

Økt kunnskap om muggsopp og lukt ved tørrfiskproduksjon

Faglig sluttrapport



Illustrasjon: Nofima

Nofima er et ledende matforskningsinstitutt som driver med forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien. Vi leverer internasjonal anerkjent forskning og løsninger som gir næringslivet konkurransefortrinn langs hele verdikjeden.

«Bærekraftig mat til alle» er vår visjon.

Kontaktinformasjon

Telefon: 77 62 90 00

post@nofima.no

www.nofima.no

NO 989 278 835 MVA



Hovedkontor Tromsø

Muninbakken 9–13

Postboks 6122

NO-9291 Tromsø



Stavanger

Måltidets hus

Richard Johnsensgate 4

Postboks 8034

NO-4068 Stavanger



Sunndalsøra

Sjølsengvegen 22

NO-6600 Sunndalsøra



Ås

Osloveien 1

Postboks 210

NO-1433 ÅS



Bergen

Kjerreidviken 16

Postboks 1425 Oasen

NO-5844 Bergen

Rapport

<i>Rapportnummer:</i> K/60-2022	<i>ISBN:</i> 978-82-8296-	<i>ISSN:</i> 1890-579X
<i>Dato:</i> 28. juni 2022	<i>Antall sider</i> 22	<i>Prosjektnummer:</i> 13049
<i>Tittel:</i> Økt kunnskap om muggsopp og lukt ved tørrfiskproduksjon		
<i>Title:</i> Increased knowledge regarding fungi and volatile compounds in production of stockfish		
<i>Forfatter(e):</i> Cathrine Finne Kure, Ida Skaar, John Erik Haugen		
<i>Avdeling:</i> Trygg og Holdbar mat		
<i>Oppdragsgiver:</i> FHF		
<i>Eksternt prosjektnummer/Oppdragsgivers ref.:</i> FHF 901621		
<i>Stikkord:</i> Muggsopp, tørrfisk, lukt		
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> Se kap 1.1		
<i>English summary/recommendation:</i> See chapter 1.2		

Forord

Prosjektet har vært finansiert av Fiskeri og havbruksnæringens forskningsfond (FHF) og med egeninnsats fra tørrfisk produsenter. FHF har vært i kontinuerlig dialog med prosjektleder og deltagere, og prosjektet har vært invitert og deltatt på flere av FHF's møter for ressursgruppe for tørrfisk.

Etter ønske fra produsentene i prosjektet har prosjektet ikke vært offentlig omtalt.

Contents

1	Sammendrag (både på norsk og engelsk)	1
1.1	Sammendrag	1
1.2	Summary	1
2	Innledning	3
2.1	Faglig bakgrunn	3
2.2	Prosjektets omfang	3
2.3	Prosjektorganisering	3
3	Problemstilling og formål	4
3.1	Prosjektets resultatmål	4
3.2	Prosjektets effektmål	4
4	Prosjektgjennomføring	6
5	Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon	8
5.1	Muggsopp på tørrfisk	8
5.2	Lukt fra hoder og rundfisk på hjell	16
6	Hovedfunn	17
7	Leveranser	18
8	Referanser	19

1 Sammendrag (både på norsk og engelsk)

1.1 Sammendrag

Tørrfiskprodusenter erfarer at det vokser mugg på fisken ute på hjell og når fisken lagres. Det var lite kunnskap om hvilke typer mugg som vokste på tørrfisken og potensialet disse har for å produsere mykotoksiner. Målet med prosjektet har derfor vært å øke kunnskapen om muggsopp på tørrfisk inkl. hvilke typer muggsopp som dominerer, under hvilke betingelser de vokser, om de kan produsere mykotoksiner og hvilke tiltak som kan gjøres for å begrense konsekvensene av vekst av mugg på tørrfisk. Det finnes lite objektiv dokumentasjon mht luktproblematikken relatert til tørrfisk-hoder. Det var derfor også en målsetting i prosjektet å kartlegge forskjell i lukt på tørrfisk (rundfisk) og tørrfisk-hoder i ulike faser av produksjonen.

Muggsopp fra tørrfisk på hjell og fra tørrfisk på lager ble isolert og muggsoppen ble identifisert. Resultatene viste at det var stor diversitet i typer mugg på tørrfisk på hjell. I alt ble det funnet 25 slekter og til sammen 43 ulike arter muggsopp. Det var ingen enkelt type mugg som dominerte og kun noen få av de kan produsere mykotoksiner, og representerer en neglisjerbar risiko for mykotoksin i fisken. Muggsopp som vokser på tørrfisken når den kommer på lager er dominert av en gruppe muggsopp, *Aspergillus glaucus* group. Dette er en muggsopp som kan vokse på tørre produkter og er således forventet å finne. Det er ikke kjent at denne gruppen muggsopp produserer mykotoksiner.

For å unngå vekst av muggsopp på tørrfisk på hjel og på lager er det foreslått forebyggende tiltak. God tørk er viktigste tiltak både ute og inne. På lager er det viktig å kontinuerlig overvåke fisken og fjerne synlig mugg så tidlig som mulig slik at den ikke får utvikle seg videre og sprer seg til annen fisk.

Luktanalyser viste at det var stor variasjon i flyktige (og luktaktive) forbindelser fra hoder og rundfisk. Mengden flyktige komponenter økte med hengetid. Det var små forskjeller i flyktige forbindelser mellom hoder og rundfisk. Det ble påvist enkelte forbindelser som forekom kun i hoder og kun i rundfisk. Det er ikke tilstrekkelig grunnlag for å kunne konkludere entydig at hoder lukter mer og forskjellig fra rundfisk.

1.2 Summary

Stockfish producers experience sometimes growth of moulds on the fish when its dried outside and when its stored inside. Little was known about which moulds that dominate on the fish and if some of them where able to produce mycotoxins. The project goal was therefore increased knowledge about moulds on stockfish and preventative measures. There was also little knowledge about differences in volatile compounds from stockfish whole fish and fish heads. The aim of the project was to map the difference in volatile compounds from whole fish and fish heads.

Moulds from stockfish outside and from the storage room inside, were isolated and identified. From fish from outside drying, 25 mould genus and 43 different mould species were identified. There was no dominating species and only a few of the species had the ability to produce mycotoxins. *Aspergillus glaucus* group dominated on stockfish that had been dried inside and stored inside. This mould group has the ability to grow on dried products and is hence expected to find. Its is not known that this group produce mycotoxins.

To avoid growth of moulds on fish when dried outside and later dried and stored inside, some preventative measures are suggested. Good drying outside and inside in storage room is the most important preventative measure. In the storge room, small mould colonies should be removed carefully in order to prevent mould spores to contaminate other fish.

Analysis of smell metabolites showed large variation in volatile compounds in heads and whole fish. The amount of volatile compounds increased with increased drying time. It was small differences in volatile compounds between whole fish and heads. Some compounds were only isolated from heads and some only from whole fish. There is not

2 Innledning

2.1 Faglig bakgrunn

Tørrfisk er et produkt som har lang tradisjon i Norge. Tørrfisk produseres for det meste i Lofoten og Vesterålen. Det produseres årlig ca. 5000 tonn hel tørrfisk, hvorav ca. 2500 tonn eksporteres til Italia.

Produksjonsprosessen er basert på erfaring gjennom mange år. Fisken fanges i perioden februar til april og henges deretter på hjell ute for å tørke. Slik henger fisken i 3-4 mnd før den tas inn og tørkes videre på lager til den når et vanninnhold på ca. 21 %. Tørketiden for rund fisk og hoder avhenger av værforholdene på stedet, spesielt temperatur, luftfuktighet og vind. Enkelte år kan det vokse fram sorte prikker på tørrfiskens mens den henger ute til tørk. På folkemunne blant produsentene er dette bare kalt "Svarte prikka" og som er muggsopp. Når disse prikkene først har vokst frem på overflaten av fisken forblir de der inntil fisken evt. blir så tørr at disse prikkene kan børstes av overflaten. I tillegg kan det oppstå «Grønne prikka» under etterlagring når tørrfisk er tatt inn fra hjell. Dette skyldes oppvekst av ulike typer muggstammer. Noen muggsopp kan produsere giftstoffer, mykotoksiner, når de vokser på mat. Vekst av muggsopp er en kvalitetsutfordring, men kan også representere et mattrygghetsproblem hvis muggsoppen som dominerer på tørrfisk kan produsere mykotoksiner.

Det er krav om at matprodusenter skal ha en HACCP plan og da er det nødvendig å ha kunnskap om hvilken type muggsopp som dominerer på produktet og om denne er toksinproduserende. Det er ikke tidligere gjort studier av hvilken type muggsopp som vokser på tørrfisk i ulike faser av produksjonen og det var derfor behov for å identifisere muggsopp som dominerer på tørrfisk i de ulike produksjonsfasene og hvilke vekstbetingelser disse har. Kunnskapen i prosjektet danner grunnlaget for å komme med anbefalinger til produsentene for å redusere vekst av muggsopp og hvordan muggsopp på tørrfisk bør håndteres.

Det finnes lite objektiv dokumentasjon mht luktproblematikken relatert til tørrfisk-hoder. Tidligere kunne fiskehodene bli liggende en stund før hending, noe som kunne bidra til «plagsom lukt». Erfaringsmessig er oppfatningen at hoder skal ha en sterkere lukt enn rund fisk som henger til tørk (pers. kom. produsenter av hoder). Men dette er til dags dato ennå ikke blitt dokumentert i form av målinger. Det er derfor behov for å utføre en systematisk undersøkelse mht luktproblematikken i form av analyse av flyktige luktstoffer som avgis fra både rund fisk og hoder som henger til tørk fra samme lokalitet i ulike faser av tørkesesongen.

2.2 Prosjektets omfang

Prosjektet har hatt en varighet på 2 år og 2,5 mnd med oppstart 6. april 2020 og avslutning 16. juni 2022, med et budsjett på 1 million kroner.

2.3 Prosjektorganisering

Nofima har vært prosjektleder ved seniorforsker Cathrine Finne Kure.

Prosjektgruppen har ellers bestått av Professor/seniorforsker Ida Skaar, Veterinærinstituttet, seniorforsker John-Erik Haugen, Nofima. Forsker Anlaug Ådland Hansen, forsker Sjurdur Joensen og forsker Bjørn Tore Rotabakk, Nofima, har vært med i Ap 3. FHF's ressursgruppe tørrfisk har fungert som en styringsgruppe. I tillegg har flere bedrifter vært invitert med på ressursgruppemøtene når prosjektet har vært diskutert.

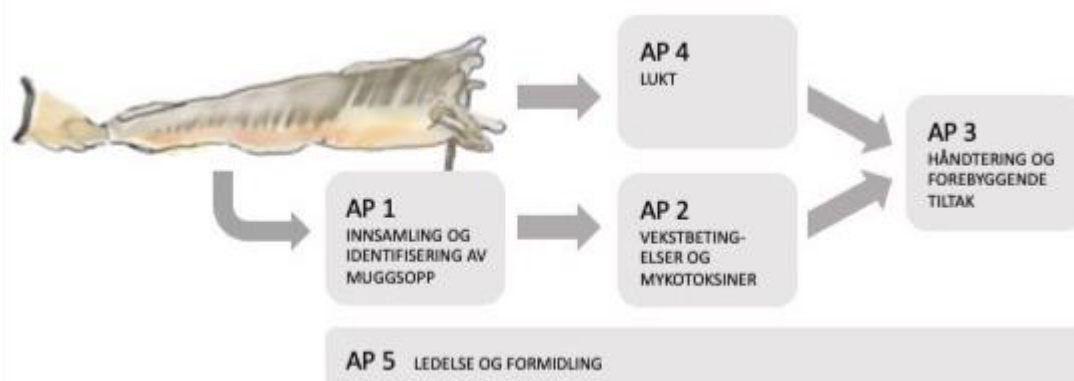
3 Problemstilling og formål

3.1 Prosjektets resultatmål

Målsettingen med prosjektet var å øke kunnskapen om muggsopp på tørrfisk inkl. hvilke typer muggsopp som dominerer, under hvilke betingelser de vokser, om de kan produsere mykotoksiner og hvilke tiltak som kan gjøres for å begrense konsekvensene av vekst av mugg på tørrfisk. Det er var også en målsetting å kartlegge forskjell i lukt på tørrfisk (rundfisk) og tørrfisk-hoder i ulike faser av produksjonen.

Delmål

- Identifisere muggsopp på tørrfisk (rundfisk) i ulike faser av produksjonen og således kartlegge hva som er problemmuggsoppen (Arbeidspakke (AP) 1)
- Undersøke vekstbetingelser for den hyppigst forekommende muggsopptypen og undersøke om den kan danne mykotoksiner og evt. under hvilke betingelser den gjør det (AP 2)
- Foreslå forebyggende tiltak for å begrense negative konsekvenser av muggsoppvekst på tørrfisk (AP 3)
- Kartlegge luktforskjell mellom tørrfisk-hoder og tørrfisk i ulike faser av produksjonen (AP 4)



Figur 1 Skjematisk fremstilling av aktivitetene og sammenhengen mellom arbeidspakkene i prosjektet

3.2 Prosjektets effektmål

- Gi norsk tørrfiskbransje økt kunnskap om muggsopp som vokser på tørrfisk i ulike faser av produksjonen
- Avklare betydningen av vekst av muggsopp i et mattrygghetsperspektiv
- Gi tørrfiskbransjen råd om hva som kan gjøres for å begrense vekst av muggsopp og hvordan fisk med synlig muggvekst skal håndteres
- Avklare om det er luktforskjell mellom hengt tørrfisk og tørrfisk-hoder gjennom en produksjonssesong
- Gi tørrfiskbransjen kunnskap som vil bidra til å opprettholde eller øke konkurransekraften til bransjen innenlands og for eksportmarkedet

Næringen opplever av og til problemer med muggvekst på tørrfisk. Dette er ikke noe nytt, men det har ikke tidligere vært undersøkt hva slags muggtype som dominerer, eller gjort noen systematisk studie av hva som evt. kan gjøres for å redusere dette problemet. Ved oppvekst av mugg på tørrfisk kan det være en risiko for mykotoksiner og ved prosjektoppstart var det ikke kunnskap om veksten av mugg kun var et kvalitetsproblem eller om det kunne være knyttet en mattrygghetsutfordring. Det var derfor viktig for næringen å få mer kunnskap om dette slik at næringen vet hva slags muggsopp som dominerer og om det evt. er noen risiko forbundet med det. Dette er kunnskap som vil komme hele næringen til gode

og som vil være viktig i kommunikasjon med mattilsynet, kunder, forbrukere og kan ha betydning for omdømmet til næringen.

Kunnskap fra prosjektet vil sammen med erfaringer fra produsentene gi råd om hvordan det kan være mulig å redusere oppvekst av mugg basert på type mugg som dominerer og dens vekstbetingelser. Hvis det er kommet muggvekst er det også behov for å vite hvordan man fjerner mugg fra overflaten på en best mulig måte med minst mulig risiko for de som håndterer fisken og for forbruker.

Prosjektet vil gi næringen objektiv informasjon om lukt fra hoder og rundfisk. Dette vil gi produsenter og forvaltningen dokumentasjon i forhold til diskusjoner relatert til luktproblematikk og tørrfisk produksjon.

4 Prosjektgjennomføring

Under følger en beskrivelse av metodikken benyttet i de ulike Arbeidspakkene (AP) og hvordan gjennomføringen har vært.

AP1: Muggsopp på tørrfisk

Mål: Kunnskap om hva som er den assosierte muggfloraen på tørrfisk i ulike faser av produksjonen

Innsamling av mugg fra tørrfisk i ulike faser av produksjonen.

Noen hele tørrfisk fra hjell og fra lager ble sendt til laboratoriet for å identifisere hvilke muggsopptyper som vokste på tørrfisken. Det ble tatt ut et utvalg kolonier fra øverste del av fisken nærmest hodet, fra to områder på midtstykket og fra området nærmest halen. Koloniene ble sådd ut på et generelt dyrkningsmedium (MEA/DG 18) og inkubert 7 dager ved 25°C for å identifisere type muggsopp.

Det ble også tatt prøver av tørrfisk fra hjell og på lager med en tape metode. Et stykke tape, 13 cm x 8 cm, ble lagt på overflaten av fisken for å få et avtrykk av muggkoloniene på fisken. Et brukervennlig prøvetakingsopplegg ble laget slik at produsentene kunne ta prøver av fisken på egenhånd og sende til laboratoriet. Tapen ble «podet» over på vekstmedium og videre inkubert 7 dager ved 25°C for identifisering av muggsoppene som vokste opp. Det ble tatt ut et utvalg av koloniene til identifisering.

Identifisering av muggsopp samlet inn fra tørrfisk i ulike faser av produksjonen

Muggsopp ble identifisert ved bruk av tradisjonelle mykologiske metoder med dyrkning på ulike vekstmedier og analysering av muggsoppen i mikroskop (Samson 2010). I tillegg er det benyttet -ITS-sekvensering (Rico-Munoz, Samson, and Houbraken 2019).

På grunn av koronapandemien ble ikke prøver av fisk på anleggene tatt av forsker i prosjektet. Det ble isteden benyttet en tape metode (som beskrevet over) som kunne brukes av ansatte på anleggene. For å få tilstrekkelig data ble det analysert mange kolonier fra hver prøve. Resultatene var entydige, og det var derfor ikke nødvendig å utvide med flere prøver.

AP2. Vekstbetingelser og evt toksinproduksjon for den/de hyppigst forekommende muggsoppene på tørrfisk

Mål: Kunnskap om betingelser for vekst og mykotoksinproduksjon for de viktigste muggsoppene på tørrfisk

T2.1. Vekstbetingelser for tørrfiskens assosierte flora

Siden prøvetilfanget ble lavere enn planlagt og diversiteten høyere enn forventet klarte vi ikke å fastslå assosiert flora/dominerende muggsopp typer til tørrfisk på hjell. Det mikrobiologiske bildet av fisk på lager var noe mer entydig, men antall prøver var fortsatt lavt. De soppene som dominerte på lagret fisk er godt kjent på mat med lav vannaktivitet og vi valgte derfor å forholde oss til litteraturstudier i denne arbeidspakken.

T2.2. Toksinproduksjon

Det var få påviste arter både fra fisk på hjell og fra lager som produserer kjente mykotoksiner. Vi valgte derfor å forholde oss til litteraturstudier også i denne arbeidspakken.

AP3: Forebyggende tiltak for reduksjon av muggvekst og tiltak for å begrense negative konsekvenser av muggveksten

Basert på kunnskap fra AP 1 og AP 2 ble det foreslått noen forebyggende tiltak for å redusere muggveksten, og tiltak under evt fjerning av mugg fra fisk.

AP4: Lukt fra hoder og rundfisk på hjell

Mål: Å kartlegge luktforskjell mellom tørrfisk-hoder og tørrfisk i ulike faser av produksjonen

Gassprøvetaking og analyse av flyktige komponenter

For oppsamling av flyktige komponenter på hjell, ble det benyttet en Markes ActiVoc feltpumpe koblet til et kull adsorbentør som igjen var koblet til en plasttrakt, som var tredd på fiskehodet. Det ble samlet opp gass på adsorbent med en pumpehastighet på 250 ml/min over 10 min, totalt 2,5 liter (Figur 2).



Figur 2. Oppsamling av flyktige komponenter fra hode på hjell.

Analyse av flyktige komponenter

Adsorbentene med prøver ble overført til en Markes termisk desorpsjonsenhet der de flyktige komponentene ble desorbert ved 280 °C i 5 minutter i en og overført til en Agilent 6890 gasskromatograf med et Agilent 5973 massespektrometer (EI, 70eV). De flyktige komponentene ble separert på en DB-WAXetr-kolonne (30 m, 0,25 mm i.d., 0,5 µm film) med et temperaturprogram som startet ved 30 °C i 10 minutter, økende 1 °C / min til 40 °C, 3 °C / min til 70 °C, og 6,5 °C / min til 230 °C, med en holdetid på 5 min.

5 Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

5.1 Muggsopp på tørrfisk

AP 1: Muggsopp på tørrfisk

Mugg på tørrfisk på hjell

Det ble isolert mange slekter muggsopp på tørrfisk på hjell. Mange av disse er å forvente å finne, men det er også funnet muggsoppslekter som ikke var forventet. Det er for eksempel uventet at vi ikke har funnet *Wallemia spp* (brunmidd), som regnes som vanlig på tørrfisk.

Det er overraskende stor diversitet både på slekts- og artsnivå og viser at det er mange typer muggsopp som klarer å vokse på tørrfisk ute på hjell. Tabell 1 viser muggsoppslektene som ble påvist i denne undersøkelsen fra tørrfisk på hjell, og om den er funnet ved hodet, på ryggstykket (øverst mot hodet eller nederst mot halen) og ved halen. Tabell 2 er tilsvarende tabell, men den viser også hvilke arter innen hver slekt som er funnet. Vi påviste 43 ulike arter, tilhørende 25 slekter. Det er imidlertid lite konsistente resultater, og på bakgrunn av dette prøvematerialet er det derfor ikke mulig å identifisere den assosierte /dominerende floraen til tørrfisk på hjell. Som det går fram av tabell 2 er det kun *Cladosporium spp.* og *Penicillium solitum* som er et konsistent funn gjennom de to årene undersøkelsen foregikk. *Cladosporium* er regnet for å være allergene, men ikke toksigene. *P. solitum* er et vanlig funn i tørket kjøtt som spekeskinke og skerpikjøtt fra Færøyene. *P. solitum* trives ved lav vannaktivitet, og produserer ingen kjente mykotoksiner. Det er videre verdt å merke seg at mens *P. crustosum* ikke ble påvist i år 1, ble den påvist i alle prøvetyper i år 2. Dette er en toksigen art som produserer store mengder sporer. Den kan derfor være vanskelig å bli kvitt i et lokale dersom den får etablert seg. Dette er altså en art produsentene bør være oppmerksomme på.

Tabell 1. Oversikt over hvilke muggsoppslekter som er funnet på forskjellige deler av tørrfisk på hjell år 1 (2020) og i år 2 (2021). Totalt 77 prøver fra tørrfisk. År 1 er to fisk fra en produsent. År 2 er 7 fisk fra 4 produsenter.

Muggsopp slekter	Å 1				Å 2			
	Hode	Rygg v.hode	Rygg v.hale	Hale	Hode	Rygg v.hode	Rygg v.hale	Hale
Alternaria	x	x	x					
Annet	x	x			x	x	x	x
Aspergillus						x	x	x
Aureobasidium	x		x	x				
Botrytis	x							
Cladosporium	x	x	x	x	x	x	x	x
Coniochaeta			x					
Cosmospora	x		x					
Didymella	x							
Endophoma			x					
Epicoccum			x					
Fusarium				x		-	x	x
Geomyces			x	x				
Mucor		x						
Neocladosporium				x				
Neodeightonia			x					
Penicillium	x		x	x	x	x	x	x
Phoma	x							
Ramoconidiophora				x				
Septoriella			x					
Syncephalastrum						-	x	
Trichoderma		x		x				
Yunzhangia		x						

Tabell 2. Oversikt over hvilke muggsopparter som er funnet på forskjellige deler av tørrfisk på hjell i år 1 (2020) og i år 2 (2021). År 1 er 2 fisk fra en produsent. År 2 er 7 fisk fra 4 produsenter. Rosaskraverte felt indikerer viktige mykotoksigene arter, gule indikerer en viss konsistens i funnene i år 1 og 2.

Muggsopptype	År 1				År 2			
	Hode	Rygg v. hode	Rygg v. hale	Hale	Hode	Rygg v. hode	Rygg v. hale	Hale
<i>Alternaria avenicola</i>	x		x					
<i>Alternaria chartarum</i>		x						
Andre muggsopp	x				x	x	x	x
<i>Aspergillus niger</i>						x		
<i>Aspergillus</i> sp.					x		x	x
<i>Aureobasidium pullulans</i>	x		x	x				
<i>Aureobasidium</i> sp.	x							
<i>Botrytis cinerea</i>	x							
<i>Cladosporium antarcticum</i>		x						
<i>Cladosporium cladosporioides</i>			x					
<i>Cladosporium puyae</i>	x							
<i>Cladosporium ramotenellum</i>		x						
<i>Cladosporium rhusicola</i>				x				
<i>Cladosporium</i> sp.	x	x	x		x	x	x	x
<i>Coniochaeta</i> sp			x					
<i>Cosmospora viridences</i>	x		x					
<i>Didymella boeremae</i>	x							
<i>Endophoma elongata</i>			x					
<i>Epicoccum layuense</i>			x					
<i>Fusarium acuminatum</i>				x				
<i>Fusarium</i> sp.							x	x
<i>Geomyces</i> sp.			x	x				
<i>Mucor hiemalis</i>		x						
<i>Mucor souzae</i>		x						
<i>Neocladosporium syringae</i>				x				
<i>Neodeightonia planchoniae</i>			x					
<i>Penicillium bialowiezense</i>					x	x	x	x
<i>Penicillium commune/caseifulvum</i>							x	x
<i>Penicillium crustosum</i>					x	x	x	x
<i>Penicillium echinulatum</i>							x	
<i>Penicillium freii</i>	x			-				
<i>Penicillium nordicum</i>								x
<i>Penicillium palitans</i>							x	x
<i>Penicillium rubens</i>								x
<i>Penicillium solitum</i>	x		x	x			x	x
<i>Penicillium</i> sp.			x		x			
<i>Phoma herbarum</i>	x							
<i>Ramoconidiophora euphorbiae</i>				x				
<i>Septoriella dactylidis</i>			x					

<i>Syncephalastrum racemosus</i>			x
<i>Trichoderma</i> sp	x	X	
<i>Trichoderma viride</i>		x	
<i>Yunzhangia auriculariae</i>	x		

Oppsummerte resultater fra tørrfisk på hjell:

25 slekter muggsopp er funnet på tørrfisken

43 forskjellige arter, flere arter innenfor noen av slektene

Det er en overraskende stor diversitet i muggsopptyper på tørrfisken

En del av slektene er forventet å finne, andre er mer overraskende å finne på fisken.

Det er få mykotoksinproduserende sopp på tørrfisken på hjell

Muggsopp på tørrfisk på lager

Fra lagret tørrfisk var det liten diversitet i muggsopptyper som ble isolert. Det var en gruppe muggsopp som dominerte, *Aspergillus glaucus* gruppen. Det var denne muggsoppgruppen som dominerte på prøver tatt år 1 og år 2, og med to ulike metoder (isolering av enkeltkolonier og tapemetode (tabell 3 og 4). Selv om det er et begrenset antall prøver, er resultatene entydige og viser at det er denne type muggsopp som er godt egnet til å vokse på tørrfisk på lager. *Penicillium bialowiezense* ble påvist i år 1, men i hele 30,8% av prøvene i år 2, og er derfor verdt å merke seg. *Penicillium solitum* og *Penicillium olsonii* ble begge isolert fra 15,4% av prøvene i år 2.

Tabell 3. Muggsopp påvist på tørrfisk fra lager År 1 (2020). Prosent av prøvene som fikk påvist de ulike typene muggsopp. Totalt tatt ut 44 prøver av fisk.

Muggsopp påvist på tørrfisk på lager år 1	% av prøvene med type muggsopp
Slekter (og arter)	
<i>Aspergillus</i> sp.	36,0 %
<i>Aspergillus pseudoglaucus</i>	36,0 %
<i>Aspergillus appendiculatus</i>	4,5 %
<i>Coniothyrium</i> sp.	2,2 %
<i>Exserohilum rostratum</i>	2,2 %
<i>Ochrocladosporium</i> sp.	2,2 %
<i>Penicillium bialowiezense</i>	2,2 %
<i>Penicillium commune</i>	2,2 %
<i>Penicillium nalgiovense</i>	2,2 %
<i>Thelebolus microsporus</i>	2,2 %
<i>Fungal</i> sp.	6,8 %

Tabell 4. Muggsopp funnet påvist på tørrfisk på lager År 2 (2021). Prøver av forskjellige områder på 14 fisk.

Miuggsopp påvist på tørrfisk på lager år 2	% av prøvene (tapene) med type muggsopp
Slekter (og arter)	
<i>Aspergillus</i> sp.	15,3 %
<i>Aspergillus glaucus</i> group	76,9 %
<i>Penicillium bialowiezense</i>	30,8 %
<i>Penicillium crustosum</i>	7,7 %
<i>Penicillium cyclopium</i>	7,7 %
<i>Penicillium olsonii</i>	15,4 %
<i>Penicillium palitans</i>	7,7 %
<i>Penicillium polonicum</i>	7,7 %
<i>Penicillium solitum</i>	15,4 %

Oppsummerte resultater mugg fra tørrfisk på lager:



AP2. Vekstbetingelser og toksinproduksjon

Som nevnt over har vi i denne undersøkelsen ikke kunnet definere den assosierte floraen/de dominerende artene til tørrfisk på hjell, mens arter av *Eurotium* (*Aspergillus*) er et konsistent funn fra tørrfisk på lager. I tillegg til *Eurotium* spp. er det muggsoppartene *Penicillium solitum*, *P. crustosum*, *P. nordicum* og *Cladosporium* spp. som er verdt å merke seg. Siden dette er sopper som er godt tilpasset vekst i mat, vet vi en del om så vel vekstbetingelser som toksinproduksjon hos disse soppene.

Vekstbetingelser

Soppene som dominerer i denne undersøkelsen tåler generelt vekstbetingelser som andre mikroorganismer ofte tåler dårlig. Det kan være nyttig med noen definisjoner:

- Osmotoleranse er evnen til å vokse i et miljø med høyt osmotisk trykk.

- Xerotoleranse betyr toleranse for tørre forhold. Xerotolerante organismer kan ofte overleve i miljøer med vannaktivitet (a_w) under 0,8. Det meste liv på jorda krever $a_w > 0,8$.
- Halotoleranse er evnen til å vokse i et miljø med høy saltholdighet.
- Psykrotolerante organismer kan vokse ved 0°C, men har temperaturoptimum > 20 °C.
- Termotolerante organismer har evne til å vokse ved høye temperaturer.

***Aspergillus glaucus*-gruppen. Sopper i denne gruppen er osmo-, xero- og halotolerante og vokser ganske bra ved 37°C på enkelte vekstmedier. De kan tolerere lav vannaktivitet, men ikke høy vannaktivitet.**

Penicillium bialowizense er halo- og psykrotolerante. De vokser ikke ved 30°C. De er ganske vanlig å finne i innendørsluft.

Penicillium crustosum vokser godt ved lave temperaturer, men dårlig ved 30°C. De trives ved lav pH, og ved lav vannaktivitet.

Penicillium nordicum er halo- og psykrotolerante. De vokser godt ved lave temperaturer, men vokser dårlig eller ikke ved 30°C. De trives ved lav pH, og ved lav vannaktivitet.

Penicillium olsonii er halo- og psykrotolerante. De vokser godt ved lave temperaturer, men vokser dårlig eller ikke ved 30°C. De trives ved lav pH, og ved lav vannaktivitet.

Penicillium solitum er halo- og psykrotolerante. De vokser godt ved lave temperaturer, men vokser også godt ved 30°C. De trives ved lav pH, og ved lav vannaktivitet.

Cladosporium spp. trives ved lav vannaktivitet og tolerer fluktuerende fuktighet. De er mørkpigmenterte, og tolerer UV-lys godt. Enkelte arter er ekstremt salttolerante. *Cladosporium spp.* trives best innenfor et temperaturområde på 18-28 °C, men visse arter kan også vokse under 0°C. De fleste *Cladosporium*-arter kan vokse ved 30-35 °C, men ikke over 35-37 °C

Toksinproduksjon.

I denne undersøkelsen ble det påvist få mykotoksinproduserende arter. Tabell 5 viser toksinene som påviste sopper har potensiale for å produsere, og de biologiske effektene av de samme toksinene.

Tabell 5. Oversikt over relevante mykotoksiner som kan produseres av artene listet i tabell 2, og de viktigste biologiske effektene til toksinene.

Muggsoppart	Viktige mykotoksiner	Kjente biologiske effekter
<i>Aspergillus niger</i>	Ochratoxin A	Karsinogent, neurotoksisk
<i>Penicillium bialowizense</i>	Ukjent	
<i>Penicillium commune/caseifulvum</i>	Cyclopiazonsyre	Påvirker proteinpumpa i muskulatur
<i>Penicillium crustosum</i>	Penitrem A	Nevrotoksisk
<i>Penicillium echinulatum</i>	Territremer	Nevrotoksisk
<i>Penicillium nordicum</i>	Ochratoxin A	Karsinogent, neurotoksisk
<i>Penicillium palitans</i>	Cyclopiazonsyre	Påvirker proteinpumpa i muskulatur
<i>Penicillium rubens</i>	PR-toxin	Nevrotoksisk

Spesielt Ochratoxin A er et toksin det er grunn til å være oppmerksom på siden det både er regnet for å være kreftfremkallende og kan påvirke hjernen. Likevel gir funnene i denne undersøkelsen ikke grunn å frykte at mykotoksiner kan produseres på tørrfisk i en kvantitet som kan ha helsemessig betydning.

Det er ikke kjent at noen sopper i *Aspergillus glaucus*-gruppen kan produsere mykotoksiner.

Penicillium nalgiovense ble påvist fra tørrfisk fra lager. Dette er en sopp som blir benyttet som starterkultur for italienske fermenterte spekepølser. *P. nalgiovense* produserer penicillin, hvilket kan være uheldig for penicillinallergikere, og stammene som blir brukt som starterkulturer er derfor selektert for lav eller ingen penicillinproduksjon.

AP 3 Forebyggende tiltak

Tørrfisk på hjell

Det er stor diversitet i muggtyper som vokser på tørrfisk på hjell og tørrfisen viser seg å være et godt egnet produkt for et stort antall muggsopptyper. Været vil ha mye å si for hvor fort fisken tørker, og det er dette som er det mest avgjørende når det gjelder forekomst av mugg på tørrfisen ute. Det som det imidlertid er mulig å gjøre noe med, er å sørge for at det er godt opphold mellom fisken slik at det er god luftsirkulasjon. I tillegg bør fisken et godt stykke opp fra bakken for å bidra til god tørking, og unngå at jord/vegetasjon forurenses fisken (figur 3).

Tørrfisk på lager

Når tørrfisen har kommet inn og lagres er det en gruppe muggsopp som dominerer, *Aspergillus glaucus* gruppe. Dette er en muggsopp som kan vokse på tørre produkter og det er derfor ikke uventet at den dominerer på tørrfisk på lager. Det er en muggsoppgruppe som er utbredt over store deler av verden og kan vokse i temperaturområdet 4 °C - 37 °C med optimal vekst ved 24-25 °C.

For å unngå vekst av muggsopp på tørrfisk på lager er det viktig at fisken tørker raskt etter at den er tatt inn og at det er god luftsirkulasjon uten områder med fisk som står for tett. Muggsopp kan spre seg fra en fisk til en annen, og det er derfor viktig å overvåke og følge med fisken slik at synlig mugg på fisken blir fjernet så tidlig som mulig (figur 3).

Hvis mugg på fisken skal fjernes, er det viktig å gjøre dette så raskt som mulig etter at muggkolonien er synlig på fisken. Da er det produsert færrest sporer og mindre sannsynlighet for at sporene blir spredt i lokalene. En liten koloni kan fjernes med en tape for å unngå at muggsporer spres i lufta.

Det er usikkert om *Aspergillus glaucus* som dominerer på fisken på lager, blir påført fisken ute på hjell eller om den smitter fra miljøet på lageret. Man kan uansett forebygge vekst dersom nivået av muggsopp i lokalene er så lavt som mulig. Det er flere teknologier på markedet som kan benyttes til å redusere nivået av mikroorganismer i miljøet, men det er viktig at evt teknologi som blir valgt har god effekt på problemmuggen.

- TØRRFISK PÅ HJELL**
- Fisk bør henge et godt stykke over bakken (minst 6-7 m)
 - Fisk bør henge med god avstand for å sikre luftsirkulasjon rundt fisken
 - Unngå at jord forurenses fisken
 - Unngå nærhet til vegetasjon
 - Ryddig område rundt fisken

- TØRRFISK PÅ LAGER**
- Tørr nok fisk, tidlig
 - God luftsirkulasjon
 - Unngå "lommer" på lageret uten god sirkulasjon -ikke for tett
 - «Overvåk» fisken – fjern synlig mugg tidlig
 - Reduser nivået av mugg i lokalene med egnet teknologi

Figur 3. Tiltak for å forbygge muggvekst på tørrfisk på hjell og på lager

Konklusjon kunnskap om muggsopp på tørrfisk i ulike faser av produksjonen- effektmål:

- Norsk tørrfiskbransje har fått økt kunnskap om muggsopp som vokser på tørrfisk i ulike faser av produksjonen. Det er stor diversitet på tørrfisk på hjell, men på lager er det en type muggsopp som dominerer.
- Vekst av muggsopp på tørrfisk basert på funn i prosjektet, er et kvalitetsproblem siden den dominerende muggsopptypen ikke produserer mykotoksiner
- Basert på resultatene er det gitt råd om hva som kan gjøres for å begrense vekst av muggsopp og hvordan fisk med synlig muggvekst skal håndteres
- Tørrfiskbransjen har gjennom prosjektet fått kunnskap som vil bidra til å opprettholde eller øke konkurransekraften til bransjen innenlands og for eksportmarkedet ved å fremskaffe kunnskap om muggsoppen som dominerer på fisken og avklare om det er et mattrygghetsproblem

5.2 Lukt fra hoder og rundfisk på hjell

Det ble funnet opp til 100 ulike flyktige forbindelser, de fleste luktaktive stoffer og som tidligere er påvist i tørrfisk (Solvang og Mjøs 2007; Haugen og Moen 2012). De er dominert av bakteriemetabolitter (alkoholer, syrer, aminer, sulfider, ketoner), lipid oksidasjonsprodukter (aldehyder, aromater, syrer, alkoholer, alkener) og protein oksidasjonsprodukter (forgrenede aldehyder, aromater).

Gasskromatogrammene viser at sammensetningen av flyktige forbindelser mellom hoder og rundfisk er forholdsvis lik i de dominerende komponentene, men det kunne påvises enkelte forbindelser som skiller hoder fra rundfisk (Vedlegg: Figur 1 og 2).

Det var en tydelig økning i mengden av flyktige komponenter med hengetid i rundfisk og hoder (Vedlegg Figur 3 og 4).

I det analyserte materialet forekom følgende forbindelser kun i hoder på hjell (men ikke i alle hoder): dimetyldisulfid, dimetylamin, dimetyltrisulfid, 1-heksanol, tr,3-heksen-1-ol, 2-nonanon, N,N-dimetylformamid, 1-heksanol, acetamid, n-butyl akrylat, n-butyl propionat, metenamin, fenol, indol, dodekansyre.

Følgende forbindelser forekom kun i rund fisk på hjell: 2-butanon, 2-metyl-1-hepten-6-on og fenylmetanol, nonansyre og 3-Benzoylamino-2-ethyl-smørsyre etylester.

Det var generelt noe høyere nivå av bakteriemetabolitter i hodene (f.eks. trimetylamin, 3-metyl-1-butanol) sammenlignet med rundfisk.

Det ble ikke funnet noen systematisk sammenheng mellom tørketid og sammensetningen av flyktige komponenter for hodene. Dette kan delvis forklares ved at hodene ikke har vært ferske når de er blitt hengt i tillegg til at tørketiden som er blitt oppgitt fra ansatte på anlegget ikke har vært nøyaktig nok i tidsangivelsen siden hending (f.eks. 1-3 uker).

Det var også stor individvariasjon mellom hoder med samme hengetid, bl.a. i bakterie metabolitter (eks. trimetylamin, 3-metyl-1-butanol), lipid (dekanal) og protein oksidasjons/nedbrytningsprodukter (2-metylpropanal, 3 metylbutanal). Dette skyldes sannsynligvis ulik kvalitet på råstoff mht ferskhet ved hengetidspunkt.

Konklusjon - effektmål:

- Prosjektet har avklart om det er luktforskjell mellom hengt tørrfisk og tørrfisk-hoder
- Det var stor variasjon i luktaktive forbindelser i hoder og rundfisk, men små forskjeller mellom hoder og rundfisk.
- Resultatene gir ikke et tilstrekkelig grunnlag for å kunne konkludere entydig at hoder lukter mer og forskjellig fra rundfisk.

6 Hovedfunn

- Det var stor diversitet i typer mugg på tørrfisk på hjell. I alt ble det funnet 25 slekter og til sammen 43 ulike arter muggsopp. Det var ingen enkelt type mugg som dominerte og kun noen få av de kan produsere mykotoksiner, og representerer en neglisjerbar risiko for mykotoksin i fisken.
- Muggsopp som vokser på tørrfisken når den kommer på lager er dominert av en gruppe muggsopp, *Aspergillus glaucus* group. Dette er en muggsopp som kan vokse på tørre produkter og er således forventet å finne. Det er ikke kjent at denne gruppen muggsopp produserer mykotoksiner.
- For å unngå vekst av muggsopp på tørrfisk på hjel og på lager er det viktig med tiltak for god tørk både ute og inne. På lager er det viktig å kontinuerlig overvåke fisken og fjerne synlig mugg så tidlig som mulig slik at den ikke for utvikle seg videre og sprer seg til annen fisk.
- Det var stor variasjon i luktaktive forbindelser i hoder og rundfisk, men små forskjeller mellom hoder og rundfisk. Resultatene gir ikke tilstrekkelig grunnlag for å kunne konkludere entydig at hoder lukter mer og forskjellig fra rundfisk.

7 Leveranser

Leveranser i henhold til tilsagnsbrev:

L0: Møtereferat ved prosjektstart.

L1 og L2: Kvartalsvise statusrapporter

L3.1: Fagligsluttrapport i tråd med FHF's retningslinjer•04.04.2022

L3.2: Administrativ sluttrapport i tråd med FHF's retningslinjer

L4: Notat oversikt over dominerende muggsopp. Avvik: Pga forsinkelse var ikke oversikt over vekstbetingelser inkludert.

L5: Notat luktmålinger av tørrfisk og hoder.

L6. Formidling: Informasjon om prosjektet. Avvik: på oppstartsmøtet ble det avtalt at dette ikke skulle gjøres. Det var et ønske fra produsentene.

L7. Presentasjon av resultater løpende i Ressursgruppe tørrfisk, og presentering av sluttresultater på seminar/møte i ressursgruppa 16. juni 2022.

L8: Utkast til manus vitenskapelig publikasjon. Utgår fordi det er ikke stort nok materiale til vitenskapelig publikasjon. Avvik meldt i statusrapport.

L9: Populærvitenskapelig publikasjon. Foreløpig ikke levert. Ikke vært ønske om pop. Vit. Publikasjon før hovedkonklusjonene i prosjektet var klart. Behov for dialog med FHF for ferdigstilling av denne leveransen. Faktaark har vært diskutert.

L10: Møtereferat ved prosjektslutt. Power Point presentasjon med oppsummering av resultater og tiltak fra slutt møte ble sendt til FHF for videre distribusjon til produsentene.

8 Referanser

Haugen, J.E & B. Moen. Stockfish odour footprint. D1.4 project report SafeTrackFood, Development of a novel industrial fish drying and maturing process to secure food safety, traceability and quality, (FP7-SME-2012-1 no 304775).

Solvang, M. & S. Mjøs 2007. Flyktige komponenter i tørrfisk. Fiskeriforskning rapport 26/2007.

Rico-Munoz, Emilia, Robert A. Samson, and Jos Houbraeken. 2019. 'Mould spoilage of foods and beverages: Using the right methodology', *Food Microbiology*, 81: 51-62.

Samson, R.A., Houbraeken, J., Thrane, U., Frisvad, J.C., Andersen, B. 2010. *Food and indoor fungi* (CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre: Utrecht, The Netherlands).