

Verkefnaskýrsla til
Rannsóknarráðs Íslands 15 - 00



Rannsóknastofnun
fiskiðnaðarins

NÓVEMBER 2000

**NÁKVÆM GEYMSLUÞOLSSPÁLÍKÖN
FYRIR FISK**

**Hitaferlar, örveruvaxtartilraunir,
rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir**

Guðrún Ólafsdóttir
Jóhann Örlygsson
Sigrún Jónsdóttir
Ágúst Vilhjálmsson
Hélène L. Lauzon
Rósa Jónsdóttir



<i>Titill / Title</i>	Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir		
<i>Höfundar / Authors</i>	Guðrún Ólafsdóttir, Jóhann Örlygsson, Sigrún Jónsdóttir, Ágúst Vilhjálmsson, Hélène L. Lauzon og Rósa Jónsdóttir		
<i>Skýrsla Rf / IFL report</i>		<i>Útgáfudagur / Date:</i>	Nóvember 2000
<i>Verknr. / project no.</i>	1434	<i>Rannís no.</i>	990120099
<i>Styrktaraðilar / funding:</i>	RANNÍS		
<i>Ágríp á íslensku:</i>	<p>Markmið verkefnisins er að afla þekkingar um vöxt sérhæfðra skemmdarörvera (SSÖ) og myndun niðurbrotsefna í fiski. Upplýsingarnar verða notaðar til þess að stuðla að þróun hraðvirkra aðferða til þess að meta gæði fisks og gera geymsluþolsspálíkön. Skýrslunni er skipt í kafla sem fjalla um eftirfarandi: stöðu þekkingar (kafla 1), samantekt á gögnum um hitaferil hráefnis frá veiðum til fullunninnar neytendavöru (kafla 2). Þriðji kafla fjallar um undirbúning mæliaðferða fyrir örverur og örveruvaxtartilraunir með sérhæfðum skemmdarörverum (<i>Pseudomonas I</i>, <i>Pseudomonas II</i> teg. og <i>S. putrefaciens</i>). Í 4. kafla er sagt frá endurbótum sem gerðar hafa verið á rafnefinu FreshSense, sem mælir niðurbrotsefni örvera á fljótvirkan hátt. Þar er gert grein fyrir skipulagi, sem sett hefur verið upp fyrir mat á aðferð til að fylgjast með ástandi tækisins. Gerð er samantekt samkvæmt þessu skipulagi á staðlamælingum, til að sýna fram á endurtekningshæfni og nákvæmni tækisins. Einnig voru gerðar geymslutilraunir á heilli ýsu og ýsuflökum á mismunandi árstíðum (kafla 5) og gögnin notuð til að búa til PLS-spálíkön byggð á rafnefsgögnum og hefðbundnum örverumælingum og skynmati.</p>		
<i>Lykilorð á íslensku:</i>	sérhæfðar skemmdarörverur, samspil örvera, hitabreytingar, skemmdarvísar, spálíkön		



The aim of the project is to study the growth of specific spoilage organisms (SSO) and their metabolites in fish. The information provided will be used for further development of rapid methods to evaluate the quality of fish and to develop predictive models. The report includes the following chapters: chapter 1 is introduction, chapter 2 is a summary of typical temperature profiles for raw material throughout the chill chain. The third chapter discusses method development for microbial growth studies of SSO (*Pseudomonas* I, *Pseudomonas* II spp. og *S. putrefaciens*). Chapter 4 describes modification of the electronic nose FreshSense, that rapidly measures microbial metabolites. A plan for the evaluation of the performance of the instrument has been developed to assess the repeatability and accuracy of the FreshSense measurements. In chapter 5 are the results of storage experiments on whole haddock and skinned fillets from different seasons and preliminary testing of using predictive models (PLS) based on electronic nose data, traditional microbial data and sensory analysis.

English keywords: microbial metabolites, spoilage indicators, spoilage organism, microbial interaction, temperature fluctuations, predictive models

EFNISYFIRLIT

1. Kafli Inngangur og staða þekkingar	3
1.1. Inngangur.....	5
1.1. Staða þekkingar	6
1.1.1. Þörf fyrir aðferðir til að meta ferskleika fisks.....	6
1.1.2. Skemmd í fiski af völdum örvera	6
1.1.3. Mælingar á rokgjöörnum niðurbrotsefnum sem myndast í fiski	8
1.1.4. Gerð spálíkana	10
1.1.5. Hitasveiflur	11
1.3. HEIMILDIR	11
2. Kafli Hitaferlar fyrir hráefni frá veiðum til neytenda.....	15
2.1. Inngangur.....	17
2.2. Hitaferill frá veiðum í gegnum vinnslu og flutningar með flugi.....	17
2.2.1. Sumar-hitaferill.....	18
2.2.2. Vetrar-hitaferill	22
2.3. Hitaferill frá fiskmarkaði til fiskisala	25
2.4. Hitaferill í frystihúsi	27
2.5. Ályktanir og umræður	29
3. Kafli Vöxtur <i>Pseudomonas</i> I, <i>Pseudomonas</i> II og <i>Shewanella putrefaciens</i> við loftháðar og loftfirrðar aðstæður við stöðugt og breytilegt hitastig	30
3.1. INNGANGUR.....	32
3.2. FRAMKVÆMD	32
3.2.1. Fortilraunir: Vöxtur baktería á mismunandi ætum.....	32
3.2.2. Þróun á fiskextrakti.....	33
3.2.3. Grunnefnaskipti <i>Pseudomonas</i> I - II tegunda og <i>Shewanella putrefaciens</i>	33
3.2.4. Ræktun stofna í fiskextrakti og mæling niðurbrotsefna með rafnefni.....	34
3.3. NIÐURSTÖÐUR	34
3.4. UMRÆÐUR OG ÁLYKTANIR	42

4. Kafli	Ákvörðun á rokgjörnum efnum með rafnefi - Uppsetning og þróun aðferða fyrir niðurbrotsefni	44
4.1.	INNGANGUR	46
4.2.	FRAMKVÆMD	47
4.2.1.	Mælingar á stöðlum	47
4.2.2.	Úrvinnsla á gögnum	47
4.3.	NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR	48
4.3.1.	Mat á aðferð	48
4.3.1.1.	Aðgreiningarhæfni (specificity)	48
4.3.1.2.	Staðalkúrfa	49
4.3.1.3.	Samkvæmni (precision)	51
4.3.1.4.	Hittni (accuracy)	53
4.3.1.5.	Styrksvið, mælisvið	53
4.3.1.6.	Greiningarmörk (limit of detection)	53
4.3.1.7.	Magngreiningarmörk (limit of quantification)	53
4.3.1.8.	Áreiðanleiki (robustness)	53
4.3.1.9.	Næmni (sensitivity)	54
4.3.2.	Upphafs- og lokagildi rafnefs við endurteknar mælingar á etanóli	54
4.4.	ÁLYKTANIR	57
4.5.	HEIMILDIR	58
	VIÐAUKI 4. kafli	i
5. Kafli	Geymslutilraunir á ýsu og spálíkön	59
5.1.	INNGANGUR	61
5.2.	Framkvæmd	61
5.2.1.	Geymslutilraun á heilli slægðri ýsu í ís - maí 1999	61
5.1.1.	Geymslutilraun á heilli slægðri ýsu í ís - september 1999	62
5.1.2.	Geymslutilraun á ýsuflokum í kæli - maí 2000	62
5.1.3.	Rafnefsmælingar	62
5.1.4.	Örverumælingar	63
5.1.5.	Skynmat	63
5.1.6.	Úrvinnsla gagna	63
5.3.	Niðurstöður og umræður	64
5.3.1.	Niðurstöður rafnefs, skynmats og örverumælinga	64
5.3.2.	Höfuðþáttgreining á rafnefsgögnum	67
5.3.3.	Spálíkanagerð fyrir rafnefsmælingar	70
5.4.	Ályktanir	71
5.5.	HEIMILDIR	78
	Viðauki 5. kafli	i

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 1. kafli.

1. kafli

Inngangur og staða þekkingar

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 1. kafli.

EFNISYFIRLIT

1. KAFLI	4
INNGANGUR OG STAÐA ÞEKKINGAR	4
1.1. INNGANGUR.....	5
1.1. STAÐA ÞEKKINGAR.....	6
1.1.1. Þörf fyrir aðferðir til að meta ferskleika fisks.....	6
1.1.2. Skemmd í fiski af völdum örvera.....	6
1.1.3. Mælingar á rokgjörnum niðurbrotsefnum sem myndast í fiski	8
1.1.4. Gerð spálíkana	10
1.1.5. Hitasveiflur	11
1.3. HEIMILDIR	11

1.1. INNGANGUR

Áhugi á ferskum eða kældum matvælum í stað frosinna fer vaxandi. Lág hitastig við geymslu á ferskum fiski er frumskilyrði þess að varðveita neyslugæði hans. Vegna þess hvernig veiðum og dreifingu á fiski er háttáð, er oft erfitt að stjórna hitastigi vörunnar. Rannsóknir á möguleikum þess að nota örveruvaxtalíkön til að spá fyrir um geymsluþol matvæla hafa sýnt fram á að við gerð spálíkana er nauðsynlegt að hafa gögn þar sem tekið er tillit til hitasveifla og sérhæfðra skemmdarörvera frekar en heildarörverutalninga. Í verkefninu verður fylgst með hitastigi hráefnis frá veiðum og í framleiðsluferli fyrir ferskan fisk og kannað verður áhrif hitasveifla. Aflað verður þekkingar um samspil sérhæfðra skemmdarörvera (SSÖ) við mismunandi hitastig og mæld þau niðurbrotsefni sem myndast við viðkomandi aðstæður. Hefðbundnar aðferðir sem notaðar eru til að mæla örveruvöxt eru seinvirkar og áhugi er á því að geta mælt fjölda SSÖ og niðurbrotsefni á fljótvirkan hátt. Í verkefninu verður kannað hvort unnt sé að nota fljótvirkar mælingar um ástand hráefnis við notkun spálíkana um geymsluþol. Ennfremur fást upplýsingar um niðurbrotsefni eða skemmdarvísa, sem nýtast til að þróa frekar rafnef sem getur á fljótvirkan hátt mælt niðurbrotsefni sem myndast við skemmd matvæla.

Meginmarkmið verkefnisins er að safna upplýsingum um vöxt sérhæfðra skemmdarörvera (SSÖ) og myndun niðurbrotsefna í fiski. Upplýsingarnar verða notaðar til þess að stuðla að þróun hraðvirkra aðferða til þess að meta gæði fisks og gera geymsluþolsspálíkön. Sérstök áhersla verður lögð á að athuga notkunarmöguleika slíkra líkana á fisk sem hefur orðið fyrir hitastigssveiflum í framleiðsluferlinu. Þessum markmiðum verður náð með eftirfarandi:

- 1) að gera úttekt á dæmigerðum hitaferli fyrir ferskan fisk, sérstaklega þó hitastigssveiflum sem verða í öllu ferlinu frá veiðum til neytenda.
- 2) að gera geymsluþolstilraunir á ferskum fiski sem tekinn verður á mismunandi stöðum í vinnsluferlinu
- 3) að rannsaka efnaskipti SSÖ við breytilegar umhverfisaðstæður.
- 4) að nota upplýsingar um fjölda SSÖ og/eða niðurbrotsefni sem þær framleiða til þess að búa til geymsluþolsspálíkön.

1.1. STAÐA ÞEKKINGAR

1.1.1. Þörf fyrir aðferðir til að meta ferskleika fisks

Í tilskipunum Evrópusambandsins um ferskleikamat á fiski er kveðið á um að nota skynmat samkvæmt svonefndum EB flokkunarskala (E,A,B). Ef um er að ræða efasemdir um flokkun hráefnis, er mælt með að nota mælingu á reikulum bösum (TVN: total volatile nitrogen) og heildarörverufjölda til að meta ferskleika. Mikil gagnrýni hefur komið fram um notagildi þessara mælinga til að meta ferskleika fisks. Í Evrópuverkefninu "Evaluation of fish freshness" (AIR3CT94 2283) sem var samskiptaverkefni 14 Evrópuþjóða um aðferðir til að meta ferskleika fisks var niðurstaðan sú að mikil þörf er fyrir samræmdar og áreiðanlegar mæliaðferðir til að meta ferskleika fisks. Sú fiskflokkun sem lýst er í tilskipunum ESB fullnægir engan veginn þeim kröfum sem gerðar eru í dag til gæðamats á fiski. Ýmsar aðferðir hafa verið þróaðar til að meta hinar flóknu breytingar sem verða á fiski við skemmd. Sú aðferð sem mest er notuð í iðnaðinum í dag er skynmat. Mikill áhugi er bæði hjá rannsóknastofnunum í Evrópu og hagsmunaaðilum í fiskiðnaði að samræma og bæta skynmatsaðferðir og mælt hefur verið sérstaklega með svokallaðri gæðastuðulsaðferð (Quality Index Method: QIM). Varðandi örverumælingar hefur verið bent á að raunhæfara sé að mæla sérhæfðar skemmdarörverur í stað þess að nota mælingar á heildarörverufjölda til þess að meta ferskleika hráefnis. Undanfarin ár hefur komið fram mikill áhugi á því að nota spálíkön til að meta geymsluþol viðkvæmrar vöru eins og fisks. Raunhæf spálíkön eru háð því að geta notað fljótvirkar mæliaðferðir til að meta ástand hráefnis. Bundnar eru vonir við að fljótvirk mæling með rafnefi á niðurbrotsefnum, sem myndast við skemmd, geti nýst við spálíkanagerð og notkun þeirra.

1.1.2. Skemmd í fiski af völdum örvera

Skemmd á ferskum fiski er fyrst og fremst af völdum örvera. Mat á geymsluþoli á ferskum fiski hefur því stuðst við heildarörverufjölda í hráefninu. Þetta er hins vegar þeim takmörkunum háð að fjölda örvera og skynmat hráefnis fer ekki alltaf saman. Ein

ástæða fyrir þessu gæti verið að upphafs fjöldi baktería er breytilegur í mismunandi hráefni vegna ólíkrar sögu (meðhöndlun og vinnsla) þess. Einnig hefur verið mjög erfitt að staðla heildarörverumælingar. Bent hefur verið á að einungis hluti af upphaflegri örveruflóru veldur skemmdum. Þær örverur sem skipta mesta máli sem skemmdarvaldar í ferskum fiski eru kallaðar sérhæfðar skemmdarörverur (SSÖ). Komið hefur í ljós að vinnsluferlið og geymsluaðferðir sem notaðar eru til geymslu á ferskum fiski hafa mikil áhrif á samsetningu örveruflórunnar.

Pseudomonas tegundir og *Shewanella putrefaciens* eru taldar vera sérhæfðar skemmdarörverur hefðbundins ísaðs fisks, óháð uppruna hans (Gram og Huss, 1996). Því hefur jafnvel verið haldið fram að *S. putrefaciens* væri aðalskemmdarvaldur í fiski sem geymdur er á ís í loftgeymslu (Jørgensen o.fl., 1988). Þetta er aðallega vegna eiginleika þessarar örveru við að mynda rok gjörn brennisteins- og amínefnasambönd. Aftur á móti stangast sumar rannsóknir hér á. Í fyrsta lagi vegna þess að fjöldi *S. putrefaciens* í skemmdum fiski hefur verið breytilegur, allt frá því að vera 0-10% af heildarflórunni í það að vera ríkjandi hluti hennar (Woyewoda o.fl., 1984; Stenström, 1985; Jørgensen o.fl., 1988; Dalgaard o.fl., 1993; Magnússon og Martinsdóttir, 1995; Einarsson og Lauzon, 1996). Í öðru lagi vegna þess að mikinn fjölda þarf af örverunni ($10^{8-9}/g$) áður en skemmdareinkenni koma fram (Jørgensen og Huss, 1989; Dalgaard, 1995). En slíkur örverufjöldi er langt yfir þeim mörkum þegar fiski er hafnað samkvæmt skynmati. Einnig hafa örverusamkeppnistilraunir á Rf (Lauzon, 1997) sýnt fram á að *Pseudomonas* tegundir (II) hafa hindrandi áhrif á vöxt *S. putrefaciens*, en slík áhrif eru háð hitastigi. Þetta gæti bent til þess að forsaga hráefnisins, svo sem hitasveiflur, kunni að skýra þennan mismun sem hefur komið fram í hinum mismunandi rannsóknunum. Samkeppni milli örvera er vissulega mjög mikilvægur þáttur í skemmdarferli fersks fisks en ytri þættir eins og hitastig og samsetning lofttegunda skipta einnig verulega máli. Einnig gæti verið að önnur örverutegund eigi þátt í skemmdarferli ísaðs fisks. Nýlegar rannsóknir hafa sýnt að *Photobacterium phosphoreum* er mjög mikilvægur skemmdarvaldur í fiski (þorski) sem pakkaður er í loftskiptar umbúðir (MAP) (Dalgaard o.fl., 1997). Þessi örvera er mjög öflugur TMA framleiðandi við þessar aðstæður (þolir vel koltvísýring), en hins vegar er lítið vitað um virkni hennar í fiski á ís (í lofti). Ástæða þess að menn áttuðu sig ekki fyrir en á síðari árum hve mikilvægur skemmdarvaldur þessi örvera er, er líklega

vegna hitaóþols hennar. Þetta er kuldakær baktería sem þarf lágt ræktunarhitastig og lifir líklega ekki af þegar áhellingaraðferð er notuð. Dalgaard o.fl. (1996) hefur nýlega þróað sérhæft æti sem gerir kleift talningar á *P. phosphoreum* í fiski með leiðnimælingartækni (Malthus).

Mikilvægi þess að skilja skemmdarferli í fiski eða fiskafurðum eru augljós. Um leið og búið er að staðfesta skemmdareiginleika SSÖ út frá myndun skemmdarefna verður hægt að gera líkan að vexti þeirra og þar með meta geymsluþol viðkomandi hráefnis. Þetta á við þegar aðstæður eru þekktar þ.e. hitastig er stöðugt og gasumhverfi þekkt. Þegar aðstæður eru ekki stöðugar (hitastigssveiflur) er ekki víst að hægt sé að nota slíkt líkan til þess að meta geymsluþol hráefnis. Þess vegna er mikilvægt að safna upplýsingum um vaxtarhraða sérhæfðra skemmdarörvera og myndun niðurbrotsefna við raunverulegar aðstæður til þess að meta hvaða mælipættir eru nothæfir við gerð geymsluþolsspálkana.

1.1.3. Mælingar á rokgjörnum niðurbrotsefnum sem myndast í fiski

Lyktarferill fisks sem geymdur er í ís er vel þekktur. Ferlinum má skipta gróflega í 5 stig: ferskt, hlutlaust, sætt, skemmt og úldið. Rannsóknir þar sem notaðar hafa verið gasgreinimælingar hafa sýnt að á hverju stigi eru ákveðin lyktarefni yfirgnæfandi og einkenna lyktina (Josephson o.fl., 1986). Þau efni sem gefa ferska fiskilykt og eru til staðar á fyrstu stigum skemmdarferilsins eru C_6 , C_8 og C_9 karbonyl efni og alkóhól sem hafa einkennandi græna, plöntu-lykt og myndast vegna ensímniðurbrots á löngum fjölómettuðum fitusýrum í fiski. Á seinni stigum lyktarferilsins myndast m.a. stutt alkóhól eins og etanól og bútanól í miklu magni og einnig esterar, en þessi efni valda sætri lykt (Lindsay o.fl., 1986). Samhliða þessu myndast efni, sem valda einkennandi skemmdarlykt, úldnun og rotnun. Þessi efni eru vel þekkt eins og TMA (trímetylamín), ammoníak og rokgjörn brennisteinsefni, sem myndast vegna niðurbrots á TMAO (trímetylamínóxíð) og amínósýrum af völdum örvera (Hebard o. fl., 1982, Herbert o. fl., 1975).

Mælingar á rokgjörnum niðurbrotsefnum, sem myndast vegna vaxtar skemmdarflóru í

fiski takmarkast oft af því að nægilegt magn (mælanlegt) af niðurbrotsefnum hefur oft ekki myndast fyrir en eftir u.þ.b. eina viku í ís. Með því að nota þróaðar sýnatökuaðferðir og gasgreini hefur verið sýnt fram á að hægt er mæla þessi efni strax á fyrstu dögum eftir veiði (Josephson o.fl.,1986). Slíkar mælingar eru gerðar á rannsóknastofu og eru oft tímafrekar, krefjast flókins tækjabúnaðar og þjálfaðs starfsfólks. Unnið hefur verið að þróun ýmissa fljótlegra aðferða við mælingu á myndefnum örvera (Strachan og Nicholson 1992; Wong og Gill, 1987; Egashira o.fl.,1990, Storey o.fl., 1984), en undanfarin ár hefur áherslan verið á notkun rafnefs sem fljótvirkrar aðferðar til að meta skemmd. Niðurstöður mælinga á fiski og ýmsum fiskafurðum með íslenska rafnefinu “FreshSense” sem þróað hefur verið í samvinnu Rf og Boðvaka (áður Element Skynjaratækni, Sauðárkróki) sýna góða samsvörun við hefðbundnar aðferðir eins og skynmat, til að meta ferskleika og gæði (Ólafsdóttir o.fl, 1997a,b,c; 1998b,c).

Þegar meta á flókinn feril eins og skemmdarferli fisks, er líklegt að ekki sé nægjanlegt að meta einungis áhrif eins þáttar með því að mæla eitt niðurbrotsefni. Þess vegna var valinn sá kostur við hönnun rafnefsins “FreshSense” að velja mismunandi nema, sem eru næmir fyrir hinum ýmsu efnaflokkum eins og alkóhólum og köfnunarefnis- og brennisteinssamböndum sem myndast við skemmd á fiski. Stungið hefur verið upp á að mæla ákveðin efni sem skemmdarvísa t.d. stuttar alkóhólkeðjur eins og etanól sem myndast vegna örveruvaxtar (Lerke og Huck, 1977; Kelleher og Zall, 1983). Lindsay o.fl. (1986) notuðu gasgreini til að fylgjast með styrk skemmdarefna, sem myndast í fiski á ís og tilgreindu etanól, bútanól, 2-bútanól og 2-butanone sem nothæfa skemmdarvísa fyrir fisk. Athyglisvert er að etanól myndast í mestu magni í byrjun, en minnkar síðan og á sama tíma verður aukning á myndun lengri alkóhóla eins og bútanóli og 3-metyl-1-bútanóli. Líklegt er að örverurnar noti upphaflega 5- og 6- kolvetna sykrur og myndi etanól, en noti síðan amínósýrur, sem sennilega eru forverar fyrir lengri keðjurnar eins og 3-metyl-1-bútanól (Lindsay o.fl., 1986; Ahmed og Matches, 1983).

Þekking á efnasamsetning lyktar á hverju skemmdarstigi fisks er nauðsynleg til að velja skemmdarvísa sem auðvelt er að mæla. Þekking á skemmdarvísu styður frekari þróun eða val á skynjum fyrir rafnef til að meta á fljótvirkan hátt ferskleika (Ólafsdóttir og Fleurence, 1998a).

1.1.4. Gerð spálíkana

Hugtakið "Predictive Food Microbiology" hefur fengið mikla athygli upp á síðkastið. Þá er um að ræða að mæla annað hvort magn ákveðinna örvera í matvælum eða niðurbrotsefna sem þær mynda og áætla líftíma (geymsluþol) hráefnisins. Gerð hafa verið módel þar sem þetta hefur verið notað á hin ýmsu matvæli og er þá oftast verið að leita af ákveðnum sjúkdómsvaldandi örverum. Hins vegar hefur það færst í vöxt að reynt er að varpa þessu á skemmdarörverur, og þá oftast þær örverur sem eru mikilvægastar í því hráefni sem við á hverju sinni. Mikilvægt er að gera sér grein fyrir að slík líkön eiga eingöngu við ákveðin matvæli við ákveðnar aðstæður. Það sem skiptir mestu máli í slíkum líkönum er að finna aðferð sem er fljótvirk. Að einangra örverur sem eru sérhæfðir skemmdarvaldar (SSÖ) tekur oft langan tíma og þess vegna er ekki hentugt að nota slíkar mælingar þar sem hráefnið hefur ekki nema takmarkað geymsluþol. Í fiski hefur verið reynt að meta geymsluþol hráefnis með því að nota leiðnimælingar með sérhæfð æti sem er mun fljótvirkari aðferð til að greina örverur. Í slíkum ætum eru stór efnasambönd brotin niður í smærri einingar sem veldur leiðnibreytingum sem unnt er að mæla. Almennt má segja að annaðhvort sé myndun skemmdarefna eða vöxtur skemmdarörvera notuð við gerð spálíkana.

Geymsluþolsspálíkon hafa lítið verið notuð í matvælaiðnaði, en mikill áhugi er fyrir því að nota slík líkön. Í Hollandi hafa slík líkön verið notuð fyrir unnar kjötvörur með góðum árangri (Kant-Muermanns og Stekelenburg, 1996). Nýlega er lokið Evrópuverkefni COST 914, "Predictive Modelling of Microbial Growth and Survival in Foods" (1995-1999) sem Rf tók þátt í og átti sæti í stjórn þess (Hjörleifur Einarsson, og Hélène L. Lauzon (varamaður)). Verkefnið var samskiptaverkefni þar sem sérfræðingar úr ýmsum Evrópulöndum hittust til að kynna og ræða nýjustu niðurstöður í sambandi við spálíkanagerð. Skipulagðir voru vinnuhópar sem undirbjuggu tveggja daga ráðstefnur þar sem kynntar voru rannsóknir á þessu sviði. Þetta verkefni er grunnur að áframhaldandi rannsóknum og framförum í Evrópu varðandi spálíkanagerð fyrir matvæli. Samantekt á þessu efni er að finna í lokaritum verkefnisins sem inniheldur fjölda greina þar á meðal. frá Rf (Einarsson, 1999; Ólafsdóttir o.fl., 1999).

1.1.5. Hitasveiflur

Hiti er mikilvægur þáttur sem stjórnar líf- og efnafræðilegum breytingum í matvælum. Matvæli eru misviðkvæm fyrir hitabreytingum, en líftími ferskra fiskafurða er mjög háður slíkum breytingum. "Kælikeðjan" (chill chain) getur verið langur ferill sem matvælin þurfa að fara í gegnum fyrir neyslu. Óhjákvæmilega verður stundum misbrestur í keðjunni sem leiðir til rýrnunar gæða eða jafnvel verulegs tjóns. Þrátt fyrir mikla þróun í stjórnunar-, upplýsinga- og kælitækni á síðustu árum hafa nákvæmar skráningar um hitastigsbreytingar í hráefni og vöru frá veiðum til neytenda ekki verið aðgengilegar fyrir allan ferilinn. Slíkar upplýsingar eru nauðsynlegar þegar um spálíkanagerð er að ræða. Saga hráefnisins er afar mikilvæg og getur haft veruleg áhrif á líftíma þess. Það er athyglisvert að engar heimildir né gögn eru að finna í vísindagreinum um skráðar hitasveiflur í fiskafurðum frá veiðum til neytenda. Reyndar fannst heimild um doktorsverkefni (Tansakul, 1997) sem fjallar um þróun "3D-hermi" forrits sem spáir fyrir um dreifingu hitastigs í körum fyrir fiskútflutning.

Vitað er að í kringum landið er áberandi mismunur hvað varðar hitastig sjávar eftir staðsetningu og árstíma. Til dæmis er sjávarhitinn fyrir norðan um 6-8°C á sumrin en 1-4°C á veturna, hins vegar er mun hlýrra fyrir sunnan eða nánar tiltekið 8-12°C á sumrin og 2-6°C á veturna (Rf-námskeiðsgögn "Gott hráefni en betra", Sigurjón Arason). Slíkur hitastigsmisnunur hlýtur að hafa áhrif á samsetningu og líffræðilegt ástand örveruflórunnar í hráefninu og þar af leiðandi á líftíma fisksins.

1.3. HEIMILDIR

Ahmed, J. and R. Matches. 1983. Alcohol production by fish spoilage bacteria. *J. Food Prot.*, 46, 1055-1059.

Dalgaard, P, O. Mejlholm and H.H. Huss. 1996. Conductance method for quantitative determination of *Photobacterium phosphoreum* in fish products. *J. Appl. Bacteriol.* 81, 57-64.

Dalgaard, P, O. Mejlholm, T.J. Christiansen and H.H. Huss. 1997. Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of modified atmosphere-packed fish products. *Lett. Appl. Microbiol.* 24 (5), 373-378.

Dalgaard, P. 1995. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *Int. J. Food Microbiol.* 26 (3), 319-333.

Dalgaard, P., L. Gram and H.H. Huss. 1993. Spoilage and shelf-life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *Int. J. Food Microbiol.* 19 (4), 283-294.

Egashira, M., Y. Shimizu and Y. Takao. 1990. Trimethylamine sensor based on semiconductive metal oxides for detection of fish freshness. *Sensors and Actuators*, B1 (1990), 108-115.

Einarsson, H. 1999. Application of Predictive Microbiology in the Fish Industry. COST 914 Predictive modelling of microbial growth and survival in foods. Prepared for publication by T.A Roberts. EUR 19103 European Commission Directorate - General Science, Research and Development, pp. 91-96.

Einarsson, H. and H.L. Lauzon. 1996. Predictive modelling of shelf life of fish and meat products (AIR 2 CT-93 1251). Final report, 26 bls.

Gram, L. and H.H. Huss. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.* 33 (1), 121-137.

Hebard, C.E, G.J. Flick and R.E. Martin. 1982. "Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, p 149. AVI Publishing Co., Inc., Westport, CT.

Herbert, A., J.R. Ellis and J.M. Shewan. 1975. Isolation and identification of the volatile sulphides produced during chill-storage of North Sea Cod (*Gadus morhua*). *J. Sci. Food Agric.* 26, 1195-1202.

Josephson, D.B., R.C. Lindsay and G. Ólafsdóttir, 1986. Proceedings of an International Symposium, University of Alaska Sea Grant Program, Anchorage, Alaska, U.S.A., p. 27-47. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

Jørgensen, B.R. and H.H. Huss. 1989. Growth and activity of *Shewanella putrefaciens* isolated from spoiling fish. *Int. J. Food Microbiol.* 9, 51-62.

Jørgensen, B.R., D.M. Gibson and H.H. Huss. 1988. Microbiological quality and shelf life prediction of chilled fish. *Int. J. Food Microbiol.* 6, 295-307.

Kant-Muermanns, M.L.T. and F.K. Stekelenburg. 1996. Lecture at Symposium on Microbial Food Spoilage, Oct 15-16, Technical University of Denmark, Lyngby.

Kelleher, S.D. and R.R. Zall. 1983. Ethanol accumulation in muscle tissue as a chemical indicator of fish spoilage. *J. Food Biochem.*, 7, 87-91.

Lauzon, H.L. 1997. Shelflife and bacteriological spoilage of American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). Meistaránámsritgerð við matvælafræðiskor, Háskóli

Íslands, 61 bls.

Lerke; P. and R.W.Huck, 1977. Objective determination of canned tuna quality: Identification of ethanol as a potentially useful index. *J.Food Sci.*, 42 (3), 755-758.

Lindsay, R.C., D.B. Josephson and G. Ólafsdóttir. 1986. Proceedings of an International Symposium, University of Alaska Sea Grant Program, Anchorage, Alaska, U.S.A., p. 221. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam

Magnússon, H. and E. Martinsdóttir. 1995. Storage quality of fresh and frozen-thawed fish in ice. *J. Food Sci.* 60 (2), 273-278.

Ólafsdóttir, G., E. Martinsdóttir and E. H. Jónsson. 1997a. Rapid gas sensor measurements to predict the freshness of capelin (*Mallotus villosus*). *J.Agric. Food Chem.* 45 (7), 2654-2659.

Ólafsdóttir, G., E. Martinsdóttir and E.H. Jónsson. 1997b. Gas sensor and GC measurements of volatile compounds in capelin (*Mallotus villosus*). In *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*. Eds. Luten J. B., Børresen T. and Oehlenschläger J. Amsterdam, Elsevier, 507-520.

Ólafsdóttir, G., E. Martinsdóttir, J.Oehlenschläger, P. Dalgaard, B. Jensen, I. Undeland, I. M. Mackie, G. Henahan, J.Nielsen and H. Nilsen. 1997c. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends Food Sci. Technol.* 8, 258-265.

Ólafsdóttir, G. and J. Fleurence. 1998a. Methods to Determine the Freshness of Fish in Research and Industry,. International Institute of Refrigeration, 55-69 .

Ólafsdóttir, G., Á. Högnadóttir and E. Martinsdóttir. 1998b. Methods to Determine the Freshness of Fish in Research and Industry, International Institute of Refrigeration, 100-109.

Ólafsdóttir, G., V. Verrez-Bagnis, J.B. Luten, P. Dalgaard, M. Careche, E. Martinsdóttir, K.Heia. 1998c. Methods to Determine the Freshness of Fish in Research and Industry. International Institute of Refrigeration 17-29.

Ólafsdóttir, G., Á. Högnadóttir, E. Martinsdóttir and H.L. Lauzon. 1999. Application of an "Electronic Nose" to Detect Microbial Metabolites During Spoilage of Fish and Fish Products. COST 914 Predictive modelling of microbial growth and survival in foods. Prepared for publication by T.A Roberts. EUR 19103 European Commission Directorate - General Science, Research and Development, pp. 305-313.

Sigurjón Arason, "Gott hráefni en betra", Rf-námskeiðsgögn fyrir dagróðrabáta

Stenström, I-M. 1985. Microbial flora of cod fillets (*Gadus morhua*) stored at 2°C in different mixtures of carbon dioxide and nitrogen/oxygen. *J. Food Prot.*, 48 (7), 585-589.

Storey, R.M., H.K. Davis, D. Owen and L. Moore. 1984. Rapid approximate estimation of volatile amines in fish. *J. Food Technol.*, 19, 1-10.

Strachan, N.J.C. and F.J. Nicholson. 1992. Gill air analysis as an indicator of cod freshness and spoilage. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27, 261-269.

Wong, K and T.A. Gill. 1987. Enzymatic determination of trimethylamine and its relationship to fish quality. *J. Food Sci.* 52(1) 1-4.

Tanasakul, A. 1997. A 3-dimensional computer simulation model for temperature distribution prediction in a seafood shipping container. *Dissertation Abstracts International*, -B; 57(10) 6388 Order no DA9710969.

Woyewoda, A.D., E.G. Bligh and S.J. Shaw. 1984. Controlled and modified atmosphere storage of cod fillets. *Can. Inst. F. Sci. Technol. J.* 17 (1), 24-27.

*Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar,
geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 2. kafli*

2. kafli

Hitaferlar fyrir hráefni frá veiðum til neytenda

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 2. kafli

EFNISYFIRLIT

HITAFERLAR FYRIR HRÁEFNI FRÁ VEIÐUM TIL NEYTENDA	17
2.1. INNGANGUR.....	17
2.2. HITAFERILL FRÁ VEIÐUM Í GEGNUM VINNSLU OG FLUTNINGAR MEÐ FLUGI	17
2.2.1. Sumar-hitaferill	18
2.2.2. Vetrar-hitaferill	22
2.3. HITAFERILL FRÁ FISKMARKAÐI TIL FISKSALA	25
2.4. HITAFERILL Í FRYSTIHÚSI.....	27
2.5. ÁLYKTANIR OG UMRÆÐUR.....	29

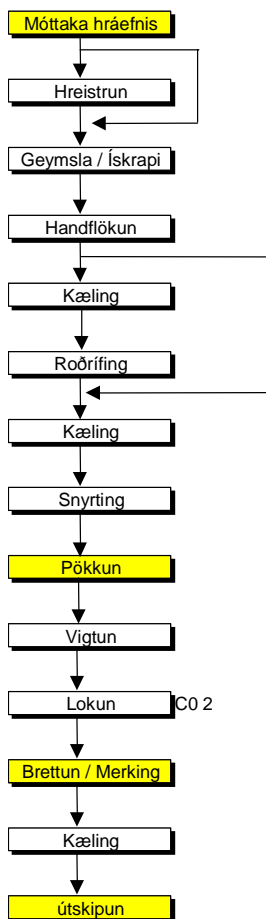
HITAFERLAR FYRIR HRÁEFNI FRÁ VEIÐUM TIL NEYTENDA

2.1. INNGANGUR

Matvæli eru misviðkvæm fyrir hitabreytingum, en líftími ferskra fiskafurða er mjög háður slíkum breytingum. "Kælikeðjan" (chill chain) getur verið langur ferill sem matvælin þurfa að fara í gegnum fyrir neyslu. Óhjákvæmilega verður stundum misbrestur í keðjunni sem leiðir til rýrnunar gæða eða jafnvel verulegs tjóns.

Í þessari rannsókn var gögnum safnað um hitaferil hráefnis frá veiðum til fullunninnar neytendavöru. Gerðar voru mælingar á hitaferli fisks, bæði að sumar og vetrarlagi, allt frá veiðum og þangað til búið var að senda fiskinn með flugi til Bretlands og Bandaríkjanna.

Einnig voru gerðir hitaferlar frá fiskmarkaði til fisksala og að lokum var hitaferill athugaður í frystihúsi yfir langt tímabil. Fyrirtækið Tros ehf. í Sandgerði, Fiskbúðin Nethyl og Útgerðafélag Akureyrar aðstoðuðu við öflun þessara gagna. Notaðir voru hitasíritar Optic StowAway® (Onset Computer Corporation, MA, USA).



2.2. HITAFERILL FRÁ VEIÐUM Í GEGNUM VINNSLU OG FLUTNINGAR MEÐ FLUGI

Hitastigsmælingar voru gerðar á ferli fisks hjá fyrirtækinu Tros ehf. Mælingar fóru fram bæði yfir sumar og vetur. Ágúst Vilhjálmsson hjá Tros sá um þessar mælingar og samantekt á skýrslu. Í upphafi var ætlunin að ná heildarferlinu, þ.e. frá veiðum til dreifingar í neyslulandi. Það reyndist ekki framkvæmanlegt í einu lagi og var ferlinu skipt upp í nokkra hluta og mælingar framkvæmdar á hverjum hluta fyrir sig. Í þessum mælingum var um að ræða veiðar, vinnslu og flutning á þorsk og ýsu.

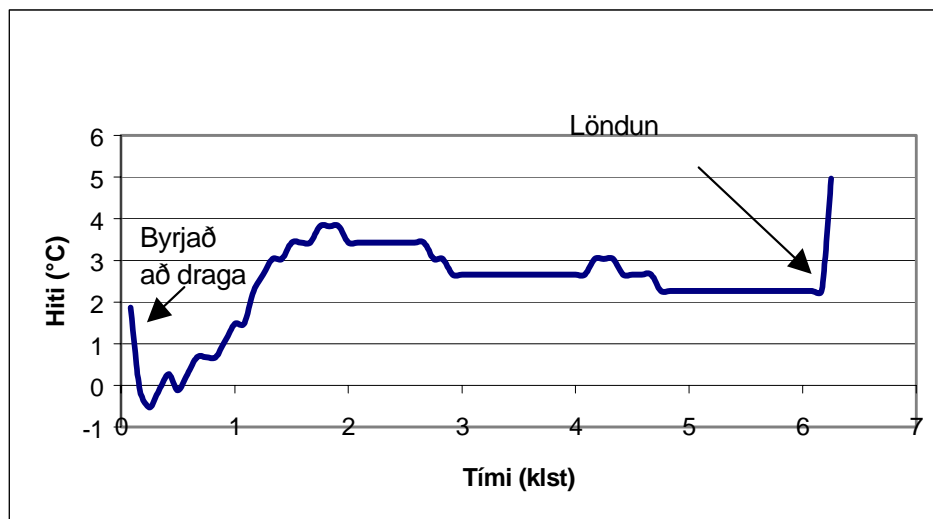
Mynd 2.1. Flæðirit fyrir vinnslu í Tros

2.2.1. Sumar-hitaferill

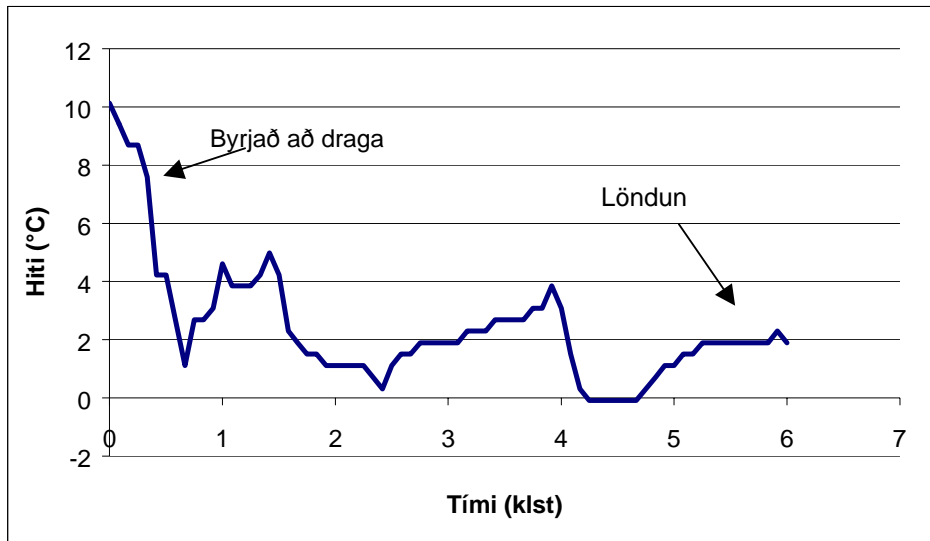
Hitamælingar voru gerðar tvisvar yfir sumartímann. Í báðum tilvikum var ferlið mælt í línubát þar sem ískrapí var notaður til kælingar á afla út á sjó. Bátarnir lögðu línurnar að nóttu til og byrjuðu að draga rétt fyrir hádegið og komu síðan að landi seinni part dagsins. Hitastig fisksins mælt út á sjó var um 10°C. Fiskurinn var fluttur til Tros ehf. og settur í ískrapa. Vinnslan fólst í því að setja fiskinn í flökunarmál, flaka hann, setja flökin í kassa, roðfletta, snyrta og pakka (mynd 2.1). Kassanum var lokað og koltvísýringur eða ísmotta notuð til kælingar fyrir sendingar til útlanda. Hitastig flaka var ekki mælt við móttöku vegna mistaka. Í báðum tilvikum var notast við 10 lbs kassa. Í lýsingunni hér á eftir er að mestu notast við annan ferilinn.

Veiðar

Mynd 2.2. sýnir hitaferil um borð í línubát frá því að báturinn byrjaði að draga og þangað til landað var. Línan var lögð kl 6.00 um morguninn og kl. 10 hófst línudrátturinn. Aflinn var strax blóðgaður og settur í ískrapa. Tveir hitanemar voru settir í karið, annar neðarlega (mynd 2.2) en hinn ofarlega (mynd 2.3).



Mynd 2.2. Hitastig ískrapans neðst í kari um borð í línubát frá því að byrjað var að draga til löndunar



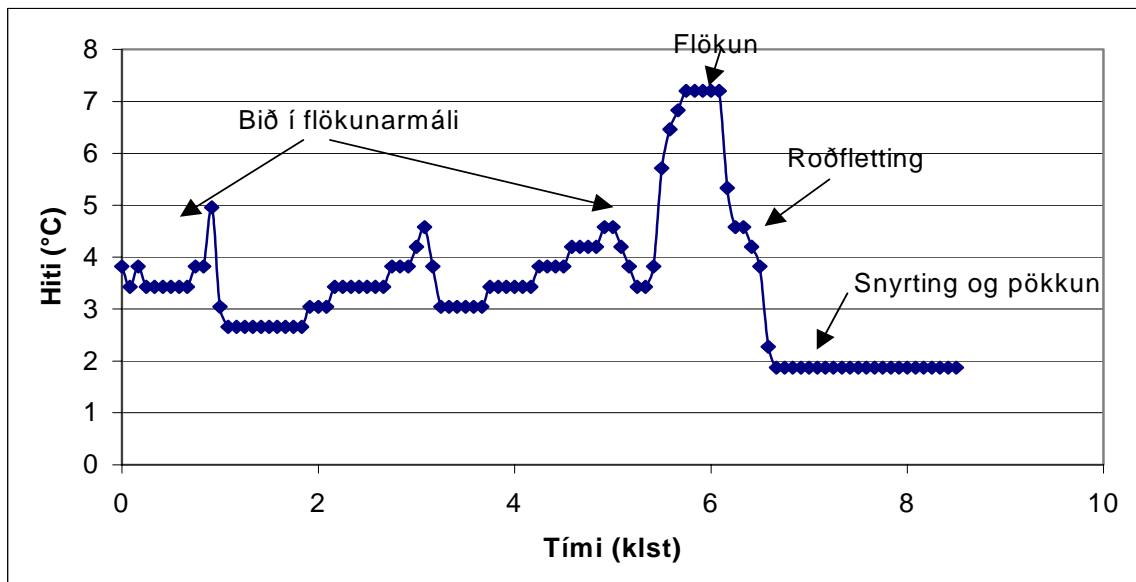
Mynd 2.3. Hitastig ískrapans efst í kari um borð í línubát frá því að byrjað var að draga til löndunar

Hitastig fisksins var um 10°C, hitastig í ískrapa var undir 4°C og hitastig fisks við löndun var um 2°C (mynd 2.3). Hitanemarnir mældu hitastigið í ískrapanum en ekki í fiskinum sjálfum. Hér þurfti að setja meiri ís í krapann þar sem sjórinn er um 10°C heitur að sumarlagi.

Vinnsla

Vinnslan hófst eftir móttöku afla um kvöldmat þegar fiskurinn var ísaður í ískrapa. Vatnið sem fór í ískrapann var um 8°C en hitanemarnir mældu hitastigið í krapanum. Hitastigið í ískrapanum er háð hitastigi vatns, ísmagni, salti og hitastigi fisksins. Hitaneminn var staðsettur ofarlega og í útjaðri kersins. Vinnslan sjálf hófst í flökunarmálinu þar sem fiskurinn var í ákveðinn tíma þar til hann var tekinn og flakaður. Í flökunarmálinu var hitastigið nær raunverulegu hitastigi fisksins úr ískrapanum. Nokkrar hitasveiflur voru í flökunarmáli (mynd 2.4) vegna þess að köldu vatni var bætt í það. Þegar hellt er í málið lækkar hitastigið, en hækkar hins vegar vegna sírennslis vatns sem var um 7°C. Eðlilegt er að fiskur stoppi ekki lengur en um 1 klst í flökunarmálinu en ekki er óalgengt að þessi tími sé lengri. Slíkt hráefni getur því farið í gegnum þó nokkrar hitasveiflur.

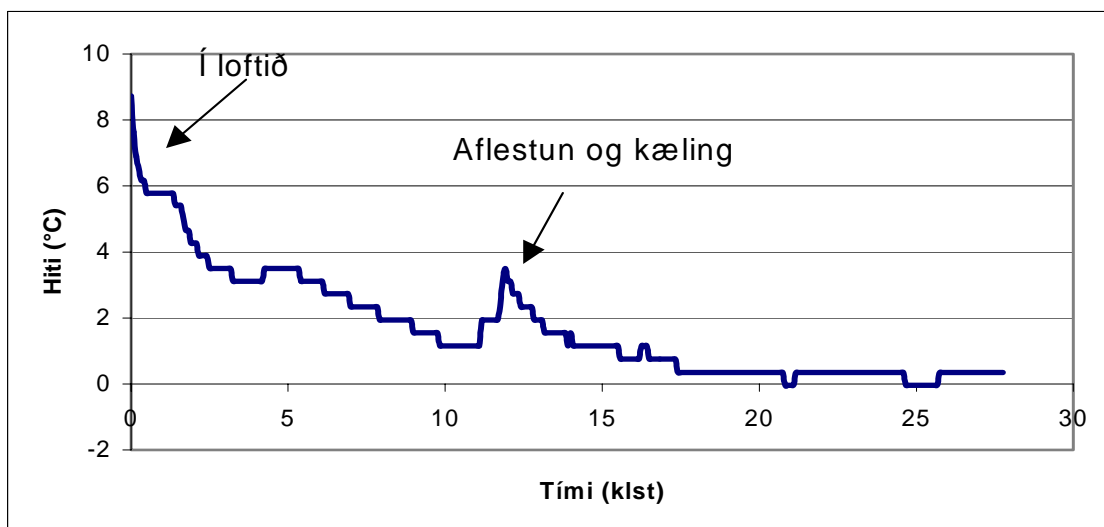
Fiskurinn var síðan tekinn og flakaður, flökin sett í bakka sem var fylltur upp að hálfu. Flökin voru í bakkanum í um 15 mín þar til ísvatni var hellt yfir, fyrir roðflettingu. Hitaneminn mælir hitastigið á milli flakanna og reyndist það vera um 7°C (mynd 2.4). Ísvatnið sem sett var á flökin leiddi til verulegrar lækkunar á hitastiginu. Hitastig í roðflettingu sýnir í raun það hitastig sem var í ísvatninu. Hitastigið lækkaði einnig hratt vegna þess að ísvatni var hellt yfir flökin eftir að roðflettingu var lokið. Erfitt var að mæla hitastigið í snyrtingu og pökkun þar sem hitaneminn gleypir í sig hitastigið úr umhverfinu sem reyndist vera um 2°C. Mæling var gerð í bakka sem var vel fylltur af ísvatni.



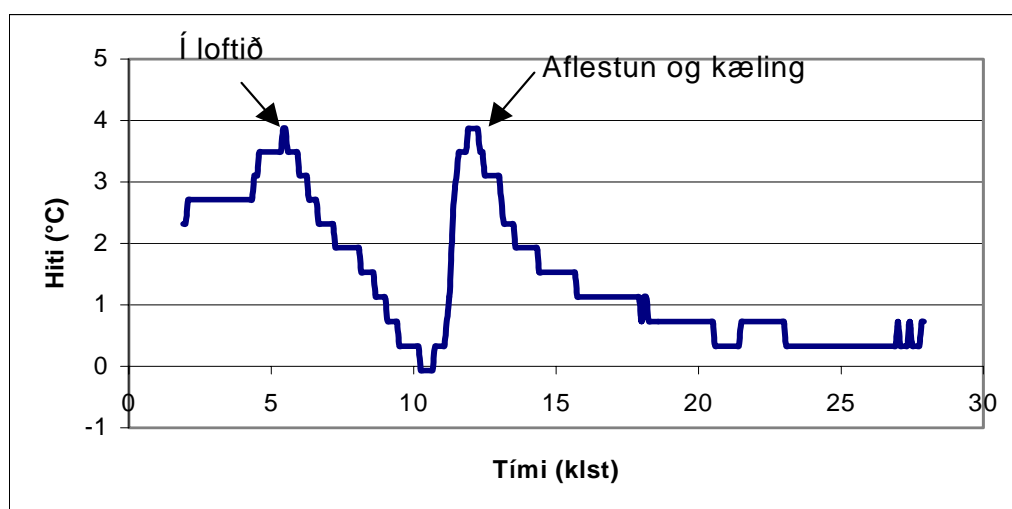
Mynd 2.4. Hitastig við vinnslu hráefnis

Flug

Sendir voru tveir kassar (10 lbs) af þorski, annar með ísmottu (mynd 2.5) og hinn með kolsýrusnjó (180 gr) (mynd 2.6). Kössunum var lokað kl. 12.00 en línuritinn sýna tíma frá kl. 13.00 þegar fiskurinn var settur í flugvélinu ef flogið var á með fiskinn á Bandaríkjamarkað.



Mynd 2.5. Hitabreytingar við flutninga með flugi til Bandaríkjanna (ísmotta)



Mynd 2.6. Hitabreytingar við flutninga með flugi til Bandaríkjanna (CO₂ pökkun)

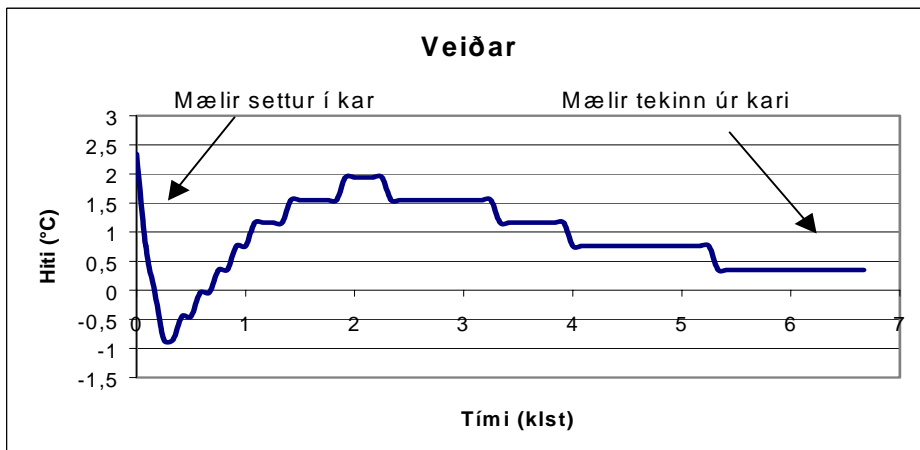
Á myndum 2.5 og 2.6 sést að hitastigin lækkuðu um leið og fiskurinn var settur í flugvélina og lækkaði síðan stöðugt í sjálfu fluginu. Við losun hækkaði hitastigið um 2-4°C en lækkaði síðan aftur eftir að kassarnir voru settir í kæli. Við opnun kassanna var hitastigið ekki mælt og því er erfitt að gera sér grein fyrir raunverulegu hitastigi flakanna við komu til Bandaríkjanna.

2.2.2. Vetrar-hitaferill

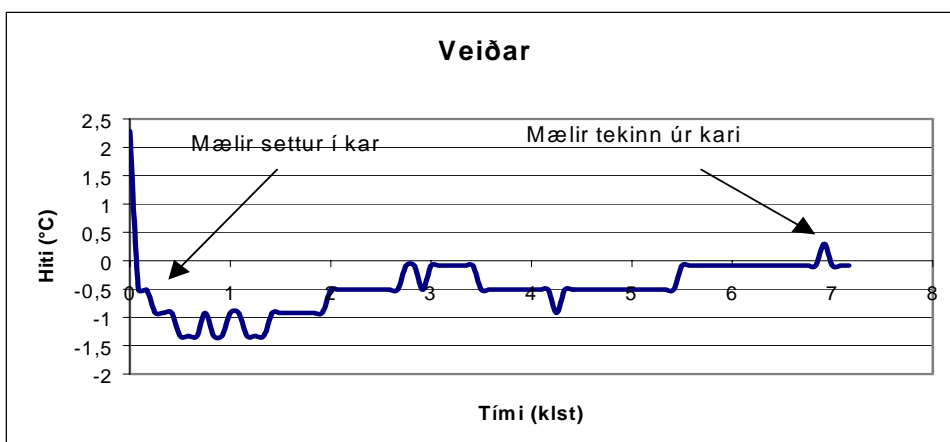
Í þessari tilraun var hitaferillinn frá því sumarið áður endurtekinn að hluta. Gerðir voru tveir hitaferlar yfir veiðar, tveir hitaferlar fyrir vinnslu hráefnis (Tros ehf) og tveir hitaferlar fyrir sendingu í flug.

Veiðar

Tveir hitaferlar voru teknir á veiðum yfir vetrartíma. Í fyrri hitaferlinum (mynd 2.7) var hitamælirinn settur ofan á neðsta lagið af fiskunum en í þeim síðari (mynd 2.8) var hann settur í mitt karið. Í fyrra tilfellinu fór hitastigið aldrei upp fyrir frostmark en þegar mælirinn var í miðju karinu mældist hámarkshitastig vera um 2.0°C.



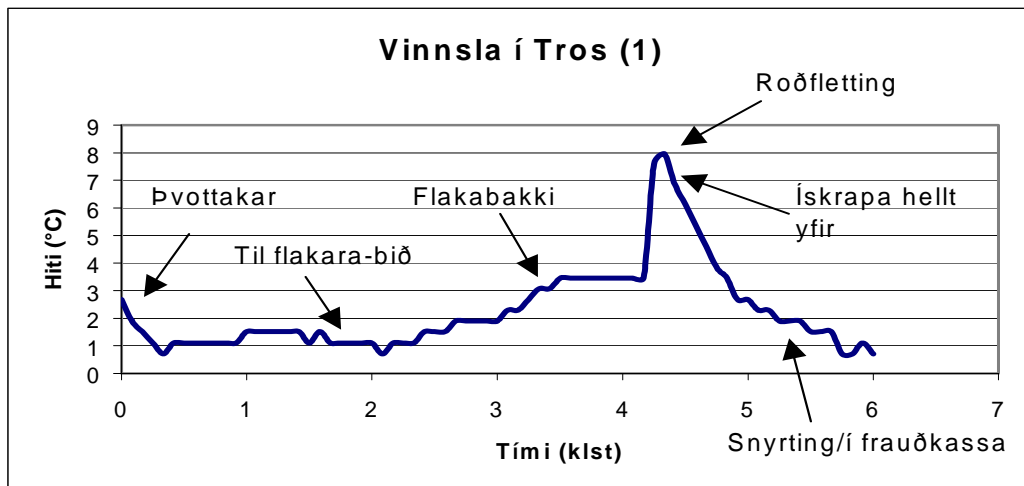
Mynd 2.7. Hitabreytingar í fiskkari um borð í bát (hitamælir settur neðarlega í fiskkar)



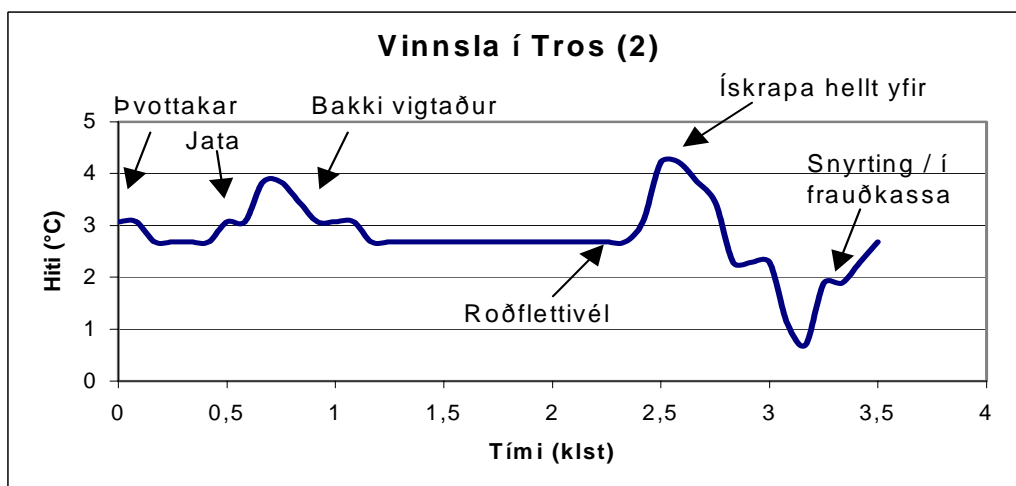
Mynd 2.8. Hitabreytingar í fiskkari um borð í bát (hitamælir settur í miðju fiskkars)

Vinnsla í Tros

Teknir voru tveir hitastigsferlar fyrir vinnslu hráefnis hjá Tros ehf. Myndir 2.9 - 2.10 sýna hitastigsbreytingar við vinnslu. Hæsta hitastig mældist um 8°C (við roðflettingu) í öðrum ferlinum en var annars yfirleitt á bilinu 0-4°C.



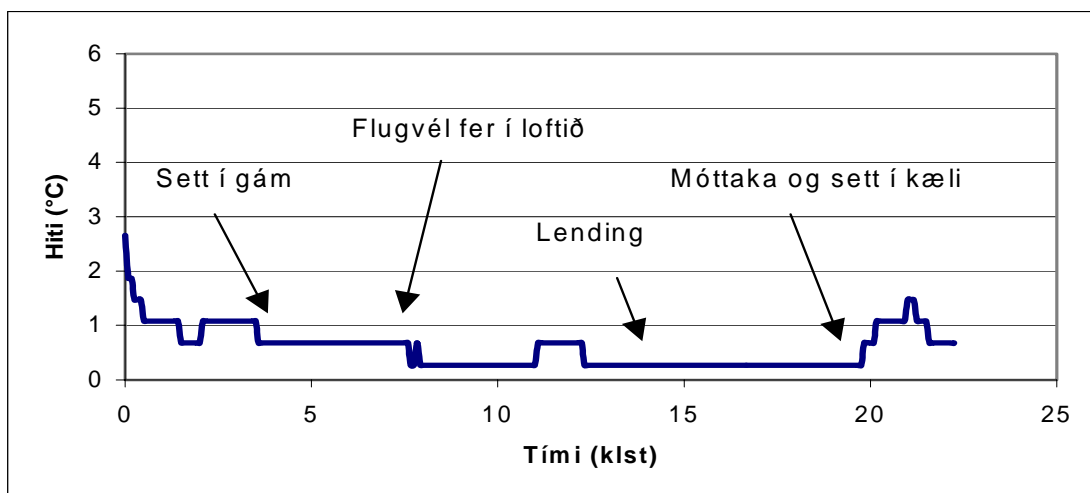
Mynd 2.9. Hitabreytingar sem verða við vinnslu hráefnis hjá Tros ehf.



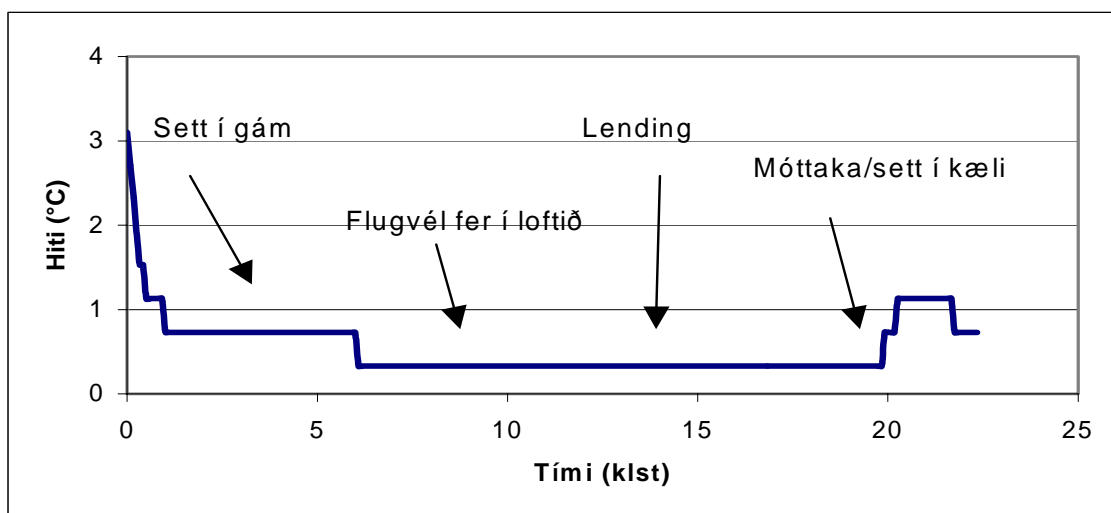
Mynd 2.10. Hitabreytingar sem verða við vinnslu hráefnis hjá Tros ehf.

Sending í flug

Tveir hitastigsferlar voru teknir fyrir hitastig hráefnis sem sent var með flugi til Bretlands en fylgst var með ferlinu uns hráefnið var komið í kæli. Myndir 2.11 og 2.12 sýna að hitastigið fór aldrei yfir 2°C hvorki í flugi né í keyrslu. Flutningar með flugi taka í heildina um sólarhring, en allur ferillinn frá veiðum til kaupanda er rúmlega 2 sólarhringar (55 klst).



Mynd 2.11. Hitabreytingar við flutninga með flugi og bíl til Bretlands (flug1)



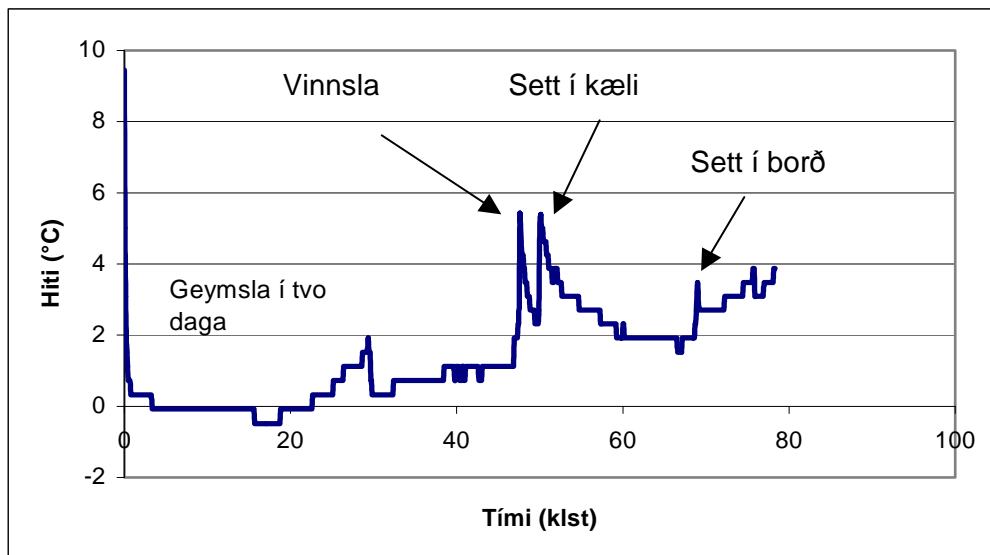
Mynd 2.12. Hitabreytingar í umhverfi fisksins við flutning til Bretlands (flug 2)

2.3. HITAFERILL FRÁ FISKMARKAÐI TIL FISKSALA

Upplýsingum um hitaferil frá fiskmarkaði til fisksala var safnað af Sigrúnu Jónsdóttur starfsmanni Rf í samvinnu við Fiskbúðina Nethyl. Hitaferillinn nær yfir flutning frá fiskmarkaði til vinnslu hjá fisksala, móttöku hráefnis, handflökun, kælingu, snyrtingu, kælingu og geymslu í borði hjá fisksala. Í þessum verkþætti var sett upp tilraun þar sem notaðir voru fjórir sírítar. Einn þeirra var notaður til þess að mæla umhverfishitann en slíkar upplýsingar eru nauðsynlegar fyrir frekari rannsóknir og notkun kæliherma við geymsluþolstilraunir. Hinir þrír voru settir í tvö mismunandi fiskkör. Í annað karið voru settir tveir mælur, annar ofarlega en hinn neðarlega. Hitt karið var aðallega notað til viðmiðunar þar sem í því var lítil ís og sírítur var staðsettur ofarlega í kari.

Viðmiðunarkar með litlum ís

Fiskurinn var veiddur þann 28. janúar og keyptur á fiskmarkaði 31. janúar, þriggja daga gamall. Daginn eftir (1. feb.) hófust hitamælingarnar og karið var sótt í fiskmarkað. Það var geymt í bifreið yfir nótt, sett í kæli daginn eftir og geymt í einn sólarhring til viðbótar. Um kl.13 þann 3. febrúar hófst vinnsla á hráefninu og kl.16 voru flökin ísuð í fiskkassa og sett í kæli yfir nótt, en þá voru liðnir 6 dagar frá því að hráefnið hafði verið veitt.

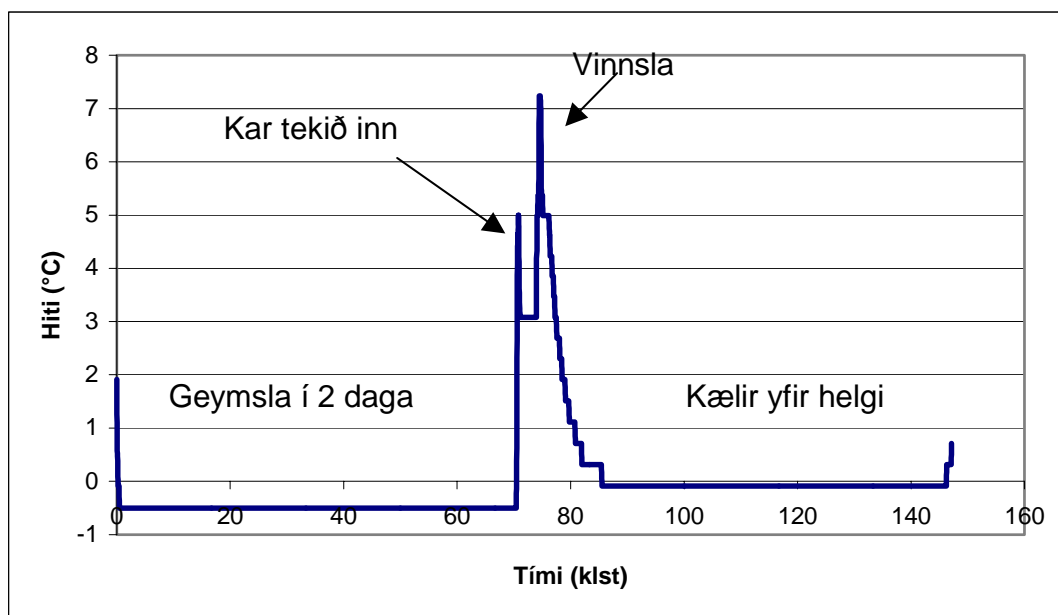


Mynd 2.13. Hitastigsbreytingar frá móttöku hráefnis hjá fisksala til sölu á flökum (hitasírítur staðsettur ofarlega í kari með litlum ís)

Daginn eftir 4. febrúar (kl.10:30) voru flökin sett í söluborðið og geymd þar til kvölds. Hæsta hitastig sem mældist í heildarferlinu var rúmar 5°C við flökun (mynd 2.13).

Kar með miklum ís

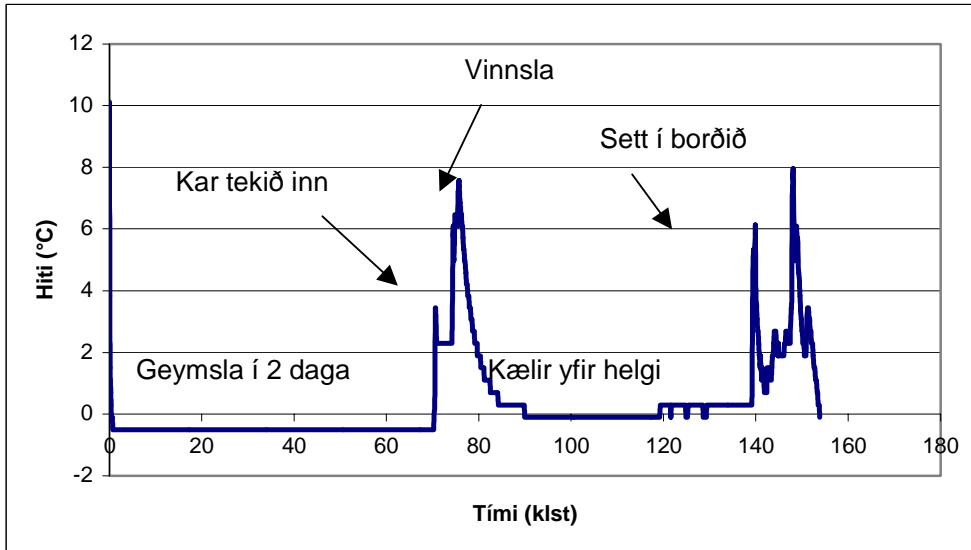
Fiskurinn var veiddur 30. janúar og keyptur 31. janúar, eins dags gamall. Þann 1. febrúar hófust hitastigsmælingar, en karið var skilið eftir á fiskmarkaðinum yfir nótt. Þá var náð í karið og það skilið eftir í bifreið yfir aðra nótt. Um hádegi 4. febrúar var karið tekið inn og sett í kæli sem leiddi til hækkunar á hitastigi fisksins í 5°C (mynd 2.14). Seinna þennan dag var fiskurinn unninn og honum komið fyrir í kæli yfir helgina. Við vinnsluna fór hitinn í rúmar 7°C en það var einungis í stuttan tíma því hann var fljótlega settur í kæli. Yfir helgina hélst hitinn í flökunum rétt í kringum 0°C en þegar flökin voru tekin út og sett í söluborðið hækkaði hitinn í 6-7°C (myndir 2.14 og 2.15).



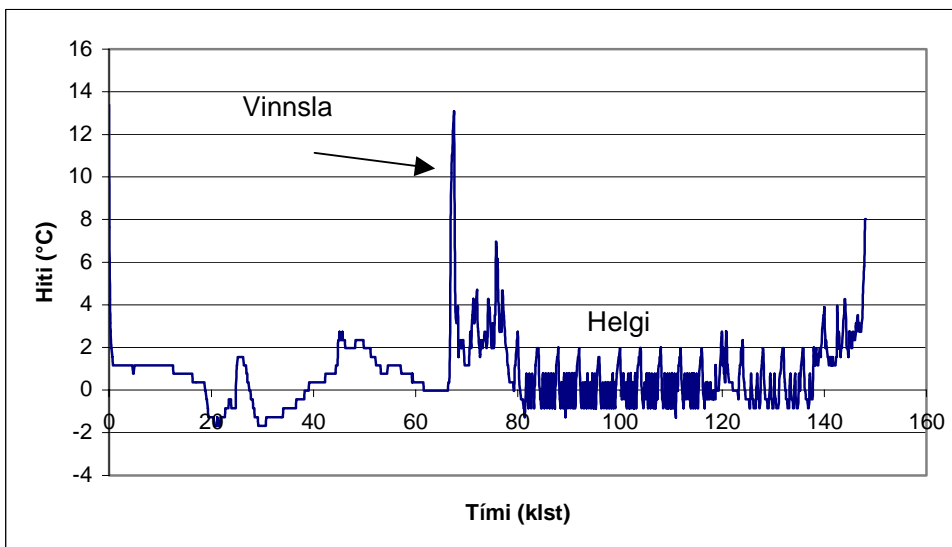
Mynd 2.14. Hitabreytingar frá móttöku hráefnis hjá fisksala til sölu á flökum (hitasíriti staðsettur ofarlega í kari með miklum ís)

Umhverfishitinn fyrir allt ferlið frá fisksala til neytenda er sýndur á mynd 2.16. Greinilegt var að þó nokkrar dægursveiflur voru í ferlinu og einnig sést að umhverfishiti við vinnslu fór upp í 14°C. Á daginn var mun hærra hitastig í umhverfi (kælir) en að nóttu til eða frá 1- 7°C þegar mest var gengið um hann. Á kvöldin, nóttunni og um helgar voru nokkrar minniháttar sveiflur, frá -1°C upp í 2°C. Þegar mætt var aftur til vinnu á

mánudagsmorgni byrjuðu sveiflurnar að fara frá 1°C upp í 4°C aftur.



Mynd 2.15. Hitabreytingar frá móttöku hráefnis hjá fisksala til sölu á flökum (hitasíriti staðsettur neðarlega í kari með miklum ís)

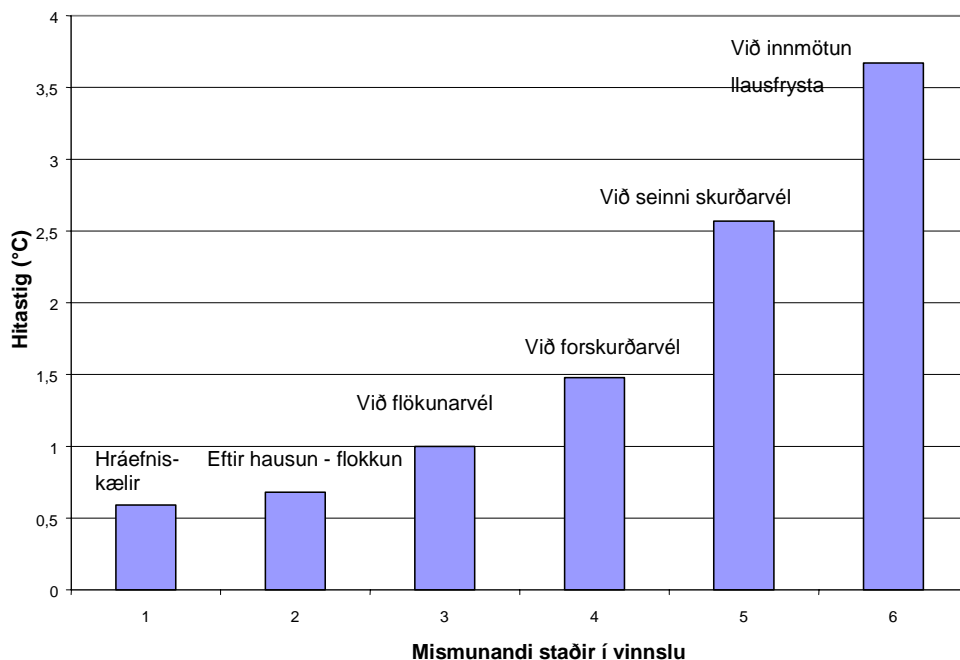


Mynd 2.16. Umhverfishiti frá móttöku hráefnis hjá fisksala til sölu á flökum

2.4. HITAFERILL Í FRYSTIHÚSI

Hitastigstölur voru fengnar úr vinnslusal hjá stóru frystihúsi. Jóhann Örlygsson á Rf Akureyri hafði umsjón með öflun þessara gagna. Tölurnar sem meðfylgjandi myndir sýna

eru meðaltalstölur fyrir fimm vikur.



Mynd 2.17. Meðalhitastig í hráefni á mismunandi stöðum í vinnslu í stóru frystihúsi

Hitastig er mælt á sex stöðum í frystihúsinu (fyrir utan frysti). Fyrsti og annar staðurinn eru annars vegar í hráfniskæli og hins vegar eftir hausun og flokkun. Hitastig á þessum tveim stöðum er tekið á tveim tímupunktum yfir daginn (á morgnana og í hádeginu). Á hinum fjórum stöðunum er hitastig mælt í hráefninu á tveggja klukkustunda fresti frá átta á morgnana til klukkan sex síðdegis. Þessir fjórir staðir eru við flökunarvél, við forskurðarvél, við seinni skurðarvél og við innmötun í lausfrystingu.

Eins og sjá má á þessum tölum er um að ræða lægsta hitastig í upphafi við hráfniskælinn enda er hráefnið þar geymt í ískrapa. Smám saman hækkar hitastigið í hráefni og við innmötun frystingar er það komið í rúmar 3.5°C. Athuga verður að hér er um að ræða meðaltöl af u.þ.b. 70-100 mælinga yfir 5 vikna tímabil. Frávikið er ekki sýnt á þessari mynd er það reyndist ekki vera mikið (< 0.85°C í öllum tilfellum). Einnig er örlítill munur á hitastigi í hráefni sem fer í gegnum vinnslu að morgni miðað við það sem fer seinna um daginn. Hitastigið var lægst að morgni en hærra seinni partinn. Þó er þessi

munur aldrei meiri en 1°C (mynd 2.17). Í heildina er því ekki um að ræða miklar hitastigsveiflur sem hráefnið verður fyrir í þessu frystihúsi. Hráefnið fer einnig yfirleitt mjög hratt í gegnum vinnsluna eða á innan við 30 mínútum. Umhverfishitastigið í frystihúsinu (við vinnslulínuna) er yfirleitt á bilinu 17-20°C.

2.5. ÁLYKTANIR OG UMRÆÐUR

Hitastigssveiflur sem verða við yfirborð hráefnis við veiðar, flutning og vinnslu eru á bilinu -1 – 8°C. Hitastigið á fiski upp úr sjó við veiðar á sumri var um 10 °C, en mælingar sem gerðar voru eftir að fiskurinn var settur í sjókrapakar sýndu að hitastigið var á bilinu -0.5 - 4°C. Á veturna fór hitinn aldrei yfir 2°C. Þetta endurspeglar sjávarhita kringum landið en mælingar sem gerðar hafa verið við Suðurland sýna að sjávarhiti á sumrin er um 8-12°C, en á veturna 2-6°C. Vitað er að á sumrin er afla stundum landað óísað og að sögn kaupenda á fiskmörkuðum er hitastig hráefnisins þá oft um 13°C.

Að jafnaði var hitastig við vinnslu um 2 - 4°C og hæst fór hitastigið við flökun og roðflettingu eða í rúmlega 8°C. Flökin voru snöggkæld í ískrapa eftir roðflettingu áður en þeim var pakkað til úflutnings. Greinilegt var að hitastig hækkaði í flutningum frá vinnslustað og út á flugvöll þar sem hitastigið við lestun í flug var um 3-6°C. Í fluginu lækkaði hitastigið niður í 0-2°C . Við aflestun hækkaði hitastig aftur í mest 4°C en lækkaði fljótt aftur í 0-1°C. Af ofangreindum upplýsingum sést að hitasveiflur við ferskfiskútflutning voru ekki miklar og kælt var fljótlega eftir að hitastig hækkaði. Helsta hættan er sú að biðtími geti verið lengri á þeim stöðum þar sem hitastigshækkunir voru eins og í vinnslu við flökun og roðflettingu og í flutningum við lestun og aflestun.

Hitaferill frá fiskmarkaði til neytenda sýndi að hitastigshækkun var við vinnslu þar sem hitinn fór upp í 7-8°C, en að öðru leyti var hitinn að jafnaði við 0°C. Einnig er um að ræða hitastigshækkun þegar fiskurinn er kominn í söluborð í versluninni (2-8°C). Hitastigsmælingar við vinnslu í stóru frystihúsi sýna að stöðug hækkun verður á hitastigi í hráefninu við vinnsluferlið. Í upphafi var hitastigið um 0.5°C, en við innmötun í lausfrysta var hitastigið um 3.5°C. Þessi ferill sýnir að hráefnið var vel kælt og einnig fór það hratt í gegnum þessa vinnslu.

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.

3. kafli

Vöxtur *Pseudomonas I, Pseudomonas II* og *Shewanella putrefaciens* við loftháðar og loftfirrðar aðstæður við stöðugt og breytilegt hitastig

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.

EFNISYFIRLIT

VÖXTUR <i>PSEUDOMONAS</i> I, <i>PSEUDOMONAS</i> II OG <i>SHEWANELLA</i> <i>PUTREFACIENS</i> VIÐ LOFTHÁÐAR OG LOFTFIRÐAR AÐSTÆÐUR VIÐ STÖÐUGT OG BREYTILEGT HITASTIG	32
3.1. INNGANGUR.....	32
3.2. FRAMKVÆMD	32
3.2.1. Fortilraunir: Vöxtur baktería á mismunandi ætum	32
3.2.2. Þróun á fiskextrakti.....	33
3.2.3. Grunnefnaskipti <i>Pseudomonas</i> I - II tegunda og <i>Shewanella putrefaciens</i>	33
3.2.4. Ræktun stofna í fiskextrakti og mæling niðurbrotsefna með rafnefni	34
3.3. NIÐURSTÖÐUR	34
3.4. UMRÆÐUR OG ÁLYKTANIR.....	42

VÖXTUR *PSEUDOMONAS I*, *PSEUDOMONAS II* OG *SHEWANELLA PUTREFACIENS* VIÐ LOFTHÁÐAR OG LOFTFIRRDAR AÐSTÆÐUR VIÐ STÖÐUGT OG BREYTILEGT HITASTIG

3.1. INNGANGUR

Þrjár meginættkvíslir baktería eru aðalskemmdarvaldar í fiski. Þetta eru *Pseudomonas*, *Shewanella* og *Photobacterium*. Í þessu verkefni er meginmarkmiðið að rannsaka helstu eiginleika þessara baktería og búa til geymsluþolsspálíkön fyrir fisk. Þetta er gert með því að athuga vaxtarhraða þessara baktería við mismunandi hitastig og við ákveðnar hitastigssveiflur. Einnig var notað rafnef sem hefur verið þróað af fyrirtækinu Boðvaka í samvinnu við Rf. Þetta tæki mælir magnbundið nokkur rokgjörn efnasambönd (NH_3 , CO , SO_2) sem myndast í skemmdarferli á fiski.

3.2. FRAMKVÆMD

3.2.1. Fortilraunir: Vöxtur baktería á mismunandi ætum

Alls var athugaður vöxtur 16 stofna sem fengnir voru frá Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins (Reykjavík). Þessir stofnar höfðu verið einangraðir úr þorski sem geymdur hafði verið við 10°C í 5 daga. Þó var einn *Photobacterium phosphoreum* stofn einangraður úr þorski sem geymdur var í gaspakkningu með koltvísýringi (frá Danmörku). Vöxtur allra stofnanna var athugaður á fimm mismunandi ætum til þess að geta gert sér grein fyrir lífeðlisfræðilegum eiginleikum þeirra og hvernig hægt væri að aðgreina stofna í blönduðum ræktum; Long & Hammer æti (LH), Pseudomonas Agar Base (CFC), Iron Agar (IA), Luminescence Medium (LM), Plate Count Agar (PCA) og Nutrient Agar (NA). Ætin voru öll gerð samkvæmt leiðbeiningum framleiðenda og innihéldu 1% salt (NaCl). Einnig var útlit kólónía á ætunum athugað. Út frá niðurstöðum úr þessum tilraunum voru 9 stofnar rannsakaðir áfram.

3.2.2. Þróun á fiskextrakti

Til þess að rannsaka efnaskipti bakteríanna í sem "náttúrulegustu" umhverfi var þróað fiskextraktæti. Ferskur þorskur var hakkaður og þynntur tífalt í eimuðu vatni og settur í hristivél (stomacher) í eina mínútu. Því næst var vökvinn settur í skilvindu í 20 mínútur (13000 rpm) og flotinu fleytt af og sett í tilraunaglös sem voru hitadauðhreinsuð. Vegna þynningar og hitunar tapast ávallt ákveðið magn af rokgjörnum og viðkvæmum efnum. Því var þrem amínósýrum (cysteine, serine og methionine) og trimethylamidoxid (TMAO) bætt út í ætið eftir dauðhreinsun úr filtersterilum lausnum. Lokastyrkur efnanna var; cysteine, 100 mg/l; serine, 24 mg/l; methionine, 24 mg/l og TMAO, 500 mg/l.

3.2.3. Grunnefnaskipti *Pseudomonas* I - II tegunda og *Shewanella putrefaciens*

Í þessari tilraun var vaxtarhraði ofangreindra stofna athugaður við þrjú mismunandi hitastig (1.0, 7.5 og 15.0°C) við loftháðar og loftfirrðar aðstæður. Þetta var gert í Nutrient Broth (NB) æti með 1% saltstyrk. Þegar loftfirrðar aðstæður voru notaðar var ætið soðið áður og kælt um leið og súrefnisfríu gasi var dælt í það. Síðan var það flutt í súrefnissnaúðar ræktunarflöskur (120 ml) og þær lokaðar með bítýlgúmmí sem er þeim eiginleikum gætt að súrefni kemst ekki í gegnum það. Að lokum var flöskunum lokað með álhettum. Sáð var í gegnum gúmmíð í ræktunarflöskurnar og sýni tekin úr þeim með sterílum sprautum og nálum sem stungið var í gegnum gúmmíð.

Ræktir sem notaðar voru í þessari tilraun voru þrjár stofnar af *Pseudomonas* I, þrjár stofnar af *Pseudomonas* II og þrjár stofnar af *Shewanella putrefaciens*. Fyrir hverja vaxtartilraun var stofnunum níu sáð í Nutrient Broth æti og þeir látnir vaxta í einn sólarhring við 15°C. Fjöldi baktería í ræktunum var þá á bilinu $1 * 10^9$ - $1 * 10^{10}$ /ml. Næturgömlu ræktirnar voru síðan þynntar í ca. $1 * 10^5$ /ml og sáð í tilraunaflöskur sem í var 50 ml af Nutrient Broth. Lokafjöldi baktería í tilraunaflöskunum var ca. $1 * 10^3$ /ml - $1 * 10^4$ /ml. Ræktirnar voru síðan settar í viðkomandi hitastig og sýni tekin með reglulegu millibili til þess að ákvarða fjöldaaukninga á tímaeiningu. Bakteríunum var sáð á Iron Agar og *Pseudomonas*

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.

Agar Base eftir því hvaða tilraunauppsetningar var um að ræða. Sjö mismunandi tilraunauppsetningar voru gerðar m.t.t. hvaða bakteríur voru notaðar. Í fyrsta lagi var eingöngu notaðir þrjár stofnar af *Pseudomonas* I (P1), í öðru lagi þrjár stofnar af *Pseudomonas* II (P2) og í þriðja lagi þrjár stofnar af *S. putrefaciens* (Sh). Síðan voru notaðar blöndur. Í fyrsta lagi var hinum þrem stofnum af P1 blandað saman með hinum þrem stofnum af P2. Sama var gert með P1 og Sh og P2 og Sh. Að lokum var öllum níu stofnunum blandað saman (Allt).

Einnig var athugað hvaða áhrif hitastigssveiflur hafa á vöxt bakteríanna. Sömu aðferðir við sáningu og sama tilraunauppsetning hvað varðar blöndun stofna voru notaðar og áður hefur verið lýst nema hvað þessi tilraun var ekki framkvæmd við loftfirrðar aðstæður. Upphafshitastig var sett við 7.5°C og því haldið í u.þ.b. 30 klst. Þá var hitastigið lækkað í 1°C og því viðhaldið í 11 klst og hækkað í 15°C sem var viðhaldið í 27 klst.

3.2.4. Ræktun stofna í fiskextrakti og mæling niðurbrotsefna með rafnefni

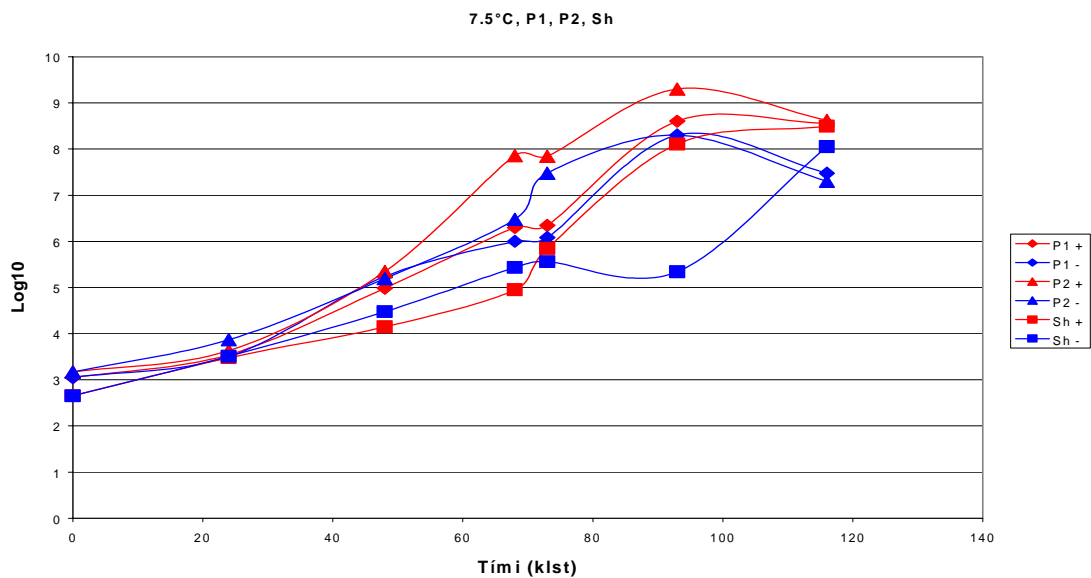
Til þess að athuga niðurbrotsefni bakteríanna í fiskextrakti voru stofnarnir ræktaðir á sama máta og áður, þ.e. bæði voru notaðar hreinræktir og blöndur. Rúmmál rækta var 250 ml og ræktað var við 15°C. Sáð var úr næturgömlum ræktum, 1 ml. Allt rúmmálið var notað til mælingar í rafnefinu tveim dögum eftir sáningu

3.3. NIÐURSTÖÐUR

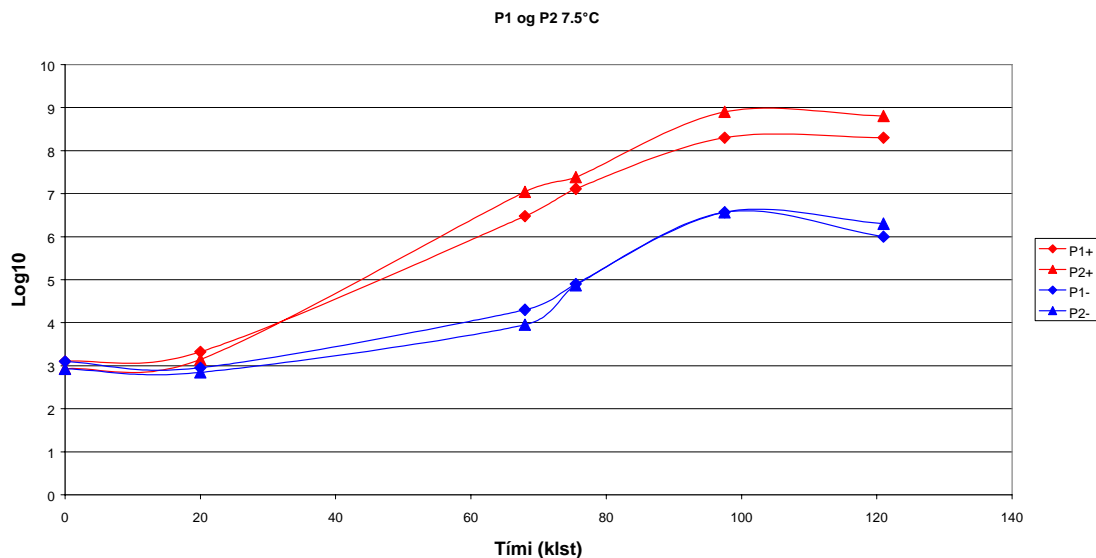
Út frá fortíraunum þar sem athugaður var vöxtur bakteríanna á mismunandi ætum var ákveðið að nota IA og CFC til þess að aðgreina bakteríurnar. CFC-ætið greinir *Pseudomonas* I frá *Pseudomonas* II þar sem fyrrnefndu bakteríurnar endurvarpa útfjólubláu ljósi en þær síðarnefndu ekki. *S. putrefaciens* vex ekki á þessu æti en mynda hins vegar svartar útfellingar á járnagar sem *Pseudomonas* bakteríurnar gera ekki. Myndirnar hér á eftir (Myndir 1-5) sýna vöxt bakteríanna við 7.5°C, bæði við loftháðar og loftfirrðar aðstæður. Mynd 1 sýnir vöxt *Pseudomonas* I, *Pseudomonas* II og *S.*

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.

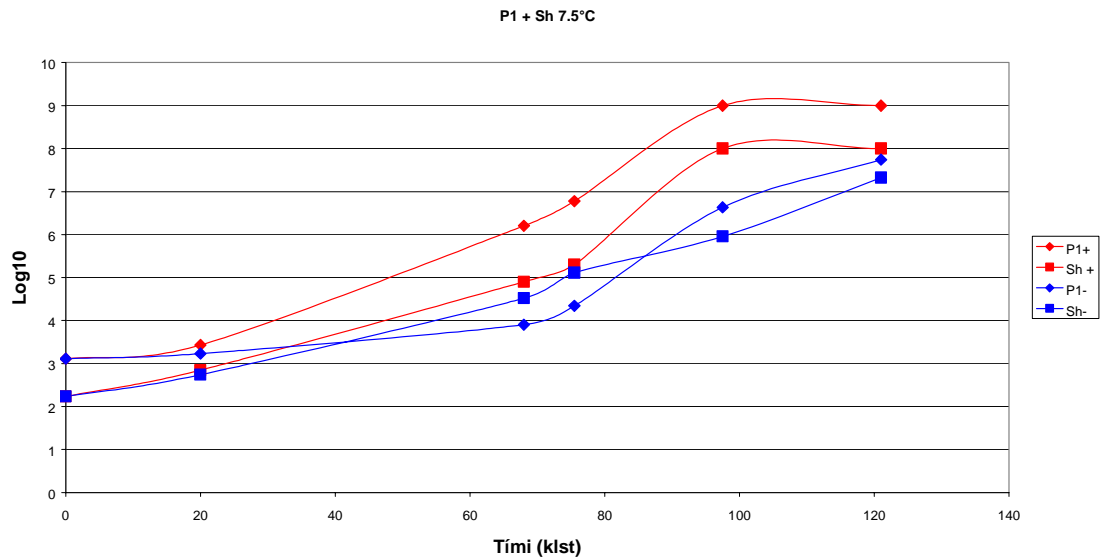
putrefaciens í hreinræktum, þ.e. þrjár stofnar saman af sömu tegund. Myndir 2-5 sýna síðan vöxt mismunandi blanda af bakteríunum við sama hitastig. Samskonar tilraunir voru gerðar við 1 og 15°C en þær myndir eru ekki sýndar. Þess í stað var reiknaður út kynslóðatími bakteríanna í hinum mismunandi tilraunum (Tafla 1).



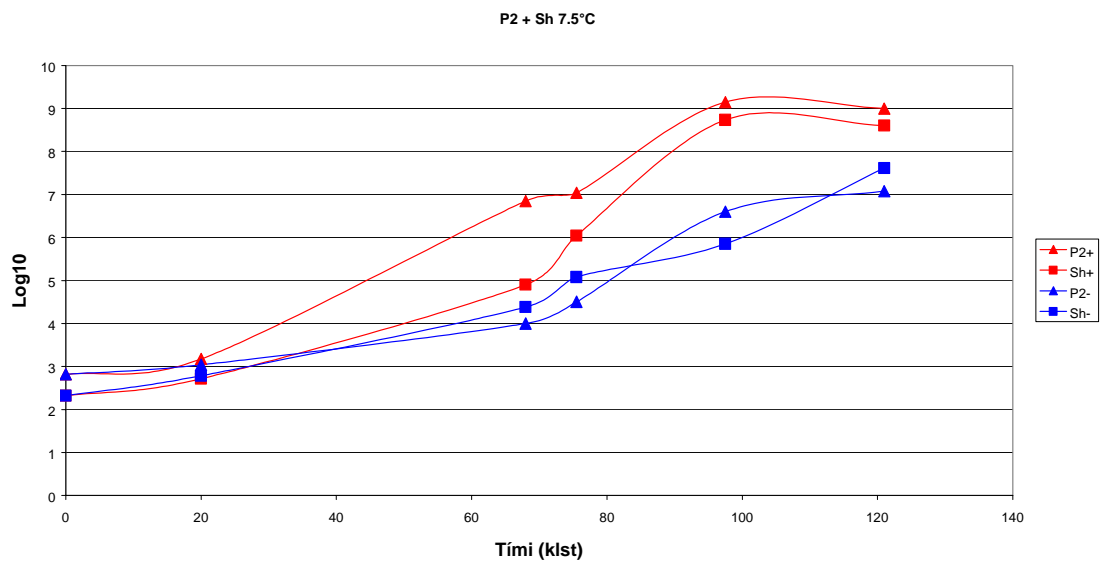
Mynd 1. Vöxtur á tímaeiningu fyrir *Pseudomonas* I (P1), *Pseudomonas* II (P2) og *Shewanella putrefaciens* (Sh) við 7.5°C í hreinræktum. Loftháðar aðstæður (+); Loftfirrðar aðstæður (-).



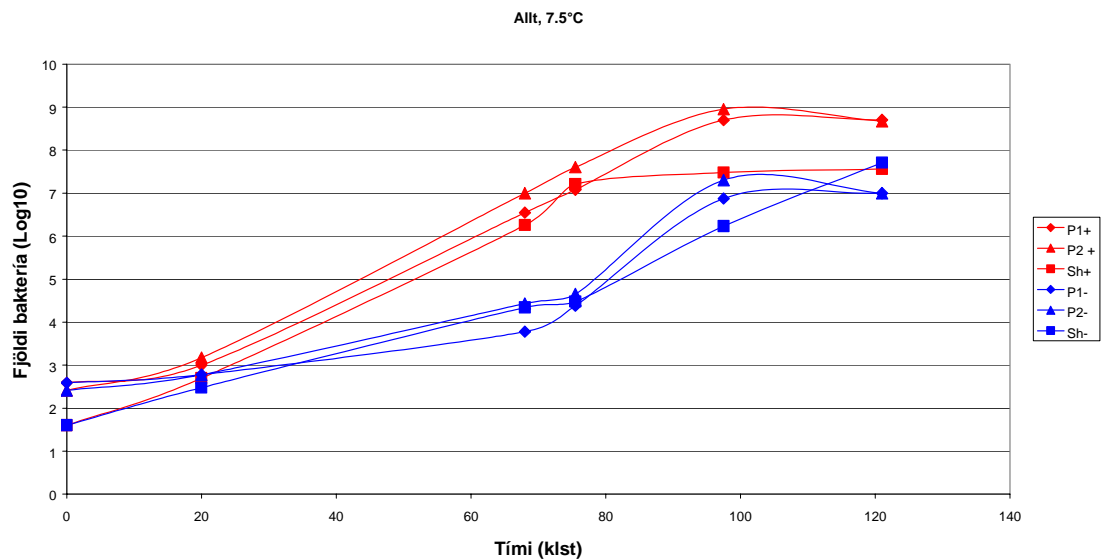
Mynd 2. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas* I (P1) og *Pseudomonas* II (P2) við 7.5°C. Loftháðar aðstæður (+); Loftfirrðar aðstæður (-).



Mynd 3. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas* I (P1) og *S. putrefaciens* (Sh) við 7.5°C. Loftháðar aðstæður (+); Loftfirrðar aðstæður (-).



Mynd 4. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas* II (P2) og *S. putrefaciens* (Sh) við 7.5°C. Loftháðar aðstæður (+); Loftfirrðar aðstæður (-).



Mynd 5. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas I*, *Pseudomonas II* (P2) og *S. putrefaciens* (Sh) við 7.5°C. Loftháðar aðstæður (+); Loftfirrðar aðstæður (-).

Ljóst er á myndum 1-5 og á töflu 1 að bæði viðvera súrefnis og mismunandi vaxtarhitastig hefur mikil áhrif á vaxtarhraða allra bakteríanna. Þær uxu yfirleitt mun hraðar í viðurvist súrefnis og með hækkandi hitastigi. Vaxtarhraði *Pseudomonas II* virðist vera ögn hraðari en vaxtarhraði *Pseudomonas I* en þó ekki í öllum tilfellum. Vaxtarhraði *S. putrefaciens* var mun minni en hinna bakteríanna, sérstaklega við lægri hitastigin sem athuguð voru. Þessi baktería sker sig einnig frá hinum að því leyti að lítill munur var á vaxtarhraða hennar við loftháðar og loftfirrðar aðstæður við hæsta hitastigið.

Í blönduðu ræktunum komu mjög svipaðar niðurstöður fram og í hreinræktunum. Þó virðist sem að vaxtarhraði *S. putrefaciens* sé minni þegar allar bakteríurnar voru saman miðað við í hreinrækt, sérstaklega við lægsta hitastigið.

Mynd 6 sýnir vöxt allra stofnanna í hreinrækt þegar hitastigssveiflur voru í umhverfi. Munurinn á vaxtarhraða *Pseudomonas I* og *II* var enn sem fyrr ekki mikill og var háður hitastiginu. Hins vegar virðist að mjög lágt hitastig (1°C) sem sett var á ræktirnar eftir að þær höfðu verið í 7.5°C hita hafi þær afleiðingar að *S. putrefaciens* nái sér ekki á strik, þó svo að hitastigið væri hækkað í 15°C seinna í tilrauninni.

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.

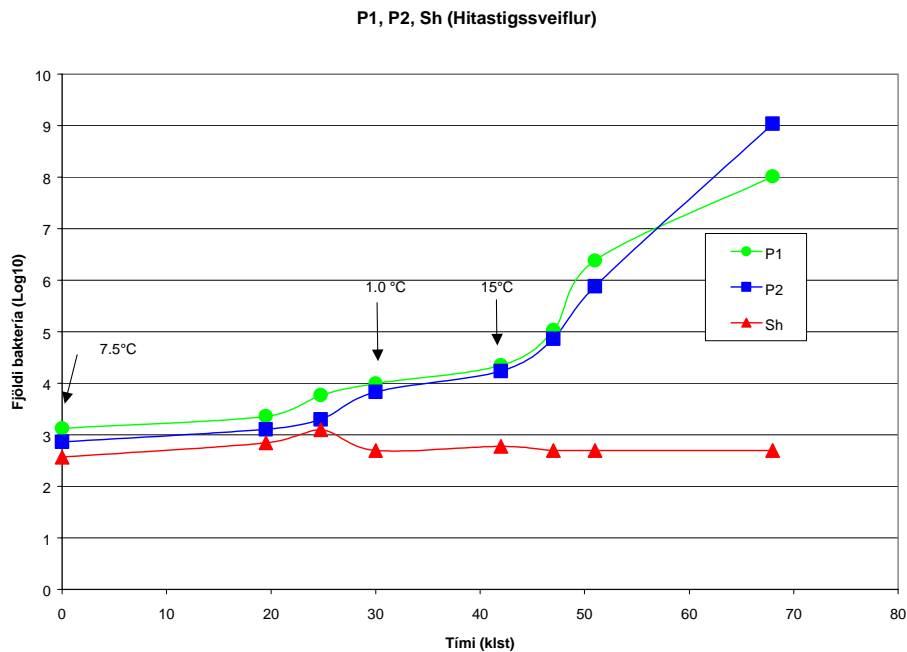
Blöndur af *Pseudomonas* I og II tegundum (Mynd 7) sýndu svipuð einkenni og hreinræktirnar (Mynd 6). Blöndur af *Pseudomonas* I og *S. putrefaciens* annars vegar (Mynd 8) og *Pseudomonas* II og *S. putrefaciens* (Mynd 9) sýndu mjög svipaðar innbyrðis niðurstöður. *S. putrefaciens* náði sér mjög seint á strik eftir að hitastigið hafði verið lækkað. Í þessum ræktum nær þó *S. putrefaciens* sér á strik eftir hitalækkun, öfugt miðað við niðurstöður úr hreinrækt af bakteríunni. Einnig sést á myndunum að eftir hitasveiflurnar tók það allt að 10-12 tíma þangað til *S. putrefaciens* fór að fjölga sér við 15°C. Þegar allar bakteríurnar voru láttnar vaxa saman voru niðurstöðurnar mjög sambærilegar og áður (Mynd 10).

Athyglisvert er að kynslóðatími *Pseud.* II í blönduðum ræktum í lofti var alltaf styttri við 1°C sem bendir til þess að þessar samkeppnisaðstæður voru hvetjandi fyrir þessa bakteríu (sjá töflu 1).

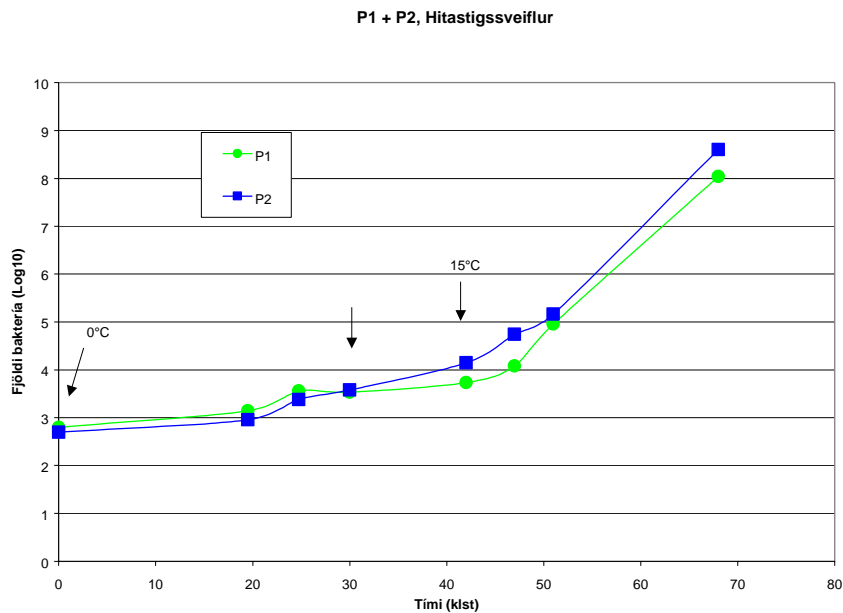
Tafla 1. Kynslóðatími (klst) *Pseudomonas* I, *Pseudomonas* II og *S. putrefaciens* í hreinræktum og blönduðum ræktum í viðurvist súrefnis og í súrefnissnauðu umhverfi. Ræktað var í Nutrient Broth æti.

Tilrauna- uppsetning	Bakteríu- tegundir	1°C		7.5°C		15°C	
		+ O ₂	- O ₂	+ O ₂	- O ₂	+ O ₂	- O ₂
<i>Pseudomonas</i> I		7.0	10.5	5.0	5.3	2.8	3.4
<i>Pseudomonas</i> II		7.8	14.5	4.2	5.5	1.8	2.9
<i>S. putrefaciens</i>		9.9	12.3	9.0	6.9	2.1	2.8
<i>Pseud.</i> I + II	<i>Pseudomonas</i> I	7.9	10.8	4.4	8.6	1.3	4.2
	<i>Pseudomonas</i> II	7.7	12.9	3.9	8.2	1.3	6.2
<i>Pseud.</i> I + <i>S. putrefaciens</i>	<i>Pseudomonas</i> I	8.5	16.4	5.0	6.9	1.9	4.3
	<i>S. putrefaciens</i>	11.2	13.2	6.8	7.0	2.2	2.1
<i>Pseud.</i> II + <i>S. putrefaciens</i>	<i>Pseudomonas</i> II	7.4	13.3	4.3	6.5	2.3	5.9
	<i>S. putrefaciens</i>	9.6	9.0	6.6	7.6	1.9	3.0
Allar saman	<i>Pseudomonas</i> I	9.9	7.4	4.1	3.8	1.5	1.1
	<i>Pseudomonas</i> II	6.9	20.3	3.7	5.7	2.0	4.3
	<i>S. putrefaciens</i>	15.7	14.3	5.2	6.2	3.8	2.0

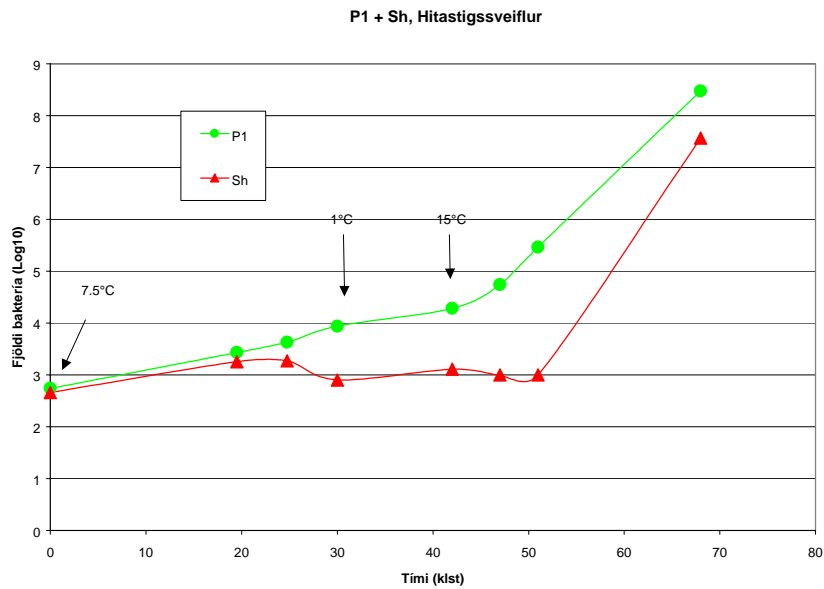
Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.



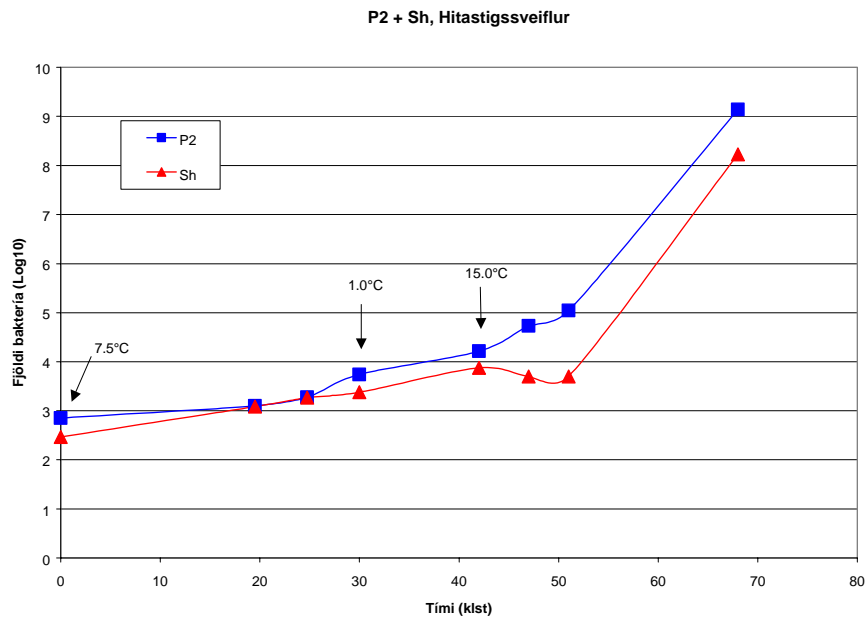
Mynd 6. Vöxtur á tímaeiningu fyrir hreinræktir *Pseudomonas* I (P1), *Pseudomonas* II (P2) og *Shewanella putrefaciens* (Sh) við breytilegt hitastig.



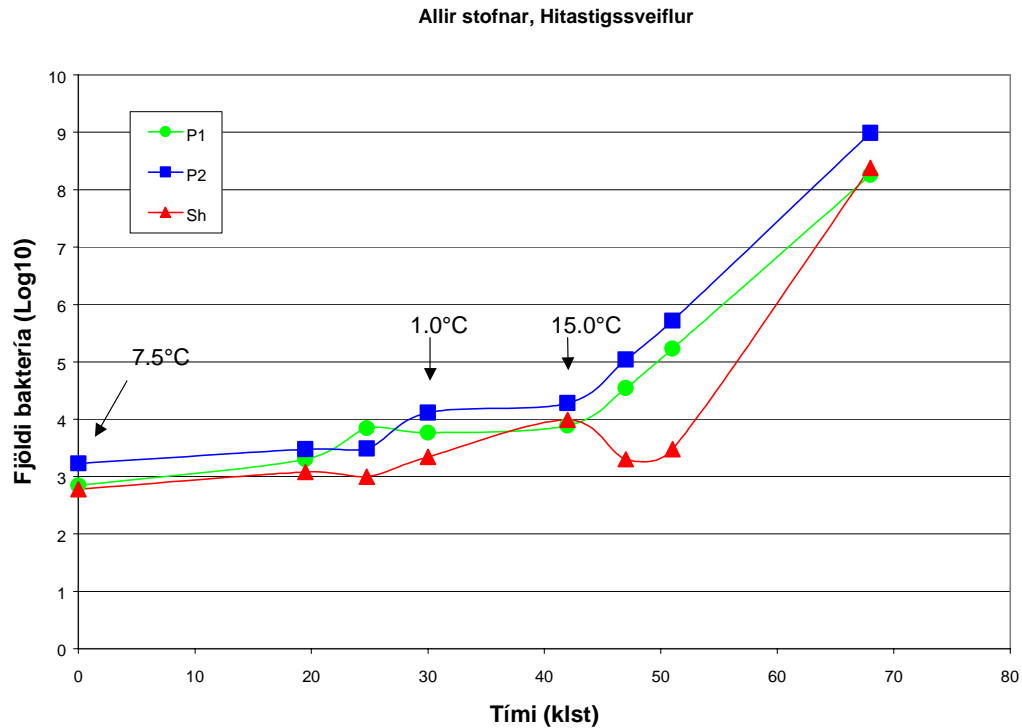
Mynd 7. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas* I og *Pseudomonas* II (P2) við breytilegt hitastig.



Mynd 8. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas I* og *S. putrefaciens* (Sh) við breytilegt hitastig.

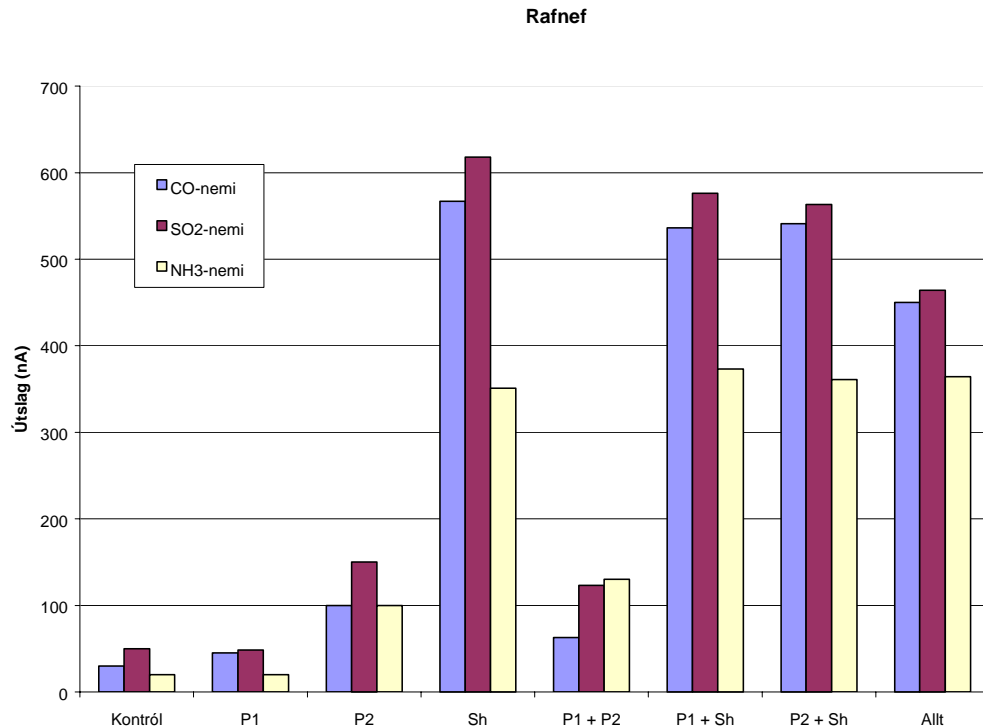


Mynd 9. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas II* og *S. putrefaciens* (Sh) við breytilegt hitastig.



Mynd 10. Vöxtur á tímaeiningu fyrir blöndu af *Pseudomonas* I, II og *S. putrefaciens* (Sh) við breytilegt hitastig.

Á mynd 11 sést að minnst var framleitt af skemmdarefnum þegar *Pseudomonas* I var látin vaxa í fiskextraktinu. Útslag á mismunandi nemum náði ekki mikið hærra en í kontróflösku (án baktería). Mun meira var framleitt af þessum efnum hjá *Pseudomonas* II, eða u.þ.b. helmingi meira en í kontróli. *S. putrefaciens* skar sig hins vegar mjög úr hvað þetta varðar og framleiddi meira en þrisvar sinnum meira af skemmdarefnum miðað við *Pseudomonas* II og sex sinnum meira en *Pseudomonas* I. Þessar niðurstöður endurspeglast síðan einnig í hinum mismunandi bakteríublöndum. Þegar *S. putrefaciens* var með í ræktunum var mun meira framleitt af skemmdarefnum miðað við blöndu af eingöngu *Pseudomonas* I og *Pseudomonas* II. Athyglisvert er þó að útslag á CO-nema og SO₂ nema virðist vera hærra í hreinrækt af *S. putrefaciens* miðað við hinar mismunandi blöndur.



Mynd 11. Útslag rafnefs úr mismunandi ræktum eftir vöxt í fiskextrakti við 15°C í 2 daga. P1 = *Pseudomonas I*, P2 = *Pseudomonas II*, Sh = *Shewanella putrefaciens*

3.4. UMRÆÐUR OG ÁLYKTANIR

Þær bakteríur sem notaðar voru í þessari tilraun voru *Pseudomonas I*, *Pseudomonas II* og *S. putrefaciens*. Einnig var reynt að gera sambærilegar tilraunir með *Photobacterium phosphoreum* en því miður reyndist ekki mögulegt að fá fram talningar á þessari bakteríu þar sem við þynningar á ræktunum virtist sem að hún dræpist því ekkert óx á skálum úr þynningarvökva.

Ofangreindar bakteríur hafa verið greindir sem sérhæfðir skemmdarvaldar í fiski og eru því mjög áhugaverðar með tilliti til þess að meta skemmd á fiski. *Pseudomonas* bakteríur eru loftháðar bakteríur sem geta brotið niður fjölda lífrænna efna og myndað margvísleg

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 3. kafli.

rokgjörn brennisteinsefni (þó ekki H₂S), alkóhól og lífrænar sýrur. Þær geta þó einnig vaxið loftfirrt með því að nota nítrat sem elektrónuþega. *S. putrefaciens* eru loftóháðar bakteríur sem eru einnig mikilvirkir framleiðendur rokgjarnra brennisteinsefna. Auk þess getur bakterían notað TMAO sem elektrónuþega og myndað hið illa lyktandi TMA í fiski.

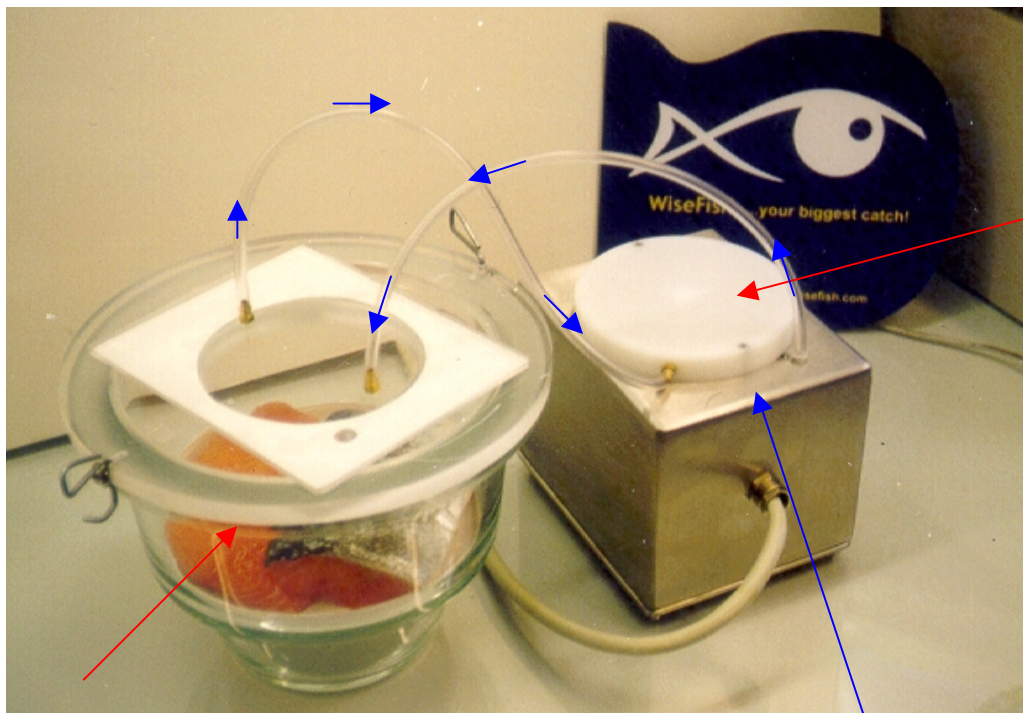
Niðurstöður vaxtartilrauna sýna að *Pseudomonas* tegundirnar virðast vaxa mun betur en *S. putrefaciens* við lágt hitastig. Þegar hitastigið hækkar er mjög lítil munur á vaxtarhraða bakteríanna. Einnig virðist sem að *S. putrefaciens* sé mun viðkvæmari fyrir mjög lágu hitastigi, sérstaklega þegar hún er byrjuð að vaxa við hitastig sem er mun hærra. Töluvert kemur á óvart hve vel allir stofnarnir vaxa við loftfirrðar aðstæður. Líklegasta skýringin á þessu er að í NB-ætinu sé þó nægjanlegt magn af elektrónuþegum fyrir þessar bakteríur til þess að vaxa loftfirrt. Þó sést að lokafjöldi baktería við loftfirrðar aðstæður er ávallt mun minni en við loftháðar aðstæður.

Mælingar á rokgjörnum skemmdarefnum frá bakteríunum með rafnefi gáfu athyglisverðar niðurstöður. CO neminn mælir fyrst og fremst alkóhól og aldehyð sem eru með 1-4 kolefnisatóm, SO₂ neminn greinir rokgjörn brennisteinsefni (H₂S og metylmerkaptan) og NH₃ neminn er sérhæfur fyrir efni eins og ammoníak og TMA. Athyglisvert er hve miklu meira útslag er á öllum þremur nemunum í ræktum *S. putrefaciens* miðað við *Pseudomonas* stofnana. *S. putrefaciens* virðist því vera mun mikilvirkari skemmdarvaldur en hinir stofnarnir við 15°C. Varlega ætti þó að fara í að túlka þessar niðurstöður þar sem hér er eingöngu um eina tilraun að ræða við hátt hitastig. Samkvæmt niðurstöðum úr vaxtartilraunum óx *S. putrefaciens* einmitt mjög vel við hátt hitastig og því er mjög líklegt að við lægri hitastig séu *Pseudomonas* bakteríurnar meira áberandi í skemmdarferlinu.

Til þess að fá sem gleggsta mynd af mikilvægi hinna mismunandi baktería verða rafnefstilraunir gerðar við fleiri hitastig auk þess sem gerðar verða vaxtarkúrfur í fiskextraktinu um leið og mælt verður með rafnefinu. Einnig verða gerðar fleiri tilraunir með hitastigssveiflur. Þannig munu fást upplýsingar um eðli bakteríanna við fleiri aðstæður sem nota má til þess að ná lokamarkmiðinu, að búa til geymsluþolsspálíkön fyrir ferskan fisk.

4. kafli

Ákvörðun á rokgjörnum efnum með rafnefi Uppsetning og þróun aðferða fyrir niðurbrotsefni



Lokað mælirými
með
rafefnanemum
CO
H₂S
SO₂
NH₃

Lokað sýnatökuskál
- uppsöfnun á
rokgjörnum efnum

Dæla sem tryggir flutning
rokgjarnra efna í mælirýmið

Mynd 4 kafli. Ný útfærsla rafnefsins frá Boðvaka, sem er með dælu til að tryggja flutning loftfasa úr sýnatökuskál yfir í mælirými

EFNISYFIRLIT

ÁKVÖRÐUN Á ROKGJÖRNUM EFNUM MEÐ RAFNEFI - UPPSETNING OG ÞRÓUN AÐFERÐA FYRIR NIÐURBROTSEFNI.....	46
4.1. INNGANGUR.....	46
4.2. FRAMKVÆMD.....	47
4.2.1. Mælingar á stöðlum.....	47
4.2.2. Úrvinnsla á gögnum.....	47
4.3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR.....	48
4.3.1. Mat á aðferð.....	48
4.3.1.1. Aðgreiningarhæfni (specificity).....	48
4.3.1.2. Staðalkúrfa.....	49
4.3.1.3. Samkvæmni (precision).....	51
4.3.1.4. Hittni (accuracy).....	53
4.3.1.5. Styrksvið, mælisvið.....	53
4.3.1.6. Greiningarmörk (limit of detection).....	53
4.3.1.7. Magngreiningarmörk (limit of quantification).....	53
4.3.1.8. Áreiðanleiki (robustness).....	53
4.3.1.9. Næmni (sensitivity).....	54
4.3.2. Upphafs- og lokagildi rafnefs við endurteknar mælingar á etanóli.....	54
4.4. ÁLYKTANIR.....	57
4.5. HEIMILDIR.....	58
VIÐAUKI 4. kafli.....	i

ÁKVÖRÐUN Á ROKGJÖRNUM EFNUM MEÐ RAFNEFI - UPPSETNING OG ÞRÓUN AÐFERÐA FYRIR NIÐURBROTSEFNI

4.1. INNGANGUR

Í verkefninu er notað fljótvirkt mælitæki svokallað rafnef, sem mælir rokgjörn efni (skemmdarvísa) sem myndast við geymslu á fiski. Rafnefið sem gefið hefur verið nafnið FreshSense hefur verið notað undanfarin ár í rannsóknum á Rf með góðum árangri (Guðrún Ólafsdóttir o.fl, 1998, 2000). Fyrirtækið Boðvaki (áður Element skynjaratækni á Sauðárkróki) hefur þróað tækið í samvinnu við Rf, en unnið er að því að koma tækinu á markað sem fljótvirkt mælitæki til að meta skemmd í fiski. FreshSense tækið hefur verið í þróun í u.þ.b 10 ár og sífellt hefur verið unnið að endurbótum til að tryggja stöðugleika og nákvæmni mælinga. Þar sem um er að ræða nýtt tæki sem er í þróun, hefur verið lögð sérstök áhersla á að setja upp skipulag fyrir mat á aðferð (sjá viðauka) til að fylgjast með ástandi tækisins þar sem framkvæmdar eru reglubundnar mælingar með stöðlum. Í þessari skýrslu er gerð samantekt samkvæmt þessu skipulagi á staðlamælingum, sem gerðar hafa verið með rafnefinu síðastliðið ár. Hér kemur fram nákvæmni mælinga (endurtekningarhæfni og tvímælingagildi) og stöðugleiki tækisins á löngum tíma. Þessar staðlamælingar eru liður í því að tryggja áreiðanleika mælinga með rafnefinu og eru grundvöllur að gæðakerfi fyrir rafnefsmælingar.

Rafnefið byggist á rafefnanemum (electrochemical sensors), lokuðu sýnatökurými og mæli-og úrvinnsluforriti. Notaðar voru tvær útgáfur af tækinu. Eldri útgáfan heitir FreshSense, sem notuð hefur verið undanfarin ár og lýst er nánar í fyrri skýrslum (Högnadóttir, 1999; Ólafsdóttir og Högnadóttir, 2000). FreshSense rafnefið inniheldur fimm skynjara (fjórir frá Dräger: CO, NO H₂S og SO₂, og einn NH₃A7AM skynjari frá City Technology) ásamt úrvinnsluforritinu Rudolf. Nýrra tækið hefur verið kallað LabRAT í þessari skýrslu og er örlítið breytt, aðallega er varðar sýnatökuaðferðir, en jafnframt er nýtt mæli-og úrvinnsluforrit (Labview). LabRAT tækið hefur minni sýnatökuskál, sem er hentugra þar sem ekki þarf að nota jafnstór sýni til að fá sama styrk af loftsýni. Tækið inniheldur fjóra skynjara (þrír frá Dräger: CO, H₂S og SO₂, og einn NH₃A7AM skynjari frá City Technology). Nýrra tækið er jafnframt útbúið með sérstöku mælirými þannig að loftsýni er dregið með dælu úr sýnatökuskálinni (2.3 l)

inn í lítið mælirými þar sem skynjararnir eru staðsettir. Mælt er í 10 mínútur í þessum mælingum, en mælingar benda til þess að jafnvægi náist fyrir og hægt sé að stytta mælitímann með þessari aðferð. Mældir hafa verið staðlar með báðum tækjum og niðurstöðurnar bornar saman til að kanna hvort tækin séu sambærileg. FreshSense tækið var flutt til Akureyrar í maí, 2000 og er notað þar við mælingar á niðurbrotsefnum örvera í þessu verkefni (sjá kafla 3). Í skýrslu um rafnefið (Ólafsdóttir og Högnadóttir, 2000) er fjallað nánar um einkennandi svörun nemanna, ásamt áhrifum hitastigs og sýnastærðar á svörun rafnefsins. Einnig er sýnt fram á áhrif mismunandi hitastigs sýnis við rafnefsmælingar í Rf verkefnaskýrslu fyrir Evrópuverkefnið um fjölskynjara fyrir fisk (Tryggvadóttir og Ólafsdóttir, 2000).

4.2. FRAMKVÆMD

4.2.1. Mælingar á stöðlum

Gerðar voru endurteknar mælingar á stöðlum á 12 mánaða tímabili fyrir FreshSense tækið, en á 6 mánaða tímabili fyrir LabRAT tækið. Mælingar eru framkvæmdar af þremur einstaklingum á þessu tímabili. Eins og fram kemur í skýrslu um FreshSense rafnefið (Ólafsdóttir og Högnadóttir, 2000) er erfitt að finna eitt efni til að skoða svörun allra nemanna samtímis. Í þessari skýrslu er etanól valið til að skoða einkennandi svörun CO nemans og TMA (trimetylamín) til að skoða NH₃ nemann.

Útbúnar voru staðallausnir í vatni af 45% TMA í vatnslausn (100, 300 og 500 ppm) og etanóli (50, 100 og 200 ppm) frá Merck. Einnig voru mældir þrír styrkir í vatnslausn af eftirfarandi efnum frá Merck: acetaldehyð (50, 100 og 200), 2-própanól (50, 150 og 300 ppm), propanon (100,300,500). 25 ml skammtar voru settir í petriskál (þvermál 8,8 cm) sem komið var fyrir í sýnatökuskálinni (5,2 l FreshSense og 2 l LabRAT) og mælt í 10 mínútur.

4.2.2. Úrvinnsla á gögnum

Mæliforrit tækjanna annars vegar Rudolf í FreshSense tækinu og hins vegar Labview forritið í LabRAT tækinu skrá straumgildi (nA) á 10 sekúndna fresti. Mælt er í 10

mínútur í lokaðri skál og í úrvinnsluforritinu er niðurstaðan er gefin upp sem upphafsgildi, lokagildi og mismunur, þ.e. mismunur á lokagildi (þ.e. meðaltal síðustu þriggja mælinga) að frádregnu upphafsgildi þ.e. meðaltali allra mæligilda í 1-3 mínútur áður en mæling hefst.

Línulegar aðferðir (nonparametric linear techniques) eins og höfuðþáttagreining (PCA - principal component analysis) eru mikið notaðar til að flokka og greina á milli rafnefsgagna. Þessi úrvinnsluaðferð er mjög gagnleg til að skoða niðurstöður mælinga með rafnefinu, þar sem hægt er að skoða samtímis svörun allra nemanna.

Við PCA greiningar er notað forritið Unscrambler (CAMO A/S). Höfuðþáttagreining byggist á því að skoða öll gögnin (sýni og breytur) og finna höfuðþætti sem liggja í gegnum gagnsafnið sem útskýra mesta breytileikann í gögnunum. Gögnunum er varpað yfir í nýjar stærðir og útbúið er graf eða PCA mynd þar sem höfuðþættirnir eru ásarinnir. PCA myndin sýnir þannig vægi eða einkunn (scores) hvers sýnis og framlag (loadings) hvernar breytu, sem hér er einstakur nemi í rafnefinu (sjá nánari lýsingu í skýrslu um rafnef (Ólafsdóttir og Högnadóttir, 2000; Rósa Jónsdóttir, 1997).

4.3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR

4.3.1. Mat á aðferð

4.3.1.1. Aðgreiningarhæfni (specificity)

Með FreshSense rafnefinu er einungis hægt að greina mjög rokgjörn efni. CO neminn er einkum næmur fyrir alkóhólum og aldehyðum með eitt til fjögur kolefnisatóm t.d etanóli, sem myndast í miklu magni í skemmdum fiski. H₂S og SO₂ nemarnir greina rokgjörn efni með brennisteini eins og vetnissúlfíð (H₂S) og metylmerkaptan (CH₃SH), sem eru einkennandi í skemmdum fiski. NH₃ neminn er mjög sérhæfður fyrir efni eins og ammoníak (NH₃) og trímetylámín (TMA) sem einnig eru í skemmdum fiski. Í skýrslu um rafnefið er sýnt fram á að rafnefið getur aðgreint einstök efni og blöndur af efnum (Ólafsdóttir og Högnadóttir, 2000)

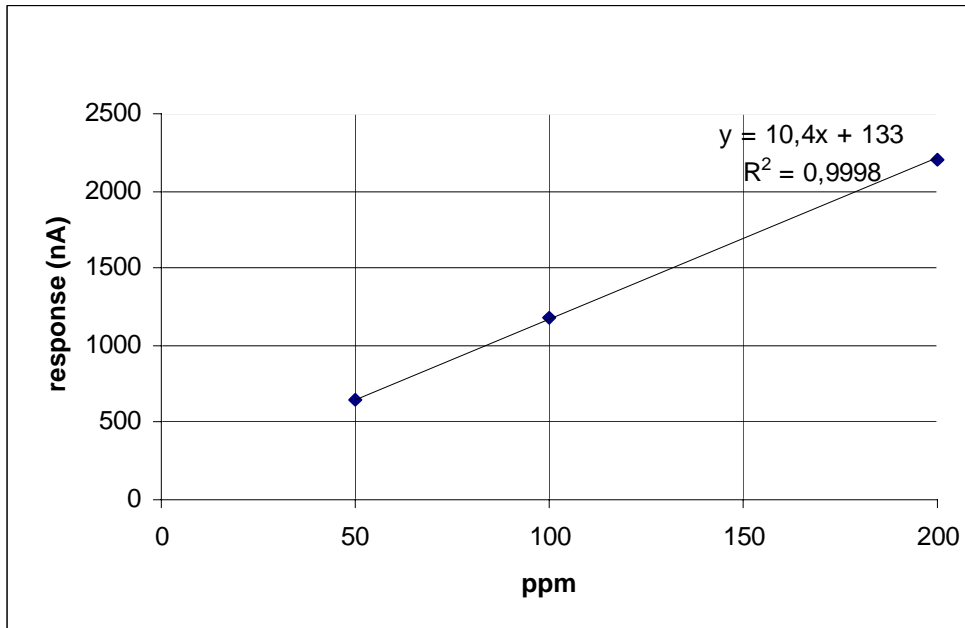
4.3.1.2. Staðalkúrfa

Gerðar voru mælingar á mismunandi styrkjum af stöðlum með FreshSense og LabRAT tækjunum til að skoða staðalkúrfur. Notaðar voru tvenns konar útfærslur af LabRAT tækinu eins og áður er lýst. Annars vegar er notuð lokuð skál og nemarnir eru í loki sýnatökuskálarinnar og hins vegar sogsaðferðin þar sem notuð er dæla til að flytja loft í sérstakt mælirými.

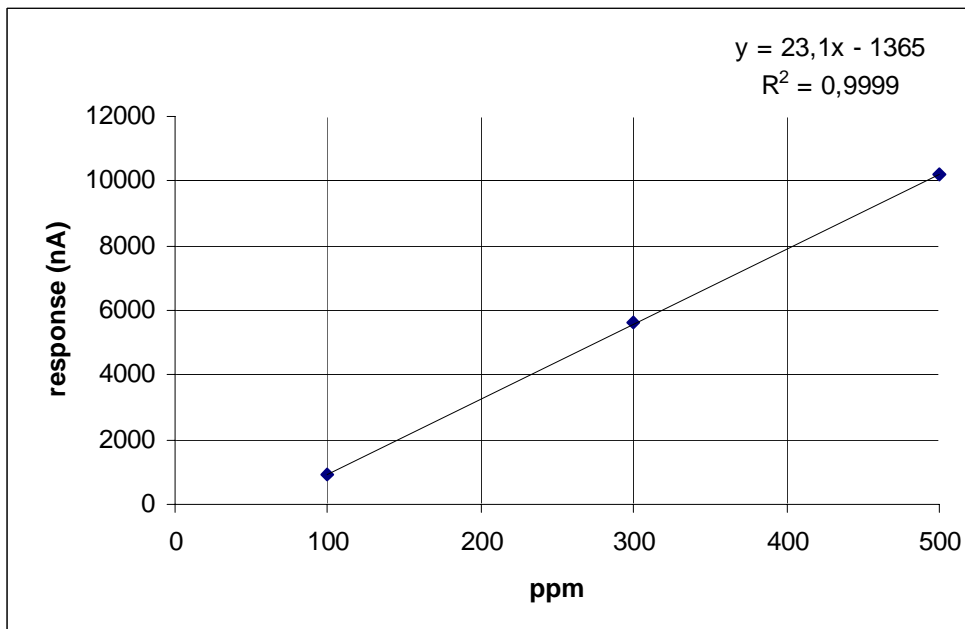
Valdar voru mælingar á etanóli í vatni (50 –200 ppm) til að skoða svörun CO nemans og mælingar á TMA í vatni (100-500 ppm) til að skoða svörun NH₃ nemans. Niðurstöður mælinga eru að finna í viðauka. Nauðsynlegt er að gera fleiri mælingar á staðalkúrfu til að fá gott mat á næmni rafnefsins. Tafla 1 sýnir niðurstöður línulegrar aðhvarfsgreiningar ásamt fylgnistuðli og myndir 1 og 2 sýna dæmigerðar staðalkúrfur fyrir etanól annars vegar og TMA hins vegar. Í öllum tilfellum er um að ræða fylgnistuðul >0,9991 sem er í samræmi við kröfur sem við teljum ásættanlegar. Samkvæmt NMKL - aðferð nr. 4 (1996)¹ þá á fylgnistuðul að vera stærri en 0,999. Sveigjustuðlar (coefficient of curvature), til að meta línulegt aðhvarf voru reiknaðir fyrir hverja líkingu með 99% öryggi ($t_{0,005, n-1}$). Sveigjustuðullinn á að vera stærri en 0,9 og minni en 1,1¹. Fyrir fyrstu líkinguna var sveigjustuðull $0,89 \pm 0,05$ sem er í lægri kantinum en þess ber að gæta að einungis þrjár mælingar voru gerðar á hverjum mælipunkti. Dæmi um útreikninga á sveigjustuðli má sjá í viðauka V4-8.

Tafla 4.1. Líkingar fyrir línulega aðhvarfsgreiningu (linear regression) ásamt fylgnistuðli (R, coefficient of correlation) fyrir CO og NH₃ nemana í rafnefunum við mælingar á etanóli og TMA

Dagsetning mælingar	Tæki	Nemi	Líking	Fylgnistuðull (R)
11.02.00	LR-sog	CO	$y = 10,4x + 133$	0,9999
02.03.00	LR-sog	CO	$y = 7,6x + 235$	1
06.05.00	LR-sog	CO	$y = 8,5x + 158$	0,99995
26.01.00	LR-skál	CO	$y = 9,9x + 451$	0,9998
03.03.00	LR-skál	CO	$y = 6,1x + 320$	0,9996
12.10.99	FreshSense	CO	$y = 10,6x + 24$	0,9995
25.01.00	FreshSense	CO	$y = 9,2x + 103$	1
08.02.00	FreshSense	CO	$y = 8,0x + 69$	0,99995
14.04.00	LR-sog	NH ₃	$y = 23,1x - 1365$	0,99995
03.03.00	LR-skál	NH ₃	$y = 16,7x - 1121$	0,9991
13.08.98	FreshSense	NH ₃	$y = 8,5x - 122$	0,9994



Mynd4.1. LR-sog, CO-nemi. Staðalkúrfa fyrir etanól



Mynd 4.2. LR-sog, NH₃-nemi. Staðalkúrfa fyrir TMA.

4.3.1.3. Samkvæmni (precision)

Tafla 4.2. Tvímælingagildi (repeatability, s_r) við mælingu á etanóli (CO-nemi).

Dagsetning mælingar	Tæki	styrkur (ppm)	CO-svörun (nA) meðaltal	s_r	RSD (%)	n
11.02.00	LR-sog	50	643	38	5,9	3
02.03.00	LR-sog	50	612	13	2,1	3
06.05.00	LR-sog	50	588	8	1,4	3
11.02.00	LR-sog	100	1183	66	5,5	3
02.03.00	LR-sog	100	993	22	2,2	3
06.05.00	LR-sog	100	1004	10	1,0	3
11.02.00	LR-sog	200	2204	25	1,1	3
02.03.00	LR-sog	200	1748	42	2,4	3
06.05.00	LR-sog	200	1863	56	3,0	3
26.01.00	LR-skál	50	957	7	0,7	2
03.03.00	LR-skál	50	616	33	5,3	4
26.01.00	LR-skál	100	1425	2	0,1	2
03.03.00	LR-skál	100	946	34	3,6	3
26.01.00	LR-skál	200	2437	0	0,0	2
03.03.00	LR-skál	200	1538	118	7,7	3
12.10.99	FreshSense	50	576	34	5,9	3
25.01.00	FreshSense	50	560	10	1,8	2
08.02.00	FreshSense	50	464	18	3,9	3
12.10.99	FreshSense	100	1058	19	1,8	3
25.01.00	FreshSense	100	1029	2	0,2	2
08.02.00	FreshSense	100	874	10	1,2	3
12.10.99	FreshSense	200	2161	42	2,0	3
25.01.00	FreshSense	200	1942	15	0,8	2
08.02.00	FreshSense	200	1665	20	1,2	3

Samkvæmni, þ.e. mælikvarði á dreifingu niðurstaðna sem fæst með endurteknum mælingum, er hér gefin upp sem staðalfrávik (s). Þannig er tvímælingagildi[†] (repeatability, r) gefið upp sem s_r og endurtekningarfærni (reproducibility, R) sem s_R . Við útreikninga á samkvæmni voru notaðar niðurstöður mælinga á staðalkúrfu (sjá 4.3.1.2). Niðurstöður fyrir mat á tvímælingagildi fyrir CO nemann við mælingar á etanóli ásamt hlutfallslegu staðalfrávik má sjá í töflu 4.2. Þar sést að hlutfallslegt staðalfrávik fyrir endurtekna mælingar á etanóli (tvímælingagildi) er mjög lágt eða <7,7% í öllum tilfellum fyrir rafnefin.

[†] Tvímælingargildi: Það er hversu nálægt óháðar endurtekna mælingar á sömu tilraunaeiningu eða einstaklingi eru hver annarri (Orðasafn úr tölfræði, 1990).

Í töflu 4.3. sést samantekt mælinga á 6-12 mánaða tímabili sem sýna endurtekningarhæfni (reproducibility) CO skynjarans í öllum tækjunum við mælingar á mismunandi styrk af etanóllausnum. Samkvæmt þessum mælingum er besta endurtekningarhæfnin þegar notuð er nýja aðferðin með sogi.

Tafla 4.3. Endurtekningarhæfni (reproducibility, s_R) við mælingu á etanóli (CO-nemi)

Tæki	nemi	styrkur (ppm)	CO-svörun (nA) meðaltal	s_R	RSD (%)	n
LR-sog	CO	50	614	32	5,1	9
LR-sog	CO	100	1060	99	9,3	9
LR-sog	CO	200	1939	209	10,8	9
LR-skál	CO	50	729	178	24,4	6
LR-skál	CO	100	1137	264	23,2	5
LR-skál	CO	200	1897	499	26,3	5
FreshSense	CO	50	530	59	11,1	8
FreshSense	CO	100	982	90	9,2	8
FreshSense	CO	200	1920	231	12	8

Tafla 4.4. Tvímælingagildi (repeatability, s_r) við mælingu á TMA (NH_3 -nemi).

Dagsetning mælingar	Tæki	styrkur (ppm)	NH_3 -svörun (nA) meðaltal	s_r	RSD (%)	n
14.04.00	LR-sog	100	922	119	12,9	3
14.04.00	LR-sog	300	5631	139	2,5	3
14.04.00	LR-sog	500	10179	297	2,9	3
03.03.00	LR-skál	100	630	138	21,9	3
03.03.00	LR-skál	300	3739	292	7,8	3
03.03.00	LR-skál	500	6016	2274	37,8	3
13.08.98	FreshSense	100	762	37	4,8	3
13.08.98	FreshSense	300	2351	90	3,8	3
13.08.98	FreshSense	500	4154	287	6,9	3

Þar sem eingöngu ein mæling á staðalkúrfu fyrir TMA hefur verið gerð, sem stenst kröfur um fylgnistuðul >0.999 með hverju tæki eru ekki upplýsingar um endurtekningarhæfni NH_3 -nemans. Því eru einungis niðurstöður fyrir mat á tvímælingagildum í þessari skýrslu (Tafla 4.4).

Tafla 4.4. sýnir að staðalfrávik á endurteknum mælingum á TMA. Ekki er hægt að draga miklar ályktanir af þessu þar sem fáar mælingar eru á bak við þessar tölur, en þetta er þó vísbending um að mælingar með nýju sogs aðferðinni séu næmari sem sést á því að lokagildið er hæst með þeirri aðferð.

4.3.1.4. Hittni (accuracy)

Þessum hluta er ólokið, en hittni er m.a. metin með heimtuprófi (sjá lýsingu í skipulagi fyrir mat á aðferð).

4.3.1.5. Styrksvið, mælisvið

Mælingar á etanóli voru gerðar á styrksviðinu 50 til 200 ppm og voru niðurstöðurnar línulegar. Mælisviðið reyndist vera á bilinu 600 til 2400 nA. Fyrir TMA voru mælingar gerðar á styrksviðinu 100 til 500 ppm og reyndust niðurstöðurnar einnig vera línulegar. Mælisviðið var á bilinu 630 til 10180 nA.

4.3.1.6. Greiningarmörk (limit of detection)

Greiningarmörk eru skilgreind sem sá styrkur sem gefur mælisvörun þrefalt stærri en staðalfrávik blankmælinga (bakgrunnssvörunin). Þá er miðað við 99% öryggisstig (confidence level). Þetta þýðir að hlutfallett staðalfrávik (RSD,%) við greiningarmörk er um 30 %. Eins og sést í töflu 4.2 þá er hlutfallslegt staðalfrávik við mælingar á 50 ppm etanóli í öllum tilvikum lágt (<5,9%) svo ljóst er að mælingarnar eru ávallt vel yfir greiningarmörkum. Það sama má segja um mælingar á 100 ppm TMA.

Til að meta greiningarmörk er nauðsynlegt að framkvæma endurteknar mælingar á stöðlum við lægri styrki en hér var gert og einnig þyrfti að gera endurteknar mælingar á sýnum sem gefa mismikla svörun.

4.3.1.7. Magngreiningarmörk (limit of quantification)

Magngreiningarmörk er sá styrkur sem gefur mælisvörun tíu sinnum stærri en staðalfrávik blankmælinga (bakgrunnssvörunin). Þá er miðað við 99% öryggisstig. Þetta þýðir að hlutfallett staðalfrávik (RSD,%) við greiningarmörk er um 10 %.

Sjá nánari umfjöllun í kafla 4.3.1.6 um greiningarmörk.

4.3.1.8. Áreiðanleiki (robustness)

Við mælingar í rafnefinu er nauðsynlegt að sýnatökuaðstæður séu staðlaðar og mæling fari fram í stöðugu umhverfi og sýnið þarf að vera í lokuðu rými á meðan á mælingu stendur.

Eftirfarandi þættir hafa mikil áhrif á svörun rafnefsins:

- Rokgjörn efni eru mjög óstöðug og hiti hefur mikil áhrif á rokgirni efna . Þess vegna er nauðsynlegt að geta stjórnað hitastigi eða fylgjast vel með hitastigi sýna meðan á mælingu stendur og hugsanlega þarf að leiðrétta svörun með tilliti til hitastigs.
- Magn sýnis, yfirborðsflatarmál og hlutfall sýnis og lofts í sýnatökurými hafa mikil áhrif á svörun rafnefsins þannig að sýnatakan þarf að vera stöðluð.
- Utanaðkomandi mengun getur haft mikil áhrif á grunnildi nemanna, sjá umfjöllun um upphafsgildi (4.3.2.)
- Fylgjast þarf vel með langtíma reki nemanna og hafa verður í huga að líftími nemanna er takmarkaður.

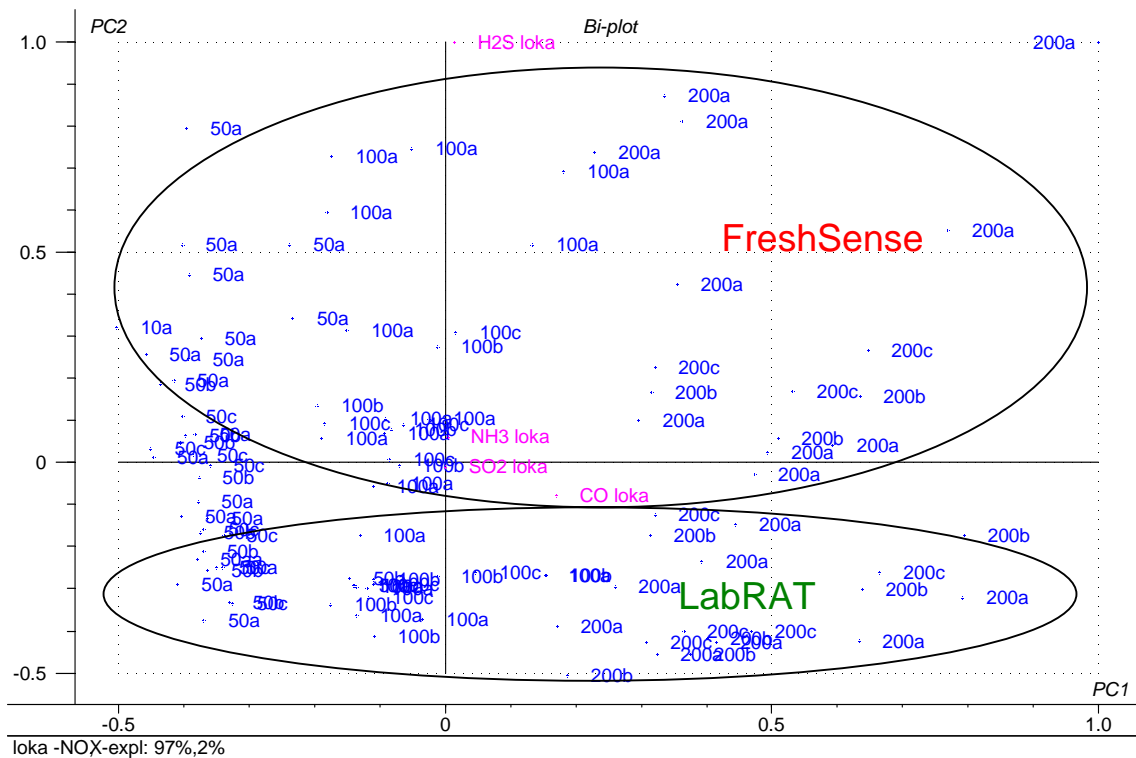
4.3.1.9. Næmni (sensitivity)

Niðurstöður úr 4.3.1.2 (staðalkúrfa) eru notaðar til að ákvarða hallatölu með aðferð minnstu kvaðrata (least squares). Hallatalan er mælikvarði á næmni sem mæld er í nA/ppm. sjá töflu 4.1.

4.3.2. Upphafs- og lokagildi rafnefs við endurteknar mælingar á etanóli

Til að fá yfirsýn yfir samanburð á niðurstöðum mælinga með öllum tækjunum voru skoðaðar mælingar á etanóli. Gerð var höfuðþáttagreining (PCA: principal component analysis) og skoðuð dreifing gagna bæði fyrir upphafs- og lokagildi. Notuð voru hrá gögn í þessar greiningar. Mynd 4.3. sýnir að dreifing gagna er meiri fyrir FreshSense tækið. Jafnframt er ljóst á þessari mynd að gögnin aðgreinast eftir tækjum, þar sem FreshSense gögnin eru ofar á myndinni. Gagnlegt er að skoða framlag (loadings) hvers skynjara, en þar sést að það er í raun CO neminn eins og búast má við sem útskýrir 90% af breytileika í gögnunum. Framlag NO nemans og H₂S nemans er mest í öðrum höfuðþættinum (9%). Þessir nemar eru ekki að sýna mikla svörun við etanóli, en hins vegar sveiflast svörun þeirra talsvert og þeir sýna útslag á fyrstu mínútum eftir að mæling hefst, en falla síðan niður aftur og lokagildið verður oft lægra en upphafsgildið eins og sést á "-" gildum í töflu (Viðauki). Þetta er í raun flökt og getur haft áhrif á aðgreiningarhæfni rafnefsins þegar niðurstöður allra nemanna eru skoðaðar samtímis eins og venjan er að gera við mælingar á raunverulegum sýnum.

Við endurbætur á tækinu var ákveðið að sleppa NO nemanum í LabRAT tækinu. Það skýrir að hluta til hvers vegna tækin aðgreinast á myndinni og einnig minni dreifingu í LabRAT gögnunum. Þegar NO nemanum er sleppt í höfuðþáttgreiningunni verður aðgreining tækjanna ekki eins mikil og höfuðþáttur 2 útskýrir aðeins 2% af breytileikanum.



Mynd 4.3. Höfuðþáttgreinig á lokagildi mælinga á etanol stöðlum með FreshSense og LabRAT tækjunum. Framlag skynjaranna er sýnt í bleiku (CO, H₂S, NO, NH₃ og SO₂)

Það er vel þekkt vandamál rafnafa að skynjarar, sem tækin byggja á eru ekki nógu stöðugir og sumir hafa langtímarek þannig að næmni þeirra breytist örlítið með tíma. Líftími rafefnanemanna, sem notaðir eru í FreshSense tækin er 1-2 ár og fer eftir notkun. Annað vandamál er að skynjararnir eru lengi að ná stöðugu grunngildi þegar þeir eru nýir (stundum 1-2 mánuði). Tækjaframleiðandinn þarf því að láta tækið “lagerast” í einhvern tíma áður en tækið er tekið til notkunar. Til að tryggja nákvæmni mælinga með FreshSense rafnefinu er nauðsynlegt að fylgjast vel með upphafsgildi mælinga. Vinnureglan er sú að skrá upphafsgildi allra nemanna áður en mæling er gerð og tryggja að gildið sé ávallt það sama (innan ákveðinna skekkjumarka). Upphafsgildið er í raun mæling í umhverfinu áður en sýnatökuskálinni er lokað og þess vegna skiptir miklu máli að tækið sé staðsett í stöðugu umhverfi og jafnframt

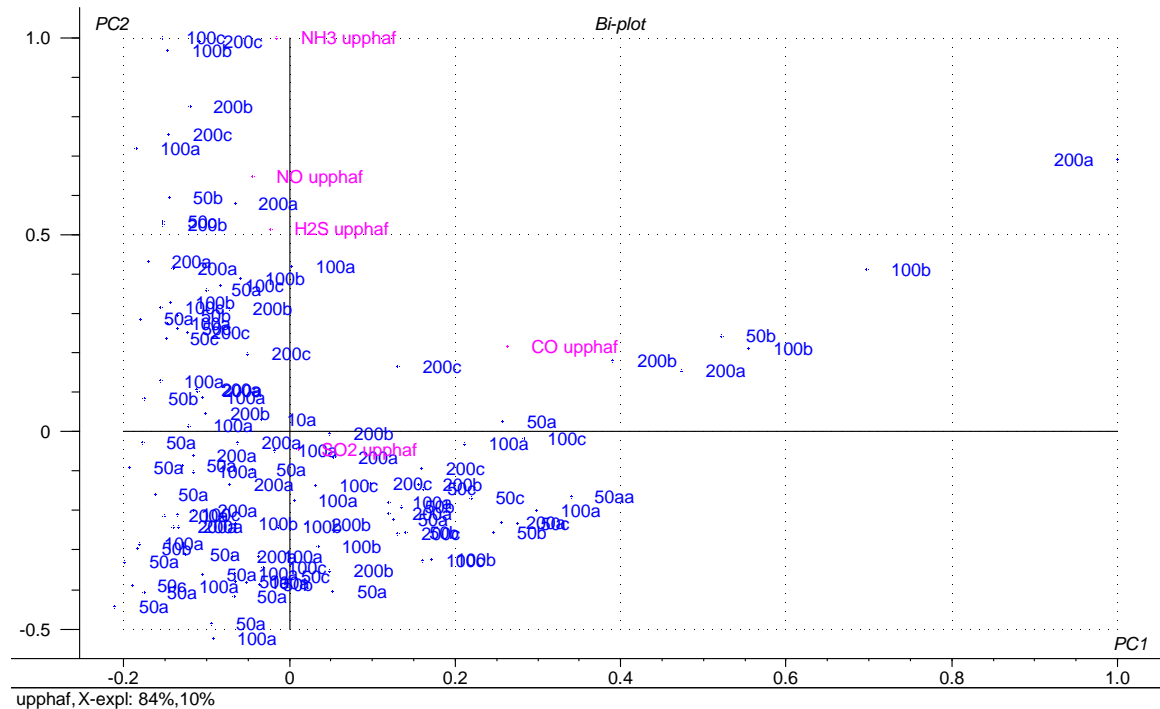
þarf að setja mælinguna af stað áður en nemarnir komast í snertingu við sýnið. Reynslan hefur sýnt að öll meðferð lífrænna efna eins og eters, etanóls og annarra leysiefna, ásamt sápu og sótthreinsiefna getur haft áhrif á nemana. Einnig má nefna að óheppilegt er að staðsetja tækið nálægt glugga við bílastæði þar sem nemarnir skynja þegar bílar eru ræstir.

Til að kanna hvort munur væri á upphafsgildum nemanna í rafnefunum þremur var gerð höfuðþáttagreiningu á niðurstöðum etanólmælinga sem framkvæmdar voru á 6-12 mánaða tímabili (mynd 4.4). Ef upphafsgildið væri alltaf það sama myndu öll gögnin hópast þétt saman á myndinni. Sú er ekki raunin og upphafsgildi fyrir CO nemann í FreshSense tækinu er mun lægra en í LabRAT tækinu eins og sést á því að gögnin aðgreinast. Mynd 4.4. sýnir jafnframt að mælingar, sem gerðar voru í janúar 2000, þegar LabRAT tækið var nýtt, hafa mun hærri upphafsgildi sem fara lakkandi um leið og skynjararnir eldast. Æskilegt er að upphafsgildi nemanna sé alltaf það sama, en raunin er sú að grunnildi þeirra er að breytast með tíma.

Í viðauka eru upphafs og lokagildi fyrir endurteknar mælingar á etanóli. Þegar þau gögn eru skoðuð nánar kemur í ljós að talsverður munur er á upphafsgildi skynjaranna og breytileikinn er mestur í því. Minni breytileiki er í lokagildinu og í sumum tilfellum er hentugra að nota lokagildið til að bera saman sýni frekar en að skoða mismun, sem er lokagildi - upphafsgildi. Sérstaklega er ráðlegt að nota lokagildi, ef um er að ræða mælingar þar sem svörunin er ekki mikil og mikið flókt er í grunnildinu.

Reynslan hefur sýnt að skynjararnir eru einnig oft lengi að ná sér eftir mælingar á sýnum með sterka lykt þ.e. mikið magn af rokgjörnum efnum. Á mynd 4.4. sést að NH₃ neminn leggur mest til höfuðþáttar 2 sem útskýrir 10% af breytileikanum. Við nánari skoðun á gögnunum kom í ljós að það eru mælingar með FreshSense tækinu í september 1999, sem hafa þar mest vægi. Deginum áður voru framkvæmdar mælingar á TMA lausnum og greinilegt er að NH₃ neminn var ekki búinn að ná jafnvægi. Þetta sýnir mikilvægi þess að allir nemar nái grunnildi áður en mæling hefst. Það skal tekið fram að mælingar á TMA stöðlum gáfu mjög hátt útslag sem ekki er æskilegt og

betra hefði verið að vinna með þynnri lausnir.



Mynd 4.4. Höfuðþáttgreinig á upphafsgildi FreshSense og LabRAT tækjanna við endurteknar mælingar á etanóli. Framlag skynjaranna er sýnt í bleiku (CO, H₂S, NO, NH₃ og SO₂)

4.4. ÁLYKTANIR

Sett hefur verið upp skipulag fyrir mat á aðferð, til að fylgjast með ástandi rafnefsins. Samantekt í þessari skýrslu samkvæmt þessu skipulagi á staðlamælingum sýna tvímælingargildi (repeatability) fyrir CO og NH₃ nemana og endurtekningarrhæfni (reproducibility) fyrir CO nemann. Hlutfallslegt staðalfrávik fyrir endurteknar mælingar á etanóli (tvímælingagildi) er mjög lágt eða <7,7% í öllum tilfellum fyrir rafnefin. Einnig kemur fram að endurteknigarhæfni við mælingar á etanoli er best með nýrri útfærslu á rafnefninu, þ.e. sogaðferðinni. Líkingar fyrir línulega aðhvarfsgreiningu (linear regression) fyrir CO og NH₃ nemana í rafnefunum við mælingar á etanóli og TMA sýna að svörun nemanna er línuleg fyrir þessar mælingar (fylgnistuðull >0,9991). Hins vegar virðist næmnin þ.e. hallatalan fara minnkandi með tíma sem bendir til að hér sé um langtíma rek skynjaranna að ræða.

Til að meta greiningarmörk rafnefsins er nauðsynlegt að framkvæma endurteknar mælingar á stöðlum við lægri styrki en hér var gert og einnig þyrfti að gera endurteknar mælingar á sýnum sem gefa mismikla svörun. Nauðsynlegt er að staðla sýnatökuaðstæður til að tryggja áreiðanleika mælinga með rafnefinu. Hafa skal sérstaklega í huga hitastig við mælingar og tryggja að ekki sé um ræða utanaðkomandi mengun sem truflað getur svörun nemanna.

4.5. HEIMILDIR

Áslaug Högnadóttir. 1999 Application of an Electronic Nose in the Fish Industry. Meistaránámsritgerð við mætvælafræðiskor Háskóla Íslands.

Guðrún Ólafsdóttir og Áslaug Högnadóttir. 2000. FreshSense rafnef - nákvæmni mælinga og svörunareiginleikar. Rf skýrsla 08-00.

Guðrún Ólafsdóttir, Áslaug Högnadóttir and Emilía Martinsdóttir. 1998. Application of gas sensors to evaluate freshness and spoilage of various seafoods. *Úr: Methods to Determine the Freshness of Fish in Research and Industry, Proceedings of the Final meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness" AIR3 CT94 2283. Nantes, Nov. 12-14, 1997. International Institute of Refrigeration, 100-109.*

NMKL-prosedyre nr 4 (1996), Validering av kjemiske analysemetoder. Versjon 1, 31.12.1996.

Orðasafn úr tölfræði. Íslensk-ensk, ensk-íslensk. Orðanefnd á vegum Líftölfræðifélagsins og Aðgerðarannsóknafélags Íslands tók saman. Ritstjórar: Snjólfur Ólafsson og Sigrún Helgadóttir. Íslensk málnefnd. Reykjavík 1990.

Rósa Jónsdóttir, 1997. Áhrif fóðurfitu á svínafitu skoðuð með fitusýrugreiningum, MS ritgerð við matvælafræðiskor HÍ.

Soffia V. Tryggvadóttir og Guðrún Ólafsdóttir, 2000. Multisensor for fish: Questionnaire on quality attributes and control methods - Texture and electronic nose to evaluate fish freshness. Project report for European Commission (Development of multi-sensor techniques for monitoring the quality of fish, CT-98-4076). RF skýrsla 04-00.

VIÐAUKI 4. KAFLI

Tafla V-4.1. Mælingar á mismunandi styrk af etanóli, LR-sog

Tafla V-4.2. Mælingar á mismunandi styrk af etanóli, LR-skál

Tafla V-4.3. Mælingar á mismunandi styrk af etanóli, FreshSense

Tafla V-4.4. Mælingar á mismunandi styrk af TMA; LR-sog, LR-skál, FreshSense

Tafla V-4.5. Mælingar á mismunandi styrk af 2-própanóli; LR-sog, LR-skál

Tafla V-4.6. Mælingar á mismunandi styrk af propanoni; LR-skál

Tafla V-4.7. Mælingar á mismunandi styrk af acetaldehyði; LR-skál

Tafla V-4.8. Útreikningar á sveigjustuðli (coefficient of curvature). Notaðar eru niðurstöður mælinga á staðalkúrfu fyrir etanól (LR-sog), 11.02.00.

Tafla V-4.1. Mælingar á mismunandi styrk af etanóli, LR-sog

sýni	Dags	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
50a	11-feb-00	159,5	600,0	440,5	27,4	120,0	92,6	8,4	13,3	4,9	30,0	33,3	3,3	163,7	170,0	6,3
50a	2-mar-00	321,1	603,3	282,3	72,1	186,7	114,6	9,5	13,3	3,9	42,1	46,7	4,6	147,9	160,0	12,1
50a	6-maí-00	164,2	580,0	415,8	93,2	196,7	103,5	10,0	13,3	3,3	58,4	66,7	8,2	137,9	146,7	8,8
50b	11-feb-00	330,5	660,0	329,5	27,4	136,7	109,3	11,1	10,0	-1,1	30,5	33,3	2,8	160,0	170,0	10,0
50b	2-mar-00	328,9	606,7	277,7	72,1	153,3	81,2	10,5	16,7	6,1	42,1	50,0	7,9	152,6	163,3	10,7
50b	6-maí-00	186,3	586,7	400,4	70,0	176,7	106,7	10,0	13,3	3,3	61,1	66,7	5,6	143,2	150,0	6,8
50c	11-feb-00	395,8	670,0	274,2	27,4	136,7	109,3	9,5	10,0	0,5	30,0	33,3	3,3	165,8	173,3	7,5
50c	2-mar-00	351,1	626,7	275,6	72,1	156,7	84,6	10,0	13,3	3,3	46,3	53,3	7,0	157,9	170,0	12,1
50c	6-maí-00	203,2	596,7	393,5	56,8	180,0	123,2	10,0	16,7	6,7	61,1	70,0	8,9	150,5	156,7	6,1
100a	11-feb-00	186,3	1130,0	943,7	54,7	163,3	108,6	2,6	10,0	7,4	30,0	36,7	6,7	170,0	176,7	6,7
100a	2-mar-00	316,8	970,0	653,2	72,1	153,3	81,2	8,4	10,0	1,6	43,2	50,0	6,8	158,9	170,0	11,1
100a	6-maí-00	172,6	993,3	820,7	56,3	173,3	117,0	8,4	16,7	8,2	62,1	70,0	7,9	155,3	166,7	11,4
100b	11-feb-00	207,4	1163,3	956,0	74,2	193,3	119,1	2,1	10,0	7,9	30,5	40,0	9,5	171,6	180,0	8,4
100b	2-mar-00	675,3	1013,3	338,1	72,1	143,3	71,2	10,0	13,3	3,3	46,3	50,0	3,7	164,7	170,0	5,3
100b	6-maí-00	244,2	1010,0	765,8	52,1	180,0	127,9	10,0	16,7	6,7	64,7	70,0	5,3	160,5	166,7	6,1
100c	11-feb-00	246,3	1256,7	1010,4	93,7	203,3	109,6	3,2	10,0	6,8	30,5	36,7	6,1	175,3	183,3	8,1
100c	2-mar-00	451,1	996,7	545,6	72,1	166,7	94,6	8,4	10,0	1,6	46,3	50,0	3,7	165,3	173,3	8,1
100c	6-maí-00	190,0	1010,0	820,0	54,7	176,7	121,9	8,9	16,7	7,7	65,3	70,0	4,7	160,5	170,0	9,5
200a	11-feb-00	266,3	2186,7	1920,4	107,4	233,3	126,0	2,1	10,0	7,9	32,1	40,0	7,9	180,0	196,7	16,7
200a	2-mar-00	608,4	1700,0	1091,6	72,1	186,7	114,6	9,5	10,0	0,5	46,3	53,3	7,0	167,4	176,7	9,3
200a	6-maí-00	314,7	1843,3	1528,6	53,7	206,7	153,0	8,9	206,7	197,7	65,3	70,0	4,7	163,2	170,0	6,8
200b	11-feb-00	264,2	2193,3	1929,1	132,6	266,7	134,0	2,6	10,0	7,4	30,0	36,7	6,7	180,0	200,0	20,0
200b	2-mar-00	345,3	1780,0	1434,7	64,7	193,3	128,6	4,7	10,0	5,3	45,3	53,3	8,1	168,9	180,0	11,1
200b	6-maí-00	235,3	1820,0	1584,7	74,2	206,7	132,5	8,9	10,0	1,1	67,4	70,0	2,6	163,7	170,0	6,3
200c	11-feb-00	335,8	2233,3	1897,5	169,5	280,0	110,5	3,2	13,3	10,2	30,0	40,0	10,0	182,6	210,0	27,4
200c	2-mar-00	350,0	1763,3	1413,3	71,6	206,7	135,1	6,8	10,0	3,2	46,3	53,3	7,0	171,6	180,0	8,4
200c	6-maí-00	298,4	1926,7	1628,2	84,2	220,0	135,8	10,0	13,3	3,3	67,9	70,0	2,1	167,4	170,0	2,6

Tafla V-4.2. Mælingar á mismunandi styrk af etanóli, LR-skál

sýni	Dags	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
50a	26-jan-00	429,5	963,3	533,9	46,3	170,0	123,7	6,3	13,3	7,0	40,0	40,0	0,0	193,7	203,3	9,6
50a	3-mar-00	258,4	643,3	384,9	63,7	160,0	96,3	5,3	13,3	8,1	40,5	46,7	6,1	128,9	130,0	1,1
50aa	3-mar-00	495,3	580,0	84,7	63,7	160,0	96,3	12,6	10,0	-2,6	43,2	43,3	0,2	124,7	130,0	5,3
50b	26-jan-00	647,9	950,0	302,1	46,3	173,3	127,0	8,9	13,3	4,4	36,3	40,0	3,7	191,1	200,0	8,9
50b	3-mar-00	417,9	596,7	178,8	63,7	166,7	103,0	8,9	10,0	1,1	38,9	40,0	1,1	124,2	130,0	5,8
50c	3-mar-00	441,1	643,3	202,3	63,7	180,0	116,3	8,4	10,0	1,6	40,5	40,0	-0,5	124,7	140,0	15,3
100a	26-jan-00	391,1	1423,3	1032,3	46,3	213,3	167,0	3,2	10,0	6,8	37,9	40,0	2,1	191,1	210,0	18,9
100a	3-mar-00	461,1	970,0	508,9	63,7	173,3	109,6	8,4	10,0	1,6	40,5	43,3	2,8	127,4	136,7	9,3
100b	26-jan-00	792,1	1426,7	634,6	46,3	213,3	167,0	8,4	10,0	1,6	38,4	40,0	1,6	196,3	210,0	13,7
100b	3-mar-00	355,8	906,7	550,9	55,8	156,7	100,9	3,7	10,0	6,3	40,0	40,0	0,0	130,5	140,0	9,5
100c	3-mar-00	346,3	960,0	613,7	55,8	173,3	117,5	3,7	10,0	6,3	39,5	40,0	0,5	131,6	140,0	8,4
200a	26-jan-00	1041,6	2436,7	1395,1	46,3	280,0	233,7	10,0	10,0	0,0	36,8	40,0	3,2	201,6	210,0	8,4
200a	3-mar-00	425,8	1456,7	1030,9	55,8	186,7	130,9	5,3	10,0	4,7	38,4	40,0	1,6	134,2	143,3	9,1
200b	26-jan-00	539,5	2436,7	1897,2	46,3	320,0	273,7	5,3	103,3	98,1	36,8	40,0	3,2	203,2	210,0	6,8
200b	3-mar-00	255,8	1483,3	1227,5	68,9	156,7	87,7	2,1	10,0	7,9	40,0	40,0	0,0	140,0	150,0	10,0
200c	3-mar-00	324,2	1673,3	1349,1	77,4	193,3	116,0	3,7	13,3	9,6	40,0	46,7	6,7	140,5	153,3	12,8

Tafla V-4.3. Mælingar á mismunandi styrk af etanóli, FreshSense

sýni	Dags	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
50a	12-okt-99	83,7	540,0	456,3	69,5	180,0	110,5	58,9	216,7	157,7	27,9	33,3	5,4	210,0	216,7	6,7
50b	12-okt-99	90,5	580,0	489,5	86,8	206,7	119,8	78,4	233,3	154,9	26,3	26,7	0,4	211,1	226,7	15,6
50c	12-okt-99	130,0	606,7	476,7	130,0	216,7	86,7	93,7	240,0	146,3	30,5	30,0	-0,5	209,5	230,0	20,5
50a	25-jan-00	75,3	550,0	474,7	37,4	283,3	246,0	32,6	310,0	277,4	20,5	33,3	12,8	163,2	180,0	16,8
50a	25-jan-00	95,3	570,0	474,7	58,4	236,7	178,2	68,4	266,7	198,2	21,1	33,3	12,3	178,4	183,3	4,9
50a	8-feb-00	50,5	446,7	396,1	50,0	280,0	230,0	54,7	286,7	231,9	14,2	23,3	9,1	139,5	156,7	17,2
50b	8-feb-00	77,9	483,3	405,4	74,7	263,3	188,6	73,2	263,3	190,2	15,8	26,7	10,9	141,1	163,3	22,3
50c	8-feb-00	68,9	463,3	394,4	65,3	220,0	154,7	47,4	236,7	189,3	12,1	23,3	11,2	144,2	156,7	12,5
100a	12-okt-99	118,9	1036,7	917,7	118,9	240,0	121,1	88,9	283,3	194,4	26,8	33,3	6,5	222,6	226,7	4,0
100b	12-okt-99	124,7	1063,3	938,6	124,2	253,3	129,1	96,8	293,3	196,5	27,9	33,3	5,4	225,3	230,0	4,7
100c	12-okt-99	114,7	1073,3	958,6	113,7	280,0	166,3	103,7	316,7	213,0	23,2	33,3	10,2	225,3	233,3	8,1
100a	25-jan-00	136,3	1030,0	893,7	126,3	283,3	157,0	81,1	306,7	225,6	18,9	33,3	14,4	163,7	186,7	23,0
100a	25-jan-00	134,7	1026,7	891,9	88,9	273,3	184,4	60,5	316,7	256,1	18,4	26,7	8,2	171,6	190,0	18,4
100a	8-feb-00	107,9	876,7	768,8	61,1	260,0	198,9	36,8	283,3	246,5	14,7	26,7	11,9	144,2	163,3	19,1
100b	8-feb-00	172,1	863,3	691,2	84,7	280,0	195,3	51,6	306,7	255,1	14,7	23,3	8,6	142,6	156,7	14,0
100c	8-feb-00	117,4	883,3	766,0	85,8	270,0	184,2	62,1	313,3	251,2	25,3	30,0	4,7	152,6	163,3	10,7
200a	12-okt-99	130,5	2113,3	1982,8	131,1	350,0	218,9	113,2	410,0	296,8	23,2	36,7	13,5	228,4	236,7	8,2
200b	12-okt-99	124,2	2176,7	2052,5	137,4	386,7	249,3	130,5	440,0	309,5	28,9	36,7	7,7	239,5	246,7	7,2
200c	12-okt-99	140,5	2193,3	2052,8	177,4	416,7	239,3	172,1	463,3	291,2	28,4	40,0	11,6	237,9	253,3	15,4
200a	25-jan-00	136,8	1956,7	1819,8	99,5	336,7	237,2	72,6	390,0	317,4	22,1	40,0	17,9	167,4	183,3	16,0
200a	25-jan-00	101,3	1926,7	1825,3	46,7	320,0	273,3	56,7	386,7	330,0	26,0	36,7	10,7	179,3	183,3	4,0
200a	8-feb-00	134,2	1643,3	1509,1	86,3	333,3	247,0	66,3	380,0	313,7	17,9	26,7	8,8	148,4	156,7	8,2
200b	8-feb-00	157,9	1673,3	1515,4	122,1	353,3	231,2	114,7	413,3	298,6	15,3	33,3	18,1	146,3	160,0	13,7
200c	8-feb-00	203,7	1680,0	1476,3	138,9	370,0	231,1	133,2	430,0	296,8	16,3	26,7	10,4	148,4	166,7	18,2

Tafla V-4.4. Mælingar á mismunandi styrk af TMA; LR-sog, LR-skál, FreshSense

Sýni	Dags	Tæki nr. *	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
100a	14-apr-00	1	249,3	250,0	0,7	80,0	210,0	130,0	10,7	25,0	14,3	71,4	80,0	8,6	169,3	780,0	610,7
100b	14-apr-00	1	229,5	246,7	17,2	71,1	176,7	105,6	10,0	20,0	10,0	72,1	80,0	7,9	213,7	1123,3	909,6
100c	14-apr-00	1	234,2	246,7	12,5	64,7	190,0	125,3	10,5	20,0	9,5	76,8	80,0	3,2	238,4	1193,3	954,9
300a	14-apr-00	1	227,9	260,0	32,1	60,0	183,3	123,3	10,0	26,7	16,7	80,0	83,3	3,3	244,7	5486,7	5241,9
300b	14-apr-00	1	261,1	270,0	8,9	47,4	190,0	142,6	9,5	26,7	17,2	82,1	90,0	7,9	415,8	5643,3	5227,5
300c	14-apr-00	1	262,1	276,7	14,6	35,8	173,3	137,5	8,9	26,7	17,7	83,2	90,0	6,8	680,5	5763,3	5082,8
500a	14-apr-00	1	264,7	273,3	8,6	38,4	166,7	128,2	10,0	23,3	13,3	85,8	93,3	7,5	649,5	10410,0	9760,5
500b	14-apr-00	1	234,2	280,0	45,8	27,4	160,0	132,6	10,0	20,0	10,0	85,8	93,3	7,5	973,2	10283,3	9310,2
500c	14-apr-00	1	190,0	236,7	0,0	43,8	170,0	0,0	10,0	23,3	0,0	80,0	90,0	0,0	436,3	9843,3	9407,1
100a	3-mar-00	2	296,8	420,0	123,2	78,4	156,7	78,2	3,7	10,0	6,3	40,5	46,7	6,1	145,8	476,7	330,9
100b	3-mar-00	2	340,5	380,0	39,5	78,4	153,3	38,9	10,0	10,0	0,0	42,1	46,7	4,6	336,8	670,0	333,2
100c	3-mar-00	2	361,1	363,3	2,3	78,4	130,0	76,1	6,3	10,0	3,7	39,5	40,0	0,5	473,7	743,3	269,6
300a	3-mar-00	2	287,4	330,0	42,6	78,4	143,3	35,8	2,6	10,0	7,4	39,5	40,0	0,5	262,1	3406,7	3144,6
300b	3-mar-00	2	253,2	320,0	66,8	78,4	133,3	11,6	34608	10,0	-34598	38,9	40,0	1,1	818,4	3953,3	3134,9
300c	3-mar-00	2	288,4	326,7	38,2	78,4	116,7	40,2	17248	50,0	-17198	40,5	40,0	-0,5	1730,5	3856,7	2126,1
500a	3-mar-00	2	287,4	330,0	42,6	25,0	143,3	-17,6	2,6	10,0	7,4	39,5	40,0	0,5	262,1	3406,7	3144,6
500b	3-mar-00	2	217,4	303,3	86,0	25,0	123,3	-61,0	17274	109313	92038	40,0	43,3	3,3	397,9	7063,3	6665,4
500c	3-mar-00	2	212,1	290,0	77,9	25,0	116,7	-52,9	89,5	136,7	47,2	40,5	40,0	-0,5	434,2	7576,7	7142,5
100a	13-ágú-98	3	176,8	283,3	106,5	115,8	486,7	370,9	112,6	420,0	307,4	18,4	66,7	48,2	539,5	726,7	187,2
100b	13-ágú-98	3	174,7	270,0	95,3	117,4	433,3	316,0	102,1	406,7	304,6	26,8	73,3	46,5	543,2	760,0	216,8
100c	13-ágú-98	3	178,4	286,7	108,2	111,6	446,7	335,1	107,4	436,7	329,3	22,6	83,3	60,7	546,8	800,0	253,2
300a	13-ágú-98	3	176,8	273,3	96,5	115,3	426,7	311,4	118,4	396,7	278,2	25,8	73,3	47,5	569,5	2273,3	1703,9
300b	13-ágú-98	3	178,4	260,0	81,6	107,9	396,7	288,8	95,8	373,3	277,5	27,9	73,3	45,4	598,9	2330,0	1731,1
300c	13-ágú-98	3	180,5	256,7	76,1	106,3	413,3	307,0	92,1	353,3	261,2	27,4	73,3	46,0	635,3	2450,0	1814,7
500a	13-ágú-98	3	179,5	250,0	70,5	108,4	376,7	268,2	88,4	343,3	254,9	28,9	66,7	37,7	662,6	4440,0	3777,4
500b	13-ágú-98	3	178,4	240,0	61,6	97,4	323,3	226,0	90,5	313,3	222,8	26,3	60,0	33,7	725,3	4156,7	3431,4
500c	13-ágú-98	3	180,5	246,7	66,1	107,4	323,3	216,0	84,7	303,3	218,6	25,3	53,3	28,1	753,7	3866,7	3113,0

*Tæki nr. : 1 = LR-sog; 2 = LR-skál; 3 = FreshSense

Tafla V-4.5. Mælingar á mismunandi styrk af 2-própanóli; LR-sog, LR-skál

Sýni	Dags	Tæki nr. *	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
50a	07-mar-00	1	139,5	343,3	203,9	67,4	150,0	82,6	8,4	10,0	1,6	38,4	40,0	1,6	130,0	136,7	6,7
50b	07-mar-00	1	164,2	346,7	182,5	23,2	96,7	73,5	8,4	10,0	1,6	38,4	40,0	1,6	133,7	140,0	6,3
50c	07-mar-00	1	235,3	366,7	131,4	26,3	116,7	90,4	7,9	10,0	2,1	40,0	40,0	0,0	133,7	140,0	6,3
150a	07-mar-00	1	300,5	676,7	376,1	69047	110,0	-68937	10,0	10,0	0,0	40,0	40,0	0,0	135,8	140,0	4,2
150b	07-mar-00	1	204,2	710,0	505,8	51741	100,0	-51641	7,4	13,3	6,0	39,5	40,0	0,5	139,5	146,7	7,2
150c	07-mar-00	1	191,6	700,0	508,4	17262	120,0	-17142	5,8	10,0	4,2	40,0	40,0	0,0	141,1	150,0	8,9
300a	07-mar-00	1	182,6	1183,3	1000,7	23,7	106,7	83,0	5,3	10,0	4,7	40,0	40,0	0,0	141,6	146,7	5,1
300b	07-mar-00	1	191,6	1226,7	1035,1	17,4	110,0	92,6	6,3	10,0	3,7	40,0	40,0	0,0	140,5	150,0	9,5
300c	07-mar-00	1	201,6	1213,3	1011,8	51750	110,0	-51640	5,3	10,0	4,7	40,0	40,0	0,0	141,6	150,0	8,4
50a	06-mar-00	2	177,4	366,7	189,3	41,1	140,0	98,9	11,1	109343	109332	34,7	40,0	5,3	120,5	130,0	9,5
50b	06-mar-00	2	325,3	380,0	54,7	86299	123,3	-86176	51849	218457	166607	36,8	40,0	3,2	125,8	130,0	4,2
50c	06-mar-00	2	321,1	423,3	102,3	120777	140,0	-120637	103547	109240	5693	37,4	40,0	2,6	124,7	130,0	5,3
150a	06-mar-00	2	330,0	673,3	343,3	86287	133,3	-86154	155225	218507	63282	36,8	40,0	3,2	124,7	130,0	5,3
150b	06-mar-00	2	439,5	766,7	327,2	120741	130,0	-120611	120724	170,0	-120554	36,3	40,0	3,7	124,7	130,0	5,3
150c	06-mar-00	2	430,0	776,7	346,7	120735	140,0	-120595	120778	10,0	-120768	36,8	40,0	3,2	124,2	130,0	5,8
300a	06-mar-00	2	374,7	1063,3	688,6	189697	120,0	-189577	86239	13,3	-86226	34,7	40,0	5,3	126,8	130,0	3,2
300b	06-mar-00	2	570,0	1313,3	743,3	155225	140,0	-155085	86283	6,7	-86276	36,8	40,0	3,2	124,7	133,3	8,6
300c	06-mar-00	2	283,2	1346,7	1063,5	137946	150,0	-137796	103584	173,3	-103410	35,8	40,0	4,2	125,8	136,7	10,9

*Tæki nr. : 1 = LR-sog; 2 = LR-skál

Tafla V-4.6. Mælingar á mismunandi styrk af propanoni; LR-skál

Sýni	Dags	Tæki nr. *	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
50a	08-maí-00	2	127,4	180,0	52,6	30,5	126,7	96,1	9,5	10,0	0,5	52,1	63,3	11,2	152,6	160,0	7,4
50b	08-maí-00	2	150,0	180,0	30,0	17313,2	113,3	-17199,8	12,6	13,3	0,7	55,3	60,0	4,7	154,2	160,0	5,8
50c	08-maí-00	2	162,6	190,0	27,4	51815,3	116,7	-51698,6	11,6	13,3	1,8	61,6	66,7	5,1	156,8	166,7	9,8
100a	08-maí-00	2	171,6	200,0	28,4	69060,5	106,7	-68953,9	12,6	10,0	-2,6	61,6	66,7	5,1	157,9	170,0	12,1
100b	08-maí-00	2	216,8	263,3	46,5	34496,8	120,0	-34376,8	6,3	10,0	3,7	62,6	70,0	7,4	161,6	170,0	8,4
100c	08-maí-00	2	221,1	306,7	85,6	12,6	133,3	120,7	5,8	10,0	4,2	63,2	70,0	6,8	164,7	170,0	5,3
200a	08-maí-00	2	237,9	306,7	68,8	34501,6	140,0	-34361,6	7,4	10,0	2,6	66,3	70,0	3,7	170,0	170,0	0,0
500a	08-maí-00	2	273,7	390,0	116,3	120766,3	143,3	-120623,0	10,0	13,3	3,3	68,4	70,0	1,6	168,4	180,0	11,6

*Tæki nr. : 2 = LR-skál

Tafla V-4.7. Mælingar á mismunandi styrk af acetaldehyði; LR-skál

Sýni	Dags	Tæki nr. *	CO upphaf	CO loka	CO mism	H2S upphaf	H2S loka	H2S mism	NO upphaf	NO loka	NO mism	SO2 upphaf	SO2 loka	SO2 mism	NH3 upphaf	NH3 loka	NH3 mism
50a	09-maí-00	2	164,7	1446,7	1281,9	90,5	553,3	462,8	8,4	16,7	8,2	44,7	80,0	35,3	136,8	143,3	6,5
50b	09-maí-00	2	152,6	1450,0	1297,4	89,5	546,7	457,2	7,4	16,7	9,3	55,8	80,0	24,2	142,6	160,0	17,4
50c	09-maí-00	2	150,5	1626,7	1476,1	49,5	576,7	527,2	9,5	13,3	3,9	57,9	90,0	32,1	151,6	170,0	18,4
100a	09-maí-00	2	267,4	2763,3	2496,0	147,9	886,7	738,8	10,0	13,3	3,3	72,1	110,0	37,9	157,9	170,0	12,1
100b	09-maí-00	2	474,2	3166,7	2692,5	317,4	1016,7	699,3	8,9	20,0	11,1	100,5	136,7	36,1	160,0	170,0	10,0
100c	09-maí-00	2	304,2	3146,7	2842,5	212,1	993,3	781,2	7,9	16,7	8,8	90,0	130,0	40,0	161,6	170,0	8,4
200a	09-maí-00	2	353,7	6413,3	6059,6	247,9	1806,7	1558,8	10,0	20,0	10,0	97,9	200,0	102,1	163,2	176,7	13,5
200b	09-maí-00	2	362,1	6220,0	5857,9	272,6	1786,7	1514,0	10,0	20,0	10,0	109,5	210,0	100,5	164,7	173,3	8,6
200c	09-maí-00	2	317,9	6403,3	6085,4	263,7	1833,3	1569,6	8,4	20,0	11,6	104,7	210,0	105,3	166,3	176,7	10,4

*Tæki nr. : 2 = LR-skál

Tafla V-4.8. Útreikningar á sveigjustuðli (coefficient of curvature). Notaðar eru niðurstöður mælinga á staðalkúrfu fyrir etanól (LR-sög), 11.02.00.

styrkur ppm	CO svörun (nA) meðaltal	log styrkur ppm	log CO svörun (nA) meðaltal
50	643	1,70	2,81
100	1183	2,00	3,07
200	2204	2,30	3,34

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,999982242
R Square	0,999964485
Adjusted R Square	0,999928969
Standard Error	0,002253945
Observations	3

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	0,143039	0,143039	28155,84	0,003794
Residual	1	5,08E-06	5,08E-06		
Total	2	0,143044			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	1,298170665	0,010669	121,6825	0,005232	1,162615	1,43373	1,162615	1,433726
X Variable 1	0,89	0,005	167,797	0,003794	0,821117	0,95566	0,821117	0,95566

$$t_{000,5,2} = 9,92$$

99% öryggisbil: 0,84 til 0,94 (coeff. ± std error × t)

5. kafli

Geymslutilraunir á ýsu og spálíkön

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

EFNISYFIRLIT

GEYMSLUTILRAUNIR Á ÝSU OG SPÁLÍKÖN.....	61
5.1. INNGANGUR.....	61
5.2. FRAMKVÆMD	61
5.2.1. Geymslutilraun á heilli slægðri ýsu í ís - maí 1999	61
5.1.1. Geymslutilraun á heilli slægðri ýsu í ís - september 1999.....	62
5.1.2. Geymslutilraun á ýsuflökum í kæli - maí 2000	62
5.1.3. Rafnefsmælingar	62
5.1.4. Örverumælingar	63
5.1.5. Skynmat	63
5.1.6. Úrvinnsla gagna	64
5.3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR.....	64
5.3.1. Niðurstöður rafnefs, skynmats og örverumælinga.....	64
5.3.2. Höfuðþáttagreining á rafnefsgögnum	68
5.3.3. Spálíkanagerð fyrir rafnefsmælingar	71
5.4. ÁLYKTANIR.....	72
5.5. HEIMILDIR	79
VIÐAUKI 5. KAFLI.....	I

GEYMSLUTILRAUNIR Á ÝSU OG SPÁLÍKÖN

5.1. INNGANGUR

Gerðar voru geymslutilraunir við 0-2°C, á heillri ýsu og ýsuflökum á mismunandi árstíðum. Fyrirtækið Tros sá um að útvega hráefni í tilraunirnar. Tilgangur þessara tilrauna var að kanna svörun og hæfni rafnefsins til að meta skemmd í ýsu geymdri við 0-2°C. Einnig var tilgangurinn að kanna möguleika þess að nota PLS (partial least squares regression) greiningu við spálíkanagerð með rafnefsgögnin. Í maímánuði 1999 var gerð geymslutilraun á heillri, slægðri ýsu, sem geymd var í ís við 0-2 °C í um tvær vikur. Sambærileg tilraun var endurtekin í septembermánuði 1999. Í maí 2000 var síðan gerð geymslutilraun á ýsuflökum frá Tros, sem pökkuð voru í frauðplastkassa á sama hátt og varan sem send er til útflutnings. Í geymslutilraununum voru gerðar mælingar á örverum og skynmati ásamt rafnefsmælingum. Niðurstöðurnar sýna að rafnefið getur greint myndun rokgjarnra efna í ýsuflökum og hægt er að nota niðurstöður rafnefsins til að flokka hráefnið eftir ferskleika. Einnig kemur fram að rafnefið gefur svipaðar upplýsingar og örverumælingar sem taka mun lengri tíma (3-5 dagar í ræktun). Þessar niðurstöður benda til þess að hægt sé að nota fljótvirkar rafnefsmælingar í geymsluþolsspálíkön.

5.2. FRAMKVÆMD

5.2.1. Geymslutilraun á heilli slægðri ýsu í ís - maí 1999

Ýsa var veidd með dragnót þann 6. maí og slægð samdægurs hjá Tros. Fiskurinn kom með bíl frá Sandgerði að morgni 7. maí á Rf. Fiskurinn var ísaður í kassa (1:2) og geymdur í kæli við 0-2°C. Sýnataka fór fram á 1, 4, 6, 8, 11, 13 og 15 degi frá veiði. Aðalmarkmið þessarar tilraunar var að athuga hvort hægt væri að mæla breytingu á ferskleika ýsuflaka með rafnefi. Samhliða voru gerðar mælingar á örverum (heildarörverufjöldi (TVC, 22°C) og fjöldi H₂S-myndandi baktería) og skynmat á soðnum flökum með Torry einkunnskala.

5.1.1. Geymslutilraun á heilli slægðri ýsu í ís - september 1999

Línuýsa var veidd 23. september (Sandvíkingur). Löndun fór fram frá kl. 10 - 19. Slægt var að morgni 24. september og sent til Rf þar sem ýsan var umísuð í kassa um hádegi. Hiti var 0 - 4 °C og fiskurinn var í dauðastirðnun. Sýnataka fór fram á 1, 4, 6, 8, 11, 13 og 15 degi frá veiði.

Markmið þessarar tilraunar var að endurtaka sambærilega tilraun og gerð var í maí, en með hráefni frá öðrum árstíma og kanna svörun rafnefsins. Samhliða var gert skynmat á hrárrí heilli ýsu eftir gæðastuðulsaðferð (QIM: quality index method) og mat á soðinni ýsu eftir Torry einkunnaskala. Einnig voru gerðar örverumælingar (heildarörverufjöldi (TVC, 15°C) ásamt fjölda H₂S-myndandi baktería og *Pseudomonas* tegunda).

5.1.2. Geymslutilraun á ýsuflökum í kæli - maí 2000

Ýsan var veidd með línu miðvikudaginn 3. maí, 2000 úti fyrir Vestfjörðum. Hún var keyrð til Sandgerðis og unnin daginn eftir í Tros (kl.14). Flökunum var pakkað í frauðplastkassa með ís og flutt til Rf þar sem kassarnir voru komnir í kæli kl.18:30. Sýni voru tekin þrisvar í viku á 1., 4., 6., 8., 11., 13. og 15. degi frá veiði.

Markmið þessarar tilraunar var að athuga hvernig ýsuflök geymast samanborið við heilan fisk og safna rafnefsgögnum um skemmdarferil ýsuflaka. Fiskurinn er geymdur á þennan hátt þegar hann er fluttur út til Bandaríkjanna og því áhugavert að skoða skemmdarmunstrið í þessari vöru. Gerðar voru örverumælingar og gæðaflokkun á flökum þar sem notaður var flokkunarskali (Emilía Martinsdóttir, 1995). Til samanburðar við fyrri geymslutilraunir var ákveðið að framkvæma einnig skynmat skv. Torry aðferðinni einu sinni á geymslutímanum. Ákveðið var að velja áttunda dag geymslutímans þegar álitíð var að geymsluþoli væri um það bil lokið.

5.1.3. Rafnefsmælingar

Við mælingar í rafnefinu var ýsan vegin u.þ.b. 500 gr (2 flök) og hitastig mælt rétt undir yfirborði með kvikasilfursmæli. Erfitt var að stjórna hitastigi sýna þar sem tækið var í rannsóknastofu við stofuhita, en sýnin voru tekin úr kæli (0-2°C). Vegna annarra

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafla.

mælinga og sýnaundirbúnings voru flökin að jafnaði í um 30 mínútur við stofuhita áður en mæling var gerð með rafnefinu. Hitinn í flökunum var um $12^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$ þegar mæling fór fram. Flökin voru sett á plastdisk í glerskál sem fylgir rafnefinu og mælt var í 10 mínútur.

5.1.4. Örverumælingar

Örverutalningar voru gerðar á holdsýnum á heilu ýsuni. Holdsýni voru tekin þannig að fyrst var slím á yfirborði fisksins fjarlægt og roðið þvegið með 70% etanóli. Roð var þá fjarlægt eftir endilöngum bolnum og holdið skorið frá og hakkað. Af hakki voru tekin 25 g og sett út í 225 g af þynningarvatni (Butterfield's buffer eða MRD, Oxoid). Blöndun var gerð í "maga" (stomacher) í 1 mín. Fleiri tífoldar þynningar voru gerðar eftir þörfum. Flökin voru hökkuð heil og hakkið þynnt á sama hátt og holdsýnin. Áhellingaraðferð var notuð við sáningu á "maí 99" sýnunum og ræktað var á járnæti (Gram o.fl., 1987) við 22°C í 3 daga. Þannig fékkst heildarörverufjöldi og fjöldi H_2S -myndandi baktería. Fyrir seinni tilraunirnar var járn ætið með 1% NaCl notað með yfirborðsáningu (ræktað við 15°C í 4-5 daga). Einnig var *Pseudomonas* æti (Oxoid; CFC með 1% w/v arginine and 0.002% w/v pH indicator phenol red) notað í september tilrauninni til að meta fjölda *Pseudomonas* tegunda. Ræktað var við 15°C í 4-5 daga. Tvísýni voru tekin á hverjum mælingadegi og meðaltöl talninganna reiknuð út.

5.1.5. Skynmat

Skynmat samkvæmt gæðastuðulsáðferð (QIM: quality index method) og soðið mat skv. Torry einkunnaskala var framkvæmt af þjálfuðum skynmatshóp Rf sem eru 10 – 12 manns. Í geymslutilraun í maí 2000 voru flökin metin af tveimur þjálfuðum einstaklingum og stuðst við einkunnaskala um gæðaflokkun á flökum. Öllum einkunnaskölum er lýst í handbók um skynmat (Emilía Martinsdóttir, 1995).

5.1.6. Úrvinnsla gagna

Notað var forritið Unscrambler (CAMO A/S) við höfuðþáttagreiningu (PCA: principal component analysis) og við spálikanagerð PLS (partial least squares regression).

5.3. NIÐURSTÖÐUR OG UMRÆÐUR

5.3.1. Niðurstöður rafnefs, skynmats og örverumælinga

Mynd 4.3 sýnir samantekt á rafnefs- og örverumælingum ásamt skynmati skv. Torry einkunnaskala. Í viðauka eru jafnframt töflur sem sýna allar þessar niðurstöður ásamt útreikningum á línulegri fylgni mælinganna. Þar kemur fram að örverumælingarnar og skynmatið hafa í öllum tilraununum góða línulega fylgni við daga í ís og CO neminn hefur einnig sæmilega fylgni við daga í ís. Glögggt má sjá á mynd 4.3 að hegðun CO nemans er mjög lík niðurstöðum örverumælinganna. CO neminn, sem er einkum næmur fyrir efnum eins og etanóli og acetaldehyði sýnir mesta útslagið við geymslu á fiski. Útslagið er örlítið vaxandi á fyrstu dögnum, en snögghækkar eftir 6. dag í maí 1999 og eftir 8. dag í september tilrauninni. CO neminn nær síðan hámarki á síðari hluta geymslutímans (11. degi í maí 1999 en á 15. degi í september) en fellur síðan aftur í lok geymslutímans. Þessi hegðun er í samræmi við myndun á niðurbrotsefnum í fiski vegna örvera (Lindsay o.fl., 1986), en sýnt hefur verið fram á að etanól myndast í miklu magni þegar fyrstu skemmdareinkenni koma fram, en síðar myndast önnur alkóhól, sem eru ekki eins rokgjörn eins og bútanól og 3-metýl-1-bútanól.

Efni sem innihalda köfnunarefni (ammoníak og TMA) og brennistein (vetnissúlfíð og metylmerkaptan) myndast þegar skemmdareinkenna verður vart eins og sjá má í aukningu í útslagi á H₂S og NH₃ nemunum. H₂S neminn sýnir óvenju hátt útslag í byrjun geymslutímans í maí 1999, sem ekki er skýring á. SO₂ neminn sýnir hins vegar ekki aukningu í svörun fyrr en í lok geymslutíma í tilrauninni í maí 1999. Þetta svörunarmunstur rafnefsins við skemmd í fiski er í samræmi við mælingar á loðnu með rafnefinu (Ólafsdóttir o.fl., 1997a,b,c; 2000). Svörun allra nemanna, nema CO í tilrauninni í maí er mun meiri en í september, sem bendir til að um annað skemmdarmunstur sé að ræða á þessum tíma. Skemmdarhraði samkvæmt skynmati í

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtarþilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

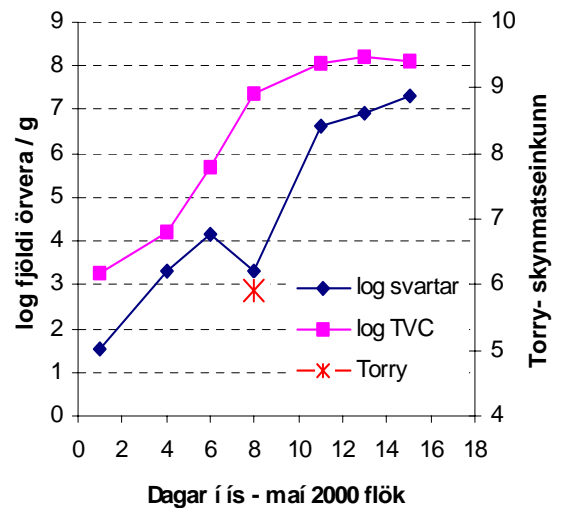
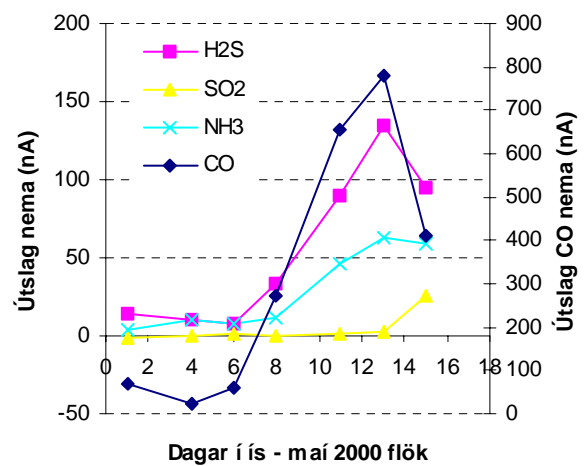
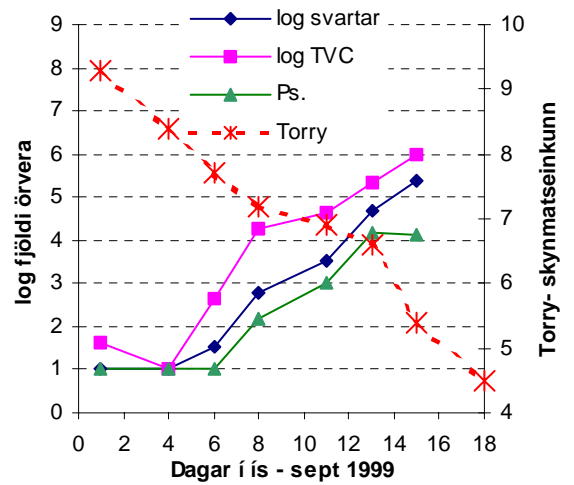
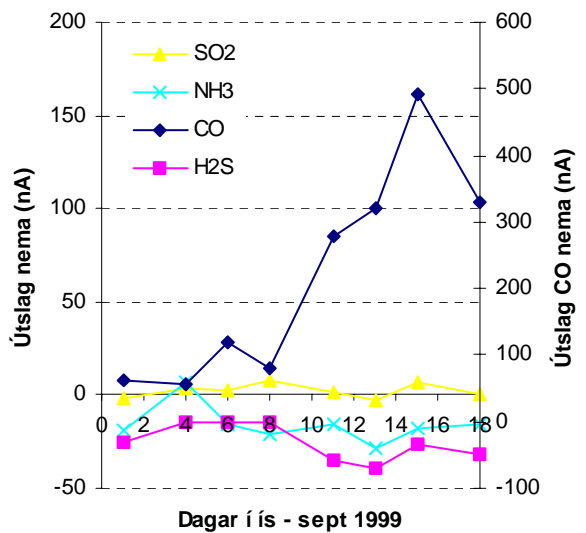
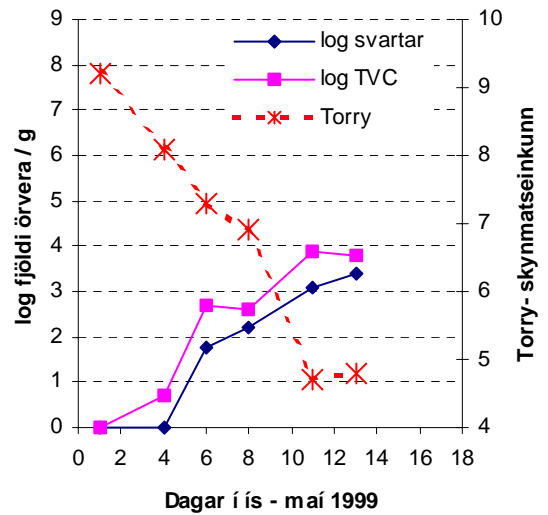
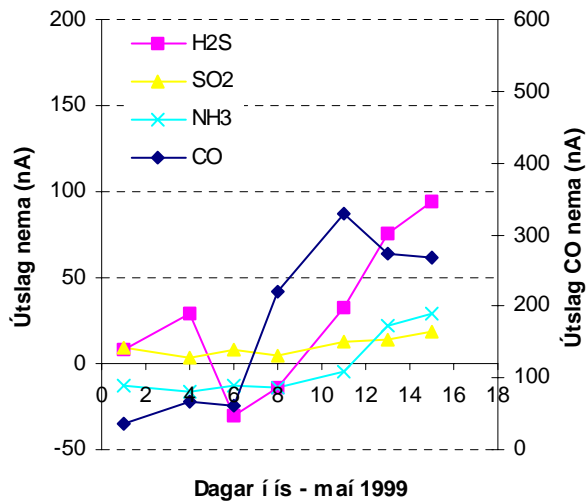
maí tilrauninni 1999 er á sama hátt mun meiri heldur en í september 1999. Skýringin á þessu er mismunandi ástand fisksins eftir árstíðum og mismunandi veiðarfæri. Í maí var mikið los í fiskinum og næringarfræðilegt ástand hans lélegt þar sem hann var um það bil að hrygna. Einnig var fiskurinn í maí veiddur með dragnót sem yfirleitt skilar fiski af lakari gæðum en lína eins og notuð var í september. Niðurstöður örverumælinga í maí sýna að heildarörverufjöldinn er $< 10^4$ cfu (colony forming units) /g á 10.-11. degi þegar fiskurinn fær Torry einkunn = 5.5, sem hefur verið notað sem viðmiðunareinkunn fyrir skemmdan fisk. Samkvæmt skynmatinu er fiskurinn ekki skemmdur fyrr en á 14.-15. degi í september og þá er heildarörverufjöldinn rétt undir 10^6 cfu/g.

Eins og lýst er í framkvæmd var áhellingaraðferð notuð einungis við fyrstu tilraunina, sem gæti útilokað einangrun sumra örveruhópa eins og hitanæmra/kuldapólnra baktería. Slíkar bakteríur er gjarnan að finna í sjónum. Þess vegna þarf að fara varlega þegar niðurstöður tilraunanna eru bornar saman. Þegar tilraunirnar sem voru framkvæmdar á árinu 1999 eru skoðaðar kemur í ljós að mikill vaxtarhraði varð á örveruflórunni milli 4. og 6. daga í maí en milli 4. og 8. daga í september, en eftir það varð hægari vöxtur í báðum tilraunum. Þessi tveggja daga munur olli því að örveruflóran í september tilrauninni náði miklu hærri fjölda þegar leið á geymslutímanun og varð um $\log 6/g$ þegar fiskurinn var dæmdur skemmdur samkvæmt skynmatinu. Hvort þessi munur (um 2 log) er vegna betri einangrunaraðferðar sem notuð var í september eða/og öðruvísi samsetningar örveruflórunnar er ekki gott að segja. En það er athyglisvert að nefna að aðrar ýsutilraunir gerðar á Rf í maí og desember 1998 (Emilía Martinsdóttir o.fl., 1999) sýndu sambærilegar niðurstöður hvað varðar mismunin eftir árstíðum á heildarörverufjölda í skemmdum fiski ásamt mun hærra hlutfalli H_2S -myndandi baktería í holdi fisks í maí tilrauninni en í desember ($> 20\%$ vs. $< 1\%$), en þá var *Pseudomonas* hópurinn um 17%.

Hlutfall H_2S -myndandi baktería í maí var $> 10\%$ af mældri heildarflórunni á geymslutímanum eða um 16% á degi 11. Í september var það hlutfall lægra ($< 10\%$), en frá 13. deginum var það komið yfir 10% og um 23% á degi 15. Þessi seinni þróun hjá H_2S -myndandi bakteríum í september gæti stafað af betri stjórn á hitastigi

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

hráefnisins frá veiði til vinnslu. Vitað er að H₂S-myndandi bakteríur eru "seinvirkir skemmdarvaldar" við lágt hitastig, en skemmdareiginleikar þeirra verða ráðandi við hækkandi hitastig (Lauzon, 1997). Fjöldi *Pseudomonas* í tilrauninni í september var lægri (um 2%) en búast mátti við á 15. degi þegar fiskurinn var skemmdur skv. skynmati.



Mynd 5.3 Niðurstöður rafnefs-, örverumælinga og skynmats í geymslutilraunum á heilli ýsu (maí 1999 og sept 1999) og ýsuflokum (maí 2000). Mælingar eru gerðar á flökum í öllum tilraunum.

Í kjölfar mikillar aukningar á fjölda örvera fyrstu 6-8 daga (sept. 1999) varð aukin svörun hjá CO-nemunum sem náði hámarki (350-500 nA) á sama tíma og fiskurinn er skemmdur samkvæmt skynmati. Þessi mikla CO-svörun í september eftir 11. dag samsvarar vel auknum vexti H₂S-myndandi baktería seint á geymslutímanum. Svörun H₂S-nemans jókst mikið eftir 6. dag (maí 1999) og búast mátti við svipaðri hegðun hjá H₂S nemnum í september en sú var ekki raunin. Grunur leikur á að neminn hafi verið orðinn lélegur á þessum tíma og var honum skipt út fljótlega eftir þessa tilraun. Það er vandamál í sambandi við rafnefið að líftími skynjaranna er takmarkaður og nú hefur verið sett upp gæðaeftirlit fyrir rafnefsmælingarnar þannig að stöðugt er fylgst með einkennandi svörun nemanna. Unnið er að söfnun gagna um langtíma hegðun þessara skynjara við mælingar á fiski.

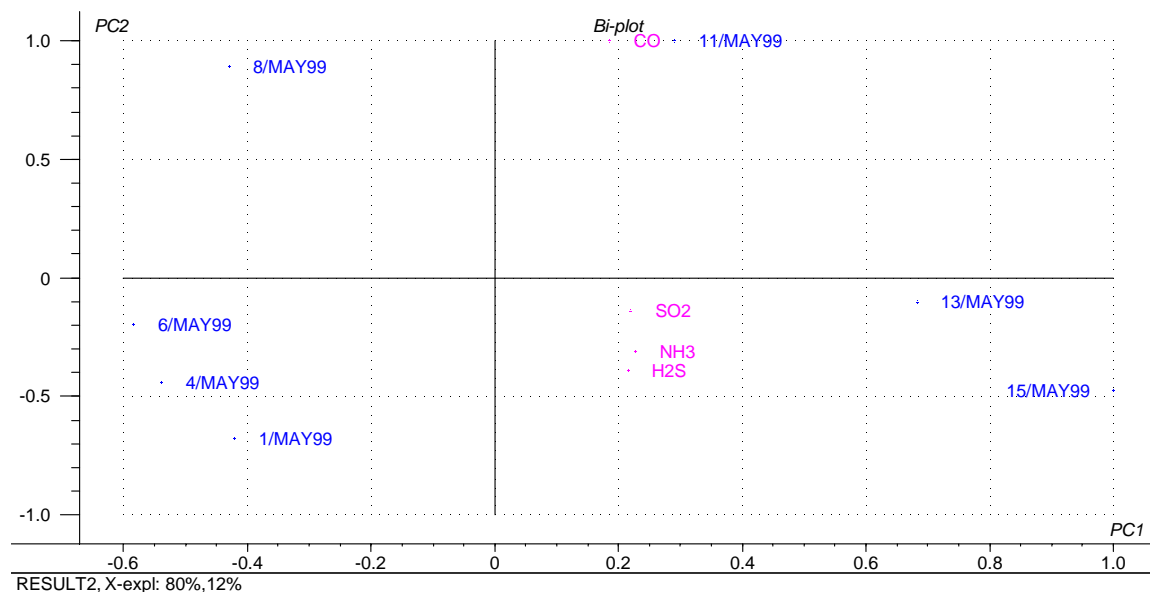
Tilraunin með flök í maí 2000 sýnir að skemmdarhraði flakanna er mun meiri en heila fisksins eins og búast má við. Samkvæmt skynmatinu sem gert var á 8. degi (Torry einkunn 5.9) er fiskurinn þá að nálgast skemmdarmörk. Bæði NH₃ neminn og H₂S neminn sýna aukningu á því tímabili og CO neminn hækkar snögglega á 8. degi. Í viðauka sést að CO og H₂S nemarnir hafa sæmilega línulega fylgni við daga í ís, en NH₃ neminn er sá, sem hér hefur bestu fylgnina við daga í ís (0.92). NH₃ neminn hefur einnig mjög góða fylgni hér við H₂S-myndandi bakteríur (log H₂S). Í maí 2000 voru örverufræðileg gæði á flökunum eðlileg í upphafi, en líftíminn þeirra mun styttri eins og búast mátti við. Hlutfall H₂S-myndandi baktería í samanburði við heildarörveruflórana var 3.2% á 6. og 11. degi geymslutímans, en mun lægri á 8. degi, en sú niðurstaða er óeðlilega lág miðað við heildarfjölda örvera og útslag nema í rafnefinu. Hröð fjölgun heildarörveruflórunnar milli 4. og 8. dags leiddi til aukinnar svörunnar hjá CO-, H₂S-, og NH₃-nemunum, en sú fjölgun var meiri en hjá H₂S-myndandi bakteríum á sama tíma.

5.3.2. Höfuðþáttgreining á rafnefsgögnum

Eins og fram kemur hér að ofan er ljóst að erfitt er að nota eingöngu eina mælingu til að meta skemmd. Þannig er erfitt að nota "daga í ís" eingöngu sem mælikvarða á gæði eða ferskleika fisks og einnig sést á þessu að heildarörverufjöldinn er ekki sá sami

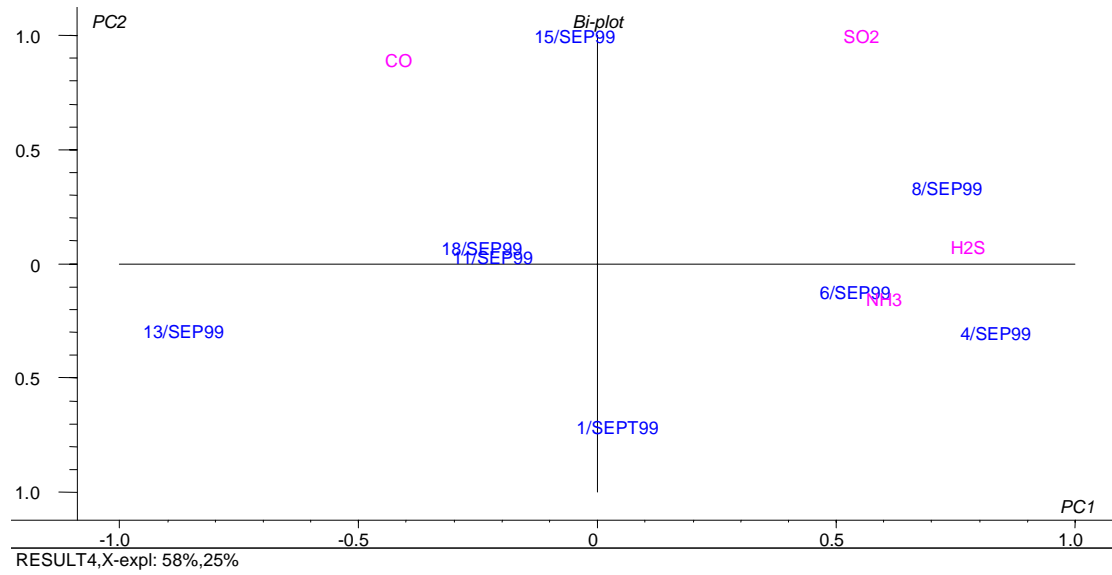
Þegar fiskurinn er metinn óhæfur samkvæmt skynmati. Almennt er viðurkennt að skynmat sé er sú aðferð sem best getur metið heildarástand fisksins. Hugmyndin á bak við rafnefsmælingarnar er að mæla samtímis mismunandi efni og skoða innbyrðis hlutföll þeirra. Vonir standa til að rafnefið geti gefið góðar upplýsingar um ástand fisksins þar sem skoðað er samtímis svörun allra nemanna. Gagnlegt er að nota höfuðþáttgreiningu (PCA) til að skoða öll gögnin samtímis og myndir 5.4.-5.6 sýna niðurstöður PCA greininga fyrir rafnefsmælingar í geymslutilrauninum. Í maí (1999) tilrauninni (mynd 5.4) er vel hægt að aðgreina sýnin eftir dögum með rafnefsmælingunum. Hins vegar er ekki eins skýr aðgreining í september tilrauninni og flökin í maí 2000 eru ekki aðgreind eftir dögum í byrjun geymslutíma, en eru hins vegar vel aðgreind eftir dögum á seinni hluta geymslutímans.

Þegar öll gögnin eru skoðuð samtímis (mynd 5.6) sést vel að hér er um mismunandi skemmdarferla að ræða. Þetta verður að hafa í huga við gerð spálíkana.

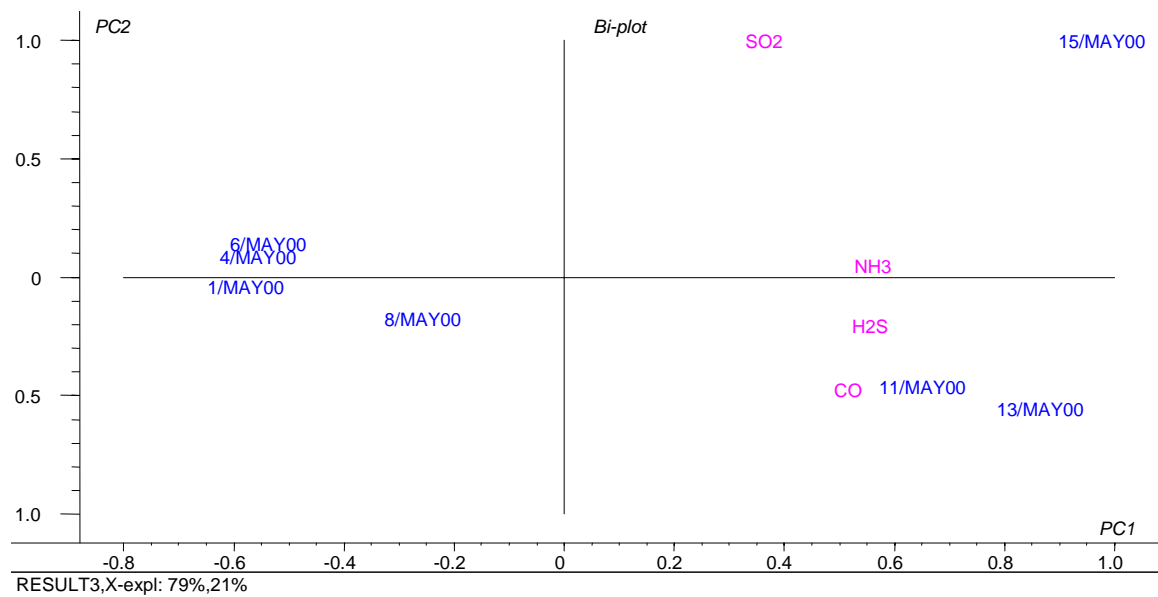


Mynd 5.4. Höfuðþáttgreining á rafnefsgögnum fyrir mælingar úr geymslutilraun í maí 1999. Framlag nemanna (CO, NH₃, H₂S og SO₂) sýnt í bleiku, en sýnin merkt með: aldri (dagur) / tími geymslutilraunar (mánuður ár).

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

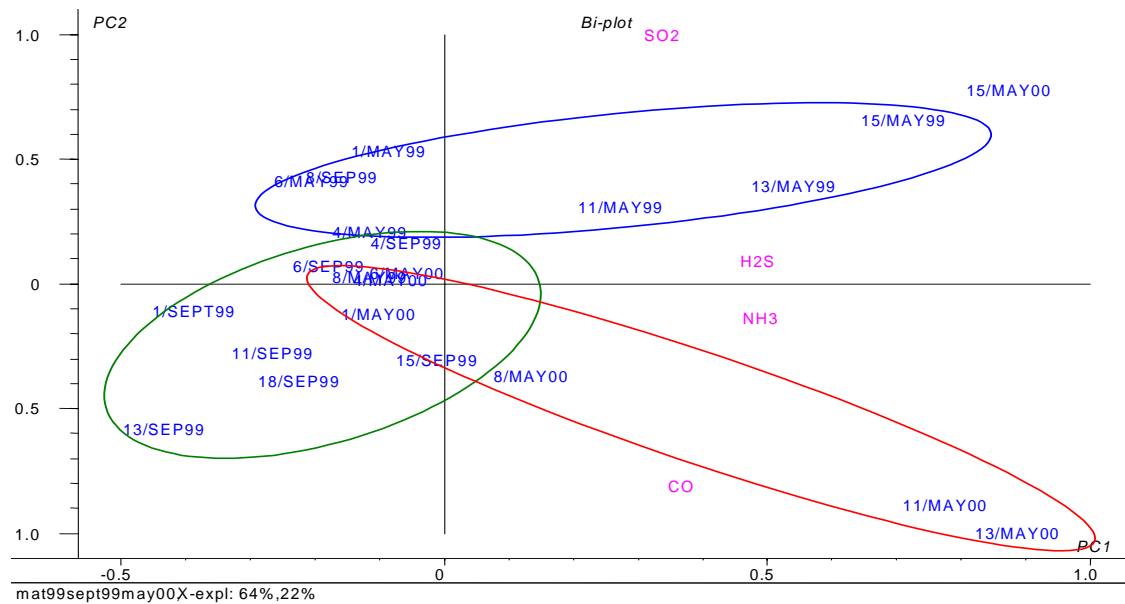


Mynd 5.5. Höfuðþáttgreining á rafnefsgögnum fyrir mælingar úr geymslutilraun í september 1999. Framlag nemanna (CO, NH₃, H₂S og SO₂) sýnt í bleiku, en sýnin merkt með: aldri (dagur) / tími geymslutilraunar (mánuður ár).



Mynd 5.6. Höfuðþáttgreining á rafnefsgögnum fyrir mælingar úr geymslutilraun í maí 2000. Framlag nemanna (CO, NH₃, H₂S og SO₂) sýnt í bleiku, en sýnin eru merkt með: aldri (dagur) / tími geymslutilraunar (mánuður ár).

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.



Mynd 5.6. Höfuðþáttgreining á rafnefsgögnum fyrir mælingar úr öllum geymslutilraunum. Framlag nemanna (CO, NH₃, H₂S og SO₂) sýnt í bleiku, en sýnin eru merkt með: aldri (dagur) / tími geymslutilraunar (mánuður ár).

5.3.3. Spálíkanagerð fyrir rafnefsmælingar

Gerð var tilraun til að gera spálíkön með þessi gögn með því að nota PLS (partial least squares regression). Fyrst voru rafnefsgögnin (X breytur) notuð til að búa til líkan með örverur sem Y breytur. Mynd 5.7 sýnir að líkanið fyrir þrjá höfuðþætti hefur fylgnina 0.89 fyrir fjölda H₂S-myndandi baktería (log H₂S), en 0.84 fyrir heildarörverufjölda (logTVC) þar sem notaðir eru fjórir höfuðþættir (mynd 5.8).

Myndir 5.9 - 5.11 sýna líkön fyrir rafnefsgögn sem X-breytur og skynmatsgögn sem Y- breytur. Hér sést að líkan fyrir 2 höfuðþætti hefur fylgnina 0.91 fyrir Torry einkunn (mynd 5.9), fylgnina 0.94 fyrir QIM einkunn (mynd 5.10) og fylgnina 0.94 fyrir gæðaflokkun á flökum sem gerð var í maí 2000 (mynd 5.11).

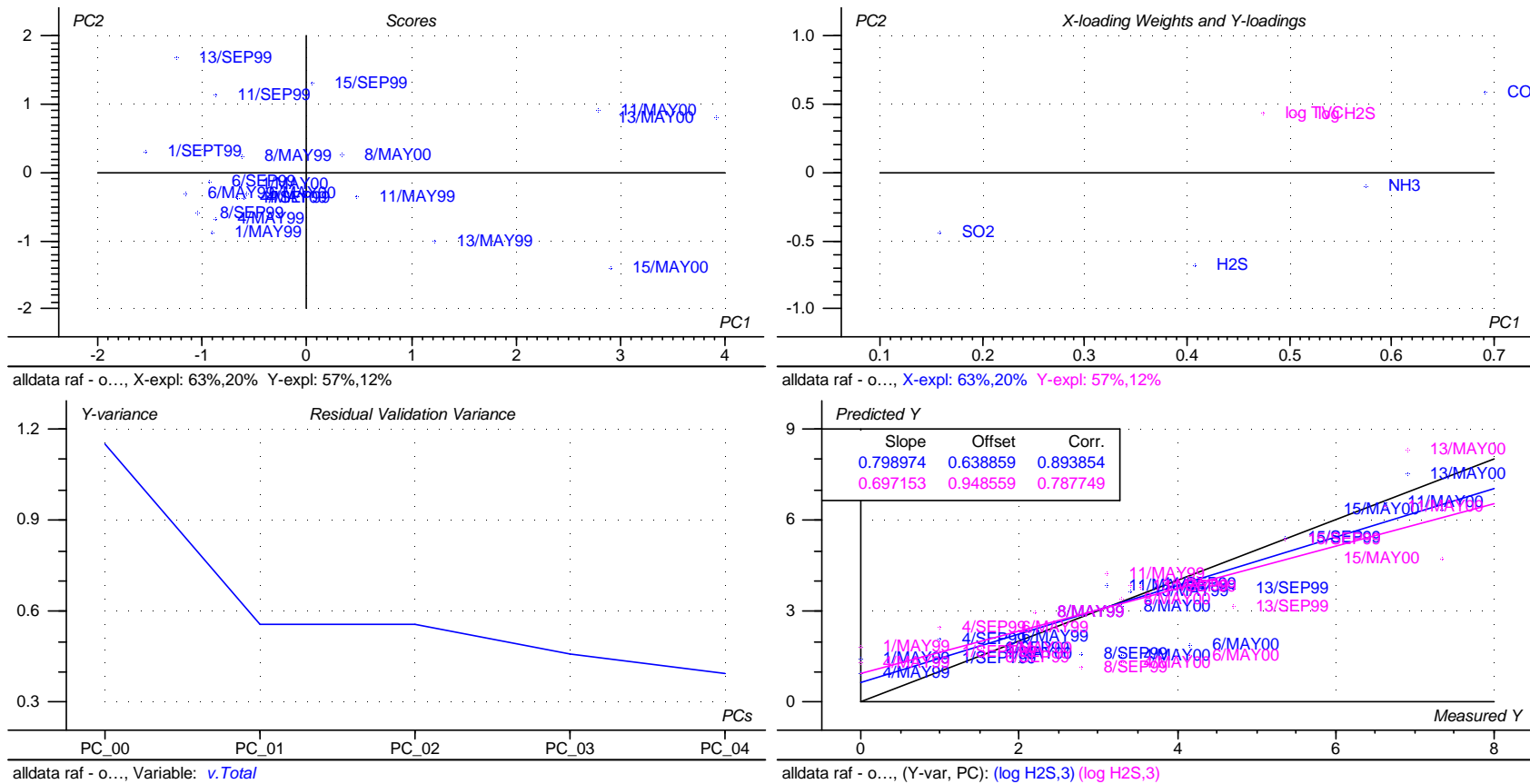
Einnig var reynt að nota maí 1999 rafnefs gögnin til að búa til spálíkan fyrir fisk og spá fyrir skynmatseinkunn (Torry) fyrir flökin, sem mæld voru í maí 2000. Hér er verið að nota líkan fyrir heilan fisk til að spá fyrir um gæði flaka. Það er galli að gögnin í maí 1999 ná ekki yfir eins skemmdan fisk og flökin í maí 2000, en engu að síður er fróðlegt að skoða þetta spálíkan. Í maí 2000 var framkvæmt skynmat skv. Torry í eitt skipti á 8 degi og tilgangur þessa spálíkans var að sjá hversu nálægt

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

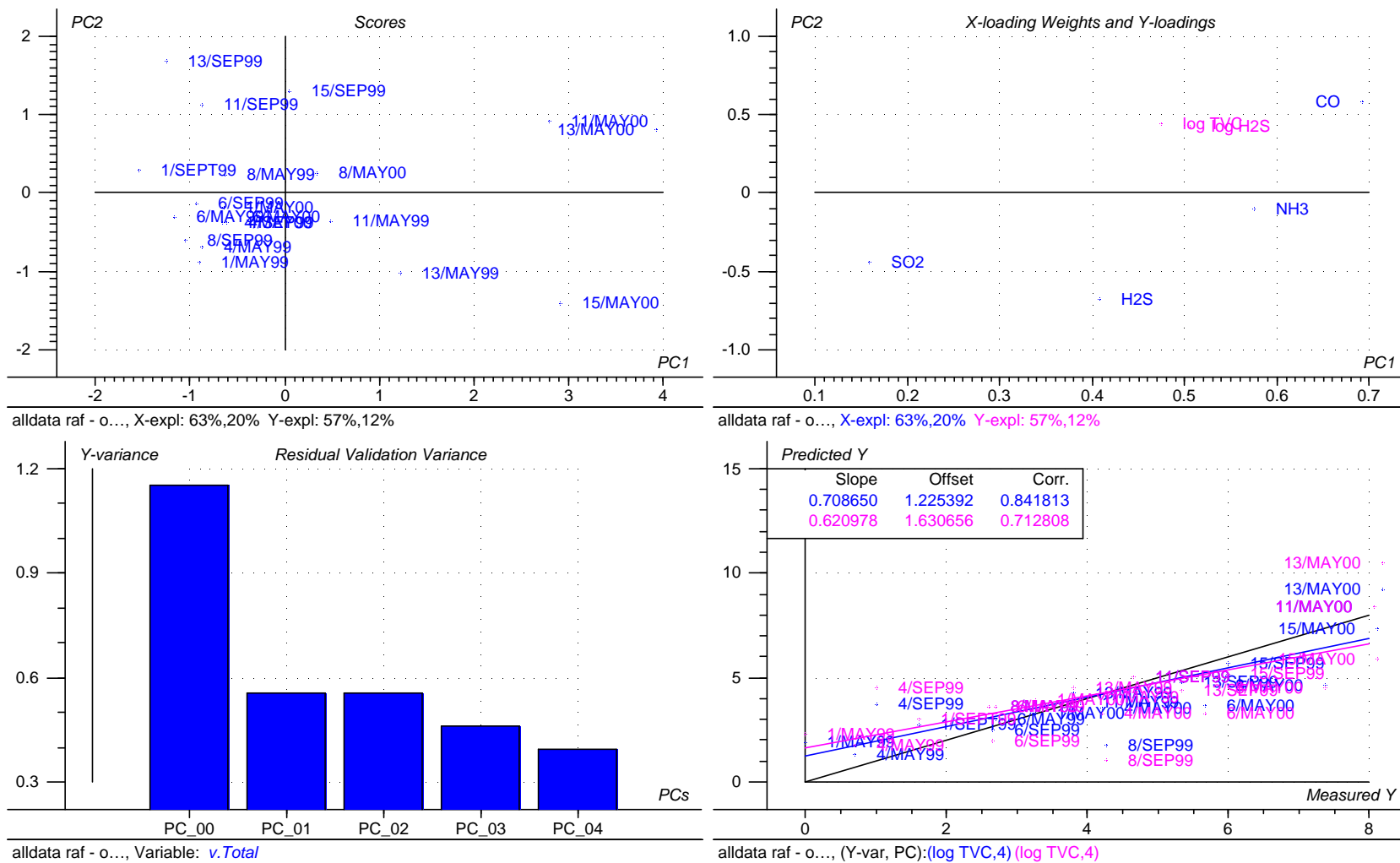
spágildið væri raunverulega mæligildinu (Torry einkunn = 5.9). Mynd 5.12 sýnir niðurstöðurnar og þar sést að frávikid er mjög mikið fyrir síðustu dagana (dagar 11, 13 og 15) en minna fyrir daga 1-8 og er það ekki óeðlilegt eins og áður sagði þar sem líkanið byggir á gögnum (maí 1999) sem ná ekki yfir eins stórt mælisvið (þ.e. útslag nemanna er minna) og gögnin sem notuð eru til að spá fyrir (maí 2000).

5.4. ÁLYKTANIR

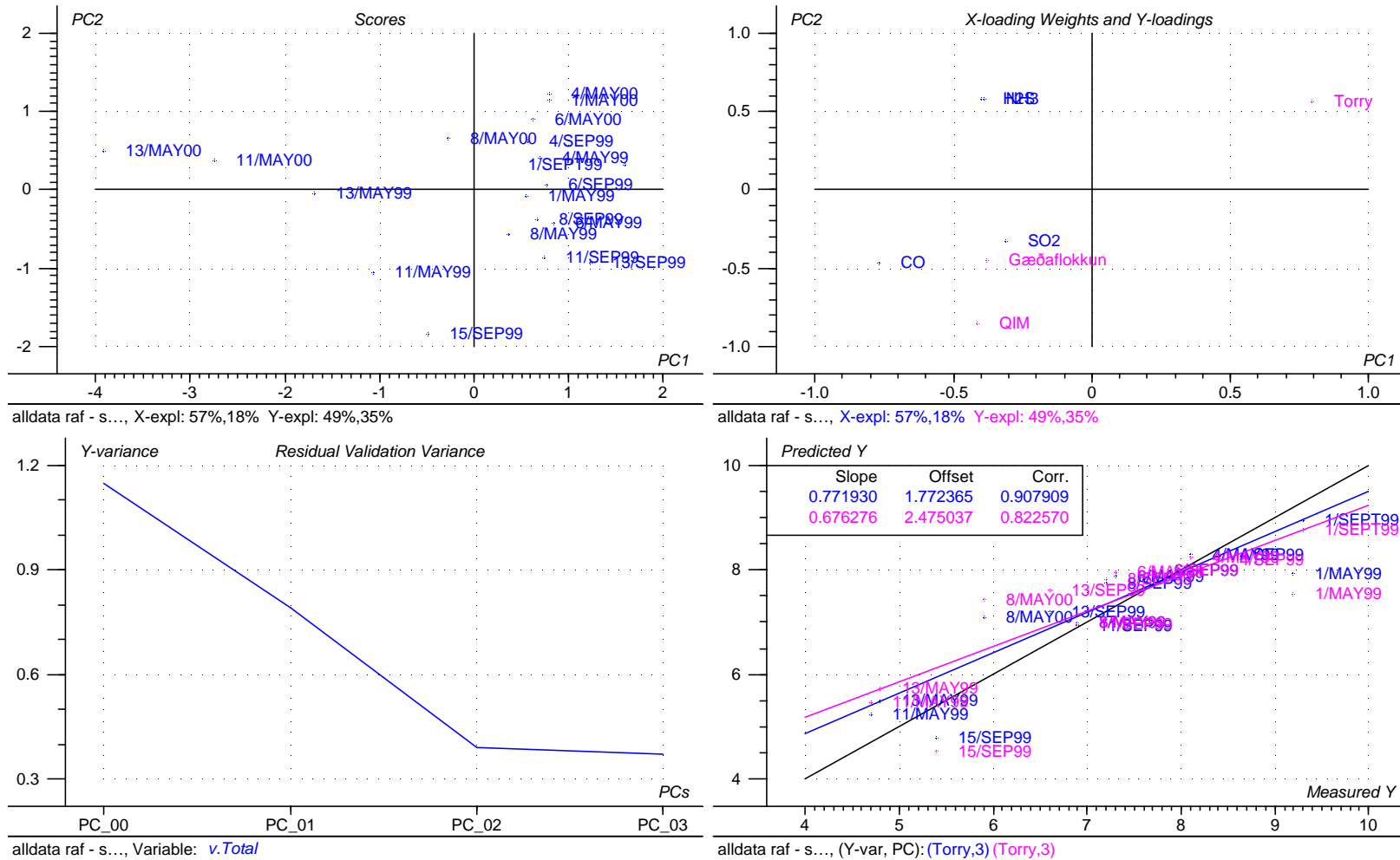
Í þessum geymslutilraunum á heilli ýsu og ýsuflökum geymd í kæli við 0-2°C kom í ljós að heildarörverufjöldinn er ekki góður mælikvarði á skemmd í fiski ef miðað er við skynmat. Almenn er viðurkennt að skynmat sé besta aðferðin til að meta skemmd og lyktin er sá þáttur í skynmatinu sem oft gefur bestu upplýsingar um ferskleika fisks. Mælingar á rokgjörnum efnum með rafnefi eru tilraun til þess að nálgast mat á lykt. Hér skal þó tekið fram að rafnefið er einungis að mæla allra rokgjörnustu efnin, en nær ekki að mæla öll þau efni sem valda lyktinni. Athuganir á PLS líkönum byggð á rafnefsmælingum sýndu að betra líkan fékkst þegar skynmat var notað sem Y breytur heldur en þegar örverur voru notaðar sem Y breytur í líkanið. Hér var um að ræða forathuganir á notkun PLS við líkanagerð. Þessa niðurstöður nýtast við framhald verkefnisins til að þróa betri spálíkön byggð á rafnefsmælingum til að spá fyrir um ferskleika fisks.



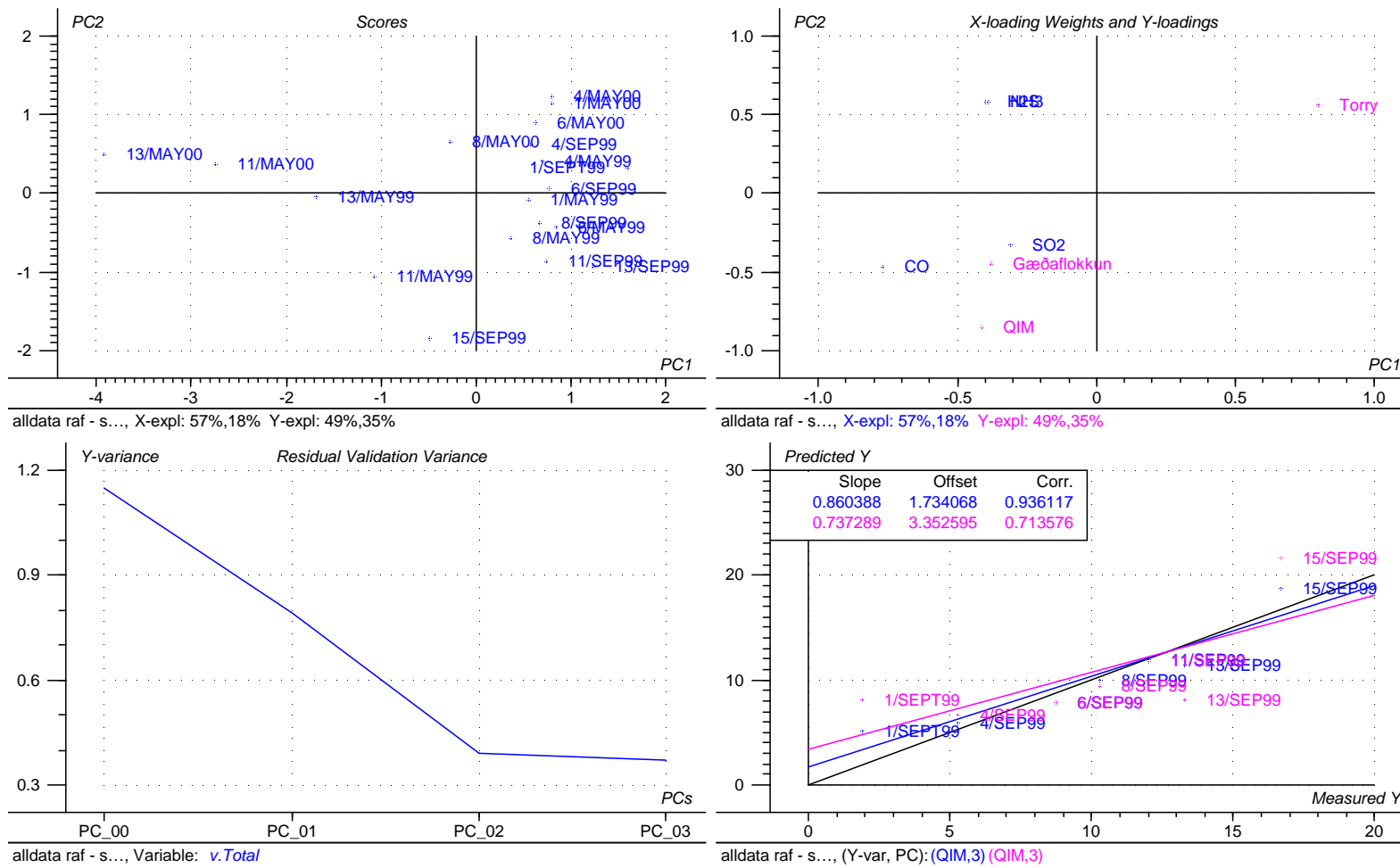
Mynd 5.7. PLS líkan með 3 höfuðþáttum fyrir rafnefsgögn sem X breytur og örverur sem Y breytur ásamt fylgni fyrir H₂S myndandi bakteríur (log H₂S)



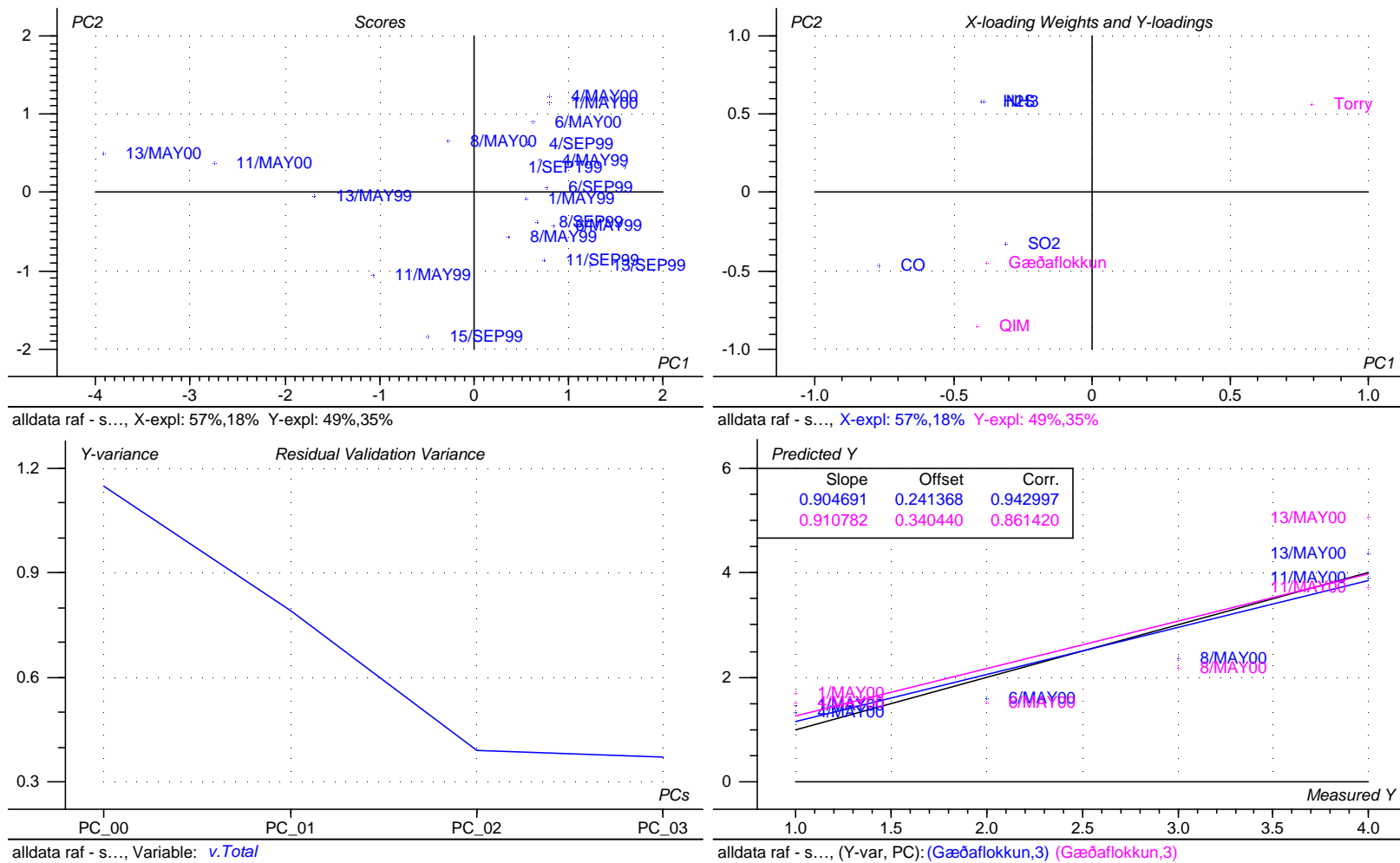
Mynd 5.8. PLS líkan með 4 höfuðþáttum fyrir rafnefsgögn sem X breytur og örverur sem Y breytur ásamt fylgni fyrir heildarörverufjölda (log TVC)



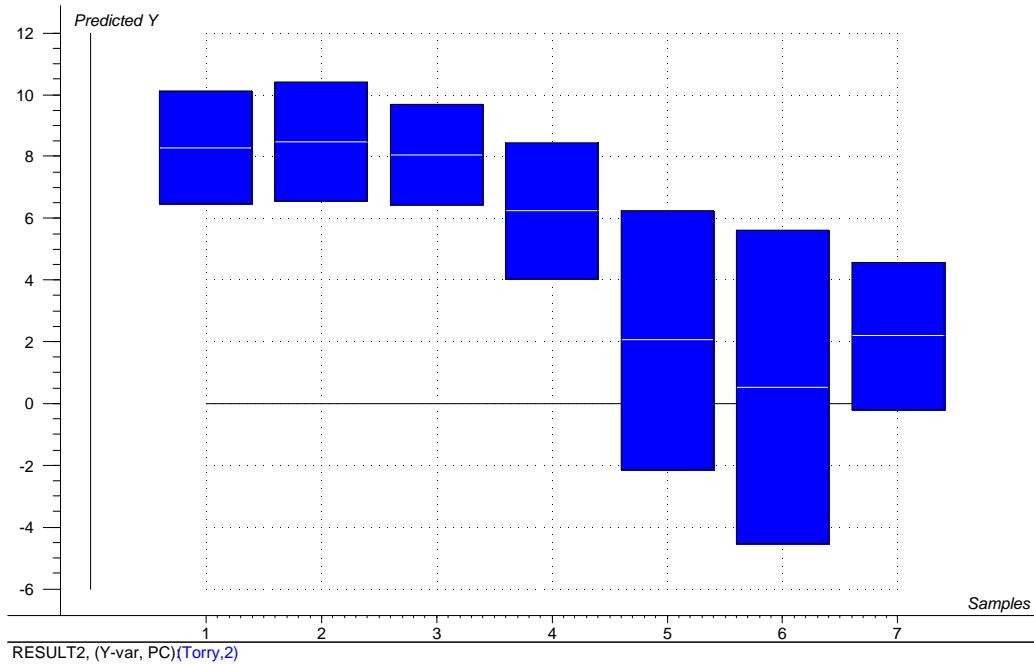
Mynd 5.9. PLS líkan með 4 höfuðþáttum fyrir rafnefsgögn sem X breytur og skynmat sem Y breytur ásamt fylgni fyrir Torry einkunn



Mynd 5.10. PLS líkan með 4 höfðupáttum fyrir rafnefsgögn sem X breytur og skynmat sem Y breytur ásamt fylgni fyrir QIM einkunn



Mynd 5.11 PLS líkan með 4 höfðubáttum fyrir rafnefsgögn sem X breytur og skynmat sem Y breytur ásamt fylgni fyrir gæðaflokkun



Mynd 5.11. Líkan byggt á rafnefsgögnum fyrir maí 1999 notað til að spá fyrir Torry einkunn fyrir ýsuflök í maí 2000.

Tafla 5.1. Spágildi , frávik og mæligildi fyrir Torry einkunn byggt á spálíkani fyrir rafnefsgögn

Sýni	Spágildi (Torry einkunn)	Frávik	Mæligildi (Torry einkunn)
1/MAY00	8.283	1.824	
4/MAY00	8.484	1.916	
6/MAY00	8.061	1.616	
8/MAY00	6.246	2.209	5.9
11/MAY00	2.062	4.192	
13/MAY00	0.539	5.066	
15/MAY00	2.191	2.378	

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxtartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

5.5. HEIMILDIR

Emilía Martinsdóttir. 1995. Skynmat á ferskum fiski. Rf - Handbók fiskvinnslunnar.

Emilía Martinsdóttir o.fl.. 1999. QimIT Verkefnaskýrsla til Evrópubandalagsins.

Gram, L., G. Trolle and H.H. Huss.1987. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. Int. J. Food Microbiol. 4, 65-72.

Guðrún Ólafsdóttir, Emilía Martinsdóttir, Einar Helgi Jónsson og Einar Birkir Einarsson. 1997a. Notkun lyktarnema við mat á gæðum hráefnis fyrir fiskmjöl, Styrknúmer 941940096. Lokaskýrsla fyrir Rannsóknarráð Íslands, sept. 1997.

Lauzon, H.L. 1997. Shelflife and bacteriological spoilage of American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). Meistaránámsritgerð við matvælafræðiskor, Háskóli Íslands, 61 bls.

Lindsay, R.C., D.B. Josephson and G. Ólafsdóttir. 1986. Chemical and biochemical indices for assessing the quality of fish packaged in controlled atmospheres. In Proceedings of an International Symposium, University of Alaska Sea Grant Program, Anchorage, Alaska, U.S.A., D.E. Kramer and J. Liston (Ed.), pp. 221-234. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

Ólafsdóttir, G., E. Martinsdóttir and E. H. Jónsson. 1997b. Rapid gas sensor measurements to predict the freshness of capelin (*Mallotus villosus*). J.Agric. Food Chem. 45 (7), 2654-2659.

Ólafsdóttir, G., E. Martinsdóttir and E.H. Jónsson. 1997c. Gas sensor and GC measurements of volatile compounds in capelin (*Mallotus villosus*). In Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality. Eds. Luten, J. B., Börresen, T. and Oehlenschläger, J. Amsterdam, Elsevier, 507-520.

Ólafsdóttir, G., Á. Högnadóttir, E. Martinsdóttir and H. Jónsdóttir. 2000. Application of an Electronic Nose to Predict Total Volatile Bases in Capelin (*Mallotus villosus*) for Fishmeal Production. J. Agric. Food Chem. 48 (6), 2353-2359.

VIÐAUKI 5. KAFLI

Töflur um línulega fylgni (correlation) einstakra nema, örverutalninga, skynmats og daga í ís fyrir allar geymslutilraunirnar:

Tafla V5.1. Niðurstöður mælinga í geymslutilraun á heilli ýsu í maí 1999

Tafla V5.2. Fylgni mælinga í geymslutilraun maí 1999

Tafla V5.3. Niðurstöður mælinga í geymslutilraun á heilli ýsu í sept 1999

Tafla V5.4. Fylgni mælinga í geymslutilraun á heilli ýsu september 1999

Tafla V5.5. Niðurstöður mælinga í geymslutilraun á ýsuflökum í maí 2000

Tafla V5.6. Fylgni mælinga í geymslutilraun á ýsuflökum í maí 2000

Tafla V5.1. Niðurstöður mælinga í geymslutilraun á heilli ýsu í maí 1999

Dagar	CO	H2S	SO2	NH3	log H2S	log TVC	Torry
1	37,19	8,37	9,01	-12,75	0,00	0,00	9,20
4	66,93	28,79	3,60	-16,84	0,00	0,70	8,10
6	61,46	-30,23	8,01	-12,81	1,75	2,70	7,30
8	220,57	-13,95	5,13	-14,21	2,20	2,60	6,90
11	329,44	32,98	12,95	-4,56	3,10	3,90	4,70
13	272,63	75,32	13,51	22,22	3,40	3,80	4,80
15	269,24	94,39	18,19	29,30			

Tafla V5.2. Fylgni mælinga í geymslutilraun maí 1999

	Dagar	CO	H2S	SO2	NH3	log H2S	log TVC	Torry
Dagar	1,00							
CO	0,88	1,00						
H2S	0,71	0,58	1,00					
SO2	0,78	0,65	0,76	1,00				
NH3	0,85	0,63	0,88	0,89	1,00			
log H2S	0,96	0,89	0,35	0,69	0,70	1,00		
log TVC	0,95	0,85	0,28	0,62	0,61	0,98	1,00	
Torry	-0,98	-0,93	-0,54	-0,70	-0,71	-0,95	-0,95	1,00

Tafla V5.3. Niðurstöður mælinga í geymslutilraun á heilli ýsu í september 1999

Dagar	CO	H2S	SO2	NH3	log H ₂ S	log TVC	Ps.	Torry	QIM
1	63,16	-32,02	-1,67	-19,30	1,00	1,60	1,00	9,30	1,90
4	56,93	0,00	3,74	7,22	1,00	1,00	1,00	8,40	5,30
6	120,44	0,00	2,89	-16,05	1,54	2,65	1,00	7,70	8,70
8	79,04	0,00	8,07	-21,32	2,78	4,27	2,18	7,20	10,30
11	280,00	-57,11	1,67	-15,44	3,54	4,65	3,00	6,90	12,00
13	322,02	-70,61	-3,07	-28,60	4,71	5,34	4,18	6,60	13,30
15	491,32	-33,33	6,58	-17,37	5,37	6,00	4,15	5,40	16,70
18	330,53	-48,07	0,88	-16,14				4,50	18,00

Nákvæm geymsluþolsspálíkön fyrir fisk: hitaferlar, örveruvaxartilraunir, rafnefsmælingar, geymsluþolsrannsóknir - Áfangaskýrsla, nóvember 2000. 5. kafli.

Tafla V5.4. Fylgni mælinga í geymslutilraun september 1999

	Dagar	CO	H2S	SO2	NH3	log H2S	log TVC	Ps.	Torry	QIM
Dagar	1,00									
CO	0,87	1,00								
H2S	-0,58	-0,65	1,00							
SO2	0,04	-0,02	0,66	1,00						
NH3	-0,35	-0,36	0,52	0,28	1,00					
log H2S	0,97	0,93	-0,63	0,09	-0,53	1,00				
log TVC	0,95	0,86	-0,57	0,16	-0,64	0,97	1,00			
Ps.	0,95	0,91	-0,72	-0,03	-0,53	0,99	0,94	1,00		
Torry	-0,98	-0,83	0,44	-0,16	0,28	-0,94	-0,93	-0,88	1,00	
QIM	0,99	0,86	-0,48	0,17	-0,35	0,94	0,94	0,89	-0,99	1

Tafla V5.5. Niðurstöður mælinga í geymslutilraun á ýsuflokum í maí 2000

Dagar	CO	H2S	SO2	NH3	log H2S	log TVC	Gæðaflokkun
1	67,81	14,21	-1,40	4,47	1,54	3,26	1,00
4	20,96	10,00	0,09	10,35	3,30	4,22	1,00
6	59,47	7,54	1,58	8,25	4,17	5,67	2,00
8	271,81	33,74	-0,35	11,58	3,30	7,38	3,00
11	654,12	90,00	1,40	46,67	6,62	8,08	4,00
13	781,23	134,47	2,89	62,54	6,91	8,19	4,00
15	412,89	94,65	25,44	59,47	7,34	8,11	

Tafla V5.6. Fylgni mælinga í geymslutilraun á ýsuflokum í maí 2000

	Dagar	CO	H2S	SO2	NH3	log H2S	log TVC	Gæðaflokkun
Dagar	1,00							
CO	0,81	1,00						
H2S	0,87	0,96	1,00					
SO2	0,68	0,23	0,44	1,00				
NH3	0,92	0,89	0,97	0,61	1,00			
log H2S	0,95	0,82	0,88	0,63	0,94	1,00		
log TVC	0,94	0,84	0,82	0,46	0,81	0,87	1,00	
Gæðaflokkun	0,96	0,93	0,87	0,70	0,85	0,88	0,98	1,00