

Susanne Myklebust Hammerbekk  
Malin Sæbø Nes

# Effekt av ytre påkjenninger på hemoglobinmengde i torskemuskel (*Gadus morhua*)

Bacheloroppgave i Biomarin innovasjon  
Veileder: Wenche Emblem Larssen  
Medveileder: Egidijus Dauksas  
Mai 2023



Susanne Myklebust Hammerbekk  
Malin Sæbø Nes

# **Effekt av ytre påkjenninger på hemoglobinmengde i torskemuskel** *(Gadus morhua)*

Bacheloroppgave i Biomarin innovasjon  
Veileder: Wenche Emblem Larssen  
Medveileder: Egidijus Dauksas  
Mai 2023

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Fakultet for naturvitenskap  
Institutt for biologiske fag Ålesund



Kunnskap for en bedre verden



## Forord

I arbeidet med vårt prosjekt har vi hatt god nytte av kunnskapen og erfaringene vi har med oss fra Biomarin innovasjon ved NTNU Ålesund. Det har vært tre lærerike år, og vi vil gjerne rette en stor takk til engasjerte lærere og medstudenter.

Utdanningen vår er tverrfaglig og allsidig, og dette har gitt oss en god mulighet til å se sammenhengene mellom biologiske og bedrifts-/markedsøkonomiske hensyn. Dette er noe som vil være en fordel i arbeidslivet og/eller ved en fremtidig masterutdanning.

Tusen takk til Møreforskning v/ Wenche Emblem Larssen for at vi fikk ta del i prosjektet Fisk 4.0, og for veiledning til oppgaven. Vi vil også takke Trygg Barnung, Janne Kristin Stangeland og Thomas Hagby Dahl hos Møreforskning for veiledning og hjelp til forsøkene.

Vi vil spesielt takke Egidijus Dauksas for veiledning og kloke ord gjennom hele semesteret. Det har hjulpet oss å prioritere og sortere når prosjektet har føltes overveldende. En ekstra takk til Snorre Bakke for korrekturlesning og hjelp med statistiske analyser i en travel hverdag.

Til slutt vil vi takke familie og venner for støtte gjennom studietiden, og korrekturlesning av denne oppgaven.

## Sammendrag

I denne oppgaven har vi samarbeidet med Møreforskning i forsøk på hvitfisk, som en del av prosjektet «Fisk 4.0». Det har blitt undersøkt hvordan kvaliteten i torskemuskel påvirkes ved ulike former for håndtering. Dette for å kunne gi anbefalinger om hvordan en helautomatisering av slakteprosessen ombord i torskeflåten bør foregå. Det har blitt undersøkt om fall mot en kant vil gi en økt mengde blod i torskemuskel, og på denne måten skape misfarging. 90 fisk ble fordelt i tre grupper; gruppe A var kontrollgruppe, gruppe B ble utsatt for ti fall mot kant fra en meters høyde, gruppe C ble utsatt for ett fall mot kant fra en meter. I tillegg ble det brukt ulike metoder for å måle blodmengden, i form av hemoglobin. Hyperspektrale bilder viste en tydelig forskjell mellom gruppene. Gruppe B hadde mest hemoglobin, deretter gruppe C og til slutt gruppe A. Det var klare forskjeller før og etter påkjenning på gruppe B og C. Den andre metoden var en sensorisk analyse, denne viste ikke vesentlige forskjeller mellom gruppene. Dette kan tyde på at skalaen ikke var omfattende nok til at forskjellene kom tydelig frem. Den tredje metoden var spektrofotometri. Homogeniserte prøver av fiskemuskel og fosfat-buffer ble undersøkt, men det var små differanser mellom gruppene. Det ble vurdert at prøvematerialet ikke var blitt fullstendig homogenisert, og dette kan ha påvirket resultatet. Til videre forskning anbefales det å korte ned på utblødningstiden. Samtidig bør homogeniseringstiden forlenges i forhold til tiden beskrevet i metodeutviklingsrapporten til Chaijan og Undeland (2015).

## Abstract

In this task, we have collaborated with Møreforsking in experiments on whitefish, as part of the project "Fish 4.0". It has been investigated how the quality of cod muscle is affected by different forms of handling. This is to be able to give recommendations on how a full automation of the slaughter process on board the cod fleet should take place. It has been investigated whether falling against an edge will cause an increased amount of blood in the cod muscle and create discolouration. 90 fish were divided into three groups; group A was the control group, group B was exposed to ten falls against the edge from a height of one metre, group C was exposed to one fall against the edge from a height of one metre. Later, various methods were used to measure the amount of blood, in the form of hemoglobin. Hyperspectral images showed a clear difference between the groups. Group B had the most hemoglobin, followed by group C and finally group A. There were clear differences before and after stress on groups B and C. The second method was a sensory analysis, this showed no substantial differences between the groups. This may indicate that the scale was not extensive enough for the differences to emerge clearly. The third method was spectrophotometry. Homogenized samples of fish muscle and phosphate buffer were examined, but there were small differences between the groups. It was considered that the sample material had not been completely homogenized, and this may have influenced the result. For further research, it is recommended to shorten the bleed out time. Also, the homogenization time should be extended compared to the time described in the method development report by Chaijan and Undeland (2015).

## Innhold

1.0	Introduksjon.....	0
1.1	Norges havfiskeflåte i vekst .....	0
1.2	Gadus morhua.....	2
1.3	Kvalitetsindikatorer hvitfisk.....	2
1.4	Blod .....	4
1.5	Hyperspektrale bilder .....	7
1.6	Sensorisk analyse .....	8
1.7	Spektrofotometri.....	8
1.8	Hypotese.....	9
2.0	Material og Metode .....	10
2.1	Overordnet.....	10
2.2	Hyperspektrale bilder .....	12
2.3	Oppbevaring av torsk i rigor mortis .....	12
2.4	Filetering .....	13
2.5	pH.....	13
2.6	Sensorisk analyse .....	14
2.7	Homogenisering .....	16
2.8	Fryselagring.....	16
2.9	Bestemmelse av hemoglobin i fiskemuskel.....	16
2.10	Behandling av data .....	21
3.0	Resultat.....	22
3.1	Hyperspektrale bilder .....	22
3.2	pH.....	23
3.3	Sensorisk analyse .....	24
3.4	Spektrofotometri.....	26
4.0	Diskusjon.....	28
4.1	Overordnet.....	28
4.2	Hyperspektrale bilder .....	28
4.3	Sensorisk analyse .....	28
4.4	Spektrofotometri.....	29
4.5	Utblødning.....	30
4.6	Homogenisering .....	30
4.7	Tid .....	30
4.8	Videre forskning.....	31



5.0 Konklusjon .....	33
6.0 Kilder.....	34

## 1.0 Introduksjon

### 1.1 Norges havfiskeflåte i vekst

I ti tusen år har nordmenn skapt næringsgrunnlag fra fiske (figur 1), og eksport av fiskeprodukter har gitt store inntekter i flere hundre år.



*Figur 1: Vikingskip som ble benyttet til torskefiske. Bilde hentet fra fiskeribladet.no.*

Etter andre verdenskrig ble fiskeflåten profesjonalisert gjennom en modernisering, og dette resulterte i at det ble færre fiskere og større fartøyer (figur 2). I 1946 ble Norges fiskeridepartement opprettet, og fiske er fortsatt en av Norges største eksportnæringer den dag i dag (Benum, 2020; Dørum & Hallenstvedt, 2023; Myhre, 2020). For å sørge for et bærekraftig fiske blir kvoter brukt som et virkemiddel i fiskeindustrien.



*Figur 2: To torsketrålere. Bilde hentet fra fiskeribladet.no.*

Kvoter er et virkemiddel for myndighetene for å regulere fiskebestander som står i fare for overfiske. Ut fra vitenskapelige råd fra havforskere og forhandlinger der bestandene deles mellom land, fastsettes en grense for hvor mye av en art som kan fiskes hvert år (Nofima, 2023). Fra 2022 til 2023 ble det overført 29 573 tonn i torsk kvoter. Justert for kvoteoverføringer utgjør da totalkvoten 290 027 tonn (Fiskeridirektoratet, 2023a).

I 2021 var førstehåndsverdien (verdien til varen ved salg til første ledd i omsetningskjeden) for torsk basert på en rundvekt på totalt 337 687 tonn, på 6 670 405 000 kr (vedlegg 1) (Fiskeridirektoratet, 2021). Mellom 2003 og 2020 har ROA (return on assets, inntjening delt på vektet gjennomsnittlig eiendel) hatt en positiv utvikling blant de norske torsketrålerne, til tross for at effektiviteten til de mest effektive trålerne har vært stabil i samme periode (Bj et al., 2022). For å redusere svinn og videre øke produksjonen, behøves det bedre kunnskap om hvor mye belastning torsken tåler.

Prosjektet Fisk 4.0 tar utgangspunkt i havfiskeflåten i Møre og Romsdal, og skal danne kunnskapsgrunnlag for utvikling av automatiserte systemer som kan håndtere store mengder råstoff uten å forringe kvaliteten (FORREGION-Forskningsbasert innovasjon i regionene, 2022). Rødfarget kjøtt er kvalitetsfeilen som gir størst totale økonomiske konsekvenser i hvitfisksektoren (Karlsen et al., 2012). Det er derfor et stort behov for å finne årsakene til restblod i hvitfisk, spesielt for torsk, da dette er et av de største og viktigste fiskeriene i Norge (Fiskeridirektoratet, 2023b).

## 1.2 *Gadus morhua*

I forvaltningen av torsk (*Gadus morhua*) (figur 3, tabell 1) i norske farvann deler vi inn i fire bestander: Nordsjøtorsk, kysttorsk sør for 62° nord, Nordøstarktisk torsk og kysttorsk nord for 62° nord (Artsdatabanken, 2021). Selv om det er til dels store variasjoner i disse fire bestandene, vurderer artsdatabanken at arten samlet sett er livskraftig (Artsdatabanken, 2021). Farge og størrelse varierer etter levested og den Nordøstarktiske torsken (skreien) er klart størst med opptil 180 cm og 55 kg. Torsken er lett gjenkjennelig på grunn av den lange kroppen (ofte med tykk mage), overbittet og skjeggtråden under haken. Den har tre ryggfinner i tillegg til to gattfinner (Miljølaere, 2023; Vøllestad, 2021).



Figur 3: *Gadus morhua*. Bildet er tatt av Atlanterhavsparken og hentet fra Wikipedia sin artikkel om "Cod".

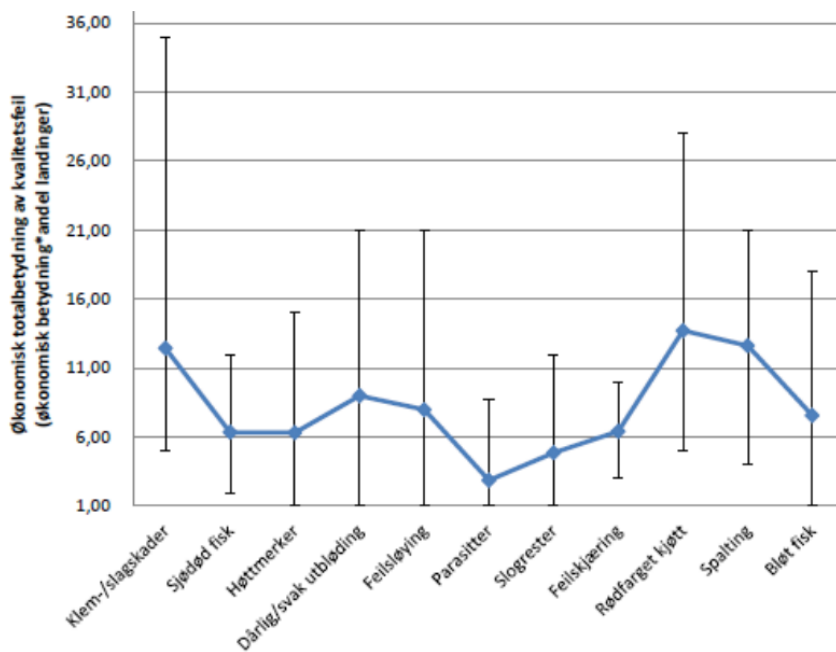
Tabell 1: Klassifikasjon *Gadus morhua* (van der Land, 2008).

Klassifikasjon	
Rike	Dyr
Rekke	Strålefinnefisker
Orden	Torskefisk
Familie	Torskefamilien
Slekt	Torsk ( <i>Gadus</i> )
Art	<i>Gadus morhua</i>

## 1.3 Kvalitetsindikatorer hvitfisk

Kvalitetsindikatorer kan defineres som konkrete produkttegnenskaper som sluttforbruker observerer og vurderer før konsum. Disse gir en pekepinn på den samlede opplevde kvaliteten

på produktet (Fjelde, 2012). I rapporten «Kvalitetsfeil og økonomiske konsekvenser, kartlegging av bedrifters synspunkter i hvitfisksektoren» (2012), levert av Nofima, kommer det frem at de kvalitetsfeilene som gir størst økonomisk konsekvenser er henholdsvis «rødfarget kjøtt», «spalting» og «klem-/slagskader» (figur 4) (Karlsen et al., 2012). Resultatene er basert på grundige intervjuer med utvalgte intervjuobjekter fra fiskeribransjen. Redskaper, tid og volum på hal trekkes opp som hovedårsaker, sammen med skipper- og mannskapseffekten på rødfarget kjøtt og klem/slagskader. På spalting nevnes også skipper- og mannskapseffekten som en av hovedårsakene, i tillegg til sesong (Karlsen et al., 2012).



Figur 4: Økonomisk totalbetydning av kvalitetsfeil (Karlsen et al., 2012).

Restblod vil gi en rødlig farge i torskefileten som vil redusere produktets markedsverdi. Markedsverdi er definert som nettobeløpet en selger kan få fra salg av produktet basert på tilbud og etterspørsel på et gitt tidspunkt (Bernelle, 2023). Fiskens totale blodmengde varierer fra art til art og ligger på omtrent fra 1,5- 3,0 % til 5-7%, av dette er det bare ca. 20% som er i muskulært vev, mens resterende er i indre organ. For å unngå misfarging bør mesteparten av blodet være fjernet under utblødning (figur 5) (Digre et al., 2011; Eilertsen, 2018; Lynum, 2007).

Ifølge Møreforskings veileder «krav til kvalitet for sjøfryst filett av hvitfisk» (Kjerstad & Larssen, 2018) må utblødningen skje i friskt sirkulerende sjøvann bestående av minimum 1/3

sjøvann og 2/3 fisk. Det skal være nedkjøling i alle ledd av prosessen, og alle blodårer i buk skal være tømt.



*Figur 5: Illustrasjon av korrekt (t.v.) og mangelfull (t.h.) utblødning. Hentet fra Møreforskning sin veileder: krav til kvalitet for sjøfryst filet av hvitfisk. Gjengitt med tillatelse.*

Dersom det blir gjennomført for store hal kan kvaliteten på utbløggingen bli redusert, fordi stressreaksjonen fører til en raskere koagulering av blodet (Eilertsen, 2018). Under hal endrer trykket i fiskens hulrom seg fra omgivelsene og dette kan føre til barotraume som kan gi blodutredelser i områdene rundt svømmeblæren, noe som kan gi restblod i muskelen (Eilertsen, 2018). Restblod kan føre til flere uønskede kvalitetsendringer som misfarging, oksidering og mikrobiologisk vekst.

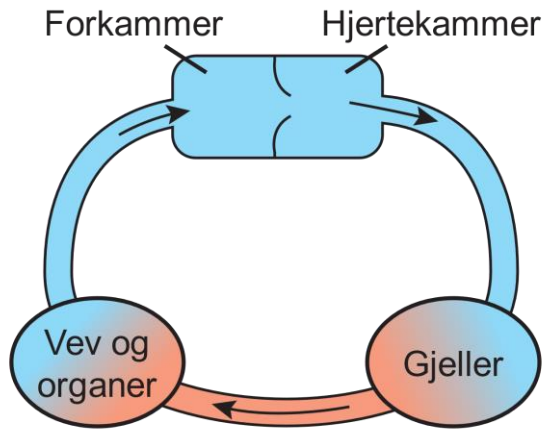
Misfarging kan føre til at et fiskeprodukt blir valgt bort av konsument fordi det avviker fra ønsket kvalitet. Filetfarge er en av de viktigste kvalitetsparameterne for sluttforbruker. Blod er en prooksidant som fører til raskere harskning. Dette skaper lipidoksidasjon, som er en av hovedårsakene til at fisk får dårligere kvalitet (Eilertsen, 2018). Restblod i fileten vil også fungere som en næringskilde for bakterier. Dette vil lettere forringe torskefileten fordi det øker den mikrobiologiske veksten (Eilertsen, 2018).

#### 1.4 Blod

Fiskens sirkulasjonssystem står for transport av respirasjonsgasser, avfallsstoffer og næringsstoffer. Fisk skiller seg ut ved at blodet blir pumpet i et enkelt kretsløp, i motsetning til pattedyr som har dobbelt (figur 6). Hjertet må derfor skape nok trykk til å transportere blodet gjennom både gjellene, vev og organer. Oksygenfattig blod blir transportert fra det

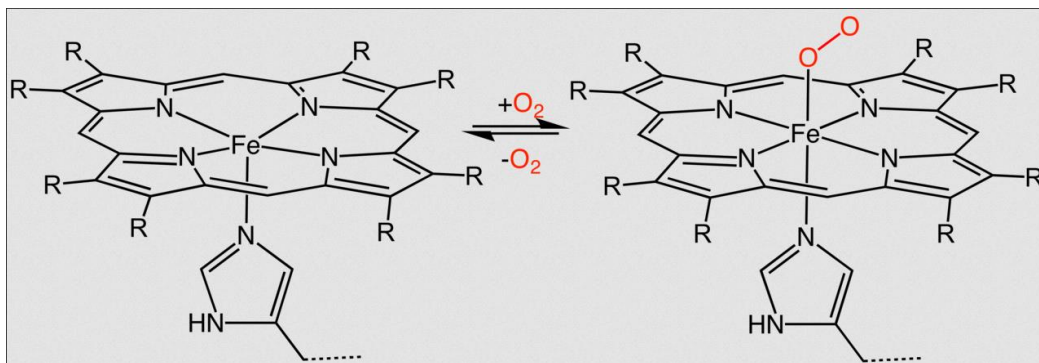


tokamrede hjertet til gjellene, hvor blodet mottar oksygen og skiller ut karbondioksid. Deretter videre til organer og vev, før det til slutt går tilbake til hjertet. Fisk har et primært og et sekundært sirkulasjonssystem, der det sekundære er avledet fra det primære og forsyner finner, skinn og hale med blod (Olsen, 2011; UiO, 2019).



Figur 6: Fisk kretsløp, av Vikan, J. (<https://ndla.no/article/34424>). CC BY-SA 4.0.

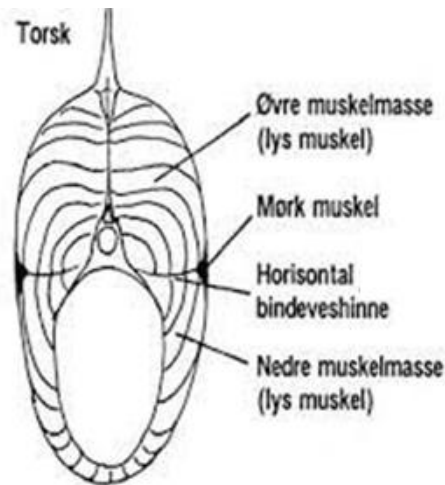
Blod består av bl.a. hemoglobin som er et vannløselig protein som er til stede i de røde blodcellene i alle virveldyr. Hemoglobinet er bestående av fire globinkjeder. Hver av disse kjedene inneholder en hemogruppe med et tilknyttet jernion som er ansvarlig for reversibel binding av oksygen (figur 7) (Olsen, 2011).



Figur 7: Struktur hemoprotein. By Smokefoot - Own work, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=63789703>

Fiskemuskelen består av både lys og mørk muskulatur (figur 8). Den mørke inneholder myoglobin og hemoglobin (Chaijan & Undeland, 2015). Myoglobin i muskelen er i stand til å binde oksygen og har en kjemisk likhet med hemoglobin i blod (Olsen, 2011). Denne muskulaturen er aerobisk drevet, og er dermed den som blir brukt ved kontinuerlig arbeid.

Den lyse muskulaturen som er drevet anaerobisk og står for raske sammentrekninger, består stort sett av hemoprotein som har opphav fra hemoglobin i blod (Albrecht-Ruiz & Salas-Maldonado, 2015; Chaijan & Undeland, 2015). Hos torsk og annen mindre aktiv fisk utgjør den mørke muskulaturen 0,5-2% av den totale svømmemuskulaturen (Christiansen et al., 1993).



Figur 8: Figuren viser en illustrasjon av et tverrsnitt av torsk. Hentet fra Jan Lindseth Jensvolds mastergradsoppgave "Avlivning og utblødning av torsk".

Fisk har mulighet til å distribuere blod fra organene til musklene ved ytre påkjenninger. Dette kan eksempelvis være stress, i form av oksygenmangel eller plutselige endringer i temperatur og/eller salinitet. Distribusjon av blod er en fluktrespons som sørger for økt oksygentilførsel til spesielt den lyse muskulaturen, og prioriterer da svømming over fordøyelse (Soldatov, 2006).

I levende fisk består blodet av to former for hemoglobin, oksy- og deoksyhemoglobin. Oksyhemoglobin er oksygenbærende, og utgjør 94-100% av hemoglobinet (Kierulf, 2018). Deoksyhemoglobin er tilstanden som oppstår når oksygenmolekylet er frigjort til vevet. Etter slakt vil disse to tilstandene gå gjennom en autooksidasjonsprosess som endrer det til methemoglobin (Merriam Webster, 2023; Quist-Paulsen, 2023). Methemoglobin har en mer brunlig farge enn oksy- og deoksyhemoglobin, og fargen på fileten vil derfor få en mer brunlig farge (Olsen, 2011) (Kierulf, 2019; Skjelvareid et al., 2017). Intensiteten på fargen forårsaket av restblod, avhenger av mengde blod (Eilertsen, 2018)

Det fins flere spektrofotometrimetoder for å fastslå hemoglobinmengde i fiskemuskel, blant annet Browns (1961), Drabkins (1950), Hornseys (1956) eller Karlsson & Lundströms (1991).



En flaskehals som er gjennomgående i flere av metodene er ekstrahering av hemoproteinene i buffer eller aceton. Grunnen til dette er at dersom muskelen er oksidert, vil hemoproteinene binde seg til komponenter i muskelen som myofibriler og/eller biomembraner. Hemikrome forbindelser er tydelige fargeoksiderte hemoproteinderivater, og disse blir dannet av sterke syrer eller baser (Chaijan & Undeland, 2015). Metodene til Drabkin (1950) og Brown (1961) klarer ikke identifisere disse (Chaijan & Undeland, 2015). Chaijan og Undeland utviklet derfor en ny metode for å overvinne disse flaskehalsene, og det er denne metoden som er brukt i forsøket.

Sentrale prinsipper i den nye metoden er at sodium dodecyl sulfat (SDS) reagerer med hemoglobin og myoglobin, og danner reversible hemikrome derivater. De hemikrome derivatene har like absorpsjonstopper rundt 535 nm. I tillegg vil SDS bryte ned myofibriller og membraner under oppvarming ved 85 °C, og på denne måten frigjøre de hemikrome forbindelsene som kan bli oppdaget i spektrofotometer (Chaijan & Undeland, 2015).

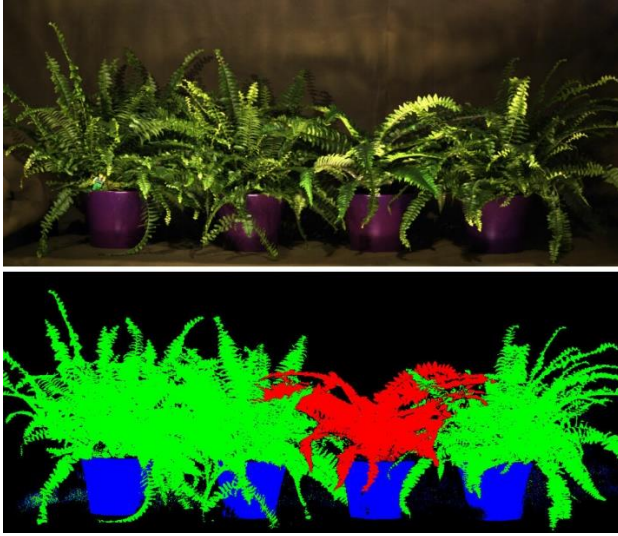
De seneste årene er det utviklet en ny teknologisk metode, hyperspektrale bilder, for å blant annet fastslå hemoglobinnmengde i fiskemuskel. Denne metoden er kjemikaliefri, og dette begrenser menneskelige feilkilder.

### 1.5 Hyperspektrale bilder

Hyperspektrale bilder er en metode brukt til å skille mellom ulike materialer ved å kombinere teknikkene spektrofotometri og bildebehandling. Bildene produseres ved at lys blir absorbert og/eller spredt utover ulike bølgelengder, grunnet oppbygging og struktur til de forskjellige materialene (figur 9). De hyperspektrale bildene inneholder detaljert spektral informasjon i hver piksel. Denne metoden blir brukt som et verktøy i mange forskjellige felt, og kan eksempelvis bli brukt til å fastslå kjemisk oppbygging i et produkt, detektere produktfeil, klassifisere ulike typer terreng, og fastslå mengde og distribusjon av hemoglobin (Skjelvareid et al., 2017).

Ved å analysere hyperspektrale bilder i kjente bølgelengder for oksy-, deoksy- og methemoglobin, og tilpasse funksjonene med kjente forutsetninger, er det mulig å påvise total mengde hemoglobin i fiskemuskel (Kierulf, 2019; Skjelvareid et al., 2017). Siden fiskeblod inneholder ulike oksidative tilstander av hemoglobin avhengig om det har gjennomgått autooksidasjon eller ikke, må det benyttes en bølgelengde der absorpsjon av lys er høy for alle

oksidative stadier av hemoglobin. Dette kan eksempelvis være ved 525 nm (Skjelvareid et al., 2017).



Figur 9: Bildet viser hvordan hyperspektralt lys kan avdekke hvilken plante som er falsk. Bilde: Torbjørn Skauli, FFI. Hentet fra forskning.no.

### 1.6 Sensorisk analyse

For å utføre en sensorisk analyse er det viktig at alle som skal delta har samme forståelse for hvordan de ulike karakterene i de ulike parameterne skal se ut. Visuelle og fysiske evalueringer er viktige for å forstå hvordan forbrukere vil komme til å oppfatte ulike produkt i butikkhyllene. Skalaen skal være forhåndsbestemt, og med nok punkt til å skille mellom små nyanser (Andrè, 2019).

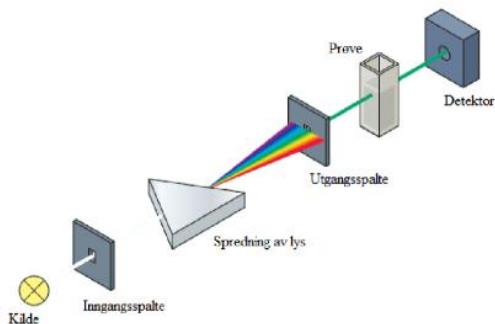
### 1.7 Spektrofotometri

Et spektrofotometer er et måleinstrument som måler hvor mye av en lysmengde som blir absorbert på en innstilt bølgelengde av en løsning. Spektrofotometeret består av en lyskilde, monokromator, spalte, prisme, kuvette og en detektor. Lyskilden kan enten bestå av en wolframlampe for synlig lys eller en deuteriumlampe for ultrafiolettstråling.

Det finnes to hovedtyper spektrofotometer; enkeltstråle- og dobbeltstråleinstrument. Enkeltstråleinstrumentet har bare en lysvei, i motsetning til dobbeltstråleinstrumentet som har to lysveier, en prøvelysvei og en referanselysvei (Universitetet i Oslo, 2019).

En monokromator skiller ut et bølgelengdeområde i lyset og sender dette gjennom en spalte til et gitter eller prisme (figur 10) (Wibetoe, 2020). Dette gitteret eller prismet, avhengig av

spektrofotometeret, deler lyset opp i ulike bølgelengder før det treffer prøven i kuvetten. Lysmengden sendt gjennom kuvetten blir til slutt målt av en fotomultiplikator som måler forholdet på hvor mye lys som ble sendt inn i prøven og hvor mye som kommer ut av kuvetten. Ved å bruke maksimumstoppene for absorpsjon til et gitt stoff, kan en identifisere stoffet i et løsemiddel, eksempelvis hemoglobin løst i fosfatbuffer (Universitetet i Oslo, 2019).



Figur 10: Spektrofotometri prinsipp. Hentet fra forelesning (Marint råstoff, Cropotova, 2021).

## 1.8 Hypotese

Hensikten med forsøket var å avgjøre om torsk vil tåle påkjenninger som følge av en helautomatisert prosess om bord i fiskebåter. Dette er viktig for å sikre at effektiviseringen av fiskeflåten ikke går på bekostning av råvarekvalitet.

I denne oppgaven ble det arbeidet ut fra følgende hypotese:

«Ytre påkjenninger, som fall ned i mottakstank, vil føre til skader som gir blodflekker og økt mengde hemoglobin i fiskemuskel.»

## 2.0 Material og Metode

### 2.1 Overordnet

Det ble benyttet oppdrettstorsk i forsøket. Torsken ble plukket av båndet rett etter manuell bløgging (figur 11) og plassert i store kar fylt med kaldt vann for å blø ut i 30 minutter (figur 12). Deretter ble torsken merket med en tallkode i gjellebuen, veid i gram (Marell-vekt), og lengdemålt (cm) ved hjelp av et elektronisk målebrett (Fish meter) (figur 13).



Figur 11: Nyslaktet torsk før den ble transportert til utblødningskar.



Figur 12: Torsk i utblødningskar.



Figur 13: Veiing og lengdemåling av torsk.

90 torsk ble delt opp i tre grupper, for å undersøke effekt av fall fra èn meter på hemoglobinmengde i muskelen, og de sensoriske parameterne beskrevet i tabell 3. De ble delt opp i en kontrollgruppe uten påkjenninger (gruppe A), gruppe B som gjennomgikk ti fall, og gruppe C som falt èn gang (tabell 2).

Tabell 2: Forsøksbeskrivelse.

<b>Gruppe A</b>	Kontrollgruppe. Denne gruppen ble sløyd, og ikke utsatt for videre påkjenninger.
<b>Gruppe B</b>	Denne gruppen ble sløyd og deretter lagt på tvers av et bord med ryggsiden mot fallhøyden. Bordet var plassert èn meter over en 90 x 120cm kasse med en sentrert metallkant (figur 14). Torsken ble deretter skjøvet med en isoporblokk med lite kraft av bordet slik at den traff metallkanten. Prosessen ble gjentatt totalt ti ganger per torsk. Torsken ble plassert på bordet fem ganger på venstre side og fem ganger på høyre side.
<b>Gruppe C</b>	Denne gruppen ble sløyd, og deretter skjøvet med lite kraft fra en høyde på èn meter og traff en sentrert metallkant som var plassert i en kasse på gulvet (90 x 120cm) (figur 14). Prosessen ble utført èn gang per. torsk.



Figur 14: Torsk ble varsomt skjøvet fra benken og traff den sentrerte metallkanten i esken på gulvet.



## 2.2 Hyperspektrale bilder

For å måle forskjell i total mengde hemoglobin før og etter påkjenning ble det benyttet hyperspektrale bilder (Maritech Eye, Maritech, Norge). Torsken ble scannet ved å bli plassert på et bevegelig bånd med buken inn mot maskinen og hodet i samme retning som båndet gikk (figur 15). Den ble deretter vendt med ryggen inn mot maskinen, og et nytt bilde ble tatt. Dette ble gjennomført to ganger for gruppe A uten påkjenning, og før og etter påkjenning for gruppe B og C.



Figur 15: Torsk ble plassert på båndet og gikk under Maritech Eye for å skape hyperspektrale bilder (photovision).

## 2.3 Oppbevaring av torsk i rigor mortis

Torsken ble sortert (figur 16) og pakket lagvis med is i isoporkasser, deretter plassert på kjølelager som holdt 4°C. Der ble den oppbevart i fire døgn til torsken var ute av rigor mortis.



Figur 16: Sortering av torsk etter merking, før den ble lagt i kasser med is.

## 2.4 Filetering

Torsken ble filetert (figur 17), og filetene ble merket med nummer og «venstre/høyre». Etter pH-måling og sensorisk analyse ble skinnet fjernet.



Figur 17: Post rigor mortis filetering.

## 2.5 pH

Siden pH er relatert til stress/påkjenning hos fisk, ble alle venstrefiletene målt med pH-meter (ProfiLine pH 3310). Dette ble kalibrert etter gjeldende bruksanvisning fra leverandør (figur 18).



Figur 18: pH-måling for alle venstrefileter ble gjennomført.

## 2.6 Sensorisk analyse

Filetene ble lagt ut over langbord (figur 19) og det ble utført en sensorisk analyse med visuelle og fysiske parametere (tabell 3).



*Figur 19: Fileter klargjort for sensorisk analyse..*



Tabell 3: Sensorisk analyse med visuelle og fysiske parametere

<b>Visuelle parametere</b>					
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Farge/blodflekker muskeloverflate filet</b>	Store blodflekker eller mange små (>5)	Noen få, små flekker (<5)	Ingen blodflekker		
<b>Blod i buk</b>	Store blodflekker eller mange små (>5)	Noe blod i sløyenesnitt og årer	Ingen blod i snitt eller årer		
<b>Overflate muskel</b>	Oppløst (mushy)	Kornet	Glatt		
<b>Spalting</b>	Ekstrem filetspalting (fileten faller fra hverandre)	Mange spalter (>10 små eller mange store)	Noe spalting (5-10 stk. på tvers)	Få spalter	Ingen spalting
<b>Blodflekker skinnside filet</b>	Ingen blodflekker	Noen få, små flekker (<5)	Noen få, og en større blodflekk	Flere større blodflekker	
<b>Blodflekker skinnside buk</b>	Ingen blodflekker	Noen få, små flekker (<5)	Noen få, og en større blodflekk	Flere større blodflekker	
<b>Fysiske parametere</b>					
	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>Elastisitet</b>	Retter seg ut raskt	Retter seg ut	Retter seg langsomt ut	Prøver å rette seg ut	Blir liggende sammenbrettet
<b>Trykktest</b>	Fast filet, merket etter fingeren forsvinner raskt	Ubetydelig redusert fasthet	Redusert fasthet, fingeren setter et varig merke	Betydelig redusert fasthet	Bløt filet, fingeren trenger gjennom hele fileten

## 2.7 Homogenisering

Homogenisering ble gjennomført for å klargjøre materiale, i form av fiskemasse, til bruk i senere analyser, samt redusere prøvemengden fra 90 til 30 prøver. Et utsnitt ble skåret ut fra venstre filet, rett foran gattet og 10 cm i retning nakken. Tre og tre muskelstykker fra like grupper ble deretter kvernet i en foodprosessor (Philips Daily Collection Compact Food Processor) (figur 20). Først i 45 sekunder, så blandet sammen med skje og til slutt kvernet i ytterligere 30 sekunder. Fiskemassen ble overført til merkede ziplockposer og fryst.



Figur 20: Snitt fra rett foran gatt og 10 cm i retning nakken.

## 2.8 Fryselagring

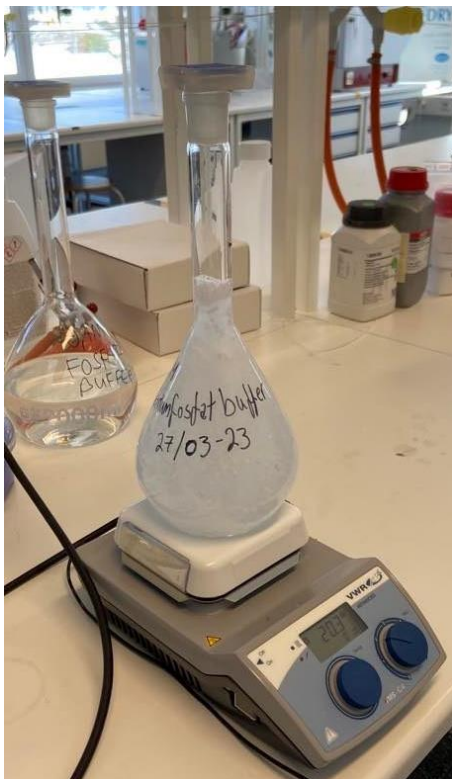
Det homogeniserte materialet ble oppbevart i fryser ved  $-23^{\circ}\text{C}$  i 18 dager før det ble tint på kjølerom ( $7^{\circ}\text{C}$ ).

## 2.9 Bestemmelse av hemoglobin i fiskemuskelen

For å fastslå hemoglobinnmengde i torskemuskelen, ble metoden til Chaijan og Undeland (2015) brukt. Det ble i samråd med veilederne bestemt at det skulle tas to paralleller fra hver ziplockpose med fiskemasse. Til sammen ble det utført 60 prøver fra de 30 posene.

### 2.9.1 Preparering av buffer

I gjennomføringen av forsøket ble det brukt en 0,1 M fosfatbuffer, pH 7,0 med 5% SDS. Bufferen ble laget av dinatriumhydrogenfosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), natriumdihydrogenfosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) og sodium dodecyl sulfat (SDS). 14,2 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  og 11,99 gram ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) ble veid opp i måleskip og overført til hver sin 100 ml målekolbe. Begge målekolbene ble deretter fylt opp med destillert vann til 100 ml. 57,7 ml av løsningen som inneholdt  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ble målt opp ved hjelp av en målesylinder. 42,3 ml ble målt opp av løsningen som inneholdt  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ . Løsningene ble blandet sammen i en større målekolbe, og ved hjelp av pH-meter ble pH 7,0 stadfestet. Deretter måltes 50 g SDS opp og ble overført til målekolben med dinatriumhydrogenfosfat og natriumdihydrogenfosfat. Målekolben ble til slutt fylt opp med destillert vann til innholdet tilsvarte én liter, og deretter plassert på en magnetrøreplate for blanding av løsningen (figur 21). Forsøket hadde bruk for to liter med bufferløsning, prosessen forklart ovenfor ble derfor gjentatt to ganger for å produsere to liter.



Figur 21: Preparering av natriumfosfatbuffer.

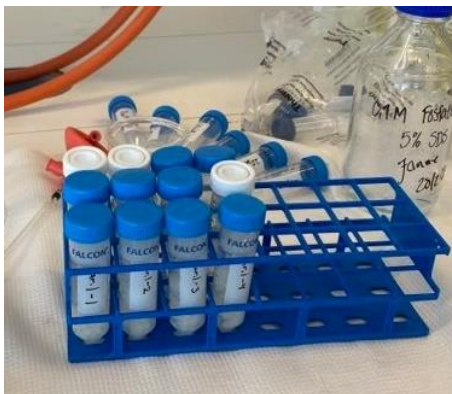
### 2.9.2 Preparering av prøver

Ti gram fiskemasse fra hver ziplockpose ble målt opp i måleskip på vekt, og deretter lagt i separate engangsprøverør på 40 mL (figur 22). Prosessen ble utført i to paralleller.



*Figur 22: 10 gram fiskemasse ble veid opp.*

Prøverørene ble satt i et stativ (figur 23) og fylt opp med 30 ml fosfatbuffer ved hjelp av fullpipette.



*Figur 23: Merkede prøverør med 10 gram fiskemuskel og natriumfosfatbuffer, før homogenisering.*

UltraTurrax (UltraTurrax, IKA, USA) ble anvendt på full hastighet i 20 sekunder (figur 24) for å homogenisere prøvene. For å sørge for en fullstendig homogenisering av fosfatbufferen og fiskemassen, ble det sett til at fiskemassen lå i bunnen av engangsprøverøret før homogeniseringsstart. Mellom hver prøve ble UltraTurrax rensset ved å kjøre den i destillert vann og tørket av med papir.



Figur 24: Homogenisering av 10 gram fiskemuskel og natriumfosfatbuffer.

Homogenatet ble plassert i vannbad som holdt 85 °C i en time. Deretter ble prøverørene lagt på is i et kar i ti minutter, for avkjøling. Prøvene ble videre satt til sentrifugering (Eppendorf Centrifuge 5810 R) på 4100 omdreininger i 20 minutt (figur 25), ved romtemperatur (20 °C).



Figur 25: Etter 60 min i varmebad og 10 min i isbad ble prøverørene sentrifugert i 20 min.

Etter sentrifugering ble prøvene filtrert for å se til at alle partikler som kunne påvirke resultatet fra spektrofotometrien, ble fjernet. Her ble det brukt 5µm-sprøytefilter på noen av prøvene og 5µm-foldefilter på andre.

### 2.9.3 Preparering av standardkurve

En standardkurve med hemoglobinkonsentrasjon i området 0-25 µM ble preparert (tabell 4). Dette ble gjort ved å lage en stamløsning på 50 µM. 0,3225 gram bovint hemoglobin målt opp i et måleskip på en vekt med glassbur. Hemoglobinet ble så fortynnet i en målekolbe med 100 ml av fosfatbufferen. Ved hjelp av en fem milliliters-automatpipette ble en

fortynningsserie laget med konsentrasjonene 0  $\mu\text{M}$ , 5  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 15  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$  (se tabell 4 for blandingsforhold).

Tabell 4: Viser blandingsforholdet mellom stamløsningen med hemoglobin og fosfatbuffer brukt for å lage standardkurven.

	0 $\mu\text{M}$	5 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$	15 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{M}$	25 $\mu\text{M}$
Ml stamløsning	0	1	2	3	4	5
Ml fosfatbuffer	10	9	8	7	6	5

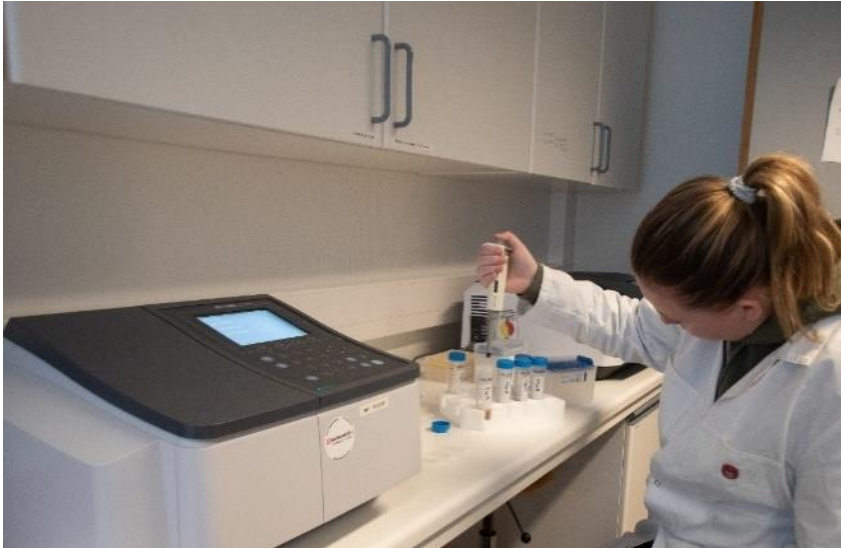
#### 2.9.4 Spektrofotometrisk analyse

Absorbansen til prøvene ble undersøkt i spektrofotometer ved 535 nm (Shimadzu UV mini 1240). Spektrofotometeret brukt var et dobbeltstråleinstrument. Løsningen med 0  $\mu\text{M}$  ble derfor brukt som blank for å kalibrere spektrofotometeret (figur 26).



Figur 26: Spektrofotometri ved bølglengde 535 nm. Kyvetten med prøven som skulle analyseres ble plassert fremst, og baksto en kyvette med kun en blank bufferløsning som referanse.

Fra hvert engangsprøverør ble det pipettert 3 x 1 ml over i kuvetter ved hjelp av automatpipette. Disse ble etter tur målt i spektrofotometeret (figur 27).



*Figur 27: Spektrofotometri.*

## 2.10 Behandling av data

Spektrofototrimålingene ble utført i triplikater av to paralleller og datasettet ble overført til Microsoft Excel for databehandling.

Statistiske analyser av pH ble gjennomført (Excel) ved å parvis sammenligne gruppene i en variansanalyse (èn-faktor).

Hyperspektrale bilder ble analysert av Maritech AS, og resultatene blir publisert ved en senere anledning av Møreforskning.

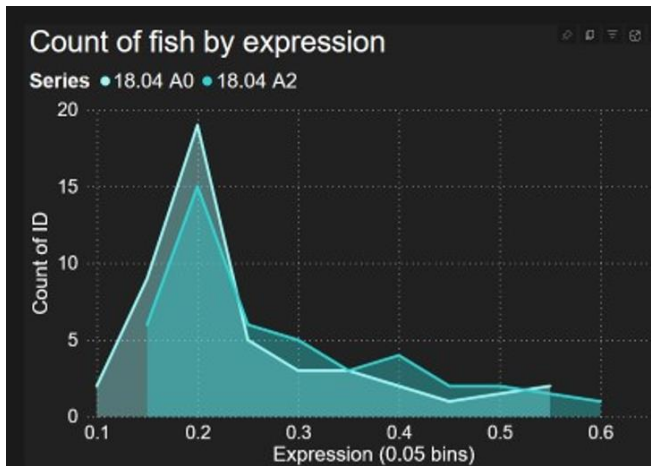


## 3.0 Resultat

### 3.1 Hyperspektrale bilder

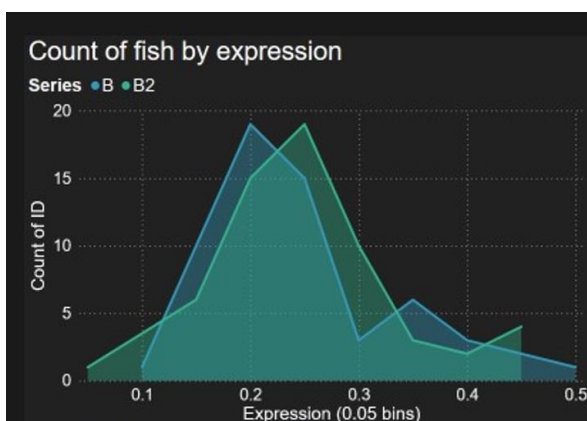
Hyperspektrale bilder viser utslag for hemoglobin i tilstandene oksy-, deoksy- og methemoglobin. Målingene viste at det var mest hemoglobin i gruppe B etter slag (figur 29).

Kontrollgruppen (A) hadde ingen forskyvning av kurven mellom scanning èn og to (figur 28).



Figur 28: Hyperspektral bildeanalyse av gruppe A (kontrollgruppe). A0 viste scanningsresultater før påkjening, og A2 viste etter påkjening. Disse var parallelle, som forventet av kontrollgruppen. Figur gjengitt med tillatelse fra Møreforskning.

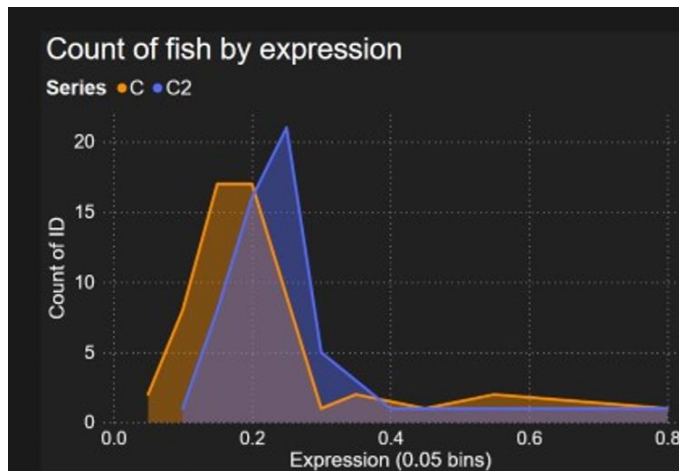
Gruppen som ble utsatt for ti fall mot kant fra èn meter (gruppe B) viste en tydelig forskyvning av kurven (økt hemoglobinnmengde) etter fall, i forhold til scanning før fall (figur 29).



Figur 29: Hyperspektral bildeanalyse av gruppe B (10 fall mot kant). B viste scanningsresultater før påkjening, og B2 viste etter påkjening. Det var en tydelig forskyvning av grafen på B2 scanningen, noe som tilsvarte en økt forekomst av hemoglobin i flere stadier. Figur gjengitt med tillatelse fra Møreforskning.



Gruppe C (ett fall mot kant fra èn meter) (figur 30) viste også en forskyvning av kurven etter fall.



Figur 30: Hyperspektral bildeanalyse av gruppe C (utsatt for 1 fall mot kant). C viste scanningsresultater før påkjenning, og C2 viste etter påkjenning. Figuren viste en forskyvning av grafen, noe som tilsvarte en økt forekomst av hemoglobin i flere stadier. Figur gjengitt med tillatelse fra Møreforskning.

Figur 28, 29 og 30 er en foreløpig presentasjon av resultatet. Fullstendig resultat med tilhørende forklaringer vil bli publisert av Møreforskning når disse er klare i slutten av mai 2023.

### 3.2 pH

Det var små forskjeller i gjennomsnittlig pH mellom de tre gruppene. Gruppe C hadde imidlertid den høyeste registrerte gjennomsnittlige pH (tabell 5).

Tabell 5: Viser et gjennomsnitt av pH-verdien fra de tre ulike gruppene.

Gruppe	pH-verdi	Standardavvik
A	6,38	0,10
B	6,43	0,08
C	6,46	0,10

Parvis sammenligning ved hjelp av variansanalyse (èn-faktor) i Excel viste en signifikant lavere pH i gruppe A enn i gruppe C ( $p < 0,05$ ).

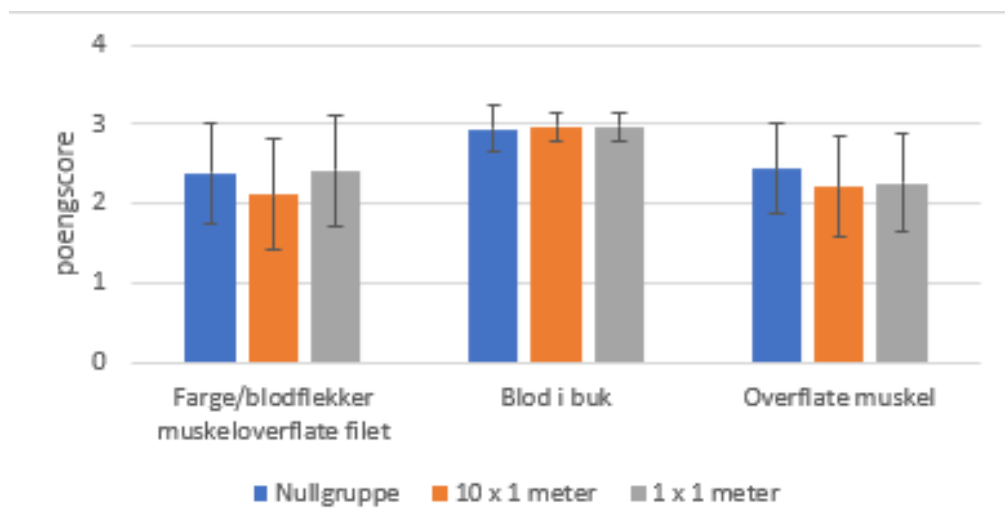
### 3.3 Sensorisk analyse

Når man leser grafene under (figur 31, 32, 33 og 34) er det viktig å merke seg at de ulike parameterne også hadde ulike poengskalaer (f.eks. 1-3, 5-1 eller 1-4 osv.). Gruppe A er her representert ved fargen blå, gruppe B ved fargen oransje og gruppe C ved fargen grå.

I den første parameteren «farge/blodflekker muskeloverflate filet» (figur 31) gikk skalaen fra 3 til 1, der 3 representerte «ingen blodflekker». Av grafen kommer det frem at gruppe B hadde flest blodflekker, og gruppe C hadde noe mindre blodflekker enn gruppe A.

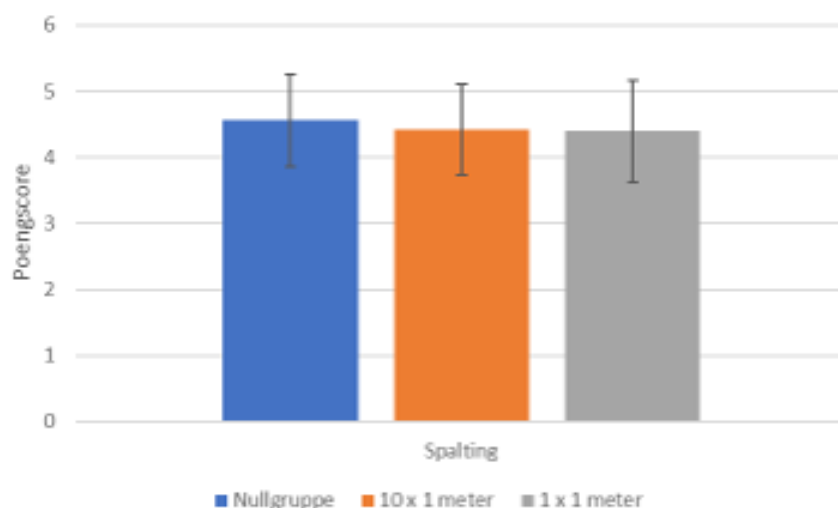
I parameteren «blod i buk» gikk skalaen fra 3 til 1, der 3 representerte «intet blod i snitt eller årer» (figur 31). Gruppe B hadde minst blod i buk, men forskjellene var svært små mellom gruppene.

I vurderingen av «overflate muskel» gikk skalaen fra 3 til 1, der 3 representerte «glatt muskel» (figur 31). Gruppe A hadde høyest score, etterfulgt av gruppe C og deretter gruppe B.



Figur 31: Visuell analyse av farge/blodflekker muskeloverflate, blod i buk og overflate muskel (tekstur). Figuren er gjengitt med tillatelse fra Møreforskning.

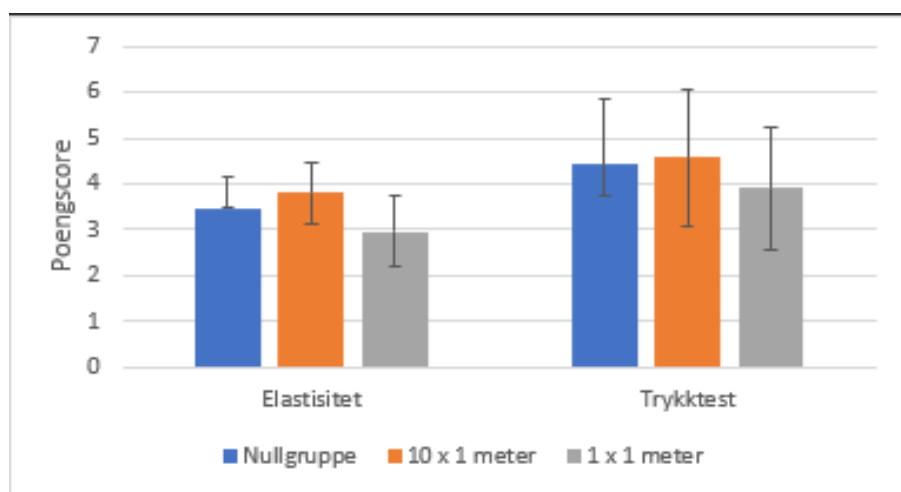
I den fjerde parameteren «spalting» gikk skalaen fra 5 til 1, der 5 representerte «ingen spalting» (figur 32). Gruppe A hadde minst spalting av fiskemuskel, og gruppe B og C kom likt ut, med noe høyere standardavvik hos gruppe B enn gruppe C.



Figur 32: Visuell analyse av spalting. Figuren er gjengitt med tillatelse fra Møreforsking.

I parameteren «elastisitet» gikk skalaen fra 5 til 1, der 5 representerte «retter seg ut igjen raskt» (figur 33). Gruppe B hadde best elastisitet, deretter gruppe A. Gruppe C hadde en noe lavere score, men standardavvik som overlappet hos gruppe A og gruppe B.

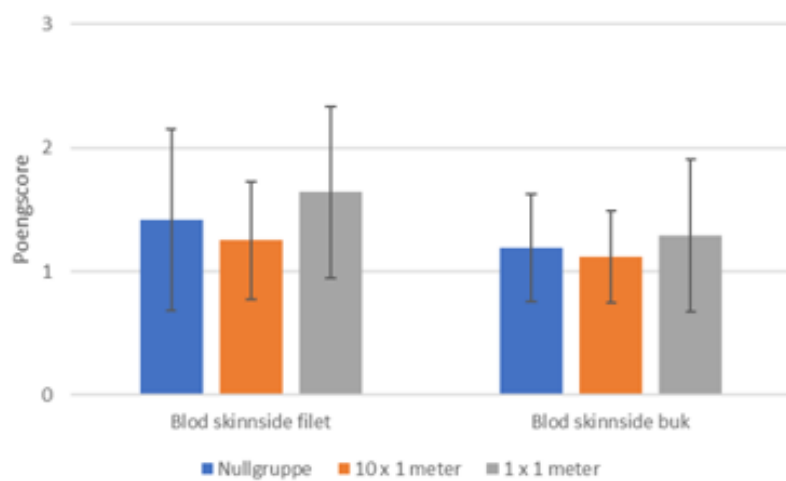
I den fysiske vurderingen «trykktest» gikk skalaen fra 5 til 1, der 5 representerte «fast filet, merket etter fingeren forsvinner raskt» (figur 33). Igjen hadde gruppe B best score, etterfulgt av gruppe A og til sist gruppe C.



Figur 33: Fysisk analyse av elastisitet og fasthet (trykktest). Figuren er gjengitt med tillatelse fra Møreforsking.

I den visuelle parameteren «blod skinnside filet» gikk skalaen fra 1 til 4, der 1 representerte «ingen blodflekker» (figur 34). Gruppe B hadde minst blodflekker, etterfulgt av gruppe A og deretter gruppe C.

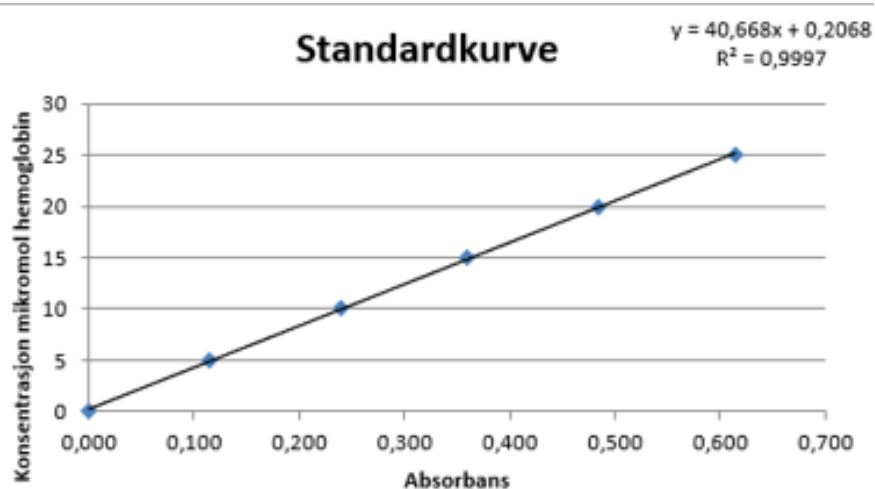
I den visuelle vurderingen av «blod skinnside buk» gikk skalaen fra 1 til 4, der 1 representerte «ingen blodflekker» (figur 34). Gruppe B hadde minst blodflekker, etterfulgt av gruppe A og deretter gruppe C.



Figur 34: Visuell analyse av blod skinnside filet og blod skinnside buk. Figuren er gjengitt med tillatelse fra Møreforskning.

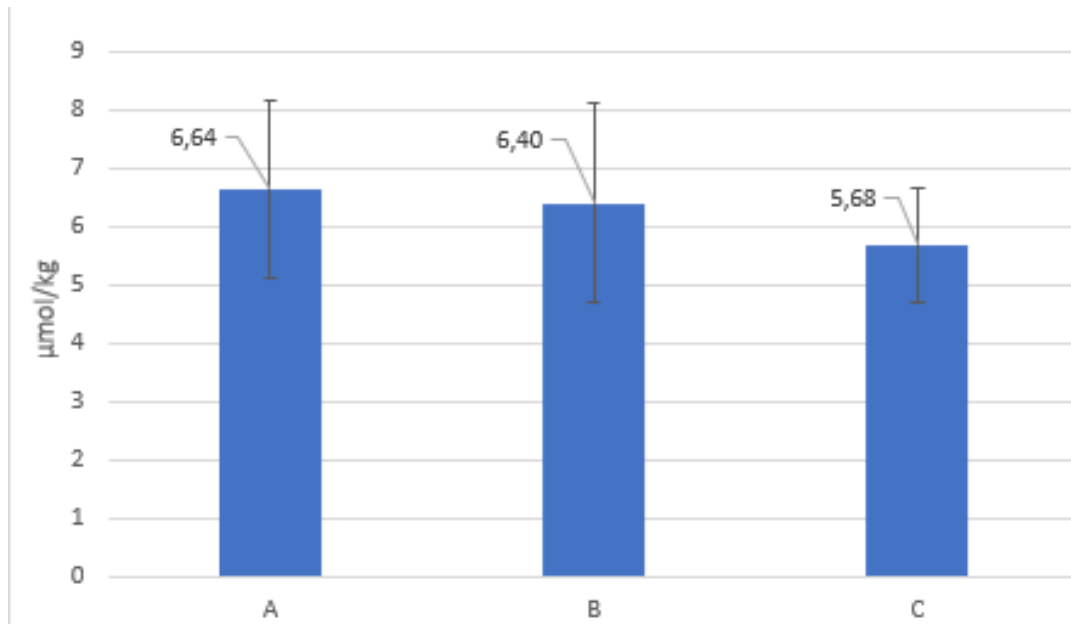
### 3.4 Spektrofotometri

Figur 35 er en standardkurve laget med fosfatbuffer og bovint hemoglobin (se tabell 4 for beskrivelse av preparat).



Figur 35: Standardkurve for spektrofotometri ved 535 nm.

Figur 36 viser små forskjeller mellom gruppene, hvorav gruppe C hadde lavest gjennomsnittlig hemoglobinmengde per kilo. Det var overlappende standardavvik.



Figur 36: Gjennomsnittlig hemoglobinmengde målt i mikromol per kilo fordelt på de tre gruppene med standardavvik.

## 4.0 Diskusjon

### 4.1 Overordnet

Hypotesen «Ytre påkjenninger, som fall ned i mottakstank, vil føre til skader som gir blodflekker og økt mengde hemoglobin i fiskemuskel» ble ikke bekreftet av resultatene fra den spektrofotometriske analysen av hemoglobin, eller den sensoriske analysen av filetene. Resultatene fra spektrofotometri viste at det ikke var vesentlige forskjeller i mengde hemoglobin mellom kontrollgruppen, og de øvrige gruppene som hadde blitt påført ytre påkjenninger (figur 36). Standardavvikene overlappet, og differansen kan derfor ikke tillegges vesentlig betydning. Dette ble også støttet opp av resultatene fra den sensoriske analysen. Disse viste ikke et entydig svar på om skadene som ble observert på filetene, var forenlige med skadene påført i forsøket.

I motsetning til spektrofotometri og sensorikken, viste de hyperspektrale bildene tydelige forskyvninger i grafene til gruppe B og C. Resultatene samsvarer med et høyere hemoglobinnhold etter påkjenning. Dette bekrefter hypotesen, og siden dette er en mer sensitiv analytisk metode, anbefaler vi å tillegge dette resultatet mest verdi.

### 4.2 Hyperspektrale bilder

Foreløpige resultater fra de hyperspektrale bildene viste at det var mest hemoglobin i B-gruppen, deretter C-gruppen og minst i A-gruppen (kontrollgruppe). Det foreligger ikke noe tall på hemoglobin i mikromol per kilo, dette vil bli publisert av Møreforskning ved et senere tidspunkt. De hyperspektrale bildene viste total mengde hemoglobin per fisk. Det var tydelige forskjeller mellom de hyperspektrale bildene før og etter fall (figur 29 og 30).

### 4.3 Sensorisk analyse

Det var ikke betydelige forskjeller i resultatene til den visuelle og fysiske analysen (figur 31, 32, 33 og 34). Dette er trolig fordi skalaen kun gikk fra 1-3, 1-4 og 1-5, og ikke var tilstrekkelig stor nok for å kunne fange opp mindre forskjeller. I variansanalysen (en-faktor) av pH-målingene av filetene (kap. 3.2), kom det frem gjennom en parvis sammenligning at det var signifikante forskjeller mellom gruppe A og C. Gruppe A hadde lavest pH. Stress, ante mortem (før døden), i forbindelse med fangst, slakt og høy aktivitet fører til at glykogen og glukose blir brukt opp anaerobt i metabolismen. Dette fører til en lavere pH-verdi, som er

forbundet med en høyere grad av spalting i fiskemuskelen (Skjold, 2017). Til tross for dette, ble det ikke observert en større grad av spalting i den visuelle vurderingen av gruppe A. En stor mengde fisk ble undersøkt i forsøket, og det kan ikke utelukkes at skader fra håndtering, spesielt filetering, har blitt feilaktig oppfattet som spalting i den sensoriske analysen.

#### 4.4 Spektrofotometri

Figur 36 viser at resultatene i mikromol per kilo var  $6,64 \pm 1,53$  for kontrollgruppen (gruppe A). Resultatene fra kontrollgruppen i forsøket gjennomført av Chaijan og Undeland (2015) viste et noe lavere hemoglobinnivå,  $2,83 \pm 0,07$  mikromol per kilo i lys torskemuskulatur. I motsetning til Chaijan og Undeland (2015) ble ikke lys og mørk muskulatur dissekert fra hverandre i dette forsøket. Fordi mørk muskulatur inneholder myoglobin, i tillegg til hemoglobin (Olsen, 2011), kan forskjellene i resultatene ha bakgrunn i at den mørke muskulaturen har forhøyet verdiene. Både hemoglobin og myoglobin danner hemikrome forbindelser med absorpsjonstopp på 535 nm etter reaksjon med SDS. I den spektrofotometriske analysen vil en derfor ikke klare å skille hemoglobinet og myoglobinet fra hverandre.

Et generelt mål på 10 cm fra gattet mot nakken ble brukt på all fisken undersøkt. Lengde og vekt var derfor ikke en faktor som påvirket hvor store deler av fisken som ble tatt ut til prøvetaking. Hos noen av fiskene kan derfor en større del av den mørke muskulaturen ha blitt med i prøven, og som beskrevet over, forhøyet verdiene i resultatet. Det er individuelle forskjeller i mengden mørk muskulatur fisken består av. Mengden mørk muskulatur i hvitfisk, som torsk, er likevel bare 0,5-2% av den totale svømmemuskulaturen (Christiansen et al., 1993). Siden homogeniseringen ble utført med tre og tre filetstykker antas det at dette ikke var av vesentlig betydning for resultatet.

Som fluktrespons kan torsken forflytte blodet fra organene til musklene (Soldatov, 2006). Denne stressreaksjonen kan utløses av behandling før bløgging. Dette kan ha gitt utslag på hemoglobinmengden i muskelen, og dermed ikke være forbundet med fallene påført under forsøket. Det antas at dette er normale mengder blodflekker som forekommer i oppdrettsfisk. Det stemmer overens med resultatene for kontrollgruppen som ikke var utsatt for påkjenninger.

Det er mulig at hemoglobinnivåene reelt sett var høyere, men at skadene statistisk sett befant seg hyppigere på filetene fra høyre side, eller på andre steder enn det aktuelle utsnittet. Det

ble forsøkt å unngå at dette skulle være en feilkilde underveis i forsøket, og det ble derfor vekslet annenhver gang på hvilken retning torskene lå da de ble dyttet av kanten.

#### 4.5 Utblødning

I en veileder utviklet av Nofima kommer det frem at utblødningen er like fullstendig etter ca. 3 minutter - som etter 30 minutter (Nofima, n.d., 2019). Siden fisken som ble benyttet i dette forsøket ble bløgget og utblødd i vannkar i 30 minutter, kan det tenkes at det ikke var tilstrekkelig blod tilgjengelig i muskelen til å reagere med påkjenningene som fisken ble utsatt for. Det er likevel verdt å merke seg at det i flere av filetene i alle gruppene ble observert større blodflekker (også kontrollgruppen), og at gruppe B (gruppen med størst belastning) hadde noe høyere forekomst av dette enn de øvrige to gruppene (se figur 31, visuell analyse). Siden det forekommer motstridende resultater fra de hyperspektrale bildene (kap. 3.1), er det likevel naturlig å anta at resultatene fra spektrofotometrien og sensorikken er et produkt av de ulike feilkildene (homogenisering og tid) nevnt i den øvrige diskusjonen.

#### 4.6 Homogenisering

I noen av parallellene i den spektrofotometriske analysen ble det registrert store differanser (se vedlegg 3 for datasett). Rådataen viste at de tre målingene i hver parallell som ble undersøkt hadde tilnærmet like verdier. Begge parallellene ble hentet fra samme pose, noe som tyder på at materialet ikke har vært fullstendig homogenisert. Det ble også observert fargeforskjeller innad i posene før prøvene ble tatt, dette ble forsøkt korrigert ved å blande sammen innholdet i posene før prøveuttaking. En mulig årsak til at noen av parallellene hadde så ulikt resultat kan være at en av prøvene ble tatt fra en ansamling av hemoglobin innad i posen. Det ble observert til dels store blodflekker på enkelte fileter som ikke sammenfalt med utsnittet som var bestemt, og disse ble derfor ikke med.

#### 4.7 Tid

Tid og temperatur er viktige faktorer når det kommer til holdbarhet. Dersom torsk kjøles hurtig ned til null grader celsius etter slakt og holdes dekket med is under kjølelagring, vil den normalt være holdbar i omtrent 14 dager. Torsken brukt i forsøket ble kjølelagret ved fire grader celsius i seks dager. Ved denne temperaturen blir holdbarheten halvert til om lag syv



dager (Eliasson et al., 2021; Göransson et al., 2018; Lorentzen et al., 2020). Seks dager etter første homogenisering ble fisken lagt på frys (-23°C). Det ble diskutert om dette ville påvirke sammensetningen av hemoglobinproteinet og dermed ha innvirkning på resultat. Dette ble testet i utviklingen av metoden til Chaijan og Undeland (2015). I resultatene deres kom det frem at når det ble analysert fryst homogenisert torskemuskel lagret i -20 grader i opptil en måned, var det ingen signifikant endring i målt hemoglobinnmengde. Torsken i dette forsøket ble fryselaagret i 18 dager, og det ble derfor vurdert til å ikke påvirke hemoglobinproteinet i den grad at det endret resultatene.

Totalt ble det preparert 60 prøverør med fiskemasse og fosfatbuffer. På grunn av en pågående eksamen i laboratorielokalene gikk det langt over tiden som var beskrevet i metoden til Chaijan og Undeland (2015). I følge metoden skal spektrofotometrien utføres senest 30 minutter etter sentrifugering for å unngå at hemikromene (oppdages ved 535 nm) reverseres tilbake til methemoglobin, da dette absorberes på bølgelengder som fanger opp hemoproteiner (402 nm) (Chaijan & Undeland, 2015). Totaltiden for de siste spektrofototrimålingene var 1 time og 30 minutter. Prøvene ble målt i tilfeldig rekkefølge, og det er derfor ikke mulig å si noe om hvilken effekt tidsperspektivet hadde, men det kan tenkes at den totale mengden hemikromer i målingene var lavere enn de ville ha vært dersom tidsfristen ble overholdt.

#### 4.8 Videre forskning

Siden det forelå motstridende resultater i dette forsøket, er det vår oppfatning at det er flere elementer i forsøket som burde endres til videre forskning på temaet. Torsken benyttet var allerede slaktet og utblødd. Det er nærliggende å tro at torsk som ikke har ligget i utblødningskar, men bløgget og direktesløyd før påkjenning, ville hatt høyere nivåer av hemoglobin tilgjengelig. Det vil derfor være hensiktsmessig å prøve ut forskjellige tidsintervaller mellom bløgging og fall mot kant.

Alternativt kunne det vært brukt levende fisk, dersom det ble gitt dispensasjon av Mattilsynet jamfør «Forskrift om bruk av dyr i forsøk» kapittel VII § 38 – Dispensasjon (Landbruks- og matdepartementet, n.d.), men det er uklart hvordan dette skal være mulig innenfor etiske rammer.

Det anbefales videre å utvide poengskalaen for den sensoriske analysen, slik at mindre forskjeller blir registrerte. For å forsikre at resultatene viser reelle verdier der bare

hemoglobinet fra den påførte skaden blir målt, anbefales det å dissekere mørk og lys muskulatur fra hverandre, slik som Chaijan og Undeland (2015) har utført.

I preparering og gjennomføring av prøver til spektrofotometrien anbefales det å benytte tre paralleller, i tillegg til å benytte hele fileten. I dette forsøket ble det gjennomført kun to paralleller, og dette gjorde det svært vanskelig å vurdere hvilken av disse som skulle vektlegges når det forelå store differanser. Det vil dessuten gi et mer nøyaktig resultat å teste hver enkelt filet, i stedet for å homogenisere tre og tre fileter. På den måten kan man få en bedre forståelse for hvilke av prøvene som viser de faktiske verdiene.

I den nyutviklede metoden beskrives det at homogeniseringen skal utføres i 20 sekunder (Chaijan & Undeland, 2015), dette var langt i fra tilstrekkelig. Det anbefales derfor å forlenge denne tiden betydelig.

Møreforskning er i gang med nye forsøk, bl.a. med direkte sløying, og vil publisere resultatene på et senere tidspunkt.

## 5.0 Konklusjon

I Fisk 4.0 blir det undersøkt hvordan en helautomatisering av torskeflåten bør foregå for å sikre god råvarekvalitet. I dette forsøket har det spesifikt blitt vurdert om fall, eksempelvis ned i mottakstank, vil føre til blodflekker og økt mengde hemoglobin i torskemuskelen. Hemoglobin i torskemuskelen er sterkt forbundet med kvalitetsfeil og fører til en lavere markedsverdi.

Hverken i spektrofotometriske målinger eller i sensorisk analyse, ble det påvist økt mengde hemoglobin i torsk som hadde vært utsatt for fall fra én meter mot en kant, sammenlignet med kontrollgruppen.

Hyperspektrale bilder viste en økning i hemoglobinmengde etter påkjenning hos gruppe B og C. Den største mengden hemoglobin ble oppdaget i gruppe B (gruppen utsatt for mest påkjenning, ti fall). Disse resultatene vektlegges over resultatene fra spektrofotometrien og den sensoriske analysen, fordi den hyperspektrale teknologien er mer sensitiv. Følgende hypotese kan dermed bekreftes: «Ytre påkjenninger, som fall ned i mottakstank, vil føre til skader som gir blodflekker og økt mengde hemoglobin i fiskemuskelen»

Det er derfor foreløpig en klar oppfatning at en helautomatisering av torskeflåten bør utformes på en slik måte at torsken ikke utsettes for ytre påkjenninger, som fall eller slag.

Prosjektet Fisk 4.0 fortsetter, og skal videre undersøke klemskader og fall fra lavere høyder.

## 6.0 Kilder

- Albrecht-Ruiz, M., & Salas-Maldonado, A. (2015). Chemical Composition of Light and Dark Muscle of Peruvian Anchovy ( *Engraulis ringens* ) and Its Seasonal Variation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(2), 191–196.  
<https://doi.org/10.1080/10498850.2012.762705>
- Andrè, T. H. (2019). *Sensorisk analyse av laks transportert i isoporkasser med hel og sprukket absorbent* [NTNU]. <https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/bitstream/handle/11250/2613549/no.ntnu%3Ainspera%3A2326611.pdf?sequence=1>
- Artsdatabanken. (2021). *torsk Gadus morhua Linnaeus, 1758*. Norsk Rødliste for Arter 2021.  
<https://artsdatabanken.no/lister/rodlisteforarter/2021/29760>
- Benum, E. (2020). *Industrialisering av fiske og jordbruk*. Universitetet i Oslo.  
<https://www.norghistorie.no/oljealder-og-overflod/artikler/1940-industrialisering-av-fiske-og-jordbruk.html>
- Bernelle. (2023). *Hva er markedsverdi?* Finanssenterets Nettsider.  
<https://www.finanssenteret.as/hva-er-markedsverdi-definisjon-av-markedsverdi-ordliste/>
- Bj, K., Johannes, M., & Hansen, P. (2022). *En lønnsomhets- og effektivitetsanalyse av torsketrålere i perioden 2003-2020* [Handelshøyskolen ved Universitetet i Tromsø].  
<https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/27099/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Chaijan, M., & Undeland, I. (2015). Development of a new method for determination of total haem protein in fish muscle. *Food Chemistry*, 173, 1133–1141.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.010>
- Christiansen, J. S., Jobling, M., & Jørgensen, E. H. (1993). *Svømmeatleter i fangenskap*. Noah for Dyrs Rettigheter. <https://www.dyrsrettigheter.no/havet/svømmeatleter-i-fangenskap/>
- Digre, H., Erikson, U., Misimi, E., Standal, I. B., Gallart-Jornet, L., Riebroy, S., & Rustad, T. (2011). Bleeding of Farmed Atlantic Cod: Residual Blood, Color, and Quality Attributes of Pre- and Postrigor Fillets as Affected by Perimortem Stress and Different Bleeding Methods. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(4), 391–411.  
<https://doi.org/10.1080/10498850.2011.576380>

- Dørum, K., & Hallenstvedt, A. (2023). Norsk fiskerihistorie. In *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon. [https://snl.no/Norsk\\_fiskerihistorie](https://snl.no/Norsk_fiskerihistorie)
- Eilertsen, V. T. (2018). *Restblod i torskemuskel som følge av vasshaling og forsinket bløgging* (Issue August) [Norges arktiske universitet].  
<https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/14195/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed>
- Eliasson, S., Ragnarsson, S. O., Arason, S., Margeirsson, B., & Palsson, O. P. (2021). Onboard pre-chilling of ungutted and gutted Atlantic cod in different cooling media - Temperature measurements and analytical modelling-. *International Journal of Refrigeration*, 132, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2021.08.027>
- Fiskeridirektoratet. (2021). *Totale fiskerier , bunnfiskerier og pelagiske fiskerier Fordelt på kystfiskefartøy og havfiskefartøy*. file:///C:/Users/Susanne/Downloads/driftsresultater-totalt-bunnfisk-pelagisk-2021-off-stat.pdf
- Fiskeridirektoratet. (2023a). *Kvotejusteringene for torsk, hyse og sei er klare*. Fiskeridirektoratets Hjemmesider.  
<https://www.fiskeridir.no/Yrkesfiske/Nyheter/2023/kvotejusteringene-for-torsk-hyse-og-sei-er-klare>
- Fiskeridirektoratet. (2023b). *Rundvekt (tonn) fordelt på art*. Fiskeridirektoratets Hjemmesider.  
<https://www.fiskeridir.no/Yrkesfiske/Tall-og-analyse/Fangst-og-kvoter/Fangst/Fangst-fordelt-paa-art>
- Fjelde, S. J. (2012). *Mastergradsoppgave i økonomi og administrasjon - studieretning markedsføring (30sp) Juni 2012* [Universitetet i Tromsø].  
<https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/4468/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- FORREGION-Forskningsbasert innovasjon i regionene. (2022). *FISK 4.0 – Industrialisering av den marine verdikjeden*. Prosjektbanken.  
<https://prosjektbanken.forskningsradet.no/en/project/FORISS/331829>
- Göransson, M., Nilsson, F., & Jevinger, Å. (2018). Temperature performance and food shelf-life accuracy in cold food supply chains – Insights from multiple field studies. *Food Control*, 86, 332–341. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.029>
- Karlsen, K. M., Svorken, M., Hermansen, Ø., & Akse, L. (2012). *Kvalitetsfeil og økonomiske konsekvenser Kartlegging av bedrifters synspunkter i hvitfisksektoren* (Issue november).

- <https://nofima.brage.unit.no/nofima-xmlui/bitstream/handle/11250/2504621/Rapport%2B33-2012.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Kierulf, P. (2018). Oksyhemoglobin. In *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon. <https://sml.snl.no/oksyhemoglobin>
- Kierulf, P. (2019). methemoglobin. In *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon. <https://sml.snl.no/methemoglobin>
- Kjerstad, M., & Larssen, W. E. (2018). *Veileder: Krav til kvalitet for sjøfrost filet av hvitfisk*. Landbruks- og matdepartementet. (n.d.). *Forskrift om bruk av dyr i forsøk*. Lovdata. [https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2015-06-18-761#KAPITTEL\\_8](https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2015-06-18-761#KAPITTEL_8)
- Lorentzen, G., Ageeva, T. N., Heide, M., & Esaiassen, M. (2020). Temperature fluctuations in processing and distribution: Effect on the shelf life of fresh cod fillets (*Gadus morhua* L.). *Food Control*, *112*, 107102. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107102>
- Lynum, L. (2007). *Fisk som råstoff* (2nd ed.). Fagbokforlaget.
- Merriam Webster. (2023). *Deoxyhemoglobin*. <https://www.merriam-webster.com/dictionary/deoxyhemoglobin>
- Miljølaere. (2023). *Torsk (Gadus morhua)*. Miljølaere. [https://www.miljolare.no/artstre/?or\\_id=2659](https://www.miljolare.no/artstre/?or_id=2659)
- Myhre, J. E. (2020). *Et bonde- og fiskersamfunn*. Universitetet i Oslo. <https://www.norgeshistorie.no/bygging-av-stat-og-nasjon/1405-et-bonde-og-fiskersamfunn.html>
- Nofima. (n.d.). *Verdt å vite om blod i fisk*. <https://nofima.no/fakta/verdt-a-vite-om-blod-i-fisk/>
- Nofima. (2019). *Verdt å vite om blod i fisk*. [https://nofima.no/wp-content/uploads/2019/02/NOFIMA\\_Bløgging\\_A5\\_LR.pdf](https://nofima.no/wp-content/uploads/2019/02/NOFIMA_Bløgging_A5_LR.pdf)
- Nofima. (2023). *Verdt å vite om fiskekvoter*. Nofima. <https://nofima.no/fakta/verdt-a-vite-om-fiskekvoter/>
- Olsen, S. H. (2011). *Quantification and characterisation of residual blood in fish muscle* [University of Tromsø].

- <https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/3590/thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Quist-Paulsen, P. (2023). Methemoglobin. In *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon.  
<https://sml.snl.no/methemoglobin>
- Skjelvareid, M. H., Heia, K., Olsen, S. H., & Stormo, S. K. (2017). Detection of blood in fish muscle by constrained spectral unmixing of hyperspectral images. *Journal of Food Engineering*, 212, 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.029>
- Skjold, V. (2017). *Måling av pH i pre-rigor fiskemuskel - en analytisk utfordring* (Issue November) [Universitetet i Tromsø].  
<https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/11959/thesis.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Soldatov, A. A. (2006). Organ blood flow and vessels of microcirculatory bed in fish. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 42(3), 243–252.  
<https://doi.org/10.1134/S002209300603001X>
- UiO. (2019). *Hjerte og karsystem*. Institutt for Biovitenskap.  
<https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/h/hjerte-og-karsystem.html>
- Universitetet i Oslo. (2019). *Spektrofotometri*. Universitetet i Oslo.  
<https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/s/spektrofotometri.htm>  
1
- van der Land, J. (2008). *Gadus morhua* Linnaeus, 1758. In *Worms*. World Register of Marine Species. <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=126436>
- Vøllestad, A. (2021). torsk. In *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon.  
<https://snl.no/torsk>
- Wibetoe, G. (2020). monokromator. In *Store norske leksikon*. Store Norske Leksikon.  
<https://snl.no/monokromator>

