

RANNSÓKNASTOFNUN  
FISKIÐNAÐARINS

# 5. RIT

REYKJAVÍK OKTÓBER 1982

## ÖRVERUGRÓÐUR Í SKREIÐ

GRÍMUR VALDIMARSSON  
BIRNA GUÐBJÖRNSDÓTTIR

ÞAKKARORÐ

Eftirtöldum aðilum viljum við færa sérstakar þakkir fyrir veitta aðstoð við framkvæmd þessa verkefnis:

Starfsfólki Ísbjarnarins h.f., fyrir veitta aðstoð við verkunartilraunir, einkum þeim Sigurði Njálssyni, Leifi Vigfússyni og Ólafi Vigfússyni og samstarfsfólki okkar á Rannsóknastofnun fiskiðnaðarins sem framkvæmdu eða tóku þátt í hinum ýmsu mælingum.

<u>EFNISYFIRLIT.</u>	<u>bls.</u>
ÁGRIP	1
1. <u>INNGANGUR</u>	3
2. <u>EFNI OG AÐFERÐIR</u>	4
2.1. FULLVERKUÐ SKREIÐ	4
2.2. VERKUNARTILRAUNIR	4
2.2.1. Nýr fiskur	4
2.2.2. Gamall fiskur	5
2.3. UNDIRBÚNINGUR SÝNA	5
2.4. ALMENNAR ÖRVERURANNSÓKNIR	5
2.4.1. Heildargerlatalningar	5
2.4.2. Kóligerlar-og saurkóligerlar	6
2.4.3. Bacillus gró	6
2.4.4. Clostridium gró	6
2.4.5. Ger-og myglugróður	6
2.4.6. H <sub>2</sub> S myndandi gerlar	6
2.5. EINANGRUN OG GREINING GERLASTOFNA	7
2.5.1. Almenn greining	7
2.5.2. Greining mjólkursýrugerla	8
2.6. ÝMSAR MÆLINGAR	9
2.6.1. Hitastig við hjallapurrkun	9
2.6.2. Vatnsinnihald	9
2.6.3. Vatnsvirkni	9
2.6.4. Trimethylamine	10
2.6.5. Óbundið ammóníak	10
3. <u>NIDURSTÖÐUR</u>	11
3.1. AÐFERÐAFRÆÐILEGAR ATHUGANIR	11
3.2. FULLVERKUÐ SKREIÐ	11
3.3. VERKUNARTILRAUNIR. NÝTT HRÁEFNI	15
3.3.1. Verkunartími	15
3.3.2. Vatnsvirkni	15
3.3.3. Örverugróður	15
3.3.4. TMA og óbundið ammóníak	17
3.4. VERKUNARTILRAUNIR. GAMALT HRÁEFNI	35
3.5. GREINING MJÓLKURSÝRUGERLA	43
4. <u>UMRÆÐA</u>	47
<u>VIÐAUKAR</u>	51
<u>HEIMILDASKRÁ</u>	55

MYNDIR.bls.

Mynd 1.	Meðalhitastig í Reykjavík. ....	18
" 2.	Blálanga. Vatnsinnihald .....	19
" 3.	Þorskur. Vatnsinnihald .....	20
" 4.	Samband vatnsvirkni og vatnsinnihalds við skreiðarverkun .....	21
" 5.	Blálanga. Gerlafjöldi .....	22
" 6.	Þorskur. Gerlafjöldi .....	23
" 7.	Blálanga. Hlutdeild helstu gerlahópa....	27
" 8.	Þorskur. Hlutdeild helstu gerlahópa ....	28
" 9.	Blálanga. Trimethylamine .....	31
" 10.	Blálanga. Óbundið ammóníak .....	32
" 11.	Þorskur. Trimethylamine .....	33
" 12.	Þorskur. Óbundið ammóníak .....	34
" 13.	Þorskur. Nýtt og gamalt hráefni. Vatnsinnihald .....	36
" 14.	Þorskur. Nýtt og gamalt hráefni. Gerlafjöldi .....	37
" 15.	Þorskur. Nýtt og gamalt hráefni. Hlutdeild helstu gerlahópa .....	39
" 16.	Þorskur. Nýtt og gamalt hráefni. H <sub>2</sub> S myndandi gerlar .....	40
" 17.	Þorskur. Nýtt og gamalt hráefni. Trimethylamine .....	41
" 18.	Þorskur. Nýtt og gamalt hráefni. Óbundið ammoníak .....	42

TÖFLUR.bls.

Tafla 1.	Æti og aðferðir við ræktun gerla	
	úr skreið .....	12
"	2. Fullverkuð skreið.	
	Örverugróður .....	13
"	3. Fullverkuð skreið.	
	Gerlagreining .....	14
"	4. Blálanga, Tilraun I.	
	Gerlagreining .....	24
"	5. Blálanga, Tilraun II.	
	Gerlagreining .....	25
"	6. Nýr þorskur. Tilraun II.	
	Gerlagreining .....	26
"	7. Blálanga. Tilraun I, Örverugróður..	29
"	8. Blálanga. Tilraun II, " " ...	30
"	9. Gamall þorskur. Gerlagreining .....	38
"	10. Greining á mjólkursýrugerlum .....	44

## ÁGRIP

Markmið þessara rannsókna var tvíþætt. Í fyrsta lagi að fá yfirlit yfir þá örveruhópa, sem finnast í ýmsum tegundum af fullverkaðri skreið. Í öðru lagi að kanna frá byrjun, hvaða breytingar verða á örverugróðrinum við verkun fisksins.

Rannsókn á tæplega 100 sýnum af skreið, sem var tilbúin til útflutnings, leiddi í ljós, að gerla- og myglugróður var mjög breytilegur frá sýni til sýnis. Gerlafjöldinn sveiflaðist frá 6000 til 90.000.000 pr. gramm þurrefnis af fiskvöðva. Greining á þessum gerlum sýndi, að mest bar á svonefndum Moraxella og Acinetobacter gerlum, en þeir eru hvað algengastir í blautfiski. Ennfremur greindist hluti af gerlagróðrinum sem mjólkursýrugerlar.

Fjöldi ger- og myglusveppa var lítill í samanburði við gerlana. Mest ræktuðust 37.000 myglusveppir úr grammi (þ.e.) af fiski.

Gerðar voru tvær verkunartilraunir með blálöngu og tvær með þorsk. Í öllum tilraununum kom fram mjög hliðstæð mynd, bæði efna- og gerlafræðilega. Við verkunina jókst gerlagróðurinn gífurlega. Lægstur var byrjunargerlafjöldinn 10.000/g þ.e., en fór hæst upp í 41.000.000/g þ.e.. Þetta vaxtarskeið gerlanna stóð í 22-45 daga eða þar til vatnsinnihaldið hafði fallið niður í 45 - 64%. Síðan stóð gerlafjöldinn í stað eða lækkaði, er frá leið.

Magn trimethylamins og óbundins ammóníaks, fylgdi mjög svipuðum ferli og gerlagróðurinn.

Greining á gerlagróðrinum á hinum ýmsu stigum verkunarinnar leiddi í ljós, að í byrjun voru Moraxella og Acinetobacter gerlar yfirgnæfandi, eins og búist hafði

verið við. Þegar leið á verkunina, komu mjólkursýru-gerlar af ættkvíslinni Lactobacillus fram á sjónarsviðið og juku hlutdeild sína mjög verulega. Í einni tilrauninni reyndust hátt í 100% gerlanna í fiskinum vera mjólkursýrugерlar. Í þorskinum a.m.k. minnkaði fjöldi þessara gerla síðan hratt, eftir að hámarkinu var náð.

Greining sýndi að hér var um tegundina Lactobacillus plantarum að ræða. Ekki er ólíklegt að þessir gerlar hafi hlutverki að gegna við verkun skreiðarinnar, einkum m.t.t. bragðbreytinga.

Þá er leitt líkum að því, að mjólkursýrugерlarnir stuðli að rotvörn skreiðarinnar meðan á verkun stendur.

## 1. INNGANGUR

Þurrkun er ein hinna hefðbundnu rotvarnaraðferða á matvælum. Saga skreiðarverkunar hér á landi nær aftur til sögualdar og á 14. öld var skreið orðin ein mikilvægasta útflutningsafurð Íslendinga.

Margt bendir til þess, að í framtíðinni muni þurrkun hafa æ meira hlutverki að gegna sem rotvarnaraðferð fyrir fisk, því ljóst er, að fátækari þjóðir geta ekki í náinni framtíð byggt upp kæli- og frystikeðjur á þann hátt sem tíðkast á Vesturlöndum.

Þurrkun á fiski er þó ekki aðeins beitt sem rotvarnaraðferð, fiskurinn fær ýmsa áferðar- og bragðeiginleika sem eru eftirsóttir. Nægir að minna á harðfiskinn okkar í því sambandi.

Þó svo að skreiðarframleiðsla sé mjög einföld verkunaraðferð, þá er þar við ýmsa erfiðleika að etja. Til dæmis veldur votviðrasöm tíð því að fiskurinn slepjar, í hann setjast myglusveppir og frost lækkar markaðsgildi hans. Af þessum sökum hafa ýmsar tilraunir verið gerðar með að inniþurrka fisk, svo að forðast megi þau vandanámál, sem hljóttast af útiverkun. Einnig hafa menn rennt þann möguleika hýru auga að þurrka vannýttar smærri fisktegundir, sem ekki henta til venjulegrar skreiðarvinnslu.

Takmarkaðar athuganir á inniþurrkaðri skreið hafa gefið til kynna, að hún sé mun bragðminni en venjulegur hjallafiskur.

Því er mikilvægt að rannsaka, hvaða efnabreytingar eiga sér stað við verkun fisksins og hver þáttur örverugróðurs er.

Í þessu riti er fjallað um útiverkaða hjallaskreið, einkum með tilliti til örverugróðursins.

## 2. EFNI OG AÐFERÐIR

### 2.1. FULLVERKUÐ SKREIÐ

Skreið til rannsóknanna var fengin frá þrem fyrirtækjum, Langeyri h.f., Hafnarfirði, Fiskanesi h.f., Hafnarfirði og Kirkjusandi h.f., Reykjavík (viðauki 1).

Miðað var við að skreiðin væri fullstaðin í húsi, tilbúin til pökkunar og gæði hennar væru "meðalgóð".

Sýnin voru tekin á tímabilinu júní til september 1980.

### 2.2. VERKUNARTILRAUNIR

Allur fiskur í verkunartilrauninni var fengin hjá Ísbirninum h.f., Reykjavík. Notaðar voru tvær fisktegundir, blálanga (Molva dypterygia dypterygia) og þorskur (Gadus morhua).

Í öllum tilfellum var um að ræða togarafisk sem hafði verið blóðgaður, slægður og ísaður í kassa um borð. Fyrir hverja tilraun var reynt að velja fisk sem jafnastan að gæðum og stærð, en meðalþyngd fiskanna í hverri tilraun var 1850-2500 g. Allur fiskurinn var vandlega þveginns fyrir upphengingu. Notaðir voru hjallar Ísbjarnarins h.f., á Seltjarnarnesi.

Á viku til hálfmánaðar fresti voru síðan 3-5 fiskar teknir til rannsókna.

#### 2.2.1. Nýr fiskur

Í byrjun verkunar var fiskurinn 5-7 daga gamall, en gerðar voru fjórar verkunartilraunir sem hér segir:

##### Blálanga

Tilraun I. Hengdur upp 30. okt. 1980. Tekinn í hús síðast í janúar 1981.

Tilraun II. Hengdur upp 11. mars 1981. Tekinn í hús um miðjan júní. Settur í eftirþurrkun.

#### Þorskur

Tilraun I. Hengdur upp 7. maí 1981. Tekinn í hús í byrjun júlí. Settur í eftirþurrkun.

Tilraun II. Hengdur upp 3. maí 1982. Tekinn í hús í byrjun júlí.

#### 2.2.2. Gamall fiskur

Fenginn var 5-7 daga gamall þorskur, sem síðan var haus-  
aður og geymdur í ís við 0°C í 12 daga til viðbótar.  
Þessi fiskur var hengdur upp ásamt nýjum fiski, 3. maí  
1982 (sjá 2.2.1.).

#### 2.3. UNDIRBÜNINGUR SÝNA

Sýni voru einungis tekin af vöðva fisksins fyrir aftan  
kviðarhol, venjulega 6-8 cm stykki. Fiskurinn var sag-  
aður inn að hrygg, og roðinu flett af. Bitar voru síðan  
teknir og malaðir í Waring blandara. Við sýnatökuna voru  
einungis notuð sótthreinsuð áhöld.

Malaður fiskurinn var síðan notaður til örveruræktana,  
efna- og vatnsmælinga og mælinga á vatnsvirkni.

#### 2.4. ALMENNAR ÖRVERURANNSÓKNIR

##### 2.4.1. Heildargerlatalningar

Við örverurannsóknirnar voru notaðar aðferðir Speck  
(1976) nema annað sé tekið fram.

Af malaða sýninu voru tekin 25 g og blandað í 2 mín.  
við 225 ml af Butterfields buffer í Waring blandara.  
Allar gerla- og mygluræktanir voru síðan gerðar úr þess-  
ari blöndu. Öll ræktunaræti voru frá Difco, nema annað  
sé tekið fram.

Notaður var plate count agar, PCA með áhellingaraðferð, en það æti hafði reynst vel í samanburði við marine agar (MA), tryptic soy agar (TSA), hvort heldur notuð var áhellingaraðferð eða yfirborðssáning. Lokatalning var gerð eftir 21 dags ræktun við 22°C.

#### 2.4.2. Kóligerlar - saurkóligerlar

Notað var lauryl tryptose broth (LST) og ræktað með MPN aðferð, í alls 48 klst. Staðfesting á kóligerlum var gerð í brilliant green lactose bile broth (BGLB) og saurkóligerlum í E-C medium (EC), ræktað í 24 klst. við 44.5°C.

#### 2.4.3. Bacillus gró

Af 1/10 þynningunni voru 10 ml hitaðir í 15 mín við 80°C, til að drepa gerlafrumurnar. Ræktun var síðan gerð með áhellingaraðferð á PCA við 35°C í 3 daga.

#### 2.4.4. Clostridium gró

Hitaða sýninu (80°C í 15 mín) var sáð í differential reinforced clostridium medium (DRCM) (viðauki 2) skv. þriggja glasa MPN aðferð. Ræktað við 35°C í 5 daga. Útfelling af járnsúlfíði í glösunum var tekin sem merki um vöxt SO<sub>3</sub> afoxandi Clostridium.

#### 2.4.5. Ger- og myglugróður

Sýnum var sáð með yfirborðssáningu á potato dextrose agar (PDA). Ræktað í 5 daga við 22°C.

#### 2.4.6. H<sub>2</sub>S myndandi gerlar

Sýnum var sáð á járnagar, Jensen & Schulz (1980). Ræktað í 3 daga við 22°C.

## 2.5. EINANGRUN OG GREINING GERLASTOFNA

### 2.5.1. Almenn greining

Við greiningu á gerlagróðri úr 10 sýnum af fullþurrkaðri skreið, var einn fiskur eitt sýni. Voru þá 25 kólóniur valdar tilviljanakennt af tveim skálum, sem höfðu vel aðgreindar kólóniur. Við verkunartilraunirnar voru hins vegar gerðar gerlatalningar á 5 fiskum í hvert sinn. Voru sex kólóniur valdar tilviljanakennt úr hverju sýni, þ.e. alls 30 kólóniur.

Kólóniurnar voru teknar af skálunum eftir 8 daga ræktun og hreinrækt fengin með útstrikun á PCA. Jafnskjótt og kólóniur komu fram á útstrikunarskálunum (venjulega eftir 2-3 daga) var ein kólónía valin, og eftirfarandi athuganir gerðar:

Gram litun var gerð með aðferð Hucker's (viðauki 3), eftir 2-3 daga ræktun á PCA. Við smásjárskoðun var notuð 100x olíulinsa.

Oxidase. Gróðri af PCA var strikað með platinu vír á filterpappír, sem vættur var með 1% (w/v) lausn af p-aminodimethylanilineoxalate (Difco) (dökkblár litur eftir 10 sek.). Frá og með maí 1982 var þó aðferð Kovacs (Kovacs, 1956) tekin upp þar sem notað er NNN'-N'-Tetramethyl-p-phenylene-diamine dihydrochloride (BDH).

Kvikleiki stofnanna var athugaður með smásjárskoðun ("hanging drop") eftir ræktun í nutrient broth (NB). Stofnar voru skoðaðir jafnskjótt og vart var við vöxt í glösunum, venjulega eftir 48-72 klst.

Catalase. Hydrogenperoxide, 3% lausn, var hellt yfir kólóniur á PCA skálum og athugað hvort loftbólur mynduðust.

Niðurbrot á glúkósa. Notað var MOF æti Leifson (1963) en breytt þannig að einungis 0.5% NaCl var notað í stað

sjávarsaltblöndu (viðauki 5). Lesið var af glösunum eftir 1, 4, 7 og 14 daga ræktun.

Stofnunum var skipað í flokka og ættkvíslir samkvæmt greiningarlykli sem byggist á aðferðum Shewan ofl. (1960 a,b) með breytingum sem raktar eru af Valdimars-son (1977).

### 2.5.2. Greining mjólkursýrugerla

Þeim stofnum, sem við almennu greininguna reyndust vera Gram+ og catalase- var haldið saman, og þeir síðan greindir nánar. Alls voru þetta 23 stofnar úr skreið. Til samanburðar voru notaðir tveir þekktir mjólkursýrugerlastofnar, L. plantarum ATCC 14917 og L. plantarum (saith). Síðastnefndi stofninn var fenginn frá Háskólanum í Tromsø og hafði upphaflega verið einangraður úr ufsagörn.

Stofnarnir voru ræktaðir upp og geymdir í APT-seyði, við 4°C, og umsáð á ca 3 mánaða fresti. Þar sem sumir stofnarnir uxu frekar illa í APT seyðinu voru eftirfarandi æti prófuð: MRS agar, MRS-seyði, tomat juice agar, APT agar, TSA agar, nutrient seyði og PCA. Auk þess var prófað sérstakt arginin æti (Jónsson, 1979; sjá viðauka 5). Í prófætin var sáð ríflega af 24-48 klst. rækt. Til að tryggja að stofnar væru hreinræktaðir, var þeim strikað út á APT og PCA agar.

Við greiningu stofnana var stuðst við Sharpe (1962 & 1979) með eftirfarandi breytingum eða nánari útfærslum.

Smásjárskoðun. Stofnar voru skoðaðir með 100 x oliulinsu eftir Gram litun (Hucker's afbrigði), af PCA æti, eftir 18-28 klst ræktun.

Vaxtarhitastig. Stofnum var sáð á APT og PCA agar. Ræktað í hitaskáp.

Mjólkursýrugerð var ákvörðuð með ensímatískri aðferð skv. Boehringer Mannheim GMBH (Anon, 1977).

Sykurgerjanir voru gerðar með 2% sykrum og MRS-seyði notað sem grunnæti, en úr því hafði verið fjarlægð glúkósi og meat extract (sjá viðauka 6). Eftirfarandi sykrum var bætt í ætið fyrir gerileyðingu í þrýsti-sjóðara: cellobiose, lactose, melebiose og raffinose. Aðrar sykrur voru gerileyddar með síun. Í ætið var notaður indikatorinn chlorophenol rauður 0.004% (w/v), sbr. Sharpe (1962).

CO<sub>2</sub> frá glúkósa. Loftmyndun var bæði athuguð í APT seyði (durham glas) og gerjunarætinu. Þar að auki var notuð "hot loop" aðferð Sperber & Swan (1976).

Aesculin klofnun. Notað var æti Rogosa et al. (1953). Ef svört útfelling myndaðist var litið svo á að Aesculin væri brotið niður (sjá viðauka 7).

## 2.6. ÝMSAR MÆLINGAR

### 2.6.1. Hitastig við hjallaþurrkun

Fyrir hvern dag sem tilraunir stóðu yfir var fengið meðalhitastig í Reykjavík frá Veðurstofu Íslands.

### 2.6.2. Vatnsinnihald

Af holdsýninu, sem malað var í Waring blandara, voru vigtuð 5 g, blandað við sand og þurrkað við 100°C í minnst 4 klst. Sýni voru látin kólna í 20 mín í desikator áður en lokabyngd var skráð.

### 2.6.3. Vatnsvirkni

Notaður var vatnsvirknismælir af gerðinni NOVASINA AG en nemar voru af gerðinni ZFB-4s (0-0424) (5-100% RH) og eCUS-1-0893 (74-100% RH). Til viðmiðunar voru hafðar mettaðar lausnir frá fyrirtækinu, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (aw: 0.529), NaCl (aw: 0.753), og MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (aw: 0.328) miðað við 25°C, en allar mælingar voru gerðar í 25°C hitaskáp. Stöðug mæling fékkst að jafnaði eftir 20-30 mín.

#### 2.6.4. Trimethylamine

Aðferðin var samkvæmt AOAC (Horowitz, 1980) með þeirri breytingu að í stað  $K_2CO_3$  var notað KOH.

#### 2.6.5. Óbundið ammoníak

Af sýninu voru vigtuð u.þ.b. 5 g í Kjeldahl flösku, 3 g af MgO og 200 ml  $H_2O$ . Eimað í 30 mín við lágt hitastig yfir í 50 ml af 0.1 N  $H_2SO_4$ . Að því loknu var soðið upp á brennisteinssýrunni í 1-2 mín, hún kæld niður og  $NH_4$  titrað með 0.1 N NaOH.

### 3. NIÐURSTÖÐUR

#### 3.1. AÐFERÐAFRÆÐILEGAR ATHUGANIR

Í töflu 1 er yfirlit yfir gerlatalningar úr 3 sýnum af skreið, sem gerðar voru með þremur mismunandi ætum og aðferðum. Það sýndi sig að kóloníum á ræktunarætum fjölgaði allt upp í 21 dags ræktun. Enginn afgerandi munur á gerlatalningum kom fram á þeim þremur ræktunarætum sem prófuð voru. Var ákveðið að nota PCA æti til ræktana. Til hægðarauka var notuð áhellingaraðferð, jafnvel þótt yfirborðssáning gæfi lítið eitt hærri talningar.

#### 3.2. FULLVERKUÐ SKREIÐ

Í töflu 2 eru sýndar niðurstöður af gerla- og myglutalningum af 81 sýni af fullverkaðri skreið.

Meðalgerlafjöldi var 1.300.000/g þ.e., en breytileikinn var mikill milli sýna, allt frá 6000/g þ.e. upp í 50.000.000/g. Lítið var af kóligerlum í þessum fiski, og í engu sýnanna fundust saurkóligerlar. Fremur lítið fannst af gerlagróum, en þó meira af Bacillus en Clostridium gróum. Ger- og myglugróður reyndist vera á bilinu 0-650.000/g þ.e., en meðaltalið var 14.600 g/þ.e.. Í töflu 3 er sýnd nánari sundurgreining á gerlaflórunni úr 10 völdum sýnum. Eins og sjá má, reyndist meirihluti gerlagróðursins tilheyra ættkvíslunum Moraxella og Acinetobacter, en auk þess ger- og myglusveppum, Gram+ kúlugerlum og síðast en ekki síst mjólkursýrugerlum.

TAFLA I.

## ÆTI OG AÐFERÐIR VIÐ RÆKTUN GERLA ÚR SKREIÐ.

## GERLAFJÖLDI VIÐ 22°C RÆKTUN

Sýni	Æti	3 daga ræktun		5 daga ræktun		14 daga ræktun		21 dags ræktun	
		áhelling	yfirborðs sáning	áhelling	yfirborðs sáning	áhelling	yfirborðs sáning	áhelling	yfirborðs sáning
I	PCA	890.000	1.020.000	1.130.000	1.220.000	1.250.000	1.630.000	1.240.000	1.730.000
	MA	1.150.000	990.000	1.320.000	1.300.000	1.440.000	1.470.000	1.370.000	2.020.000
	TSA	950.000	910.000	1.220.000	1.050.000	1.250.000	1.240.000	1.270.000	1.290.000
II	PCA	52.000	51.000	430.000	630.000	1.000.000	1.900.000	1.630.000	2.430.000
	MA	82.000	61.000	720.000	930.000	830.000	1.410.000	910.000	1.800.000
	TSA	780.000	920.000	1.150.000	1.580.000	1.810.000	2.700.000	2.310.000	3.200.000
III	PCA	950.000	1.190.000	1.420.000	1.920.000	1.560.000	2.040.000	1.580.000	2.060.000
	MA	1.270.000	1.520.000	1.940.000	2.320.000	2.180.000	2.500.000	2.070.000	2.420.000
	TSA	770.000	1.150.000	1.140.000	1.820.000	1.160.000	1.820.000	1.150.000	1.840.000

PCA = Plate Count Agar (Difco)

MA = Marine Agar (Difco)

TSA = Tryptic Soy Agar (Difco)

TAFLA 2.

## FULLVERKUÐ SKREIÐ. ÖRVERUGRÓÐUR.

TEGUND	FJÖLDI SYNA	ÖRVERUGRÓÐUR pr.gr.þurrefni						Vatn%
		Gerlafjöldi LT 22°C	Kóligerlar (MPN)	Faecal kóligerl. (MPN)	Bacillus gró	Clostridium gró(SO <sub>3</sub> red) (MPN)	Ger-og myglu- sveppir	
Þorskur	30	1.300.000	0.1	0.0	10	1.8	3.000	23.24
Ýsa	16	2.200.000	24.9	0.0	18	17.2	3.500	27.40
Langa	19	1.200.000	17.8	0.0	27	0.8	49.400	24.60
Ufsi	13	400.000	0.0	0.0	3	0.8	7.500	26.50
Keila	3	100.000	0.0	0.0	5	1.3	40	27.70
Meðaltal	81	1.300.000	9.1	0.0	14	4.4	14.600	25.07
Hæsta gildi		50.000.000	240	0.0	800	150.0	650.000	60.20
Lægsta gildi		6.000	0	0.0	0	0.0	0	17.60

Sýni	Fjöldi sýna	gerlafj./g DE LT 22°C	% skipting ættkvísla / flokka												Fjöldi stofna	
			Moraxella	Acinetobacter	Lactobacillus	Staphylococcus	Pseudomonas I,II	Micrococcus	Flavobacterium/Cytophaga	Enterobacteriaceae	Vibrio/an Aeromonas	Coryneform	Gersveppir	Óþekktir		Dauðir
Ýsa	2	55.000.000	26	12			20	2	28	6				6	50	
Ufsi	4	543.000	30	11	5	27		6	1		4	1	5	4	6	100
Langa	1	1.479.000	84		8						4			4	25	
Þorskur	3	385.000	25	3	8	40		12		3	1			8	75	
Meðaltal	(10)		33	8	5	23	4	6	6	2	2	1	2	2	6	(250)

### 3.3. VERKUNARTILRAUNIR. NÝTT HRÆFNI

Gerðar voru fjórar verkunartilraunir á skreið, tvær með blálöngu og tvær með þorsk. Í töflum og línuritum má finna mælingar ú hverri tilraun fyrir sig, en á línuritum eru helstu niðurstöður sýndar fyrir hvora fisktegund.

Verður gerð grein fyrir niðurstöðunum í heild og vísað í töflur og línurit eftir þörfum.

#### 3.3.1. Verkunartími.

Fiskurinn var hengdur upp á ýmsum árstímum og eru hitastigssveiflur á verkunartímanum sýndar á mynd 1. Eins og sjá má á myndum 2 og 3 var þurrkhraðinn mjög misjafn. Það tók innan við 30 daga og allt upp í 63 daga fyrir vatnsinnihald að lækka niður í 40% raka.

#### 3.3.2. Vatnsvirkni

Samband vatnsinnihalds og vatnsvirkni er sýnt á mynd 4, en þessar mælingar voru gerðar bæði á þorski og blálöngu. Það sýndi sig, að vatnsvirknin féll mjög hægt þar til rakainnihaldið hafði lækkað niður í u.þ.b. 40%, en upp úr því féll hún mjög ört. Við 18% raka mældist vatnsvirknin 0.67, en 0.79-0.81 við 25% vatnsinnihald. Enginn verulegur munur á sambandi vatnsvirkni og vatnsinnihalds fannst milli þorsks og blálöngu.

#### 3.3.3. Örverugróður

Á mynd 5 er sýnt hvernig gerlafjöldinn í blálöngu breyttist við verkunina, og á mynd 6 eru samsvarandi upplýsingar fyrir þorsk. Gerlafjöldinn, bæði í blálöngu og þorski, jókst mjög á fyrsta stigi verkunarinnar. Í byrjun var hann á bilinu 10.000-286.000/g þ.e., en jókst upp í 7.700.000 - 41.000.000/g þ.e.. Þetta vaxtarskeið

gerlanna stóð yfir í 22-45 daga eða þar til vatnsinnihaldið hafði fallið niður í 45-64%. Eftir að hámarkinu var náð stóð gerlafjöldinn í stað eða féll mjög verulega sbr. myndir 5 og 6. Þessi hegðun gerlaflórunnar skýrir e.t.v. hve mjög misjafnar talningar fengust úr fullverkaðri skreið (sbr. töflu 2).

Í þessum þessara verkunartilrauna var ráðist í að greina gerlagróðurinn niður í hópa og ættkvíslir. Niðurstöður greininganna er að finna í töflum 4 og 5 fyrir blálöngu og töflu 6 fyrir þorsk. Í fyrri verkunartilrauninni á þorski, var einungis gerð greining á því, hve stór hluti gerlagróðursins tilheyrði mjólkursýrugerlum.

Eins og sjá má á töflum 4, 5 og 6 var gerlagróðurinn mjög fjölbreytilegur. Enginn verulegur munur kom fram á samsetningu flórunnar í þorski og blálöngu. Í upphafi verkunar voru Gram-tegundir yfirgnæfandi, einkum Moraxella en þegar á leið, kom meira af Gram+ gerlum fram á sjónarsviðið, einkum Lactobacillus.

Til nánari glöggvunar er gerð grein fyrir hlutfallslegum breytingum á helstu gerlahópunum í gegnum verkunina, á mynd 7 fyrir blálöngu og á mynd 8 fyrir þorsk.

Á mynd 7 kemur skýrt fram, að í byrjun var hlutfall mjólkursýrugerlanna mjög lágt, eða innan við 3% af heildarflórunni, en hlutur Moraxella og Acinetobacter 60% til 90%. Eftir 15-20 daga breyttust þessi hlutföll verulega, þannig að mjólkursýrugerlarnir náðu yfirhöndinni. Fyrir þorsk gerðist það sama í fyrri tilrauninni, en í þeirri síðari náði mjólkursýrugerlaflóran hæst 17% hlutféild.

Auk gerlagreiningarinnar voru gerðar talningar á kóligerlum, Bacillus og Clostridium gróum, auk ger- og myglusveppa. Þessar talningar voru aðeins gerðar í fyrstu

tveim tilraununum (með blálöngu) og eru niðurstöður sýndar í töflum 7 og 8. Þar kemur fram, að magn kólígerla var mjög breytilegt og það sama má segja um Clostridium gró. Hins vegar kom fram tilhneiging í þá átt, að fjöldi Bacillus gróa væri mestur um miðbik verkunartímans. Hinn mikli fjöldi ger- og myglusveppa sem ræktaðist úr fullverkuðu skreiðinni kom ekki fram í þessum verkunartilraunum.

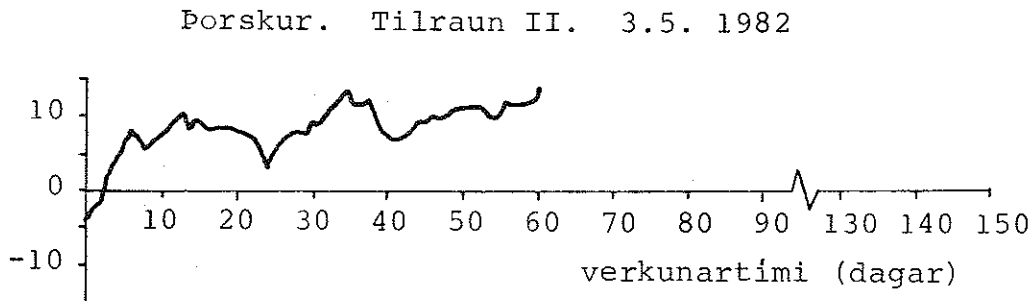
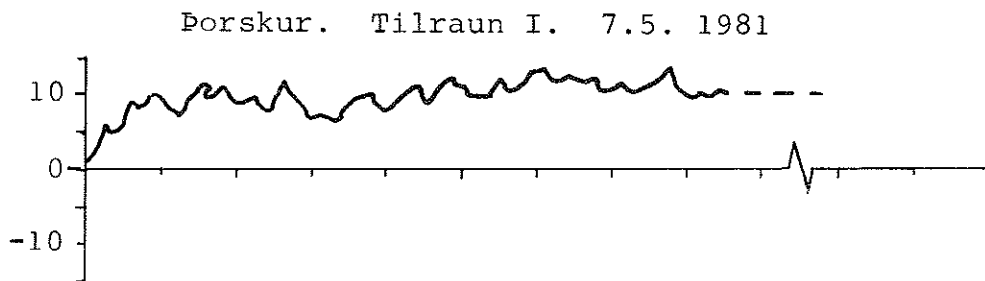
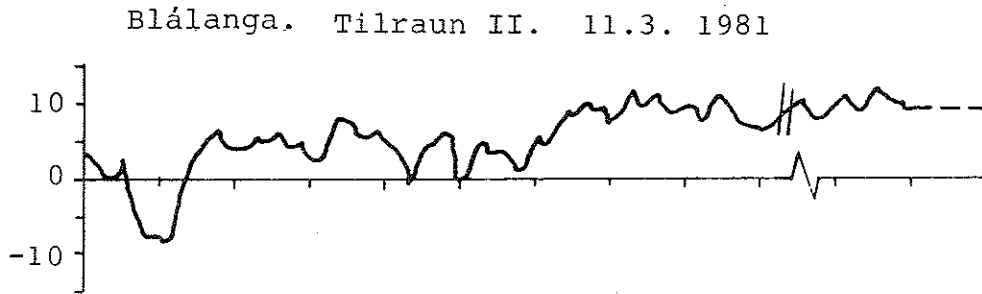
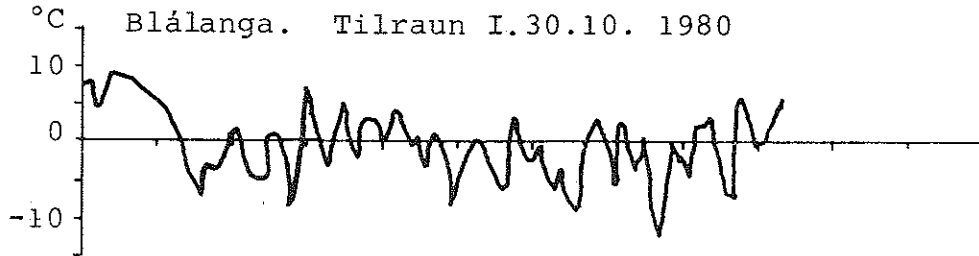
#### 3.3.4. TMA og óbundið ammoníak

Í þremur tilraunum voru gerðar reglubundnar mælingar á þessum efnum og eru niðurstöður sýndar á myndum 9 og 10 fyrir blálöngu og myndum 11 og 12 fyrir þorsk.

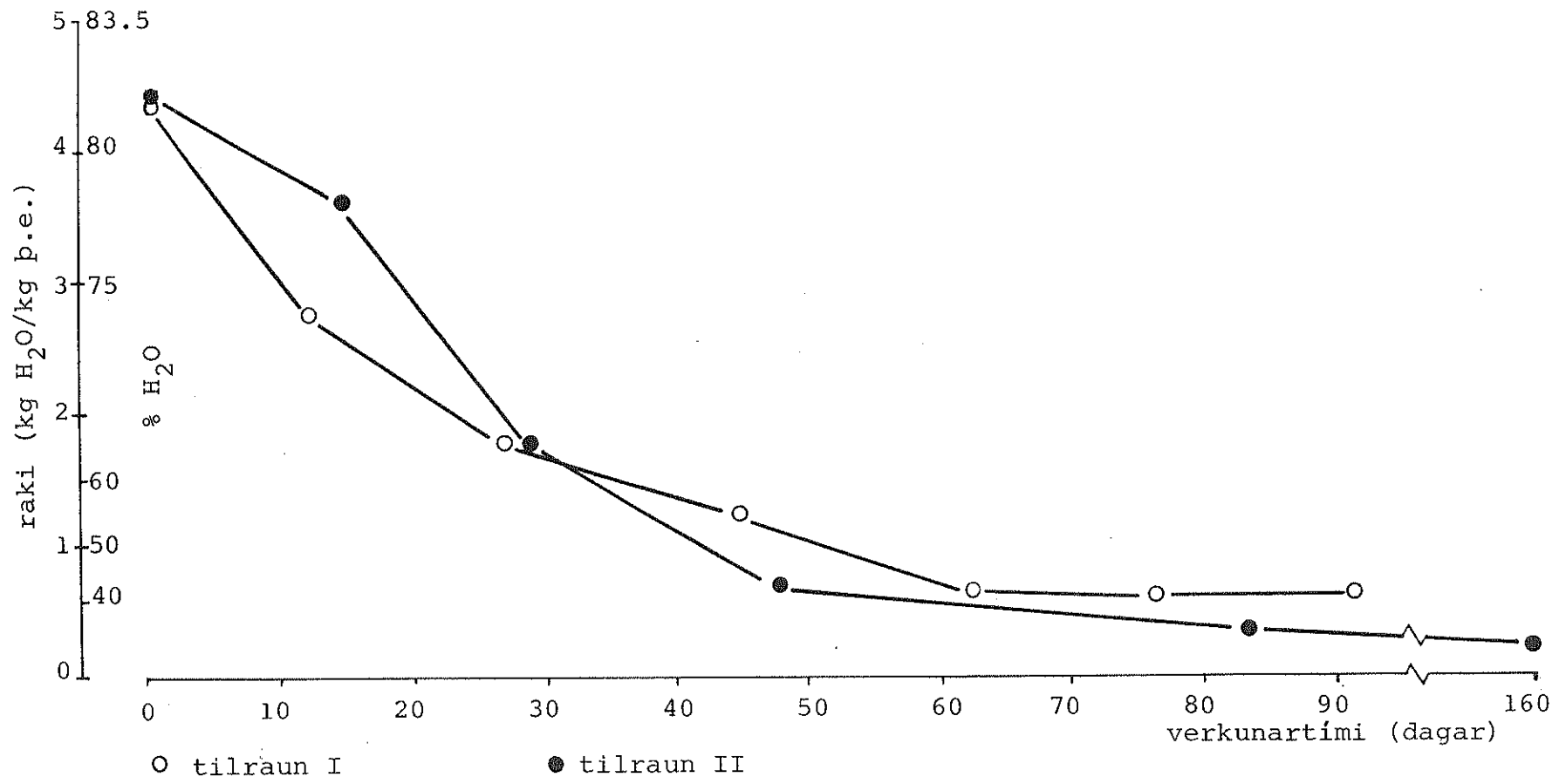
Niðurstöður voru allar á einn veg, eins og sjá má. Aukning þessara efna var í takt við gerlagróðurinn, náði hámarki á fyrri hluta verkunartímans, en lækkaði síðan. Nokkuð lægri gildi fengust fyrir blálöngu en þorsk. Magn trimethylamins fór hæst upp í 551 mg N/100g þ.e., sem svarar til u.þ.b. 100 mg N/100 g af blautfiski.

Magn óbundins ammoníaks fór hæst upp í 0.95% miðað við þurrefni.

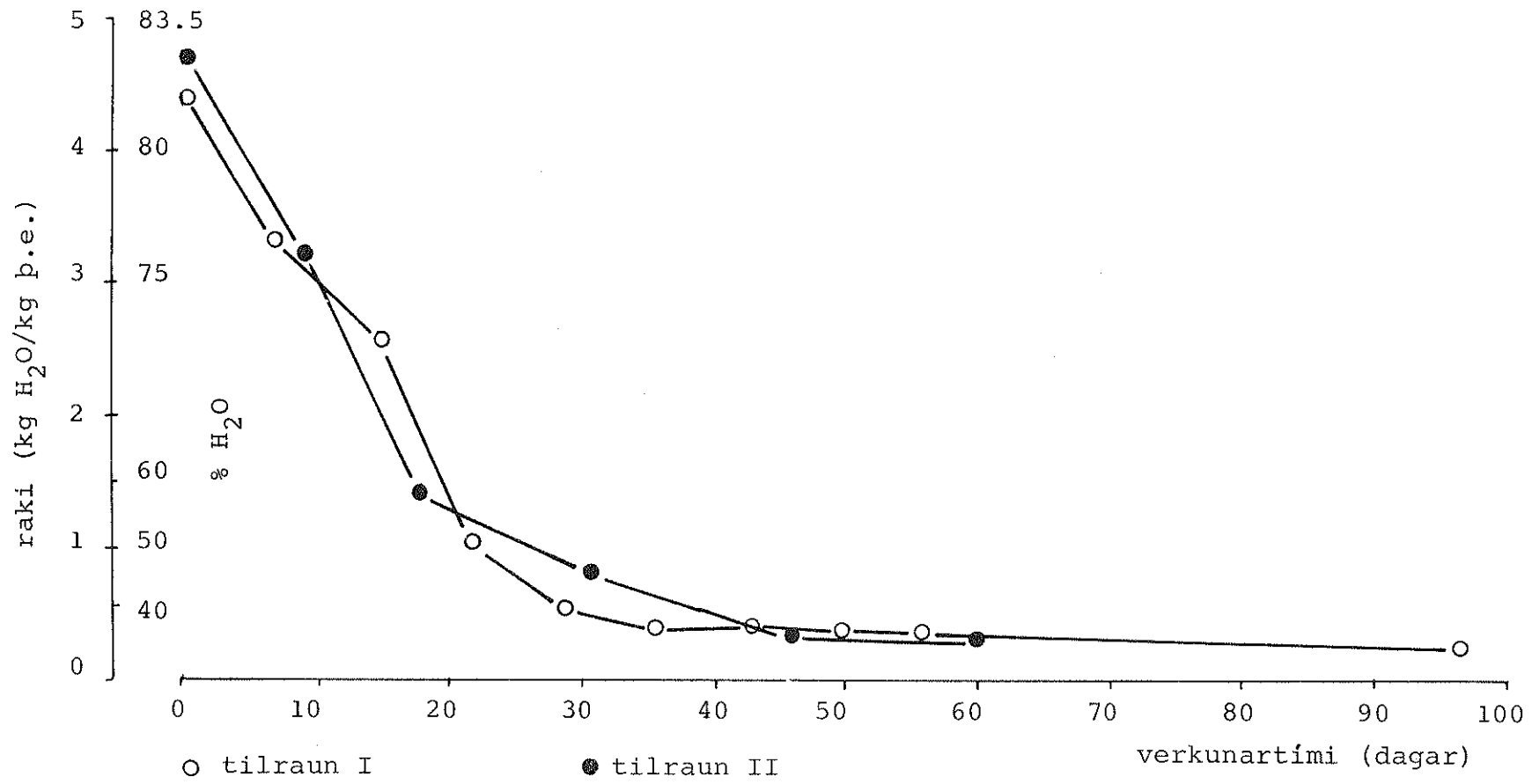
MYND 1. MEÐALHITASTIG Í REYKJAVÍK



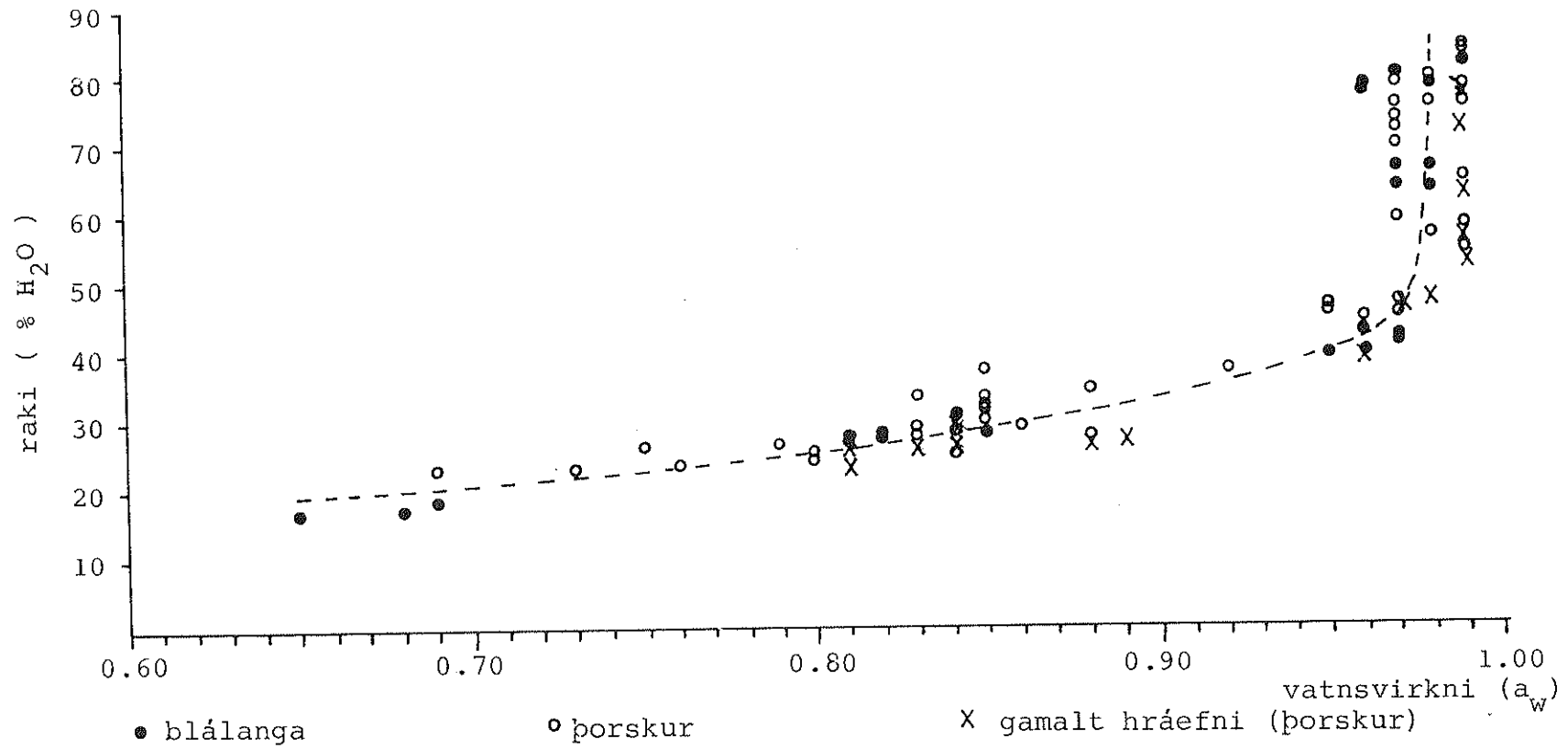
MYND 2. BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ, VATNSINNIHALD.



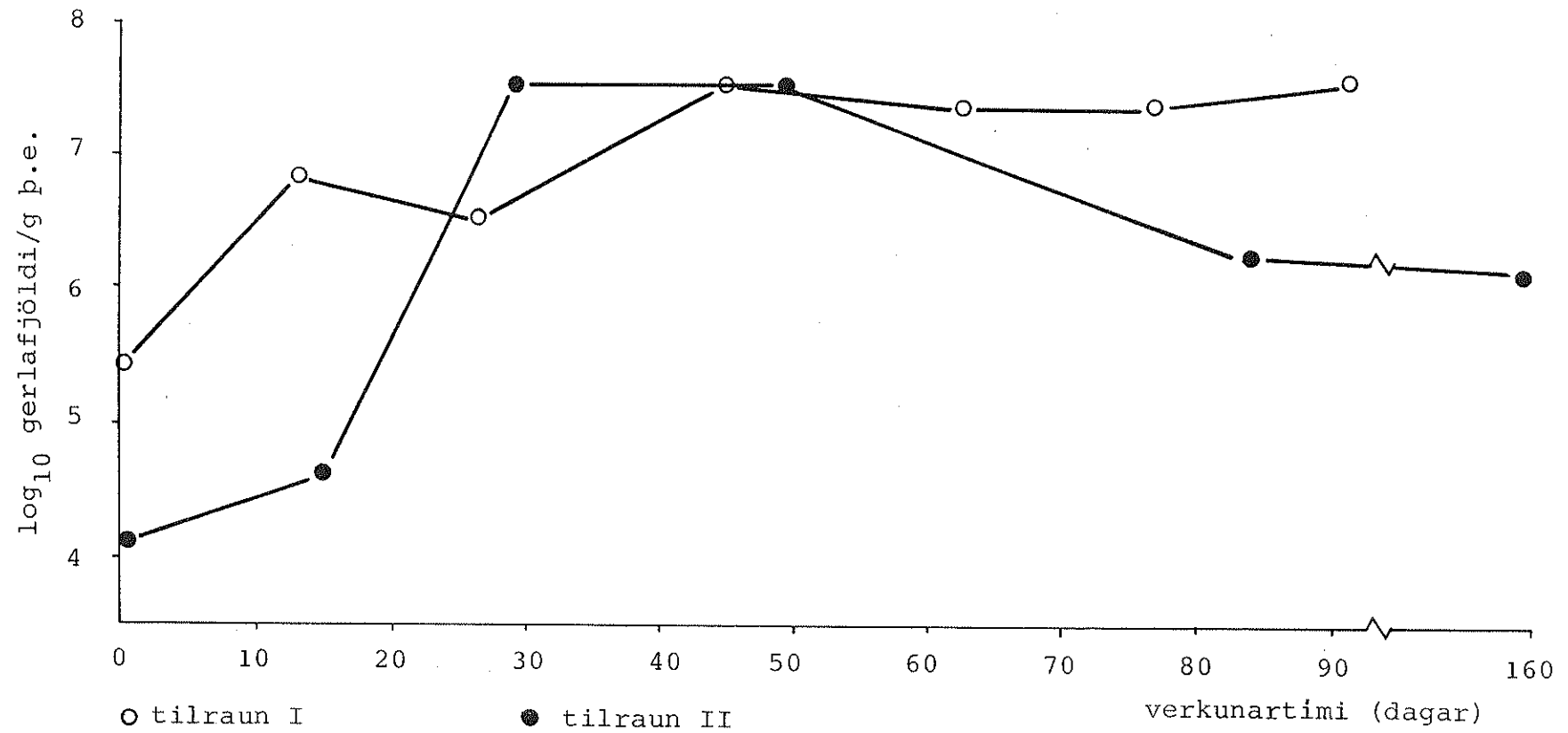
MYND 3. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ. VATNSINNIHALD.



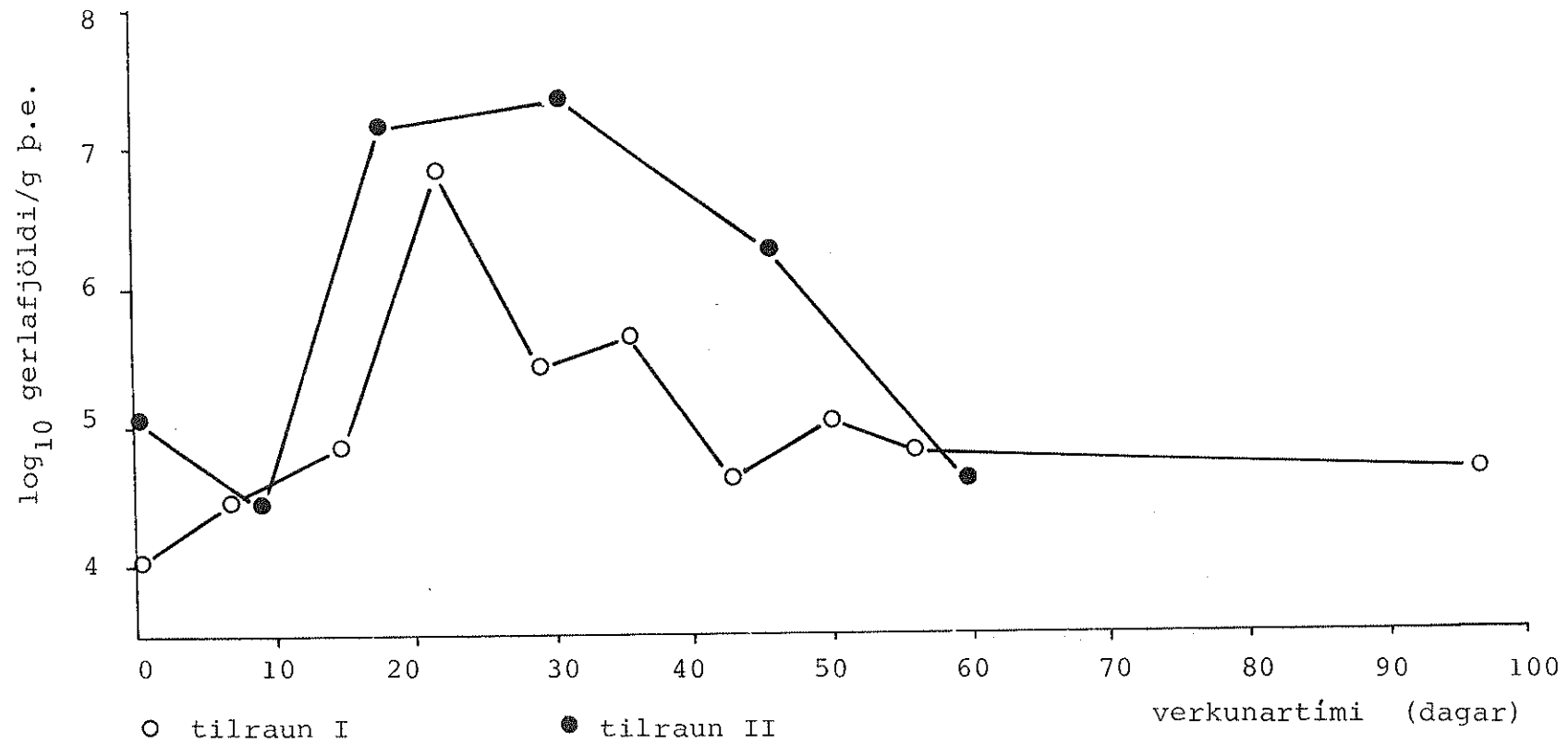
MYND 4. SAMBAND VATNSVIRKNI OG VATNSINNIHALDS  
VIÐ SKREIÐARVERKUN



MYND 5. BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ, GERLAFJÖLDI.



MYND 6. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ, GERLAFJÖLDI.



TAFLA 4.

BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ, TILRAUN I. GERLAGREINING.

‰ SKIPTING ÆTTKVISLA/FLOKKA.

SÝNI	DAGAR	FJÖLDI SÝNA	MORAXELLA	ACINETOBACTER	LACTOBACILLUS	STAPHYLOCOCCUS	PSEUDOMONAS I-II	PSEUDOMONAS III-IV	MICROCOCCUS	FLAVOBACTERIUM/ CYTOPHAGA	ENTEROBACTERIACEAE	VIBRIO/AN AEROMONAS	CORYNEFORM	MYGLUSVEPPIR	DAUÐIR	FJÖLDI STOFNA
I	0	5	73	10						7		3			7	30
II	13	5	23	17	23	3	7				20		7			30
III	27	5	13	13	50						20				4	30
IV	45	5	7	10	37	3			3	7					33	30
V	63	5	23		47			3					17		10	30
VI	77	5	3	7	77		3	3							7	30
VII	91	5	13	3	47					10			13	3	11	30

TAFLA 5.

## BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ. TILRAUN II. GERLAGREINING.

## § SKIPTING ÆTTKVISLA/FLOKKA.

SÝNI	DAGAR	FJÖLDI SÝNA	MORAXELLA	ACINETOBACTER	LACTOBACILLUS	STAPHYLOCOCCUS	PSEUDOMONAS III-IV	FLAVOBACTERIUM/ CYTOPHAGA	ENTEROBACTERIACEAE	VIBRIO/AN AEROMONAS	CORYNEFORM	BACILLUS	DAUÐIR	FJÖLDI STOFNA
I	0	5	53	7			7	30				3		30
II	15	5	83	4							13			30
III	29	5	23		50			3	10	3	7		4	30
IV	48	5			57						33		10	30
V	84	5	8		37	8			4		21	4	18	24
VI	160	5		6	72				6				16	18

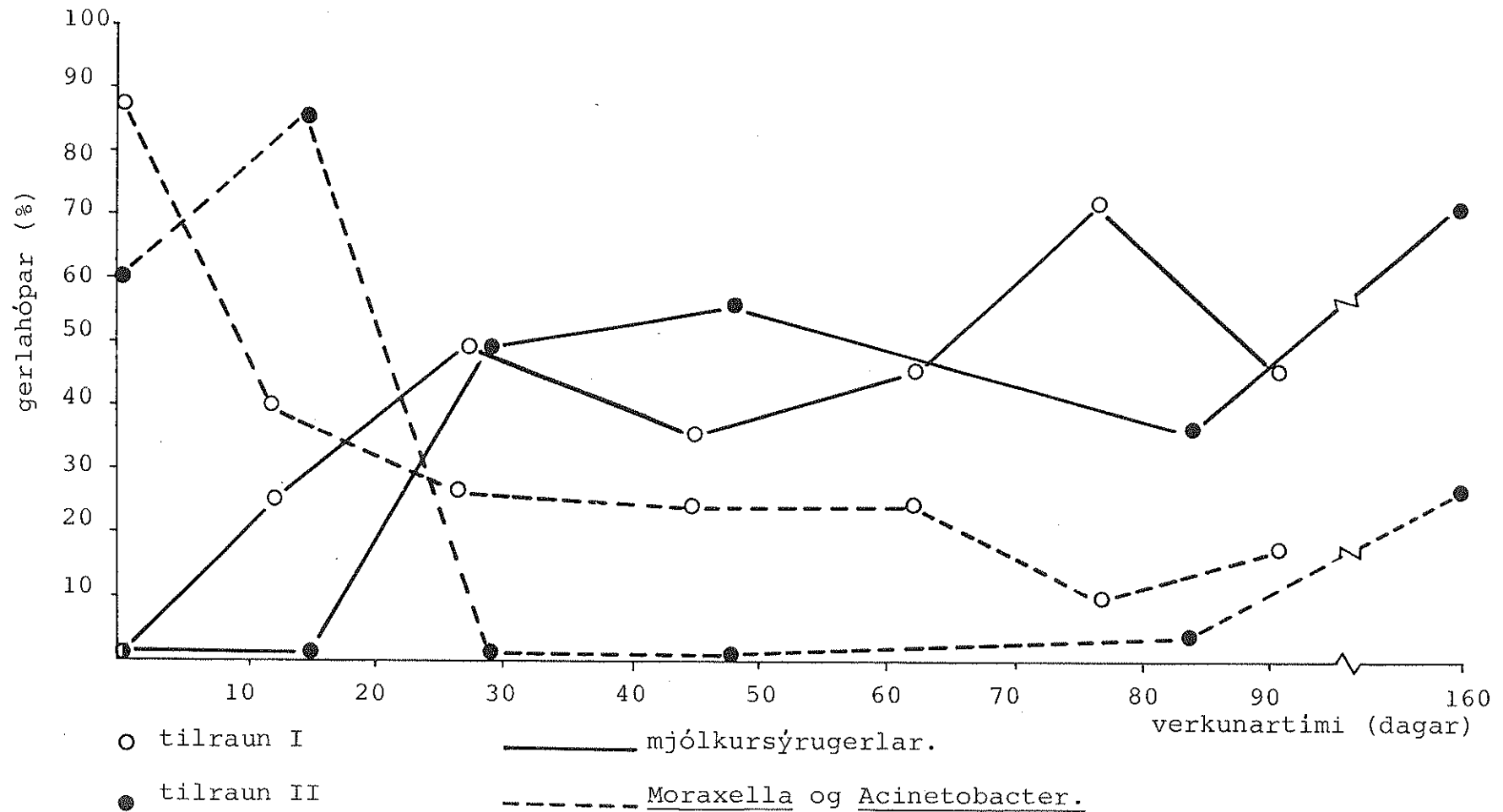
TAFLA 6.

NÝR ÞORSKUR VERKAÐUR I SKREIÐ. TILRAUN II. GERLAGREINING.

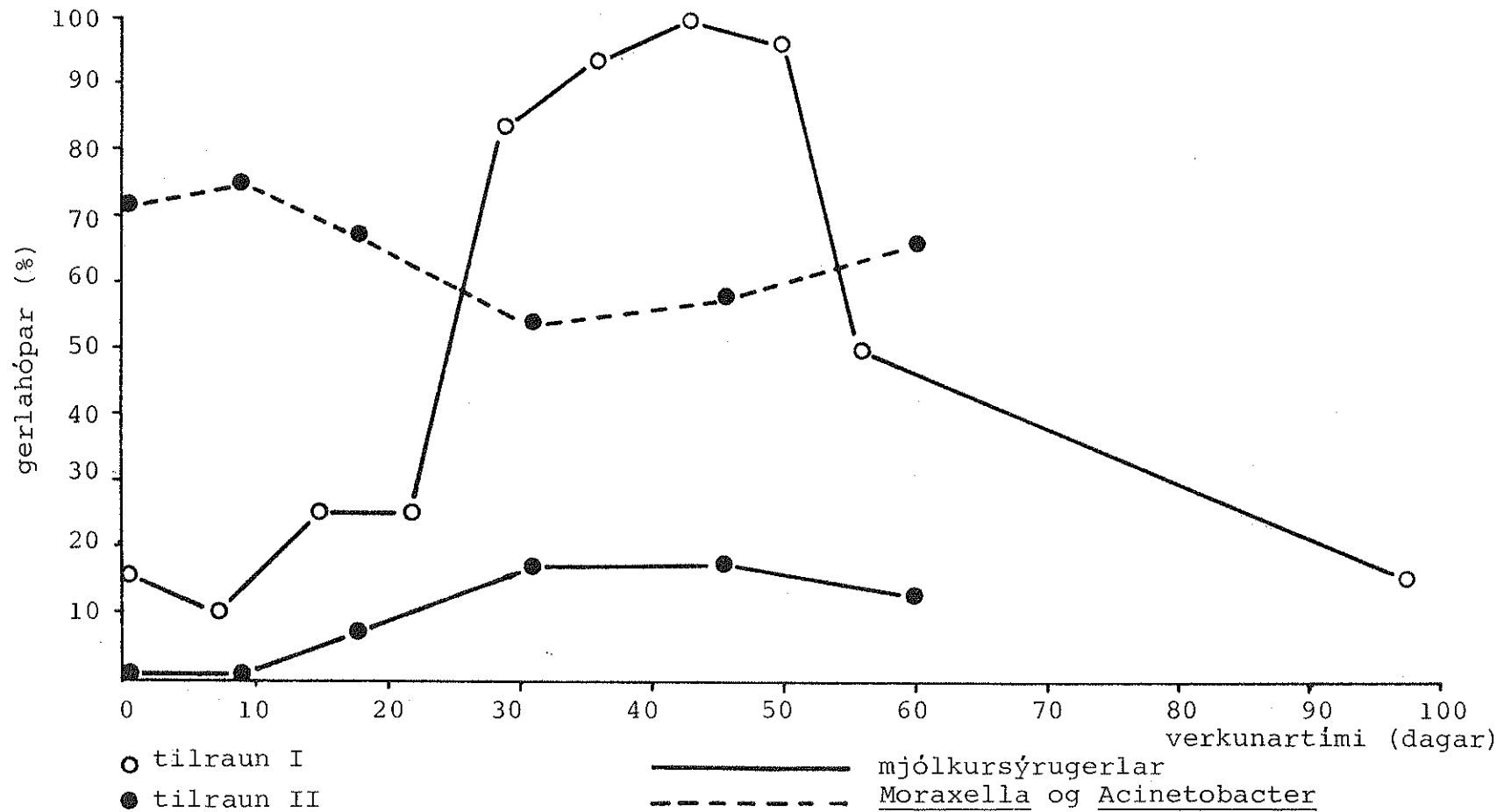
‡ SKIPTING ÆTTKVISLA/FLOKKA.

SÝNI	DAGAR	FJÖLDI SÝNA	MORAXELLA	LACTOBACILLUS	ACINETOBACTER	STAPHYLOCOCCUS	CORYNEFORM	FLAVOBACTERIUM/ CYTOPHAGA	BACILLUS	PSEUDOMONAS	ENTEROBACTERIACEAE	MICROCOCCLUS	MYGLUSVEPPIR	DAUÐIR	FJÖLDI STOFNA
I	0	3	71			4	8	4						13	24
II	9	3	75				4							21	24
III	18	3	63	8	4		21			4					24
IV	31	3	50	17	4	8	17				4				24
V	46	3	58	17			21	4							24
VI	60	3	63	13			8		8				4	4	24

MYND 7. BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ. HLUTDEILD HELSTU GERLAHÓPA.



MYND 8. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ. HLOTDEILD HELSTU GERLAHÓPA.



TAFLA 7.

## BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ. TILRAUN I, ÖRVERUGRÓÐUR.

## ÖRVERUGRÓÐUR PR. GR. ÞURREFNI.

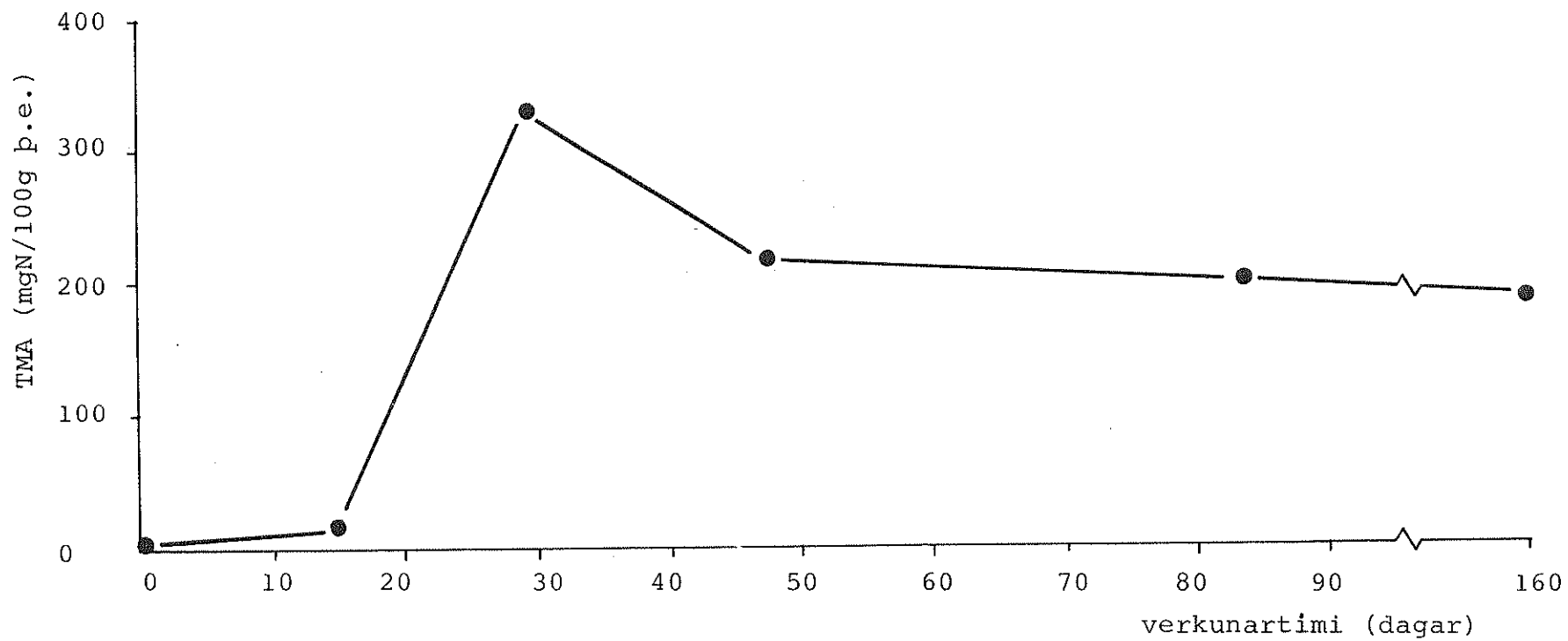
SÝNI	DAGAR	FJÖLDI SÝNA	kóligerlar (MPN)	faecal kóligerlar (MPN)	<u>Bacillus</u> gró	<u>Clostridium</u> gró(SO <sub>3</sub> red) (MPN)	Ger-og myglusveppir
I	0	5	0.98	0	0	20.5	861
II	13	5	231.5	0	23	0	73
III	27	5	81.8	0	8	1.9	32
IV	45	5	296.5	0	292	27.4	28
V	63	5	10.8	0	562	20.6	-
VI	77	5	96.4	0	39	7.6	7
VII	91	5	8.9	0	48	6.0	21

TAFLA 8.

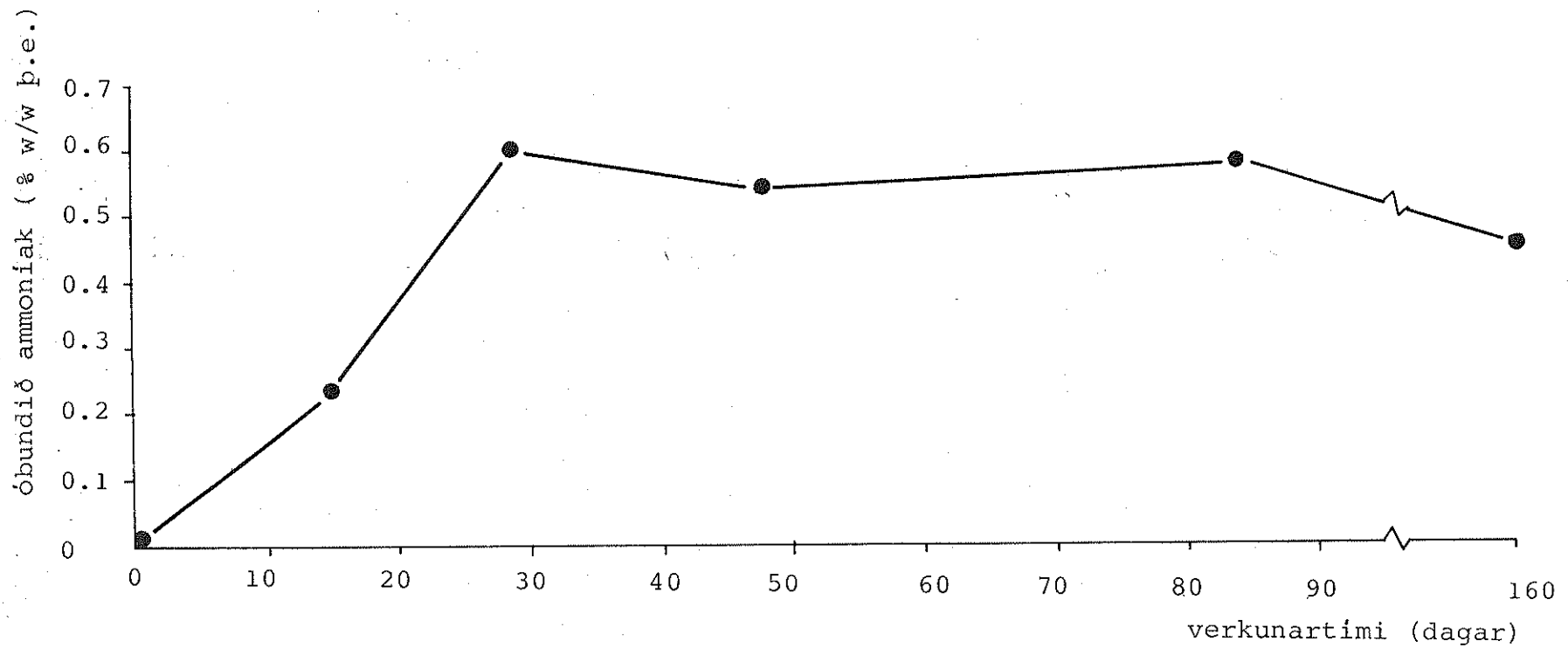
## BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ. TILRAUN II. ÖRVERUGRÓÐUR.

SÝNI	DAGAR	FJÖLDI SÝNA	ÖRVERUGRÓÐUR PR. GR. ÞURREFNI.				
			kólígerlar (MPN)	faecal kólígerlar (MPN)	<u>Bacillus</u> gró	<u>Clostridium</u> gró(SO <sub>3</sub> red) (MPN)	Ger-og myglusveppir
I	0	5	1.36	0	11	0	0
II	15	5	0	0	32	0	37
III	29	5	87.7	0	28	0	2245
IV	48	5	0	0	222	0	5127
V	84	5	0	0	122	0	116
VI	160	3	0	0	0	0	89

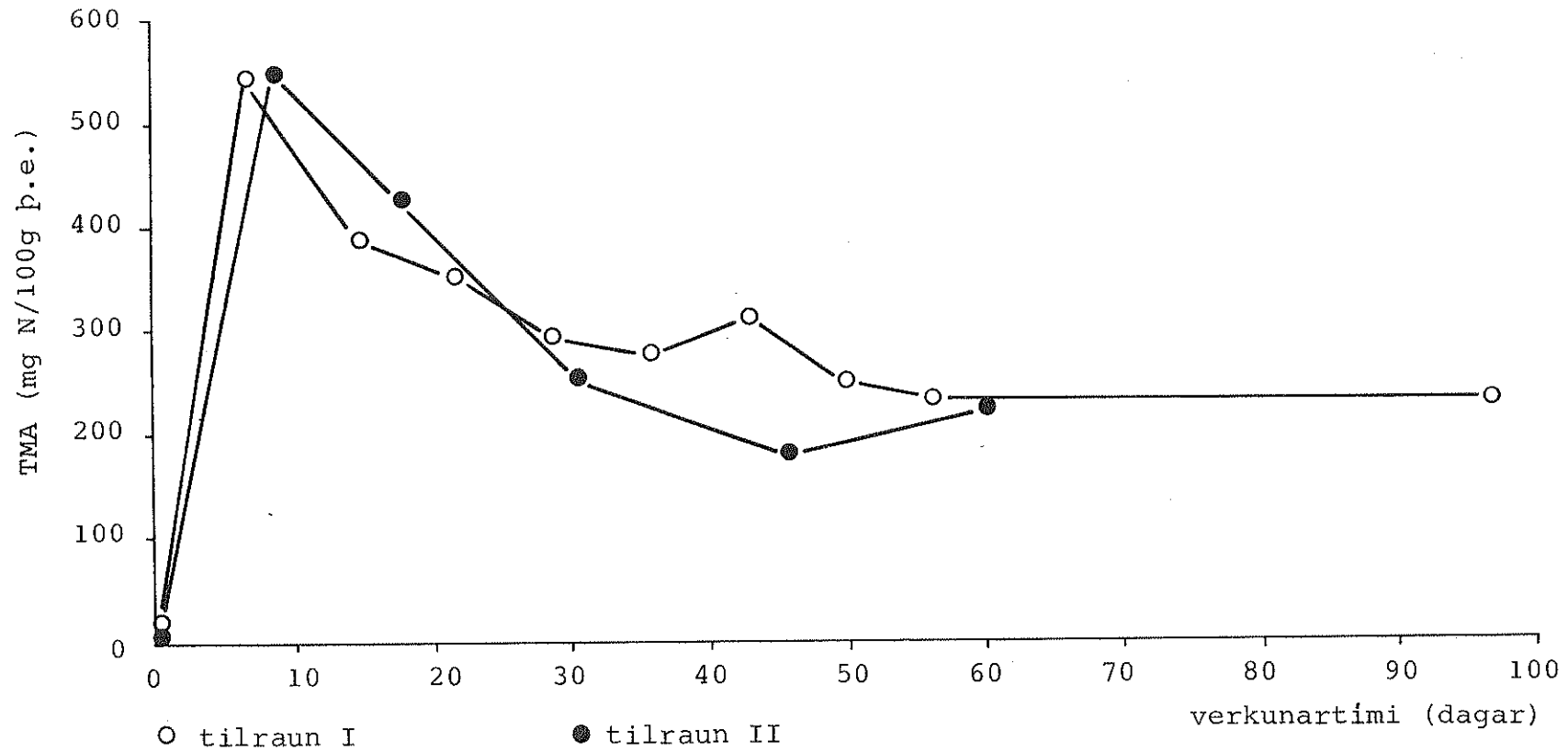
MYND 9. BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ. (TILRAUN II), TRIMETHYLAMINE.



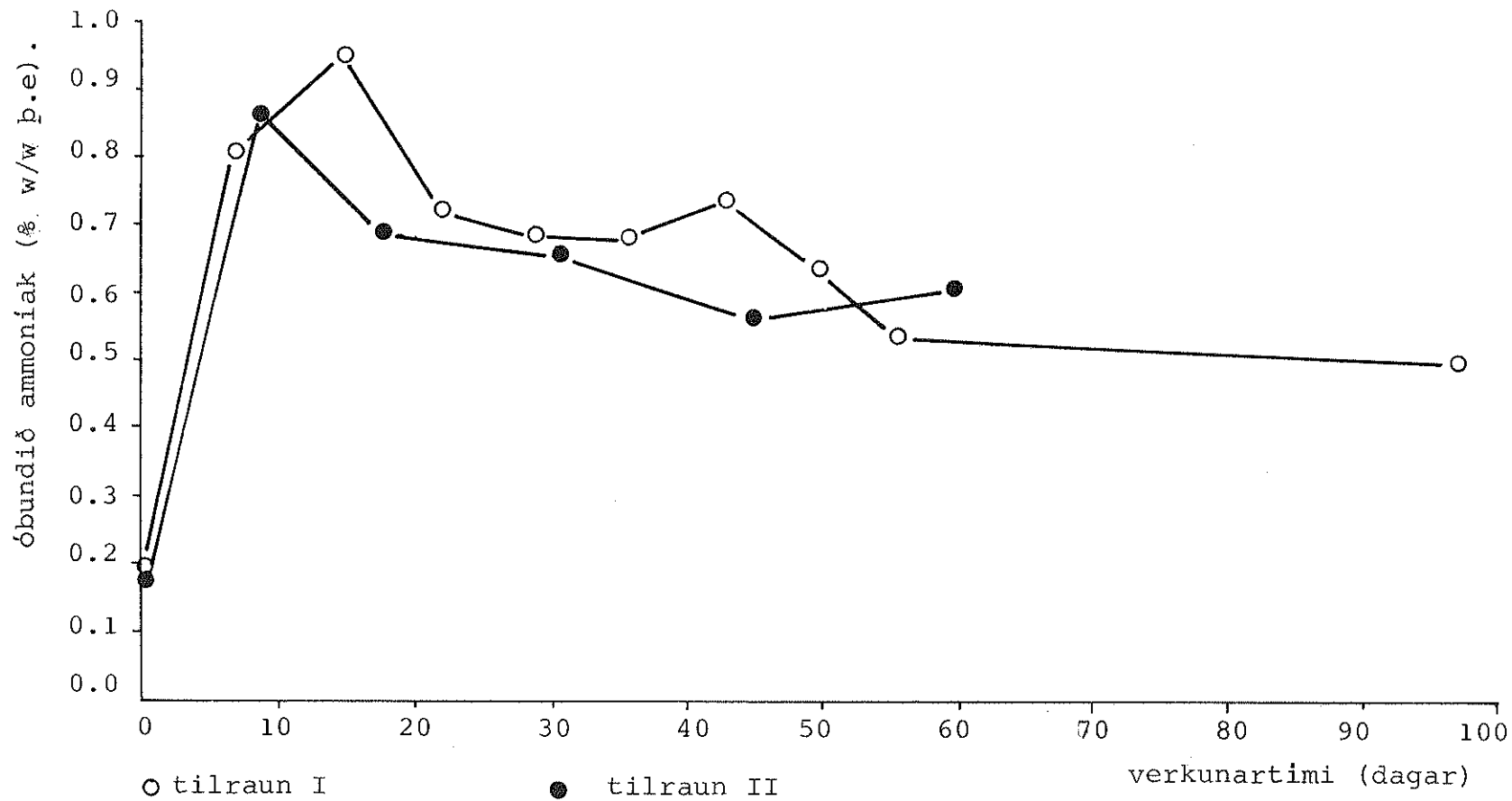
MYND 10. BLÁLANGA VERKUÐ Í SKREIÐ, (TILRAUN II), ÓBUNDIÐ AMMÓNÍAK.



MYND 11. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ. TRIMETHYLAMINE.



MYND 12. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ, ÓBUNDIÐ AMMÓNÍAK.



### 3.4. VERKUNARTILRAUNIR. GAMALT HRÁEFNI

Á mynd 13 er sýnt vatnsinnihald í gömlu og nýju hráefni, sem er verkað í skreið. Eins og myndin sýnir, bendir ekkert til þess að ástand hráefnisins hafi áhrif á þurrk-tímann.

Gerlatalningar er að finna á mynd 14. Greinilegt er, að þegar gamla hráefnið var hengt upp, þá hafði gerlagróðurinn í holdinu þegar náð hámarki og lækkað aftur. Nýi fiskurinn sýndi hins vegar eðlilega vaxtarkúrfu. Niðurstöður greiningar á gerlagróðrinum eru sýndar í töflu 6 og 9.

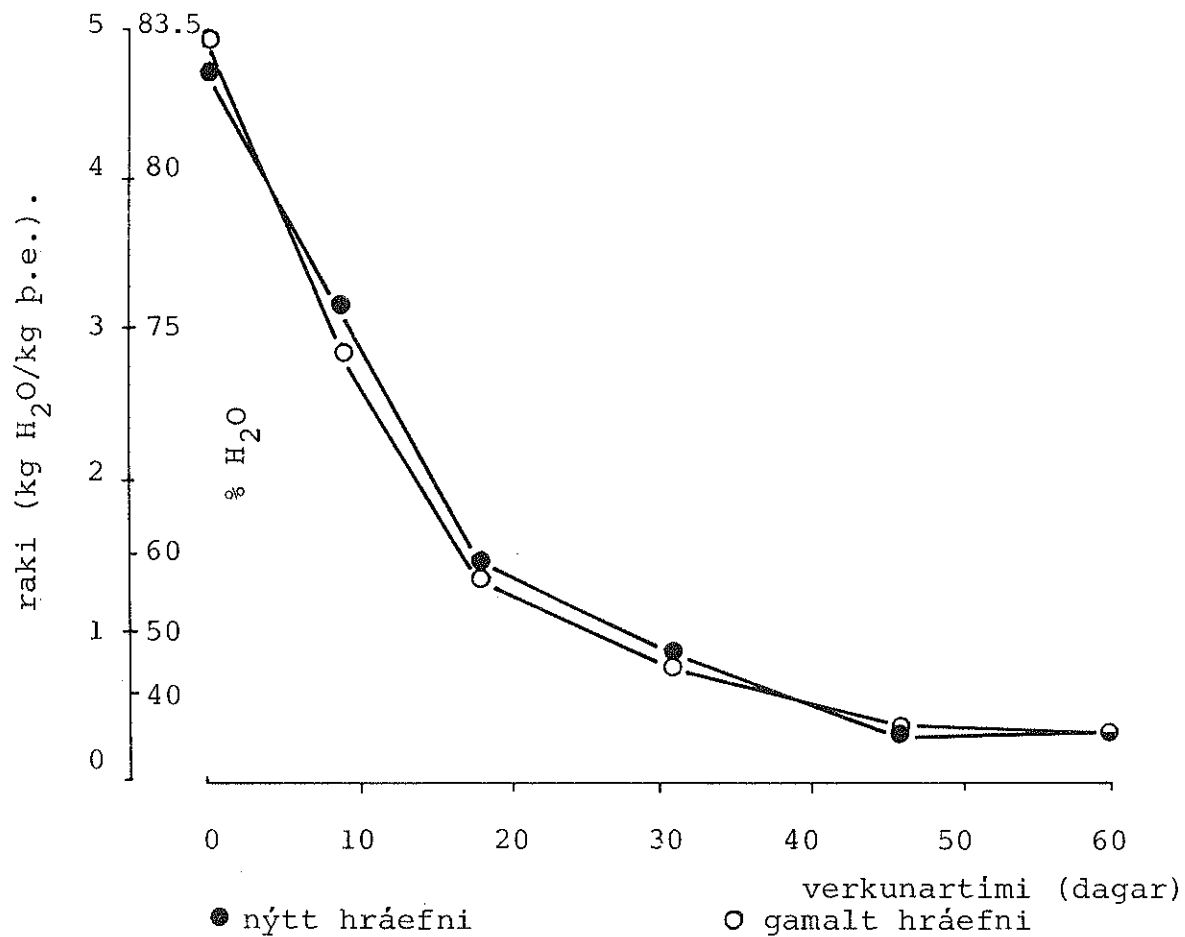
Það kom nokkuð á óvart, að munurinn á samsetningu flór-unnar í nýju og gömlu hráefni skyldi ekki vera meiri í byrjun tilraunarinnar, en Moraxella gerlar voru ríkj-andi í báðum tilfellum.

Á mynd 15 er sýnt á línuriti hverjar breytingar urðu á helstu gerlahópunum við verkunina, sbr. töflu 6 og 9. Eins og sjá má á myndinni, kom mun meira af mjólkursýrugerlum upp í gamla hráefninu en því nýja, og varð mest 75% af gerlagróðrinum eftir um 30 daga verkun.

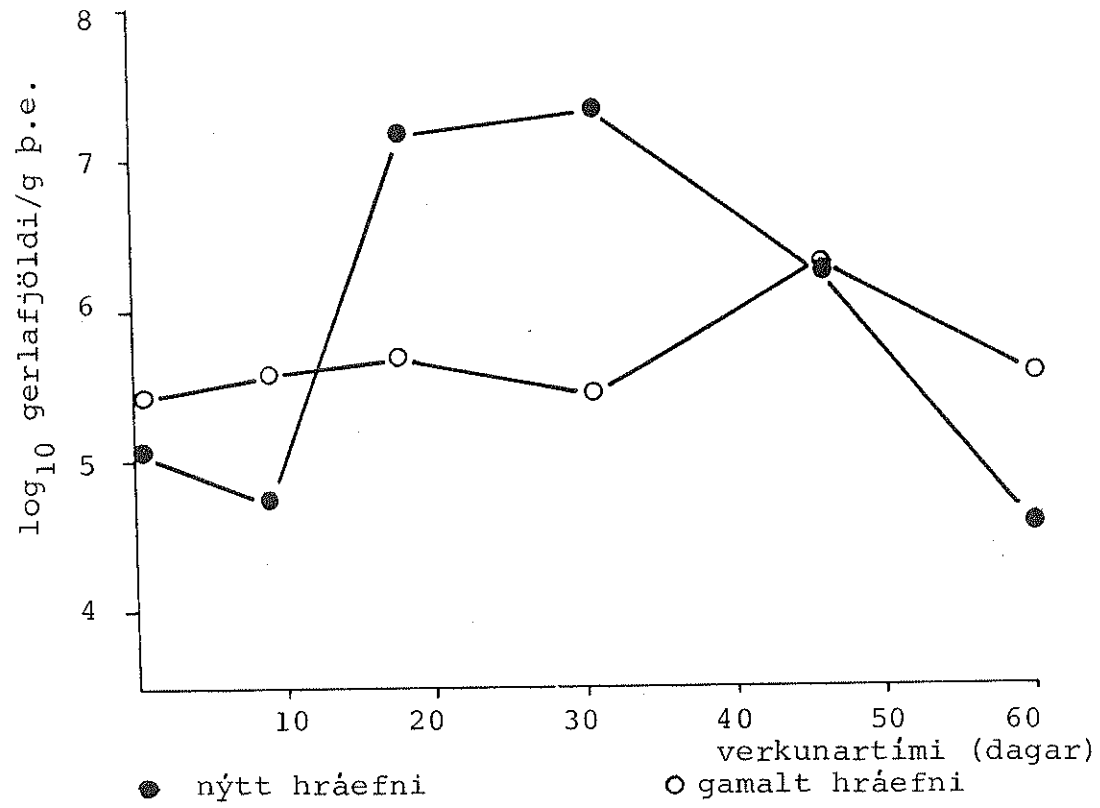
Í þessari seinustu tilraun voru gerðar talningar á  $H_2S$  myndandi gerlum og eru þær niðurstöður sýndar á mynd 15. Fjöldi  $H_2S$  myndandi gerla virðist í réttu hlutfalli við heildargerlafjöldann, en u.þ.b. 10 sinnum lægri.

Magn TMA og óbundins ammoníaks er sýnt á myndum 17 og 18. Í gamla hráefninu voru þessi efni í miklum mæli í byrjun, eins og vænta mátti. Að verkun lokinni var hins vegar nánast enginn munur á magni þessara efna í skreiðinni.

MYND 13. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ (TILRAUN II)  
SAMANBURÐUR Á NÝJU OG GÖMLU HRÁEFNI. VATNSINNIHALD.



MYND 14. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ (TILRAUN II)  
SAMANBURÐUR Á NÝJU OG GÖMLU HRÁEFNI, GERLAFJÖLDI

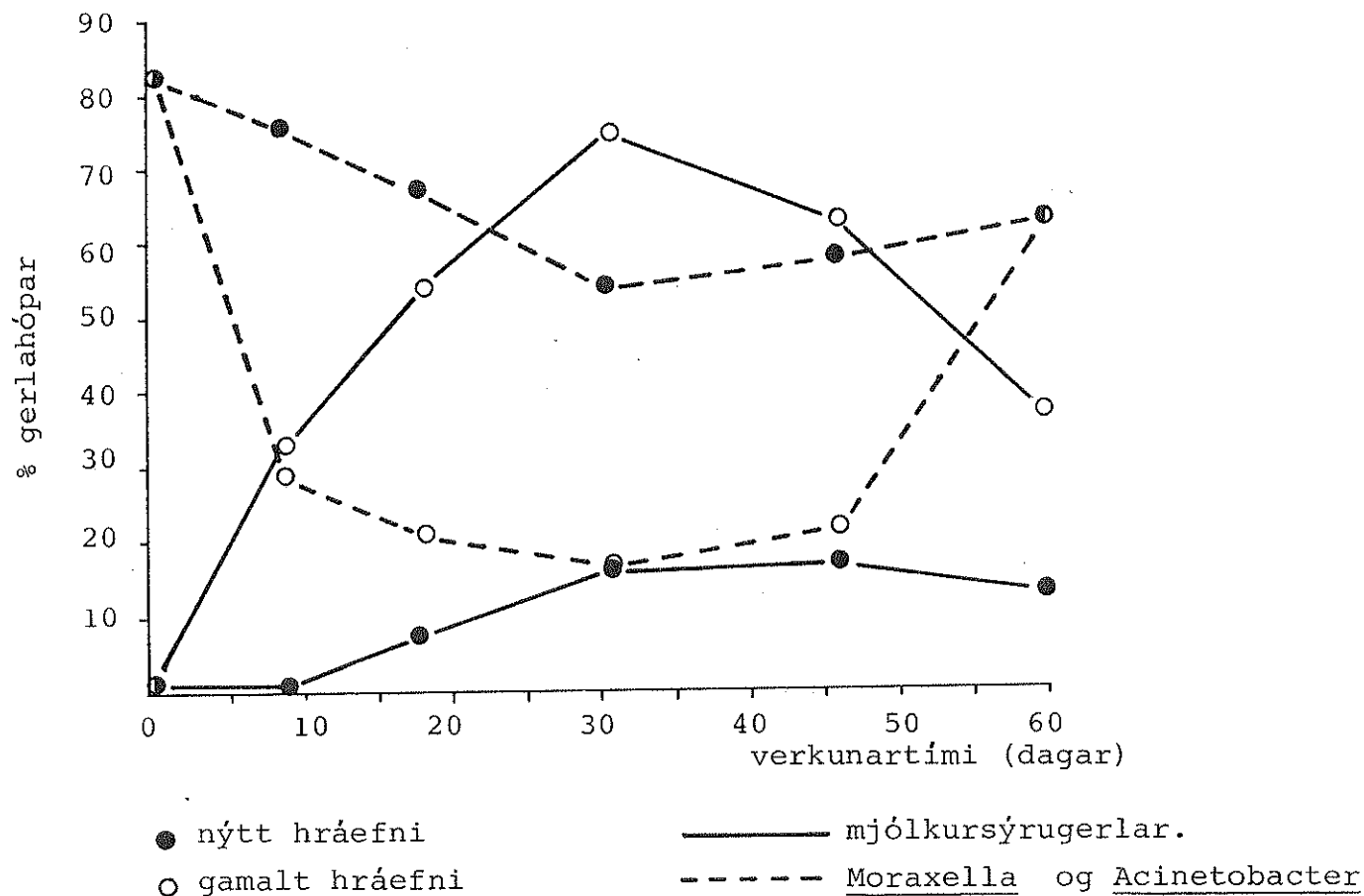


TAFLA 9.

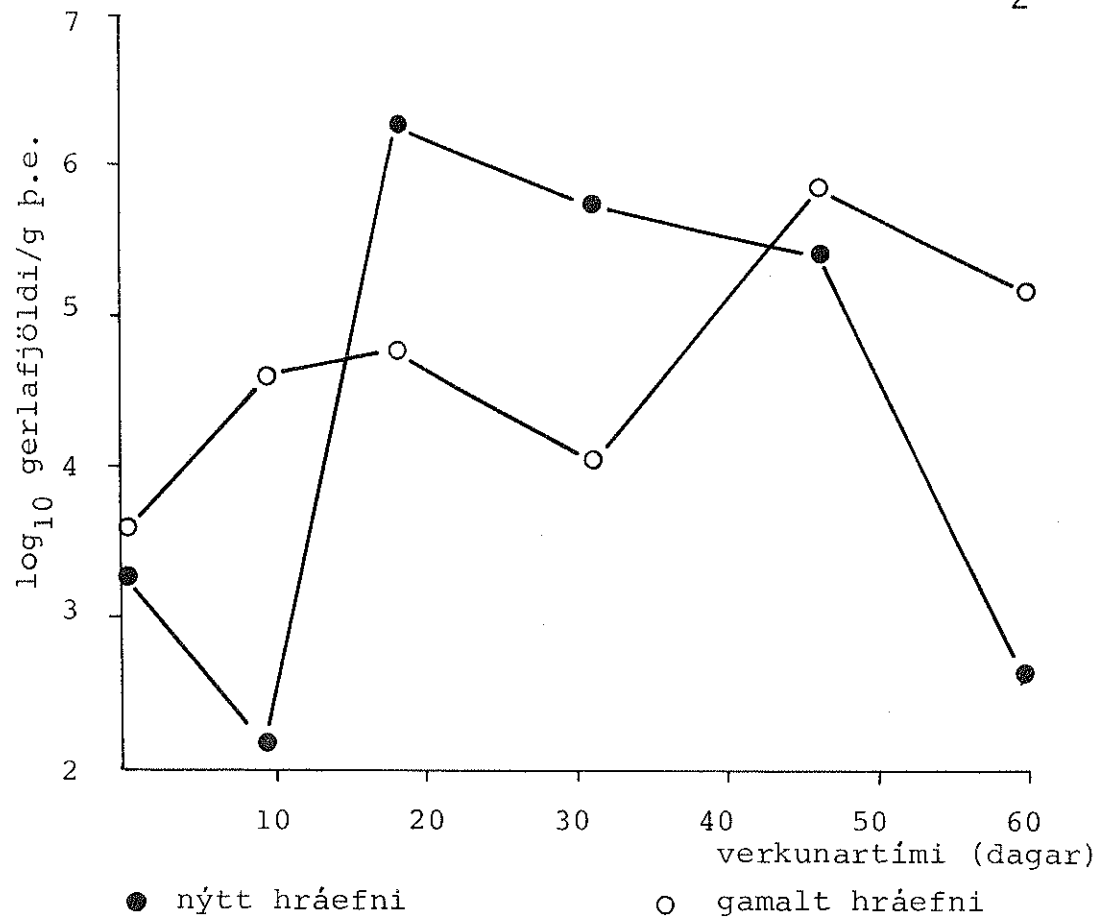
GAMALL ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ. TILRAUN II. GERLAGREINING.

SÝNI	DAGAR	FJÖLDI SÝNA	% SKIPTING ÆTTKVÍSLA/FLOKKA.										FJÖLDI STOFNA.	
			MORAXELLA	LACTOBACILLUS	CORYNEFORM	STAPHYLOCOCCUS	PSEUDOMONAS	ACINETOBACTER	FLAVOBACTERIUM/ CYTOPHAGA	ENTEROBACTERIACEAE	BACILLUS	MICROCOCCUS		DAUÐIR
I	0	3	83		8	4						5		24
II	9	3	29	33			13		4	4	8	9		24
III	18	3	17	54	17			4	8					24
IV	31	3	17	75					8					24
V	46	3	21	63	8						4	4		24
VI	60	3	63	37										24

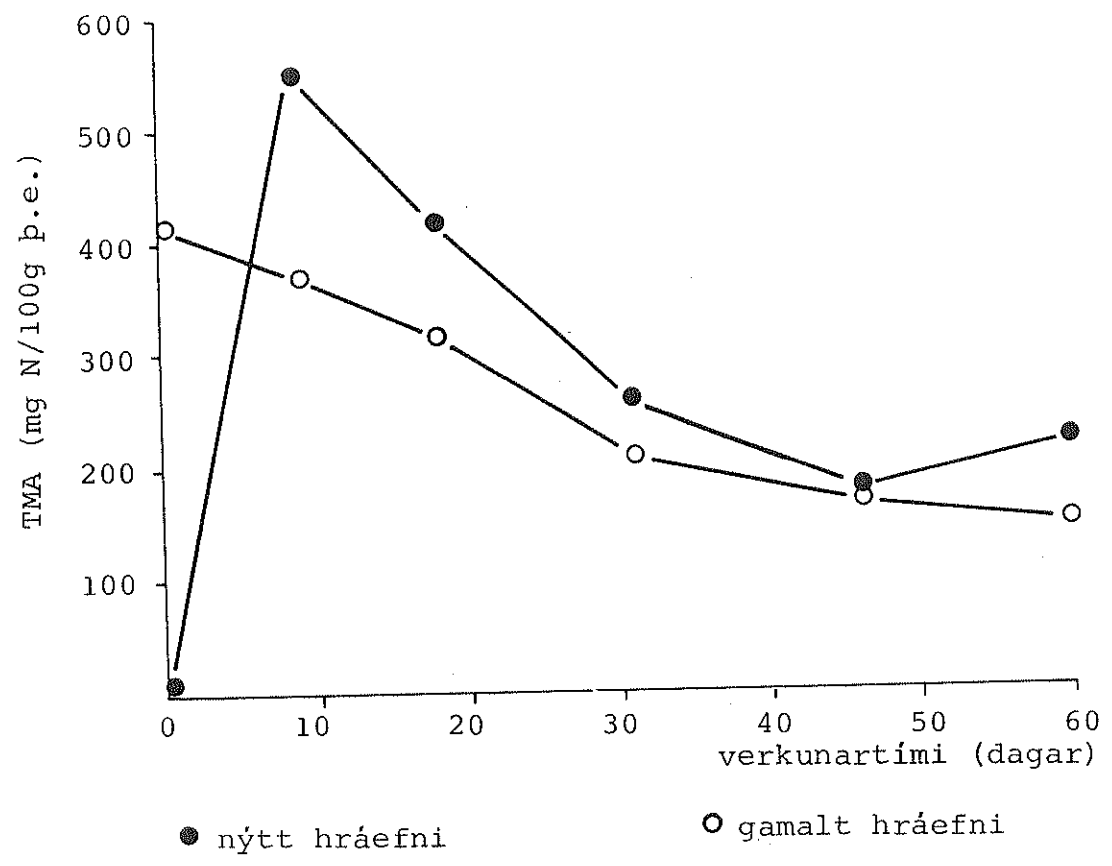
MYND 15. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ (TILRAUN II)  
SAMANBURÐUR Á NÝJU OG GÖMLU HRÁEFNI, HLUTDEILD HELSTU GERLAHÓPA



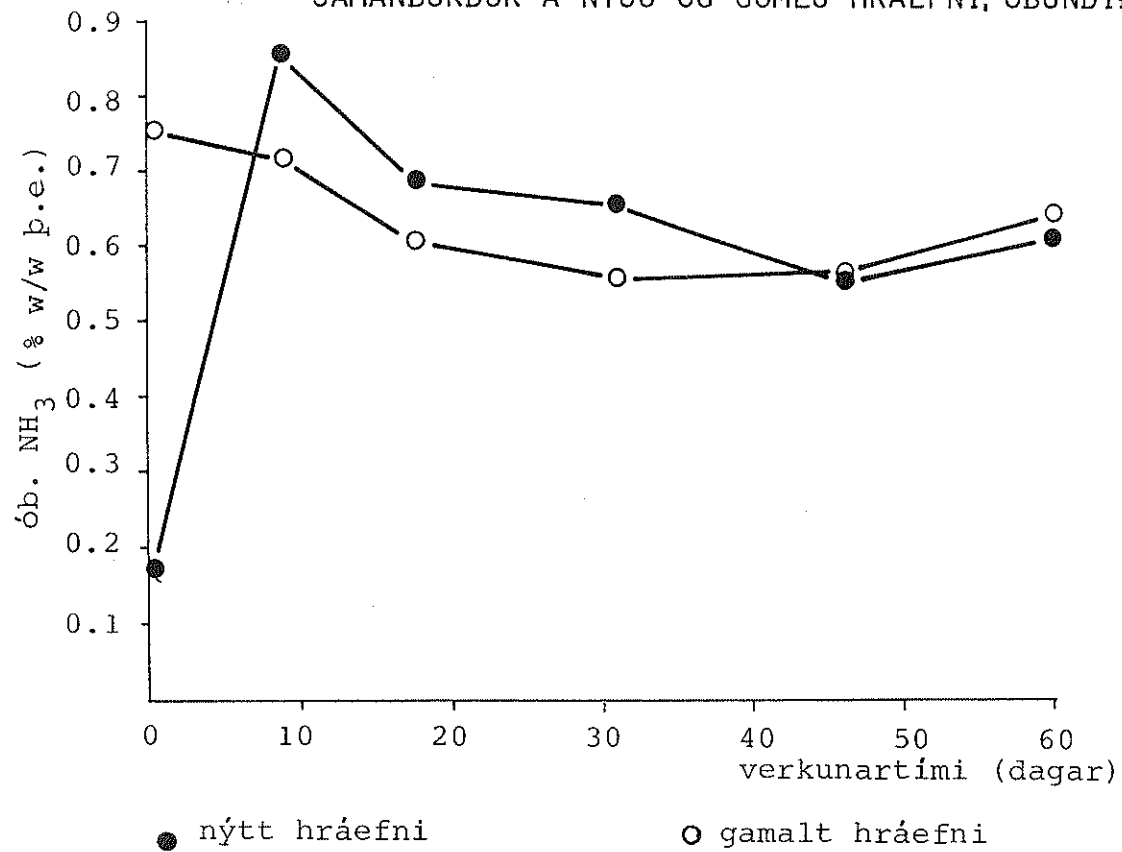
MYND 16. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ (TILRAUN II)  
SAMANBURÐUR Á NÝJU OG GÖMLU HRÁEFNI, H<sub>2</sub>S MYNDANDI GERLAR



MYND 17. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ (TILRAUN II)  
SAMANBURÐUR Á NÝJU OG GÖMLU HRAEFNI. TRIMETHYLAMINE



MYND 18. ÞORSKUR VERKAÐUR Í SKREIÐ (TILRAUN II)  
SAMANBURÐUR Á NYJU OG GÖMLU HRAEFNI, ÓBUNDIÐ AMMONÍAK



### 3.5. GREINING MJÓLKURSÝRUGERLA

Í töflu 10 er gerð grein fyrir svörunum þeirra 23 stofna af Gram+ catalase - stofnum sem einangraðir höfðu verið, bæði úr fullverkaðri skreið og fiski, sem notaður var í verkunartilraunirnar.

Lögun þessara mjólkursýrugerla (Gram litun) var stuttir stafir, ca 0.6 x 1.2  $\mu\text{m}$  að stærð, en einn stofn sýndi allt að 2.3  $\mu\text{m}$  langar frumur. Þá reyndust þrír stofnar með allt að því stafkúlulögun.

Af töflu 10 sést, hve illa gekk að rækta stofnana í hinum ýmsu prófætum. Í raun voru það ekki nema 6 stofnar, auk viðmiðunarstofnanna, sem uxu í flestöllum ætunum.

Þó er ljóst, að allir stofnarnir gátu vaxið við 15°C, en ekki 45°C, sem er mjög mikilvægt greiningaratriði. Þá tókst að prófa flesta stofnana með tilliti til CO<sub>2</sub> myndunar, en með því móti er skorið úr um, með hvaða hætti glúkósi er gerjaður. Þannig reyndust allir þessir stofnar vera homofermentatífir, þ.e. mynduðu ekki CO<sub>2</sub> við gerjun á glúkósa.

Sé nánar litið á töfluna, sést að þeir stofnar sem á annað borð vaxa í prófætunum, gefa nánast sömu svaranir og norski L. plantarum stofninn, og verður því að álíta að þeir séu sömu tegundar.

ATCC 14917 stofninn er einkum frábrugðinn í því að mynda bæði D og L mjólkursýru, og í því að geta ekki brotið niður aminosýruna arginin.

STOFNAR		SVARANIR																			
		SÝRA FRÁ																			
		vöxtur við 15°C	vöxtur við 45°C	form mjólkursýru myndað	amygdalin	arabínósi	cellobíósi	frúktósi	galaktósi	glúkósi	CO <sub>2</sub> frá glúkósa	laktósi	maltósi	mannítól	melibíósi	raffinósi	rhamnósi	sorbitól	xylosi	aesculin-klofnun	NH <sub>3</sub> frá argíníni
FULLÞURRUKUÐ SKREIÐ	L.pl 1)	+	-	L+D	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	-
	L.pl 2)	+	-	F	+	(+)	+	+	+	+	-	+	+	+		+	+	(+)	(+)	-	+
LANGA I	1	+	-	F	0	0	0	0	0	+	-	0	0	0		0	0	0	0	-	0
	2	+	-		0	0	0	+	0	+	-	+	(+)	0		0	0	0	0	-	0
	3	+	-		+	-	+	0	0	+	-	+	+	0	(+)	-	0	0	+	-	0
	4	+	-		0	0	0	0	0	(+)	-	0	(+)	0	0	0	0	0	0	-	0
	5	+	-		0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	+	-		+	(+)	+	+	+	+	-	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	-	+
	7	+	-		0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	+	-	F	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	(+)	+	(+)	+	-	+

TAFLA 10. FRH.

GREINING Á MJÓLKURSÝRUGERLUM ÚR SKREIÐ.

STOFNAR		SVARANIR																		
		vöxtur við 15°C		vöxtur við 45°C		form mjólkursýru myndað	SÝRA FRÁ													NH <sub>3</sub> frá argíníni
		+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LANGA I	9	+	-			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	+	-			0	0	0	0	0	+	-	0	+	0	0	0	0	0	0
	11	+	-			0	0	0	0	0	(+)	-	0	(+)	0	0	0	0	0	0
	12	+	-	I		0	0	0	(+)	(+)	(+)		-	0	0	0	0	0	0	0
	13	+	-			0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0	0
	14	+	-			0	0	+	0	0	+	-	0	+	0	0	0	0	0	0
LANGA II	15	+	-			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	16	+	-			0	0	+	0	+	-	0	+	0	0	0	0	(+)	-	
	17	+	-			+	+	+	+	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+	-	
	18	+	-			+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	0	0	(+)	

SVARANIR

STOFNAR	vöxtur við 15°C	vöxtur við 45°C	form mjólkursýru myndað	SÝRA FRÁ																	
				amygdalin	arabínósi	cellobíósi	frúktósi	galaktósi	glúkósi	CO <sub>2</sub> frá glúkósa	laktósi	maltósi	mannítól	melibíósi	raffinósi	rhamnósi	sorbitól	xylosi	aesculin-klofnun	NH <sub>3</sub> frá argíníni	
LANGA II	19	+	-		+	+	(+)	+	+	+	-	(+)	+	+		(+)	+	(+)	+	-	+
	20	+	-	1	+	0	+	+	+	+	-	(+)	+	+		(+)	(+)	+	+	-	+
	21	+	-		+	+	+	+	+	+	-	(+)	+	+		(+)	+	+	+	-	+
	22	+	-		0	+	+	0	0	+	-	(+)	+	0		0	0	0	0	-	0
	23	+	-		0	0	0	0	0	0		0	0	0		0	0	0	0	0	0

(+) veik jákvæð svörun.

0 enginn vöxtur.

1) Lactobacillus plantarum ATCC 14917

2) Lactobacillus plantarum UTC 101-11 (saiihe) frá Universitetet í Tromsø.

#### 4. UMRÆÐA

Tegundasamsetning gerlagróðursins í fullverkaðri skreið reyndist mjög svipuð og gerist fyrir blautfisk, þ.e. yfirgnæfandi hlutur Moraxella gerla. Það sem einkum virtist frábrugðið, var herra hlutfall af ger- og myglugróðri, Gram prósitívra kúlugerla, og síðast en ekki sist nærvera mjólkursýrugerla.

Hið háa vatnsinnihald í fullverkuðu skreiðinni (tafla 2) vakti athygli, en æskilegast er talið að það liggi á bilinu 17-18% (Pétursson, 1969).

Í verkunartilrauninni kom fram í stórum dráttum það mynstur á gerlavextinum sem búist hafði verið við, þ.e. að gróðurinn næði hámarki á ákveðnu stigi verkunarinnar en félli síðan. Hraði gerlavaxtarins var greinilega háður hitastigi á verkunartímanum, en ekki varð séð að frost hefði nein afgerandi áhrif á gróðurinn.

Sé athugað hvenær gerlunum hættir að fjölga í fiskholdinu (skv. myndum 5 og 6), kemur í ljós að það er við  $aw$  0.96 - 0.98, sbr. mynd 4. Ljóst er, að vatnsvirknislækkunin er það lítil, að hún ein og sér hamlar gerlavextinum ekki nema að litlu leyti. Hafa verður í huga, að gerlatalningin mælir einungis fjölda lifandi gerla. Haldist því hraði tímgunar og dauða í hendur, lítur svo út sem enginn vöxtur eigi sér stað. Almennt séð víkja Gram neikvæðar tegundir (t.d. Moraxella og Acinetobacter) fyrir Gram jákvæðum tegundum (t.d. mjólkursýrugerlum), við vatnsvirkni 0.93 - 0.98, en því fer fjarri að gerlavöxtur stöðvist við svo háa vatnsvirkni (Christian, 1980). Því verður að álíta, að Gram+ tegundirnar a.m.k., haldi áfram að starfa eftir að hámarksgerlafjölda er náð skv. myndum 5 og 6. Gera má ráð fyrir að gerlar geti vaxið í fiskholdi allt niður í  $aw$  0.85 (Christian, 1980), en það myndi svara til ca 30% vatnsinnihalds, sbr. mynd 4.

Það kom skýrt fram, að gerladauðinn eftir að hámarksfjölda var náð, gekk mjög mishratt fyrir sig í tilraununum fjórum og skýrir það aftur hinar mjög svo breytilegu gerlatalningar, sem fengust úr fullverkaðri skreið (talfa 2).

Hinar reglubundnu breytingar á samsetningu gerlagróðursins yfir verkunartímann (myndir 7 og 8) komu á óvart. Það sýndi sig, að mjólkursýrugerlarnir, sem komu fram í einstaka sýni af fullþurrkaðri skreið, birtust mjög sterkt á vissum hluta verkunartímans í öllum tilraununum. Í einni tilrauninni voru mjólkursýrugerlarnir allsráðandi um miðbik verkunarinnar en fækkaði síðan niður í 15% af flórunni í lokin (mynd 8). Þar sem þessir mjólkursýrugerlar komu fram í öllum verkunartilraununum, og tveim fisktegundum sem veiddar voru á mismunandi árstíma, þá verður að telja líklegt, að þessir gerlar heyri hinni náttúrulegu flóru fisksins til.

Til skamms tíma hafa mjólkursýrugerlar ekki verið taldir tilheyra sjávarumhverfi eða sjávarfiskum, þótt sú skoðun sé nú óðum að breytast. Athugun Knøchel (1981) sýndi t.d. að bátafiskur, geymdur ísaður í nokkra daga, hafði að geyma 40-2700 mjólkursýrugerla/g af óroðflettum flökum og 40-2000/g af þarmainnihaldi. Þessir gerlar eru þó aðeins lítið brot af heildargerlafjöldanum (líftala) í fiski. Ekki er að fullu ljóst, að hve miklu leyti þessir gerlar lifa á fiskinum í sjónum og að hve miklu leyti þeir berast á hann eftir veiði, t.d. af þilfari skipa, úr ís o.s.frv..

Nánari greining á þeim stofnum af mjólkursýrugerlum sem einangraðir voru, reyndist miklum erfiðleikum háð sökum þess hve margir þeirra uxu treglega í prófætum. Þeir sex stofnar sem uxu í flestöllum ætunum, reyndust hins vegar gefa nánast sömu svananir og L. plantarum (saith) stofn, sem fenginn var frá Háskólanum í Tromsø í Noregi.

Þessi stofn var upphaflega einangraður úr ufsagörn og hefur hann verið mikið rannsakaður þar í landi í sambandi við rotvörn á bræðslufiski með mjólkursýrugerlum (Schröder ofl. 1979). Leiddu þessar rannsóknir m.a. í ljós, að við vissar kringumstæður, getur þessi stofn af L. plantarum myndað efni, sem hamlar vexti rotnunargerla.

Þekktasta orkuöflunarleið mjólkursýrugerlana er gerjun á sykurtegundum, en þau eru í mjög litlum mæli í fiskholdi. Jónsson (1979) gerði sérstakar rannsóknir á því, með hvaða hætti norskir L. plantarum stofninn getur aflað sér orku í sykursnauðu fiskholdi. Sýndi hann fram á, að stofninn aflar sér orku til vaxtar og viðhalds með niðurbroti á aminosýrunni arginin.

Allir mjólkursýrugerlarnir sem einangruðust úr skreið, og gátu vaxið í prófætinu, höfðu hæfileikann til að brjóta niður arginin.

Samanburðarstofn af L. plantarum, sem upphaflega var einangraður úr súrkáli, gat ekki brotið niður arginin.

Ekki þarf að fjölyrða um hlutverk mjólkursýrugerla í matvælaíðnaði. Þekktastir eru þeir í sambandi við gerjun á mjólkurafurðum, t.d. ostum og súrmjólk. Einnig eru þeir notaðir við framleiðslu á súrkáli og ýmsum kjöt- og fiskafurðum. Mjólkursýrugerlum er t.d. bæt í sumar tegundir kjötpylsa í þeim tilgangi að þeir nái að vaxa og mynda bragðefni. Gerjaðar fiskafurðir eru einkum þekktar í löndum Asíu.

Auk myndunar bragðefna, eða ensíma sem valda bragðbreytingum, leiðir vöxtur mjólkursýrugerla í matvælum til þess að þau fá aukið geymsluþol (Schröder ofl. 1979).

Því er freistandi að álíta, að mjólkursýrugerlarnir hafi hlutverki að gegna við rotvörn skreiðar meðan á verkun stendur, en fáheyrt mun vera, að skreið eyðileggist

(úldni) við verkun (Pétursson, 1969).

Það sem einkum er talið standa klefapurrkun á fiski fyrir þrifum, er að skreiðin verður mjög bragðlítill. Klefapurrkun tekur mun skemmri tíma en útipurrkun. Skýringin á bragðleysinu kann að vera sú, að lágmarks gerjunartími sé nauðsynlegur fyrir bragðefnin að myndast, svipað og gerist með osta og önnur gerjuð matvæli.

VIÐAUKAR.

Öll æti sem hér eru uppgefin eru gerileydd í þrýstisjóðara v. 121°C í 15 mín. nema annað sé tekið fram.

1.

<u>Sýnatökudagur</u>	<u>Fjöldi sýna</u>	<u>Tökustaður.</u>
13. júní	4	Langeyri
20. júní	5	Langeyri
27. júní	5	Langeyri
30. júní	4	Langeyri
11. júlí	10	Langeyri
25. júlí	4	Langeyri
13. ágúst	14	Kirkjusandur
19. ágúst	4	Kirkjusandur
21. ágúst	8	Kirkjusandur
25. ágúst	10	Kirkjusandur
02. september	3	Kirkjusandur
23. september	4	Fiskanes
25. september	4	Fiskanes
30. september	4	Fiskanes

2.

Differential reinforced clostridial medium (DRCM).  
(Speck, 1976).

Mjölvi	1.0 g
Peptone	10.0 g
Kjöt ekstrakt	8.0 g
Na-acetate · 3H <sub>2</sub> O	5.0 g
Dextrose	1.0 g
Cysteine HCl	0.5 g
Ger ekstrakt	1.5 g
Eimað vatn	800 ml.

Efnin eru leyst upp í vatninu. Hitað en ekki soðið.  
Kælt niður í ca. 25°C og pH stillt á 7.4 með 1N NaOH.  
Fyllt upp með eimuðu vatni í 1000 ml. 10 ml sett í ræktunarglös.

Fyrir sáningu er sett 0.2 ml af:

Ferriammoniumcitrate	0.7 g
Natrium sulfite	0.4 g
Eimað vatn	20 ml

Paraffin oliútappi er settur á eftir sáningu.

### 3.

#### Gram-litun - Hucker afbrigði.

Fixaða sýnisglerið var litað á eftirfarandi hátt:

Ammonium oxalate - crystal violet	1 mín
Skolað með kranavatni	
Lugols jöðlausn	1 mín
Skolað með kranavatni	
Aflitun með etanol aldrei meira en	40 sek
Skolað með kranavatni	
Safranín lausn (0.25%)	10 sek
Skolað og þerrað með filterpappír.	

### 4.

#### MOF æti (Leifson , 1963).

Casetone	1.0 g
Ger ekstrakt	0.1 g
Ammonium sulfate (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 g
Tris buffer (pH 7.8 , 0.2M)	0.5 g
Bacto-agar	3.0 g
Phenol rautt. (0.1% lausn)	10.0 ml
Eimað vatn	950.0 ml
NaCl	5.0 g
pH stillt á 8.0	5.0 g

Sykurlausn: 20% lausn af glúkósa filtersteriliseruð og  
50 ml af þessari lausn sett í 1000 ml æti. Lokastyrkur 1%;

5-6 ml sett í 12 x 100 mm glös. Hverjum stofni er sáð í tvö glös, og er öðru glösinu lokað með paraffinolíu 1-2 cm tappi.

5.

Arginin próf (Jónsson, 1979)

Ger ekstrakt	5 g
Bacto-tryptone	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Tween 80	0.5 ml
Glúkósi	0.5 g
Arginine	3 g
Eimað vatn	1000 ml
pH stillt á 6.0	

Einnig var notað samanburðaræti sem gert var á sama hátt nema án arginins.

6.

MRS-seyði án glúkósa og kjötextrakts, sem grunnæti fyrir sykurgerjun skv. de Man, Rogosa and Sharpe (Speck 1976)

Peptone	10 g
Ger ekstrakt	5 g
Tween 80	1 ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
Na-acetate · 3H <sub>2</sub> O	5 g
Diammonium citrate	2 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	200 mg
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	50 mg
Chlorophenol rautt (0.2% vatnslausn)	2 ml
Eimað vatn	1000 ml
pH: 6.4	

Filtersteriliseruðum sykrum bætt í svo lokastyrkur yrði 2%.

7.

Aesculin klofnun.

Casamino acids	10 g
Ger-extrakt	5 g
KHPO <sub>4</sub>	6 g
Ammonium citrate	2 g
Glukósi	20 g
Na-acetate (hydrate)	15 g
Tween 80	1.0 ml
MgSO <sub>4</sub>	0.575 g
MnSO <sub>4</sub>	0.120 g
FeSO <sub>4</sub>	0.034 g
Agar	15 g
Eimað vatn	1000 ml
+ Aesculin (Difco)	3 g
Arabinosi	5 g
Ferric citrate	5 g
pH: 6.0	

Aesculin er filtersteriliserað áður en það er sett í sterilt ætið.

8.

Járn agar (Jensen & Schulz, 1980)

Lab-lemco beef ekstrakt (Oxoid L-29)	3 g
Ger ekstrakt	3 g
Peptone	20 g
NaCl	5 g
Ferric citrat	0.3 g
Na-thiosulfat	0.3 g
Bacto-agar	12 g
Eimað vatn	1000 ml
pH stillt á 7.4	

HEIMILDASKRÁ

- ANON (1977). Food Analysis. L-lactic acid. UV method for the determination of L-lactic acid and D-lactic acid in foodstuffs. Boehringer Mannheim GMBH.
- CHRISTIAN, J.H.B. (1980). Reduced water activity. Í: Microbial Ecology of Foods. kap. 4, bls. 70. Ritstýrt af Silliker J.H. o.fl. fyrir ICMSF. New York. London: Academic Press.
- HOROWITZ, W. (1980). Official Methods of Analysis of the AOAC, 13. útg. Washington, D.C.: AOAC.
- JENSEN, H.M. & SCHULZ, E. (1980) Jernagars anvendelse til friskhedsbestemmelse af fersk fisk. Dansk Vetinærtidskrift.
- JÓNSSON, S. (1979). Melkesyrebakterier i fisk og fiskeråstoff. Aminogyreomsetning hos Lactobacillus plantarum isoleret fra fisk og veksthemmende effekt av trisulfid som da nes fra cystin eller cystein. Cand Real. ritgerð við Háskólann í Tromsø.
- KNÖCHEL, S. (1981). Mikrobiel fermentering af fisk v.hj.a. naturligt forekommende lactobaciller. Stud. brom. ritgerð. Danmarks tekniske Højskole.
- KOVACS, N. (1956). Identification of Pseudomonas pyocyanea by the oxidase reaction. Nature, London 178, 703.
- LEIFSON, E. (1963). Determination of carbohydrate metabolism of marine bacteria. Journal of Bacteriology 85, 1183.
- PÉTURSSON, S.H. (1969). Bókin um fiskinn. Reykjavík: Fiskifélag Íslands.
- ROGOSA, M.; WISEMAN, R.F. MITCHELL, J.A., DISRAELY, M.N. & BEAMAN, A.M. (1953). Species differentiation of oral lactobacilli from man including descriptions of Lactobacillus salivarius nov. spec. and Lactobacillus cellobiosus nov.spec. Journal of Bacteriology 65, 681.
- SCHRØDER, K., CLAUSEN, E. SANDBERG, A.M. & RAA, J. (1979). Psycrotropic Lactobacillus plantarum from fish and its ability to produce antibiotic substances. Í: Advances in Fish Science and Technology, bls. 480. Ritstýrt af Conell, J.J. England: Fishing News Books Ltd.

- SHARPE, M.E. (1962). Taxonomy of the lactobacilli. Dairy Science Abstracts 24 (3), 109.
- SHARPE, M.E. (1979). Identification of Lactic acid bacteria. I: Identification Methods for Microbiologists, 2. útgáfa, 233-259. Ritstýrt af Skinner, F.A. & Lovelock, D.W. London: Academic Press.
- SHEWAN, J.M., HOBBS, G. & HODGKISS, W. (1960a). A determinative scheme for the identification of certain genera of Gram-negative bacteria with special reference to the Pseudomonadaceae. Journal of Applied Bacteriology 23, 379.
- SHEWAN, J.M., HOBBS, G. & HODGKISS, W. (1960b). The Pseudomonas and Achromobacter groups of bacteria in the spoilage of marine white fish. Journal of Applied Bacteriology 23, 463.
- SPECK, M.L. (ED.) (1976). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, D.C.: American Public Health Association.
- SPERBER, W.H. & SWAN, J. (1976). Hot-loop test for determination of carbon dioxide production from glucose by lactic acid bacteria. Applied and Environmental Microbiology 31(6), 990.
- VALDIMARSSON, G. (1977). Ecological studies of Bacterial Types Associated with Marine Fish Tanks, and Numerical Classification of Isolated Vibrio Strains. Ph.D. ritgerð við Strathclyde háskóla, Glasgow.