

Instrumentell påvisning av mørke flekker i laksefilet – blod eller melanin?

Karsten Heia
Nofima

Agenda

- Bakgrunn
- Måleoppsett
- Analysemetodikk
- Avsluttende test
 - Forsøksoppsett
 - Påvisningsresultater
 - Blod vs. melanin overflate- vs. innvendige flekker
- Konklusjoner
- Veien videre

Bakgrunn

- Mørke flekker i laksefileter utgjør et stort problem
- Det finnes løsninger for å påvise mørke flekker på fileten overflate, men ...
 1. Kan ikke si noe om flekken også går ned i fileten
 2. Kan ikke påvise flekker som ikke vises på overflaten
- Når mørke flekker blir påvist i dag blir de ofte stemplet som melaninflekker, men det viser seg svært vanskelig å skille mellom oksidert blod / dyptliggende blodflekker og melanin

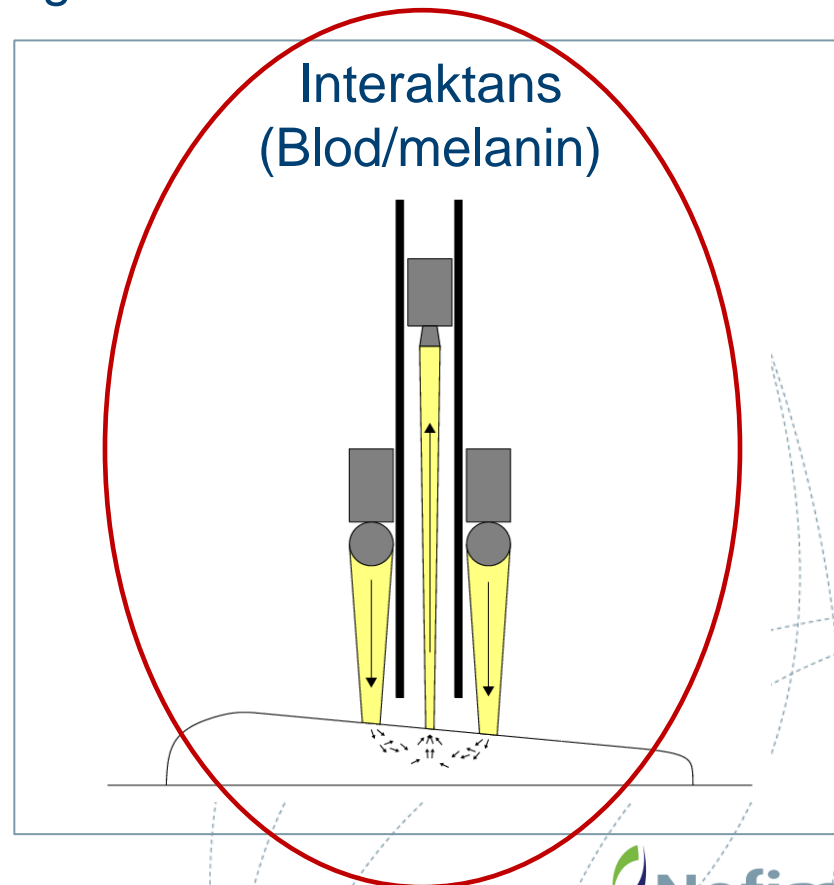
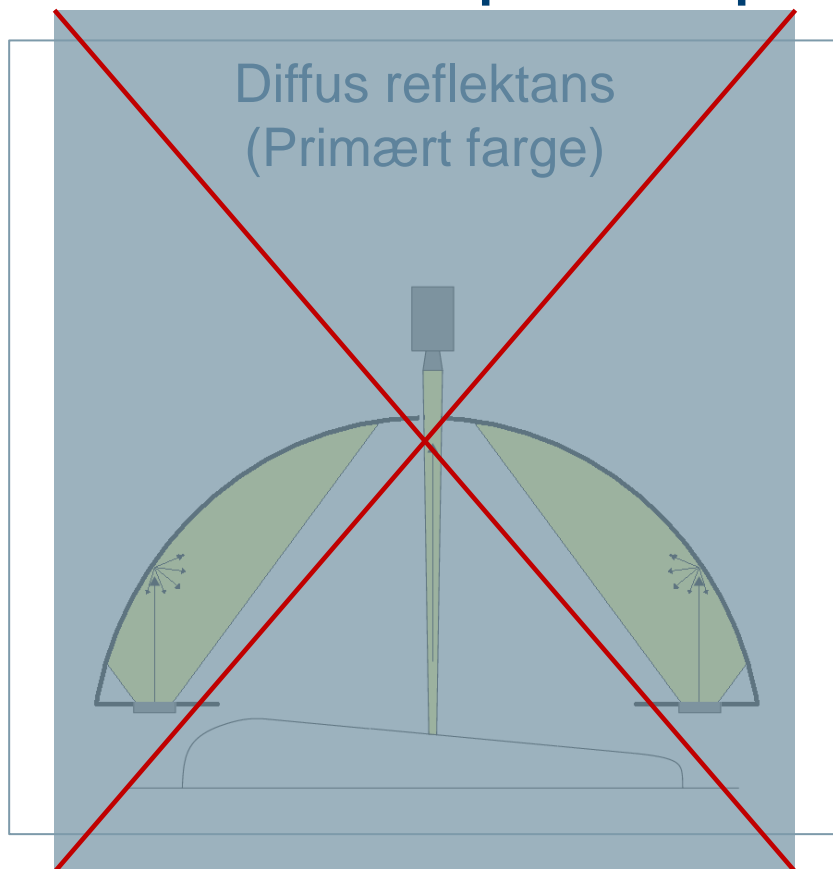
Bakgrunn

- Høsten 2009 ble det etter initiativ fra næringen satt i gang en stor satsning for å kunne påvise instrumentelt blod- og melaninflekker i overflaten og inni fileten
- Det var ønske om å kunne skille mellom blod- og melaninflekker
- Eksisterende løsninger for påvisning av mørke flekker, basert på tre-kanals fargeavbildning, er ikke tilstrekkelig for å kunne påvise flekker inne i fileten og kunne skille mellom blod og melanin

Måleoppsett

Valg av teknologi

- **Avbildende spektroskopi** i synlig/nedre NIR område



Måleoppsett

Interaktans spektroskopi

- Filetene kjøres gjennom avbildningsmaskinen på 40 cm/s
- Linje for linje av fileten avbildes med romlig oppløsning på 0.5 mm, og spektral oppløsning på ca 10 nm i synlig og nær infrarød del av spekteret (400-1000 nm)
- Lyset projiseres ned på to striper på fileten og registreres midt mellom stripene
- Dette sikrer at lyset beveger seg en distanse inni fileten før det blir målt



Analysemetodikk

Utfordringer

- Det spekteret som måles i et punkt på fileten er påvirket av flere egenskaper ved fileten og avbildningssystemet
 - Påvirkning fra avbildningssystemet (pga. avbildningsgeometri, lampekarakteristikker, osv.) kompenseres for gjennom kalibreringsrutiner
 - Påvirkning fra fileten kan deles i ønsket og uønsket påvirkning når blod- og melaninflekker skal påvises

Analysemetodikk

Utfordringer

- Påvirkning fra fileten
 - Ønsket påvirkning:
 - Blod/melanin har karakteristisk absorpsjon
 - Uønsket påvirkning (må håndteres):
 - Mengde astaxanthin, vann og fett varierer mellom fileter og innen samme filet
 - Absorpsjon av astaxanthin er kraftig i områder som er viktig for påvisning av blod
 - Spredning og absorpsjon endrer seg innen samme filet under lagring

Analysemetodikk

Valgt fremgangsmåte

- Lokal intern kalibrering for hver filet
 - Fjerner/reducerer påvirkning fra astaxanthin, vann og fett samt effekt av varierende spredning
- Gjør det mulig å anvende metoden uavhengig av råstoffets beskaffenhet, dvs. alder, lagringsmetode, prosessering
- Sensitivitet er valgt slik at synlige flekker skal påvises
- Ved å øke sensitivitet for blod kan teknikken også si noe om generelt blodnivå i fileten

Avsluttende test

Forsøksoppsett

- Et stort antall industrielt prosesserte fileter ble fraktet til Nofima i Tromsø for analyse (mer enn 250 fileter)
- Filetene var valgt ut spesielt for å få fileter med og uten blod- og melaninflekker
- Blod og melaninflekker ble manuelt påvist før filetene gikk inn i forsøket
- Alle fileter ble avbildet både i interaktansmodus (blod/melanin analyse) og diffus reflektansmodus (fargeanalyse) på tre ulike lagringstidspunkt

Avsluttende test

Forsøksoppsett

- Etter første måledag ble 110 fileter valgt ut basert på den manuelle blod/melaninpåvisning til videreføring i forsøket
- Alle fileter ble, når de gikk ut av forsøket, inspisert grundig for å bestemme hvorvidt påviste og ikke påviste flekker var lokalisert:
 1. kun i overflaten,
 2. i overflaten og «x» mm ned i muskelen,
 3. eller inne i fileten

Avsluttende test

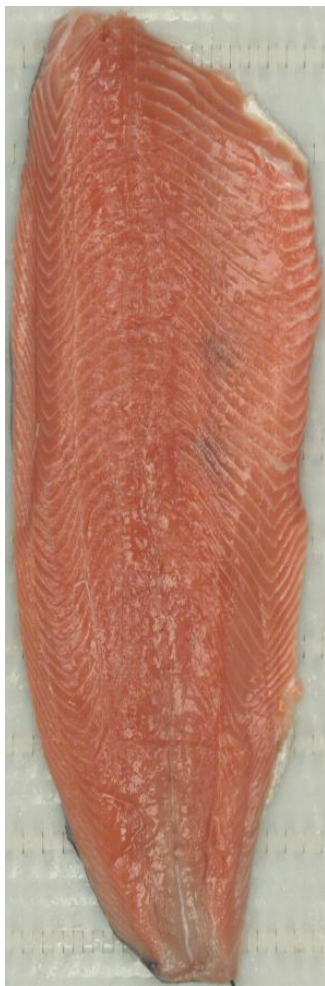
Manuelle registreringer

- I den manuelle påvisningen av blod/melanin ble selv de minste og svakeste flekkene markert
 - Noen av flekkene var så svake at de ikke var forventet å komme opp i analysen
- Når filetene ble tatt ut av forsøket ble de grundig inspisert. Filetene ble kuttet opp og informasjon om dybde og størrelse på flekkene ble registrert

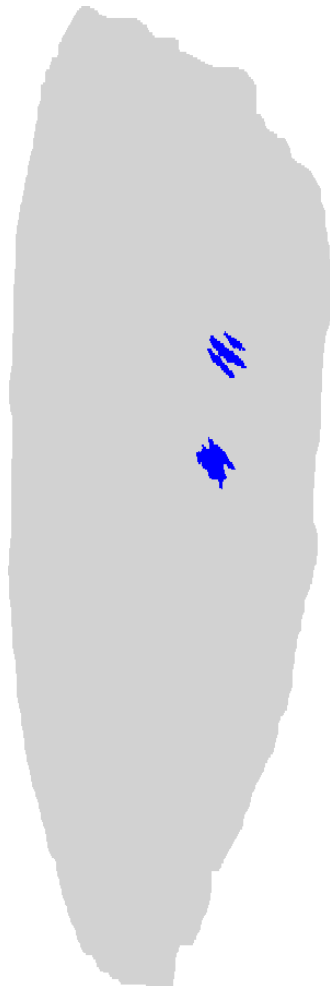
Avsluttende test

Resultater melanin

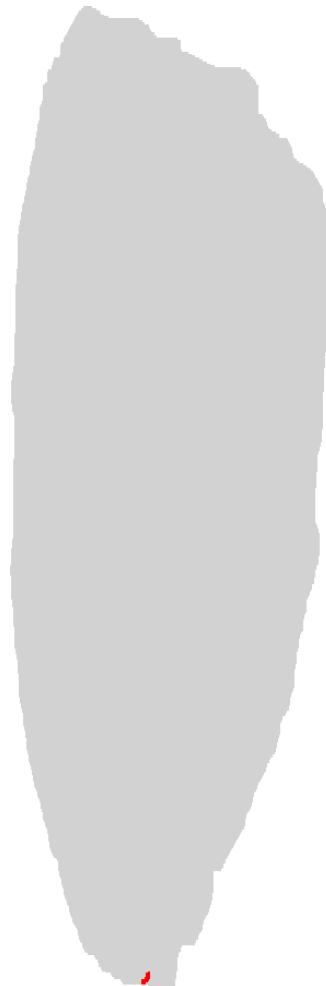
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med to
svake melanin-
flekker

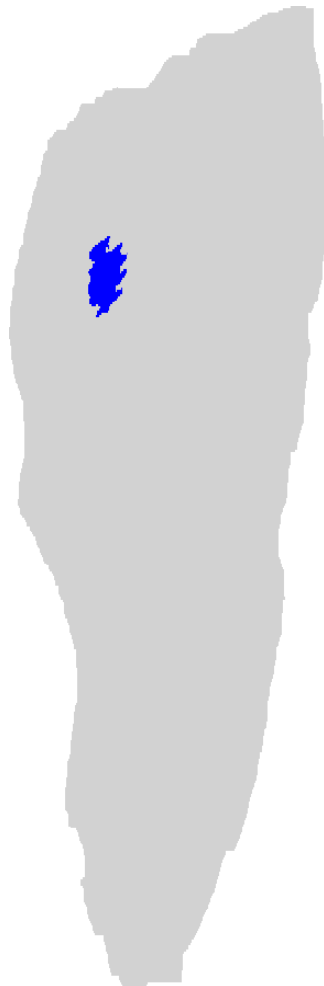
Avsluttende test

Resultater melanin

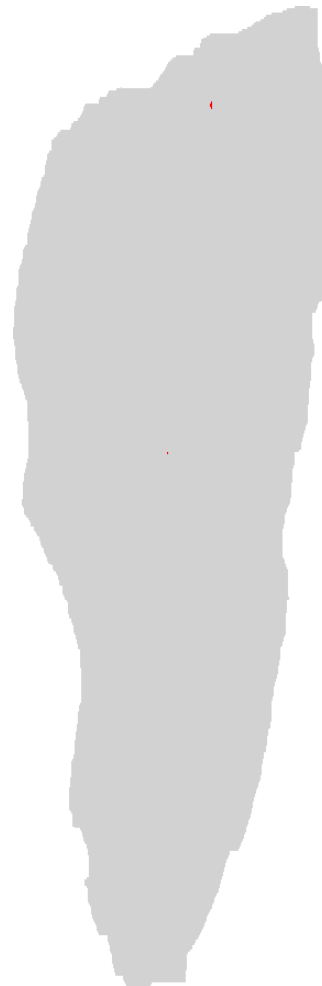
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med en kraftig og en svak melaninflekk

Avsluttende test

Resultater blod

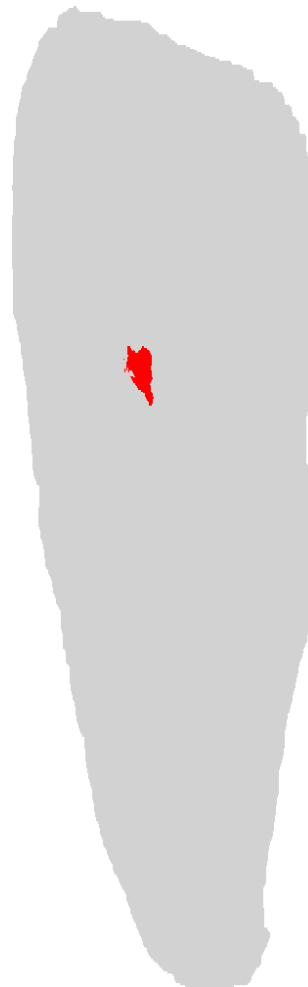
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod

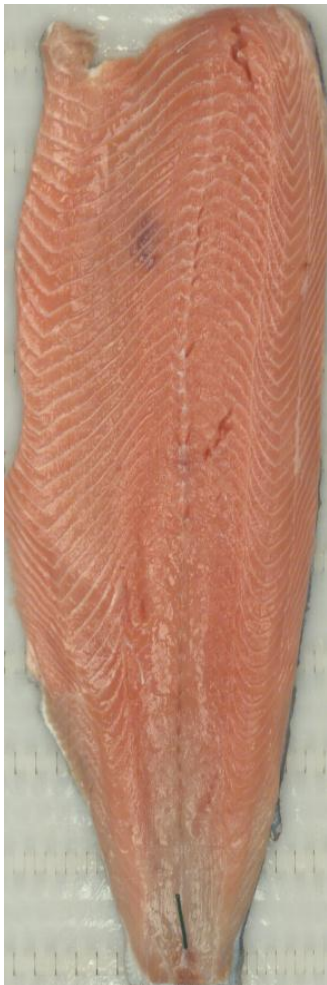


Filet med en kraftig blodflekk

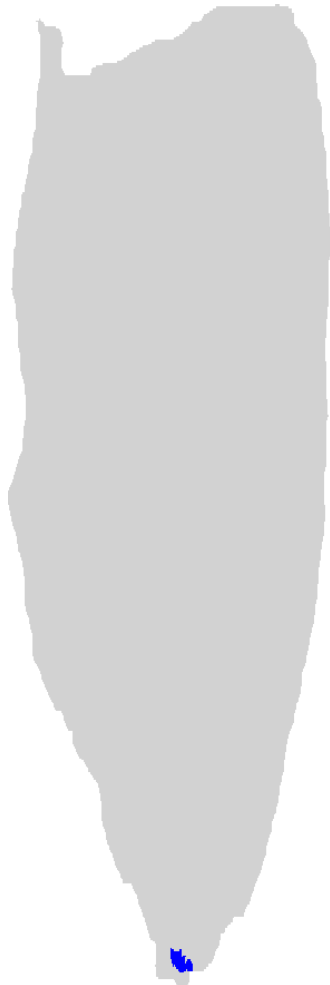
Avsluttende test

Resultater blod

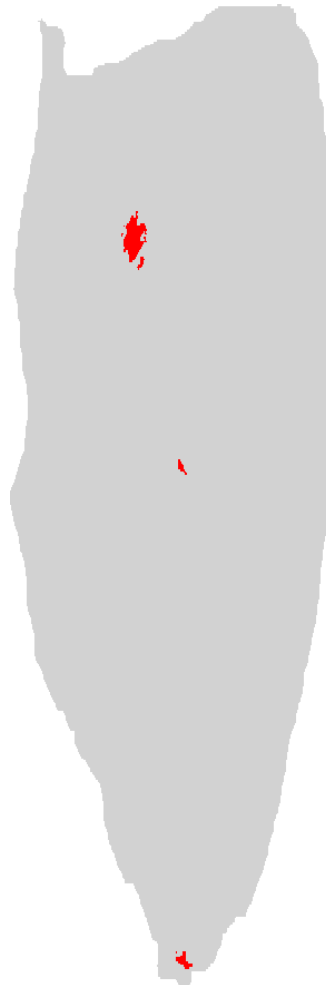
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med en kraftig blod-flekk

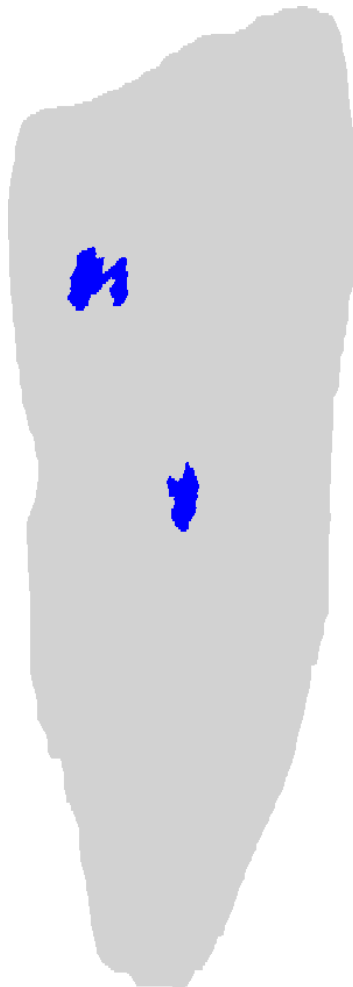
Avsluttende test

Resultater melanin/blod

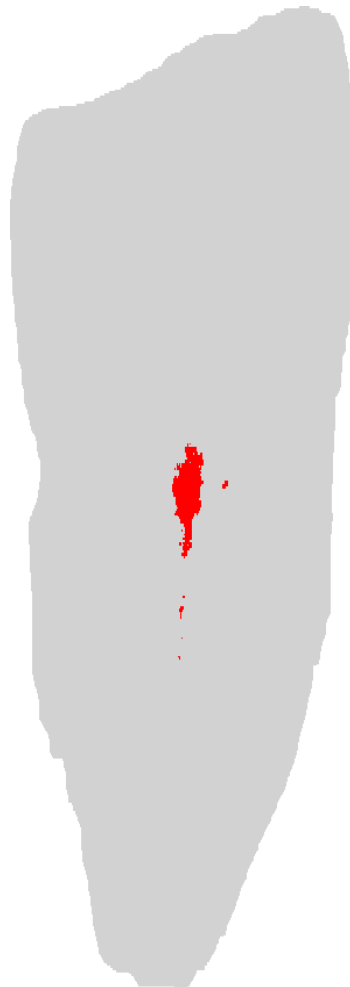
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod

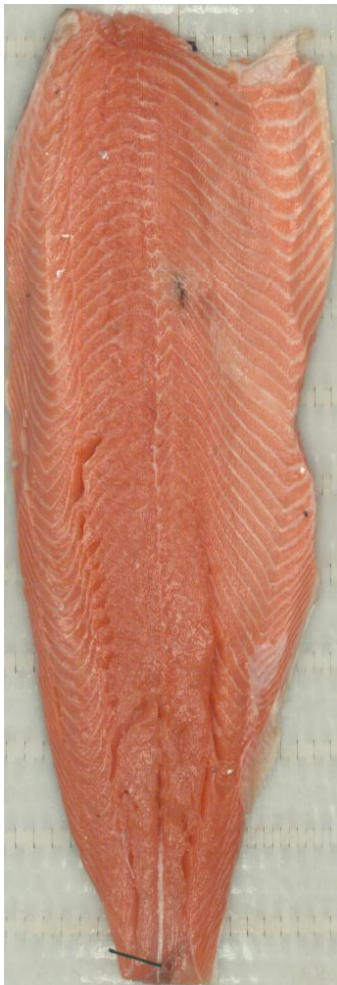


Filet med to svake melaninflekker og en kraftig blodflekk

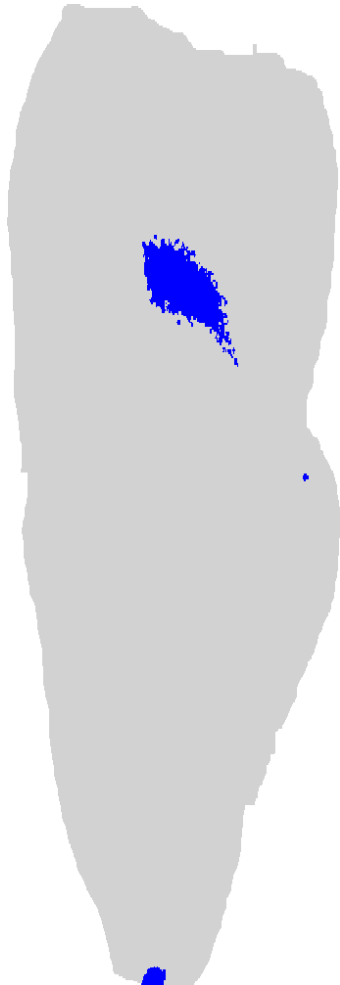
Avsluttende test

Resultater melanin/blod

Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med en
liten blod-
flekk

... og en kraftig
melaninflekk

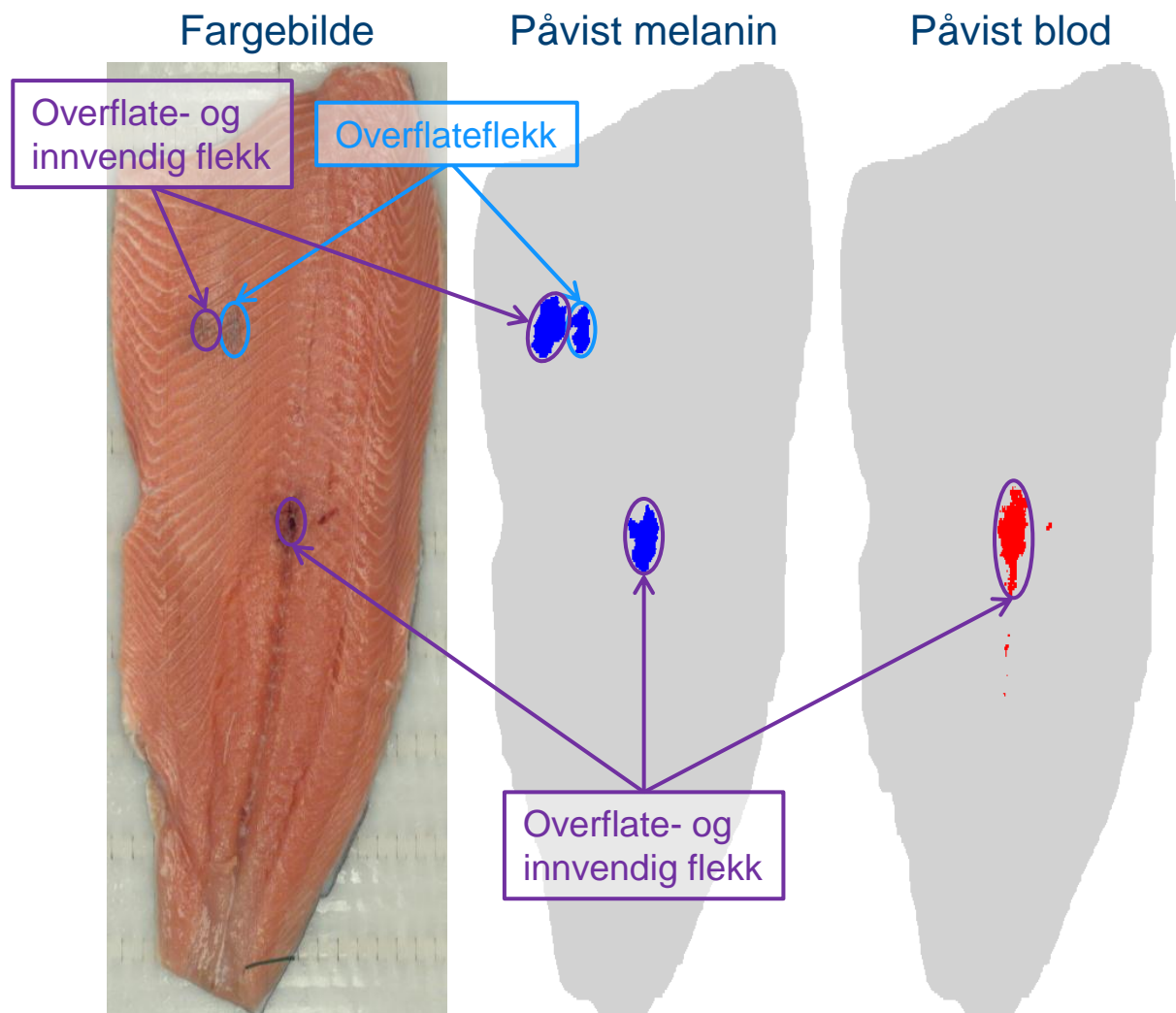
Avsluttende test

Overflateflekker vs. innvendige flekker

- Kan vi skille mellom flekker i overflaten og flekker inne i fileten?
- Ja, dersom man kombinerer resultatene fra diffus reflektans (farge) og blod/melanin analyse basert på interaktans
 - En flekk kan vises som en flekk i fargebilde kalles «FF»
 - En påvist blod-/melaninflekk fra analysen kalles «BM»
- Tre ulike scenarier når «BM» er påvist:
 1. «FF» ikke påvist → Innvendig flekk
 2. «FF» påvist
 - a. «BM» lik «FF» → Overflateflekk
 - b. «BM» større enn «FF» → Overflate- og innvendig flekk

Avsluttende test

Overflateflekker vs. innvendige flekker - Eksempel



Filet med to svake melaninflekker og en kraftig blodflekk

Avsluttende test

Oppsummering

Manuelt påvist ↓	Instrumentelt påvist som:			
	Melanin	Blod	Blod og melanin	Ikke påvist
Melanin	91,9 %	0,0 %	0,0 %	8,1 %
Blod	3,2 %	43,6 %	51,6 %	1,6 %
Blod og melanin	0,0 %	0,0 %	100 %	0,0 %

- Kun de svakeste og minste melaninflekkene påvises ikke
- Veldig høy andel av blodflekker påvises som blod (95,2 %)
- Over 50 % av flekker som manuelt ble klassifisert som blod kommer også opp som melanin

Konklusjoner

- Blod- og melaninflekker kan påvises med stor sikkerhet basert på avbildende spektroskopi i interaktansmodus
- Ved å kombinere interaktansmodus med fargeavbildning av filet kan flekkens plassering bestemmes nøyere
 - overflate og/eller inni filet
- Det er mulig å skille mellom blod- og melaninflekker i analysen
 - Påviser kun melaninflekk → Det er en melaninflekk
 - Påviser kun blodflekk → Det er en blodflekk
 - Påviser både blod- og melaninflekk → Det er en blodflekk, men det er uvisst om det også er melanin

Veien videre

- Slik utstyret fremstår i dag er det et viktig hjelpemiddel for å kunne skille mellom blod- og melaninflekker når årsakssammenhenger skal avdekkes
- Utstyr må «bygges inn» for å kunne settes ut i industrien
 - Skjerming av lys
 - Vaskbar utforming
 - Sanntidsprosessering bør implementeres
- Et grunnleggende arbeid må utføres (studier av spredningsegenskaper) for å kunne gi et mer nøyaktig mål på hvor dypt flekken ligger, og sikre at ikke dyptliggende blodflekker feiltolkes som melanin

Takk for oppmerksomheten