

SVENSKA INSTITUTET FÖR KONSERVERINGSFORSKNING, GÖTEBORG

SIK - Rapport

1963

Nr 137

Mikrofloran i fisk och saltade fiskprodukter.

En litteraturstudie

av

Inger Erichsen

Mikrofloran i fisk och saltade fiskprodukter.

En litteraturstudie

av

Inger Erichsen

Svenska Institutet för Konserveringsforskning

Som ett led i pågående undersökningar vid SIK har en litteraturgenomgång utförts över de delar av fiskens mikrobiologi som berör detta forskningsproblem.

Halofila och halotoleranta mikroorganismer, deras karakterisering och förekomst i livsmedel av marint ursprung.

1. Karakterisering

Salt har i låga koncentrationer i regel en stimulerande effekt på bakterier och används därför i små mängder vid substratodlingar, medan höga koncentrationer hämmar växten hos de flesta. Många bakterier förmår emellertid växa vid höga saltkoncentrationer och det finns även sådana bakterier som kräver salt för att kunna leva. Dessa mikroorganismer kallas halofila, d.v.s. "salt-älskande".

Åsikterna rörande terminologien för dessa bakterier är delade, enär distinkta gränser för salttolerans är svåra att draga. Förslag till indelning av de halofila bakterierna har framlagts av bl.a. Rubentschik (1929), Golikowa (1930a), Horowitz-Wlassowa (1931a), och Christian (1956). Schoop (1935) föreslog följande indelning till vilken även Shewan (1942) anslutit sig:

icke halofila bakterier - växer inte vid hög saltkoncentration,

fakultativt halofila bakterier - växer såväl vid hög som låg saltkoncentration,

obligat halofila bakterier - växer endast vid höga saltkoncentrationer.

Baxter och Gibbons (1956) indelar halofila bakterier i två undergrupper på grundlag av den saltkoncentration vid vilken de lever. Moderat halofila bakterier växer vid saltkoncentrationer som varierar mellan 1-2 och 20 % NaCl och extremt halofila bakterier, som inte växer under 15 % NaCl, men som växer bra i mättade saltlösningar (31 % NaCl).

Frågan, om de halofila egenskaperna har förvärvats genom en successiv tillvänjning till höga salthalter från ursprungligen icke

halofila bakterier, eller om denna egenskap så att säga är genuin, därom har åsikterna också varit delade.

Enligt Clayton & Gibbs (1927), Robertson (1931) är halofila bakterier genuint typiska för omgivningar med hög salthalt och kan inte isoleras från andra källor. Stuart (1938) hävdade däremot att halofila bakterier är rikt förekommande i naturen och med lätthet kan isoleras ur jord och vatten bara odlingsmediet har en tillräckligt hög salthalt och odlingstiden göres tillräckligt lång (60-90 dygn). Hof hävdade också att han isolerat obligat halofila bakterier från jord och Shewan (1938) lyckades träna en fakultativ halofil organism till att tåla höga salthalter, men fick den sedan inte att växa på vanligt substrat, vilket skulle innebära en tydlig omvandling från fakultativ till obligat halofilism.

2. Förekomst

Obligat halofila bakterier har isolerats från många olika källor, vatten med hög salthalt som t.ex. Great Salt Lake och Döda Havet (Elizarin Volcani 1940, Smith 1936, Zobell, Anderson & Smith, 1937) och från olika typer av salt (Petrowa 1933, Müller 1950, Hess 1942, Stuart et al. 1933, Gibbons 1936, Venkataraman 1954).

Det har visat sig att solar-salt, som framställs från naturligt förekommande saltvatten genom avdunstning i varmt klimat, är starkt infekterat av halofila bakterier, medan stensalt och raffinerat salt är nästan fritt från sådan infektion (Harrison & Kennedy 1922, Cobb 1927, Stuart et al. 1933, Lochhead 1934). Då salt som används för saltning av fisk för det mesta är solar-salt, blir saltade fiskprodukter oftast infekterade med dessa bakterier (Hess 1942), och de vanligaste typer som förorsakar förstöring är de röda halofila bakterierna som framkallar rödfärgning på ytan hos saltad fisk och även på saltat kött (Harrison & Kennedy 1922, Beckwith 1911, Cloake 1923, Hanzava & Takeda 1931, Lochhead 1934, Robertson 1932, Anderson 1954).

Röda halofila bakterier är ofarliga ur hälsosynpunkt, men kan orsaka ekonomiska förluster för tillverkare av saltade fiskprodukter. Särskilt i Canada har förstöring av fisk genom dessa bakterier varit vanlig, och många undersökningar har gjorts för att komma till rätta med problemet. Det har därvid framkommit att röda halofila bakterier är mycket känsliga för vanligt vatten. I en fabrik som var infekterad med dessa bakterier dödades 99 % inom 30 minuter om lokalerna besprutades med vatten (Castell & Mapplebeck 1950).

Höjd behandlingstemperatur ökar effektiviteten. Behandling i fabriker med vanliga desinfektionsmedel som quartära ammoniumföreningar, lut eller formalin visade sig ha liten effekt. Sterilisering av salt ansågs vara opraktiskt (Shewan 1949). En inblandning av 3 % natriumfosfat och 0,25 % natriumbenzoat i salt, som används för konservering av fisk, befanns däremot vara mycket effektiv (Hess 1932). Röda halofila bakterier är mycket resistenta mot solljus och UV-ljus, men dödas snabbt genom värme. Upprepade, på varandra följande nedfrysnings- och inkuberingsbehandlingar av saltprov genom nedfrysning till -23°C åtföljda av inkubering vid $+25^{\circ}\text{C}$ i 3 timmar åstadkom ingen reducerad aktivitet hos de röda halofila bakterierna (Castell 1950). Lagring över en period av minst 2 månader åstadkom emellertid en avsevärd reduktion i bakterietalet i salt (Dussault 1953).

Röda halofila bakterier har rätt höga optimala växttemperaturer, ca 40°C . Hess (1942) fann att all växt stoppades under 15°C och över 55°C . Horowitz-Wlassowa (1931b) påstår sig ha iakttagit växt så lågt nere som vid 5°C .

Obligat halofila bakterier är strikt aeroba, och bara vid ett tillfälle har det i litteraturen rapporterats om en anaerob obligat halofil organism (Baumgartner 1937). Ytterligare ingående undersökningar över den av Baumgartner beskrivna anaeroba halofila organismen har så vitt bekant ej publicerats.

De vanliga metoder som finns för klassificering av halofila bakterier är svåra att genomföra på grund av deras krav på hög salt- halt i mediet (Penso 1957, Gibbons 1957).

Katznelson och Robertson (1955) fann att de inte oxiderar många av de vanliga sockerarterna och att sockerinnehållet i deras celler är mycket litet. De kan växa i relativt enkla medier om dessa innehåller kaseinhydrolysat. Mera sammansatta media innehållande bl.a. mjölk rekommenderas av Dussault och Lachance (1952).

Fakultativt halofila bakterier eller halotoleranta bakterier omfattar många olika typer av bakterier. Som redan nämnts, växer de vid såväl höga som låga saltkoncentrationer men fordrar inte alltid salt för att leva. Bakterierna ifråga är vanligt förekommande i luft, jord, slam och vatten. Enligt Hof (1953) återfinns de halotoleranta organismerna framför allt inom genus *micrococcaceae* och *lactobacillaceae*. Många bakterietyper som spaltar protein och fett

förekommer. De är för det mesta mikroaerofila.

Mikrofloran på färsk fisk.

Muskulaturen i färsk, nyfångad fisk anses vara steril (Proctor & Nickerson 1953), medan hud, slem, gälar och maginnehåll däremot är infekterade av mikroorganismer. Huvuddelen av dessa bakterier utgöres av jord- och vattenbakterier, vilka är fakultativt psycrofila och sålunda växer - med få undantag - vid temperaturer mellan -7°C och $+30^{\circ}\text{C}$. Bakteriologiska undersökningar visar att bakteriefloras sammansättning på färsk, nyfångad fisk är mycket enhetlig och till största delen består av gram-negativa stavar av Pseudomonas sp., Achromobacter sp., Flavobacterium sp. och Micrococcus sp. (Stewart 1932, Liston 1957, Georgala 1957, Dyer 1947, Aschehoug & Vesterhus 1953, Tjötta & Sommer 1942, Wood 1940). Även andra typer som Proteus sp., Bacillus sp., Sarcina sp. och Corynebacterium sp. förekommer men i mindre omfattning. Mikrofloras sammansättning på färsk fisk fångad inom olika geografiska områden har visat sig vara mycket likartad. Så till exempel dominerar Pseudomonas sp. och Achromobacter sp. i fisk fångad såväl i Atlanten som i Stilla Oceanen (Liston 1960, de Silva 1960, Sanborn 1933, Snow & Beard 1939, Harrison 1929).

Bakteriebelastningen på ytan och i slem på färsk fisk varierar och man vet mycket litet om vilka faktorer det är som förorsakar variationerna. Slemmet hos levande fiskar har troligen baktericida egenskaper, men detta har inte kunnat bevisas (Reay & Shewan 1949).

Slem hos döda fiskar tycks å andra sidan vara ett utmärkt substrat för tillväxt av bakterier. Sannolikt hålles mängden levande bakterier låg genom ständig sekretion och avnötning av slem från huden. Nyare undersökningar tyder på att bakteriebelastningen och floras sammansättning varierar med årstiderna. de Silva (1960) noterade högre bakterietal på torsk fångad i Nordsjön under juli-augusti än under andra årstider.

Bakteriefloran i maginnehållet varierar hos olika fiskslag och är beroende av floran på den intagna födan.

Aschehoug & Vesterhus (1947) fann färre bakterier i magsektionen hos sill än vad Lücke & Schwarz (1937) och Shewan (1944) fann hos kolja och småtorsk. Detta anses bero på att kolja och småtorsk tar sin föda på havsbotten där bakteriebelastningen är mycket hög (Zobell 1946), medan sill äter plankton som förekommer högre upp och i renare vatten.

Fångstmetoderna spelar också en väsentlig roll, när det gäller bakteriebelastningen på nyfångad fisk. Det har visat sig (Lücke & Schwarz 1937) att fisk som fångats med nät och sålunda oftast blir släpad längs havsbotten, har högre bakterietal än fisk fångad med lina. I nätfångad fisk pressas dessutom tarminnehållet ofta ut ur fisken och infekterar huden.

Ur hygienisk synpunkt betydelsefulla bakterier förekommer inte normalt på färsk fisk, men har ibland påvisats på fisk fångad i förorenat vatten (Tjötta & Sommer 1943, Wood 1940). Bakterier som förorsakar matförgiftningar förekommer också på sådan fisk (Griffith 1937). Ett typiskt exempel är ett fall av matförgiftning som ägde rum i Holland och orsakades av rökt ål, förvarad levande i förorenat fiskvatten. Ålarna röktes, men detta var inte tillräckligt för att döda närvarande Salmonella (van den Broeck, 1948).

Clostridium botulinum har redan på 1920-talet påvisats i stör fångad i Kaspiska Havet. Under senare år har Clostridium botulinum, typ E, påvisats i tarminnehåll hos fisk fångad på olika håll. Shewan (1938) fann förutom Cl. botulinum också Cl. sporogenes, Cl. tetani och Cl. bifermentas i maginnehåll hos kolja. 1951 undersökte Prévot & Ruet i vilken mån Cl. botulinum, typ E, förekommer i såväl söt- som saltvattensfisk i Frankrike. Av 176 undersökta fiskar fanns Cl. botulinum typ E i 11 prov från sötvattensfisk. Från Japan rapporterade Nakamura och medarbetare (1956) om toxiska kulturer isolerade från tarminnehåll hos fisk fångad vid ett kustområde där det visat sig att Cl. botulinum typ E är rikt förekommande i bottenslam. Dolman (1957) isolerade Cl. botulinum, typ E, från tarminnehåll hos lax, och nyligen har Johannsen (1962) gjort en mycket omfattande undersökning rörande förekomst av Cl. botulinum typ E längs Sveriges västkust. I fisk fångad i Östersjön har påvisats Cl. botulinum typ E i tarminnehåll från rödspätta.

Mikrobiologisk stabilitet hos fiskhalvkonserver.

Livsmedel konserverade med salt är således ofta begränsat hållbara då salt av smakhänsyn inte kan användas i koncentrationer som helt stoppar all bakterietillväxt. Detta innebär att saltade livsmedel i många fall måste skyddas för bakterieangrepp på annat sätt, t.ex. vid tillsats av andra konserveringsmedel eller genom förvaring vid låga temperaturer.

Våra traditionella skandinaviska fiskhalvkonserver har inte värmebehandlats, men gjorts hållbara en begränsad tid genom hög salthalt, lågt pH och tillsats av konserveringsmedel. Levande bakterier finns alltså i produkterna, och de typer som kan anpassa sig i denna miljö förökar sig om lagringsbetingelserna är lämpliga för deras tillväxt. Genom sin ämnesomsättning förorsakar de förändringar i produkterna som kan vara av önskvärd natur men som oftare leder till förstöring av produkten.

I Tyskland produceras fiskhalvkonserver som går under namnet marinader. Till skillnad från de skandinaviska fiskhalvkonserverna får råmaterialet (i allmänhet sill) mogna i salt + ättiksyra-bad och i vissa fall undergår de en värmebehandling före inläggningen.

Relativt hög salthalt (ca 4-6 %) och lägre pH (4,0-4,5) kännetecknar även dessa produkter.

De vanligaste produkterna i Skandinavien är gaffelbitar framställda av islandssill och ansjovis framställd av skarpsill. Inläggningen av produkterna är i princip lika. Den färska sillen packas i en torrblandning av salt och socker. I den lake som bildas av fiskens kroppsvätska och salt+socker-blandningen får fisken mogna i flera månader innan den filéas och packas på burkar i en sås innehållande ättiksyra, socker och kryddor. pH ligger på 4,9 - 5,1 och salthalt ca 8 %. Dessa två beskrivna typer av fiskhalvkonserver representerar olika miljöer för mikroorganismer att leva i och mikrofloran kan därför variera inom de olika produkterna. Den antas medverka till mogning av sillen (Aschehoug 1951). I vilken mån den bidrar till smak- och arombildning i produkterna är än så länge inte känt. Mikrofloran orsakar också förstöring av halvkonserverna genom gasbildning, om lagringsbetingelserna för växt av de gasbildande typerna är lämpliga. Någon snabb proteolys och nedbrytning av produkterna förekommer sällan, då det låga pH, den höga salthalten och de anaeroba betingelserna hämmar växt av aktivt proteolytiska bakterier.

En rad undersökningar har gjorts, särskilt i Tyskland, på marinadprodukter för att komma underfund med vilka bakterietyper det är som förorsakar gasbildning och hur de har infekterat produkterna.

Kreuzer (1957) undersökte förekomsten av sporbildande bakterier (Mesentericus-Subtilis-gruppen) och fann att de tillfördes marinaderna genom tillsats av kryddor. De tillhör inte de grupper av bakterier som generellt förorsakar bombage, då de inte bildar gas (Prütz 1958). De kan emellertid i så kallade "milda" marinader, av smakmässiga

grunder framställda med högre pH och lägre saltkoncentration, vara medverkande orsak till förstöring av själva produkten. Vidare fastslogs att de bakterier som förorsakar gasbildning inte tillhör de på fisk vanligen förekommande marina psykrofila bakterier. Däremot fanns stora mängder gram-positiva, catalas-negativa stavar av varierande storlek. Dessa bildar gas och tillhör gruppen heterofermentativa Lactobaciller.

Meyer (1956a) har i utförliga undersökningar funnit att bombage i marinader kan orsakas av Lactobaciller, närmare bestämt Betabacterium buchneri (Lactobacillus buchneri) och att dessa bakterier i frånvaro av kolhydrater bildar gas (CO_2) genom decarboxylering av aminosyror, främst glutaminsyra. Prütz (1958) hävdar att dessa bakterier tillföres konserverna genom tillsatta grönsaker. Priebe (1962) undersökte färsk fisk från fångst till landning för närvaro av Lactobaciller och fann att fiskebåtarna i större eller mindre grad var infekterade med dessa bakterier och att fisken därigenom redan på ett tidigt stadium blir belastad med Lactobaciller. De förekommer inte i fiskens inre eller på gälarna och utgör sålunda inte en del av fiskens naturliga flora.

Bakteriologiska undersökningar av mikrofloran i gaffelbitar har utförts av Aschehoug (1951) och Erichsen et al. (1962). Aschehoug fann att bakteriefloran i såväl fisken som i laken ökar under mognadsprocessen och att en ändring äger rum så tillvida att den mogna produkten domineras av Micrococcer, medan ursprungsfloran bestod av marina psykrofila stavar (Achromobacter sp., Pseudomonas sp. och Flavobacterium sp.). Även jästa burkar dominerades av Micrococcerna som är halofila och microaerofila och således finner optimala tillväxtförhållanden i burkarna. Jäst förekommer i råvaran, men tycks inte spela någon roll vid mogningen och deras antal reduceras när sillen packas och lagras i burkar. Anaeroba bakterier kunde inte påvisas. Micrococcerna antas enligt Aschehoug spela en aktiv roll i mognaden av sillen.

Erichsen (ej publ.) konfirmerade de ovan beskrivna resultaten, men fann dessutom i jästa produkter stora mängder gram-positiva catalas-negativa stavar, sannolikt tillhörande Lactobacillerna. Dessa organismer tros vara orsak till gasbildning i produkterna. I prov från en industri befanns de gasbildande Lactobacillerna vara Leuconostoc sp. medan i produkter från en annan producent en annan typ

av Lactobacillus sp. dominerade, vilken ännu inte har närmare typbestämts.

För att förlänga hållbarheten hos fiskhalvkonserver tillsättes i allmänhet konserveringsmedel. En del av de konserveringsmedel, som varit använda för sådana produkter, såsom borsyra och salicylsyra, är numera förbjudna i livsmedel och för närvarande används för det mesta en blandning av hexametylentetramin och benzoesyra. Hexa har visat sig vara i särklass bra som konserveringsmedel för sillhalvkonserver (Erichsen et al. 1962) men kan komma att förbjudas som tillsats till livsmedel, då det visat sig att det i sura media avspaltar formalin, vilket anses innebära hälsorisker.

Hutschenreuter (1956) undersökte verkan av benzoesyra och hexametylenetetramin i marinader och fann benzoesyra inte som man hittills ansett verka konserverande i hela produkten under lagring, utan att den redan efter ett par timmar vandrar in i fiskköttet, och efter 3 dagar återfinns 90 % av benzoesyran där. Detta innebär att benzoesyran verkar konserverande enbart i själva fiskköttet och inte i såsen. Syrakoncentrationen i såsen spelar därvidlag ingen roll.

Hexametylenetetramin spaltas genom ättiksyran, som är närvarande i produktens sås, till formalin och NH_3 . Spaltningen är avhängig av syrakoncentration i såsen, salthalt, lagringstid och temperatur. Tillsättes hexa till ren sås utan fisk sönderdelas enbart 5 % varefter jämvikt inställer sig mellan formalin/hexametylenetetramin. Om fisk lägges i såsen blir bilden en annan. Genom de proteinkomponenter, som genom fisken tillföres, störs den uppnådda jämvikten, det avspaltade formalinet lagras i fiskköttets proteiner och spaltning av hexametylenetetramin till formalin fortgår tills fiskköttet är mättat med formalin, eller inget hexametylentetramin finns kvar i såsen. Detta äger rum långsamt och över en längre lagringstid.

Meyer (1957) provade olika konserveringsmedel i avseende på deras effekt mot glutaminsyredekarboxylerande betabakterier i marinader och fann hexametylenetetramin vara mest verksamt vid pH 4,3 - 4,5 följt av aureomycin, penicillin, terramycin, streptomycin och nisin, alla med ungefär samma verkan. Mindre verksamma var salicylsyra, benzoesyra och sorbinsyra. Nitrat, nitrit, ammoniumsulfat och järnsulfat var enbart verksamma i koncentrationer som inte är användbara i praktiken. De hämmande substansernas verkan var oavhängig av antal närvarande bakterier.

Bramsnaes och Riemann (1952) undersökte en rad olika kemikalier på deras förmåga att öka hållbarheten hos sillhalvkonserver. En blandning av 75 % Na-benzoat + 25 % hexamethylentetramin tillsatt såsen i en mängd av 0,3 % visade sig därvid bättre än en liknande mängd benzoesyra ensam. En kombination av 0,2 % benzoesyra + 0,01 % ethylgallat eller oktylgallat gav också goda resultat, liksom även 1 % ethylgallat ensam. Gallaterna utmärkte sig också genom att hämma härskningen i halvkonserverna.

I en annan undersökning försökte Meyer (1959) att hindra gasbildning i marinader genom tillsats av pentos i stället för hexos (glykos). De senare spaltas av betabakterierna till CO_2 , medan pentos spaltas till mjölksyra och ättiksyra med sänkning av pH som följd. Som pentos användes xylos.

En tydlig ökning av hållbarheten erhöles med 6 % xylos, men bildad syramängd var inte tillräcklig för att helt hindra decarboxylering av aminosyror. I försök med kombinationer av olika konserveringsmedel befanns att bästa verkan erhöles med kombinationen benzoesyra + sorbinsyra. Också kombinationen nisin och sorbinsyra visade bra resultat medan kombinationen benzoesyra och para-oxybenzoesyra-propylester inte rekommenderades. En kombination av xylos och konserveringsmedel gav bättre hållbarhet än vad som var fallet med enbart xylos.

I försök med gaffelbitar utförda av Erichsen et al. (1962) bekräftades den effektiva verkan av hexamethylentetramin. 0,2 % benzoesyra visade sig emellertid också ha en god hämmande verkan på gasbildningen, vilket kan förklaras med att effektiviteten av benzoesyra ökas starkt vid närvaro av salt. Vid en temperatur av 15°C förekom ingen gasbildning i burkarna under en lagringstid av 6 månader.

Möjligheterna att genom bestrålning öka hållbarheten hos gaffelbitar tycks vara begränsade. 300 krad, den högsta dos som kunde användas för att uppnå en organoleptiskt tillfredsställande produkt räcker inte till för att hämma växt av gasbildande bakterier.

I nyare undersökningar (Erichsen, ej publ.) med samma typ av produkt, men från en annan producent erhöles inte samma goda effekt av benzoesyra, vilket kan bero på olikheter i mikrofloras sammansättning i proven. Ökad sockertillsats till såsen i gaffelbitarna åstadkom en hämning av gasbildningen. Prov utan sockertillsats till

såsen visade gasbildning redan efter 2 veckors lagring vid 20°C, medan prov med normal sockertillsats (400 g/l sås) kunde förvaras 4 veckor vid samma temperatur. Ökades sockerhalten i gaffelbitarnas sås till 600 g/l erhöles en hållbarhet på mera än 8 månader vid 20°C. Det är tveksamt om detta kan användas i praktiken, då produkten ur smakhänseende inte blir acceptabel.

Salt som hämmande faktor för hygieniskt betydelsefulla mikroorganismer.

Bakterier som är viktiga ur hygienisk eller hälsosynpunkt visar olika tolerans gentemot salt. *Escherichia coli*, vars närvaro i livsmedel indikerar faecal förorening, har undersökts i avseende på salttolerans (Foda & Vaughn, 1950, Doudoroff 1940 och Zobell et al. 1937). Zobell fann att gamla kulturer av *E. coli* var mycket mera salttoleranta än nya isolerade stammar och dessa i sin tur var mera resistenta än de typer som förekommer naturligt i kloakvatten. Foda testade coliforma bakterier för salttolerans och fann att även om dessa bakterier utan vidare kunde tåla 6,5 % NaCl, så var det först genom stegvis adaptering som de kunde göras saltresistenta. Denna förvärvade resistens förlorades snabbt om bakterierna åter överfördes till ett saltfritt medium. Doudoroff fann att såväl förökningshastigheten som uppmätt maximal cellmängd var lägre i kulturer av *E. coli* som växte i salta medier och att återgång till normal förökningshastighet följde vid överföring till saltfritt medium.

Patton (1957) fann att *E. coli* överlever i salta lakar från bacon och att lösligt protein i laken utövar en skyddande verkan på dessa organismer.

Faecala streptococcer har visats tåla ganska höga saltkoncentrationer, några stammar har befunnits tåla ända upp till 10,5 %. De förekommer ofta på saltade livsmedel (Ingram & Barnes, 1955, Cavett 1962) i synnerhet kött. I lakar som används för saltning av skinka fann Riemann (1957) att faecala streptococcer överlever, och om en ständig tillförsel genom reinfektion äger rum kan antalet i sådana lakar bli rätt stort. De är tämligen värmeresistenta och laken måste värmas till ganska höga temperaturer för att antalet skall kunna reduceras. Vid den saltkoncentration som fanns i laken (17-24 % NaCl) försiggår ingen växt av streptococcer, men om lakens salthalt sjunker under 9-10 % kan de växa.

Staphylococcus aureus, som kan ge upphov till matförgiftningar har även den visat hög resistens mot salt. Dess optimala salt-

koncentration ligger på 0,6 M, men den kan i vissa fall växa i 3 M saltlösningar (Nunheimer et al. 1940). I försök som gjorts med ympning av aktiva kulturer av *S. aureus* i gaffelbitar innehållande en saltkoncentration i laken av ca 8 % har emellertid ingen tillväxt av bakterierna erhållits (Erichsen (ej publ.))

Clostridium botulinum-toxin har påvisats såväl i salt kött som i salt fisk. Van Ermengen (1897) påvisade toxin i näringsbuljong med 5 % NaCl eller mera. I försök med saltat kött inokulerat med *Cl. botulinum*, påvisades toxinbildning utan organoleptiska förändringar då salthalten var 6,25, 7,09 och 7,12 % (Greenberg & Silliker 1959). Skinka som behandlats med salt befanns kunna uppvisa stora variationer i salthalten i olika delar genom fördröjd diffusion i produkten. Salthalten i sådana produkter bör därför enligt Greenberg et al. beräknas så att växt och toxinbildning förorsakad av *Cl. botulinum* ger sig till känna genom tydliga organoleptiska förändringar, d.v.s. den bör ligga antingen under 6,25 % där produkten snabbt förstörs av saprofytiska typer, eller över 9 %, där ingen toxinbildning äger rum.

En salthalt på 6 % är enligt Johanssen (1962) tillräcklig för att hämma växt och toxinbildning av *Cl. botulinum* typ E i olika fiskprodukter. *Cl. botulinum* typ E har visat sig mera känslig mot höga saltkoncentrationer än typ A och B (Pedersen 1957).

Göteborg juni 1963.

2067/63-VF

Litteraturförteckning

- Anderson, H. 1954
The reddening of salted hides and fish.
Appl. Microbiology 2, 64
- Aschehoug, V. and Vesterhus, R. 1943
Investigations of the bacterial flora of fresh herring.
Zbl. f. Bakteriologie, Teil II 106, 5
- Aschehoug, V. 1951
The bacteriology of semi-sterile fish preserves, especially "Gaffelbiter" and "Anchovis".
2nd Internat. Congr. on Canned Foods, XXXVIII, Paris
- Aschehoug, V. and Vesterhus, R. 1947
Bacteriological investigation on spoilage of winter herring during storage.
Food Research 12, 55
- Baumgartner, J.G. 1937
The salt limits and thermal stability of a new species of anaerobic halophile.
Food Research 2, 321
- Baxter, R.M. and Gibbons, N.E. 1956
Effect of NaCl and KCl on certain enzymes of *M. halodenitrificans* and *P. salinaria*.
Canadian J. Microbiology 2, 599
- Beckwith, T.D. 1911
The bacteriological cause of the reddening of cod and other allied fish.
Zbl.f.Bakteriologie, Teil I, 60, 351
- Bramsnaes, F. og Riemann, H. 1952
Forsög med konserveringsmidler i gaffelbidder.
Konserveres 10, 29
- Broeck, van den, C.J.H. 1948
Onderzoek naar de Bactericide Werking van het Paling roken.
Publ. no. 72, Utrecht. Centraal Inst. v. Voedingsonderzoek. T.N.O.
- Castell, C.H. and Mapplebeck, E.G. 1950
The value of some disinfectants and the use of H₂O in the destruction of red halophiles.
J. Fish. Res. Bd. Canada. Progr. Rept., Atlantic Coast. 50, 88
- Castell, C.H. 1950
Destruction of red halophile bacteria in solar salts.
J. Fish. Res. Bd. Canada. Progr. Rept, Atlantic Coast 50, 9
- Cavett, J. 1962
The microbiology of vacuumpacked, sliced bacon.
J.Appl Bact. 25, 2

- Christian, J.H.B. 1956
The physiological basis of salt tolerance in halophilic bacteria.
Dissertation, Cambridge.
- Clayton, W. and Gibbs, W.E. 1927
Examination of halophilic micro-organisms.
The Analyst 52, 395
- Cloake, P.C. 1923
Red discoloration, so called "pink" or "pinkeye", on dried, salted fish.
Fd. Invest Bd. Spec. Rept. 18
- Cobb, J.N. 1927
Pacific cod fisheries.
Docum.US. Bur. Fisheries No. 1014, 457
- de Silva, N.N.
A study of the bacteriology of the North Sea herring and the effects of certain antibiotics such as chlorotetracyclin on the flora and spoilage characteristics of such herring.
Thesis, University of Aberdeen, 1960
- Dolman, C.E. 1957
Type E (fish borne) botulism: a review.
Jap. J. Med. Science and Biology 10, 383
- Doudoroff, M. 1940
Experiments on the adaptation of Escherichia coli to sodium chloride.
J. Gen. Physiology 23, 585
- Dussault, H.P. 1953
Effect of prolonged storage on the fate of red halophilic bacteria in contaminated salt.
J. Fish Res. Bd. Canada Progr. Rept. Atlantic Coast 55, 7
- Dussault, H.P. and Lachance, R.A. 1952
Improved medium for red halophilic bacteria from salt fish.
Fish Res. Bd. Canada 9, 157
- Dyer, Feances, F. 1947
Micro-organisms from Atlantic cod.
J. Fisheries Res. Bd. Canada 7, 128
- Elizari-Volcani, B. 1940
Studies on the microflora of the Dead Sea.
Dissertation, Hebrew Univ., Jerusalem
- Erichsen, I. Molin, N. and Teär, J. 1962
On the microflora in semipreserved fish products. I. The effect of low temperature preservatives and irradiation on gas formation in canned tidbits and studies on the microflora present.
Proceed. First Int. Congress on Food Sci. Tech. London 1962

- Ermengen, van, 1897
De l' étiologie du botulisme.
Compte Rendu. Soc. de biol. 10 ser.
4, 155
- Foda, I.C. and Vaughn, R.H. 1950
Salt tolerance in the genus *Aerobacter*.
Food Technology
Champaign 4, 182
- Georgala, D.L. 1957
Changes in the skin flora of cod.
J. Appl. Bacteriology 20, 1, 23
- Gibbons, N.E. 1936
Bacteria associated with reddening of
salt fish.
J. Biol. Bd. Canada 3, 70
- Gibbons, N.E. 1957
The effect of salt on the metabolism
of halophilic bacteria.
Proceedings 2nd Internat. Symp. on
Food Microbiology 69, Cambridge
- Golikowa, S.M. 1930
Eine Gruppe von obligat halophilen
Bakterien, gezüchtet in Substraten
mit hohem NaCl-gehalt.
Zbl. f. Bakteriologie, Teil II, 80, 35
- Greenberg, R.A. and Silliker, J.H.
1959
The influence of NaCl on toxine pro-
duction and organoleptic breakdown
in perishable cured meat inoculated
with *Cl. bot.*
Food Technology 13, 509
- Griffith, F.P. 1937
A review of the bacteriology of fresh
marine fishery products.
Food Research 2, 121
- Hanzawa, H. and Takeda S. 1931
On the reddening of boned cod fish.
Arch. f. Mikrobiologie 2, 1
- Harrison, F.C. and Kennedy, M.E.
1922
The red discoloration of cured cod
fish.
Trans. Roy. Soc. Canada 16, 101
- Harrison, F.C. 1929
The discoloration of halibut.
Canadian J. Research 1, 214
- Hess, E. 1932
The influence of low temperature
above freezing upon rate of autolysis
and bactericidal decomposition of
haddock muscle.
Contrib. Can. Biol. and Fisheries. 7,
147
- Hess, E. 1942
Studies on salt fish, VIII. Effects
of various salts on preservation.
J. Fish. Res. Bd. Canada 6, 1-9

- Hess, 1942
Studies on salt fish X. Effect of disinfectants and preservatives on red halophilic bacteria.
J.Fish. Res. Bd. Canada 6, 17
- Hof, T. 1935
Investigations concerning bacterial life in strong brines.
Ree. Trav. bot. neerl. 32, 92
- Horowitz-Wlassowa, L.M. 1931 a
Ueber die Rolle der Bakterienflora der Lake beim Pökeln mit Berücksichtigung der Frage der Halophilie in der Bakterienwelt.
Z. Untersuchung. Lebensmitt. 62, 569
- Hutschenreuter R. 1956
Beitrag zur Metodik der Konservierungsmittelbestimmung in fischindustriellen Erzeugnissen.
Zeitschr. f. Lebensmittelunters. u. Forschung 104, 3 161
- Ingram, M. and Barnes, E. 1955
Streptococci in pasteurized canned hams.
Ann. Inst. Pasteur, Lille 7, 101
- Johannesen, A. 1962
Förekomst och utbredning av Cl. bot. typ E med särskild hänsyn till Öresundsområdet.
Nordisk Veterinärmedicin 14, 441
- Katznelson, H. and Robinson, J. 1955
Observations on the respiratory activity of certain obligately halophilic bacteria with high salt requirements.
J. Bacteriology 71, 244
- Kreuzer, R. 1957
Untersuchungen über den biologisch bedingten Verderb von Fischwaren und seine Verhinderung.
I. Kaltmarinaden, Organismen und Milieu.
Arch. f. Fischereiwissenschaft 8, 104
- Liston, J. 1956
Quantative variations in the bacterial flora of flat fish.
J. General Microbiology 15, 305
- Liston, J. and Shewan, J.M. 1957
Bacteria brought into the brine on fish.
Proceed. 2nd. Internat. Symp. Food. Microbiol. 35, Cambridge
- Liston, J. 1960
The bacterial flora on fish caught in the Pacific.
J. Applied Bacteriology 23, 3 469

- Lochhead, A.G. 1934
Bacteriological studies on the red discoloration of salted hides.
Can. J. Res. 10, 275
- Lücke Fr. and Schwartz W. 1937
Mikrobiologische Untersuchungen an See-
fischen.
Arch. Mikrobiologie 8, 207
- Meyer, V. 1956 a
Probleme des Verderbens von Fischkon-
serven in Dosen.
II. Aminosäuredecarboxylase durch Or-
ganismen der Betabacterium Buchneri-
Gruppe als Ursache bombierter Marina-
den.
Veröff. Inst. f. Meeresforschung,
Bremerhaven. IV, 1-16
- Meyer, V. 1957
Probleme des Verderbens von Fisch-
konserven in Dosen.
IV. Die Wirkung verschiedener Kon-
servierungsmittel, Antibiotica und
anderer Hemmstoffe auf die Aminosäuren-
Decarboxylierung durch Organismen der
Betabacterium Buchneri-Gruppe.
Veröff. Inst. f. Meeresforschung,
Bremerhaven. 113
- Meyer, V. 1959
Zur Frage der Haltbarkeitsverlänge-
rung von Kaltmarinaden in Dosen.
Archiv. f. Fischereiwissenschaft 10, 3
216
- Nakamura, Y., Iida, H., Saeki, K.
and Karashimada, T. 1956
Type botulism E in Hokkaido, Japan.
Jap. J. Science and Biology 9, 45
- Nunheimer, T.D., Fabian, F.W. 1940
Influence of organic acids, sugar and
NaCl upon strains of food poisonous
staphylococci.
Am. J. Publ. Health 30, 1040
- Patton, J. 1957
Observations of coliform bacteria in
bacon-curing brines.
Proceed. 2nd Internat. Symp. on Food
Microbiology, 271, Cambridge.
- Pedersen, H.O. 1957
The survival of Clostridium botulinum
in curing brines.
Proceed. 2nd Internat. Symp. on Food
Microbiology, 289, Cambridge.
- Penso, G., Ortali, V. and Gori, G.B.
1957
Contribution to the morphological
and biochemical study of halophilic
bacteria.
Proceed. 2nd Internat. Symp. on Food
Microbiology 21, Cambridge.

- Petrowa, E.K. 1933 Mikrobiologie des Kochsalzes.
Arch. f. Mikrobiologie 4, 326
- Prévot, A-R and Huet, M. 1951 Existence en France du Botulisme
humain d'origine pisciaire et de
"Cl. botulinum" E.
Bull. Acad. Nat. Med. 25, 26 432
- Priebe, K. 1962 Zur Frage der Herkunft von Betabakte-
rien (Laktobakterien) bei Heringsmarina-
den.
Archiv. f. Lebensmittelhygiene 13,12 278
- Proctor, B.E. and Nickerson, J.T.R. 1953 An investigation of the sterility of
fish tissues.
J.Bact. 30, 377
- Prütz, K.H. 1958 Die Ursache von Bombage in Konserven.
Vet. Dissertation, Berlin.
- Reay, G.A. and Shewan, J.M. 1949 The spoilage of fish and its preserva-
tion by chilling.
Advances in Food Research 2,343
- Riemann, H. 1957 The survival of some group D Strepto-
cocci in ham-curing brines.
Proceed. 2nd Internat. Symp. on Food
Microbiol. 263, Cambridge.
- Robertson, M.E. 1931 Note on the cause of certain red colo-
rations on salted hides and a comparison
of the growth and survival of halophilic
and salt-loving organisms and some or-
dinary organisms of dirt and putrefaction
on media of varying salt concentrations.
J.Hygiene 31, 84
- Robertson, M.E. 1932 "Red heat", its causes and prevention.
J.Intern. Soc. Leathers Trade Chemists
16, 564
- Rubentschik, L. 1929 Zur Frage der aeroben Zellulosenzer-
setzung bei hohen Salzkonzentrationen.
Zbl. f. Bakteriologie, Teil II, 76, 305
- Sanborn, J.R. 1932 Marine bacteria commonly found on fresh
fish. J. Bact. 23, 349
- Schoop. G. 1935 Obligat halophile Mikroben
Zbl. f. Bakteriologie, Teil I, 134, 14
- Shewan, J.M. 1938 The reddening of salt fish.
Rep. Fd.Inv. Bd., London 113
- Shewan, J.M. 1938 The strict anaerobes in the skin and
intestines of the haddock.
J. Bacteriology 35, 397
- Shewan, J.M. 1942 Some bacteriological aspects of the
handling, production and distribution
of food.
Chemistry and Industry (Rev.), 61, 312

- Shewan, J.M. 1944 The bacterial flora of some species of marine fish and its relation to spoilage. Proc. Soc. Agr. Bact. (Abstracts) p.56
- Shewan, J.M. 1949 Some bacteriological aspects of handling, processing and distribution of fish. J. Roy. Sanit. Inst. 69, 394
- Smith, W.W. 1936 Evidence of a bacterial flora indigenous to the Great Salt Lake. Thesis, Univ. of Utah, Salt Lake City, Utah, USA
- Snow, J.E. and Beard, P.J. Studies on the bacterial flora of North Pacific salmon. Food Research 4, 563
- Stewart, M.M. 1832 The bacterial flora of the slime and the intestinal contents of the haddock. (*Gadus aeglefinus*) J. Mar. biol Ass. U.K. 18, 35
- Stuart, L.S. 1938 Isolation of halophilic bacteria from soil, water and dung. Food Research 3, 417
- Stuart, L.S., Frey, R.W. and James, L.H. 1933 Microbiological studies of salt in relation to the reddening of salted hides. Tech. Bull. U.S. Dept. Agr. no. 383
- Tjötta, T. and Sommer, O.M. 1942 The bacterial flora of normal fish. Skrifter av Norske Videnskabselskab, Oslo I Mat. Natur Klasse no. 4
- Venkataraman, R. and Sreenivasan, A. 1954 Studies on the red halophilic bacteria from salted fish and salt. Proc. Indian Acad. Sci. 39, 1 sec. B, 17
- Venkataraman, R. and Sreenivasan, A. 1956 Further studies on the red halophilic bacteria from solar salts and salted fish. Proc. Indian Acad. Sci. 43, Sec. B, 197
- Venkataraman, R. and Sreenivasan, A. 1955 The red halophilic content of some common salts. J. Sci and Ind. Res. 14, Sec. B, 606
- Wood, E.F.J. 1940 Studies on the marketing of fresh fish in Eastern Australia. Part 2. The bacteria of spoiling marine fish. Commonwealth of Australia Council for Sci. and Ind. Res. Div. of Fisheries. Rept. no. 3

Zobell, C.E., Anderson, D.Q. and
Smith, W.W. 1937

The bacteriostatic and bactericidal
action of Great Salt Lake Water.
J. Bacteriology 33, 253

Zobell, C.E. 1946

Marine Bacteriology, Chronica Botanica.
Co. Waltham, Mass.