

Bløgging og holdbarhet på torsk

Torbjørn Tobiassen, Karsten Heia, Stein Harris Olsen, Ragnhild Aven Svalheim, Sjurdur Joensen, Kine M. Karlsen, Martin Hansen Skjelvareid & Svein Kristian Stormo.





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

Nofima har om lag 350 ansatte.

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

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

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

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sundalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

		ISBN: 978-82-8296-363-3 (trykt) ISBN: 978-82-8296-364-0 (pdf) ISSN 1890-579X
Tittel: Bløgging og holdbarhet på torsk		Rapportnr.: 10/2016
		Tilgjengelighet: Åpen
Forfatter(e)/Prosjektleder: Torbjørn Tobiassen, Karsten Heia, Stein Harris Olsen, Ragnhild Svalheim, Sjurdrur Joensen, Kine M. Karlsen, Martin Hansen Skjelvareid & Svein Kristian Stormo		Dato: 23. februar 2016
Avdeling: Sjømatindustri		Ant. sider og vedlegg: 20
Oppdragsgiver: Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF)		Oppdragsgivers ref.: FHF 901088
Stikkord: Bløgging og utblødning; råstofflagring og temperatur		Prosjektnr.: 11336
Sammendrag/anbefalinger: <u>Målsettingen med prosjektet var å undersøke henholdsvis:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Om stresset torsk får redusert koaguleringsstid sammenlignet med ustresset torsk, og om dette kan påvirke graden av blodtømming. • Hvordan påvirker økt aktivitet/stress blodmengden i fileten. • Hvordan påvirker temperatur blodets egenskaper. • Om opphold/lagring i blodvann påvirker torskens utblødning, kvalitet og holdbarhet som fersk. <u>Resultatene fra prosjektet viser:</u> <ul style="list-style-type: none"> • At muskelen til fisken påvirkes negativt av stress. • Blodet til fisken påvirkes også av stress og temperatur ved at koaguleringen av blodet går raskere ved økt stress og høy temperatur. • Stress av fisken kan være i/på redskap eller ombord etter fangst, og medfører mer blod i muskelen. • Om fisken er avlivet eller ligger og dør ombord, påvirker blodmengden i fileten. • Tiden før bløgging er klart viktigst og da spesielt hvis fisken ikke blir avlivet/bedøvet når den kommer ombord. • Om fisken lagres i rent eller kontaminert vann har størst innvirkning på sensorisk kvalitet og da spesielt hvis fisken er sløyd. • Temperatur er viktig for holdbarheten og resultatene viser at forhøyet temperatur i 24 timer har stor innvirkning på holdbarheten til fisken 		
English summary/recommendation: The objective of this project was to study consequence of stressing the fish prior to catch, and also to study the effect of elevated storage temperatures on quality and storage stability of the raw material. <u>Results show:</u> <ul style="list-style-type: none"> • The muscle of the fish is adversely affected by stress. • The remaining blood in the fish (after slaughter) is also affected by stress and temperature. The coagulation of the blood is accelerated as a consequence of increased stress and high temperature. • Stress of fish may be inflicted in the fishing gear or onboard the fishing boats and causes more blood in the muscle. • Killing or anesthetizing the fish directly after it is taken on board, greatly reduce residual blood in the fillet, compared to when fish die from anoxia. • If the fish is killed or lie and die onboard the boat affects level of blood in the fillet. • The time before bleeding is clearly important especially if the fish is not killed/stunned when it comes on board. • Whether the fish is stored in clean or processing water have great impact on the sensory quality and especially if the fish is gutted. • Temperature is important for the storage stability of the fish, and the results show that elevated temperature during the first 24 hours after catch has a major impact on the shelf life of the fish. 		

Innhold

1	Innledning	1
1.1	Problemstilling og formål	1
1.1.1	Målsetting.....	1
2	Material og metoder	2
2.1	Fisken.....	2
2.2	Måling av muskel- og blodparametere	2
2.3	Måling av koaguleringsstid avhengig av stress og temperatur.....	2
2.4	Instrumentell blodmåling	3
2.5	Måling av mikrobiologi	3
2.6	Sensorisk vurdering	3
3	Gjennomføring	4
3.1	Bløtgeforsøk med stresset og ustresset torsk.	4
3.2	Holdbarhet på torsk.....	5
3.2.1	Lagring i rent eller kontaminert vann.....	5
3.2.2	Lagring i rent eller kontaminert vann ved ulike temperaturer	5
4	Resultater og diskusjon	6
4.1	Bløtgeforsøk med stresset og ustresset torsk	6
4.1.1	Muskel- og blodparameter.....	6
4.1.2	Koaguleringsstid avhengig av stress og temperatur	9
4.1.3	Blodindeks (instrumentelt målt restblod) avhengig av stressnivå	10
4.2	Holdbarhet på torsk.....	13
4.2.1	Lagring i rent og kontaminert vann	13
4.2.2	Lagring i rent og kontaminert vann med ulik temperatur.....	15
5	Oppsummering og konklusjon	18
5.1	Oppsummering stress og utblødning	18
5.2	Oppsummering holdbarhet	18
6	Leveranser fra prosjektet	19
7	Referanser	20

1 Innledning

Nofima har tidligere gjort en rekke forsøk med bløgging av både torsk og laks. Resultatene fra disse forsøkene har lagt grunnlaget for dagens anbefalinger om å bløgge torsk senest 30 min etter at den er tatt om bord (Akse *m.fl.*, 2012). Basert på nye funn ønsker nå Nofima å revurdere bløggeanbefalingene. I en studie utført av Bantle, *m.fl.* (2015) ble det funnet at stresset fisk har mer restblod i muskelen, enn ustresset fisk. Videre har forskere ved Nofima funnet at stress reduserer blodlevringstiden fra 30 minutter hos frittsvømmende fisk, til 10 minutter hos fisk som blir trent sammen i avkast. Dette arbeidet ble gjort i FHF-prosjekt 901007 «Optimalisering av slakteprosessen for laksefisk: Ny teknologi for trenging, bløgging og kjøling». En stor del av tidligere bløggforsøk på torsk er kun utført på ustresset fisk. Dette kan bety at resultatene fra disse forsøkene er mindre relevante for de kommersielle fiskeriene, enn tidligere antatt. Det er viktig å gjennomføre forsøk som er mer tilsvarende det som skjer i kommersiell fangst, der fisken i større grad er utsatt for stress.

Utviklingen på flåtesiden har gått mot større fangster og effektiv håndtering av fisken ombord. En praktisk konsekvens av dette har vært at flere aktører har valgt å bløgge fisken rett ned i de karene/kontainere (Akse *m.fl.*, 2011) som fisken skal oppbevares i både ombord og på land. Dermed ligger fisken i blodvann og i noen tilfeller sammen med rester av slo, i flere timer for den skylles. Andre aktører bløgger fisken separat eller har god gjennomskylning av fisken i kar slik at vannet er blankt. Nofima ønsker å se på om dette blodvannet kan påvirke fiskens kvalitet gjennom videre lagring. Da særlig utvikling av uønskede bakterier, lukt og dårlig skinnfarge når fisken lagres videre på is.

Dette er et forprosjekt. Det betyr at forsøkene ikke omfatter alle aspekt ved problemstillingen, men at en avklarer om hypotesen eller deler av hypotesen stemmer.

1.1 Problemstilling og formål

1.1.1 Målsetting

Målsettingen med prosjektet er å undersøke henholdsvis:

- Om blodet fra stresset torsk får redusert koaguleringsstid sammenlignet med ustresset torsk, og om dette kan påvirke graden av blodtømming.
- Hvordan økt aktivitet/stress påvirker blodmengden i fileten.
- Hvordan temperatur påvirker blodets egenskaper.
- Om opphold/lagring i blodvann (som inneholder lever og innvoller) påvirker torskens utblødning, kvalitet og holdbarhet som fersk. Lagring gjennomføres på torsk med og uten hode.

Prosjektet har en styringsgruppe bestående av følgende personer:

- Frank Jakobsen, FHF
- Charles Ingebrigtsen, Råfisklaget
- Ole-Jonny Nilsen, J. M. Nilsen Fisk AS
- Jan Roger Knudsen, Gunnar Klo AS
- Paul Jensen, kystfisker
- Bjarni Siggurdsson, linefisker
- Heidi Nilsen, Nofima

2 Material og metoder

2.1 Fisken

Torsken ble fanget med snurrevad i april, 2014. Torsken ble fraktet til sjøanlegget på Havbruksstasjonen i Tromsø. På forskningsstasjonen, ble fisken holdt under naturlig fotoperiode (69 ° N) i en utendørs merd, til starten av forsøket i september og oktober, 2015. Fisken ble føret til metning med lodde. På forsøksdagene i september var sjøtemperaturen 9,7, i oktober 8,8 og november 7,5 °C.

2.2 Måling av muskel- og blodparametere

Muskel- og blod-pH, blodlaktat og blodglukose ble brukt som indikatorer på stress da disse parameterne i stor grad endrer seg ved høyt energiforbruk ved stress/aktivitet. I tillegg ble blodleveringstiden målt både som mulig mål på stress og for å undersøke effekt av blodleveringstid på restblod i fileter.

All fisk ble avlivet med to slag mot hodet og blod ble tatt fra kaudalvenen innen ett minutt, med 7 ml uhepariniserte vakuteinere med 4 x 0,9 mm nåler (BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ, USA). Blod fra samme fisk ble fordelt til 3 parallelle prøver på cirka 1 ml og overført til 3 stk. (5 ml) TT-rør

Målinger av muskel-pH ble deretter tatt fra epaxial del i hvit muskulatur, rostralt til ryggfinnen på venstre side av fisken. Blod-pH ble målt ved punktering av venstre *V. cardinalis communis*. pH-verdiene ble målt med WTW330/set-en pH-meter (Wissenschaftliche-Technische Werkstätten, Weilheim, Tyskland) utstyrt med en Hamilton dobbelpore glasselektrode (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Sveits). Instrumentet ble kalibrert ved bruk av vanlige pH-verdier 4,01 og 7,00 buffere, og elektroden ble rensert med demineralisert vann mellom hver måling. Konsentrasjoner av laktat og glukose ble målt i fullblod, med henholdsvis Laktat Scout + (SensLab GmbH, Tyskland) og FreeStyle Lite (Abbott Diabetes Care, Inc., Alameda, CA).

Alle fiskene ble bløgget med strupekutt og lagt til utblødning i rennende sjøvann i 30 minutter. Etterpå ble vekt og lengde registrert før fisken ble pakket på is og lagret i fem eller seks dager før måling av blod.

2.3 Måling av koaguleringsstid avhengig av stress og temperatur

Blodlevering ble målt ved å plassere TT-rør i vannbad med lik temperatur som fisken. Rørene ble vipet fram og tilbake 45° hvert 0,5 minutt, frem til første tegn på blodlevering. Da tydelige klumper festet seg til TT-rørene, ble blodet vurdert som levret. Denne metoden er tidligere beskrevet av Ruis & Bayene (1997).

Koagulering – Temperatur

Blodet ble holdt i vannbad med konstant temperatur og blodleveringstiden ved de ulike temperatuere ble registrert ved første tegn på klumper på TT-rørene. Blodet fra hver enkelt fisk ble plassert på ulike temperaturer (0,5, 4, 7 og 10 grader).

2.4 Instrumentell blodmåling

Instrumentell måling av restblod ble utført med hjelp av hyperspektral avbildning av ferske fileter i et diffust refleksjonsoppsett. Det vil si at filetene ble belyst fra alle retninger og det ble målt hvor mye lys som fra hvert punkt på fileten ble reflektert i retning av kameraet. Avbildningen ble gjort mens filetene passerte kameraet på et transportbånd (40 cm/s). Ved å registrere hvor mye lys som ble absorbert av fileten på ulike frekvenser kan det beregnes hvor mye blod som var i/på filetene. Teknologien har tidligere vært anvendt på laksefilet for å påvise blod- og melaninflekker (Heia *m.fl.*, 2012).

2.5 Måling av mikrobiologi

Mikrobiologien ble gjennomført i henhold til beskrivelse i Gram & Huss (1996). Fra hver fisk ble det skåret ut en kubisk muskelbit på cirka 10 gram. Prøvene ble tatt cirka 0,5 cm ned i muskel under skinnet, fra punktet mellom brystfinnen og gatt, og vekselvis på høyre og venstre side av ryggsøylen. Prøvene ble tatt ut ved hjelp av steril skalpell og pinsett, og overført til sterile Stomacherposer. Posene med innhold ble oppbevart på is fram til videre bearbeiding av prøvene.

Prøvene ble fortynnet 5 ganger ved å tilsette sterilt fysiologisk saltvann (0,9 % NaCl). Deretter ble prøvene homogenisert 2 minutter i stomacher (Seward Medical). Prøvene ble så fortynnet ytterligere (50x, 500x, 5000x og så videre), før de ble overført til Jernagarplater (Lyngby jernagar) og dyrket ved 12 °C i 5 døgn. Totalt antall kolonier (totalchim) og antall sorte kolonier (sulfidproduserende kolonier) ble registrert.

2.6 Sensorisk vurdering

For å vurdere den sensoriske kvaliteten til torsken var planen å benytte QIM (kvalitetsindeksmetoden), men på grunn av at det i forsøket ble bestemt å lagre torsken uten hode og at dette er viktig i forbindelse med vurdering av QIM så måtte vi tilpasse våre vurderinger.

Parameterne som ble vurdert etter en skala fra 0–2 var utseende på skinn og nakke, lukt på skinn, lukt i bukhule, lukt i sløyesnitt og blod i bukhule. I tillegg ble tekstur (fingertrykk) vurdert etter en skala fra 0–3. Null er beste karakter.

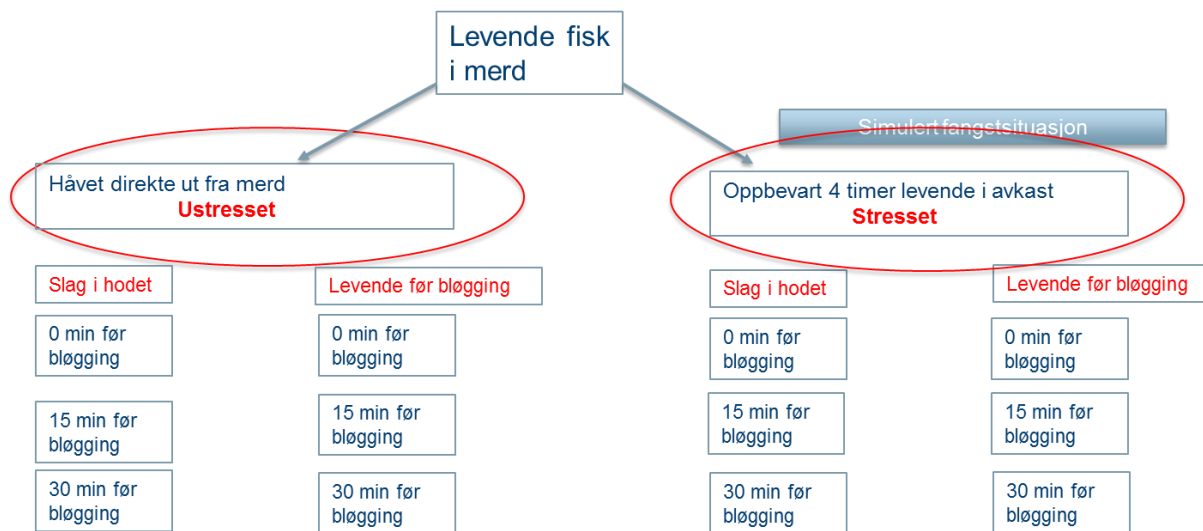
3 Gjennomføring

Det ble gjennomført 3 forsøk:

- 1 Bløgging av ustresset og stresset torsk, september 2015. 180 torsk ble benyttet.
- 2 Holdbarhetsforsøk, september 2015. 180 torsk ble benyttet.
- 3 Koaguleringsforsøk avhengig av temperatur, november 2015. 10 torsk ble benyttet.

3.1 Bløggeforsøk med stresset og ustresset torsk.

Det er behov for mer kunnskap om hvordan stress hos torsk vil påvirke blodtømming ved bløgging. Det er derfor sentralt å avklare hvor fort blodet koagulerer (lever seg) i ulike stressituasjoner og temperaturer, og samtidig avdekke hvor mye det har å si for mengde restblod i filetene.



Figur 1 Forsøksoppsett i bløggeforsøket

På grunn av det høye antallet torsk ble uttak av fisk gjort over to dager.

- I den ustressete gruppen ble 90 torsk håvet ut av merden mest mulig upåvirket.
- For den stressete gruppen ble 90 stk satt i avkastnot i 4 timer for å simulere en fangstsituasjon hvor fisken kan bli stresset.

Vi valgte videre å skille gruppene som skal benyttes til prøver for blod og muskel pH fra de som vil bli vurdert for filetevaluering. Dette er fordi tidligere studier har vist at blod og muskel pH-prøver kan gi blødinger i muskulaturen som forstyrrer kvalitetsvurderingen.

Bløggforsøk med ustresset fisk

Fisken ble skånsomt håvet ut (90 stk) hvor 30 stk ble avlivet med slag i hodet og bløgget etter lagring tørt i kontainer i henholdsvis 0, 15 og 30 minutter. Ti stk ble avlivet umiddelbart med slag i hodet og samlet for blodprøver og pH. Av de resterende ble 10 stk bløgget direkte og 40 ble lagret tørt i kontainer i 15 og 30 minutter uten å være avlivet (med slag). Etter 15 minutter ble 10 stk bløgget, 10 stk ble samlet for blodprøver og pH. Dette ble repetert for fisken som lå i 30 minutter.

Bløggforsøk med stresset fisk

Torsk ble plassert i avkast i 4 timer for å simulere noe av det stresset fisken kan oppleve i/på redskapen. Oksygenivået i avkastet ble målt til mellom 50–60 %. Etterpå ble torsken håvet ut (90 stk) hvor 30 stk ble avlivet med slag i hodet og bløgget etter lagring tørt i kontainer i henholdsvis 0, 15 og 30 minutter. Ti stk ble avlivet umiddelbart med slag i hodet og samlet for blodprøver og pH. Av de resterende ble 10 stk bløgget direkte og 40 ble lagret tørt i kontainer i 15 og 30 minutter uten å være avlivet (med slag). Etter 15 minutter ble 10 stk bløgget, mens 10 stk ble samlet for blodprøver og pH. Dette ble repetert for fisken som lå i 30 minutter. I tidligere forsøk har vi vist at temperatur påvirker lakseblodets egenskaper Bantle *m.fl.*, (2015). Her skulle en undersøke om det samme var tilfelle for torsk. Torsk ble håvet ut av merden minst mulig stresset. Det ble løst ved at torsken ble fôret til overflaten og deretter fanget med håv før den ble avlivet med slag i hodet. Deretter ble blodprøve tatt. I tillegg ble muskel pH og blod pH, laktat og glukose målt.

3.2 Holdbarhet på torsk

Forsøk ble gjennomført for å undersøke hva det har å si om torsken er sløyd eller ikke, om den lagres i rent eller kontaminert vann i ulik tid og ved forskjellige temperaturer. Vi ønsket å se på om disse parameterne ville påvirke fiskens kvalitet gjennom videre lagring, og da særlig utvikling av uønskede bakterier, lukt og dårlig skinnfarge når fisken lagres videre på is. Deler av forsøket ser også på ulik tid og temperaturer på vannet i kombinasjon med rent eller kontaminert vann, dette fordi en ofte ser at fisken lagres videre på land og da gjerne sløyd i vann som ikke er godt kjølt.

Dette forsøket ble utført i oktober 2015. Totalt 180 fisk ble nyttet.

3.2.1 Lagring i rent eller kontaminert vann

Torsken ble skånsomt håvet ut av avkastet og avlivet med slag i hodet. Torsk ble videre lagret sløyd eller rund, i rent eller kontaminert vann i 4, 8 eller 24 timer ved 4 °C. Etter 24 timer ble alle fisken lagret videre sløyd, hodekappet og pakket i is. Etter 10 dager ble det tatt prøver til mikrobiologisk undersøkelse og det ble gjennomført en sensorisk vurdering av fisken.

3.2.2 Lagring i rent eller kontaminert vann ved ulike temperaturer

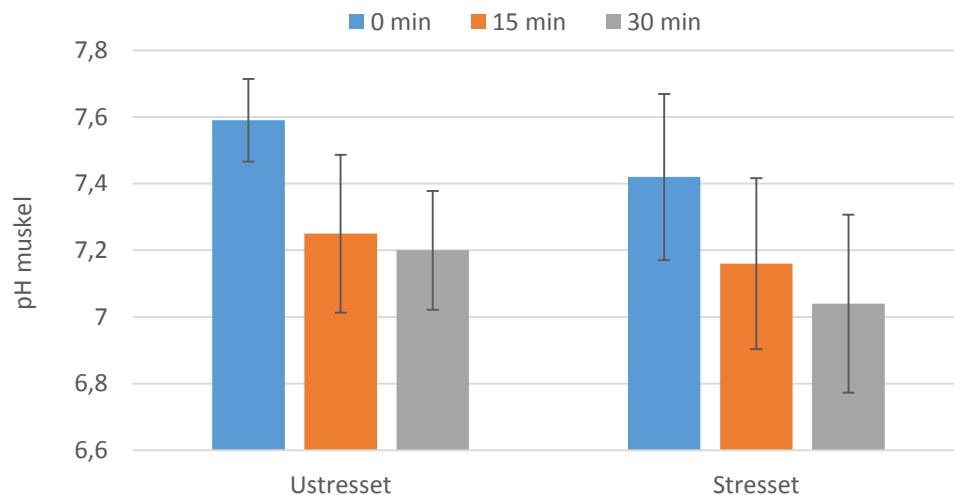
Torsken ble håvet ut av avkastet og avlivet med slag i hodet. Torsken i forsøket ble lagret rund i kontaminer eller rent vann, ved 4, 8 eller 10 °C i 24 timer. Torsk ble så sløyd og lagret videre på is. Det ble tatt muskelprøver til mikrobiologisk undersøkelse etter 2, 7, 10 og 14 dager av lagringstiden. Etter 10 dager ble det gjennomført en sensorisk vurdering.

4 Resultater og diskusjon

4.1 Bløggforsøk med stresset og ustresset torsk

4.1.1 Muskel- og blodparameter

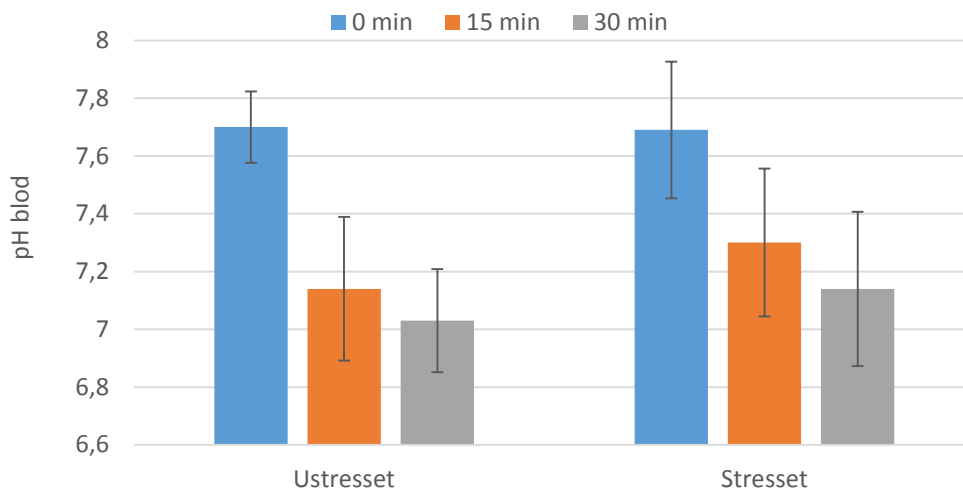
pH i blod og pH i muskel er i stor grad summen av karbon og melkesyre, altså et resultat av hvor mye fisken har jobbet/stresset anaerobt før den ble avlivet. Ved økt stress og belastning reduseres pH i muskel.



Figur 2 Utvikling i muskel-pH hos ustresset torsk (håvet direkte fra merd) og stresset (4 timer i en avkastnot). Antall minutter beskriver hvor lang tid fisken var eksponert for luft før den ble avlivet og bløgget. Grafene viser gjennomsnittsverdier \pm standardavvik. $N=10$.

Den ustressede gruppen som ble avlivet umiddelbart etter håving, hadde en gjennomsnittspH på 7,6. Dette er noe høyere enn den stressede gruppen som ble avlivet umiddelbart (pH = 7,4, gjennomsnitt) (Figur 2). At forskjellen mellom disse gruppene ikke er større, kommer mest sannsynlig av at torsk vanligvis ikke lar seg stresses lett, men ofte holder seg relativt rolig når den utsettes for potensielt stressende situasjoner.

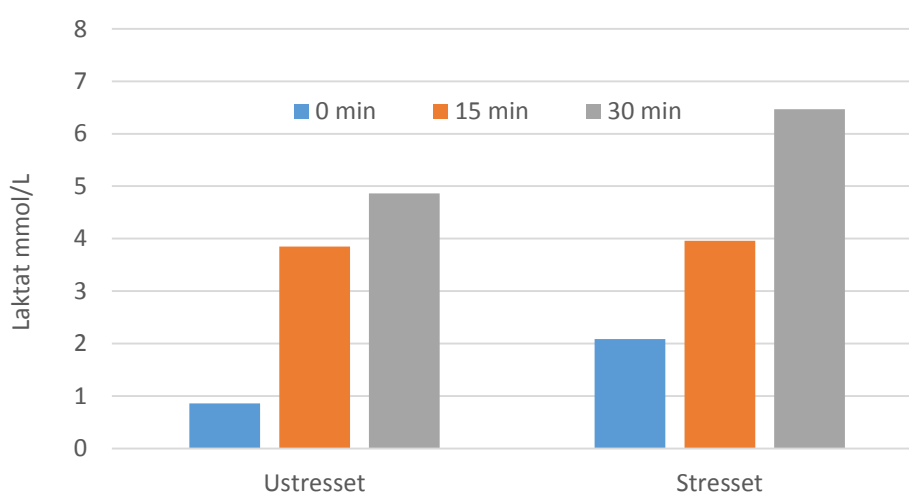
Når torsken blir lagret tørt i kontainer i 15 og 30 minutter, reduseres muskel-pH betydelig. Dette gjelder både for ustresset og stresset fisk. Årsaken her er at lufteksponering skaper et anoksisk (oksygenfritt) miljø for fisken der den, uavhengig om den er stresset eller ikke, må forbrenne energi anaerobt. En ser likevel, en tendens til større nedgang i muskel-pH for stresset fisk, noe som tyder på at denne er dårligere utrustet for å takle en ekstrem situasjon som lufteksponering.



Figur 3 Utvikling i blod-pH hos ustresset torsk (håvet direkte fra merd) og stresset (4 timer i en avkastnot). Antall minutter beskriver hvor lang tid det gikk etter opptak før fisken ble bløgget. Etter opptak lå torskene tørt i kontainer. Grafene viser gjennomsnittsverdier \pm standardavvik. N=10.

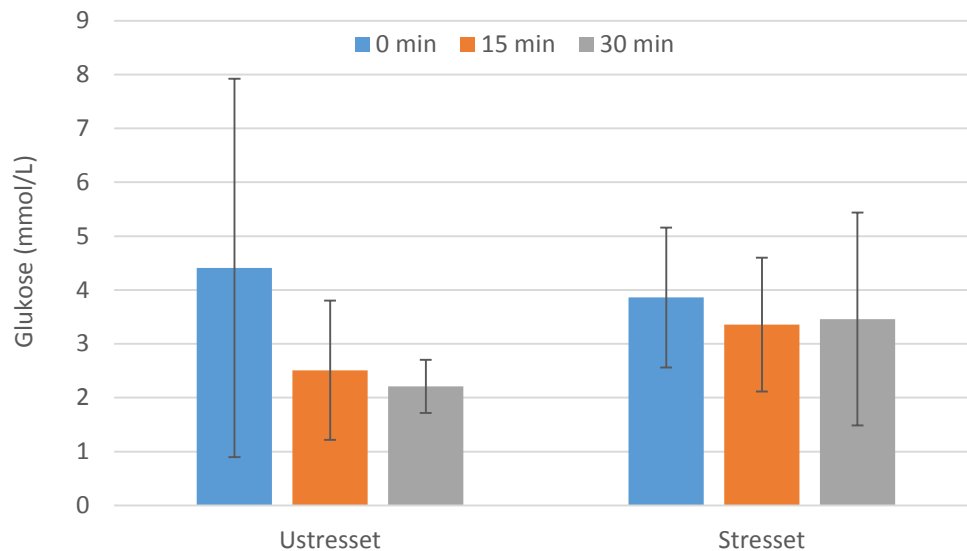
Det er ikke stor forskjell mellom blod-pH for gruppene ustresset og stresset, men når torskene lagres videre tørt i kontainere så faller pH-blod raskt for begge gruppene. Eksponering for luft vurderes som ekstremt stressende for torsk. Ved stress frigjøres katekolaminer (mest kjente er adrenalin og noradrenalin), noe som resulterer i økt proton-utveksling fra de røde blodcellene som senker pH-en i plasma. Under lufteksponering, faller oksygennivået i blodet samtidig som en får en økning i karbondioksid og laktat. Fisken vil forsøke å kompensere oksygenopptak ved hyppigere og kraftige gjelleventilering (hyperventilering), noe som trolig bidrar ytterligere til forsurening av blod og muskel, da den ikke har tilgang på vann.

En situasjon der fisken ikke har tilgang på oksygen slik som her, er av relevans for fiskeriene. Garnfisk blir ofte hindret i å ventilere på grunn av konstriksjoner fra linet rundt gjellene. I snurrevad og trålfiskeriene, er det vanlig praksis å la fisken dø av lufteksponering i mottaksbinger.



Figur 4 Utviklingen i laktat/melkesyre i blodet hos torsk. Ustresset-gruppen ble håvet ut av merden mest mulig skånsomt, noen ble bløgget direkte andre ble lagret tørt i kontainer i 15 eller 30 minutter før bløgging. Ustresset-gruppen ble oppbevart 4 timer i et avkast før de ble håvet ut og bløgget etter 0, 15 eller 30 minutt oppbevaring tørt i kontainer. N=10 i hver gruppe.

Uten lufteksponering, hadde den ustressede fisken klart lavere laktatnivå enn den stressede gruppen. Dette tyder på at stresset fisk var mer aktiv og tok i bruk mer anaerob energiforbrenning enn ustressede fisk. Resultatene for begge gruppene viser en økning i laktatnivå jo lengre torskene ligger tørt i kontainer. Etter 15 minutter lufteksponering var det liten forskjellen mellom gruppene, mens etter 30 minutter var laktatnivået for stresset fisk mye høyere enn ustressede. Resultatene viser at fisken påvirkes av å stå i avkastet, men at eksponering for luft er en mye større påkjenning og har større betydning for blodlaktatnivået.



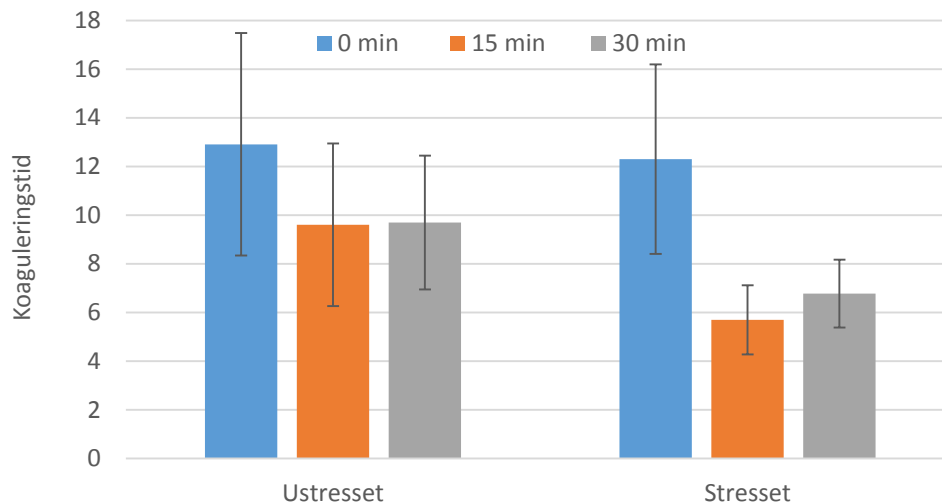
Figur 5 Utviklingen i glukose i blod hos torsk. Ustressede-gruppen ble håvet ut av merden mest mulig skånsomt, noen ble bløgget direkte andre ble lagret tørt i kontainer i 15 eller 30 minutter før bløgging. Ustressede-gruppen ble oppbevart 4 timer i et avkast før de ble håvet ut og bløgget etter 0, 15 eller 30 minutter oppbevaring tørt i kontainer. Grafene viser gjennomsnitt ± standardavvik. N=10 i hver gruppe.

I en stresssituasjon frigjøres med annet. katekolaminer (adrenalin og noradrenalin) og kortisol. En av funksjonene til disse hormonene er å mobilisere energi i form av glukose. Ofte ser glukosenivået ut til å øke i situasjoner der fisk utsettes for stress, særlig i perioden etter stresspåkjenningen. Økningen i glukosenivået er også sterk avhengig av forbruk. I dette forsøket var fisken utsatt for en ekstrem situasjon der den ble liggende i luft. Sannsynligvis går fisken raskt inn i en krisetilstand der mobilisering av «ny» glukose blir umulig. I tillegg vil økt hjerterytme og gjellebevegelser samt høy aktivitet, føre til at sirkulerende glukose raskt blir brukt opp. Fordi fisken i anoksisk miljø kun kan benytte seg av anaerob metabolisme, kan en vente at den høye aktiviteten fører til en opphopning av laktat og en nedgang i glukose. Dette ser en også for den ustressede gruppen. Det er mulig at denne gruppen forblir i live lenger enn den stressede fisken og at cellene dermed kan fortsette å ta opp glukose etter eksponering for luft. Hos den stressede fisken derimot, kan en tidligere død muligens bety at det i hovedsak er den intracellulære glukosen som omdannes til laktat via anaerob nedbryting og at en ikke har betydelig opptak av glukose av cellene. Dermed ser glukosenivået uforandret ut for denne gruppen. Denne forklaringen betyr også nødvendigvis at det intracellulære glukosenivået for denne gruppen er høyere enn for den ustressede fisken. Dette er ikke usannsynlig, da en venter en høy mobilisering av glukose gjennom den 4 timers stressperioden i avkastnoten.

4.1.2 Koagulerings tid avhengig av stress og temperatur

Effekten av stress på blodets koagulerings tid

Forsøket her skulle undersøke hvordan stress påvirker torskens blod med tanke på hvor fort blodet koagulerer. Når blodet koagulerer vil det si at det lever seg og dermed reduserer/stopper muligheten for å blø ut fisken.



Figur 6 Viser utvikling i koagulerings tid for blodet til torsken som ble håvet ut av merden minst mulig påvirket (ustresset) og de som ble holdt 4 timer i en avkastnot (stresset) før de ble håvet ut. Det var totalt 30 fisker i hver gruppe, 10 fisk i hver gruppe ble bløgget direkte, 20 stk ble liggende tørt i kontainer 15 (10 stk) og 30 (10 stk) minutter. Torsken som ble liggende tørt i kontainer ble dermed utsatt for et ekstra stressnivå. Koagulerings tiden ble målt i minutter og sier hvor lang tid den tok før det begynte å dannes koageler i blodet og at det dermed begynte å levre seg. Utgangstemperaturen på fisken var 9,7 °C.

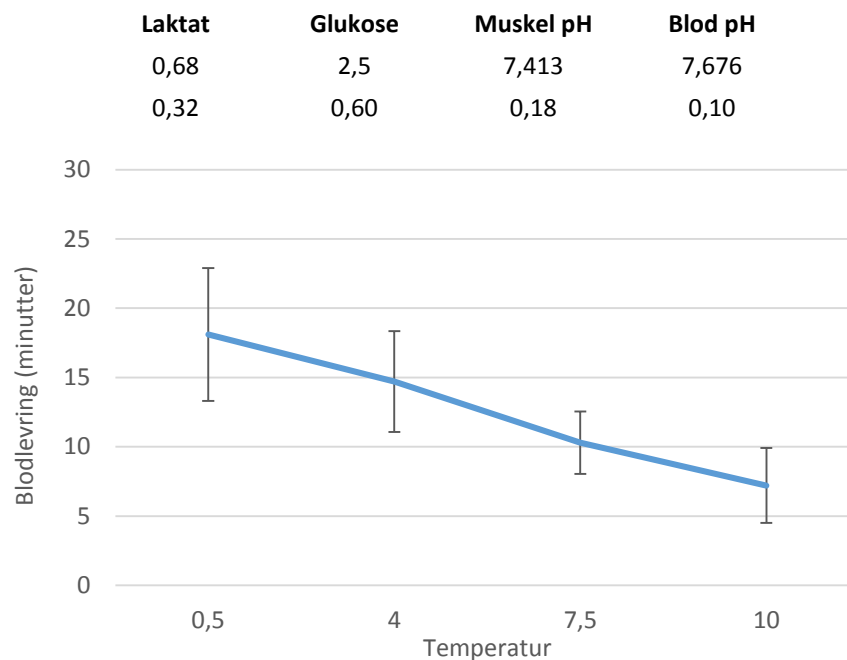
Resultatene som er presentert tidligere for muskelmålingen viser ikke store forskjellen mellom ustresset- og stresset-gruppene som ble bløgget direkte etter uttak fra merd eller avkast (0 min), men når torsken ble liggende tørt å dø i kontainerne ble muskelen påvirket. Resultatene for hvor lang tid det tar før blodet begynner å koagulere viser det samme, forskjellen er liten mellom gruppene 0 minutter, mens torsken som ligger henholdsvis 15 og 30 minutter i kontainer har kortere tid før blodet koagulerer både for ustresset- og stresset-gruppen.

Gruppen som er stresset i avkast og som fikk et tilleggs-stress ved å ligge tørt i kontainer, har ved alle målinger kortest tid før blodet koagulerer, noe som medfører at en har kortere tid for å få blodet ut av denne fisken. Gruppen som var holdt 4 timer i avkast har kortest tid før blodet koagulerer ved alle målingene. Dette viser at fisken påvirkes av all håndtering den utsettes for og at det ikke bare er negativt for muskelen, men at det også er negativt for egenskapene til blodet.

Temperaturens innvirkning på blodets koaguleringssevne

I tidligere forsøk er det vist at temperatur påvirker blodets egenskaper til laks (Bantle *m.fl.*, 2015). Her skulle en undersøke om det samme er tilfelle for torsk. Målet var å håve ut torsk som ikke var for mye stresset, og det ble løst ved at torsken ble føret til overflaten og deretter fanget med håv.

Tabellen under viser gjennomsnittsverdiene med standardavviket målt i muskelen og blodet til de 10 forsøksfiskene. Verdiene viser at fisken var lite stresset, noe som var et godt utgangspunkt for å måle temperaturens innvirkning på blodet.



Figur 7 Viser resultatet fra målinger gjort på 10 torsk, hvor blodet fra hver enkelt fisk ble fordelt ut på 0,5, 4, 7,5 og 10 grader og hvor gjennomsnittstiden (minutter) før blodet begynte å levre seg ble registrert. Standardavviket vises også i figuren. Utgangstemperaturen på fisken var 7,5 °C.

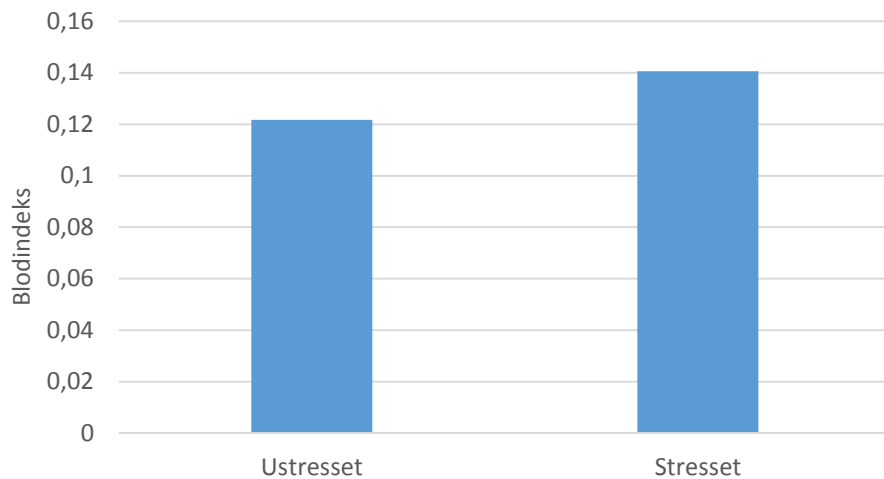
Temperaturen påvirker tiden det tar før torskblodet begynner å koagulere og resultatene viser god sammenheng mellom temperatur og tiden før blodet koagulerer. Ved 0,5 grader tok det i gjennomsnitt cirka 18 minutter før blodet begynte å koagulere, og vi kan se at ved 10 grader tok det litt over 7 minutter. Dette viser seg at temperaturen påvirker blodets egenskaper og at en lav temperatur er positivt.

Hvis disse sammenhengene også gjelder for blod inni torsk så er det en viktig parameter i forhold til utblødning. Spesielt med tanke på at vi vet at stress i tillegg påvirker blodets evne til å koagulere.

4.1.3 Blodindeks (instrumentelt målt restblod) avhengig av stressnivå

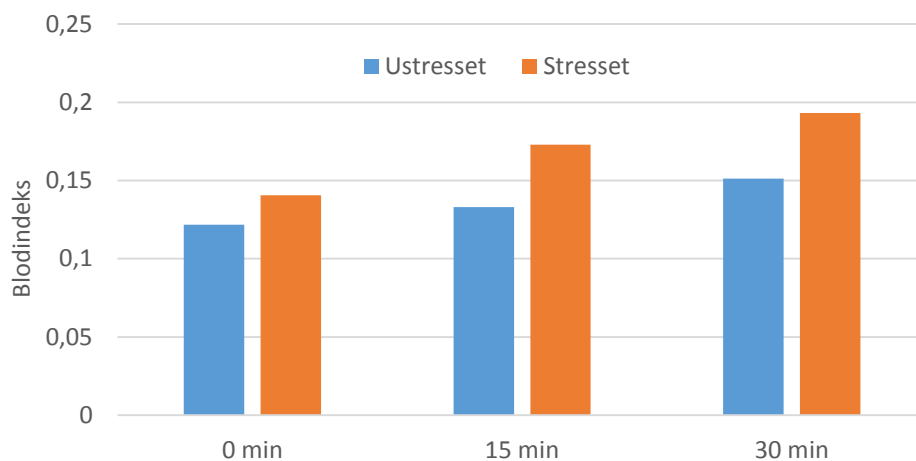
Blodindeks avhengig av stressnivå

I forsøket ble det gjennomført instrumentelle målinger av blod i ferske fileter fra torsk. Det ble ikke vurdert visuelt da det tidligere er vist svært gode sammenhenger mellom visuelt vurdert og instrumentelt målt restblod (Heia *m.fl.*, 2012). Forsøkene viser at stress og temperatur påvirker blodets egenskaper, og videre forsøk ble gjort for å undersøke om det var noen sammenheng mellom stress og restblod i fileten.



Figur 8 Viser resultatet for torsk som ble håvet ut av merden minst mulig påvirket (ustresset) og en gruppe som ble oppbevart 4 timer i avkast før håving (stresset). Blodindeks angir mengde restblod i filetene, høyere verdi indikerer mer restblod. N=10 i hver gruppe.

Fisken som hadde gått 4 timer i avkast har mer blod i fileten indikert med høyere blodindeks. Denne fisken har vært utsatt for mer stress en den andre gruppen, noe som viser at stress gir mer blod ut i muskelen hos fisken.



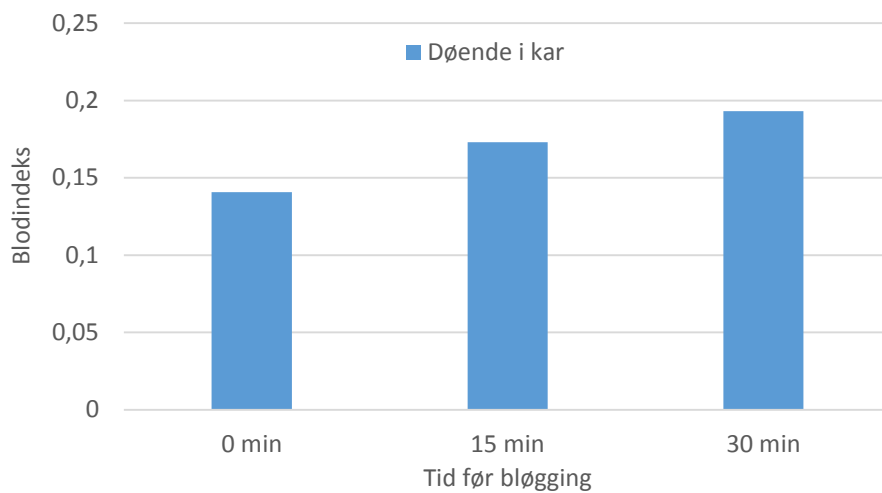
Figur 9 Viser torsk som ble håvet ut av merden minst mulig påvirket (ustresset) og en gruppe som ble oppbevart 4 timer i avkast før håving (stresset), i tillegg ble fisk fra begge gruppene lagret videre i 15 og 30 minutter tørt i containere før avlivning og bløgging. Blodindeks angir mengde restblod i filetene, høyere verdi indikerer mer restblod i muskelen. N=10 i hver gruppe.

Resultatene viser at fiskens muskel påvirkes av det den utsettes for og at mengde restblod i muskelen også gjør det. Forsøket er bygget opp for å simulere en vanlig fangstsituasjon i dag, hvor fisken gjerne utsettes for stress i redskapen og når fisken kommer ombord kan den bli liggende en stund før den bløgges noe som medfører ytterligere stress.

Blodindeks avhengig av om fisken er avlivet eller ikke

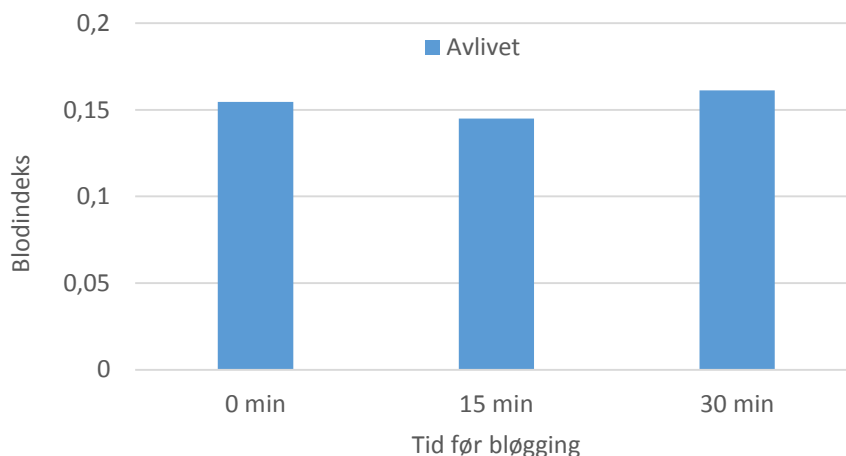
Vi har nå vist at fiskemuskel påvirkes av stress og som videre påvirker restblodet i muskelen. Økt mengde stress fører til økt mengde restblod, som kan relateres til at fisk stresses på/i redskapen og

ofte ligger en stund ombord i båtene før de blir bløgget. Resultatene under viser hva som skjer med blodmengden i fisken hvis den avlives eller ikke.



Figur 10 Viser torsk som ble håvet ut av merden og lagt levende i kontainer. Ti fisk ble bløgget direkte mens 20 stk ble lagret videre tørt i kontainer i 15 (10 stk) og 30 (10 stk) min før bløgging. Blodindeks angir mengde restblod i filetene, høyere verdi indikerer mer restblod i muskelen.

Resultatene viser at når torsk ligger «levende» i karene og stresser/er døende så pumper den blod ut i muskelen, noe som medfører en økt mengde restblod i muskelen, og dette blodet får en heller ikke fjernet med bløgging. Mengden av blod i muskelen øker med tiden torsk ligger i karet og er ubløgget. Som nevnt tidligere kan dette sammenlignes med det som skjer i deler av fiskeriene i dag.



Figur 11 Viser torsk som ble håvet ut av merden og avlivet med slag i hodet. Ti fisk ble bløgget direkte mens 10 stk ble slått i hodet og lagt tørt i kontainer i 15 og 30 minutter. Blodindeks angir mengde restblod i filetene, høyere verdi indikerer mer restblod i muskelen.

I motsetning til resultatene vist i Figur 10 ovenfor ble denne torsk avlivet med slag i hodet rett etter at fisken var håvet ut. Dette medførte at fisken ikke akkumulerte mere blod i muskelen mens den lå i karet. Dette kommer trolig av at fisken ikke får mulighet til å «jobbe» og stresse blod ut i muskelen på grunn av at den er død/bedøvet.

Forskjellen mellom torsk som avlives med slag i hodet og den som ligger i kontainere uten å bli avlivet er interessant. Fisk som avlives ved uttak fra havet får ikke mer restblod i muskelen selv om bløggingen utsettes, men gruppen av fisk som ligger «levende» i kontainer opparbeider seg mer blod i muskelen.

Oppsummering

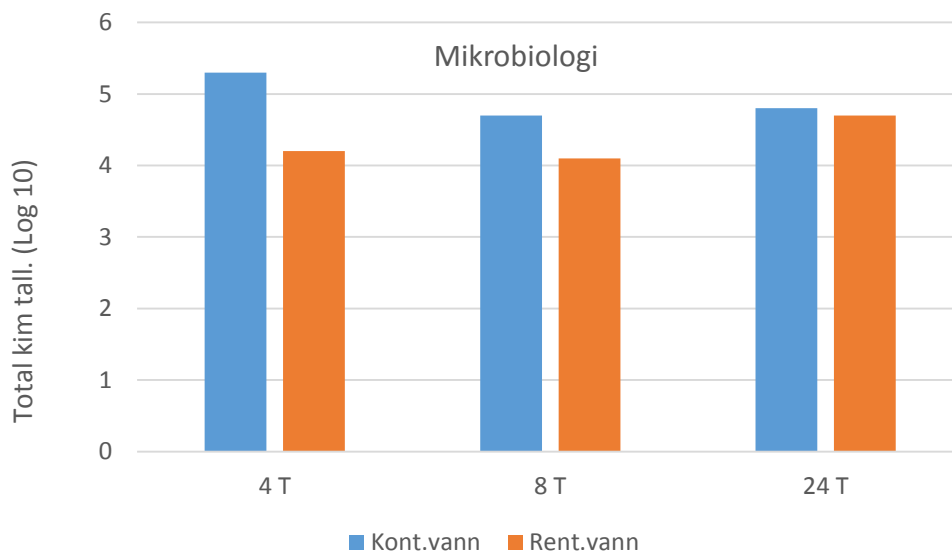
- Muskelen til fisken påvirkes negativt av økt belastning/stress.
- Koaguleringen/levringen: påvirkes av økt belastning/stress og temperatur.
- Stress av fisken i/på redskap og ombord medfører mer blod i muskelen.
- Om fisken er avlivet eller ligger og dør ombord påvirker blodmengden i fileten.
- Tiden før bløgging er klart viktigst og da spesielt hvis fisken ikke blir avlivet/bedøvet når den kommer ombord.
- Det er viktig at torsken stresser minst mulig på/i redskapen og at den ikke ligger lenge ombord før den bløgges, da dette medfører økt mengde restblod i muskelen.

4.2 Holdbarhet på torsk

4.2.1 Lagring i rent og kontaminert vann

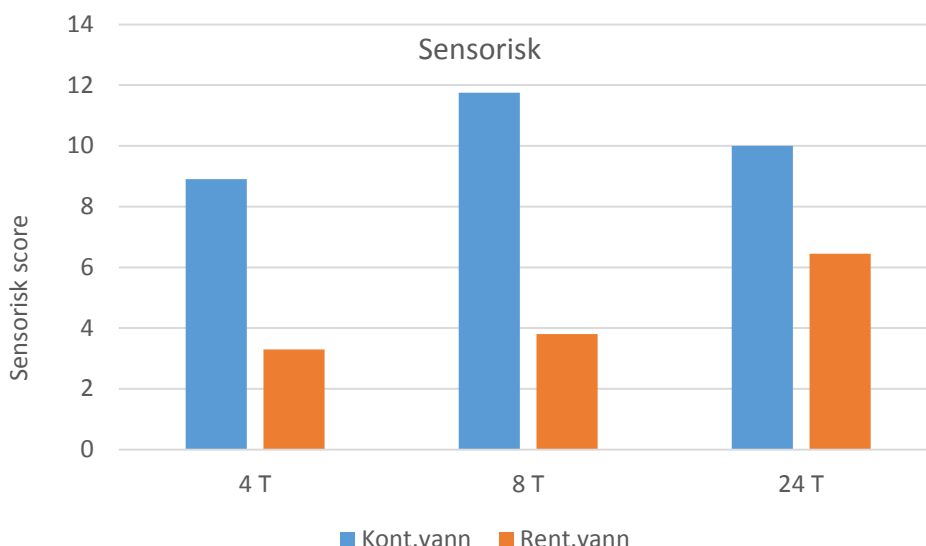
Lagring av sløyd torsk

Sløyd torsk ble lagret i rent eller kontaminert vann (vann med blod og rester av slo) i 4, 8 eller 24 timer ved 4 °C. Etter 10 dager ble det målt mikrobiologi og gjennomført en sensorisk vurdering av fisken.



Figur 12 Viser mikrobiologi (Log 10) målt på dag 10, for torsk lagret sløyd i 4 t, 8 t og 24 timer i rent eller kontaminert vann ved 4 °C og som ble lagret videre på is i 10 dager.

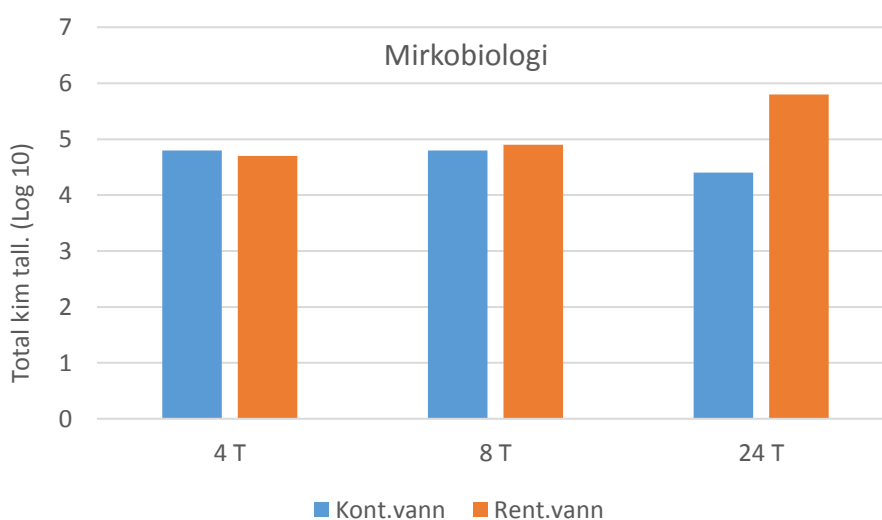
Det er ingen store forskjeller i mikrobiologien for gruppene, uavhengig om hvor lenge de har vært lagret og om det var i rent eller kontaminert vann. Gruppene av fisk som ble lagret i rent vann ligger litt lavere i antall bakterier enn de som ble lagret i kontaminert vann.



Figur 13 Viser sensorisk score målt på dag 10 (gjennomsnitt for alle parametrene og alle fiskene i gruppene), for torsk lagret sløyd i 4 t, 8 t og 24 timer i rent eller kontaminert vann ved 4 °C og som ble lagret videre på is i 10 dager.

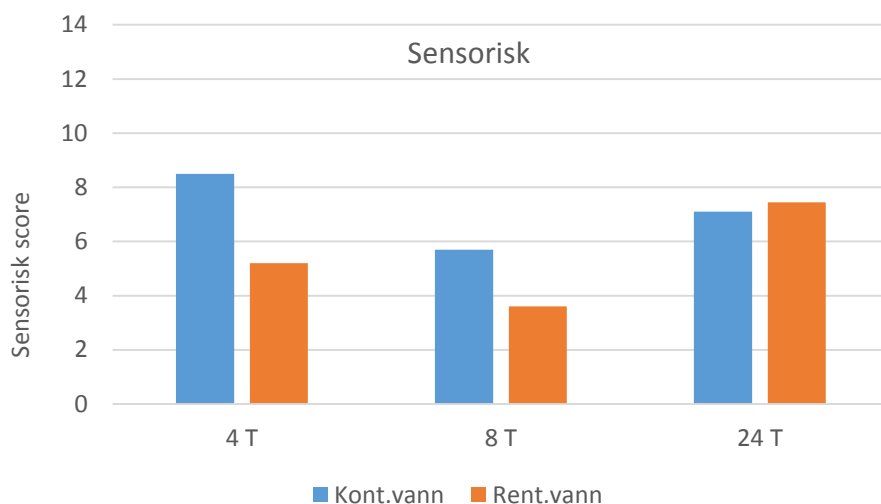
Det ble gjennomført en sensorisk vurdering av samme fisk som det ble målt mikrobiologi på og forskjellene var da store, gruppene av fisk som ble lagret i kontaminert vann kom klart dårligst ut, selv med bare lagring i 4 timer i kontaminert vann. De sensoriske egenskapene til fisken er en viktig faktor som kjøperne vurderer når de mottar råstoffet. Selv om det ikke var forskjell mikrobiologisk mellom gruppene så medførte lagring av sløyd fisk i kontaminert vann et dårligere resultat med hensyn på sensoriske egenskaper.

Lagring av rund torsk



Figur 14 Viser mikrobiologi (Log 10) målt på dag 10, for torsk lagret usløyd i 4 t, 8 t og 24 timer i rent eller kontaminert vann ved 4 °C og som ble lagret videre på is i 10 dager.

Resultatet viser at torsk som blir lagret rundt i 4, 8 og 24 timer i rent eller kontaminert vann ikke oppnår veldig forskjellig mikrobiologisk resultat. Gruppen som er lagret 24 timer i rent vann ligger noe høyere.

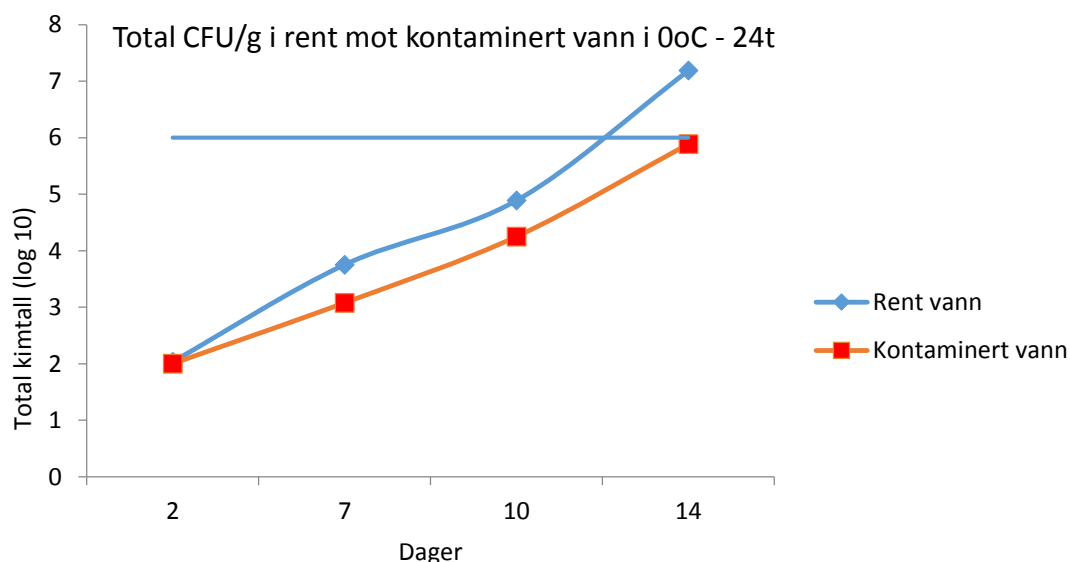


Figur 15 Viser sensorisk score målt på dag 10, for torskefilet lagret usløydd i 4 t, 8 t og 24 timer i rent eller kontaminert vann ved 4 °C og som ble lagret videre på is i 10 dager.

Sensorisk gir gruppen som er lagret rundt i kontaminert vann dårligst resultat, men forskjellene er ikke like store som for sløydd torsk. Dette er naturlig da rund torsk beskytter fisken mot det kontaminerte vannet, mens for en sløydd torsk er snittflater, nakken og så videre eksponert for det kontaminerte vannet og blir dermed påvirket.

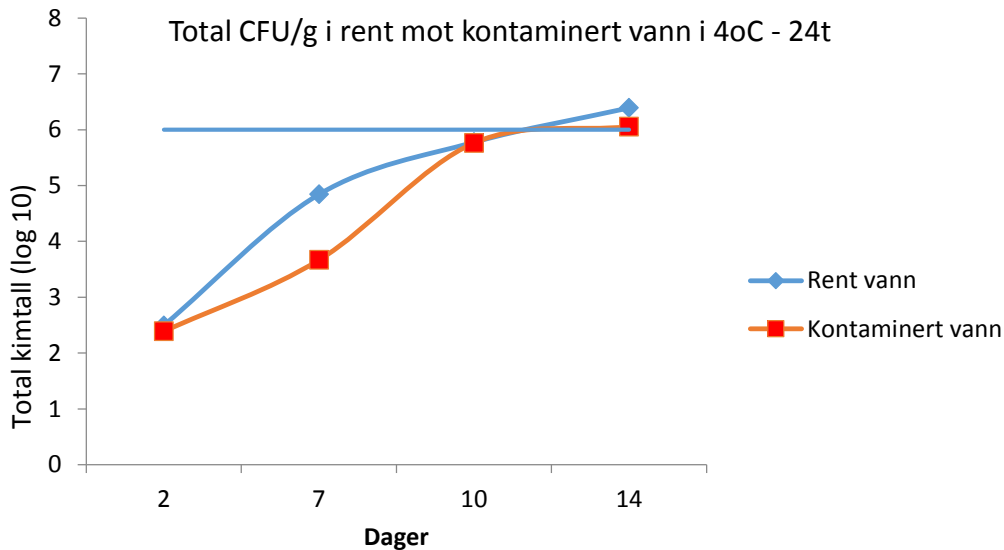
4.2.2 Lagring i rent og kontaminert vann med ulik temperatur

Torsken i forsøket ble lagret rundt i kontaminert eller rent vann, ved 4, 8 eller 10 ved 4 °C i 24 timer. Torsk ble så sløydd og lagret videre på is.



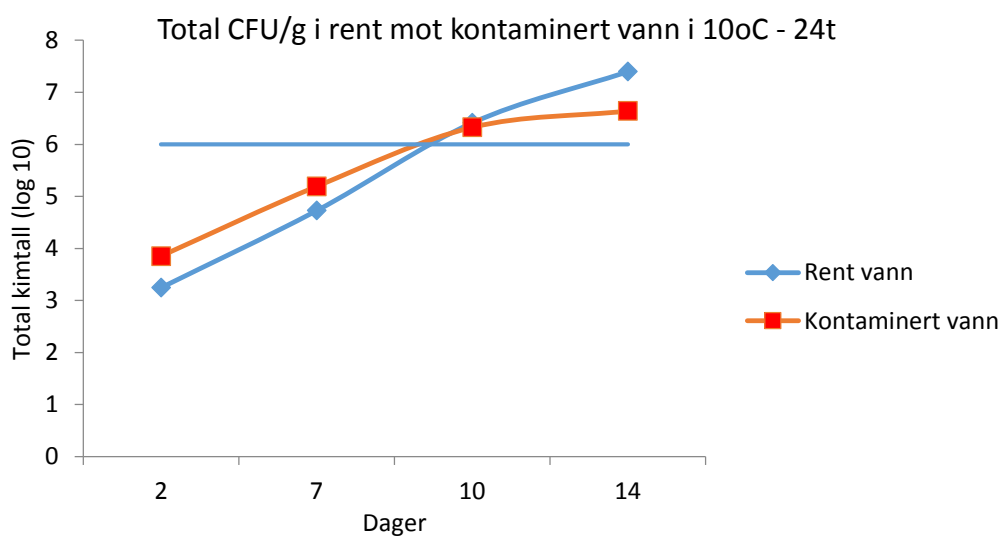
Figur 16 Viser mikrobiologisk resultat for torsk lagret rundt i 24 timer i rent eller kontaminert vann som holdt en temperatur på 0 °C. Videre lagring av torsken ble gjort sløydd og på is. Tidligere ble en metode fra Nordisk Metodikk komite for Næringsmidler benyttet som retningslinje for kimtall i fisk. Anbefalingen her var at kimtallet ikke burde overstige 5×10^5 per gram fisk og ikke skulle overstige 5×10^6 (Esaassen m.fl., 2010). Grensen 5×10^6 vises som en blå linje i figuren.

Fisken som ble lagret ved 0 °C i rent vann i 24 timer hadde høyere mikrobiologisk vekst enn gruppen som ble lagret like lenge i kontaminert vann med samme temperatur. Hvis en benytter den tidlige grensen for kimtall så har torsk lagret i rent vann i 24 timer en holdbarhet på litt over 12 dager, mens de som ble lagret i kontaminert vann en holdbarhet på 14 dager. En sensorisk vurdering av råstoffet ble også gjort og da kom torsk lagret i rent vann best ut, selv om forskjellene ikke var så store.



Figur 17 Viser mikrobiologisk resultat for torsk lagret rundt i 24 timer i rent eller kontaminert vann som holdt en temperatur på 4 °C. Videre lagring av torsk ble gjort sløyd og på is. Tidligere ble en metode fra Nordisk Metodikk komite for Næringsmidler benyttet som retningslinje for kimtall i fisk. Da burde ikke kimtallet overstige 5×10^5 per gram og skulle ikke overstige 5×10^6 (Esaassen m.fl., 2010). Grensen 5×10^6 vises som en blå linje i figuren.

Resultatene for torsk lagret rundt i 24 timer i rent eller kontaminert vann som holdt en temperatur på 4 °C er like for begge gruppene. Holdbarheten ligger på cirka 11 dager. Sensorisk vurdering av de to gruppene av fisken var også veldig lik.



Figur 18 Viser mikrobiologisk resultat for torsk lagret rundt i 24 timer i rent eller kontaminert vann som holdt en temperatur på 10 °C. Videre lagring av torsk ble gjort sløyd og på is.

Resultatene for torsk lagret rund i 24 timer i rent eller kontaminert vann som holdt en temperatur på 10 °C er like for begge gruppene. Holdbarheten ligger på cirka 9 dager. Men på sensorisk vurdering av de to gruppene av fisken var gruppen lagret i kontaminert vann dårligst.

Oppsummering holdbarhet:

- 1 Om fisken lagres i rent eller kontaminert vann har størst innvirkning på sensorisk kvalitet og da spesielt hvis fisken er sløyd.
- 2 Temperatur er viktig for holdbarheten.
- 3 Økt temperatur i et døgn reduserte holdbarheten.
 - 0 °C, 13 dager holdbarhet.
 - 4 °C, 11 dager holdbarhet.
 - 10 °C, 9 dager holdbarhet.

5 Oppsummering og konklusjon

Resultatene i dette forprosjektet viser tydelig at torsken påvirkes av det den utsettes for, det vil si at alt som skjer i/på redskapen og ombord i båten har innvirkning på muskelen og blodets egenskaper. Når fisken stresser øker den blodomløpet ut i muskelen for å takle opphopningen av melkesyre i muskelen, noe som medfører at muskelen blir rød. Denne rødfargen får en ikke fjernet med bløgging, derfor er det viktig at fisken ikke stresser for mye på/i redskapen eller etter at den er kommet ombord. For å unngå dette må fisken håndteres fint under fangst, og den bør helst avlives/bedøves direkte når den kommer om bord hvis det ikke er mulig å bløgge fisken innen en kort tidsfrist - umiddelbart.

Alternativt kan fisken levendelagres, men da må en være klar over at fisken må holdes i live i 6 timer for at rødfargen i muskelen skal være borte (Svalheim, unpublished data; Olsen *m.fl.*, 2013). Grunnen til dette er at fisken bruker disse timene til å restituere og «rense» muskelen etter fangst og dermed får fjernet blodet i muskelen.

5.1 Oppsummering stress og utblødning

- Muskelen til fisken påvirkes negativt av økt belastning/stress.
- Koaguleringen/levringen av blodet påvirkes av økt belastning/stress og temperatur.
- Stress av fisken i/på redskap, ombord medfører mer blod i muskelen.
- Om fisken er avlivet eller ligger og dør ombord påvirker blodmengden i fileten.
- Tiden før bløgging er klart viktigst og da spesielt hvis fisken ikke blir avlivet/bedøvet når den kommer om bord.
- Viktig at torsken stresser minst mulig på/i redskapen og at den ikke ligger lenge ombord før den bløgges, da dette medfører økt mengde restblod i muskelen.

5.2 Oppsummering holdbarhet

- Om fisken lagres i rent eller kontaminert vann de første timene etter fangst har størst innvirkning på sensorisk kvalitet og da spesielt hvis fisken er sløyd.
- Temperatur er viktig for holdbarheten og resultatene viser også at lav temperatur i utblødningsvannet er fordelaktig.
- Økt lagringstemperatur i et døgn reduserte holdbarheten:
 - 0 °C, 13 dager holdbarhet.
 - 4 °C, 11 dager holdbarhet.
 - 10 °C, 9 dager holdbarhet.

VIKTIG: Stress fisken minst mulig på redskapen, bedøv/avliv gjerne fisken og bløgg den raskest mulig etter at den er kommet ombord, blø ut i sirkulerende vann som har lav temperatur.

6 Leveranser fra prosjektet

- 1 Styringsgruppemøte gjennomført 22. april 2015 etter etablering av prosjektet.
- 2 Møtereferat etter styringsgruppemøte 22. april.
- 3 Presentasjon av resultater oppnådd i prosjektet:
 - FHF-konferanse 10.12.2015
 - Fagmøte hos Råfisklaget 01.12.2015, også deltakere fra FHF og Mattilsynet
 - Referansegruppemøte i Torskeprogrammet 09.12.2015
- 4 Styringsgruppemøte gjennomført 25.01.2016 gjennomgang av resultater oppnådd i prosjektet.
- 5 Faktaark om resultater oppnådd i prosjektet Nofima og Råfisklaget, februar 2015
- 6 Nettsak om resultater oppnådd i prosjektet.
- 7 Sluttrapport

7 Referanser

- Akse, L., T. Tobiassen & S. Joensen (2011). Bløggerrutiner ombord på fiskefartøy. Trål, kystline og garn. Rapport 50/2011, Nofima, Tromsø.
- Akse, L., S. Joensen, K. Heia, T. Tobiassen, A. Sivertsen & P.A. Wang (2012). Blodtapping av torsk - bløggemetoder og tid før bløgging eller direktesløying. Rapport 19/2012, Nofima, Tromsø.
- Bantle, M., H. Digre, T. Tobiassen, Tom S. Nordtvedt, Ole Stavset, Stein H. Olsen, Karsten Heia, Tor H. Evensen, Ragnhild A. Svalheim, Leif Akse, Kjell Midling, Eirik Svendsen, Helene Katrine Moe, Ulf Erikson (2015). Optimalisering av slakteprosessen for laksefisk. Ny teknologi for trenging i ventemerd, bløgging og kjøling.
- Esaiassen, M., K. Heia, H. Herland & A.H. Sivertsen (2010). Kvalitetsmålinger på Hvitfisk. Rapport 14/2010, Nofima, Tromsø.
- Gram, L. & H.H. Huss (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, **33**:19, pp. 121–137.
- Heia, K., A.H. Sivertsen, J.P. Wold, S. Ottestad, U. Böcker, M. Carlehög, T. Altintzoglou, I. Sone & B. Gundersen (2012). Automatisk kvalitetsdifferensiering av laksefilet. Rapport 7/2012, Nofima, Tromsø.
- Ruis, M.A.W. & C.J. Bayne (1997). Effects of acute stress on blood clotting and yeast killing by phagocytes of rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health*, **9**, pp. 190–195.
- Olsen, S.H., T. Tobiassen, L. Akse, T.H. Evensen & K.Ø. Midling (2013). Capture induced stress and live storage of Atlantic cod (*Gadus morhua*) caught by trawl: Consequences for the flesh quality. *Fisheries Research*, **147**, pp. 446–453.

