

DE BREKINGSINDEX VAN HET OOGVOCHT ALS OBJEKTIEVE KWALITEITSMETHODE VOOR VIS

door

W. Vyncke

Vanaf de vangst tot de uiteindelijke verbruiker is de vis onderworpen aan talrijke manipulaties en bewerkingen die zijn kwaliteit op gunstige of ongunstige wijze beïnvloeden. Om deze kwaliteitsinvloeden te kunnen bestuderen en tevens de technieken op punt te stellen die toelaten de vis in betere staat van versheid te behouden, zijn doeltreffende methoden voor kwaliteitsbepaling noodzakelijk.

Met het oog op zijn verdere verwerking (bv. diepvriezen, roken, fileren) en de te verwachten bewaarmogelijkheden is het anderzijds eveneens van belang te kunnen beschikken over methoden die een vlug inzicht in de kwaliteit van de vis geven en die toelaten betrouwbare kwaliteitsnormen te bepalen.

De meest voor de hand liggende techniek om de kwaliteit of de versheid van de vis te bepalen is de organoleptische keuring(*). Alhoewel in verschillende landen (bv. Groot-Brittannië en Canada) een hoge graad van doeltreffendheid en nauwkeurigheid bereikt werd door gebruik te maken van een z.g.n. « taste panel », toch blijft deze methode subjectief; zij is daarenboven tijdrovend en vergt een ploeg gespecialiseerde keurders.

Om deze redenen werden vanaf het begin van het wetenschappelijk onderzoek over visbederf pogingen aangewend om de kwali-

(*) Het begrip «kwaliteit» heeft een objectieve en subjectieve betekenis, doch wordt in deze studie gebruikt in de betekenis van «versheidstoestand».

teit van de vis vast te stellen door middel van laboratoriumbepalingen. Men tracht hetzij voor het bederf representatieve chemische verbindingen op te sporen, hetzij bepaalde fysische toestanden van de vis (bv. slapheid van het vlees) nauwkeurig vast te stellen en te volgen, hetzij nog de bacteriologische gesteldheid te bepalen.

Talrijke methoden werden voorgesteld, o.a. de bepaling van het totaal aantal bacteriën, van de vrije aminozuren, van de sulfhydrylgroepen, van de katalaze- en fosfatazeaktiviteit enz. Het is echter gebleken dat deze methoden slechts een beperkte waarde bezitten.

Als methoden die meer geschikt blijken te zijn voor objectief kwaliteitsonderzoek vallen te vermelden : het bepalen van de pH, de vluchtige stikstofbasen, de vluchtige reducerende stoffen, de vluchtige zuren, de elektrische weerstand van het visvlees en de brekingsindex van het oogvocht. In de jongste jaren werd ook meer en meer aandacht besteed aan de afbraakprodukten van de nucleoprotiden, waarbij vooral het inosine en het hypoxanthine te vermelden zijn.

Om werkelijke waarde te hebben voor de praktijk dienen de methoden eenvoudig en vooral snel uit te voeren te zijn. In dit licht werd de brekingsindex van het oogvocht (BI), voorgesteld door Proctor en medewerkers (1) en Wegner (2) aan een uitvoerig onderzoek onderworpen.

Het oogvocht van de vissen bestaat overwegend uit eiwitten en water. Visuele observatie toont aan dat het vocht gedurende de eerste dagen na de vangst kristalhelder is en gedurende de verdere opslag een gele kleur verkrijgt, waarvan de intensiteit sterker en sterker wordt. Na een zekere tijd komt bloed vrij, zodat het vocht rood wordt. Tenslotte wordt de kleur door het oplossen van het netvlies bruinzwart tot zwart. Op zicht echter is het zeer moeilijk de verschillende veranderingen nauwkeurig vast te stellen. In het laboratorium daarentegen is het mogelijk ofwel de optische densiteit (kolorimetrie), ofwel de brekingsindex (refraktometrie) te bepalen. De eerstgenoemde methode blijkt echter niet zo geschikt te zijn (1) en de aandacht werd dan ook tijdens deze proefnemingen meer speciaal gevestigd op de refraktometrie, die een eenvoudige en zeer snelle methode is.

Het op punt stellen van de methode geschiedde met kabeljauw (*Gadus morhua* L). Voor de praktische toepassingen werden ook volgende vissoorten in het onderzoek betrokken : pladijs (*Pleuronectes platessa* L), blauwe leng (*Molva byrkelange*) en rode zeebaars (*Sebastes marinus* L).

Werkwijze

Met behulp van een injectiespuit van 2 ml wordt het oogvocht uit het oog van de vis getrokken en gedurende 5 min gecentrifugeerd; twee druppels worden op het prisma van een Abbé-refractometer gebracht en de brekingsindex wordt afgelezen. De temperatuur wordt hierbij op 20° C gehouden.

Resultaten en discussie

1. Testen der methode

Invloed van het staalnemen, het centrifugeren en het filtreren

Er werd vooreerst nagegaan of de hoeveelheid vocht uit het oog getrokken een invloed heeft op de BI. Dit werd op verschillende vissen getest. Als representatief voorbeeld worden de waarnemingen van twee vissen afkomstig van twee verschillende vangsten gegeven; uit de ogen werden achtereenvolgens variërende hoeveelheden vocht getrokken waarvan de BI onmiddellijk bepaald werd.

TABEL I

Invloed van het staalnemen op de brekingsindex van het oogvocht

Hoeveelheid oogvocht achtereenvolgens uitgetrokken	Vis nr. 1		Vis nr. 2	
	Linkeroog	Rechteroog	Linkeroog	Rechteroog
0,2 ml	1,3398 (zeer klaar)	1,3355 (zeer klaar)	1,3382 (zeer bruin)	1,3386 (bruin)
0,2 ml	1,3354 (zeer klaar)	1,3355 (zeer klaar)	1,3379 (bruin)	1,3359 (licht bruin)
0,5 ml	1,3384 (bruin)	1,3370 (bruin)	1,3380 (bruin)	1,3376 (bruin)
2 ml	1,3381 (bruin)	1,3379 (bruin)	1,3385 (bruin)	1,3380 (bruin)
2 ml gecentrifugeerd	1,3375	1,3377	1,3383	1,3383

Uit de resultaten die vermeld zijn in tabel 1 blijkt dat zich een duidelijke variatie voordoet tussen de verschillende frakties. Daar dit vooral voor de eerste kleine frakties (0,2 ml) het geval is, is het noodzakelijk voor het onderzoek steeds zoveel mogelijk de ganse hoeveelheid oogvocht uit het oog op te zuigen.

Op te merken valt dat voor vissen met kleine ogen (bv. kleine kabeljauw) het oogvocht best dient samengegoten te worden. Ook voor grote vissen kan dit gebeuren : de proefnemingen wezen uit dat de afgelezen waarde goed overeenkomt met het gemiddelde berekend uit de BI van de afzonderlijke vissen. Het is echter aan te bevelen zoveel mogelijk de individuele waarden te bepalen, daar hierdoor een beter inzicht in de homogeniteit van een monster vis bekomen wordt.

In verband met het staalnemen rijst ook de vraag of het noodzakelijk is de BI van het linker- en rechteroog te controleren en deze vissen te verwerpen waarvan het verschil tussen beide ogen te groot is. Wegner (3) wijst erop dat verschillen kunnen optreden door het indringen van smeltwater en dat vissen waarvan de afwijking tussen beide ogen groter is dan 0,0010 eenheden dienen verworpen te worden voor de kwaliteitsbeoordeling.

Anderzijds is het ook van belang de invloed van het centrifugeren van het oogvocht te bepalen. Beide factoren werden samen op 30 vissen getest. De waarnemingen zijn vermeld in tabel 2.

Er kan eerst en vooral opgemerkt worden dat de gemiddelde waarden weinig verschilden, alhoewel soms uitgesproken variaties voorkwamen tussen de individuele waarnemingen. Ook de standaardafwijkingen verschilden weinig.

Uit deze proeven kan besloten worden dat het niet volstrekt nodig is het oogvocht te centrifugeren. Het vergemakkelijkt echter de bepaling en daarenboven komt het regelmatig voor (zie tabel 2) dat bij niet gecentrifugeerd oogvocht de bepaling wegens te grote troebelheid niet uit te voeren is.

De belangrijkste conclusie is echter dat het niet noodzakelijk is telkens de BI van het linker- en rechteroog te controleren, dit op voorwaarde dat een voldoende aantal vissen genomen wordt. Dit is belangrijk aangezien dit het werk zeer vergemakkelijkt en snellere bepalingen toelaat.

Door Proctor en medewerkers (1) wordt aangeraden het oogvocht te filtreren over glaswol, waardoor een gelatineuze « sluier » verwijderd wordt. Uit de proefnemingen bleek dat de BI van gefiltreerd oogvocht gemiddeld 0,0001 à 0,0003 eenheden hoger lag. Er kon echter besloten worden dat het filtreren geen praktisch voordeel oplevert. Daar het tamelijk veel tijd vergt kan het best achterwege gelaten worden.

TABEL II

Invloed van linker- en rechteroog en van het centrifugeren
van het oogvocht

Linkeroog		Rechteroog	
Vóór centrifugeren	Na centrifugeren	Vóór centrifugeren	Na centrifugeren
1,3385	1,3380	1,3372	1,3367
1,3380	1,3382	1,3390	1,3400
1,3376	1,3383	1,3391	1,3384
1,3366	1,3382	1,3381	1,3374
1,3368	1,3369	1,3408	1,3373
1,3412	1,3387	1,3382	1,3382
1,3384	1,3387	(*)	1,3392
1,3409	1,3392	1,3388	1,3387
1,3368	1,3367	1,3372	1,3375
1,3369	1,3368	(*)	1,3368
(*)	1,3370	1,3375	1,3373
1,3359	1,3357	1,3372	1,3371
1,3365	1,3365	1,3367	1,3367
(*)	1,3375	1,3374	1,3378
1,3374	1,3375	1,3375	1,3376
1,3365	1,3365	1,3360	1,3361
1,3364	1,3364	1,3368	1,3372
1,3362	1,3362	1,3365	1,3364
1,3380	1,3378	1,3369	1,3365
1,3366	1,3364	1,3355	1,3354
1,3365	1,3362	1,3368	1,3364
1,3367	1,3363	1,3369	1,3364
1,3365	1,3360	1,3372	1,3368
1,3367	1,3367	1,3390	1,3396
1,3371	1,3371	1,3368	1,3369
1,3359	1,3362	(*)	1,3382
1,3354	1,3356	1,3362	1,3358
1,3363	1,3361	1,3365	1,3368
Gemiddeld 1,3372	1,3371	1,3374	1,3373
Standaardafwijking 0,00137	0,00098	0,00117	0,00110

(*) Niet te bepalen wegens te grote troebelheid.

Invloed van het bewaren van het oogvocht

In de praktijk kan het gebeuren dat een zekere tijd verloopt tussen het staalnemen en de eigenlijke bepaling. De invloed hiervan werd getest door het oogvocht gedurende 24 uur te bewaren respectievelijk bij 1° C en 20° C.

Uit de resultaten bleek dat het verblijf in frigo (1°C) gedurende 24 u weinig invloed heeft: enkel een zeer lichte stijging ($0,0001$ à $0,0002$) werd vastgesteld en dit voor vissen van uiteenlopend versheid. Dit is gunstig: de tijdens de nacht na het lossen van de vis genomen stalen kunnen gemakkelijk overdag bepaald worden. Bij 20°C echter treedt het bederf van het zeer eiwitrijke oogvocht vlug in: de BI steeg van $0,0008$ tot $0,0013$ eenheden. De stalen dienen dan ook koel bewaard te worden.

Invloed van de temperatuur van de refraktometer

Daar de brekingsindex beïnvloed wordt door de temperatuur werd nagegaan in hoeverre dit het geval was voor het oogvocht van vis.

Zowel voor verse, als voor bedorven vis bleek de BI van het oogvocht praktisch lineair te verlopen tussen 5° en 20°C . Per $^{\circ}\text{C}$ werd een daling van gemiddeld $0,00006$ eenheden bekomen. Hieruit kan besloten worden dat de meting bij $20^{\circ} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ dient te geschieden. Een grove thermostaat is dus voldoende; bij tamelijk konstante kamertemperatuur kan deze zelfs achterwege gelaten worden. Voor bedrijfslaboratoria kan dit van betekenis zijn.

Gebruik van een handrefraktometer

Om ook in de vismijn rechtstreeks de BI op een vlugge manier te bepalen, werd door Wegner (3) voorgesteld een handrefraktometer te gebruiken. Het oogvocht wordt hier eveneens met een injectiespuit uitgetrokken, twee druppels op het prisma van een handsuikerrefraktometer gebracht en de brekingsindex onmiddellijk afgelezen.

De proefnemingen uitgevoerd met een Zeiss handrefraktometer 0/30 wezen echter uit dat deze techniek moeilijk bruikbaar is: de variatie is zeer groot en de correlatie met de Abbé-refraktometerbepalingen praktisch onbestaande. Een verklaring hiervoor is wellicht te zoeken in de soms grote verschillen in temperatuur van de vissen in de vismijn, het niet centrifugeren van het oogvocht en de kleinere gevoeligheid van de handrefraktometer (praktisch alle waarnemingen liggen tussen 2 en 6 suikergraden overeenkomend met een BI respectievelijk van $1,3360$ en $1,3420$).

2. Praktische toepassingen

Fig. 1 geeft de gemiddelde bederfcurve bekomen uit 30 proefnemingen waarbij de vis in ijs bewaard werd. Hieruit blijkt dat de BI geschikt is om het bederf te volgen bij kabeljauw en pladijs. Een

goede overeenkomst werd trouwens met de organoleptische keuring bekomen. Een tweede vaststelling is dat pladijs hogere BI-waarden geeft. Hiermede dient dan ook bij de objektieve kwaliteitsbepaling rekening gehouden te worden.

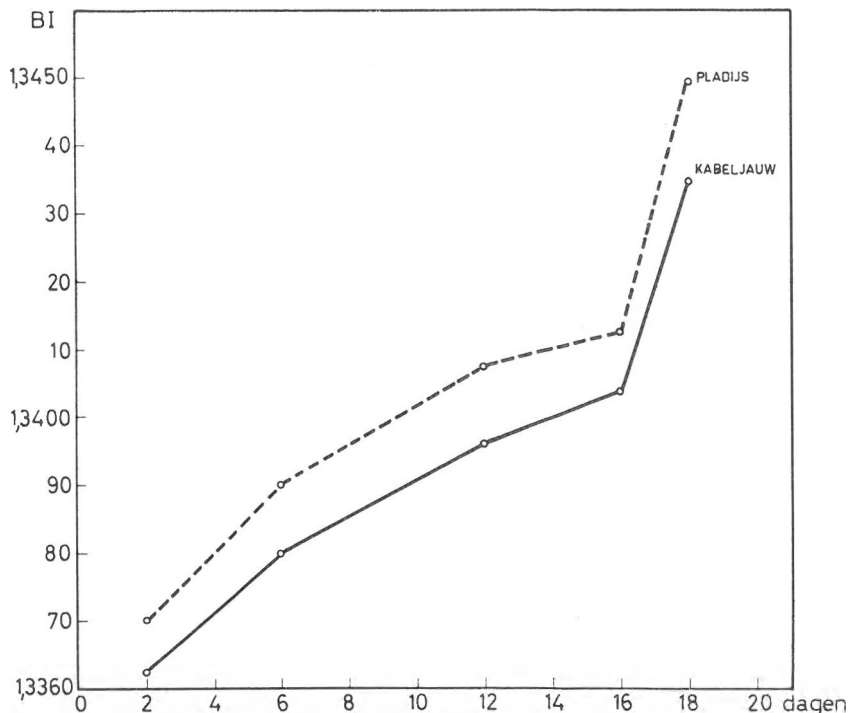


Fig. 1. Evolutie van de brekingsindex van het oogvocht gedurende het bewaren van kabeljauw (*Gadus morrhua* L.) en pladijs (*Pleuronectes platessa* L.).

Met rode zeebaars en leng echter werden geen bevredigende resultaten bekomen. De individuele waarden liepen sterk uiteen en beantwoordden slechts zelden aan de organoleptische keuring. Dit bevestigt de waarnemingen van Wegner (3). Een uitleg hiervoor is wellicht te zoeken in het feit dat beide vissoorten in zeer diepe wateren gevestigd worden en dat bij het bovenhalen van de vangst de ogen door de drukvermindering beschadigd worden waardoor water kan binnendringen. Een aanduiding hiervoor is tevens dat met deze vissoorten veel lagere BI-waarden bekomen worden ($\pm 1,3370$).

Voor kabeljauw en pladijs werd verder nagegaan in hoeverre de BI in staat is objektieve kwaliteitsnormen aan te geven m.a.w. de vis in bepaalde kwaliteitscategorieën in te delen. In de vismijnen te Oostende en te Zeebrugge werden hiervoor over een periode van twee jaar 2.500 stuks kabeljauw en 1.800 stuks pladijs onderzocht. De BI werd vergeleken met een organoleptische keuring waarbij de

vis in drie categorieën werd ingedeeld, nl. (a) zeer goed, (b) goed tot middelmatig goed en (c) op de grens van het bederf of bedorven. Uit het onderzoek is gebleken dat, mits een voldoende aantal vissen te nemen, het mogelijk is bepaalde normen als leidraad te nemen. Deze voorgestelde normen zijn vermeld in tabel 3.

TABEL III

Voorgestelde objectieve kwaliteitsnormen voor kabeljauw (*Gadus morrhua* L) en pladijs (*Pleuronectes platessa* L)

Kwaliteit	Kabeljauw	Pladijs
Zeer goed	< 1,3370	< 1,3375
Goed tot middelmatig goed	1,3370 — 1,3400	1,3375 — 1,3415
Op de grens van het bederf of bedorven	> 1,3400	> 1,3415

3. Voordelen en beperkingen van de methode

De BI kan zeer vlug bepaald worden en vereist een minimum aan materiaal. De methode kan als een semi-veldtechniek worden beschouwd en kan uitgevoerd worden door minder ervaren personeel. Verder wordt geen enkele vis geschonden, zodat de commerciële waarde behouden blijft.

Als nadelen kunnen vermeld worden dat geen bepalingen kunnen uitgevoerd worden op ontkopte of verwerkte vis; ook vissen met zeer kleine ogen zijn moeilijk te onderzoeken.

Tenslotte valt op te merken dat voor het bepalen van de BI steeds een zo groot mogelijk aantal vissen dient genomen te worden: minstens 10 en liefst rond de 30. Er doen zich immers zoals bij andere methoden onvermijdelijk variaties voor tussen de verschillende vissen, die te wijten zijn aan ouderdom, seizoen, enz.

Er werd ook vastgesteld dat deze afwijkingen groter worden naarmate de vis minder vers is. Dit zou aldus Britse waarnemingen komen bevestigen (4).

Tenslotte is het steeds aan te raden waar mogelijk de BI-bepaling aan te vullen met andere objectieve kwaliteitsmethoden, zoals de bepaling van de totale vluchtige basische stikstof, trimethylamine, elektrische weerstand van het visvlees, enz. (5).

SUMMARY

The Refractive Index of the Eye Fluid as a Freshness Test for Fish

The possibilities of the refractive index (RI) of the eye fluid as a freshness test for fish were investigated. Procedure details were studied in order to improve the usefulness of the method. The following fishes were used: cod (*Gadus morrhua* L.), plaice (*Pleuronectes platessa* L.), redfish (*Sebastes marinus* L.) and blue ling (*Molva byrkelange*).

It appears necessary to extract nearly the whole quantity of eye fluid. Checking the RI of left and right eye can be omitted. Centrifuging the eye fluid is not absolutely required but improves readability. Filtration has no practical value. Keeping the eye fluid during 24 hrs at 1° C results only in a very slight increase in RI: if necessary, determinations can be postponed without harm. The temperature of the refractometer must be maintained at 20° C $\pm$ 1,5° C. At fairly constant room temperature, no thermostat is required for routine analyses. A handrefractometer appears to be of little use.

With redfish and blue ling, no satisfactory results are obtained. Spoilage curves of cod and plaice on the other hand agree fairly well with organoleptic judgment. The RI seems to be a useful freshness test with those species. Quality gradings are proposed.

Advantages and limitations of the method were investigated. The RI can be determined very quickly with simple apparatus and by non specialised personnel. However, no determination is possible on beheaded or processed fish or on fish with very small eyes. As variations among individuals can be large, a sufficient number of fishes should always be taken for analysis.

LITERATUUR

- (1) B. PROCTOR, J. NICKERSON, T. FAZZINA, L. RONSIVALLI, R. SMITH, en J. STERN. — Rapid determination of the quality of whole eviscerated haddock — *Food Technology*, **13** (4), 224, 1959.
- (2) H. WEGNER. — Refraktometrische Messungen der Augenflüssigkeit zur Frischebeurteilung von Seefischen — *Archiv für Lebensmittelhygiene*, **4**, 83, 1960.
- (3) H. WEGNER — Weitere Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Refraktometrie bei der Frischebeurteilung von Seefischen — *Archiv für Lebensmittelhygiene*, **4**, 90, 1962.
- (4) *Annual Report 1963* — Torry Research Station, Aberdeen (Schotland), p. 6.
- (5) W. VYNCKE. — De Objektieve Kwaliteitsbepaling van Vis I. Het bederf van de vis en de methoden om de versheid te bepalen — *Proefstation voor Zeevisserij, Oostende*, publicatie nr. 5, 1964.

