

MINISTERIE VAN LANDBOUW

Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek

Kommissie voor T.W.O.Z.

Voorzitter : F. LIEVENS, Directeur-Generaal

**OBJEKTIEVE KWALITEITSBEPALINGEN
OP VERPAKTE HALFKONSERVEN**

door J. DEBEVERE en R. DE CLERCK

Publikatie nr 2

Wergroep "Voorverpakking Vis" (I.W.O.N.L.)

Wergroep "Visverwerkende Bedrijven" (I.W.O.N.L.)

— 1968 —

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Kommissie voor T.W.O.Z.
Voorzitter : F. LIEVENS, Directeur-Generaal

**OBJEKTIEVE KWALITEITSBEPALINGEN
OP VERPAKTE HALFKONSERVEN**

door J. DEBEVERE en R. DE CLERCK

Publikatie nr 2

Werkgroep "Voorverpakking Vis" (I.W.O.N.L.)

Werkgroep "Visverwerkende Bedrijven" (I.W.O.N.L.)

— 1968 —

I N L E I D I N G.

Als techniek tot het verduurzamen van de vis is het roken en het stomen van sommige vissoorten reeds lang gekend ; deze conserveertechniek draagt bij tot de valorisatie van visserijprodukten. Het is dan ook van uitzonderlijk belang de waarde van de processen aan de hand van objektieve kwaliteitsbepalingen vast te kunnen leggen ; meteen is het ook mogelijk de houdbaarheid en het bederf van het eindprodukt na te gaan. Het is overigens ook zo, dat tot nog toe de kwaliteitsbeoordeling enkel op subjektieve gronden berustte.

Er bestaat een relatief uitgebreide literatuur over het bederf en de objektieve kwaliteitsbepaling van verse vis. Voor verwerkte vis is het beeld niet zo klaar. Het is anderzijds ook zo, dat de onderzoeker die een kwaliteitsindex nodig heeft, zich moet kunnen beroepen op objektieve bepalingen, die dienen te voldoen aan welbegrensde eigenschappen, zoals konstantheid en betrouwbaarheid ; hiermee kan dan het "consumer appeal" beter worden omschreven.

Om het oppuntstellen van deze methoden te verwezenlijken, werden reeds veel onderzoekingen verricht.

In 1929 vonden Reed, Rice en Sinclair (1) dat autolyse slechts voor een klein deel verantwoordelijk dient gesteld te worden voor het visbederf. Gibbons en Reed (2) stelden in 1930 vast, dat de bacteriën hoofdzakelijk de eiwitafbraak veroorzaken. Reay en Shewan (3) zijn van oordeel dat de proteolyse, de trimethylamineoxyde reductie, de lipolyse en de koolhydraatafbraak de voornaamste biochemische aktieviteiten van de bacteriën

zijn. Dit bakteriëel bederf geschiedt via de kieuwen, het vasculair systeem, de huid en het buikvlies. Aan de hand van deze bevindingen worden de bakteriologische bepalingen door menig onderzoeker aangewend. Mathen, Lekshmy, Pillai en Bose (4) beweren dat de bakteriologische bepalingen in ieder schema voor kwaliteitsbepaling essentieel zijn.

Andere onderzoekers doen beroep op de bepaling van de afbraakstoffen, zoals het doseren van de totale vluchtige basische stikstof en het trimethylamine.

De bepaling van de totale vluchtige basische stikstof werd in 1910 door König (5) ingevoerd. In 1935 stelden Lücke en Geidel (6) een methode voor om door destillatie de totale vluchtige basische stikstofbestanddelen te doseren, terwijl Conway (7) de mikrodiffusiemethode introduceerde.

In 1937 bemerkten Beatty en Gibbons (8) dat de stijging van het trimethylamine in het visvlees parallel met de graad van afbraak verloopt. Zij besloten hieruit dat de bepaling van het trimethylamine aan de voorwaarde van een effectieve test voor versheidsbepaling voldoet. Later toonde Beatty (9) aan, dat 94 % van het trimethylamine uit het trimethylamineoxyde wordt gevormd. Het trimethylamineoxyde is onder wisselende hoeveelheden in alle vissen, die in marine milieu leven, aanwezig (10). De bakteriële omzettingen geschieden onder invloed van het triamineoxydease (11). Dit enzyme is zeer specifiek. Het reduceert trimethylamineoxyde, alsook het triethylamine en tri-n-propylamine, doch het aktiveert de $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\overset{\text{O}^-}{\text{C}}\equiv$ groep van betaine, choline, acetylcholine of ergothionine niet, evenmin trouwens als de $(\text{CH}_3)_2\text{N}-\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{H}_2-$ groep van stachydrine (11).

In 1959 werd door Dyer (12) een techniek op punt gesteld om het trimethylamine kolorimetrisch te doseren. Deze methode wordt het meest toegepast en geeft de meest betrouwbare resultaten.

Om de bruikbaarheid van deze methoden voor verwerkte vis na te gaan, werd een bewaringsproef op zacht gezouten gerookte haring aangelegd met als doel de bepaling van het totaal aantal bacteriën (TAB), de bepaling van de vluchtige basische stikstofbestanddelen (TVB) en van het trimethylamine (TMA) naar hun toepassingsmogelijkheden te testen. Nadien werd aan de hand van de bekomen resultaten nagegaan of er een correlatie tussen deze bepalingen bestaat. Aan de onderzoeken werd eveneens een technologische studie gekoppeld, met als doel de gewichtsoscilaties en de zoutuitlogingen gedurende de behandelingsprocessen na te gaan.

Proefomstandigheden.

Zacht gezouten gerookte haring behoort tot de gerookte produkten, die aan de konsument nog een bereiding vragen alvorens verbruikt te kunnen worden. De voorbehandelingsprocessen en het rookproces geven aan het produkt volgende eigenschappen :

- laag zoutgehalte,
- lichte rookkleur,
- gelijkmatig gedroogd,
- typische rooksmaak en geur en
- beperkte houdbaarheid.

I. Grondstof.

Bij de studie werd uitgegaan van drie homogene partijen diepgevroren volle haring, die aan een langzaam ont-dooiingsproces werden onderworpen.

II. Behandelingsprocessen.

1. Sorteren.

Voor het sorteren werd een Illumitronic trieer-apparaat CL-5-500W gebruikt. Het apparaat bezit een weegcel met een maximaal weegbereik van 175 g, terwijl anderzijds de gewichtsgrenzen van 10 g tot 300 g kunnen variëren. Op deze wijze kunnen, naar willekeur, vijf gewichtsklassen worden ingesteld. Voor het onderzoek werden haringen van de gewichtsklasse 160-185 g door sorteren afgezonderd.

2. Pekelen.

Wegens het feit dat het pekelen, in vergelijking met het droogzouten, een sneller indringen van de NaCl-molekulen in het vislichaam mogelijk maakt en tevens een uniforme verspreiding van het zout toelaat, werd een pekeloplossing van 15 % aangewend, met een pekelduur van 4 uur bij 7,5°C.

3. Speten en drogen.

Na het pekelproces werden de haringen aangespeet en gedurende een nacht aan de buitenlucht gedroogd.

4. Roken.

Er werd gerookt in de experimentele horizontale rooktunnel van het type Torry Research Station. De rook kan verschillende malen terug in omloop worden gebracht, hetgeen het nuttig effect van de rookbestanddelen in die mate verhoogt dat het rookproces gevoelig kan worden ingekort. Tevens zijn alle instelbare factoren onder controle, zoals temperatuur, relatieve vochtigheid, snelheid en dichtheid van de rookgassen.

Het rookproces van zacht gezouten gerookte haring kan worden ingedeeld in :

- een korte droogperiode met een oplopen van de temperatuur tot 32°C met als doel de organen, waardoor de speet steekt, te verstevigen. Hoewel in de praktijk bij 40°C wordt gedroogd, werd uit experimenteel oogpunt de temperatuur op 32°C gebracht.

- een rookperiode bij een temperatuur van 24-28°C, waarbij de rookbestanddelen op het lichaam worden vastgelegd. In tegenstelling met de 30°C in de praktijk werd bij het roken eveneens een lagere temperatuur aangewend.

De temperatuuroscillaties gedurende het rookproces worden in figuur 1 weergegeven. De duur van droog- en rookperiode bedroeg 4 uur.

5. Verpakken.

De haringen werden afzonderlijk met een cellofaanfilm verpakt.

6. Bewaren.

Een bewaarproef werd ingesteld bij een temperatuur van 6°C, waarbij analyses werden verricht na 1, 2, 5, 7, 8, 9, 12, 13 en 15 dagen.

III. Laboratoriumanalysen.

1. Analysen voor kwaliteitsbepaling.

(A) Het TAB. of totaal aantal bacteriën werd bepaald door telling van het totaal aantal kolonies gevormd na inkubatie bij 23°C, gedurende 3 x 24 uur, op een tryptone-glukose extract agar bodem en wordt logaritmisch per gram visvlees uitgedrukt (13).

(B) Het TMA of trimethylamine werd colorimetrisch gedoseerd volgens de pikraatmethode van Dyer (12) (14) op het destillaat van de TVB bepaling en wordt in mg N% uitgedrukt. Het doseren op het destillaat van de TVB werd verkozen boven de extraktiemethode, vermits door extractie de kleurstoffen, gevormd bij het roken, uit het visvlees mede worden geëxtraheerd en bijgevolg storend werken bij de kleurmeting van het gele pikraat.

(C) De TVB of de totale vluchtige basische stikstofbestanddelen in de vis aanwezig, werden titrimetrisch gedoseerd volgens de methode van Lücke en Geidel (6) (13) na vrijkoming door stoomdestillatie met apparatuur voorgesteld door Antonacopoulos (15). De hoeveelheid wordt in mg N% uitgedrukt.

2. Analysen in verband met het technologisch onderzoek.

(A) Zoutdosering.

De klassieke methode van Volhard (16) werd voor de bepaling van het NaCl-gehalte aangewend.

(B) Gewichtsverliezen.

Bij iedere proef werden de haringen door weging op gewichtsvariatiën gecontroleerd.

IV. Resultaten en besprekingen.

1. Resultaten en besprekingen van de kwaliteitsbepalingen.

Na 1, 2, 5, 7, 8, 9, 12, 13 en 15 dagen werden telkens zes vissen van elke partij ontleed op TAB, TMA en TVB. Tevens werden de produkten nagegaan op reuk, smaak en uitzicht. Aan de hand van de bekomen resultaten werd de correlatie tussen TMA en TAB en tussen TVB en TAB getest.

(A) Analyseresultaten.

De resultaten van hoger beschreven analyses zijn in tabel 1 vermeld. Tevens zijn de gemiddelde waarden grafisch in de figuren 2, 3 en 4 uitgezet.

Tabel 1. - TAB, TVB en TMA-waarden door bewaring bij 6°C.

| TAB (totaal aantal bacteriën per gram in \log_{10}) | | | | |
|--|----------|----------|----------|------------|
| Dagen | 1e proef | 2e proef | 3e proef | Gemiddelde |
| 1 | 3.50 | 3.40 | 3.05 | 3.32 |
| 2 | 4.19 | 4.10 | 4.12 | 4.13 |
| 5 | 5.45 | 5.05 | 5.16 | 5.22 |
| 7 | 6.40 | 5.99 | 5.66 | 6.02 |
| 8 | 6.95 | 6.65 | 6.40 | 6.66 |
| 9 | 7.16 | 7.19- | 7.92 | 7.42 |
| 12 | 7.48 | 8.01 | 7.11 | 7.53 |
| 13 | 7.90 | 8.06 | 7.65 | 7.87 |
| 15 | 8.00 | 8.10 | 7.98 | 8.09 |
| TVB (totaal vluchtige basen in mgN%) | | | | |
| Dagen | 1e proef | 2e proef | 3e proef | Gemiddelde |
| 1 | 25.9 | 24.3 | 26.2 | 25.8 |
| 2 | 27.1 | 26.6 | 30.2 | 27.9 |
| 5 | 34.6 | 36.4 | 33.1 | 34.7 |
| 7 | 41.2 | 44.0 | 38.9 | 41.4 |
| 8 | 46.2 | 46.6 | 45.5 | 46.1 |
| 9 | 58.3 | 55.3 | 53.2 | 55.6 |
| 12 | 76.0 | 75.6 | 74.6 | 75.4 |
| 13 | 77.7 | 77.4 | 76.9 | 77.3 |
| 15 | 79.2 | 78.7 | 77.0 | 78.3 |
| TMA (trimethylamine in mgN%) | | | | |
| Dagen | 1e proef | 2e proef | 3e proef | Gemiddelde |
| 1 | 2.2 | 2.2 | 2.3 | 2.2 |
| 2 | 2.8 | 2.8 | 3.0 | 2.9 |
| 5 | 11.5 | 11.3 | 11.0 | 11.3 |
| 7 | 17.0 | 16.2 | 15.9 | 16.4 |
| 8 | 17.6 | 16.7 | 16.2 | 16.8 |
| 9 | 28.1 | 24.2 | 25.2 | 25.8 |
| 12 | 35.2 | 30.8 | 28.8 | 31.6 |
| 13 | 35.2 | 37.3 | 34.8 | 35.8 |
| 15 | 41.4 | 43.6 | 41.5 | 42.2 |

Fig. 1 : TEMPERATUURVERLOOP TIJDENS HET ROOKPROCES

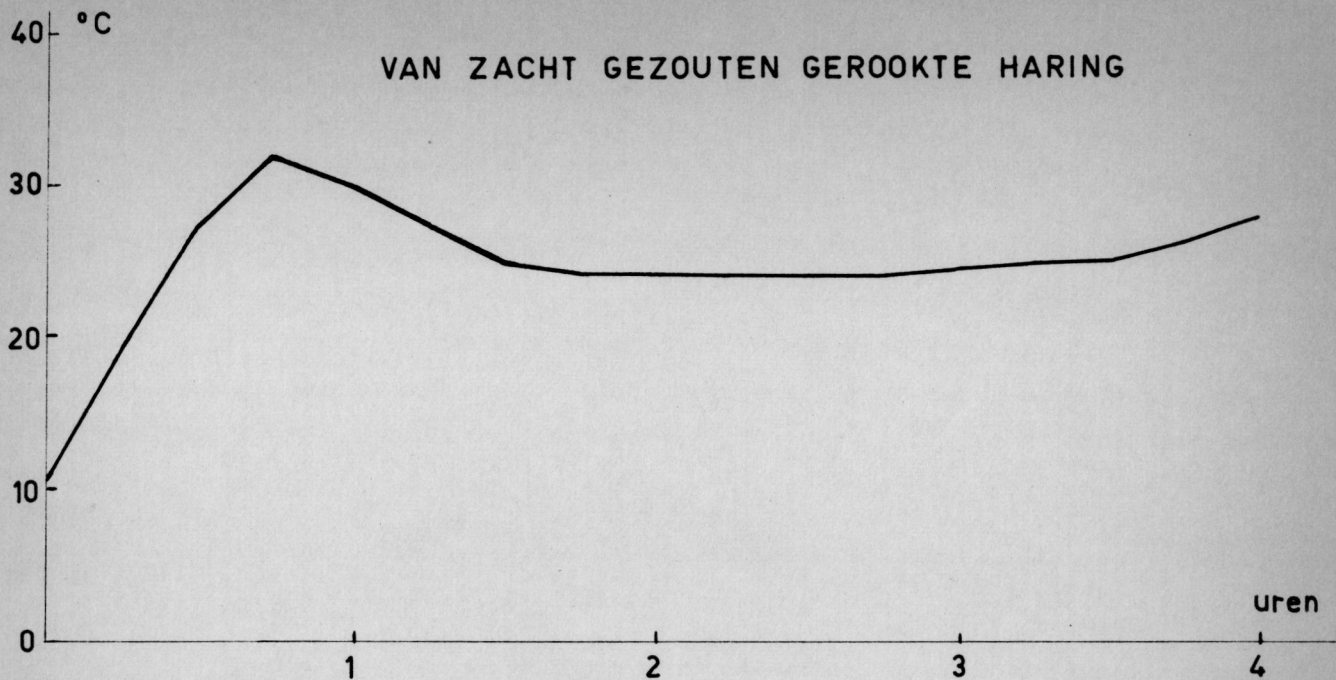


Fig.2 : TOTAAL AANTAL BAKTERIËN IN ZACHT GEZOUTEN

GEROOKTE HARING BIJ BEWAARPROEF VAN 6°C

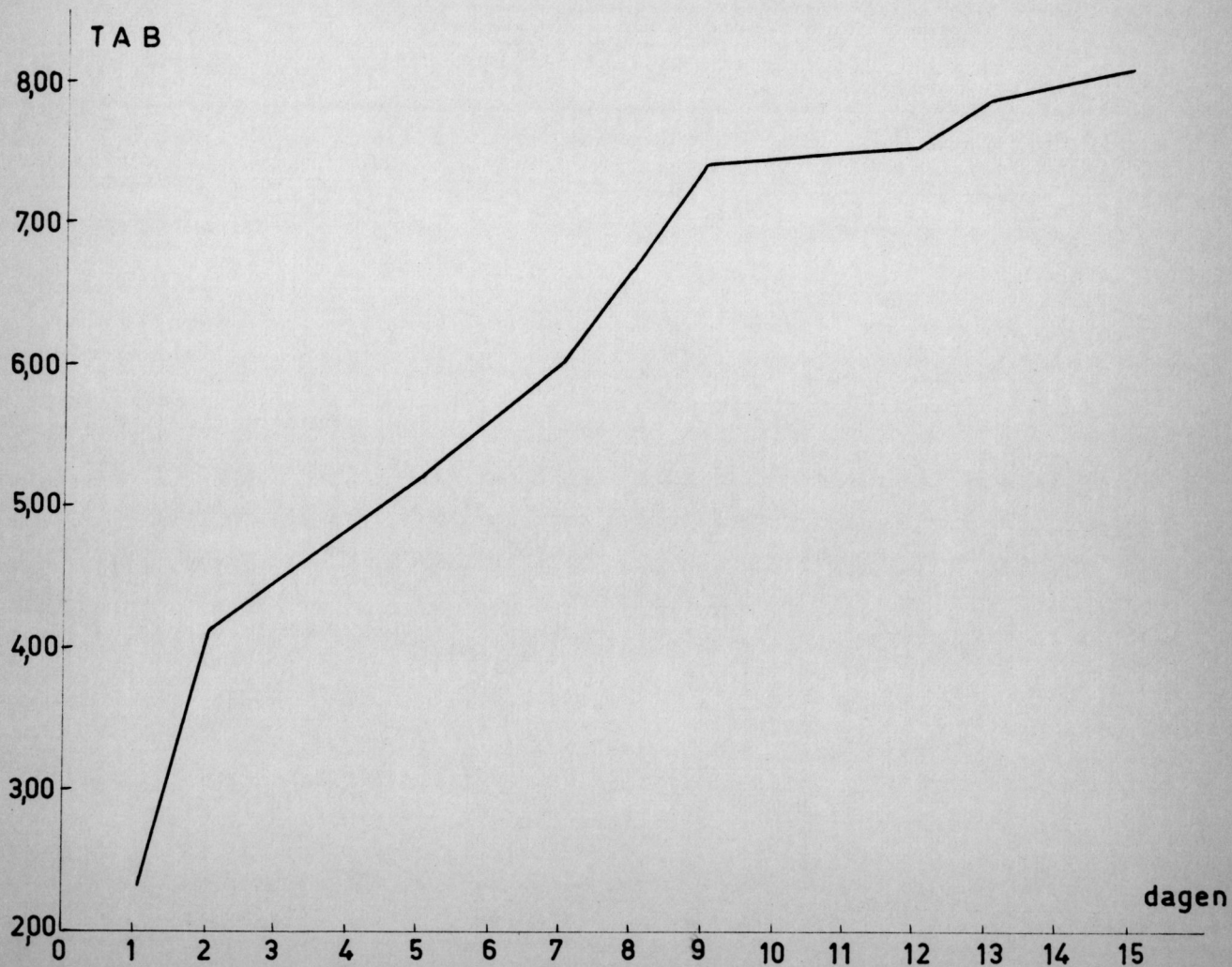
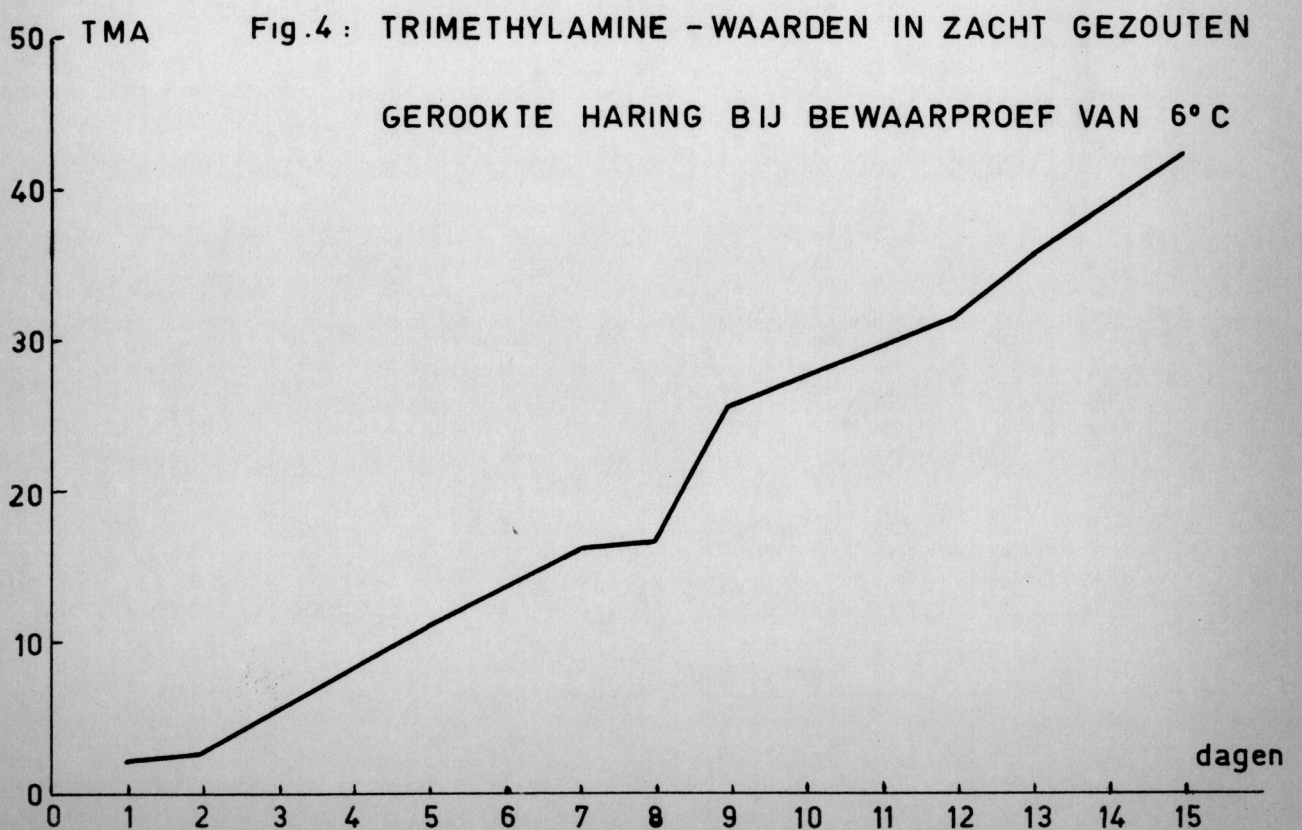
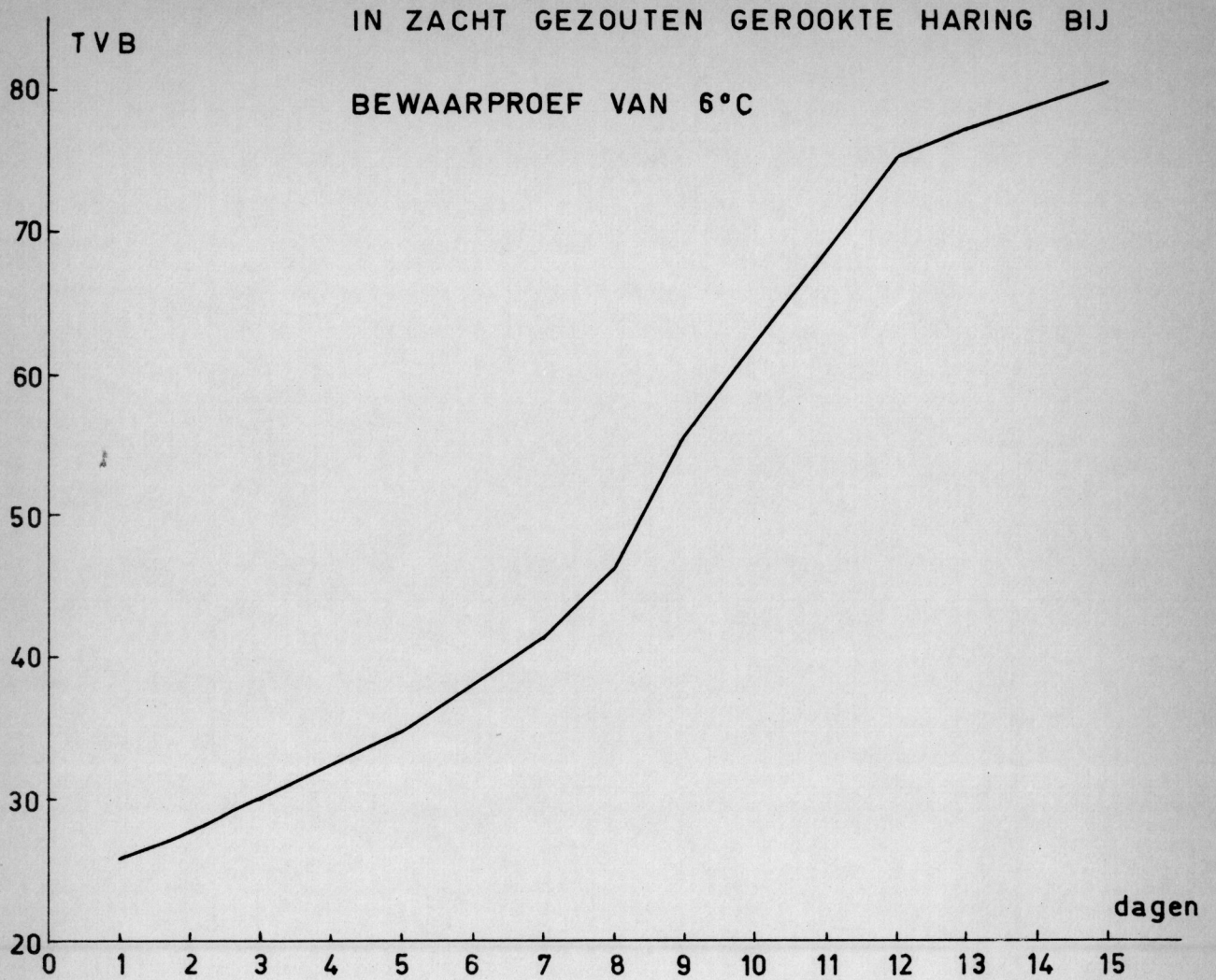


Fig. 3 , TOTAAL VLUCHTIGE BASISCHE STIKSTOFBESTANDDELEN



Bovenstaande tabel toont aan dat gedurende een bewaarperiode van 15 dagen het \log_{10} van het totaal aantal bacteriën per gram visvlees van 3,32 tot 8,09 toeneemt en dat het gehalte aan totaal vluchtige basen en trimethylamine respectievelijk van 25,8 en 2,2 tot 78,3 en 42,2 mg N % toeneemt.

(B) Correlatieberekening.

(a) Correlatie tussen TMA en TAB.

Als correlatiecoëfficiënt werd bekomen :
 $r = 0,945 > 0,487$ (voor $n = 27$ en voor 0,5 % eenzijdige overschrijdingskans).

Hieruit kan er worden besloten, dat er een goede correlatie tussen het trimethylaminegehalte enerzijds en het aantal bacteriën per gram visvlees anderzijds bestaat.

(b) Correlatie tussen TVB en TMA.

De correlatiecoëfficiënt bedraagt
 $r = 0,921 > 0,487$ (voor $n = 27$ en voor 0,5 % eenzijdige overschrijdingskans), zodat ook hier worden kon besloten, dat er een goede correlatie tussen TVB en TMA bestaat.

2. Analyseresultaten van het technologisch onderzoek.

(A) Zoutconcentraties.

De analyses werden verricht op de gepekeldde haringen en vervolgens op de gerookte produkten. De resultaten ervan zijn in tabel 2 opgenomen.

Tabel 2. - Variaties van het zoutgehalte gedurende het proces.

| | % zout in gepikkelde haring | % zout in gerookte haring | % uitloging gedurende het roken |
|------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 1e proef | 1,74 | 1,43 | 17,8 |
| 2e proef | 1,75 | 1,45 | 17,1 |
| 3e proef | 1,76 | 1,45 | 17,6 |
| Gemiddelde | 1,75 | 1,44 | 17,5 |

Uit de tabel blijkt, dat gedurende het rookproces een gemiddelde zoutuitloging van 17,5 % optreedt.

(B) Gewichtsverliezen.

Bij iedere proef werden 20 haringen op gewichtsvariaties gedurende de behandelingsprocessen onderzocht ; de gemiddelde waarden worden in tabel 3 weergegeven.

Tabel 3. - Procentuele gewichtsoscillaties gedurende de behandelingsprocessen.

| | % winst na pekelen | % verlies bij drogen | totaal verlies eindprodukt |
|------------|--------------------|----------------------|----------------------------|
| 1e proef | +1,12 | -5,23 | -8,02 |
| 2e proef | +1,07 | -5,15 | -7,88 |
| 3e proef | +1,06 | -5,59 | -8,63 |
| Gemiddelde | +1,08 | -5,32 | -8,17 |

Uit het onderzoek kan worden besloten, dat, na het pekelen, een procentuele gewichtstoename van gemiddeld 1,08 % plaats vond. Verder werd een gemiddeld gewichtsverlies van 5,32 % na drogen genoteerd. Tenslotte bedroeg het totaal gemiddeld gewichtsverlies tussen begin- en eindprodukt 8,17 %.

Teneinde het gewichtsverlies bij het rookproces nog dieper te kunnen analyseren, werden gedurende het proces per partij 10 haringen op gewichtsverlies gecontroleerd ; de resultaten van de gemiddelden worden in tabel 4 vermeld.

Tabel 4. - Procentuele gewichtsvariatiën gedurende het roken.

| | 1e uur roken | 2e uur roken | 3e uur roken | 4e uur roken | Totaal |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------|
| 1e proef | -1,10 | -0,61 | -0,93 | -1,27 | -3,91 |
| 2e proef | -1,18 | -0,64 | -0,83 | -1,15 | -3,80 |
| 3e proef | -1,38 | -0,59 | -0,81 | -1,32 | -4,10 |
| Gemiddelde | -1,22 | -0,61 | -0,86 | -1,24 | -3,94 |

Uit tabel 4 blijkt, dat het gemiddeld gewichtsverlies gedurende het roken toeneemt met 1,22 % gedurende het eerste uur en met 1,24 % gedurende het vierde uur ; dit is een logisch gevolg van de temperatuurstijging in de tunnel tot respectievelijk 32°C en 28°C (zie figuur 1).

Uiteindelijk werden de gewichtsvariatiën tijdens het bewaren zelf nagegaan. De waarden van 10 monsters worden in tabel 5 genoteerd.

Tabel 5. - Gewichtsverliezen gedurende het bewaren bij 6°C.

| Monster | Gewicht na roken | Gewicht na 15 dagen bij 6°C | % gewichtsverlies |
|---------------------------|------------------|-----------------------------|-------------------|
| 1 | 167,7 | 157,9 | 5,8 |
| 2 | 161,7 | 151,8 | 6,1 |
| 3 | 164,3 | 153,9 | 6,3 |
| 4 | 165,1 | 156,3 | 5,3 |
| 5 | 158,9 | 148,4 | 6,6 |
| 6 | 162,4 | 151,0 | 7,0 |
| 7 | 165,9 | 156,2 | 5,8 |
| 8 | 161,1 | 150,7 | 6,5 |
| 9 | 163,7 | 153,3 | 6,4 |
| 10 | 172,0 | 161,8 | 5,9 |
| Gemiddeld gewichtsverlies | | | 6,2 |

Uit de waarden van tabel 5 komt een gemiddeld gewichtsverlies van 6,2 % naar voren, hetgeen ongetwijfeld belangrijk mag worden genoemd.

V. Besluiten.

Aan de hand van de bekomen resultaten kunnen volgende besluiten worden getrokken :

1) Tenaanzien van de objektieve kwaliteitsbepaling kan voor de drie bepalingen (TAB, TVB en TMA) worden geopteerd gezien zich gedurende de bewaringsperiode een stijging voordoet met betrekking tot het totaal aantal bacteriën, het gehalte aan totale vluchtige basische stikstofbestanddelen en het gehalte aan trimethylamineoxyde.

Aan de hand van de bekomen resultaten kan de graad van versheid en kwaliteit van zacht gezouten gerookte haring worden bepaald. Rekening houdend enerzijds met het feit dat als uiterste grens voor goede kwaliteit van vis, voor wat het aantal bacteriën per gram visvlees betreft, de waarde $0,8 \cdot 10^6$ wordt aangenomen ($\log_{10} = 5,90$) (17) en steunend anderzijds op het feit dat er een goede correlatie tussen de drie onderzochte objektieve kwaliteitsbepalingsmethoden bestaat, kan worden afgeleid dat (a) als uiterste waarde voor TVB en TMA respektievelijk ca -40 mg N % en 15 mg N % kunnen worden genomen en (b) de vis ca. 7 dagen een goede kwaliteit behoudt.

Gerookt materiaal vertoont de specifieke eigenschap de bederfcomponenten naar reuk en smaak minder uitgesproken tot uiting te laten komen. Hierdoor zou kunnen worden aangenomen, dat de grenzen enigszins naar boven mogen worden geschoven, zodat er als uiterste grens voor TAB, TVB en TMA respektievelijk 6.50, 45 en 17 mag worden vooropgezet.

Deze waarden stonden overigens overeen met de wijzigingen in uitzicht, smaak (ranzigheid) en geur (verdwijnen van typische rookgeur).

2) Ten aanzien van het gewichtsverlies kan worden vastgesteld, dat een gemiddeld gewichtsverlies van 8,17 % optreedt en dit ten gevolge van de diverse behandelingsprocessen.

3) Ten aanzien van de zoutuitloging kan worden besloten, dat gedurende het roken gemiddeld 17,5 % zout uitloopt.

Literatuur.

- (1) Reed, G.B., Rice, C.E., en Sinclair, R.J., Contrib. Can. Biol. Fisheries, 4, 229-55 (1929).
- (2) Gibbons, N.E., en Reed, G.B., J. Bact. 19, 73-88 (1930).
- (3) Reay, G.A., en Shewan, J.M., Advances in Food Research, 3, 343, (1949).
- (4) Mathet, C., Lekshmy, A., Pillai, V.K. en Bose, N., The Technology of Fish Utilisation. International Symposium Husun, May 1964. Fishing News (Books) Ltd, London.
- (5) König, J., Springer, J., Leipzig (1910).
- (6) Lücke, F., en Geidel, W., Z. Lebensmittel-Unters. u.-Forsch. 70, 411, (1935).
- (7) Conway, E., Microdiffusion Analysis and Volumetric Error. Crosby Lockwood and Son Ltd, London (1962).
- (8) Beatty, S.A. en Gibbons, N.E., J. Biol. Bd. Can., 3, 77-91, (1937).
- (9) Beatty, S.A., J. Fish. Res. Bd. Can., 4, 63-8, (1938).
- (10) Beatty, S.A., J. Fish. Res. Bd. Can., 4, 229-32, (1939).
- (11) Tarr, H.L.A., J. Fish. Res. Bd. Can., 5, (1940).
- (12) Dyer, W., Journal of the A.O.A.C., 42, 292, (1959).
- (13) Debevere, J., Proefstation voor Zeevisserij, Oostende, Werkgroep "Voorverpakking Vis" (I.W.O.N.L.), Publikatie nr. 1, (1967).
- (14) Vyncke W., Ministerie van Landbouw, Proefstation voor Zeevisserij, Oostende, Publikatie nr. 5, (1964).
- (15) Antonacopoulos, N., Z. Lebensmittel-Unters. u.-Forsch., 113, 113, (1960).
- (16) Vogel, A.I., Quantitative Inorganic Analysis, London, Longmans, 3rd Ed., 266, (1961).
- (17) Wittfogel, H., Der Lebensmitteltierarzt, 5, 10, (1953).

