

FISKERIDIREKTORATETS SKRIFTER

Serie Teknologiske undersøkelser

(Report on Technological Research concerning Norwegian Fish Industry)

Vol. II. No. 11.

Published by the Director of Fisheries

Undersøkelser over holdbarhet
av lettsaltet sild behandlet med eddik

Av

Yngvar Gilberg

Fiskeridirektoratets Kjemisk-Tekniske
Forskningsinstitut

Summary in English

1953

A.s John Griegs Boktrykkeri, Bergen



Innledning

En rengjøring av råstoffet i et forbehandlingsbad bestående av salt og syre før silden saltes i tønner vil minske faren for at varen skal bederves og forlenge holdbarheten. Samtidig med en fjernelse av bakterier ved utvasking vil syren forårsake en stigning i fiskemuskulaturens surhetsgrad og derved bevirke en nedsettelse av de gjenværende bakteriers vekstmuligheter. Enzymaktiviteten vil derimot heller øke i surt miljø. SZAKALL (1952) har funnet at gjæringseddik, det vil si eddik fremstilt ved eddiksyrebakterienes omdannelse av alkohol til eddik, har en viss bakteriostatisk virkning i motsetning til syntetisk eddik. Denne bakteriostatiske virkning skyldes ekstraksjonsprodukter fra gjærSELLene.

Når man skal søke å oppnå en forlenget holdbarhet for en vare med lavt saltinnhold, må man ta i betraktning såvel den enzymatiske som den bakterielle nedbrytningsprosess. Begge prosesser går i og for seg i samme retning, nemlig en nedbrytning av proteinene, proteolyse, og en spaltning av fettsubstansene, lipolyse. Skal man skille de to prosesser må man si at den enzymatiske nedbrytning skyldes enzymer som finnes i selvevevet, mens den bakterielle nedbrytning skyldes bakterier som fisken er infisert med fra sine omgivelser.

Proteolysen vil gi seg tilkjenne ved bl. a. en avspaltning av flyktig basisk kvelstoff, hovedsakelig ammoniakk-kvelstoff. Mengden av ammoniakk kvelstoff i laken vil således kunne gi et bilde av de proteolytiske enzymeres virksomhet. Når det gjelder saltvannsfisk inneholder disse vekslende mengder trimethylaminoksyd (TMA-O) som under lagring vil reduseres til trimethylamin (TMA). TARR (1940) har vist at visse bakteriearter som forefinnes i saltvannsfisk utskiller enzymet triaminoksydase som reduserer TMA-O til TMA. Kullhydratavbygningsprodukter, fosforsyreester og visse aminosyrer spiller her en viktig rolle som vannstoffdonatorer. WALLENFELS (1950) har vist at det under proteolysen først og fremst spaltes av aminosyrene Tyrosin og Tryptophan.

For å forlenge holdbarheten for en vare hvor de to viktige fak-

torer salt og syre er temmelig konstante og som i og for seg ikke er tilstede i tilstrekkelige konsentrasjoner for å gjøre varen tilfredsstillende holdbar, blir det hovedsakelig to veier å gå:

1. Nedsettelse av lagringstemperaturen ved kjøling.
2. Tilsetning av konserveringsmidler.

Kjølelagring, d.v.s. lagring ved temperaturer rundt $+ 0^{\circ}\text{C}$ vil i sterk grad hemme de enzymatiske prosesser, men i langt svakere grad influere på bakterievirksomheten. Fig. 1 vil gi et bilde av dette når utviklingen av ammoniakk kvelstoff og TMA kvelstoff taes henholdsvis som et uttrykk for enzym- og bakterievirksomheten. Mulighetene for å gå ned i temperatur under 0°C er gitt av saltinnholdet, men tidligere undersøkelser (SHEWAN, J. M., 1949) har vist at marine bakterier inklusive de som forefinnes på fisk er psykrofile, idet de tåler temperaturer langt under 0°C . Flere vokser ved -6 til $-7,5^{\circ}\text{C}$ og enkelte sogar ved -11°C . De er da meget mere ømfintlige for høyere temperaturer. De viser i alminnelighet optimal vekst ved 10 — 20°C , men flere typer drepes hurtig ved temperaturer over 35°C . De bakterier som har mest interesse i denne forbindelse er de halofile som gror best i saltholdig miljø. De halofile bakterier som dominerer floraen i en lakesaltet sild har sin optimale veksttemperatur omkring 37°C . Ser man på den optimale veksttemperatur er det innlysende at jo lavere en kjøler, jo svakere blir bakterievirksomheten og varens holdbarhet blir tilsvarende forlenget. Men som tidligere anført er saltinnholdet i laken bestemmende for hvor langt ned man kan kjøle og ved en lettsaltet vare med 8 — 10% salt i laken vil denne temperatur være -5 — -6°C , altså et temperaturområde som fremdeles byr bakteriene vekstvilkår. Det gjenstår da å prøve om kjemiske konserveringsmidler ytterligere kan bidra til å gi varen forlenget holdbarhet og særlig om det er mulig å hemme nedbrytningsprosessene i en slik grad at det også vil være mulig å oppnå en tilfredsstillende holdbarhet ved lagringstemperaturer over 0°C .

Når det gjelder å bedømme bakterievirksomheten på grunnlag av den utviklede mengde TMA har flere tidligere undersøkelser påpekt den store vekslings i TMA-0 innholdet i de forskjellige fiskearter og til og med innenfor de forskjellige arter fra individ til individ. Når det er tale om å bedømme bakterievirksomheten i laken av saltet sild vil den individuelle vekslings i innholdet av TMA-0 spille liten rolle, idet man her skulle få et meget brukbart gjennomsnitt ved å analysere laken. Derimot kan sildearten og fangststedet spille en meget større rolle, idet TMA-0 innholdet i silden veksler med årstidene (RONALD, O. A. & JACOBSEN, F. 1947). Hvis det videre skulle bli tale om en kvalitetskontroll av saltmoden sild på grunnlag av bestemmelse av det flyktige ammoniakk-kvelstoff,

vil dette først være mulig når man har gjort paralelle undersøkelser for de forskjellige arter sild (Storsild, Islandssild, Fladengrundsild o.s.v.).

Såvel det første arbeide (Y. GILBERG 1952) som det foreliggende har vært innskrenket til vintersild som råstoff. Når det gjelder å vurdere holdbarheten og konserveringsmidlenes effektivitet på grunnlag av basisk flyktig kvelstoff, er også de foreliggende undersøkelser basert på Conways Diffusionsmetode for bestemmelse av disse. Såvidt bekjent har det ikke tidligere vært foretatt tilsvarende undersøkelser på dette grunnlag. Der hvor det i hermetikkindustrien har vært gjort undersøkelser over holdbarheten av lett bederfelige fiskeprodukter, har denne vært vurdert etter bombasjeprosenten. BRAMSNES, F. og RIEMANN, H. (1952) prøvet en rekke konserveringsmidler og kombinasjoner av disse i forbindelse med undersøkelser over holdbarheten av gaffelbiter nedlagt i boks. De konkluderer med at en kombinasjon av hexamethylentetramin og natriumbensoat gir det beste resultat hva angår å forhindre bombasje. Nest best virkning har kombinasjonen bensoesyre og ethylgallat eller gallatene alene. De antar på grunnlag av de foretatte forsøk at hvis man ønsker oppnådd en god holdbarhet med rimelig sikkerhet, vil det i praksis antakelig være best å anvende opp til 0,3 % i laken av en kombinasjon av na.bensoat og hexamethylentetramin i forhold 3 : 1 eller 0,3 % na.bensoat sammen med 0,015 % ethylgallat. BEHRE, A. (1951) har på samme grunnlag undersøkt holdbarheten for Bismarck-sild og såkalte koldmarinader. Forutsatt at råstoffet er av førsteklasses kvalitet og at varen holder minst 4 % salt i muskulaturen og sausen, skulle varen ha en tilfredsstillende lang holdbarhet uten tilsetning av konserveringsmidler. På grunn av at råstoffets kvalitet ikke alltid er prima, blir det likevel i de fleste tilfelle nødvendig med tilsetning av konserveringsmidler. Forfatteren fant at hexamethylentetramin var langt det beste konserveringsmiddel og at det i de anvendte mengder (0,02 til 0,05 % av samlet innhold i boksen) ga full garanti for en tilfredsstillende lang holdbarhet. Et høyere innhold av hexa influerte på konsistensen av produktet. Mens bensoesyren ble funnet å ha en bare tvilsom virkning, hadde kombinasjonen bensoesyre og hexa i 0,03 % konsentrasjon avgjort virkning. Dette mener forfatteren sannsynligvis kan tilskrives virkningen av hexa. Videre har KLUGE, H. (1935) studert virkningen av forskjellige konserveringsmidler på enzymer som splitter stivelse, fett og proteiner enten som tilsetning i substratene eller ved direkte innvirkning på enzymene. På samme grunnlag har BLEYER, W. og LEONHARD, K. (1933) gjort omfattende studier av 15 konserveringsmidlers innflytelse på enzymer. Av en rekke undersøkte konserveringsmidler er hexamethylentetramin, vannstoffsperoksyd og natriumbensoat forholdsvis uvirksomme overfor enzymer. Salisylsyre og sakkarin

viser derimot tydelig positiv virkning. Av de undersøkte estere av p-hydroxybensoesyre viser samtlige effekt overfor både peptisk proteolyse og lipolyse. Ethylesterene (Nipasol) viser sterkere virkning enn methylesterene (Nipagin.)

Hva angår den konserverende virkning av esterene av p-oksybensoesyre overfor mikroorganismer så anfører SABALITSCHKA, TH. (1939) at ethyl og propylestrene virker minst dobbelt så sterk som bensoesyre og deres giftvirkning er fjerdeparten.

Egne undersøkelser

Av hensyn til de forskjellige bestemmelser i landenes næringsmiddelover ble forsøkene her innskrenket til å omfatte de konserveringsmidler og antioksydanter som er tillatt i bruk i de fleste land. De anvendte mengder er også innenfor det tillatte.

Det er også tatt med en krydderblanding som vanligvis brukes til fremstilling av kryddersild. Denne blanding ble kjøpt fra et krydderfirma og ble oppgitt å inneholde en blanding av 10 forskjellige kryddersorter og dessuten salpeter tilsvarende en konsentrasjon i tønne på 0,2 % natriumnitrat.

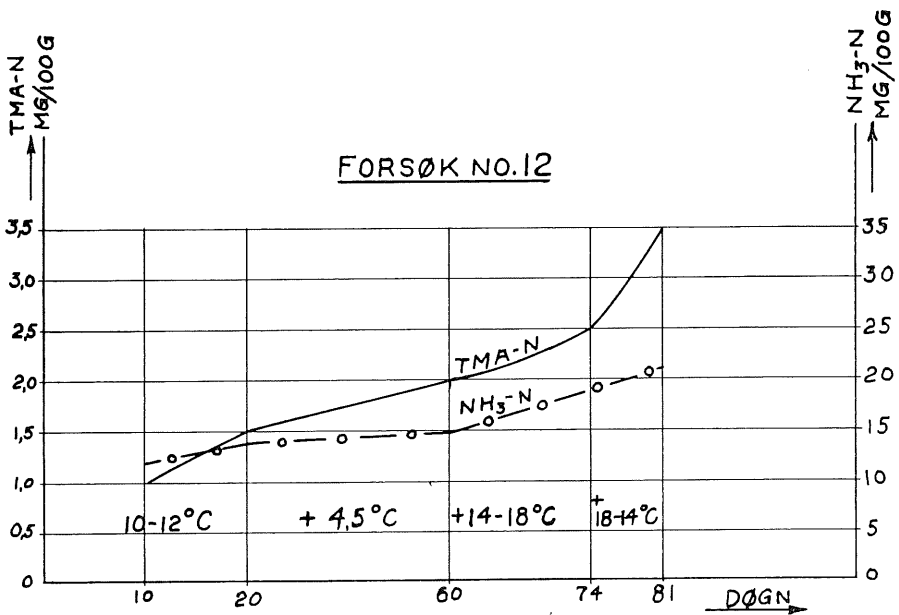


Fig. 1.

Lagringstemp. innflytelse på dannelse av total flyktig- og trimethylamin kvelstoff.

Forbehandling og modning av råstoffet.

Råstoffet var tørrfrosset storsild med gjennomsnittlig fettprosent 13,2. Lakefrosset råstoff ble saltet på liknende måte, men det ferdig modnete produkt var for harskt til å være brukbart. Behandlingen av råstoffet var nøyaktig som beskrevet i det foregående arbeide med bare små variasjoner i eddiksyre-konsentrasjonen. Forsøksserien var følgende:

Forbehandlingsbad: 10 % salt + 1,5 % eddiksyre (80 % e.syre).

Forhold sild : bad = 2 : 1,5.

No. 11: Umettet saltlake + 1,0 % eddiksyre (10 % hermetikk gjæringseddikk).

No. 12: Lake bestående av 2 kg salt + 1,5 kg sukker + 1,0 % eddiksyre (10 % hermetikk gjæringseddikk).

No. 13: Som no. 11 med tillegg av 300 g krydderblanding pr. 25 kg sild.

Råstoffet ga følgende analyse: Total flyktig N: 16,3 mg/100 g.

Trimethylamin N: 1,5 mg/100 g og trimethylamin oksyd N: 45,1 mg.

Konsentrasjonsforandringer i forbehandlingsbadet

Døgn	% Eddiksyre	% NaCl	pH	°C
0	1,48	7,94	3,06	14,5
2	0,82	4,88	4,25	14,5

Analyse av laken under modningen

Døgn	% NaCl	% Eddiksyre	Total fl. N.	TMA-N	NH ₃ -N
<i>No. 11.</i>					
0	18,5	1,3	—	—	—
10	5,3	0,87	13,8	1,4	12,4
<i>No. 12.</i>					
0	15,0	1,2	—	—	—
10	4,2	0,82	13	1,0	12,0
<i>No. 13.</i>					
0	15,0	1,2	—	—	—
10	5,9	0,89	10	0,7	9,3

Etter 10 døgn ble tønnene satt inn på kjølerom (+ 4,5°C).

Etter 10 døgn lagring ved denne temperatur viste analysen:

<i>No. 11</i>	5,5	0,87	14	1,2	12,8
<i>No. 12</i>	4,5	0,82	15	1,4	13,6
<i>No. 13</i>	6,1	0,81	12	1,3	10,7

Laken ble nå skiftet for å bringe saltgehalten noget opp. Det ble fylt på ny lake bestående av 90 g salt + 50 ml 10 % hermetikk gjæringseddikk pr. liter lake. Tønnene ble fortsatt oppbevart ved 4,5°C. Etter ytterligere 20 døgn viste analysen:

Døgn	% NaCl	% Eddikk- syre	Total fl. N.	TMA-N	NH ₃ -N]
No. 11	8,1	0,92	16,5	1,2	15,3
No. 12	6,7	0,87	17	1,8	15,2
No. 13	8,3	0,83	13	1,5	11,5

Ved en undersøkelse av silden på dette stadium viste den en mangelfull modning. Tønnene ble derfor satt ved rumtemperatur for å påskynde modningen. Etter ytterligere 14 dager ved en rumtemperatur som steg gradvis fra + 14 til + 18,5 °C viste analysen:

No. 11	7,9	0,87	21	2,2	18,8
No. 12	6,1	0,81	21,5	2,5	19,0
No. 13	7,8	0,81	15,5	1,9	13,6

Etter ytterligere 7 døgn ved en rumtemperatur som gradvis var sunket til 14,5 °C viste analysen:

No. 11	—	—	22	3,5	18,5
No. 12	—	—	25	3,5	21,5
No. 13	—	—	17	1,8	15,2

Silden var på dette tidspunkt passe moden og hadde en tiltalende smidig konsistens. Smaken var avrundet og noget frisk syrlig uten å smake av eddikk. Fig. 1 viser innflytelse av lagringstemperaturen under modningsperioden på utvikling av total flyktig- og trimethylamin N.

Holdbarhetsforsøk.

For de videre holdbarhetsforsøk ble vaigt silden i tønne no. 12. Silden ble lagt over i leirkrukker à 5 kg sild og det ble påfylt lake (90 g salt + 50 ml 10 % hermetikkeddikk pr. liter) slik at silden var helt dekket. Krukkene ble bundet over med polyetylenfilm og oppbevart ved en konstant temperatur av + 37°C. Krukkene ble betegnet A, B, C, D og E. Konserveringsmidlet er angitt i % av totalvekten av sild + lake.

No. A: Lake tilsatt 0,2 % natriumbensoat.

No. B: Lake tilsatt 0,015 % octylgallat + 0,2 % na. bensoat.

No. C: Lake tilsatt 0,1 % nipacombin.

No. D: Lake tilsatt 0,1 % hexamethylentetramin.

No. F: Kryddersild fra no. 13 uten tilsetning til laken.

Tabell 1.

pH	ml lut/10 ml lake	Total fl. N mg/100 ml	TMA-N mg/100 ml	% Eddikksyrene	Oppbevart døgn	NH ₃ -Nl mg/100 ml
<i>A:</i>						
4,82	9,60	15,7	2,8	0,68	0	12,9
4,96	12,50	28,0	4,9	0,88	3	23,1
5,02	13,10	29,2	6,2	0,93	5	23,0
5,00	14,00	40,0	8,6	0,99	8	31,4
4,99	14,60	47,9	12,2	1,03	12	35,7
5,05	14,55	53,7	15,0	1,03	15	38,7
<i>B:</i>						
4,82	9,60	15,7	2,8	0,68	0	12,9
5,00	11,23	25,7	4,9	0,79	3	20,8
5,05	12,55	32,9	6,5	0,89	5	26,4
5,02	13,05	36,3	7,6	0,92	8	28,7
5,00	13,20	41,2	10,0	0,93	12	31,2
5,0	13,10	44,2	11,3	0,93	15	32,9
<i>C:</i>						
5,14	11,70	24,6	3,5	0,83	0	21,1
5,20	10,80	41,0	3,5	0,76	3	37,5
5,10	11,90	47,9	8,1	0,84	5	39,8
5,10	12,90	52,8	8,8	0,92	8	44,0
5,07	13,40	56,3	10,2	0,95	12	46,1
5,12	12,80	59,8	12,0	0,92	15	47,8
<i>D:</i>						
5,14	11,70	24,6	3,5	0,83	0	20,1
5,27	10,50	28,2	4,2	0,74	3	24,0
5,25	10,00	36,2	5,8	0,71	5	30,4
5,30	10,50	43,8	7,7	0,74	8	36,0
5,16	10,50	42,8	9,2	0,71	12	33,7
5,20	10,50	40,2	12,0	0,74	15	28,3
<i>F:</i>						
5,10	10,70	20,0	1,8	0,76	0	18,2
4,98	12,10	22,5	3,5	0,86	3	19,0
4,95	12,70	24,3	3,9	0,90	5	20,4
4,95	14,00	30,3	5,6	0,99	8	24,7
4,95	14,52	36,5	7,4	1,03	12	29,1
4,90	15,40	38,0	10,2	1,09	15	27,8
<i>D₀:</i>						
5,10	10,70	1,4	—	0,76	0	—
3,95	9,20	23,2	—	0,65	3	—
4,00	9,00	24,6	—	0,64	5	—
4,05	8,75	23,5	—	0,62	8	—
4,05	8,90	26,4	—	0,63	12	—
4,09	8,82	25,7	—	0,62	15	—

Dessuten ble fire sild (ca. 700 g) etter at de hadde ligget to døgn i lake A tatt ut av denne og spylt ren. Etter at silden hadde fått renne godt av seg ble den pakket i en «Cry-O-Vac» plastikpose. Posen ble så evakuert med vannstrålepumpe, lukket og dyppet et øyeblikk i kokende vann. Posen ble oppbevart ved + 37°C. (mrk. P1.) En paralell ble oppbevart ved rumtemperatur (+ 21—22°C) — (mrk. P 2) og ytterligere en paralell med ikke bensoatbehandlet sild ble oppbevart ved samme rumtemperatur (mrk. P 3). Verdiene i tabell 1 refererer seg til laken i krukkene og tabell 2 til serum i silden i posene.

Ved alle forsøk ble laken og serum titrert på syre elektrometrisk i Radiometer, idet 10 ml ble fortynnet til 50 ml med destillert vann og det ble tilsatt n/10 NaOH inntil pH nådde 8,00, det begynnende omslagsområde for phenolphthalein. D₀ i tabell 1 er et blindforsøk til D hvor det bare er blitt benyttet ren saltlake med samme sammensetning som D og med samme tilsetning av hexametylentetramin, men uten sild. Bensoatinholdet i laken og i silden i posene ble bestemt etter Food Analysis 1941 ved utrusting med kloroform. Det var i laken 0,18 % og i posene 0,05 % av sildevekten.

Diskusjon

Hvis man sammenholder de i første arbeide og i dette arbeide funne verdier for utviklet flyktig N baser med en organoleptisk vurdering av kvaliteten og modningsstadiet for silden, synes det ikke urimelig å konkludere med at det skulle være mulig på dette grunnlag å foreta en kvalitetskontroll av saltmoden sild. Når det gjelder å sette grenser for kvalitetsverdien, synes det å være riktig for en prima kvalitet å sette *total flyktig N* til mellom 25 og 35 mg N/100 g lake og *trimetylamin N* til mellom 5 og 8 mg N/100 g lake. Før det kan sies noe avgjort om berettigelsen i en slik vurdering av kvaliteten, vil det være påkrevet også å følge modningsforløpet for annerledes saltet sild på samme grunnlag. En paralell til de her beskrevne forsøk med salt- og sukkerlake og som var modnet utelukkende ved rumtemperatur, (+ 13— + 14°C) og hvor laken var skiftet en gang etter 10 døgn, viste total flyktig N = 24,7 mg/100 g lake og TMA-N— 7.0 mg/100 g lake.

En prøve av «Nordlansk Fetsild» av årets fangst og betegnet som «prima istersild» ble kjøpt i handelen og analysert. I serum ble funnet total flyktig N = 32 mg/100 g sild og TMA-N — 8.0 mg/100 g sild.

Hvis verdiene vesentlig overskrider disse verdier vil man finne at konsistensen er bløt og smaken flau og lite tiltalende.

H o l d b a r h e t.

Det er ikke funnet nødvendig for disse forsøk å sette opp en parallell uten konserveringsmidler. Som det vil framgå av foregående arbeide (Y. GILBERG 1952) vil en temperaturoverskridelse i laken under lagring

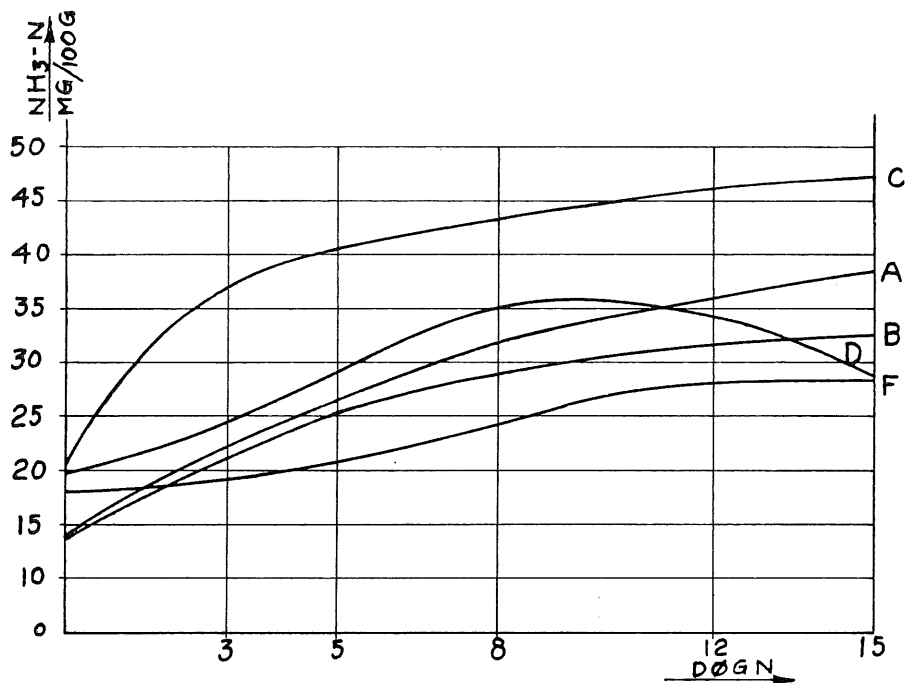


Fig. 2.

Utvikling av ammoniakk kvelstoff.

av silden over 9—10°C medføre en meget hurtig utvikling av flyktig N baser. Effekten av konserveringsmidlene natriumbensoat og natriumnitrit målt i mengde utviklede flyktig N baser fremgikk også av de der funne verdier for disse. Det synes således mulig på et slikt grunnlag å kunne vurdere effektiviteten av forskjellige konserveringsmidler innbyrdes.

F l y k t i g b a s i s k k v e l s t o f f.

Sammenlikner man de funne verdier som er oppstilt i tabell 1 og i den grafiske oppstilling i fig. 2 og 3 vil man se at kurvene følger det samme forløp for de forskjellige forsøksserier med unntakelse av serie D hvor hexametylen på grunn av spaltning i ammoniakk som verdiene i forsøk D₀ viser, og formalin virker forstyrrende på analysene. Men til tross for likheten i utviklingsforløpet er verdiene i de forskjellige tidsperioder og sluttverdiene markert forskjellige.

Sammenlikner vi på grunnlag av den oppsatte hypotese, nemlig at det skulle være mulig på grunnlag av de funne verdier for avspaltet ammoniakk- og TMA kvelstoff å gradere virkningen av forskjellige

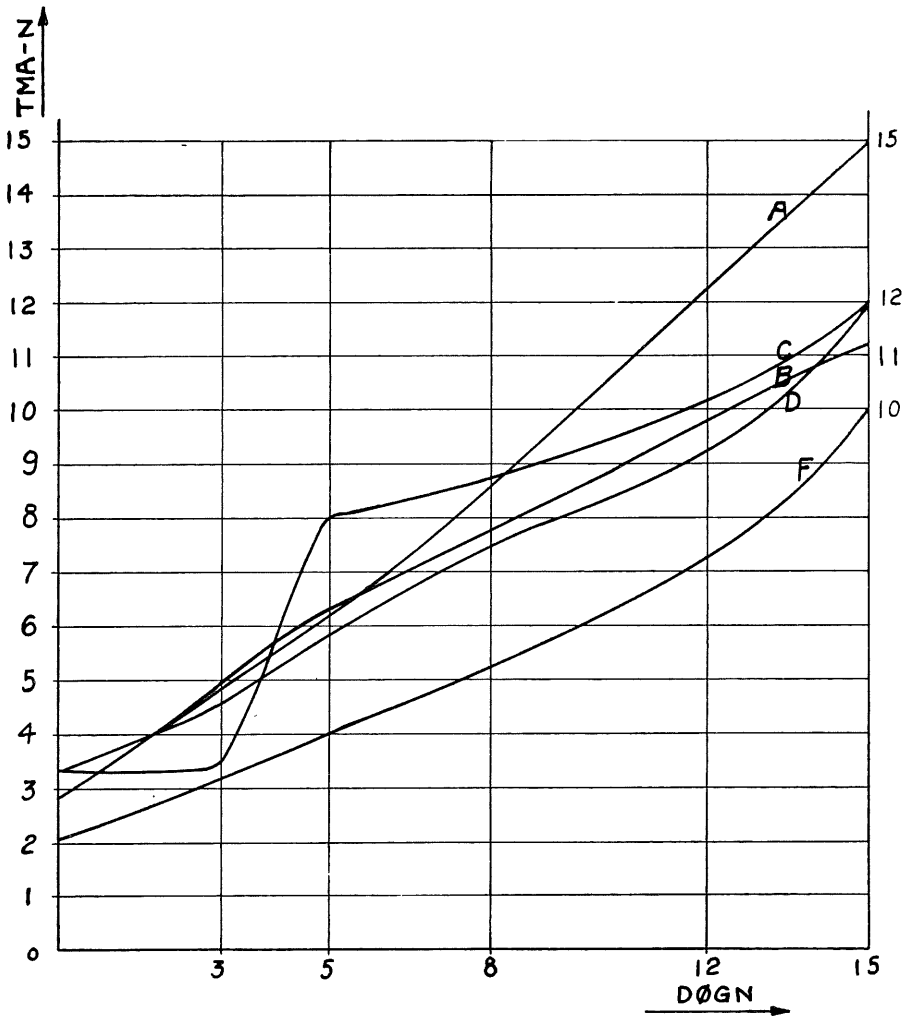


Fig. 3.

Dannelse av trimethylamin kvelstoff under lagring ved 37 C.

konserveringsmidler innbyrdes på såvel den enzymatiske som den bakterielle nedbrytning av fiskemuskulaturen under lagring, de forskjellige konserveringsmidler, vil det synes berettiget å kunne trekke følgende konklusjon:

Bensoesyre: (Forsøk A): Bensoesyre og natriumbensoat har vist seg å gi høyest konserverende virkning i surt miljø. Den gunstigste

virkning oppnåes i PH området 2,5 til 4,0. I mindre surt miljø avtar den konserverende virkning. Iflg. opplysninger fra Monsanto Chem. Comp. har en høyning av pH følgende effekt på bakterietypen *Escherichia coli* når det gjelder såvel konserveringsmidlets baktericide som

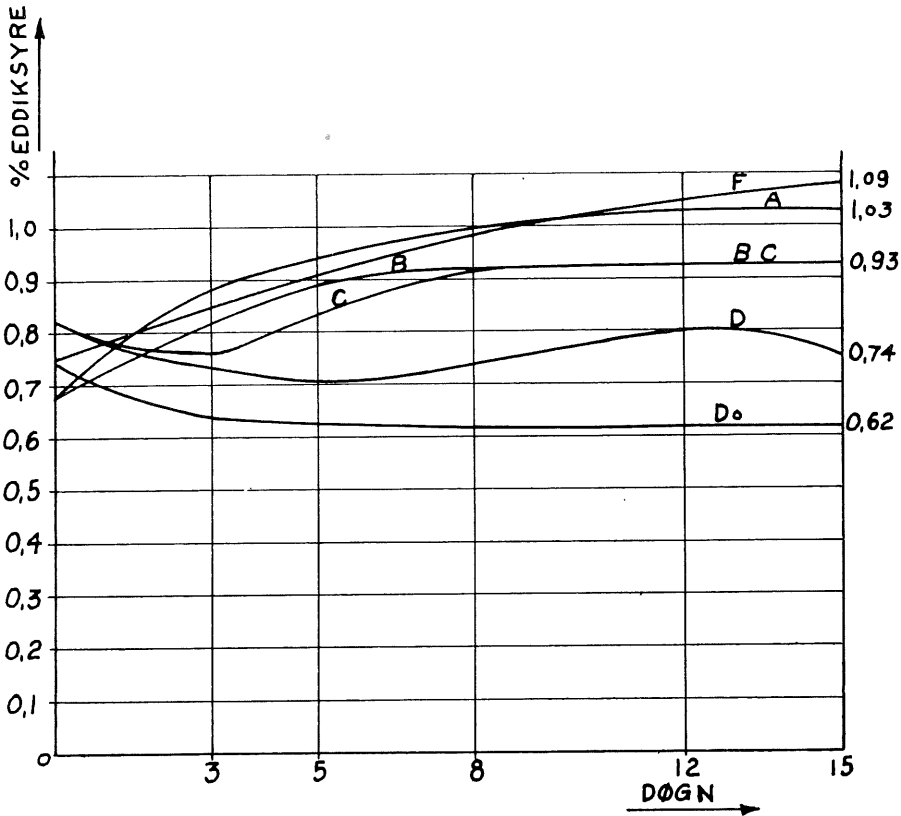


Fig. 4.

Titrert syre som eddiksyre under lagring ved + 37 C.

bakteriostatisk virkning: Virkningen er uttrykt som den maksimale fortynningseffekt = g konserveringsmiddel pr. ml oppløsning.

Baktericid effekt: Ved pH 3,5 = 1/800, pH 4,0 = 1/250 og ved pH 5,0 = 1/20.

Bakteriostatisk effekt: Ved pH 3,5 og pH 4,0 er surhetsgraden nok til å inhibere aktiviteten. Ved pH 5,0 = 1/5000, pH 6,0 = 1/1500 og ved pH 7,0 = 1/100.

Fig. 5 viser at pH ved forsøk A ligger rundt fem, men stiger på grunn av proteolysen noget i løpet av de første fem døgn. Bensoatets effekt vil derfor gå noget ned. I henhold til fig. 2 kurve A har bensoatet gode konserverende egenskaper i en konsentrasjon på 0,2 %

bensoesyre. Det virker endel svakere enn kombinasjoner med gallat, men sterkere enn nipacombin når det gjelder å hemme proteolysen.

Iflg. fig. 3 er dog den bakteriostatiske virkning betydelig svakere enn for de øvrige benyttede konserveringsmidlers vedkommende.

Bensoat + gallat (forsøk B: Den betydelige forsterkning av bensoatets effekt ved tilsetning av octylgallat vil framgå av fig. 2 og 3.

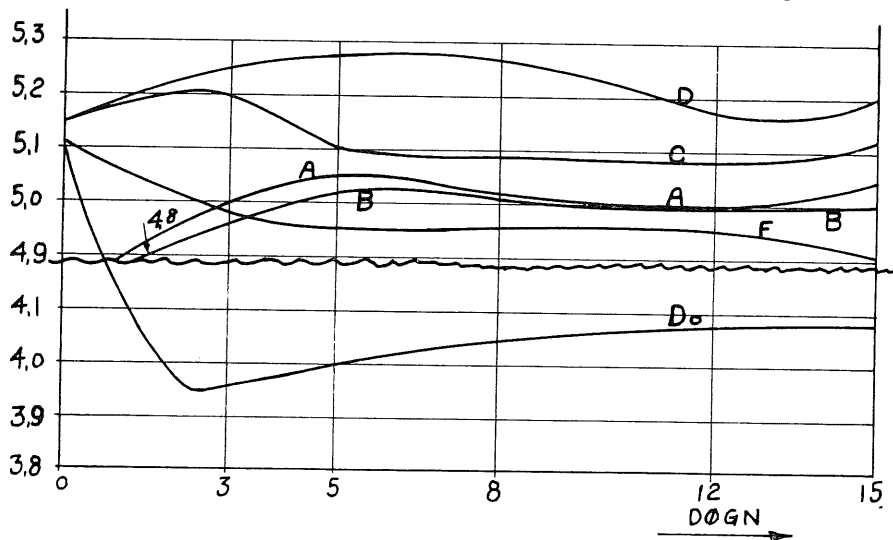


Fig. 5.
Forandringer i pH under lagring ved + 37 C.

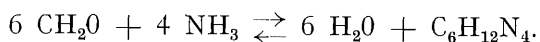
Effekten gjør seg gjeldende overfor både den enzymatiske og bakterielle nedbrytningsprosess.

Nipacombin (forsøk C: Virkningen av dette konserveringsmiddel (estere av p-oksybensoesyre) er ikke i den grad avhengig av et surt miljø som tilfelle er for bensoatet. (Sabalitschka, Th. 1939). Den bakteriostatiske virkning iflg. fig. 3 er betydelig sterkere enn for bensoatet og omtrent av samme størrelsesorden som kombinasjonen natriumbensoat og gallat. Den inhiberende virkning på de proteolytiske enzymer synes derimot betydelig svakere.

Krydder-blanding (forsøk F): Hvor meget av krydderblandingens sterke inhiberende effekt på såvel proteolysen som bakterievirkningen (fig. 2 og 3 kan tilskrives krydderet selv eller nitrattilsetningen er ikke fastlagt. Siden en slik blanding, som er benyttet her, vanligvis tilsettes ved salting av kryddersild, vil det fremgå tydelig at denne type sild derved oppnår en betraktelig forlenget holdbarhet sammenliknet med tilsvarende saltet sild uten denne krydderblanding.

Hexamethylentetramin (forsøk D): Vurderingen av resultatene for

ammoniakk kvelstoff-analysen vanskeligjøres ved at hexa selv spaltes i surt miljø iflg. den reversible ligning:



Iflg. reaksjonsligningen vil hexa ved full spaltning gi 40 mg ammoniakk kvelstoff og 130 mg formaldehyd/100 ml oppløsning. Som det vil fremgå av tabell 1 forsøk D₀ vil hexa under de betingelser som foreligger ved de beskrevne forsøk, bare spaltes delvis, om enn i utstrakt grad. En 0,1 % -ig oppløsning av hexa i 0,7 %-ig eddikksyre gir 26 mg ammoniakk kvelstoff/100 ml. Den konserverende virkning av hexa beror da øyensynlig på en frigjøring av formaldehyd tilsvarende en 0,08 %-ig formaldehydoppløsning.

Hexa vil ikke influere på bestemmelse av TMA kvelstoff og iflg. fig. 3 viser det god effekt overfor bakterier.

Mulig antioksyderende virkning.

Nedenfor i tabell 2 er angitt verdiene for f.f.a. og Kreis. Bestemmelsene ble gjort i hvert forsøk i fettene som var flytt opp etter 15 døgn ved 37°C. Det er ikke mulig å trekke nogen definitiv konklusjon av disse verdier, da silden alt etter forskjellen i autolysegraden, slipper fettene tidligere i enkelte forsøk og senere i andre. Når det gjelder å overføre disse forsøk i praktiske resultater, vil verdiene i alle fall gi uttrykk for tilleggsfordeler for enkelte konserveringsmidlers vedkommende som ved lengre tids lagring av lettsaltet sild ikke vil være av uvesentlig betydning.

Tabell 2.

Forsøk no.	f. f. a. g/100 g	Kreis rød	Organoleptisk bedømmelse
A	6,65	22,0	Fremtredende harsk lukt
B	7,15	11,0	Ingen tydelig harsk lukt
C	6,91	6,0	Ingen tydelig harsk lukt
D	6,95	18,0	Fremtredende harsk lukt
F	8,10	8,5	Ingen tydelig harsk lukt

Stigning i syreinnholdet i muskelen under lagring.

Samtidig med en avspaltning av flyktige kvelstoffbaser vil det finne sted en stigning i syreinnholdet i muskelen under lagring. Glykogen

vil umiddelbart etter at silden er fanget omdannes til melkesyre. Glykogenolysen foregår så hurtig etter fangsten at denne prosess forlengst er over når silden skal saltet på land. Det blir derfor det neste stadium i nedbrytningsprosessen, den bakterielle og autolytiske, som vil være av betydning i dette tilfelle. Når det gjelder ødeleggelse av ferskt råstoff vil forråtnelsen i overveiende grad være forårsaket ved bakterier (BEATTY og COLLING 1940). I dette tilfelle hvor silden er saltet etter en grundig rensning og syrebehandling, vil bakteriefloraen i høy grad være redusert og vekstvilkårene for de tilstedeværende bakterier vil være så sterkt nedsatt at man her også må regne med at den autolytiske nedbrytning vil spille en viktig rolle under modning og lagring.

I henhold til WATSON (1939) spaltes 2 mol TMA-oksyd ved hjelp av melkesyre som vannstoffdonator i 1 mol eddiksyre og 2 mol TMA. Ifølge denne formel kan bare ca. 1/10-part av stigningen i de her funne verdier for syreinnholdet i laken tilskrives reduksjon av oksydet. Nyere undersøkelser over forskjellige anabolske og katabolske veier som kullhydrater og proteiner følger i organismen har vist at som et viktig mellomtrinn i prosessen dannes syre, overveiende sannsynlig eddiksyre. I den normalt fungerende organisme vil ved hjelp av hormoner og kjertelsekreter eddiksyren omdannes i den «Krebske trikarbosykliske mølle» til kulldioksyd og vann og ved siden av til acetteddiksyre. I en organisme som ikke reagerer normalt vil det skje en ansamling av eddiksyre (Ann. Rev. Biochem. 1952). Fig. 4 viser at det generelt finner sted en stigning i syreinnholdet i laken under lagring. Sammenholder en verdien for syrestigningen med verdiene for utviklet mengde trimethylamin- og ammoniakk kvelstoff, vil man se at det ikke er lett å trekke analoge konklusjoner. Den totale økning i syremengden er for A : 0,35%, B : 0,25 % C : 0,16 %, F : 0,33 %.

Konklusjon

Det foreliggende arbeide har forsøkt ved hjelp av en enkel analytisk fremgangsmåte (Conway Diffusjonsmetode) å finne veier for en eksakt vurdering av modningstadiet og lagringsdyktighet for lettsaltede sildeprodukter. Metoden har også i samme forbindelse vist at det er mulig å finne frem til eksakte data for effekten av forskjellige konserveringsmidler og derved gi muligheter for å kunne finne frem til de konserveringsmidler eller kombinasjoner av disse som vil gi størst effekt når det gjelder å høyne produktenes holdbarhet under lagring.

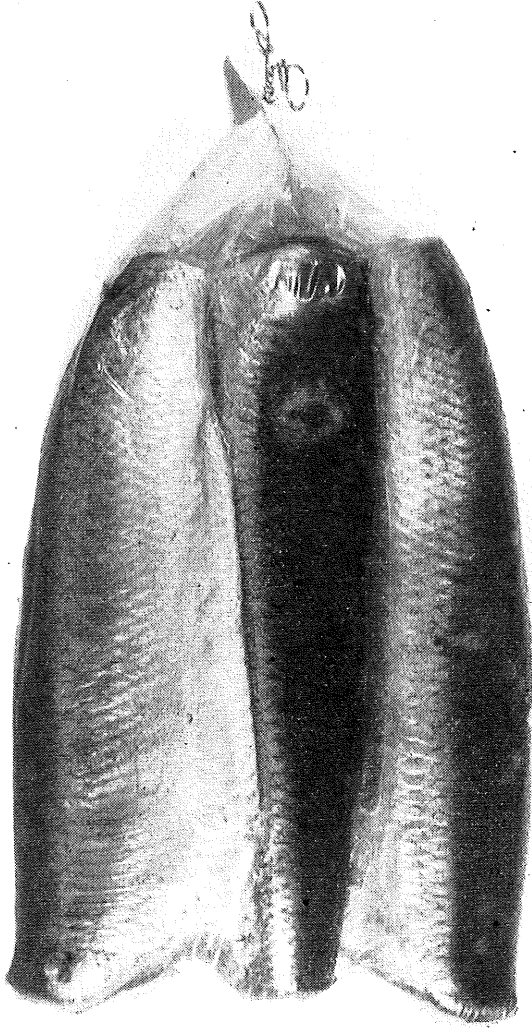
Pakking av lettsaltet sild uten lake.

Når det gjelder muligheter for å pakke en så lett harsknende vare som sild uten lake, gjelder det at lufttilgangen er minimal. Likeledes er det avgjørende i praksis at operasjonen er hurtig og enkel. Av de pakkematerialer som sto til rådighet var det bare «Cry-0-Vac» som syntes lovende. «Cry-0-Vac» er en gjennomsiktig og luktfri plastisk film med en lav faktor for vanndampgjennomtrengelighet. Materialet som leveres i poser, tillater at luften, etter at næringsmidlet er fylt i, kan fjernes ved vakuum og at posen så kan lukkes hurtig på en meget enkel måte. Ved så å dyppe den lukkede posen i vann nær kokepunktet krymper posen 15 % og bevirker at filmen omslutter næringsmidlet meget tett. Av tabell 2 fremgår verdiene av funnet total flyktig- og trimethylamin kvelstoff under lagring ved forskjellige temperaturer. På grunn av noget lite prøvemateriale ble det ikke anledning til å bestemme f.f.a. og Kreis og harskheten ble således utelukkende bedømt organoleptisk.

Tabell 2.

pH	ml n/10Na OH pr. 50 ml serum	Total fl. N mg/100 g sild	TMA-N mg/100 g	% Eddikk syre	Lagret døgn	°C
<i>P 1:</i> 5,04	10,65	45,8	6,2	0,75	7	+ 37
<i>P 2:</i> 5,12	8,5	22,0	3,5	0,60	14	+ 21
<i>P 3:</i> 5,15	10,2	29,0	7,0	0,72	14	+ 21

De foreløpige forsøk viser at man her har et pakkemateriale som skulle by på fordeler ved en detaljomsetning av lettsaltet sild. Når de foregående undersøkelser, som vil bli fortsatt, har vist hvilket konserveringsmiddel eller hvilke kombinasjoner av konserveringsmidler egner seg best, skulle det være mulig å oppbevare sild pakket i slik emballasje i lengre tid selv ved rumtemperatur. Hvis man fortsatt forutsetter at ammoniakk- og TMA-kvelstoff i de forskjellige tidsrom under lagring i saltet tilstand gir uttrykk for modningsforløpet av silden, skulle det være mulig å pakke silden i denne emballasje på et modningstrinn som er avpasset etter den nødvendige forsendelsestid for å nå markedet og beregnet «shelflife». Silden ville da kunne få resten av modningen i pakken i løpet av denne tid.



Lettsaltet sild pakket i «Cry-O-Vac».

Summary

The perishability of mild cured herring products demands special precautions as to temperature during curing to ascertain the right degree of taste and texture. With appropriate consideration of transport and «shelflife» before consumption it would be of certain advantage to have a quick and simple method in hand to be able to control the curing process and chose with accuracy the time when the right degree of curing is reached.

An earlier work by the same author published in the Series of Technological Research concerning the Norwegian Fisheries, vol. 2 no. 10, undertook to establish figures to find out if the development of trimethylamine nitrogen (TMA-N) and ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N}$) which is considered as the difference between total volatile nitrogen and TMA-N, compared with an organoleptical estimation of the product could give figures exact enough to form a basis for judgement of the different stages of the curing. The investigations appeared to give a positive answer to the question as far as the analytical figures were found to coincide fairly well with the organoleptical test. As the analytical figures will naturally vary with the special forms of curing (mild salt curing with or without vinegar, salt and sugar curing etc.) it will be necessary later to establish the figures for these curing methods also.

The individual variation in TMA values for herring will be of no importance when the brine is analysed, but will give a reliable average value.

The Conway Diffusion method is a simple and satisfactory method as to speed and accuracy when applied to the analysis of a large number of samples simultaneously.

The present publication is a continuation of the previous one and tries on hand of the same analytical method to establish figures which could enable one to judge the action and effect of different preservatives on mild cured herring products stored at elevated temperatures. The values for TMA-N, which is formed by the action of TMO splitting

enzymes formed by certain bacteria active on saltwater fish and form a representative part of the bacterial flora also of salt cured herring, is thought to give an index of the bacterial activity. The difference between total volatile nitrogen and TMA-N which is 95 % ammonia is presumed to give an index of the overall enzymatic activity.

Compared with an organoleptical judgement the graphical curves showing the development of $\text{NH}_3\text{-N}$ and TMA-N during storage at + 37° C of herring in brine with different added preservatives seem to give a reliable picture of the difference in effectiveness of the preservatives. The herring with 8 % salt, 6 % sugar and 0,8 % acetic acid content was placed in a jar and covered with 10 % salt brine. The pH of the brine being as an average 5,0. The preservative was then added and the jar was allowed to stand for two days at + 10° C to allow for even distribution and penetration of preservative into the fish before being stored at + 37° C. Samples were taken at regular intervals.

The following preservatives were tried: (The figures are percentage of total content of the jar).

- A. Benzoic acid sodium 0,2 %
- B. —»— 0,2 % + ocyllgallat 0,015 %.
- C. Nipacombin 0,1 %.
- D. Hexamethylenetetramine 0,1 %.
- F. Herring previously spiced with 1,4 % of a commercial mixture of spices with added sodiumnitrite (0,25 % of weight of the herring.)

The action of the preservatives on account of the analysis of $\text{NH}_3\text{-N}$ and TMA-N was estimated as follows:

- A. Showing good proteolytic inhibiting action but poor bacteriostatic action.
- B. A pronouncedly stronger effect than A on the enzymatic as well as on the bacterial activity.
- C. The bacteriostatic effect is equal to B but as an enzyme inhibitor it is noticeably inferior to A and B.
- D. The evaluation of the action of hexamethylenetetramine is influenced by the splitting off of ammonia in an acid medium. As demonstrated by a blind test a solution of 0,1 % hexamethylenetetramine in 0,7 % acetic acid splits off 26 mg of $\text{NH}_3\text{-N}$ /100 ml. Allowing for an adequate reduction of the registered values for $\text{NH}_3\text{-N}$ in D the effect as an enzyme inhibitor appears very good. The bacteriostatic effect is not less than B and C and appears similarly good in comparison.

The effect of the preservative is thought to be due at least in part to the liberated equivalent of formaldehyde.

F. An apparent prolonging effect of the spice-mixture on storage life of the herring.

The effect of the preservatives on the rancidity of the herring fat was analysed through the Kreis red values. C and F showed the lowest values and no rancid odour. B showed a much lower value than A and no rancid odour. A and D were pronouncedly rancid and the Kreis values were from two to three times that of the others.

A later publication will demonstrate along similar lines the effect of preservatives and combinations of preservatives on herring cured without acid.

Litteratur

1921. WOODWARD, H. and ALSBERG, C. The detection of volatile Alkylamines in the presence of Ammonia and of volatile tertiary Alkylamines. *J. Biol. Chem.* 46, p. 1,7 pp.
1933. BLEYER, W. and LEONHARD, K. Influence of preservatives on enzymic processes. *Arch. Pharm.* 271, p. 539, 13 pp.
1933. BODENDORF, K. & KORALEWSKI, G. Ueber den Mechanismus der Kondensation zwischen Aminen, Formaldehyd und Ketonen. *Arch. d. Pharm.* 271, p. 101, 16 pp.
1933. KLUGE, H. Ueber den Einfluss von Konservierungsmitteln auf die Wirkung von Fermenten, *Z. Unters. Lebensm.*, 66, p. 412, 24 pp.
1934. MOTOI, W. The acid nature of aqueous Formaldehyde solutions. *Ber.*, 67 B, p. 191. 7. pp.
1939. SABALITSCHKA, T. Ester als Konservierungsmittel für Lebensmittel und andre leicht zerzetsliche Materialien. *Z. f. Unters. Lebensm.* Vol. 77, p. 256, 6 pp.
1939. WATSON, D. W. V. The role of Trimethylamine Oxide in the Respiration of *Achrombacter*. *J. Fish. Can.*, 4. p. 267, 14 pp.
1940. BEATTY and COLLINS, V. The Breakdown of Carbohydrates, Proteins and Amino Acids During Spoilage of Cod Muscle Press Juice. *J. Fish. Can.* 4, p. 412, 12 pp.
1940. TARR, H. L. A. Specificity of Triamineoxidase. *J. Fish. Can.*, 5, p. 187, 10 pp.
1941. *Food Analysis*, Intern. Chem. Series, McGraw, — Hill Book Comp. Inc. New York, U. S. A.
1941. COLLINS, V. K. and COLAB. Studies of fish spoilage. IX. Changes in Buffering Capacity of Cod Muscle Press Juice. *J. Fisheries Research Can.* 5, p. 203, 8 pp.
1947. RONOLD, O. A. og JACOBSEN, F. Trimethylamine Oxide in Marine Products. *J. Soc. Chem. Ind.*, 66, p. 160, 7 pp.
1949. SHEWAN, J. M. Some Bacteriological Aspects of Handling, Processing and Distribution of Fish. *J. Royal Sanit. Inst.*, 69, No. 4, July, p. 394, 28 pp.
1949. REAY, C. A. and SHEWAN, J. M. The Spoilage of Fish and Its Preservation by Chilling. *Advances in Food Res.*, 2, p. 343.
1950. WALLENFELS, K. Ueber die Messung der proteolytischen Aktivität von Enzympreparaten, *Biochem.*, Z. 321, p. 189, 8 pp.
1951. BEHRE, A. Versuche ueber die Haltbarkeit von Bismarck Heringen. *Z. f. Lebensm. Unters. u. Forsch.*, 93, p. 17, 14 pp.

1951. PARTMANN, W. Zur Frage der Bestimmung des Frische-zustandes von Fischen. *Z. f. Lebensm. Unters. u. Forsch.*, 93, p. 341, 16 pp.
1952. GILBERG, Y. Undersøkelser over modning av sild konserveret med salt og eddik. *Rep. Technol. Research. Fiskeridirektoratets Skrifter*, 2, No. 10.
1952. BRAMSNÆS, F. og RIEMANN, H. Konserveringsmidler til Gaffelbidder. *Konserves*. No. 3, Marts 1952, p. 29. 5 pp.
1952. BIGWOOD, J. E. *Nutrition. Ann. Rev. Biochem.*, 21, p. 355.
1952. SZAKALL, A. Untersuchungen ueber das biologisch wirksame Milieu in Gaerungsessig. *Z. f. Lebensm. Unters. u. Forsch.*, 95, p. 100, 8 pp.