

## **Opplevd farge og fargeutvikling i laks**

Karsten Heia, Silje Ottestad, Agnar H. Sivertsen og Jens Petter Wold





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](mailto:nofima@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://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](mailto:marin@nofima.no)

Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

# Rapport

 ISBN: 978-82-7251-842-3(trykt)  
 ISBN: 978-82-7251-843-0(pdf)

 Rapportnr.:  
 2/2011

 Tilgjengelighet:  
**Åpen**

<i>Tittel:</i>		<i>Dato:</i>
<b>Opplevd farge og fargeutvikling i laksefilet</b>		31.1.2011
		<i>Antall sider og bilag:</i>
		9
<i>Forfatter(e):</i> Karsten Heia, Silje Ottestad, Agnar H. Sivertsen og Jens Petter Wold		<i>Prosjektnr.:</i> 20906
<i>Oppdragsgiver:</i> FHF (Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond)		<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF # 900340 Kristian Prytz
<i>Tre stikkord:</i> Laks, spektroskopi, farge		
<i>Sammendrag:</i> Opplevd farge og fargeutvikling i laks under lagring og prosessering er viktige kvalitetsaspekter for laks. Arbeidet så langt har vist at opplevd farge varierer mellom ulike fileter og over tid, og ulike teorier er lansert for å forklare dette. Endring i muskelstruktur kan bidra, men en viktig årsak ser ut til å være restblod i muskel. Både simuleringer og reelle målinger har vist at mengde restblod i muskel kan forårsake fargeendringer under lagring og prosessering.		
<i>English summary:</i> Salmon fillet color and color changes during storage or processing are important quality aspects for salmon products. Different theories have been introduced to explain these aspects. Changes in muscle structure due to muscle degradation can contribute, as well as remaining blood in the muscle. Both from experiments and simulations it has been verified that the amount of residual blood in salmon muscle can be high enough to influence the change in color during storage and processing.		

## **Innhold**

<b>1</b>	<b>Innledning .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Material og metode.....</b>	<b>2</b>
2.1	Fiskeråstoff og lagringsbetingelser .....	2
2.2	Fargemåling ved hjelp av diffus reflektansspektroskopi.....	2
2.3	Reflektansspektroskopi .....	3
<b>3</b>	<b>Resultater og diskusjon.....</b>	<b>4</b>
3.1	Forsøk 1 – Fargeutvikling fulgt med reflektansspektroskopi .....	4
3.2	Forsøk 2 – Sammenheng mellom blodstatus og opplevd farge.....	5
3.3	Absorpsjonstopp rundt 600 nm .....	7
<b>4</b>	<b>Konklusjon.....</b>	<b>8</b>
<b>5</b>	<b>Referanser.....</b>	<b>9</b>

# 1 Innledning

I 2009 ble det igangsatt et større prosjekt ved Nofima for å utvikle teknologi for differensiering av lakseprodukter basert på et utvalg av kvalitetsparametre. Disse parametrene ble valgt ut i en tett dialog mellom aktører fra FHF, laksenæringen og Nofima. Det ble tidlig bestemt at farge, inkludert blod og melaninflekker, samt fargeutvikling var viktige kvalitetsparametre for differensiering av oppdrettslaks. I tillegg til disse er også beindeteksjon et prioritert område, men dette arbeidet er ennå ikke igangsatt.

Det er kjent at fargen kan endres under lagring og prosessering av laks. Årsakene til dette er sammensatte og ulike teorier er lansert (Ottestad *et al.*, 2011a). Astaxanthin er det viktigste fargestoffet i laks og det er avgjørende å kontrollere konsentrasjonen av astaxanthin i muskelen. Astaxanthin utgjør en stor andel av fôrkostnadene så det er derfor viktig å oppnå høy nok konsentrasjon til å oppnå ønsket innfarging og fargestabilitet. Nedbrytning av astaxanthin under lagring kan resultere i "dårligere" farge på produktet. Hvordan astaxanthin er bundet til muskelproteinene kan også påvirke absorpsjonsegenskapene. Tidligere er det vist at det finnes en absorpsjonstopp rundt 600 nm og det har vært usikkert hvordan denne absorpsjonen kan påvirke opplevd farge. En tredje faktor som har vært diskutert er endring i muskelens spredningsegenskaper på grunn av rigor-tilstand og/eller uttørking av filetoverflaten.

En av de senere teorier som er lansert, er knyttet til blodkomponenter (hemoglobin og myoglobin) som opptrer naturlig i fiskemuskel (Ottestad *et al.*, 2011b). Disse absorberer lys i det synlige området og absorpsjonsegenskapene endrer seg med blodets oksidasjonstilstand, tilsvarende hva som er observert for torsk under lagring på is (Sivertsen *et al.*, 2010). I denne forbindelse er det viktig å avdekke hvorvidt blodkonsentrasjonen i muskelen er høy nok til at dette kan påvirke opplevd farge.

## 2 Material og metode

### 2.1 Fiskeråstoff og lagringsbetingelser

Resultat fra to ulike forsøk beskrives i denne rapporten. I det første forsøket ble et lagringsforsøk gjennomført med 100 fileter som ble slaktet og filetert pre-rigor på et lakseslakteri. Filetene ble pakket i plast og lagt i is før de ble fraktet til Tromsø. Ved Nofima i Tromsø ble alle filetene målt spektroskopisk på dag 3, 7 og 11. I tillegg ble SalmoFanverdier lest registrert for alle filetene på alle prøvedagene ved bruk av SalmoFan™ fargekart (Hoffman-La Roche Basel, Sveits).

I forsøk nummer to ble prøver fra tre ulike fiskeslag (laks, makrell og torsk) studert. Seks fileter av laks og torsk og 9 fileter av makrell ble delt opp og pakket i tre ulike atmosfærer: vakuum, luft og karbonmonoksid (CO). Etter pakking ble prøvene lagret i seks dager på 2 °C før målinger ble utført.

### 2.2 Fargemåling ved hjelp av diffus reflektansspektroskopi

Farge er sterkt knyttet til hvordan øyet responderer til fargespekteret. Det er ikke slik at farge oppleves likt i alle situasjoner, for eksempel har belysningen stor betydning for opplevd farge. Basert på denne kjensgjerningen har vi designet et måleoppsett hvor laksefileten blir belyst med diffust lys mens den passerer på et transportband og en avbildende spektrograf benyttes til å registrere det diffust reflekterte lyset. Den avbildende spektrografen virker på den måten at for hver eksponering avbildes en stripe på tvers av transportbandet. Når lyset går gjennom spektrografen fremkommer et todimensjonalt bilde hvor den ene dimensjonen er romlig og den andre spektral. Ved at prøvene passerer måleområdet på transportbandet vil suksessive eksponeringer bygge opp et tredimensjonalt bilde av prøvene, med full romlig og spektral informasjon.

Ved å benytte spectralonstandarder som referanse kan lysoppsettet karakteriseres både spektralt og romlig. Referansemålingen  $S_R(x, y, \lambda)$  vil være en funksjon av romlig posisjon  $(x, y)$  og bølgelengde  $\lambda$ . Da variasjonen i referansen i  $y$ -retning kun relateres til målestøy kan referansen som skal inngå i modelleringen estimeres som

$$\bar{S}_R(x, \lambda) = \frac{1}{N} \sum_y S_R(x, y, \lambda),$$

hvor  $N$  er antall registreringer i  $y$ -retningen. Etter å ha avbildet en reell prøve,  $S(x, y, \lambda)$ , kan dermed reflektansspekteret dermed beregnes som

$$R(x, y, \lambda) = \frac{S(x, y, \lambda)}{\bar{S}_R(x, \lambda)}$$

Ved å måle reflektansspekteret på denne måten er kravet til lyssettingen at den er diffus, stabil og kontinuerlig. Basert på reflektansspekteret er det mulig å teste effekten av ulike lyssettinger med tanke på opplevd farge. Videre kan man basert på reflektansspekteret studere hvordan ulike behandlinger og kjemiske sammensetninger påvirker opplevd farge.

For å gå fra reflektansspekter til opplevd farge behøves en standard belsningsfunksjon,  $I(\lambda)$ , og CIE standard observasjonskurver,  $\bar{x}(\lambda)$ ,  $\bar{y}(\lambda)$  og  $\bar{z}(\lambda)$ . Basert på disse funksjonene og målt reflektansspekter kan tristimulusverdier (CIE XYZ) beregnes som følger (Wyszecki og Stiles, 1982):

$$X(x, y) = \frac{1}{N} \int_{\lambda} \bar{x}(\lambda) R(x, y, \lambda) I(\lambda) d\lambda$$

$$Y(x, y) = \frac{1}{N} \int_{\lambda} \bar{y}(\lambda) R(x, y, \lambda) I(\lambda) d\lambda$$

$$Z(x, y) = \frac{1}{N} \int_{\lambda} \bar{z}(\lambda) R(x, y, \lambda) I(\lambda) d\lambda$$

$$N = \int_{\lambda} \bar{y}(\lambda) I(\lambda) d\lambda$$

Fra (X,Y,Z)-bildene kan fargebilder beregnes enten i RGB-verdier for display eller CIE-Labverdier der en typisk belsningsfunksjon å benytte er D65 (dagslys) i kombinasjon med en 2 graders standard observasjonsvinkel.

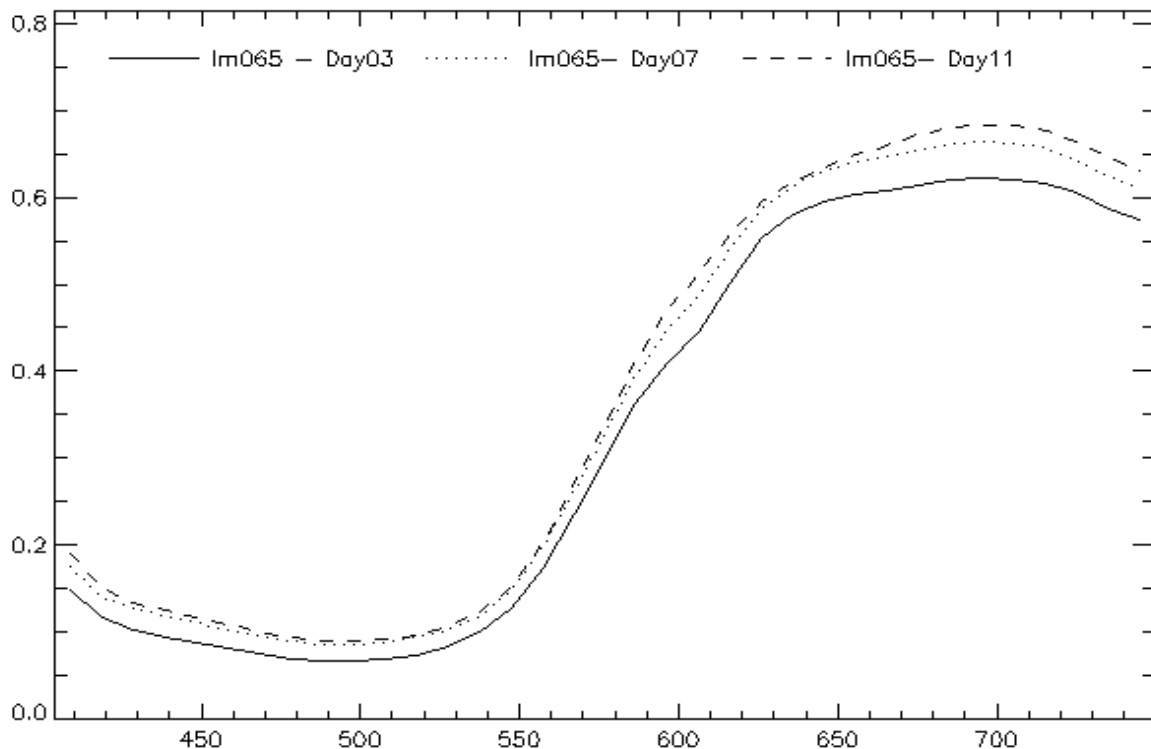
### 2.3 Reflektansspektroskopi

Reflektansmålinger ble tatt opp ved å benytte en XDS Rapid Content Analyzer (FOSS NIRSystems, Inc., Laurel, Md., U.S.A.). Med dette oppsettet belses prøven med en vinkel på 45 grader og diffust reflektert lys registreres. Dersom prøven er diffus vil dette gi sammenlignbare spektre som ved hjelp av diffus reflektansspektroskopi.

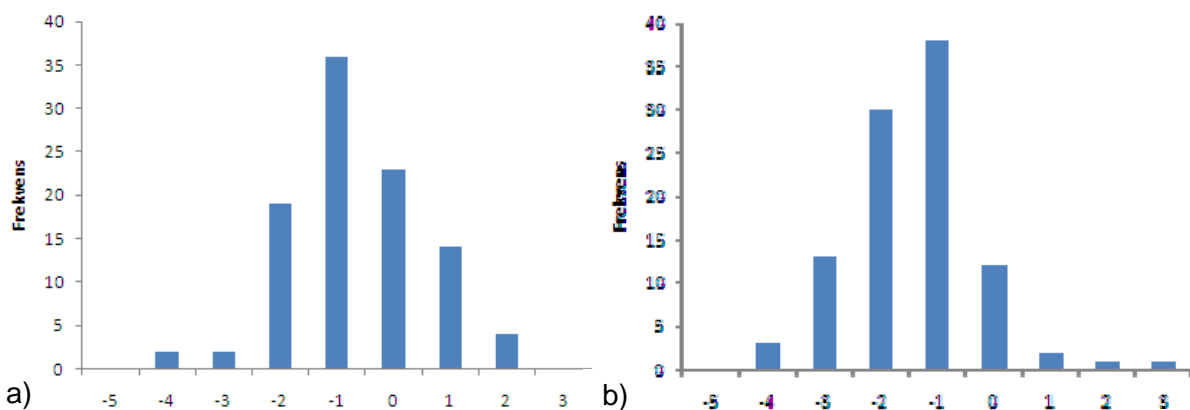
### 3 Resultater og diskusjon

#### 3.1 Forsøk 1 – Fargeutvikling fulgt med reflektansspektroskopi

I forsøket har 100 fileter lagret i luft (pakket i plast i is) blitt avbildet ved hjelp av diffus reflektansspektroskopi etter henholdsvis 3, 7 og 11 dager. Ut fra dette eksperimentet virker det som fargeendringene tidlig i lagringsforløpet er forskjellig sammenlignet med senere i lagringen. I Figur 1 vises typiske reflektansspektra målt på samme fileten (midlet over et lite område på tykkfisken) på tre ulike tidspunkt. Det som er tydelig her er at fra dag 3 til 7 er det en generell økning i reflektansen, noe som kan relateres til spredningsendringer, mens fra dag 7 til 11 skjer endringene primært i området over 570 nm.



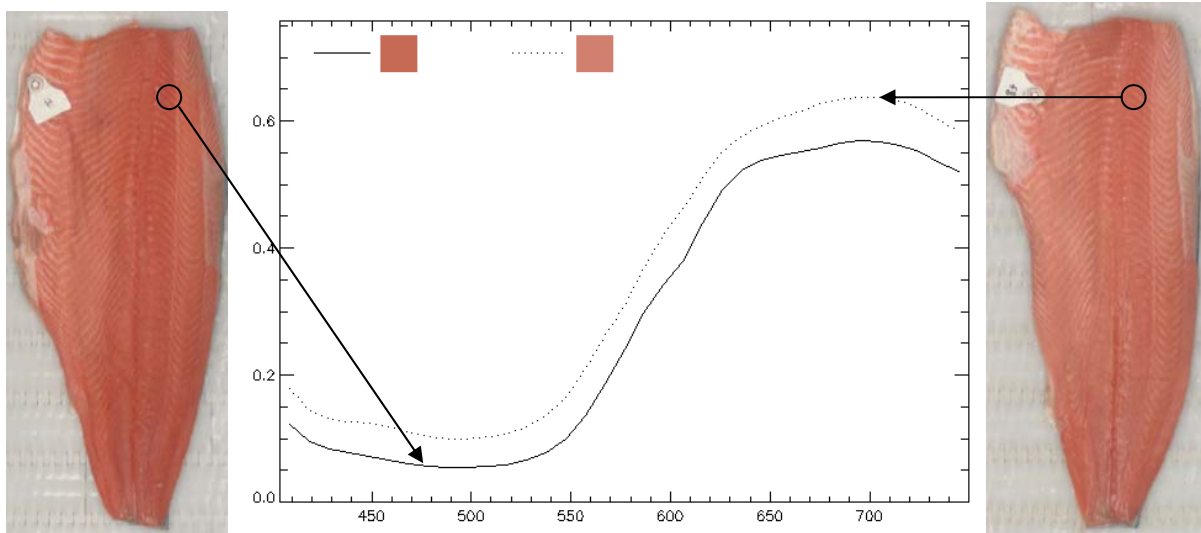
Figur 1 Reflektansspektra fra samme filet målt på tre ulike dager, etter 2, 7 og 11 dagers islagring.



Figur 2 Endring i SalmoFanverdi fra dag 3 til 7 (a) og dag 7 til 11 (b).



Dette betyr at fileten mister rødfarge under lagring. I samme forsøket ble det registrert SalmoFanverdier for alle filetene på de ulike måledagene. Utvikling i SalmoFanverdi var også ganske entydig som vist i Figur 2. Dette selv om det kun var en person som sto for SalmoFanregistreringene og det derfor kunne påberegnes en del "målestøy" i disse registreringene.



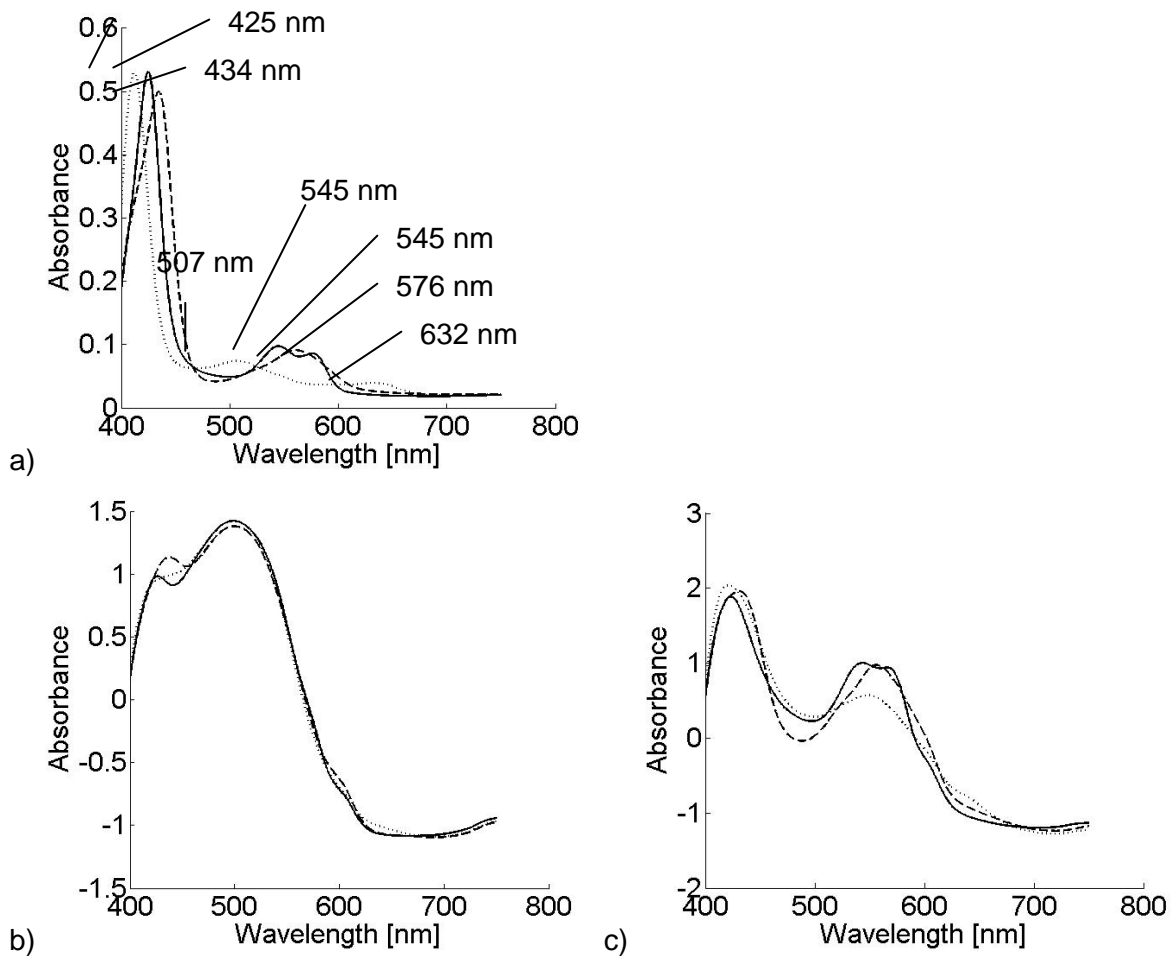
Figur 3 Sammenligning av 2 ulike laksefileter, med tilhørende reflektansspektre fra midt på tykkfisken, som har stor fargeforskjell.

I Figur 3 vises tydelig hvordan to fileter med svært forskjellig farge skiller fra hverandre når reflektansspekteret studeres.

### 3.2 Forsøk 2 – Sammenheng mellom blodstatus og opplevd farge



Figur 4 Fargebilder av makrell (øverst) og laks (nederst) lagret under ulike atmosfærer. Fra venstre til høyre: luft, vakuum og CO.



Figur 5 Spektra av myoglobin i ulike oksidasjonstilstander; carboxymyoglobin (heltrukket), deoxymyoglobin (stiplet) og metmyoglobin (prikket) (a). SNV (Standard Normal Variate) korrigerte gjennomsnittsspektra av laks (b) og makrell (c) etter lagring under ulike betingelser; i CO (heltrukket), vakuum (stiplet) og luft (prikket)

En viktig hypotese som er fremlagt er at blodstatus kan medvirke til fargeutvikling. For å avdekke hvorvidt dette medfører riktighet er to ulike tester gjennomført. Det første spørsmålet som må besvares er hvorvidt naturlig blodkonsentrasjonen i laksemuskelen er høy nok til å påvirke opplevd farge. Makrell ble inkludert i forsøket da det er kjent at filet av makrell har høyt blodinnhold, og dessuten kan effektene av blod studeres uten at de maskeres av fargen fra pigment slik som i laks.

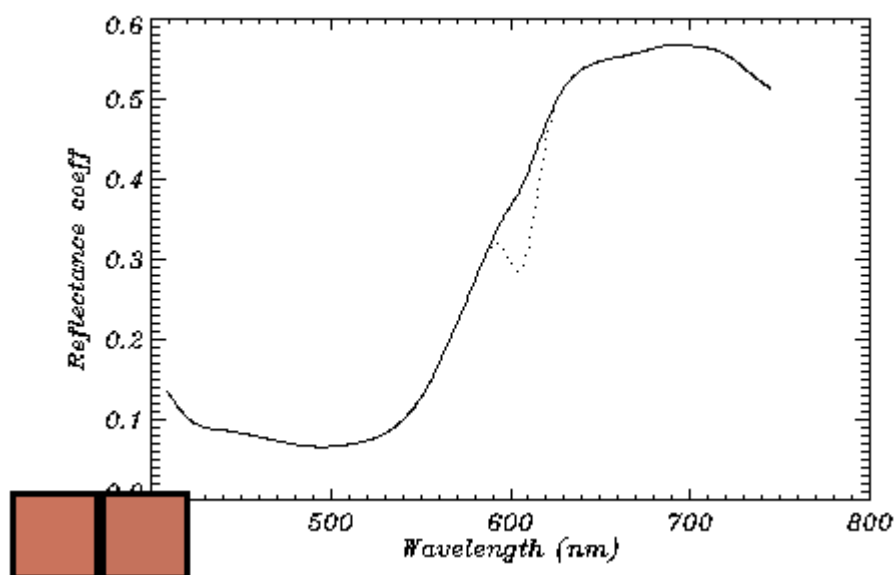
Som vist i Figur 4 øker rødfargen både for makrell og laks når prøven lagres i CO. For makrell er det også en klar forskjell mellom luft og vakuum med hensyn på farge. Endringene er kraftigst for makrell, noe som samsvarer med at blodmengden er høyere i makrell enn i laks. Basert på Minolta fargemåling og spektroskopiske målinger er det tydelig at blodnivået i laksefilet er høyt nok til at fargen kan påvirkes av blodstatus. Figur 5 viser hvordan midlere absorpsjonsspektra til laks (b) og makrell (c) endrer seg avhengig av lagringsbetingelser. Sammenlignes disse endringene med rene absorpsjonsspektre for myoglobin i ulike oksidasjonstilstander (Figur 5a) er det tydelig at de endringene som oppstår i fiskemuskelen på grunn av lagringsbetingelser er sterkt knyttet til blod og blodstatus.



Figur 6 Simulert sammenheng mellom blodstatus og opplevd farge på laksefilet med utgangspunkt i et reelt reflektansspektrum. Fra venstre til høyre vises effekt av endring i blodstatus fra deoxyhemoglobin til henholdsvis carboxyhemoglobin (a) og methemoglobin (b).

Ved å simulere hvordan reflektansspektra blir påvirket av blodstatus er det tydelig at oksidasjon (overgang fra deoxyhemoglobin til methemoglobin) gir lavere rødhet, og økt gulhet/lyshet, se Figur 6b. Tilsvarende gir en overgang fra deoxyhemoglobin til carboxyhemoglobin, Figur 6a, en økt rødhet. Disse resultatene er i samsvar med de reelle målingene vist i Figur 4.

### 3.3 Absorpsjonstopp rundt 600 nm



Figur 7 Reelt (heltrukket linje) og simulert (striplet linje) reflektansspektrum for laksefilet og effekt på opplevd farge.

Spektroskopiske målinger både av laks, makrell og hvitfisk har vist en absorpsjonstopp i området 600 nm som kan variere i størrelse. I tidligere arbeid har det vært spekulert i om denne toppen kan påvirke opplevd farge i laksefilet.

Ved å ta utgangspunkt i et reelt reflektansspektrum og simulere effekten av ekstra absorpsjon rundt 600 nm er denne hypotesen testet. I Figur 7 vises hvor stort absorpsjonsbidraget rundt 600 nm må være før en signifikant fargeforskjell kan måles. På samme tid er denne forskjellen så liten at den ikke representerer en visuell forskjell. Derfor kan det konkluderes med at denne absorpsjonstoppen alene ikke kan forklare opplevde fargeforskjeller.

## **4 Konklusjon**

Resultatene oppnådd i forsøk styrker teorien om at opplevd farge og fargeendringer kan knyttes opp mot minst to effekter. 1) Endring i muskelens spredningsegenskaper under lagring kan resultere i en lysere filetfarge. 2) Blodets oksidasjonsstatus endrer seg under lagring og kan være en viktig bidragsyter til opplevd farge.

Basert på disse resultatene er det viktig å ha god kontroll på utblødningsprosessen og stressnivå under slakting for å oppnå en filet med lavest mulig blodinnhold, og mest mulig stabil farge under lagring.

## 5 Referanser

- S. Ottestad, E. Alerstam og J.P. Wold, "Effect of varying optical properties on the modeling of astaxanthin concentration in salmon by visible spectroscopy", *Aquaculture*, 2011a.
- S. Ottestad, K. Heia, O. Sorheim og J.P. Wold, "Effect of storage atmosphere and myoglobin state on the color and visible reflectance spectra of salmon", In prep., 2011b.
- A. H. Sivertsen, T. Kimiya og K. Heia, "Automatic freshness assessment of cod (*Gadus morhua*) fillets by Vis/Nir spectroscopy", *Journal of Food Engineering*, 103(3): 317-323, 2010.
- G. Wyszecki and W.S. Stiles, *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley, New York, 1982.

