

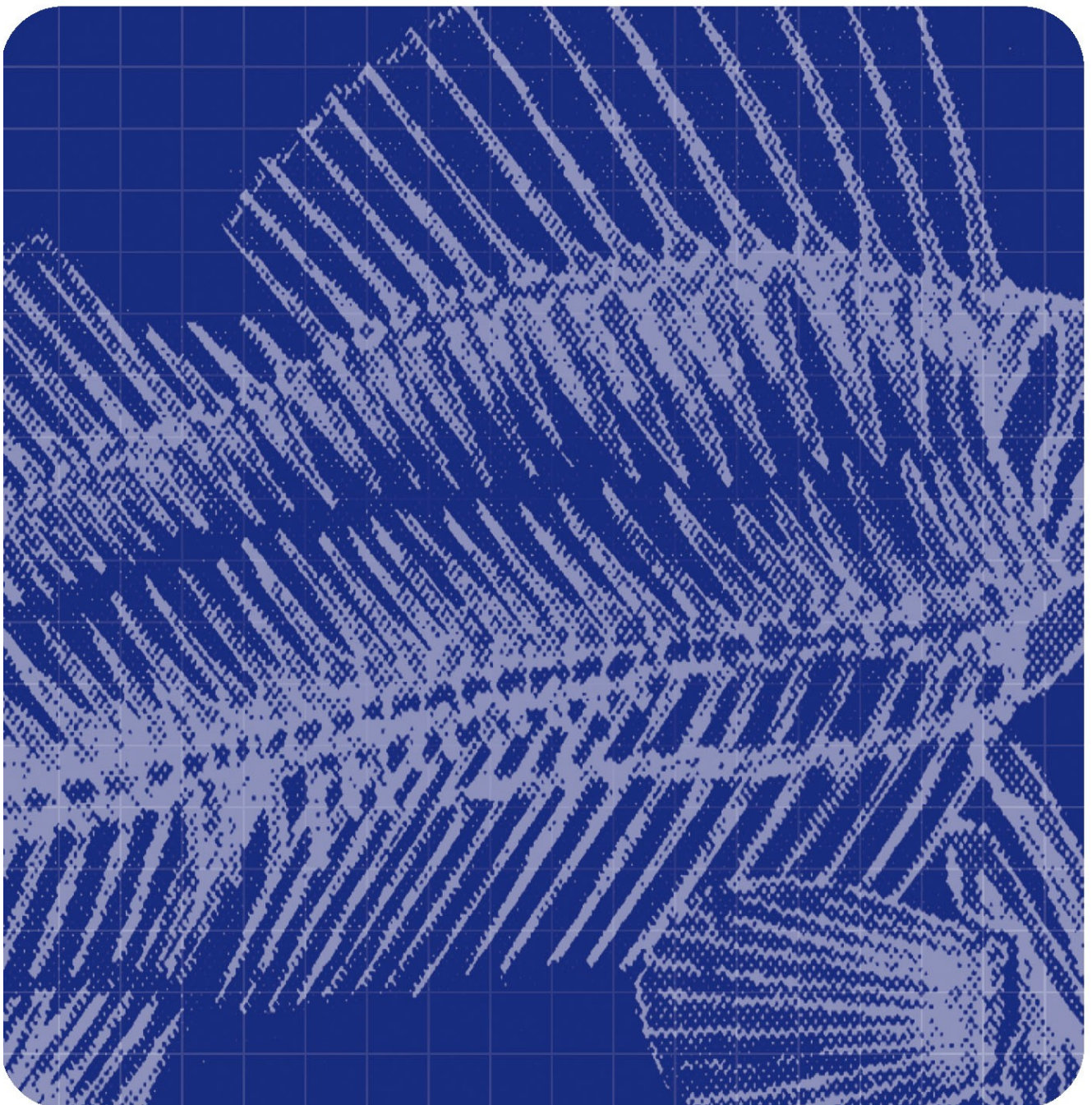


# Fiskeriforskning

RAPPORT 13/2001 • Utgitt november 2001

## **Produksjon av fermentert fiskesaus fra nedklasset saltfisk, sild, pyllorus og startkulturer**

Taran Skjerdal og Guro Pedersen





Norut Gruppen er et konsern for anvendt forskning og utvikling og består av morselskap og seks datterselskaper. Konsernet ble etablert i 1992 – fundamentert på daværende FORUTs fire avdelinger og Fiskeriforskning.

Konsernet består i dag av følgende selskaper:

Fiskeriforskning, Tromsø

Norut IT, Tromsø

Norut Samfunnsforskning, Tromsø

Norut Medisin og Helse, Tromsø

Norut Teknologi, Narvik

Norut NIBR Finnmark, Alta

Konsernet har til sammen vel 240 ansatte.



## Fiskeriforskning

Fiskeriforskning (Norsk institutt for fiskeri- og havbruksforskning AS) utfører forskning og utvikling for fiskeri- og havbruksnæringen.

Gjennom strategisk næringsrettet forskning og utviklingsarbeid, i samarbeid med næringsaktører og det offentlige, skal Fiskeriforsknings arbeid bidra til utvikling av

- etterspurt sjømat
- aktuelle oppdrettsarter
- bioteknologiske produkter
- teknologiske løsninger
- konkurransedyktige foretak

Fiskeriforskning har ca. 160 ansatte fordelt på Tromsø (110) og Bergen (50). Fiskeriforskning har velutstyrte laboratorier og forsøksanlegg i Tromsø og Bergen.

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9-13

Postboks 6122

N-9291 Tromsø

Telefon: 77 62 90 00

Telefaks: 77 62 91 00

E-post: [post@fiskeriforskning.no](mailto:post@fiskeriforskning.no)

Avdelingskontor Bergen:

Kjerreidviken 16

N-5141 Fyllingsdalen

Telefon: 55 50 12 00

Telefaks: 55 50 12 99

E-post: [office@fiskeriforskning.no](mailto:office@fiskeriforskning.no)

Internett: [www.fiskeriforskning.no](http://www.fiskeriforskning.no)

# RAPPORT

Tilgjengelighet:

**Åpen**

Rapportnr:

13/2001

ISBN-nr:

82-7251-478-8

Tittel:

**Produksjon av fermentert fiskesaus fra nedklasset saltfisk, sild,****pyllorus og startkultur**

Dato:

13. november 2001

Antall sider og bilag:

17

Forfatter(e):

Taran Skjerdal og Guro Pedersen

Sign. forskningssjef:

Senter:

Avdeling for sjømat og industriell foredling

Prosjektnr.:

3479

Oppdragsgiver:

Norges forskningsråd

Oppdragsgivers ref.:

121806/130

3 stikkord:

Fiskesaus, saltfisk, salttolerante bakterier

Sammendrag: (maks 200 ord)

Det nedklasses og kasseres årlig flere titalls tonn saltfisk og klippfisk. I dette prosjektet er det undersøkt om denne ressursen kan nyttegjøres i produksjon av fermentert fiskesaus. Fiskesaus er et utbredt produkt i Sør-Øst Asia. Den framstilles ved å la to deler fisk og en del salt stå til det har blitt en gylden saus med fyldig aroma. Dette tar fra 6 måneder til 2 år. Målet med prosjektet er å identifisere og karakterisere halofile bakterier som gir gunstig og rask smaksutvikling i fermentert fiskesaus, og anvende disse til produksjon av startkulturer og fiskesaus fra nedklasset saltfisk.

Forsøkene har vist at de kan produseres fiskesaus fra saltfisk uten andre tilsetninger enn vann og salt, men modningsprosessen tar mer enn 2 år. Tilsetning av smaksutviklende bakterier, torskeslo og sild gir imidlertid moden saus av god kvalitet i løpet av 6-8 måneder. De smaksutviklende isolatene er funnet etter analyser av ca 220 bakterieisolater fra saltfisk og fiskesaus. Den mest effektive bakterien for produksjon av fiskesaus er en rødmiddbakterie.

Arbeidet med kultursamlingen har gitt mange nye ideer til anvendelse av nedklasset saltfisk. Samlingen er et godt utgangspunkt for bioprospektering av biokjemikalier som er tilpasset høye eller vekslende saltkonsentrasjoner. Prosjektet har også gitt verdifulle kunnskap for produktutvikling i saltfiskindustrien.

Denne rapporten er, med unntak av kapittel 6, identisk med sluttrapporten til Norges Forskningsråd for prosjektet "Identifisering av halofile bakterier for rask produksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk".

English summary: (maks 100 ord)

Several tons of salted cod are wasted every year. In this project it has been investigated whether this fish could be utilised in production of fermented fish sauce. Fish sauce is much used in South East Asia to give rice dishes taste and essential amino acids. It is produced from two parts of fish (mackerel, anchovies sardines etc) and one part salt.

The results from this project show that production of fish sauce from wasted heavy salted cod is possible. Addition of herring, intestines and halophilic microbes accelerates the process and improves the yield, colour, flavour and nutrition value of the sauce.

# INNHold

1	INNLEDNING.....	1
2	PERSONELL.....	3
3	MÅL.....	4
4	GJENNOMFØRING OG RESULTATER.....	5
4.1	Produksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk - uten tilsetning av startkulturer ...	5
4.1.1	Kjemisk karakterisering av kommersielle Asiatiske fiskesauser.....	5
4.1.2	Prøveproduksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk .....	5
4.1.3	Tilsats av slo, sild, brukt salt og saltlake .....	6
4.2	Kultursamling av mikrober i saltfisk, klippfisk, havsalt og fiskesaus.....	7
4.2.1	Smaksutviklende isolater i fiskesaus .....	9
4.2.2	Dyrkingsmetoder for smaksutviklende isolater .....	10
4.3	Effekt av smaksutviklende isolater i produksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk .....	11
4.4	Andre resultater .....	11
5	SAMLET VURDERING AV PROSJEKTET.....	13
6	POPULÆRVITENSKAPELIG FRAMSTILLING.....	14
7	FORMIDLING OG PUBLISERING.....	15
7.1	Vitenskapelige utgivelser og annen publisering.....	15
7.1.1	Vitenskapelige publikasjoner.....	15
7.1.2	Næringsrettede publikasjoner .....	15
7.2	Annen forskningsformidling .....	15
7.2.1	Presentasjoner i internasjonale fora .....	15
7.2.2	Presentasjoner i nasjonale fora.....	16
8	REFERANSER.....	17

# 1 INNLEDNING

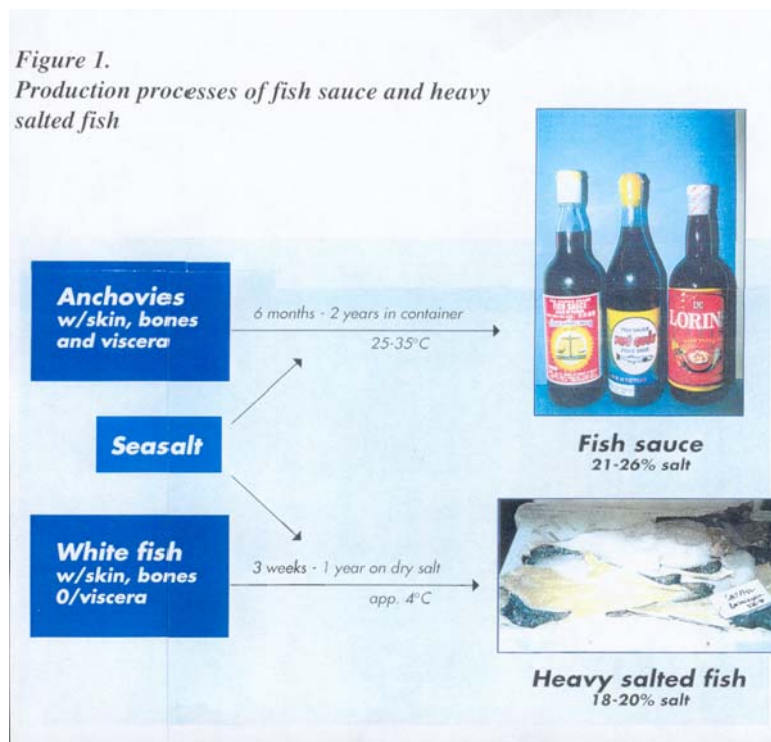
Norge har en betydelig industri for produksjon av saltfisk og klippfisk. Størsteparten av produksjonen eksporteres til Portugal, Brasil og Spania, og det er oppkjøpere fra disse landene som vurderer kvaliteten og fastsetter prisen på fisken. Vurderingen gjøres på grunnlag av en rekke visuelle kriterier, eksempelvis farge og fasthet. Dette medfører at store mengder fisk nedklasses eller kasseres. Selv om en del nedklasset saltfisk blir solgt til spotpris, ender flere titalls tonn som avfall hvert år. Det er ønskelig å finne anvendelser for dette, men det har vært vanskelig på grunn av det høye saltinnholdet i fisken (ca 20 %). I dette prosjektet er det undersøkt om det er mulig å bruke nedklasset saltfisk i produksjon av fermentert fiskesaus. Slike sauser er mye brukt som smaksforsterker i asiatiske land. De er dessuten viktige kosttilskudd fordi de er rike på essensielle aminosyrer, proteiner, jern og B-vitamin. Mange fellestrekk i produksjonsprosess, saltinnhold og bakterietyper i fiskesaus og saltfisk er grunnlaget for å undersøke om det er mulig å utnytte nedklasset og kassert saltfisk i produksjon av fermentert fiskesaus, enten for produksjon av startkulturer av smaksutviklende bakterier, eller direkte som råstoff for fiskesaus.

Fermentert fiskesaus framstilles i Asia tradisjonelt ved å la to deler (oppmalt) fisk og ca 1 del havsalt stå i sollys til det er blitt en homogen saus med modnet smak. Dette tar fra 6 måneder til 2 år, og det er ønskelig å finne en raskere produksjonsmåte. Prosessen består av to deler; nedbrytning av fisken og utvikling av smak. Det er tidligere funnet måter for å akselerere nedbrytningen (Gildberg 2001), men ikke for å utvikle smak. Imidlertid er det kjent at smaksutviklingen hovedsakelig er forårsaket av mikrobiell aktivitet. Prosessen har til nå vært kjørt uten tilsetning av startkultur, og det er derfor sannsynlig at startkulturer av smaksutviklende mikrober kan akselerere prosessen.

Produksjonen av saltfisk og fiskesaus har mange fellestrekk. Saltfisk produseres ved at sløyd og bløgget fisk legges i tørt salt eller sterk saltlake. Saltet trekker ut det frie vannet fra fisken. Laken slås vekk etter noen dager, mens fisken legges på tørt salt til videre modning i minst 3 uker. Etter modning kan saltfisken eventuelt tørkes til klippfisk. De er imidlertid noen viktige forskjeller mellom produksjonsprosessene for saltfisk og fiskesaus. I fiskesausproduksjon tas væskefraksjonen hovedproduktet. Fiskesausprosessen tar dessuten lenger tid, temperaturen er høyere, sloet er med i hele modningsprosessen, og det blir vanligvis brukt fete fiskeslag som råstoff.

Saltfisk og klippfisk regnes som fullkonserverte produkter på grunn av den høye saltkonsentrasjonen. Produktene kan imidlertid angripes av halofile (saltelskende) bakterier dersom de lagres uten tilstrekkelig kjøling. Langt framskredne angrep er lett synlige, og betegnes rødmidd. Halofile bakterier er et stort problem for saltfiskindustrien, men de virker sannsynligvis positivt i fermentert fiskesaus. Før prosjektet startet var det kjent at ferdig fermenterte fiskesaus inneholdt store mengder halofile bakterier, spesielt av slektene *Halobacteriaceae* og *Halococcus*. Dette er de samme bakteriene som gir opphav til rødmidd på saltfisk. Dette kan forklares ved at det benyttes havsalt i begge prosesser, og det er dette saltet som er kilden til bakteriene (Figur 1).

Halofile og salttolerante bakterier er nisje-bakterier, og har sannsynligvis en rekke interessante og unike cellekomponenter og metabolitter. De mest slående eksemplene er pigmenter og saltstabile enzymer. Karakteriseringen av salttolerante og halofile bakterier i dette prosjektet er derfor relevant også som et forstudium for bioprospektering av slike forbindelser.



Figur 1 Produksjonsprosess for fiskesaus og saltfisk. Prinsippskisse.

## **2 PERSONELL**

Prosjektleder:

Taran Skjerdal, dr. ing

Prosjektmedarbeidere ved Fiskeriforskning:

Guro Pedersen, siv. ing

Grete Lorentzen, cand agric

Ingebrigt Bjørkevoll, fiskerikandidat

Guro Eilertsen, Ingeniør

Bjørn Gundersen, Ingeniør

### 3 MÅL

Målet for prosjektet er å identifisere og karakterisere halofile bakterier som gir gunstig og rask smaksutvikling i fermentert fiskesaus, og anvende disse til produksjon av startkulturer og fiskesaus fra nedklasset saltfisk.

Delmål er:

1. Identifisere og karakterisere halofile mikroorganismer i saltfisk, klippfisk, havsalt og fiskesaus.
2. Identifisere smaksutviklende isolater.
3. Utvikle dyrkingsmetoder for produksjon av startkulturer i nedklasset saltfisk.
4. Undersøke muligheten for å framstille fiskesaus fra saltfisk.



## 4 GJENNOMFØRING OG RESULTATER

### 4.1 Produksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk - uten tilsetning av startkulturer

#### 4.1.1 Kjemisk karakterisering av kommersielle Asiatiske fiskesauser

En god tradisjonell fiskesaus skal være klar, ha gylden farge og rik aroma. Rik aroma innebærer blant annet høy andel av de smakssterke aminosyrene glutaminsyre og asparaginsyre, eventuelt også alanin og glycin som gir sausene søt smak. Fettinnholdet er også rapportert å ha betydning for aromaen. Sausene bør ha et høyt næringsinnhold. Dette betyr at andelen den essensielle aminosyren lysin bør være høy, mens andelen av histidin og arginin, som er forløpere for biogene aminer bør være lave.

Ti kommersielle fiskesauser fra Thailand, Filippinene og Vietnam ble vurdert, og analysert med hensyn på aminosyresammensetning og fettinnhold. Alle sausene hadde gylden farge, men de hadde svært forskjellig aroma. Noen hadde søtaktig fruktlukt, mens andre luktet regelrett fotsvette. De store forskjellene kan skyldes at noen sauser var produsert fra makrell og noen fra sardiner eller brisling, eller at noen var tilsatt sukker. En tredje årsak kan være forskjeller i mikrobefolkning (se kapittel 4.2) Aminosyresammensetningen var også nokså forskjellig (Tabell 1), men alanin var en dominerende aminosyre i alle sauser. Bare en av sausene inneholdt mer enn 0.04 % fett, til tross for at alle sausene var produsert fra fete fiskeslag. Dette kan skyldes at løselig fett var brutt ned under modningen, og at ikke løselig fett var fjernet før sausen var tappet på flasker.

Tabell 1 Aminosyresammensetning i kommersielle fiskesauser.

Aminosyresammensetning i 10 kommersielle sauser		
	snitt	intervall
	(% av totale aminosyrer)	
<b>Smakssterke aminosyrer</b>	<b>27</b>	
Asparaginsyre	1,5	0,4-2,7
Glutaminsyre	5,2	2,4-7,3
Alanin	13,7	7,3-16,5
Glycin	6,6	4,9-8,5
<b>Essensielle aminosyrer</b>		
Lysin	7,8	4,2-10,3
<b>Forløpere for biogene aminer</b>	<b>7,3</b>	
Histidin	3,3	2,9-4,8
Arginin	3,4	2,1-4,9
<b>Andre</b>	<b>58</b>	

#### 4.1.2 Prøveproduksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk

Egne prøveproduksjoner viste at det er fullt mulig å produsere fiskesaus fra saltfisk uten andre tilsetninger enn vann og salt. Modningen skjer imidlertid svært langsomt. Sausen må stå i minst to år for å utvikle gylden farge og aroma. Selv etter så lang tid er nedbrytningen av fisken svært liten, slik at utbyttet blir dårlig. Den langsomme nedbrytningen i saltfisksausen kan forklares med at sloet, som har høy enzymatisk aktivitet, er tatt bort fra fisken under

produksjonen av saltfisk (se Figur 1). Liten nedbrytning ble også antatt å kunne forklare langsom smak- og luktdannelse. Manglende fargeutvikling skyldtes lavt fettinnhold i saltfisk. Parallelt med forsøkene med saltfisk ble det gjennomført prøveproduksjoner av fiskesaus fra sild og sei. Disse sausene utviklet gylden farge umiddelbart.

#### **4.1.3 Tilsats av slo, sild, brukt salt og saltlake**

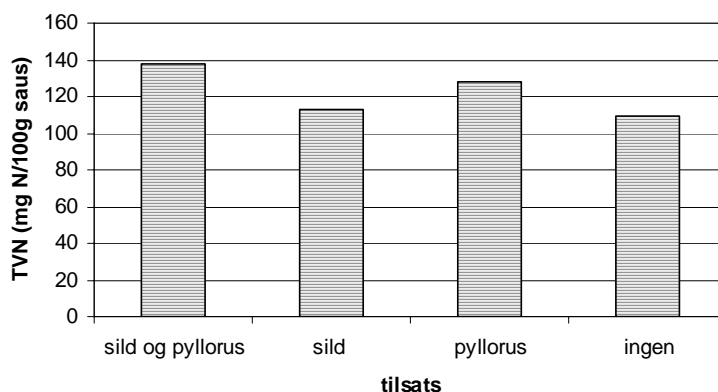
Det ble satt i gang nye produksjoner av fiskesaus fra saltfisk, torskeslo (pyllorus) og sild. Saltlake fra saltfiskproduksjon (Figur 1) ble brukt som basis i stedet for springvann. Brukt salt fra saltfiskproduksjon ble også tatt med i forsøket. Alle tilsatsfaktorer gav positiv effekt.

*Torskeslo/pyllorus* i saltfisksaus gav raskere og større nedbrytning av fisken (Figur 2), og dessuten gylden farge på sausen i løpet av ca 8-10 måneder. Tilsats av slo er derfor nødvendig i produksjon av fiskesaus fra saltfisk. Pyllorus fra torsk er rikt på proteaser (Gildberg 2001), men disse er tilpasset lavere temperaturer enn enzymene i Sør-Øst Asiatiske fisk. Fiskesausproduksjonen må derfor foregå ved romtemperatur, og ikke ved 40-50°C som i den tradisjonelle prosessen. Pyllorus gav imidlertid ikke gunstigere aminosyresammenetning (Figur 3), og det er derfor nødvendig med andre tilsatsstoffer i tillegg. Lavere produksjonstemperatur setter begrensninger for hvilke smaksutviklende mikrober som kan brukes i produksjon av fiskesaus fra saltfisk.

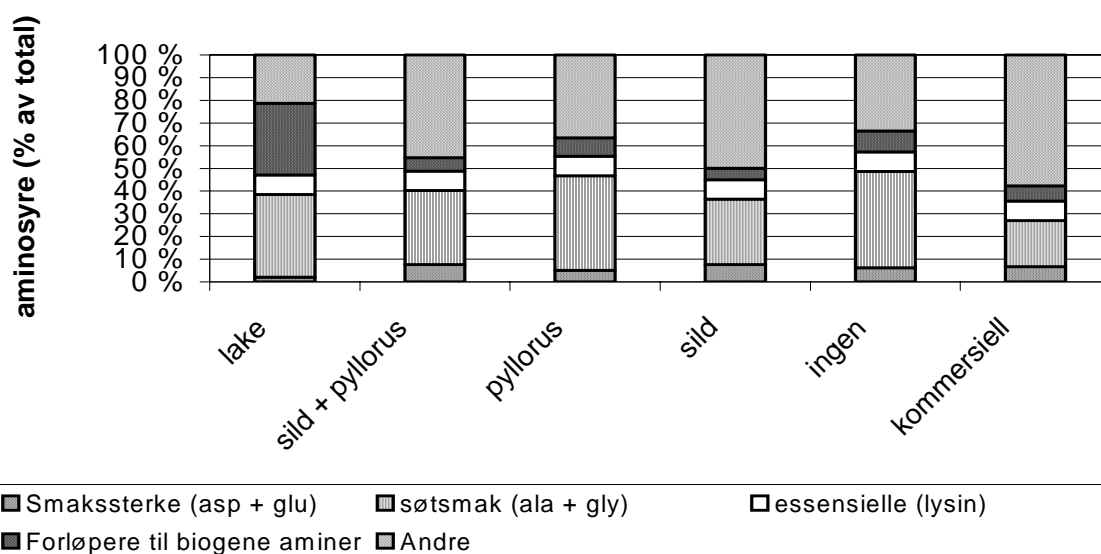
Tilsats av *sild* i saltfisksausene gav raskere fargeutvikling, som forventet. Det bør imidlertid ikke tilsettes mer enn ca 10 % sild til sausen. Større tilsats gav sausen harsk lukt, og mye fett på toppen. Fettrand ble brutt ned etter hvert, men 8-10 måneder modningstid var ikke nok til å fjerne fett fra sauser med 30 % sild. Tilsats av sild bidro ikke til raskere nedbrytning av saltfisk i nevneverdig grad (Figur 2), men gav gunstigere aminosyreutvikling (Figur 3).

*Saltlake* fra saltfiskproduksjon består av væskefasen i fersk fisk og salt. Laken har derfor en rekke løste komponenter, for eksempel frie aminosyrer. Det synes som om saltlake gir raskere aromautvikling enn springvann. *Brukt salt* synes også å fungere minst like godt som nytt salt. Begge deler er positivt for saltfiskindustrien, ettersom både saltlake og brukt salt er avfallsprodukter fra saltfiskproduksjon.

En oversikt over TVN (Total viable nitrogen) dannelse og aminosyreutvikling er gitt i hhv. Figur 2 og 3. TVN korrelerer i dette tilfellet med nedbrytningen av fisken under modning, mens aminosyreutviklingen gir et bilde av smak og ernæringsverdi til sausene. Ingen av sausene inneholdt nevneverdige mengder løst fett (fettrand ikke medregnet) etter 6 måneders modning.



Figur 2 Totalt flyktig nitrogen i fiskesauser laget av saltlake av nedklasset saltfisk, samt tilsats av sild og/eller pyllorus, etter ca 1 års modning. TVN verdien korrelerer med mikrobiell aktivitet, og i dette tilfellet også med nedbrytning av saltfisk (stor nedbrytning gir høy TVN verdi).



Figur 3 Aminosyresammensetning i råstoff (lake), fiskesauser av saltfisk med sild og/eller pyllorus som tilsatsfaktorer. Sammensetningen er målt etter ca 6 måneders modning. Kommerisiell saus er tatt med som referanse for ønsket sammensetning. Data er snitt fra to paralleller, en med lake og brukt salt, og en med nytt salt og springvann.

## 4.2 Kultursamling av mikrober i saltfisk, klippfisk, havsalt og fiskesaus

Det er bygget opp en kultursamling av mikrober fra fiskesaus, sjøsalt, saltfisk og klippfisk. Formålet med dette var å finne fram til smak- og luktutviklende isolater for fiskesaus. Av samlingens ca 220 isolater ble 140 funnet i kommersielle fiskesauser fra Thailand, Filippinene og Vietnam. De øvrige ble isolert fra egenprodusert fiskesaus av brisling, sild og sei, sjøsalt, samt kommersielle og egenproduserte salt- og klippfiskprøver.

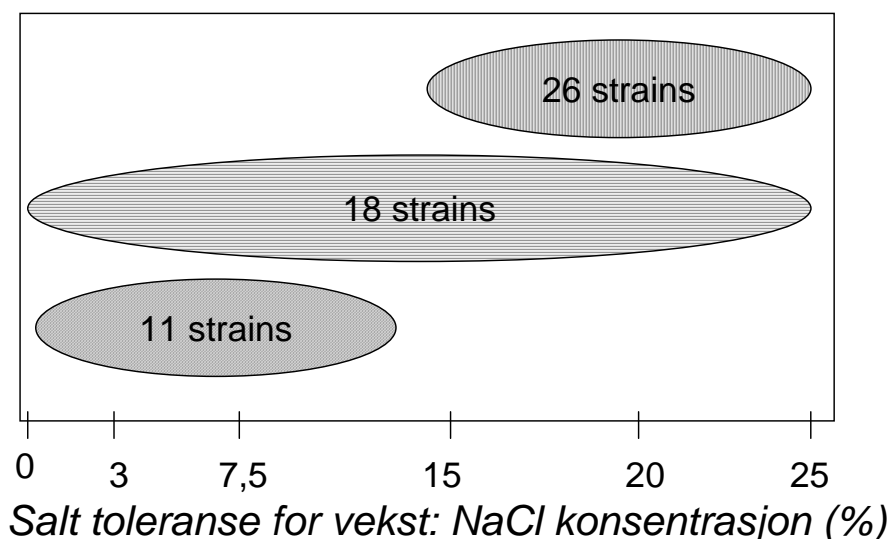
Det var meget *stor diversitet i kultursamlingen*. Dette galdt både mellom saltfisk og fiskesaus, men også mellom fiskesausene. Dette gjenspeiles av at det blant de 220 isolatene var minst 70 ulike arter. Videre karakterisering av mikroben i kommersielle fiskesaus viste at bare noen få bakterietyper som var representert i mer enn en fiskesaus. Dessuten inneholdt bare noen få sauser melkesyrebakterier eller halofile bakterier som er antatt å gi smaksutviklende virkning. Dette utelukket hypotesen om at smaksutvikling i fiskesaus bare er knyttet til noen få mikrober.

Siden både fiskesaus, saltfisk og klippfisk inneholder i størrelsesorden 20 % salt var det forventet at bare et fåtall bakteriefamilier kunne overleve og vokse i produktene. Stor variasjon selv i skjellsettende fysiologiske parametre som Gramfarge, morfologi, proteolytiske, lipolytiske og andre enzymatiske egenskaper samt salttoleranse og temperaturoptimum viste imidlertid at isolatene hørte til mange ulike bakteriefamilier/slekter. Isolatene lot seg imidlertid gruppere i tre, etter hvilke saltkonsentrasjoner de kunne vokse ved (Figur 4).

Gruppe 1 bestod av 31 arter som bare kunne vokse ved høye saltkonsentrasjoner, ca 15-25 % NaCl. 23 av artene var isolert fra fiskesaus og 8 fra saltfisk. De ekte halofile er inkludert i denne gruppen, men utgjorde bare 7-8 arter. Bare to av disse ble isolert fra kommersiell fiskesaus. Det var som forventet at det er mange arter i saltfisk og fiskesaus som kunne vokse ved høye saltkonsentrasjoner, men det er svært uventet at så få av disse falt inn i mønsteret til ekte halofile.

Gruppe 2 bestod av isolater som kunne vokse over hele spekteret av saltkonsentrasjoner, dvs 2-25 % NaCl, i noen tilfeller også uten salt. 8 Gram positive og 10 gram negative arter falt inn i denne gruppen, og samtlige ble isolert fra fiskesaus. Mikrober med så stor tilpasningsevne til ulike saltkonsentrasjoner er så langt vi kjenner til lite beskrevet i litteraturen.

Gruppe 3 bestod av mikrober som bare kunne vokse ved "lave" saltkonsentrasjoner, dvs 0-7,5% salt, i enkelte tilfeller opp til 15 % salt. Alle isolater kunne overleve i minst to år ved 20 % salt. De fleste av artene dannet ikke sporer ved langsom oppvarming, og det er vanskelig å forstå hvordan de kan overleve i så høye saltkonsentrasjoner. Artene i gruppe 3 kan være vel så egnet for smaksutvikling som de to øvrige. Vekst fører stort sett til cellemasse, mens metabolsk aktivitet av ikke-voksende celler oftest fører til anrikning av delvis nedbrutte forbindelser. Mikroben ble isolert både fra saltfisk og fiskesaus. Også fersk torsk, spesielt skinnen og slimet, inneholdt en rekke mikrober som kunne overleve men ikke vokse ved høye saltkonsentrasjoner. Disse representerer en trussel ved produksjon av utvannet saltfisk og klippfisk (se kapittel 4.4).



Figur 4 Salttoleranse for vekst av mikrobene i kultursamlingen fra kommersielle fiskesauser, saltfisk, klipptorsk, egenprodusert fiskesaus og fersk torsk. Alle isolater kan overleve ved ca 20 % NaCl i minst 2 år.

#### 4.2.1 Smaksutviklende isolater i fiskesaus

Alle kommersielle fiskesauser inneholdt isolater med proteolytiske og lipolytiske egenskaper ved høye saltkonsentrasjoner. Det ble antatt at disse egenskapene var viktige for anrikning av smakssterke aminosyrer og nedbrytning av fett som ellers kunne gi harsk lukt. Det ble videre antatt at andre isolater i fiskesausene kunne utvikle smak og lukt ytterligere, og dermed gi hver saus sitt særpreg.

##### *Effekt av kommersiell fiskesaus på lukt og smaksutvikling i fiskesaus av sild og sei*

For å undersøke om mikrobene i kommersiell fiskesaus gav smaks- og luktutvikling ble prøver av kommersiell fiskesaus tilsatt i egenprodusert fiskesaus av sild og sei. De egenproduserte sausene hadde liten lukt og smak i seg selv, og hadde liten lipolytisk og proteolytisk aktivitet. En eventuell lukt- og smaksutvikling fra isolatene i de kommersielle sausene ville derfor overskygge sausens egen. Tilsats av noen dråper kommersiell fiskesaus hadde tydelig effekt. Den egenproduserte sausen fikk rundere og rikere lukt etter noen måneders lagring. Effekten var så klar at det var mulig å skjelne hvilken kommersiell saus som var tilsatt til hver prøve.

##### *Valg av lukt og smaksutviklende isolater fra kultursamlingen*

Det ble valgt ut tre isolater fra kultursamlingen som ble antatt å ha positiv effekt på lukt- og smaksutvikling i fiskesaus fra saltfisk. Følgende kriterier ble brukt for utvelgelsen: Mikrobene skulle ha proteolytisk og/eller lipolytisk aktivitet ved romtemperatur og høye saltkonsentrasjoner. Minst en av mikrobene måtte dessuten kunne vokse ved høye saltkonsentrasjoner, slik at uønskede aminosyrer kunne forbrukes. Følgende isolater ble valgt ut:

*Rødmidd fra egenprodusert fiskesaus med slo:* Bakterien vokste ved romtemperatur ved 15-25% salt, og var sterkt proteolytisk. Den ble valgt ut fordi den kunne bidra til å bryte ned proteiner, og til å forbruke uønskede aminosyrene ved vekst.

*Psychrobacter immobilis*: Psychrobakter sp finnes i all type saltfisk, og vokser raskt etter at fisken er utvannet. Den vokser ikke ved høye saltkonsentrasjoner (gruppe 3), men kan overleve ved 20 % salt i flere år. Den er sterkt lipolytisk, og ble valgt ut fordi den, eller enzymene fra den, kunne bryte ned fettene i sausen. Ettersom bakterien ikke kan vokse i sausen må den trolig tilsettes i høy konsentrasjon for å ha effekt.

*Bakterie fra egenprodusert sildesaus*: denne bakterien kan vokse ved alle saltkonsentrasjoner (0-25 % NaCl) og ved lave temperaturer. Den ble valgt ut fordi den hadde både lipolytisk og proteolytisk aktivitet.

#### 4.2.2 Dyrkingsmetoder for smaksutviklende isolater

Forkulturer av rødmidd og *Psychrobacter* kan lett dyrkes direkte i saltfisk.

Rødmidd dyrkes ved å dynke saltfisk eller klippfisk med en løsning av bakterien, og legge prøven på 37°C. Bakterien vokser på overflaten og danner et rødt pigment. Etter en ukes tid er overflaten blitt orangerød eller laksefarget av bakteriene (figur 5). Bakterien må ha luft for å vokse, og veksten er raskere på overflate enn i flytende kultur. Fisken bør også kuttes i småbiter for å øke overflaten.

*Psychrobacter* sp finnes i all saltfisk og klippfisk etter utvanning. Forkulturer til fiskesaus dyrkes ved å vanne ut salt- eller klippfisk til ca 3% NaCl, inokulere bakteriekulturen i vannet, og la blandingen stå 1-2 dager ved ca 20°C for anrikning av bakterien.

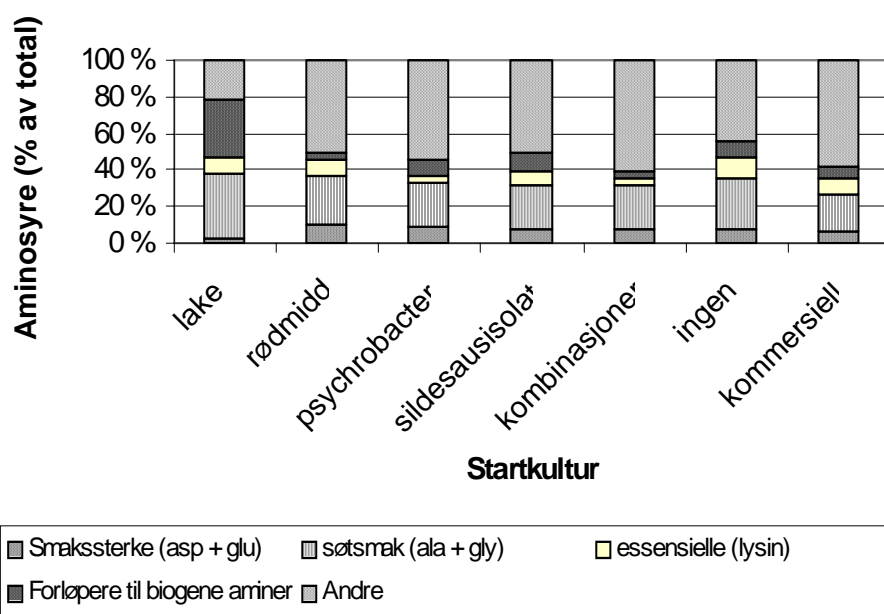
Bakterien fra egenprodusert fiskesaus dyrkes lettest i rikt medium, men den kan også dyrkes på samme måte som *Psychrobacter*.



Figur 5 Dyrking av rødmidd på saltfisk. Fisken ble delt i to rett før fotografering. Foto Taran Skjerdal, Fiskeriforskning

### 4.3 Effekt av smaksutviklende isolater i produksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk

Nye prøveproduksjoner av fiskesaus fra nedklasset saltfisk, pyllorus, saltlake og sild og de tre antatt smaksutviklende isolater ble satt i gang. Sausene var ferdig modnet etter ca 6-8 måneder. Dette var en stor forbedring i forhold til prøveproduksjonen uten smaksutviklende isolater (kapittel 4.1). Etter to måneders lagring var det klart at isolatene bidro både til raskere oppløsning av saltfisken, og til raskere utvikling av aroma. De tre isolatene gav noe forskjellig aroma, spesielt i starten av prosessen. Etter fire måneder hadde sausen meget spiss og kraftig aroma, men den ble rundere etter hvert, og forskjellen i smak og lukt i sausene fra de ulike artene ble mindre tydelig. Etter seks måneders modning hadde sausene gylden farge, rik aroma, og fisken var nesten fullstendig oppløst, slik at det stort sett bare var fiskebein igjen på bunnen i karet. Noen sauser var ennå grumsete, men grumset lot seg lett filtrere bort.



Figur 6 Aminosyressammensetning i fiskesauser med lake, sild, pyllorus og startkulturer etter to måneders modning. Kommersiell fiskesaus er tatt med som referanse.

Effekten av startkulturene av Psychrobacter og sildesausisolatet var størst i starten. Dette skyldtes at disse bakteriene ble utkonkurrert av andre mikrober under modningen. Samtlige startkulturer hadde positiv virkning på aminosyresammensetningen (Figur 6). Spesielt bidro rødmidd til å fjerne forløpere til biogene aminer, anrike de smakssterke aminosyrene, og til å opprettholde andelen av lysin. For framtidig produksjon anbefales derfor rødmidd som startkultur. Kombinasjoner av startkulturer anbefales ikke.

### 4.4 Andre resultater

Høsten 2000 var uvanlig varm, og dette medførte at mye saltfisk og klippfisk ble ødelagt av rødmidd. Dette prosjektet gav fundamental bakgrunnskunnskap om rødmidd, og gjorde oss istand til å gi råd til industrien både om årsakene til og håndtering av problemet. Dette skjedde både i form av kurs på Fiskeriforskning, foredrag på FNL-saltfiskforum og en artikkel i et bransjetidsskrift. Fiskeriforskning har også utviklet en metode for påvisning av rødmidd og

brunmidd i fullsaltede fiskeprodukter i denne perioden. Metoden er utviklet for NMKL (Nordisk metodikomite for levnedsmidler), og prosjektet har gitt viktige bidrag også til dette.

Fiskeriforskning har de siste årene hatt et prosjekt for EU om konservering av utvannede produkter fra saltfisk og klippfisk. Også her har prosjektet gitt viktig informasjon. For eksempel har prosjektet vist at det kan finnes en rekke "sovende" bakterietyper i saltfisk som kan gi problemer etter utvanning. Dette var ikke kjent da arbeidsprogrammet for EU-prosjektet ble utarbeidet. Resultatene fra dette prosjektet har derfor gitt meget viktige bidrag til å forklare hvorfor konservering av utvannet saltfisk er så vanskelig.



## **5 SAMLET VURDERING AV PROSJEKTET**

Prosjektet har vist at det er mulig å produsere både fiskesaus og startkulturer fra saltfisk. Dersom det tilsettes sild, pyllorus og startkultur av rødmiddbakterier tar modningen ca 6 måneder. Uten tilsats tar den mer enn to år. Produksjon av fiskesaus fra nedklasset saltfisk vil være miljømessig lønnsomt, men til tross for at alle råstoffene i prosessen med unntak av sild er gratis avfallsprodukter fra saltfiskindustrien, er det tvilsomt om det vil bli bedriftsøkonomisk lønnsomt. Derimot ser vi mange anvendelsesmuligheter for kultursamlingen som på sikt kan gi langt mer lønnsom utnyttelse av avfallsproduktene fra saltfisknæringen.

## 6 POPULÆRVITENSKAPELIG FRAMSTILLING

Det nedklasses årlig flere titalls tonn saltfisk og klippfisk. Ideen bak dette prosjektet er å undersøke om denne ressursen og andre avfallsstoffer fra saltfisknæringen kan nyttegjøres i produksjon av fermentert fiskesaus. Fiskesaus er et utbredt produkt i Sør-Øst Asia, og brer seg nå også i Norge. Den framstilles fra to deler fisk og en del salt, og blandingen står til den har blitt en gylden saus med fyldig aroma. Dette tar tradisjonelt fra 6 måneder til 2 år. Målet med prosjektet er å identifisere og karakterisere halofile bakterier som gir gunstig og rask smaksutvikling i fermentert fiskesaus, og anvende disse til produksjon av startkulturer og fiskesaus fra nedklasset saltfisk.

Forsøkene har vist at det er mulig å produsere fiskesaus fra saltfisk uten andre tilsetninger enn vann og salt, men modningsprosessen tar mer enn 2 år. Tilsetning av torskeslo, sild og bakteriekulturer gir imidlertid moden saus av god kvalitetet i løpet av 6-8 måneder. Slo bidrar hovedsakelig til raskere nedbrytning av fisken, sild til raskere fargeutvikling og bakteriekulturene til raskere smaksutvikling og nedbrytning av fisken. Saltlake fra saltfiskproduksjon (dvs vannet som trekkes ut av muskelen under salting av fisken) og brukt salt, som er avfallsprodukter fra saltfiskindustrien gir dessuten bedre saus enn springvann og nytt salt. De smaksutviklende isolatene er funnet etter analyser av ca 220 bakterieisolater fra saltfisk og fiskesaus. Den mest effektive bakterien for produksjon av fiskesaus er en rødmiddbakterie. Denne bakteriegruppen er den samme som gir rød misfarging av saltfisk.

Prosjektet har også gitt nye ideer til anvendelse av avfallsproduktene fra saltfiskindustrien. Det er etablert en samling av hele 70 ulike mikroorganismer som trives i saltrike omgivelser. Dette er en nokså ukjent gruppe mikroorganismer, og representerer derfor en ny kilde til søking etter nye biokjemikalier (bioprospektering). Det er allerede kjent at noen av artene produserer fargestoffer som ligner de i laks, og kan tenkes at kassert saltfisk kan brukes som råstoff for produksjon av fargestoffer til laksefor. Det er videre meget sannsynlig at mikrobene produserer biokjemikalier som er tilpasset høye eller vekslende saltkonsentrasjoner. Dersom noen av disse har kommersiell interesse kan avfallsproduktene fra saltfiskindustrien trolig brukes som råstoff for framstilling.

Prosjektet har også gitt ny grunnleggende kunnskap om mikrober i saltfisk. Dette er et viktige bidrag både til å forstå og håndtere problematikken rundt rødmidd og brunmidd på saltfisk bedre, og til å løse utfordringene som er knyttet til å gryteklare produkter av utvannet saltfisk tilstrekkelig lang holdbarhet. Saltfisk og klippfisk taper i dag markedsandeler blant annet fordi forbrukerne etterspør mer lettvinte produkter. Utvikling av gryteklare produkter av saltfisk og klippfisk er derfor nødvendig for at saltfisk og klippfiskindustrien skal kunne opprettholdes i samme omfang som i dag.

## 7 FORMIDLING OG PUBLISERING

### 7.1 Vitenskapelige utgivelser og annen publisering

#### 7.1.1 Vitenskapelige publikasjoner

Bjørkevoll I, Olsen RL, Skjerdal OT 2001, Identification, origin and spoilage potential of Moraxella-like strains in salt-cured cod (*Gadus morhua*). Submitted to *International Journal of Food Microbiology*

Bjørkevoll, I. 1999. Mikrofloaren i utvatna saltfisk. Hovedfagsoppgave ved Norges Fiskerihøgskole. Faglærer var professor Ragnar L. Olsen og veileder seniorforsker Taran Skjerdal.

Lorentzen G, Pedersen G og Skjerdal T, 2000, Halofile og osmofile mikrober (rødmidd og brunmidd). Kvantitativ bestemmelse i fullsaltede produkter. NMKN metode (akseptert av NMKN, men ikke ringtestet ennå)

Pedersen, G. 1998. Mikrobielle og enzymatiske forhold under innledende fase av fiskeausfermentering. Undersøkelse av sild og sei som potensielle råstoff for produksjon av fiskeaus. Diplomoppgave ved Norges tekniske og naturvitenskapelige universitet, Institutt for bioteknologi, Trondheim. Oppgaven ble veiledet av seniorforsker Asbjørn Gildberg og seniorforsker Taran Skjerdal. Faglærer ved NTNU var professor David Levine.

In prep:

Skjerdal T and Pedersen G, 2001, Utilisation of discarded heavy salted in production of fermented fish sauce. *In prep*

Skjerdal T, Bjørkevoll I, Pedersen G, 2001, Origins of salt tolerant microbes in heavy salted cod. *In. prep*

#### 7.1.2 Næringsrettede publikasjoner

Pedersen G. 1999. Vraket saltfisk, en ressurs som kan utnyttes? *Saltfiskforum* nr 1/1999.

Skjerdal OT. 1998. Forsøksproduksjon av fiskeaus fra nedklasset salt- og klippfisk. *Saltfiskforum* nr 3/1998. (Saltfiskeforum er medlemsblad for produsenter i saltfisknæringen)

Skjerdal T, 2000, Rødmidd ødelegger saltfisken – igjen! *Fisk Industri og Marked* 10:14-15.

### 7.2 Annen forskningsformidling

#### 7.2.1 Presentasjoner i internasjonale fora

Bjørkevoll I, Skjerdal OT & Olsen RL. 1998. Microflora in rehydrated salt-cured cod. Poster presentert på WEFTA møtet, Tromsø oktober 98.

- Pedersen G & Skjerdal OT. 1999. Utilisation of waste from the salt fish industry in production of fermented fish sauce. Poster på WEFTA møtet, Tessaloniki, Hellas, oktober 99. Proceedings vil bli trykket i år 2000.
- Skjerdal OT & Gildberg A. 1998. Production of fermented fish sauce from wasted heavy salted cod, -is it possible?. Poster presentert på WEFTA møtet, Tromsø oktober 98.
- Skjerdal T, 2000, Freezing and salting, two effective tools for removal of undesired microbes during fish processing, provided use of the right process conditions. Presentation at the *1<sup>st</sup> World FishTech Conference*, Trondheim, august 2000.
- Skjerdal T, 2001, Prolonged shelf life of re-hydrated products of heavy salted cod requires adaptation of the forgoing salting process. Foredrag på 31<sup>st</sup> WEFTA meeting, Espoo, Finland, 27-31 Mai 2001
- Skjerdal T, Lorentzen G, 2001, Development of a method for analysis of halophile microbes in heavy salted fish products. Presentation at the meeting in WEFTA-working group, Nantes, France, April 2001.

### **7.2.2 Presentasjoner i nasjonale fora**

- Skjerdal T, 1999, Holdbarhet etter utvanning av saltfisk, mikrobiologi under salting og utvanning. Foredrag på kurset "Produksjon og videreforedling av saltfisk", Fiskeriforskning 15.-17.- november 99.
- Skjerdal T, 2000, Rødmidd og brunmidd, hva kan vi gjøre for å unngå det? Foredrag på Samling i Saltfiskforum, Ålesund, 7-8 desember.
- Skjerdal T, 2000, Rødmidd, brunmidd og andre mikrober i salt- og klippfisk. Foredrag på kurset "Produksjon av saltfisk (Torsk)", ved Fiskeriforskning, 21-22. november.
- Skjerdal T, 2001, Mikrober skaper problemer for produktutvikling i saltfisknæringen. – foreløpig. Foredrag for evalueringskomiteen ved evaluering av Fiskeriforskning, vinter 2001
- Skjerdal T, Pedersen, G, Bjørkevoll I, 2001, Salttolerante mikrober skaper problemer for saltfisknæringen, men kanskje nye muligheter for bioteknologisk industri. Foredrag på Vintermøte i Norsk Mikrobiologisk Forening, Voss, Februar 2001.

## **8      REFERANSER**

Gildberg A, Thongthai C, 2001, The effect of reduced salt content and addition of halophilic lactic acid bacteria on quality and composition of fish sauce made from sprat. *Journal of aquatic food Product Technology*, 10:77-88

Gildberg A, 2001, Utilisation of male Arctic capelin and atlantic cod intestines for fish sauce production – evaluation of fermentation conditions. *Bioresource Technology* 76:119-123.



# Fiskeriforskning

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9-13

Postboks 6122

N-9291 Tromsø

Telefon: 77 62 90 00

Telefaks: 77 62 91 00

E-post: [post@fiskeriforskning.no](mailto:post@fiskeriforskning.no)

Avdelingskontor Bergen:

Kjerreidviken 16

N-5141 Fyllingsdalen

Telefon: 55 50 12 00

Telefaks: 55 50 12 99

E-post: [office@fiskeriforskning.no](mailto:office@fiskeriforskning.no)

Internett: [www.fiskeriforskning.no](http://www.fiskeriforskning.no)

ISBN 82-7251-478-8

ISSN 0806-6221