller meget svak antydning til bløt stripe
- 1** – Den bløte stripen dekker ca  $1/3$  av filetens lengde
- 2** – Den bløte stripen dekker ca  $1/2$  av filetens lengde

### Merknader

- Noter *lengde* ved avvik fra score 0 - 2.
- Noter *bredden* av den bløte stripen dersom den avviker fra 3 - 5 cm
- Bakerst i haleregionen (få cm) er muskelen ofte 'naturlig' bløt

## (2) Bløt stripe

Bløt stripe 3-5 cm bred mot ryggbeinet.

Mest typisk: haleparti fram mot ryggfinneren (1/2 fileten)



## (3) Spenst/Elastisitet

- Fileten 'brettes dobbel' kant mot kant (muskelside mot muskelside, spordenden øverst)
- Slipp
- Registrer!



### Score:

- 0** – Elastisk: Fileten retter seg ut raskt
- 1** – Noe elastisk: Fileten retter seg ut langsomt
- 2** – 'Slapp': Fileten forblir sammenbrettet

## (4) Fingertest: Nedtrykk og spenst

- Press en finger ned i fileten mellom sidelinjen og ryggfinneren (anslagsvis 1 kg trykk i 2 sek)

### **Score:**

- 0** – Elastisk: Overflaten gjenopprettes
- 1** – Varig avtrykk
- 2** – Fingeren 'går rett gjennom fileten'



**(4) Fingertest: Spent – er fileten elastisk?  
Bløt filet: Trykker lett gjennom, varig avtrykk**

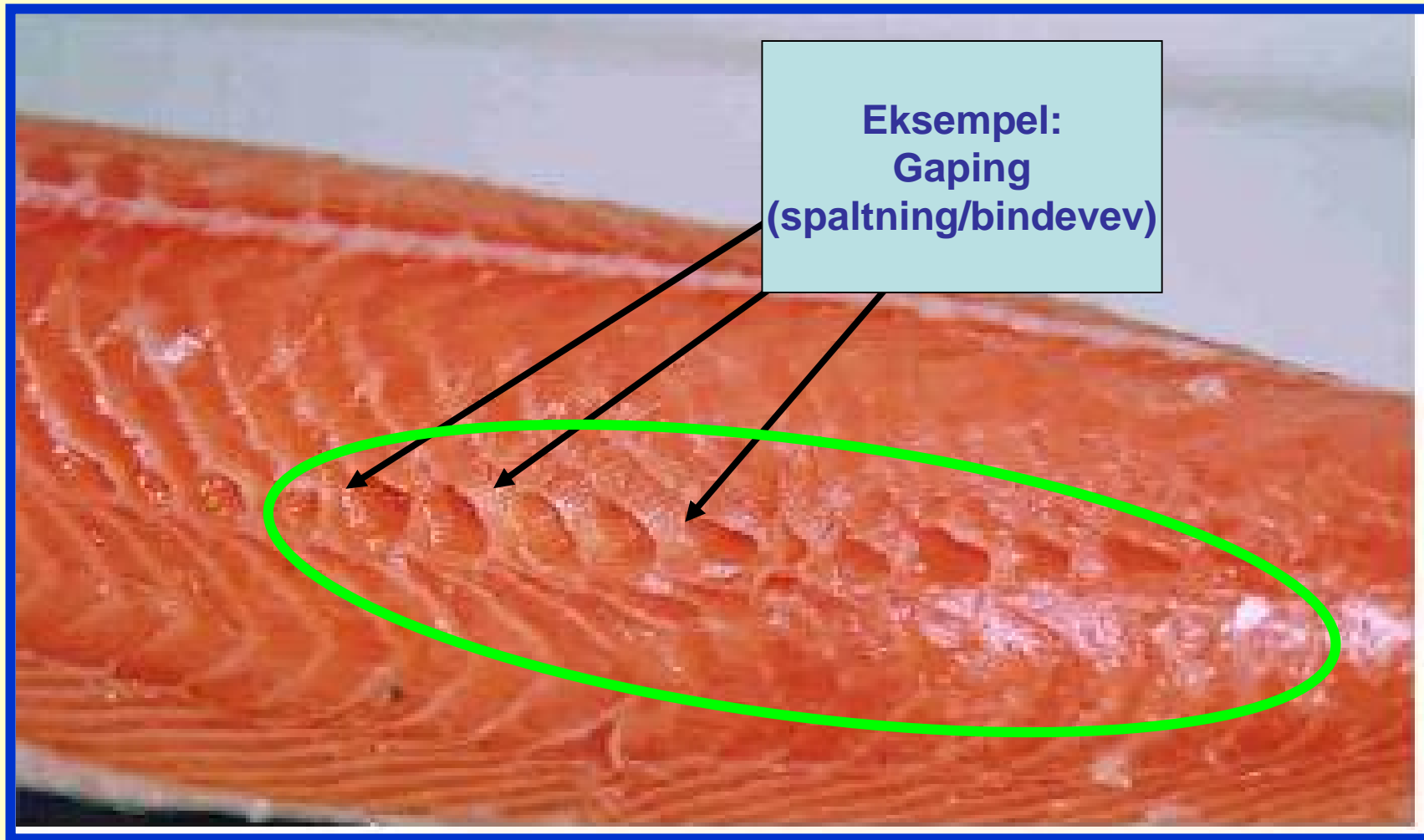




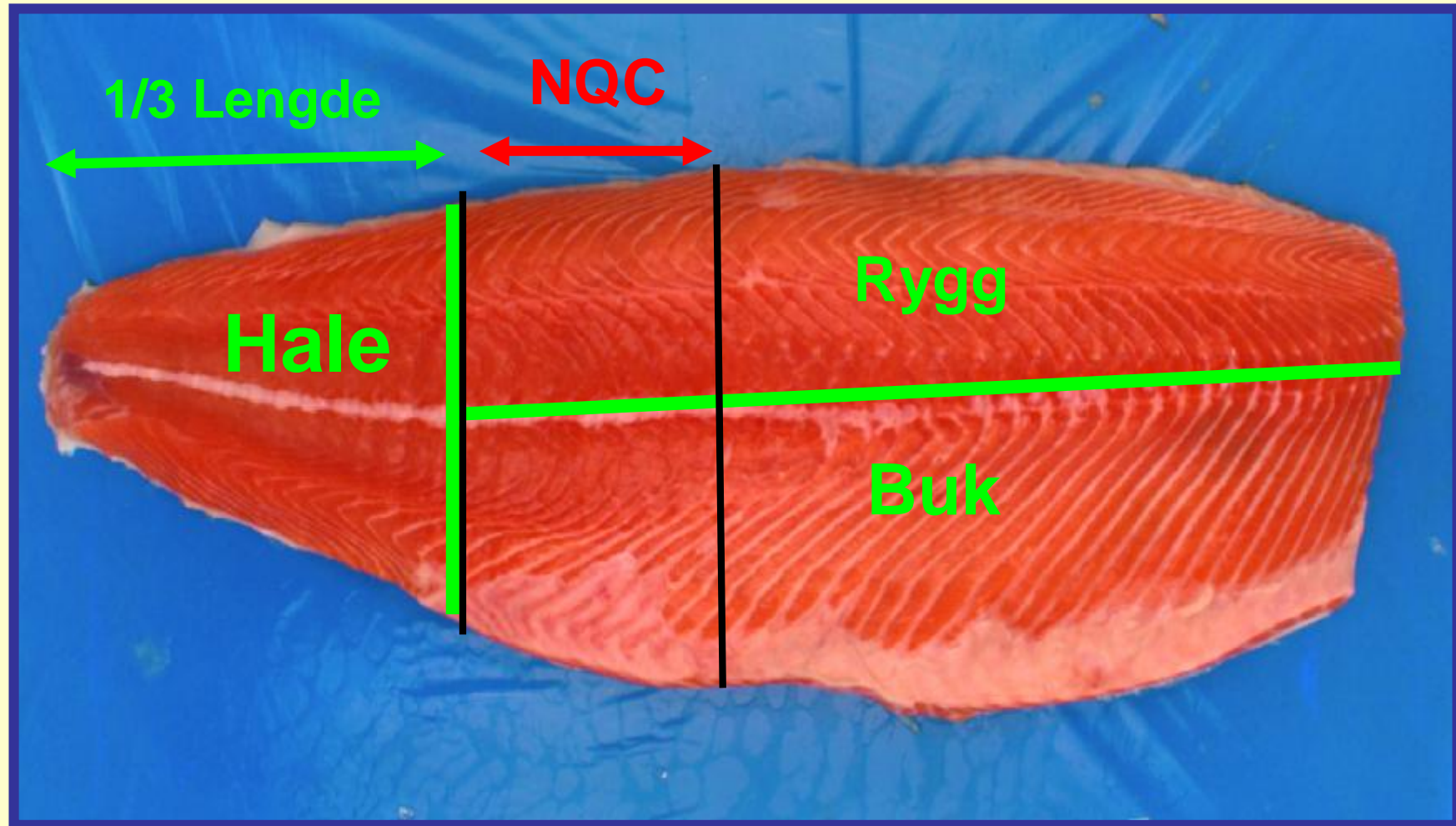
## (5) Filetspaltning (gaping)

- **Tilslutt** skal gaping score bestemmes i 3 ulike soner (rygg, buk og hale; se bilde)
- NB! Gaping skal framprovoseres (simulere for eksempel filetmaskin)
- Legg fileten på bordet. Samtidig som en hånd føres under og presser opp mot fileten, bøyes fileten hardt ut mot sidene
- Typisk spaltes i rygg (på tvers) og langs bløt stripe (se bilde)

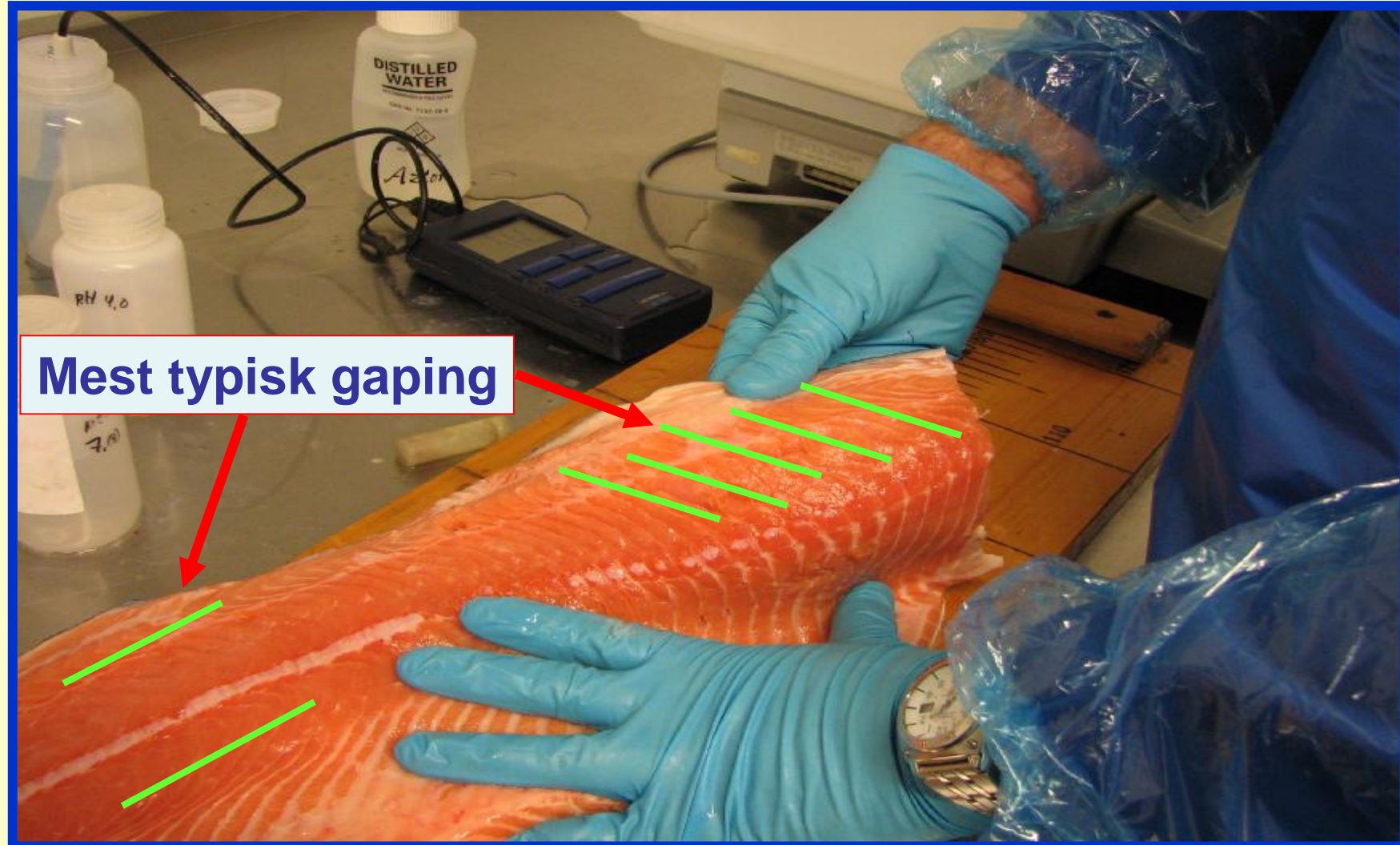
## (5) Filetspaltning (gaping)



## (5) Gaping – Soneinndeling



## (5) Spalter fileten lett ved bøying?



## (5) Gaping

Samme skala benyttes for spaltning i de tre sonene rygg, buk og hale

**Gaping score** (*Andersen m. fl., 1994*):

0 – Ingen gaping

1 – Få spalter (< 5; lengde < 2 cm)

2 - Noen små spalter (< 10)


3 - Mange spalter (>10 små eller noen få store, > 2 cm)

4 - Mye gaping (mange store spalter)

5 – Ekstrem spaltning (fileten holder ikke sammen)

# Total score

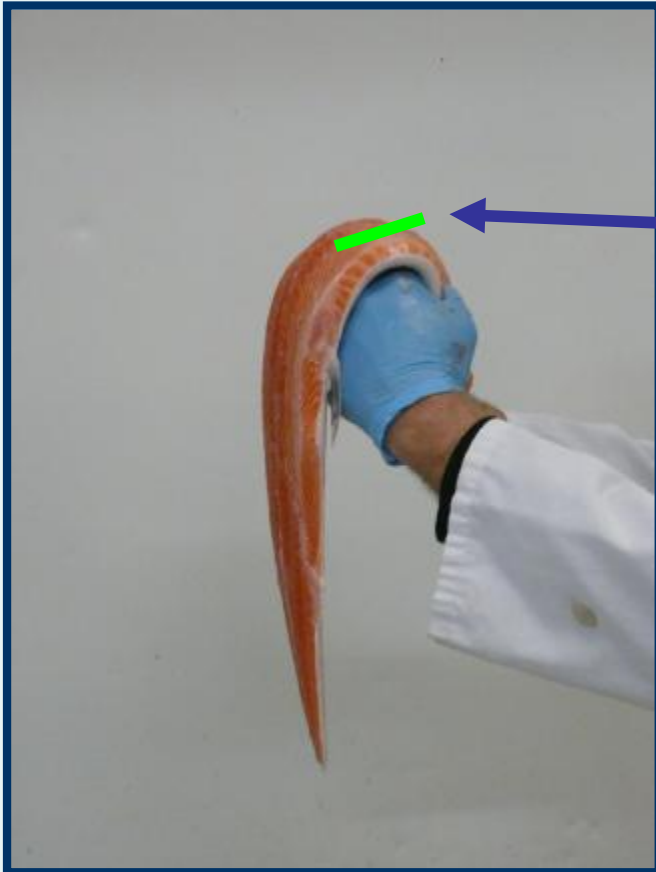
- Total score = Sum Test 1 – 5
- Test 1 – 4 har score 0 – 2
- Test 5 har score 0 – 5 i tre soner\*

\*  Vekting av Test 5 (gaping score):  $\frac{\text{rygg} + \text{buk} + \text{hale}}{3}$

Dvs. gaping får noe større vekting enn de andre parameterene (Test 1 –4)



# Forenklet (alternativ) gaping test



Spalter kun her

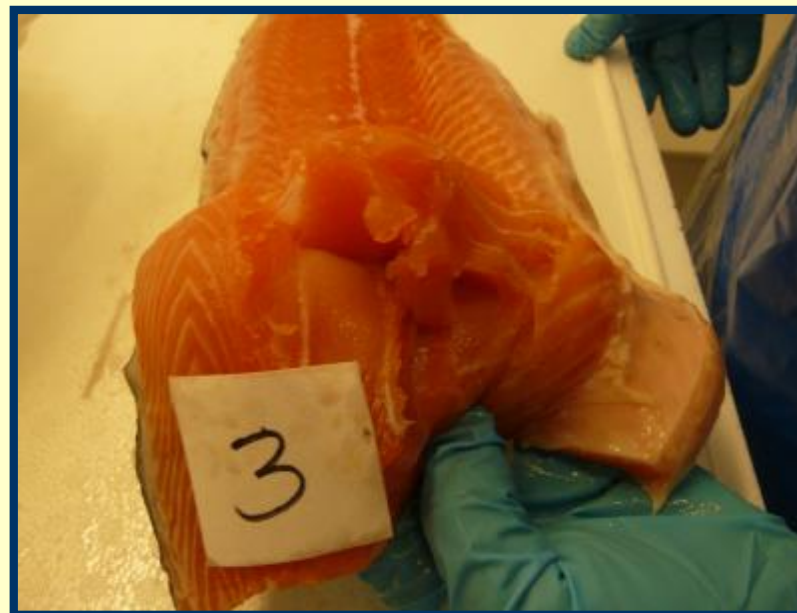
Score 0 - 4 ?



## Alternativ (enklere) gaping test (arbeid pågår...)



Typisk område utsatt for spaltning  
ved bruk av denne testen



Dette ble satt til Score 3  
NB! Foreløpig

**Konklusjon hittil:** (a) Lite område spalter; (b) Må prøves på fisk som i utgangspunktet spalter mindre, dvs kan en lett skille ulike grupper fra hverandre ved denne testen?

# Industrietest - Fingertest

**Score 0 – Elastisk, overflaten gjenopprettes raskt**

Score 1 – Varig avtrykk

Score 2 – Fingeren går rett gjennom fileten

- Ved samtidig sammenlikning av fisk fra ulike lokaliteter, kan en observere tydelige forskjeller i fastheten av filetene
- Likevel gis ofte Score 0 til alle slike grupper
- Instrumentelle teksturmålinger kan fange opp dette

# Gaping

- Erstatte '*gaping score 0 – 5*' med bilder som viser score feks 0 – 4

# Industritest - Modifikasjoner

## UT:

- Bløt stripe
- Vinkel (avbøying av hel fisk)
  - Avbøyning kan i noen grad påvirkes av:
    1. Orientering av fisken i kassen (bøyd?) før test
    2. Hvilken side ligger på ved test
    3. Tempertur i fisken (rundt 0°C)?
- Alternativ gapingtest

## INN:

- Global filetkvalitet (Superior, Medium '+ / -' og Produksjon)

# Fast Fisk – prosjektet

Workshop Rica Hell Hotell 15 og 16. januar 2008

Gudmund Bye



**marineharvest**  
excellence in seafood

# Fast Fisk – prosjektet – Historisk bakgrunn



- **Kvalitetsproblemer på N-1115 med bløt muskel og gaping fra nov/des - 06. Problemet vedvarte hele 2007 – situasjonen er bedret i 2008.**
  - a) **Karakteristikk.**
    - i. **Bløt fiskekjøtt. Ingen elastisitet. Bløt stripe langs ryggsøyle.**
    - ii. **Oppløsning av cellemembran og bindevev**
    - iii. **Proteinholdig væske i bindevevsområdet, årsak til væsketap i røkt laks.**
  - b) **Et regionalt problem?.....**
  
- **Egne undersøkelser av kvalitetsproblemet i 2006 – 2007**
  - a) **Sammenligninger av slaktefisk mellom egen lokaliteter og egne slakteri.**
  - b) **Sammenligninger mellom egen og ekstern fisk.**
  - c) **Kundebesøk med testinger av egen fisk fra forskjellige slakteri.**
  - d) **Organisering av ”Fast Fisk – prosjektet.**

# Fast Fisk-prosjektet – Historisk bakgrunn

---



- **SINTEF:**
  - **Målsetning – teksturoppfølging - analysere og beskrive fysisk og kjemisk hva som er typisk karakteriserer ”bløt muskel.**
  - **Kartlegging av kvalitet gjennom verdikjeden og geografisk utbredelse.**
  - **Utvikling av ”Industristandarden”**
  
- **FHL- prosjekt**
  - **”Kartlegging av faktorer som påvirker teksturegenskaper i oppdrettslaks – ved multivariant tilnærming.**  
**Dernest på grunnlag av analysene å finne ut hvilke tiltak som kan settes inn for å gi oppdretterne bedre mulighet for å styre kvaliteten i sluttproduktet”**



# Fast Fisk – prosjektet - Generasjonsuttak 2008

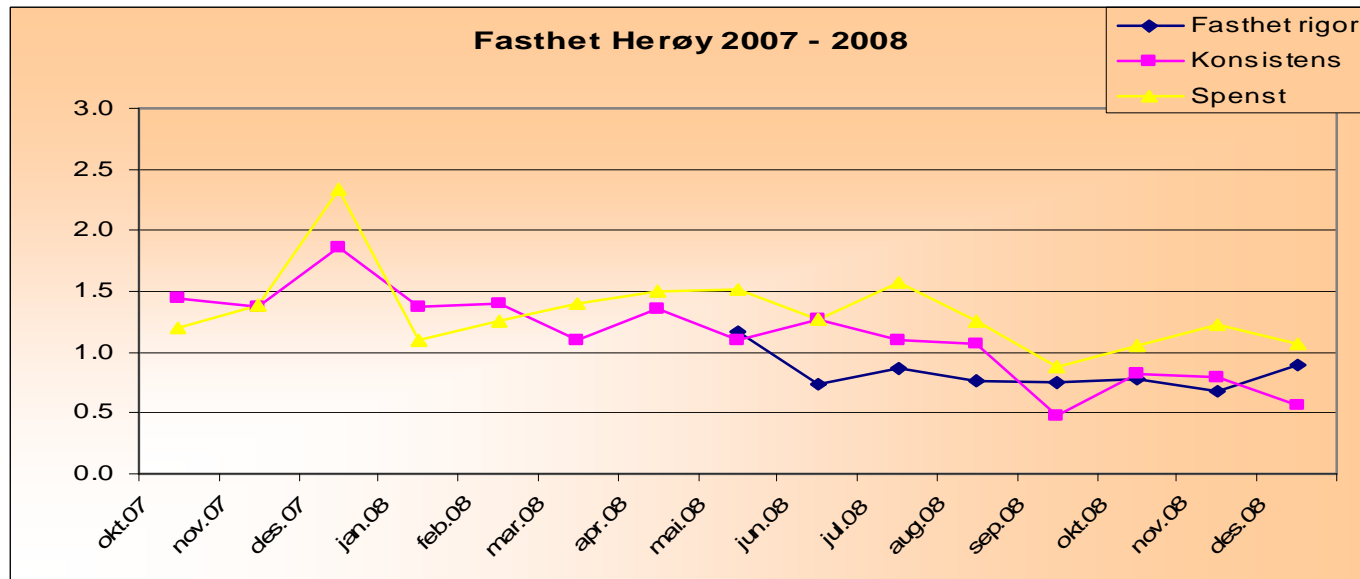


- **Kriterier for generasjonsuttaket.**
  - Følge utviklingen gjennom vekstfasen av fisken fra forskjellige generasjoner, stammer, smolt- og fôrleverandører.
  - Avdekke forskjeller mellom nord og sør.
  - Sammenligne fisk fra forskjellige lokaliteter.
  
- Valg av lokaliteter. Nord – Sør (10 i nord og 3 i sør)
- Generasjoner. H06, V07, H07 og fra sept V08
- Vektgruppe. (H06 – 4 til 7 kg. V07- 1 til 5 kg. H07- 0,1 til 0,7 kg)
- Fôrleverandør; Biomar, Ewos og Skretting
- Stamme; AkvaGen, Salmobreed, Mix AG/Mowi (V08 Mowi).
- Klekkeri; Kongsmoen.Fister og Kvingo.
- Smoltleverandør
  - Sør: Eidane. Fister smolt og Kvingo
  - Nord: Flatanger/Salbruket. Glomfjord/Nordheim. Sagafisk. Salsbruket. Tosbotn og Tosbotn/Salsbruket

# Fast Fisk – prosjektet: Generasjonsuttak 2008

- **Tester/analyser**
  - **Industrietest – (egen protokoll - en subjektiv bedømmelse av fileten etter 4 dg på is). Bløt stripe. Spenst. Elastisitet. Fasthet. Filètspalting (3 soner) Farge. Temp. Vekt. Lengde. K-faktor.**
  - **Histologi. Tekstur, Fett, Farge, Aminosyresammensetninger, Mineraler (Lagringsprøver er tilgjengelig)**
- **Uttakastidspunkt**
  - **Mai: Testing av 3 stk H06 (4-9 kg), 4 stk V07 (1-3 kg) og 6 stk H07(0,1-0,7kg).**
  - **Sep.: Test av 4 stk V07 (1-4,5 kg) og 7 stk H07 (0,8-2 kg) og 1 V08 (ca 1 kg).**
  - **Nov/des: Test av 4 stk V07 (4-6 kg) og 7 stk H07 (1,5-6 kg) og 1stk V08 (ca 3 kg).**

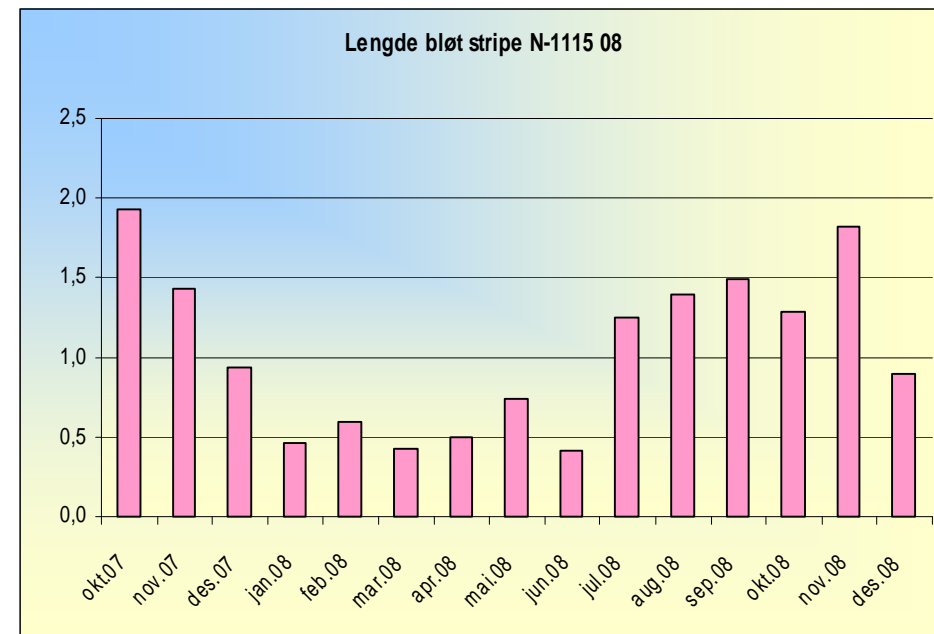
# Fast Fisk- prosjektet N-1115 – Fasthet, spenst og konsistens slaktefisk okt 07 – des 08



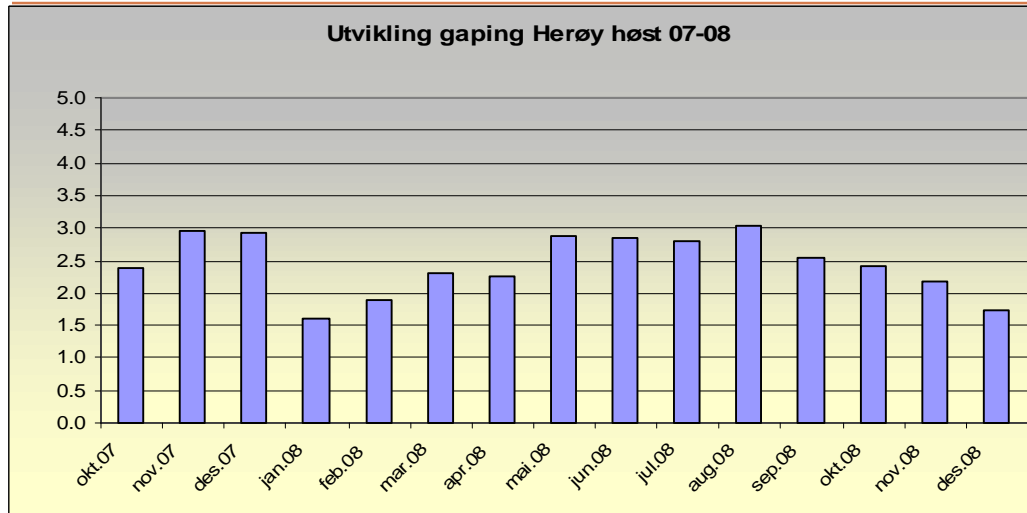
- Ikke bare et Nord problem.
- Forbedringer i konsistens fra 2007 til 2008.
- Større fisk er fastere enn liten fisk.
- Filètens bakparten er svakere enn fremparten.
- Det er ikke avdekket forskjeller mellom stamme, smolt- eller fôrleverandør.
- Kan forekomme tydelige forskjeller mellom ulike lokaliteter.
- Stresshendelser gir reduserte kvalitetsparameter.
- Fastheten varierer med kjernetemperatur og orientering i kasse.

# Fast Fisk- prosjektet N-1115 – Bløt stripe slaktefisk okt 07 – des 08

- All fisk har bløt stripe, (oppdrettsfisk, fisk fra nord, sør, skotsk, kanadisk og villfisk).
- Utvikling av bløt stripe varierer med årstiden.
- Relativt mindre utviklet hos stor fisk.
- Sammenlignet med annen muskel i laksen har denne en ulik kjemisk sammensetning. (Lite bindevev, lite fettavleiring (membranfett), større vannmobilitet og mindre mineralinnhold)
- Spalter lettere mellom denne muskelen og øvrig muskel.
- Lengden er ikke et kvalitetskriterium.
- Er dette en vekstsone i fisken?



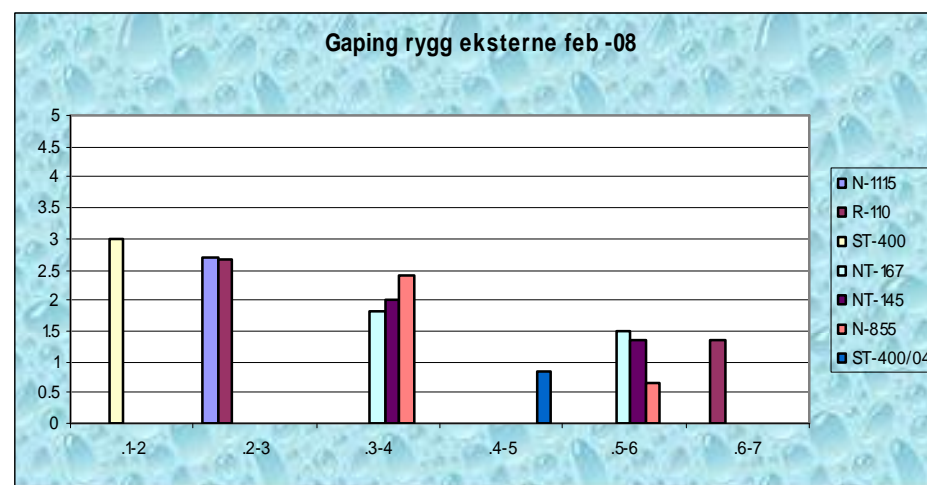
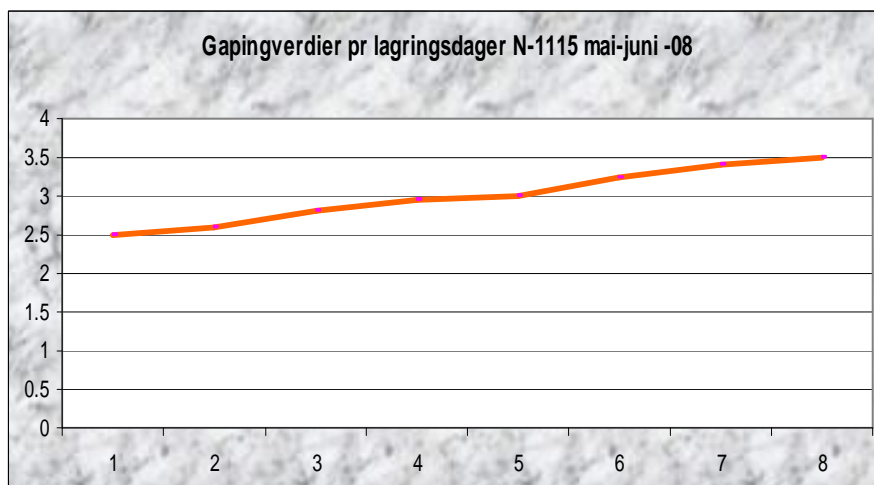
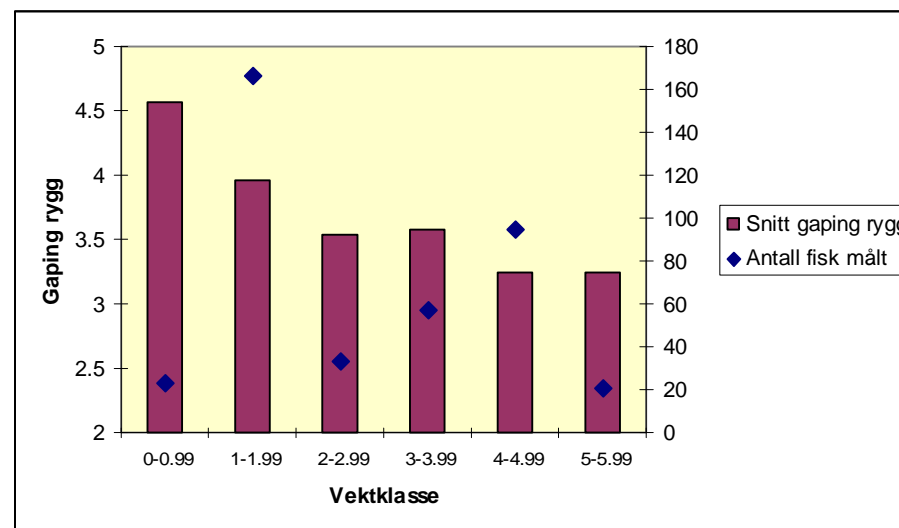
# Fast Fisk-prosjektet N-1115 – Gaping helhet slaktefisk okt 07 – des 08



- Varierer gjennom året.
- Noe mer gaping i nord enn i sør på slaktefisken, men generasjons- og lokalitetsvariasjoner.
- Ikke bekreftet forskjeller mellom stammer, smolt- og førleverandører.
- Variasjoner mellom lokalitetene.
- Variasjoner i gaping mellom filètsonene.
- Fisk på Skretting fôr hadde mindre gaping i spor, men mer gaping rygg enn fisk som hadde fått både Skretting og Biomarfôr, ellers var det like nivåer i gapingverdiene.

# Fast Fisk prosjektet – Gaping N 115 og eksterne 2008

- Stresshendelser gir økt gaping. Bedre kvalitet på stor fisk enn på liten fisk.
- Gaping øker med økte lagringstemperatur og tid.
- Prosessering.



# Fast Fisk-prosjektet N-1115 – Oppsummering 2007 - 2008

---



- Kvaliteten på fisken slaktet i 2008 er betydelig bedre enn i 2007
- Størst forbedring på fasthet – spenst.
- Fastheten varierer med fiskestørrelse – små fisk er bløtest.
- Kombinasjon av bløt fisk og gaping gir store prosesseringsproblemer.
- Gaping varierer gjennom vekstsesongen, fiskestørrelsen og mellom lokalitetene.
- Utviklingen av den bløte stripen varierer gjennom vekstsesong og størrelse.



# Fast Fisk-prosjektet 2007 - 2008



FORELØPIGE RESULTATER FRA FHF-PROSJEKTET

# Kartlegging av faktorer som påvirker tekst

Turid Mørkøre

# Forsøket

## Bred kartlegging av faktorer som påvirker tekstur i filet av oppdrettslaks ved multivariat tilnærming

- Studien koblet til et pågående forsøk med overordnet formål å undersøke Betydning av fôrtilsetninger for veksthastighet, fôrutnyttelse og immunrespons (hjerte og tarm)
- SUP+BIP: 6 fôrtyper, 3 merder per fôrtype = 18 merder fra april – sept
- Stresseksponering ved avslutning
- Kostnadseffektiv utnyttelse av forsøksmateriale og analyseresultater

*Finansiert:*

*Fiskeri- og havbruksnæringens servicekontor (FHS)*

*Norges Forskningsråd og industri*

# Analyser

- Tilvekst og fôrutnyttelse *N-Marin*
- Helsetilstand, vekt på hjerte, tarm og muskel *N-Marin, Ifremer*
  - Morfologi, enzym, genekspressjon
- Tekstur, fett, pigment og farge *N-Marin*
- Blodanalyser (spes. inflammasjonsmarkører) *NVH*
- Enzymaktivitet (vekt på catepsin) *UMB, N-Mat*
- Aminosyrer, mineraler og bindevev *Nifes*
- Genekspressjon, microarray *N-Marin*
- Mikrostruktur (Lysmikroskopi, EM *N-Mat (HI), NVH*)
- Makrostruktur (NMR) og industritest *Sintef*

Individer med stor teksturvariasjon identifiseres og undersøkes i dybden ved biokjemiske, genetiske og morfologiske metoder.

Resultatene sammenstilles og prosesseres statistisk ved multivariat analyse

# Fôrene i forsøket

Tilsetninger som

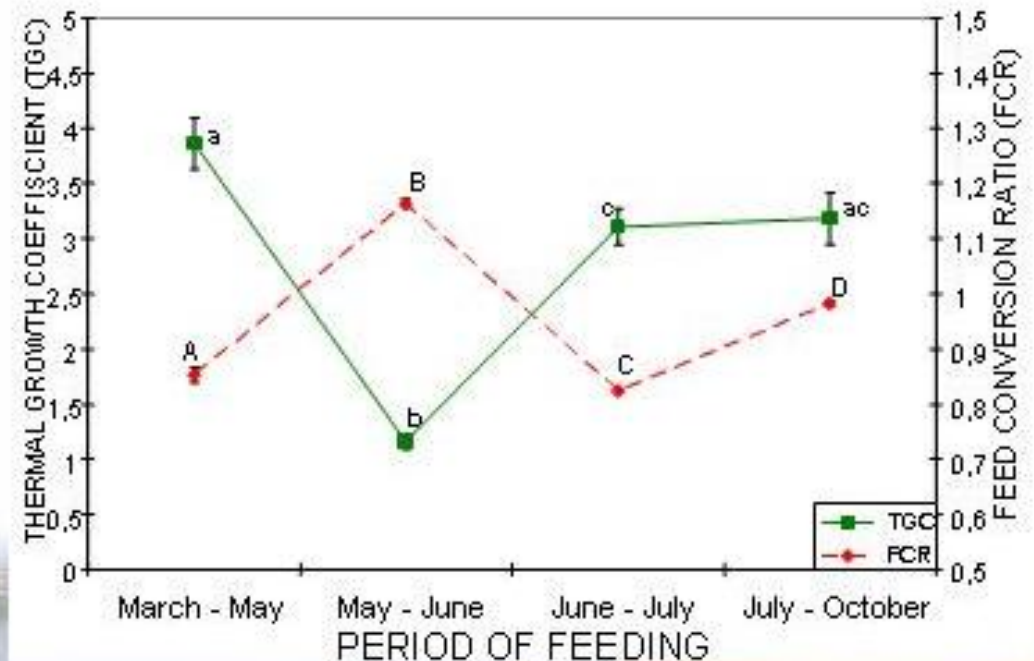
- Stimulerer fettforbrenning
  - Ingen effekt på tekstur
- **Stimulerer vekst og muskeloppbygging**
  1. Fremmer sirkulasjon, omsetning av fett, osmoregulering mm.
  2. Tapes ved ulike stress, fremmer proteinsyntese (myosin)/hemmer nedbrytning, antioksidative egenskaper, beskytter immunsystemet mm.

# Kritiske perioder for 0+laks

April-mai: Rask vekst

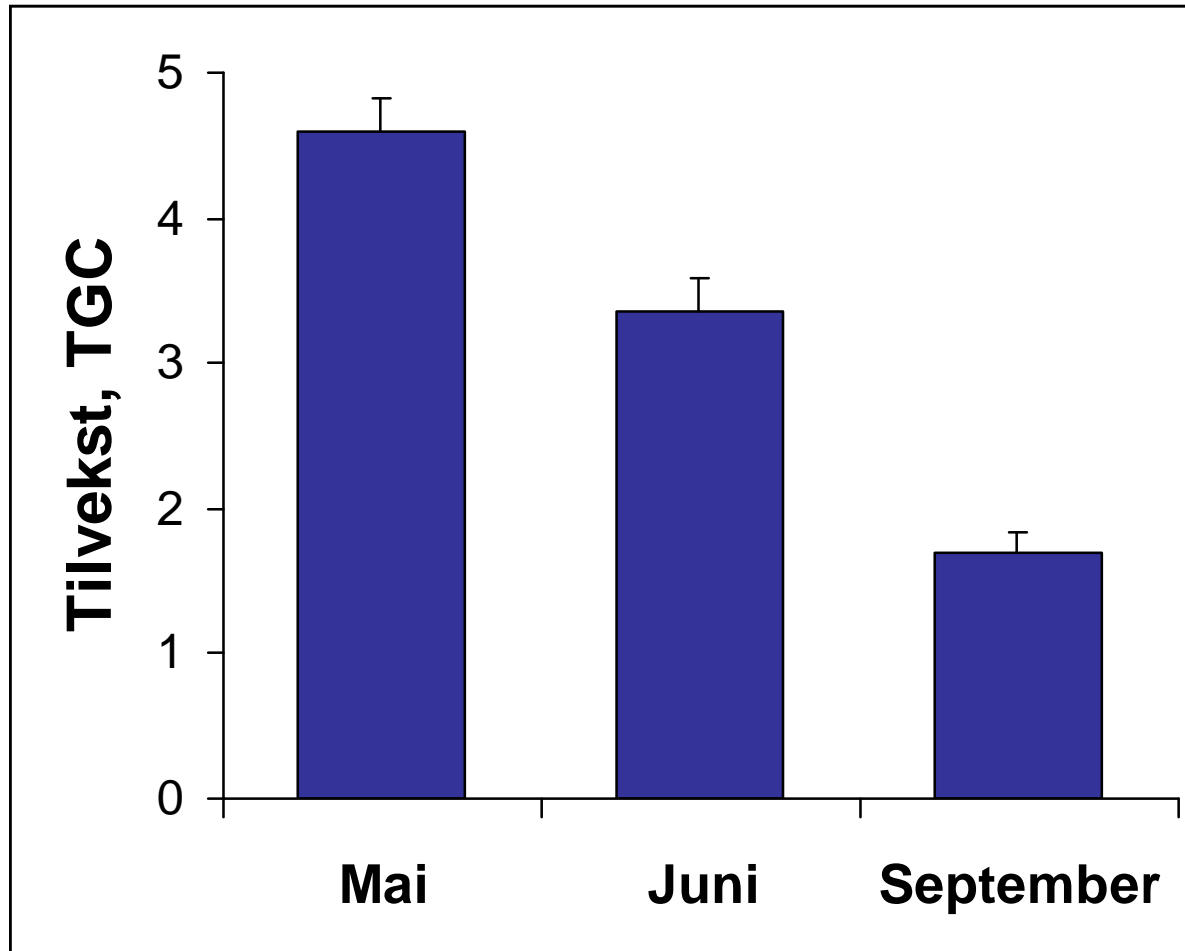
Mai-juni: Vårdropp

August-September: Varmt i vannet (16°C i ~6 uker, stor fisk i små nøter, håndtering)



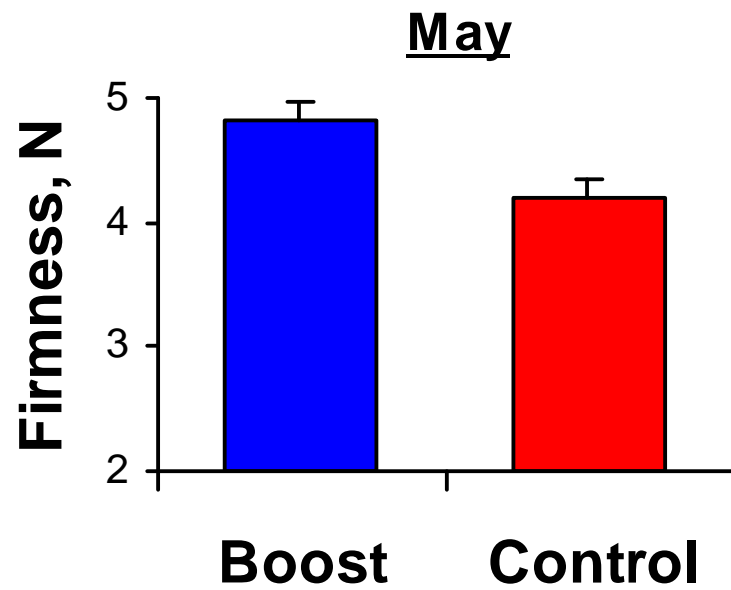
Kilde: Prof K-A. Rørvik

## Tilvekst, TGC siste 14 dg før uttak

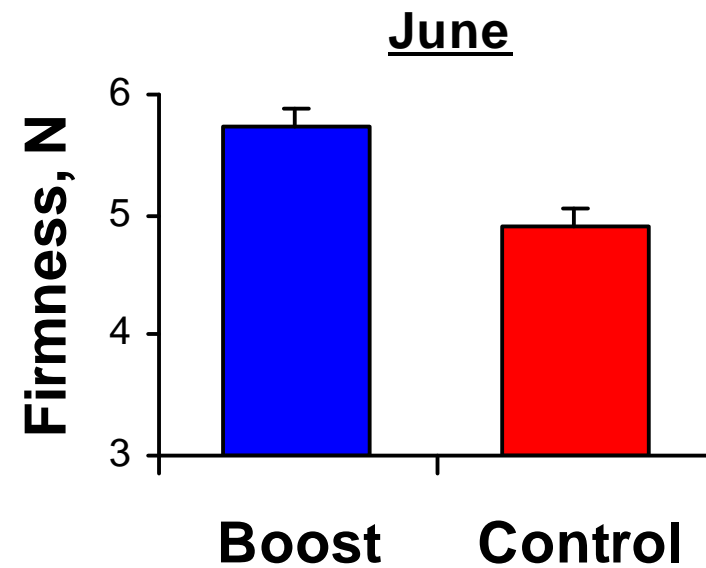




# Tekstur

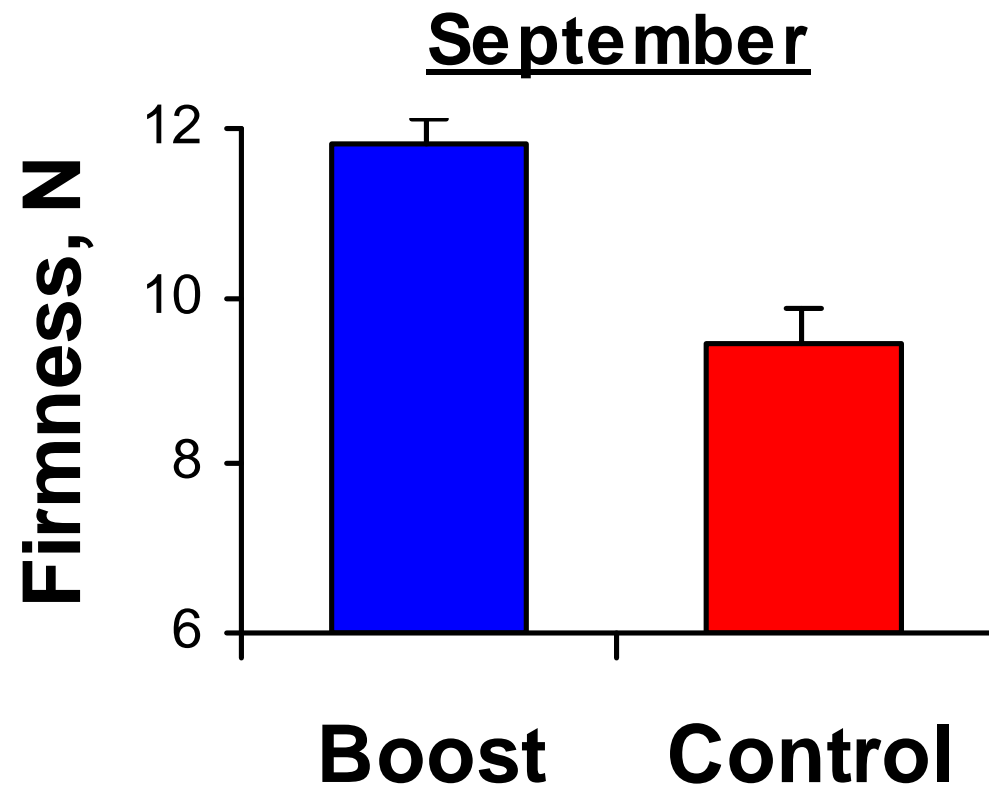


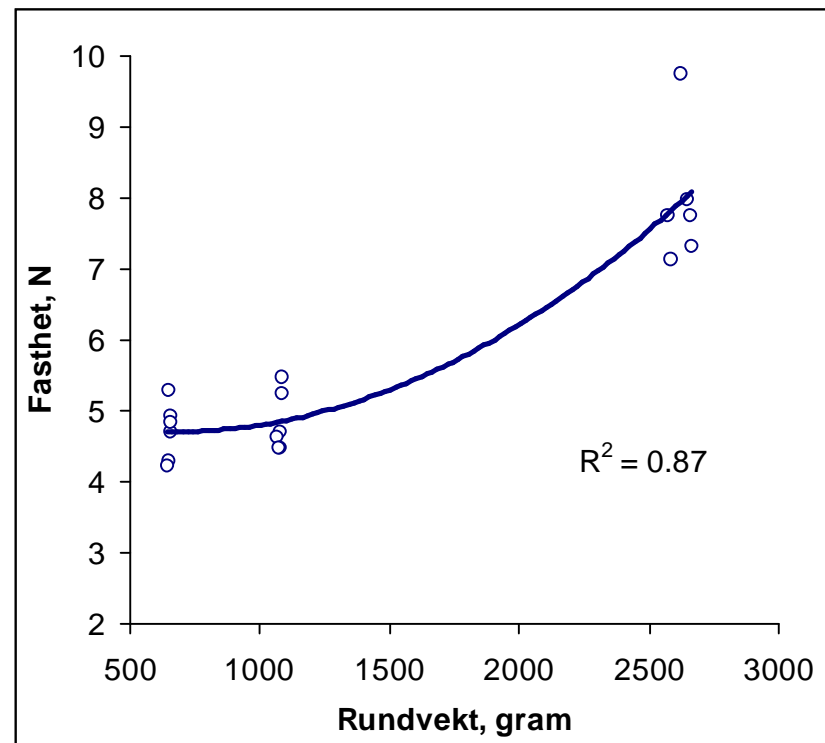
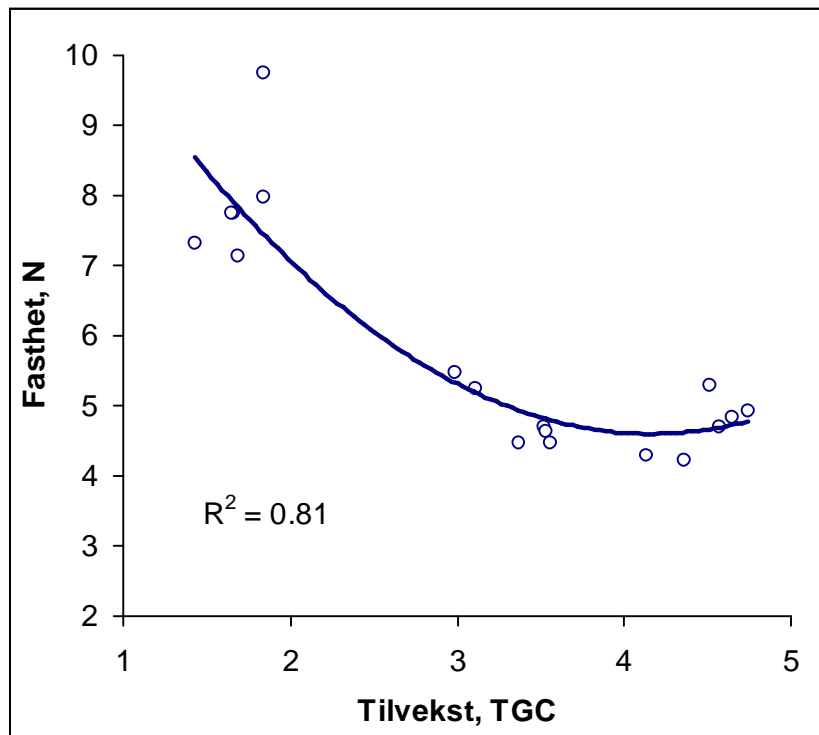
650 g



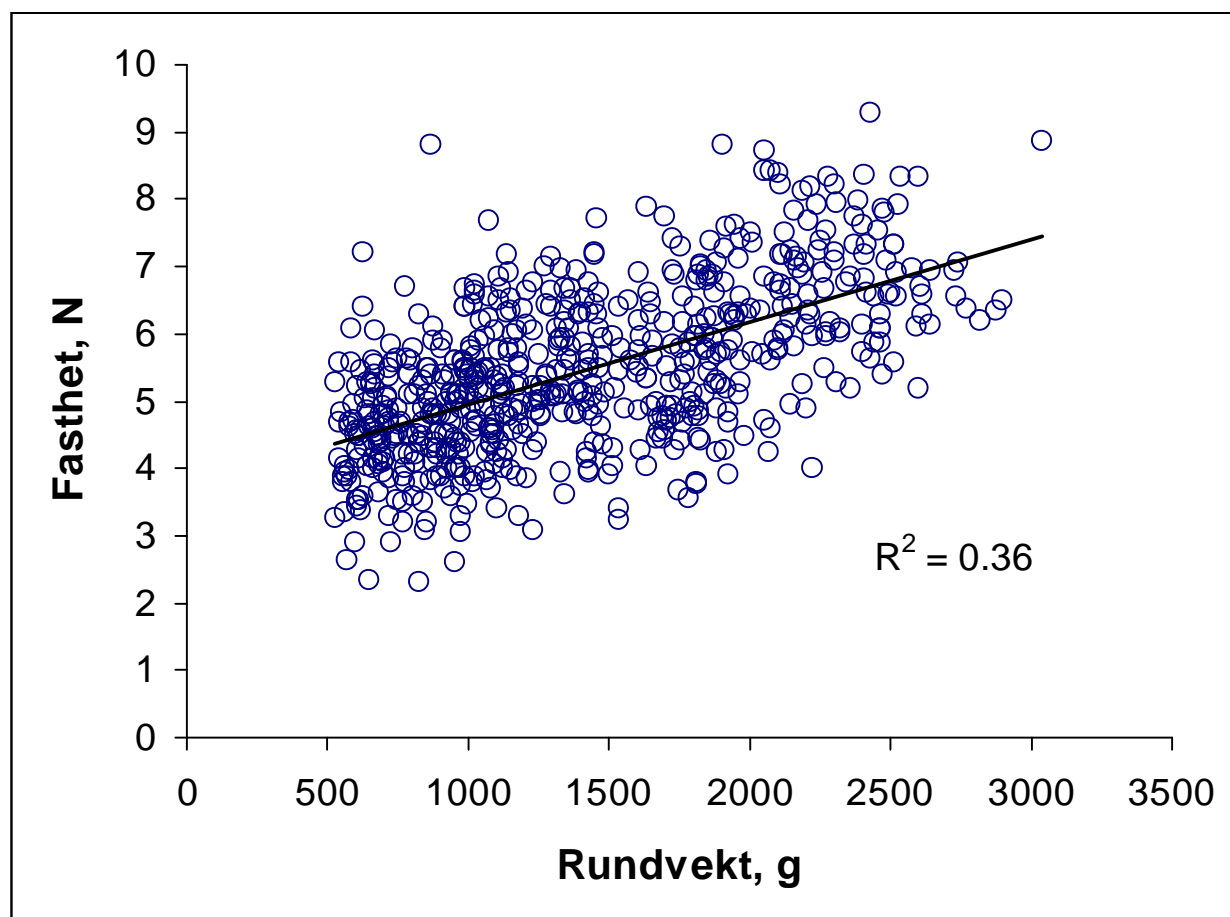
1100 g

# Tekstur



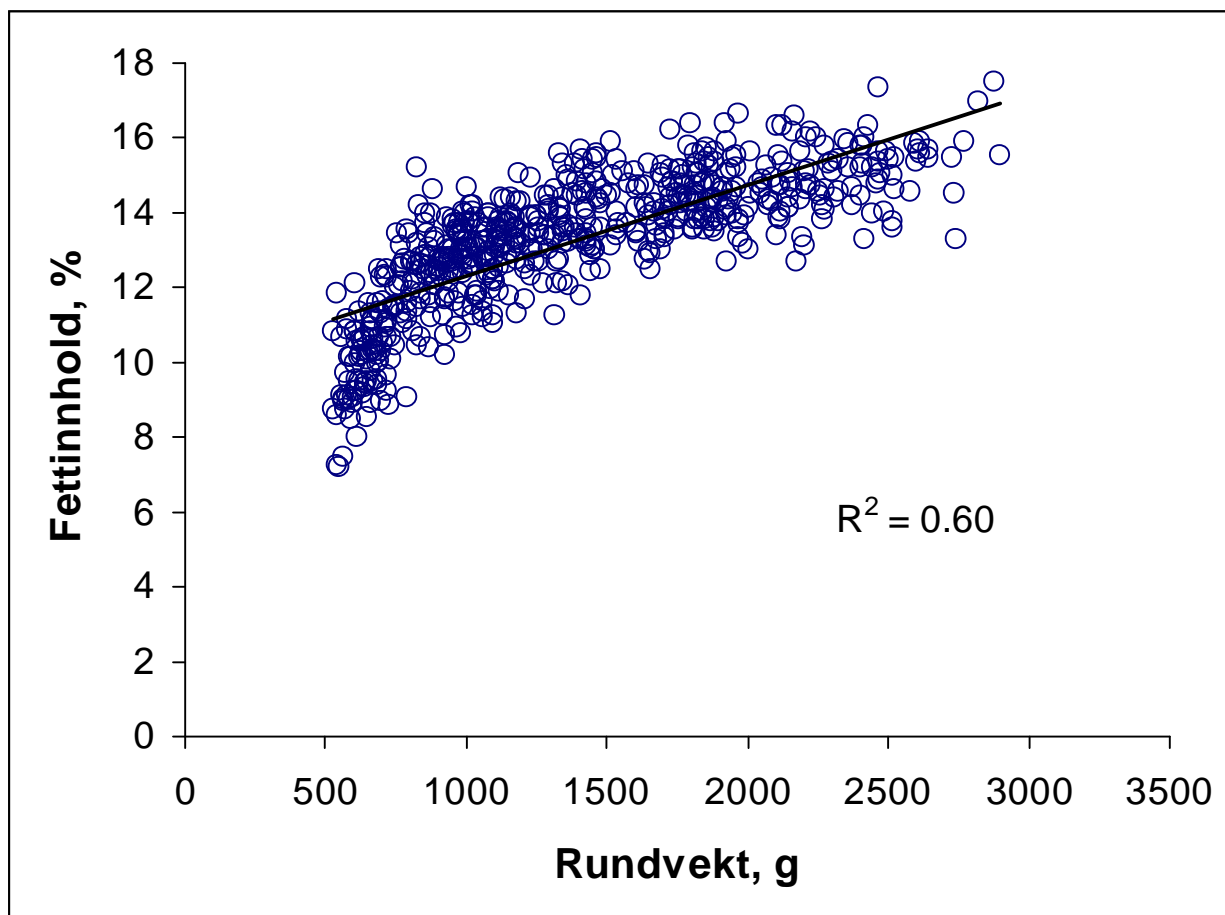


# Sammenheng mellom rundvekt og fasthet

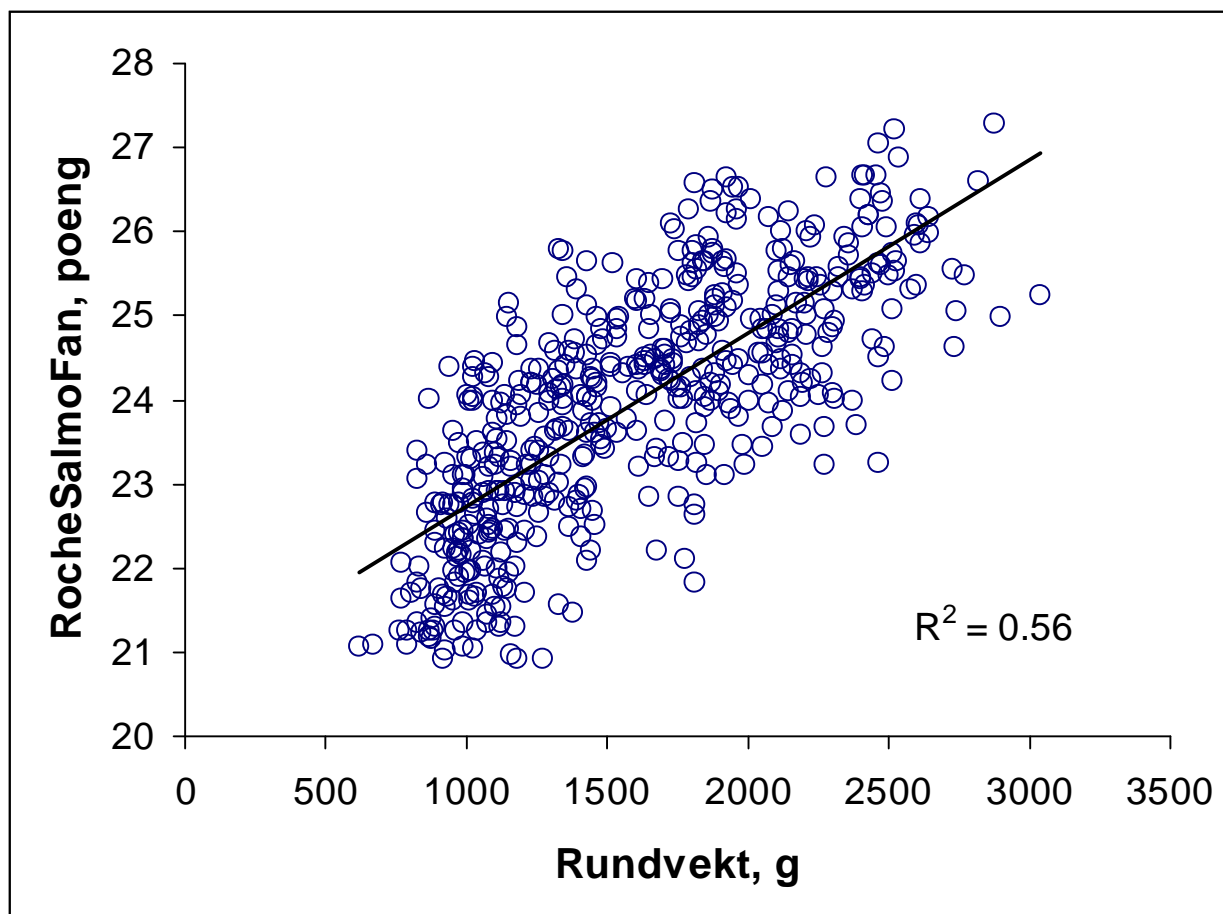


N = 650

# Sammenheng mellom rundvekt og fettinnhold



$R^2 = 0.39$  for fisk >1kg



# Nytt prosjekt

finansiert av NFR & FHF 2009 – 2010 - 2011

## MANAGING TEXTURE QUALITY OF ATLANTIC SALMON THROUGH THE APPLICATION OF MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL APPROACHES

### 1. Relevance

This proposal primarily addresses subprogram 2, “Strategic basic research” in the Fish Farming Program (Havbruksprogrammet), but is also relevant to goals given in subprogram 4, “Production of salmonids”. The approach of the project is value chain oriented and multidisciplinary, focusing on enhanced perception of salmon by consumers and processing industry through improved fundamental knowledge on the impact of genetic and physiologic characteristics, rearing conditions, dietary composition and slaughter handling (ref. Fish Farming, actionplan 2009, section 4.1.2). This broad approach is facilitated through a close cooperation with other NRC, FHF and industrial financed projects. The proposal also coincides well with goals proposed by the Food(Mat)-Program on increased competitive ability regarding marked orientation for Norwegian food production. The project implies knowledge transfer between different stakeholders in the value chain. Novel analytical tools will be used, and advanced analytical methods developed in research on terrestrial husbandry animals, as well as in aquaculture, will be applied. Finally, the project focuses on parameters defined as research prioritised areas by FHF (The research fund of the fishery and farming industry) in “Action plan, salmon 2008” (section D, Fish Farming), and the program ”Quality from gene to fork”.



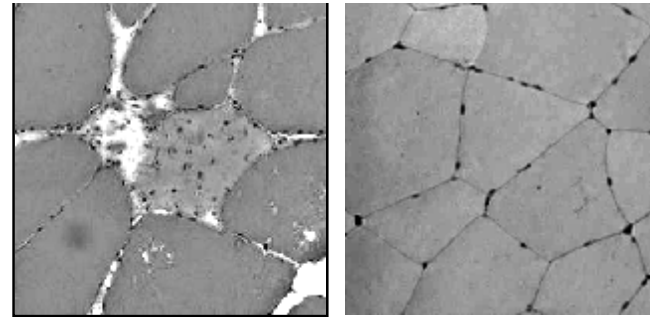
# Principal objective

## **Meet market demands on high fillet quality of farmed Atlantic salmon**

### Sub-goals:

- Determine underlying molecular and morphological basis of salmon fillets with a broad range in texture properties.
- Determine the impact of dietary fat level and fatty acid composition on regulation of muscle and fat cell growth, oxidative stress and texture.
- Educate one post-doc student





- **Task 1. Determine underlying molecular and morphological basis of salmon fillets with a broad range in texture properties.**
  - Fôringsforsøk Averøya
  - Forsøk med merket fisk fra 100 familier
- **Task 2. Determine the impact of dietary fat level and fatty acid composition on regulation of muscle and fat cell growth, oxidative stress and texture.**
  - Cellestudier
  - Fôringsforsøk basert på resultater fra cellestudiene

## Stor grad av interaksjon med pågående prosjekter

- "Kartlegging av faktorer som påvirker tekst". FHF
- "Integrated and dynamic production of farmed salmon in sea" (SIP179481/I30)
- "Effect of bioactive fatty acids on survival (IPN/PD), growth and feed conversion for 1+ and 0+ farmed salmon" (BIP174215/S40)
- "The impact of pancreas disease (PD) on flesh quality of Atlantic salmon" (NRC 172179/S40 )
- "Increasing basic knowledge on muscle abnormalities in intensive production systems" NRC/FHF
- "New techniques to achieve more cost efficient selective breeding for improved consumer acceptance of aquaculture products" NRC

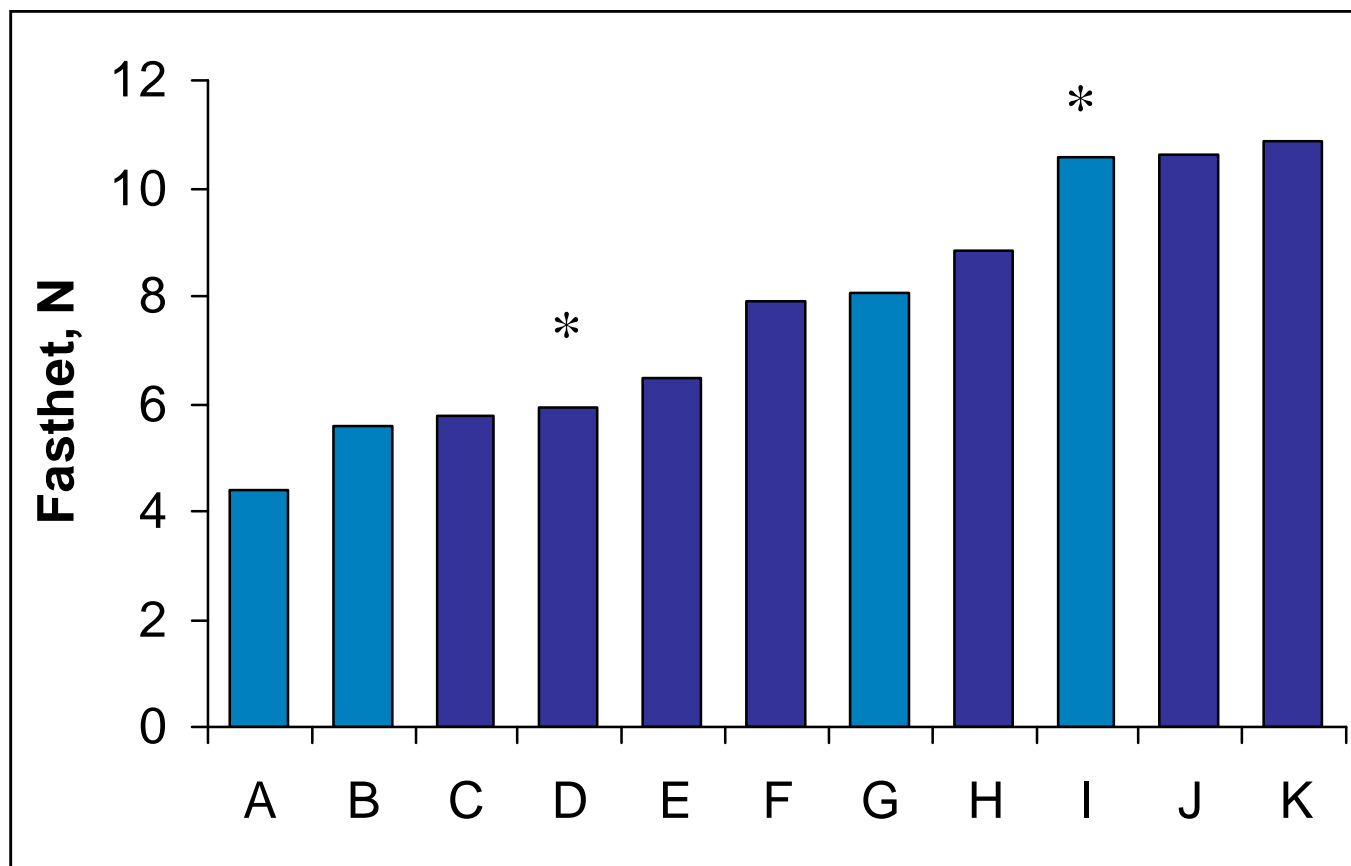
# Partnere

- Nofima Marin
- Nofima Mat
- Universitet for Miljø og Biovitenskap
- Norges Veterinærhøgskole
- Havforskningsinstituttet
- Sintef
- Sveriges Landbruksuniversitet
- Instituto del Frio (Spania)
  
- *Referansegruppe: Biomar, Ewos, Skretting, NSL, FHL*

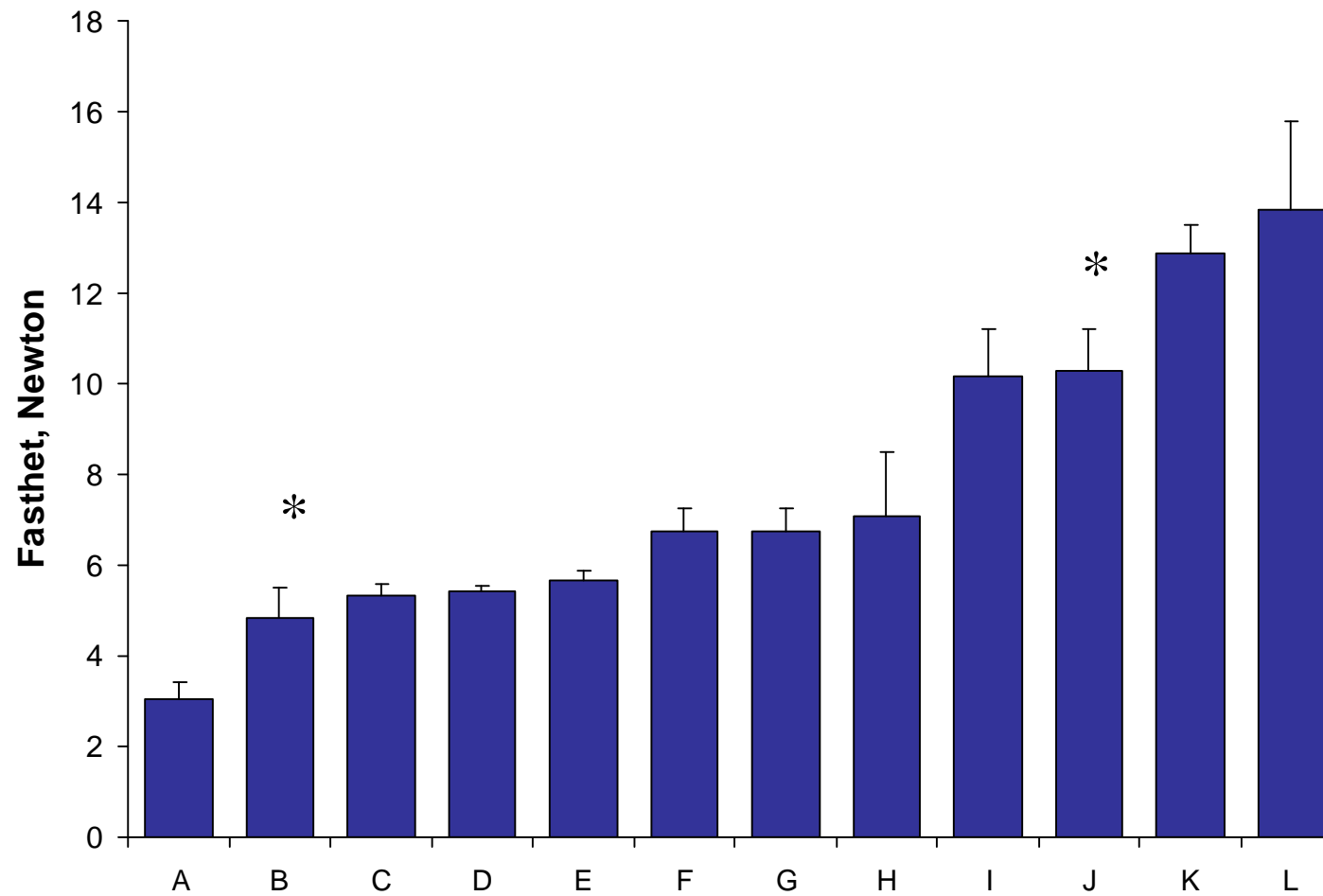
# Progress plan

|                            | 2009 |    |    |    | 2010 |    |    |    | 2011 |    |    |    |
|----------------------------|------|----|----|----|------|----|----|----|------|----|----|----|
|                            | Q1   | Q2 | Q3 | Q4 | Q1   | Q2 | Q3 | Q4 | Q1   | Q2 | Q3 | Q4 |
| <i>A, B, C, D</i> Analyses | x    | x  | x  | x  | x    | x  | x  | x  | x    | x  |    |    |
| <i>C</i> , cell studies    |      |    |    | x  | x    | x  | x  |    |      |    |    |    |
| <i>D</i> , feeding trial   |      |    |    |    |      |    |    |    | x    | x  |    |    |
| Post doc                   | x    | x  | x  | x  | x    | x  |    |    |      |    |    |    |
| Meeting reference group    |      |    | x  |    |      |    | x  |    |      |    | x  |    |
| Project meeting            | x    |    | x  |    | x    |    | x  |    | x    |    | x  |    |
| Statistical data treatment |      | x  | x  | x  | x    | x  | x  | x  | x    | x  | x  |    |
| Publication                |      |    |    | x  | x    | x  | x  | x  | x    | x  | x  | x  |

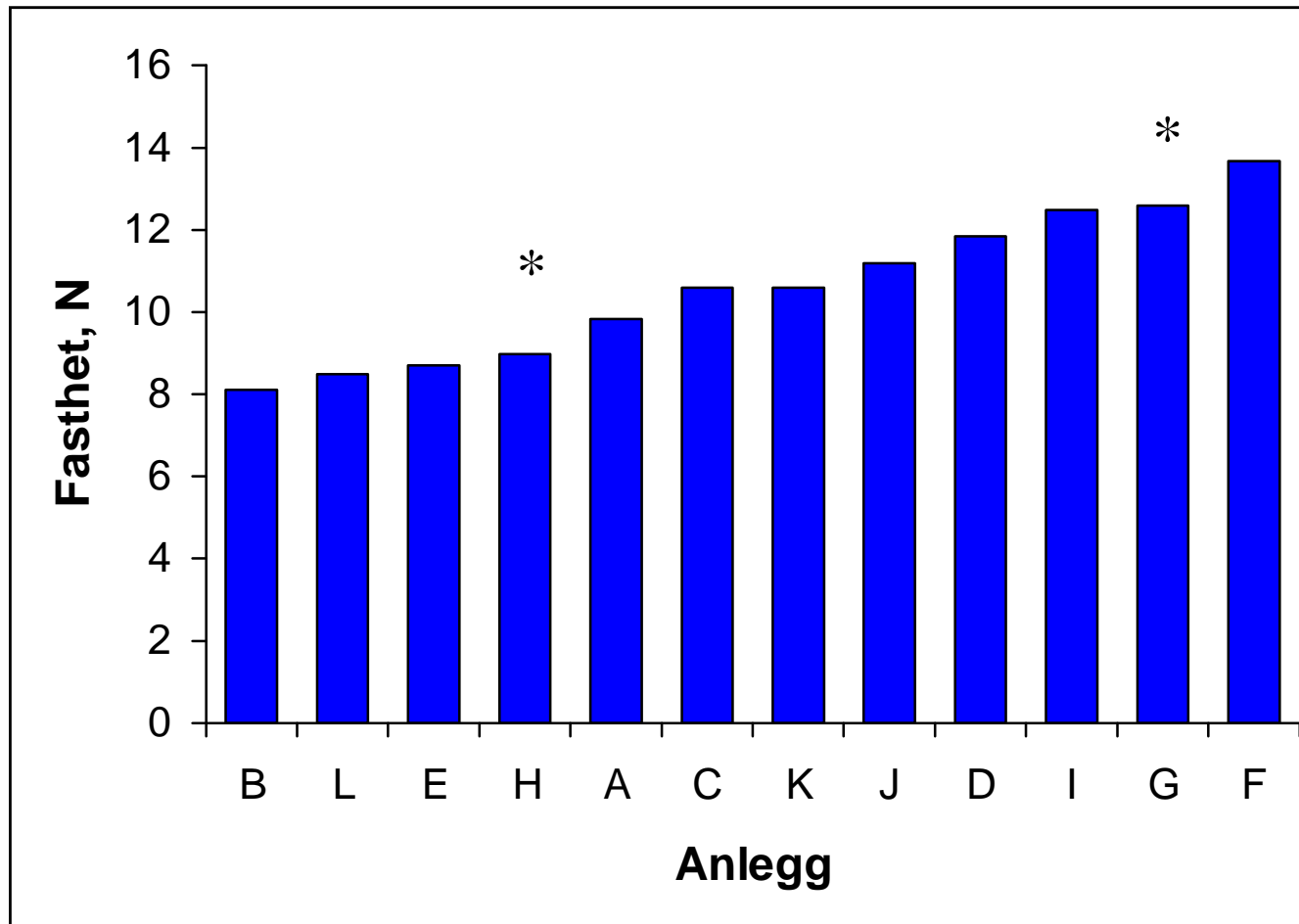
## Teksturanalyser mai 2008 (4 – 12)

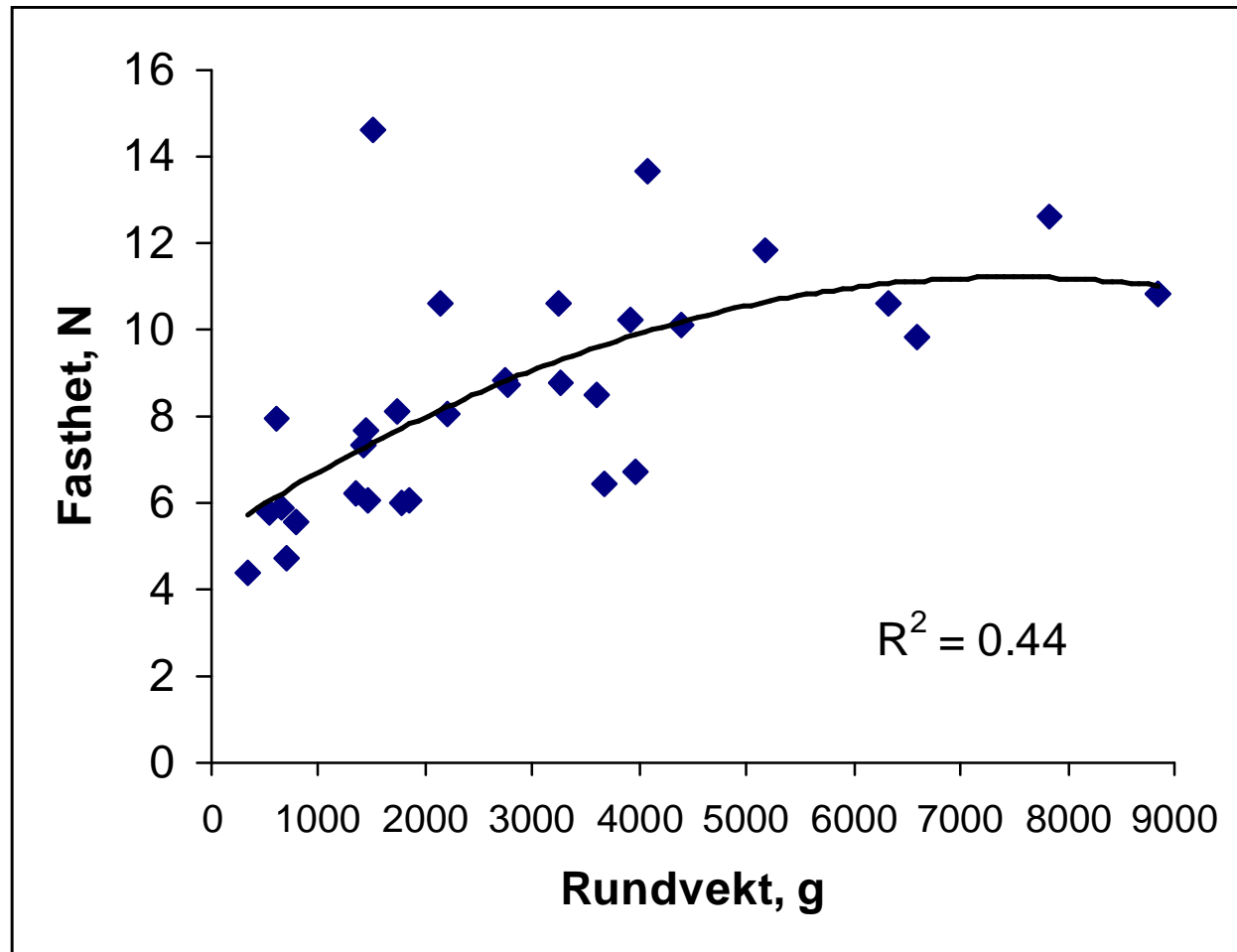


## Teksturanalyser september 2008 (3-14)



## Teksturanalyser november 2008 (8-14)







## Variasjon i tekstur i laksefilet - 9 ulike lokaliteter

| Startvekt,<br>kg | Mai         | September  | November    |
|------------------|-------------|------------|-------------|
| 0,70             | 4,4         | 4,7        | 8,12        |
| 1,41             | 5,6         | 6,5        | 10,6        |
| 1,44             | 5,8         | 7,7        | 13,7        |
| 1,46             | 5,9         | 6,1        | 9,0         |
| 1,51             | 7,9         | 14,6       | 8,7         |
| <b>3,26</b>      | <b>10,6</b> | <b>8,8</b> | <b>12,5</b> |
| 3,92             | 8,1         | 10,2       | 9,9         |
| 3,96             | 6,5         | 6,7        | 12,6        |
| 4,39             | 8,8         | 10,1       | 11,8        |

## Variasjon i farge (RocheSalmoFan) og fettinnhold i filet

| Startvekt   | Sept           | Nov         |  | Sept         | Nov         |
|-------------|----------------|-------------|--|--------------|-------------|
|             | Fettinnhold, % |             |  | Farge, poeng |             |
| 0,70        | 12,7           | 14,3        |  | 23,7         | 25,4        |
| 1,41        | 14,4           | 16,1        |  | 24,9         | 26,8        |
| 1,44        | 13,9           | 16,5        |  | 25,3         | 26,6        |
| 1,46        | 16,0           |             |  | 25,4         | 26,5        |
| 1,51        | 12,4           | 15,4        |  | 25,4         | 26,6        |
| <b>3,26</b> | <b>16,4</b>    | <b>16,5</b> |  | <b>27,3</b>  | <b>26,0</b> |
| 3,92        | 17,2           | 18,3        |  | 27,2         | 27,3        |
| 3,96        | 16,9           | 17,3        |  | 27,3         | 27,9        |
| 4,39        | 16,6           | 17,6        |  | 27,5         | 27,2        |

# **Fastere filet – Industritest og MRI Oppsummering 2008**

**U. Erikson, SINTEF Fiskeri og havbruk  
E. Veliyulin (MRI), SINTEF Fiskeri og havbruk  
K. Oppedal, G. Bye, m.fl. Marine Harvest**

# I - Uttak av fisk i 2008...

| Måned               | Sted              | Vekt (kg) | Hensikt  |
|---------------------|-------------------|-----------|--|
| Januar              | MH Reg. sør       | 5 - 6     | Tre stammer (AG, Mowi, Mix)<br>i samme merd                              |
| Mai                 | Nordland          | 3 - 5     | Fire fôrtyper: BioMar marin & vegetabilsk;<br>Ewos; Skretting            |
| Mai                 | 13 MH lokaliteter | 0,1 - 9   | Følge vekst i nord- vs sør- Norge<br>(Lokaliteter: 10 i nord og 3 i sør) |
| August              | MH Reg. Sør       | 3 - 4     | Fire stamfiskgrupper<br>(AG, Fanad, Mowi og Mix)                         |
| September & Oktober | GIFAS             | 3 - 5     | BioMar: Rask vs langsom tilvekst<br>Høyenergifôr vs lavenergifôr         |
| September           | 12 MH lokaliteter | 0,8 - 4   | Følge vekst i nord- vs sør- Norge<br>(Lokaliteter: 10 i nord og 2 i sør) |
| September           | Averøy-<br>Nofima | 2 - 3     | Fire fôringsregimer<br>'Vekstfôr', 'Fettoksidasjon', Kontrollgrupper     |

Grønn: andre finansieringskilder

## II – Uttak av fisk i 2008

| Måned     | Sted                   | Vekt (kg) | Hensikt  |
|-----------|------------------------|-----------|--|
| September | LMB<br>Bolougne (F)    | 3 - 4     | Fisk fra 4 Marine Harvest pakkerier<br>Sør → Nord (R, M&R, ST og N)      |
| Oktober   | Slakteri i<br>Nordland | 4 – 5     | Sammenlikne med fisk fra Herøy   |
| November  | 12 MH<br>lokaliteter   | 1 - 5     | Følge vekst i nord- vs sør- Norge<br>(Lokaliteter: 10 i nord og 2 i sør) |

# Industritest - Fastere filet

## Tre stamfiskgrupper fra Marine Harvest Region Sør (Ryfisk R-110)

Slaktet: 9 januar 2008; Analysert: 15 januar 2008

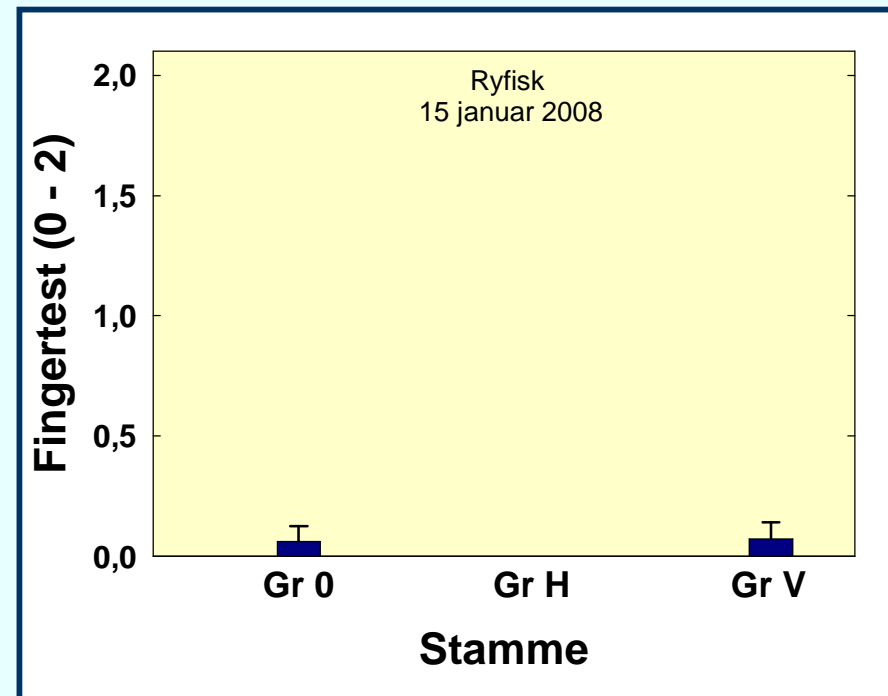
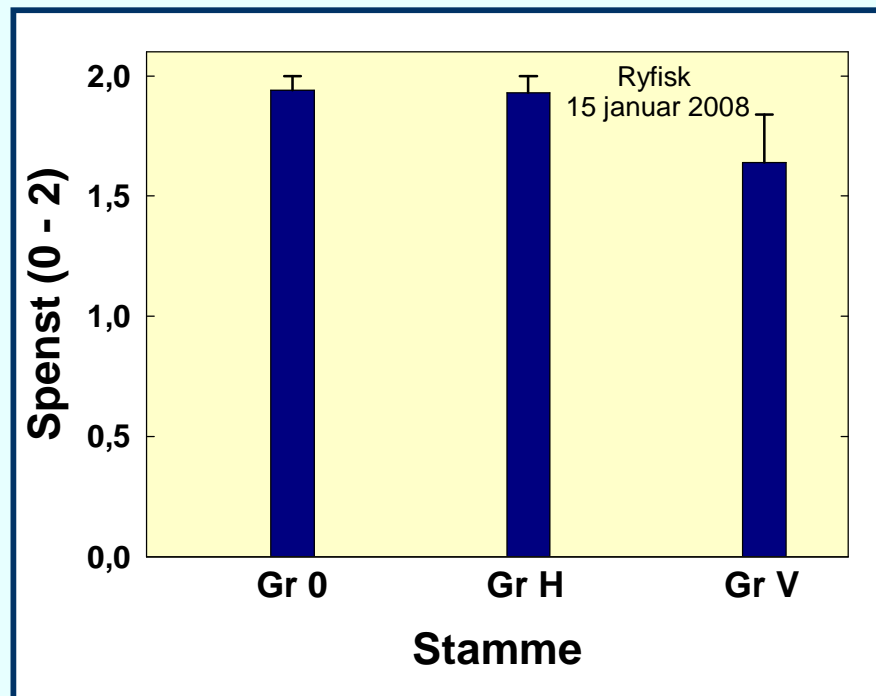
### Tre stamfiskgrupper (n = 15)

#### Merking ved kjeveklipping:

- Gruppe 0 – ikke klippet (Mowi?): W = 5,5 kg; L = 73 cm; K-faktor = 1,37
  - Gruppe H – høyre (AG?): W = 5,4 kg; L = 75 cm; **K-faktor = 1,24**
  - Gruppe V – venstre (Mix?): W = 5,5 kg; L = 73 cm; K-faktor = 1,38
- Data for vekt, lengde og K-faktor fra Marine Harvest (hele populasjonene)

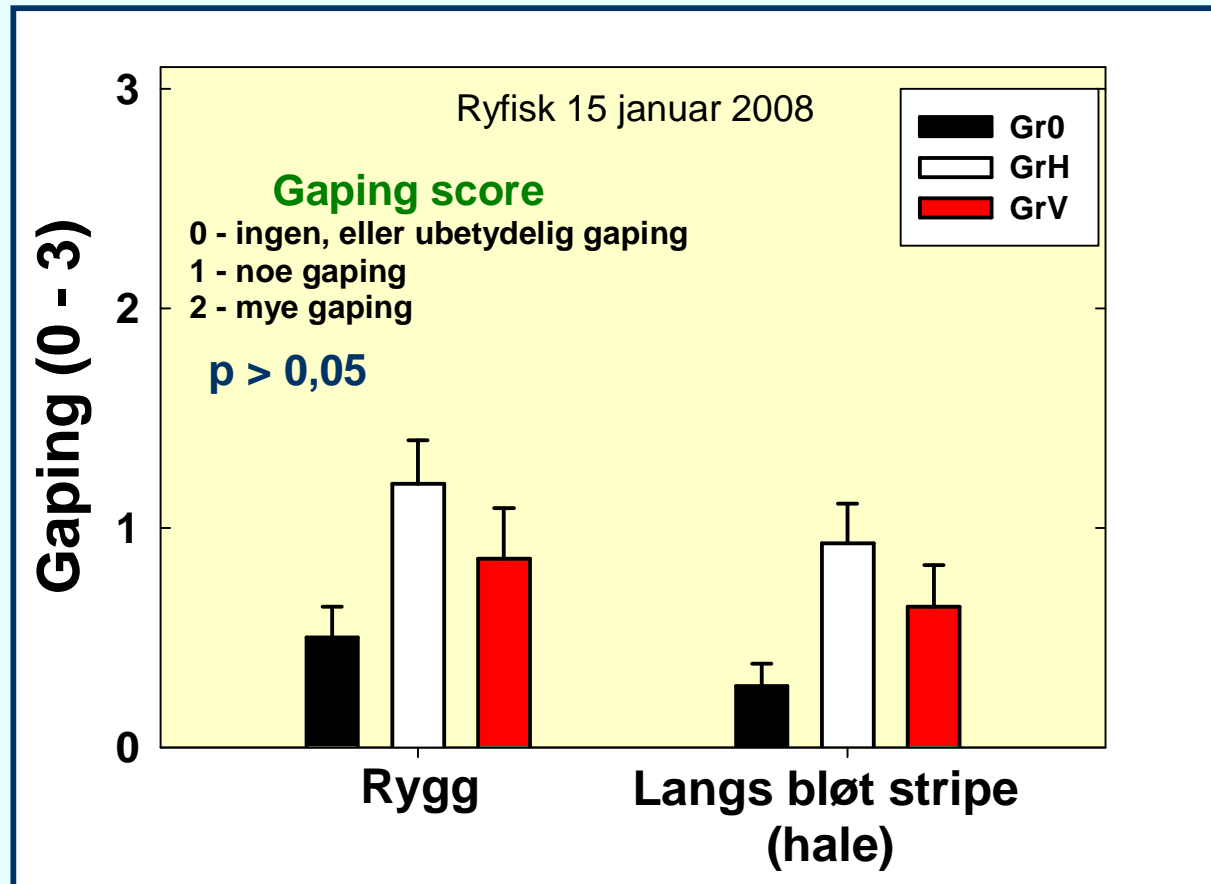
# Industritest

## Spenst og konsistens (fingertest)



# Industritest: Gaping

Middelverdi  $\pm$  SEM, n = 15



Fileten brettet 5 ganger før evaluering



# Industritest – Fastere filet Anlegg i Nordland

## Test av 4 fôrtyper

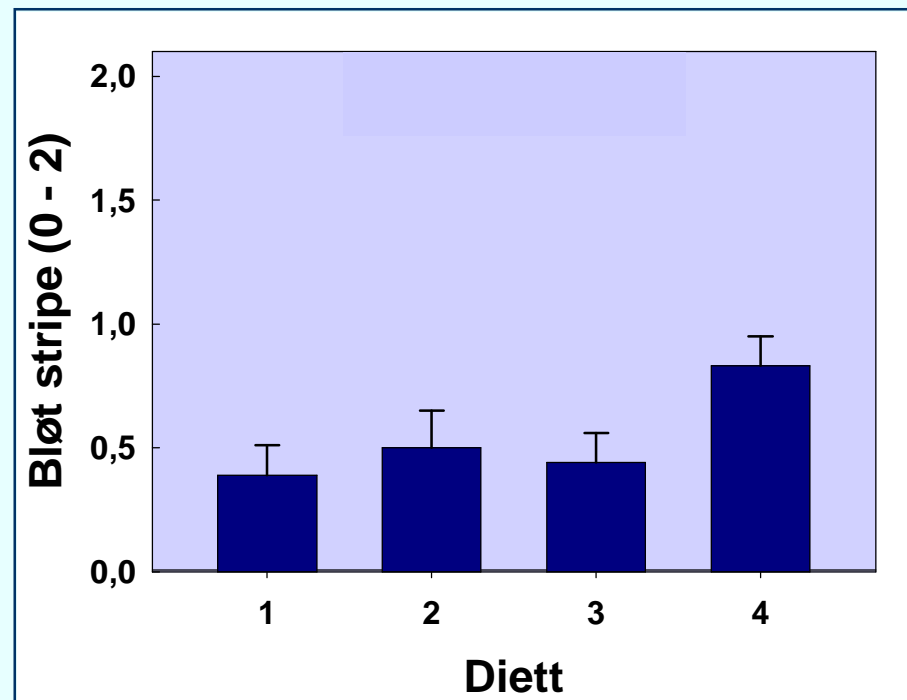
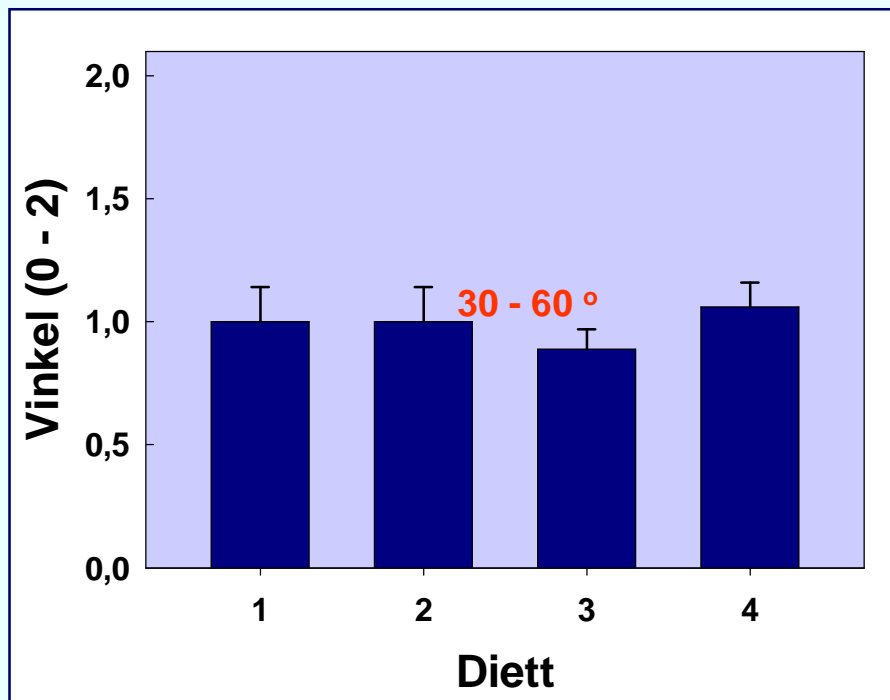
Uttak 15 mai – Analyse 19 mai 2008

### Fire fôrtyper:

- nBiomar (marin og vegetabilsk)
- nEwos
- nSkretting

# Industritest

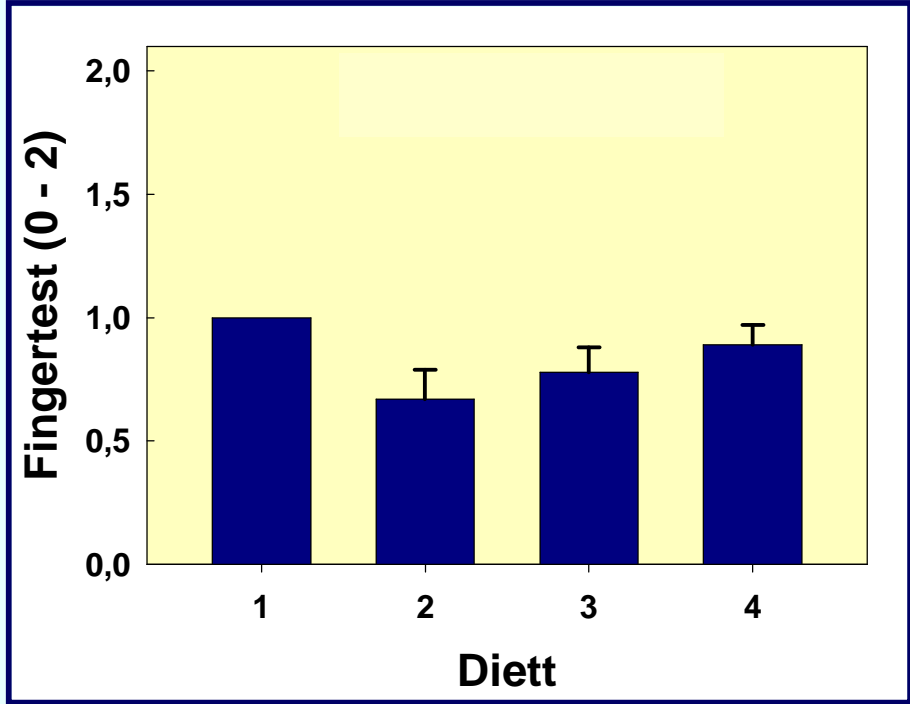
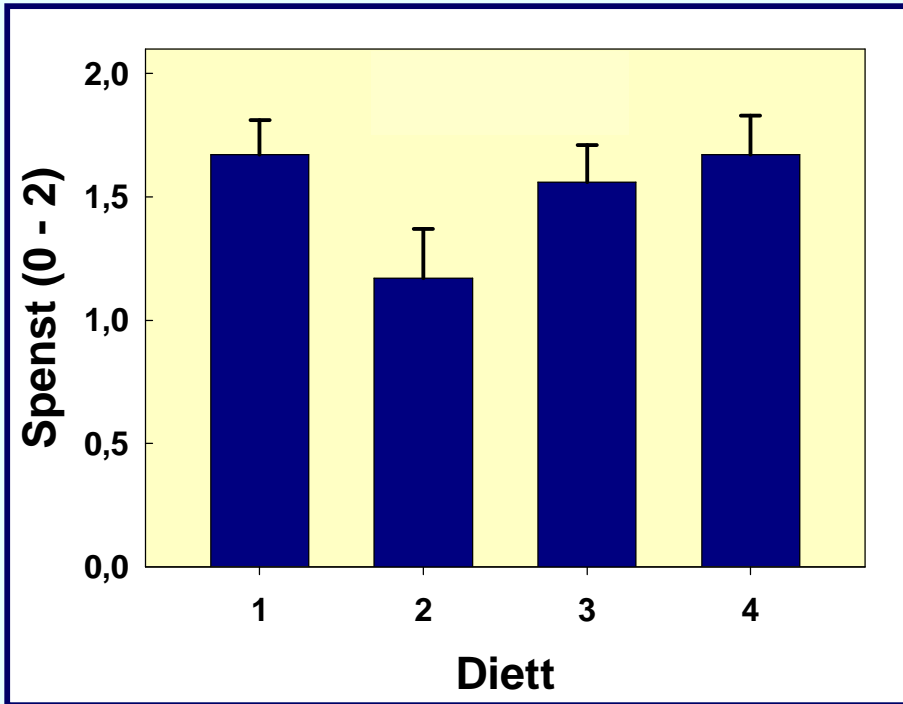
## Avbøyning hel fisk (vinkel) og bløt stripe



Middelverdi  $\pm$  SEM (n = 18)

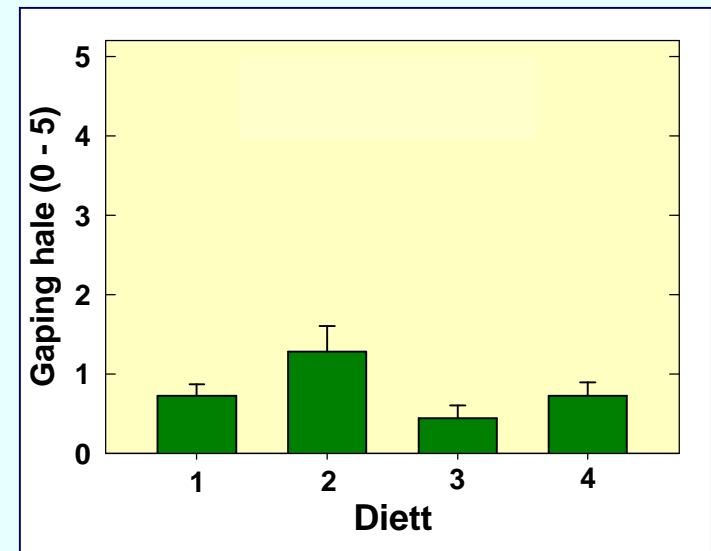
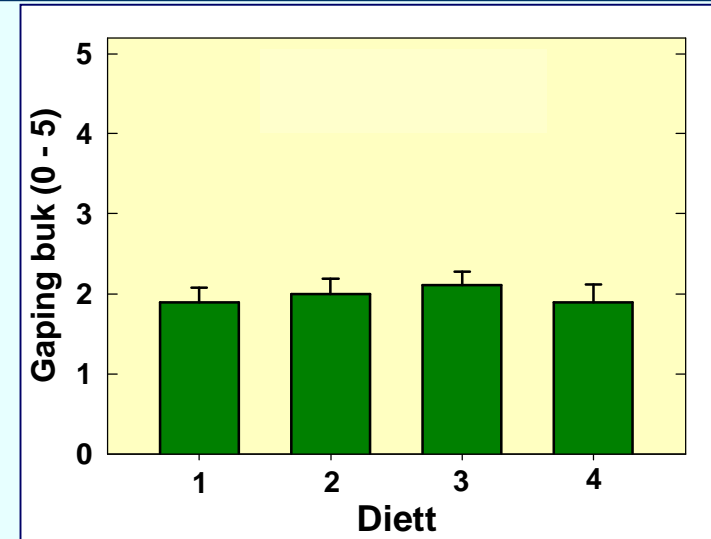
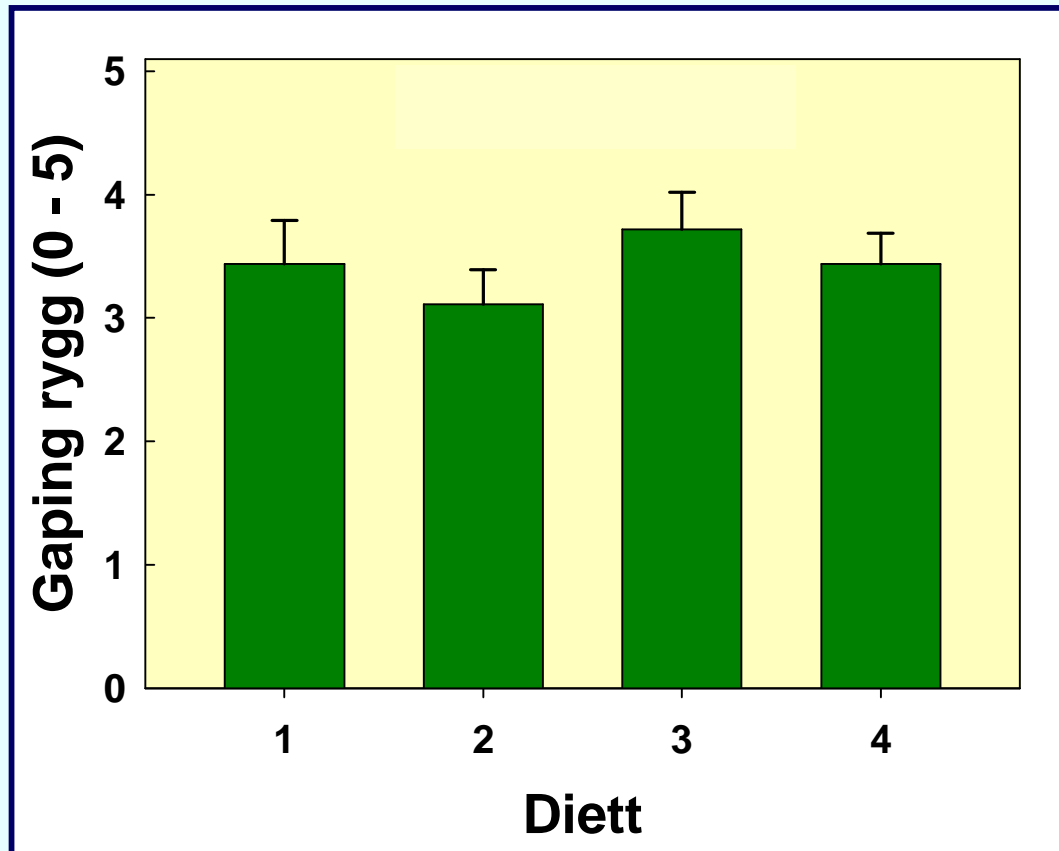
# Industritest

## Spenst og konsistens (fingertest)



# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

NB! Gaping blir framprovosert



# Industritest – Total score



# **Industritest – Fastere filet**

**Laks fra 13 forskjellige lokaliteter  
Marine Harvest**

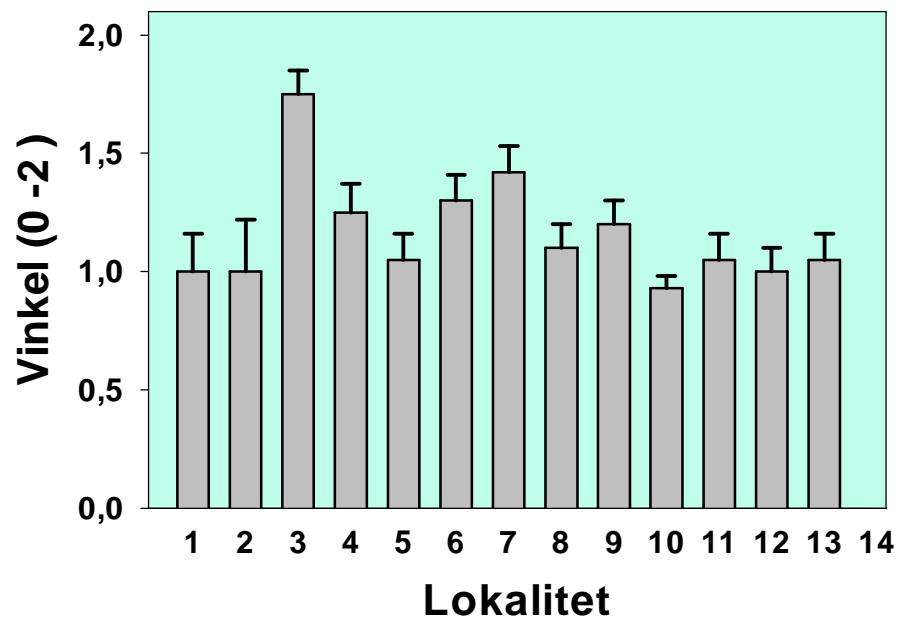
**26 & 27 mai 2008**

# Industritest mai 2008 Marine Harvest 13 lokaliteter

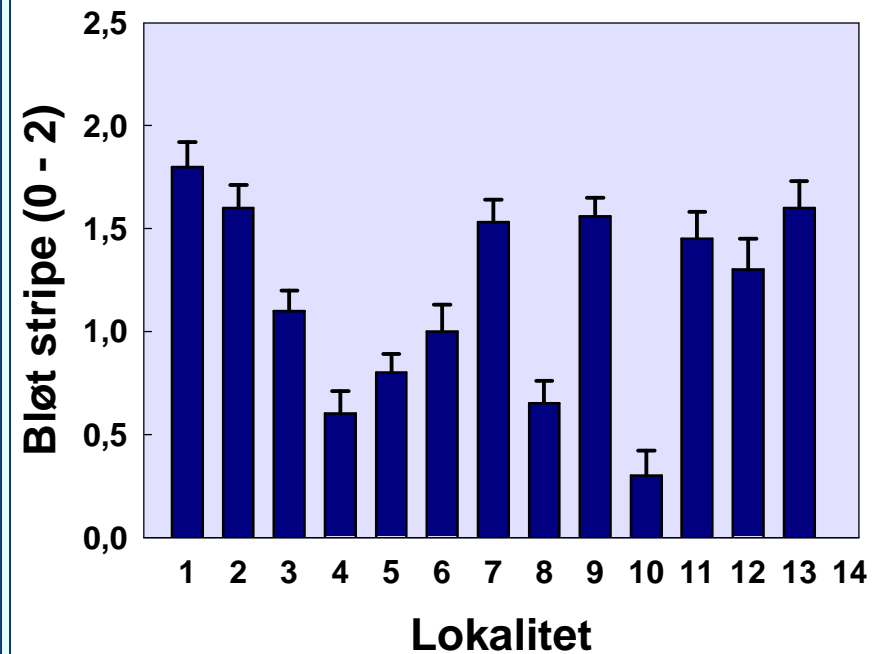
3 i Sør-Norge (1-3) og 10 i Nord-Norge (4-13)

Avbøyning, hel fisk ('bløthet') og 'bløt stripe'

Industritest 27 mai 2008  
13 lokaliteter

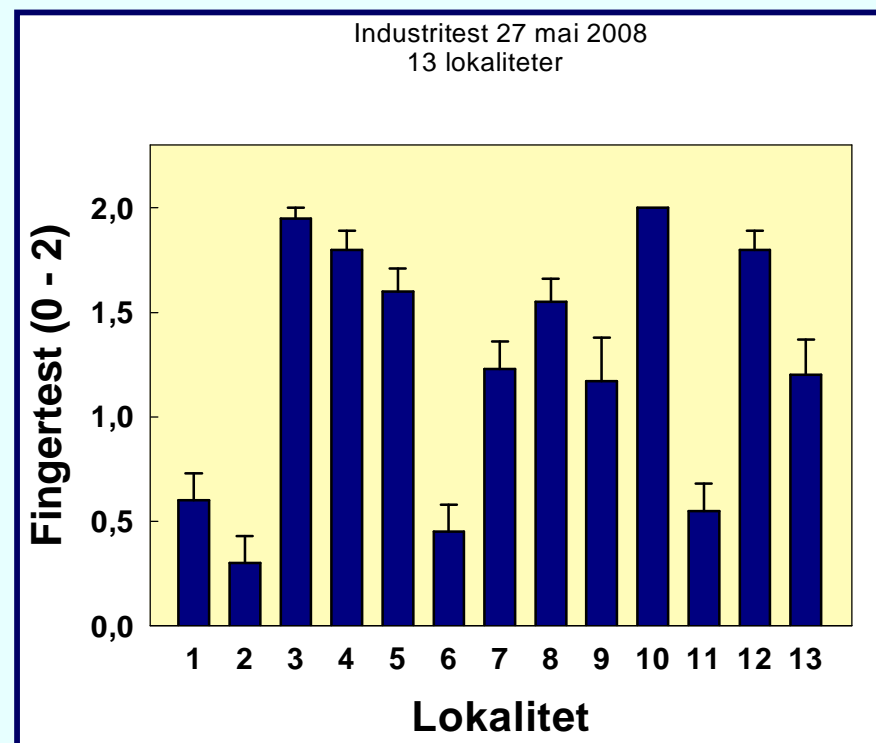
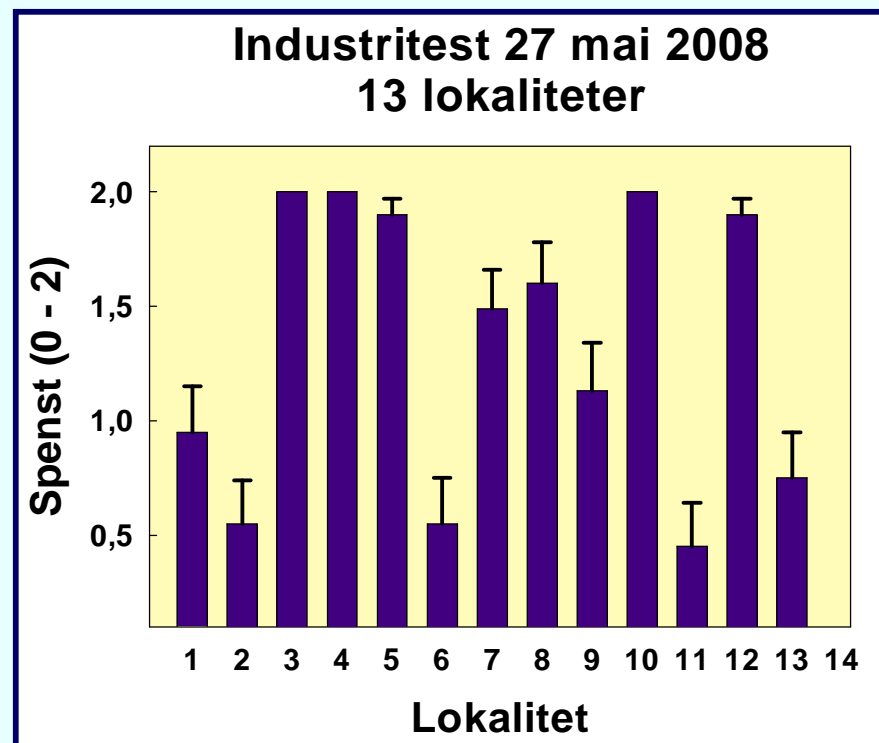


Industritest 27 mai 2008  
13 lokaliteter



# Industritest mai 2008 - Marine Harvest 13 lokaliteter

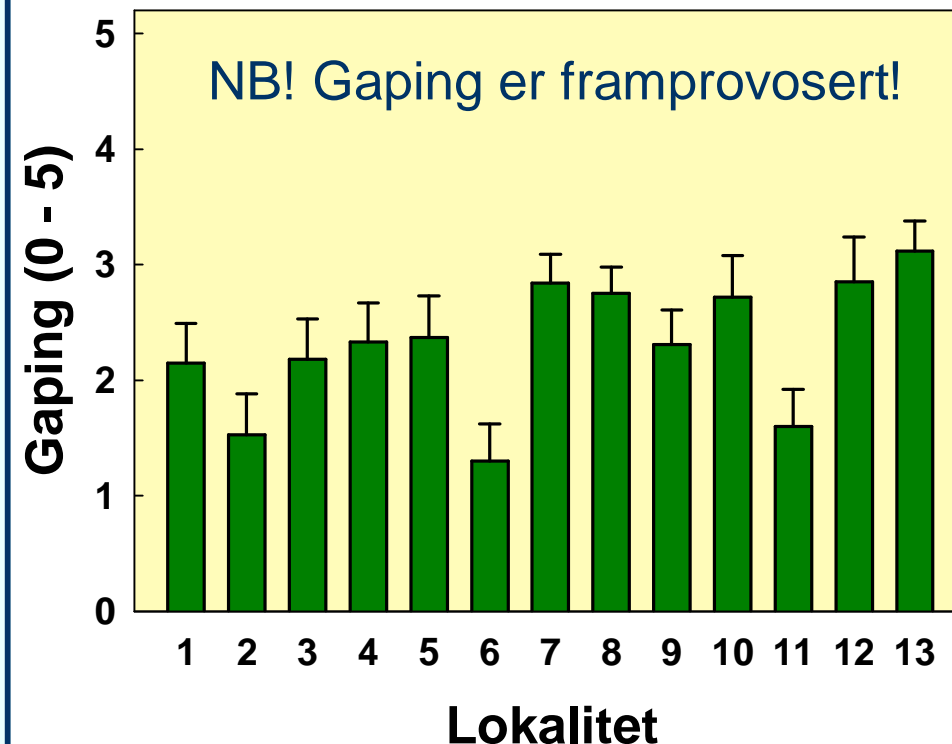
## Fasthet og spenst i filet





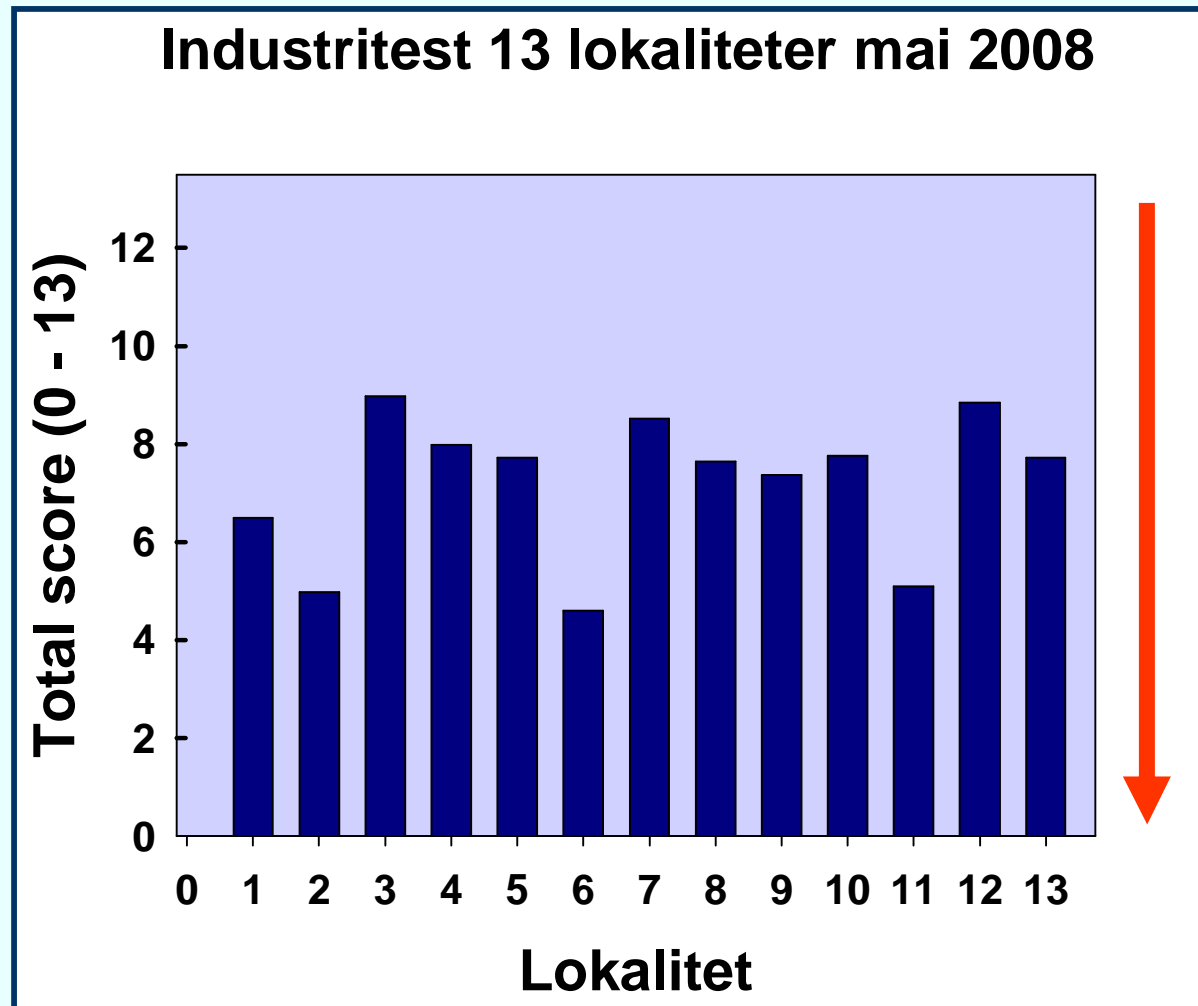
## Industritest mai 2008 - Marine Harvest 13 lokaliteter Midlere filetspaltning (rygg, buk og hale)

**Fillet gaping** – (Andersen et al 1994). **0** – No gaping; **1** – Few small (< 2 cm) slits (< 5);  
**2** – Some small slits (< 10); **3** – Many slits (>10 small or a few large, > 2 cm);  
**4** – Severe gaping (many large slits);  
**5** – Extreme gaping (the fillet falls apart)



# Industritest mai 2008 - Marine Harvest 13 lokaliteter

## Totalscore: 4 - 5 dager post mortem



# Industritest - Fastere filet

4 stamfiskgrupper fra Marine Harvest  
Region Sør

27 August 2008

## Fire stamfiskgrupper (n = 15)

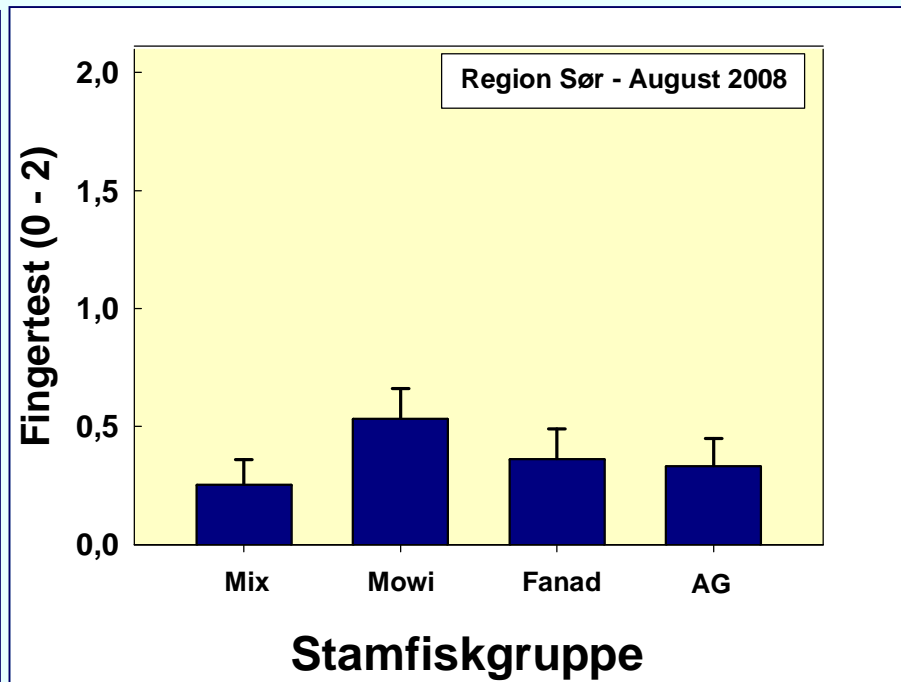
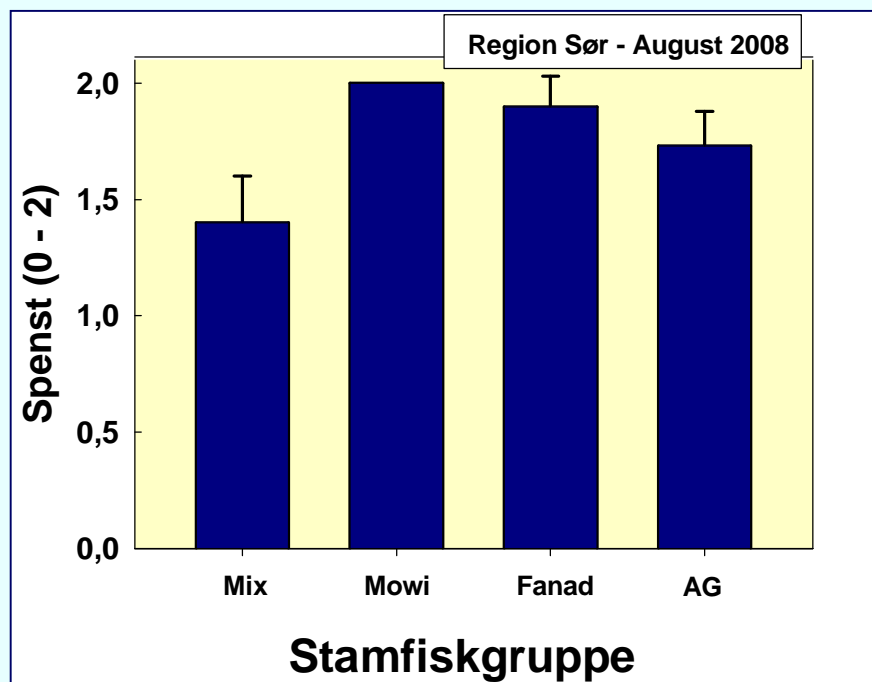
- AquaGen
- Fanad
- Mowi
- Mix (AG + Mowi)

Evaluert 7 dager post mortem

Vektklasse: 3,2 – 3,8 kg; Slutt-pH i fillet: pH 6,3

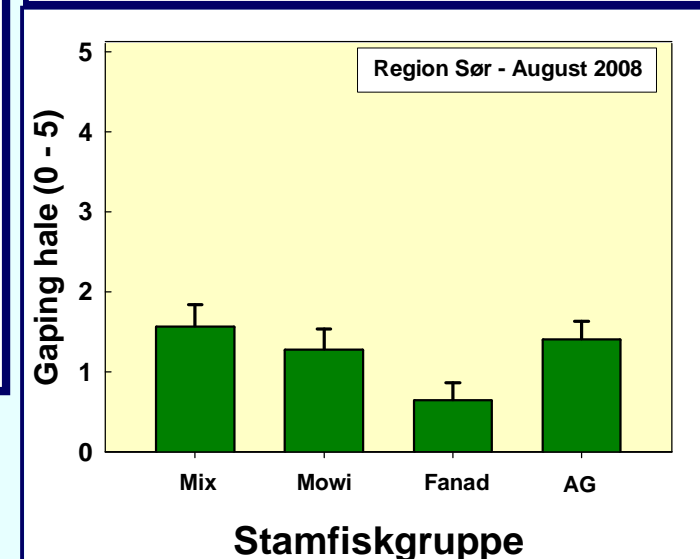
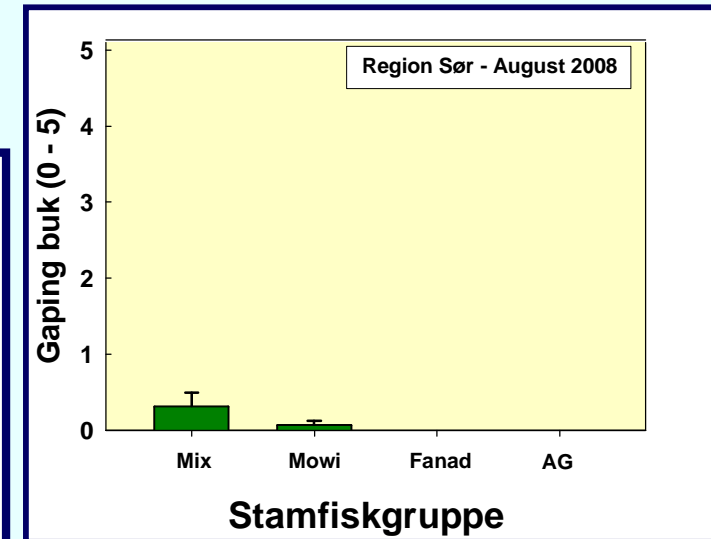
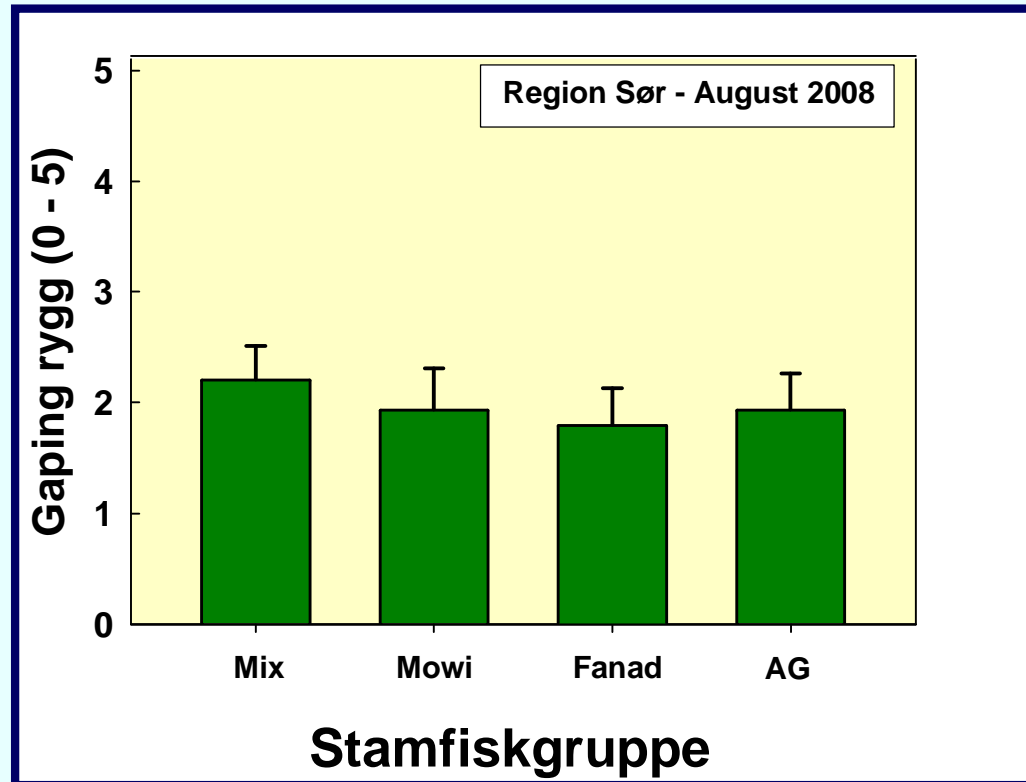
# Industritest

## Spenst og konsistens (fingertest)



# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

NB! Gaping blir framprovosert



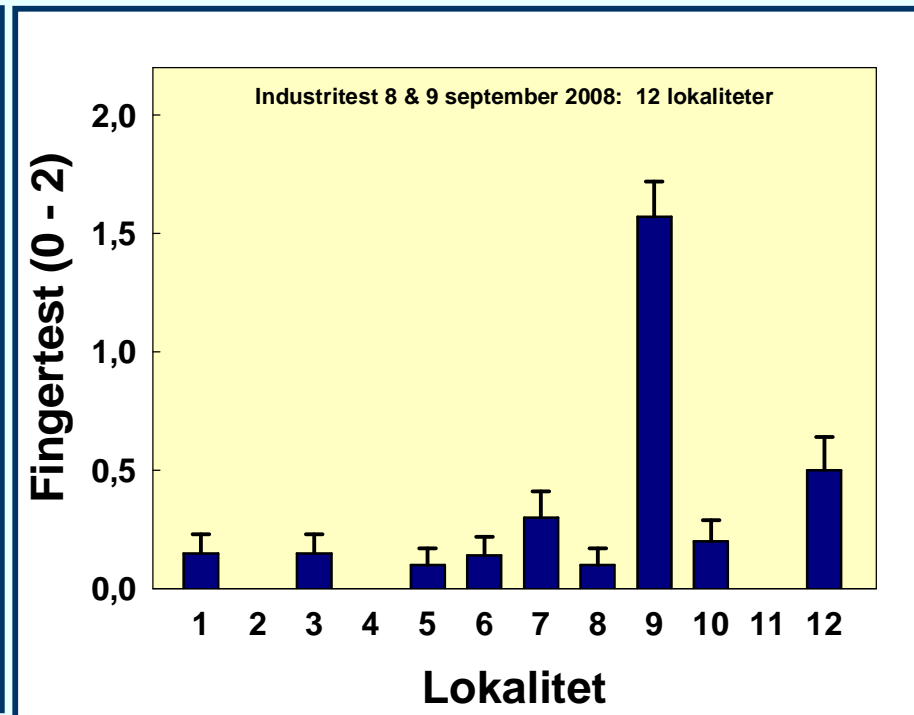
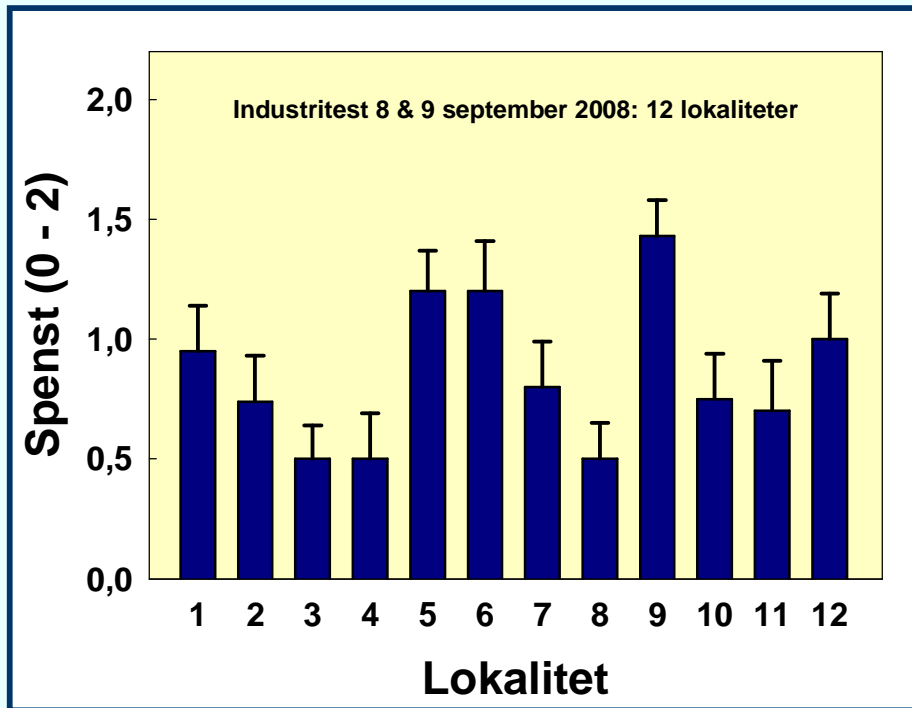
# Industrietest – Fastere filet

Laks fra 12 MH lokaliteter

8 & 9 september 2008

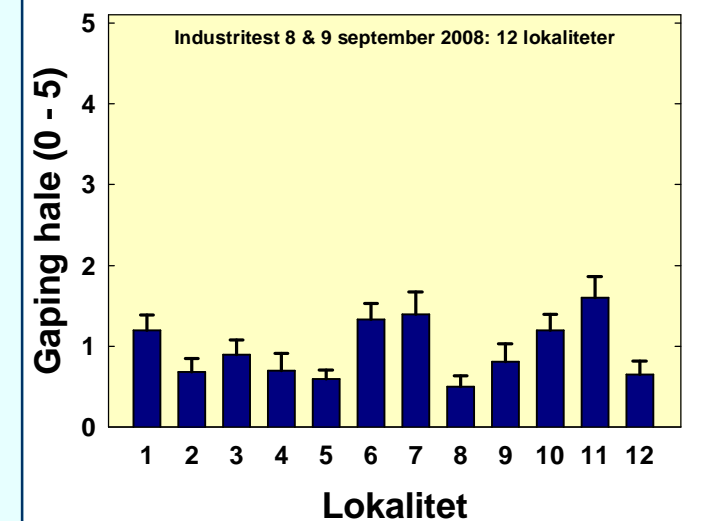
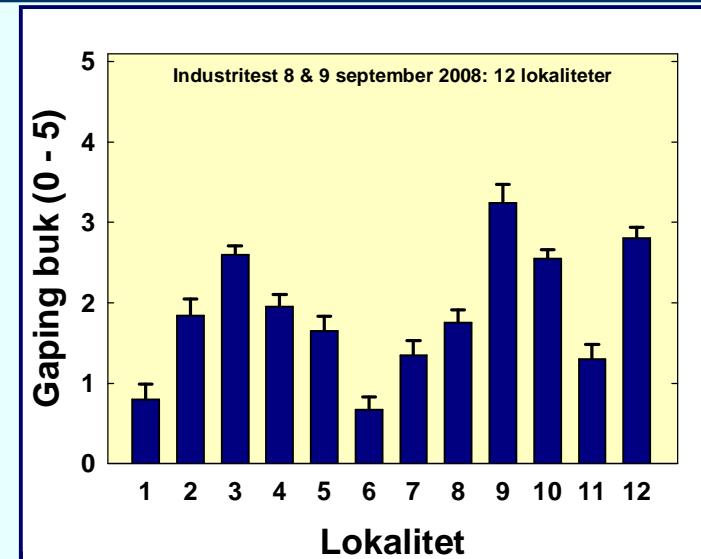
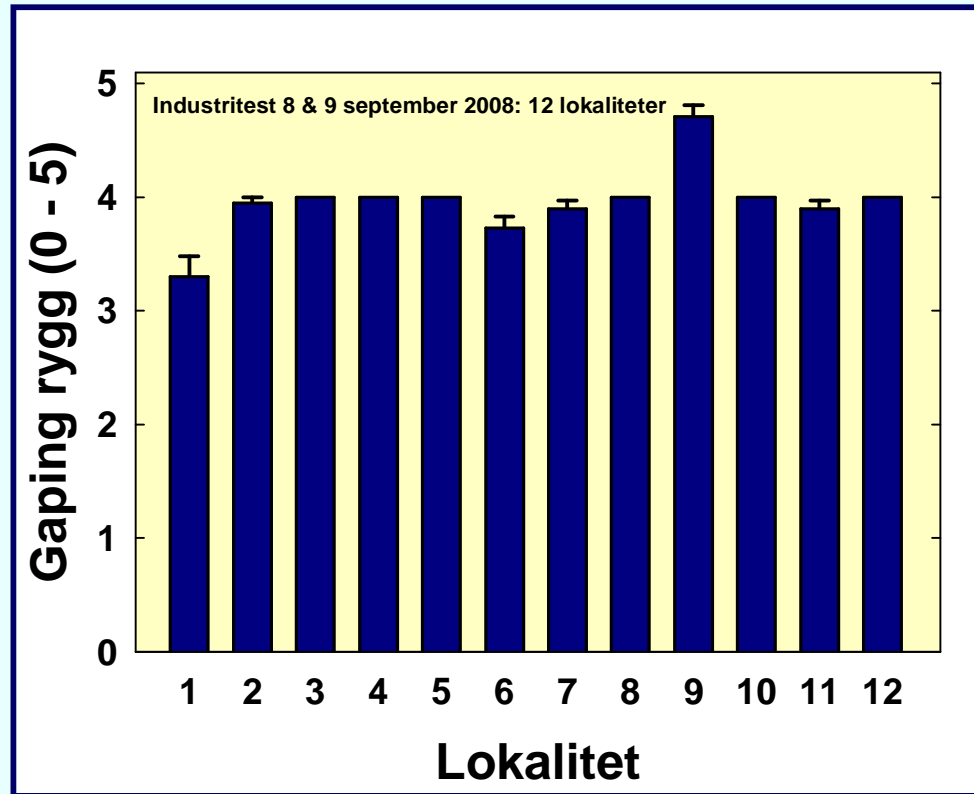
# Industritest september 2008 – 12 Marine Harvest lokaliteter

## Spenst (elastisitet) og fingertest (konsistens) i filet



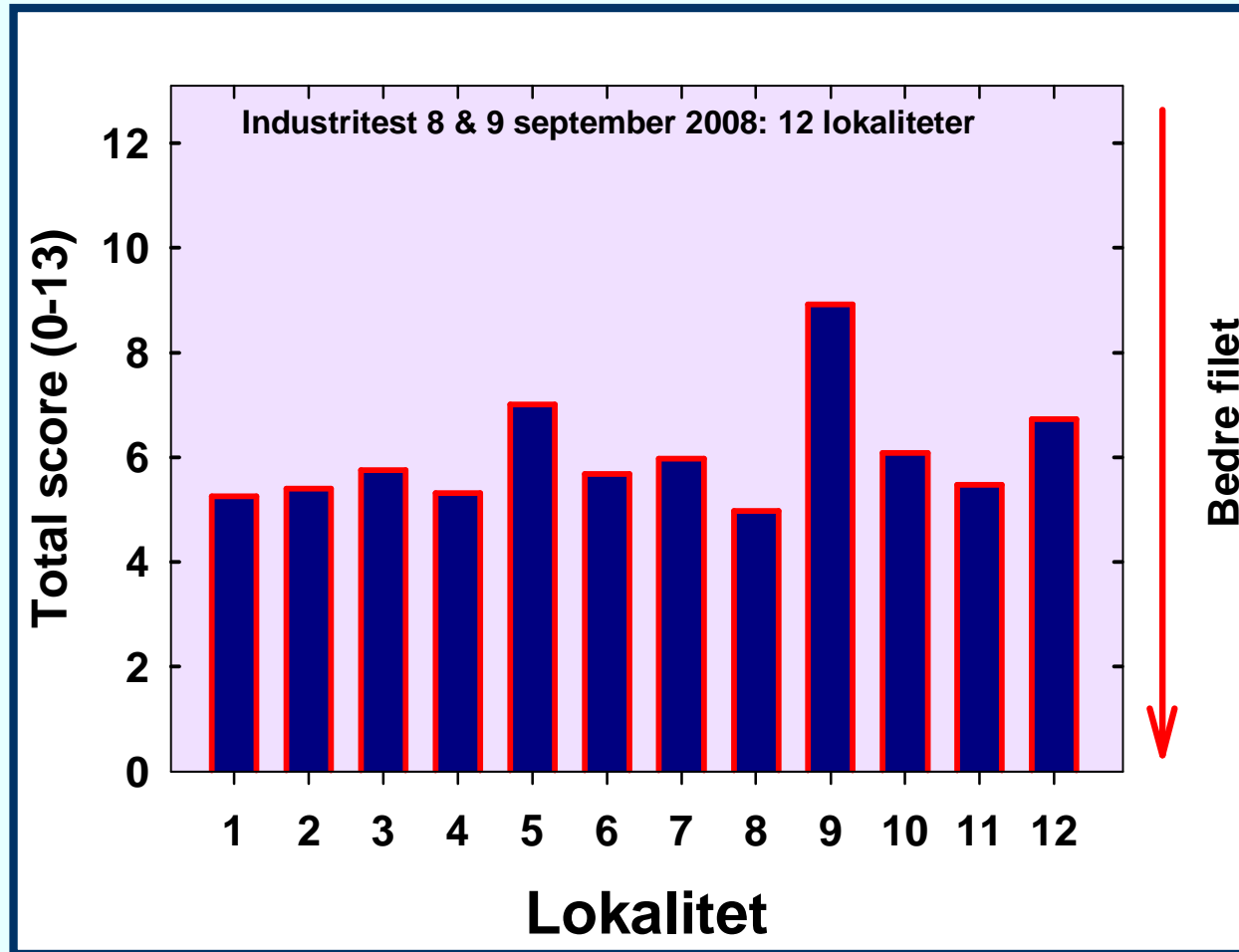
# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

NB! Gaping blir framprovosert





# Industritest – Total score



# Industritest – Fastere filet

Laks fra Averøy

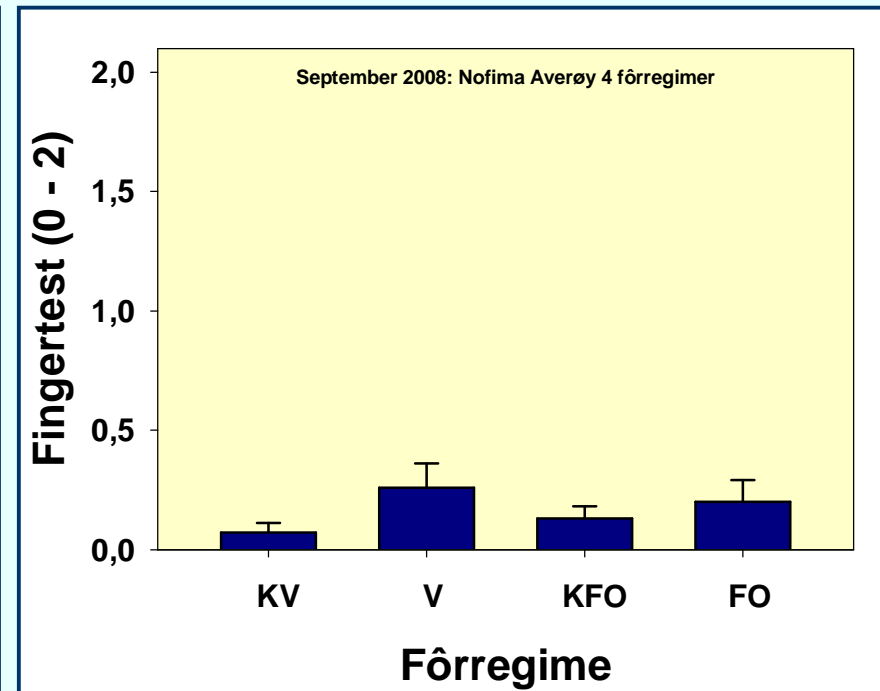
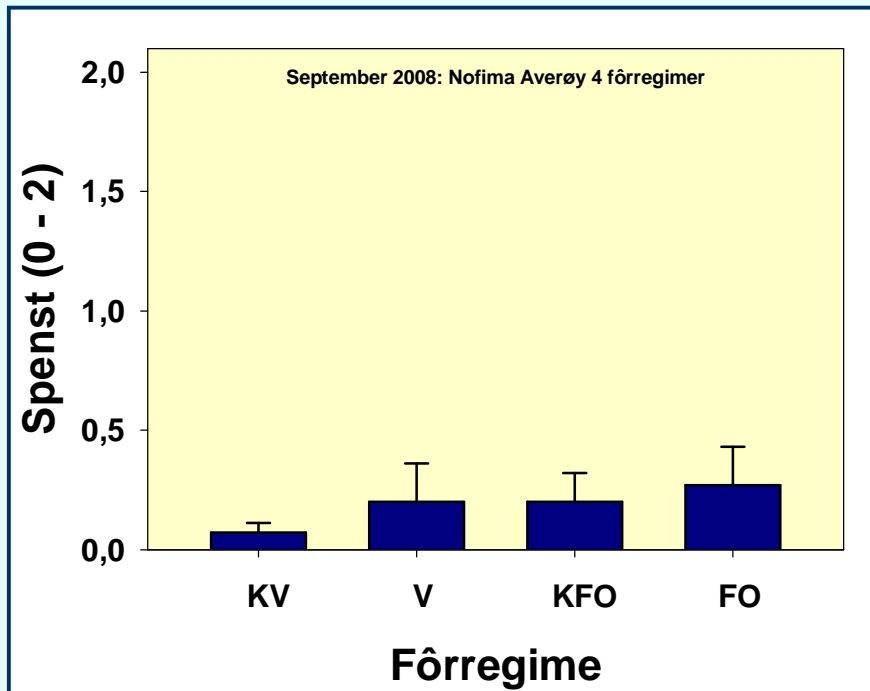
Nofima Marin

Sammenlikning av 4 fôringsregimer

Analysert 15 september 2008

# Industritest

## Spenst (elastisitet) og konsistens (fingertest)

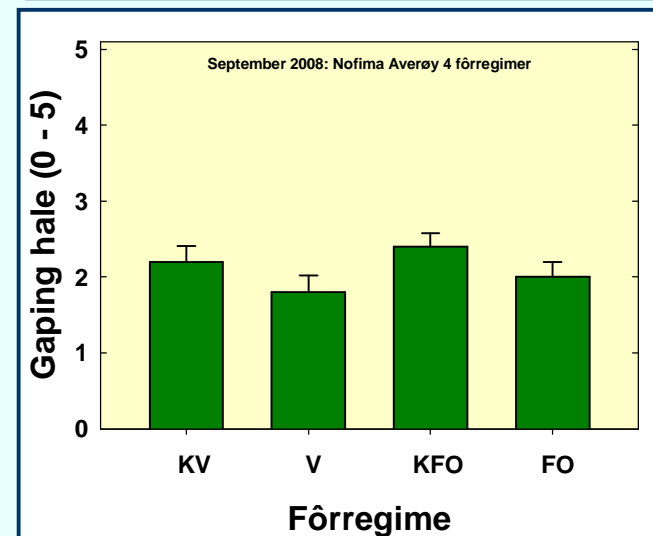
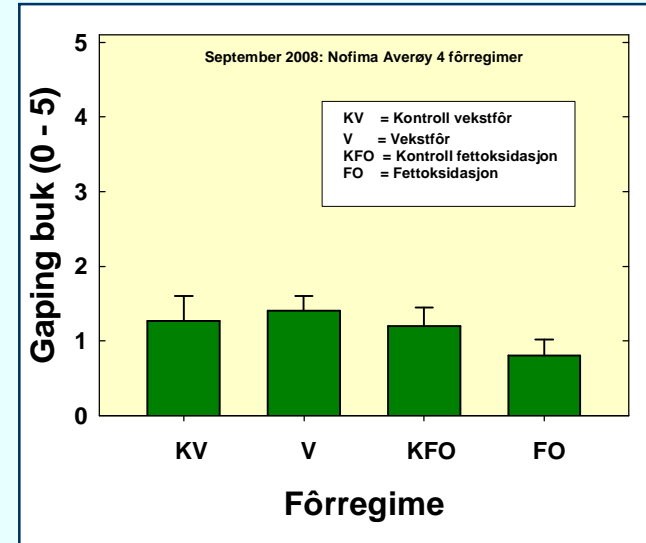
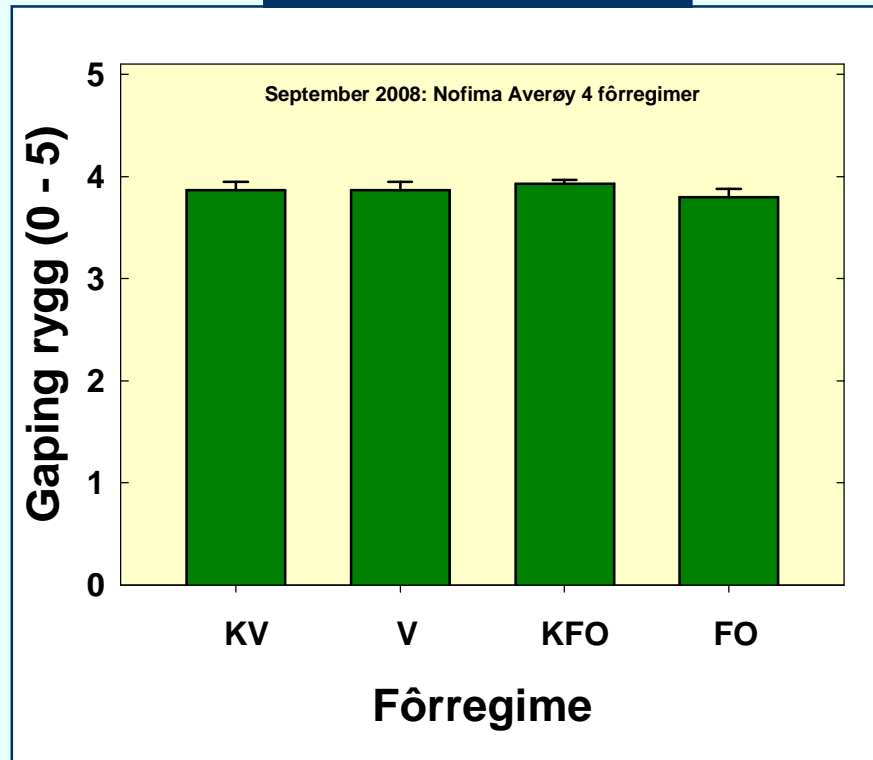
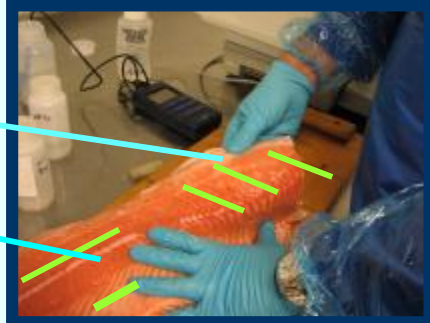


# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

## NB! Gaping blir framprovosert

Rygg

Hale



# Industry Test – Fillet Texture

## Atlantic salmon from 4 Marine Harvest processing plants in Norway

Evaluated at LMB, Bolougne - France  
25 September 2008

### Fish from:

- n R 110 (Ryfisk, Hjelmeland)
- n M 384 (Eggesbønes)
- n ST 400 (Ulvan)
- n N 1115 (Herøy)

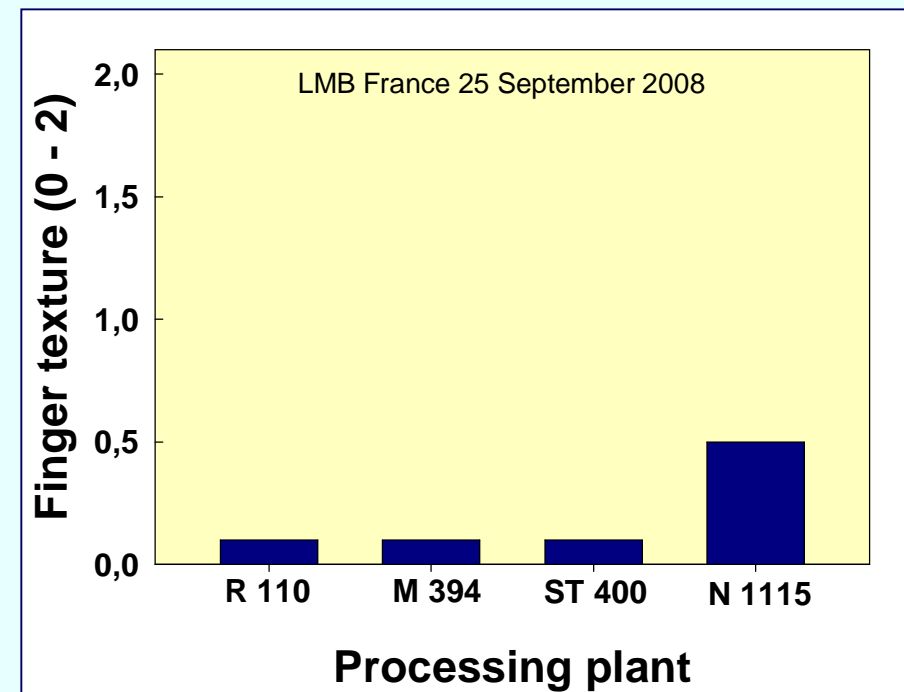
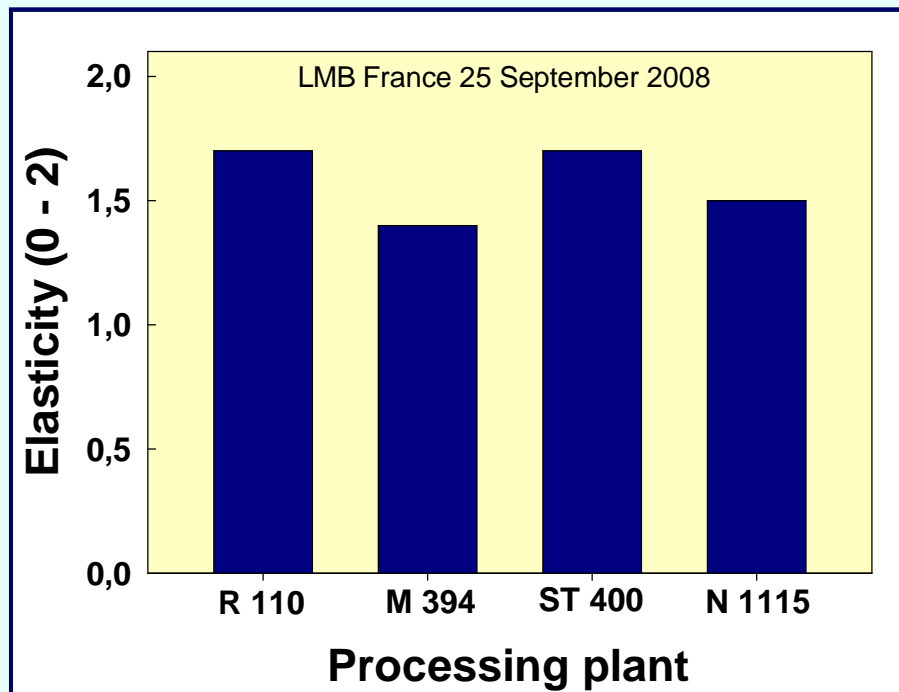


## Visual observations during processing 25 September 2008

- n Fish from all four plants could be processed without causing major fillet damages (evaluated after both trimming and pinbone removal)
- n Fillets considerably better (less soft) at LMB compared with our previous visit in September 2007 (during the severe soft-flesh period)
- n Closer inspection revealed that fillets from N-1115 were more susceptible to gaping compared with the fillets from the other 3 plants located in Southern Norway

# Industry Test

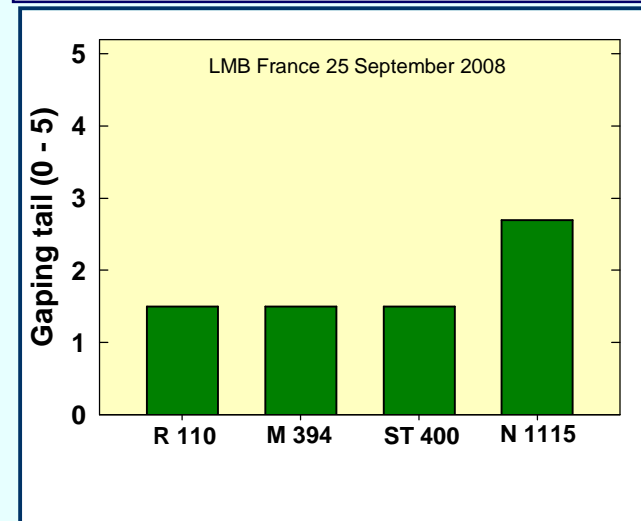
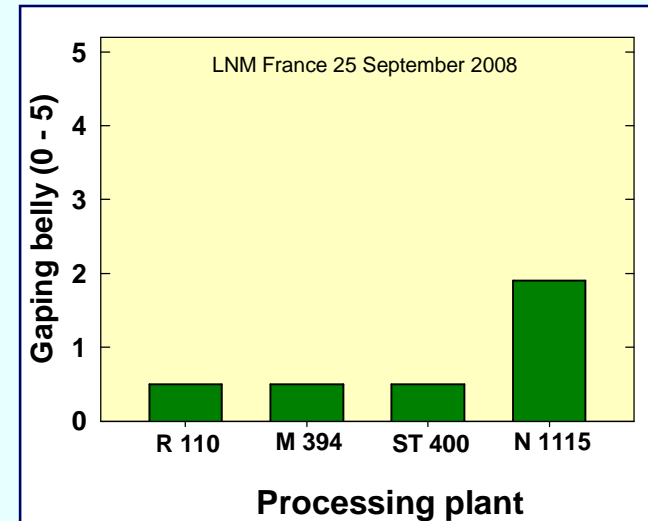
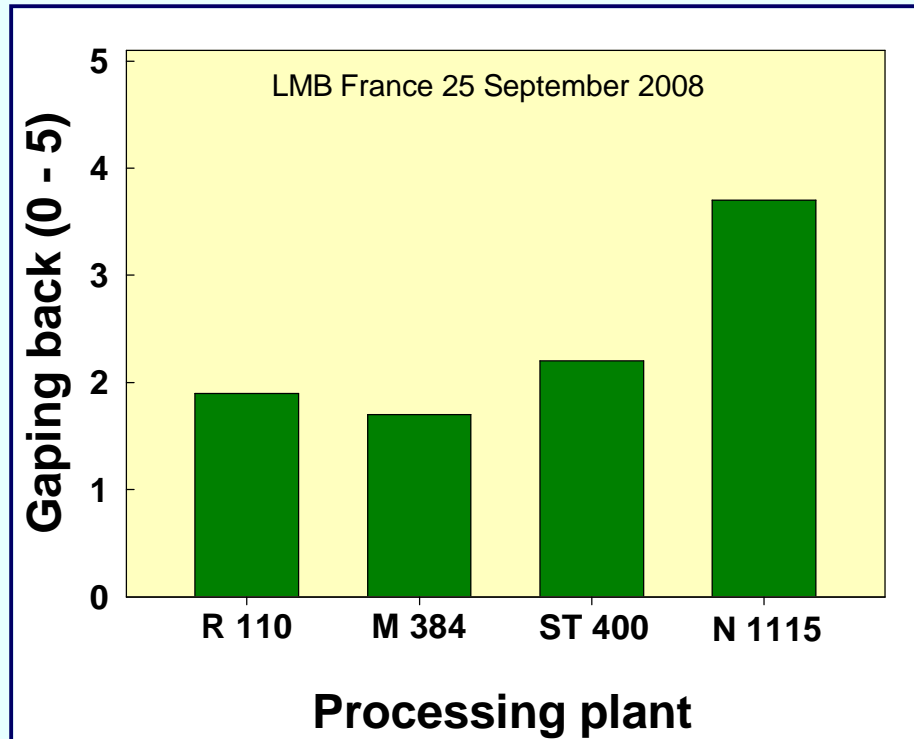
## Elasticity and Finger Texture



# Industry Test

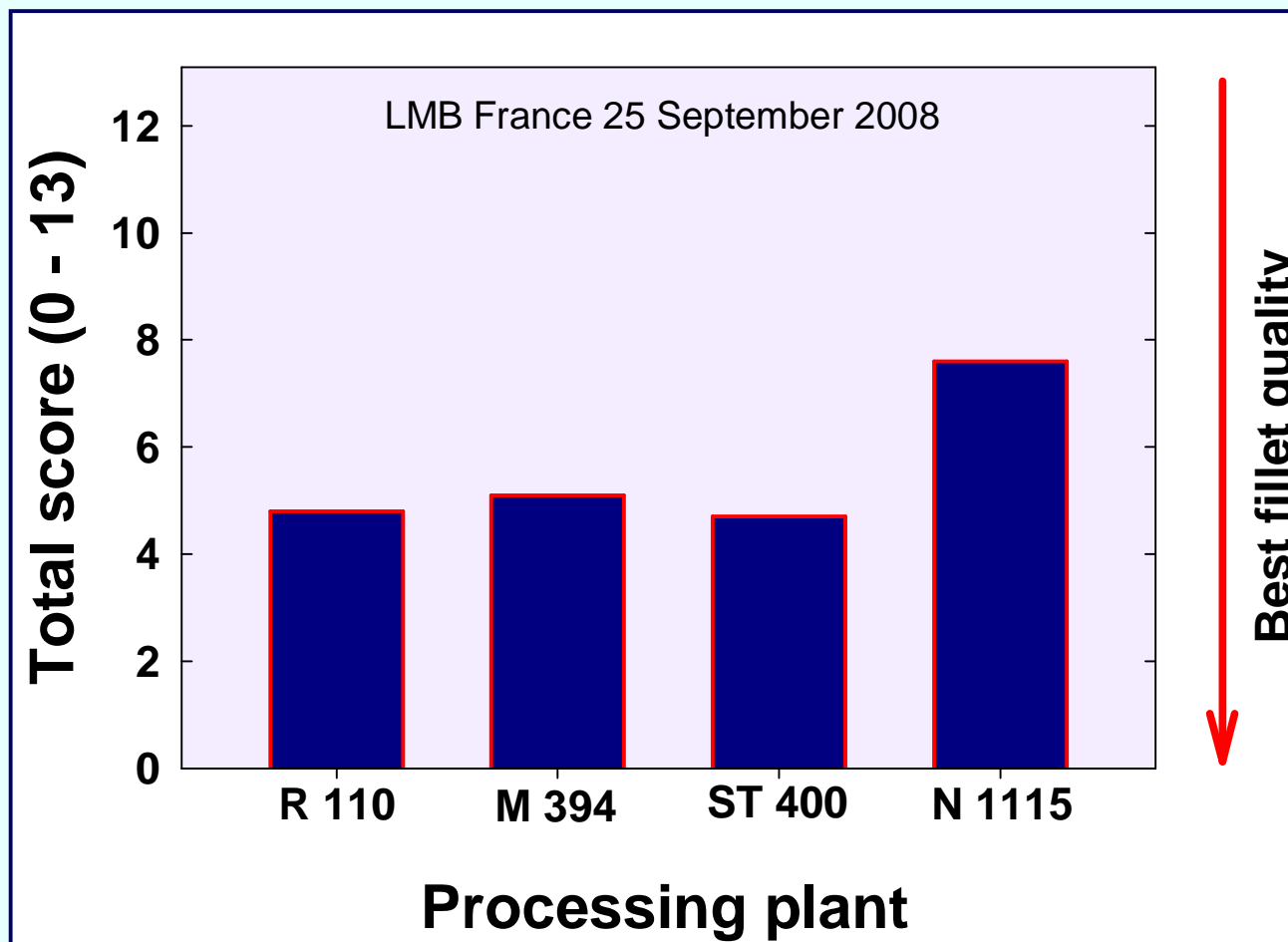
## Gaping in back, belly and tail regions

Note that gaping is provoked to simulate filleting machine!





# Industry Test Total Score



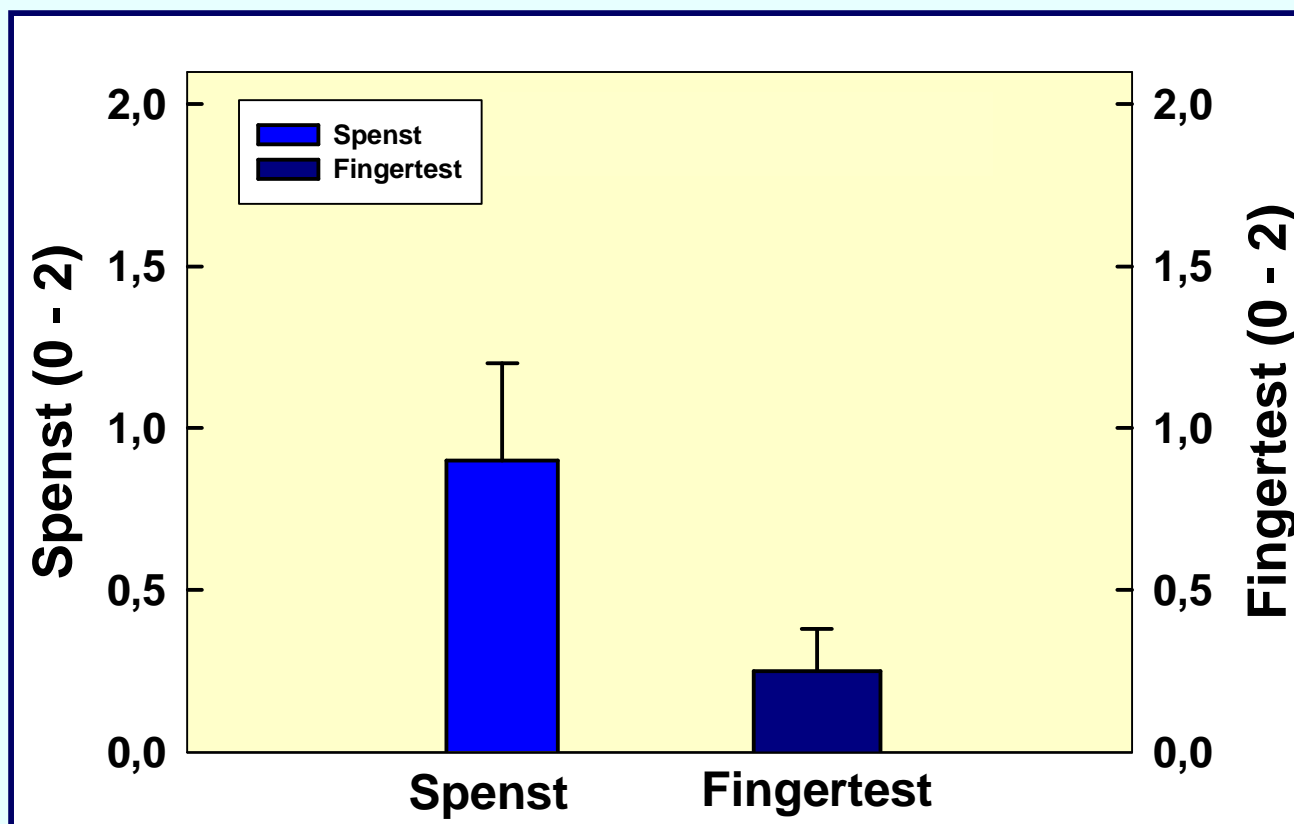
# **Industrietest – Fastere filet Slakteri i Nordland**

**Uttak: 2 oktober 2008 – Analyse: 6 oktober 2008**



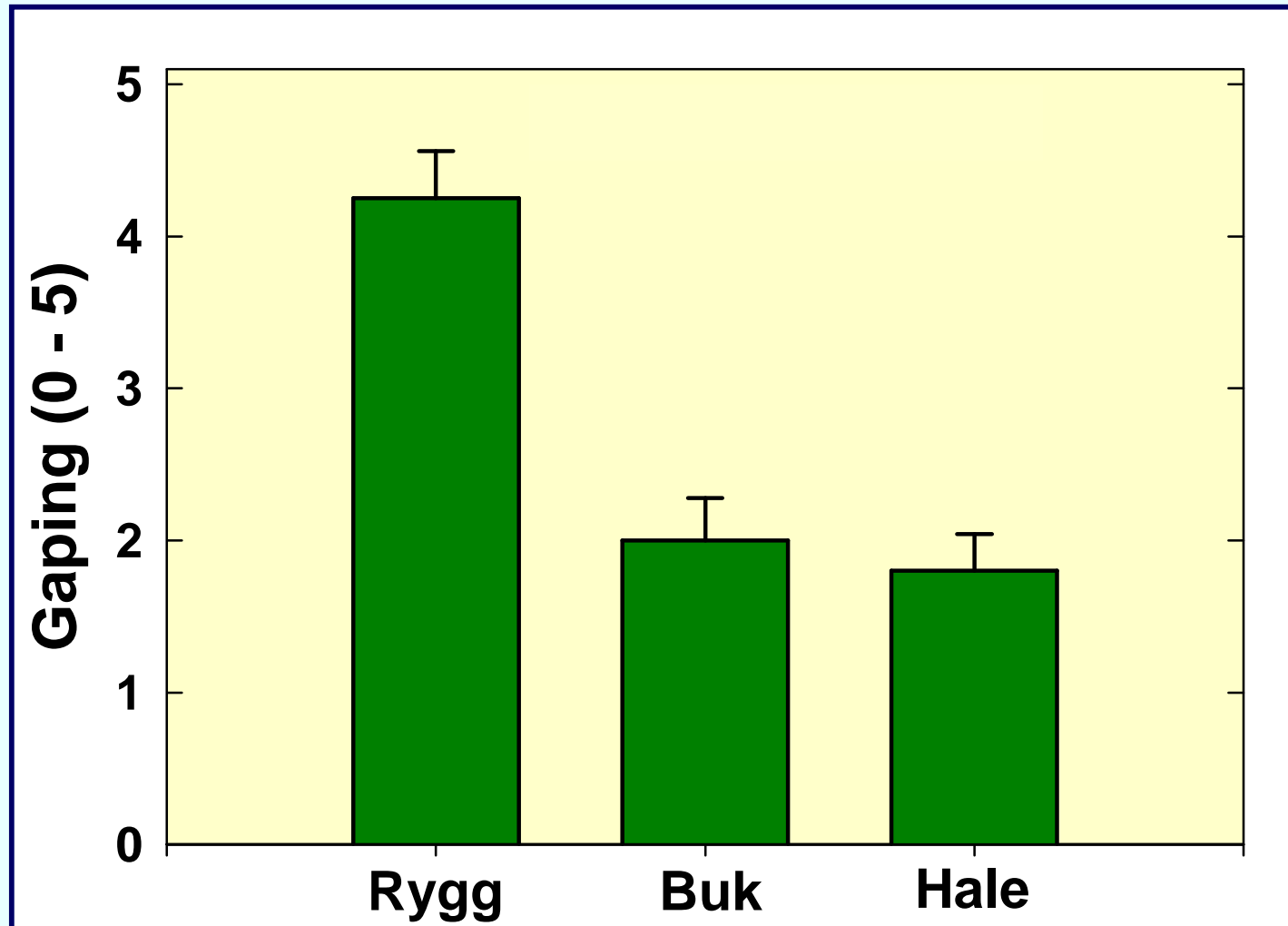
# Industritest

## Spenst og konsistens (fingertest)

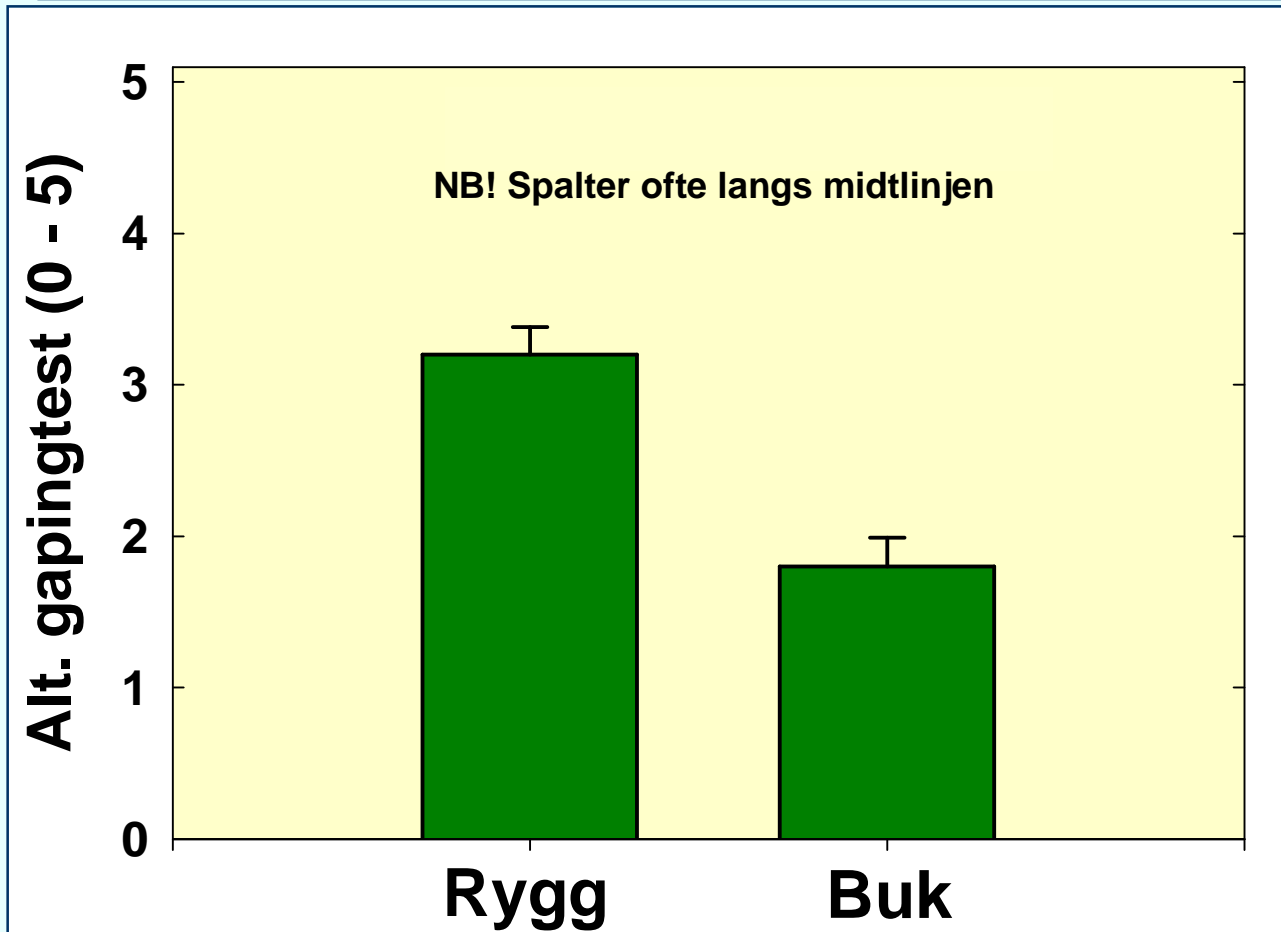


# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

NB! Gaping blir framprovosert



# Alternativ (enkler) gaping test



NB! Gaping score forskjellig fra den andre gapingtesten



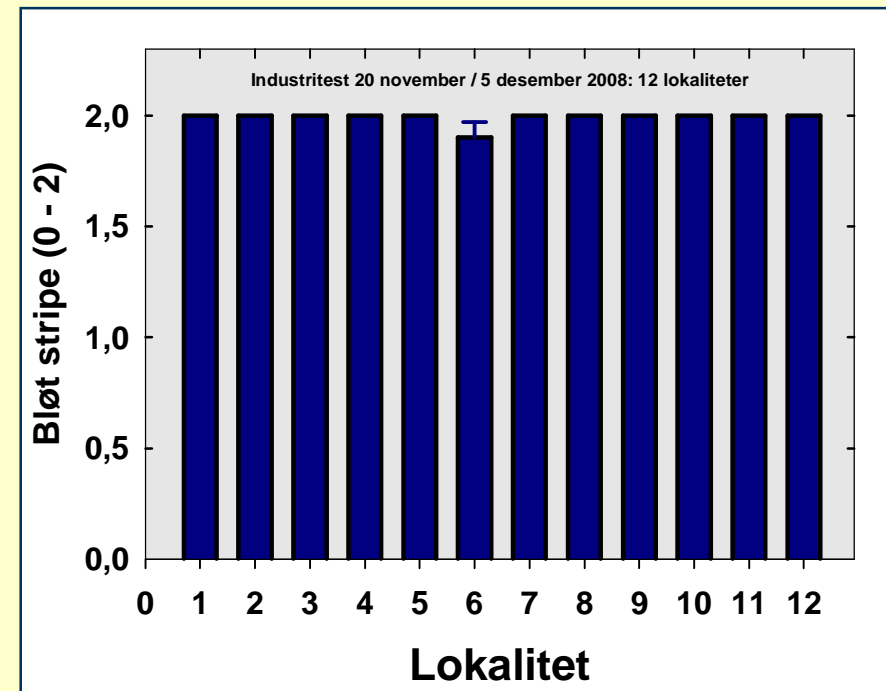
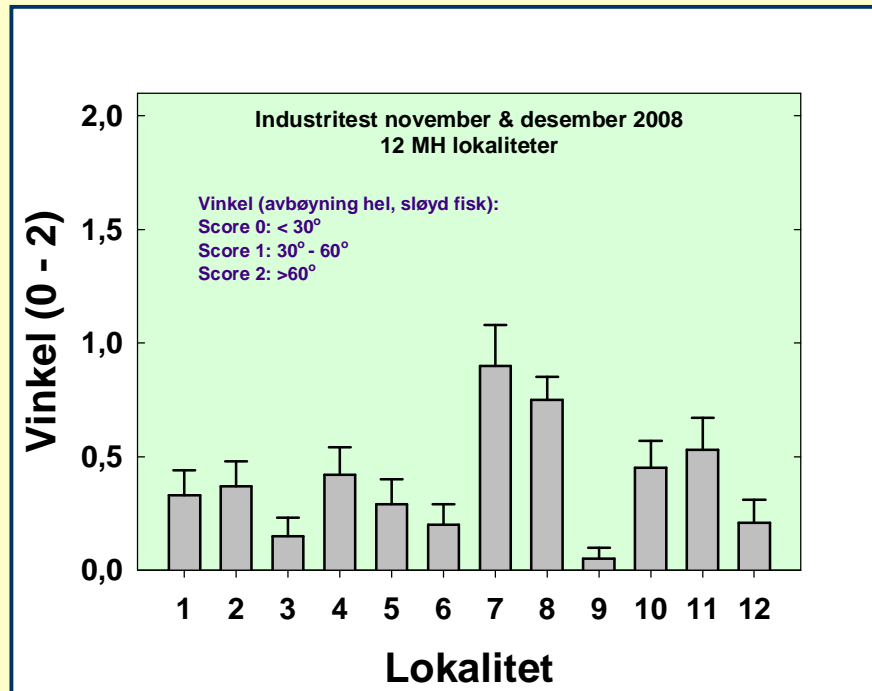
# **Industrietest – Fastere filet**

**Laks fra 12 Marine Harvest lokaliteter**

**24/25 november & 5 desember 2008**

# Industritest

## Avbøying av hel fisk (vinkel) og lengde av bløt stripe

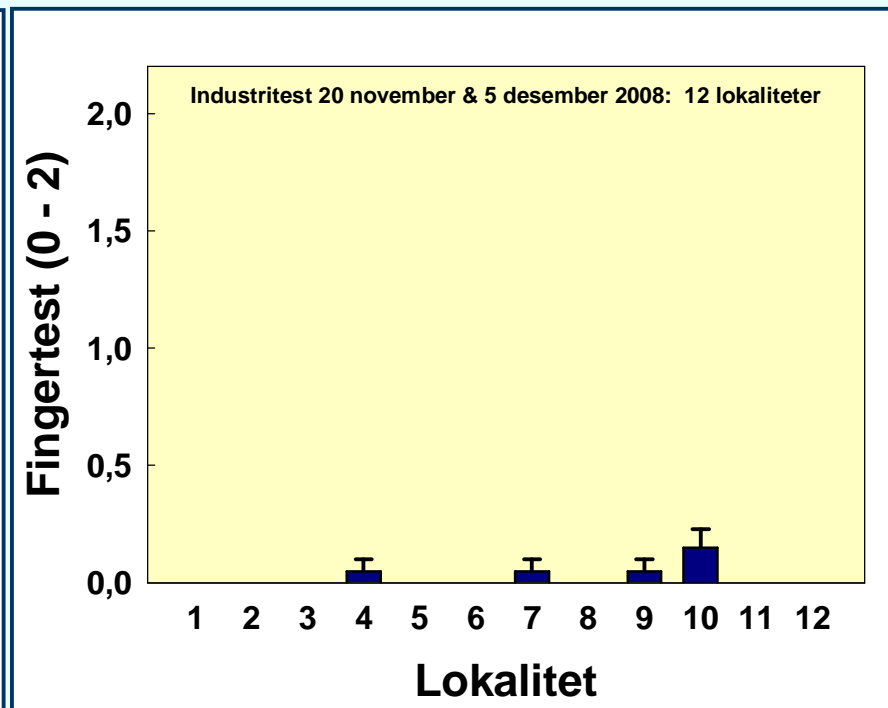
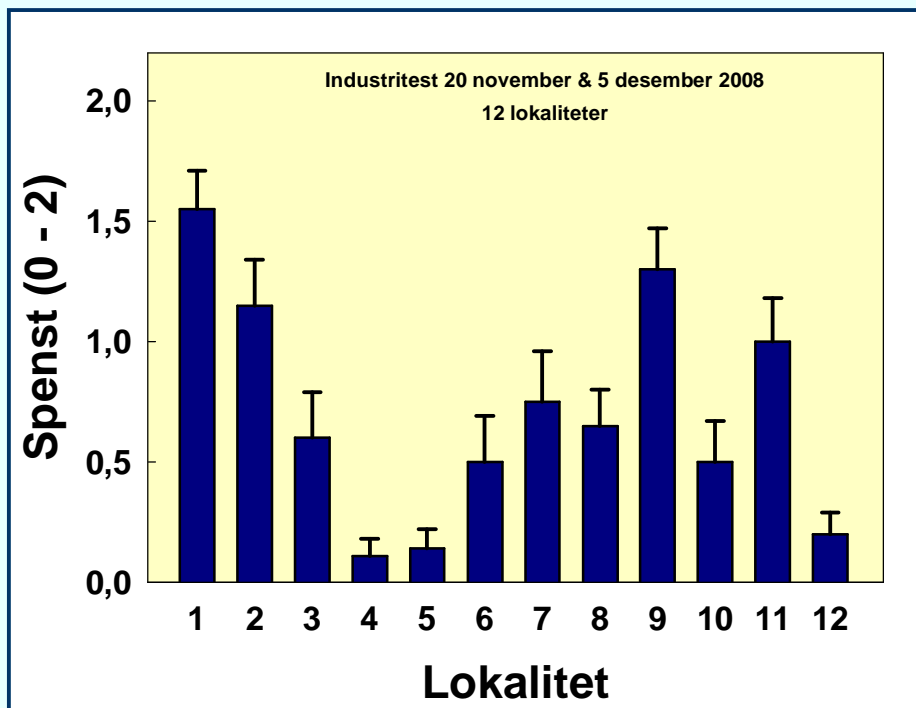


Industritest: Middelerverdi ± SEM (n=20)

# Industritest november & desember 2008

## 12 lokaliteter Marine Harvest

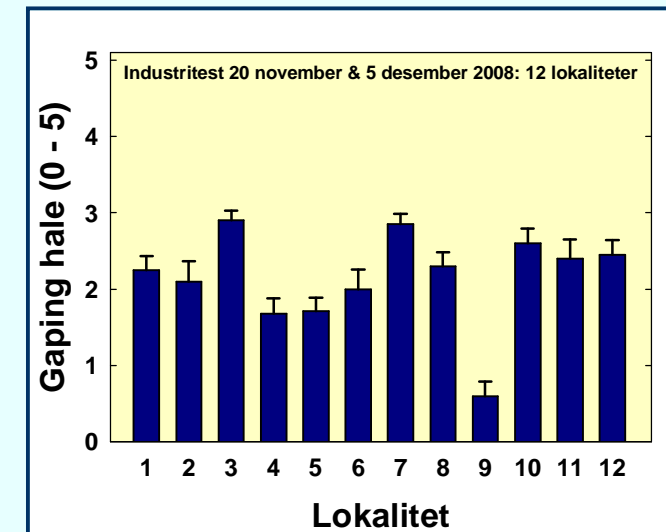
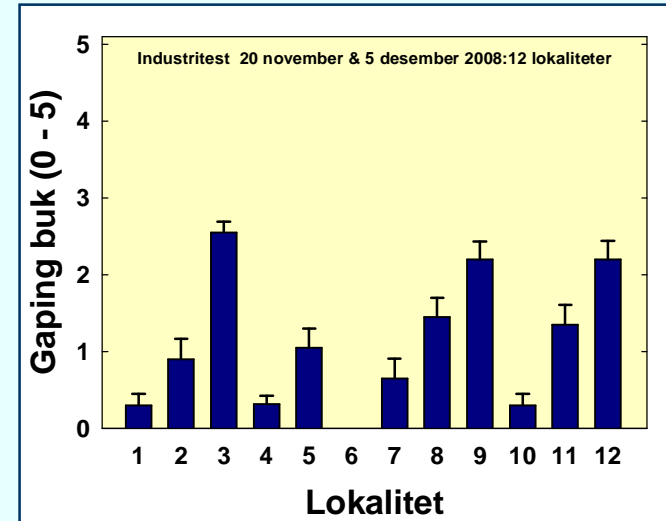
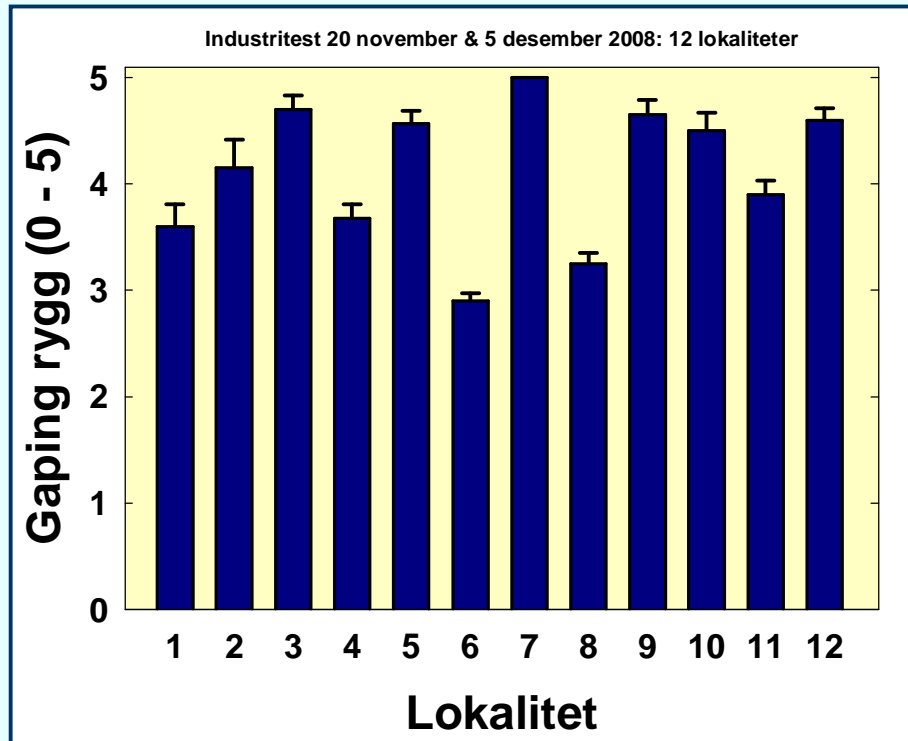
### Spenst (elastisitet) og fingertest (konsistens)



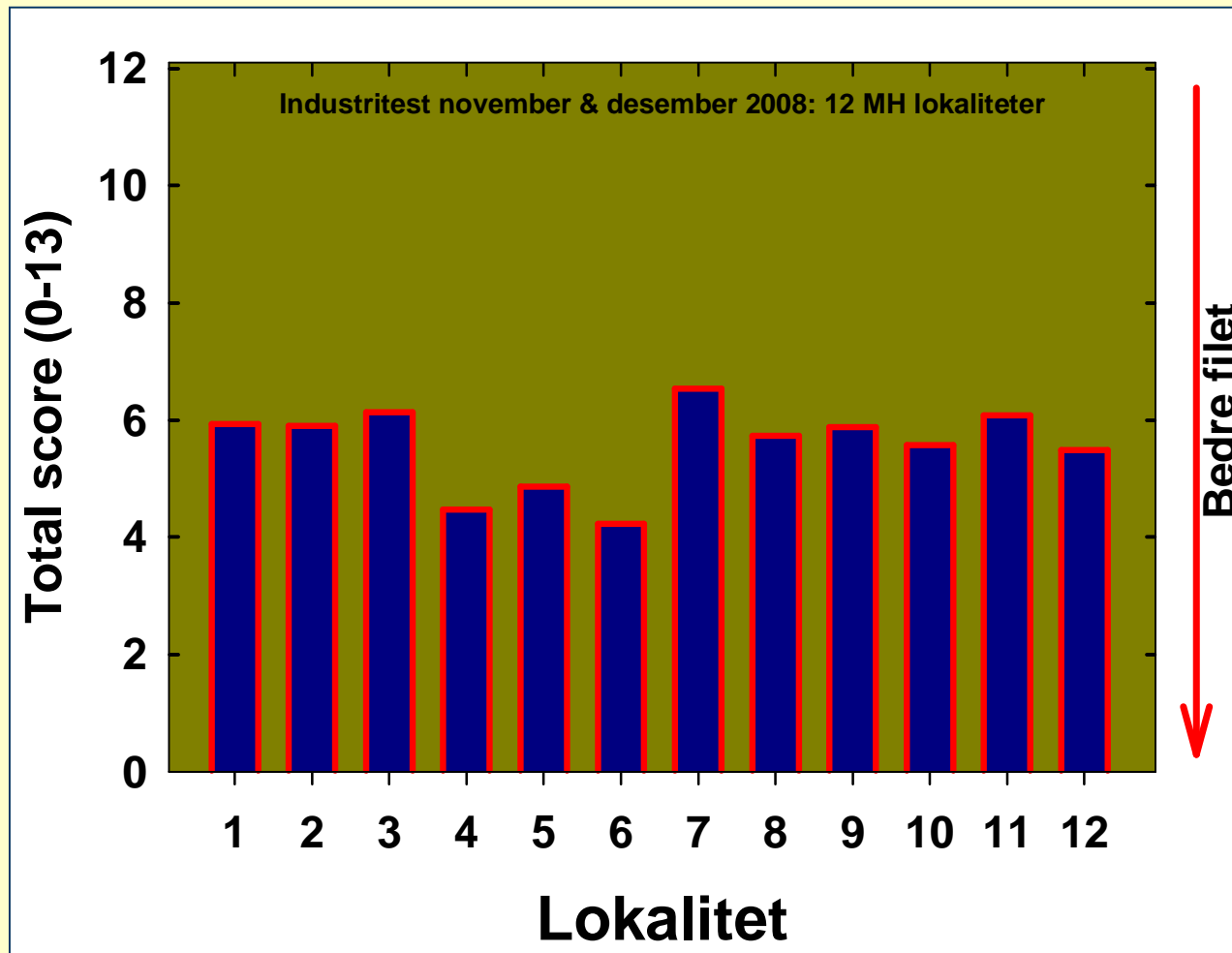


# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

NB! Gaping blir framprovosert



# Industritest – Total score



Lokalitet 1 & 2: Variabel kvalitet, innslag av PD fisk

# Oppsummering 2008

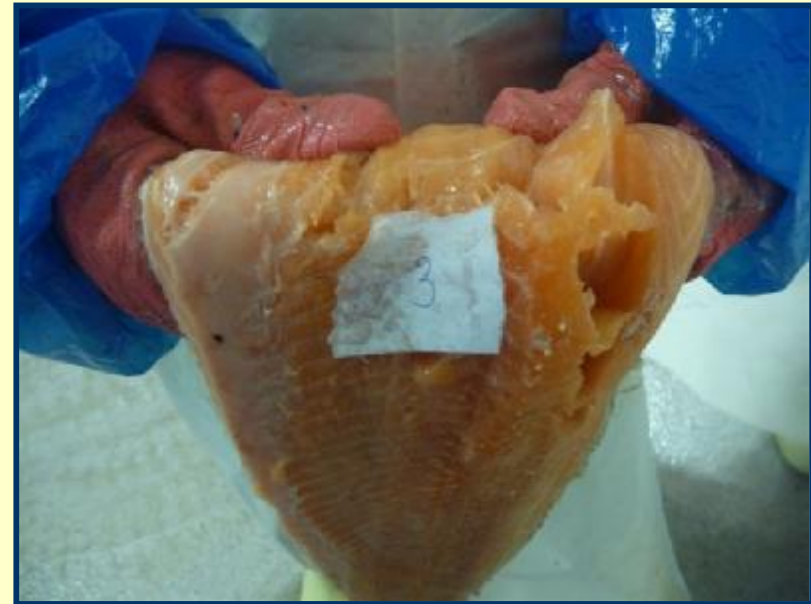
## Noen tendenser: 12 (13) lokaliteter Marine Harvest

- n **Bløt stripe:** småfisk lavere score (mai)
- n **Spent:** god til dårlig spent (alle uttak, avhenging av størrelse og lokalitet)
- n **Konsistens:** God til meget god, bortsett fra småfisk i mai
- n **Gaping:** Massiv gaping (rygg) både i sør og nord. Men: mindre gaping i fisk fra sør i 3 andre tester (Ryfisk i januar, august, og september, samt i fisk fra M og ST i september)
- n Fisken 'vokser bløtheten av seg'
- n **Konklusjon 2008: Bra konsistens, men mye spaltning**

# 2008: OK tekstur, men...



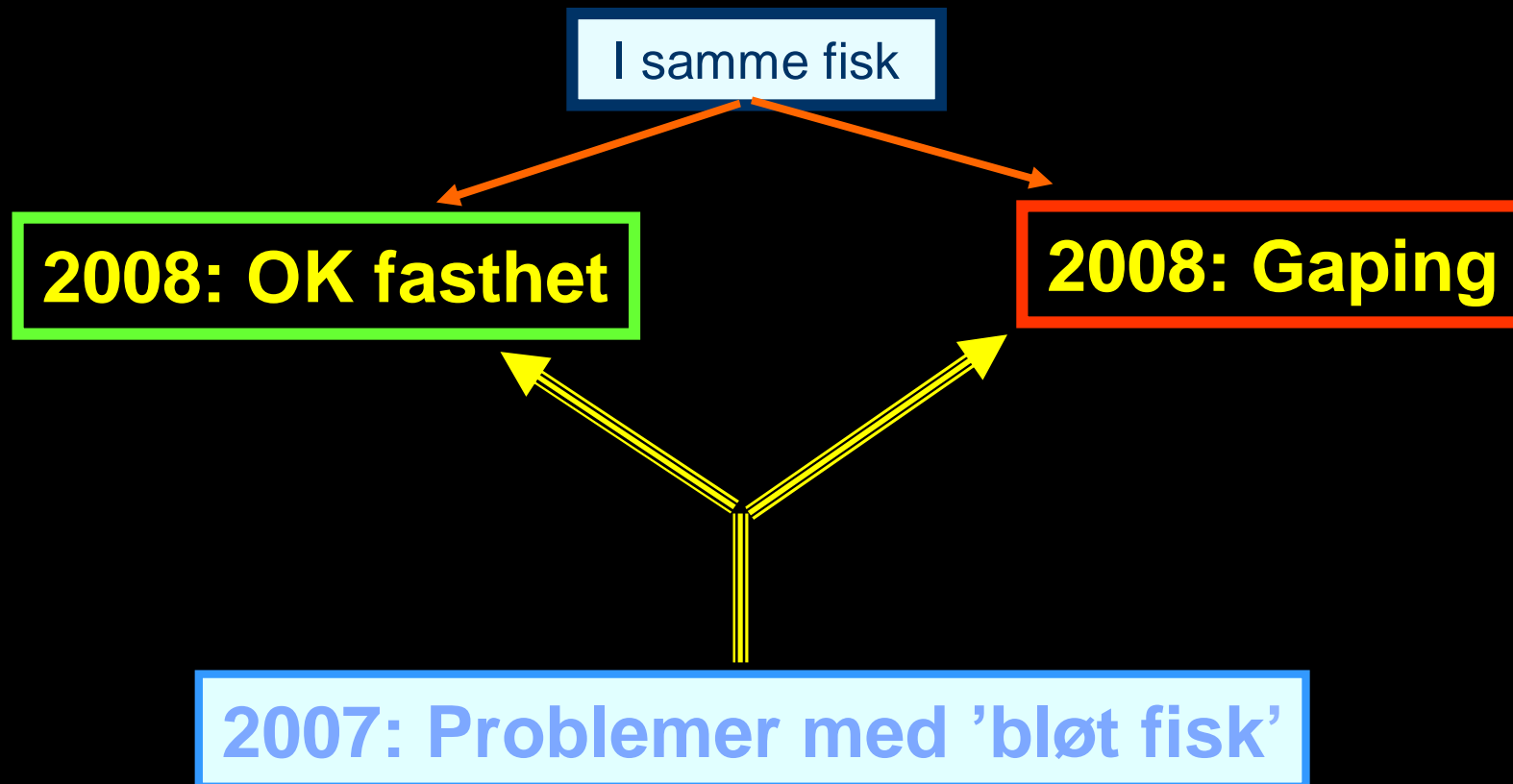
Kan forekomme:  
skinnen trekkes lett av



Etter gapingtest

# Hva skjedde i 2007?

(...og i 2000,...1994....?)



# Fastere filet, veien videre...

| Problemstilling          | Oppklaring                                |
|--------------------------|---|
| <b>1. Gaping</b>         | <b>Forskning</b>                          |
| <b>2. 'Bløt fisk'...</b> | <b>Implementering av<br/>industritest</b> |

# Eksempel: Fisk fra lokalitet 9 (mai: lokalitet 10) Utsett: H07

Mai og september 2008



0,2 kg mai  
0,8 kg september

Ekstremt 'bløt', mye gaping

Nov 2008

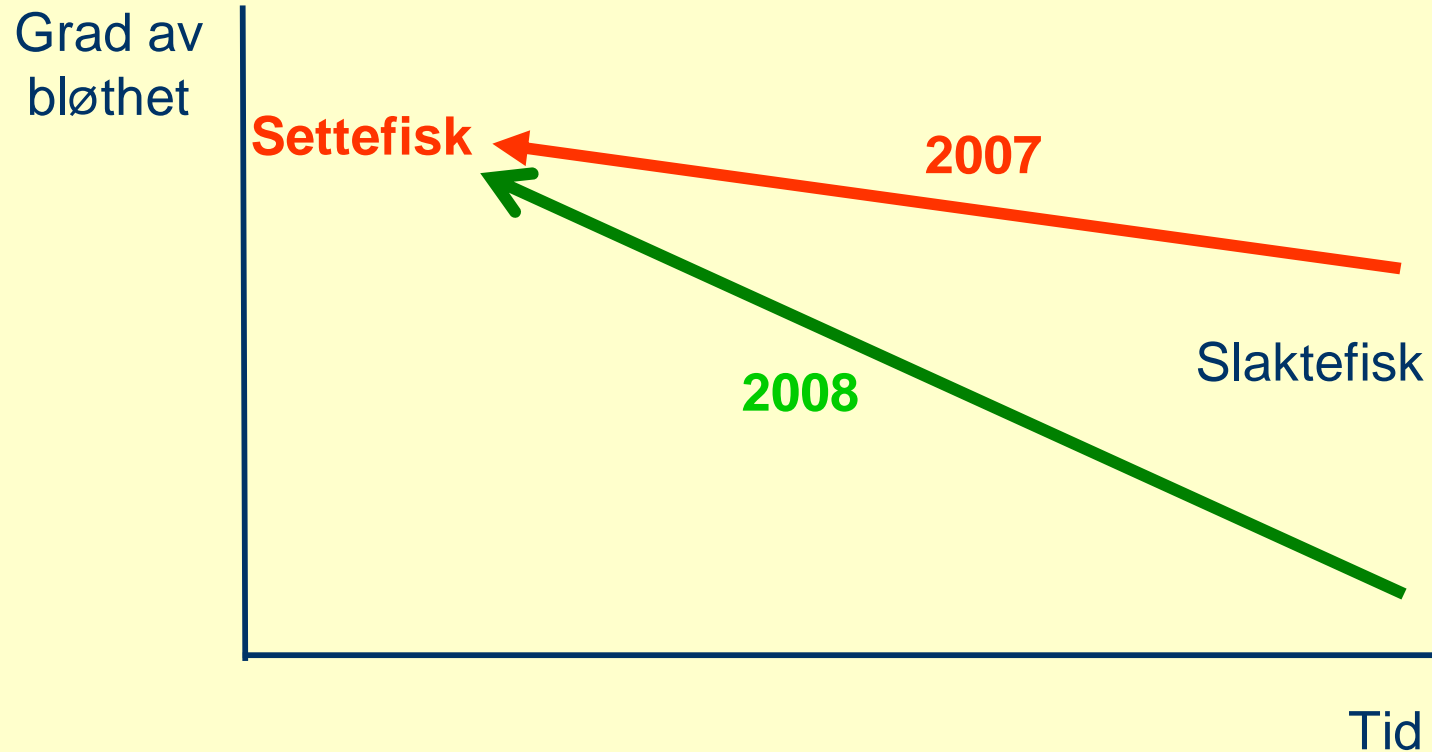


Rundvekt 1,2 kg

Middels spenst, OK tekstur, mye gaping

**5 andre lokaliteter H07:  
Tilsvarende i mai, men OK tekstur i september (men mye gaping)**

# Er dette mulig ?





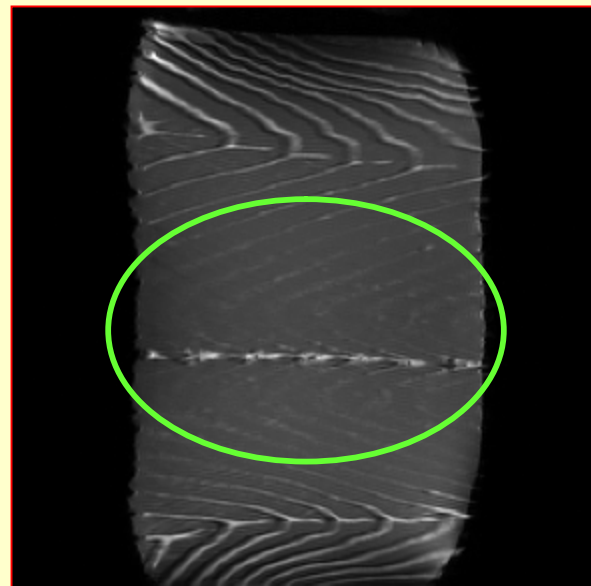
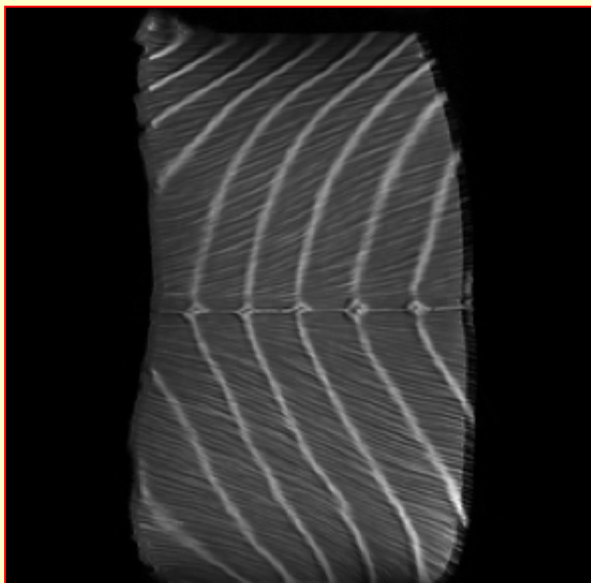
# 1H MRI – Anatomi og fettfordeling

Stamme: 'Ikke klippet' (Fisk # 2)

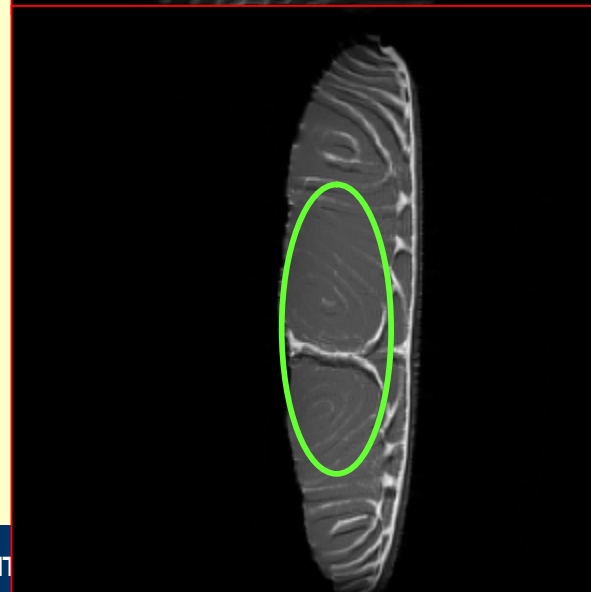
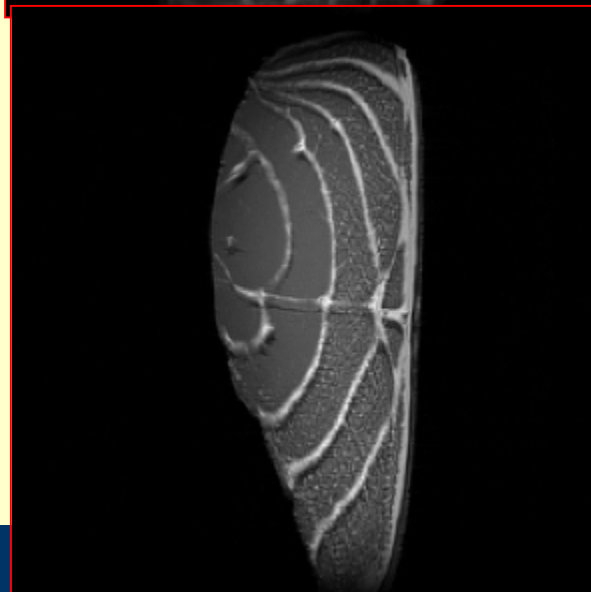
Foran

Hale

coronar snitt



sagittal snitt



# MRI Fettfordeling og anatomi

## Konklusjoner

- n Bløt stripe – et tydelig avgrenset område, mest utpreget i haleregionen
- n Vist i 2007: meget lavt fettinnhold, avvikende fettsyreprofil og høyere vanninnhold i bløt stripe
- n MRI av (1) ekstremt bløt fisk (2007), (2) diverse fastere fisk i 2008, og (3) vill laks: **Alle har bløt stripe**. Minst tydelige 'fettstriper' (myokommata) i ekstremt bløt fisk
- n Årsak til manglende fettavleiring: **Fettmetabolisme eller manglende bindevev?**

# Bløt stripe

- n Industritest gir som oftest Score 2, dvs den bløte stripen dekker halve filetlengden
- n Lengden ikke kvalitetskriterium
- n Hvor utpreget stripen er og strukturen av den varierer ('bløt fisk' hadde geleaktig stripe)
- n Lite bindevev, lite fettavleiring ('hvite striper')
- n Bløt stripe er **normalt** (også i vill laks)
- n **En vekstzone?**
- n → **Ut av industritesten!**

# Bløt fisk,-taurine og andre metabolitter

15-16 Januar 2009

Marit Espe

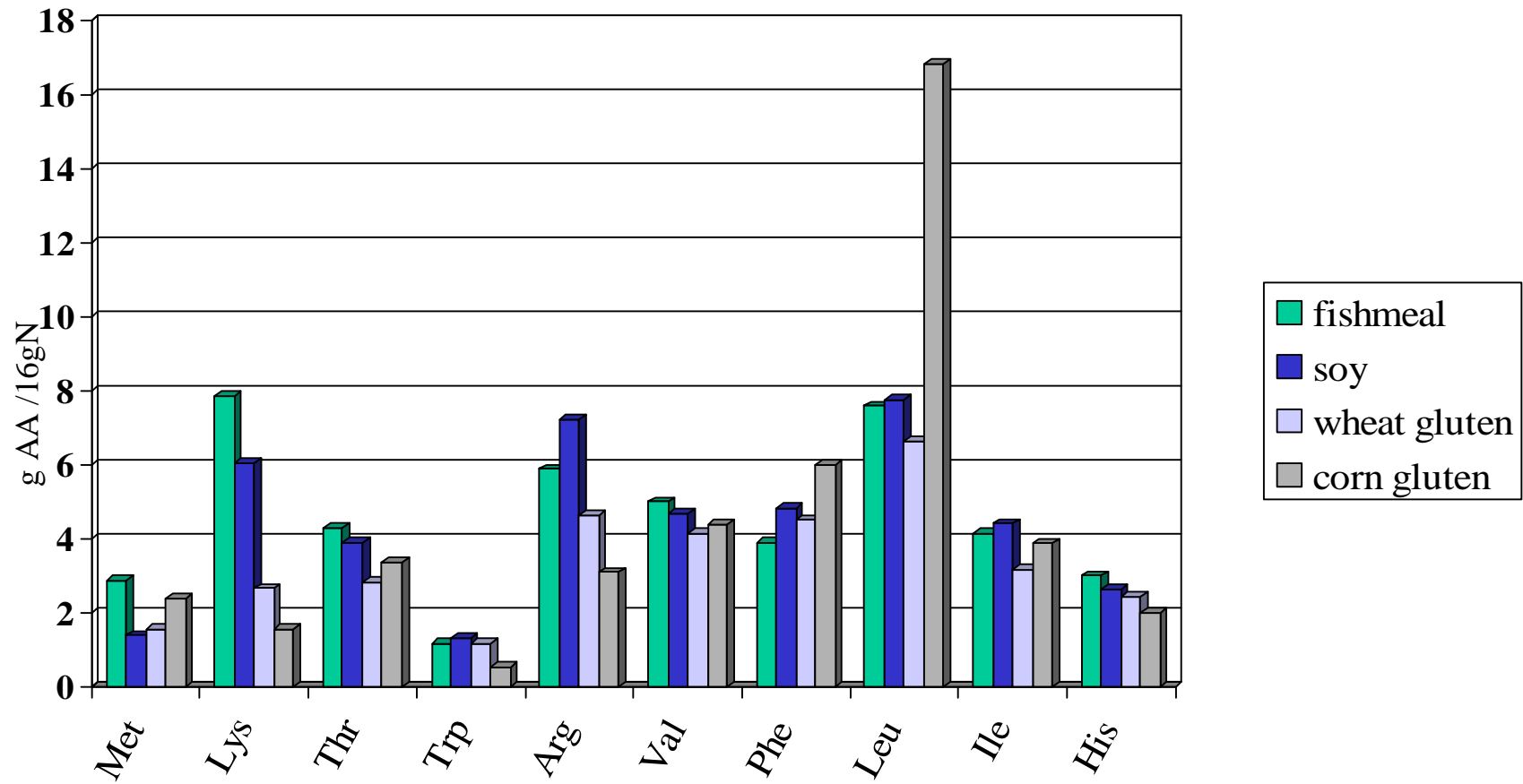
## Taurine og N-metabolitter (NPN's)

- Repetisjon fra ifjor
- Metabolisme og fordeling i ulike vev
- Resultater fra analyser på NPN's siste år
- Har dette betydning for utvikling av bløt fisk?

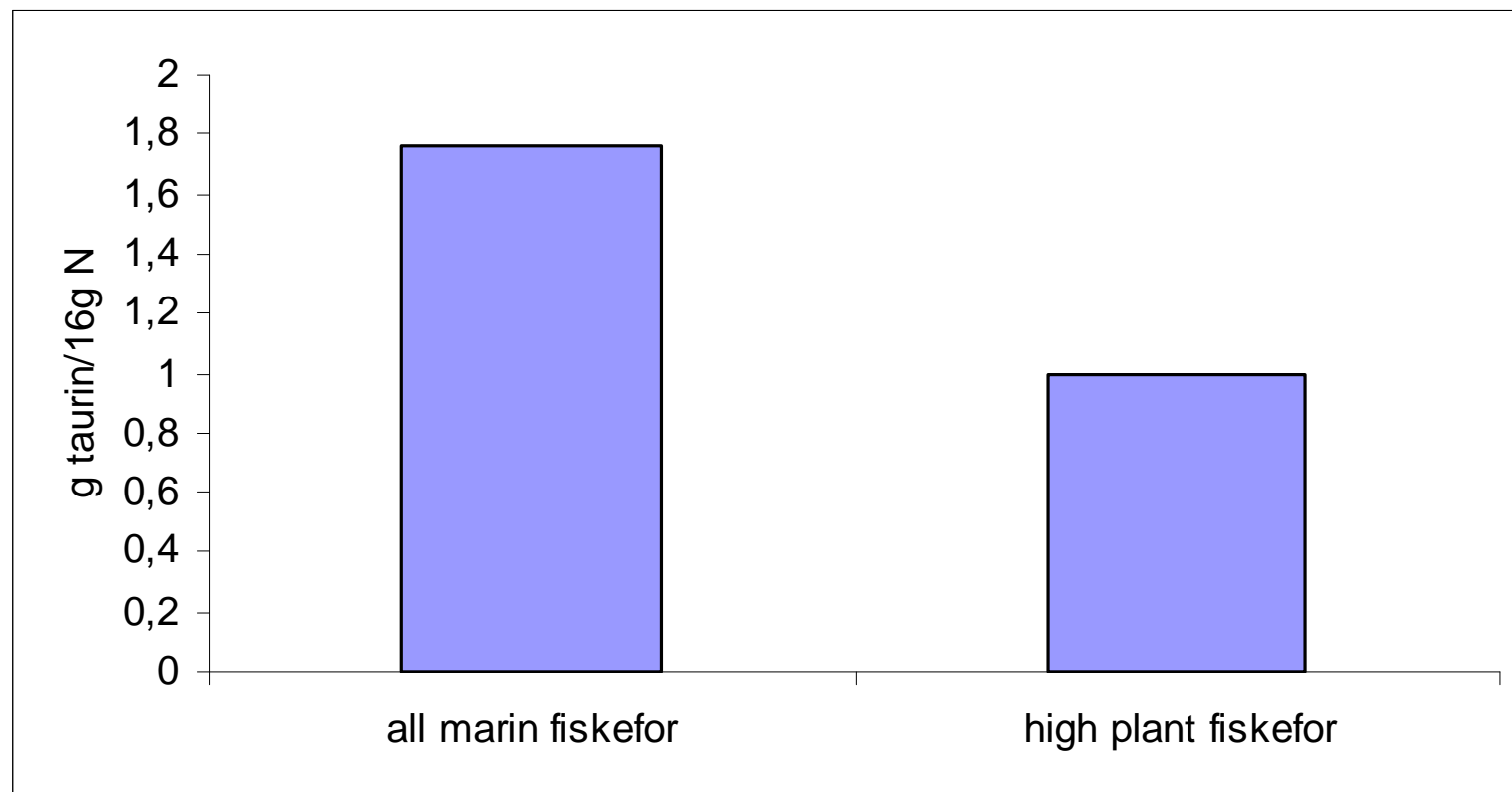
## Kan methionine være en årsak?

- Var spørsmålet ifjor
- Metionin lavt i planteprotein som f.eks. soya vs fiskemel (Met: 1,44 vs 2,77)
- Cystein derimot er høyere 1,49 vs 0,96
- Kan tilgangen på metionin/taurine være en årsak til bløt fisk?

## IAA's in different protein sources



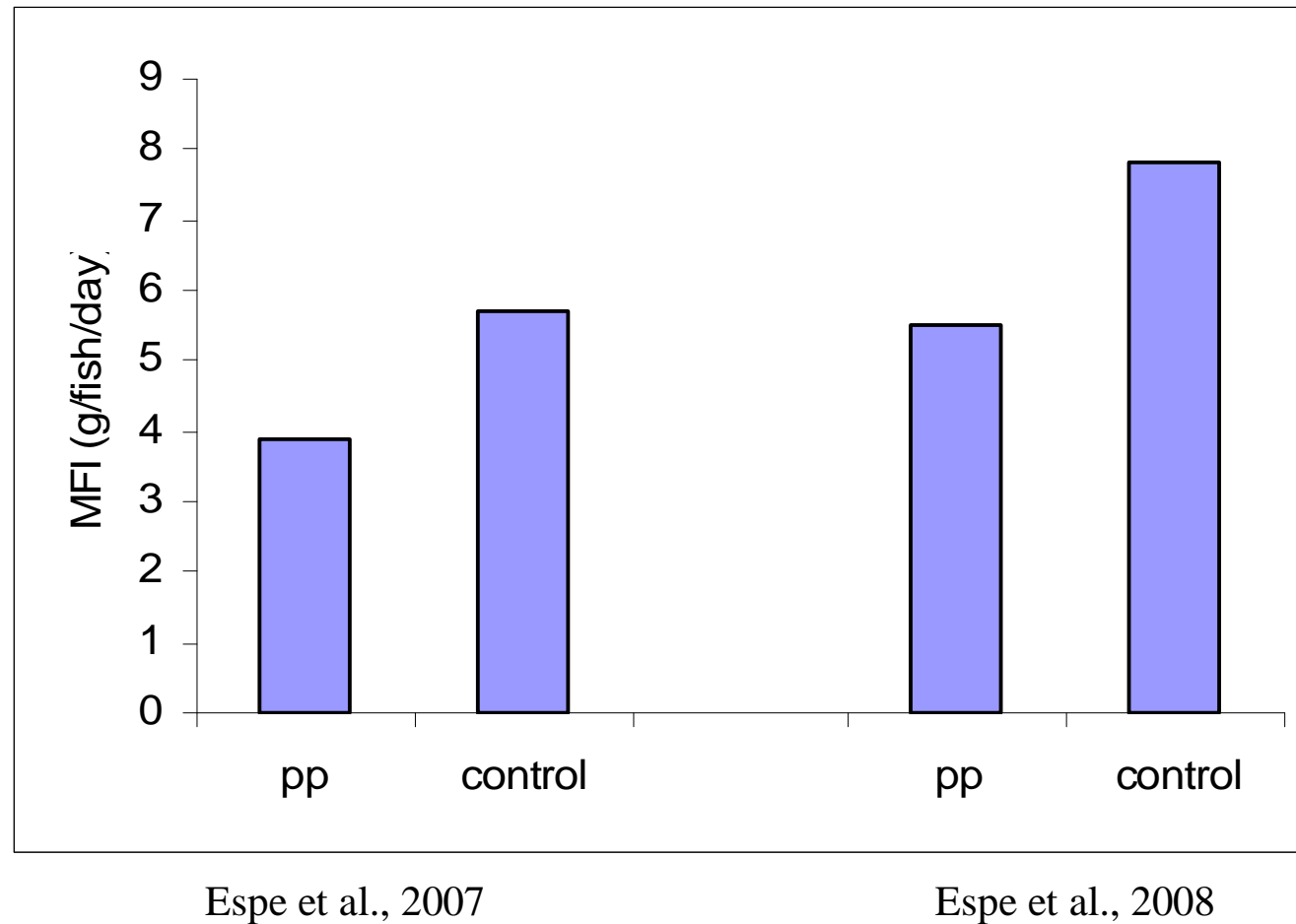
## Vi har endre fôret fra all marin til mer planteprotein



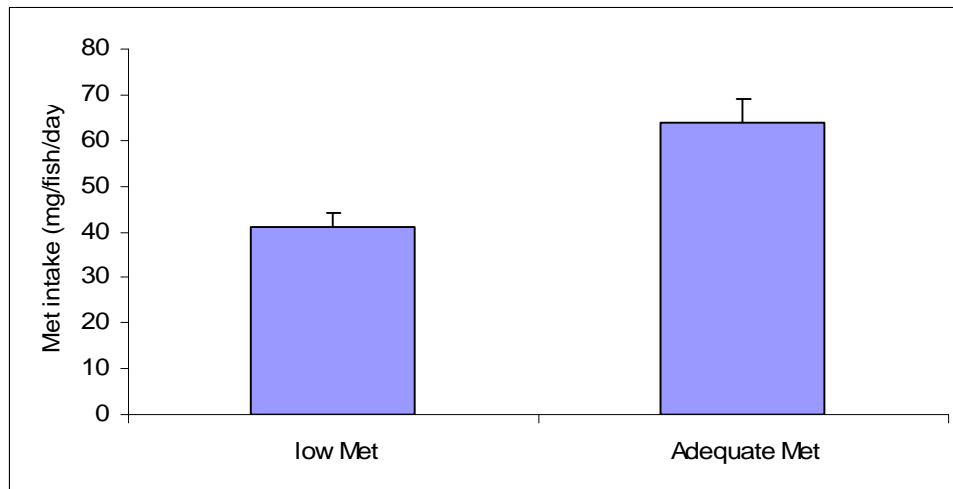
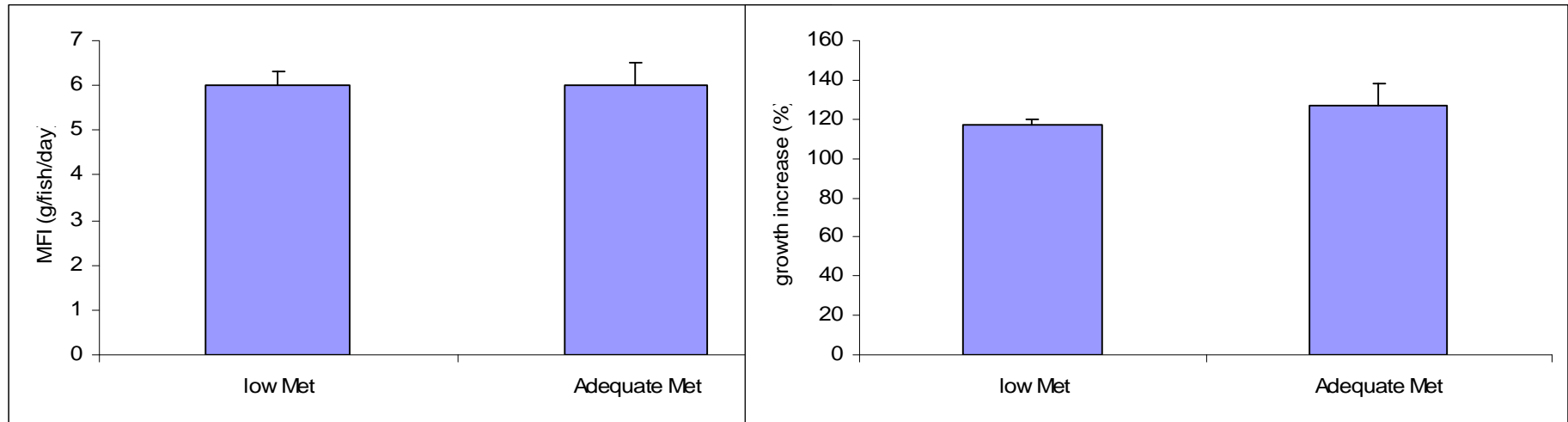
I tillegg har vi intensivert produksjonen,- tilveksten som kan endre behovet av næringsstoff



## Generelt er fôrinntaket mindre med planteprotein



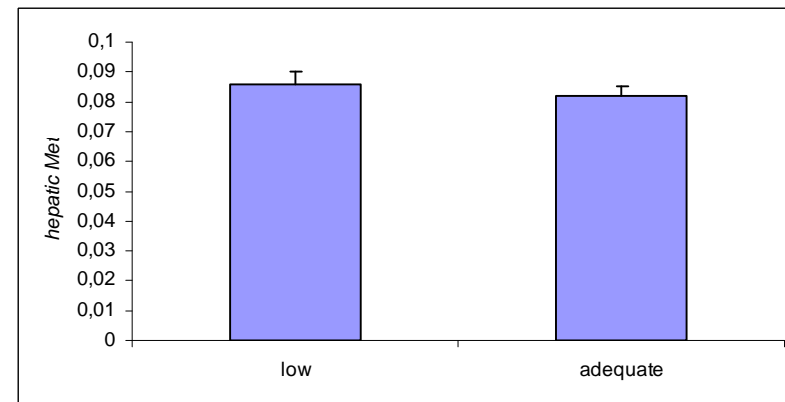
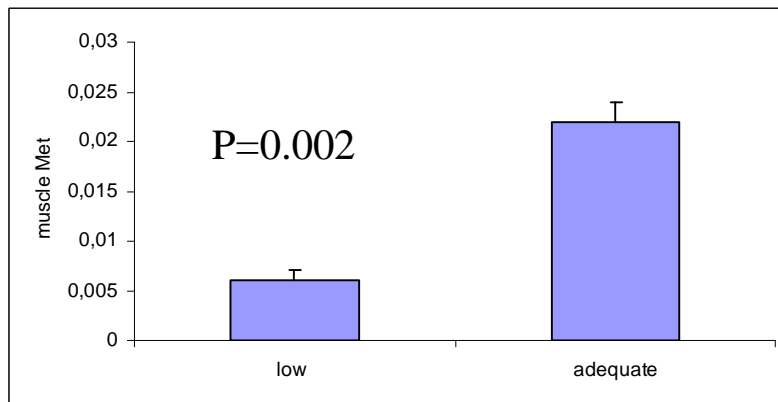
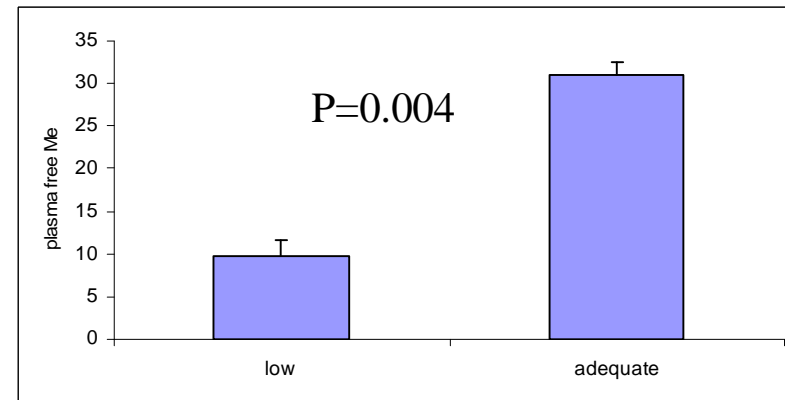
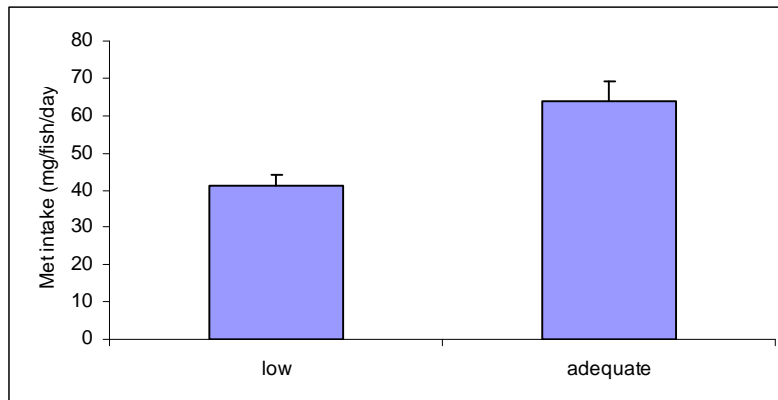
# Lav vs nok methionin



Lav : 1.6g Met/16gN

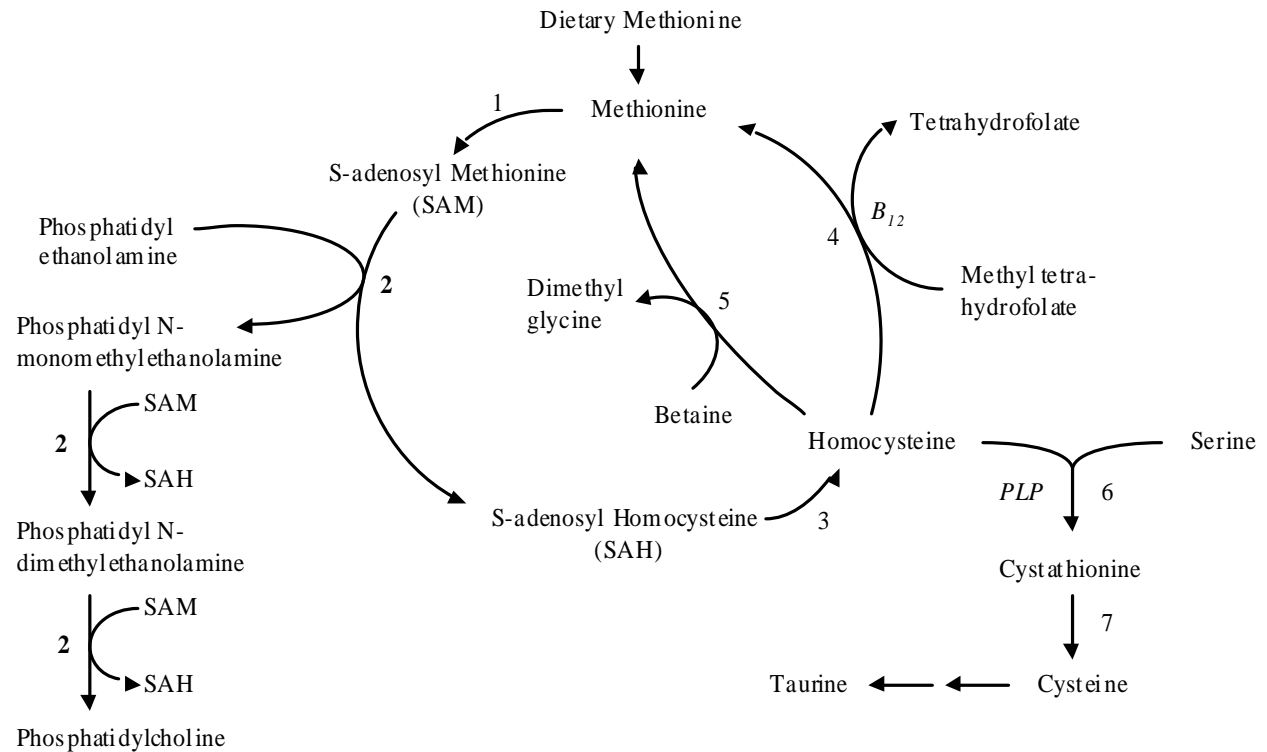
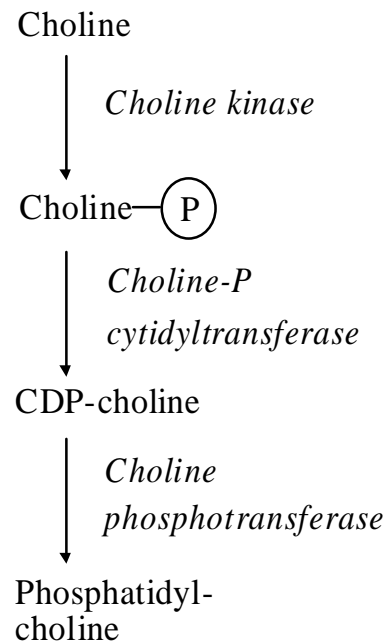
Nok: 2.2g Met/16gN

## Low vs adequate methionine affects free methionine in muscle and plasma, but not in liver



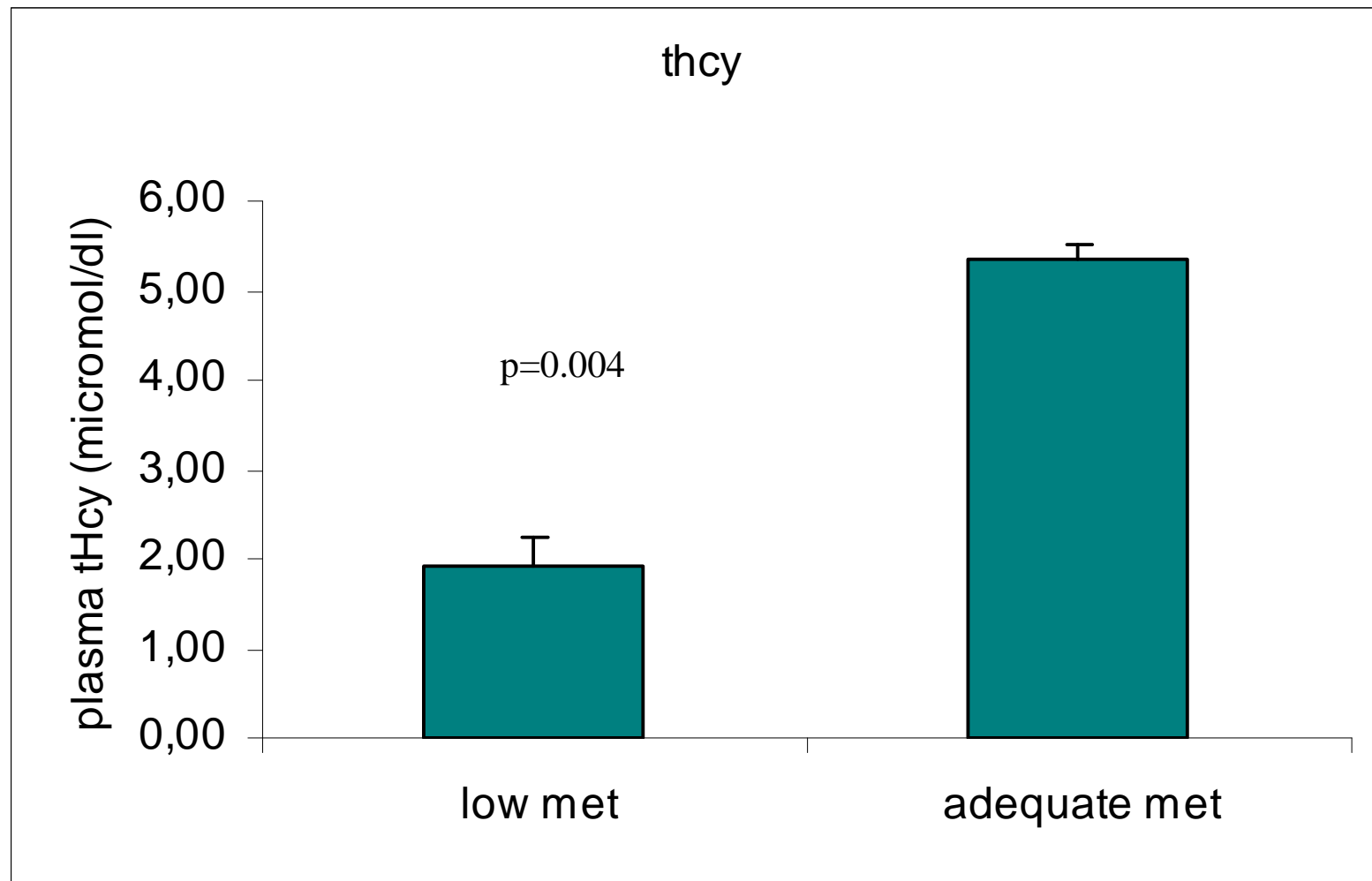
## Synthesis of PC in the liver Alternative pathway (5-40% of total):

### Main pathway:



**Figure 1. Possible interaction between methionine metabolism and phospholipid synthesis in liver cells.**

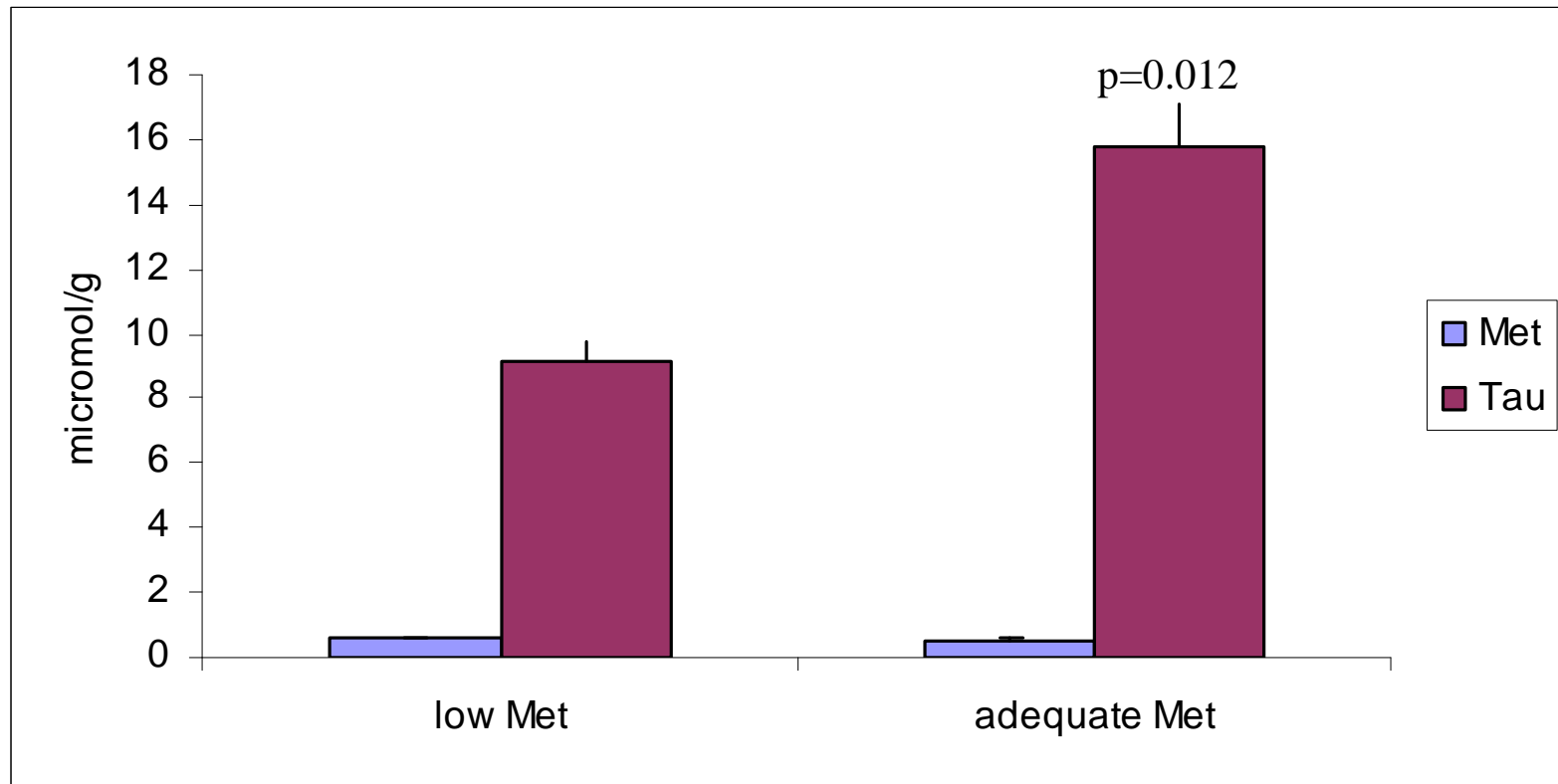
Abbreviations: 1: Methionine adenosyl transferase III, 2: Phosphatidyl ethanolamine methyltransferase, 3: Adenosyl homocysteine hydrolase, 4: Methionine-homocysteine methyltransferase, 5: Betaine-homocysteine methyltransferase, 6: Cystathionine  $\beta$ -synthase, 7: Cystathionine  $\gamma$ -lyase, B<sub>12</sub>: vitamin B<sub>12</sub>, PLP: pyridoxal phosphate

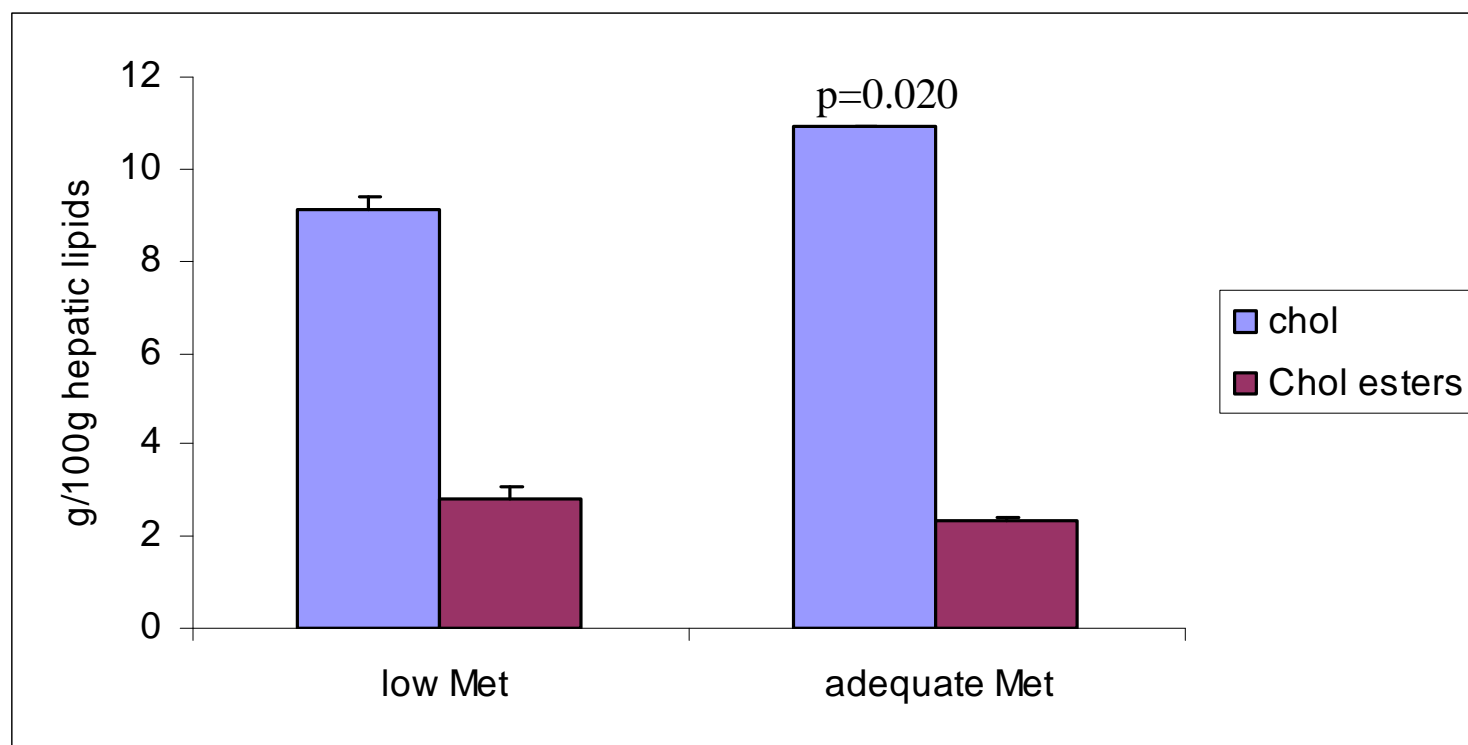


Metyleringskapasiteten påvirkes

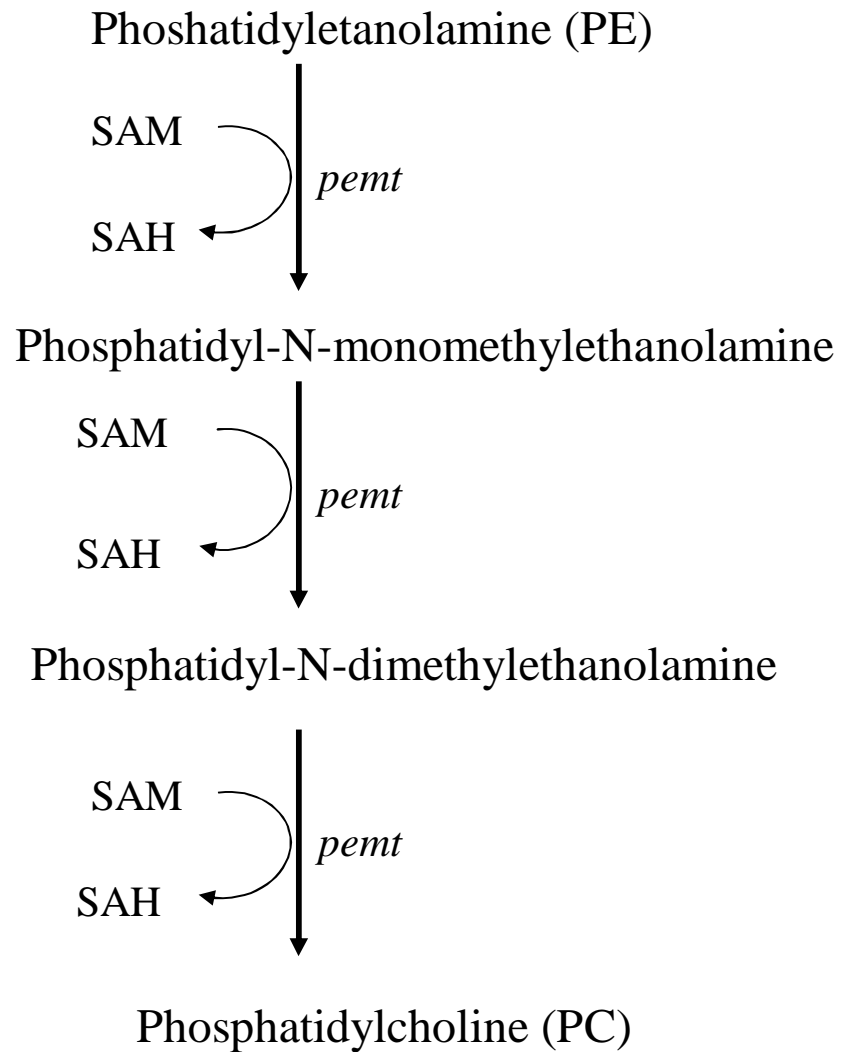
Adopted from Espe et al., 2008

means±SE

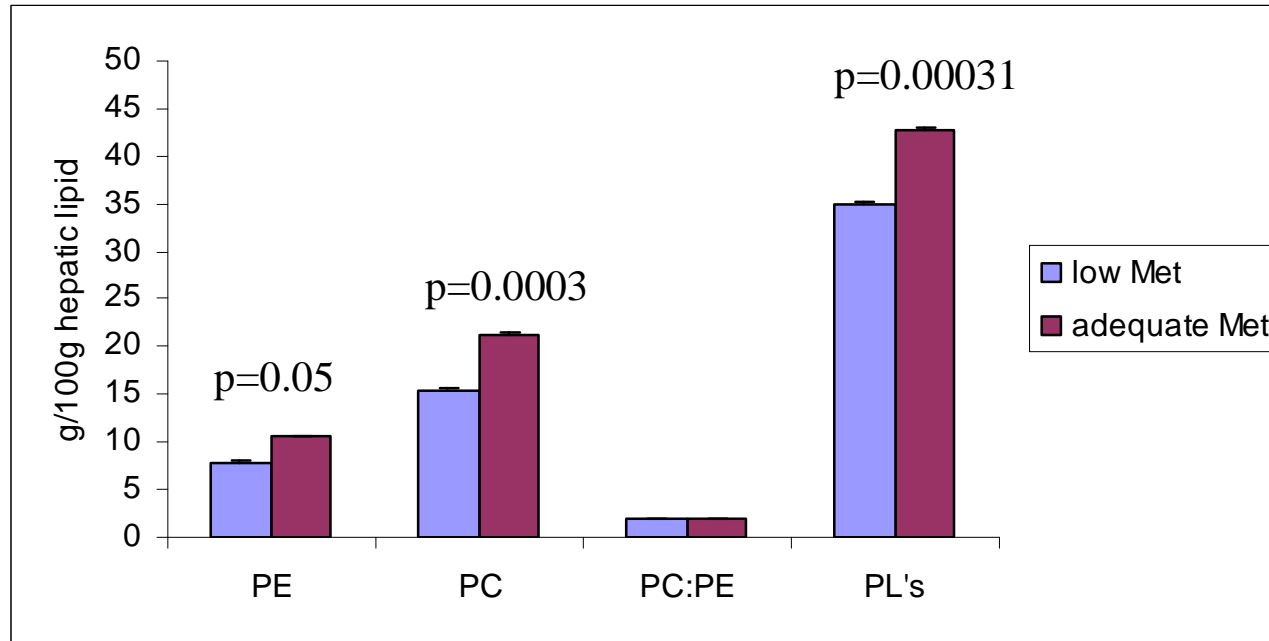




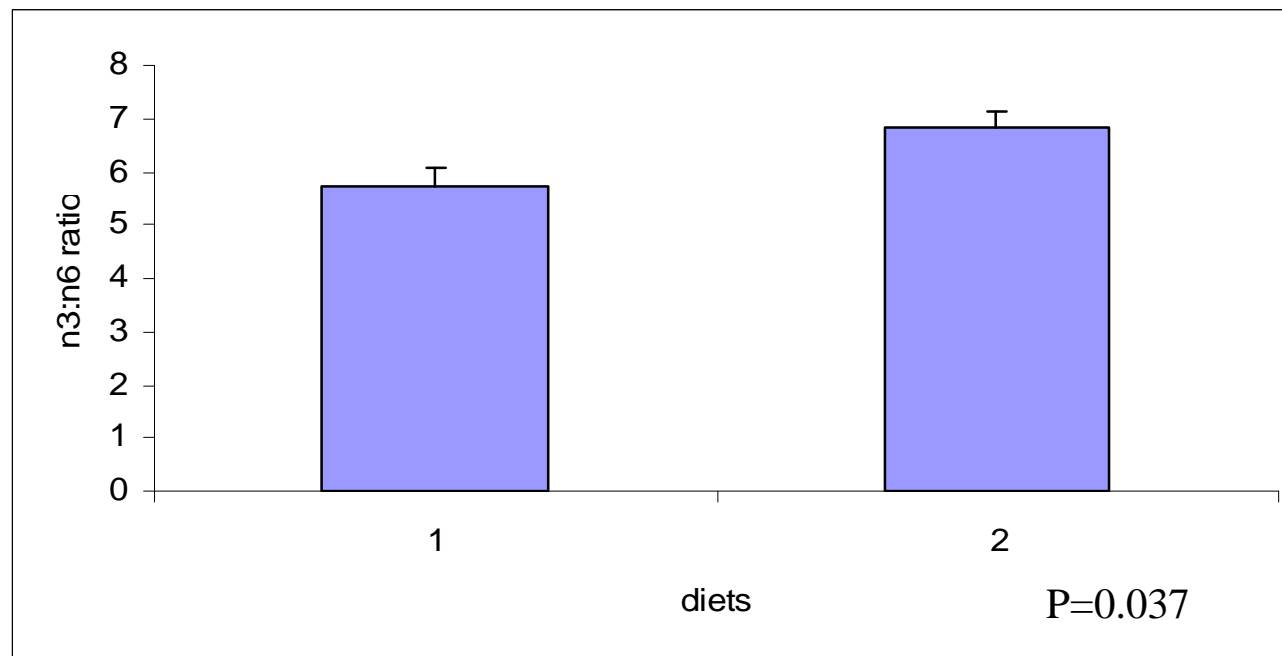
- PL's can be synthesised in hepatic tissues-consuming methyl groups (*de novo* synthesis of choline)





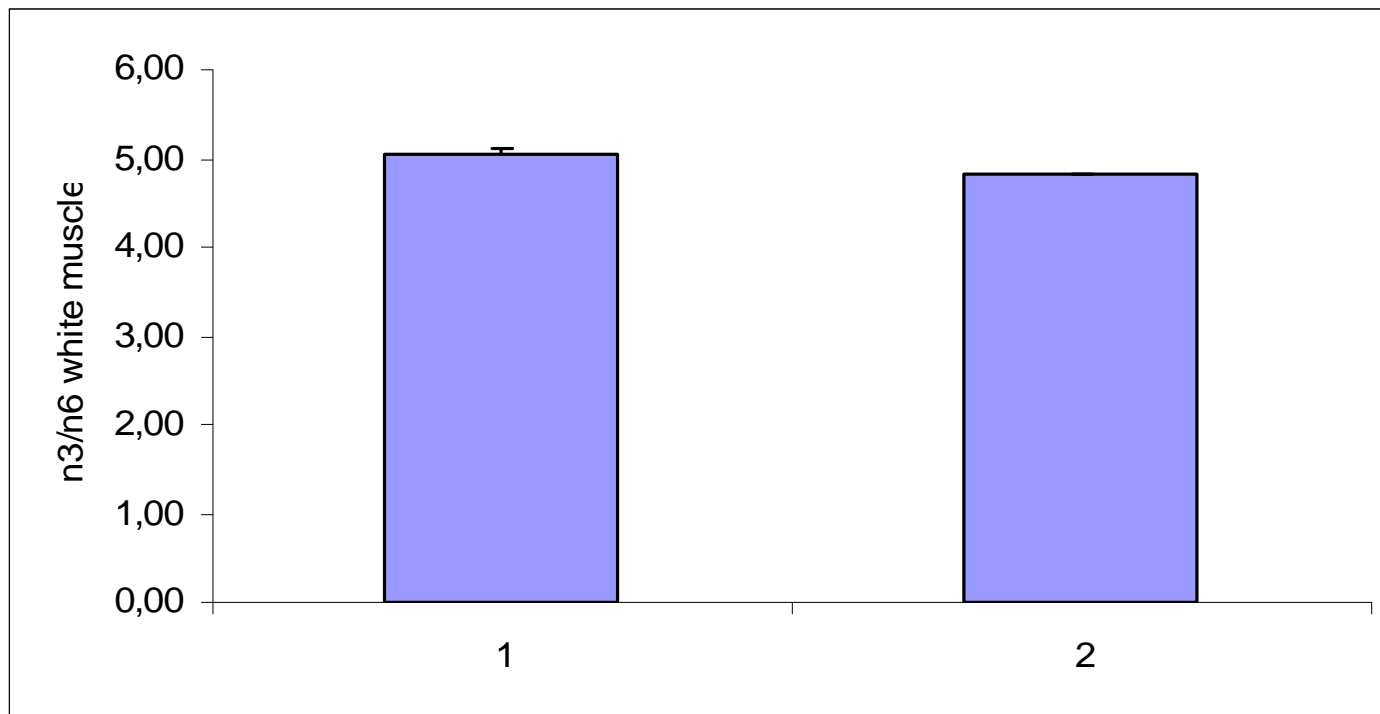


## Mindre n-3 til n-6 fettsyrer ved methionin mangel



Eneste forskjell var inntaket av metionin, begge grupper fikk fiskeolje som fettkilde!!!

## Men i muskelen var det ingen forskjell i FA's

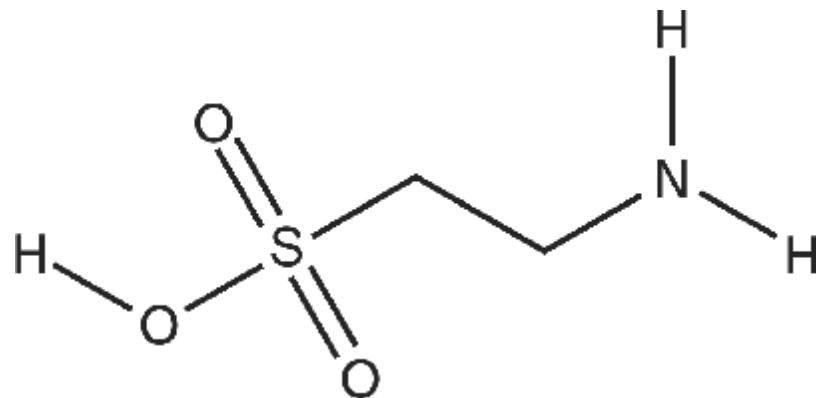


## Konklusjonen var:

- **Methionin mangel påvirker metabolismen**
  - Mindre fri metionin i muskel men ingen endring i leveren
  - Mindre taurin i både lever og muskel
  - Mindre kolesterol i leveren
  - Mindre cholin syntese i leveren
  - Mindre fosfolipider
  - PL/kolesterol ratio endres
  - Kan påvirke membranstabiliteten
- **Kan bety:**
  - Leveren viktigere enn muskelen?
  - Mangel av metabolitter i muskelvevet ?

## Taurine

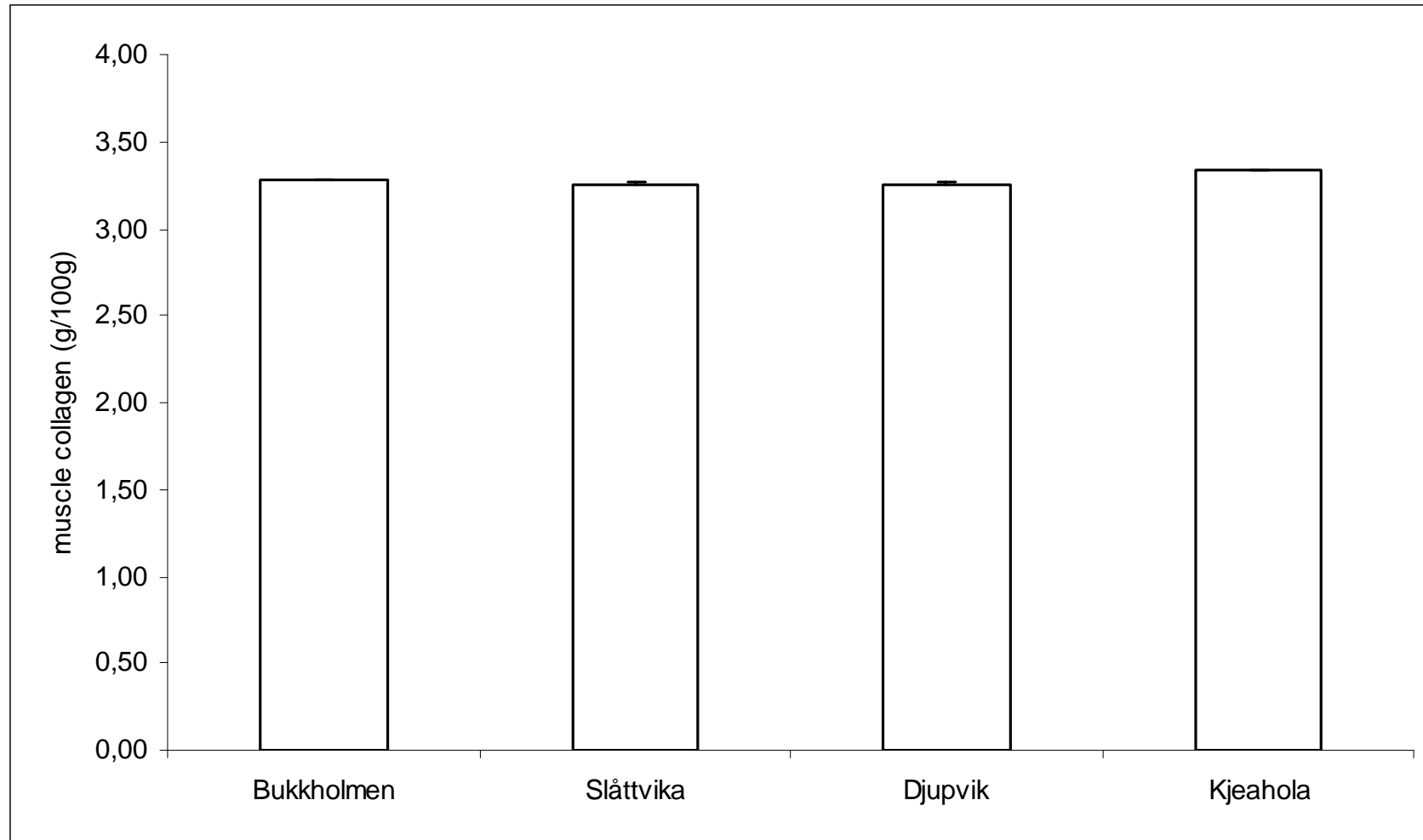
- Osmolytt
  - Cellevolum signaliserer til metabolismen
- Antioxidant
  - Taurin er forløper til glutathion
- Retinale forstyrrelser
  - Kataraktutvikling
- Membranstabilitet
  - Påvirker kolesterol metabolismen, mens metioninmangel påvirket fosfolipidene



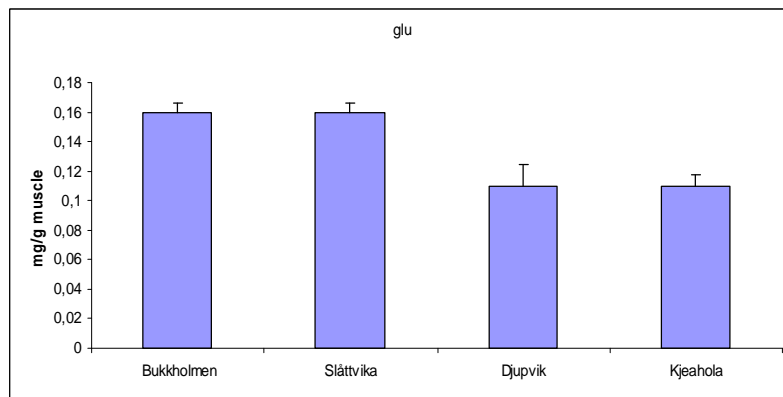
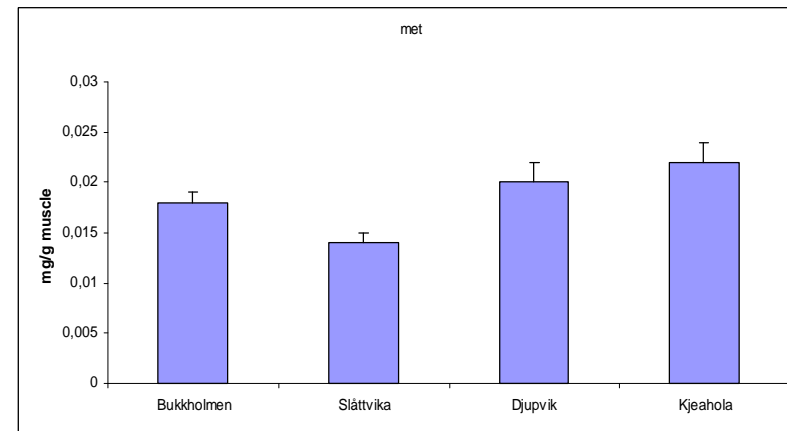
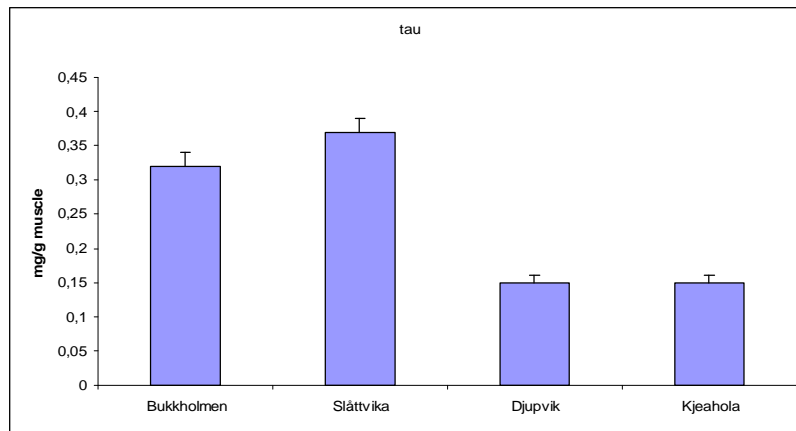
## Frie aminosyrer og metabolitter,- ulike lokaliteter

- Atlantisk laks fra fire ulike lokaliteter
  - Bukkholmen, Slåttvika, Djupvik, Kjeahola
- Frie N metabolitter i NQC
  - Samme prøver som analysert av Nofima
- Total collagen
  - Differansen total og fri OH-pro, (faktor på 11,42; Sato et al. 1991)
- Frie N metabolitter i 3 ulike områder av fiskemuskel
  - Bare for noen av fiskene grunnet at ikke tatt ut for alle gruppene
  - Fremme i muskel i bløt stripe og over bløt stripe

## Total collagen ikke påvirket ved lokalitet!



## Noen metabolitter i 4 ulike lokaliteter:

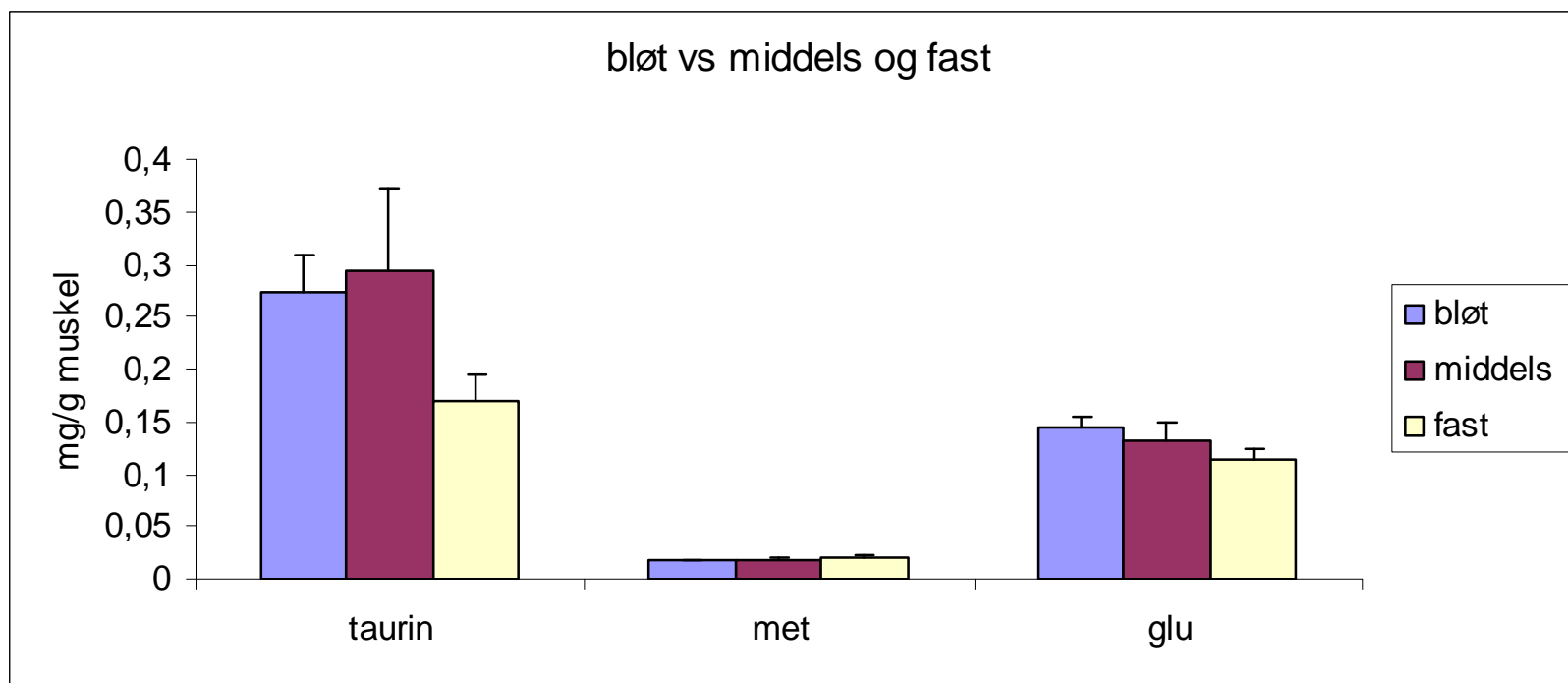


Gln under deteksjonsnivået

OBS ! Postprandial time er ikke oppgitt

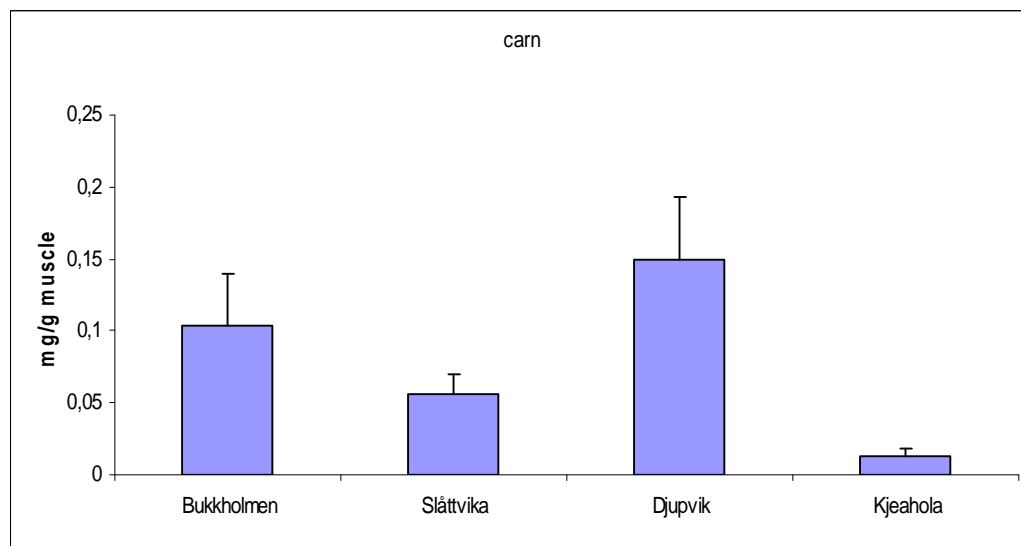


## Mean taurine metionin og glutamat i bløt vs middels vs fast tekstur:

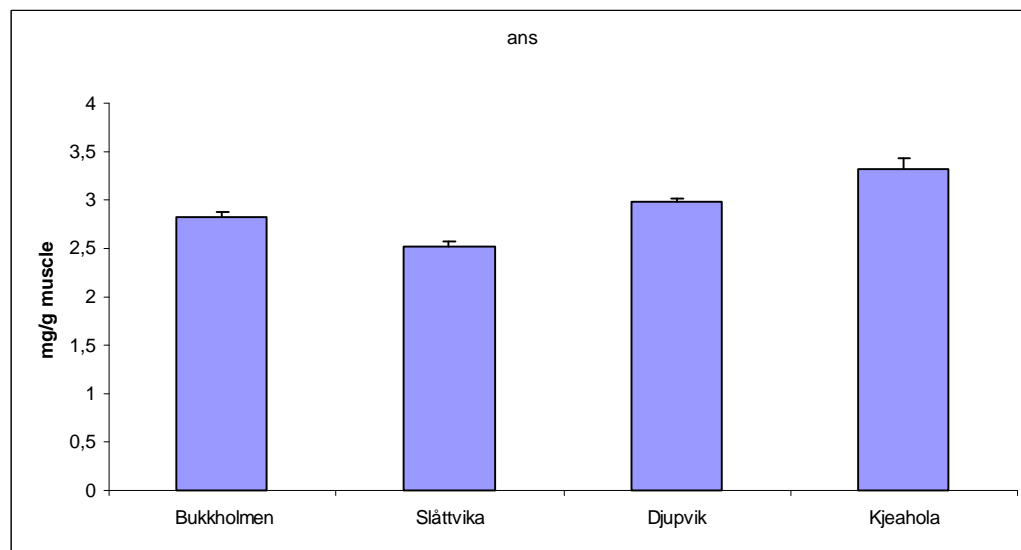


Bløt er 11 fisker (alle 5 fiskene fra Bukkholmen, 2 fra Slåttvika & 4 fra Djupvik),  
Middels er 3 fisker (2 fra Slåttvika & 1 fra Djupvik) og  
Fast er de 6 fisker (alle 5 fra Kjeahola & 1 fisk fra Slåttvika)

# Carnosin & anserin er ulike i ulike lokaliteter



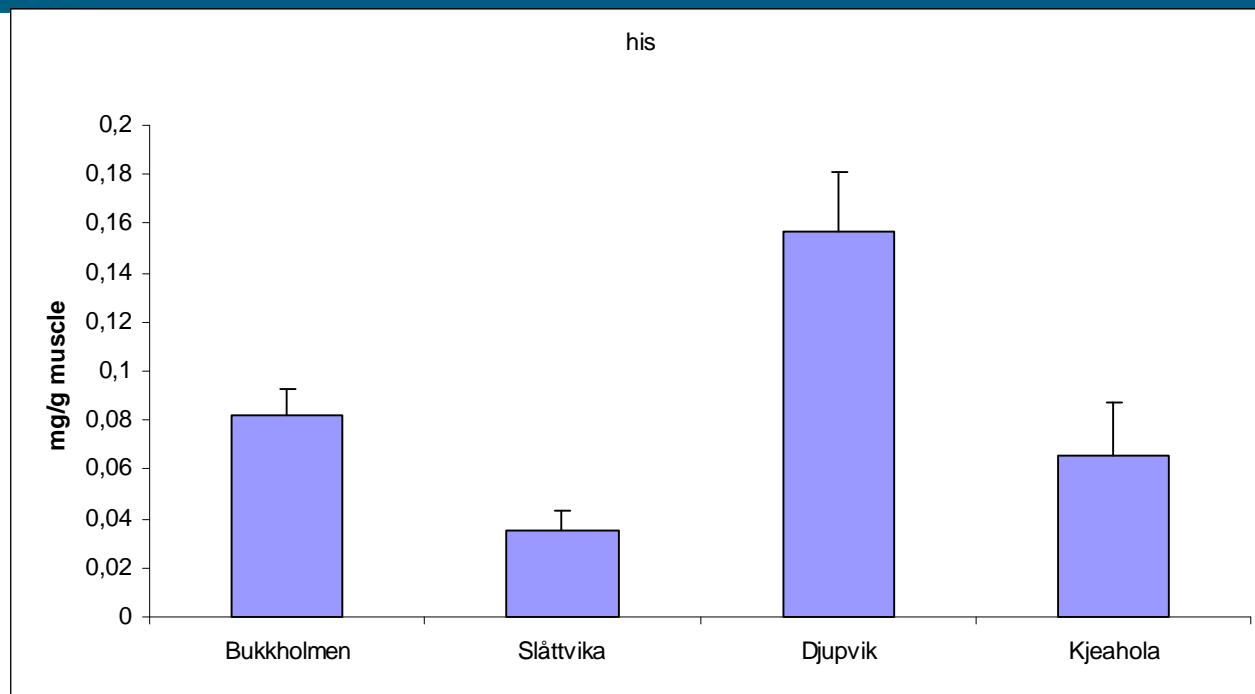
Ingen forskjell i mean carnosin



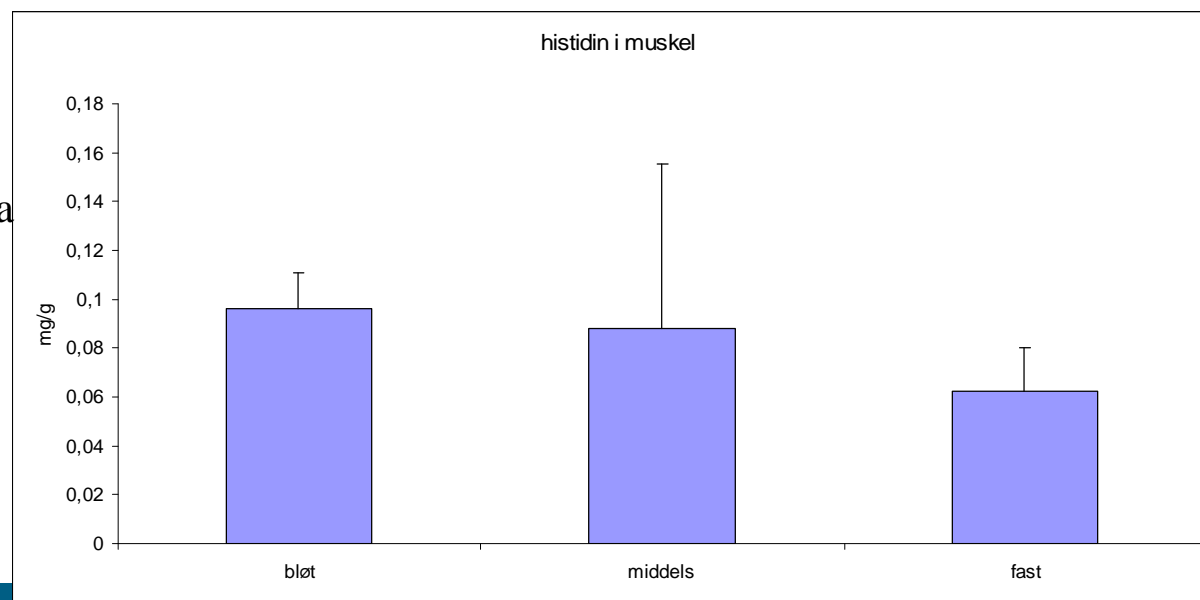
Hos laksefisk er det anserin som er det dominerende bufferen ca 30x mer enn carnosin

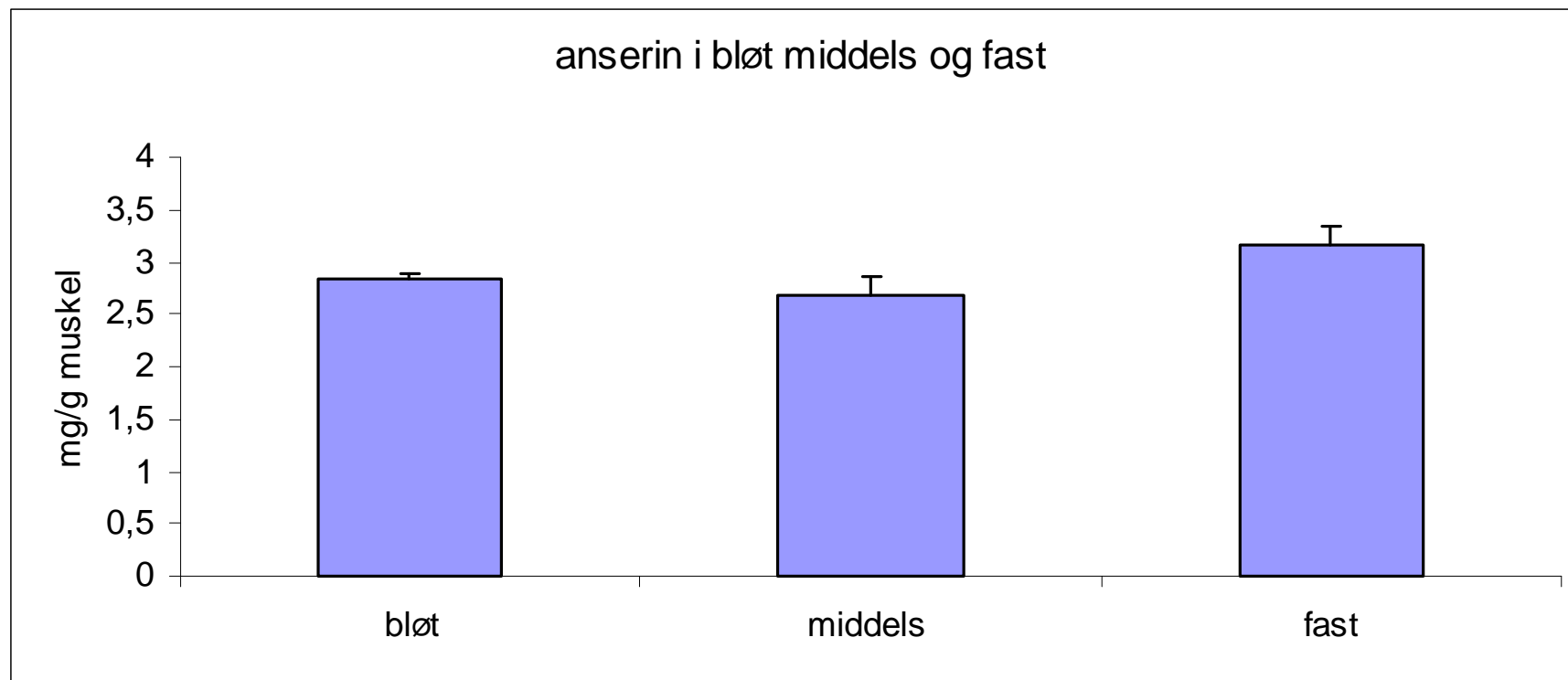
Slåttvika mindre enn Kjeahola, øvrige imellom,  $p=0.0035$

# Histidin,-også en imidazolkomponent

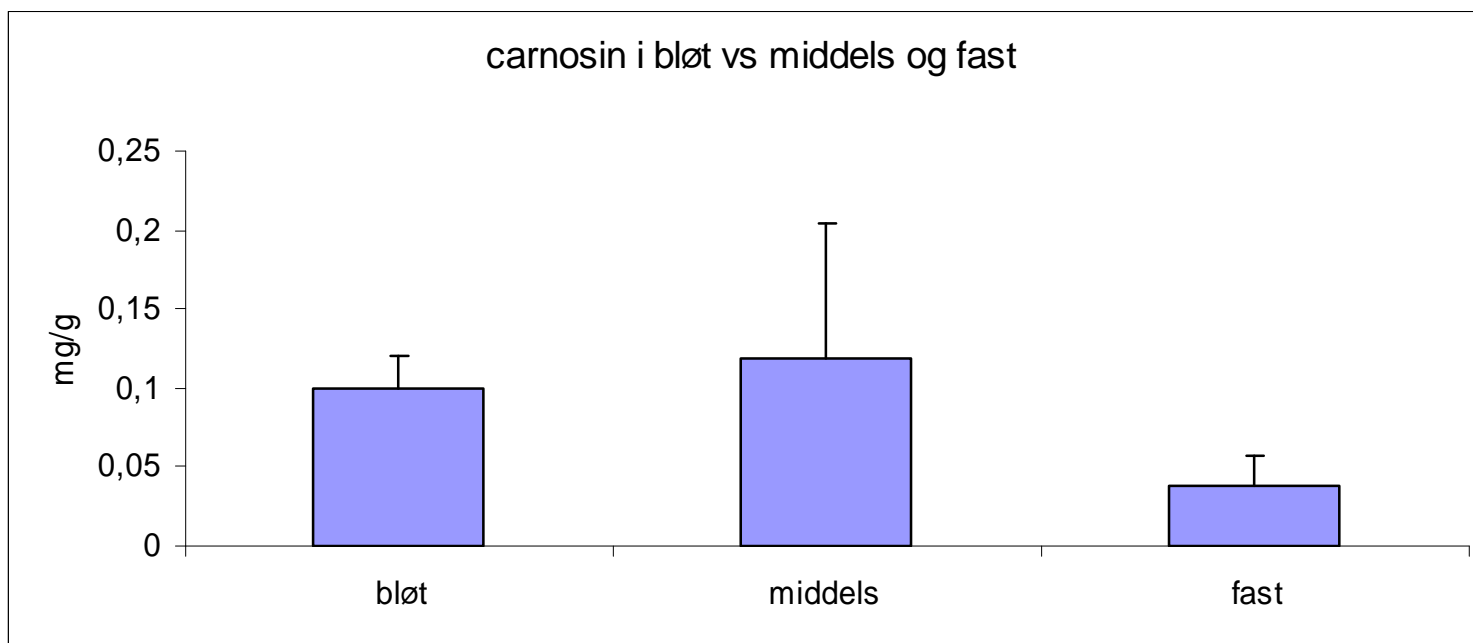


Bløt er 11 fisker  
(alle 5 fra Bukkholmen, 2 fra Slåttvika  
& 4 fra Djupvik),  
Middels er 3 fisker  
(2 fra Slåttvika & 1 fra Djupvik) og  
Fast er 6 fisker  
(alle 5 fra Kjeahola & 1 fra Slåttvika)



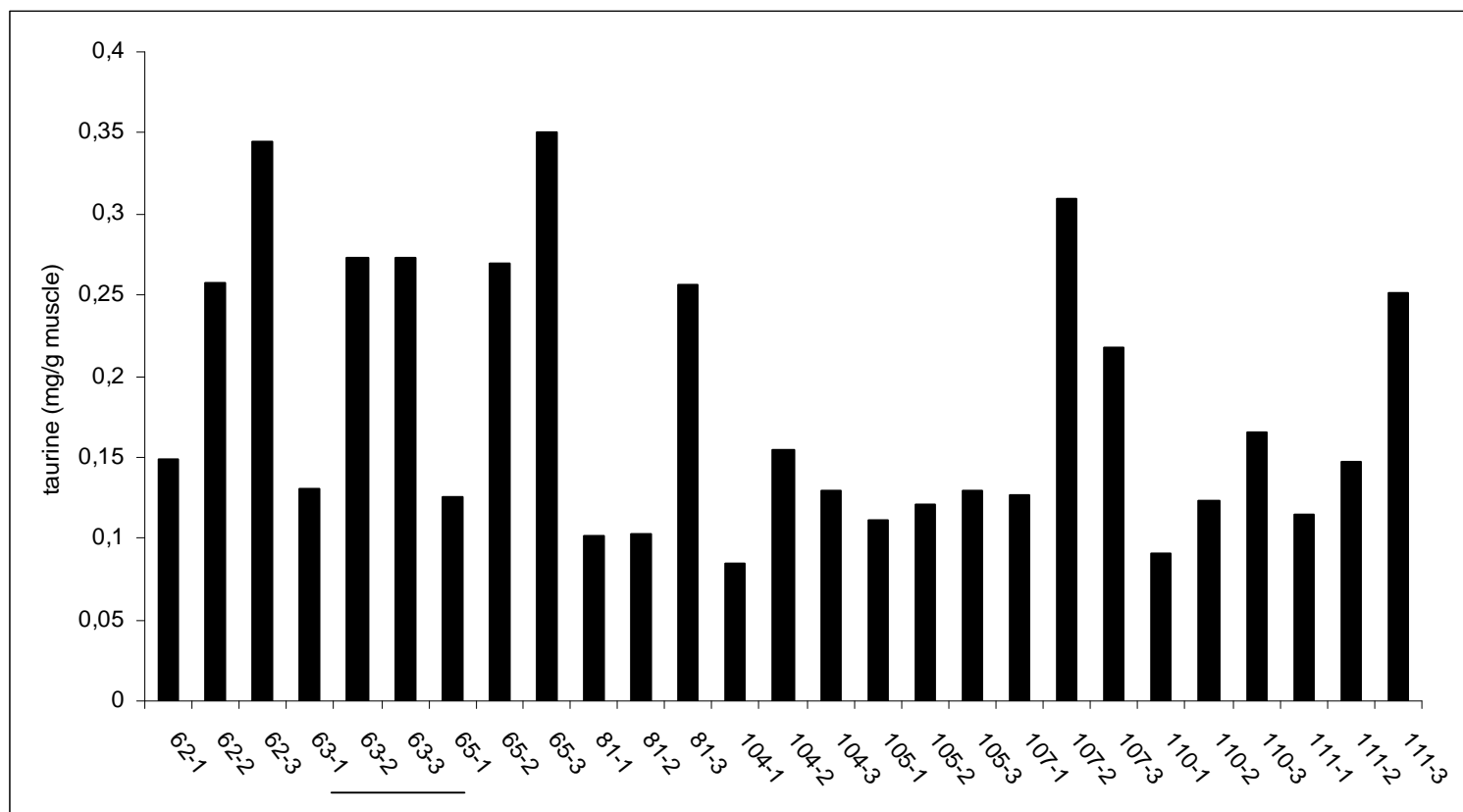


Bløt er 11 fisker (alle 5 fiskene fra Bukkholmen, 2 fra Slåttvika & 4 fra Djupvik),  
Middels er 3 fisker (2 fra Slåttvika & 1 fra Djupvik) og  
Fast er de 6 fisker (alle 5 fra Kjeahola & 1 fisk fra Slåttvika)

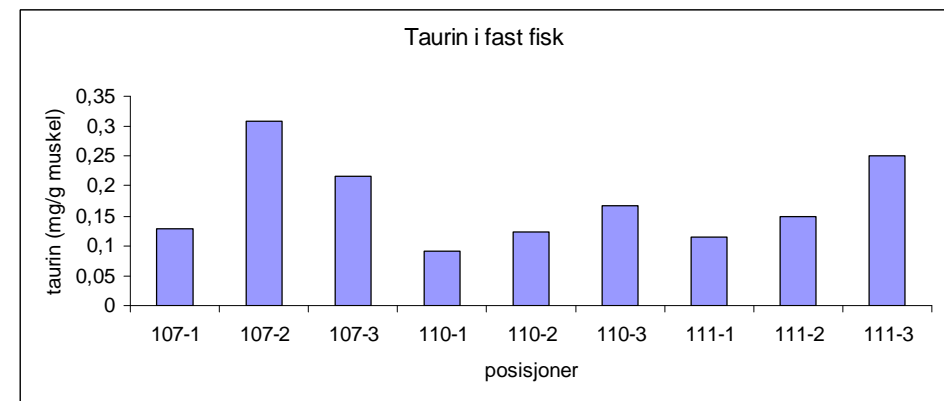
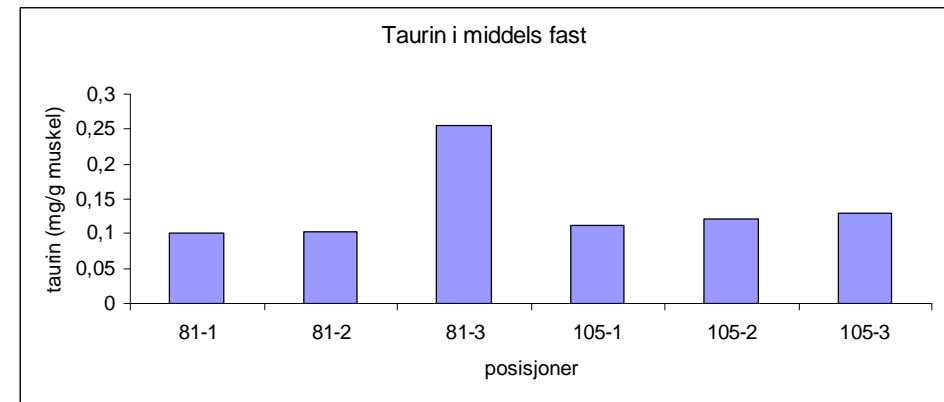
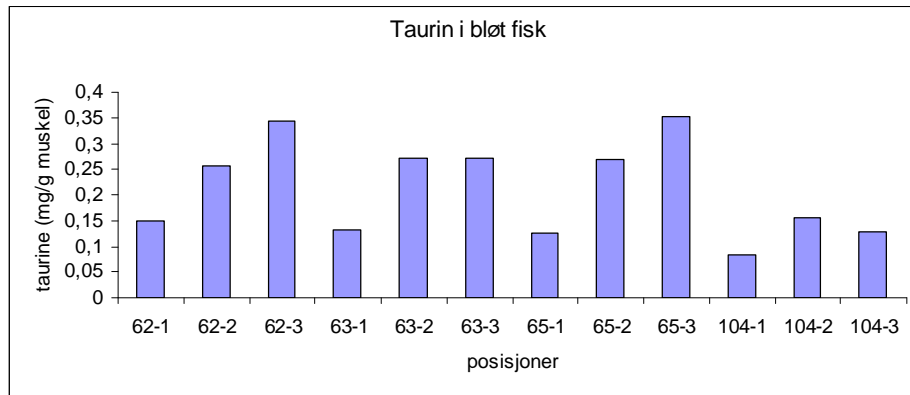


Bløt er 11 fisker (alle 5 fiskene fra Bukkholmen, 2 fra Slåttvika & 4 fra Djupvik),  
Middels er 3 fisker (2 fra Slåttvika & 1 fra Djupvik) og  
Fast er de 6 fisker (alle 5 fra Kjeahola & 1 fisk fra Slåttvika)

## Taurine i ulike område av laksemuskelen



1 er foran ryggfinner, 2 er sidelinja rett ovenfor gattet, 3 er bløt stripe



Posisjon 1 er foran ryggfinnen,  
Posisjon 2 er sidelinja rett ovenfor gattet,  
Posisjon 3 er bløt stripe

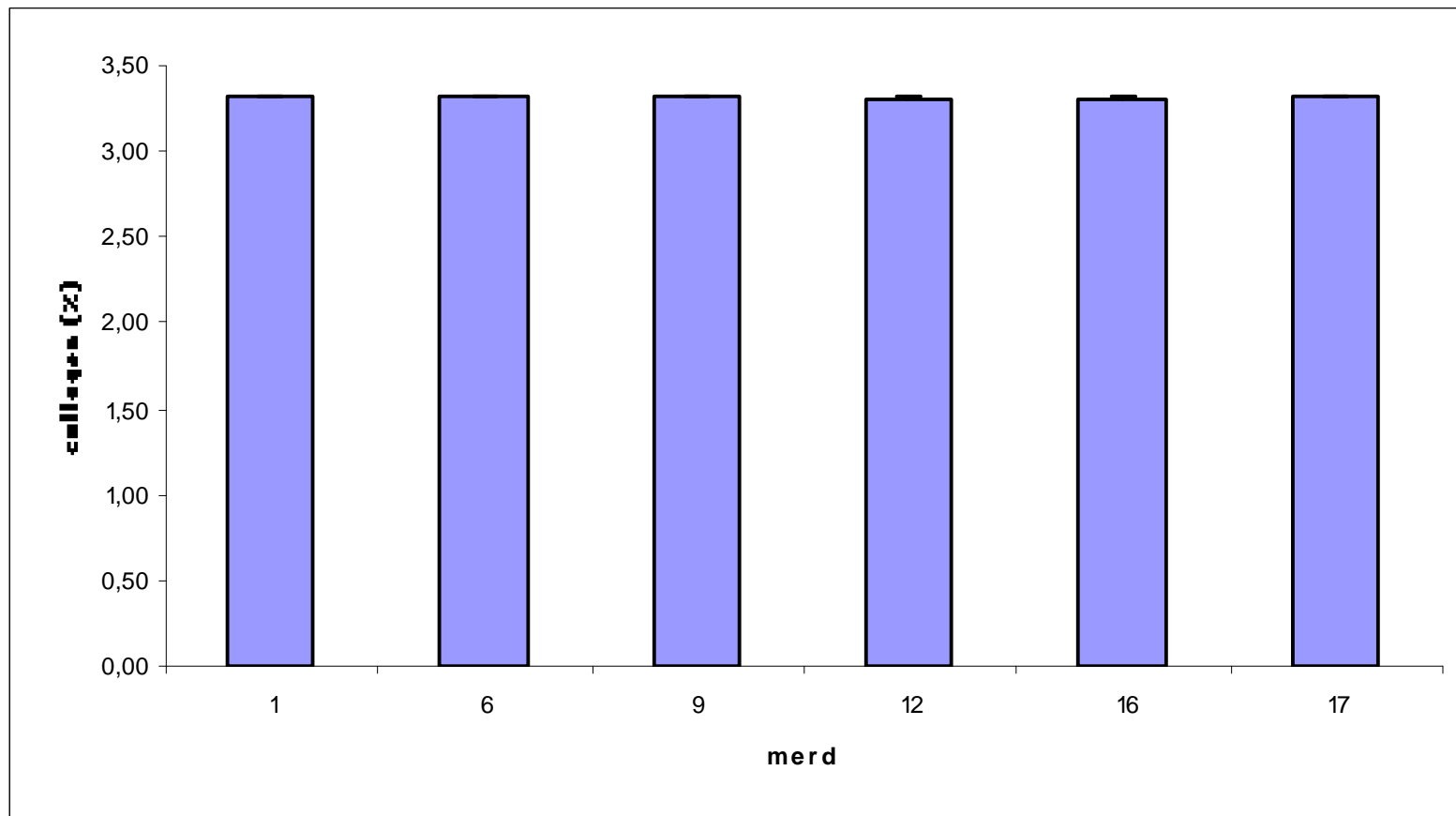
Materialet er lite,  
bløt n=4 fisk, middels n=2 fisk og  
Fast n=3 fisker

## Prøver fra forsøk ved Averøya

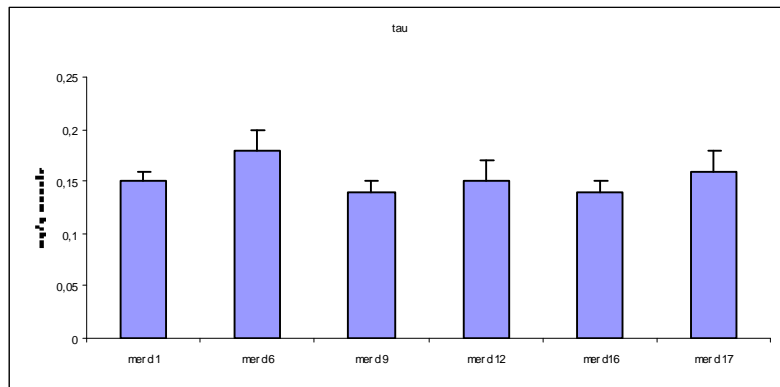
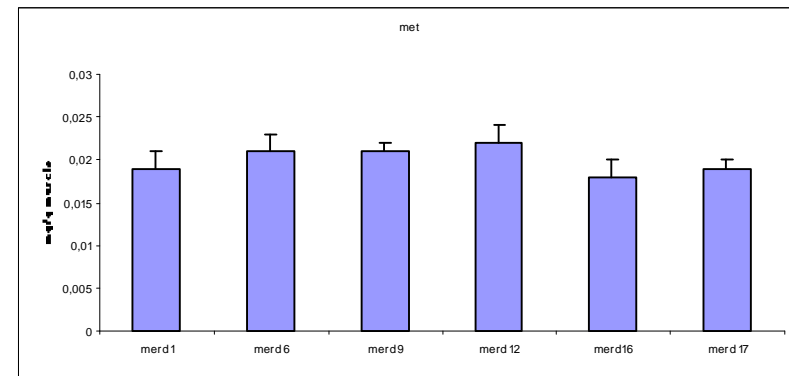
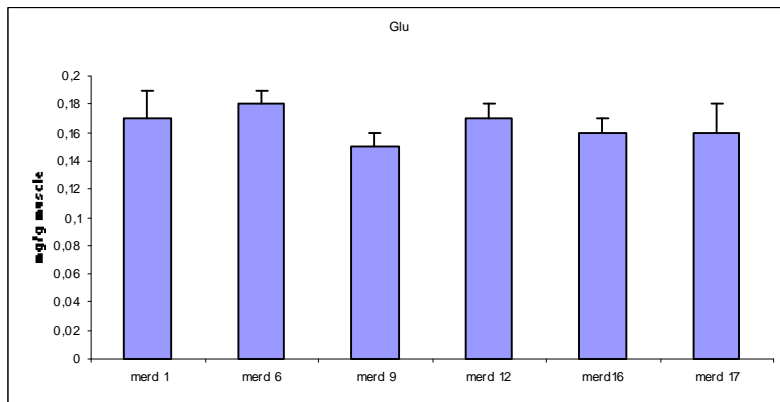
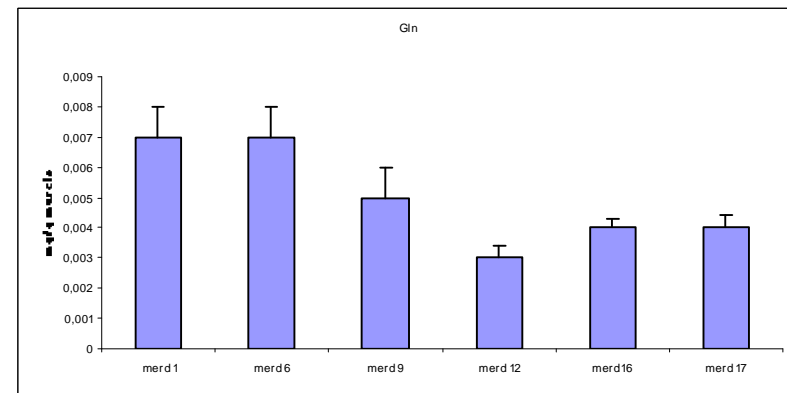
- Muskelprøver tilsendt fra forsøk i NOFIMA
- Prøver fra NQC
  - Metabolitter og total collagen
- Gått i merder (7 ulike merder, 5 fisk pr merd)



## Total collagen Averøya fisk (7 ulike merder, n=5)



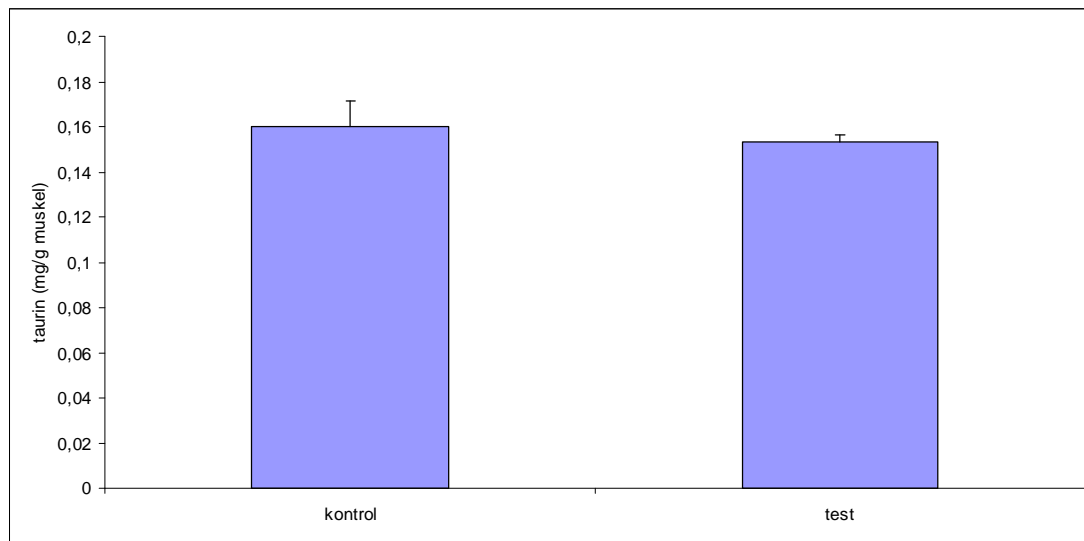
Merd 1, 12 & 17 test diett, 6, 9 & 16 kontroll

Taurin  $p > 0,05$ Metionin  $p > 0,05$ Glutamat  $p > 0,05$ Glutamin  $p = 0,005$ 

OBS! postprandial time er ikke oppgitt

Merd 1,12 og 17 test diett & Merd 6, 9 og 16 er kontroll (n=5)

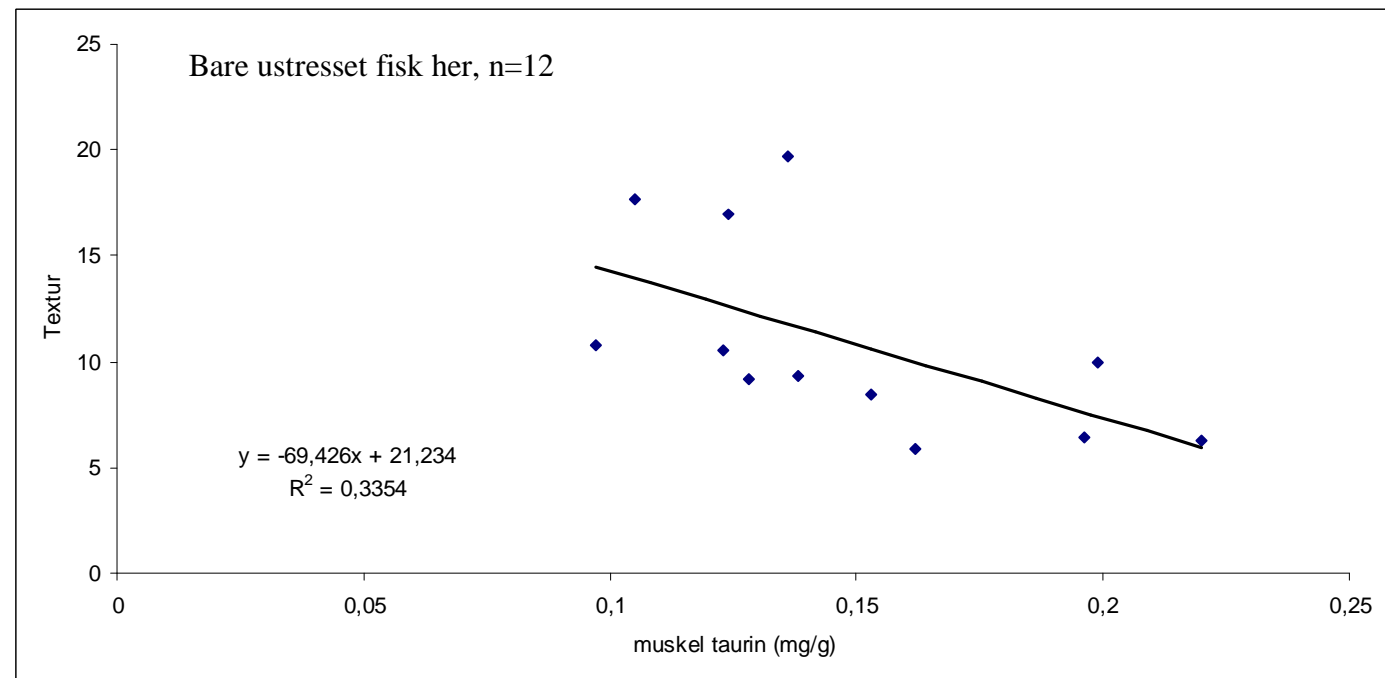
Merd 12 < merd 6, øvrige imellom



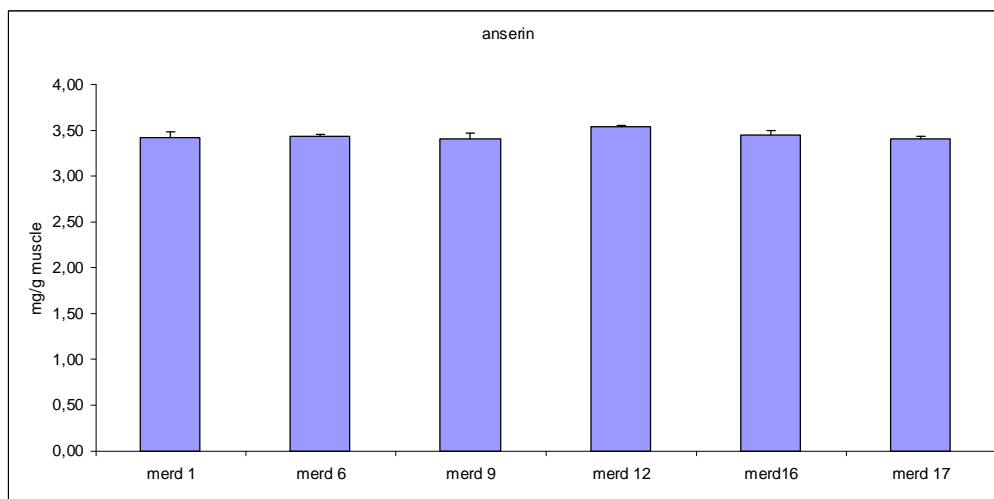
Effekt av diett, (n=5)

Har muskelens taurin  
Betydning for tekstur?

Begge forsøkene peker  
mot at taurinet kan ha en  
betydning

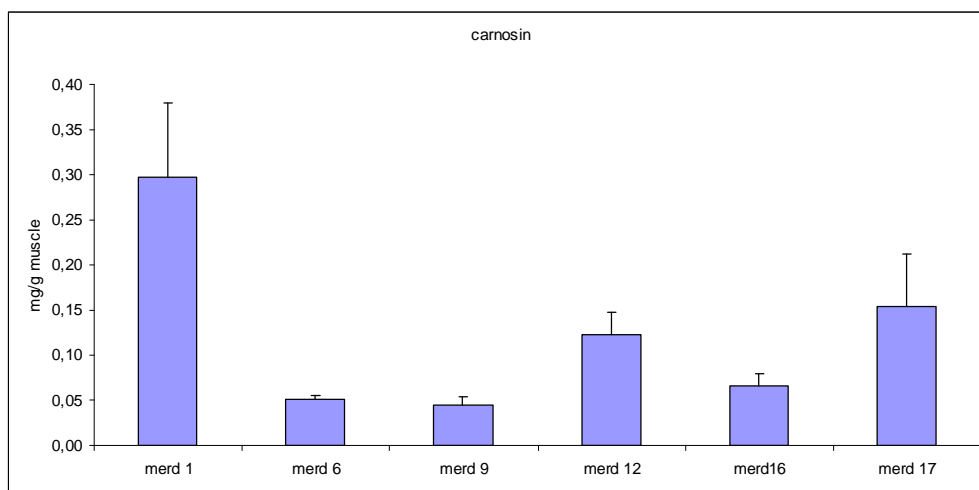


## Carnosin og anserin i ulike merder

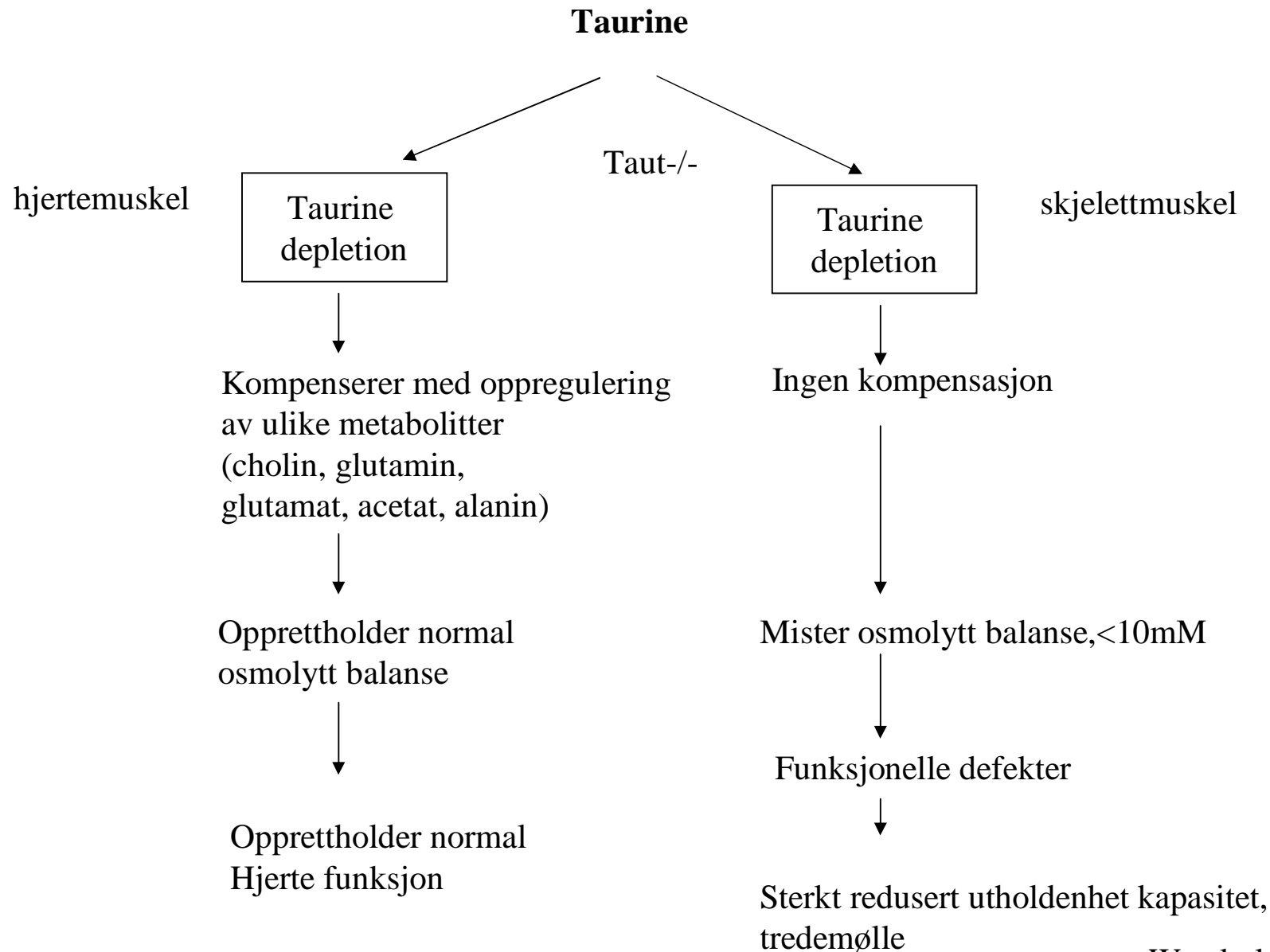


Merd 1,12 og 17 test diett  
Merd 6, 9 og 16 er kontroll

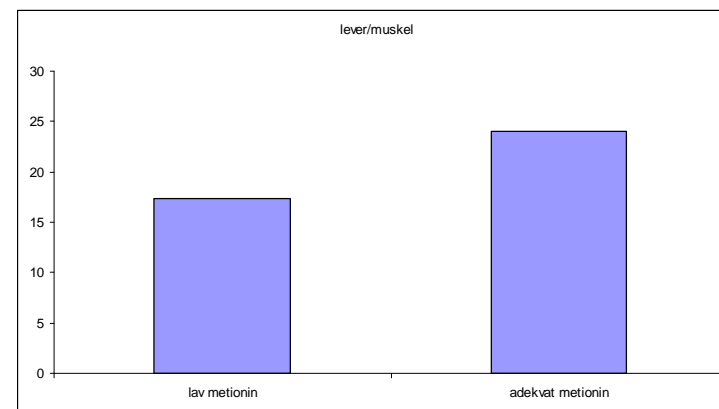
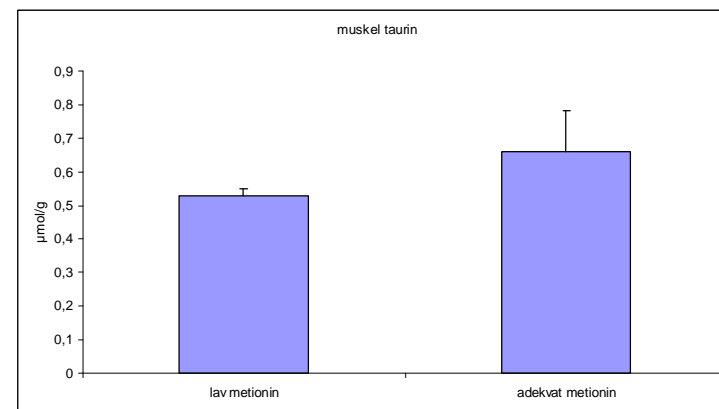
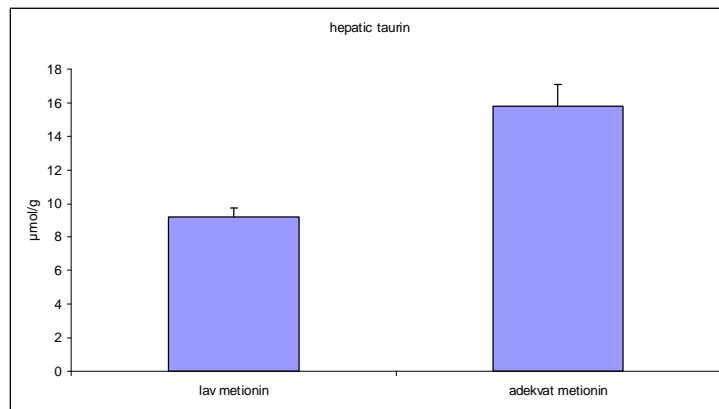
$p=0.79$



$p=0.09$



Leveren har 20-25\* mer taurin enn muskelen og begrensninger enten på taurin eller på methionin/cystein reduserer muskel taurin



## Hele metabolismen må studeres

- "Når krybben er tom bites hestene"
- Livsviktige organ prioriteres
  - Lever, hjerte, hjerne, nyre
- Muskelen er et "stort lager"
- Hvordan mangel signaliseres er derfor viktig
  - "cross-talking" mellom organ/celleorganeller
- Reseptorer, transportører, kjernereseptorer etc
- Tilgang på metabolitter/osmolytter må sees i sammenheng med planteprotein (-taurin) og et generelt redusert inntak av fôr og dermed mindre av forløper aminosyrene (metionin+cystein)
- Eventuell "mangel på metabolitter" og funksjonaliteten av muskelen bør studeres mer systematisk og sees i sammenheng med strukturelle endringer og bløthet

# Histologi - muskelstruktur

Eva Veiseth-Kent



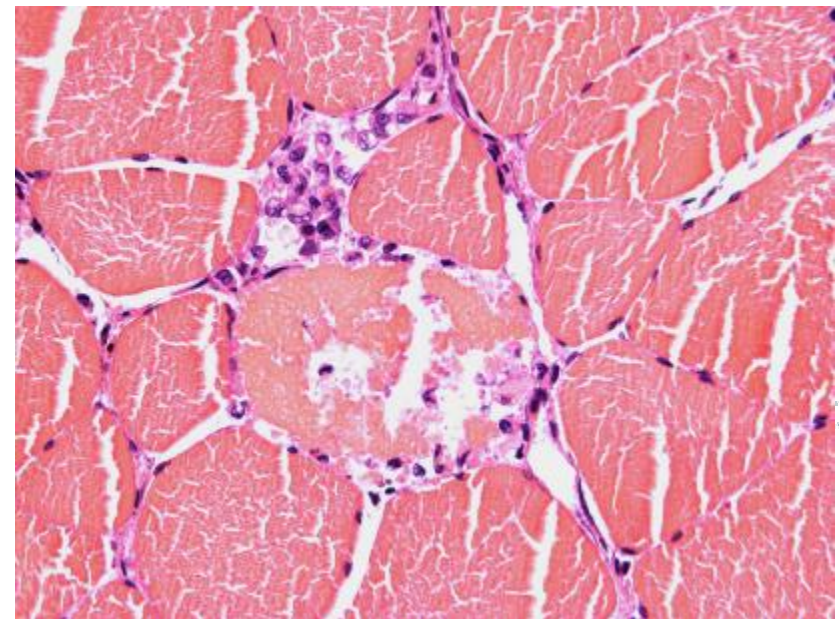
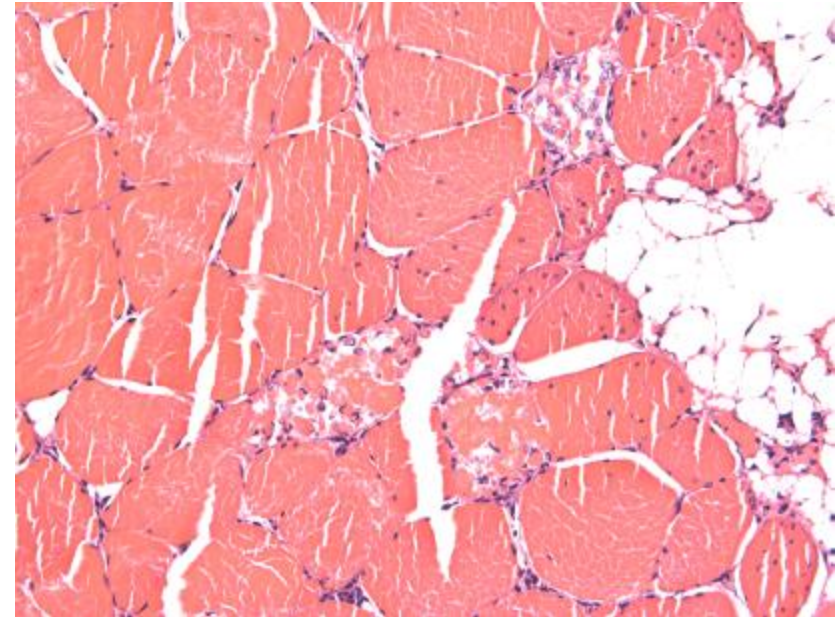
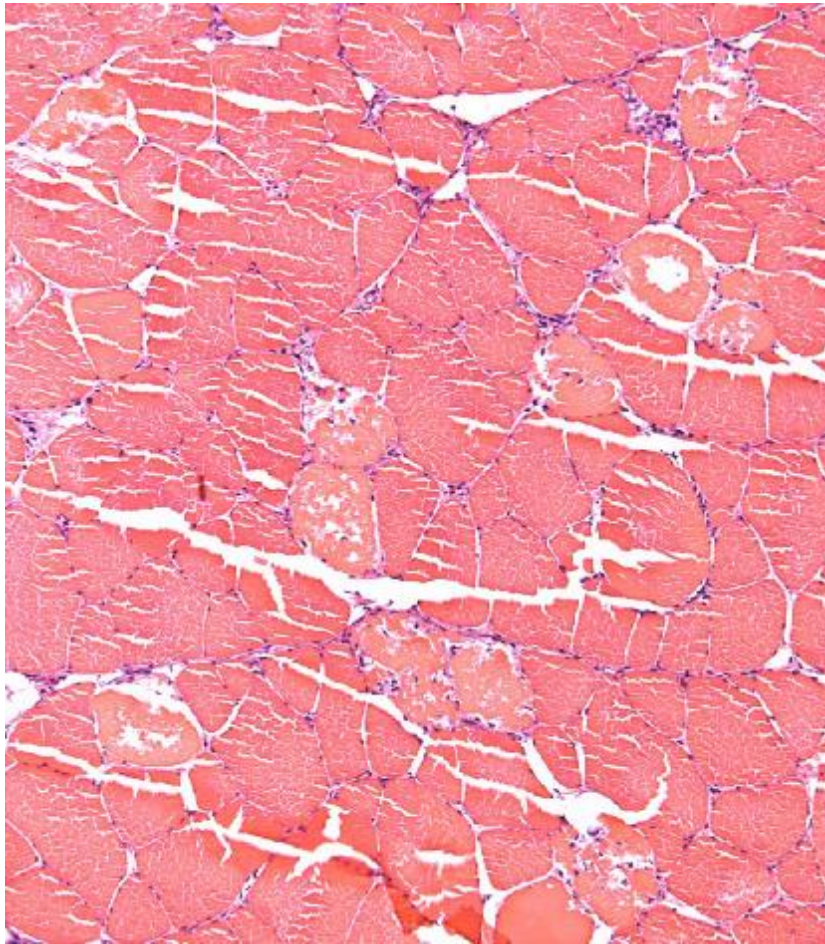
# Prøvemateriale og metoder

- Prøvemateriale sikret fra 3 forsøk:
  - Forsøk A: Dønna - Fôr
  - Forsøk B: Geografisk lokalitet – årstid (Mai – Sept – Nov)
  - Forsøk C: Averøy – Fôr × Stress
- Parafininnstøpte prøver
- Tverrsnitt av muskelfibrene
- Fargemetoder:
  - Hematoxylin-Eosin: oversiktsfarge – generell muskelstruktur
  - Alcian blue: sulfaterte glykosaminoglykaner

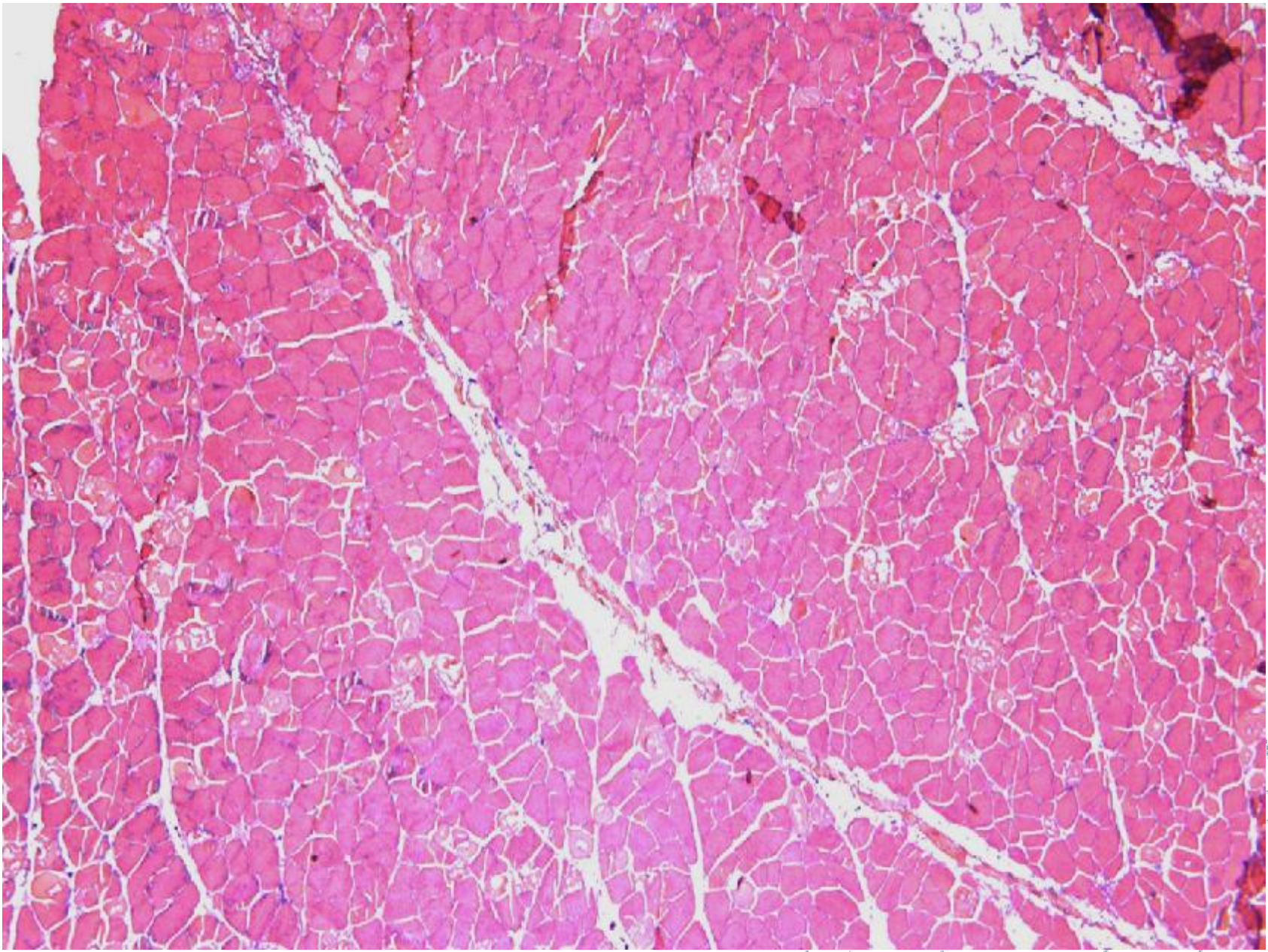


# Hva har vi sett på?

- Celler i oppløsning



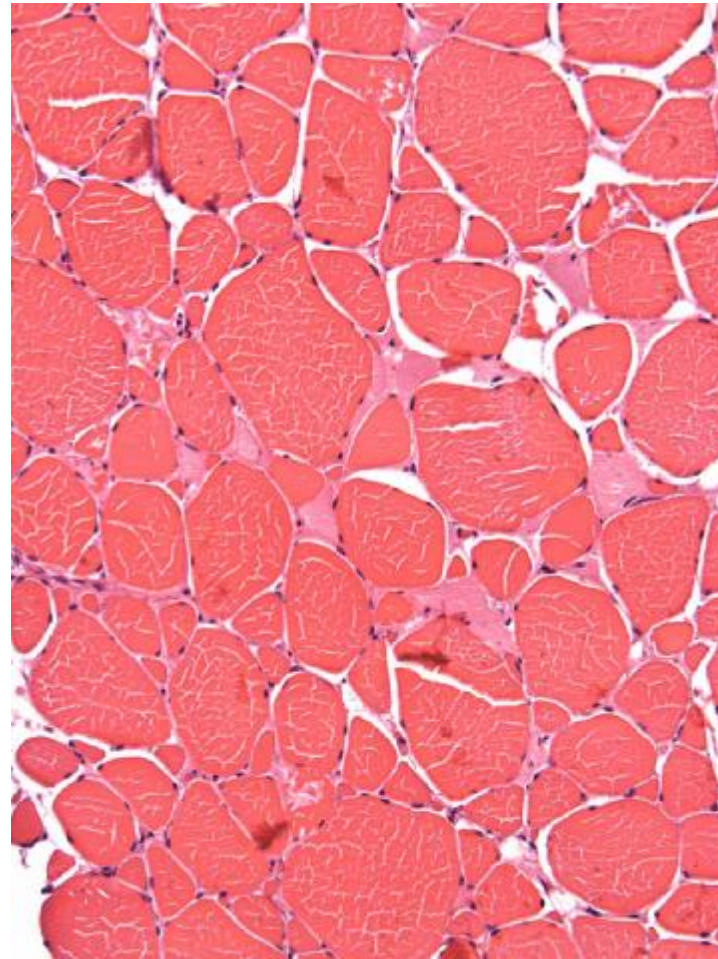
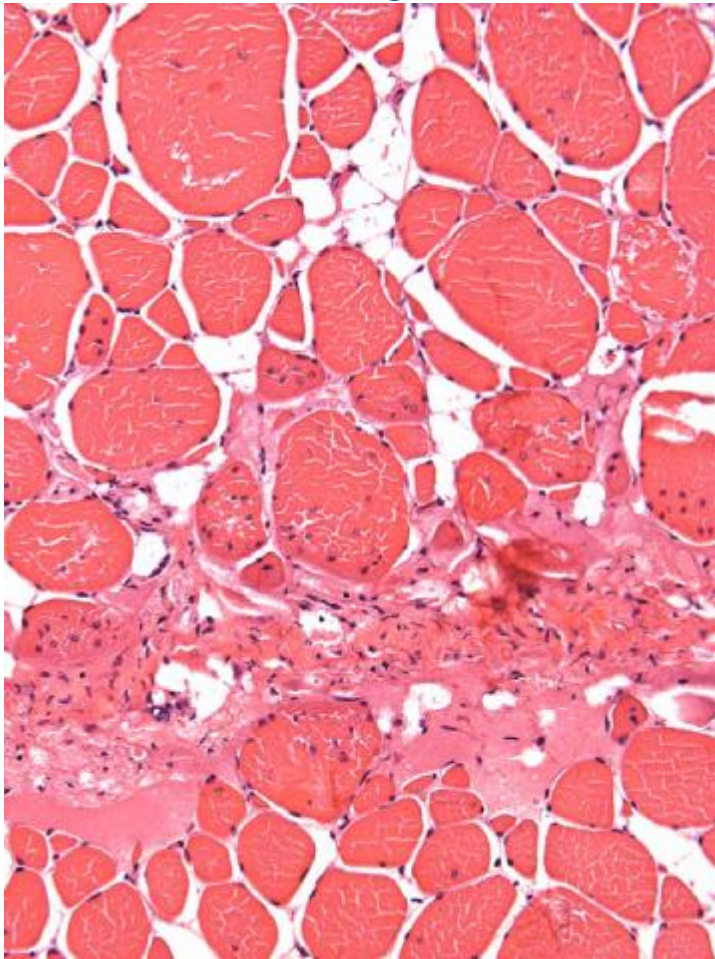






# Hva har vi sett på?

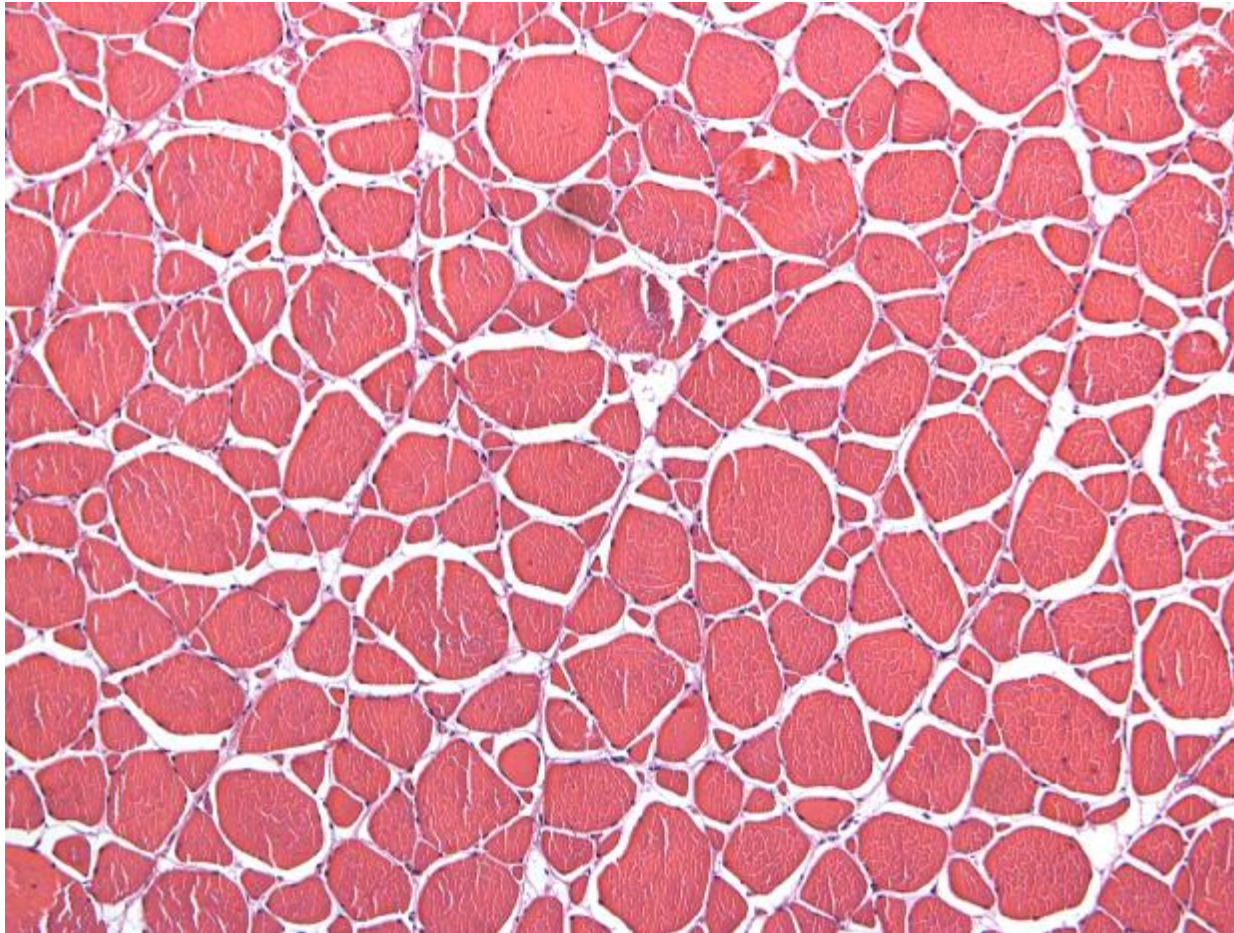
- Væskeansamling





# Hva har vi sett på?

- Nydannelse av fibre

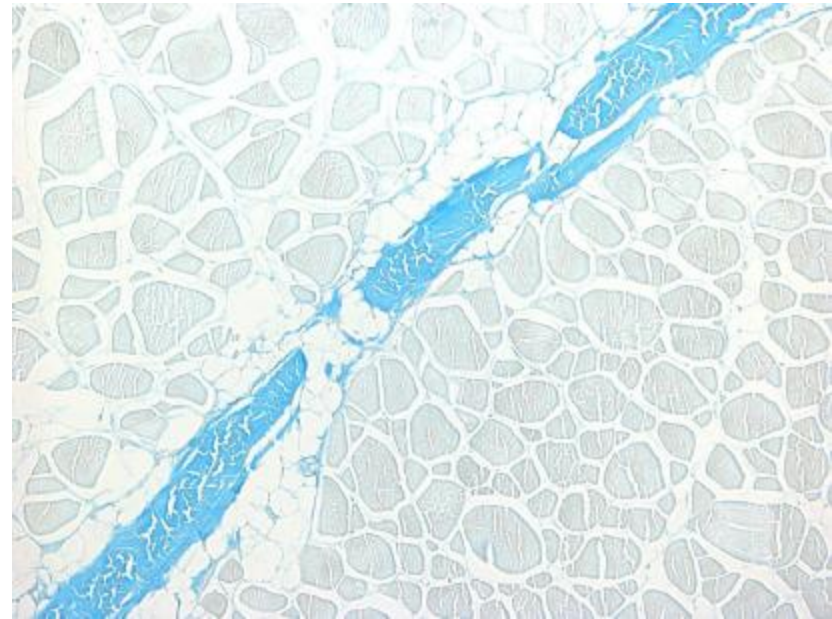


# Hva har vi sett på?

- Kollagen og fett i bindevevet







# Resultater – forsøk B

- Forsøk B – geografisk lokalitet
  - 12 anlegg langs norskekysten
  - 4 av disse plukket ut til histologisk undersøkelse – Mai uttak
    - 5 fisk fra hvert anlegg

| <b>Anlegg</b> | <b>Rundvekt (kg)</b> | <b>Tekstur</b> | <b>Oppløste celler</b> | <b>Nydannelse</b> | <b>Fett i bindevev</b> |
|---------------|----------------------|----------------|------------------------|-------------------|------------------------|
| 1             | 0.7                  | Bløt           | -                      | Ja                | Ja                     |
| 2             | 1.5                  | Middels        | -                      | Ja                | Ja                     |
| 3             | 1.5                  | Bløt-Middels   | -                      | Ja                | Lite                   |
| 4             | 3.3                  | Fast           | Ja                     | Mindre            | Ja                     |



# Resultater – forsøk C

- Forsøk C – Fôr × Stress
  - Kontroll og stress (20t)
  - Fôr – kontroll og testfôr
  - 6 fisk per behandling/kombinasjon

| <b>Stress</b> | <b>Fôr</b> | <b>Tekstur, N</b> | <b>Oppløste celler</b> | <b>Oppløst ved bindevev</b> | <b>Væske ved bindevev</b> |
|---------------|------------|-------------------|------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Kontroll      | Kontroll   | 9.9               | 3 av 6                 | 4 av 6                      | 4 av 6                    |
| Kontroll      | Testfôr    | 12.0              | 3 av 6                 | 3 av 6                      | 3 av 6                    |
| 20t           | Kontroll   | 11.9              | 3 av 6                 | 4 av 6                      | 1 av 6                    |
| 20t           | Testfôr    | 13.7              | 5 av 6                 | 3 av 6                      | 3 av 6                    |

# Mulige videre analyser

- Kvantifisering av observasjoner
- Muskelfiberstørrelse
- Kvantifisering av oppsplitting mellom muskelfibre og mellom muskelfibre og myocommata
- Differensiert Alcian blue farging i forhold til sulfateringsgrad
- Immunmerking for proteoglykaner og kollagen
- TEM – Transmisjon Elektron Mikroskopi



# Gene expression analysis - technique and implications

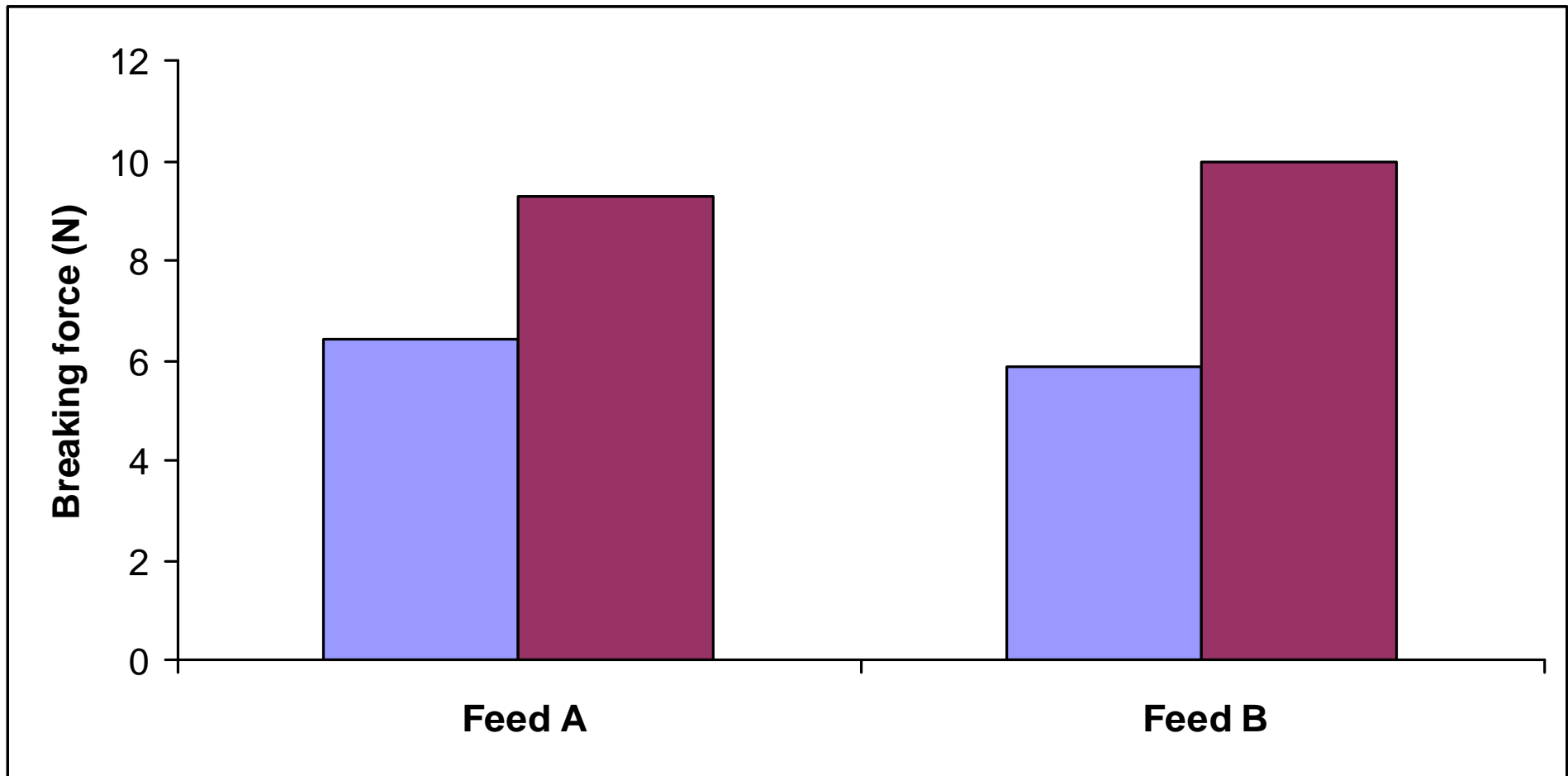
Adapting new techniques to understand and to explain underlying mechanisms of quality variations in farmed Atlantic salmon

# Principle/technique

- Microarray
  - Analysis of gene expression at a given time
  - Large screening of the “total” gene expression
    - Dig deeper with the interesting genes found here
      - e.g. quantification, enzyme activity, staining etc
  - DNA -> RNA -> Protein
  - RNA -> cDNA -> hybridization to probes
  - Red and green labels incorporated into the cDNA of two samples
    - Difference in expression shown as higher intensity of red or green, no difference in expression turns out as yellow

# Design of pilot test

- Chip with 1800 annotated genes
  - Six duplicates to increase statistical power and to exclude technical noise
- Two different diets
- Fish with contrasting texture



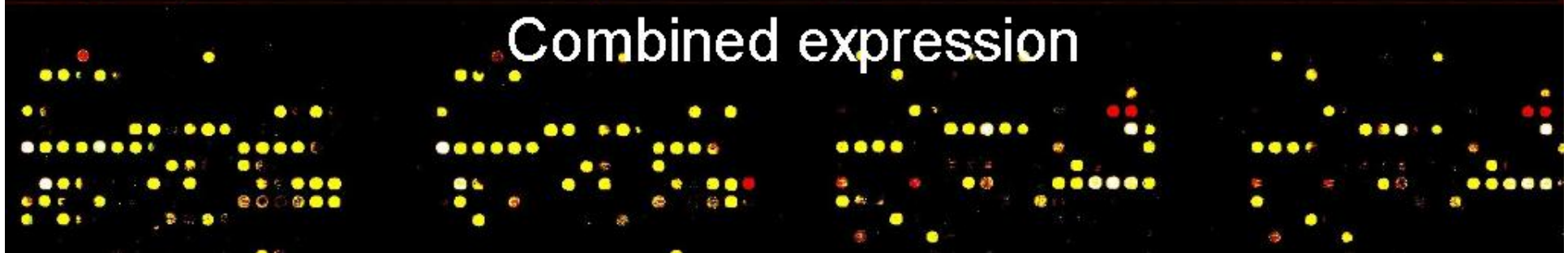
## Expression in soft muscle



## Expression in firmer muscle



## Combined expression



# Preliminary results

- **Lipid** metabolism (genes regulating deposition, eicosanoids)
- Cytoskeleton (especially **Ca**->protein)
- Immune/inflammation related
- Lysosomal enzymes
  - Harder fish had down regulated genes encoding **Cathepsins**
- No factors related to apoptosis, surprisingly low differences between soft and firm muscle regarding EM-related genes



# “Quality chip”

- Chip with 10 500 annotated genes replicated four times
  - Tailor-made chip to investigate quality related characteristics with focus on texture (ECM)
  - Four samples simultaneously
  - Genes comprising the chip have been identified
  - Analysis will start in the spring of 2009
  - Part of my PhD

# Fastere filet - Aktivitet 2

## Protease og protein analyser

Iciar Martinez, Rasa Slizyté, Stine Wiborg Dahle  
January 2009

# Mål

Identifisere forskjeller i

**n** protease aktivitet og

**n** protein profil

mellom normal og bløt/spaltet laksemuskel

# Utvalgt analysemateriell

| Gr  | <i>n</i> | Lokalitet      | Dato     | Bløt/Fast        | kg $\pm$ std  | cm $\pm$ std   |
|-----|----------|----------------|----------|------------------|---------------|----------------|
| II  | 1-5      | Sør- Rogaland  | 26.05.08 | 5 - Fast         | 2.6 $\pm$ 0.7 | 59.8 $\pm$ 5.4 |
| VII | 6-10     | Nord-Trondelag | 27.05.08 | 9 – Bløt/spaltet | 2.1 $\pm$ 0.5 | 56.4 $\pm$ 3.6 |



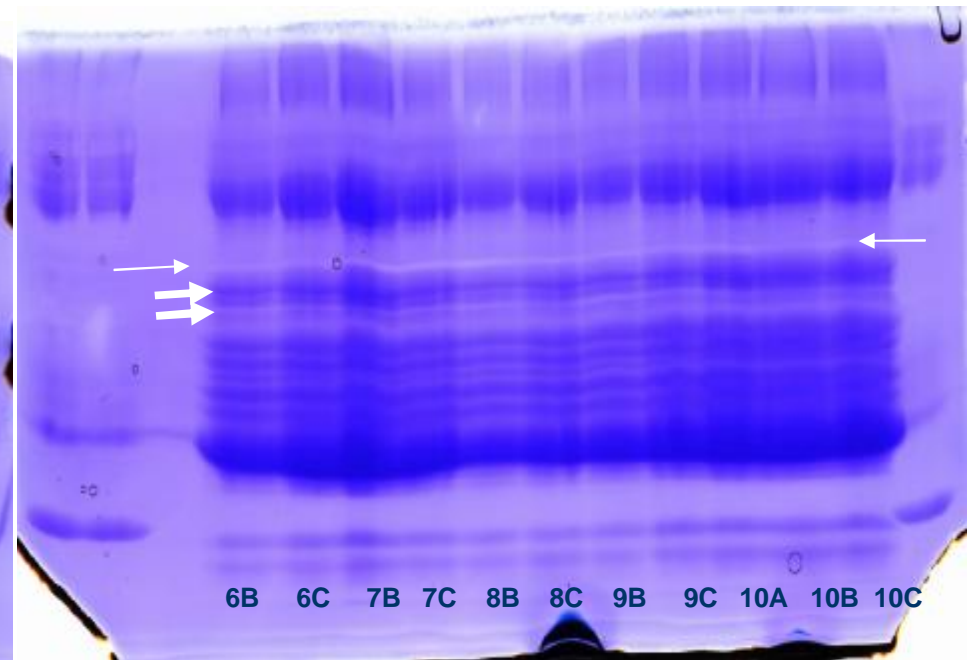
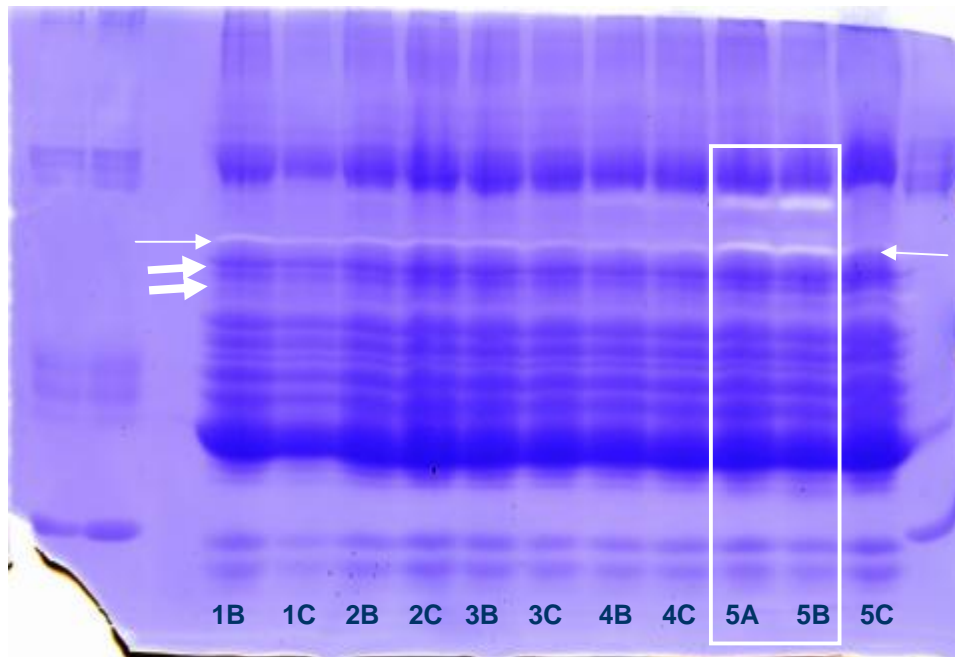
# Analyser

- n Proteaseaktivitet (zymografi)
  - n Gelatinase aktivitet
- n Protease deteksjon (antistoff)
  - n Serin-protease deteksjon (immunologisk deteksjon)
  
- n Markører for stress (antistoff)
  - n Heat Shock Protein 70 family (HSP70, HSC70, GRP78)
- n Muskelprotein sammenstetning
  - n Lav-ionisk styrke muskelproteinekstrakt
  - n Høy-ionisk styrke muskelproteinekstrakt
  - n Ekspresjon av myosin tungkjede i muskelen

# Gelatinase aktivitet - Zymografi

Fast

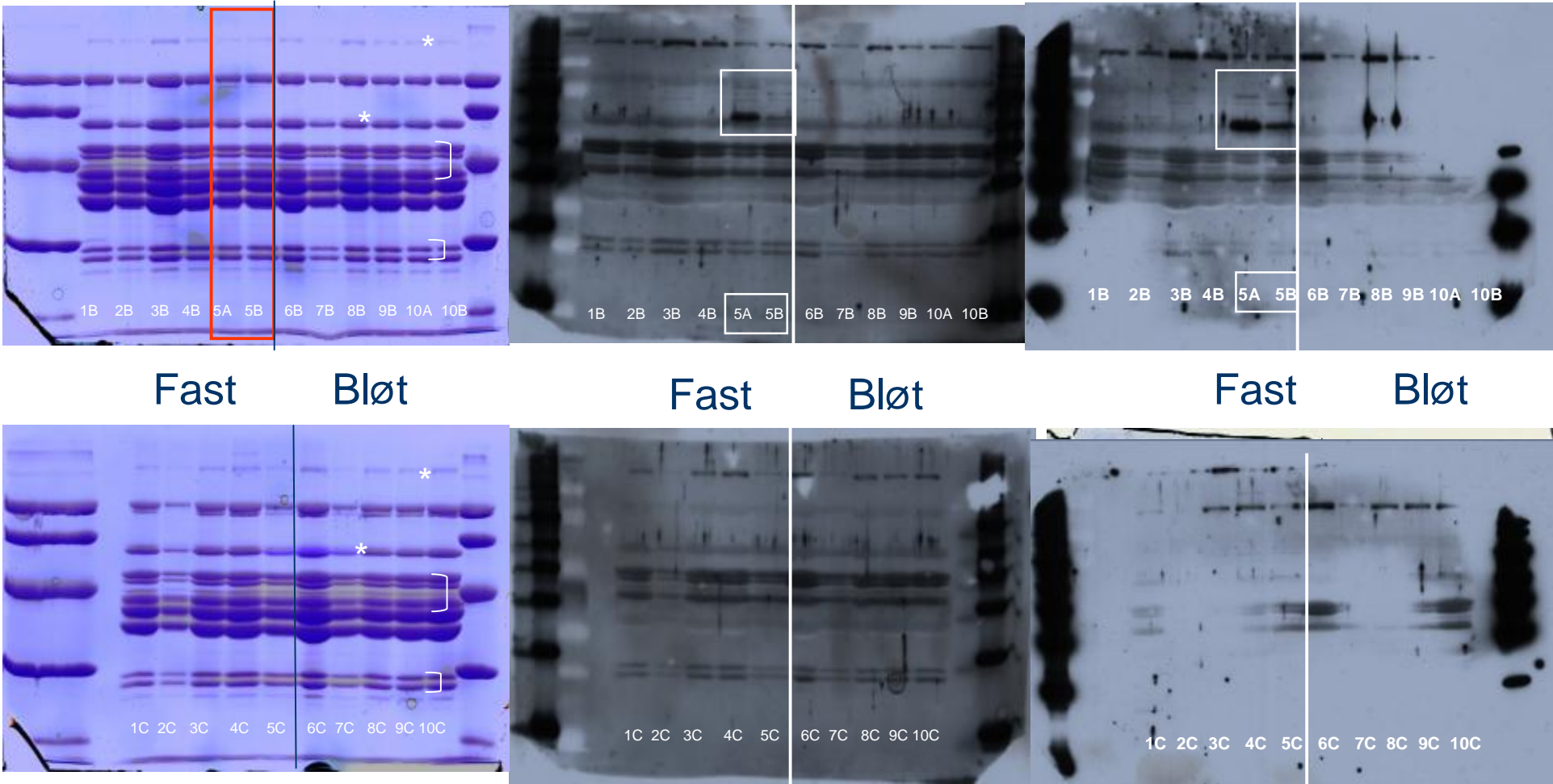
Bløt



# Immunodeteksjon av proteaser

50 kDa red seabream serine protease

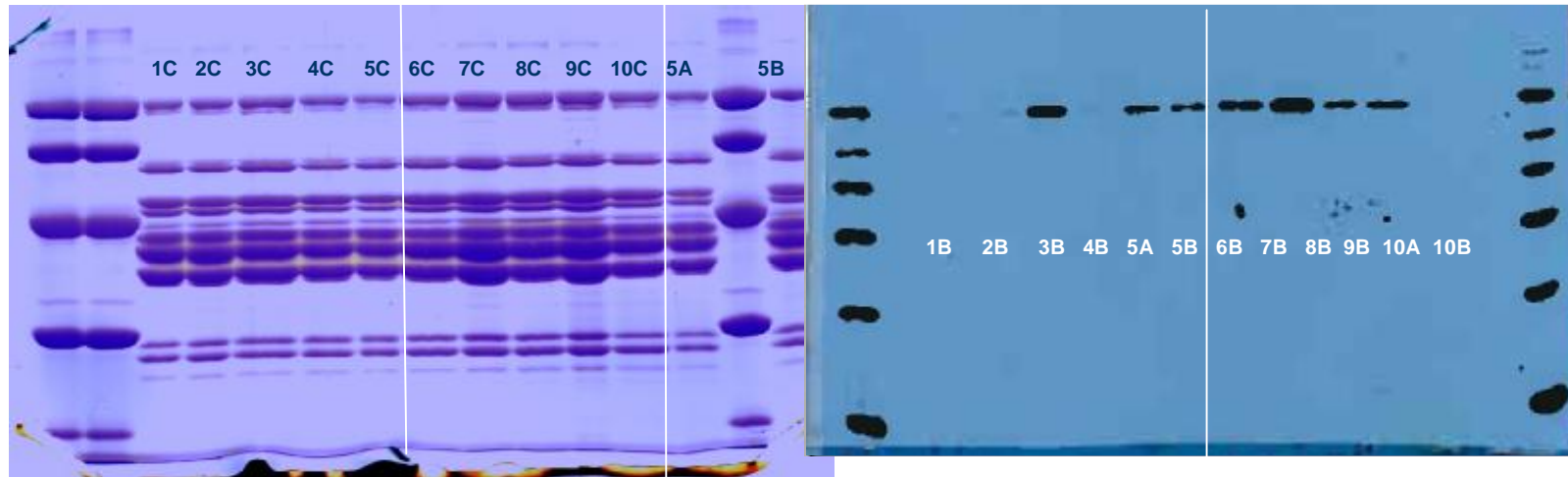
+ Cathepsin L



\* Immunoreaktive bånd



# Immunodeteksjon av stressmarkører - HSP70 family

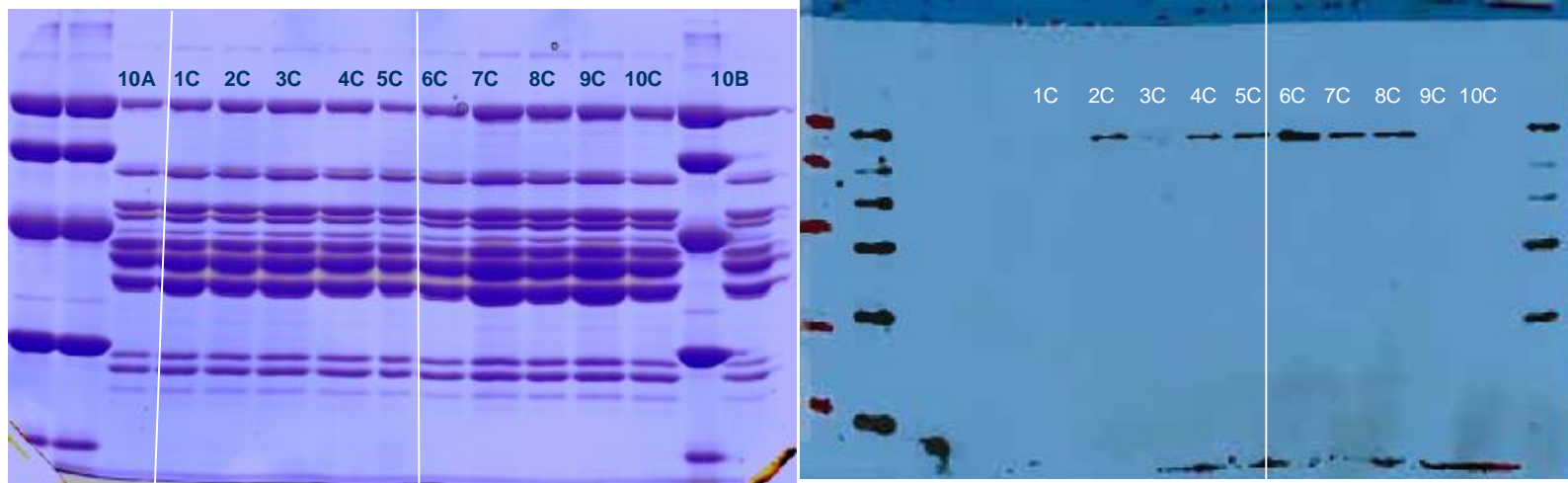


Fast

Bløt

Fast

Bløt

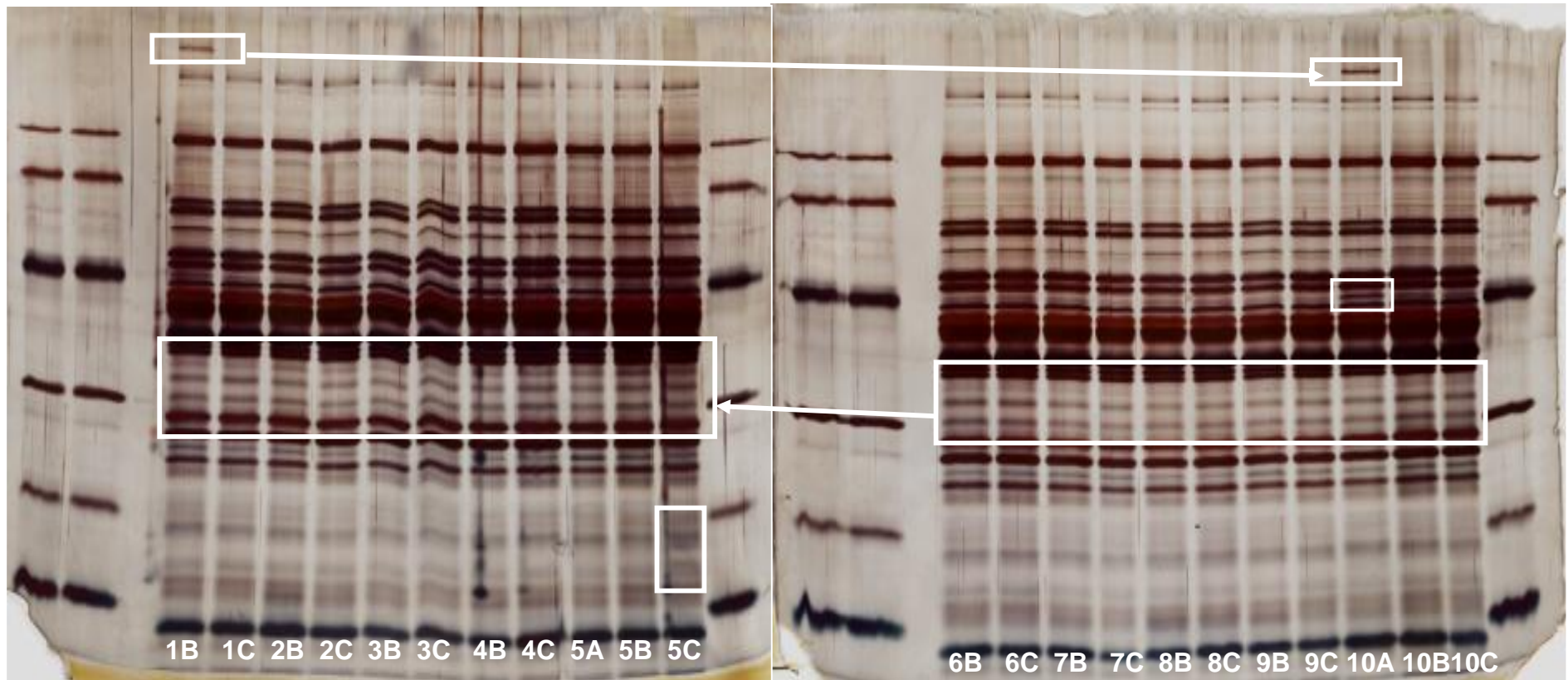




# Protein sammensetning: Lav-ionisk styrke muskelelekstrakt

Fast

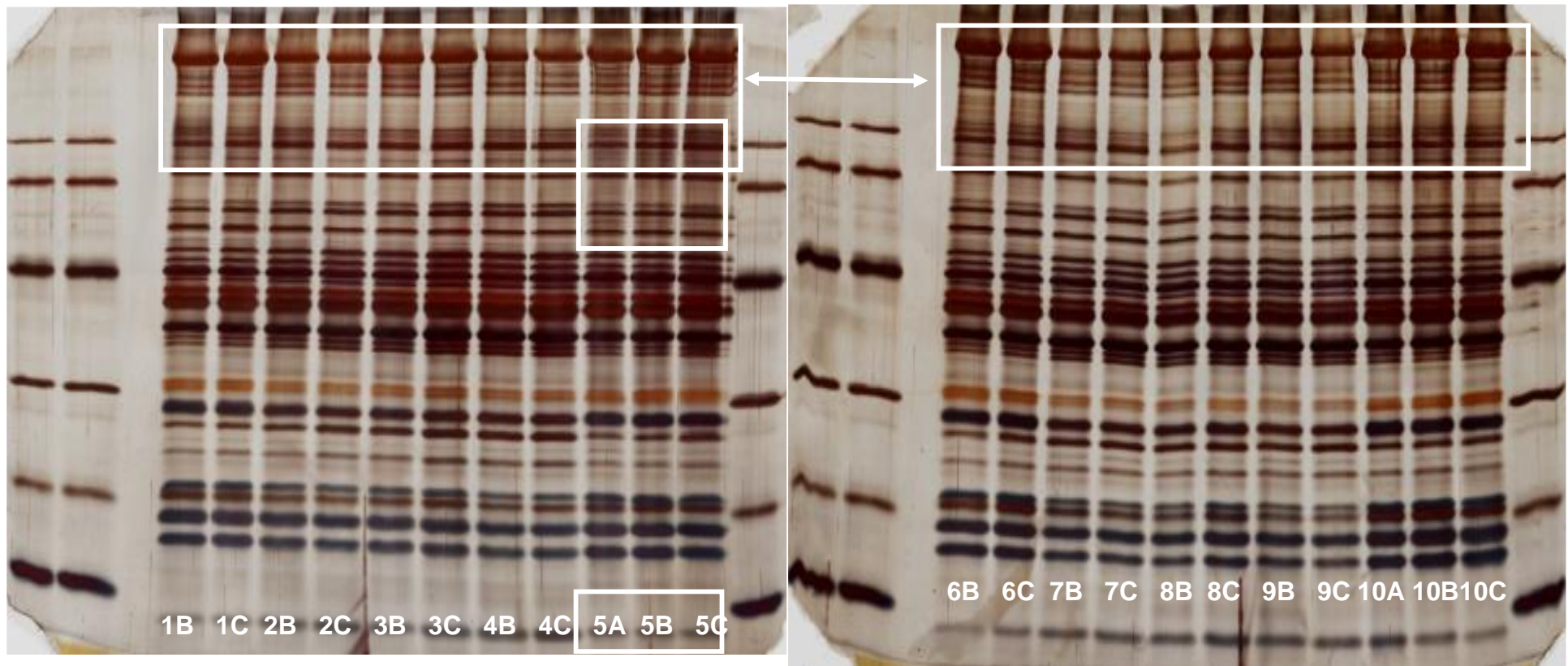
Bløt



# Protein sammensetning: Høy-ionisk styrke muskelekstrakt

Fast

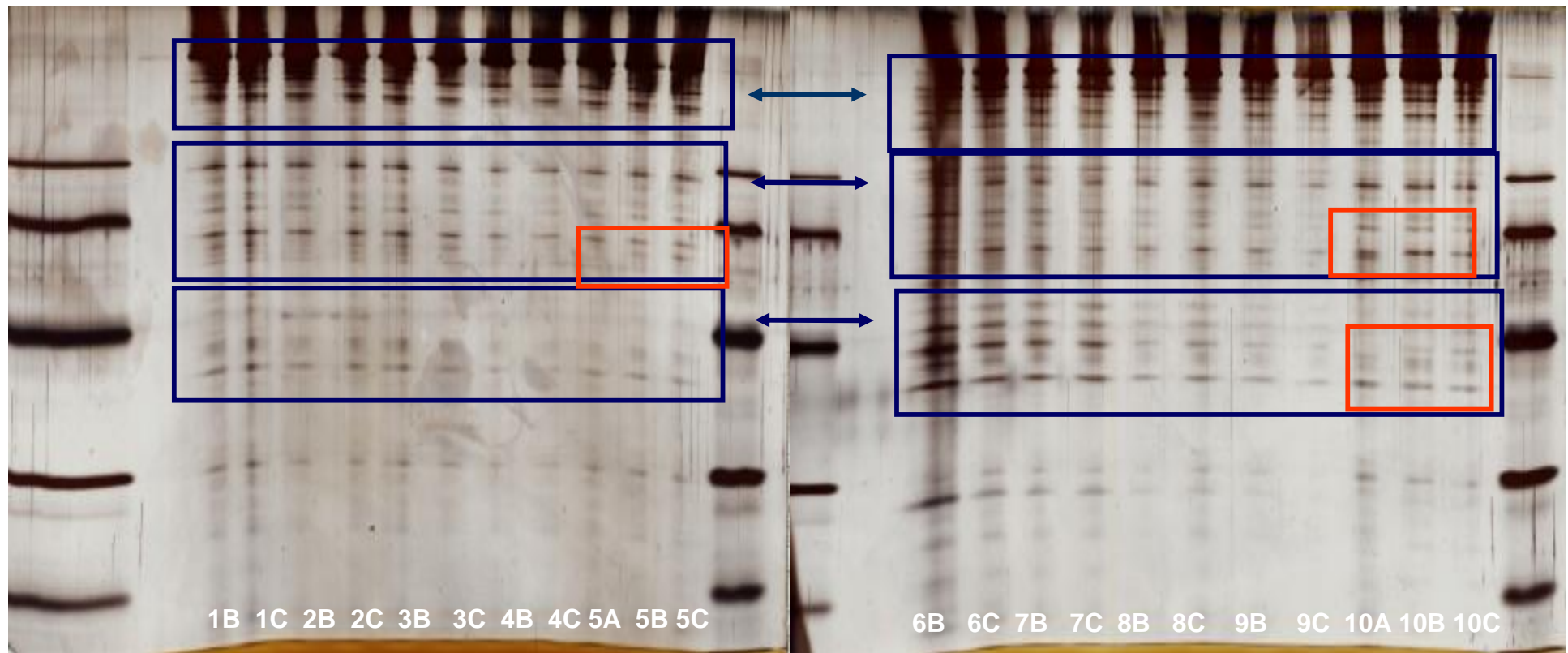
Bløt



# Ekspresjon av myosin tungkjede isoformer

Fast

Bløt





# Konklusjoner - I

## n Gelatinase aktivitet

- n Kvantitativt variasjon mellom fast og bløt laks
- n Det kan være nyttig å karakterisere disse variasjonene
- n Individ-variasjoner: prøve 5A og 5B (men ikke 5C) har større og egne aktiviteter

## n Immunodeteksjon av 50 kDa red seabream serine protease og Cathepsin L

- n Ikke synlig forskjell mellom fast og bløt laks
- n Individ-variasjoner: prøver 5A og 5B (men ikke 5C) har større og egne aktiviteter (det kan være det samme aktivitet detektert ved gelatin zymografi)

# Konklusjoner - II

## n Immunodeteksjon av HSP70-family

n Ikke systematisk forskjell mellom fast og bløt laks

n Individ variasjoner og/eller variasjoner i mengde protein satt på i gelene

## n Protein sammensetning i lav- og høy-ionisk styrke ekstrakter

n Det ser ut som om det er forskjeller mellom fast og bløt laks

n Individ variasjoner: fisk no. 1, 5 and 10

# Konklusjoner - III

- n Ekspresjon av myosin tung kjede
  - n Klar forskjeller mellom fast og bløt laks
- n Forskjeller i protein isoform ekspresjon kan tillegges:
  - n Utviklingsstadium
  - n Rekruttering av nye muskelfibrer (aktivering av satellitt celler)
  - n Treningsregime – aktivitetsmønster
    - n Myofibrill metabolisme og ATPase aktivitet
  - n Muskel degenerering/regenerering/vekst

# Industritest

**Brekke, SF**

**9 desember 2008**

**U. Erikson, SINTEF Fiskeri og havbruk**

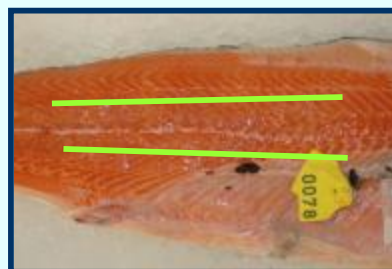
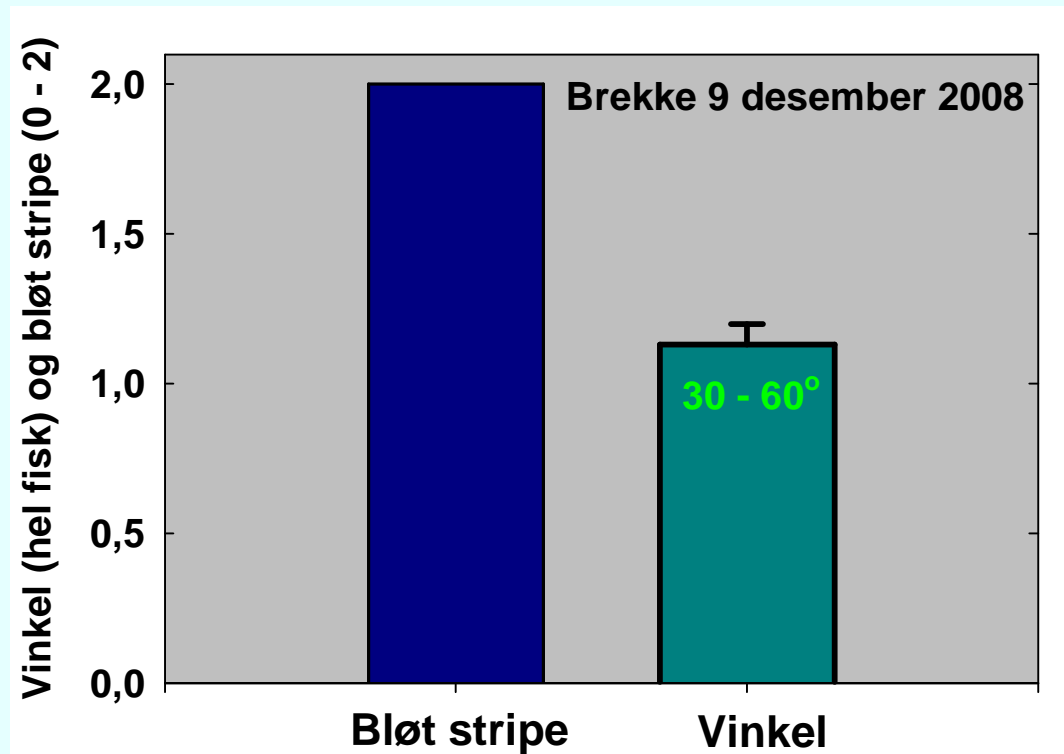
# Bakgrunnsdata

- n Brekke slakteri 9 desember 2009 (kun ekstern fisk slaktes, maks 50 tonn per dag)
- n **Laks ( $3,5 \pm 0,3$  kg; n = 40)** pumpet fra ventemerd til STANSAS elektrobedøver etter ca 4 dager i ventemerd (8°C)
- n Fisken var - som ved de fleste anlegg - **utmattet (muskel pH ~6,7)** ved ankomst elektrobedøver. Deretter **elektrobedøvd** ved 75 - 45 Volt i 13 sek (oppholdstid på båndet)
- n Industritest på slakteri, uttak av fisk ved sortering, dvs **Dag 0**



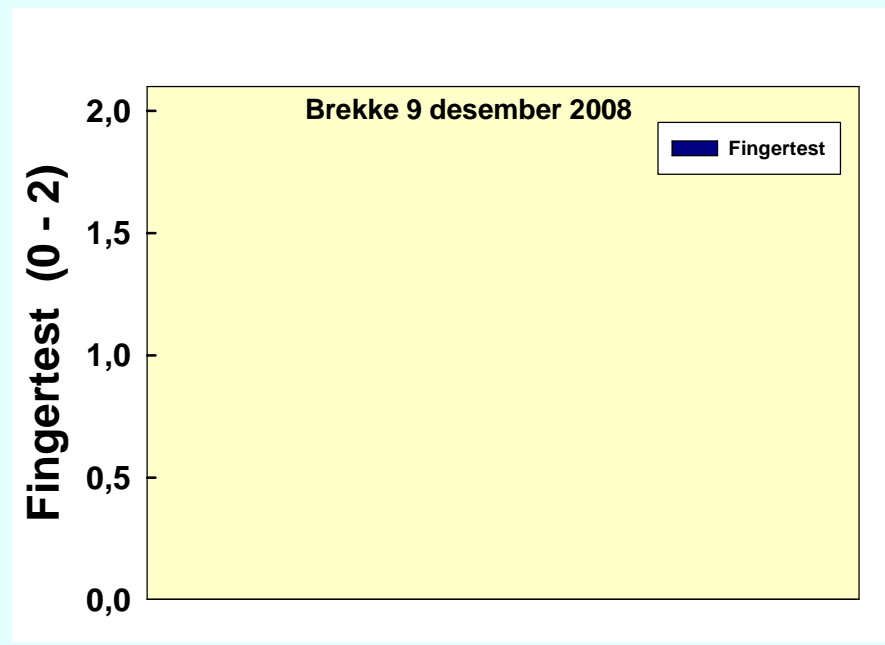
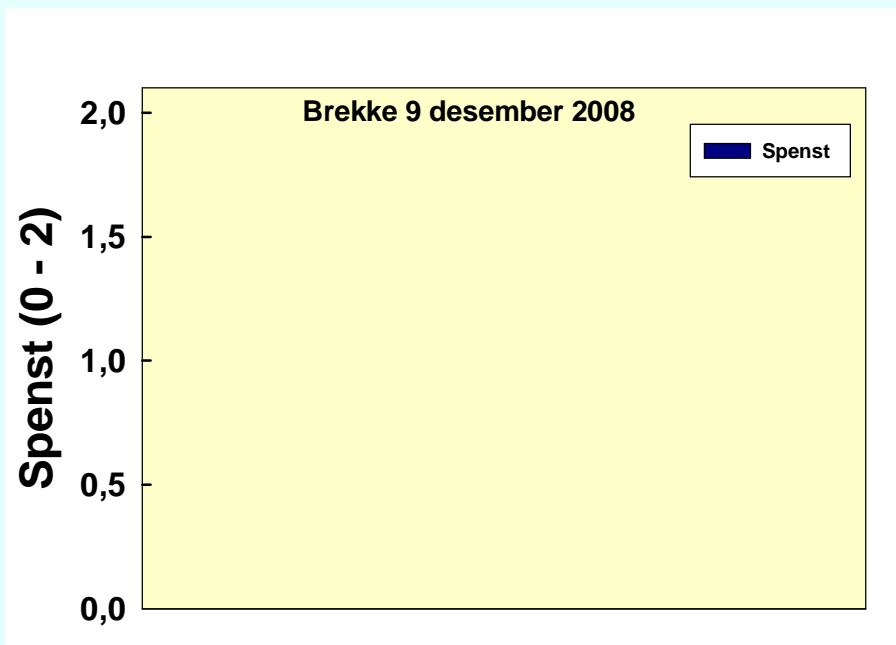
# Industritest

## Avbøyning hel fisk (vinkel) og bløt stripe



# Industritest

## Spenst (elastisitet) og konsistens (fingertest)

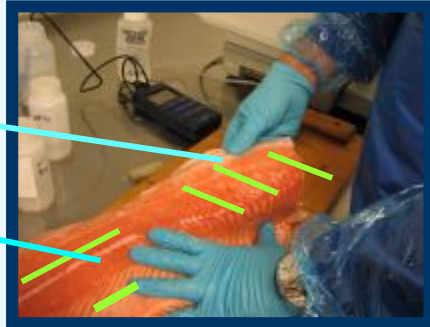


# Industritest – Gaping i rygg, buk og hale

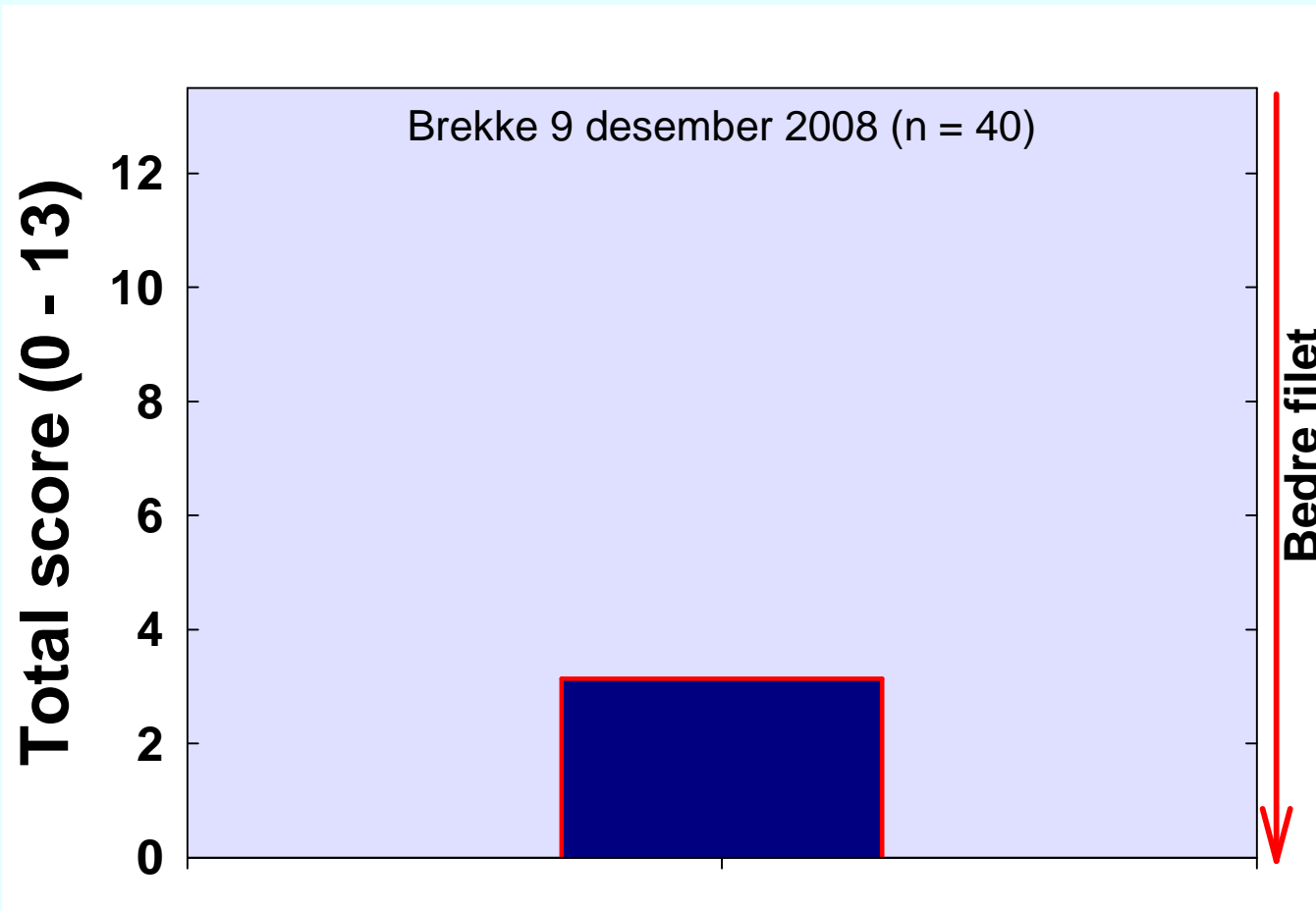
NB! Eventuell gaping blir framprovosert

Rygg

Hale



# Industritest – Total score



## Alternativ (enklere) gaping test (under utprøving)

Ingen spaltning her (score 0)  
Vanskelig å bøye og holde fileten slik som vist på bildet  
(→ 'for' stor spenst!)



# Industritest – Brekke

9 desember 2008

## n Global kvalitet\*: 'Superior'

\* Tre klasser: Superior, Medium +/- og Produksjon

n (Avbøyning av hel fisk: Score 1, dvs. vinkel 30 – 60 grader. NB! Tidlig rigor pga utmattet, elektro-bedøvd fisk)

n **Bløt stripe:** Score 2, dvs stripen dekket ½ filetens lengde. Stripen var ikke utpreget og hadde ikke gelèaktig konsistens.

n **Farge:** Roche Lineal™ **27,6 ± 0,2** (ikke lysboks)

# Videre...

## Industritest:

*Hvordan var det mulig 'å ødelegge' ( hvordan 'få tak på') disse filetene ??? !!!' 😊*

## 'Gummiball'!

# Konklusjoner

- 1. Særdeles god filetkvalitet (innfarging, spenst og konsistens)**
- 2. Absolutt ingen gaping**
- 3. Trolig meget god resistens mot hardhendt behandling (filetmaskin etc)**



**Hvor kom denne fisken fra?**

**Hva var oppdrettsbetingelsene?**

# Oppdrett

## Bringsvor Laks AS, Sandshamn, M&R, Medlem av HAVdyrkerne SA

- n **Lokalitet:** Maltvika (årstidsvariasjon SW: 4 – 16 °C), relativt stor strømningshastighet → **god mosjonering**. Meget god vannutskifting.
- n **Strømningshastighet:**  $V_{\max} = 33 \text{ cm s}^{-1}$  (ekstremverdi);  $V_{\text{midlere}} = 8 \text{ cm s}^{-1}$  (3 m dyp)
- n **Stamme:** AG
- n **Settefisk:** Kraft Laks AS, Volda. God smolt viktig. 1 års-smolt
- n **Fôr:** Ewos (standard); tidligere Biomar
- n **Farge:** mg astaxanthin  $\text{kg}^{-1}$  fôr: 20 → 0,5 kg (størrelse); 50 → 1kg; 30 → >1,5 kg
- n Lavt **fettinnhold** i filet
- n Noe lenger **produksjonstid** sml. med andre oppdrettere i regionen, holder igjen litt på vekst

# Implikasjoner

M.a.o., det er i dag mulig å produsere laksefilet av **formidabel** kvalitet!

...under gitte forhold: stamme (AG,...), fôr (Ewos,...), drifts- og miljøbetingelser...

## 'Egentlige' problemer?:

...bruken av fôret (tilvekst)...?

...biologisk begrensning i tilvekst vs optimal kvalitet (filet)...?

...finne et kompromiss lønnsomhet vs akseptabel kvalitet...?

# Viktig eller ikke?

## Et 'materialteknisk' problem?

- n Lavt fettinnhold (myokommata) + **mosjon** = OK filetstyrke ?
- n Høyt fettinnhold i myokommata → spalter lett?
- n Jfr 1 - kjønnmoden og PD fisk spalter ikke...
- n Jfr 2 - Biomar: Laks i Nord-Norge generelt fetere enn laks i Sør-Norge
- n **Fettinnhold** inn som 'standardanalyse'?

# BINDEVEV- utvikling og nedbryting av bindevev og betydning for tekstur og spalting

Gruppe 1 – arbeidsrom MOT

Thomas, Siri, Mona, Magny,  
Hallbjørn

# HVA VET VI?

- VI VET FOR LITE OG MÅ SJEKKE UT / BYGGE OPP KOMPETANSE , GRUNNKUNNSKAP PÅ OMRÅDET
- ER DET FORSKJELLER I BINDEVEV PÅ LITEN OG STOR FISK?
- FORSKJELLER I BINDEVEV BLØT FISK OG GAPING PÅ SAMME STØRRELSE?
- ANDRE PROSJEKTER EN KAN LINKE SEG TIL:
- MUSKELDEFORMITETER AVLSMATERIALE

# HVA BØR GJØRES VIDERE VS. GAPING PÅ FORLIGGENDE MATERIALE?

- PRØVEUTTAK ER GJORT FRA 12 ANLEGG ,  
STOR OG LITEN FISK
- HISTOPRØVER FRA AVERØY 120 FISK
- TEKSTURMÅLINGER, FETT, FARGE, RNA,  
GENER, GAPING (INDUSTRITEST)
- ER DET FORSKJELLER I  
BINDEVEVSSAMMENSETNINGENE MELLOM  
PRØVEUTTAKENE
- SJEKKE RNA, HISTOLOGI- TYPER GAG –  
"HVA BESTÅR BLÅFARGEN AV"?

# NYE PRØVEUTTAK vs GAPING

- PRØVEUTTAK DAG 0, DAG 4, DAG 8 koordineres med andre aktiviteter
  - ENZYMAKTIVITET I STARTEN OG VIDERE UTVIKLING.
  - Prøver fryses ned ved – 80 grader C
- ANALYSEMETODIKK
- NEDBRYTINGSENZYMER – RELASJON TIL GAPINGSCORE DAG 0, DAG 4, DAG 8 (FOR EVT UTVIKLING) OG PROTEASENE
- GEN EKSPRESSJON.
- SJEKKE HISTOLOGI, PROTEOGLUKANER
- PRØVER FRA STRESSET- USTRESSET FISK?  
RELATERT TIL ANLEGG MED SPENNENDE FISK/GAPING  
PROBLEMATIKK



# STANDARDISERING AV ANALYSENE

- SAMMENHENGER MELLOM  
METODENE
- TEKSTURMÅLING ER IKKE  
NØDVENDIGVIS ET MÅL FOR GAPING
- FINGERTEST ok
- TEKSTURMÅLER MASKINELT HVA  
SKAL ANALYSERES OG VEKTLEGGES  
vs kurven, arealer mm,

# HVA VIL DETTE FØRE TIL ?

- FORSTÅELSE AV BINDEVEVETS BETYDNING
  - BETYDNING AV STRESS – Temperatur-/ lysforandringer, håndtering / sorteringer
  - BLØTSONER vs Vekstsoner i muskulatur?
  - Hvilke av parameterne virker?
  - Tas inn som avlsparameter etter hvert.
- ⇒ Minimere risiki for tap for næringen Stort potensiale
- ⇒ Kan kobles fôringsforsøk

- **DETTE BLIR BRA!**

# Muskelvekst – hastighet

## Gruppe 2

Eva, Iciar, Rasa, Gunn Marit, Ragnar og Line



**marineharvest**  
excellence in seafood

# Muskelvekst – hastighet

---

- Sammenholde alle data på generasjonsuttaket (Produksjonsdata, miljø, håndtering):
  1. På bakgrunn av dette finne lokaliteter som utpeker seg spesielt i forhold til veksthastighet, kvalitet, .....
    - Kjøre detaljanalyser på noen av de ekstreme gruppene
  2. Identifisere nye hypoteser...?
    - Eventuelt sette opp et nytt forsøk neste år – basert på det vi har analysert og de historiske dataene

# Muskelvekst – hastighet

---

- Vekst & Kvalitetsforsøk I

Design:

2 fôringsregimer (appetitt + restriktiv)

x 2 strømhastigheter (lav – høy strøm, vha. strømsetter)

x 2 lysregimer (N – S gradient)

- Vekst & Kvalitetsforsøk II

Design:

Avhenger av konklusjoner fra datamodellering fra historiske produksjonsdata (hypotese-generering) og resultater fra Vekst og Kvalitetsforsøk I

# Muskelvekst – hastighet

---

- Mulige måleparametre
  - Veksthastighet
  - Industritest
  - Måling av fett på levende fisk
  - Instrumentell måling av tekstur
  - Utvalg av pågående analyser som gir gode korrelasjoner mot kvalitet og veksthastighet
  - Billeddannende spektroskopi – fluorescence
  - FTIR spektroskopi – kjemisk sammensetning og kryssbindinger i bindevevet
  - Ekstracellulær matrisk sammensetning
  - Proteomanalyser – metabolske enzymer, strukturelle proteiner
  - Cathepsin aktivitet
  - Proteolyse av strukturelle proteiner (alpha-actinin)
  - Myosin isoformer

# Muskelvekst – hastighet

---

- Viktige spørsmål å avklare:
  - Hvor skal nye forsøk kjøres?
  - Størrelse på fisk?
  - Hyppighet på prøveuttak?
  - Hvor skal prøvene tas fra?
  - Individmerket fisk?



# Gruppe 3

## Industristandard

Elisabeth, Asbjørn, Gudmund,  
Sveinung, Rudi og Kristian

# Tiltak

- Vi må øve oss litt selv
  - Samle noen fra bedriftene
  - Teste metoden
- Forenkle metoden
  - Spalting
  - Spenst
  - Fingertest

# Industritest

- Sette opp en bildeserie som viser spredning i spalting av laksefilet
  - Fokus på ryggdelen
- Finne et nivå for aksept
- Standardisere behandling av filet før bedømmelse
  - Brukes til å simulere den behandling fisken får ved produksjon etter transport til marked.
  - Må være så hardhendt at vi ikke lurer oss selv.

# Gruppe 4 - Fôr

Marit, Henriette, Tommy, Turid,  
Gunvor, Trine, Trygve og Kjell

# Gruppe 4: Fôr

- Stamfiskfôr (husk også genetikk)
- Sjekk ut vegetabilsk protein og vegetabilsk olje en gang for alle (gjort i AquaMax – ingen forskjell, men....)
- Kartlegg kritiske perioder
  - Årstid
  - Spurt-vekst
  - "Partition of growth"
- Grunnforskning på mekanismer
  - Collagen
  - Proteaser
  - Mekanikk/Biokjemi – fett-muskelprotein-fett. Hvor ryker koblingen?
  - Hva er egentlig filétspalting (gaping)
  - Hva er egentlig bløt fisk
- Hva forbedres med restriktiv fôring?
  - Lage protokoll
  - Finne responsparametre

# Start med ?

- Hva er forskjell på gaping og normal fisk?
- Jan/Feb er slaktetid for problemfisk – ta prøver raskt?
- Sjekke ut fisk med ulikt fôr (DP/DE) og/eller ulikt fôrstyrke-regimer