

Betydningen av pankreas sykdom (PD) for filetkvalitet av oppdrettslaks

Turid Mørkøre, Torunn Taksdal og Sveinung Birkeland





Nofima er et næringsrettet forskningskonsern som sammen med akvakultur-, fiskeri- og matnæringen bygger kunnskap og løsninger som gir merverdi. Virksomheten er organisert i fire forretningsområder; Marin, Mat, Ingrediens og Marked, og har om lag 470 ansatte. Konsernet har hovedkontor i Tromsø og virksomhet i Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Averøy.

Hovedkontor Tromsø
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: nofima@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Forretningsområdet marin driver forskning, utvikling, nyskaping og kunnskapsoverføring for den nasjonale og internasjonale fiskeri- og havbruksnæringen. Kjerneområdene er avl og genetikk, fôr og ernæring, fiskehelse, effektiv og bærekraftig produksjon, prosess- og produktutvikling av sjømat samt marin bioprospektering.

Nofima Marin AS
Muninbakken 9–13
Postboks 6122
NO-9291 Tromsø
Tlf.: 77 62 90 00
Faks: 77 62 91 00
E-post: marin@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Rapport

ISBN: 978-82-7251-872-0 (trykt) ISBN: 978-82-7251-873-7 (pdf)	Rapportnr: 17/2011	Tilgjengelighet: Åpen
--	-----------------------	---------------------------------

Tittel: Betydningen av pankreas sykdom (PD) for filetkvalitet av oppdrettslaks	Dato: 11. april 2011
	Antall sider og bilag: 22 + vedlegg
Forfatter(e): Turid Mørkøre, Torunn Taksdal og Sveinung Birkeland	Prosjektnr.: 2410
Oppdragsgiver: Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF) Kjell Maroni	Oppdragsgivers ref.: FHF # 553014
Tre stikkord: Oppdrettslaks, pankreas sykdom, PD, kvalitet	
Sammendrag: (maks 200 ord) Kvalitetslaks har god rødfarge og fasthet. Laksefileter med avvikende tekstur, bleke felter (skjolding) eller mørke flekker (melanin) er uønsket av foredlingsindustrien og av konsumentene. Det er mistanke om at laksens helsetilstand påvirker filetkvaliteten og at PD fører til kvalitetsforringelse. Formålet med studien var derfor å øke kunnskapen om kvalitet av oppdrettslaks etter PD-utbrudd. Fisken som ble benyttet i studien kom fra syv oppdrettslokaliteter med bekreftet PD-utbrudd og fire lokaliteter uten registrert PD-utbrudd. Laksen som hadde en gjennomsnittsvekt på 3,5kg ble filetert 3-4 dager etter slakting. Den ene filetsiden ble analysert rå, mens den andre filetsiden ble kaldrøkt etter tørrsalting eller stikksalting. Resultatene fra forsøket viste følgende: <ul style="list-style-type: none"> • Kroppformen var tynnere (lavere kondisjonsfaktor) hos laks 1-2 måneder etter PD-utbrudd men ikke etter 7-12 måneder. • Filetutbytte var lavere for laks slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd men det samme for laks slaktet 7-12 måneder etter PD-utbrudd • Utbytte etter røyking var noe lavere for laks med en tidligere PD diagnose. Prosessbetingelsene synes å ha betydning for effekten av PD for utbyttet. • Muskel pH: Ubetydelig forskjell mellom frisk fisk og fisk med tidligere PD-utbrudd • Teksturen i rå og tørrsaltet røkt filet var unormalt hard for laks slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd. Stikksalting ga bløtere tekstur og effekten av PD var mindre tydelig. • Filetspalting: Grad av filetspalting var lavere 1-2 måneder etter PD-utbrudd 	
forts..	

- Filetfarge: Noe lysere farge og høyere grad av skjolding etter PD-utbrudd. Rødfargen i standardområdet for fargemåling (NKS) var generelt innenfor normalområdet. 7-12 måneder etter PD-utbrudd fant vi ikke redusert filetfarge i rå eller røkt filet.
- Melaninflekker ble registret i fileter både i PD- fisk og kontrollfisk, men frekvensen var høyere etter PD-utbrudd.

Mikrobiologi: Det ble ikke funnet forskjell i bakterievekst i rå eller røkt filet etter PD-utbrudd

PD kan forårsake kvalitetsavvik, særlig for laks slaktet kort tid etter PD-utbrudd. Laks som slaktes 7-12 måneder etter PD-utbrudd synes å ha tilsvarende kvalitet som usmittet laks. Det er likevel grunn til å være på vakt og vi anbefaler å ta ut 30 laks til kvalitetsanalyse før fisken sendes ut på markedet. Utseendet bør vurderes i hele fileten, ikke kun Norsk Kvalitetssnitt.

Innhold

1	Innledning	1
2	Målsetting.....	3
3	Fiskemateriale og analyser	4
3.1	Fisken i forsøkene og behandling	4
3.2	Beregninger.....	5
3.3	Filetfarge og melanin.....	6
3.4	Tekstur og filetspalting	7
3.5	Væsketap ved lagring	8
3.6	Saltinnhold	8
3.7	Genuttrykk.....	8
3.8	Statistikk.....	8
4	Resultater	10
4.1	Rundvekt og kondisjonsfaktor	10
4.2	Utbytte.....	10
4.3	Muskel pH	11
4.4	Farge.....	13
4.5	Melanin.....	16
4.6	Tekstur	16
4.7	Filetspalting	16
4.8	Mikrobiologi	20
4.9	Saltinnhold	20
4.10	Genuttrykk.....	20
4.11	Spørreskjema.....	20
5	Sammendrag.....	21
6	Referanser.....	22

1 Innledning

PD (*Pancreas disease*) er en svært smittsom, meldepliktig virussykdom hos laks og regnbueørret. I Norge er sykdommen nå etablert i Rogaland, Hordaland, Sogn og Fjordane samt Møre og Romsdal sør for Hustadvika. PD kan gi relativt korte sykdomsforløp med høy dødelighet eller mer langstrakte forløp med lavere dødelighet over lengre tid. I etterkant av utbruddene registreres ofte minsket tilvekst, økt fôrfaktor og økt utgang av lang tynn fisk. Økonomiske konsekvensene for anlegg som rammes av PD er store, og sykdommen har stort potensial for videre spredning til nye geografiske områder.

Sykdommen deles ofte inn i sykdomsfasene: *akutt*, *sub-akutt*, *kronisk* og *regenerativ* fase. I den akutte fasen er bukspyttkjertelen (pankreas) alvorlig skadet, men etter ca. fire uker kan det ses begynnende regenerering. Fisk som overlever PD kan komme seg ganske bra, men det kan likevel observeres senskader i bukspyttkjertelen. Slik fisk er gjerne mindre og den har også en smalere fasing (lavere kondisjonsfaktor) og tidligere studier har også vist at fettinnholdet er lavere i innvoller og filet.

Bakgrunn

- **Sterk mistanke om at PD utbrudd medfører**
 - Dårlig prosessutbytte
 - Blek og skjoldet filet, ofte etter pakking eller prosessering
 - Bløt/ avvikende tekstur
 - Melaninflekker i filet
 - Væskeslipp
 - Kortere holdbarhet

Foredlingsindustrien har uttalt at det finnes en sammenheng mellom fiskens helsetilstand og filetkvalitet, og flere røykerier er skeptiske til å kjøpe lakseråstoff med dokumentert PD historikk. Kvalitetsproblemene kan være synlige umiddelbart etter filetering, eller de kan fremkomme etter røyking/vakuumpakking. For eksempel kan fileter med tilsynelatende god kvalitet som ferske, bli skjoldete etter røyking/ vakuumpakking. Uttalelsene er basert på ervervet kunnskap om at råstoffet ikke er egnet for produksjon av kaldrøykte produkter på grunn av fargeavvik, teksturendringer og redusert holdbarhet. Målsetningen i prosjektet var å gjennomføre objektive målinger av ferske og røykte fileter for å avdekke betydningen av PD for kvaliteten i oppdrettslaks, samt undersøke om prosessbetingelser ved røyking har betydning for kvalitetsavvik av kaldrøykte fileter av laks etter PD-utbrudd. Et spørreskjema

ble også utarbeidet i samarbeid med FHF og sentrale næringsaktører for å avdekke som fiskens historie (vaksine, fôr, andre sykdommer osv.) eller slaktebehandling påvirker sluttkvaliteten på røykte fileter av PD-laks. Prosjektet ble ledet av Nofima Marin med Nofima Mat og Veterinærinstituttet som sentrale samarbeidspartnere. Flere oppdrettere bidro med fisk og bakgrunnsinformasjon, spesielt Marine Harvest Norge og Havdyrkerne. Utvalgte laks ble røkt ved et kommersielt røkeri (Maritim Food) i tillegg til røyking ved småskala røykeriet ved Nofima Mat.



Figur 1 Laksfilet med ujevn farge (skjolding). Slike fileter gir et dårlig inntrykk og er uønsket som råstoff for røyking. Prosjektet skulle undersøke om PD gir økt frekvens av slike fargeavvik.

2 Målsetting

I dette prosjektet var hovedformålet å kartlegge betydningen av PD for kvaliteten hos fersk og røkt laks. Tilnærmingen var tredelt:

- A. Undersøke betydningen av PD-utbrudd for kvaliteten på fersk rå laksefilet og tørrsaltet og stikksaltet røkt laksefilet.
- B. Undersøke om avstand fra PD-utbrudd har betydning for kvaliteten av ferske og røkte laksefileter
- C. Undersøke om laksens forhistorie har betydning for kvaliteten - epidemiologisk undersøkelse.

Egenskaper som ble studert og ansvar:

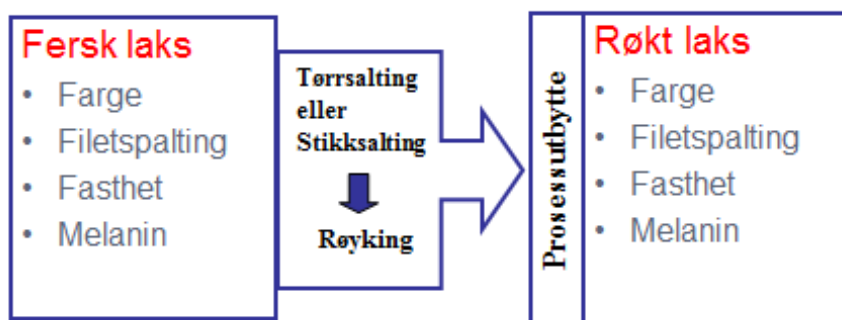
- Nofima Marin: organisering av prøveuttak, filetfarge, filetpalting, tekstur, vannbinding, fettinnhold, genuttrykk, statistisk bearbeiding og tolkning (Turid Mørkøre).
- Nofima Mat (Stavanger): røyking, pakking, utbytte, bakteriologi, saltinnhold (Sveinung Birkeland)
- Veterinærinstituttet: kunnskap om patogenese og sykdomsdiagnostikk, bidrag ved innhenting av sykdomshistorie samt diagnostiske undersøkelser (Torunn Taksdal).

3 Fiskemateriale og analyser

3.1 Fisken i forsøkene og behandling

Laksen i undersøkelsen ble innhentet fra 7 anlegg på Vestlandet med tidligere PD-utbrudd. Som referanse ble laks fra 4 anlegg uten registrert PD-utbrudd undersøkt. Vi undersøkte til sammen 16 laks fra hvert anlegg. Høyre filetside fra hver laks ble analysert rå etter filetering. Halvparten av de venstre filetsidene ble tørrsaltet mens den andre halvparten ble saltet ved lagesprøyte, 8 fileter for hver saltemetode. Laksen fra 3 av anleggene var diagnostisert med PD 1-2 måneder før slakting mens laks fra 4 av anleggene i forsøket var diagnostisert med PD 7-12 måneder før slakt. Laks fra alle anleggene ble prosessert ved småskala røykeriet ved Nofima Mat i Stavanger (kaldrøyking ved 22 grader). I tillegg ble laks fra ett av anleggene med PD-utbrudd ett år før den ble slaktet prosessert ved et kommersielt prosessanlegg (n=8). Etter røyking ble filetene vakuumpakket og analysert etter tre ukers lagring ved 4 grader.

Analyser & behandling



Figur 2 Laksen i undersøkelsen kom fra syv anlegg med bekreftet PD smitte og fire anlegg med frisk fisk, 16 laks per anlegg. Laksen ble håndfiletert og trimmet før den ble analysert fersk (16 fileter per anlegg) eller etter røyking (8 fileter tørrsaltet og 8 fileter stikksaltet per anlegg). Disse filetene ble prosessert ved et laboratorierøykeri. Det ble i tillegg gjennomført en testrøyking ved et kommersielt røykeri.



Figur 3 Veterinærinstituttet undersøkte fisken med henblikk på sykdomsstatus.

3.2 Beregninger

Formen på fisken er uttrykt som kondisjonsfaktoren som er beregnet som:

Sløyd vekt (gram) / lengde³ (cm) x 100

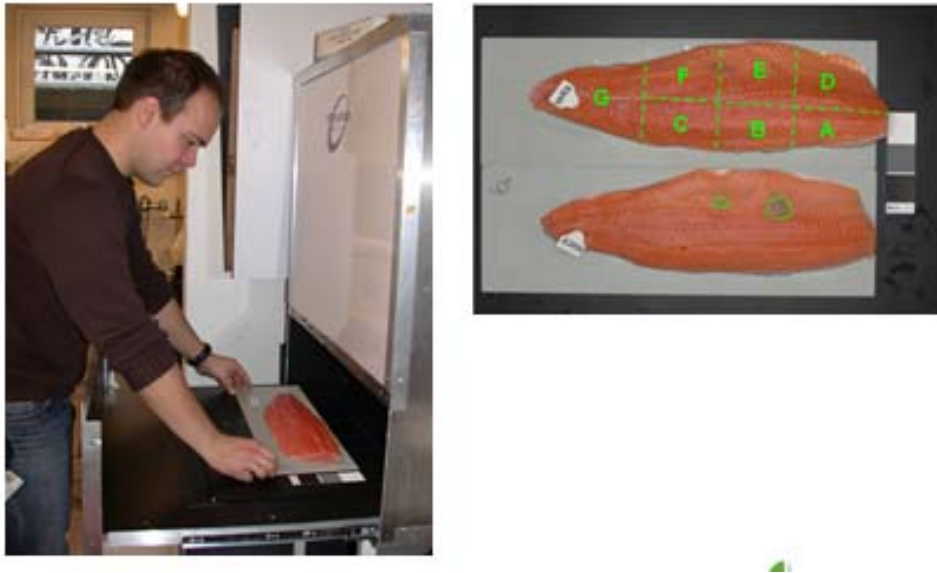
Utbytte etter filetering (Filetutbytte): 100 x vekt av høyre + venstre filet/ Vekt av sløyd fisk

Utbytte etter røyking og salting (Røykeutbytte): 100 x Vekt av røkt filet/ Vekt av trimmet filet

Utbytte etter filetering, trimming, salting og røyking (Total utbytte): 100 x Vekt av røkt filet / sløyd vekt

3.3 Filetfarge og melanin

Filetfargen av rå og røkt filet ble analysert ved bildeanalyse ved bruk av PhotoFish teknologi som beskrevet av Folkestad m.fl. (2008). Filetene ble fotografert ved bruk av et såkalt Dolphin Camera under standardiserte lysbetingelser. Fargen ble målt som L^* (lyshet), a^* (rødhet) og b^* (gulhet) på syv forskjellige punkter av fileten (Figur 4). Resultatene ble omregnet til poeng i forhold til Roche SalmoFan poeng-skala for punkt C i Figur 4 (tilsvarende Norsk Kvalitetssnitt, NKS). Måling av fargen i så mange punkter ga oss mulighet til å beregne variasjonen i farge innen samme filet og derved mulighet til å vurdere om PD gir økt variasjon i farge innen samme filet og mellom fileter. Lokalisering og størrelse av melaninflekker ble også registrert ved bildebehandling i samme program.



Figur 4 Filetfarge og melanin ble målt ved bildeanalyse ved bruk av PhotoFish teknologi. Filetene ble inndelt i 7 ulike felter og variasjonen i farge innen samme filet ble analysert i tillegg til gjennomsnittlig fargeintensitet. Melanin flekker ble kvantifisert som total areal av det mørk pigmenterte området av fileten.

3.4 Tekstur og filetspalting

Teksturanalysene ble utført ved bruk av et Texture-Analyzer instrument (TA-XT2 fra Stable Microsystems, Surrey, UK) ved at en 12,5 mm dia sylinder ble trykket inn i fileten rett i forkant av ryggfinner med en konstant hastighet (1 mm/s; 90% av filethøyden). Analysen ble gjentatt to ganger med en avstand på 3 cm mellom målepunktene (Figur 5 og 6). Kraften som skulle til for å bryte gjennom filetoverflaten ble registrert (bruddstyrken). Denne måleparameteren har vist seg å samsvare godt med sensorisk oppfattelse av fasthet i tidligere studier (Mørkøre og Einen 2003). Samme analysemetoden ble brukt på rå og røkte fileter. Grad av filetspalting ble bedømt etter en skala fra 0 – 5 (Andersen m.fl., 1994).



Figur 5 Fastheten i fileten ble målt instrumentelt.

3.5 Væsketap ved lagring

En muskelskive a 12 gram ble skåret fra loinen, som vist i Figur 6. Muskelskiven ble lagt på en absorberende matte som ble lagret i en forseglet plastikkpose ved 3 grader i 4 dager. Væsketapet ble beregnet som vekttap i forhold til opprinnelig muskelvekt. Analysene ble utført på rå og røkt muskel.

3.6 Saltinnhold

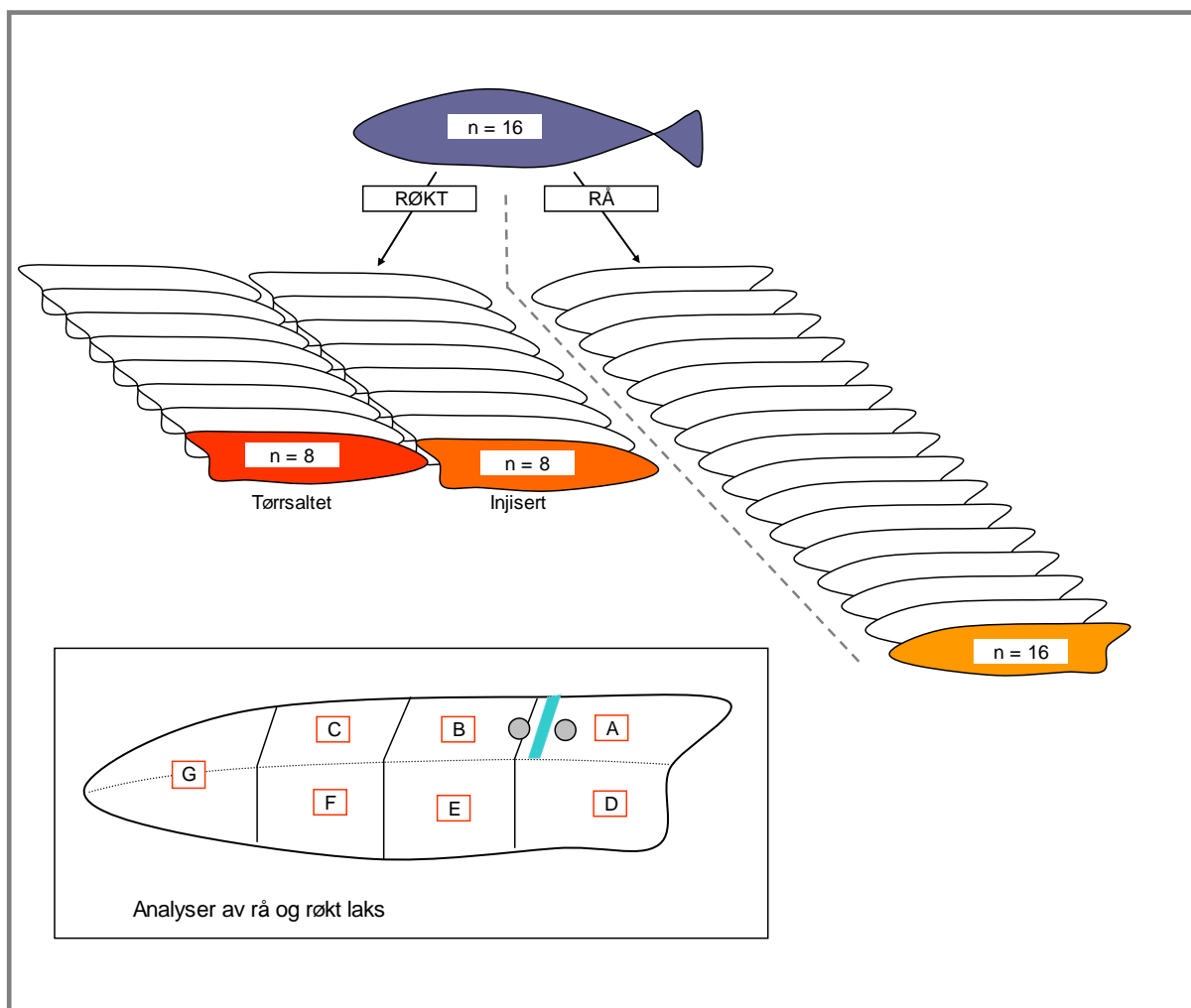
Saltinnholdet (NaCl konsentrasjon) i muskel ble målt i henhold til metoden beskrevet av Engdahl og Kolar (1993).

3.7 Genuttrykk

Genuttrykk ble undersøkt av usmittet og PD smittet laks ved et av uttakene. Det ble tatt prøver av hjertespiessen umiddelbart etter avliving. Prøvene ble lagt på RNA later og senere analysert ved mikroarray. Mikroarray chipen vår inneholder 1800 gener derav 250 utelukkende er involvert i immunrespons og 275 involvert i stressrespons (tallene er langt høyere når man tar i betraktning at mange gener er multifunksjonelle og involvert flere ulike prosesser).

3.8 Statistikk

Resultatene ble hovedsakelig bearbeidet i statistikkprogrammet SAS (Statistical Analysis System). Det ble kjørt t-test og variansanalyser for å undersøke om det fantes statistiske forskjeller mellom laks med og uten PD-utbrudd. Resultatene ble justert for variasjon i fiskestørrelse og samspillseffekter mellom fiskestørrelse og sykdomsstatus ble inkludert i de statistiske modellene der det var relevant. Videre undersøkte vi om avstand fra PD diagnose til slakting hadde betydning for filetkvaliteten.



Figur 6 Skjematisk illustrasjon som viser hvor på fileten de ulike analysene ble utført. Det ble benyttet laks fra 11 lokaliteter, 7 lokaliteter med positiv PD diagnose og 4 lokaliteter uten positiv PD diagnose; 16 laks fra hver lokalitet. Den ene filetsiden ble analysert rå, mens den andre filetsiden enten ble tørresaltet eller stikksaltet før røyking. Fileten som er innrammet nederst til venstre illustrerer hvor de ulike analysene ble utført. De røde rektanglene viser hvor fargen ble målt (punkt A-G), de grå sirkelene viser hvor teksturen og pH ble målt mens den blå stripen mellom teksturpunktene viser hvor væskebindingsevnen ble analysert. Kjemiske målinger ble utført i koteletter med punkt C og F som tilsvarer norsk kvalitetsnitt.

4 Resultater

4.1 Rundvekt og kondisjonsfaktor

Rundvekten av laksen som ble undersøkt varierte fra 3 til 4 kilo, med et gjennomsnitt på 3,5 kg. Kondisjonsfaktoren var lavere for laks som ble slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd, men etter 7-12 måneder var den gjennomsnittlige kondisjonsfaktoren på samme nivå som for usmittet laks (Figur 7).

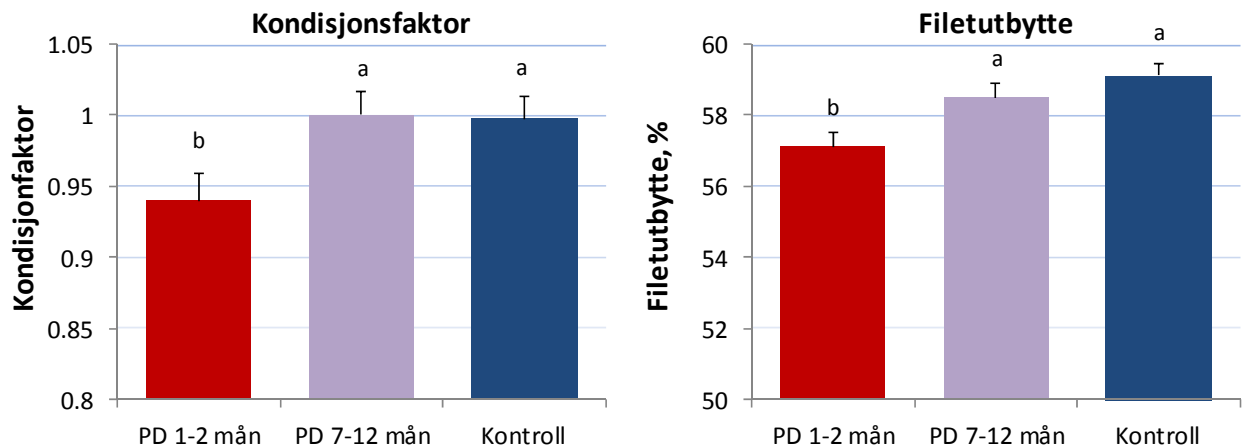
4.2 Utbytte

Utbytte ved filetering, beregnet som prosent av sløydvekt, var noe lavere for laksen som ble slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd, men etter 7-12 måneder var filetutbyttet omtrent på samme nivå som for laksen fra anlegg uten PD-utbrudd (Figur 7). Årsaken til det lavere filetutbytte for laksen som ble slaktet kort tid etter PD-utbrudd var antakelig lavere muskelfylde (lavere kondisjonsfaktor).

Laksen ble røykt ved et småskala anlegg under kontrollerte betingelser ved bruk av enten tørrsalting eller injisering med mettet saltløsning. Laks fra ett av uttakene (PD -utbrudd ett år før den ble slaktet og frisk laks) ble i tillegg røykt ved et kommersielt røykeri som en referanse. Laksen som ble røykt ved det kommersielle prosessanlegget kom fra to nabo lokaliteter og ble prosessert samtidig ved det kommersielle røykeriet og laboratorierøykeriet.

Resultatene viste at PD-laksen hadde et noe lavere utbytte frem til ferdig røykt filet enn den laksen fra anlegg uten PD-utbrudd. I gjennomsnitt var utbyttet høyere for laksefiletene som var stikksaltet (59,7 og 60% for hhv. PD og kontroll-laks) enn for tørrsaltede fileter (52,7% vs. 53,7 for hhv. PD og usmittet laks) (Tabell 1).

Utbyttet for laksen som ble prosessert ved det kommersielle anlegget var betydelig lavere for PD-laks enn for den kontroll-laksen (Fig. 7). Det at effekten av PD på utbyttet varierte så mye mellom prosessanlegg tyder på at finnes et samspill mellom råstoffkvalitet og prosessbetingelser og kan være med på å forklare hvorfor noen prosessanlegg opplever negative effekter av PD på utbyttet mens andre ikke ser slike tydelige effekter.



Figur 7 Kondisjonsfaktor og filetutbytte beregnet som prosent av sløydvekt for laks med ulik avstand fra PD-utbrudd og usmittet laks (Kontroll). Hver søyle representerer gjennomsnitt for laks fra 3-4 lokaliteter og standardfeil. Ulike bokstaver over søylene indikerer statistisk sikker forskjell mellom gruppene. Laks med PD har gjerne en tynnere kroppsform (lav kondisjonsfaktor). Derved gir PD syk laks et lavere filetutbytte enn frisk laks. Utbyttet normaliserer seg for fisk som kommer seg etter sykdommen. For noen laks forblir kondisjonsfaktoren lav, men slik fisk har gjerne dårlig vekst ("pinner"), og nedklasses før den kommer til filetering.

4.3 Muskel pH

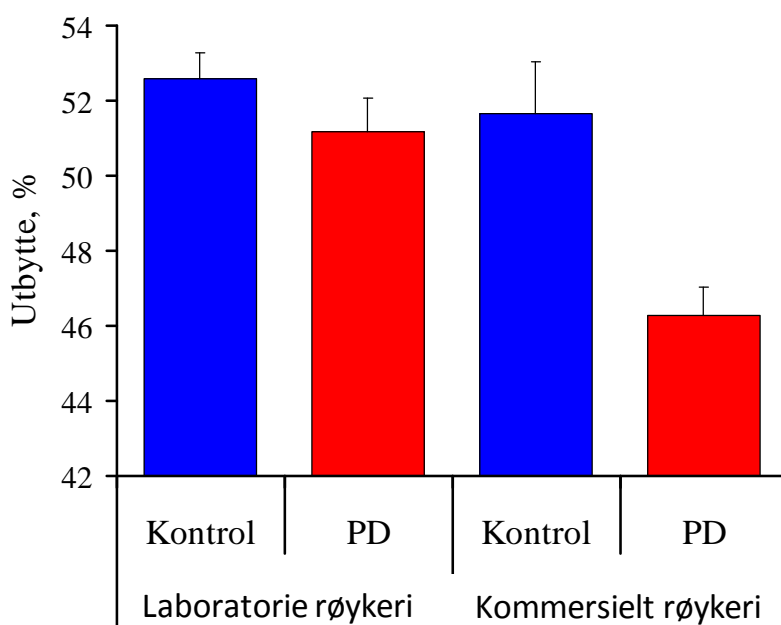
Laks som er i godt hold har lavere pH i muskelen enn laks som har lavere næringsstatus. Det kommer av at laks som spiser godt bygger opp glykogenlagre som etter avliving blir omdannet til melkesyre. Laks med høye glykogenlagre vil derfor få en høyere opphopning av melkesyre etter avliving og derav lavere pH enn laks med lavere glykogenlagre. Resultatene viste at laks fra anlegg med tidligere PD-utbrudd og laks uten positiv PD diagnose hadde omtrent samme pH i muskelen (Tabell 1).

Tabell 1 Kvalitetsegenskaper i fersk og røkt filet samt utbytte for laks diagnostisert med PD 1-12 måneder før slakt og laks uten positiv PD diagnose.

	KONTROLL		PD	
	Gjennom snitt	Variasjon	Gjennomsnitt	Variasjon
Ferske fileter				
Fileter med melanin, %	25	0 – 44	30	10 – 70
Muskel pH	6.27	6.12 - 6.44	6.23	6.13 – 6.36
Filetspalting, poeng ¹	1.4	0 - 2.4	0.8	0 – 1.4
Røkte fileter				
Filetspalting, poeng				
-Injisering	3.1	2.6 - 3.2	2.1	0.3 – 3.3
-Tørresalting	1.2	0.9 – 1.4	1.2	0.1 – 3.1
Utbytte, %²				
-Injisering	61.0	56.3 – 63.2	59.7	56.7 – 62.0
-Tørresalting	53.7	59.6 – 56.7	52.7	51.2 – 54.3

¹Målt i hht Andersen et al., 1994

²Filetvekt etter røyking/sløyd vekt * 100



Figur 8 Utbytte ved røyking av laks som ble slaktet et år etter PD-utbrudd (rød) og laks uten positiv PD diagnose (blå). Laksen som var fra to nabolokaliteter ble slaktet og prosessert samtidig ved to ulike røykerier ved bruk av tørresalting. Ved laborierøykeriet ble det benyttet en salt-sukker blanding, mens laborierøykeriet benyttet kun salt. All laksen ble kaldrøkt, men røykebetingelsene var forskjellige.

4.4 Farge

Laks som er i utbrudd eller er slaktet kort tid etter utbrudd (1-2 måneder) har ofte blek og skjoldet farge, også målt som lavt innhold av pigment, men etter 7-12 måneder synes fargen å normalisere seg for laks som kommer seg etter sykdomsutbrudd. Det er kun unntaksvis at en da ser forhøyet frekvens av blek filet. Likevel er det grunn til å være på vakt. I enkelte tilfeller oppnår laksen ikke en god farge etter PD sykdom – sannsynligvis på grunn av varige muskelskader. For slik laks vil det være vanskelig å oppnå god og jevn innfarging av fileten. Dersom kontrollprøver av fargen tyder på redusert innfarging, kan det være nyttig å foreta mikroskopering av muskelen for å avsløre om den er i stand til å deponere pigment. Slike histologiske undersøkelser ved et laboratorium kan gi en pekepinn på om det lønner seg å tilsette ekstra pigment i fôret eller om en slik ekstra kostnad er bortkastet.

Figur 10 nedenfor viser gjennomsnittlig lyshet (målt ved bildeanalyse) for all laksen som ble undersøkt. Resultatene viser at PD gruppen hadde lysere farge enn kontrollgruppen, men det var i hovedsak laksen som ble analysert 1-2 måneder etter PD-utbrudd som bidro til den lysere filetfargen av PD gruppen.

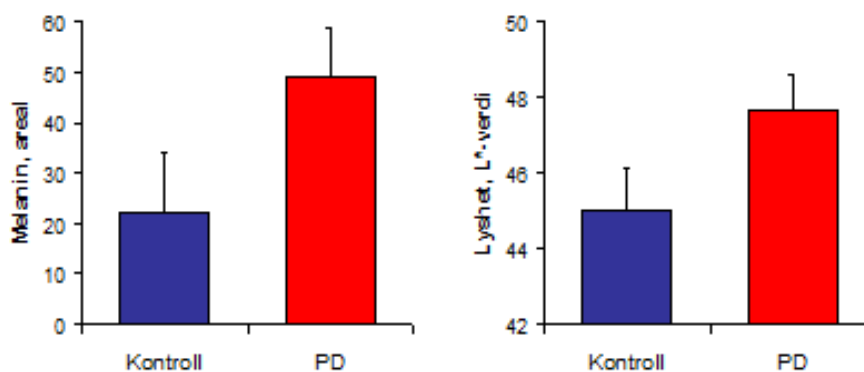
Laks som var tatt ut til analyse ett år etter PD-utbrudd ble analysert både ved småskala røykeri (tørresalting og stikksalting) og ved et kommersielt røykeri (tørresalting). Filetene ble lagret i kjølerom ved 4 °C. Resultatene viste som forventet at fargen varierte mellom ulike deler av fileten, med den mest intense rødfarge i den bakre filetdelen (Norsk Kvalitetssnitt, NKS) og den blekeste fargen i buken. Laksen som kom fra lokaliteten som hadde PD-utbrudd ett år før slakting, hadde ikke dårligere innfarging enn kontrollfisken (Figur 11).

Laksefileter fra lokaliteter med PD smitte kan ha varierende farge og form. Disse filetene er av laks fra samme lokalitet. PD virus var verifisert i begge laksene

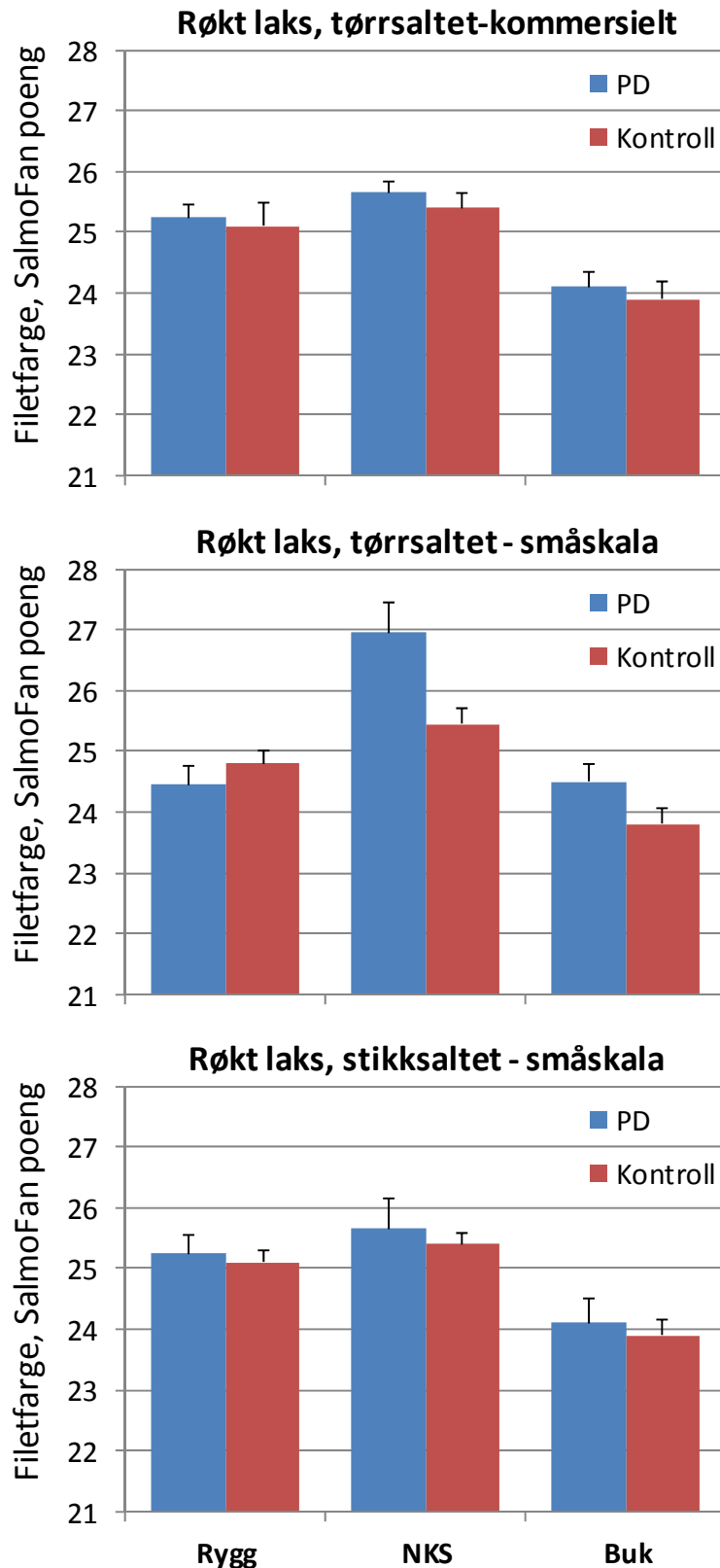


Figur 9 Fileter av laks fra samme anlegg.

Utseende, fersk filet



Figur 10 Gjennomsnittlig størrelse på melaninflekker og lysheit i filet av laks med og uten positiv PD diagnose (slaktet 1 – 12 måneder etter utbrudd).



Figur 11 Filetfarge målt i ulike deler av røkt filet av laks ett år etter PD-utbrudd (blå) og i laks uten positiv PD diagnose (rød). Laksen ble røkt ved et kommersielt røykeri (tørrsaltet) eller ved et småskala røykeri (tørrsaltet eller stikksaltet før røyking).

4.5 Melanin

Mørke flekker i fileten anses som svært negativt, spesielt dersom flekkene er store og dype. Flekker som er lyse og grunne blir gjerne trimmet bort, mens større og dypere flekker fører til nedklassifisering. Resultatene viste at laks fra lokalitetene med og uten positiv PD diagnose hadde mørke flekker i fileten, men frekvensen var høyere og flekkene var større i gjennomsnitt for PD gruppen. For laks fra anleggene med PD-utbrudd fant vi melanin både i buk- og ryggpartiet av fileten, mens melaninflekkene i kontrollgruppen var avgrenset til bukpartiet. Økt innslag av melanin så vi oftest hos synlig medtatt laks, nært opp til sykdomsdiagnosen (1-2 måneder). Laks med betydelig melanindeponering i filet hadde som regel lavere vekt og kondisjonsfaktor enn gjennomsnittet. Tabell 1 viser antall fileter med melanin (%), mens Figur 10 viser størrelsen på de mørke flekkene – målt som areal ved bildebehandling. Mørkpigmenterte områder ble analysert med henblikk på uttrykk av gen relatert til melanogenesen og funnet positive.

4.6 Tekstur

Vi ønsket å undersøke om det er hold i påstandene om at fileter fra anlegg med PD-utbrudd har nedsatt egnethet for prosessering på grunn av bløt tekstur. Vi undersøkte både rå og røkte fileter, og de røkte filetene ble enten tørrsaltet eller stikksaltet før røyking.

Resultatene viste at all laksen var fast i kjøttet og at laks fra anlegg med PD-utbrudd heller var fastere/ hardere i kjøttet enn den usmittede laksen (Figur 12). For enkelte av anleggene med positiv PD diagnose var laksen unormalt hard, både som rå filet og som tørrsaltet, røkt laks. Fileter som var stikksaltet før røyking var bløtere i kjøttet enn de som var stikksaltet og forskjellen mellom laks fra de ulike lokalitetene var betydelig mindre etter stikksalting. Det vil si at effekten av PD kom til uttrykk på ulike måter i tørrsaltet og stikksaltet laks. Dette er interessant og tilsier at det er mulig å styre kvaliteten i ønsket retning gjennom valg av saltemetode.

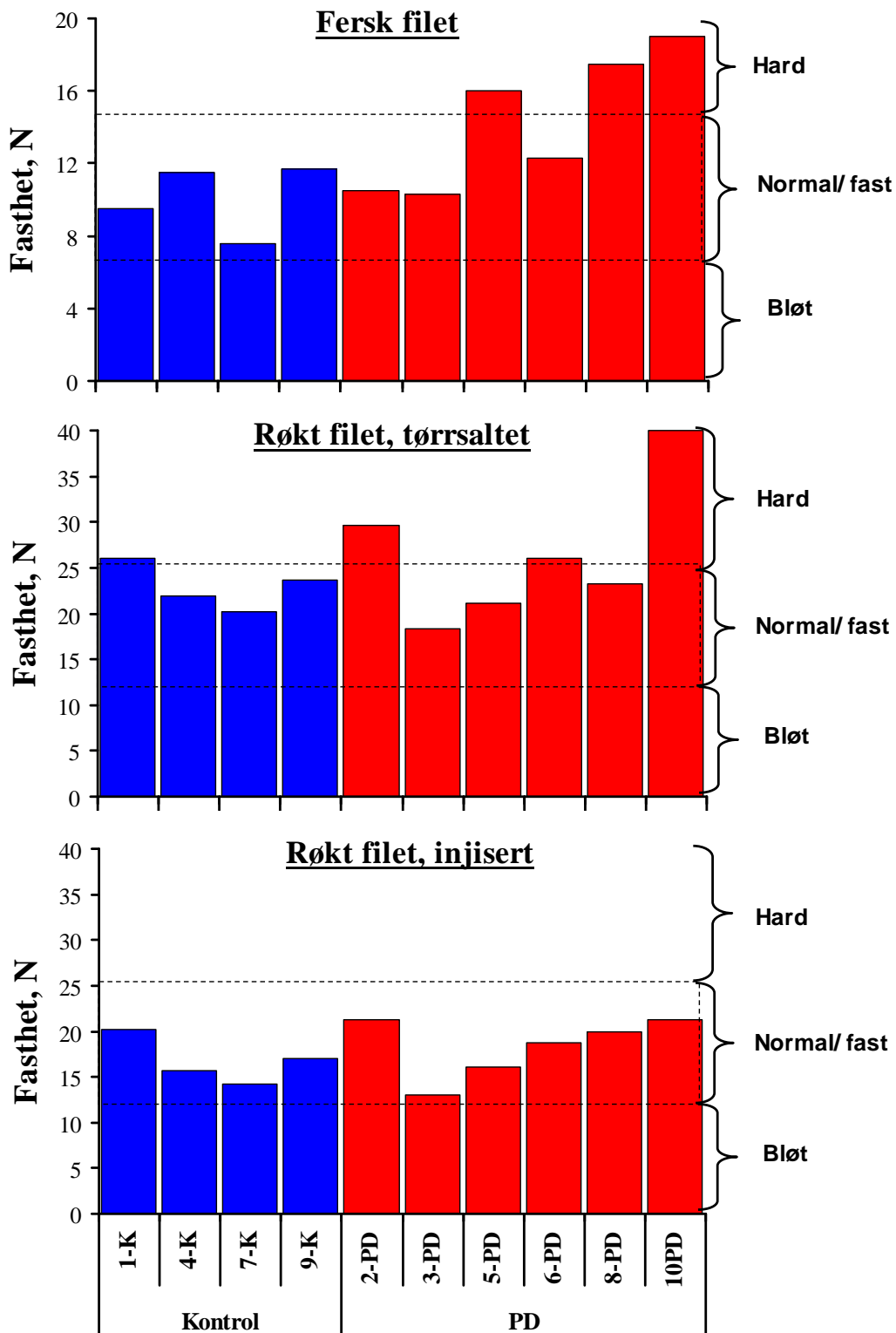
Det var særlig laksen som var slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd som hadde hard tekstur, mens tekturen i laks slaktet 7-12 måneder etter PD-utbrudd hadde samme fasthet som usmittet laks etter røyking, uavhengig av saltemetode (Figur 13). For den rå laksen var den gjennomsnittlige fastheten noe høyere for laksen som var fra lokaliteter med PD-utbrudd 7-12 måneder før slakt sammenlignet med kontrollfisken. Årsaken til den faste tekturen etter PD-utbrudd kan sannsynligvis tilskrives økt bindevevsdannelse (arrvev) i kjøttet.

4.7 Filetspalting

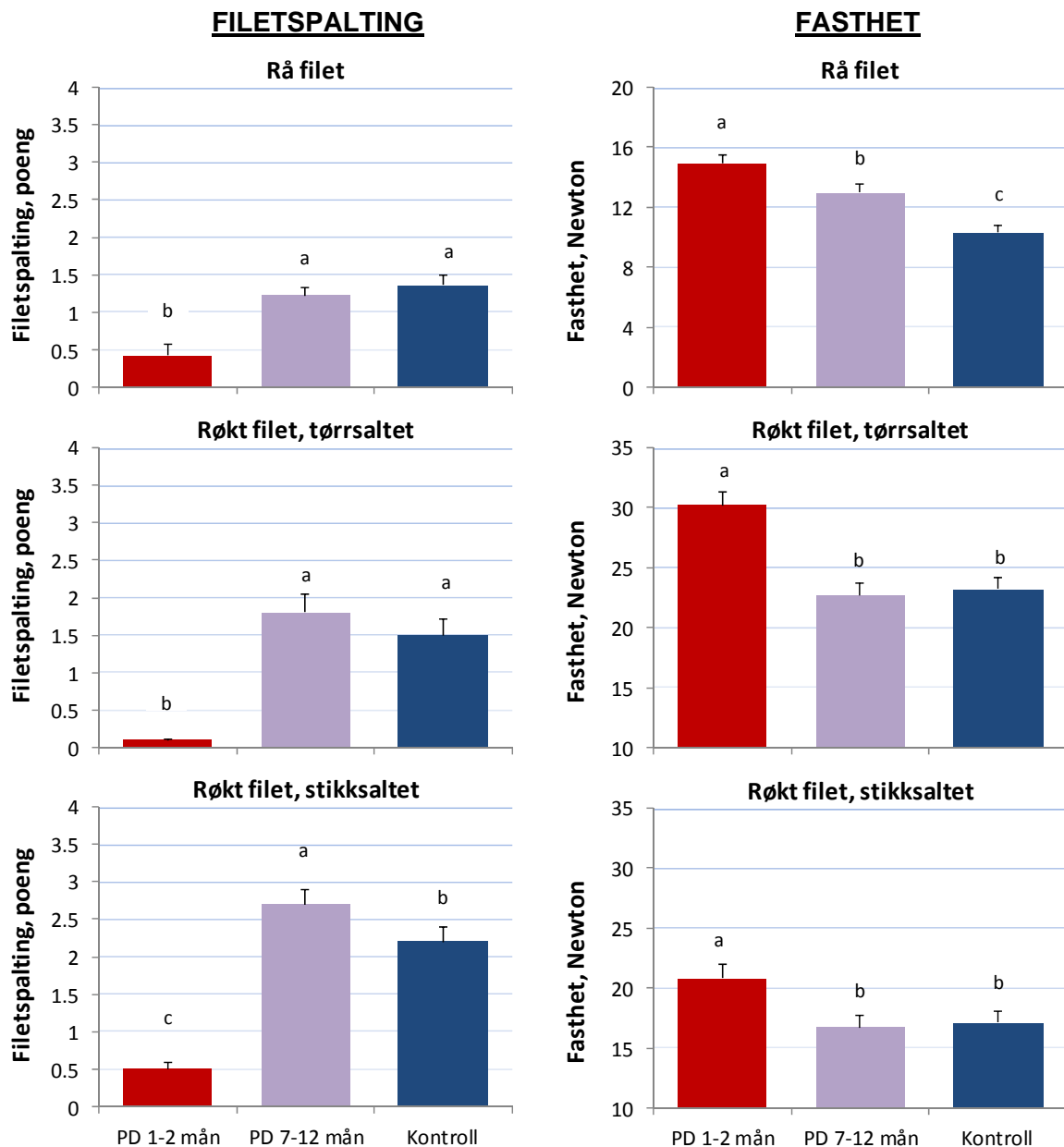
Laksefileter med mye spalting mellom muskelsegmentene er ikke egnet til produksjon av kvalitetsprodukter slik som røkt filet. Det har vært mistanke om at PD fører til økt filetspalting men våre resultater viste ikke en slik sammenheng. Filetene av laks fra lokalitet med tidligere PD-utbrudd hadde derimot lavere grad av filetspalting enn laks som ikke var diagnostisert med PD, selv om nivået var generelt lavt. Vanligvis ser vi på filetspalting lavere enn 2 poeng som uproblematisk. Graden av filetspalting var på hhv. 0,8 og 1,4 poeng for PD laksen og kontrollgruppen (Tabell 1).

Saltemetode hadde betydning for graden av filetspalting av de røykte filetene. Fileter som var stikksaltet hadde betydelig mer spalting (2,1 og 3,1 poeng i gjennomsnitt) enn fileter som var tørrsaltet (1,2 poeng for begge grupper). Det vil si at laksen fra anlegg med tidligere PD-utbrudd hadde lavere grad av filetspalting sammenlignet med usmittet laks, både som rå og røykt.

Den rå laksen som ble undersøkt hadde generelt lite filetspalting, men likevel var det en statistisk sikker forskjell til fordel for laksen som var slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd (Figur 13). Graden av filetspalting var betydelig høyere for fileter som var stikksaltet sammenlignet med fileter som var tørrsaltet før røyking, men laksen som var slaktet 1-2 måneder etter positiv PD diagnose viste nærmest ingen økning etter røyking. For den røykte laksen som var stikksaltet var graden av filetspalting høyere for laksen som var slaktet 7-12 måneder etter PD-utbrudd. Forskjellen var statistisk sikker, men det er heller usikkert om denne forskjellen ville vært merkbar i praksis.



Figur 12 *Tekstur i fersk og røkt laks. De blå søylene viser resultater av kontrollfisk (usmittet) og de røde søylene viser resultater av laks etter PD-utbrudd (1mån – 1 år). Det ble benyttet to saltemetoder før røyking for å studere interaksjon mellom råstoff og prosessbetingelser: tørrsalting og injisering av saltlake (stikksalting). Hver søyle representerer gjennomsnittet for en lokalitet.*



Figur 13 Filetspalting og fasthet i oppdrettslaks fra anlegg med og uten PD-utbrudd. Laks fra anlegg med PD-utbrudd kom fra 7 ulike lokaliteter, derav 3 lokaliteter ble diagnostisert med PD 1-2 måneder før de ble tatt ut til analyse mens laksen fra 4 lokaliteter ble diagnostisert med PD 7-12 måneder før analyse. Laksen som tilhører kontrollgruppen kom fra 4 ulike lokaliteter. Laksefiletene ble analysert ferske (16 fileter per lokalitet) og etter røyking. Den røkte laksen ble enten tørrsaltet (8 fileter per lokalitet) eller stikksaltet (8 fileter per lokalitet). Resultatene er vist som gjennomsnitt \pm standardfeil. Statistisk signifikante forskjeller mellom grupper er vist ved ulike bokstaver.

4.8 Mikrobiologi

Laksen som ble røykt ved det kommersielle røykeriet ble undersøkt med henblikk på bakterievekst. Resultatene viste ingen forskjeller mellom gruppene. Det vil si at laksen fra PD gruppen og kontrollgruppen hadde tilsvarende mikrobiologisk kvalitet. Analysene omfattet: kimtall, H₂S produserende bakterier, melkesyrebakterier og psykotrofe bakterier

4.9 Saltinnhold

Det var ingen forskjell i saltinnhold i røkt filet av laks fra lokaliteter med PD-utbrudd og lokaliteter med laks uten PD-utbrudd

4.10 Genuttrykk

Laks fra det samme uttaket (kontroll fisk og laks tatt ut ett år etter utbrudd) ble analysert mht endringer i genuttrykk i hjerte ved bruk av microarray analyse (chip som inneholder 1800 ulike gener for immune respons og stress). Sammenlignet med våre resultater fra andre virussykdommer (fra hjerte), var langt færre gener regulert (ca 150) og i langt mindre grad (lavere ekspresjonsnivåer). Spesielt var fraværet av induerte immunrelaterte gener utypisk for virus og indikerer at viruset ikke hadde utløst noen signifikant antiviral eller inflammatorisk respons. Svak tendens til oppregulering av antivirale immungener (interferon reseptorer) og inflammatoriske gener (interleukin-1 relaterte) samt komplement. Ellers var de fleste regulerte gener involvert i strukturelle og cellyklus-relaterte prosesser.

4.11 Spørreskjema

Ut fra spørreskjemaene som oppdretterne fylte ut, fant vi indikasjoner på at laks med andre sykdommer i tillegg til PD kan være spesielt utsatt for å utvikle kvalitetsavvik. Spesielt kan det se ut til at laks som har hatt en kombinasjon av kraftig IPN utbrudd og PD kan være utsatt for å få fileter med kvalitetsavvik. På grunn av stor variasjon mellom lokaliteter og mellom fileter fra samme lokalitet, er det nødvendig med et større fiskemateriale for å kunne si noe sikkert om betydningen av fiskens forhistorie (tidligere sykdom, vaksine, fôr, slaktemetode osv.).

5 Sammen drag

- Kroppformen var tynnere (lavere kondisjonsfaktor) hos laks 1-2 måneder etter PD-utbrudd men ikke etter 7-12 måneder.
- Filetutbytte var lavere for laks slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd men det samme for laks slaktet 7-12 måneder etter PD-utbrudd
- Utbytte etter røyking var noe lavere for laks med en tidligere PD diagnose. Prosessbetingelsene synes å ha betydning for effekten av PD for utbyttet.
- Muskel pH: Ubetydelig forskjell mellom frisk og laks fra anlegg med tidligere PD-utbrudd
- Teksturen i rå og tørrsaltet røkt filet var unormalt hard for laks slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd. Stikksalting ga bløtere tekstur og effekten av PD var mindre tydelig.
- Filetspalting: Grad av filetspalting var lavere 1-2 måneder etter PD-utbrudd
- Filetfarge: Noe lysere farge og høyere grad av skjolding etter PD-utbrudd. Rødfargen i standardområdet for fargemåling (NKS) var generelt innenfor normalområdet. 7-12 måneder etter PD-utbrudd fant vi ikke redusert filetfarge i rå eller røkt filet.
- Melaninflekker ble registret i fileter av laks fra anlegg med og uten PD-utbrudd, men frekvensen var høyere etter PD-utbrudd.
- Mikrobiologi: Det ble ikke funnet forskjell i bakterievekst i rå eller røkt filet etter PD-utbrudd.
- De største avvikene fant vi hos laks som ble slaktet 1-2 måneder etter PD-utbrudd og hos laks fra ett anlegg der de både hadde hatt et IPN-utbrudd og et PD-utbrudd (hvor lenge før slakt?)

Prøvetaking før slakting av laks med tidligere PD-utbrudd

Dokumentasjon ved kjemisk analyse er bra til sitt bruk, men et analysebevis som dokumenterer et tilstrekkelig pigmentinnhold og god farge i norsk kvalitetssnitt av 5-10 laks er ikke et tilstrekkelig grunnlag til å friskmelde kvaliteten på laks fra en merd etter PD-utbrudd. Ettersom variasjonen er så stor mellom fisk fra samme merd, og mellom ulike deler innen samme filet, anbefaler vi å ta ut 30 laks som fileteres og evalueres mht fargestyrke, fargejevnhet/skjolding og melanin (hele fileten evalueres). Et trent øye vil kunne avsløre om filetene har fargeavvik eller melaninflekker utover normalen. Evt kan filetene sendes til et laboratorium for analyse.

6 Referanser

- Andersen, U.B., Strømsnes, A.N., Steinsholdt, K., Thomassen M.S., 1994. Fillet gaping in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Nor. J. Agric. Sci.* 8, 165-179.
- Folkestad, A., Wold, J.P., Rørvik, K-A., Tschudi, J., Haugholt, K.H., Kolstad, K., Mørkøre, T., (2008). Rapid and non-invasive measurements of fat and pigment concentrations in live and slaughtered Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 280, 129-135
- Hoel, E., Garseth, Å.H., Midtlyng, P.J., Bruheim, T., Taksdal, T., Dannevig, B., Brun, E., Olsen, A.B., 2007. Pancreas disease (PD) – en utredning for Fiskeri og Kystdepartementet. Rapport utarbeidet for Det kongelige Fiskeri- og Kystdepartement. 36s.
- Mørkøre, T., Einen, O. 2003. Relating sensory and instrumental texture analysis of Atlantic salmon. *J. Food Sci.*, 1492-1497.

Vedlegg 1

Havbruk 2008, Tromsø 7-9 april

Betydningen av PD for kvalitet hos oppdrettslaks

Turid Mørkøre^a, Marit Wasmuth^b, Thomas Larsson^a, Målfrid T. Bjerke^a, Erling Olaf Koppang^c, Torunn Taksdal^b, Sveinung Birkeland^d

^aNofima Marit, Ås, ^bVeterinærinstituttet, ^cHøgskole for Veterinærmedisin og Nofima Marit, Østanger

Bakgrunn

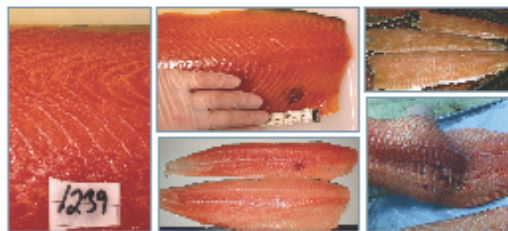
Kvalitetslaks har god rødfarge og fasthet. Laksefileter med avvikende tekstur, bleke felter (skjolding) eller mørke flekker (melanin) er uønsket av foredlingsindustrien og av konsumentene. Det er mistanke om at laksens helsestatus påvirker filetkvaliteten.

Formål

Å kartlegge filetkvalitet hos laks med en tidligere PD diagnose. PD (Pancreas Disease) er en virusssykdom med foruroligende spredning i norsk lakseoppdrett. PD kostet norske oppdrettere over én milliard kroner i 2007.

Forsøket

Laksen i undersøkelsen ble innhentet fra 6 anlegg på Vestlandet med tidligere PD utbrudd. Som referanse undersøkte vi usmittet laks fra 4 anlegg (16-30 laks per anlegg, 3,5kg i gjennomsnitt). Studien var et forprosjekt, finansiert av FHF.



Eksempler på kvalitetsfeil hos laks. Tid fra PD-utbrudd til slakt har betydning for utvikling av avvikende kvalitet.

Resultater

Kroppformen var tynnere (lavere kondisjonsfaktor) hos en del laks etter PD utbrudd.

Utbytte etter røyking var noe lavere for laks med en tidligere PD diagnose. Den negative effekten av PD var betydelig større for laks prosessert ved Røykeri B enn ved Røykeri A (Fig. 1). Det tyder på en signifikant interaksjon mellom råstoffkvalitet og prosessbetingelser hva angår utbytte etter røyking.

Texturen i rå filet var unormalt hard etter PD utbrudd i laks fra tre av seks anlegg. Etter røyking var tendensen den samme for fileter som var tørrsaltet før røyking, mens fileter som var saltet ved injisering ikke viste samme tendens. Anlegg med nylig PD utbrudd hadde mest avvikende tekstur (1-2 mån for hhv anlegg 10PD og 8-PD; avstanden fra utbrudd > 6mån for de andre anleggene, Figur 2).

Filetspalling: Grad av filetspalling var tilsvarende eller lavere etter PD utbrudd sammenlignet med kontrollfisk.

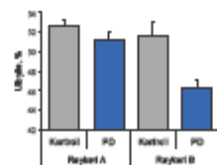
Filetfargen var blekere med større grad av skjolding umiddelbart etter PD utbrudd. Laks analysert ett år etter PD utbrudd hadde normal farge og jevnhet.

Melaninflekker ble funnet i fileter av PD smittet fisk og kontrollfisk, men frekvensen var høyere etter PD utbrudd. Pigmenterte områder har vært analysert med henblikk på uttrykk av gen relatert til melanogensen og funnet positive.

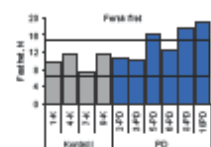
Videre arbeid

- Studere betydningen av prosessbetingelser for kvalitetsvariasjoner i laks etter PD utbrudd ved å røyke laks med ulik avstand fra utbrudd og ved ulike prosessbetingelser (multivariat tilnærming).
- Undersøke bakenforliggende årsaker til avvikende kvalitet i laks etter PD utbrudd med vekt på bindevev.
- Undersøke om førsammensetning har betydning for kvalitetsutvikling etter PD utbrudd.
- Undersøke holdbarhet hos laks etter PD utbrudd.

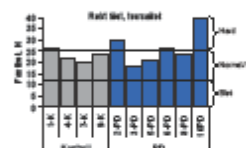
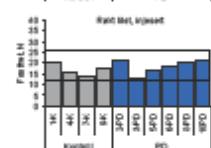
Del videre arbeidet vil sjå i prosjektet "The impact of pancreas disease (PD) on flesh quality of Atlantic salmon", finansiert av NFR/FHF (2007-2008-2009).



Figur 1 Utbytte ved prosessering av laks ved to ulike røykerier. Det ble benyttet tørrsølt og bålryking. Utbytte er beregnet som: Filetvekt etter røyking (x2)/sløyd vekt *100



Figur 2 Texturen i fersk og røkt laks. De grå søylene viser resultatene av kontrollfisk (usmittet) og de blå søylene viser resultatene av laks etter PD utbrudd (1 mnd - 1 år).



	Kontroll		PD	
	Gjennomsnitt	Variasjon	Gjennomsnitt	Variasjon
Perske fleker				
Fileter med melanin, %	26	0-66	28	10-73
Skallet pH	6,27	6,12-6,64	6,23	6,13-6,36
Filetspalling, prosent ¹	1,4	0-2,4	0,8	0-1,4
Rakta fleker				
Filetspalling, prosent				
- Injisering	3,1	2,8-3,2	3,1	0,3-3,3
- Tørrsølt	1,2	0,9-1,4	1,2	0,1-3,1

¹W&L i h&C Andersen et al., 1994.



Vedlegg 2

Spørreskjema

Navn på oppdretter og uttaksdato:	Laks med PD diagnose 3,5 kg ± 0,5 kg (sløyd m hode)
Utskrifter vedlagt, sett kryss	
Helseattest smolt	Farm Control
Sporing, CV	Annen utskrift
<i>Ikke nødvendig å svare på spørsmål som fremkommer på utskrift</i>	
Fisken	
Smoltleverandør	
Stamme	
Type vaksine og tidspunkt for vaksinerings	
Utsett i sjø, mån / år	
Størrelse ved utsett	
Lokalitetsnummer	
Merd nummer	
Lysregime, tidsrom	
Tetthet i merd ved slakt, m ³	
Temperatur i sjøen ved slakt, °C	
Tilveksthastighet i sjøfasen	
Fôrfaktor i sjøfasen	
Sulting / Fôring	
Sulting før slakt, dager	
Fôr siste 3 mån før slakt, produktnavn	
Pigmentnivå i fôr siste 3 mån før slakt	
Medisinfôr, tidspunkt/ årsak / varighet	

Slakting/ avliving	Navn på slakteri:
Brønnbåt, ja / nei	
Ventemerd, antall dager (evt nei)	
Levendekjøling, °C (evt nei)	
CO2 bedøvelse, ja / nei	
Strøm, ja / nei	
Slag i hodet, ja / nei	

Utblødning	
Utblødning, type tank	
Utblødning, ca minutter	
Utblødning, ca temp i tanken	

Sykehistorie:

PD-utbrudd,

Når / Varighet: _____

Dødelighet, evt utskrift av dødelighetstall for slaktet merd: _____

Ca antall av tynne tapere før og etter utbrudd _____

Ble diagnosen verifisert ved laboratorie-undersøkelse? _____

Hvis ja: når, og hvor? _____

Vaksineskader, tidspunkt for registreringer og resultat

Eventuelle behandlinger, inklusive avlusning, når, dødelighet etter avlusning?

Navn på fiskehelsetjeneste: _____

Har prosjektet tillatelse til å kontakte fiskehelsetjenesten, under forutsetning av at taushetsplikten blir ivarettatt? Ja/nei

Andre sykdommer fra sjøsetting til slakt:

	Ja/nei Hvis ja: når?	Varighet, ca	Dødelighet, ca	Ble diagnosen verifisert av laboratorieundersøkelse? Hvis ja: når, og hvor?	Kommentarer
IPN					
Vintersår					
HSMB					
CMS					
Annet?					

