

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

Karsten Heia  
Nofima

# Agenda

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

# Bakgrunn

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

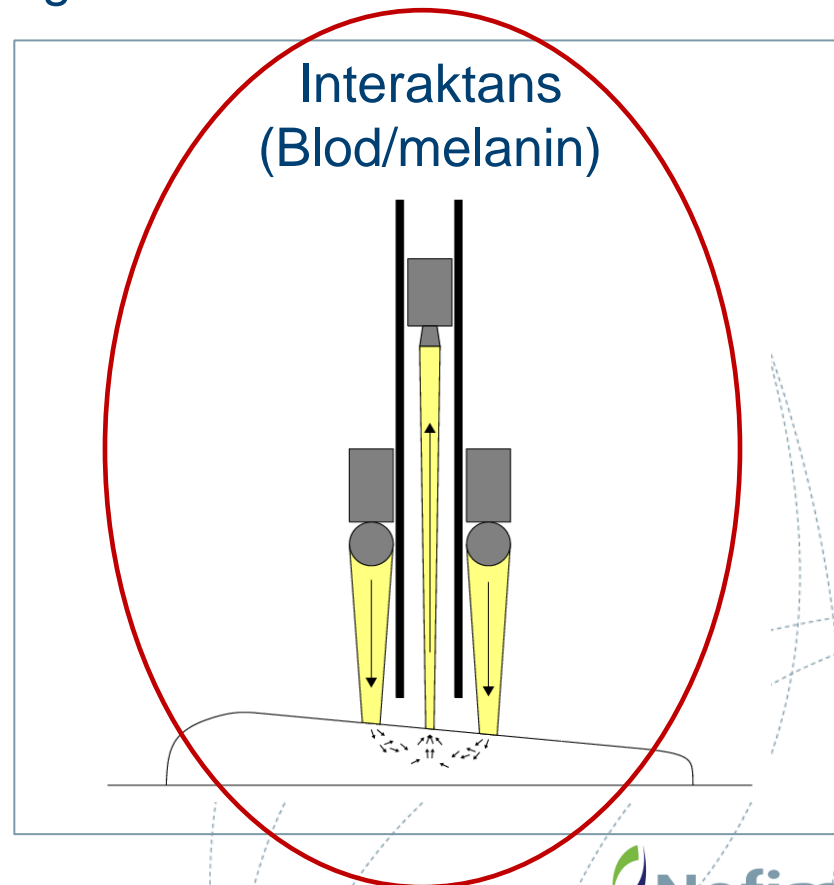
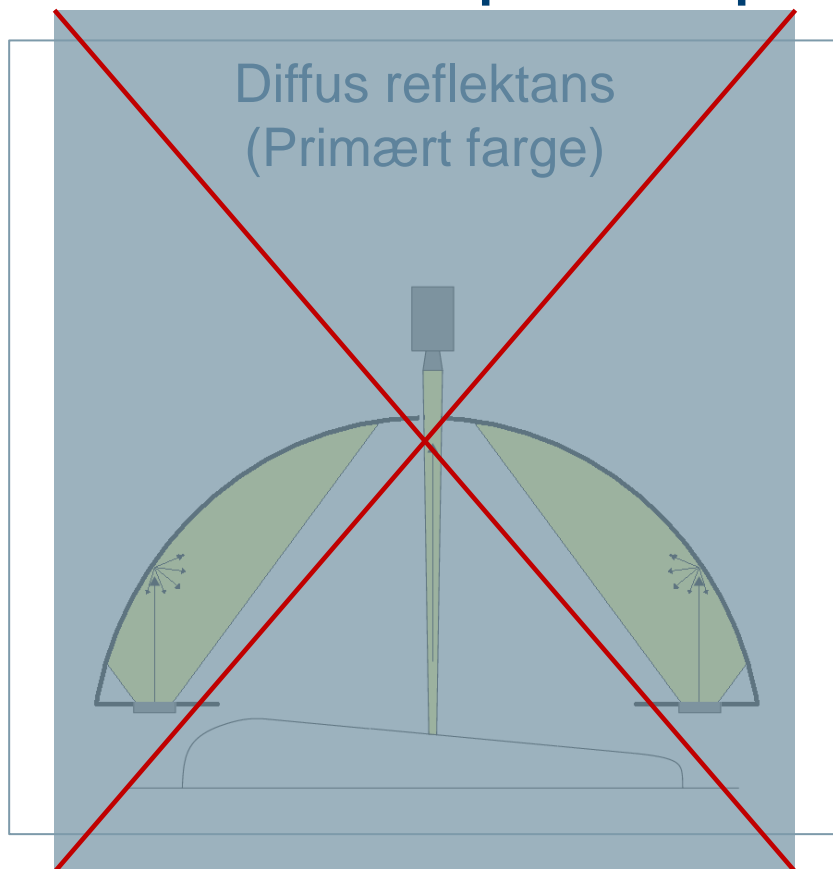
# Bakgrunn

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

# Måleoppsett

## Valg av teknologi

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



# Måleoppsett

## Interaktans spektroskopi

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



# Analysemetodikk

## Utfordringer

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

# Analysemetodikk

## Utfordringer

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



# Analysemetodikk

## Valgt fremgangsmåte

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

# Avsluttende test

## Forsøksoppsett

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

# Avsluttende test

## Forsøksoppsett

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

# Avsluttende test

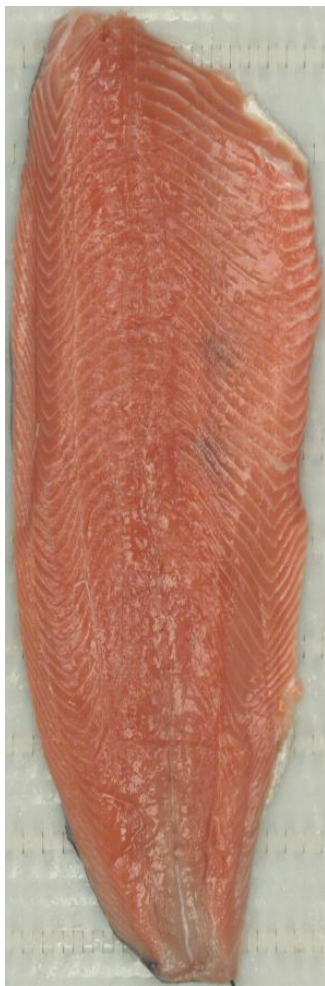
## Manuelle registreringer

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

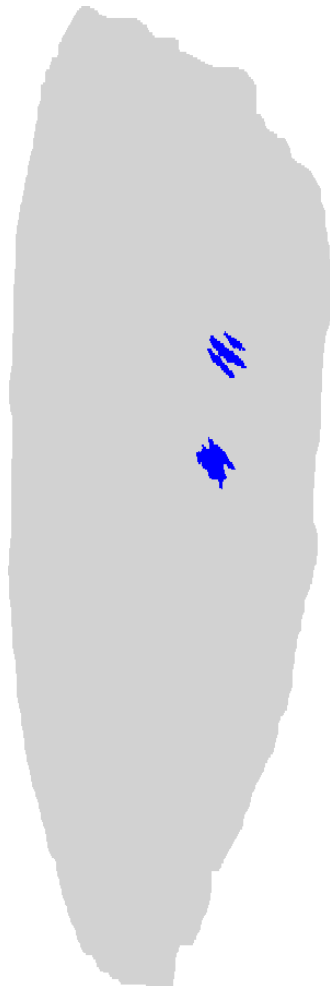
# Avsluttende test

## Resultater melanin

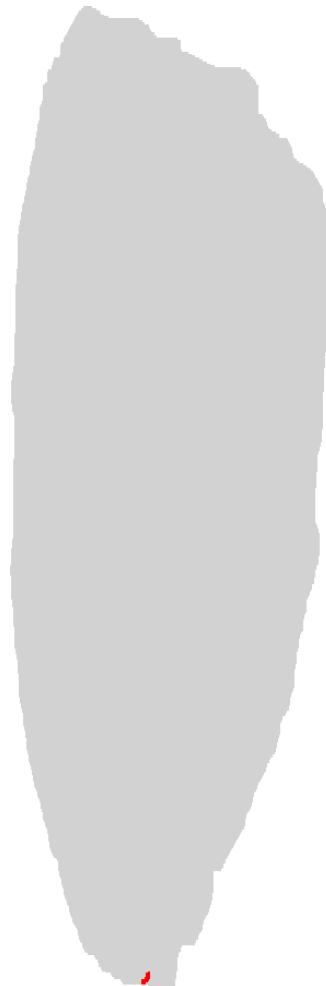
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod

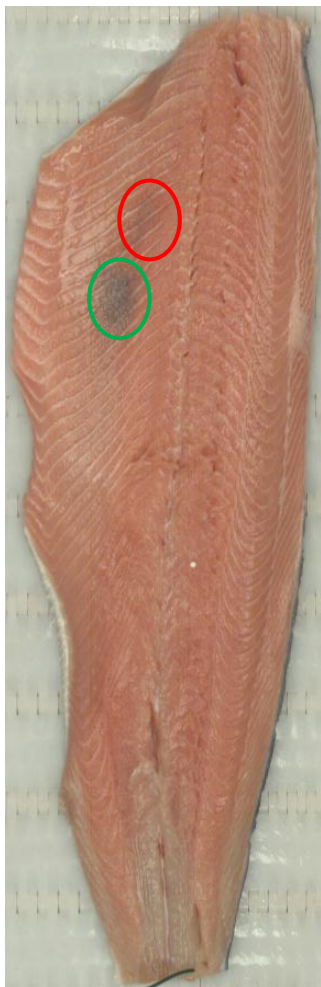


Filet med to  
svake melanin-  
flekker

# Avsluttende test

## Resultater melanin

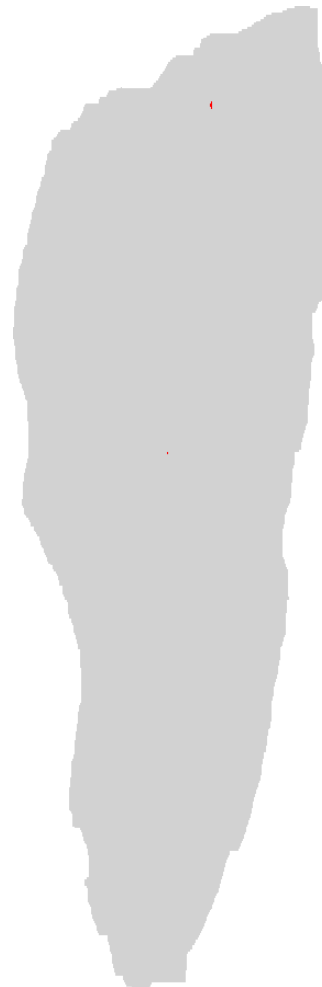
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med en kraftig og en svak melaninflekk

# Avsluttende test

## Resultater blod

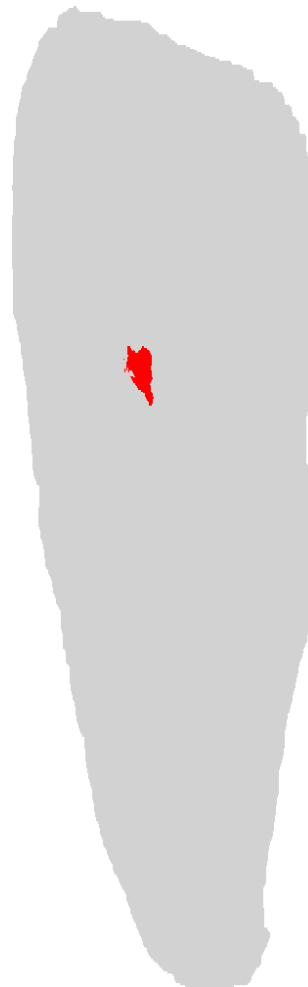
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod

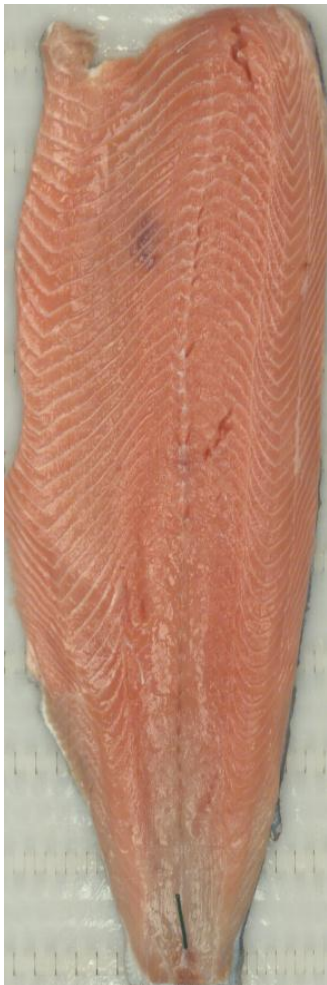


Filet med en kraftig blodflekk

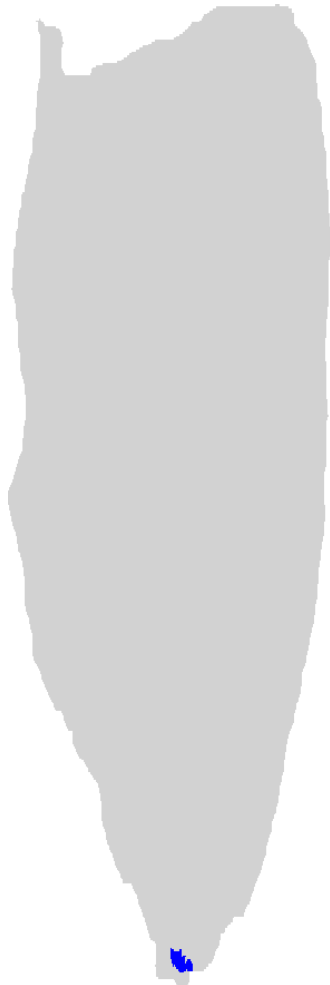
# Avsluttende test

## Resultater blod

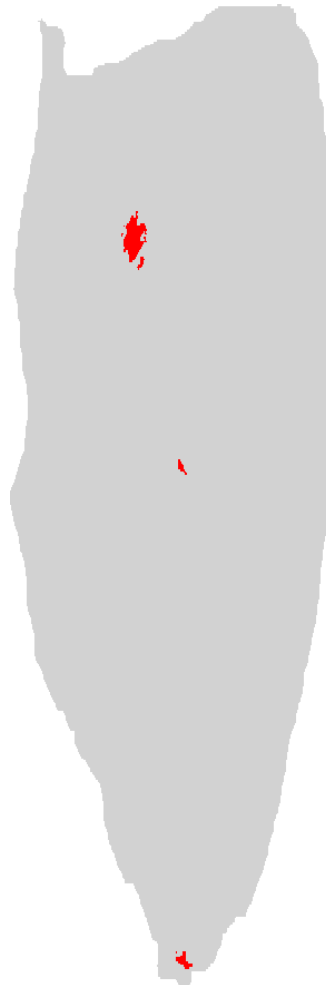
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med en kraftig blod-flekk



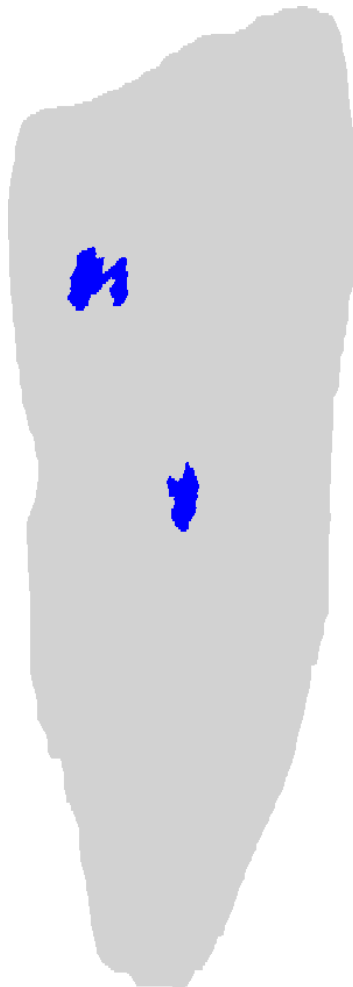
# Avsluttende test

## Resultater melanin/blod

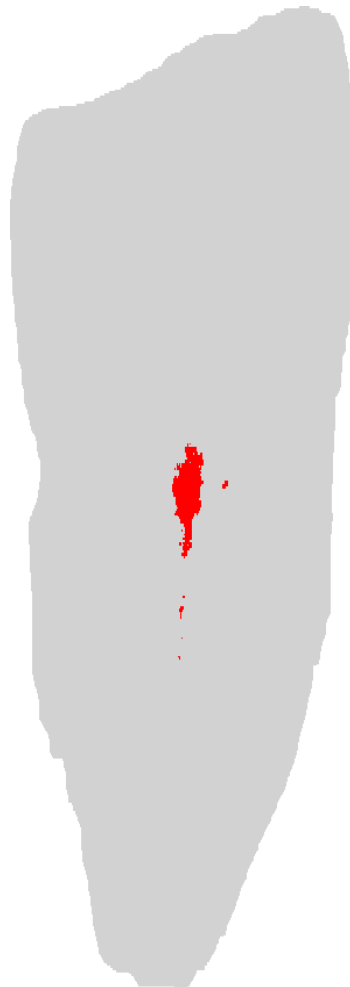
Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod

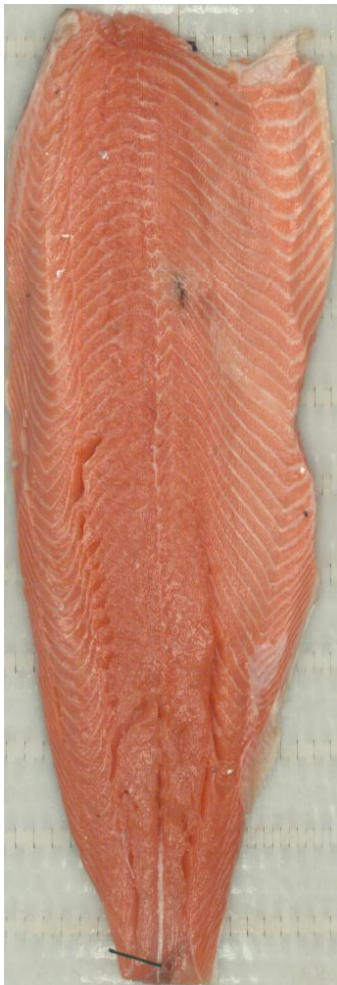


Filet med to svake melaninflekker og en kraftig blodflekk

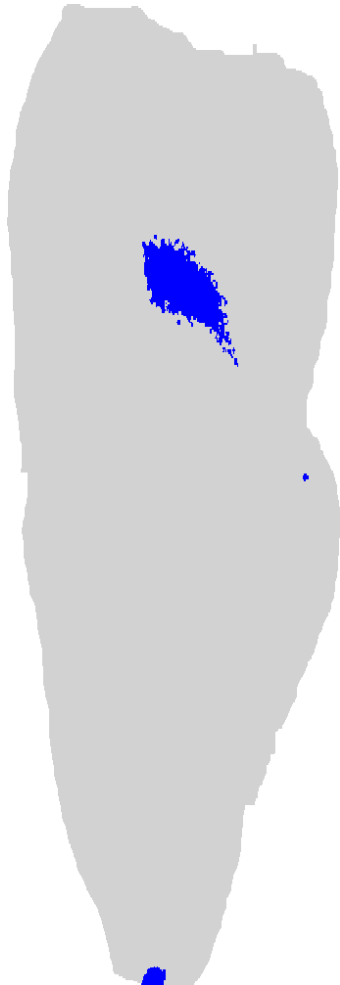
# Avsluttende test

## Resultater melanin/blod

Fargebilde



Påvist melanin



Påvist blod



Filet med en  
liten blod-  
flekk

... og en kraftig  
melaninflekk

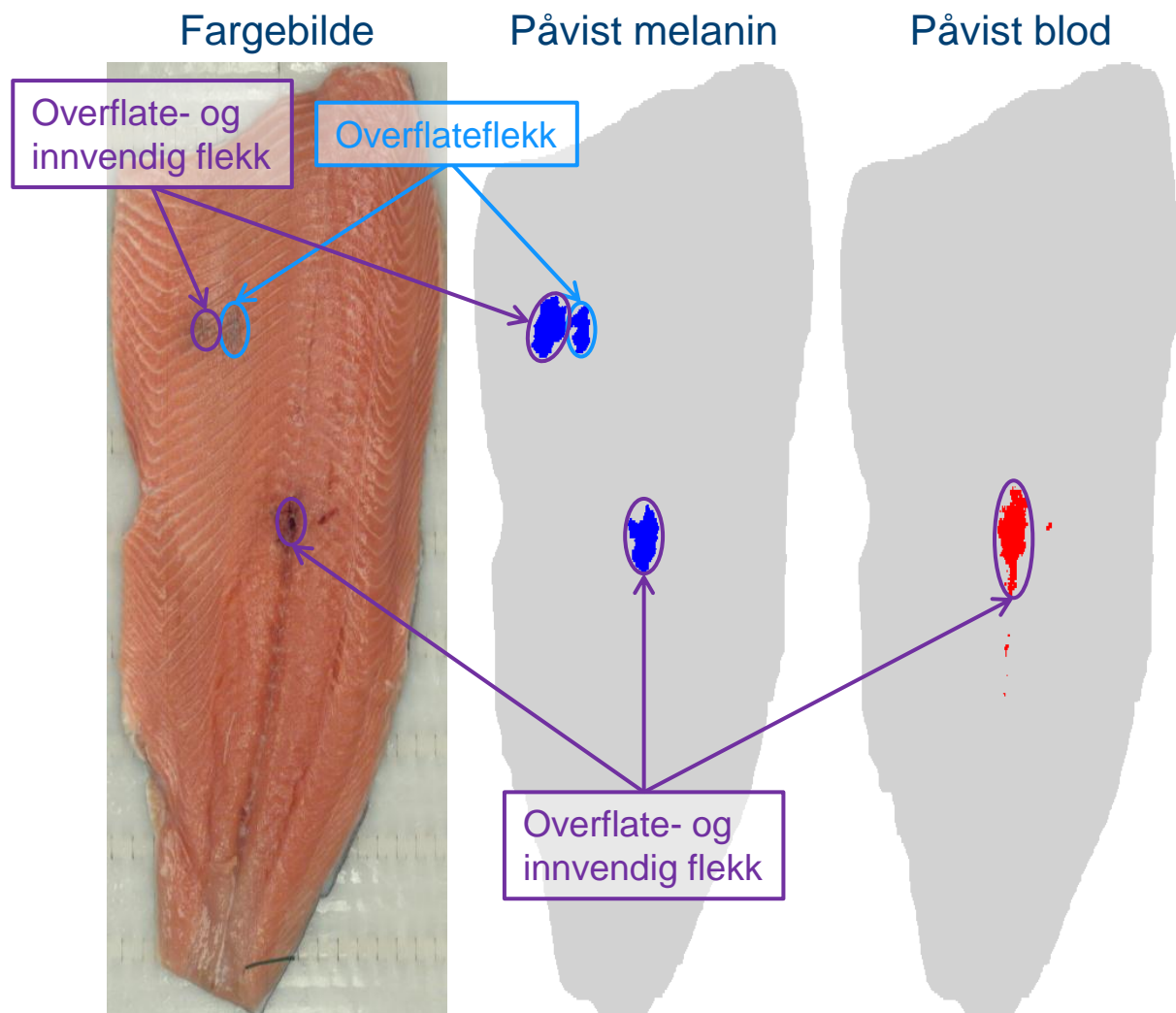
# Avsluttende test

## Overflateflekker vs. innvendige flekker

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

# Avsluttende test

## Overflateflekker vs. innvendige flekker - Eksempel



Filet med to svake melaninflekker og en kraftig blodflekk

# Avsluttende test

## Oppsummering

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

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

# Konklusjoner

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

# Veien videre

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

Takk for oppmerksomheten