

Holdbarhet på klippfisk

Forbedret prosedyre for prøveuttak (AP1)

Grete Lorentzen, Jørn-Ove Johansen, Karsen Heia, Agnar H. Sivertsen, Martin Hansen Skjelvareid, Bjørn Gundersen og Mette S. Wesmajervi Breiland





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsen gate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140

E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

ISBN: 978-82-8296-305-3 (trykt)
 ISBN: 978-82-8296-306-0 (pdf)
 ISSN 1890-579X

<p><i>Tittel:</i> Holdbarhet på klippfisk Forbedret prosedyre for prøveuttak (AP1) (Denne rapporten ble først utgitt som konfidensiell til FHF 11.11.2013)</p>	<p><i>Rapportnr.:</i> 27/2015</p> <p><i>Tilgjengelighet:</i> Åpen</p>
<p><i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Grete Lorentzen, Jørn-Owe Johansen, Karsten Heia, Agnar H. Sivertsen, Martin Hansen Skjelvareid, Bjørn Gundersen og Mette S. Wesmajervi Breiland</p>	<p><i>Dato:</i> 2. juni 2015</p>
<p><i>Avdeling:</i> Sjømatindustri</p>	<p><i>Ant. sider og vedlegg:</i> 12</p>
<p><i>Oppdragsgiver:</i> Fiskeri- og Havbruksnæringens forskningsfond (FHF)</p>	<p><i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF 900856</p>
<p><i>Stikkord:</i> Holdbarhet, klippfisk, forbedret prosedyre prøveuttak</p>	<p><i>Prosjektnr.:</i> 10478-01</p>
<p><i>Sammendrag/anbefalinger:</i></p> <p>Holdbarhet på klippfisk er et tema både klippfiskindustrien og kjøpere av klippfisk ønsker mer kunnskap om. Det har spesielt vært knyttet interesse til holdbarhet ved lagring ved forhøyet temperatur fordi distribusjon og salg i enkelte markeder skjer uten kjøling. Dette var bakgrunnen for prosjektet «holdbarhet på klippfisk». Denne rapporten refererer til den første arbeidspakken der «forbedring av prosedyre for prøveuttak» er målet. I henhold til internasjonalt regelverk er klippfisk holdbar forutsatt fravær av misfarging. Klippfisk som er lagret feil kan enten være farget rød eller brun / svart. Dette skyldes hhv rød- og brunmidd. For å bestemme nivået rød- og brunmidd må det tas ut en prøve. Siden misfarging på klippfisk forekommer ujevnt vil sted for prøveuttak være avgjørende for resultatet av analysen. Resultater fra dette forsøket viser at det er cirka 50 % større sannsynlighet for at rødmidd blir først synlig på bukklappene, dette kan forklares ved at betingelser for vekst i dette området er bedre enn for øvrige deler på klippfisk. Videre må prøveuttak (snittmålinger) for bestemmelse av antall rødmidd i klippfisk tas i overflaten av bukklappene, ikke dypere enn 4 mm. Snittmålinger for bestemmelse av antall brunmidd i klippfisk må også tas i overflaten, ikke dypere enn 4 mm. På grunn av variasjoner i forekomst mellom klippfisk fra samme parti, bør det tas ut flere klippfisk for analyse for fastsetting av nivå rød- og brunmidd. Med bakgrunn i observerte variasjoner foreslår vi et uttak på 5 klippfisk pr parti.</p>	

Innhold

1	Innledning	1
2	Mål.....	1
3	Gjennomføring	2
3.1	Kartlegge naturlig forekomst av synlig misfarging	2
3.2	Vann- og saltinnhold i klippfisk.....	4
3.3	Snittmålinger	4
3.4	Soneinndeling og dataanalyse.....	5
4	Resultater og diskusjon	6
4.1	Forekomst av synlig misfarging	6
4.2	Vann- og saltinnhold i klippfisk.....	7
4.3	Snittmålinger	9
4.3.1	Rødmidd	9
4.3.2	Brunmidd	9
4.4	En alternativ tilnærming til prøvetaking	10
5	Oppsummering og konklusjon.....	11
6	Referanser	12

1 Innledning

Holdbarhet på klippfisk er et tema både klippfiskindustrien og kjøpere av klippfisk ønsker mer kunnskap om. Det har spesielt vært knyttet interesse til holdbarhet ved lagring ved forhøyet temperatur fordi distribusjon og salg i enkelte markeder skjer uten kjøling. Dette er bakgrunnen for at FHF i 2013 initierte prosjektet «Holdbarhet på klippfisk». Prosjektets hovedmål er å studere holdbarhet på klippfisk under ulike temperaturbetingelser for deretter å komme frem til en anbefalt holdbarhet ved lagring og omsetning. Prosjektet består av fire arbeidspakker; 1) å forbedre prosedyre for prøveuttak, 2) å kartlegge vekst av rød- og brunmidd ved forhøyede temperaturer, 3) å kartlegge sensoriske egenskaper på klippfisk ved kjølelagring og 4) å studere alternativer til kassering av klippfisk som er uegnet til konsum grunnet synlig misfarging.

Denne rapporten beskriver gjennomføringen og resultatene i arbeidspakke 1) å forbedre prosedyre for prøveuttak. Ved å ta ut prøver av salt- eller klippfisk kan antallet rød- eller brunmidd på et gitt tidspunkt fastsettes. I henhold til Codex standard no. 167–1989, er holdbarhet på klippfisk definert til å være den tiden det tar før klippfisken blir synlig misfarget. For rødmidd er grensen satt ved synlig rød misfarging, mens det for brunmidd er satt en øvre grense på 1/3 av klippfisken dekket av brun/svart misfarging. For å bestemme antallet rød- og brunmidd er det utarbeidet en metode (NMKL metode nr 171). I denne metoden står det at det skal foretas et representativt prøveuttak. Metoden beskriver imidlertid ikke hvordan prøven skal tas ut for å være representativ, for eksempel hvor prøven skal tas, antall prøvepunkter pr klippfisk, eller pr parti.

Rødmidd finnes i saltet som brukes ved produksjon av klippfisk. Derfor vil all klippfisk få synlig rød misfarging dersom lagringsforholdene ligger til rette for det, det vil si forhøyet temperatur og fuktighet kombinert med lang lagringstid. Brunmidd er en sopp som spres via luft og veksten av denne gir brun og etter hvert sorte prikker på klippfiskens overflate. På Nofima er det observert at rød- og brun misfarging på klippfisk varierer. Vi har blant annet sett at en variasjon i rødmiddkonsentrasjon på opptil 5 log enheter på samme fisk, det vil si en forskjell på opptil 100.000 ganger. I tillegg har vi observert store variasjoner i misfarging av klippfisk fra samme parti. En slik ujevn fordeling gjør at man i for stor grad risikerer å påvirke analyseresultatet alt avhengig av hvor på fisken prøven tas ut og hvilke fisk en velger å ta prøve av innenfor et parti. Usikkerhet omkring et analyseresultat gjør det for eksempel vanskelig å fastsette holdbarheten på produktet. Usikkerheten kan også være en kilde til uenighet mellom selger og kjøper.

2 Mål

Målet med arbeidspakke 1 er å forbedre prosedyre for prøveuttak i forbindelse med fastsetting av antall rød- og brunmidd i klippfisk.

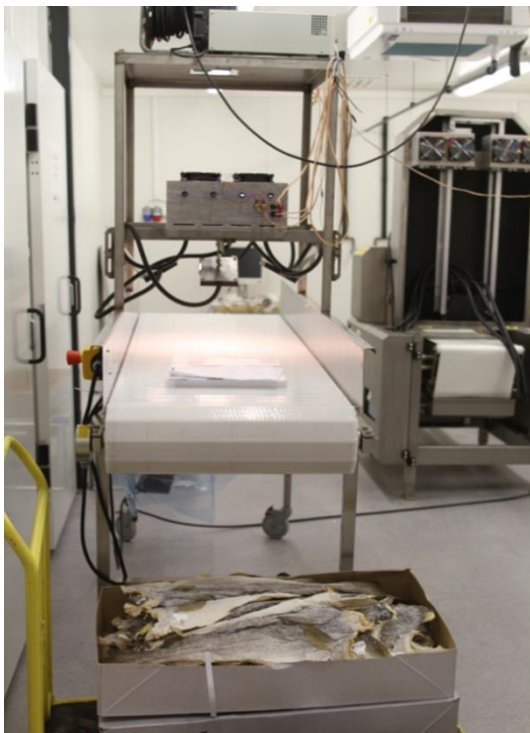
3 Gjennomføring

3.1 Kartlegge naturlig forekomst av synlig misfarging

For å kartlegge variasjonen i naturlig forekomst av rød- og brunmidd, har vi valgt å måle hvor klippfiskene først får synlig misfarging. Denne tilnærmingen baseres på antagelsen om at der første misfarging inntreffer i utgangspunktet hadde den høyeste konsentrasjonen av rød- eller brunmidd. Siden klippfisk med synlig rød misfarging ikke aksepteres som handelsvare, er det derfor viktig å lokalisere om det er enkelte steder på klippfiskene som får misfarging først. I dette forsøket ble klippfisk lagret ved forhøyet temperatur for å akselerere og fremprovosere misfargingen.

To kasser klippfisk (30 fisk) ble brukt i dette forsøket. Klippfiskene var fra samme produsent og den hadde på forhånd vært lagret i 2 år ved 4 °C på Nofimas kjølelager i Tromsø. Det var ingen synlig misfarging på noen av klippfiskene før oppstart av forsøket. Mikrobiologiske analyser av klippfisk fra samme parti viste en rødmiddkonsentrasjon på cirka 1000 rødmidd per g prøve. Selv ved dette nivået rødmidd var det ingen synlig rød misfarging på klippfiskene siden det må være minimum 10.000.000 rødmidd per g klippfisk før det er synlig rosa / rødt. Brunmidd ble ikke påvist.

For å fremprovosere misfarging ble kassene med klippfisk plassert i varmeskap på 20 °C og 85 °RH (relativ fuktighet) i 2 uker. Deretter ble temperaturen økt til 25 °C med samme RF. Totalt lå klippfiskene 4 uker ved forhøyet temperatur. Ved hjelp av en teknikk som kalles diffus reflektansspektroskopi (Bilde 1) ble det i løpet av de 4 ukene tatt opp til 12 bilder av hver fisk.



Bilde 1 Avbildende diffus reflektansspektroskopi av klippfisk

Avbildende diffus reflektansspektroskopi baseres på å lage et måleoppsett hvor målområdet belyses med diffust lys. Lyset må være kontinuerlig i det spektrale området, det vil si at det ikke kan benyttes lysstoffrør siden disse har spektrale topper. Det er derfor valgt å benytte et sett av halogenpærer kombinert med diffusorplater for å oppnå en tilnærmet diffus belysning.

For å gjøre selve avbildningen ble en avbildende spektrograf benyttet (Bilde 1). Denne fungerer slik at hver eksponering (2D-bilde) representerer en smal stripe på tvers av transportbåndet med et spekter for hvert punkt. Når fisken som skal avbildes passer målområdet bygges det opp et 3-dimensjonalt bilde av fisken, $I(x, y, \lambda)$, hvor (x, y) er romlig koordinat og λ er bølgelengde. Oppløsning på avbildningen er $0.5 \times 0.5 \text{ mm}^2$ romlig og 5 nm spektralt i bølgelengdeområdet fra 400–1000 nm.

For å kalibrere måleoppsettet ble det benyttet en kombinasjon av teflon for å kompensere for ujevn belysning på tvers av transportbandet og en spektralplate (99 % refleksjon på alle bølgelengder) for å kompensere for lampekarakteristikker. Ved å bruke denne kalibreringen kan spektrene i diffus reflektansspektroskopibildene regnes om til reflektansspektre, $R(x, y, \lambda)$.

Forsøket startet med å ta bilder av alle klippfiskene. Deretter ble klippfiskene plassert ved forhøyet temperatur over en 4 ukers periode. I denne perioden ble det tatt bilder med jevne mellomrom til de fleste klippfiskene hadde synlig misfarging. Klippfiskene ble fotografert i samme rekkefølge hver gang, og den ble lagt tilbake i kassen i samme posisjon som før den ble tatt ut. Klippfiskene lå med skinnsiden opp.

Bilder fra klippfisk fra en av kassene er vist i Bilde 2. Klippfisken er her lagret i cirka 3 uker ved forhøyet temperatur.



Bilde 2 Klippfisk fra en kasse som har vært lagret ved forhøyet temperatur

Bilde 2 viser variasjonen i synlig rød misfarging i 14 klippfisk som var lagret i en og samme kasse. Av fiskene i denne kassen var det etter tre ukers lagring kun to klippfisk som ikke hadde synlig rød misfarging. Etter ytterligere en ukes lagring hadde alle fiskene i denne kassen synlig rød misfarging. Vi observerte også at misfargingen var ujevnt fordelt på hver enkelt fisk og mellom fiskene. I kasse nr 2 var variasjonen av rød misfarging tilnærmet den samme som for klippfisk i kasse 1. Underveis i lagringsforsøket observerte vi at enkelte klippfisk hadde synlig rød misfarging også på skinnsiden. Selv om klippfisken ble lagt tilbake i samme posisjon i kassen etter avbildning økte sannsynligheten for smitte av rødmidd fra skinnsiden til kjøttetsiden på en annen fisk. Ved lagring ved forhøyet temperatur var de 12 avbildningsrundene en tilleggsbelastning som sannsynligvis bidro til økt forekomst og utbredelse av rødmidd grunnet kryssforurensning.

3.2 Vann- og saltinnhold i klippfisk

For å finne en mulig forklaring på ujevn forekomst av rød- og brunmidd på klippfisk, foretok vi måling av salt- og vanninnhold på forskjellige deler av fisken. Vi brukte klippfisk som hadde vært lagret på 4 °C i 2 år. For å studere om forhøyet temperatur påvirket salt- og vanninnholdet lagret vi to fisk ved 25 °C i 3 uker. For å unngå for stort vekttap under lagring ved forhøyet temperatur ble klippfisken pakket inn i plastposer i lagringsperioden.

Etter lagring ble fiskene delt opp i biter etter et definert mønster (Figur 2). For å ta høyde for at forskjellene kunne skyldes varierende tykkelse, ble det skåret ut biter med tilnærmet lik tykkelse. Hver fisk ble delt opp i 18 biter og skinn og bein ble fjernet før analysene. Hver bit ble skåret opp i mindre remser og hakket opp i en kjøkkenmaskin i cirka 1 minutt. Den hakkede massen ble deretter lagt i merkede plastposer m/lynlås og merket med bitens plassering på fisken.

Saltinnholdet ble bestemt etter Volhards metode (1937). Det ble veid ut 0,3–0,6 g av den hakkede massen og AgNO_3 (sølvnitrat) ble tilsatt. Overskuddet av AgNO_3 , det vil si det som ikke hadde reagert med kloridioner i saltet, ble blandet med NH_3 (salpetersyre). Blandingen kokte til kjøttet var oppløst og ble etter avkjøling og filtrering titrert med NH_4CNS (ammoniumcyanat) til brun-oransje omlagsfarge. Måleprinsippet er å måle hvor mye ureagerte sølv-ioner som er igjen i løsningen. Dette gjøres ved titrering. To parallelle prøver ble utført per bit.

Vanninnhold ble målt ved først å homogenisere fisken og deretter veie ut 4–6 g prøve per parallell (totalt to paralleller per bit). Prøvene ble deretter plassert i varmeskap ved 103 °C i 16 timer, og avkjølt i eksikator i 30 min. Vanninnholdet ble beregnet ut i fra vektforskjellen før og etter varmebehandling i % (AOAC, 1991).

3.3 Snittmålinger

Avbildende diffus reflektansspektroskopi måler kun på overflaten av klippfisken. For å forbedre en metode for prøveuttak er det også viktig å ha kunnskap om vekst av rød- og brunmidd i dybden i en klippfisk. Både rød- og brunmidd er aerobe, det betyr at de vokser best med tilgang på oksygen. Derfor er det god grunn til å anta at den høyeste konsentrasjonen av rød- og brunmidd er å finne på overflaten. Det er imidlertid ikke kjent hvor langt ned i muskelen rød- og brunmidd kan vokse. Vil for eksempel en dybdesnittprøve gi et lavere antall rødmidd enn en prøve som kun er tatt på overflaten? Det ble derfor gjort forsøk med både rød- og brunmidd for å undersøke dette nærmere.

Studier med rød- og brunmidd ble kjørt i separate forsøk. Rødmidd ble dyrket i en renkultur til cirka log 7 CFU/ml, det vil si 10.000.000 rødmidd per ml. Kulturen ble deretter fortynnet til cirka log 3 CFU/ml før overføring av 100 ul til loins biter av klippfisk. Brunmidden ble dyrket opp til det var synlige beige «fnokker» i kolben. Et volum på 100 ul av ufortynnet prøve ble deretter overført til loinsbiter av klippfisk.

Bitene ble deretter pakket inn i separate plastposer for å unngå kryssforurensning. Prøvene ble plassert på 25 °C i lys (kunstig og dagslys). Posene var ikke lufttette. Det må minimum være log 7 CFU/g, det vil si 10.000.000 rødmidd per g klippfisk, før rødmidden er synlig. Dette innebærer at klippfisk kan ha høye nivå rødmidd uten at dette vises. I prøveuttaket inkluderte vi derfor loinsbiter uten synlig misfarging som kontrollprøver.

Etter at loinsbitene hadde fått synlig misfarging (Bilde 3), ble de snittet lagvis der hvert lag målte 20 mm i bredde x 28 mm i lengde x 4 mm i dybde. Det ble snittet ut opptil 4 lag av loins med synlig misfarging. Tilsvarende ble gjort for kontrollprøvene. Felles for loinsbiter som var tilført rød- og brunmidd var synlig misfarging kun i det øverste laget av bitene (Lag 1).



Bilde 3 Loins av klippfisk med synlig rødmidd (venstre) og brunmidd (høyre)

Antall rød- og brunmidd ble fastsatt i henhold til NMKL metode no 171. Etter utplating ble rød- og brunmiddplater lagret ved 37 og 20 °C i henholdsvis 4 og 2 uker før de ble lest av.

3.4 Soneinndeling og dataanalyse

For å kunne identifisere hvor på klippfisk den første misfarging oppsto, valgte vi å dele fisken inn i soner (Figur 1). Soneinndelingen ble i hovedsak gjort ut i fra tykkelse, der vi antok et høyere vanninnhold og et lavere saltinnhold i de midterste delene sammenlignet med de øvrige delene på fisken. Både salt- og vanninnhold påvirker vekst av rødmidd og brunmidd.

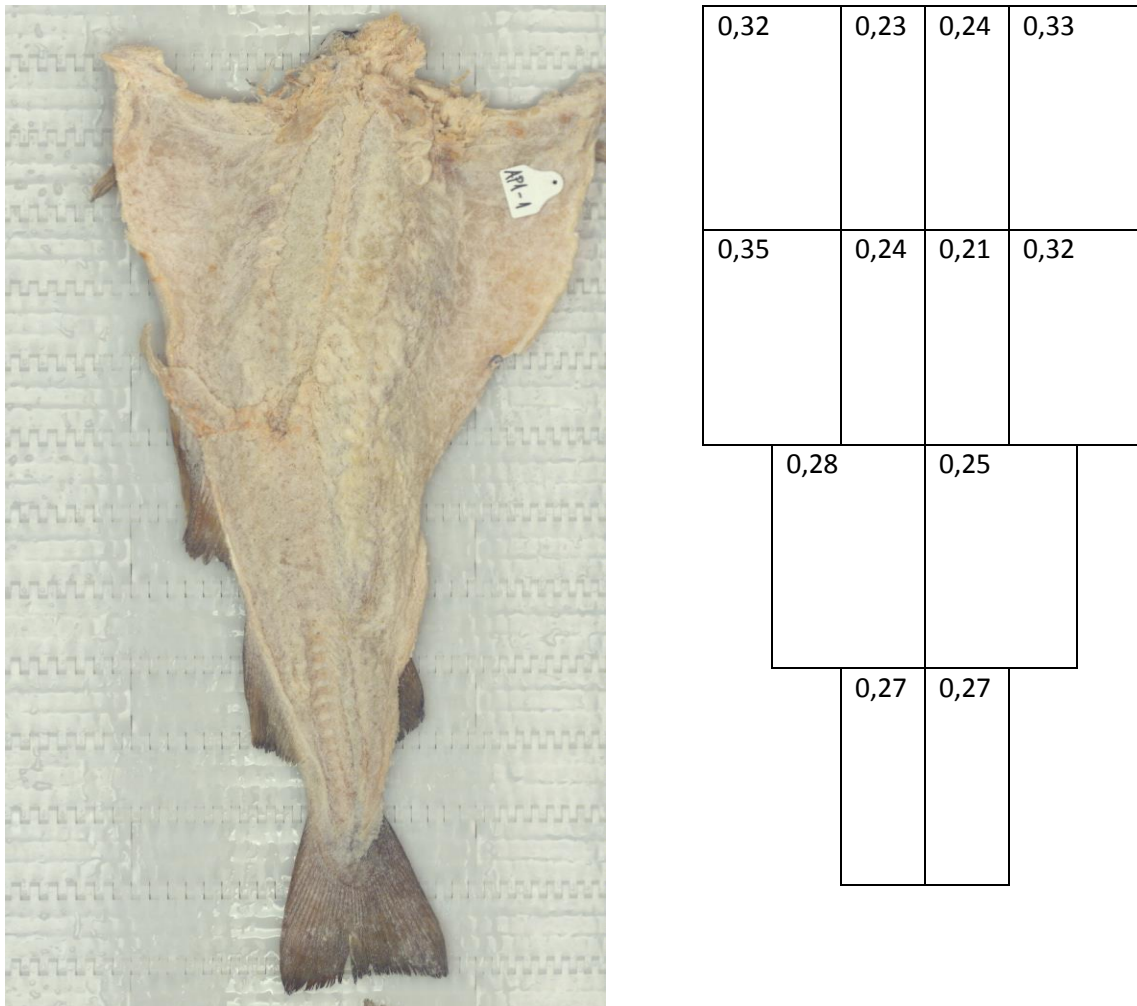
Generelt så har vi basert tolkning av bildene på resultater fra tidligere forsøk der absorbans for fargestoffet i rødmidd har vært studert (Sivertsen *et al.*, 2012). Fra reflektansspektroskopibildet ble det beregnet en «rødmiddverdi» for hvert punkt i bildet som reflekterer mengde påvist fargestoff fra rødmidd i dette punktet. Jo høyere rødmiddverdi, desto kraftigere rødfarge på fisken. I analysen av bildesekvensen på opptil 12 bilder for en fisk ble det; 1) avdekket *når* den første rødmidden ble synlig og 2) på dette tidspunktet *hvordan rødmidden var fordelt* på denne fisken. Fremvekst av rødmidd i et område ble på fisken kvantifisert i forhold til hvilken rødmiddverdi 10 % av området oversteg. Når alle 30 fiskene ble vurdert samlet gir dette et bilde av hvor stor konsentrasjon det var av rødmidd i de ulike sonene på fisken i det øyeblikket de første flekkene ble synlige røde.

4 Resultater og diskusjon

4.1 Forekomst av synlig misfarging

I løpet av lagringsperioden ved forhøyet temperatur, ble det tatt cirka 340 bilder, det vil si hver klippfisk ble fotografert opptil 12 ganger. I likhet med tidligere forsøk observerte vi at lokalisering av hvor første synlige misfarging oppsto varierte. Av utvalget på 30 klippfisk var bare 2 klippfisk helt fri for synlig misfarging selv etter 4 uker lagring ved forhøyet temperatur. Basert på tidligere lagringsforsøk er det likevel god grunn til å anta at rødmiddnivået likevel var høyt også i disse to fiskene, og at de mest sannsynlig hadde fått synlig rød misfarging dersom klippfisken hadde vært lagret utover forsøksperioden. Gjennom lagringsforsøket ble det kun observert rød misfarging av klippfisken, ingen brunmidd ble observert på noen av fiskene.

Etter å ha behandlet alle bildene, kan resultatene oppsummeres som vist i Figur 1.



Figur 1 Skjematisk inndeling av klippfisk (høyre bilde) basert på en gjennomsnittlig klippfisk (bilde venstre). «Rødmiddverdier» basert på bilder for utvikling av rødmidd i 30 klippfisk vises i høyre bilde.

Rødmiddverdier basert på analyserte bilder for utvikling av rødmidd i 30 klippfisk viser variasjon (Figur 1). Tykkfiskdelen, det vil si de fire feltene i midtre øvre del har lavere verdier sammenlignet med bukklappene som er lokalisert både til høyre og venstre for tykkfiskdelen. Forskjellen i rødmiddverdi utgjør cirka 50 %. Dette betyr at det er cirka 50 % større sannsynlighet for at rødmidd blir først synlig på bukklappene sammenlignet med tykkfisken. Dette innebærer at et prøveuttak for rødmidd bør foretas på bukklapper.

For å fange opp variasjonen i lokalisering av rød misfarging mellom klippfisk fra ett parti, for eksempel fra en kasse som i dette tilfellet (Bilde 2), er det viktig å ta prøver fra flere klippfisk. Antall fisk til analyse av rødmidd og brunmidd bør reflektere størrelsen på det aktuelle partiet. Basert på variasjonen som vist i Bilde 2 vurderer vi det slik at cirka 5 klippfisk bør tas ut for analyse. Ved større partier bør det vurderes å ta ut flere fisk for analyse for å sikre et mere representativt uttak.

4.2 Vann- og saltinnhold i klippfisk

Resultater for vann og saltinnhold i to klippfisk som er lagret ved hhv 4 og 25 °C er vist i Figur 2 og Figur 3.

49.7	49.4	52.7	47.8
50.3	53.0	53.4	48.1
50.3	52.8	53.8	51.2
	49.3	47.6	
	48.2	46.0	

45.2	50.1	52.0	50.1
46.4	50.2	52.2	49.7
51.2	52.2	52.3	49.5
	52.2	51.0	
	49.5	50.2	

Figur 2 Vanninnhold (%) i to klippfisk lagret ved 4 °C (venstre) og 25 °C (høyre)

23.3	22.7	20.8	26.7	25.9	24.4	20.8	20.9
22.3	21.3	20.1	27.0	24.3	21.2	24.4	23.2
27.5	22.5	20.1	21.5	22.8	20.9	19.5	23.7
	22.6	25.3			20.3	20.7	
	25.3	25.0			21.9	20.1	

Figur 3 Saltinnhold (%) i to klippfisk lagret ved 4 °C (venstre) og 25 °C (høyre)

Vektendringen for fisk lagret ved forhøyet temperatur i tre uker ble for to fisk målt til henholdsvis + 0,53 og – 2,63 %.

En oppsummering av resultatene presentert i Figur 2 og Figur 3 er vist i Tabell 1

Tabell 1 Vann- og saltinnhold i klippfisk lagret ved 4 og 25 °C, en oppsummering

Parameter	4 °C (%(STD*))	25 °C (%(STD))
Vann (hele fisken)	50.23 (2.39)	50.25 (2.03)
Vann (6 midtstykker)	52.52 (1.58)	51.50 (1.05)
Salt (hele fisken)	23.34 (2.43)	22.18 (1.93)
Salt (6 midtstykker)	21.23 (1.14)	21.86 (2.06)

* STD: Standard avvik som er et uttrykk for variasjon i analyseresultat mellom parallelle prøver.

Tabell 1 viser at vanninnholdet i fisken er tilnærmet uendret etter lagring ved forhøyet temperatur. Dette skyldes sannsynligvis at fuktigheten ble holdt konstant på 85 °RH (relativ fuktighet). De tykkeste delene av fisken, det vil si de 6 midtstykkene hadde et noe høyere vanninnhold enn de øvrige stykkene, forskjellen var imidlertid ikke signifikant siden standardavvikene var overlappende. For vanninnhold var det en tendens til en utjevning av forskjellene etter lagring ved forhøyet temperatur. Saltinnholdet var høyere i klippfiskens tynnere deler sammenlignet med de 6 midtstykkene. Her var det derimot ingen utjevning i saltinnhold etter lagring ved 25 °C. Forskjellene i salt- og vanninnhold på klippfiskens overflate kan imidlertid ikke alene forklare den ujevne fordelingen av rødmidd på overflaten, siden rødmidd behøver minimum 20 % salt for å vokse. En

mulig forklaring på variasjonen kan være en ujevn fordeling av rødmidd i saltet som brukes ved produksjon av klippfisk.

4.3 Snittmålinger

4.3.1 Rødmidd

Resultater fra snittmåling av rødmidd i klippfisk er vist i Tabell 2.

Tabell 2 Snittmåling av rødmidd i klippfisk

Lag*	Synlig rødmidd (Log CFU/g)		Ikke synlig misfarging
	I	II	
1	8.2	8.2	7.2
2	6.6	5.8	4.5
3	5.2	5.5	4.4
4	6.0	NA	NA

* Areal pr lag: 4mm tykkelse x 20 mm bredde x 28 mm lengde

NA: Ikke analysert.

Der rødmidd var synlig, kolonne I og II, var den største forskjellen mellom lag 1 og de øvrige lagene. Fra og med lag 2 til og med lag 3–4, var nivået tilnærmet likt. Dette viser at en kan oppnå en viss «fortynningseffekt» ved å ta ut en prøve som er tatt ut dypere enn 4 mm. Det vil si at antallet rødmidd per gram prøve blir mindre jo lengre inn i fisken prøven tas. Tabell 2 viser videre at klippfisk som er lagret ved forhøyet temperatur kan inneholde høye nivå rødmidd og likevel ikke være synlig misfarget. Forskjellen mellom lag 1 og lag 2 ser ut til å være det samme som det er for prøver der rødmidd er synlig. Resultatene kan også tolkes slik at det vil være en kortsiktig gevinst i å fjerne et øvre lag av synlig rød misfarging siden det ikke vil ta lang tid før en ny rød misfarging er et faktum dersom lagringstemperaturen ikke er tilstrekkelig lav.

4.3.2 Brunmidd

Resultater fra snittmåling av klippfisk med brunmidd er vist i Tabell 3.

Tabell 3 Snittmåling av brunmidd i klippfisk

Lag*	Synlig brunmidd (Log CFU/g)	Ikke synlig brunmidd (Log CFU/g)
1	6.4	4.9
2	3.6	3.9
3	3.4	3.5
4	3.2	3.2

* Areal pr lag: 4mm tykkelse x 20 mm bredde x 28 mm lengde

Tabell 3 viser fordeling av brunmidd i klippfisk. Brunmidd ble tilført klippfisk og prøvene ble deretter lagret ved 25 °C med tilgang på luft og tilnærmet uendret luftfuktighet. Prøven uten synlig brunmidd på overflaten ble tatt ut ved siden av et felt som var tilført brunmidd. Dette kan være en forklaring på de høye nivåene brunmidd som vist i høyre kolonne. Som for rødmidd er forskjellen i nivå mellom lag 1 og 2 størst der brunmidd er synlig. Dette antas å ha en klar sammenheng med at brunmidd er

areob (det vil si at den må ha tilgang på oksygen). Selv om den er aerob, er det likevel 1000–10.000 brunmidd/g prøve fra 4 til 16 mm dybde. Dette viser at fjerning av synlig brunmidd også i dette tilfellet kun gir en kortsiktig gevinst, det vil si at brunmidden har langt større utbredelse enn det som er synlig.

En samlet vurdering av dybdesnittmålingene er at denne bør foretas i det øvre laget, og helst ikke dypere enn 4 mm. Dette gjelder både for rød- og brunmidd.

4.4 En alternativ tilnærming til prøvetaking

Basert på en totalvurdering av problemstillingen knyttet til prøveuttak for fastsettelse av nivå rød- og brunmidd, ser vi at dette vil være en utfordring både for industrien og for deres kunder. Et alternativ til mikrobiologiske prøveuttak kan være å plassere et utvalg hele klippfisk i et varmeskap ved definerte temperatur- og luftfuktighetsbetingelser. Ved å observere tiden det tar før synlig misfarging oppstår i et varmeskap ved gitt temperatur mener vi at det skal være mulig å regne seg tilbake til det nivået med rødmidd som klippfisken hadde før den ble lagt inn i varmeskapet. Denne utregningen vil da være basert på kunnskap som fremkommer i arbeidspakke 2 i dette prosjektet. I arbeidspakke 2 skal klippfisk lagres ved forhøyet temperatur.

Lagringsforsøk på bedrift ved definerte betingelser kan være et alternativ til at bedriftene må sende prøver til eksterne laboratorier for fastsetting av nivå rød- eller brunmidd.

5 Oppsummering og konklusjon

For å oppnå en forbedret prosedyre for prøveuttak har vi kommet frem til en rekke punkter som skal bidra til økt kunnskap om rød- og brunmiddnivået. Nivået rød- og brunmidd har betydning for beregning av restholdbarhet, det vil si tiden det tar før en eventuell synlig rød misfarging oppstår, eller at opptil 1/3 av et klippfiskparti er dekket av brun/svart misfarging. Vi anbefaler i den anledning følgende:

- Det er cirka 50 % større sannsynlighet for at rødmidd blir først synlig på bukklappene. Dette kan forklares ved et gjennomsnittlig lavere vanninnhold og et høyere saltinnhold sammenlignet med loinsdelen i klippfisken.
- Snittmålinger for bestemmelse av antall rødmidd i klippfisk må tas i overflaten av bukklappene, ikke dypere enn 4 mm.
- Snittmålinger for bestemmelse av antall brunmidd i klippfisk må også tas i overflaten, ikke dypere enn 4 mm.
- Fysisk fjerning av rød- eller brun misfarging på klippfisk vil kun gi en kortsiktig gevinst da ny misfarging med all sannsynlighet vil oppstå alt avhengig av etterfølgende lagringsbetingelser; tid, fuktighet og temperatur.
- Med bakgrunn i observerte variasjoner i forekomst mellom klippfisk fra samme parti, bør det tas ut flere klippfisk for analyse for fastsetting av nivå rød- og brunmidd. Vi foreslår et uttak på 5 klippfisk. Ved salg av større partier bør det vurderes å analysere flere klippfisk for å sikre et mere representativt uttak.

En alternativ tilnærming til prøveuttak kan være å lagre et utvalg klippfisk ved en konstant forhøyet temperatur. Ved å observere tiden det tar før synlig misfarging oppstår vil det være mulig å beregne startnivået rød- eller brunmidd ut i fra forsøk som skal gjennomføres senere i dette prosjektet.

6 Referanser

AOAC (1991). Official Methods of Analysis, Moisture in Meat, 950.46 11:931.

NMKL (2008). Halofile og osmofile mikrober (rødmidd og brunmidd). Bestemmelse i fullsaltede fiskeprodukter. NMKL metode no 171, 2 ed.

Sivertsen, A.H., K. Heia, G. Lorentzen, S.K. Stormo, M.S.W Breiland & J. Østli (2012). Automatic Detection of Halophilic Archaea in Klippfish by Hyperspectral Imaging. Posterpresentasjon på TAFT konferanse, Tampa, Florida, 30 oktober-2 nov.

Volhard (1937). J AOAC 20:410 JAOAC (1949), 23, p. 589.



ISBN 978-82-8296-305-3 (trykt)
ISBN 978-82-8296-306-0 (pdf)
ISSN 1890-579X