

Vorderingsverslag 1/77/VV

DE BEWAARKAPACITEIT VAN VOORVERPAKTE  
SCHOL (\*)

H. DEVRIENDT EN D. DECLERCK

Ministerie van Landbouw

Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek

Kommissie voor Toegepast Wetenschappelijk Onderzoek in de  
Zeevisserij (T.W.O.Z.)

(Voorzitter : F. LIEVENS, directeur-generaal)

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

---

(\*) Onderzoekingen verricht op het Rijksstation voor Zeevisserij  
te Oostende (C.L.O. Gent), met steun van het I.W.O.N.L.

## SAMENVATTING.

Voorverpakte gehele en gefileerde schol werden gedurende 4 dagen bewaard onder verschillende koelkondities en onder gesimuleerde verkoopsomstandigheden, nl. doorlopend 1° C, afwisselend 4° en 1° C en afwisselend 8° en 1° C. Dagelijks werd het bederfpatroon voor iedere temperatuur bepaald aan de hand van een organoleptische beoordeling en van chemische en microbiologische laboratoriumtesten.

De resultaten toonden aan dat de voorverpakte schol 4 dagen houdbaar blijft bij een koeling van max. 4° C. De koeltoonbanktemperatuur van 8° C bleek in bacteriologisch opzicht en vooral in het geval van filets, niet te voldoen. De ontwikkeling van de coliachtige kontaminanten kon bij deze temperatuur niet genoeg worden afgeremd.

## 1. INLEIDING.

In voorgaande publikaties werd de houdbaarheid van voorverpakte kabeljauw en haring bestudeerd (7)(6). Daarbij ging de aandacht vooral uit naar de betekenis van de opslagtemperatuur. De nieuwe studie werd aangevat ten einde eveneens de invloed van verschillende koelingstemperaturen te bepalen, nl. 1°, 4° en 8° C op de bewaarkapaciteit van voorverpakte gehele en gefileerde schol.

In de praktijk weet men dat schol meestal langer houdbaar is dan kabeljauw (10)(14). Dit komt door de vastere structuur van vissoorten zoals schol en tong tegenover de slappe structuur van o.a. kabeljauw en schelvis. De lossere structuur, die het gevolg is van een lager bindweefselgehalte, werkt een grotere bederfsnelheid in de hand. De penetratie van bacteriën en/of hun enzymen wordt erdoor vergemakkelijkt. De kwaliteitsvermindering van de voorverpakte schol werd bij voorkeur organoleptisch vastgesteld. De bacteriële bederfwerking werd verder, in objectieve zin, gevolgd aan de hand van chemische

en bakteriologische laboratoriumtesten. De recent ontwikkelde bepalingmethode voor hypoxanthine werd echter niet gebruikt, omdat volgens de gegevens verstrekt door van Spreekens (24) deze maatstaf voor schol ongeschikt is.

Bij het microbiologisch onderzoek werd getracht de betekenis van de temperatuur voor de kiemvermeerdering en bakteriesamenstelling na te gaan. Tevens werd het aangroeiritme van de aërobe kiemgetallen (inkubatietemperatuur 20° en 37° C) en van de Enterobacteriaceae bestudeerd. Deze laatste organismen, waartoe eveneens de coliachtigen behoren, zijn zgn. indicatororganismen; hun aantal weerspiegelt de hygiënische voorwaarden tijdens de behandeling van de vis aan boord (15), in de vismijn en vooral in het fileerbedrijf (21). Eveneens werd de mogelijke aanwezigheid van voor de konsument patogene organismen onderzocht, nl. Salmonella, Staphylococcus aureus en Vibrio parahaemoliticus.

## 2. EXPERIMENTELE GEGEVENS.

### 2.1. Proefmateriaal en proefopzet.

De proeven werden uitgevoerd met in de Oostendse vismijn gekochte schol (*Pleuronectes platessa* L.) uit de Noordzee. De vis (+ 5 dagen oud) van ca 250 g per stuk, werd volgens de goede commerciële praktijk ontkopt, gewassen en ofwel ontvind (gehele schol), ofwel met de hand gefileerd (filets). Vervolgens werden verpakkingsschaaltjes van hard polystyreen gevuld met ca 500 g gehele schol of met scholfilets tot ca 400 g. De pakjes werden gewikkeld in PVC-rekfolie, en tegen de onderkant van het schaalpje werd de folie geseald. Na het inpakken werd de schol onder gesimuleerde praktijkvoorwaarden en onder verschillende koelkondities gestockeerd :

- een gedeelte van de pakjes werd gedurende 4 dagen onafgebroken in de frigo bij 1 (+ 1)° C bewaard (koeling A).
- een gedeelte werd gedurende 4 dagen afwisselend voor 9 uur, van 9 tot 18 h, bij 4(+ 1)° C en voor 15 uur, van 18 tot 9 h, bij 1° C bewaard (koeling B).

- een laatste gedeelte van de gehele en gefileerde schol werd gedurende 4 dagen intermitterend voor 9 uur in een koelcel van  $8(+1)^{\circ}\text{C}$  en voor 15 uur bij  $1^{\circ}\text{C}$  bewaard (koeling C).

Iedere dag om 9 h werden 8 verpakkingseenheden bemonsterd voor het geheel van het kwaliteitsonderzoek.

Zowel met gehele, als met gefileerde schol werden de bewaarproeven vijfmaal op verschillende tijdstippen over de periode september-januari herhaald.

## 2.2. Organoleptische beoording.

Een testpaneel van vier personen evalueerde de versheidsgraad van de schol aan de hand van het 10-puntenschema voor verse platvis, ontwikkeld door Torry Research Station te Aberdeen. Hierbij wordt de keuring uitgevoerd op basis van de geur in verse toestand en de smaak in de gekookte toestand. Voor beide organoleptische kenmerken duiden hoge scores op een uitstekende geur of smaak. Als kwaliteitsbepalend kenmerk voor de bewaarkapaciteit van de schol werd de gemiddelde score van 5,5 betreffende de "eetkwaliteit" in de gekookte toestand weerhouden. Deze score, waarbij reeds een iets ranzige smaak wordt waargenomen, valt samen met de gangbare aanvaardbaarheidslimiet voor de konsument.

De kookproef werd op ongeveer 200 g visfilet uitgevoerd. Zonder toevoeging van water, zout of specerijen werd de portie gedurende 30 min in een vuurvaste schotel met losliggend deksel boven een kokend waterbad "gestoomd". Voor de keuring werd de schotel in een thermostatisch waterbad bij  $60^{\circ}\text{C}$  geplaatst.

## 2.3. Chemische laboratoriumtesten.

Ten einde de organoleptische evaluatie enigzins aan te vullen, werd dagelijks de toename in het visweefsel van de volgende bederfcomponenten bepaald :

- vluchtige stikstofbasen (TVB), met de methode van Lücke en Geidel (18), gewijzigd door Antonacopoulos (1).

- vluchtige zuren (TVZ), met de methode van de A.O.A.C. (2), maar met de stoomdestillatieapparatuur van Antonacopoulos (1) ; 500 ml werden overgedestilleerd en met 0,01N NaOH getitreerd.
- trimethylamine (TMA), bepaald volgens Dyer (9), maar op 2 ml TVB-destillaat.
- ammoniak : volgens de versnelde mikrodiffusiemethode (25).

#### 2.4. Mikrobiologisch onderzoek.

Het aëroob kiemgetal werd bekomen door 0,1 ml van de verdunde mikrobiesuspensie met een glazen staaf uit te strijken op het agar-oppervlak (Plate count agar - Difco). Er werden tellingen verricht na 5 dagen inkubatie bij 20° C en eveneens na 3 dagen bij 37° C.

Het anaëroob kiemgetal werd dagelijks bepaald door toepassing van het GasPak-systeem (BBL., Cockeysville, Maryland, V.S.). De tellingen werden verricht na 3 dagen inkuberen bij 30° C.

Met behulp van het schema van Shewan e.a. (23) werd de gramnegatieve bacterieflora bij het begin en op het einde van de opslagperiode van 4 dagen gedifferentieerd. Hiertoe werden 40 kolonies afkomstig van de kiemtellingen bij 20° C van de petrischalen afgepikt en op nutrient agar overgeënt.

De resultaten van de gramkleuring werden getoetst met twee bevestigingsbodems : MacConkey agar en Bloedagar met nalidicinezuur. De identifikatie werd verder door middel van Bergey's Manual (4) bevestigd. De bacteriën beschreven als vertegenwoordigers van de geslachten *Achromobacter* en *Alcaligenes* in het schema van Shewan e.a. werden hier samengebracht onder het geslacht *Alcaligenes* (12).

De telling van de Enterobacteriaceae werd uitgevoerd met "kristalvioletneutraal-rood-galzouten-glucose" agar en van de coliachtigen met "kristalviolet-neutraalrood-galzouten-lactose" agar. Telkens werden twee verschillende kolonietypes op volgende eigenschappen getest : oxidase activiteit, fermentatieve afbraak van glucose en laktose en resistentie t.a.v. het antigeen O-129.

Tenslotte werd de mogelijke aanwezigheid van Salmonella (5)(8)(16), Staphylococcus aureus (3) en Vibrio parahaemolyticus (20) met grensreacties onderzocht.

### 3. RESULTATEN EN DISKUSSIE.

De resultaten van de diverse individuele bewaarproeven waren vrij analoog, zodat de gemiddelde waardecijfers van de verschillende kwaliteitsbepalingen samen werden gebruikt om de bewaarkurven op te stellen (figuur 1 tot 3).

#### 3.1. Organoleptische beoordeling.

Tabel 1 geeft een overzicht van de resultaten van de keuring t.a.v. de "eetkwaliteit" van voorverpakte schol in de gekookte toestand. De bewaar capaciteit werd grafisch afgeleid van de kurven weergegeven in figuur 1. Bij 4° C en lager was zowel gehele, als gefileerde schol onder voorverpakte vorm, ruim 4 dagen houdbaar. Bij 8° C konden scholfilets nog 3 dagen worden bewaard. Dit is heel wat gunstiger dan voor kabeljauwfilets met eenzelfde beginkwaliteit (skore 9, 1), die uiterlijk na 2 dagen uit de verkoop dienden te worden genomen (7).

De skore betreffende de geur in de verse toestand was steeds iets lager dan deze van de smaak in de gekookte toestand (figuur 1). Het onderscheid tussen de verschillende geurstadia van het Torry-schema kon enkel na training goed worden waargenomen. Daartegenover waren de opeenvolgende smaakveranderingen in de gekookte toestand ook voor een minder geoefend persoon nog vrij goed te onderscheiden.

#### 3.2. Chemisch kwaliteitsonderzoek.

De resultaten van de chemische laboratoriumtesten worden weergegeven in figuur 2.

Op grond van de chemische maatstaven was er in de beginfase van de opslag weinig of geen onderscheid tussen de verschillende koelwijzen. Enkel na 1 tot 2 dagen bewaren verliep de graduele accumulatie in het visvlees van TVB,

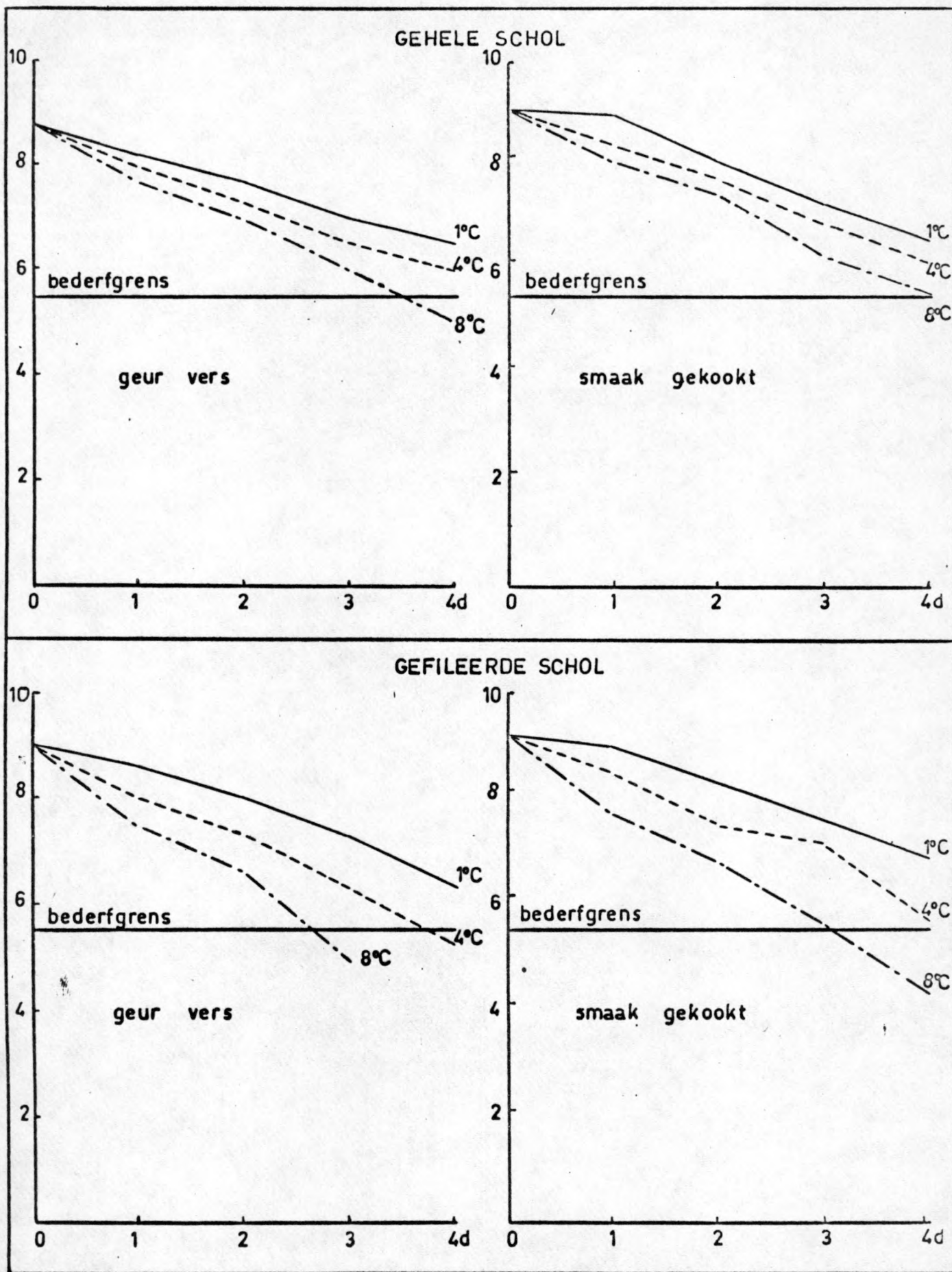


Fig.1 - Resultaten van de organoleptische keuring van voorverpakte gehele en gefileerde schol, bewaard bij koeltemperaturen van 1°, 4° en 8°C.

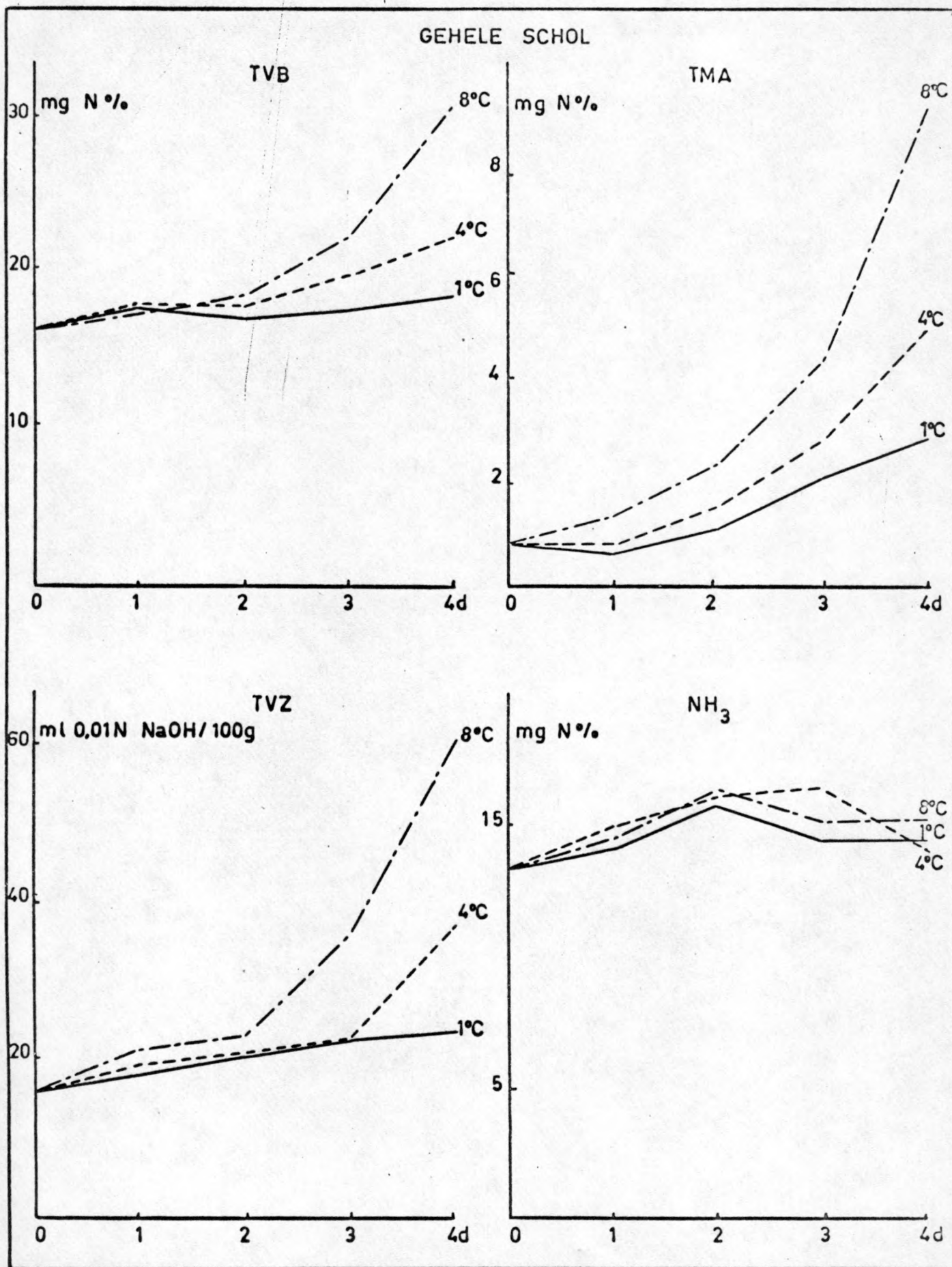


Fig.2 - Resultaten van het chemisch onderzoek op voorverpakte gehele en gefileerde schol, bewaard bij 1°, 4° en 8°C.



GEFILEERDE SCHOL

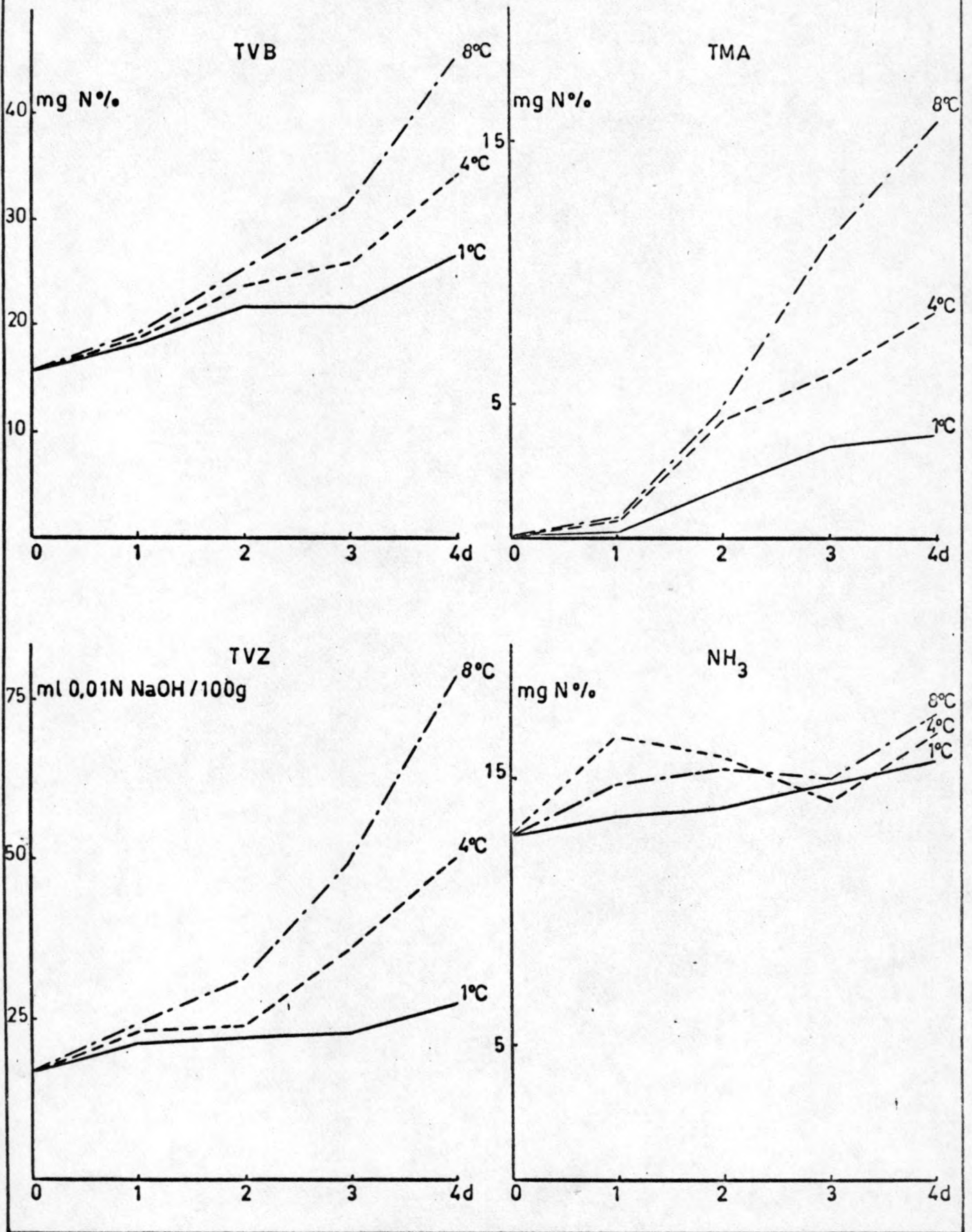


Fig.2 - vervolg.

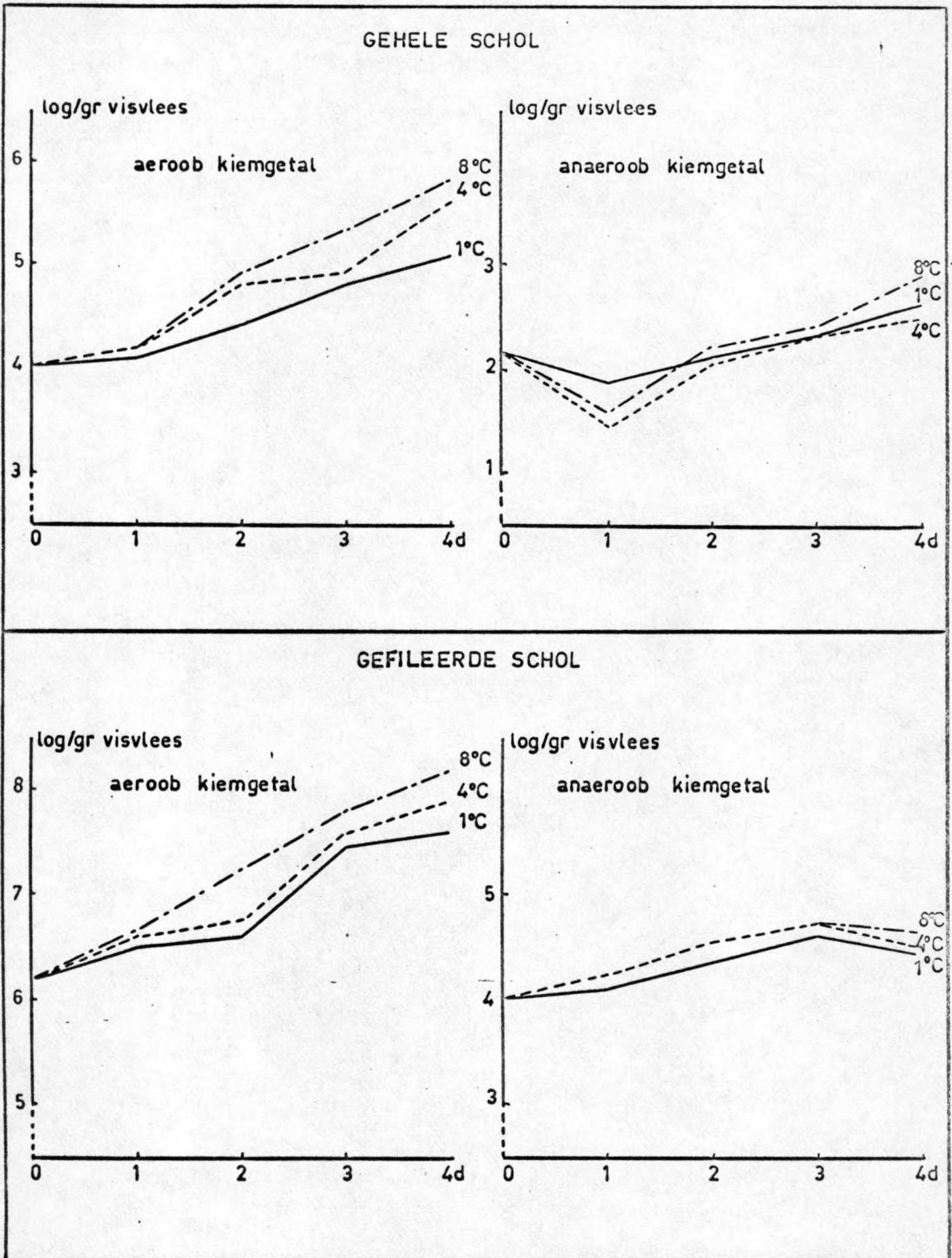


Fig. 3.- Evolutie van het aëroob (inkubatie 20°C) en anaëroob kiemgetal van voorverpakte schol, bewaard bij 1°, 4° en 8°C.

TMA en TVZ parallel met de kwaliteitsvermindering in organoleptisch opzicht.

Bij het bereiken van de aanvaardbaarheidsgrens werd (tabel 2) zowel in gehele als in gefileerde schol een gelijke hoeveelheid TVB genoteerd. Dit was eveneens het geval voor de TMA-waarden. De TVB en TMA-bepaling waren duidelijk alternatieve kwaliteitsmethoden : de gevormde hoeveelheid TVB was nagenoeg steeds de som van de TMA-fractie en van het vrij konstant blijvend  $\text{NH}_3$ -gehalte. Niettemin moest als index voor schol de voorkeur worden gegeven aan de TVB-bepaling. De TMA-koncentraties waren immers eerder aan de lage kant, vooral in de beginfase van de opslag. De analytische bepaling van dergelijke kleine hoeveelheden verloopt niet zo eenvoudig en vereist heel wat technische vaardigheid. De geringe TMA-produktie is het gevolg van het laag gehalte trimethylamineoxide (TMAO), het substraat voor de bakteriële produktie van TMA. In schol wordt overwegend minder dan 10 mg TMAO/100 g teruggevonden, terwijl bijvoorbeeld het gehalte in kabeljauw schommelt tussen 20 en 75 mg/100 g (10).

De wisselende hoeveelheden TVZ, gevormd in **funktie** van de verschillende opslagtemperaturen, benaderden goed het organoleptisch bederfpatroon.

Onder koeling B en C nam het TVZ-gehalte in gehele schol snel toe, respectievelijk na 2 en 3 dagen ; in filets was de stijging respectievelijk reeds na 0 en 2 dagen bewaren merkbaar. De TVZ-bepaling was dus evenals de TVB-bepaling geschikt als objektieve kwaliteitsindex. De TVZ-bederfkoncentratie bedroeg voor gehele schol evenwel ca 7 ml 0,01 N NaOH/100 g meer dan voor scholfilets (tabel 2).

### 3.3. Mikrobiologisch onderzoek.

De gemiddelde initiale aërobe en anaërobe kiembelasting van de voorverpakte scholfilets waren ca 2 log-eenheden hoger dan van gehele schol (figuur 3). De gebruikelijke hygiënische voorzorgen konden een grote microbiële infectie tijdens het fileerproces niet voorkomen. Dit besluit is in overeenstemming met enkele Nederlandse bevindingen (21)(24).

Tabel 1 - Houdbaarheid van voorverpakte schol op grond van de evaluatie t.a.v. de smaak in de gekookte toestand.

	Koeltoonbanktemperatuur		
	1° C	4° C	8° C
Gehele schol	> 4 dagen	> 4	4
Scholfilets	>4	4	3
> = langer dan ; proeven stopgezet na 4 dagen			

Tabel 2 - Gemiddelde concentraties van de chemische maatstaven en het gemiddeld aëroob kiemgetal bij het bereiken van de organoleptische aanvaardbaarheidsgrens voor schol

	Gehele schol	Scholfilets
TVB in mg N %	30,7	33,3
TMA in mg N %	9,1	10,0
TVZ in ml 0,01N NaOH/100g	60,3	53,5
aëroob kiemgetal bij 20° C	$7 \times 10^5$	$4 \times 10^7$

Onder invloed van de opslag nam het aëroob kiemgetal onmiddellijk toe en bestond er verder een duidelijk onderscheid tussen de koelingen. Zowel op de gehele als op de gefileerde schol bevonden de bacteriën zich dus van bij de aanvang in het actief groeistadium. Het anaëroob kiemgetal nam niet noemenswaardig toe en verder was er weinig verschil tussen de experimentele koeltemperaturen. Dit wees op een gelijk blijvend aandeel van de anaërobe flora in het eigenlijk bederf.

De samengang van de aërobe kiemgetallen (inkubatietemperatuur 20° C) en de kwaliteitsevolutie in organoleptisch opzicht was niet eenvormig. Bij het optreden van organoleptische afwijkingen waren de kiemaantallen op filets veel groter dan op gehele schol (tabel 2). Evenmin als de chemische maatstaven gaf de kwantitatieve en kwalitatieve selectie in de bacterieflora (figuur 4) hiervoor een afdoende aanwijzing. Enerzijds bleef het procentueel aandeel van de Alcaligenesgroep praktisch ongewijzigd tijdens de opslag van zowel de gehele als van gefileerde schol onder de verschillende koelingen. Anderzijds bleken de soorten behorende tot de geslachten *Pseudomonas* en *Aeromonas*, slechts sporadisch aanwezig in het uitgangsmateriaal, relatief snel in aantal toe te nemen naarmate het bederf intrad. Voor de vorming van bederfprodukten in vis spelen vooral *Pseudomonastrammen* I en II, en in veel mindere mate de Alcaligenesgroep, de meest actieve rol (17).

De grampositieve flora (fig. 4) omvatte bij de aanvang ongeveer 50 % van de ganse flora. Deze kiemen hadden echter geen kans om zich te vermenigvuldigen en werden snel overgroeid door de psychrofiele gramnegatieve flora. Na 4 dagen werd inderdaad zowel bij gehele als bij gefileerde schol een aanzienlijke procentuele daling genoteerd. De daling was het belangrijkste bij de hoogste bewaartemperatuur. Daaruit kon worden afgeleid dat dergelijke kiemen nauwelijks van enige betekenis zijn voor het bederf.

Het aëroob kiemgetal bij 37° C, een maat voor de hygiënische kwaliteit van vis (22), kende ongeveer hetzelfde verloop als het kiemgetal bij 20° C (fig. 5). Heel opmerkelijk waren evenwel de hoge aantallen voorkomende op de filets bewaard onder koeling C. De microbiologische norm voorgesteld door Shewan

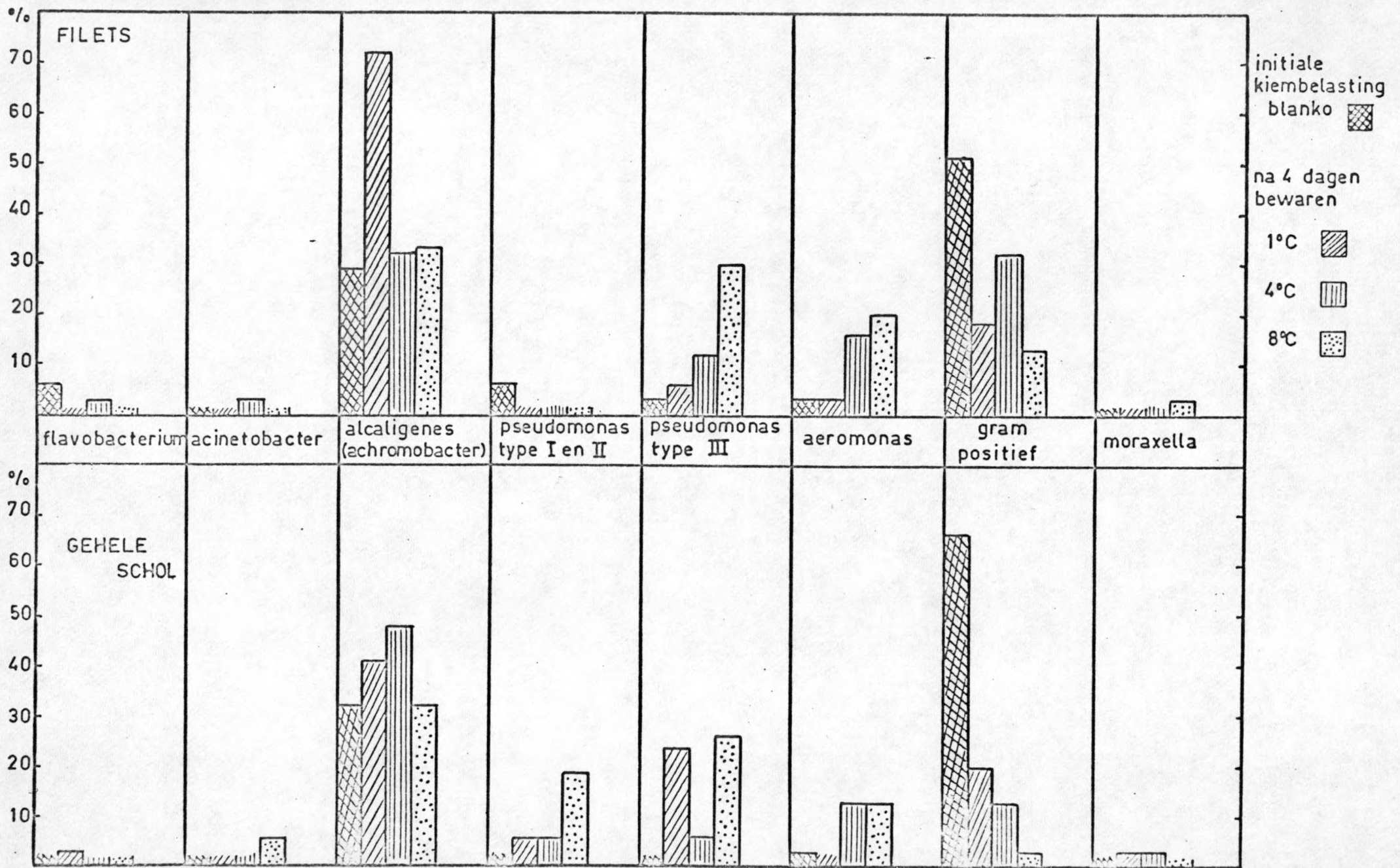


Fig. 4 - Differentiatieschema van de mikroflora aanwezig op voorverpakte schol bij de aanvang en op het einde van de proefperiode.

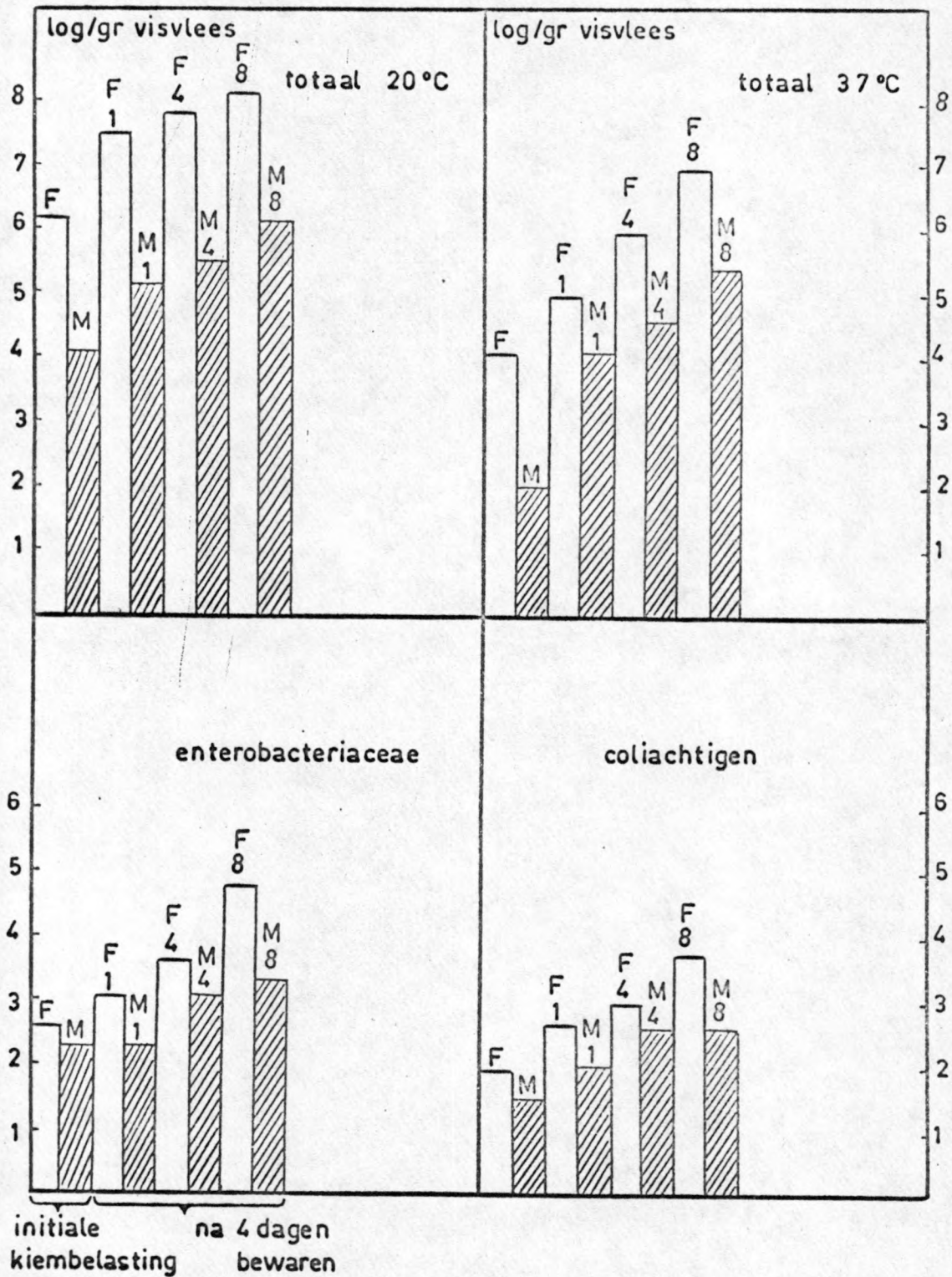


Fig. 5 - Resultaten van de tellingen van de aërobe bak erieën (inkubatietemperatuur 20° en 37°C), de Enterobacteriaceae en de coli-achtigen aanwezig op de voorverpakte gehele (M) en gefileerde (F) na 0 en na 4 dagen onder koelwijze A (1), B (4) en C (8).

(22) van  $10^4$ - $10^6$  bacteriën per gram werd, na 4 dagen bewaren bij 8° C, ruim overschreden. Na 4 dagen bij 4° C was de grens eveneens overschreden, doch in veel mindere mate. Deze resultaten duiden echter niet op een onmiddellijk gevaar voor de volksgezondheid of dat het produkt bedorven was. Voedselvergiftigende bacteriën zoals Salmonella, Staphylococcus aureus en Vibrio parahaemolyticus werden niet teruggevonden.

De invloed van de fileerbewerking kwam eveneens duidelijk tot uitdrukking in het aantal coliachtigen (fig. 5). In dit verband heeft Hobbs e.a. aangetoond dat het voorkomen van coliachtigen niet noodzakelijk resulteert in een groot aantal fecale coli (11).

#### 4. BESLUIT.

Beneden een toonbanktemperatuur van 4° C bleef de gehele en gefileerde voorverpakte schol ruim 4 dagen voor konsumptie geschikt. De strikte noodzaak van een rigoreus doorgevoerde ononderbroken koeling beneden 4° C in het verkoopmeubel was zonder meer duidelijk uit de bewaarproef bij 8° C. Enerzijds werd bij deze temperatuur de bewaarkapaciteit van de filets gereduceerd en anderzijds kon de aangroei van de niet te vermijden secundaire kontaminatie door het fileren onvoldoende worden beperkt, zelfs uitgaande van zeer verse schol.

Van de reeks kwaliteitsbepalingen uit dit werk was vnl. de keuring van de "smaak gekookt" bruikbaar ter vaststelling van de initiale versheidsgraad van schol. Evenals de organoleptische keuring gaven de chemische testen TVB en TVZ een duidelijk beeld van de bewaarkapaciteit in functie van de 3 opslagtemperaturen. Anderzijds was de telling van het totaal aantal bacteriën (inkubatietemperatuur 20° en 37° C) een goede maatstaf voor de hygiënische kwaliteit, doch in veel mindere mate voor het eigenlijk visbederf.

#### SUMMARY.

The present study has been undertaken to determine changes in storage life, spoilage pattern and bacterial flora of prepackaged plaice (*Pleuronectes platessa* L.) as a consequence of changes in temperature of the refrigerated display cabinet.



Prepacked fillets and whole fish were stored for up to four days under simulated selling conditions and at three different temperatures : by day (from 9 to 18 h) at 1°, 4° or 8° C and by night at 1° C. Every day the bacterial decay of the plaice was determined by sensory, chemical and bacteriological methods.

The results indicated that a retail shelf-life of four days can be guaranteed for prepackaged whole plaice and fillets at temperatures not exceeding 4° C. The storage at 8° C not only limited the keeping time but also could not prevent satisfactorily the proliferation of coliforms. Prepackaged plaice picked up a considerable load of these bacteria, especially during the sequence of filleting under existing commercial conditions.

#### LITERATUUR.

- (1) Antonacopoulos, N. : Zeitschr. Lebensmitt.-Untersuch. u. Forsch., 113, 113 (1960).
- (2) AOAC : Official methods of the AOAC, Washington, 9de uitgave, 236 (1960).
- (3) Baird-Parker, A. : J. appl. Bact., 25, 12(1962).
- (4) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8ste uitgave, Ed. Buchanan, R. en Gibbons, N., The Williams & Wilkins Company, Baltimore (1974).
- (5) Buttiaux, R., Beerens, H. en Tacquet, A. : in : Manuel de Techniques bactériologiques, 3de uitgave, Flammarion, Paris (1969).
- (6) Declerck, D. en Devriendt, H. : Landbouwtijdschrift, 5, 1191 (1976).
- (7) Devriendt, H. : Houdbaarheid van voorverpakte kabeljauw onder gesimuleerde verkoopsomstandigheden, Landbouwtijdschrift 29(6)(1976).
- (8) Driessen, F. en Stadhouders, J. : Netherl. Milk & Dairy J., 26, 91 (1972).
- (9) Dyer, W. : J. of AOAC, 42, 292 (1959).
- (10) Hansen, P. : in : Chilling of Fish, Ed. Hess, E. en Subba Rao, G., Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, The Hague, 151 (1960).
- (11) Hobbs, G., Cann, D., Wilson, B. en Horsley, R. : J. Fd Technol., 6, 233 (1971).

- (12) Holding, A. en Shewan, J. :in : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8ste uitgave, Ed. Buchanan, R. en Gibbons, N., The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 274 (1974).
- (13) Holtzappel, D. en Mossel, D. : J. Fd Technol., 3, 223 (1968).
- (14) Huss, H. : J. Fd Technol. 7, 13 (1972).
- (15) Huss, H., Dalsgaard, D., Hansen, L., Ladefoged, H., Pedersen, P. en Zittan, L. : J. Fd Technol., 9, 213 (1974).
- (16) Kampelmacker, E. en Mossel, D. : Cahier d'Information du Bureau Eurisotop, E.E.G., Brussel, 20 (1975).
- (17) Laycock, R. en Regier, L. : J. Fish. Res. Bd. Can., 28, 305 (1971).
- (18) Lücke, F. en Geidel, W. : Zeitsch. Lebensmitt.-Untersuch., 70, 441 (1935).
- (19) Mossel, D., Mengerik, W. en Scholts, H. : J. Bact., 84, 381 (1962).
- (20) Mossel, D. en Taminga, S. : in : Methoden voor het microbiologisch onderzoek van levensmiddelen, P.C. Noordervliet, Zeist, 44 (1973).
- (21) Obdam, J. : Voedingmiddelentechnologie, 8 (1975).
- (22) Shewan, J. : Chem. Ind., 6, 193 (1970).
- (23) Shewan, J., Hobbs, G. en Hodgkiss, W. : J. appl. Bact., 23, 379 (1960).
- (24) van Spreekens, K. : Conserva, 18, 96 (1969).
- (25) Vyncke, W. : De bepaling van vrije ammoniak in visserijprodukten door versnelde mikrodifusie, Rijksstation voor Zeevisserij, Oostende, publikatie nr. 14 (1967).