



TNO-rapport

V 4899

**Microbiologische risico-bepaling van verschillende
typen vleesproducten bereid zonder nitriet**

www.tno.nl

T 030 6944144

F 030 6957224

Info@voeding.tno.nl

Datum	12 november 2002
Auteur(s)	F.K. Stekelenburg en Ir. E. Hoornstra
Oplage	30
Aantal pagina's	28
Aantal bijlagen	-
Opdrachtgever	Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij/Platform Biologica
Goedgekeurd door	Ing. R.R.A. van der Meer
Projectnummer	010.52346

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, foto-kopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande toestemming van TNO.

Indien dit rapport in opdracht werd uitgebracht, wordt voor de rechten en verplichtingen van opdrachtgever en opdrachtnemer verwezen naar de Algemene Voorwaarden voor onderzoeksopdrachten aan TNO, dan wel de betreffende terzake tussen de partijen gesloten overeenkomst.

Het ter inzage geven van het TNO-rapport aan direct belang-hebbenden is toegestaan.

© 2002 TNO

Samenvatting

Om een duidelijk beeld te krijgen van de eventuele microbiologische risico's die samenhangen met het vermarkten van uiteenlopende typen vleesproducten bereid zonder nitriet, is op verzoek van Platform Biologica en met financiering door het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, een risico-bepaling verricht, gericht op zowel de productveiligheid als de houdbaarheid van deze producten.

Bij de risico-bepaling is gebruik gemaakt van door enkele betrokken vleesproducten producerende bedrijven aangeleverde product- en procesinformatie. Voor specifieke informatie betreffende inactivering- en groeikarakteristieken van de relevante micro-organismen zijn microbiologische handboeken, wetenschappelijke literatuur en TNO-expertkennis geraadpleegd. Tevens is gebruik gemaakt van beschikbare voorspellende modellen voor de ontwikkeling van pathogene micro-organismen.

Uit de inschatting van de ontwikkelingsmogelijkheden van verschillende relevante pathogene bacteriën blijkt dat de bereiding van vleesproducten zonder nitriet onder een aantal randvoorwaarden mogelijk is. Deze randvoorwaarden zijn onderstaand voor verschillende productgroepen aangegeven.

Gepasteuriseerde vleesproducten

- Hanteren van een maximale a_w -waarde voor de gepasteuriseerde nitrietvrije vleesproducten van 0,970, overeenkomend met een pekelpercentage van circa 4. Beneden deze a_w -waarde zijn non-proteolytische *C. botulinum* niet in staat zich te vermeerderen.
- Extra aandacht voor de hygiëne na het verhittingsproces van de vleesproducten om de kans op besmetting met pathogene bacteriën, met name *L. monocytogenes*, te minimaliseren.
- Beperken van de houdbaarheid tot maximaal 3 weken bij 7°C. Gedurende deze termijn zullen ook proteolytische *C. botulinum* sporen bij matig temperatuur misbruik (15°C) in de distributieketen niet in staat zijn zich te ontwikkelen.

Gezouten, gerookte vleesproducten

- Hanteren van een maximale a_w -waarde van nitrietvrije gezouten, gerookte vleesproducten van 0,950, overeenkomend met een pekelpercentage van circa 6, om de ontwikkeling van de psychrotrofe *L. monocytogenes* bacteriën in deze vleesproducten te beheersen.
- Beperken van de houdbaarheidstermijn tot maximaal 5 weken 7°C.

Gefermenteerde worstsoorten en gedroogde, gerijpte vleesproducten

- Beheersing van het bereidingsproces van nitrietvrije gefermenteerde worstsoorten en gedroogde, gerijpte vleesproducten zodanig dat een voldoende snelle pH en/of a_w -waarde daling in het product wordt bereikt, waardoor een ongewenste toename van met name *S. aureus* bacteriën wordt voorkomen. Verificatie van de veiligheid van het gehanteerde bereidingsproces door middel van een processimulatie verdient aanbeveling.

Summary

In order to obtain a clear view of the microbiological risks connected to the marketing of different types of meat products prepared without nitrite, a risk determination is performed at the request of Platform Biologica and financed by the Ministry of Agriculture, Nature management and Fisheries, aimed at product safety as well as shelf life of these type of products.

The risk determination was based on product and process information obtained from some meat product producing companies involved. For specific information about inactivation and growth characteristics of relevant microorganisms, microbiological handbooks, scientific literature and TNO expert knowledge have been consulted. Furthermore available predictive models for the development of pathogenic microorganisms have been used.

From the assessment of the growth possibilities of relevant pathogenic bacteria it is concluded that preparation of meat products without nitrite is possible under a number of preconditions. These preconditions are mentioned below for the product groups studied.

Pasteurised meat products

- Maintaining a maximum a_w -value for pasteurised nitrite free meat products of 0.970, corresponding to a brine percentage of about 4. Below this a_w -value non-proteolytic *C. botulinum* will not be able to develop.
- Additional attention towards hygiene after the heating process of the meat products to minimise the chance of contamination with pathogenic bacteria, especially *L. monocytogenes*.
- Limiting the shelf life to a maximum of 3 weeks at 7°C. Also at mild temperature abuse (15°C) in the distribution chain proteolytic *C. botulinum* spores will not be able to develop during this period.

Salted, smoked meat products

- Maintaining a maximum a_w -value for nitrite free salted, smoked meat products of 0.950, corresponding to a brine percentage of about 6, to control the development of *L. monocytogenes* in these meat products.
- Limiting the shelf life to a maximum of 5 weeks at 7°C.

Fermented sausages and dried, ripened meat products

- Controlling the preparation process of nitrite free fermented sausages and dried, ripened meat products in such a way that a rapid and adequate pH and/or a_w -value is reached in the product to avoid undesired increase of pathogens, especially *S. aureus*. It is recommended to verify the safety of the preparation process used by means of a process simulation with basic meat inoculated with relevant test organisms.

Inhoudsopgave

1	Inleiding — 5
2	Methodiek — 6
3	Product- en procesinformatie — 7
3.1	Gepasteuriseerde producten — 7
3.2	Gezouten, gerookte vleesproducten — 8
3.3	Gefermenteerde worstsoorten — 9
3.4	Gedroogde, gerijpte vleesproducten — 9
3.4.1	Droge worstsoorten — 9
3.4.2	Rauwe ham — 10
4	Gevaren-identificatie — 11
4.1	Risicofactoren in het productieproces — 11
4.1.1	Vleesgrondstoffen — 11
4.1.2	Hulpstoffen — 12
4.1.3	Gepasteuriseerde vleesproducten — 12
4.1.4	Gezouten, gerookte vleesproducten — 13
4.1.5	Gefermenteerde worstsoorten — 14
4.1.6	Gedroogde gerijpte producten — 14
5	Gevaren-karakterisering — 15
6	Blootstellingsinschatting — 17
6.1	Gepasteuriseerde vleesproducten — 17
6.2	Gezouten, gerookte vleesproducten — 20
6.3	Gefermenteerde worstsoorten — 21
6.4	Gedroogde, gerijpte vleesproducten — 21
7	Risico-karakterisering — 23
7.1	Gepasteuriseerde vleesproducten — 23
7.2	Gezouten, gerookte vleesproducten — 24
7.3	Gefermenteerde worstsoorten en gedroogde, gerijpte vleesproducten — 24
8	Literatuur — 26
9	Ondertekening — 28

1 Inleiding

Platform Biologica, als koepelorganisatie voor de biologische landbouw en voeding, is samen met Stichting Natuur en Milieu initiatiefnemer van het convenant opschaling biologisch varkensvlees en hecht vanuit milieuoogpunt en dierwelzijn sterk aan de vergroting van de markt voor biologisch varkensvlees. Deze opschaling is alleen haalbaar wanneer ook op grote schaal biologische vleeswaren op de markt kunnen worden afgezet. Een mogelijk struikelblok hierbij is het huidige Nederlandse standpunt om geen nitriet toe te staan bij de bereiding van biologische vleesproducten. Mede op verzoek van retailers heeft Platform Biologica zich over de vraag gebogen of dit standpunt moet worden gehandhaafd. In de daaruit voortvloeiende discussienota zijn argumenten van voor- en tegenstanders van het gebruik van nitriet opgenomen.

Op grond van de bestaande informatie en meningen uit het bedrijfsleven en maatschappelijke organisaties is Platform Biologica tot een nee, tenzij opstelling gekomen waarin gekeken wordt of er onderscheid gemaakt kan worden bij verschillende productieprocessen waar, wanneer en in welke dosering nitriet noodzakelijk is als conserveringstechniek om de voedselveiligheid te garanderen. Het gebruik van nitriet als kleur- en smaakversterker wijst het Platform Biologica af. In dit kader is er behoefte aan een onafhankelijk advies ten aanzien van de productveiligheid van vleesproducten bereid zonder nitriet.

Om een duidelijk beeld te krijgen van de eventuele microbiologische risico's die samenhangen met het vermarkten van uiteenlopende typen vleesproducten bereid zonder nitriet is, op verzoek van Platform Biologica en met financiering door het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, een risico-bepaling verricht, gericht op zowel de productveiligheid als de houdbaarheid van deze producten.

Bij de risico-bepaling is gebruik gemaakt van door enkele betrokken vleesproducten producerende bedrijven aangeleverde product- en procesinformatie. Voor specifieke informatie betreffende inactivering- en groei karakteristieken van de relevante micro-organismen zijn microbiologische handboeken, wetenschappelijke literatuur en TNO-expertkennis geraadpleegd. Tevens is gebruik gemaakt van beschikbare voorspellende modellen voor de ontwikkeling van pathogene micro-organismen.

Het resultaat van de risico-bepaling geeft inzicht in de kans op aanwezigheid en ontwikkeling van pathogene en bederfveroorzakende bacteriën in vleesproducten bereid zonder nitriet. Tevens wordt aangegeven onder welke randvoorwaarden het op de markt brengen van dergelijke vleesproducten tot de mogelijkheden behoort en welke maatregelen daarbij noodzakelijk zijn om risicovolle omstandigheden in de praktijk te voorkomen.

2 Methodiek

Een risico-bepaling bestaat gewoonlijk uit vier onderdelen:

- gevaren-identificatie
- gevaren-karakterisering
- blootstellingsinschatting
- risico-karakterisering

Bij de gevaren-identificatie wordt onderzocht welke pathogene micro-organismen in het betreffende product een gevaar zouden kunnen opleveren voor de consument. Hierbij komen de volgende vragen aan bod:

- welke micro-organismen kunnen in de grondstoffen en hulpstoffen voorkomen,
- welke micro-organismen kunnen zich tijdens het proces vermeerderen,
- welke micro-organismen kunnen het proces overleven,
- welke besmetting kan tijdens het proces optreden,
- welke micro-organismen kunnen zich onder de gegeven omstandigheden in het eindproduct ontwikkelen.

Uit deze inventarisatie komen de belangrijkste potentiële gevaren naar voren die in de volgende onderdelen van de risico-bepaling nader worden bestudeerd.

Bij de gevaren-karakterisering wordt vastgesteld in welke aantallen de geïdentificeerde gevaren schadelijk zijn en tot welke effecten zij leiden.

Bij de blootstellingsinschatting worden de factoren die de aanwezigheid van gevaren beïnvloeden (zgn. risico-factoren) nader gekwantificeerd. Hierbij wordt een antwoord gezocht op de volgende vragen:

- wat is de initiële besmetting van de grondstoffen en hulpstoffen ten aanzien van de uit de gevaren-identificatie naar voren komende relevante micro-organismen;
- tot welke aantallen is toename van deze micro-organismen mogelijk tijdens productie en opslag;
- wat is de effectiviteit van een processtap;
- wat zijn de aantallen micro-organismen op het moment van consumptie.

Tenslotte wordt bij de risico-karakterisering op basis van de resultaten een aantal conclusies getrokken, waarbij getracht wordt op de volgende vragen een afgewogen antwoord te geven:

- wat is de kans op ziekte en bederf tengevolge van de aanwezigheid van de gevaren?
- wat zijn de processtappen en factoren die in belangrijke mate het risico bepalen?
- worden de risico's in voldoende mate beheerst?
- op welke wijze kan de situatie verbeterd worden?

3 Product- en procesinformatie

In het kader van de risico-bepaling zijn door de betrokken vleesproducten producerende bedrijven de volgende producten genoemd die in aanmerking komen om als biologische vleeswaren geproduceerd te worden en die binnen de huidige wetgeving zonder nitriet moeten worden bereid.

- gekookt achter- of schouderham, gesneden, zuurstofarm verpakt
- snijworst, zuurstofarm verpakt
- droge worst, per stuk verpakt
- Coburger, gesneden, zuurstofarm verpakt
- leverkaas of Berliner, gesneden, zuurstofarm verpakt
- leverworst, 250 g, per stuk verpakt
- Casselerrib, gerookt, gesneden, zuurstofarm verpakt
- bacon gerookt, gesneden, zuurstofarm verpakt
- gerookt spek, gesneden, zuurstofarm verpakt
- gerookt spek, 250 g, stuks verpakt
- gerookt spek, dobbelsteentjes, 250 gr, zuurstofarm verpakt

Vanuit microbiologisch oogpunt bezien kunnen deze producten in een viertal hoofdgroepen worden ingedeeld, eventueel met een nadere onderverdeling in verband met enkele specifieke eigenschappen (zie Tabel 1). Het globale bereidingsproces, inclusief een inschatting van de chemische samenstelling, voor zover van belang, wordt onderstaand voor de verschillende productgroepen op basis van door de betrokken bedrijven aangeleverde informatie aangegeven.

Tabel 1 Indeling vleesproducten in microbiologisch vergelijkbare productgroepen

Productgroep	Onderverdeling	Voorbeelden
Gepasteuriseerde vleesproducten	Deelstukken	Ham, schouder, fricandea, Casselerrib
	Verkleinde gemengde vleesproducten	Kookworstsoorten
	Verkleinde producten met lever of bloed	Leverworstsoorten Bloedworstsoorten
Gezouten en gerookte vleesproducten		Gerookte bacon, speksoorten Rookvlees
Gefermenteerde worstsoorten		Snijworst Cervelaat Salami
Gedroogde, gerijpte vleesproducten		Droge worst, boerenmetworst Rauwe ham (Coburger)

3.1 Gepasteuriseerde producten

Bij de bereiding van gepasteuriseerde vleesproducten worden verse deelstukken of andere vleesgrondstoffen, na voorbereiding, gepekeld of gezouten en eventueel samen met overige hulpstoffen, zoals specerijen en kruiden, al dan niet in verkleinde toestand gepasteuriseerd.

Bij de huidige in de industrie gangbare pasteurisatieschema's worden over het algemeen kerntemperaturen boven 70°C bereikt gedurende tenminste 2 minuten of daaraan vergelijkbare verhittingsintensiteit. Bij veel kookworstsoorten worden vaak aanzienlijk intensievere verhittingsintensiteiten toegepast.

Sommige gepasteuriseerde producten, zoals bijvoorbeeld leverworst- en bloedworstsoorten, worden in gesloten eindverpakking verhit. Andere producten, zoals ham of kookworstsoorten, worden na de verhitting nabehandeld (afkanten, roken, opdelen etc.) en aansluitend of via een tussenopslag (onder vacuüm) voorgesneden en zuurstofarm verpakt. Gangbare houdbaarheidstermijnen van gepasteuriseerde (gesneden) vleesproducten bereid met nitriet liggen tussen 3 en 6 weken bij 7°C. Op dit moment zijn reeds enkele vleesproducten bereid zonder nitriet in de handel, zoals fricandea, rosbeef en kipfilet. Vanwege de relatief lage zoutgehalten van deze producten worden daarbij houdbaarheidstermijnen van 1 tot 2 weken gehanteerd.

Enkele indicatieve waarden van, voor de risico-bepaling belangrijke, parameters betreffende de fysisch/chemische samenstelling van de gepasteuriseerde vleesproducten zijn vermeld in Tabel 2.

Tabel 2 Globale fysisch/chemische samenstelling van gepasteuriseerde vleesproducten

Producten	Vocht %	Vet %	Eiwit %	Zout %	Pekel* %	a _w -waarde**	pH
Ham/schouder, fricandea, Casselerrib	65-75	5-10	18-20	1,5-3,0	2,0-4,0	0,965-0,980	6,0-6,5
Kookworst- en leverworstsoorten	50-60	25-35	15-20	1,8-2,5	3,0-4,5	0,960-0,975	5,7-6,5

* pekelpercentage = zoutgehalte op de vochtfase (% zout / %vocht + % zout * 100)

** a_w-waarde = waterdampspanning (vrij beschikbare hoeveelheid water in product)

3.2 Gezouten, gerookte vleesproducten

Bij de bereiding van gezouten, gerookte vleesproducten worden verse deelstukken, zoals buikspek of rundermuis, al dan niet door middel van spuiten, gepekeld, gevolgd door enkele dagen doorzouten/doorkleuren onder koeling. Vervolgens worden de producten gedurende enkele uren gerookt bij temperaturen tussen 20 en 35°C. De producten ondergaan geen pasteurisatiebehandeling. Aan het einde van het bereidingsproces worden de producten als zodanig, in stukken of gesneden in plakjes of blokjes onder zuurstofarme omstandigheden verpakt. De gangbare houdbaarheidstermijn voor dit type producten bereid met nitriet is 3 tot 8 weken bij 7°C.

Enkele indicatieve waarden van, voor de risico-bepaling belangrijke, parameters betreffende de fysisch/chemische samenstelling van gezouten, gerookte vleesproducten zijn vermeld in Tabel 3.

Tabel 3 Globale fysisch/chemische samenstelling van gezouten, gerookte vleesproducten

Producten	Vocht %	Vet %	Eiwit %	Zout %	Pekel %	a _w -waarde	pH
Bacon en speksoorten	30-45	35-45	18-25	2,0-3,0	4,0-9,0	0,910-0,965	5,5-6,0
Rookvlees	55-60	5-10	30-35	2,5-5,0	4,0-8,0	0,930-0,965	5,3-5,8

3.3 Gefermenteerde worstsoorten

Bij de bereiding van gefermenteerde worstsoorten wordt vers vlees, spek en zwoerd verkleind en gemengd met zout en specerijenmengsel alsmede een fermenteerbare suiker en een geschikte startercultuur, veelal bestaande uit lactobacillen en eventueel micrococen. Het vleesdeeg wordt vervolgens gestopt in doorlatende (kunststof) darmen. De zo ontstane worsten worden aansluitend bij temperaturen tussen 25 en 30°C en een relatieve vochtigheid (RV) tussen 90 en 100% gefermenteerd binnen één tot drie dagen afhankelijk van het kaliber. Na 1 tot 2 dagen is de pH waarde van de worsten gedaald tot beneden 5,3. Na deze zogenaamde zweetbehandeling en een korte aandroogperiode volgt een korte rookbehandeling van enkele uren bij circa 20°C en 85% RV. Tenslotte worden de producten bij temperaturen tussen 15 en 20°C en een RV van circa 80% verder gerijpt tot de worst voldoende stevig is. Dit proces duurt gewoonlijk 1 tot 2 weken.

De eindproducten worden als zodanig, per stuk of in gesneden vorm verpakt onder zuurstofarme omstandigheden. De gangbare houdbaarheidstermijnen voor gefermenteerde producten bereid met nitriet liggen tussen 6 weken en 6 maanden onder zowel gekoelde als ongekoelde omstandigheden.

Enkele indicatieve waarden van, voor de risico-bepaling belangrijke, parameters betreffende de fysisch/chemische samenstelling van gefermenteerde worstsoorten zijn vermeld in Tabel 4.

Tabel 4 Globale fysisch/chemische samenstelling van gefermenteerde worstsoorten

Producten	Vocht %	Vet %	Eiwit %	Zout %	Pekel %	a _w -waarde	pH
Snijworst, cervelaat, salami	40-50	30-45	18-22	2,0-3,0	5,0-9,0	0,90-0,95	4,6-5,3

3.4 Gedroogde, gerijpte vleesproducten

3.4.1 Droge worstsoorten

Het bereidingsproces van droge worst verloopt op een vergelijkbare wijze als dat van gefermenteerde worst. Meestal gaat het daarbij om klein kaliber worstjes (20 – 30 mm) waarbij geen gebruik wordt gemaakt van een startercultuur en waarbij het rijpingsproces zodanig is aangepast dat een sterkere indroging plaatsvindt dan bij de meeste gefermenteerde producten. In de huidige praktijk zijn varianten bereid met en zonder nitriet bekend. De rijping kan plaatsvinden bij relatief lage temperatuur (ca. 20°C) gedurende enkele weken of bij hogere temperatuur (ca. 40°C) gedurende enkele dagen. De RV wordt tijdens deze periode stapsgewijs afgebouwd van ca. 90% tot 70 à 80%. Het totale vochtverlies tijdens deze periode bedraagt circa 30 tot 40%. De producten worden tegenwoordig veelal als stuks verpakt in zuurstofarme verpakking. De gangbare houdbaarheidstermijn voor droge worstsoorten bereid met of zonder nitriet is 2 à 3 maanden onder ongekoelde omstandigheden.

Enkele indicatieve waarden van, voor de risico-bepaling belangrijke, parameters betreffende de fysisch/chemische samenstelling van droge worstsoorten zijn vermeld in Tabel 5.

Tabel 5 Globale fysisch/chemische samenstelling van droge worstsoorten

Producten	Vocht %	Vet %	Eiwit %	Zout %	Pekel %	a _w -waarde	pH
Boerenmetworst	20-30	35-50	20-30	2,5-5,0	10-20	0,75-0,90	5,4-6,5

3.4.2 *Rauwe ham*

Bij de bereiding van rauwe ham wordt het verse vlees van de ham gedurende 10 à 12 dagen onder koeling gepekeld in een bakpekeld met een pekelersterkte van circa 24 Baumé (Bé). Vervolgens wordt de ham gedurende nogmaals een zelfde aantal dagen doorgezouten. Na kort ontzouten in stromend water en aandrogen bij 55°C gedurende 1 uur wordt de ham gerookt bij 20-25°C en 60% RV tot de gewenste rookkleur is verkregen. Tenslotte wordt de ham gedroogd bij 15 tot 20°C en 80% RV tot een indroogverlies van circa 15% of meer is bereikt. Dit proces kan afhankelijk van het type ham uiteenlopen van 2 weken tot meer dan 9 maanden. Vervolgens worden de producten als geheel of in gesneden vorm onder zuurstofarme omstandigheden verpakt. De gangbare houdbaarheidstermijn voor rauwe ham bereid met nitriet is 6 weken tot 3 maanden onder zowel gekoelde als ongekoelede omstandigheden. Bij een aantal conventionele bereidingsmethoden van rauwe ham wordt al van ouds geen nitriet gebruikt. Hierbij gaat het voornamelijk om de langzaam gerijpte varianten.

Enkele indicatieve waarden van, voor de risico-bepaling belangrijke, parameters betreffende de fysisch/chemische samenstelling van rauwe ham zijn vermeld in Tabel 6.

Tabel 6 Globale fysisch/chemische samenstelling van rauwe ham

Producten	Vocht %	Vet %	Eiwit %	Zout %	Pekel %	a _w -waarde	pH
Coburger	45-50	5-10	30	5-7	10-15	0,80-0,90	5,4-5,8

4 Gevaren-identificatie

Bij de gevaren-identificatie worden de relevante gevaren voor de zonder nitriet bereide vleesproducten afgebakend. Een gevaar is gedefinieerd als een contaminant, in dit geval een micro-organisme, die de potentie heeft om ziekte te veroorzaken. Daarnaast wordt rekening gehouden met micro-organismen die de houdbaarheid negatief zouden kunnen beïnvloeden. Op basis van de aanwezigheid van gevaren in grondstoffen en de mogelijkheden tot besmetting, overleving en ontwikkeling tijdens het proces en de distributie worden bepaalde gevaren meer of minder belangrijk geacht voor de bij de analyse betrokken producten. De relevante gevaren worden meer in detail uitgewerkt. Voor de overige microbiologische gevaren wordt aangegeven waarom ze voor deze producten een verwaarloosbaar risico vormen. Virussen en parasieten, zoals *Trichinella* en *Toxoplasma*, worden in het kader van deze risico-bepaling buiten beschouwing gelaten omdat deze 'theoretische gevaren' niet of nauwelijks worden beïnvloed door de afwezigheid van nitriet in vleesproducten.

4.1 Risicofactoren in het productieproces

4.1.1 Vleesgrondstoffen

De microflora van vers vlees bestaat als gevolg van besmetting tijdens het slachtproces uit een breed scala aan micro-organismen. Tijdens het slachtproces kunnen bacteriën uit fecaliën, uit de keel en slokdarm en van de huid het oppervlak van een karkas besmetten. Daarentegen is vlees inwendig van nature zelden besmet. Een onderverdeling kan worden gemaakt tussen ziekteverwekkende (pathogene) en bederfveroorzakende micro-organismen. Tot de laatste groep behoren de *Pseudomonas* spp., psychrotrofe Enterobacteriaceae, melkzuurbacteriën en *Brochothrix thermosphacta*. Afhankelijk van de bewaarcondities, bijvoorbeeld onverpakt (of in lucht), vacuümverpakt of gasverpakt, zal een bepaalde groep bederfers gaan domineren en uiteindelijk de daarbijbehorende specifieke bederfverschijnselen van vers vlees veroorzaken.

Afhankelijk van het soort vlees zullen verschillende pathogene bacteriën aanwezig zijn. In alfabetische volgorde kunnen worden genoemd: *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum* en *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* en *Yersinia* spp. In Tabel 7 zijn enkele relevante eigenschappen van deze bacteriën vermeld.

Zoals uit de tabel blijkt kunnen van deze groepen *Listeria* spp., *Yersinia* spp., sommige *B. cereus* soorten en non-proteolitische *C. botulinum*, op vlees voornamelijk type B, zich bij temperaturen beneden 7 °C ontwikkelen. Dit zijn zogenaamde psychrotrofe (koudetolerante) pathogene bacteriën. Uitgaande van een hygiënische werkwijze en een voldoende koeling zal tijdens de verdere verwerking van vers vlees voor de meeste andere mesofiele pathogene bacteriën alleen enige herverdeling van de besmetting plaatsvinden.

De incidentie en besmettingsniveaus van pathogene bacteriën op vers vlees zijn over het algemeen laag. De uiteindelijke invloed van de microbiologische gesteldheid van verse vleesgrondstoffen op de houdbaarheid en de veiligheid van de daarmee bereide

vleesproducten is sterk afhankelijk van het gehanteerde bereidingsproces en de uiteindelijke productsamenstelling.

Tabel 7 Eigenschappen van enkele pathogene bacteriën

Pathogene bacteriesoort	Aëroob/ Anaëroob	Toxinevormend/ infectieus	Minimum groei Temperatuur (°C)	Minimum pH voor groei	Minimum a _w voor groei
<i>Bacillus cereus</i>	Facultatief	Beide	4	5,0	0,93
<i>Campylobacter</i> spp.	Micro- Aërofiel	Infectieus	30	4,9	0,99
<i>Clostridium botulinum</i>	Anaëroob	Toxinevormend	3,3 (type B, E)* 10**	4,8 (type B, E)* 4,6**	0,97 (type B, E)* 0,93**
<i>Clostridium perfringens</i>	Anaëroob	Infectieus	12	5,5	0,93
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Facultatief	Infectieus	7	4,4	0,95
<i>Listeria monocytogenes</i>	Facultatief	Infectieus	0	4,4	0,92
<i>Salmonella</i> spp.	Facultatief	Infectieus	7	4,5	0,94
<i>Staphylococcus aureus</i>	Aëroob (facultatief)	Toxinevormend	7 (10 voor toxine)	4,5 (5,2 voor toxine)	0,86 (0,90 voor toxine)
<i>Yersinia</i> spp.	Facultatief	Infectieus	0	4,5	0,96

* niet-proteolytische *Clostridium* soorten

** proteolytische *Clostridium* soorten

4.1.2 Hulpstoffen

Bij de bereiding van vleesproducten wordt veelal gebruik gemaakt van hulpstoffen, zoals specerijen, kruidenmengsels, zout en andere droge ingrediënten. In het kader van de risico-bepaling wordt ervan uitgegaan dat geen nitriet aan de vleesproducten wordt toegevoegd of in de producten wordt gevormd.

Bij de meeste vleeswarenbedrijven wordt gebruik gemaakt van specerijen en kruidenmengsels of extracten die een bacteriesporenreducerende behandeling hebben ondergaan, waardoor pathogene micro-organismen in belangrijke mate zijn geïnactiveerd. Onbehandelde specerijen en kruiden, gedroogde uien en meel daarentegen kunnen soms hoge aantallen bacteriesporen bevatten en als gevolg daarvan een wezenlijke bijdrage leveren aan de sporenbelasting van het vleesproduct.

De kans op aanwezigheid van pathogene micro-organismen in de overige droge hulpstoffen wordt als verwaarloosbaar ingeschat ten opzichte van de incidentie van pathogene bacteriën op verse vleesgrondstoffen zelf. Hetzelfde geldt voor bederfveroorzakende micro-organismen, mede gezien de lage percentages waarin deze hulpstoffen aan het vleesproduct worden toegevoegd.

4.1.3 Gepasteuriseerde vleesproducten

Uitgaande van een pasteurisatie tot een kerntemperatuur van minimaal 70°C gedurende 2 minuten of vergelijkbare verhittingsintensiteit kan worden aangenomen dat alle relevante vegetatieve pathogene en bederfveroorzakende micro-organismen in voldoende mate zijn geïnactiveerd. Eventuele aërobe en anaërobe bacteriesporen afkomstig van vleesgrondstoffen of ingrediënten kunnen een dergelijke verhitting wel

overleven. Hieronder kunnen zich enkele pathogene soorten bevinden zoals *C. botulinum*, *C. perfringens* en *B. cereus*.

Schattingen geven aan dat één tot enkele pathogene *Clostridium* sporen per kg vers vlees voorkomen (Hauschild, 1989; Lücke and Roberts, 1993; Tompkin, 1980). Het niveau aan *B. cereus* sporen zal enigszins hoger liggen maar maximaal enkele tientallen per g vers vlees bedragen. Door toepassing van onbehandelde specerijen kan de belasting van deze sporen naar schatting een factor 10 tot 100 hoger zijn.

In producten die in een hermetisch gesloten eindverpakking worden verhit zullen alleen de overlevende bacteriesporen in staat zijn zich te ontwikkelen. Andere vleesproducten kunnen tijdens nabehandelen, snijden en verpakken weer worden herbesmet met uiteenlopende soorten micro-organismen. De aard en het niveau van de nabesmetting wordt voornamelijk bepaald door de hygiëne tijdens deze processing. In veel gevallen gaat het daarbij om onschuldige bacteriën, zoals melkzuurbacteriën, psychrotrofe Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp. en *B. thermosphacta*. In sommige gevallen echter kunnen ook pathogene bacteriën aanwezig zijn, waaronder bijvoorbeeld de psychrotrofe (koudetolerante) *L. monocytogenes* en *S. aureus*. De besmettingskansen van andere pathogene bacteriën worden ingeval van een goede hygiëne tijdens verwerking van de producten aanzienlijk lager ingeschat.

Uiteindelijk zijn voor de productveiligheid en houdbaarheid van de gepasteuriseerde vleesproducten bereid zonder nitriet voornamelijk de overlevende bacteriesporen en de eventueel van nabesmetting afkomstige micro-organismen van belang.

4.1.4 *Gezouten, gerookte vleesproducten*

Omdat de gezouten gerookte vleesproducten geen verhittingsstap ondergaan, kunnen diverse groepen sporenvormende en vegetatieve micro-organismen, waaronder pathogene en bederfveroorzakende soorten, aanwezig zijn. De aantallen *C. botulinum*, *C. perfringens* en *B. cereus* in de gezouten, gerookte vleesproducten zullen vergelijkbaar zijn aan die in de gepasteuriseerde producten. De kans op aanwezigheid van vegetatieve pathogene bacteriën, zoals *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *Yersinia* spp., *S. aureus* en *L. monocytogenes*, in deze producten is ongetwijfeld hoger dan in de gepasteuriseerde producten. Desondanks zal de initiële incidentie en besmettingsniveaus van pathogene bacteriën op onverhit vers vlees, zoals eerder aangegeven, over het algemeen laag zijn.

Aan de andere kant is de samenstelling van de groep gezouten gerookte vleesproducten zodanig dat het pekelpercentage (= zoutgehalte op de vochtfase) relatief hoog is, waardoor een relatief lage a_w -waarde wordt bereikt (zie Tabel 3). Daarnaast vindt de bereiding van de producten, afgezien van enkele uren roken bij gematigde temperaturen, continu plaats onder koeling, evenals de distributie. Als gevolg van deze bereidingswijze en een verpakking onder zuurstofarme omstandigheden zullen melkzuurbacteriën uiteindelijk de dominante flora in de producten vormen. De ontwikkelingsmogelijkheden van de meeste overige pathogene en bederfveroorzakende bacteriën zullen daarbij door de lage a_w -waarden en de lage opslagtemperatuur sterk worden beperkt.

4.1.5 *Gefermenteerde worstsoorten*

Ook gefermenteerde worstsoorten zijn onverhitte vleesproducten waarin aan het begin van het bereidingsproces de eveneens onder gezouten en gerookte vleesproducten aangegeven bacteriegroepen aanwezig kunnen zijn. De meest kritische fase van het bereidingsproces van gefermenteerde worstsoorten is de beginfase van het fermentatieproces. In die fase is de pH waarde nog niet gedaald, heeft nog geen indroging plaatsgevonden en worden temperaturen gehanteerd van 25 tot 30°C. Daarentegen heeft het worstdeeg initieel al een relatief lage a_w -waarde rond 0,970 en een pH waarde van circa 5,8. Het belangrijkste gevaar in deze fase van de bereiding van gefermenteerde worstsoorten wordt gevormd door de kans op ontwikkeling van *S. aureus*. Ontwikkeling van deze bacteriën tijdens het fermentatieproces wordt in de praktijk in belangrijke mate voorkomen door de aanwezigheid van nitriet. De werking van nitriet is daarbij onder anaërobe omstandigheden (inwendige van het product) effectiever dan onder aërobe omstandigheden (buitenzijde van het product) (Labots en Stekelenburg, 1979).

Gedurende het verloop van het fermentatieproces zal de pH waarde dalen tot beneden 5,3 en afhankelijk van het type product eindwaarden bereiken tot pH 4,7. Tijdens het daaropvolgende droogproces worden zodanig lage a_w -waarden bereikt dat uiteindelijk, in combinatie met de verlaagde pH, een in microbiologisch oogpunt stabiel product wordt verkregen dat zelfs ongekoeld lange tijd kan worden bewaard.

4.1.6 *Gedroogde gerijpte producten*

In tegenstelling tot de gefermenteerde worstsoorten vindt bij de bereiding van gedroogde, gerijpte producten slechts een zeer beperkte pH daling op. De producten danken hun microbiologische stabiliteit aan de relatief sterke indroging waardoor a_w -waarden beneden 0,90 worden bereikt. Onder deze omstandigheden zullen de meeste pathogene bacteriën alleen nog in aantal afnemen.

Ook bij deze, uit verse vleesgrondstoffen bereide, vleesproducten is de beginfase van het droogproces het meest kritisch omdat de a_w -waarde op dat moment nog relatief hoog is en de temperaturen gunstig voor de ontwikkeling van micro-organismen. Evenals bij de gefermenteerde vleesproducten is hierbij het gevaar voor ontwikkeling van *S. aureus* het grootst.

5 Gevaren-karakterisering

De gevaren-karakterisering heeft tot doel per geïdentificeerd gevaar aan te geven wat de schadelijkheid hiervan is.

Het risico van het weglaten van nitriet uit vleesproducten wordt algemeen geassocieerd met een verhoogde kans op ontwikkeling van *C. botulinum*. Deze sporenvormende bacterie kan zich uitsluitend onder anaërobe omstandigheden ontwikkelen en daarbij het zeer giftige botuline toxine vormen. Bij niet tijdig ingrijpen verloopt deze vergiftiging meestal dodelijk. Hoewel geen harde wetenschappelijke gegevens in de literatuur zijn gevonden, mag worden aangenomen dat ontwikkeling van *C. botulinum* bacteriën tot boven 10.000 kolonievormende eenheden (kve) per g noodzakelijk is om voldoende toxine te produceren. In het Warenwetbesluit “Bereiding en behandeling levensmiddelen” (WBBL) is geen specifieke grenswaarde opgenomen voor de aanwezigheid van *C. botulinum*. Vanwege de ernst van de vergiftiging dient vermeerdering van *C. botulinum* echter te allen tijde te worden voorkomen.

De risico-bepaling wordt op de eerste plaats verricht om na te gaan in hoeverre het vermeende risico van *C. botulinum* reëel is voor de huidige wijze van produceren en distribueren van vleesproducten wanneer daaruit het nitriet wordt weggelaten.

Naast *C. botulinum* kunnen andere pathogene bacteriën door het weglaten van nitriet worden beïnvloed. Onderstaand wordt de schadelijkheid van de overige geïdentificeerde pathogene bacteriën beschreven.

C. perfringens sporen kunnen, evenals *C. botulinum* sporen, alleen onder anaërobe omstandigheden ontkiemen en vermeerderen. De meest voorkomende vorm van vergiftiging door deze bacterie wordt gekenmerkt door intense buikkrampen en zelflimiterende diarree 8 tot 22 uur na consumptie van voedingsmiddelen die grote aantallen van deze bacterie bevatten. In het WBBL wordt daarom aan deze bacterie een eis gesteld van maximaal 100.000 kve per g consumptiegereed product.

S. aureus bacteriën en de sporenvormende *B. cereus* zijn in staat toxines te vormen die kunnen leiden tot een acute voedselvergiftiging. De ziekteverschijnselen als braken en diarree zijn in de meeste gevallen licht van aard en van beperkte duur. Schadelijke toxine-niveaus ontstaan pas wanneer de bacteriën zich tot aantallen groter dan 100.000 kve per g hebben kunnen ontwikkelen. *B. cereus* bacteriën kunnen bij dergelijke hoge aantallen in sommige gevallen ook tot infecties leiden. Om die reden is in het WBBL een eis van maximaal 100.000 kve per g voor beide pathogene bacteriën opgenomen.

L. monocytogenes kan voornamelijk bij mensen met een verzwakte afweer tot infectie en ziekte leiden. Zwangere vrouwen zijn daarbij een speciale risicogroep. In het WBBL wordt voor deze bacterie een eis gehanteerd van afwezigheid in 0,01 gram consumptiegereed product. Dit kan worden vertaald naar maximaal 100 kve per gram product. In de praktijk zal pas bij hogere niveaus de kans op het ontstaan van ziekte daadwerkelijk toenemen.

Salmonella spp., *E. coli* O157:H7 en *Campylobacter* spp. kunnen in lage aantallen al tot infectie en ziekte leiden. *Salmonella*spp. en *Campylobacter* spp. leiden veelal tot gastro-enteritis (misselijkheid, diarree, etc.). *E. coli* O157:H7 kan ernstiger verschijnselen veroorzaken, vooral bij kinderen kan zich een dodelijk verloopende

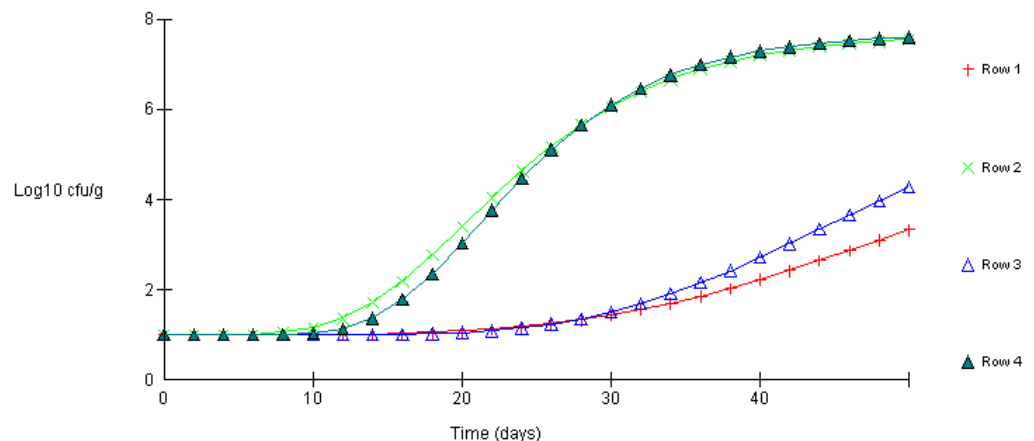
nierziekte ontwikkelen als gevolg van het optreden van het zogenaamde hemolytisch uremisch syndroom. Theoretisch kan zelfs één cel van deze bacteriën tot ziekte leiden; de kans daarop is echter klein. Hoe hoger het aantal bacteriën, hoe groter de kans op ziekte. Voor *Salmonella* en *Campylobacter* is in het WBBL de eis van afwezigheid in 25 g product opgenomen. Voor *E. coli* O157:H7 is op dit moment nog geen eis in het WBBL opgenomen.

6 Blootstellingsinschatting

Bij de blootstellingsinschatting wordt nagegaan welke aantallen van de als potentieel risico geïdentificeerde pathogene en bederfveroorzakende micro-organismen op of in de zonder nitriet bereide vleesproducten kunnen worden verwacht tijdens het proces en de daaropvolgende distributie. De inschatting wordt per productgroep behandeld. Daarbij is onder meer gebruik gemaakt van het Food MicroModel software programma ontwikkeld op initiatief van het Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) in Engeland. Met behulp van dit programma kan de ontwikkeling van de belangrijkste voedselpathogenen onder uiteenlopende omstandigheden en temperaturen worden voorspeld op basis van experimentele data en daaruit ontwikkelde primaire groeimodellen.

6.1 Gepasteuriseerde vleesproducten

In gepasteuriseerde vleesproducten bereid zonder nitriet zijn de ontwikkelingsmogelijkheden van *Clostridium* spp. voornamelijk afhankelijk van de productsamenstelling en de opslagtemperatuur. Proteolytische *C. botulinum* soorten en *C. perfringens* kunnen zich onder optimale omstandigheden niet ontwikkelen bij temperaturen beneden 10 tot 15°C. Non-proteolytische *C. botulinum* bacteriën zijn daarentegen in staat om tot een temperatuur van 3,3°C te ontkiemen en te vermeerderen. In Figuur 1 is een indicatie gegeven van de ontwikkelingsmogelijkheden van non-proteolytische *C. botulinum* bacteriën bij 7°C in een vleesproduct met een neutrale pH en a_w -waarden van 0,980 en 0,975, uitgaande van een 'worst-case' besmettingsniveau van 10 cellen per g product. Bij het Food MicroModel wordt geen nadere informatie verschaft over de vraag of het betreffende model uitgaat van sporen of vegetatieve cellen.

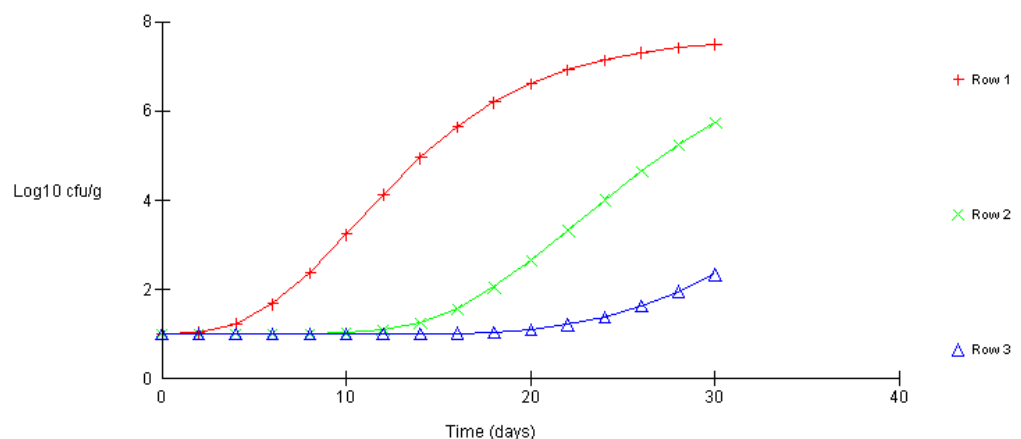


Figuur 1 Voorspelling van de ontwikkelingsmogelijkheden van vegetatieve non-proteolytische *C. botulinum* bacteriën onder strikt anaërobe omstandigheden in een modelmedium met een pH van 6,5 bij een a_w -waarde van 0,980 en een temperatuur van 4°C (Row 1) en 7°C (Row 2) en bij een a_w -waarde van 0,975 en een temperatuur van 7°C (Row 3) en 10°C (Row 4) (Data afkomstig uit Food MicroModel, V3.02)

Duidelijk is dat zowel de temperatuur als de a_w -waarde een belangrijke invloed hebben op de ontwikkelingsmogelijkheden van non-proteolytische *C. botulinum*. Onder de gegeven worst-case omstandigheden is bij een a_w -waarde van 0,980 een beginnende

ontwikkeling van *C. botulinum* zichtbaar na circa 10 dagen 7°C. Ongeveer een zelfde curve wordt verkregen bij een a_w -waarde van 0,975 maar dan bij een temperatuur van 10°C. Daarentegen kan bij een a_w -waarde beneden 0,975 de ontwikkeling van non-proteolytische *C. botulinum* in nitrietvrije gepasteuriseerde vleesproducten gedurende 3 weken opslag bij 7°C worden voorkomen. Ditzelfde geldt ingeval van een a_w -waarde van 0,980 wanneer de opslagtemperatuur niet hoger is dan 4°C. Onder suboptimale condities is de mogelijkheid van toxinevorming sterk beperkt. Door Lücke and Roberts (1993) werd in kookworst zonder nitriet ontwikkeling van geïnoculeerde *C. botulinum* sporen waargenomen na 3 weken bij 8°C, maar toxinevorming werd slechts incidenteel na 16 weken bij 5°C vastgesteld. Beneden a_w -waarden van 0,970 kunnen non-proteolytische *C. botulinum* zich niet meer ontwikkelen (Lücke and Roberts, 1993; Skovaard, 1992). Bij de meeste kookworstsoorten is deze a_w -waarde onder praktijkomstandigheden wel haalbaar. In ham en schouderproducten is een dergelijke a_w -waarde zonder additionele toevoegingen minder makkelijk bereikbaar. Ook kan de aanwezigheid van lever of bloed in kookworstsoorten de ontwikkeling van *C. botulinum* stimuleren. Over de mate waarin dit gebeurt is echter weinig bekend.

Naast de anaërobe *C. botulinum* sporen kunnen in principe ook psychrotrofe facultatief anaërobe *B. cereus* sporen tot ontwikkeling komen. Figuur 2 laat de ontwikkelingsmogelijkheden zien van vegetatieve cellen van *B. cereus* onder verschillende condities.



Figuur 2 Voorspelling van de ontwikkelingsmogelijkheden van vegetatieve psychrotrofe *B. cereus* bacteriën bij 7°C onder aërobe omstandigheden in een modelmedium met een pH van 6,5 en een a_w -waarde van 0,980 (Row 1) en 0,970 (Row 2) en bij 5°C in een modelmedium met een pH van 6,5 en een a_w -waarde van 0,970 (Row 3). (Data afkomstig uit Food MicroModel, V3.02)

Ook de ontwikkeling van *B. cereus* bacteriën is sterk afhankelijk van de a_w -waarde van het product en de opslagtemperatuur. Uitgaande van een initieel besmettingsniveau van 10 sporen per g product wordt de in de WBBL genoemde grenswaarde van 100.000 kve per g product in de ongunstigste situatie binnen 14 dagen bereikt. Hierbij moet wel rekening worden gehouden met het feit dat de modellen zijn gebaseerd op groei van vegetatieve cellen in optimale media en onder optimale omstandigheden. In de praktijk zullen de in het product overlevende *B. cereus* sporen eerst moeten ontkiemen. Daarnaast zal de ontwikkeling van *B. cereus* in vleesproducten verpakt onder zuurstofarme omstandigheden waarschijnlijk aanzienlijk langzamer verlopen. Bekend is

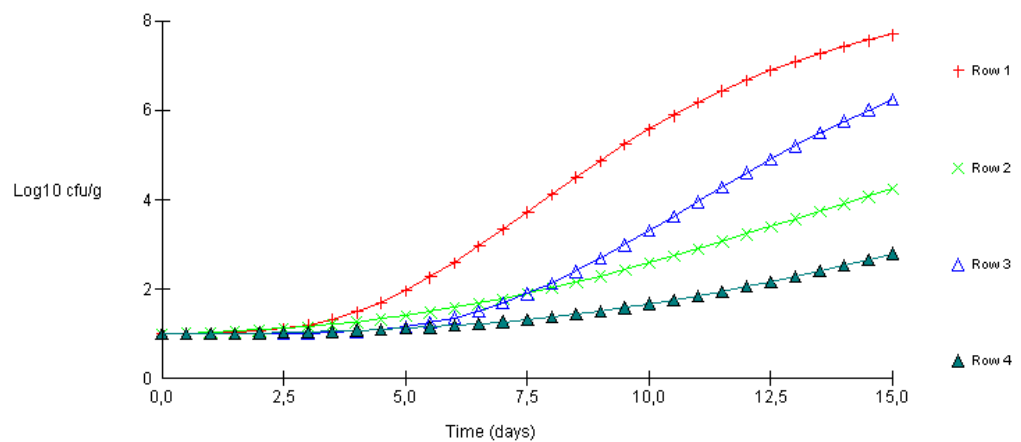
dat *B. cereus* sterk geremd wordt door een verhoogd koolzuur (CO_2) gehalte in de verpakking.

Los van de pathogene bacteriesporen kunnen ook bederfveroorzakende bacteriesporen in de producten aanwezig zijn, waardoor de houdbaarheid kan worden beïnvloed. Hiervoor zijn echter geen modellen beschikbaar.

In gepasteuriseerde producten die zijn nabehandeld en/of gesneden kan naast de overlevende bacteriesporen enige vorm van nabesmetting aanwezig zijn. Uitgaande van het feit dat de gepasteuriseerde vleesproducten al dan niet in gesneden vorm worden verpakt onder zuurstofarme omstandigheden zal de bederfflora voornamelijk bestaan uit melkzuurbacteriën of *B. thermosphacta*. Uit door TNO Voeding verricht onderzoek is bekend dat de ontwikkelingsmogelijkheden van deze bacteriesoorten onder koeling nauwelijks beïnvloed worden door de aanwezigheid van nitriet (Muermans en Stekelenburg, 1993).

Bij hygiënische verwerking van gepasteuriseerde vleesproducten is de kans op nabesmetting met pathogene bacteriën klein (Stekelenburg, 1996). Incidenteel aanwezige mesofiele pathogene bacteriën, zoals *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus* en *Campylobacter* kunnen zich bij temperaturen beneden 7°C niet vermeerderen. Onder vergelijkbare procesomstandigheden zal de kans op aanwezigheid van genoemde groepen pathogene bacteriën op vleesproducten zonder nitriet niet groter zijn dan op nitriethoudende gepasteuriseerde vleesproducten.

Een incidentele besmetting met de psychrotrofe *L. monocytogenes* ligt meer voor de hand gezien de in vleesverwerkende bedrijven gangbare omgevingsomstandigheden, zoals koele vochtige ruimten. Voor de risico-inschatting wordt uitgegaan van een niveau van maximaal 10 kve per g product ('worst-case' scenario).



Figuur 3 Voorspelling van de ontwikkelingsmogelijkheden van *L. monocytogenes* bacteriën bij 7°C in een modelmedium met een pH van 6,5 en een a_w -waarde van 0,980 zonder nitriet (Row 1) en met nitriet (Row 2) en een a_w -waarde van 0,970 zonder nitriet (Row 3) en met nitriet (Row 4). (Data afkomstig uit Food MicroModel, V3.02)

Uit Figuur 3 blijkt dat de ontwikkeling van *L. monocytogenes* duidelijk wordt geremd door de aanwezigheid van nitriet. Ook de a_w -waarde heeft een aanzienlijk effect op de groeisnelheid. Verder blijkt dat *L. monocytogenes* zowel in producten met als zonder

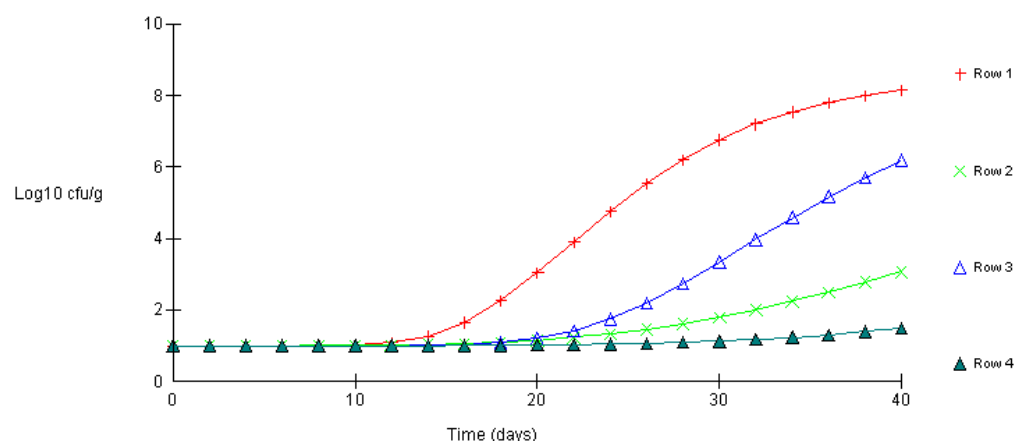
nitriet binnen de in de praktijk gangbare houdbaarheidstermijn van 3 tot 4 weken bij 7°C kan uitgroeien tot boven de in de WBBL aangegeven grenswaarde van 100 kve per g product. Dit risico zal in de praktijk, zoals nu ook bij nitriethoudende vleesproducten gebeurt, moeten worden beperkt door toepassing van adequate hygiëne maatregelen waardoor de kans op besmetting met *L. monocytogenes* zo klein mogelijk is.

6.2 Gezouten, gerookte vleesproducten

Uit de verzamelde informatie blijkt dat de pekelpercentages van gezouten, gerookte vleesproducten zodanig hoog zijn dat a_w -waarden beneden 0,965 worden bereikt. Daarnaast liggen de pH waarden van de producten lager dan van gepasteuriseerde vleesproducten. In dergelijke producten is, ook wanneer deze zonder nitriet zijn bereid, de kans op ontwikkeling van *C. botulinum* en *C. perfringens* sporen tijdens opslag bij 7°C klein. Met de beschikbare modellen is een voorspelling bij dergelijke lage a_w -waarden in combinatie met een temperatuur bij 7°C daarom ook niet mogelijk. Bij extrapolatie van de modellen wordt geen toename van genoemde anaërobe sporen verwacht binnen 8 tot 10 weken opslag bij 7°C.

Ook voor *B. cereus* sporen geeft het voorspellend model geen groei aan binnen 30 dagen bij 7°C. De verwachting is dat deze termijn in nitrietvrije vleesproducten verpakt onder zuurstofarme omstandigheden, met name bij verhoogde CO₂ gehalten, ruimschoots langer zal zijn.

Ook in deze onverhitte vleesproducten zullen incidenteel aanwezige mesofiele pathogene bacteriën, zoals *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *S. aureus* en *Campylobacter* spp. zich niet bij temperaturen beneden 7°C vermeerderen. Ook de psychrotrofe *Yersinia* spp. kan zich in deze producten niet ontwikkelen. Als gevolg van de relatief lage a_w - en pH-waarden van de gezouten gerookte vleesproducten zullen de genoemde pathogene bacteriën tijdens opslag waarschijnlijk in aantal afnemen. Mogelijk verloopt deze afname in producten zonder nitriet minder snel dan in nitriethoudende producten.



Figuur 4 Voorspelling van de ontwikkelingsmogelijkheden van *L. monocytogenes* bacteriën bij 7°C in een modelmedium met een pH van 6,0 en een a_w -waarde van 0,960 zonder nitriet (Row 1) en met nitriet (Row 2) en een a_w -waarde van 0,950 zonder nitriet (Row 3) en met nitriet (Row 4). (Data afkomstig uit Food MicroModel, V3.02)

Ondanks deze lage a_w - en pH waarden van de gezouten, gerookte vleesproducten blijft de ontwikkeling van *L. monocytogenes* binnen de gangbare houdbaarheidstermijnen mogelijk (zie Figuur 4). Daarbij is de groeisnelheid van deze pathogene bacterie hoger in afwezigheid van nitriet. De kans dat de in het WBBL genoemde grenswaarde van 100 kve per g product wordt overschreden neemt af naarmate de a_w -waarde van het product lager is. Bij nitrietvrije gezouten gerookte vleesproducten met een a_w -waarde beneden 0,950 lijkt een houdbaarheidstermijn van circa 5 weken haalbaar.

6.3 Gefermenteerde worstsoorten

Uit de gevarenidentificatie komt naar voren dat met name de beginfase van het fermentatieproces in microbiologisch opzicht kritisch is, vanwege de nog niet gedaalde pH en de gehanteerde hoge temperaturen. Ondanks deze omstandigheden is gezien de initiële samenstelling van het worstdeeg met a_w -waarden rond 0,965 en een pH waarde van circa 5,8 geen ontkieming van aërobe en anaërobe bacteriesporen te verwachten gedurende de fermentatieperiode. Dit geldt ook voor producten bereid zonder nitriet (Mulder en Zomer, 1982). Na deze periode zal de pH daling, de aanwezigheid van grote aantallen melkzuurbacteriën en het daardoor gevormde melkzuur, alsmede de verdere indroging, de ontwikkelingskansen van alle pathogene bacteriën in de gefermenteerde worstsoorten nagenoeg onmogelijk maken. Wanneer de fermentatie goed verloopt zal de ontwikkeling van *L. monocytogenes* vooral worden beperkt door de vorming van melkzuur waarvoor deze bacterie nogal gevoelig is.

Als reëel gevaar bij de bereiding van nitrietvrije gefermenteerde worstsoorten blijft over de ontwikkeling van *S. aureus* tijdens de eerste fase van de fermentatie. Uit onderzoek blijkt dat *S. aureus* in gefermenteerde producten in principe kan uitgroeien tot aantallen boven de in het WBBL genoemde grenswaarde van 100.000 kve per g product (Labots en Stekelenburg, 1979). In afwezigheid van nitriet zal deze ontwikkeling sneller verlopen. Hierdoor ontstaat de kans op vorming van toxinen. Vanwege de grote verschillen in gehanteerde fermentatieprocessen en samenstellingen is het niet mogelijk een algemeen geldende inschatting te maken van de ontwikkelingskansen van *S. aureus* (Stekelenburg, 1994). De belangrijke procescriteria bij gefermenteerde worstsoorten is de snelheid van zuurvorming tijdens de fermentatie, die wordt beïnvloed door de gebruikte startercultuur, de temperatuur, de tijd en de relatieve vochtigheid, in combinatie met de indrogingsnelheid na de fermentatie. Het kaliber van de worst is hierbij mede bepalend.

6.4 Gedroogde, gerijpte vleesproducten

In principe zijn de ontwikkelingskansen van pathogene bacteriën in nitrietvrije gedroogde, gerijpte producten vergelijkbaar met die in nitrietvrije gefermenteerde worstsoorten. Ook in deze producten zijn de ontwikkelingskansen van aërobe en anaërobe bacteriesporen en de meeste vegetatieve pathogene bacteriën klein gedurende het eerste deel van de rijpingsperiode (Mulder en Zomer, 1982). Vanwege de afnemende a_w -waarde van het product tijdens het rijpingsproces zullen de ontwikkelingskansen alleen maar kleiner worden. Alleen bij relatief langzaam verlopende droogprocessen zoals van rauwe ham zouden pathogene *Clostridium* en *Bacillus* soorten volgens de modellen tot ontwikkeling kunnen komen.

Omdat er bij deze gedroogde, gerijpte producten nauwelijks pH daling optreedt is de kritische beginperiode afhankelijk van de snelheid van indroging. Hierdoor kan het

langer duren voordat een voldoende lage a_w -waarde is bereikt, waardoor het risico van ontwikkeling van *S. aureus* tot onacceptabele aantallen zal toenemen. Wanneer de indroging echter zover gevorderd is dat een a_w -waarde beneden 0,90 is bereikt, zal de ontwikkeling van alle pathogene bacteriën stoppen. Tijdens verdere opslag zullen eventueel aanwezige pathogene bacteriën slechts in aantallen afnemen.

7 Risico-karakterisering

Uit de inschatting van de ontwikkelingsmogelijkheden van de verschillende relevante pathogene bacteriën blijkt dat de bereiding van vleesproducten zonder nitriet onder een aantal randvoorwaarden mogelijk is.

7.1 Gepasteuriseerde vleesproducten

Bij gepasteuriseerde vleesproducten bereid zonder nitriet zullen net als bij nitriethoudende producten de bederfveroorzakende bacteriën de houdbaarheidstermijn bepalen afhankelijk van de productsamenstelling en verpakkingswijze.

In vleesproducten die in hermetisch gesloten verpakking zijn verhit kunnen tijdens gekoelde opslag in principe alleen aërobe en anaërobe bacteriesporen tot ontwikkeling komen. In vleesproducten met een a_w -waarde kleiner dan 0,970 die beneden 7°C worden bewaard zal een eerste ontwikkeling niet binnen 3 tot 4 weken plaatsvinden. Non-proteolytische *C. botulinum* zullen zich onder die omstandigheden niet kunnen ontwikkelen.

In nabewerkte vleesproducten die onder zuurstofarme omstandigheden zijn verpakt zal de bederfflora voornamelijk bestaan uit melkzuurbacteriën. De groeisnelheid van deze bacteriën worden nauwelijks beïnvloed door nitriet. In de meeste gevallen zal de ontwikkeling van de melkzuurbacterieflora aanzienlijk sneller verlopen dan de ontwikkeling van pathogene bacteriën met als resultaat dat eerder bederfverschijnselen zullen ontstaan dan dat de productveiligheid in het geding komt. Mede door de vorming van melkzuur bieden melkzuurbacteriën in hoge aantallen zelfs een zekere bescherming tegen de ontwikkeling van pathogene bacteriën.

Desondanks kunnen op basis van de ingeschatte ontwikkelingsmogelijkheden van verschillende pathogene bacteriën de volgende randvoorwaarden worden gehanteerd om de veiligheid van nabewerkte nitrietvrije gepasteuriseerde vleesproducten in voldoende mate te beheersen.

- Hanteren van een maximale a_w -waarde voor de gepasteuriseerde nitrietvrije vleesproducten van 0,970, overeenkomend met een pekelpercentage van circa 4. Beneden deze a_w -waarde zijn non-proteolytische *C. botulinum*, zoals eerder aangegeven, niet in staat zich te vermeerderen.
- Extra aandacht voor de hygiëne na het verhittingsproces van de vleesproducten om de kans op besmetting met pathogene bacteriën, met name *L. monocytogenes*, te minimaliseren.
- Beperken van de houdbaarheid tot maximaal 3 weken bij 7°C. Gedurende deze termijn zullen ook proteolytische *C. botulinum* sporen bij matig temperatuur misbruik (15°C) in de distributieketen niet in staat zijn zich te ontwikkelen.

Aanvullend kunnen de volgende punten bijdragen om de ontwikkelingsmogelijkheden van incidenteel aanwezige pathogenen te verkleinen.

- Garanderen van een gesloten koelketen bij maximaal 7°C. Als een langere houdbaarheidstermijn gewenst is of de a_w -waarde van het product hoger is dan 0,970 zou een maximale bewaartemperatuur van bijvoorbeeld 4°C moeten worden

- gegarandeerd. Beneden deze temperatuur wordt de ontwikkeling van non-proteolytische *C. botulinum* praktisch stil gelegd.
- Verkleinen van het “consumentenrisico”, door een advies op de verpakking, bijvoorbeeld: “Na aankoop goed gekoeld opslaan i.v.m. afwezigheid conserveermiddel. Binnen x dagen na aankoop consumeren; in ieder geval niet na de op de verpakking aangegeven houdbaarheidsdatum”.

Vanwege de gevoeligheid van *L. monocytogenes* voor melkzuur en azijnzuur of zouten daarvan zou als extra veiligheidsmaatregel een toevoeging van deze hulpstoffen of een combinatie daarvan aan het gepasteuriseerde product kunnen worden overwogen (Buncic et al, 1995; Duffy et al, 1994; Nerbrink et al., 1999; Stekelenburg, 2001 en 2002). Tevens draagt de toevoeging van organische zouten bij aan een verlaging van de wateractiviteit van het vleesproduct. Genoemde toevoegingen zijn op dit moment nog niet toegestaan volgens de Skal normen voor de bereiding van biologische producten. Bij eventuele toelating zullen de voedingszuren volgens de gangbare wettelijke voorschriften als conserveermiddel gedeclareerd moeten worden.

Algemeen is het raadzaam, maar zeker bij afwijking van de aangegeven randvoorwaarden, om het betreffende product aan een belastingstest te onderwerpen alvorens het op de markt te brengen. Op basis van een dergelijke test kan de maximaal toelaatbare houdbaarheidstermijn bij een gegeven temperatuur worden vastgesteld. Ditzelfde geldt voor producten die bereid zijn met lever of bloed omdat deze hogere concentraties micronutriënten bevatten die de ontwikkeling van diverse bacteriën, waaronder pathogene soorten, kunnen stimuleren.

7.2 Gezouten, gerookte vleesproducten

Omdat gezouten, gerookte vleesproducten geen verhittingsproces ondergaan moet een incidentele aanwezigheid van uiteenlopende soorten pathogene bacteriën in deze producten als een gegeven worden beschouwd. Dit geldt zowel voor producten met als zonder nitriet. Doordat de a_w -waarden van deze groep producten over het algemeen relatief laag zijn en het gehele proces, met uitzondering van een korte rookbehandeling, onder gekoelde omstandigheden plaatsvindt, kunnen de meeste pathogene bacteriën zich echter niet ontwikkelen.

Om de ontwikkeling van de psychrotrofe *L. monocytogenes* bacteriën in nitrietvrije gezouten, gerookte vleesproducten te beheersen wordt aanbevolen een maximale a_w -waarde van 0,950, overeenkomend met een pekelpercentage van circa 6, te hanteren en de houdbaarheidstermijn te beperken tot maximaal 5 weken bij 7°C. Ook bij deze producten is het gewenst de houdbaarheidstermijn in verband met de ontwikkelingsmogelijkheden van *L. monocytogenes* door middel van een belastingstest te verifiëren.

7.3 Gefermenteerde worstsoorten en gedroogde, gerijpte vleesproducten

Evenals bij de gezouten, gerookte producten moet een incidentele aanwezigheid van uiteenlopende soorten pathogene bacteriën in gefermenteerd worstsoorten en gedroogde gerijpte producten als een gegeven worden beschouwd. Het gevaar van ongewenste bacterie-ontwikkeling ligt vooral in de beginfase van het bereidingsproces wanneer de pH en/of de a_w -waarde van het product nog onvoldoende is gedaald. Uit de ingeschatte ontwikkelingsmogelijkheden van pathogene bacteriën in deze productsoorten bereid

zonder nitriet blijkt dat de kans op ontwikkeling van pathogene *Clostridium* en *Bacillus* soorten minimaal is. Alleen bij zeer langdurige droogprocessen zoals ingeval van rauwe ham dient hieraan extra aandacht te worden besteed.

Vanwege de onzekerheid over de ontwikkelingsmogelijkheden van *S. aureus* in nitrietvrije gefermenteerde worstsoorten en gedroogde, gerijpte vleesproducten wordt aanbevolen om bij de ontwikkeling van een bereidingsproces van dergelijke nitrietvrije producten de ontwikkelingsmogelijkheden van deze bacteriën door middel van een processimulatie vast te stellen. Hierbij kan tevens informatie worden verkregen over de inactivering van andere pathogene bacteriën, zoals *Salmonella* en *E. coli* O157:H7, tijdens het proces. Een voorbeeld van een dergelijke processimulatie is beschreven door Stekelenburg (1997).

Na een goed doorlopen bereidingsproces is ook in nitrietvrije gefermenteerde worstsoorten en de gedroogde gerijpte producten vanwege de bereikte pH en a_w -waarden geen bacterie-ontwikkeling meer mogelijk. Schimmelvorming aan het oppervlak van het product wordt voorkomen door verpakken onder zuurstofarme omstandigheden. Eventueel aanwezige pathogene bacteriën zullen gedurende bewaring langzaam in aantal afnemen. Deze inactivering in de tijd zou in nitrietvrije producten mogelijk trager kunnen verlopen dan in nitriethoudende producten, maar hierover zijn geen harde gegevens bekend.

8 Literatuur

- Buncic, S., C.M. Fitzgerald, R.G. Bell and J.A. Hudson, 1995. Individual and combined listericidal effects of sodium lactate, potassium sorbate, nisin and curing salts at refrigeration temperature. *J. of Food Safety* 15 (3) 247-264
- Duffy, L.L., P.B. Vanderlinde and F.H. Grau, 1994 Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, aw, nitrite and ascorbate. *Int. J. of Food Microbiol.* 23 (3/4) 377-390
- Hauschild, A.H.W., 1989. *Clostridium botulinum*. In: *Foodborne Bacterial Pathogens* (M.P. Doyle, ed.) Marcel Dekker, New York
- Labots, H en F.K. Stekelenburg, 1979. *Staphylococcus aureus* in rauwe, gerijpte worst. *Voedingsmiddelentechnol.* 12, nr11, 25-27
- Lücke, F.K., and T.A. Roberts. 1993. Control in meat and meat products. In: *Clostridium botulinum*, Ecology and control in foods. Eds. H.W. Hauschild and K.L. Dodds. Marcel Dekker, New York., 177-207
- Lücke, F.K., 1999. Assessment of the technological necessity of the use of nitrite and nitrate in the manufacture of meat products. *Fleischwirtschaft* 79 (10) 96-98
- Muermans, M.L.T. en F.K. Stekelenburg, 1993. Modelling van de groeisnelheid van melkzuurbacteriën in vacuümverpakte boterhamworst; invloed van nitrietgehalte. Zeist, TNO-Voeding, Rapport nr. B 93.175
- Mulder, S.J. en W.J.L.M. Zomer, 1982. Onderzoek naar de gevolgen van het verminderen van de nitrietdosering respectievelijk weglaten van nitriet bij de vervaardiging van rauwe vleesproducten. Zeist, TNO Voeding, Rapport nr T 82.073
- Nerbrink, E., E. Borch, H. Blom and T. Nesbakken, 1999. A model based on absorbance data on the growth rate of *Listeria monocytogenes* and including effects of PH, NaCl, Na-lactate an Na-acetate. *Int. J. of Food Microbiol.* 47 (1/2) 99-109
- Skovgaard, N., 1992. Microbiological aspects and technological need; technological needs for nitrates and nitrites. *Food Additives and Contaminants* 9 (5) 391-397
- Stekelenburg, F.K., 1994. Adviezen voor de bereiding van droge en zachte boerenmetworst. *Vleesdist. en Vleestechnol.* nr. 5, 36-39
- Stekelenburg, F.K., 1996. Onderzoek naar de aanwezigheid van pathogene micro-organismen en het type bederfflora in gesneden vleeswaren. Zeist, TNO Voeding, Rapport nr. V 96.266
- Stekelenburg, F.K., 1997. Processimulatie geeft duidelijkheid over veiligheid product VMT, nr. 24, 44-45

Stekelenburg, F.K. en M.L.T. Kant-Muermans, 2001. Effects of sodium lactate and other additives in a cooked ham product on sensory quality and development of a strain of *Lactobacillus curvatus* and *Listeria monocytogenes* Int J. of Food Microbiol. 66, 197-203

Stekelenburg, F.K., 2002. Enhanced inhibition of *L. monocytogenes* in Frankfurter sausage by the addition of potassium lactate and sodium diacetate mixtures. Int. J. of Food Microbiol. (concept)

Tompkin, R.B., 1980. Botulism from meat and poultry products – a historical perspective. Food Technol. 34, 229

9 Ondertekening

TNO Voeding
12 november 2002

Ing. R.R.A. van der Meer
Hoofd, Afdeling Risk Management & Microbiology

F.K. Stekelenburg
Projectleider Conserveringsstrategieën

Ir. E. Hoornstra
Projectleider Risk Management