

FISKERIDIREKTORATETS SKRIFTER

Serie Teknologiske undersøkelser

*(Report on Technological Research concerning Norwegian Fish Industry)*

*Vol. II. No. 12.*

Published by the Director of Fisheries

---

Undersøkelser over  
holdbarhet av lettsaltet sild uten eddik

Av

Yngvar Gilberg

Fiskeridirektoratets Kjemisk-Tekniske  
Forskningsinstitut

*Summary in English*

Investigation on Keeping Quality of Mild Cured Herring

1953

---

A.s John Griegs Boktrykkeri, Bergen



## Forsøksplanlegging og analyseresultater.

Holdbarheten av lettsaltet sild er betraktelig dårligere enn sild konservert med salt og eddik, idet vannstoffione-konsentrasjonen her er for lav (pH 6.5 — 6.7) til å ha konserverende virkning. En nedsettelse av vannstoffione-konsentrasjonen er et av de beste hjelpemidler man har for å øke et produkts lagringsdyktighet og som beskrevet av CASTELL og SNOW 1949 kan trimetylaminoksyd-reduserende bakterier hemmes i betydelig grad ved å senke pH til under 5.0.

Saltets konserverende virkning beror hovedsaklig på at den mikrobiologiske virksomhet hemmes ved at produktets vanninnhold nedsettes, men det er først i høye konsentrasjoner at saltet utøver en merkbar baktericid virkning. Ved de saltkonsentrasjoner som vanligvis er brukt i lettsaltede silde typer (14 — 16 %) er den baktericide effekt av saltet ikke tilstrekkelig til å sikre en lengre holdbarhet ved temperaturer over 0°C. For å forlenge holdbarheten under slike lagringsforhold er man derfor nødt til å benytte seg av tilsetning av kjemiske konserveringsmidler.

Imidlertid er virkningen av en rekke konserveringsmidler i et nøytralt miljø betraktelig nedsatt idet disse stort sett har sin maksimale effekt ved en pH under 5.0. Et arbeide av RAHN og CONN, 1949, viser at bl. a. bensoesyre og salicylsyre er nesten hundre ganger så effektive som antiseptika i sterk sur som i nøytral oppløsning. Likeledes viser  $\text{SO}_2$  en maksimal effekt ved en lav pH. Den toksiske virkning av disse konserveringsmidler på bakterier og gjærseiler beror i henhold til forfatterne på det udisosierte molekyl. Forskjellen i effekten av det udisosierte molekyl og ionene av samme syre forklares ved det faktum at det er vanskelig for ioner å trenge igjennom membranene til levende seiler i motsetning til molekylet. Hvor man bruker kombinasjoner av konserveringsmidler med såkalte synergister, beror den økede effekt for en stor del på en senkning av pH (SCHELHORN 1951). Det er derfor nødvendig når det gjelder et nøytralt miljø å finne frem til andre kon-

serveringsmidler eller kombinasjoner hvor pH er av underordnet betydning for å oppnå en tilfredsstillende effekt.

Virkningen av esterne av para-oksybensoesyre er som omtalt i foregående arbeide (GILBERG 1952) ikke avhengig av en lav pH og skulle derfor være brukbare her.

Virkningen av hexametylentetramin ble i foregående arbeide funnet å bero på en spaltning i surt miljø til formaldehyd. Dette er også bekreftet i et arbeide av YAMADA 1952. Dette arbeide konkluderer med at den baktericide såvel som den bakteriostatiske effekt av hexametylentetramin kan tilskrives fri formaldehyd i oppløsning, at den bakteriostatiske effekt av formaldehyd ikke økes nevneverdig ved økning i vannstoffione konsentrasjonen, og at den inhiberende virkning av formaldehyd på veksten av *Escherichia coli* undertrykkes i nærvær av cystein.

De konserveringsmidler som kan tenkes å bidra praktisk til en forlenget holdbarhet av produktet er derfor innskrenket til å omfatte nipaestrene og hexametylentetramin. Dessuten er tenkt prøvd kombinasjoner av disse med bensoat.

Da det er kjent at koksaltets forurensninger, særlig da kalsium- og magnesiumsalter har en merkbar innflytelse på det saltede produkts konsistens, ville det være av en viss betydning å undersøke om en kombinasjon av disse salter med konserveringsmidlene ville utøve noen innflytelse på deres effekt. Det er da vesentlig de lettløselige klorforbindelser som det her kan bli tale om.

Tidligere undersøkelser bl. a. av SHEWAN 1951 omtaler at når det gjelder saltmodning av fisk bør saltet ikke inneholde mere enn 0.6 % kalsium og magnesium salter for ikke å gi et dårlig produkt rent kvalitetsmessig. Større mengder enn 0.3 — 0.6 % kalsiumklorid i saltet ved skarpsalting av sild har vist seg å gi en bitter smak. Ved skarpsalting av sild anvendes ca. 30 kg salt pr. 100 kg sild, mens man ved lettsaltet og spesialbehandlet sild vanligvis bruker 15 kg salt pr. 100 kg sild. En tilsetning av kalsiumklorid ville derfor ikke måtte overskride størrelsesorden 0.07 — 0.1 % av sild + lake. Det samme vil gjelde magnesiumklorid.

For ytterligere å utfylle bildet av disse salters innflytelse på virkningen av konserveringsmidlet ville det være av interesse å tilsette stoffer som bl. a. binder kalsiumionene. Natriumhexametfosfat (Calgon) er egnet for dette formål.

Virkningen av saltets forurensninger av kalsium og magnesium har tidligere vært studert når det gjelder fet fisk av TRESSLER 1920 som fant at tilstedeværelsen av disse forurensninger forårsaket en blekning av fiskemuskulaturen. Likeledes er det på flere hold gjort undersø-

kelser i sammenheng med gulfargning av saltet torsk. Magnesiumsalter er funnet å trenge lettere inn i muskulaturen enn kalsium. Selv om virkningen av disse forurensninger utvilsomt for en stor del er av fysikalsk natur, er det grunn til å anta at virkningen også er av fysiologisk art, idet de øver en viss regulerende virkning på selve den bakteriologiske og ensymatiske nedbrytning av muskelen under saltmodningen. KEESER, 1931 har i sitt arbeide over virkningen av disse salter på fermentaktivitet vist at kalsium og magnesium i en rekke tilfeller opptrer som antagonist og at deres virkning såvel kvantitativt som også kvalitativt er forskjellig. Spaltning av gelatin med trypsin ble hemmet sterkere av kalsium- enn magnesiumklorid i en konsentrasjon av 0.0083 mol. Derimot virket kalsium påskyndende på virkningen av diastase ved spaltning av stivelse, mens magnesiumklorid hemmet spaltningen. Likeledes hemmet kalsiumklorid avspaltning av fosfor av natriumgly-

Forsøks nr.	Anvendt konserveringsmiddel
<i>Serie 1:</i>	
Nr. 11 ..	0.1 % Nipasol
- 12 ....	— + oktylgallat 0.02 %
- 13 ....	— + 0.055 % Calgon
- 14 ....	— + 0.073 % CaCl <sub>2</sub>
- 15 ....	— + 0.073 % MgCl <sub>2</sub>
- 16 ....	— + 0.1 % Ca acetat
- 17 ....	0.05 % Nipasol + 0.25 % eddiksyre (som hermetikkeddik)
<i>Serie 2:</i>	
Nr. 21 ....	0.27 % Mg.bensoat
- 22 ....	0.13 % Mg.bensoat + 0.035 % CaCl <sub>2</sub>
- 23 ....	0.27 % Na.bensoat
<i>Serie 3:</i>	
Nr. 31 ....	0.1 % Hexamethylentetramin
- 32 ....	— + 0.073 % CaCl <sub>2</sub>
- 30 ....	— Blindprøve
<i>Serie 4:</i>	
	0.18 % av en blanding av: 25 % Nipasol 50 % Mg.bensoat 25 % CaCl <sub>2</sub>
- 42 ....	0.22 % — 20.8 % Nipasol 54.2 % Mg.bensoat 25.0 % CaCl <sub>2</sub>
- 43 ....	0.22 % — 20.8 % Hexamethylentetramin 54.2 % Mg.bensoat 25.0 % CaCl <sub>2</sub>

cerinofosfat, en spaltning som forårsakes av fermentet glycerofosfatase som forekommer i gjærseiler. Magnesiumklorid hadde motsatt effekt.

En ikke uvesentlig faktor i forbindelse med undersøkelser over holdbarhet av lettsaltede sildeprodukter er harskningsfenomenene. En bedømmelse av et konserveringsmiddel eller en kombinasjon av konserveringsmidlers effekt er i en viss grad påvirket av deres pro- eller antioksyderende innflytelse. Når det gjelder virkningen av rent natriumklorid i denne forbindelse, har CHANG og WATTS, 1950 vist i sine undersøkelser over innvirkning av salt på animalsk fett at natriumklorid i fortynnete oppløsninger (2 — 10 %) hadde en inhiberende effekt på harskningen i motsetning til konsentrerte oppløsninger (10 — 20 %) hvor saltet hadde aksellererende virkning. Det samme var tilfelle hvor hemoglobin eller muskelelektakt var tilstede. Kalsiumklorid viste en langt sterkere aksellererende effekt enn natriumklorid, mens kaliumklorid hadde liten effekt. Gallatene er kjent som gode antioksydanter i marine oljer og har som også fremgikk av foregående arbeide (GILBERG, Y. 1953) en viss bakteriestatisk virkning. Det er dog å anta at selv om man kunne registrere en forsterket effekt av en kombinasjon av konserveringsmiddel med antioksydant i surt miljø, vil dette ikke være tilfelle i samme grad i et nøytralt miljø. Med henblikk på å nedsette harskningstendensen vil man sikkert komme lengre ved en kombinasjon av konserveringsmiddel med polyfosfater, idet disse binder Ca i nøytralt miljø. (RAEITHEL, H. 1952, LEHMANN og WATTS, 1951).

De foreliggende undersøkelser beror i likhet med det tidligere arbeide på den forutsetning at verdien for

$$\text{total flyktig N} \div \text{TMA-N} = \text{NH}_3\text{N}$$

vil gi uttrykk for den ensymatiske nedbrytning av fiskemuskel, og TMA-N vil være en indeks for bakterievirksomheten, idet trimetylaminoksyd-reducerende bakterier utgjør en representativ del av bakteriefloraen i saltet sild.

I denne forbindelse bemerkes i rapport over arbeide utført i Canada, 1951 over metabolismen av bakterier delaktig i bederelse av fisk, at produksjon av trimetylamin ikke utelukkende kan tilskrives oksyd-reducerende bakterier, men siden man har med et kompleks ensym-system å gjøre, er det alltid den mulighet at seller som i seg selv ikke kan redusere oksydet kan bidra til reduksjon av dette i en blandet kultur og således opptre som synergister. Det vil også være nødvendig å kontrollere om de funne verdier stemmer med en organoleptisk vurdering. Skjønt bakteriefloraen er sterkt undertrykt i et miljø med saltinnhold rundt 15 %, vil det allikevel være grobund tilstede for andre enn trimetylamin spaltende bakterier. Det vil derfor være et visst

konkurransforhold tilstede mellom disse forskjellige bakteriearter, og brukbarheten av en slik metode er da avhengig av om utviklingen av trimetylamin gir tilstrekkelig høye verdier innen et rimelig tidsrom til å danne grunnlag for en sammenligning før de øvrige bakteriearter gjør seg merkbart gjeldende ved utvikling av indol, svovelvannstoff og andre forråtnelsesprodukter som gjør seg merkbare ved dårlig lukt.

### Fremgangsmåte.

Råstoff var islandssild med rogn og melke, hodekappet og mave-dradd. Saltinnholdet i laken i tønne var 18 % og silden var fullt saltmoden. Laken inneholdt 61.20 mg/100 ml total flyktig N og 34.1 mg/100 ml TMA-N. Silden ble levert saltmoden fra et bergensk sildefirma og den ble oppbevart ved  $\div$  6°C.

For konserveringsforsøkene ble det godt frem analogt fremgangsmåten i foregående arbeide. Silden ble spylt etter at den var tatt ut av forrådstønne og lagt i krukke a 5 kg. sild. Silden ble så dekket med 14.5 % saltlake slik at total-vekten utgjorde gjennomsnittlig 5.5 kg. Konserveringsmidlet ble løst i noe av denne laken ved oppvarming, og etter at det var iblandet resten av laken i krukkene ble disse dekket til med pliofilm ved hjelp av et gummibånd rundt papiret og krukken. Silden ble holdt under laken ved hjelp av et tverrliggende trestykke. Krukkene ble oppbevart ved ca. 8 — 10°C i to døgn før de ble stilt inn i varmeskapet ved 37°C for å sikre en gjennomtrengen av konserveringsmidlet.

Den første lakeprøven ble tatt umiddelbart før krukkene ble satt inn i varmeskapet og er utgangspunktet etter 0 døgn.

Etter seks døgn ble det tatt prøve av den oljen som fløt oppe på laken uansett om forsøkene ble foretatt utover denne tid.

Total flyktig N og TMA-N ble i likhet med foregående arbeide analysert etter Conways Diffusjonsmetode som beskrevet av HJORTH-HANSEN, S. og BAKKEN, K. 1947.

Forbruk av n/10 NaOH ble bestemt ved titrering elektrometrisk til pH 8.0 og beregnet som % eddiksyre.

### Diskusjon.

Det er å anta i henhold til det som tidligere er anført om virkningen av en senkning av pH på bakterievirksomheten at forholdet mellom total flyktig N og TMA-N må bli forskjøvet i retning av et høyere inn-

hold av TMA-N i nøytralt miljø. Som tallene i seriene 1, 2, 3 og 4 viser er dette også tilfelle, men samtidig er også tallene for  $\text{NH}_3\text{-N}$  betraktelig høyere og understreker den betydelige økning i holdbarheten som en senkning av pH medfører. Dette forhold fremheves ytterligere ved en sammenligning i serie 1 mellom nr. 11 og nr. 17 som fremstilt grafisk i fig. 1. Ved den grafiske fremstilling er benyttet de halve verdier for flyktig basisk kvelstoff. Ved en sammenligning mellom utvikling av flyktig basisk kvelstoff og en organoleptisk bedømmelse viste det seg at når verdiene for ammoniak kvelstoff overskred ca. 50 mg N/100 ml ble dårlig lukt først merkbar. Det samme var tilfelle når verdiene for TMA-N overskred ca. 30 mg/100 ml. Det var således mulig å bedømme effekten av konserveringsmidlene i forhold til disse grenseverdier.

For å få det beste inntrykk av effekten av konserveringsmidlene innbyrdes vil det være å anbefale at figurene tegnes av på gjennom-siktig millimeterpapir og at kurveforløpet så sammenlignes ved at figurene legges på hverandre.

*Serie 1.*

*Vurdering av konserveringsmidlenes effekt uttrykt som TMA-N og  $\text{NH}_3\text{-N}$ .*

Konserverings- middel	pH	ml lut/ 10 ml lake	Total fl. N mg/ 100 ml	TMA-N mg/ 100 ml	$\text{NH}_3\text{-N}$ mg. 100 ml	% eddik- syre	Opp- bev. døgn
0.1 % Nipasol	<i>Nr. 11</i>						
	6.70	0.85	16.7	8.4	8.3	0.05	0
	6.65	3.05	52.2	24.3	27.9	0.18	2
	6.65	4.10	67.8	28.2	39.6	0.24	4
	6.45	5.75	104.3	34.1	70.2	0.33	6
0.1 % Nipasol +	<i>Nr. 12</i>						
	6.70	0.85	20.8	9.0	11.8	0.05	0
0.02 % octylgallat	6.70	2.80	59.8	29.9	29.9	0.16	2
	6.65	4.10	76.2	33.4	42.8	0.24	4
	6.55	4.70	97.4	35.5	61.9	0.27	6
0.1 % Nipasol +	<i>Nr. 13</i>						
	6.65	0.75	16.7	7.0	9.7	0.04	0
0.055 % Calgon	6.60	3.30	59.1	29.2	29.9	0.19	2
	6.55	4.10	81.4	30.3	51.1	0.24	4
	6.50	5.32	116.8	36.2	80.6	0.31	6

Fortsettes neste side.



Konserverings- middel	pH	ml lut/ 10 ml lake	Total fl. N mg/ 100 ml	TMA-N mg/ 100 ml	NM <sub>3</sub> -N mg. 100 ml	‰ eddik- syre	Opp- bev. døgn
	<i>Nr. 14</i>						
0.1 % Nipasol	6.50	0.55	17.4	10.4	7.0	0.03	0
+	6.50	1.80	34.8	18.1	16.7	0.10	2
	6.50	3.70	53.6	23.6	30.0	0.21	4
0.073 % CaCl <sub>2</sub>	6.15	5.10	112.7	32.0	80.7	0.30	7
0.1 % Nipasol	6.70	1.00	20.5	10.4	10.1	0.06	0
	6.60	1.85	48.0	19.4	28.6	0.11	2
+	6.60	4.40	67.8	31.3	36.5	0.26	4
0.073 % MgCl <sub>2</sub>	6.50	6.00	94.6	33.4	61.2	0.35	6
	<i>Nr. 16</i>						
0.1 % Nipasol	6.60	1.50	32.6	11.8	10.8	0.09	0
	6.50	2.15	38.2	20.2	18.0	0.13	2
+	6.50	3.80	58.4	28.2	30.2	0.22	4
0.1 % Ca. acetat	6.32	5.40	86.2	33.4	52.8	0.31	6
	<i>Nr. 17</i>						
0.05 % Nipasol	4.30	11.80	18.8	10.4	8.4	0.69	0
+	5.00	7.22	39.0	21.6	17.4	0.42	2
	5.60	5.90	45.9	19.8	26.1	0.35	4
0.25 % eddiksyre	5.80	7.80	70.9	25.0	45.9	0.45	6
	5.85	6.75	67.8	26.0	41.7	0.39	7
	5.55	6.10	74.7	26.0	47.8	0.35	8

*Organoleptisk bedømmelse.:*

Nr.	Etter antall døgn	Lukt
11	6	Noe råtten
12	6	— Frisk etter 4 døgn
13	6	— Noe råtten etter 4 døgn
14	7	— Noe råtten etter 4 døgn
15	6	— Frisk etter 4 døgn
16	6	— Frisk etter 4 døgn
17	8	— Antydning til dårlig lukt etter 6 døgn

Effekten av nipasol kan økes betydelig når det gjelder å hemme bakterievirksomheten iflg. fig. 1 nr. 11 og 14, ved en kombinasjon med små mengder CaCl<sub>2</sub>. Det samme er tilfelle om enn muligens i en noe svakere grad, når det gjelder ensymaktiviteten. Ca-acetat viser samme effekt som CaCl<sub>2</sub> hva angår ensymaktivitet, men innflytelsen på bak-

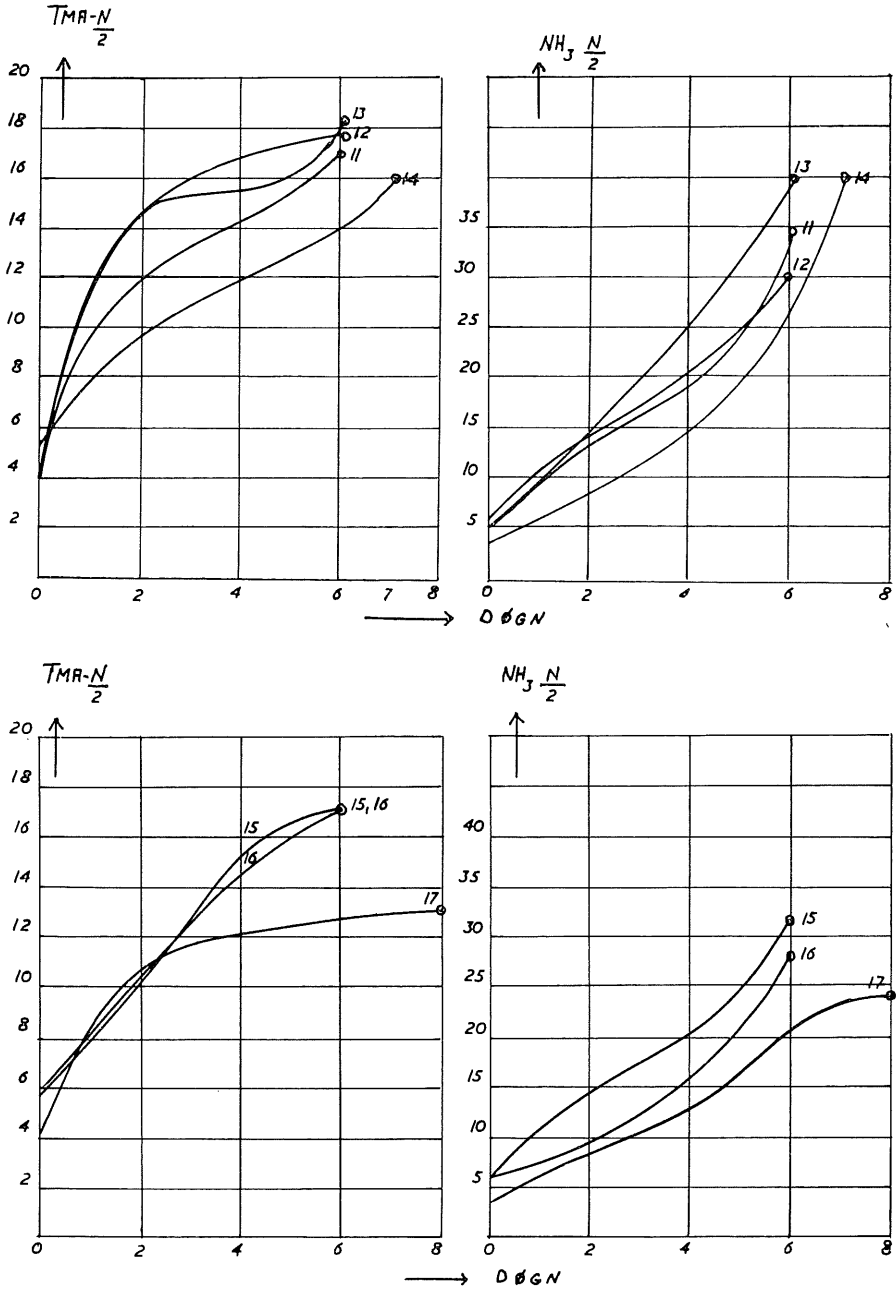


Fig. 1. Utvikling av NH<sub>3</sub>-N og TMA-N.  
Development of NH<sub>3</sub>-N and TMA-N (Døgn = days).

terievirksomheten er den samme som nipasol alene.  $MgCl_2$  viser derimot ingen forsterket effekt fremfor konserveringsmidlet alene. Betydningen av tilstedeværelse av Ca-ioner blir ytterligere understreket ved en sammenligning med nr. 13 hvor disse til dels er bunnet av natrium-hexametafosfat.

Når det gjelder en kombinasjon av gallat og nipasol i nøytralt miljø er effekten negativ (fig. 1 nr. 11 og 12).

Som det fremgår av fig. 1 skjer det en aksellerert utvikling av flyktig basisk kvelstoff etter at ca. 2/3 av prøvetiden er utløpet. Det ville derfor være av interesse å se om man ved å benytte meget kraftige doser av konserveringsmiddel kunne forandre kurveforløpet etter denne tid på en slik måte at man av tendensen etter ca. 4 døgn ytterligere kunne få et bilde av effekten.

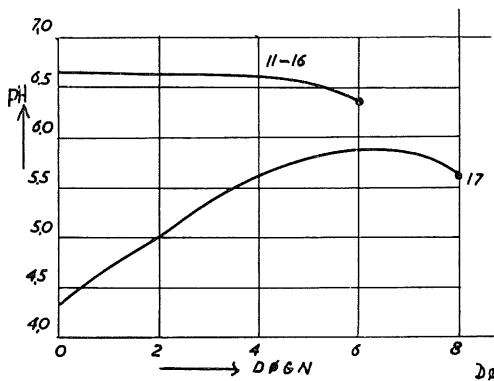


Fig. 2. Forandringer i pH.  
Changes in pH.

### Serie 2.

Konserveringsmiddel	pH	ml lut/ 10 ml lake	Total fl. N mg/ 100 ml	TMA-N mg/ 100 ml	$NH_3$ -N mg 100 ml	% eddik- syre	Obev. døgn
0.27 % Mg-bensoat	Nr. 21						
	6.50	1.25	22.3	11.1	11.2	0.07	0
	6.50	3.40	48.0	27.1	20.9	0.20	2
	6.55	3.62	52.2	25.0	27.2	0.21	4
	6.50	4.75	58.4	26.4	32.0	0.28	6
6.50	5.30	76.5	30.6	45.9	0.31	8	
0.13 % Mg-bensoat + 0.035 % $CaCl_2$	Nr. 22						
	6.45	1.00	21.5	11.8	9.7	0.06	0
	6.35	1.75	30.6	14.6	16.0	0.10	2
	6.50	3.40	49.0	27.0	22.0	0.20	4
6.55	4.10	58.2	27.8	30.4	0.24	6	
0.27 % Na-bensoat	Nr. 23						
	6.70	1.12	25.7	13.5	12.2	0.06	0
	6.70	2.90	45.9	20.2	25.7	0.17	2
	6.60	3.75	58.4	31.3	27.1	0.22	4
6.60	5.82	64.3	33.9	30.4	0.34	6	

## Organoleptisk bedømmelse:

Nr.	Etter antall døgn	Lukt
21	8	Frisk
22	6	Svak antydning til dårlig lukt, frisk 4 døgn
23	6	Utpreget dårlig lukt, ikke merkbar 4 døgn

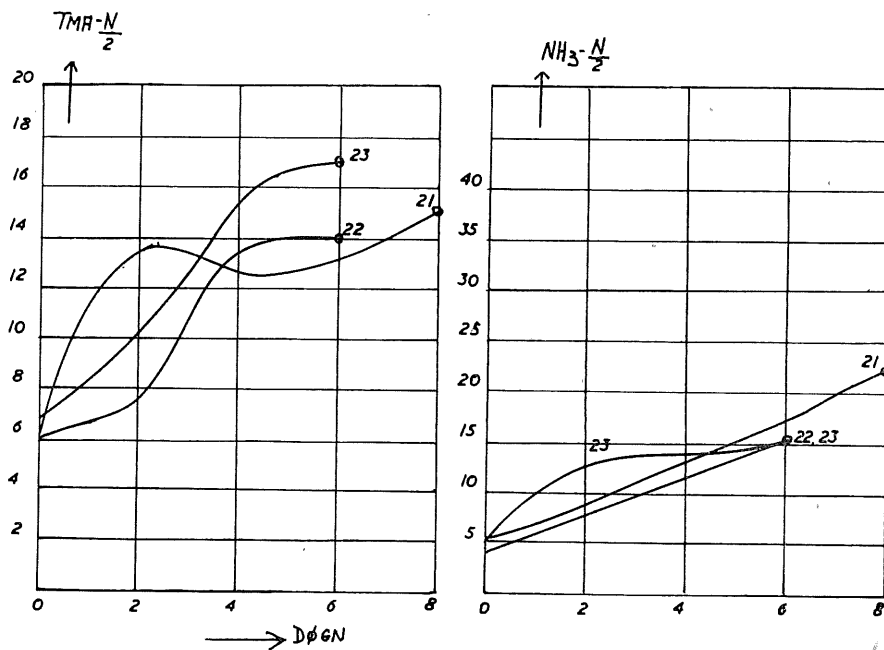
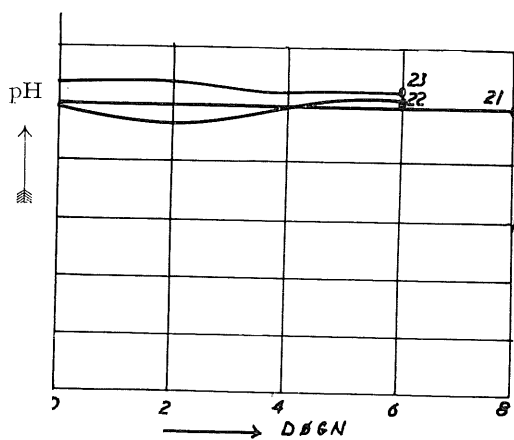
Fig. 3. Utvikling av  $NH_3-N$  og TMA-N. — Development of  $NH_3-N$  and TMA-N.

Fig. 4. Forandringer i pH. — Changes in pH.

Forandring av kurveforløpet er demonstrert i denne serie ved at det er benyttet en meget høy prosent konserveringsmiddel. Utviklingen av  $\text{NH}_3\text{-N}$  foregår hva magnesiumbensoat angår lineært (fig. 2 nr. 21 og 22). Annerledes er forholdet hva angår TMA-N, hvor kurvene forløper høyst uregelmessig.  $\text{CaCl}_2$  viser her som tidligere en økning av effekten, idet man ved en kombinasjon oppnår en fullt like effektiv virkning med bare den halve mengde konserveringsmiddel. Natriumbensoat (nr. 23) viser som helhet dårligere effekt enn magnesiumbensoat, særlig er dette tilfelle hva angår dets bakteriostatisk effekt.

## Serie 3.

Konserveringsmiddel	pH	ml lut/ 10 ml lake	Total fl. N mg/ 100 ml	TMA-N mg/ 100 ml	$\text{NH}_3\text{-N}$ mg 100 ml	% eddik- syre	Obev. døgn
0.1 % Hexametylen- tetramin	<i>Nr. 31</i> 6.70	0.90	32.0	16.0	16.0	0.05	0
	6.85	2.60	72.0	25.0	47.0	0.15	2
	6.70	4.05	80.7	29.2	51.5	0.24	4
	6.80	3.70	100.8	36.5	64.3	0.22	6
0.1 % Hexametylen- tetramin + 0,073 % $\text{CaCl}_2$	<i>Nr. 32</i> 6.20	0.90	20.9	10.8	10.1	0.05	0
	6.65	2.20	56.2	20.9	35.3	0.13	2
	6.65	2.90	70.9	26.1	44.8	0.17	4
	6.70	3.10	86.0	30.4	55.6	0.18	6
0.1 % Hexametylen- tetramin	<i>Nr. 30</i> 6.50	0.07	0.7	—	0.7	0.03	0
	6.40	0.05	0.7	—	0.7	—	2
	6.40	0.05	1.0	—	1.0	—	4
	Blindprøve	6.40	0.05	1.0	—	1.0	—
Blindprøve	4.45	1.10	—	—	—	0.06	6
	5.10	0.60	10.0	—	10.0	0.03	8
	5.30	0.40	14.8	—	14.8	0.02	9
	4.30	2.10	—	—	—	0.11	9
	4.72	1.35	20.0	—	20.0	0.07	11
	4.37	3.50	—	—	—	0.19	11
	4.60	2.60	21.0	—	21.0	0.14	13
	4.50	—	21.0	—	21.0	—	14

## Organoleptisk bedømmelse:

Nr.	Etter antall døgn	Lukt
31	6	Noe råtten. Frisk, men stikkende 4 døgn
32	6	Noe bedre enn 31. Etter 4 døgn som 31 Meget gassutvikling, merkbar ved at dekkpapiret var spent som en ballong

Den bakteriostatiske virkning av hexametylentetramin (fig. 6 nr. 31) synes noe svakere enn for nipasols vedkommende. Når det gjelder verdiene for  $\text{NH}_3\text{-N}$  i forsøk 31, gir disse først det riktige bildet når verdiene for blindprøven (nr. 30) ekstrapoleres.

Blindprøven viser at hexametylentetramin spalter av ammoniakk ved nærvær av små mengder fri syre i oppløsning. pH synes ikke å være den dominerende faktor i denne spaltning, idet som fig. 5 viser, variasjonen i pH etter at det er tilsatt fri eddiksyre ikke følges parallelt av en variasjon i utvikling av ammoniakk. Virkningen av hexametylen-

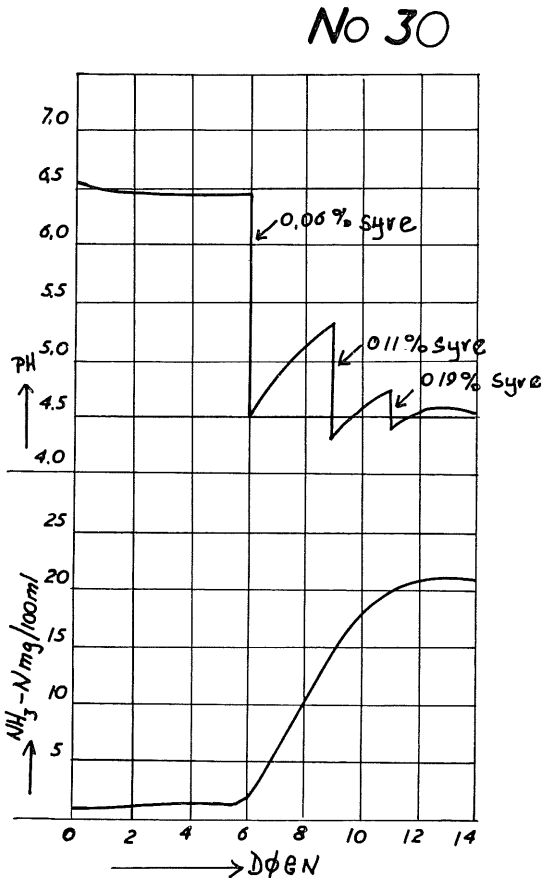


Fig. 5. Innflytelse av forandring i pH på utvikling av  $\text{NH}_3\text{-N}$  i oppløsning av 0,1 % hexametylentetramin i en 14 %-ig NaCl-oppløsning ved + 37° C.

Correlation between development of  $\text{NH}_3\text{-N}$  from a solution of 0,1 % hexamethylentetramine and pH in a pure 14 per cent sodiumchloride brine at 37° C.

tetramin beror øyensynlig også i nøytralt miljø, hvor det er tilstede små mengder fri organisk syre som ikke kommer til uttrykk i pH på grunn av proteinets puffervirkning, på en avspaltning av formaldehyd. Størrelsesorden av denne spaltning er omtrent 20 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$ /100 ml mot ca. 26 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$  som vist i surt miljø.

De ekstrapolerte verdier viser at hexametylenets inhiberende virkning på enzymaktiviteten er betydelig bedre enn nipasolets og i så henseende bedre enn for noen av de i serie 1 prøvede kombinasjoners vedkommende.

Her som tidligere er det en ytterligere økning i effekten ved kombinasjon med  $\text{CaCl}_2$  (nr. 32). Virkningen viser etter ekstrapolering at kombinasjonen 0.1 % hexametylentetramin og 0.073 %  $\text{CaCl}_2$  har omtrentlig samme effekt som om man benyttet 0.27

% magnesiumbensoat og bedre effekt enn 0.27 % natriumbensoat. Det er verd i denne sammenheng å peke på den observasjon som er bemerket under den organoleptiske bedømmelse, at det var tegn til en betydelig gassutvikling.

Denne gassutvikling foregikk vesentlig de første 2 — 4 døgn.

Nr.	NH <sub>3</sub> -N	Oppbev. døgn
31x	15.0	0
	39.0	2
	36.5	4
	44.3	6
32x	9.0	0
	27.3	2
	29.8	4
	35.6	6

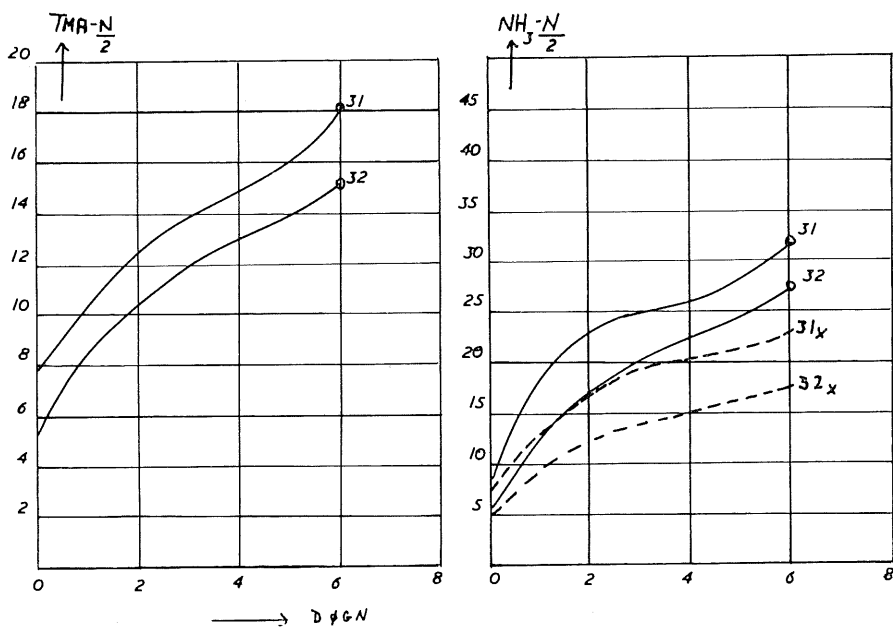
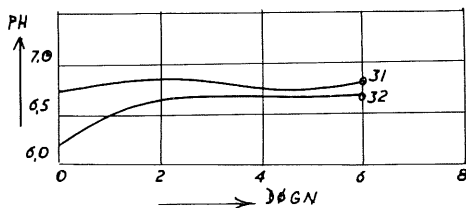


Fig. 6. Utvikling av NH<sub>3</sub>-N og TMA-N.

Development of NH<sub>3</sub>-N and TMA-N.

Fig. 7. Forandringer i pH.

Changes in pH.



## Serie 4.

Konserveringsmiddel	pH	ml lut/ 10 ml lake	Total fl. N mg/ 100 ml	TMA-N mg/ 100 ml	NH <sub>3</sub> -N mg 100 ml	% eddik- syre	Obev. døgn
	<i>Nr. 41</i>						
0.045 % Nipasol	6.50	0.55	13.9	7.6	6.3	0.03	0
+	6.50	2.20	42.4	23.6	18.8	0.13	2
0.09 % Mg-bensoat	6.60	2.90	50.1	25.0	25.1	0.17	4
+	6.35	4.70	77.9	27.8	50.1	0.27	6
0.045 % CaCl <sub>2</sub>	6.15	5.30	88.7	27.8	60.9	0.31	7
	<i>Nr. 42</i>						
0.046 % Nipasol	6.30	1.10	18.9	9.3	9.6	0.06	0
+	6.45	2.20	34.4	16.5	17.9	0.13	2
0.12 % Mg-bensoat	6.40	2.80	45.4	19.6	25.8	0.17	4
+	6.30	4.08	62.0	24.8	37.2	0.25	6
0.055 % CaCl <sub>2</sub>	5.70	5.90	81.0	20.6	61.4	0.36	8
	<i>Nr. 43</i>						
0.046 % Hexametylen- tetramin	6.30	0.97	24.4	10.7	13.7	0.06	0
	6.50	2.20	50.2	19.3	30.9	0.13	2
+	6.10	2.80	64.0	21.7	42.3	0.17	4
0.12 % Mg-bensoat	6.50	3.70	71.6	23.4	48.2	0.23	6
+	6.60	3.60	75.7	25.8	49.9	0.23	8
0.055 % CaCl <sub>2</sub>	6.60	3.50	86.1	25.8	60.3	0.22	11
	6.50	5.40	87,5	24,1	63,4	0,34	13

*Organoleptisk bedømmelse:*

Nr.	Etter antall døgn	Lukt
41	8	Noe råtten. Svak dårlig 6 døgn
42	8	— 6 -
43	13	Noe råtten. Svak antydning dårlig 11 døgn

Kombinasjonen av konserveringsmidler ble satt opp i henhold til de foran anførte resultater. Mengde anvendt konserveringsmiddel er i den skjematisk oppstilling over virkningen av konserveringsmidlene angitt overalt også for hvert enkelt konserveringsmiddel som inngår i en kombinasjon, som % av totalvekten (sild + lake). Ved en sammenligning av disse mengder og kurveforløpet i fig. 8 vil man se at man ved å benytte bare de halve mengder konserveringsmiddel i en kombinasjon kan oppnå en betydelig forsterket effekt. TMA-N-utviklingen viser sammenlignet med fig. 1 nr. 11 betydelig mindre verdier. Det



samme er tilfelle når det gjelder  $\text{NH}_3\text{-N}$ . En videre sammenligning mellom fig. 3 nr. 22 hvor det er benyttet ca. 45 % mere Mg.bensoat enn i forsøk nr. 41 fig. 8, viser at kombinasjonen særlig har vært effektiv når det gjelder den bakteriostatiske virkning (uttrykt som TMA-N), idet verdiene for begge er praktisk talt de samme. Forholdet er derimot ikke så gunstig når en studerer enzymaktiviteten ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ). Kurvene både for nr. 41 og nr. 42 viser her en markert oppadgående tendens etter 4—5 døgn mens nr. 22 fortsatt viser lineær tendens.

En kombinasjon med hexametylentetramin i stedet for nipasol viser iflg. fig. 8 nr. 43 en markert bedre helhetseffekt. Det vil være å vente i henhold til fig. 6 nr. 31 og 31x at effekten særlig vil gjøre seg merkbar når det gjelder å inhibere enzymaktiviteten (hemme utvikling av  $\text{NH}_3\text{-N}$ ). Som fig. 8 viser er dette også tilfelle.

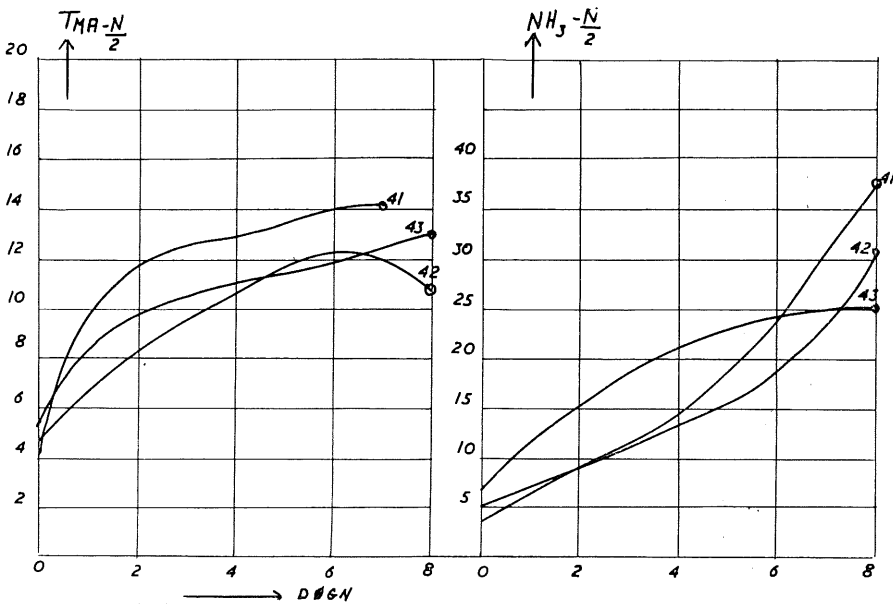


Fig. 8. Utvikling av  $\text{NH}_3\text{-N}$  og TMA-N. — Development of  $\text{NH}_3\text{-N}$  and TMA-N.

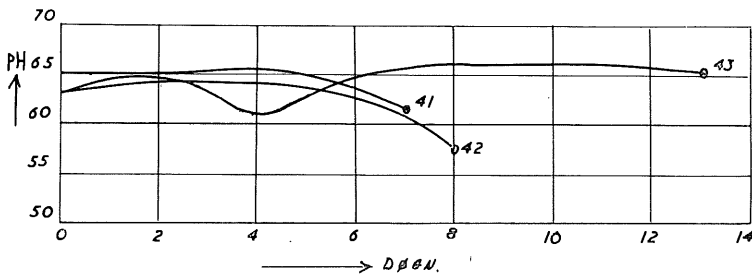


Fig. 9. Forandringer i pH. — Changes in pH.

## Skjematisk oppstilling over virkningen av konserveringsmidlene:

Konserverings- middel	Bakteriostatisk virkning Bacteriostatic action	Inhiberende virkning på proteolysen Inhibiting action on proteolysis
0.1 % Nipasol	+	+
0.1 % Nipasol + 0.02 % octylgallat	÷ +	+
0.1 % Nipasol + 0.005 % Calgon	÷ +	÷ +
0.1 % Nipasol + 0.073 % CaCl <sub>2</sub>	++	++
0.1 % Nipasol + 0.073 % MgCl <sub>2</sub>	+	+
0.1 % Nipasol + 0.1 % Ca.acetat	+	
0.05 % Nipasol + 0.25 % eddiksyre	+++	++++
0.27 % Mg.bensoat	++	++++
0.13 % Mg.bensoat + 0.035 % CaCl <sub>2</sub>	++	++++
0.27 % Na.bensoat	+	++++
0.1 % Hexametylentetramin	+	+++
0.1 % Hexametylentetramin + 0.073 % CaCl <sub>2</sub>	++ ÷	+++
0.045 % Nipasol + 0.09 % Mg.bensoat + 0.045 % CaCl <sub>2</sub>	++	++
0.046 % Nipasol + 0.12 % Mg.bensoat + 0.055 % CaCl <sub>2</sub>	+++	++++
0.046 % Hexametylentetr. + 0.12 % Mg.bensoat + 0.055 % CaCl <sub>2</sub>	+++	++++

+ positiv virkning

++ sterkere positiv virkning

+ positive effect

++ stronger positive effect

++ ÷ en virkning som ligger mellom + og ++

++ ÷ effect between + and ++

*Pro- og anti-oksyderende effekt.*

Influence upon Rancidity of Oil after 6 days storage at + 37°C.

Forsøk nr.	f.f.a. g/100 g	Kreis rød	Organoleptisk bedømmelse
11	4.4	6.1	Lys, ikke antydning til harsk
12	4.1	9.9	Lys, ikke antydning til harsk
13	3.4	3.3	Meget lys, ingen tegn på harskning
14	2.7	9.5	Som nr. 12
14	2.7	9,5	Som nr. 12
15	4.6	14.0	Noe mørk, svak antydning til harsk
16	2.5	12.0	Lys, ikke merkbar harsk
17	4.0	22.0	Merkbar harsk
21	3.0	14.0	Noe mørk, svak antydning til harsk
22	3.0	9.0	Lys, tilsvarende 16
23	3.7	10.0	Lys, ikke merkbar harsk
31	5.9	8.0	Meget mørk, ikke merkbar harsk
32	2.6	19.0	Sterk gul, merkbar harsk
41	3.4	23.0	Tydlig harsk, noe mørk
42	—	26.0	Mørk og tydelig harsk
43	—	20.0	Lysere enn 42, antydning til harsk, men betydelig bedre enn 42

*Bestemmelse av Kreistall.*

I en sylindrisk flaske med diam. 20 mm ble målt av 5 ml olje = 2 graderte ringer. Etter tilsetning av 5 ml konsentrert HCl ble rystet i nøyaktig 1/2 minutt. Deretter ble tilsatt 5 dråper av en oppløsning av 5 gr floroglucin i 100 ml alkohol. Det ble påny rystet i 1/2 minutt og fargen i saltsyreskiktet ble målt i photometer innen 2 minutter. Kreistallet er angitt i røde Lovibond-enheter (R. L.). Denne verdi er proporsjonal med opptatt surstoffmengde og med opptreden av harsk smak.

Kreistallet for fersk sildolje er ca. 2—3.

*Bestemmelse av fri fettsyre (f.f.a.).*

5 gr. av oljen ble løst i 15—20 ml etyleter som på forhånd var nøytralisert med alkoholisk KOH. Som indikator ble brukt fenolphalein. Det ble titrert med 1/10 N alkoholisk kalilut til rødfargen var varig i 1/2 minutt.

$$\frac{\text{ml } 1/10 \text{ N} \times \text{faktor} \times 2,82}{\text{gr. olje}} = \text{fri fettsyre/100 gr.}$$

### Konserveringsmidlenes pro- og anti-oksyderende virkning.

Det vil fremgå av verdiene i tabellen og den grafiske gjengivelse i fig. 10 at gallatet i nøytralt miljø har en tendens til pro-oksyderende virkning i motsetning til surt miljø, hvor det som vist i foregående arbeide hadde en positiv antioksyderende effekt.

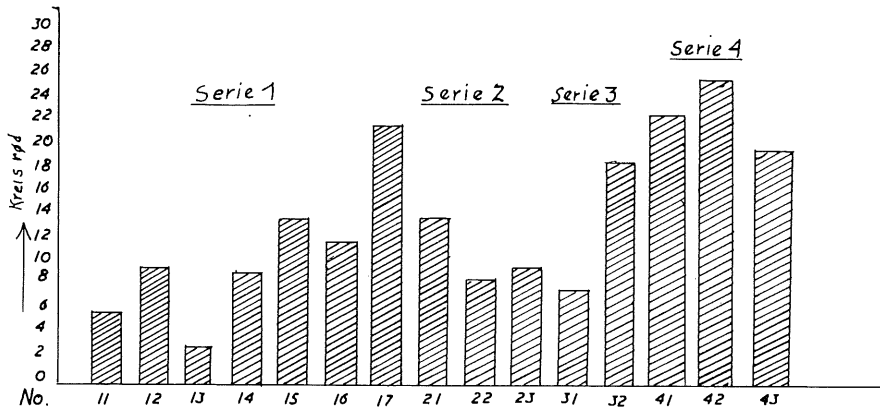


Fig. 10. Grafisk fremstilling av konserveringsmidlenes innflytelse på harskning av sildeoljen angitt i røde Lovibond-onheter.

Effect of the preservatives upon the rancidity of the herring oil as measured in red Lovibond units.

Den pro-oksyderende effekt av Ca fremgår tydelig når en sammenligner forsøkene 13, 14, 16 og 32. Likeledes vil en se av forsøk 15 samt de øvrige forsøk hvor Mg inngår i konserveringsmidlet eller en kombinasjon av disse at Mg har en sterkere prooksyderende effekt enn Ca.

Tendensen til pro-oksydativ virkning er noe sterkere for hexametylentetramins vedkommende sammenlignet med nipasol, men ikke betydelig (nr. 31 og 11). Derimot virker kombinasjonen  $\text{CaCl}_2$  og hexametylentetramin langt sterkere pro-oksyderende enn en tilsvarende kombinasjon av  $\text{CaCl}_2$  og nipasol.

Nærvær av små mengder eddiksyre synes å ha en pro-oksyderende effekt (nr. 17).

### Konklusjon.

Den hypotese som ble oppstilt i del 1 av disse undersøkelser, nemlig at det skulle være mulig å bedømme effekten av forskjellige konserveringsmidler innbyrdes på holdbarheten av lettsaltede sildeprodukter ved å følge utviklingen av TMA-N og  $\text{NH}_3$ -N synes ytterligere bekreftet

i del II som foreligger her. Disse siste undersøkelser har vist at de konserveringsmidler som i surt miljø gir en god effekt ikke bidrar til en tilfredsstillende forlengelse av holdbarheten i nøytralt miljø, men at man ved kombinasjoner av konserveringsmidlene innbyrdes og særlig ved å kombinere disse med små mengder  $\text{CaCl}_2$  kan oppnå et for praktiske formål meget tilfredsstillende resultat. Det er da i denne forbindelse bare tale om mengder konserveringsmiddel innenfor rammen av næringsmiddelovens bestemmelser.

Følgende kombinasjoner er funnet å gi en effektiv virkning når det gjelder å forlenge holdbarheten: 0.2 % av totalvekten (sild  $\times$  lake) av:

	21 % Nipazol	21 % Hexametylentetramin
I)	54 % Magnesiumbensoat	II) 54 % Magnesiumbensoat
	25 % $\text{CaCl}_2$	25 % $\text{CaCl}_2$

### Summary.

The present paper presents the second part of an investigation on the efficiency of different preservatives for prolonging the storage life of light salted (15 %) herring cured without vinegar.

The effect is evaluated according to the method described in part I where the rate of production of TMA-N is considered as indicating the bacterial activity and of  $\text{NH}_3$ -N as indicating the activity of the proteolytic enzymes.

The preservatives used were Nipazol (Nipà), Sodiumbenzoate (Nabenz.), Magnesiumbenzoate (Mgbenz.) and Hexamethylenetetramine (Hexa) as well as combinations of these preservatives individually with small amounts of calciumchloride ( $\text{CaCl}_2$ ) calciumacetate (Caacet.), magnesiumchloride ( $\text{MgCl}_2$ ) octylgallate and sodiumhexamethaphosphate (Hexameta).

Combinations with  $\text{CaCl}_2$  gave a noticeably stronger effect than if the preservative was used alone.  $\text{MgCl}_2$  gave no added effect. The importance of the Ca-ions in increasing the preserving effect was demonstrated by a combination of Nipa with Hexameta which functions as a Ca binder. The combination showed noticeably higher values for both TMA-N and  $\text{NH}_3$ -N than for Nipa alone. A combination of an anti-oxdyant-octylgallate with a preservative — Nipa — was found to have no stronger effect than the preservative alone. This is in contrast to the result achieved at an acid pH as shown in part I of these investigations.

0.27 % (of total weight of herring  $\times$  brine) Mgbenz. was more effective than the same amount of Nabenz. especially regarding the bacteriostatic action. 0.13 % Mgbenz. combined with 0.035 %  $\text{CaCl}_2$  gave the same effect as when 0.27 % Mgbenz. was used alone. 0.1 % Hexa was found to be somewhat less effective than Nipa in regarding the development of  $\text{TMA-N}$  but noticeably stronger in retarding the production of  $\text{NH}_3\text{-N}$ . The same amount of Hexa when combined with 0.073 %  $\text{CaCl}_2$  was in effect equal to 0.27 % Mgbenz. A parallel test with 0.1 % Hexa diluted in a pure 15 % sodiumchloride brine showed that 20 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$  was split off per 100 ml against 26 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$  in stronger acid solution (part I). The preserving effect is accordingly also at a more neutral pH due to formation of formaldehyde.

The following combinations of preservatives were found to give a very good effect when used in a concentration of 0.22 % of total weight of herring and brine:

- I. 21 % Nipa, 54 % Mgbenz., 25 %  $\text{CaCl}_2$
- II. 21 % Hexa, 54 % Mgbenz., 25 %  $\text{CaCl}_2$

When II was added to the brine and the herring was stored in the brine at 37°C for 13 days, the first sign of an offensive odour was noticeable only after 11 days.

The influence of the preservatives upon the rancidity of the herring oil separated on the surface of the brine after 6 days storage at 37°C was investigated.  $\text{MgCl}_2$  was found to be a stronger pro-oxydant than  $\text{CaCl}_2$  as measured in red Lovibond units (Kreis red). The same was the case with Hexa compared to Nipa, although the difference was not important.

The Kreis value was considerably higher for combinations of Hexa and  $\text{CaCl}_2$  than for Nipa and  $\text{CaCl}_2$ .

Nipa showed a very low Kreis (6) against (14) for Mgbenz., (8) for Hexa, (10) for Nabenz. and (20) and more for the combinations with  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{MgCl}_2$ . A combination of Nipa and Hexameta showed a remarkably low Kreis (3) compared to (2 — 3) for fresh herring oil.

### Litteratur.

- 1920 TRESSLER, D. K.: Some Considerations Concerning the Salting of Fish. *U. S. Bureau of Fisheries Doc. No. 884, 55 pp.*
- 1949 CASTELL, C. H. and SNOW, M. J.: The Effect of pH on the Enzymatic Reduction of Trimethylamine Oxide. *J. Fisheries Research Can. VII, No. 9, p. 561, 2 pp.*
- 1949 RAHN, O. and CONN, J. E.: Effect of Increase in Acidity on Antiseptic Efficiency. *Ind. and Eng. Chem. Vol. 36, p. 185, 3 pp.*

- 1950 CHANG, I. and WATTS, B. M.: Some Effects of salt and Moisture on Rancidity in Fats. *Food Res. Vol. 15, No. 4*, p. 313, 9 pp.
- 1951 SCHELHORN, M.: Untersuchungen über die Wirkung von Konservierungsmitteln, *Deutsche Lebensm. Rundschau. Vol. 45, no. 10*, p. 255, *Vol. 46, no. 6*, p. 132, 1950, *Vol. 47, no. 6*, 128, 1951.
- 1951 SHEWAN, J.: Common Salt: Its Varieties and their Suitability for Fish Processing, *S.S.J.R. Food Investig. Misc. Paper, No. 18/51*, 9 pp.
- 1951 LEHMANN, B. T. and WATTS, B. M.: Antioxidants in Aqueous Fat Systems. *J. Am. Oil Chem. Soc., Vol. 28*, p. 475, 4 pp.
- 1951 ANONYMOUS: *An. Rep. Fisheries Res. Board Canada*. Studies of the Metabolism of Flora Concerned with Fish Spoilage, p. 116, 4 pp.
- 1952 YAMADA, K.: Studies on the Mechanism of Action of Preservatives, I. Antibacterial Action of Hexamethylenetetramine and Formaldehyde, *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab., No. 4, (Contribution B)*, p. 161, 7 pp.
- 1952 RAEITHEL, H.: Über die Verwendung von Antioxydantien. *Z. Lebensm. Unters. und Forsch., Vol. 95, no. 4*, p. 246, 17 pp.
- 1953 GILBERG, Y.: Undersøkelser over holdbarhet av lettsaltet sild behandlet med eddik. (Investigations on keeping quality of mild cured herring products, vinegar-cured.) *Rep. Technol. Res Norwegian Fisheries, Vol. II, no. 11*.