

133222

Instituut voor Zeevisserijwetenschappelijk onderzoek
Rijksstation voor Zeevisserijwetenschappelijk onderzoek
8401 Oostende - Belgium - Tel. 059/80.37.12

Bewaarprouven op voorverpakte verse haring (*Clupea harengus* L.) onder gesimuleerde verkoopsumstandigheden

D. DECLERCK en H. DEVRIENDT

Ministerie van Landbouw
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Commissie voor Toegepast Wetenschappelijk
Onderzoek in de Zeevisserij (T.W.O.Z.) (*)
Werkgroep : « Visverwerkende Bedrijven -
Voorverpakking Vis » (I.W.O.N.L.) (**)
Ankerstraat 1 - 8400 Oostende

(*) Voorzitter : F. Lievens, Directeur-generaal

(**) Onderzoekingen verricht op het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. - Gent)

29(5)

Bewaarprouven op voorverpakte verse haring (*Clupea harengus* L.) onder gesimuleerde verkoopsomstandigheden

D. DECLERCK en H. DEVRIENDT

Ministerie van Landbouw
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Commissie voor Toegepast Wetenschappelijk
Onderzoek in de Zeevisserij (T.W.O.Z.) (*)
Werkgroep : « Visverwerkende Bedrijven -
Voorverpakking Vis » (I.W.O.N.L.) (**)
Ankerstraat 1 - 8400 Oostende

(*) Voorzitter : F. Lievens, Directeur-generaal

(**) Onderzoekingen verricht op het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. - Gent)

SAMENVATTING

Om de invloed van de opslag onder verkoopsomstandigheden op verse voorverpakte haring te bepalen, werden een reeks bewaarproeven uitgevoerd.

De haringsmonsters werden dagelijks met organoleptische, chemische (totale vluchtige basische stikstofbestanddelen, trimethylamine, ammoniak, hypoxanthine) en bacteriologische (totaal aantal aërobe en anaërobe bacteriën, Enterobacteriaceae) kwaliteitsbepalingsmethodes onderzocht.

Daarnaast werden de gramnegatieve bacteriën aan de hand van het schema van Shewan geïdentificeerd. De resultaten toonden aan dat de voorverpakte haring bij 0°C ruim vijf dagen houdbaar was, terwijl onder afwisselende opslag van 0°C en 4°C de haring vijf dagen en bij 0°C en 8°C vier dagen voor consumptie geschikt bleef.

De negatieve invloed van een verhoogde koeltoonbanktemperatuur (8°C) kwam tot uiting bij de telling van het totaal aantal aërobe bacteriën en bij het aantal Enterobacteriaceae.

Op het einde van de bewaarproef omvatte de *Pseudomonas* en *Acinetobacter*groep circa 80% van de flora. Uit de gegevens kwam verder naar voren dat de *Pseudomonas*-bedervers een meer psychrofiel karakter hebben dan de *Acinetobacter*groep.

1. INLEIDING

De bewaarcapaciteit van verse vis hangt in hoofdzaak af van de toegepaste stockagetemperatuur.

Meestal wordt er met ijs afgekoeld, daar het rechtstreeks contact met de vis een snelle koeling tot gevolg heeft.

Voorverpakte visserijproducten worden echter niet rechtstreeks met ijs in contact gebracht. De verpakkingseenheden worden voorgekoeld en in een koeltoonbank geplaatst. Het koelen van vis werkt niet alleen een betere houdbaarheid in de hand maar dient vanuit het oogpunt hygiëne als een noodzaak te worden beschouwd.

Pathogene micro-organismen zoals *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* en *Clostridium perfringens* zijn bij vis een mogelijke bron van voedselvergiftiging. *Vibrio parahaemolyticus* is de enige die tot de normale flora van vis kan behoren. *Clostridium perfringens* komt door opname van gepollueerd zeewier in de ingewanden van vis terecht, terwijl *Salmonel-*

la daarentegen van landdieren afkomstig is. *Staphylococcus aureus* komt voor bij de mens en warmbloedige dieren. De vis wordt hier vooral door menselijk contact besmet.

De minimum groeitemperaturen voor *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus* en *Clostridium perfringens* zijn respectievelijk 5,5°C, 5-8°C ; 6,6° en 15°C (1). Hieruit blijkt een koeling bij ca 4°C voldoende te zijn om de ontwikkeling van de pathogene micro-organismen tegen te gaan.

Onderhavige studie had tot doel de houdbaarheid van voorverpakte verse haring onder gesimuleerde verkoopsomstandigheden en onder verschillende koelcondities te bestuderen. De invloed van de stockagetemperatuur op de ontwikkeling van de micro-organismen werd eveneens nagegaan.

2. EXPERIMENTELE GEGEVENS

2.1. Haring (*Clupea harengus* L.)

De haring was afkomstig van de Sandtietje Bank en behoorde tot de gewichtsklasse 100-150 g. Het gemiddelde vetgehalte van de twee partijen onderzochte haring bedroeg 13,8% en 14,5%. De haring werd onder bedrijfsomstandigheden gegut en ontkopt. Telkens werden drie haringen in polystyreenschaaftjes gelegd en omwikkeld met PVC rekfolie (zuurstofdoorlaatbaarheid $\pm 3\ 600\ \text{ml/m}^2/24\text{u}/1\text{atm}/20^\circ\text{C}$). De film werd aan de onderkant van het verpakkingsschaaltje geseald.

2.2 Organoleptisch onderzoek

De haring werd op uitzicht, consistentie en geur door vier personen beoordeeld. Het schema dat hiervoor werd aangewend, is afkomstig van het Torry Research Station, Aberdeen (2).

2.3. Chemisch onderzoek

Van de verschillende haringmonsters werden de gehalten aan volgende bederfcomponenten bepaald :

- totale vluchtige basische stikstof (TVB), met de methode van Lücke en Geidel (2), gewijzigd door Antonacopoulos (4)

- trimethylamine (TMA), bepaald volgens Dyer (5), maar op 2 ml van het TVB destillaat
- hypoxanthine (HX), bepaald volgens Jones et al. (6)
- ammoniak, door versnelde microdiffusie (7)

2.4. Bakteriologisch onderzoek

Het totaal aantal aërobe en anaërobe tellingen werd verricht door enting op petrischalen voorzien van « Plate count agar » (Difco). De verdunningen werden door middel van een steriele glazen staaf op het agaroppervlak uitgestreken. De telling van het totaal aantal aërobe bacteriën werd verricht na 5 dagen incubatie bij 18°C.

Voor de telling van het anaëroob kiemgetal werd gebruik gemaakt van het anaëroob systeem (BBL Cockeyville, Maryland U.S.A.). De tellingen werden verricht na 72 uur incubatie bij 30°C.

De telling van de Enterobacteriaceae (8, 9) werd uitgevoerd met « Crystal violet neutral red glucose (VRBG) » agar. Hiervan werden telkens twee kolonies van verschillende types afgepikt en getest voor oxidase activiteit, fermentatieve afbraak van glucose en resistentie aan de inhibitor 0-129.

Van de petriplaten die werden gebruikt voor de telling van het totaal aantal aërobe bacteriën, werden circa 40 kolonies afgepikt en op slanten met nutriënt agar overgeënt.

De gramnegatieve organismen werden met behulp van het schema van Shewan (10) gedifferentieerd.

De gramnegatieve bacteriën werden bepaald aan de hand van het identificatieschema van Kazanas (11). De identificatie werd verder bevestigd door middel van Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (12). De bacteriën, die in het Shewan-schema als *Achromobacter* en *Alcaligenes* worden beschreven, werden hier aangeduid als *Acinetobacter* (Thornley).

Uiteindelijk werd onderzoek verricht op de mogelijke aanwezigheid van *Salmonella* (13, 14, 15), *Staphylococcus aureus* en *Vibrio parahaemolyticus* (16).

2.5. Proefopzet.

Een gedeelte van de voorverpakte haring werd gedurende 5 dagen continu bij 0°C bewaard (koeling A). Een tweede deel werd gedurende 5 dagen afwis-

selend 9 uur bij 4°C en 15 uur bij 0°C gehouden (koeling B) en de rest intermitterend 9 uur bij 8°C en 15 uur bij 0°C (koeling C).

De monsternamen vond 's morgens om 9 uur plaats. Voor elk kwaliteitsonderzoek werden 5 verpakkingseenheden aangewend.

3. RESULTATEN EN DISKUSSIE

Bij het opstellen van de bederfcurven voor het vergelijkend onderzoek tussen de drie toegepaste koelcondities werden de gemiddelde waarden van chemische, organoleptische en bacteriologische bepalingen gebruikt. Met betrekking tot de organoleptische resultaten (fig. 2) werden de haringen bij een score lager dan 9 als bedorven beschouwd.

De haring die continu bij 0°C werd bewaard, bleek ruim 5 dagen houdbaar. onder afwisselende opslag van 0° en 4°C (koeling B) was de haring na 5 dagen op de grens van de houdbaarheid, terwijl voor koeling C de haring ruim 4 dagen houdbaar bleek. De organoleptische resultaten waren in overeenstemming met de chemische bepalingen. Zowel de TVB, het NH₃ als het TMA gaven een duidelijk beeld van de invloed van de opslagtemperaturen en konden als kwaliteitsbepalingen voor verse haring worden weerhouden (fig. 1). Door vergelijking van de organoleptische en chemische kwaliteitstesten werd de bederfgrens voor de TVB, het NH₃ en het TMA respectievelijk op 31 ± 1 mg N %, 18 ± 1 mg N % en 9 ± 1 mg N % gesteld.

Ten aanzien van de hypoxanthinevorming kwam de invloed van de opslagtemperatuur duidelijk tot uiting (fig. 1). Tussen koeling B en koeling C werd echter geen aanzienlijk verschil in hypoxanthinevorming vastgesteld. De afbraaksnelheid van de nucleotiden is duidelijk temperatuurgebonden en wordt aanzienlijk versneld bij verhoogde stockagetemperaturen (17, 18).

De bederfgrens voor hypoxanthine werd op 27 mg % gesteld en is in overeenstemming met de bevindingen van Hughes en Jones (19).

De initiale aërobe en anaërobe kiembelasting van de haring bedroeg gemiddeld respectievelijk $2,6 \times 10^5$ en 2×10^5 bacteriën per gram (fig. 2). Voor de drie opslagtemperaturen steeg het totaal aantal langzaam gedurende de eerste drie dagen van de bewaarperiode. Op de vierde en vijfde dag versnelde de bacteriële groei aanzienlijk en wel in functie van de stockagetemperatuur. Het totaal aantal aërobe bacteriën steeg slechts in geringe mate. Nochtans werd een duidelijke vermeerdering van het kiemgetal bij de haring die van koeling C afkomstig was, vastgesteld.

Na vijf dagen bewaren werden voor koeling A, B en C respectievelijk 3×10^4 , 4×10^4 en $1,6 \times 10^5$ Enterobacteriaceae per gram geteld. Uit deze ge-

Fig. 1 - Vergelijkend chemisch onderzoek van voorverpakte haring doorlopend bij 0°C (—), afwisselend bij 0°C en 4°C (-----) afwisselend bij 0°C en 8°C (-·-·-·-) bewaard.

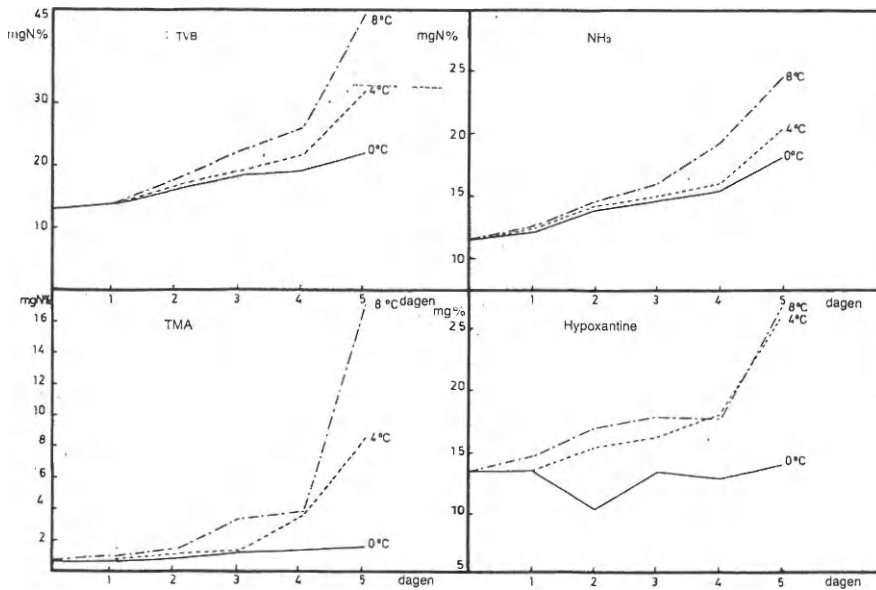
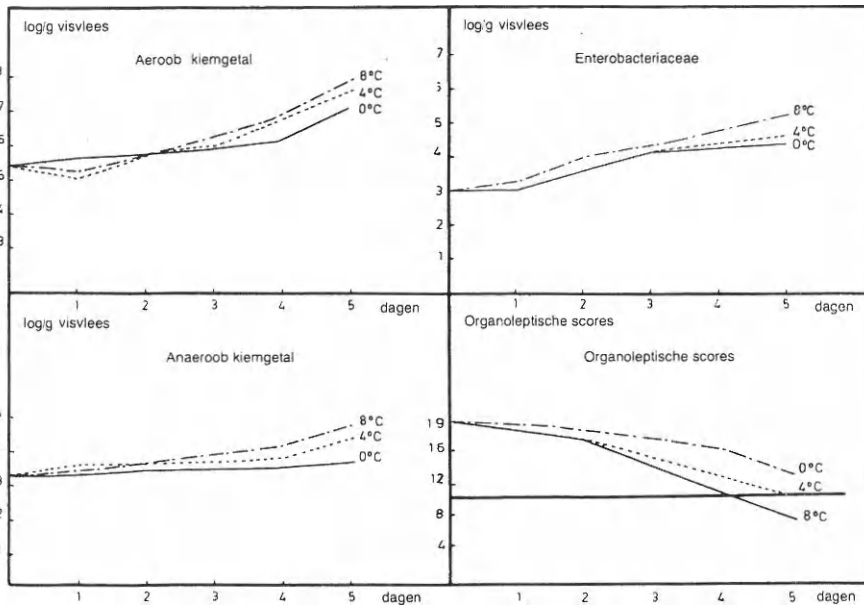


Fig. 2 - Vergelijkend bacteriologische en organoleptisch onderzoek van voorverpakte haring doorlopend bij 0°C (—), afwisselend bij 0°C en 4°C (-----) en afwisselend bij 0°C en 8°C (-·-·-·-) bewaard.



gevens blijkt dat het aantal kiemen stijgt met een verhoogde opslagtemperatuur (koeling C). Daar het aantal Enterobacteriaceae een maat is voor de hygiënische kwaliteit moet de opslagtemperatuur van 8°C worden vermeden.

De Pseudomonas- en de Acinetobactergroep (tabel 1) die traditioneel tot de psychotrofe flora behoren, maken slechts 28 % uit van de flora van verse haring. Na 5 dagen bewaren was het aandeel van de Pseudomonas- en Acinetobactergroep echter gevoelig gestegen en omvatte circa 80 % van de flora. Na 5 dagen bewaren werden procentueel hogere aantallen Pseudomonas soorten geteld bij haringen die bij 0°C werden bewaard, terwijl bij 4°C en 8°C de Acinetobactergroep een groter deel van de flora uitmaakte. Dit is een indicatie dat Pseudomonas bedervers meer psychrofiel zijn dan de Acinetobactergroep.

TABEL 1. — Verandering van de microbiële flora bij voorverpakte verse haring gedurende het bewaren bij 0°C, 4°C en 8°C

| Micro-organismen | Distributie van de flora in % na 5 dagen bewaarduur | | | |
|-----------------------------|--|----------------------|----------------------|------------------------|
| | Blanco | 0°C | 4°C | 8°C |
| Pseudomonas | | | | |
| type I | 10 | 15 | 15 | 10 |
| type II | 0 | 0 | 0 | 0 |
| type III en IV | 3 | 18 | 15 | 15 |
| Acinetobacter | 25 | 47 | 50 | 58 |
| Flavobacterium | 15 | 5 | 5 | 0 |
| Vibrio | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Enterobacteriaceae | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Grampositieve bacteriën | 35 | 10 | 5 | 7 |
| Niet geklassificeerd | 5 | 8 | 10 | 10 |
| Aantal onderzochte kolonies | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Totaal aantal | 26 x 10 ⁴ | 13 x 10 ⁶ | 33 x 10 ⁶ | 62,5 x 10 ⁶ |

Het is bekend dat de Pseudomonassoorten tot de meest actieve bedervers behoren (20, 21). Alhoewel de Pseudomonasgroep procentueel kleiner in aantal was bij de haring die afwisselend bij 0°C en 8°C (koeling C) werd bewaard, is hun aantal in absolute cijfers groter dan bij de haring die bij 0°C werd gestockeerd. Hieruit is het snellere bederf bij hogere stockage-temperaturen te verklaren.

Na vijf dagen bewaren werd voor de drie stockagetemperaturen een gevoelige daling van de grampositieve bacteriën genoteerd. Deze groep van bacteriën omvatte vooral micrococci en staphylococci soorten en behoren bij de trage bedervers (21), zodat hun bijdrage tot het bederf gering was. Het onderzoek op de mogelijke aanwezigheid van *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* en *Vibrio parahaemolyticus* was negatief.

SUMMARY

Prepackaged herring (*Clupea harengus L.*) was stored under simulated selling conditions for up to 5 days : by day (from 9 to 21 h) at 0°, 4° and 8°C and by night at 0°C. Samples withdrawn every day were analysed by sensory, chemical and bacteriological quality determination methods. Gram-negative bacteria were indentified according to the Shewan scheme.

The results indicated that the herring had a shelf life of more than 5 days at 0°C, 5 days at 4°-2°C and 4 days at 8°-0°C.

The negative influence of a higher refrigeration counter temperature was revealed by the counts of total aerobic bacteria and by the Enterobacteriaceae.

At the end of the storage period the Pseudomonas and the Acinetobacter group represented about 80 % of total flora. Furthermore the results showed that Pseudomonas spoilers have a more psychrophilic character than the Acinetobacter group.

BIBLIOGRAFIE

1. LISTON, J. and MATCHES, J.R., Survival and growth of pathogenic bacteria in seafoods. Fish inspection and quality control. Ed. R. Kreuzer (FAO), Fishing News (Books) Ltd London, 246 (1971).
2. Torry Research Station Aberdeen : Discription of Indices of Quality Herring.
3. LÜCKE, F. and GEIBEL, W., Z. Lebensmitt. – Untersuch., 70, 441 (1935).
4. ANTONACOPOULOS, N., in Handbuch der Lebensmittelchemie, vol. III/2, Springer Verlag, Berlin (1968).
5. DYER, W., J. of A.O.A.C., 42, 292 (1959).
6. JONES, N., MURRAY, J., LIVINGSTON, E. and MURRAY, C., J. Sci. Fd Agric., 15, 763 (1964).
7. VYNCKE, W., Fish. News Int., 7, 49 (1968).

8. HOLTZAPFEL, M. & MOSSEL, D.A.A., *J. Food Technol.* 3, 223 (1968).
9. MOSSEL, D.A.A., MENGERIK, W.H.J. & SCHOTS, H.H., *J. Bacteriol.* 84, 318 (1962).
10. SHEWAN, J.M., HOBBS, G. and HODGKISS, W., A determinate scheme for the identification of certain genera of gram negative bacteria, with special reference to the Pseudomonadaceae. *J. Appl. Bacteriol.*, 23, 379 (1960).
11. KAZANAS, N., Effect of gamma irradiation on the microflora of freshwater fish. *Applied microbiol.*, 14 (6), 957 (1966).
12. ROBERT, S., MURRAY, E.G., NATHAN, S., *Bergey's manual of determinative bacteriology* – seventh edition, Baltimore (1957).
13. BUTTIAUX, R., BEERENS, H., & TACQUET, A., *Manuel de Techniques bactériologiques*. 3ème édition, Paris, Flammarion (1969).
14. DRIESSEN, F.M. & STADHOUDERS, J., *Netherl. Milk & Dairy J.*, 26, 91 (1972).
15. KAMPELMACKER, E.H. & MOSSEL, D.A.A., *Cahier d'Information du Bureau Eurisotop*, 20, Bruxelles, C.E.E.
16. MOSSEL, D.A.A. en Tamminga, S.K., *Methoden voor het microbiologische onderzoek van levensmiddelen*. P.C. Noordervliet, Zeist (1973).
17. FRASER, D.I., PITTS, D.P. and DYER, W.J., Nucleotide degradation and organoleptic quality in fresh and thawed mackerel muscle held at and above ice temperature. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 25, 239-253 (1968).
18. MURRAY, J., JONES, N.R. and BURT, J., *Fish. Res. Bd. Can.*, 23, 1795 (1966).
19. HUGHES, R.B. and JONES, N.R., *J. Sci. Agric.*, 17, 433 (1966).
20. SHAW, B.G. and SHEWAN, J.M., Psychrofilic spoilage bacteria of fish. *J. Appl. Bacteriol.*, 31, 89 (1968).
21. COX, N.A. and LOVELL, R.T., Identification and characterisation of the microflora and spoilage bacteria in freshwater crayfish. *Journal Fd Science*, 38, 679 (1973).

B2297