

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Kommissie voor Toegepast Wetenschappelijk Onderzoek
in de Zeevisserij (T.W.O.Z.)

**WAARDE VAN DE INDOOLBEPALING ALS OBJECTIEVE
KWALITEITSANALYSE OP COMMERCIELE GARNAALSOORTEN**

D. DECLERCK en H. VAN HAUWAERT.

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

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent).

Publikatie nr 174 - VB/VV (I.W.O.N.L.) 27, 1981.

(*) Onderzoek gesubsidieerd door het Instituut tot Aanmoediging van het Wetenschappelijk Onderzoek in Nijverheid en Landbouw (I.W.O.N.L.).

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Kommissie voor Toegepast Wetenschappelijk Onderzoek
in de Zeevisserij (T.W.O.Z.)

**WAARDE VAN DE INDOOLBEPALING ALS OBJECTIEVE
KWALITEITSANALYSE OP COMMERCIELE GARNAALSOORTEN**

D. DECLERCK en H. VAN HAUWAERT.

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

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent).

Publikatie nr 174 - VB/VV (I.W.O.N.L.) 27, 1981.

(*) Onderzoek gesubsidieerd door het Instituut tot Aanmoediging van het
Wetenschappelijk Onderzoek in Nijverheid en Landbouw (I.W.O.N.L.).

1. Inleiding.

De kwaliteit van vis en schaaldieren kan worden bepaald aan de hand van organoleptische, chemische en bacteriologische analyses. Voor sommige vis- en schaaldieren werd reeds een organoleptisch keuringschema ontworpen. Nochtans wordt de beoordeling van de kwaliteit meer objectief wanneer de bepalingen met scheikundige analyses wordt verricht. De keuze van de gebruikte methoden hangt evenwel af van de aard van het onderzoeksmateriaal, de opslag (gekoeld of diepgevroren) en de bewerkingen die het produkt heeft ondergaan. Een derde reeks van analyses omvat de bacteriologische bepalingen. Sommige bacteriologische analyses hebben als doel de versheidsgraad te bepalen, terwijl andere de hygienische kwaliteit van de vis determineren.

Onlangs werd door sommige importerende landen de indoolbepaling aan de reeks van scheikundige analyses op garnaal toegezegd. Indool is een chemische komponent die door de biochemische omzetting van tryptofaan wordt gevormd. Onder de indool positieve microorganismen kunnen een aantal Enterobacteriaceae (o. a. *E. Coli*), Vibrionaceae (o. a. *Vibrio parahaemolyticus* en *Vibrio anguillarum*) en Bacillaceae (o. a. *Clostridium bifermentans*) worden vermeld. Tabel 1 heeft een overzicht van de belangrijkste indoolproducerende bacteriën (1). Deze bacteriën worden door het koken vernietigd, doch het kookproces heeft weinig invloed op het indoolgehalte van het monster. Hieruit volgt dat door de bepaling van indool het mogelijk kan zijn een idee van de kiembelasting, vóór de aanvang van het kookproces, te verkrijgen. De toegelaten hoeveelheid indool werd door de Amerikaanse "Food and Drug Administration" op 25 μ g/100 g garnaalvlees gesteld.

Onderhavige studie heeft tot doel de waarde van de indoolbepaling als objectieve kwaliteitsanalyse op garnalen te onderzoeken. Hiervoor werd de vorming van indool gedurende het bederf van garnalen gevolgd.

Tabel 1 - Overzicht van de belangrijkste indoolpositieve bacteriën. (1)

Indoolpositief micro-organisme	Voorkomen	Optimum temperatuur
<i>Treponema</i>		
<i>T. phagedinis</i>	mens	37 °C
<i>T. refringens</i>	mens	37 °C
<i>T. denticola</i>	mens	37 °C
<i>T. orale</i>	mens	37 °C
<i>T. vincentii</i>	mens	37 °C
<i>Escherichia</i>		
<i>E. coli</i>	mens	37 °C
<i>Edwardsiella</i>		
<i>E. tarda</i>	mens, water	37 °C
<i>Citrobacter</i>		
<i>C. intermedius</i>	mens, voedsel, faeces, urine	
<i>Shigella</i>		
<i>S. dysenteriae</i>	mens	
<i>S. flexneri</i>	mens	
<i>S. boydii</i>	mens	
<i>Proteus</i>		
<i>P. vulgaris</i>	faeces	20 °C
<i>P. morganii</i>	faeces	20 °C
<i>Yersinia</i>		
<i>Y. enterocolitica</i>	faeces, krenge	30-37 °C
<i>Erwinia</i>		
<i>E. herbicola</i>	water, mens	27-30 °C
<i>Vibrio</i>		
<i>V. cholerae</i>	mens, water	37 °C
<i>V. parahaemolyticus</i>	mariene omgeving	37 °C
<i>V. anguillarum</i>	visprodukten	37 °C
<i>Aeromonas</i>		
<i>A. hydrophila</i>	water en visprodukten	30 °C
<i>A. punctata</i>	water en visprodukten	30 °C
<i>A. salmonida</i>	water en visprodukten	30 °C
<i>Plesiomonas</i>		
<i>P. shigelloides</i>	faeces	30 °C
<i>Lucibacterium</i>		
<i>L. harveyi</i>	zeewater, dode zeedieren	25-30 °C
<i>Flavobacterium</i>		
<i>F. indoltheticum</i>	mariene omgeving	30 °C

vervolg

Haemophilus		
H. haemolyticus	mens	37 °C
H. parainfluenzae	mens	37 °C
H. paraphrohaemolyticus	mens	37 °C
Cardiobacterium		
C. hominis	mens	30-37 °C
Clostridium		
C. bifermentans	water, mariene afzettingen	30-37 °C
C. scatologens	gecontamineerd voedsel	37 °C
C. malenominatum	faeces, infecties	37 °C
C. cadaveris	faeces, infecties	37 °C
C. lentoputrescens	faeces, infecties	37 °C
Propionibacterium		
P. acnes	huid	30-37 °C

2. Experimentele gegevens.

2.1. Proefopzet.

Diepgevroren gekookte en gepelde rauwe warmwatergarnalen (*Penaeus indicus*) van Indiase herkomst werden ontdooid en in een koelcel op 0°C en 10°C bewaard.

Om de invloed van het blancheren op de bacteriologische samenstelling en de chemische bederfcomponenten in rauwe en gekookte garnalen te kunnen nagaan werden rauwe garnalen gedurende 30 minuten in een vijfprocentige zoutoplossing gepekeld. Daarna werd de gezouten rauwe garnaal in een kokend waterbad respectievelijk gedurende 30 en 60 seconden geblancheerd. De gekookte garnaal onderging geen voorbehandeling, maar werd onmiddellijk 30 en 60 seconden in kokend water gebracht.

2.2. Chemische testen.

De concentraties van twee chemische bederfcomponenten werden bepaald, nl.

- totaal vluchtige basische stikstof (TVB) (2) (3),
- indoolgehalte (4).

2.3. Microbiologische beoordeling.

Het onderzoek omvatte de bepaling van het totaal aantal kiemen per gram visvlees van volgende bacteriesoorten :

- aërobe kiemen (TAB) na 5 dagen bij 20°C en na 3 dagen bij 37°C op plate count agar (oxoid) (5),
- enterobacteriaceae op VRB6 agar (oxoid) (6),
- coliformen bij 37°C, als bodem werd VRBL agar gebruikt en na een incubatie van 24 uur werden een aantal kolonies afgepikt en op slanten van EMB Agar overgeënt voor de telling van *Echerichia coli* (7).

3. Resultaten en besprekingen.

3.1. Rauwe garnalen.

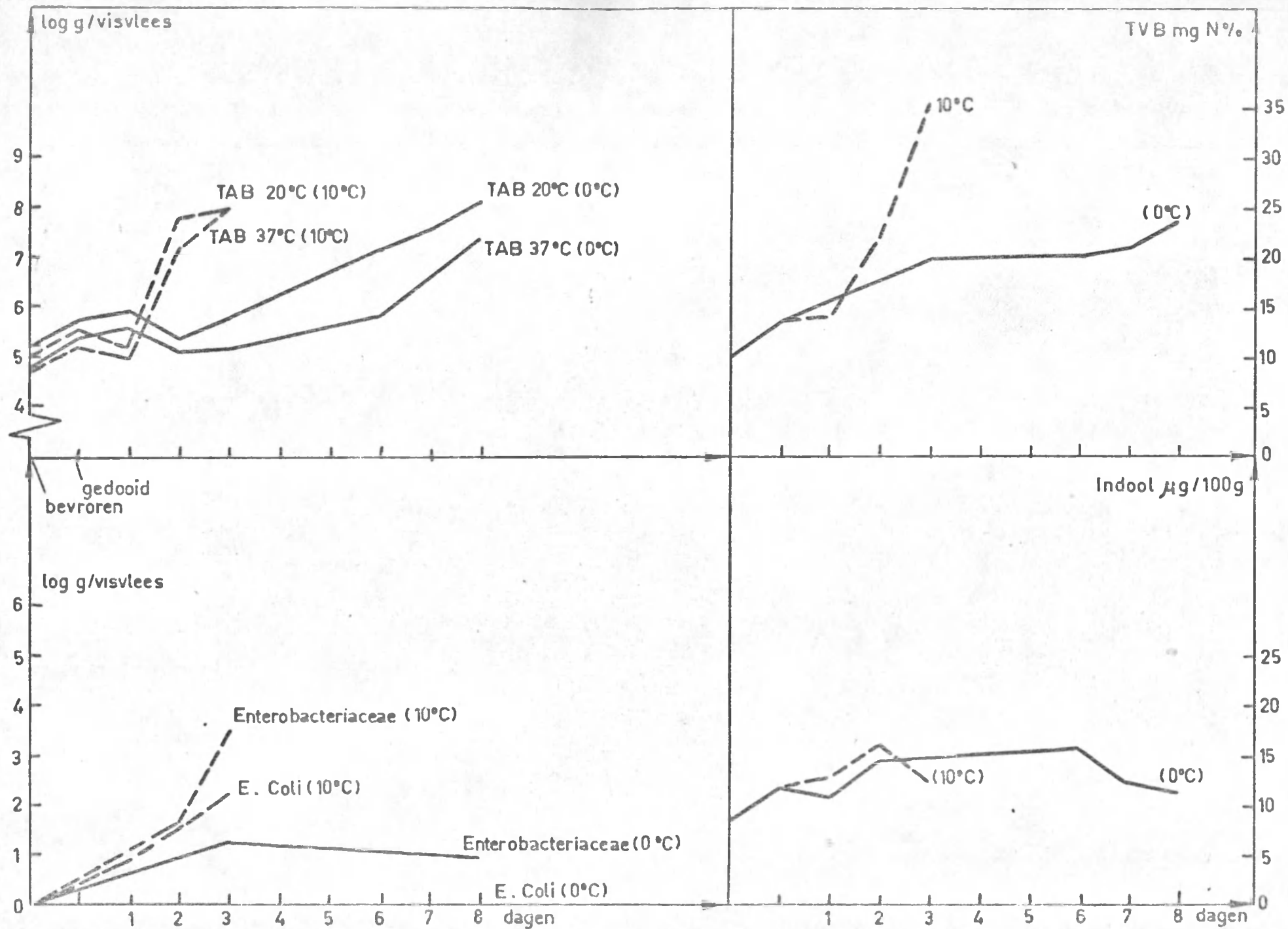
Uit de analyses blijkt dat het produkt van behoorlijke beginkwaliteit was ($T_{20} = 1,3 \times 10^5/g$ en TVB = 10,1 mg N %).

Op te merken valt dat het TAB en TVB goed het voortschrijdend bederf weergaven. Er lijkt een relatie te bestaan tussen deze twee parameters. Zowel bij 0°C als bij 10°C steeg het TAB als het TVB in functie van de tijd. Dit is duidelijk zichtbaar op de figuur 1.

De Enterobacteriaceae, die vooral voor de hygiëne van belang zijn, kwamen niet tot ontwikkeling. Ofwel waren zij te gering in aantal in de beginflora aanwezig, ofwel werd de groei door de normale flora onderdrukt. Vooral bij 0°C was de temperatuur te laag voor de ontwikkeling van deze organismen, waarvan de optimumtemperatuur 37°C bedraagt. Aansluitend hiermee kan worden opgemerkt dat de indoolbepaling geenszins de bederfcurve volgde. Dit kan waarschijnlijk verklaard worden door het wegblijven van indoolproducerende bacteriën zoals de Enterobacteriaceae.

3.2. Gekookte garnalen.

Bij het bewaren van de gekookte garnalen bij 0°C en 10°C werd een duidelijk verband vastgesteld tussen de TVB en de stijging van het TAB (figuur 2). In het beginprodukt was de aanwezigheid van de Enterobacteriaceae laag. Nochtans viel het op dat het indoolgehalte reeds vrij hoog was en zelfs de Amerikaanse norm van 25 ug/100 g reeds had overschreden. Dit kan alleen verklaard worden door de aanwezigheid van een groot aantal Enterobacteriaceae vóór het kookproces.



Figuur 1 - Evolutie van de bacteriologische en chemische kwaliteit gedurende het bewaren van rauwe garnaal bij 0°C en 10°C.

Bij het bewaren bij 0°C werd geen groei van de Enterobacteriaceae vastgesteld. Het indoolgehalte daalde zelfs in functie van de tijd. Dit is waarschijnlijk het gevolg van een verdere afbraak van indool. Hierop werd evenwel niet verder ingegaan.

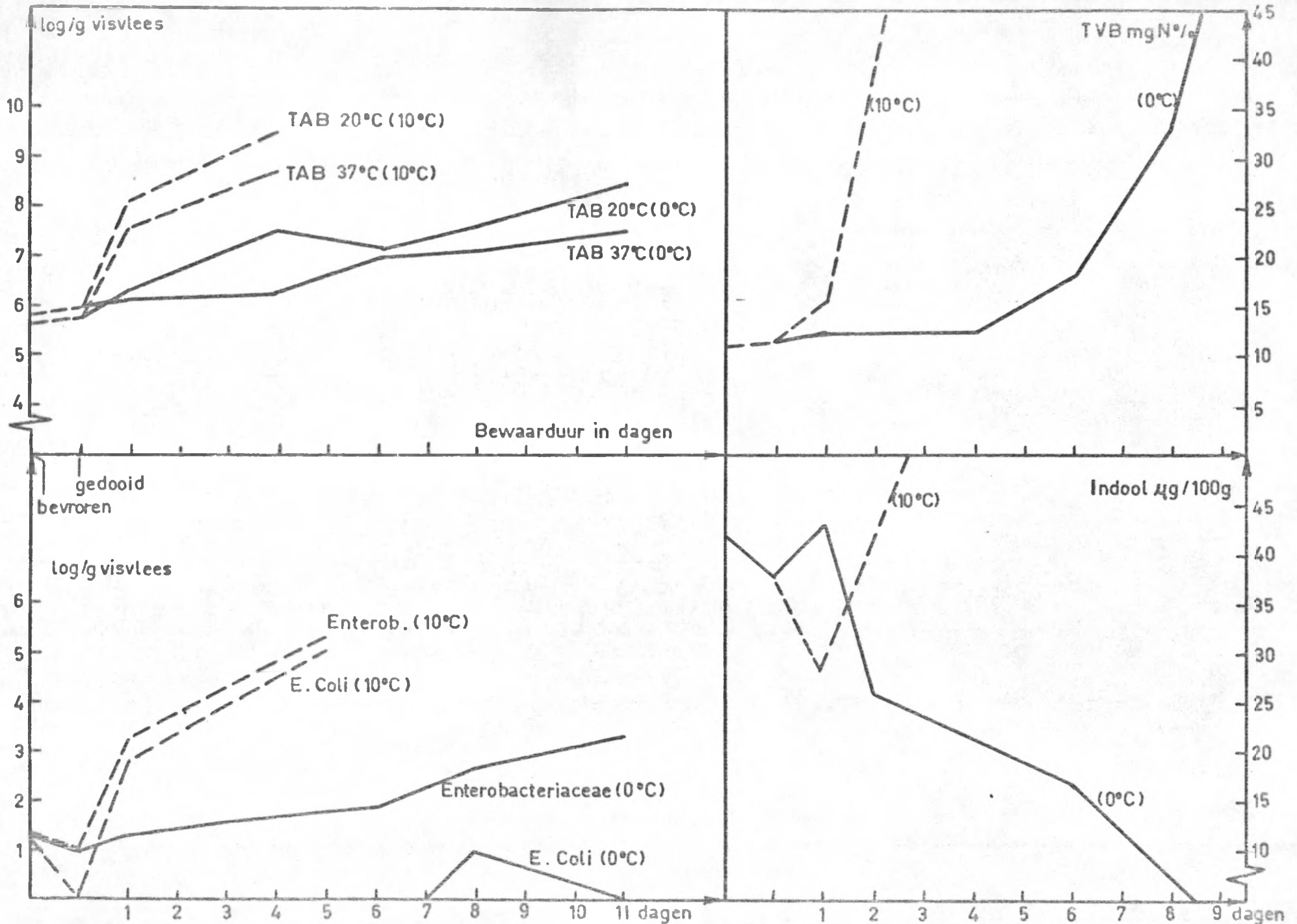
Bij het bewaren bij 10°C daarentegen werd reeds na vier dagen meer dan 10^6 Enterobacteriaceae per gram garnalen geteld, terwijl ook de aanwezigheid van E. Coli aanzienlijk was. Hier werd voor het eerst een duidelijke relatie vastgesteld tussen de indoolproduktie en de aanwezigheid van Enterobacteriaceae in de garnalen.

3.3. Blancheren.

Bij de rauwe garnalen kon geen verband worden gelegd tussen het zeer hoge gehalte aan indool en de geringe bacteriologische belasting. In tegenstelling met wat bij het manueel pellen kon worden verwacht, werden geen Enterobacteriaceae gevonden. Dit kan enkel verklaard worden door een bijkomende manipulatie na het pellen, die het kiemgetal doet dalen (tabel 2).

Tabel 2 - Invloed van het blancheren op de bacteriologische belasting en de chemische bederfcomponenten bij rauwe en gekookte garnalen.

Garnalen	Blancheer-tijd (in sec.)	TVB (mg N %)	Indool ug/100 g	TAB-20°C	Enterobac-teriaceae	Gewichts-verlies in %
Rauw	0	16,5	144	7×10^4	0	0
	30	12,2	118	4×10^4	0	31,6
	60	12,8	110	$1,1 \times 10^4$	0	31,8
Gekookt	0	23,4	49,2	$6,8 \times 10^6$	5	0
	30	19,2	58,4	6×10^5	0	18
	60	19,4	58,8	$1,1 \times 10^5$	0	21



Figuur 2 - Evolutie van de bacteriologische en chemische kwaliteit gedurende het bewaren van gekookte garnaal bij 0°C en 10°C.

Bij het blancheren van de rauwe garnalen daalde het indoolgehalte een weinig, doch bij het herblancheren van de reeds gekookte stalen werd er een stijging genoteerd. Een spectaculaire uitloging van indool gedurende het kookproces werd niet gevonden. Evenmin was de daling van het TVB van die aard dat kortstondig herkoken voldoende was om te hoge TVB waarden binnen aanvaardbare grenzen te brengen. Daarnaast was het grote gewichtsverlies economisch een schadelijke faktor.

Samenvatting.

Uit de bewaarproeven blijkt dat een hoog indoolgehalte enkel kan ontstaan tengevolge van de aanwezigheid van grote aantallen Enterobacteriaceae (vooral Echerichia Coli). De vermenigvuldiging van deze bacteriën wordt bevorderd door hogere stockage temperaturen. Vooral na het kookproces, waarbij de Enterobacteriaceae moeten beschouwd worden als een nabesmetting, wordt de groei ervan bij gebrek aan competitie vergemakkelijkt. Het kookproces verlaagt de bacteriële belasting, maar het indoolgehalte niet. Hieruit blijkt het belang van de indoolbepaling. Het gehalte geeft namelijk een idee van de hygienische kwaliteit van de garnalen vóór het kookproces. Het afwijzen van monsters op basis van het indoolgehalte is des te meer zinvol wanneer rekening wordt gehouden met de mogelijke aanwezigheid van endotoxinen die terzelfdertijd worden gevormd.

Bibliografie.

- (1) Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th edition 1975.
- (2) Lucke F., und Geidel W. : Zeitsch. Lebensmitt.-Untersuch., 70, 441 (1935).
- (3) Antonacopoulos N. : Zeitsch. Lebensmitt.-Untersuch. u. Forsch., 113 (1960).
- (4) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 11th ed. Washington, U.S.A., 1970.
- (5) American Public Health Association : "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" 11th ed., APHA inc. New York (1960).
- (6) Standard Methods for the examination of dairy products, 10th ed., APHA inc., New York, pp. 144 and 147-148 (1953).
- (7) United States Pharmacopeia XVIII, p. 846-851 (1970).

