

MINISTERIE VAN LANDBOUW

Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek

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

(Voorzitter : F. LIEVENS, Directeur-Generaal)

Waarde van de ammoniakdosering voor de objectieve kwaliteitsbepaling van visserijprodukten

W. VYNCKE

Onderwerkgroep „Behandeling Vis”

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent)

Publikatie nr. 38-BV/22/1970



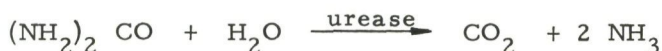
1. Inleiding.

Tijdens het bederf van vis worden diverse vluchtige stikstofbasen gevormd, nl. ammoniak, mono-, di- en trimethylamine en hogere aminen (histamine, tryptamine, enz.).

Deze vluchtige basen worden meestal samen als totale vluchtige basische stikstof (TVB) gedoseerd, die een goede objectieve kwaliteitsbepalingsmethode voor vis is.

Van de afzonderlijke componenten werd enkel trimethylamine (TMA) uitvoerig bestudeerd en is eveneens gebleken een goede objectieve laboratoriummethode te zijn.

Behalve trimethylamine is ammoniak de voornaamste base. Deze verbinding kan tijdens het bederf van de vis door verschillende reacties worden gevormd. Onder invloed van bacterieel urease wordt ureum in kooldioxyde en ammoniak omgezet (1).

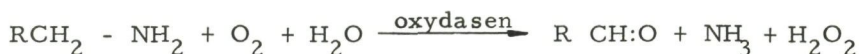


Deze reactie is vooral van belang in kraakbeenvissen (bv. rog, doornhaai) waar 1,5 à 2 % ureum voorkomt.

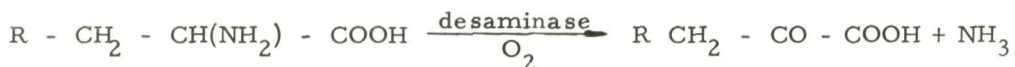
Kleine hoeveelheden worden ook door afbraak van nucleïnebasen gevormd (2).



In de gevorderde stadia van bederf geeft de oxydatie van aminen door bacteriële amine-oxydasen eveneens ammoniak (3) :



In beenvissen echter wordt ammoniak vooral gevormd door oxydatieve desaminering van vrije of van eiwitten afgesplitste aminozuren en verwante verbindingen (bv. creatine) onder invloed van bacteriële desaminasen (4).



Er valt tenslotte op te merken dat vrije ammoniak ook in de levende vis optreedt ten gevolge van de normale desamineringen tijdens het celmetabolisme, zoals bv. de overgang adenine-hypoxanthine. De concentratie schommelt tussen 5 en 25 mg N % in beenvissen en 6 en 36 mg N % in kraakbeenvissen (4).

Over de waarde van de ammoniakbepaling voor de objectieve kwaliteitsbepaling van vis verschenen weinig studies en de resultaten zijn daarenboven zeer uiteenlopend. Bepaalde auteurs (5) (6) (7) vonden in verschillende vissoorten een goede overeenkomst tussen het ammoniakgehalte en de versheidsstaat van de vis, anderen echter bekwamen minder gunstige resultaten (8) (9).

Om deze reden werd besloten het verloop van het ammoniakgehalte tijdens het bederf van een reeks visserijprodukten na te gaan. De studie werd op vier typische vertegenwoordigers van de beenvissen doorgevoerd, nl. kabeljauw, een magere rondvis, schol, een magere platvis, rode zeebaars, een halfvette vis en haring, een vette vis. Verder werden ook twee kraakbeenvissen, nl. doornhaai en hondshaai en twee schaaldiersoorten nl. garnaal en Noorse kreeft onderzocht. Er valt te noteren dat voor doornhaai, garnaal en Noorse kreeft reeds vroeger gunstige resultaten werden bekomen (10) (11) (12) ; deze soorten werden echter ter bevestiging nogmaals in het onderzoek opgenomen.

2. Experimentele methoden.

2.1. Vis- en schaaldierssoorten :

- Kabeljauw (*Gadus morhua* L) van ca 3 kg per stuk
± 4 dagen oud, periode oktober-december.
- Schol (*Pleuronectes platessa* L) van ca 250 g per stuk
± 3 dagen oud, periode oktober-december.
- Rode zeebaars (*Sebastes marinus* L) van ca 1 kg per stuk
± 7 dagen oud, periode februari-april.
- Haring (*Clupea harengus* L) van ca 165 g per stuk
± 2 dagen oud, periode september-november (volle haring -10 à 15 %
vet).
- Doornhaai (*Squalus acanthias* L) van ca 800 g per stuk,
± 5 dagen oud, periode december-maart.
- Hondshaai (*Scylliorhinus canicula*) van ca 800 g per stuk,
± 5 dagen oud, periode december-maart.
- Garnaal (*Crangon vulgaris* Fabr.) van ca 1 dag oud,
periode augustus-september.
- Noorse kreeft (*Nephrops norvegicus* L), ca 4 dagen oud,
periode juli-augustus.

Rode zeebaars was afkomstig van IJsland, de overige vis- en schaaldierensoorten van de Noordzee. Do doorn- en hondshaaien werden vóór het begin van de proeven ontkopt en gestroopt, zoals gebruikelijk in de commerciële praktijk. De garnalen waren gekookt aan boord, de Noorse kreeft aan land, enkele uren na het lossen.

2.2. Chemische methoden.

- Ammoniak : volgens de versnelde mikrodifusiemethode die vroeger werd op punt gesteld (11) (13).

- Totale vluchtige basische stikstof (TVB) : volgens de methode van Lücke en Geidel (14), doch met de stoomdestillatie -apparatuur van Antonacopoulos (15).

- Trimethylamine (TMA) : volgens de methode van Dyer (16), maar op 2 ml van het destillaat van de TVB-methode.

2.3. Uitvoering.

De vissoorten werden in twee monsters ingedeeld. Een eerste monster werd rechtstreeks in ijs bewaard in een frigo bij 0°C. Ten einde het bederf te bespoedigen en tevens een inzicht in de invloed van de temperatuur te bekomen, werd een tweede monster eerst gedurende 15 uur bij 15° C bewaard vooraleer afgeijst en in de frigo bewaard te worden.

De schaaldieren werden rechtstreeks bij twee verschillende temperaturen, nl. 0° en 20° C, opgeslagen.

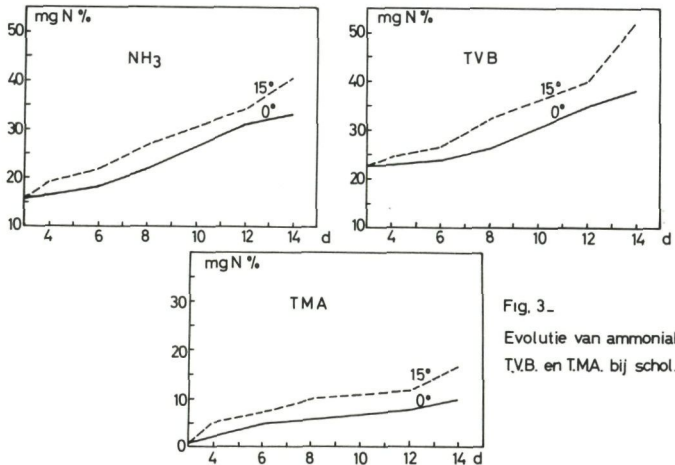
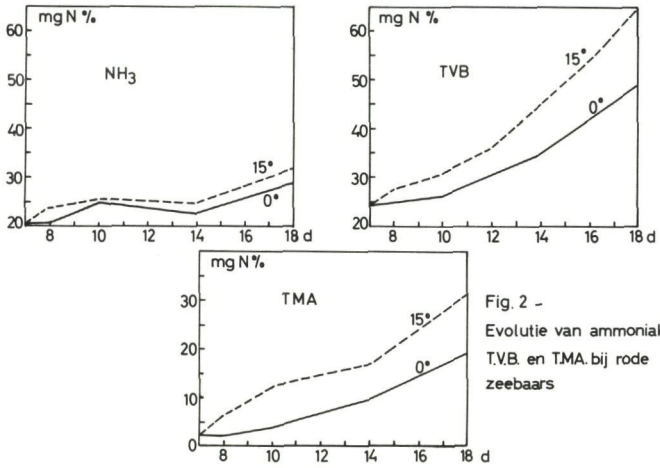
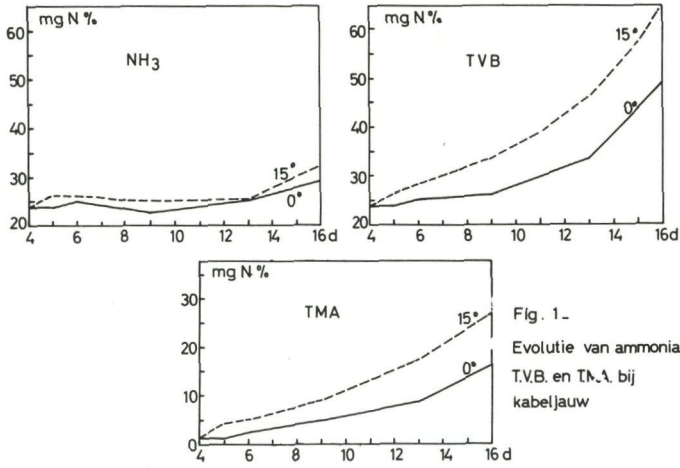
Op regelmatige tijdstippen werd dan een deel van de proefvis (5 à 10 vissen en 1 kg schaaldieren) aan de drie objectieve kwaliteitsbepalingen onderworpen.

Voor de kraakbeenvissen werd enkel de ammoniakbepaling uitgevoerd, daar TVB en TMA geen betrouwbare methoden zijn (11) (12).

Alle experimenten werden vijfmaal op verschillende tijdstippen herhaald.

3. Resultaten en discussie.

De resultaten van de diverse individuele proeven waren vrij analoog, zodat een gemiddelde waardecijfer kon worden genomen. Deze gemiddelde resultaten zijn in figuren 1 tot 7 grafisch weergegeven.



3.1. Beenvissen.

Bij kabeljauw (figuur 1) en rode zeebaars (figuur 2) werd vastgesteld dat de ammoniakwaarden weinig varieerden en rond de 25 mg N % schommelden. Alleen op het einde van de bewaarperiode werd een lichte stijging tot ca 30 mg N % genoteerd. Dit wijst erop dat de bacteriële desaminasen slechts in de nabijheid van de grens van bederf een significante rol spelen. Deze grens werd ongeveer bereikt na respectievelijk 15 en 12 dagen voor de proef bij 0° en bij 15° C bij kabeljauw en na respectievelijk 14 en 12 dagen bij rode zeebaars.

Gedurende de opwarmingsperiode van 15 uren bij 15° C werden deze desaminasen evenwel geactiveerd daar het vrije ammoniakgehalte met 3 à 4 mg N % steeg. Tijdens de verdere bewaring in ijs bleven de waarden echter parallel aan deze van de proef bij 0° C.

De TVB- en TMA-waarden daarentegen vertoonden een duidelijke stijging en de bederfcurve van de aan 15° C onderworpen proef liep duidelijk hoger op dan bij de proef bij 0° C. Beide bepalingen kenden tot de 13de of 14de dag een zeer analoog verloop, hetgeen erop wijst dat in deze periode de vermeerdering in vluchtige basische stikstof uitsluitend aan TMA te wijten was. Na deze periode kwam, zoals reeds vermeld, een hoeveelheid ammoniak vrij.

Voor schol werd een ander beeld bekomen (figuur 3). De ammoniak steeg op vrij analoge wijze als de TVB en de invloed van de temperatuur (proef bij 15° C) was duidelijk te onderscheiden. TMA daarentegen kende een vlakker verloop ; deze test is dan ook bij schol minder gevoelig dan de TVB- of de ammoniakbepaling. De grens van bederf werd bij 0° C na 14 dagen bereikt. Voor vis die aan 15° C werd blootgesteld was dit 11 dagen.

Bij haring (figuur 4) vertoonde ammoniak gedurende ca 10 dagen ongeveer hetzelfde vlakke verloop als bij kabeljauw en rode zeebaars. Op het einde van de bewaarperiode, wanneer de vis praktisch bedorven was, werd echter een scherpere stijging waargenomen, nl. ca 10 mg N % i. p. v. ca 5 mg N % voor kabeljauw en rode zeebaars.

De kurve van de proef bij 15° C tenslotte lag duidelijk gescheiden, hetgeen erop wijst dat haring gevoeliger is aan temperatuurinvloeden. De TVB- en TMA-bepalingen bevestigden dit trouwens. Bij 0° C was de haring na 10 dagen bedorven. De opwarmingsproef gaf ongeveer 6 dagen.

De redenen voor het verschillend bedrag van schol werden nog niet verder onderzocht, gezien de huidige studie tot doel had de waarde van de ammoniakbepaling voor het objektieve kwaliteitsonderzoek na te gaan. Men kan er evenwel op wijzen dat deze redenen te zoeken zijn ofwel in een gewijzigde mikroflora, waardoor meer bakteriële desaminasen worden gevormd, ofwel dat de aktiviteit van de desaminasen wordt gestimuleerd door de aanwezigheid van bepaalde synergisten, die in andere rondvissoorten niet voorkomen of de afwezigheid van inhibitoren die in deze soorten wel een rol spelen.

3.2. Kraakbeenvissen.

Zoals vermeld, ontstaat bij kraakbeenvissen de overgrote meerderheid van de ammoniak door hydrolyse van het overvloedig aanwezig ureum (ca 2 %) door toedoen van bakteriëel urease. Bij doornhaai werd tot 8 dagen slechts een kleine vermeerdering van het ammoniakgehalte waargenomen (figuur 5). Na deze periode echter liepen de waarden vlug op om na 15 dagen respektievelijk 105 en 80 mg N % voor de proeven bij 15° en bij 0° C te bereiken. De grens van bederf lag ongeveer bij 11 dagen (15° C) of 13 dagen (0° C).

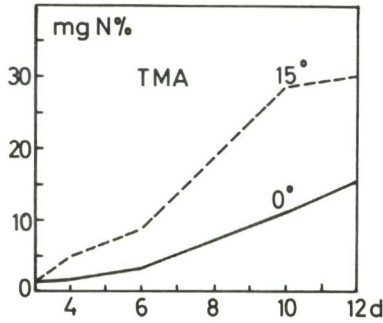
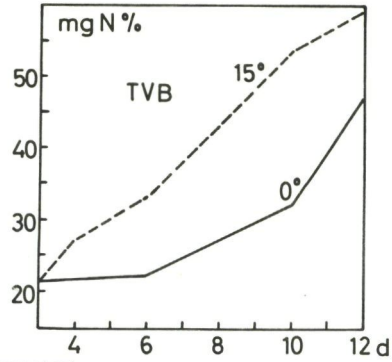
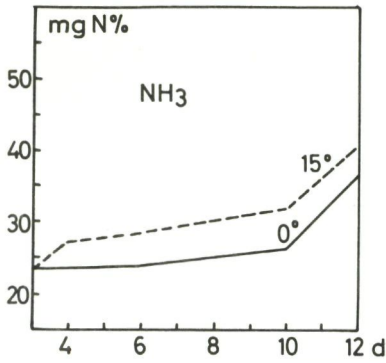


Fig. 4 -

Evolutie van ammoniak, T.V.B. en T.M.A. bij haring

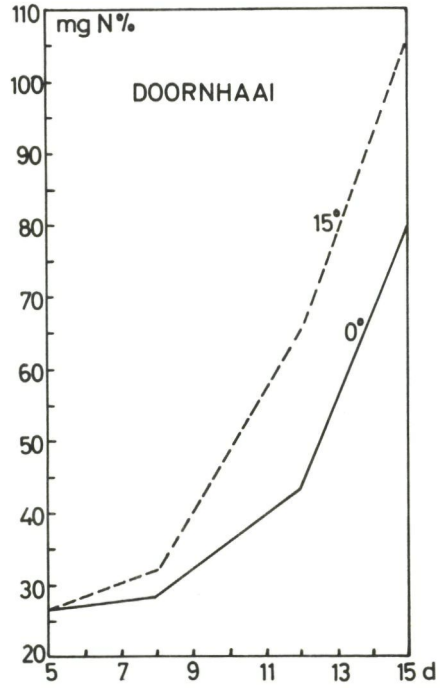
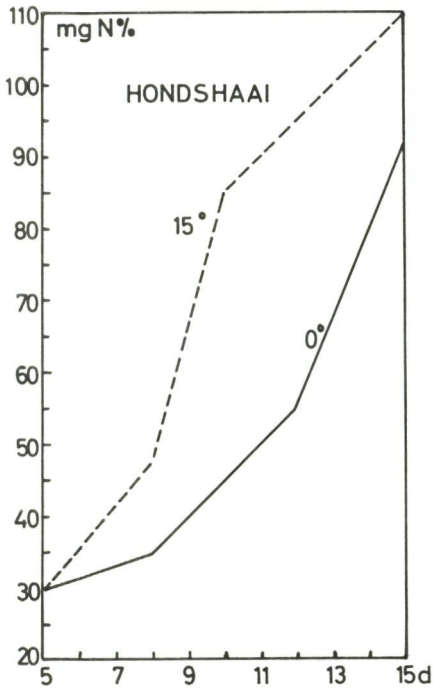


Fig. 5- Evolutie van ammoniak bij hondshaai en doornhaai

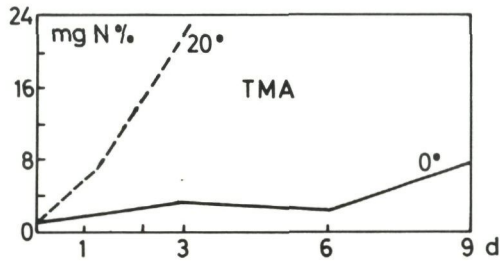
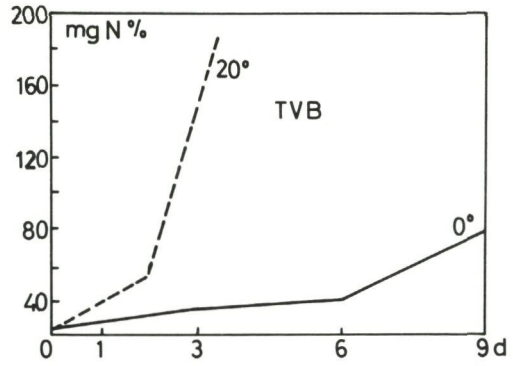
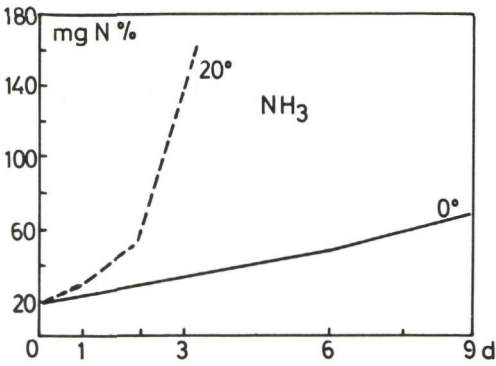


Fig. 6 -
Evolutie van ammoniak,
TVB. en TMA. in gar-
nalen

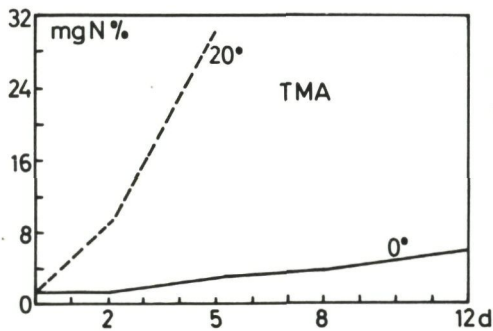
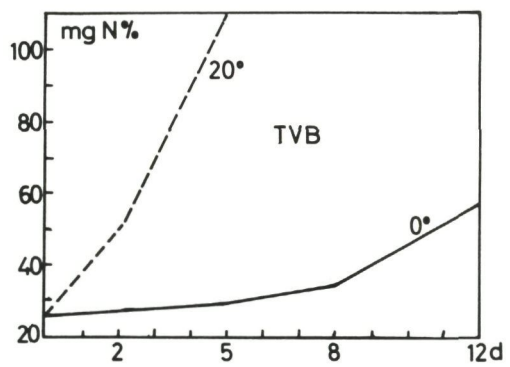
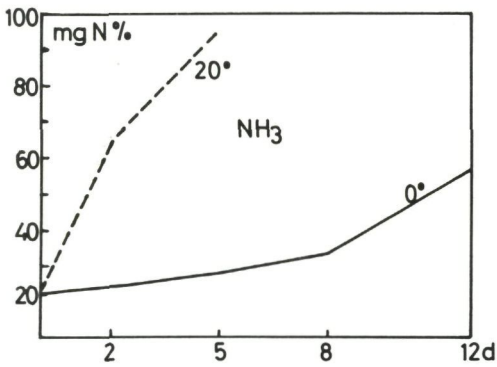


Fig. 7 -
Evolutie van ammoniak,
TVB en TMA tijdens
het bewaren van
Noorse kreeft

Bij hondshaai begon het ammoniakgehalte vroeger te stijgen en bereikte hogere waarden (110 en 92 mg N %). Dit volgde trouwens ook uit de organoleptische keuring : de grens van bederf werd vroeger bereikt dan bij doornhaai (respektievelijk 9 en 12 dagen).

Hondshaai bleek trouwens gevoeliger aan warmte-invloeden te zijn ; de ammoniakkurve voor de proef bij 15° C steeg dan ook vlugger dan bij doornhaai.

De redenen voor het verschillend gedrag van deze twee nochtans verwante kraakbeenvissen zijn ongetwijfeld dezelfde die in 2.1. werden vermeld. Zij zijn te zoeken in een gewijzigde bederfflora en/of in een gewijzigde samenstelling van het visvlees. In dit verband kan erop gewezen worden dat tijdens vroegere proefnemingen kon worden vastgesteld dat kleine doornhaaien vlugger bederven dan grote (12). Deze reden kan hier evenwel niet worden weerhouden, daar van beide vissoorten individuen van ongeveer dezelfde grootte werden genomen (ca 800 g). Welke de uitleg ook zij, er kan worden besloten dat hondshaai vlugger dan doornhaai bederft en dat de ammoniakbepaling vrij goed met de organoleptische keuring overeenkomt.

3.3. Schaaldieren.

Voor garnalen (figuur 6) en Noorse kreeft (figuur 7) viel een goede overeenkomst tussen TVB en ammoniak op. Ook de temperatuurinvloed (bewaring bij 20° C) kwam zeer klaar tot uiting. Daar de TVB hoofdzakelijk uit ammoniak en TMA bestaat, is het duidelijk dat het TMA-gehalte in deze omstandigheden minder vlug zal stijgen. Dit blijkt uit figuren 6 en 7. De TMA-bepaling is dan ook bij schaaldieren minder gevoelig. Bij 20° C waren beide schaaldiersoorten na ongeveer 2 dagen bedorven ; bij 0° C was dit na respektievelijk 8 en 11 dagen voor garnalen en Noorse kreeft. Er dient hierbij te worden

opgemerkt dat de houdbaarheid van gekookte schaaldieren afhangt van de kookwijze (zoutgehalte, kookduur, enz.). Voor de hier beschreven monsters waren hierover geen preciese gegevens beschikbaar.

Uit de proeven is gebleken, dat de waarde van de ammoniakdosering voor de objektieve kwaliteitsbepaling van beenvissen beperkt is.

Bij kabeljauw, rode zeebaars en haring vertoonden de ammoniakgehalten gedurende het bewaren van de vis weinig verschil en kwamen met de organoleptische keuring niet overeen.

Alleen bij schol werd een goede overeenkomst genoteerd, maar zelfs in dit geval gaf de TVB-bepaling een nog beter beeld van het kwaliteitsverloop

Alhoewel de ammoniakbepaling als objektieve kwaliteits-test bij beenvissen - althans voor de hier onderzochte soorten - weinig nut heeft, toch heeft de methode ongetwijfeld waarde voor meer gevorderde bederfstudies en vooral in deze gevallen waar de vis niet meer in "normale" omstandigheden in ijs wordt bewaard (bv. voorverpakte vis, met conserveermiddelen behandelde vis enz.). De ammoniakbepaling laat immers toe een goed beeld van de desamineringen en van de proteolyse te bekomen.

Bij kraakbeenvissen is de ammoniakbepaling echter waardevol en komt goed met de organoleptische keuring overeen. De methode is des te nuttiger, daar voor kraakbeenvissen weinig objektieve kwaliteitsbepalingsmethoden bestaan. De grens van bederf kan op 55-60 mg N % worden gesteld.

Voor schaaldieren tenslotte heeft de ammoniakdosering praktisch dezelfde waarde als de TVB-bepaling en vormt dan ook een alternatieve methode voor deze laatste test. Als grens van bederf kan 45-50 mg N % worden genomen.

Samenvatting.

Om de waarde van de ammoniakdosering voor de objectieve kwaliteitsbepaling van visserijprodukten na te gaan werd een reeks bewaarproeven op kabeljauw, rode zeebaars, schol, haring, doornhaai, hondshaai, Noorse kreeft en garnalen uitgevoerd. Naast ammoniak werden de totale vluchtige basische stikstof (TVB) en het trimethylamine (TMA) bepaald.

Uit de proeven is gebleken dat de waarde van de methode bij beenvissen beperkt is. Bij kabeljauw, rode zeebaars en haring vertonen de ammoniakgehalten gedurende het bewaren van de vis weinig verschil en komen niet overeen met de organoleptische keuring. Alleen bij schol wordt een goede overeenkomst genoteerd, maar zelfs in dit geval geeft de TVB-bepaling een nog beter beeld van het kwaliteitsverloop.

Bij kraakbeenvissen is de ammoniakbepaling echter waardevol en komt goed met de organoleptische keuring overeen.

Voor schaaldieren tenslotte heeft de ammoniakdosering praktisch dezelfde waarde als de TVB-bepaling, en is dan ook een alternatieve methode voor deze laatste test.

Literatuur.

- (1) Simidu, W. en Oisi, K. (1951) : Bull. Jap. Soc. Scient. Fish. 16, 423.
- (2) Tarr, H. (1966) : J. Food Sc. 31, 846.
- (3) Richter, D. (1937) : Biochem. J. 31, 2022.
- (4) Soudan, F. (1965) : La Conservation par le Froid des Poissons, Crustacés et Mollusques, J.B. Baillière et Fils, Paris.
- (5) Partmann, W. (1951) : Z. Lebensmitt. -Unters. u. Forsch. 93, 341.
- (6) Treiber, H. (1959) : Deutsche Lebensmittel-Rundschau 6, 146.
- (7) Bailey, M., Fieger, E. en Novak, A. (1956) : Food Res. 21, 611.
- (8) Shewan, J. (1949) : J. Roy. Sanit. Inst. 69, 394.
- (9) Sigurdsson, G. (1947) : Anal. Chem. 19, 892.
- (10) Vyncke, W. en Merlevede, E. (1963) : Arch. Belg. Méd. Soc. Hyg. 21, 147.
- (11) Vyncke, W. (1968) : Fish. News Int. 7, 49.
- (12) Vyncke, W. (1969) : Bijdrage tot de studie van de extraheerbare stikstofverbindingen in doornhaai (*Squalus acanthias* L.) en de evolutie ervan tijdens het bewaren in ijs. Rijksstation voor Zeevisserij, Oostende, publikatie nr. 29.
- (13) Vyncke, W. (1967) : De bepaling van vrije ammoniak in visserijprodukten door versnelde mikrodifusie, Rijksstation voor Zeevisserij, Oostende, publikatie nr. 14.
- (14) Lucke, F. en Geidel, W. (1935) : Z. f. Lebensmittel Unters. 70, 441.
- (15) Antonacopoulos, N. (1960) : Z. f. Lebensmitt. -Unters. u. Forsch. 113, 113.
- (16) Dyer, W. (1959) : J. of the A.O.A.C. 42, 292.



C.L.O. Offset-Repro-Fotografie

