

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek Gent

RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ - OOSTENDE
Directeur a.i. : W. VYNCKE

**De objectieve kwaliteits-
bepaling van diepvriesvis :
evaluatie van
geselecteerde methoden
op kabeljauw
(Gadus morhua)
en schol
(pleuronectes platessa)**

W. VYNCKE



Samenvatting

Zeven methoden voor de objectieve kwaliteitsbepaling van diepvriesvis werden op hun bruikbaarheid t.o.v. kabeljauw (*Gadus morhua*) en schol (*Pleuronectes platessa*) onderzocht. Deze methoden waren : dooiverlies, waterbindend vermogen, oplosbare eiwitten, viscosimetrie van de oplosbare eiwitten, dimethylamine, vluchtige reducerende stoffen en vrij vetzuren. Zij werden stelselmatig met de organoleptische keuring vergeleken. Alhoewel deze vergelijking statistisch behoorlijk positieve resultaten opleverde, was de spreiding van de bekomen data vrij groot zodat het nut van de onderzochte methoden voor de kwaliteitsbepaling van "blinde" (onbekende) monsters slechts matig is. Daarenboven werden tussen de twee vissoorten met de meeste methoden markante verschillen vastgesteld, zodat deze invloedsfactor eveneens in rekening dient te worden gebracht en de bekomen resultaten niet zonder meer op andere vissoorten kunnen worden toegepast.

Het gebruik van twee opslagtemperaturen (-12 en -26°C) liet echter toe te besluiten dat de meeste technieken goed geschikt zijn voor vergelijkend onderzoek, waar niet de data zelf maar het onderling verschil belangrijk is.

Tenslotte dient te worden benadrukt dat de organoleptische keuring nog steeds belangrijk is voor de kwaliteitsbepaling van diepgevroren vis.

Inleiding

Sedert de jaren vijftig werden talrijke methoden voor de objectieve kwaliteits-bepaling van diepgevroren vis voorgesteld (Gould en Peters, 1971; Shenouda, 1980). Weinig technieken zijn echter van reële waarde gebleken. De reden hiervoor is ongetwijfeld dat een groot aantal complicerende factoren een rol spelen. Naast de eigenlijke kwaliteit van de grondstof (vissoort, versheid, biologische conditie) hebben het vriesproces (techniek, invriessnelheid) en de diepvriesopslag (temperatuur, duur, verpakking) een duidelijke invloed op de algemene kwaliteit.

De kwaliteitsachteruitgang te wijten aan het diepvriezen en de diepvriesopslag uit zich zowel in de eiwit- als in de vetfractie van de vis. De eiwitten worden geleidelijk aan gedeeltelijk gedenatureerd waardoor taaierheid en geur- en smaakveranderingen optreden. De vetfractie is onderhevig aan hydrolytische ranzigheid, waarbij door de actie van in het visweefsel aanwezige lipasen vrije vetzuren worden gevormd, en aan oxidatieve ranzigheid waarbij o.m. peroxiden en carbonylverbindingen (o.m. malonaldehyde) worden gevormd. Dit heeft kleur-, geur- en smaakveranderingen tot gevolg. Door de oxidatie van onverzadigde vetzuren ontstaat o.m. de zgn. "koelopslaggeur en -smaak", ook "vismeelgeur" genoemd, hoofdzakelijk te wijten aan de vorming van cis- en trans-4-heptenal (McGill et al., 1977).

Objectieve kwaliteitsbepalingsmethoden trachten deze diverse wijzigingen in het product te volgen. Het doel van onderhavige studie is zeven voorgestelde methoden op hun praktische bruikbaarheid te testen, waar nodig met eventuele aanpassingen. De bepaling van de oxidatieve ranzigheid maakte reeds vroeger het voorwerp van onderzoek uit en wordt hier niet verder behandeld (Vyncke, 1970, 1975, 1978).

De studie had alleen betrekking op de eigenlijke diepvrieskwaliteit. Dit zijn deze aspecten van de kwaliteit van het product die door het diepvriezen en de diepvriesopslag worden beïnvloed. Andere kwaliteitsaspecten zoals versheid van de grondstof, hygiënische gesteldheid (aanwezigheid van pathogenen, parasieten, contaminanten) en het voorkomen van ongewenste visdelen (bv. graten of stukken huid) worden door andere methoden bepaald en werden hier niet behandeld.

Materiaal en methoden

Vissoorten :

De proeven werden met kabeljauw (*Gadus morhua*), en schol (*Pleuronectes platessa*) uitgevoerd. Deze vissen kunnen als belangrijke vertegenwoordigers van respectievelijk de rond- en de platvissen worden aangezien. Zij waren afkomstig van de zuidelijke Noordzee en gevangen in de periode september - oktober, hetgeen een goede biologische conditie waarborgt. Kabeljauw en schol waren van EC-gewichtsklassen 3 (respectievelijk 2-4 en 0,3-0,4 kg) en van EC-versheidgraad A.

Werkwijze :

Na fileren werd de vis in een tunnelvriezer bij -45°C snel ingevroren, vacuümverpakt en opgeslagen bij respectievelijk -26° en -12°C . Deze laatste temperatuur werd gekozen om de denaturatieverschijnselen tijdens het bewaren te versnellen. Behalve voor de bepaling van het

dooiverlies werden de filets snel ontdooid in een waterbad met circulatie bij 20°C. Voor iedere bepaling werden vijf filets genomen die na malen homogeen gemengd werden. De proeven werden meestal 6 en 18 maanden bij respectievelijk -12 en -26° C doorgevoerd. Ze werden driemaal herhaald (1990-1991, 1992-1993 en 1994-1995). De proeven op het dooiverlies werden afzonderlijk uitgevoerd (1985).

Methoden :

Organoleptische keuring : het beoordelingssysteem van Baines et al. (1969) werd toegepast. Drie criteria werden weerhouden : algemene aanvaardbaarheid, textuur en koelopslaggeur. Voor de algemene aanvaardbaarheid wordt een score van 9 ("uiterst goed") tot 1 ("uiterst slecht") toegepast (grens : 4). De textuurscores gaan van 0 ("zeer zacht") tot 6 ("uiterst taai"). Score 2 is als normaal te aanzien en de grens ligt bij score 4. De koelopslaggeur wordt beoordeeld met een zespuntensysteem stijgend van score 0 ("afwezig") tot 5 ("zeer sterk"). De organoleptische keuring werd door een panel van vier leden uitgevoerd.

Dooiverlies : de methode van Chalker et al. (1965) werd toegepast. Een stuk filet van 50-100 g wordt in een trechter, die op een maatcilinder geplaatst is, gelegd. Ten einde evaporatie te vermijden wordt het geheel in een grote plasticen zak ingesloten. Het ontdooien gebeurt in koelkamer bij 3-5° C gedurende 24 u.

Waterbindend vermogen : de methode van Jauregi et al. (1981) werd gevolgd. De vis wordt tweemaal in een elektrische vleesmolen gemalen en 1,5 g wordt gelegd in een beker uit filtreerpapier vervaardigd. Hiervoor worden drie lagen ronde Whatman n° 3 filters met diameter 5,5 cm en één laag Whatman n° 50 met diameter 7 cm in bekervorm over de buitenzijde van een proefbuis van 16 x 150 mm gelegd. Er wordt 15 min gecentrifugeerd in polycarbonaatbuizen bij 2° C en 10 000 tpm (12 000 g). De "viskoek" wordt verwijderd en afgewogen. Het vochtverlies wordt genoteerd.

Oplosbare eiwitten : de bepaling is op de methode van Dyer et al. (1950) gebaseerd. Twee g gemalen vis wordt met 20 ml ijskoude natriumchloride-oplossing 5 %, die 0,02 M natriumbicarbonaat bevat, na toevoeging van een druppel silicoon-antischuimmiddel gedurende één minuut gehomogeniseerd. In plaats van de oorspronkelijke mixerbeker met antischuimplaat werd een Ultra-Turax homogenisator gebruikt. De schuimvorming, die de eiwitten kan denatureren, werd voorkomen door toevoeging van antischuimmiddel. Vergelijkende proeven toonden aan dat deze eenvoudigere werkwijze kon worden toegepast i.p.v. de oorspronkelijk voorgeschreven dekselplaat.

Het homogenisaat wordt in een centrifugebuis overgebracht en gedurende 30 min bij 4000 tpm en 0°C gecentrifugeerd. Tien ml van het supernatans wordt in een Kjeldahl-destructiebuis overgegoten. De verdere werkwijze volgt deze van de totale eiwitbepaling. Het gehalte aan oplosbare eiwitten wordt op dit laatste bepaald.

In een Kjeldahl-destructiebuis wordt 1 g gemalen vis gebracht. Na toevoeging van 3 g katalysator (seleniummengsel volgens Wieninger) en 13 ml geconcentreerd zwavelzuur wordt gedurende 45 min bij 420 °C verhit. Een heldere oplossing moet worden bekomen. Na afkoelen wordt de buis in een semi-automatisch kjeldahlapparaat geplaatst (Tecator 1026). Automatisch worden achtereenvolgens 50 ml gedestilleerd water en 30 ml natriumhydroxide 35 % toegevoegd. De destillatie wordt 3 min doorgevoerd. Nadien wordt met 0,1 N zwavelzuur t.o.v. een mengindicator voor amoniaktitratie (Merck) getitreerd.

Viscosimetrie van de oplosbare eiwitten : als basis werd de door Borderias et al. (1985) voorgestelde methode gevolgd. In een gekoelde mixerbeker worden 150 g gemalen vis, 600 ml ijskoude natriumchloride-oplossing 5% en 5 g silicoonantischuimmiddel gebracht. Dit laatste, dat in de originele werkwijze niet voorzien was, bleek meer constante viscositeitswaarden te geven. Onder roeren met een staaf wordt de pH met natriumhydroxide 1 N op 6,8-7,0 gesteld. Er wordt 1 min bij hoog toerental gehomogeniseerd.

Er wordt op nylondoek met maaswijdte van 1 mm op Büchnerfilter met afzuiging door waterstraalpomp gefiltreerd. De oorspronkelijke methodiek voorzag het uitpersen door een kaasdoek, hetgeen minder handig bleek te zijn.

Het filtraat wordt in een beker van 600 ml gegoten en gedurende 60 min in een koelkast geplaatst. De beker wordt in een ijsbad geplaatst. Het uitmeten gebeurt met een Brookfield digital recording viscometer model LVTD met spindle 3 bij 12 tpm. Na drie min wordt de waarde in centipoise afgelezen. Een langere tijd is niet kritisch.

Dimethylamine : de methode van Dyer en Mounsey (1945) werd gevolgd. In plaats van een extractie met trichloorazijnzuur wordt DMA echter door destillatie afgezonderd. Tien g gemalen vis wordt in een stoomdestillatie-apparaat volgens Antonacopoulos (1960) gebracht. Twee g magnesiumoxide wordt toegevoegd en de destillatie wordt 12 min doorgevoerd. Het destillaat wordt tot 200 ml aangelengd. Er valt op te merken dat dit destillaat ook voor de bepaling van de totale vluchtige basische stikstof en trimethylamine (bederfsten) kan worden gebruikt.

Tien ml destillaat wordt in een erlenmeyer gegoten, 1 ml koperreagens (20 g ammoniumacetaat en 0,2 g kopersulfaat in 30 ml water oplossen ; 10 ml natriumhydroxide in 25 ml water opgelost toevoegen ; 20 ml geconcentreerde ammoniakoplossing toevoegen; aanlengen tot 100 ml) en 10 ml koolstofdisulfide in 5 % benzeen worden toegevoegd. De oplossing wordt 5 min in een warmwaterbad bij 40-50°C verwarmd. Na schudden en decanteren wordt de benzeenlaag afgecentrifugeerd. De absorbantie wordt bij 440 nm gemeten.

Vluchtige reducerende stoffen (VRS) : de methode is gebaseerd op deze van Farber en Ferro, (1956) waarbij echter in plaats van gasdiffusie stoomdestillatie wordt gebruikt (Hennings, 1963). Tien g gemalen vis wordt in een stoomdestillatie-apparaat volgens Antonacopoulos (1960) gebracht. Veertig ml water en een druppel silicoon-antischuimmiddel worden toegevoegd. Er wordt 20 min gedestilleerd. Het destillaat wordt in een erlenmeyer die 25 ml 0,1 N kaliumpermanganaat, waaraan 10 ml 10 % natriumcarbonaat is toegevoegd, opgevangen. De oplossing wordt met 10 ml 6 N zwavelzuur aangezuurd en 5 ml kaliumiodide 2 % wordt toegevoegd. Er wordt met 0,1 N natriumthiosulfaat getitreerd. De resultaten worden in mEq/100 g uitgedrukt (1 ml 0,1 N kaliumpermanganaat = 1 mEq/100 g).

Vrije vetzuren : werden titrimetrisch bepaald volgens een vroeger gepubliceerde methode (Vyncke, 1970). Het vet wordt eerst volgens de methode van Bligh en Dyer (1959) geëxtraheerd. Vijftig g gemalen vis (het watergehalte moet op 80 +/- 1 % worden gesteld) wordt in een mixer gedurende 2 min met 100 methanol en 50 ml chloroform gehomogeniseerd. Achtereenvolgens worden 50 ml chloroform en 50 ml ged. water toegevoegd en telkens 30 sec gemixt. Na filtreren op een Büchnertrechter worden het residu en de filter nogmaals gedurende 1 min met 100 ml chloroform gehomogeniseerd. Na een tweede filtratie wordt het volledig filtraat in een scheidtrechter overgegoten. Er scheiden zich twee lagen af (laten rusten tot heldere oplossing)

Zure en basische verbindingen zoals sommige fosfolipiden, ammoniak en amines dienen vooraf met een kiezelzuurkolom te worden verwijderd. Hiervoor wordt kiezelzuur 100 mesh gedurende 16 uur bij 120 °C geactiveerd waarna het tweemaal met methanol, aceton en diethylether wordt gewassen (roeren in beker en telkens laten bezinken). Een kolom met diameter 12 mm en 8 cm hoogte wordt gevuld. De ether laat men wegvloeien. Evenveel chloroform als kiezelzuur wordt toegevoegd (8 cm). Na schudden laat men de chloroform wegvloeien en het kiezelzuur sedimenteren. Vijfmaal 5 ml chloroform worden op de kolom gegoten. Deze verkrijgt een doorschijnende, licht blauwe kleur.

Vijf ml extract (onderste laag) worden op de kolom gegoten en in een erlenmeyer van 50 ml opgevangen. Er wordt dan met viermaal 5 ml chloroform geëluëerd. De oplossing wordt met alcoholische kaliumhydroxide 0,1 N t.o.v. fenolftaleïne getitreerd. Als gemiddeld moleculair gewicht van de vetzuren wordt 300 genomen.

Resultaten en discussie

In de diverse figuren worden telkens het gemiddelde en de standaardafwijking van de drie proeven weergegeven. Met uitzondering van het dooiverlies werden alle bepalingen simultaan uitgevoerd.

Organoleptische keuring

Zoals te verwachten toonde de organoleptische keuring bij kabeljauw en schol een zeer duidelijk verschil tussen de beide opslagtemperaturen aan (fig. 1). Terwijl bij -26°C de kwaliteitsachteruitgang slechts langzaam doorging, veranderden de kwaliteitsscores zeer vlug bij -12°C. Na ongeveer drie maand was de bij deze temperatuur opgeslagen kabeljauw niet meer aanvaardbaar. Voor schol was dit twee maand. Bij -26°C deden de eerste duidelijke tekens van kwaliteitsverlies zich bij kabeljauw na ca negen maand voor. Na achttien maand was dit laatste product op de grens van de nog aanvaardbare kwaliteit. Voor schol was dit respectievelijk negen en twaalf maand. Bij schol werd de koelopslaggeur sneller dan bij kabeljauw vastgesteld en deze geur was ranziger van aard. Dit was ongetwijfeld te wijten aan het hogere vetgehalte bij schol : gemiddeld 0,98 t.o.v. 0,56 % bij kabeljauw. Er werd trouwens aangetoond dat ook bij kabeljauw de intensiteit van de koelopslaggeur van het vetgehalte en dus o.m. van de geslachtscyclus afhangt (Ross en Love, 1979).

Dooiverlies

Door het diepvriezen treedt een zekere beschadiging van de weefselcellen op waardoor celvocht tijdens het ontdooien kan wegvloeien. Tijdens de diepvriesopslag

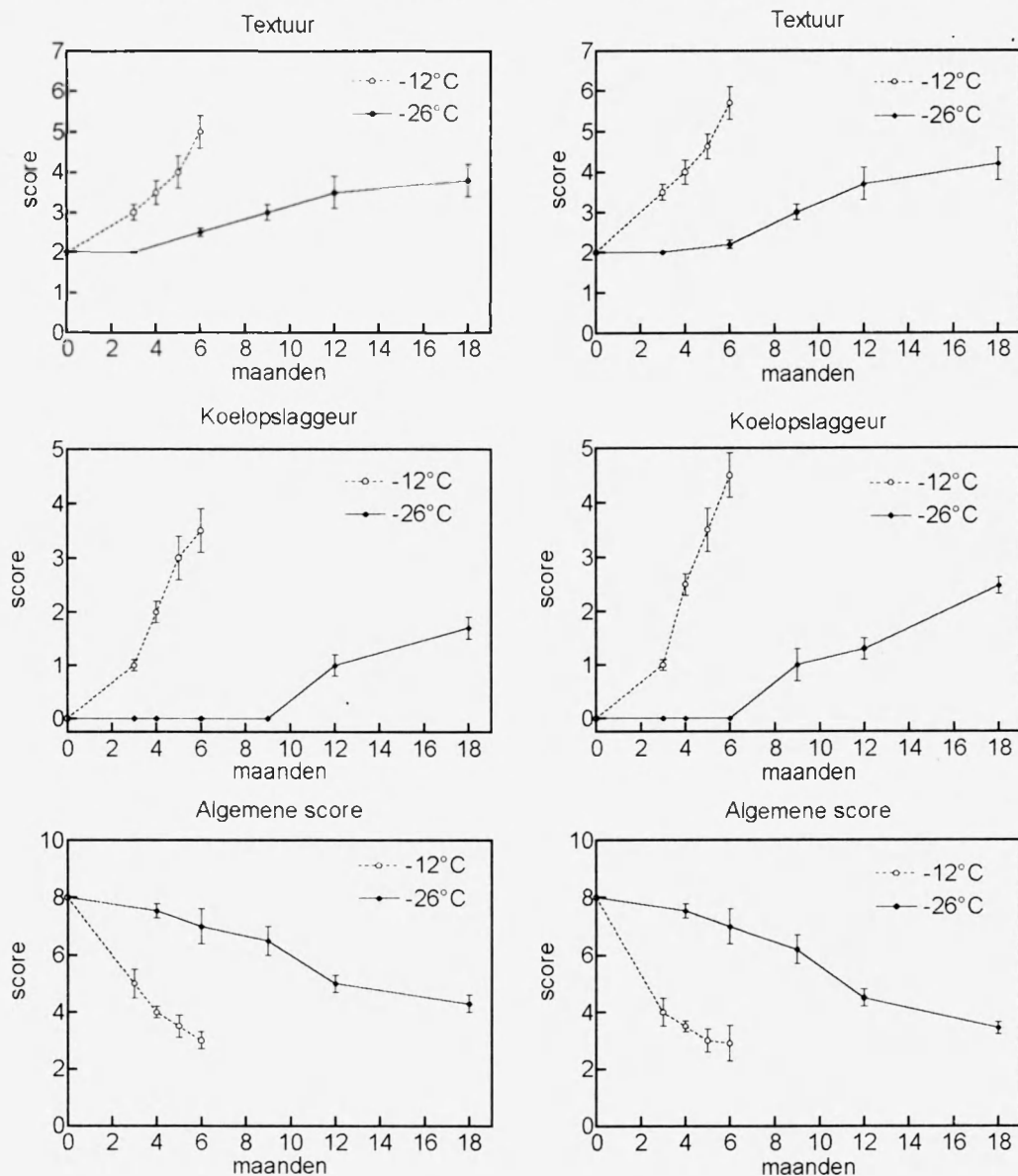


Fig. 1. Organoleptische scores voor kabeljauw (links) en schol (rechts).

zelf treedt geleidelijk aan een denaturatie van de eiwitten op waardoor het waterbindend vermogen van het celweefsel afneemt en dus ook celvocht kan wegvloeien. Het meten van het dooiverlies, dat een eenvoudige methode is, wordt reeds lang gebruikt om een beeld te vormen van de kwaliteit van diepgevroren vis.

De resultaten van telkens drie verschillende proeven zijn in fig. 2 grafisch weergegeven. Hieruit blijkt dat het dooiverlies over het algemeen tijdens de opslag slijgt maar dat vrij grote variaties kunnen optreden, niet alleen tussen de vissoorten, maar ook bij eenzelfde soort. Er valt ook op te merken dat de grootste stijging van het dooiverlies zich binnen de één à twee

maanden voordeed. Dit wijst erop dat vooral het diepvriesproces zelf deze stijging veroorzaakt.

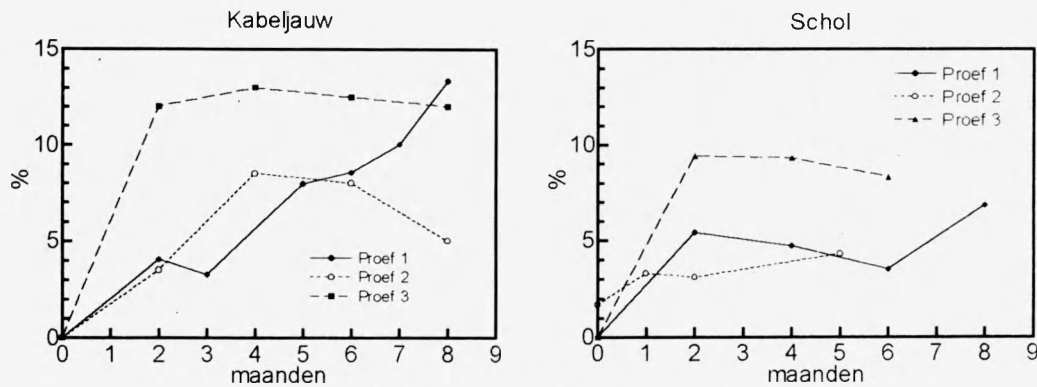


Fig. 2. Dooiverlies tijdens opslag bij -26° C.

De methode op het dooiverlies gebaseerd geeft alleen een algemeen beeld van de kwaliteit van diepvriesvis. Op de beperkingen van deze test werd reeds door vroegere auteurs gewezen (Heen en Karsti, 1965). Ze is echter waardevol voor het bepalen van het rendement van een bepaalde partij vis na ontdooien, vooral wanneer deze vis verder moet worden verwerkt (bv. ingeblikt).

Waterbindend vermogen

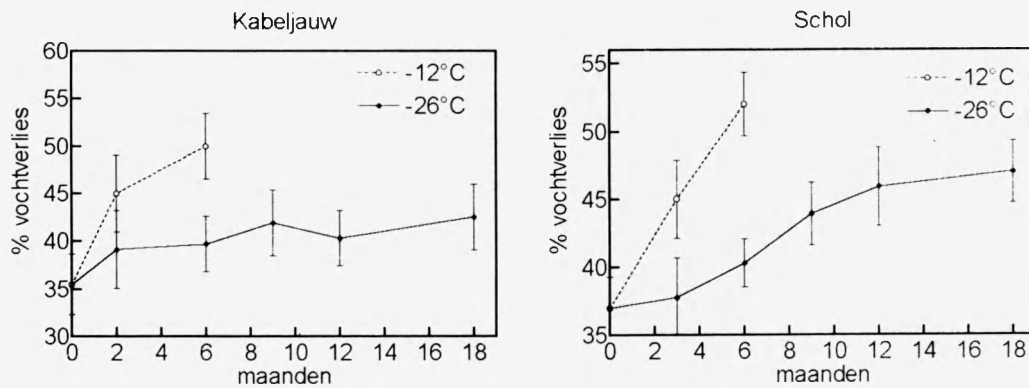


Fig. 3. Waterbindend vermogen

Een andere maatstaf voor de celbeschadiging en eiwitdenaturatie is het bepalen van de hoeveelheid uitpersbaar vocht dat een beeld geeft van het waterbindend vermogen. Figuur 3 geeft de resultaten weer. Tussen de opslagtemperaturen van -12 en -26°C was voor beide vissoorten een duidelijk verschil te noteren. Bij kabeljauw echter was de stijging van het vochtverlies relatief gering en werd vlug een plateau-effect waargenomen. Bij schol was de stijging groter en dit voor beide opslagtemperaturen. Dit wijst erop dat ook bij deze test de vissoort een grote rol speelt. Deze vrij eenvoudige methode kan vooral belangrijk zijn bij vergelijkend onderzoek.

Oplosbare eiwitten

Door denaturatie tijdens het diepvriesproces en de daarop volgende

Tabel 1. Exponentiële tijdtrends voor oplosbare eiwitten en viscositeit

Oplosbare eiwitten	Kabeljauw	Schol
- 26° C	$y = 22 \cdot e^{(-0.45 x)} + 29$	$y = 40 \cdot e^{(-0.14 x)} + 27$
- 12° C	$y = 33 \cdot e^{(-0.47 x)} + 17$	$y = 31 \cdot e^{(-83 x)} + 34$
Viscositeit		(*)
- 26° C	$y = 7728 \cdot e^{(-0.45 x)} + 1646$	
- 12° C	$y = 10210 \cdot e^{(-1.12 x)} + 59$	$y = 5488 \cdot e^{(-0.44 x)} + 302$

(*) Vergelijking van de tweede graad : $y = 5752 + 108 x - 39 x^2$

diepvriesopslag vermindert de oplosbaarheid in zoutoplossing van de myofibrillaire eiwitten, vooral myosine (Gould en Peters, 1971; Shenouda, 1980). Figuur 4 geeft het verloop van deze daling weer. De tijdtrend kon met een exponentiële functie worden

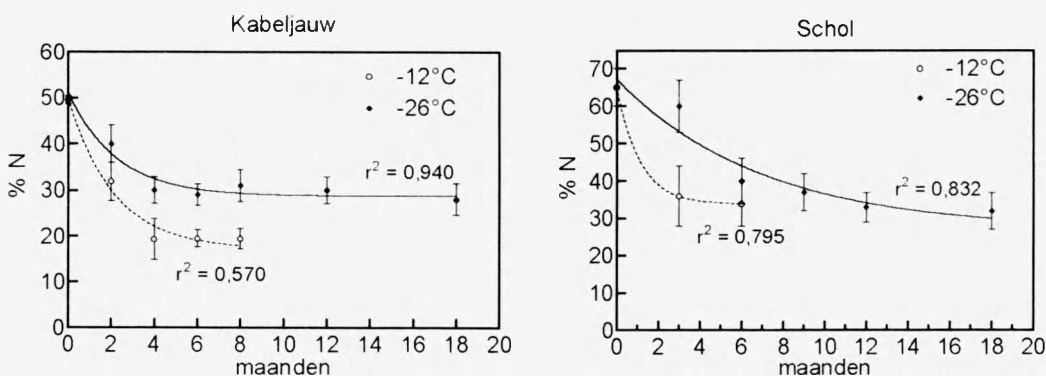


Fig. 4. Oplosbare eiwitten

omschreven (tabel 1). Het verloop was evenwel verschillend. Bij kabeljauw daalde de eiwitoplosbaarheid sneller dan bij schol om reeds na korte tijd (vier maand) een plateau te bereiken. Dit werd ook door vele andere onderzoekers vastgesteld (Sainclivier, 1993). Ook de uitgangskonzentraties waren verschillend (respectievelijk 50 en 65 % voor kabeljauw en schol). In ieder geval blijkt iedere vissoort anders te reageren. Tussen de twee opslagtemperaturen was evenwel een vrij duidelijk onderscheid te noteren. Voor vergelijkend onderzoek kan de bepaling van oplosbare eiwitten blijkbaar nuttige informatie leveren. Niet alle auteurs zijn van de waarde van deze reeds lang voorgestelde methode overtuigd. Volgens Shenouda (1980) zou dit vooral te wijten zijn aan het feit dat de methodologie van deze test niet gestandaardiseerd is.

Viscosimetrie van de oplosbare eiwitten

In plaats van het stikstofgehalte van de oplosbare eiwitten te bepalen, kan ook de viscositeit van de zoutoplossing worden gemeten (Borderias et al., 1985). Figuur 5 geeft het verloop van deze viscositeit weer. De twee vissoorten bleken verschillende viscositeitspatronen

te geven. De aanvangswaarden waren sterk verschillend : ca 10 000 cP bij kabeljauw t.o.v. 6000 cP bij schol.

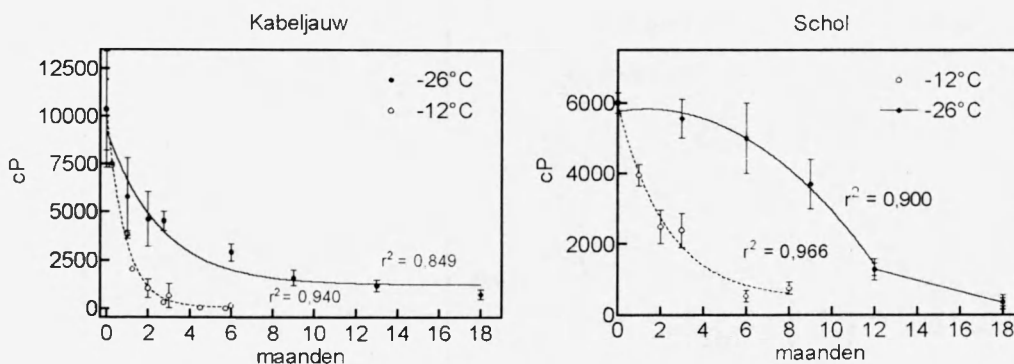


Fig. 5. Viscositeit van de oplosbare eiwitten

Bij - 12°C volgden de twee soorten een dalende exponentiële functie met determinatiecoëfficiënten van meer dan 0,9. Bij -26°C echter werd een ander beeld

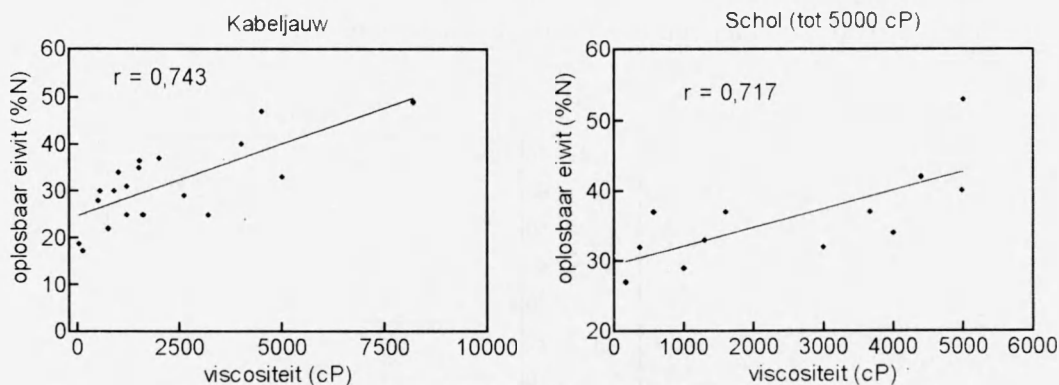


Fig. 6. Correlatie tussen viscositeit en % N van de oplosbare eiwitten

bekomen. Kabeljauw volgde eveneens een exponentiële functie met plateauvorming rond 1600 cP. Dit plateau werd reeds na ca 6 maand bereikt maar bleef veel hoger dan bij - 12°C (ca 60 cP) (tabel 1). Bij schol daalde de viscositeit tot 12 maand in omgekeerde zin, nl. eerst vrij langzaam en dan vlugger en vlugger. Dit kon met een vergelijking van de tweede orde worden beschreven. Na 12 maand opslag werd eveneens een soort plateau bereikt. De invloed van de vissoort werd ook door andere onderzoekers vastgesteld (Jimenez-Colmenero et al., 1985).

Bij kabeljauw werd een vrij goede correlatie met het gehalte aan oplosbaar eiwit gevonden ($r = 0,743$). Bij schol was dit alleen tot 5000 cP het geval ($r = 0,717$) (fig. 6). Ook Borderias et al. (1985 b) en Jimenez-Colmenero et al. (1985) vonden een hoge correlatie voor kabeljauw ($r = 0,970$).

Dimethylamine

Bij de meeste kabelauwachtigen (*Gadoidae*) wordt tijdens de diepvriesopslag uit

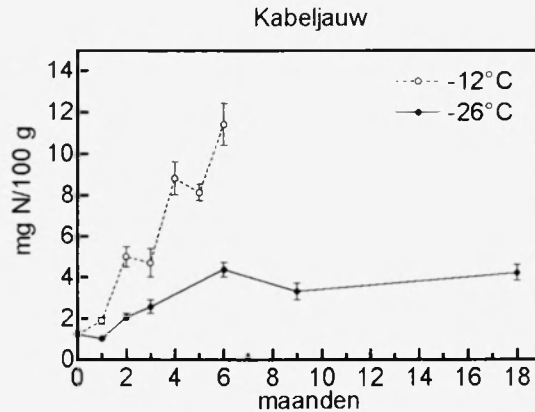


Fig. 7. Dimethylamine

trimethylamine-oxide (TMAO) door een demethylase, dat vooral in de nieren aanwezig is, dimethylamine (DMA) en een equivalente hoeveelheid formaldehyde gevormd. Dit laatste versnelt de denaturatie van de eiwitten (Shenouda, 1980 ; Sainclivier, 1993). Figuur 7 geeft het verloop van de DMA-vorming weer tijdens de opslag van kabeljauw. Bij schol wordt geen DMA gevormd. Bij kabeljauw was er bij -26°C slechts weinig DMA-vorming. Bij -12°C echter werd een sterke stijging waargenomen.

In tegenstelling tot andere eiwitdenaturatietesten bleek de DMA-vorming niet door het invriezen zelf te worden beïnvloed. In het begin van de opslagperiode was de stijging relatief

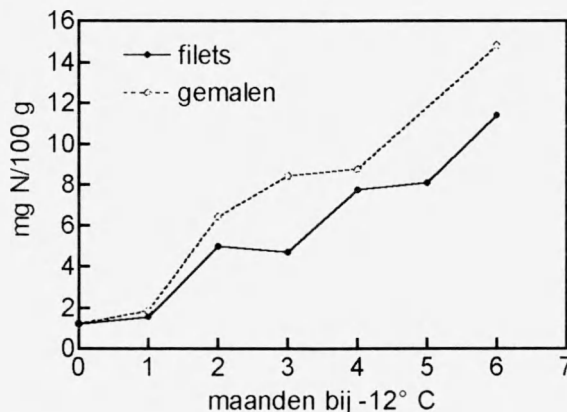


Fig. 8. Dimethylamine in gehele en gemalen kabeljauwfilets klein.

De DMA-test kan vooral nuttig zijn om de nadelige invloed van te hoge opslagtemperaturen (ook relatief kortstondig) te detecteren.

Er valt tenslotte op te merken dat de DMA-vorming door het fijnmaken van de vis (bv. bij gebruik van gratenseparatoren) duidelijk verhoogd wordt. Dit is te wijten aan het betere contact tussen substraat (TMAO) en het demethylase-enzyme en de meer homogene verspreiding van dit laatste. Figuur 8 toont dit verschil bij kabeljauw aan. De vorming van DMA verliep sneller bij gemalen vis.

Vluchtige reducerende stoffen (VRS)

Figuur 9 geeft de evolutie van de VRS voor kabeljauw weer. Het algemeen beeld geleek sterk op dit van DMA. Zoals bij DMA was er een duidelijk verschil tussen

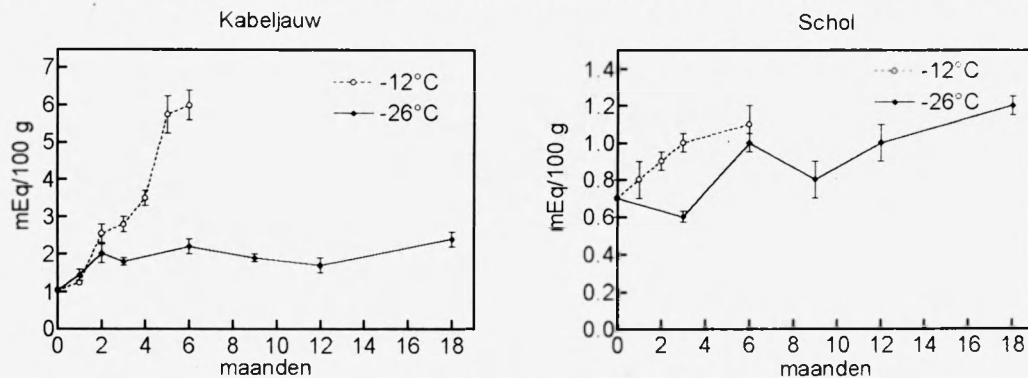


Fig. 9. Vluchtige reducerende stoffen

de twee opslagtemperaturen. Bij -28°C was er slechts een kleine stijging waar te nemen. Tussen DMA en VRS werd trouwens een goede correlatie genoteerd ($r = 0,932$) (fig. 10). Dit zou erop wijzen dat hoofdzakelijk DMA en formaldehyde

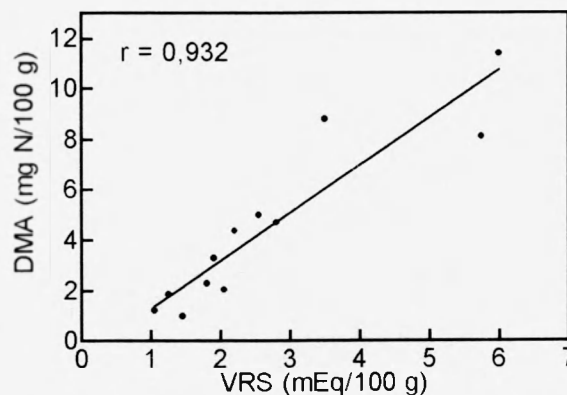


Fig. 10. Correlatie tussen VRS en DMA bij kabeljauw

verantwoordelijk zijn voor de stijging van VRS. Een andere aanduiding hiervoor is dat schol, die geen DMA vormt, ook weinig VRS produceert, zelfs bij -12°C (fig. 9). De VRS-test, die veel eenvoudiger door te voeren is, geeft aldus dezelfde informatie i.v.m. nadelige temperatuurinvloeden als de DMA-test.

Vrije vetzuren

Ook de evolutie van de vrije vetzuren bleek sterk door de opslagtemperatuur te worden beïnvloed (fig. 11). Zowel bij kabeljauw als bij schol steeg het gehalte van ca 5 % tot ca 30 % in 18 maand bij -26°C . Bij -12°C liep dit tot ca 60 % bij kabeljauw en 40 % bij schol op. Dit wijst op een sterke verhoging van de activiteit van de lipasen verantwoordelijk voor de vorming van vrije vetzuren. Analoge waarnemingen werden door andere onderzoekers gedaan (Sainclivier, 1993).

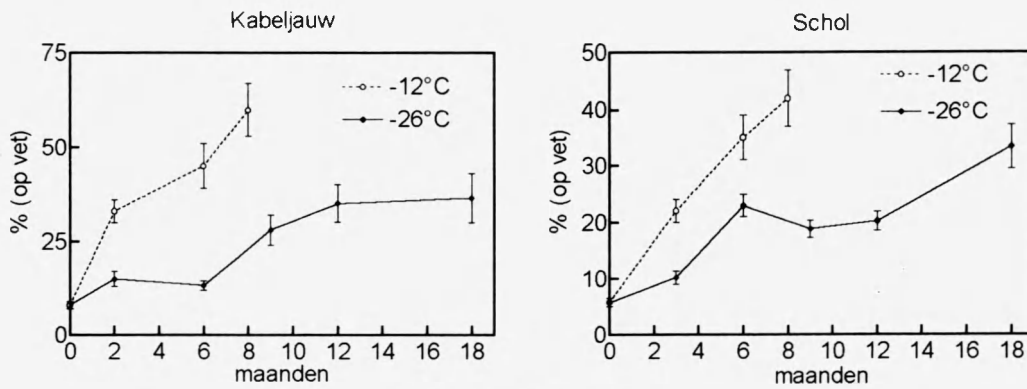


Fig. 11. Vrije vetzuren

Vergelijking met de organoleptische keuring

De correlatie met de organoleptische algemene kwaliteitsscore werd voor iedere objectieve kwaliteitsbepalingmethode, met uitzondering van het dooiverlies, berekend. Figuur 12 geeft deze correlaties weer. Zij waren rechtlijnig met uitzondering van de oplosbare eiwitten in schol. In dit laatste geval was dit evenwel boven de score 5 eveneens het geval. Tabel 2 geeft de regressievergelijkingen weer.

Tabel 2. Regressievergelijkingen tussen kwaliteitsscore (x) en methoden (y)

Methoden	Kabeljauw	Schol
Waterbindend vermogen (%)	$y = -2.28x + 55$	$y = -2.41x + 57$
Oplosbare eiwitten (%)	$y = 4.12x + 7.37$	$y = 15.3x - 60$ (a)
Viscosimetrie (cP)	$y = 984x - 3725$ (b)	$y = 1135x - 3112$
Dimethylamine (mg N/100 g)	$y = -1.58x + 14$	-
Vluchtige reducerende stoffen (mEq/100 g)	$y = -0.79x + 7.16$	$y = -0.08x + 1.33$
Vrije vetzuren (%)	$y = -6.4x + 64$	$y = -3.75x + 42$

(a) boven score 5

(b) tot 5000 cP

Alhoewel de correlatiecoëfficiënten vrij hoog waren, bleef de spreiding van de gegevens toch te groot om een duidelijke aanvaardbaarheidsgrens op te stellen. Niettemin kunnen de resultaten die met de organoleptische score 4 overeenkomen en aan de hand van de regressievergelijkingen werden berekend, een informatieve waarde hebben. Zij werden in tabel 3 opgenomen. Anderzijds bleken deze methoden beter als eenzijdige testen gebruikt te kunnen worden. In plaats van de aanvaardbaarheidsgrens te bepalen kan een grens worden vooropgesteld waarboven (of volgens de test : waaronder) de diepgevroren vis van zeer goede kwaliteit is. Het omgekeerde is evenwel niet altijd het geval. Een vis die de minimumgrens niet haalt kan eveneens van goede kwaliteit zijn. Tabel 3 geeft eveneens deze zgn. "hoge kwaliteitgrenzen" aan. Het betreft de grenzen voor vissen die een kwaliteitsscore van minimum 6,5 halen.

Tabel 3. Kwaliteitsgrenzen

Methoden	Grens op kwaliteitscore 4		Hoge kwaliteitsgrens (kwaliteitscore > 6,5)	
	Kabeljauw	Schol	Kabeljauw	Schol
Waterbindend vermogen (%)	46	47	38	40
Oplosbare eiwitten (%)	24	-	38	50
Viscosimetrie (cP)	210	1450	3000	4200
Dimethylamine (mg N/100 g)	7	-	2	-
Vluchtige reducerende stoffen (mEq/100 g)	4	1	1.5	0.75
Vrije vetzuren (%)	38	27	20	16

De hier geciteerde waarden dienen met het nodige voorbehoud te worden gehanteerd. In de hier beschreven proeven werd de invloed van de biologische conditie van de vis (invloed van de grootte, het seizoen, de visgrond) niet bestudeerd. Deze biologische conditie kan de resultaten wijzigen (Gould en Peters, 1971; Borderias et al., 1985; Sainclivier, 1993). De gerapporteerde waarden kunnen evenmin zonder meer op andere vissoorten worden geëxtrapoleerd. Naast de reeds vermelde verschillen tussen kabeljauw en schol wordt als voorbeeld de resultaten van beperkte proeven met leng (*Molva molva*), schelvis (*Melanogrammus aeglefinus*) en wijting (*Merlangius merlangus*) weergegeven. Figuur 13 geeft de DMA- en oplosbare eiwitgehalten weer. De evolutie van deze parameters was voor de drie vissoorten verschillend. Zo greep in schelvis bijna geen DMA-vorming plaats en bleven bij leng de oplosbare eiwitwaarden zeer laag. De lage DMA-waarden in schelvis werden ook door andere auteurs vastgesteld (Shenouda, 1980).

Het grootste nut van de objectieve kwaliteitsbepalingsmethoden voor diepgevroren vis ligt evenwel in het vergelijkend onderzoek. Hierbij spelen de absolute waarden een kleinere rol en zijn de waargenomen verschillen het belangrijkste. Deze methoden kunnen o.m. worden aangewend voor de studie van de invriestechnieken en het effect van zgn. kryoprotectoren, stoffen die de eiwitdenaturatie vertragen. In ieder geval is het aan te raden minstens drie methoden te gebruiken.

Voor de kwaliteitsbeoordeling van diepgevroren vis blijft de organoleptische keuring onmisbaar. Hierbij is het echter noodzakelijk om over internationaal aanvaarde keuringsschema's te beschikken. Voor gehele of ontkopte vis werd door de West-Europese Vistechnologenassociatie, waarvan het Rijksstation voor Zeevisserij lid is, reeds een gedetailleerd schema voorgesteld (Houwing en Howgate, 1978; RVZ, 1979). Het ware aan te bevelen ook voor filets een analoog schema op te stellen. Daarbij is het noodzakelijk de training van de keurders op internationaal niveau te voorzien, ten einde de verschillen in interpretatie zoveel mogelijk weg te werken.

Conclusies

Voor de beoordeling van de "absolute" kwaliteit (bv. van onbekende monsters) van diepgevroren vis zijn de hier beschreven methoden slechts bij benadering bruikbaar. Voor vergelijkend onderzoek echter blijken zij waardevol te zijn. In ieder geval blijkt de systematisch

doorgevoerde organoleptische keuring onontbeerlijk te zijn.

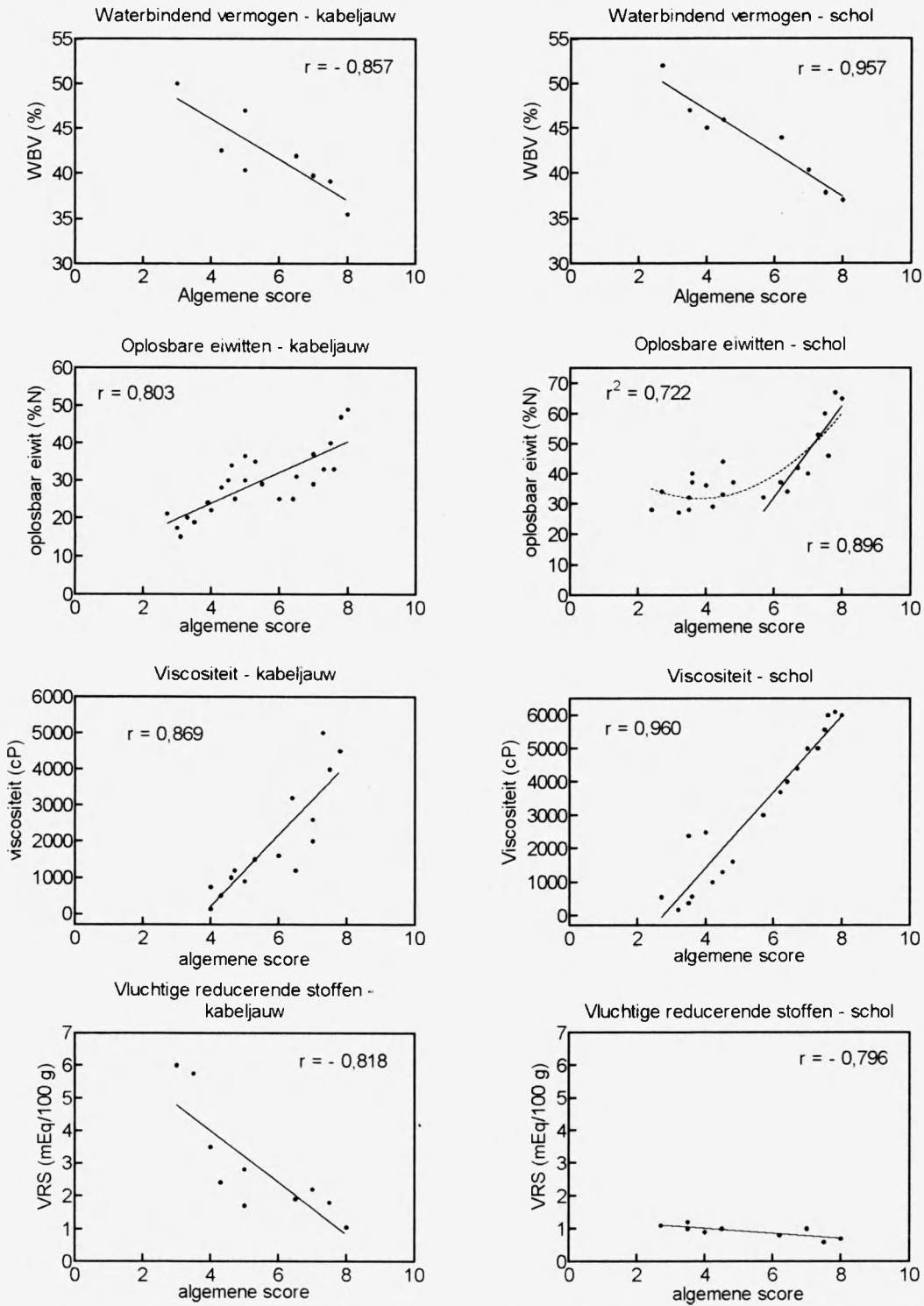


Fig. 12. Correlatie tussen de algemene kwaliteitsscore en de objectieve kwaliteitsbepalingsmethoden.

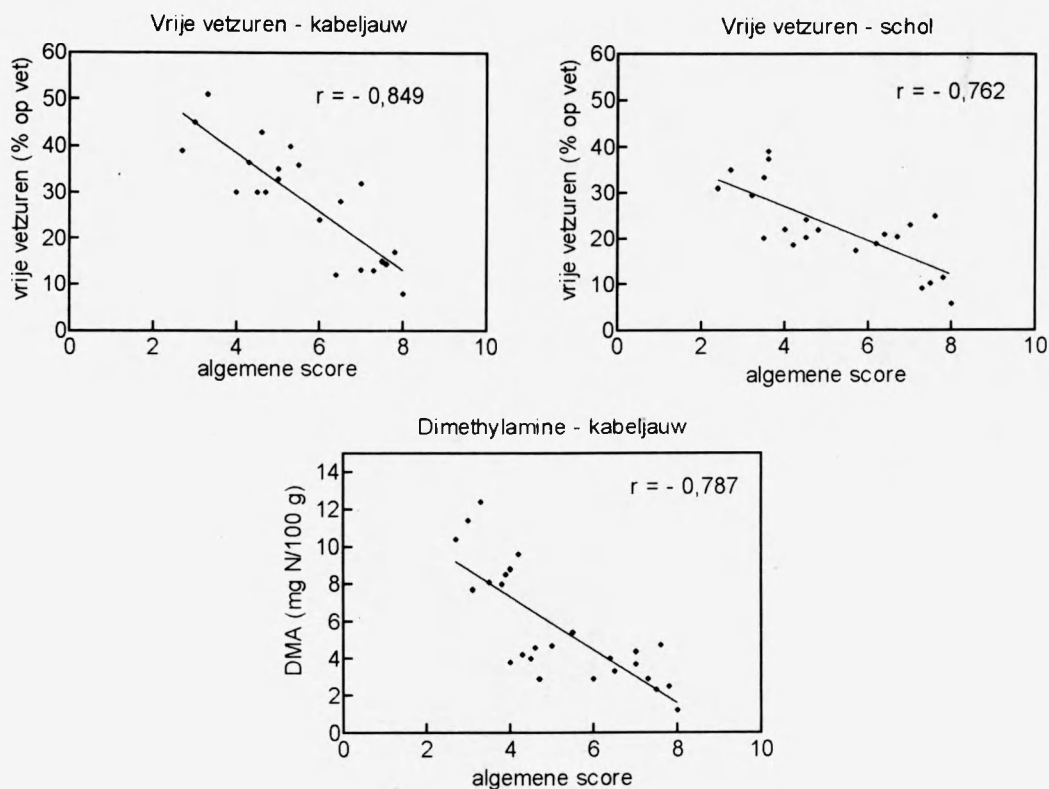


Fig. 12. (vervolg)

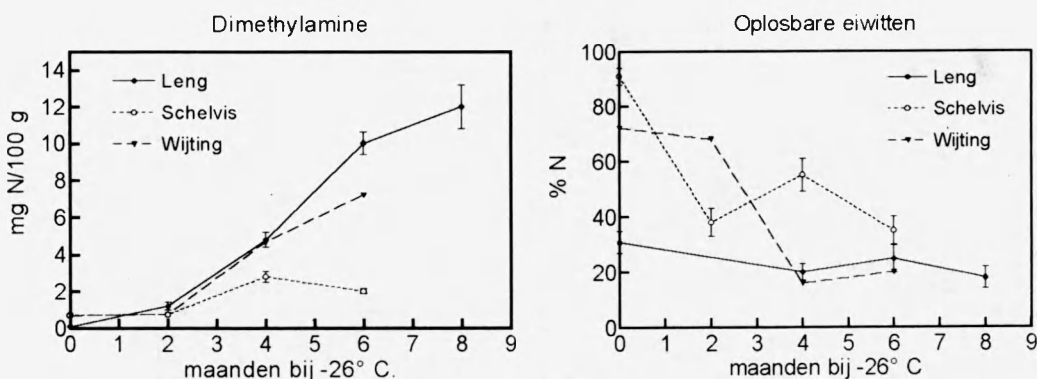


Fig. 13. Dimethylamine en oplosbare eiwitten bij leng, schelvis en wijting

Literatuur

- ANTONACOPOULOS, N. (1960) : Verbesserte Apparatur zur quantitativen Destillation wasserdampf-flüchtiger Stoffe. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung **113**, 113 - 116.
- BAINES, C., CONNELL, J., GIBSON, D., HOWGATE, P., LIVINGSTON, E. en SHEWAN, J. (1969) : in : KREUZER, R. (Ed) : Freezing and irradiation of fish, Fishing News (Books) Ltd., Londen, pp. 361-366.
- BLIGH, E. en DYER, W. (1959) : A rapid method for total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology **37**, 911 - 917.
- BORDERIAS, A., JIMENEZ-COLMENERO, F. en TEJADA, M. (1985) : Parameters affecting viscosity as a quality control for frozen fish. Marine Fisheries Review **47** (4), 43 - 45.

- BORDERIAS, A., JIMENEZ-COLMENERO, F. en TEJADA, M. (1985 b) : Viscosity and emulsifying ability of fish and chicken muscle protein. *Journal of Food Technology* **20**, 31 - 42.
- CHALKER, D., MacCALLUM, W. en IDLER, D. (1965) : Studies on the quality of Newfoundland cod. 11. Thaw-drip in polyphosphate-treated and untreated fillets. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **22**, 783 - 791.
- DYER, W. en MOUNSEY, Y. (1945) : Amines in fish muscle. II. Development of trimethylamine and other amines. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **6**, 359 - 367.
- DYER, W., FRENCH, M. en SNOW, J. (1950) : Proteins in fish muscle. 1. Extraction of protein fractions in fresh fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* **7**, 585 - 593.
- GOULD, E. en PETERS, J. (1971) : On testing the freshness of frozen fish. *Fishing News (Books) Ltd., Londen*.
- HEEN, E. en KARSTI, O. (1965) : in : BORGSTROM, G. (Ed.) : *Fish as food, volume IV*. Academic Press, New York, pp. 355 - 418.
- HENNINGS, C. (1963) : Ein neues elektronisches Schnellverfahren zur Ermittlung der Frische von Seefischen. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **119**, 461 - 477.
- HOUWING, H. en HOWGATE, P. (1978) : Quality assessment of whole fresh and frozen fish. *Eurofish Report nr 37*.
- JAUREGUI, C., REGENSTEIN, J. en BAKER, R. (1981) : A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. *Journal of Food Science* **46**, 1271 - 1273.
- JIMENEZ-COLMENERO, F., TEJADA, M. en BORDERIAS, A. (1985) : Changes in protein functionality in fish muscle. In : *Storage lives of chilled and frozen fish products*. International Institute of Refrigeration, Paris, pp. 319 - 322.
- McGILL, A., HARDY, R. en GUNSTONE, F. (1977) : Further analysis of the volatile components of frozen cold stored cod and the influence of these on flavour. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **28**, 200-205.
- ROSS, D. en LOVE, R. (1979) : Decrease in the cold store flavour developed by frozen fillets of starved cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of Food Technology* **14**, 115 - 122.
- RVZ (1979) : Kwaliteitsbepaling van verse en diepgevroren vis : Europese keuringsschema's. Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (CLO Gent) nr 146.
- SAINCLIVIER, M. (1993) : L'industrie alimentaire halieutique. Vol. IV. La conservation par les moyens physiques. 3. L'utilisation du froid. Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Rennes (France).
- SHENOUDA, S. (1980) : Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances in Food Research* **26**, 275 - 311.
- VYNCKE, W. (1970) : Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **72**, 1084-1087.
- VYNCKE, W. (1970 b) : De bepaling van de door vethydrolyse ontstane vrije vetzuren in visserijproducten. Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij nr 28.
- VYNCKE, W. (1975) : Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **77**, 239-240.
- VYNCKE, W. (1978) : Het bepalen van de oxydatieve ranzigheid in rode zeebaars (*Sebastes marinus* L.) met de thiobarbituurzuurmethode. *Landbouwtijdschrift* **31**, 1123 - 1125.

