

Reductie van het nitrietgebruik bij de biologische vleeswarenbereiding

D. Stegeman (AFSG)
W.W.J.T. Jansen (AFSG)
A.Z. Zegveld (AFSG)
T.J. Verkleij (TNO)
F.K. Stekelenburg (TNO)

Rapport 658

Colofon



TNO Kwaliteit van Leven



Dit onderzoek is uitgevoerd in het kader van het programma Biologische Veehouderij (BO-04-002) met financiering van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.

Titel	Reductie van het nitrietgebruik bij de biologische vleeswarenbereiding
Auteur(s)	D. Stegeman, W.W.J.T. Jansen, A.Z. Zegveld, T.J. Verkleij, F.K. Stekelenburg
AFSG nummer	658
ISBN-nummer	90-8585-018-5
Publicatiedatum	Juli 2006
Vertrouwelijk	Nee
OPD-code	6244003700
Goedgekeurd door	A.C. Koster

Agrotechnology and Food Sciences Group
P.O. Box 17
NL-6700 AA Wageningen
Tel: +31 (0)317 475 024
E-mail: info.afsg@wur.nl
Internet: www.afsg.wur.nl

© Agrotechnology and Food Sciences Group

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, hetzij mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever. De uitgever aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele fouten of onvolkomenheden.

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system of any nature, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publisher. The publisher does not accept any liability for inaccuracies in this report.



Het kwaliteitsmanagementsysteem van Agrotechnology and Food Sciences Group is gecertificeerd door SGS International Certification Services EESV op basis van ISO 9001:2000.

Abstract

In the production of meat products like cold meats, nitrite (and nitrate) is used for several reasons; forming and stabilizing the red, cured meat colour, antimicrobial and anti-oxidative properties. The use of nitrite in organic products, however, is very much subject for debate. Therefore, as a follow-up of a literature review on this subject (A&F report 560, 2005), in this present study the effects of lowering the amount of nitrites in luncheon meat and cured ham on the product quality, by means of colour (stability) measurements, colony forming units counting, and challenge tests with *Clostridium botulinum*, has been studied.

From experiments it is concluded that that microbiological growth (as determined by the anaerobic and aerobic colony forming units) is still controlled at the reduced nitrite concentrations of about 40 and 80 ppm. The residual nitrite analysis showed that nitrite concentrations declined sharply after production for both type of products to about 15 – 25% of the ingoing level and steadily declined further during storage time of 9-10 weeks to a final amount of 2.5 – 6 ppm for luncheon meat and 15-25 ppm for ham. In conventionally produced products these values range from 50 to 80 ppm, respectively 40 to 50 ppm. No significant difference is found between the two different ingoing levels.

Applying the two reduced levels of ingoing nitrite still led to the desired cured colour for luncheon meat as well as for ham. During storage and illumination, the colour stability of most samples stayed satisfactory. For part of the samples colour faded, which was attributed to a not optimally packed product. No significant difference between the two levels of nitrite was observed.

The experiments showed that the colour of products produced without nitrite already were grey after production, and even became greyer during storage.

Challenge tests with *C. botulinum* were carried out. For this purpose two organic luncheon meat like recipes were made, each with three different levels of ingoing nitrite: 0, 54 and 108 mg/kg respectively. One recipe was a lean version, 10% fat and an a_w value of 0,971 till 0.975, the other recipe was a fat version, 33% fat and an a_w value of 0.968 till 0.973. Both recipes were inoculated with *C. botulinum* at a dosage of 100 spores per gram product. The tests showed growth after 4 weeks in the lean luncheon meat with a higher a_w (0,975), no nitrite added and stored at 15 °C. After 6 weeks also toxin was formed. After 12 weeks of storage at 15 °C, in the other products also growth of *C. botulinum* was established. When stored at 7 °C and 10 °C no growth of *C. botulinum* was measured during the 12 weeks of storage.

Therefore it can be concluded that under practical conditions as been carried out in this study (cold storage at temperatures below 7 °C, low a_w - values, production and handling under hygienic conditions), the risk of development of *C. botulinum* in pasteurised meat products produced without nitrites is very small.

Inhoudsopgave

Abstract	3
1 Inleiding	5
2 Methoden	7
2.1 Effect van de nitrietconcentratie op de kleur(stabiliteit) van de vleeswaren	7
2.1.1 Bereiding van de vleeswaren	8
2.1.2 Snijden en verpakken van de vleeswaren	9
2.1.3 Verlichten van de gesneden vleeswaren	10
2.1.4 Bepaling kleur	10
2.1.5 Bepaling restnitriet en kiemgetal	11
2.2 Effect van nitrietconcentratie en bewaarcondities op ontwikkelingsmogelijkheden van <i>C. botulinum</i> - Challengetest	11
2.2.1 Receptuur	12
2.2.2 Bereiding sporensuspensie	12
2.2.3 Boterhamworstbereiding	12
2.2.4 Verhitting	13
2.2.5 Chemische analyse	13
2.2.6 Microbiologische analyse	13
2.2.7 Analyse op botuline toxine	14
3 Resultaten	15
3.1 Boterhamworst	15
3.1.1 Controle op microbiologische gesteldheid en restnitriet gehaltes	18
3.2 Achterham	19
3.2.1 Controle op microbiologische gesteldheid en restnitriet gehaltes	23
3.3 Challengetest	23
4 Discussie	27
5 Conclusies	29
Literatuur	31
Bijlagen	33

1 Inleiding

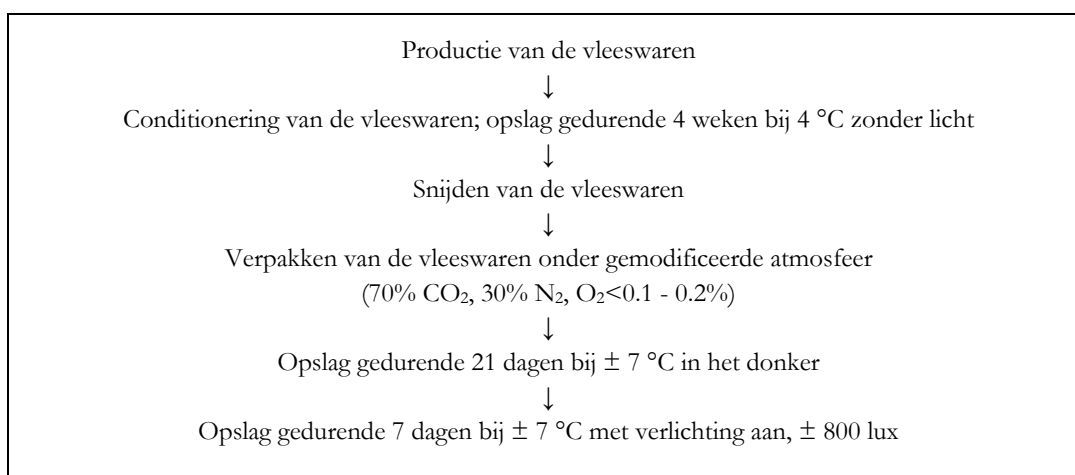
Bij de productie van veel soorten vleeswaren wordt op dit moment nitriet gebruikt voor het verkrijgen van een door de consument gewenste stabiele roze kleur, voor de smaak en voor de microbiologische stabiliteit. Voor toepassing van nitriet bij de bereiding van biologische vleeswaren bestaat al jaren een discussie die ook terug te vinden is in de regelgeving op dit gebied. Omdat het geen natuurlijke toevoeging is, is nitriet in principe een ongewenst additief bij de bereiding van biologische producten. Anderzijds mogen biologische producten geen extra gezondheidsrisico vormen ten opzichte van de niet biologische producten. Nitriet is jaren niet toegestaan geweest bij de bereiding van biologische vleesproducten, maar is nu via een tijdelijke vrijstelling toegestaan. Op het moment is nieuwe Europese regelgeving op dit gebied aangenomen (EU, 2006). In deze aanvulling op verordening 2092/91 wordt beschreven dat toepassing van 80 mg nitriet per kg vlees is toegestaan bij de bereiding van vleesproducten, waarbij maximaal 50 mg/kg nitriet in de vorm van restnitriet aanwezig mag zijn in deze vleesproducten. Met ingang van 1 december 2007 zal deze verordening in werking treden. Tot dat moment geldt de huidige vrijstelling. Voor 31 december 2007 wordt opnieuw bezien in hoeverre er een aanpassing (beperking of niet langer toestaan) moet komen wat betreft het nitrietgebruik.

Het huidige project is opgezet om de discussie over het wel of niet toestaan van nitriet in de biologische sector te kunnen ondersteunen. Binnen het project is een literatuuroverzicht van de huidige stand van zaken gemaakt, zie Stegeman, Verkleij, en Stekelenburg (A&F rapport 560, 2005). Als vervolg op dat literatuuroverzicht is een experimentele studie uitgevoerd. In deze studie is enerzijds het effect op de kleur en de kleurstabiliteit tijdens bewaring van biologische vleeswaren, geproduceerd met een verlaagde hoeveelheid nitriet, bestudeerd. Anderzijds zijn challengetesten met vleeswaren uitgevoerd. Het doel van dit laatste type testen is de ontwikkelingsmogelijkheden van *Clostridium botulinum* in vleesproducten met verlaagd nitrietgehalte te bestuderen.

2 Methoden

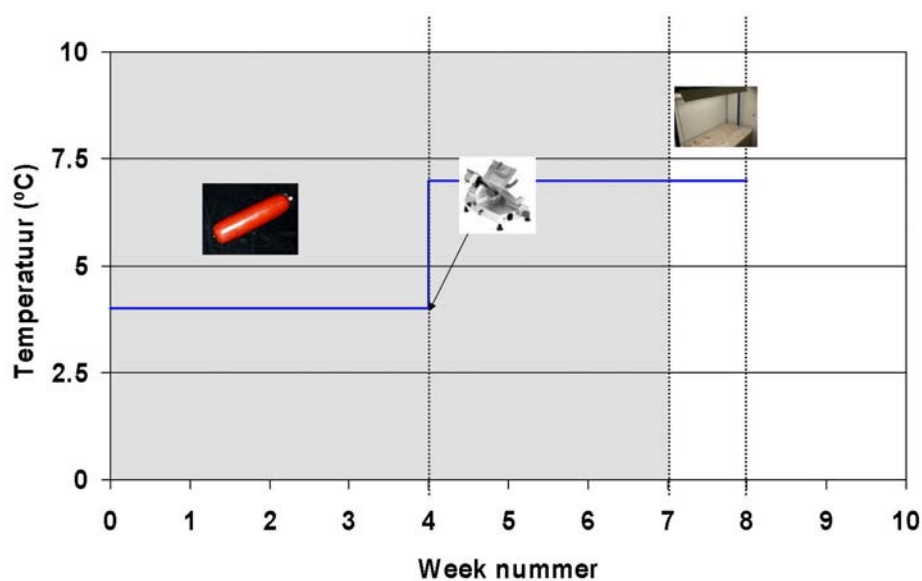
2.1 Effect van de nitrietconcentratie op de kleur(stabiliteit) van de vleeswaren

Bij deze serie experimenten werden vleeswaren via standaardprocedures geproduceerd, vervolgens bewaard, gesneden, verpakt, en weer opgeslagen. De producten werden, met uitzondering van de laatste week, de gehele periode in het donker bewaard, zie Figuur 1.



Figuur 1 Overzicht van de sequentiële stappen in het productie- en bewaarproces

Een schematische weergave van de verschillende stappen en opgelegde condities is weergegeven in Figuur 2. Gedurende deze stappen werd de kleur(stabiliteit) van de vleeswaren gevolgd d.m.v. visuele en instrumentele analyse en werden foto's van de monsters gemaakt. Tevens werden restnitriet waarden in de vleeswaren bepaald en werden de monsters microbiëel geanalyseerd.



Figuur 2 Grafische weergave van het temperatuursverloop en de verschillende stappen tijdens het bewaartraject.

2.1.1 Bereiding van de vleeswaren

Voor de vleeswaren is uitgegaan van de receptuur die is afgeleid van commerciële biologische recepturen, waarbij alleen vlees, keukenzout, nitriet in de vorm van colorozo (nitrietpekelzout, een mengsel van 99.4% NaCl en 0.6% NaNO₂), natrium L- ascorbaat en kruiden (alleen bij boterhamworst: peper, foelie, nootmuskaat) gebruikt werden. De hoeveelheid nitriet werd hierbij gevarieerd, waarbij de varianten “matig in nitriet” (rond 80 ppm), “laag in nitriet” (rond 50 ppm) en “zonder nitriet” verkregen zijn. Door aanpassing van de hoeveelheid keukenzout bij variatie in de hoeveelheid colorozo is de hoeveelheid NaCl constant gehouden.

Receptuur achterham

Varkensvlees (Lende + bovenbillen)¹ ±83%

Spuitpekel ±17%

Samenstelling	matig in nitriet	laag in nitriet	nitrietvrij
Water %	85,63	85,63	85,63
Colorozo %	9,3	5,4	0
Keukenzout %	4,7	8,6	14,0
Ascorbaat %	0,38	0,38	0,38

Receptuur boterhamworst

Mager met¹ 46,18%

Kinnebakspek zonder zwoerd¹ 33,35%

Water 17,98%

Kruiden 0,6%

Ascorbaat 0,05%

Zout 1,84 %

Samenstelling	matig in nitriet	laag in nitriet	nitrietvrij
Colorozo (%)	72,8	45,7	0
Keukenzout (%)	27,2	54,3	100

Bereidingswijze achterham²

Pekel werd in vlees van 4 °C met pekelinjector, “Inject-o-mat 15”, geïnjecteerd. Na het injecteren werd het vlees gedurende 24 uur onder vacuüm gemasseerd bij een omgevingstemperatuur van 4 °C. Aansluitend werd het vlees in een darm, type Euro E LFW 224, 75µ, ø 150 mm, kleur “smoke” (van Hessen B.V.) onder vacuüm afgestopt. Vervolgens zijn de hammen in een kookketel gepasteuriseerd gedurende ongeveer 4½ uur tot een kerntemperatuur van 70 °C bereikt werd.

Bereidingswijze boterhamworst³

Onder toevoeging van water en het zout werd 35 kg Mager met verkleind tot een farce in een met scherfijns voorgekoelde cutter. Met de cutter werd het geheel geëmulgeerd totdat de

¹ Het gebruikte vlees is afkomstig van biologische varkens en werd geleverd door De Groene Weg BV.

² Een uitgebreide beschrijving van de bereidingswijze wordt gegeven in Bijlage 1

³ Een uitgebreide beschrijving van de bereidingswijze wordt gegeven in Bijlage 2

temperatuur van de farce 10 °C bereikte. De rest van het Mager met en het Kinnebakspek werd verkleind tot 3 mm met behulp van een vleeswolf en is gelijk met de kruiden toegevoegd aan de langzaam draaiende cutter. Bij een hoge snelheid werd verder gecutterd tot het deeg 15 °C bereikte. Het geheel werd onder vacuüm afgemengd en afgestopt met een stopmachine in ø 100 mm kunstdarm, Vector 2000, kleur rood. Aansluitend na afstoppen werden de kunstdarmen gepasteuriseerd in een kookketel gedurende 2½ uur bij 78 °C (tot een kerntemperatuur van ongeveer 72 °C bereikt werd).

2.1.2 *Snijden en verpakken van de vleeswaren*

De vleeswaren werden handmatig gesneden met een Berkel snijmachine, type 250TC. De plakjes (in totaal ongeveer 100 gram) zijn op een schaalpje (14 x 17 cm) gelegd en met een verpakkingsmachine, zie Figuur 3, verpakt waarbij de lans voor het inbrengen van het gas (30% N₂, 70% CO₂) zo ver mogelijk in de verpakking werd gestoken zodat de lucht zo goed mogelijk verdreven werd en een zo laag mogelijke zuurstofconcentratie in de verpakking verkregen werd.

Gegevens van de verpakkingsmachine en gebruikte folie:

- Type: Flowpacker
- Merk: Omori Super wrapper M-5700i
- Folie: transparante folie met een lage zuurstofdoorlaatbaarheid ($< 8 \text{ ml}\cdot\text{m}^{-2}\cdot 24 \text{ h}^{-1}$)

Het snijden en verpakken heeft plaatsgevonden in een open ruimte bij 15-20 °C. Na het verpakken zijn de vleeswaren zo snel mogelijk overgebracht naar een conditioneercel van 4 °C.



Figuur 3 Foto van de gebruikte verpakkingsmachine.

Tijdens het verpakken zijn aan sommige verpakkingen zuurstofvangers (scavengers) toegevoegd voor verdere verlaging van de zuurstofconcentratie in de verpakking. Deze monsters zijn ter controle meegenomen in de test. Bij de verdere rapportage wordt uitgegaan van vleeswaren waar geen zuurstofvangers aan zijn toegevoegd, tenzij dit expliciet vermeld wordt.

Ter controle is van sommige verpakkingen de gassenstelling bepaald direct na het verpakken. In alle gevallen werd een rest-zuurstofconcentratie gemeten die varieerde tussen de 0,06 en 0,08%, een CO₂ concentratie van rond de 69% en een N₂ concentratie van ongeveer 31%. Na de eerste paar weken bleek dat enkele verpakkingen verkleurden en/of schimmel vertoonden. Uit analyse van de gassenstelling bleek dat zuurstof in deze verpakkingen aanwezig was en dat de folie niet goed geseald is geweest. Deze verpakkingen zijn uit de test genomen.

2.1.3 Verlichten van de gesneden vleeswaren

Gedurende de laatste week van opslag in de ruimte van 7 °C zijn de verpakking gespreid verdeeld over de tafels en is per tafel een lichtbak boven de tafels gehangen met hierin 2 TL-buizen, zie onderstaande foto.

De gebruikte TL-buizen waren van het type Philips TLD 58W/33, kleur CoolWhite – 4200 K. De lichtsterkte vlak boven de verpakte vleeswaren is bepaald met een lichtsterkte meter en had een gemiddelde waarde van 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ wat overeenkomt met 850 à 970 lux. Deze lichtintensiteit is ongeveer twee keer zo sterk als normaliter wordt toegepast in retail vitrines. De lampen zijn automatisch aan- en uitgeschakeld, in een schema van 12 uur aan – 12 uur uit gedurende de werkweek, en uit gedurende het weekend.



Figuur 4 Foto van de lichtopstelling met hieronder de verpakte vleeswaren.

2.1.4 Bepaling kleur

De kleur is gemeten met behulp van de Datacolor kleurmeter type S/N 1204, met een meetopeningsdiameter van 6.5 mm, volgens het CIE-lab systeem. Met de meter worden L*, a* en b* - waarden gemeten: L* staat voor helderheid, +a* voor rood- en -a* voor groenkleuring, +b*

voor geel- en -b* voor blauwkleuring. Voor elke meetserie werd de meter gekalibreerd met een standaard witte tegel. Tijdens de meting werd de meter tegen het gesneden oppervlak van de vleeswaren gedrukt. Vanwege de onregelmatige kleuring van vleeswaren is de kleur op 10 verschillende plaatsen bepaald. Van de gesneden vleeswaren zijn per analyse 3 verpakkingen gebruikt en werd telkens het bovenste plakje bemonsterd. Tijdens de kleurbepaling voor het snijden werd de meting in 1 monster (in plaats van 3) in 10-voud uitgevoerd. Om het verloop van de kleur visueel inzichtelijker te maken werden tevens foto's van de monsters genomen. Om mogelijke verkleuring tijdens deze kleurbepalingen en opnames van de foto's tegen te gaan werd lichtinval op de monsters zoveel mogelijk beperkt (door het snel nemen van foto's en het afschermen van de monsters als deze niet geanalyseerd werden).

2.1.5 Bepaling restnitriet en kiemgetal

Tijdens het verloop van de proef zijn de monsters aangeboden aan Silliker in Ede voor het bepalen van de anaërobe en aërobe mesofiele kiemgetallen en de hoeveelheid restnitriet. Bij de bepaling van de aërobe kiemgetallen is uitgeplaat op PCA (Plate Count Agar) en gedurende 3 dagen bij 30 °C geïncubeerd onder aërobe condities.

Bij de bepaling van het anaërobe mesofiele kiemgetal is gebruik gemaakt van SA (Schaedler Agar) en werd anaëroob bebroed gedurende 3 dagen bij 30 °C. Door de verlaagde redox potentiaal en de anaërobe incubatie heeft in principe geen groei van aërobe bacteriën plaatsgevonden en kon er slechts een geringe groei van facultatieve anaërobe bacteriën plaatsvinden. Voor de bepaling van de anaërobe en aërobe kiemgetallen werd uitgegaan van hetzelfde beginmonster.

De bepaling van de hoeveelheid restnitriet is uitgevoerd volgens NEN 6653, waarbij de hoeveelheid nitriet als NaNO_2 in mg/kg vlees werd uitgedrukt.

2.2 Effect van nitrietconcentratie en bewaarcondities op ontwikkelingsmogelijkheden van *C. botulinum* - Challenge test

Bij de remming van *C. botulinum* spelen veel aspecten een rol (zoutgehalte, vochtgehalte, nitrietgehalte, (suikergehalte), pH waarde, verhittingsintensiteit, verhitting in eindverpakking v.s. nabesmet door finishen, wijze van verpakking (gassamenstelling), opslagtemperatuur, houdbaarheidstermijn). Vanwege dit grote aantal variabelen is in eerste instantie een challenge test verricht met een vleesproduct, gepasteuriseerd in eindverpakking, waarbij de samenstelling van het product en de opslagcondities zijn gevarieerd. Als challenge organismen zijn zowel psychrotrofe non-proteolytische als mesofiele proteolytische *C. botulinum* sporen gebruikt.

Als modelsysteem voor in hermetisch gesloten verpakking gepasteuriseerd vleesproduct is gekozen voor boterhamworst in 100 grams busjes (busmaat \varnothing 73 x 31,5 mm). De keuze voor boterhamworst is gemaakt omdat een samengestelde vleeswaar zich makkelijker leent voor het aanbrennen van variaties in receptuur dan een enkelvoudige vleeswaar, zoals ham. Het gebruik van busjes is gebaseerd op een betere standaardisatie bij het verhittingsproces en een kleinere kans op het optreden van lekkages.

2.2.1 Receptuur

Op basis van recepturen van boterhamworsten zijn de in Tabel 1 aangegeven twee modelrecepturen opgesteld met varkensvlees afkomstig uit de biologische sector.

Tabel 1 Nagestreefde basissamenstelling boterhamworst voor standaard hoeveelheid nitriet.

Grondstof/hulpstof	Boterhamworst (mager)	Boterhamworst (vet)
Varkensvlees met 15% vet (%)	87,5	-
Varkensvlees met 35% vet (%)	-	84,4
Water of ijs (%)	10	10
Keukenzout (%)	1,8	1,8
Natriumnitriet (ppm)	108	108
Kruiden (%)	0,7	0,7
Tarwezetmeel (%)	0	3

Gestreefd werd naar een vetpercentage van circa 15% voor de magere boterhamworst en een vetpercentage van circa 30% voor de vette boterhamworst. Bij een zoutgehalte van 1,8% kunnen bij dergelijke vetgehalten a_w -waarden van respectievelijk 0,975 en 0,970 worden verwacht. Voor beide producten werd een pH-waarde van circa 6,0 nagestreefd. In een tweede serie van beide boterhamworstsoorten werd de standaard hoeveelheid nitriet gehalveerd en in een derde serie werd nitriet volledig weggelaten. In totaal werden dus 2 x 3 productvarianten gemaakt. Per variant werden circa 90 busjes gemaakt.

2.2.2 Bereiding sporensuspensie

Voor de kunstmatige besmetting van de boterhamworst is gebruik gemaakt van een mengsel van zowel psychrotrofe, non-proteolytische als mesofiele proteolytische *C. botulinum* sporen, respectievelijk type E (code BM 299) en type A (code BM 272). De *C. botulinum* sporen werden voorgekweekt op 3 verschillende sporulatiemedia. Na microscopisch vastgestelde sporulering werden de sporen geogst door suspendering in steriel demi water. Vervolgens werden de sporen 3 x gewassen met steriel demi water en vervolgens verhit gedurende 10 minuten 80°C. De zo verkregen sporen werden verdund tot een gewenst entniveau van circa 20.000 sporen per ml. Bij een enting van 5 ml per kg productdeeg komt dit neer op circa 100 sporen per gram eindproduct.

2.2.3 Boterhamworstbereiding

Per boterhamworstvariant werd 10 kg deeg bereid. De gebruikte vleesgrondstoffen waren van biologische oorsprong en afkomstig van De Groene Weg. Na ontvangst werden de grondstoffen grof verkleind en als zodanig, ter homogenisering, per soort grondstof gemengd, vacuümverpakt en opgeslagen in de koeling of diepvries.

Per variant is een farce bereid van een deel van de vleesgrondstoffen aangevuld met 1% zout of nitrietpekelzout, water en/of ijs. Tijdens de bereiding van de farce werd 15 ml sporensuspensie toegevoegd. Daarnaast werd van de resterende vleesgrondstoffen, de specerijen en 0,8% zout of nitrietpekelzout en zetmeel, een grof tekening/structuurmengsel gemaakt dat samen met de farce tot een einddeeg werd gecutterd. In de Tabel 2 zijn de verschillen per variant aangegeven. Het zo

verkregen deeg werd afgevuld in 100 grams busjes met behulp van een vacuümcontinu-vulmachine.

Tabel 2 Toegepaste samenstelling boterhamworstvarianten

Soort boterhamworst Code	Vette worst			Magere worst		
	1	2	3	4	5	6
Toegevoegd nitriet (mg/kg)	0	54	108	0	54	108
Ingrediënt						
Mager varkensvlees (%)	32,30	32,30	32,30	32,30	32,30	32,30
Water of ijs (%)	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00
Keukenzout (%)	0,90	-	-	0,90	-	-
Colorozo (%)	-	0,90	0,90	-	0,90	0,90
Sporensuspensie (%)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
FARCE	42,7	42,7	42,7	42,7	42,7	42,7
Mager varkensvlees (%)	-	-	-	29,50	29,50	29,50
Mager met (%)	-	-	-	17,73	17,73	17,73
Rugspek (%)	12,67	12,67	12,67	-	-	-
Wangen zonder zwoerd (%)	40,36	40,36	40,36	8,80	8,80	8,80
Keukenzout (%)	0,90	0,90	-	0,90	0,90	-
Colorozo (%)	-	-	0,90	-	-	0,90
Zetmeel (%)	3	3	3	-	-	-
Ascorbaat (%)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Kruiden (%)	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
STRUCTUUR/TEKENING (%)	57,3	57,3	57,3	57,3	57,3	57,3
TOTAAL DEEG (%)	100	100	100	100	100	100

2.2.4 Verbitting

De afgevlude busjes van de verschillende varianten werden gezamenlijk gepasteuriseerd in water van 76°C met een houdtijd van 36 minuten, resulterend in een kerntemperatuur $\geq 74^\circ\text{C}$ gedurende 10 minuten ($P_{70} = 55$ minuten). Na de verbitting werden de busjes binnen 10 minuten teruggekoeld in stromend water tot beneden 15°C. Na doorkoelen in een koelcel van 1°C gedurende 1 nacht werden de busjes verdeeld over de drie opslagtemperaturen: 7, 10 en 15°C (30 busjes per variant per temperatuur).

2.2.5 Chemische analyse

De dag na productie werd van elke variant twee busjes boterhamworst (fysisch-)chemisch onderzocht op vocht, vet, zout, nitriet, a_w - en pH-waarde.

2.2.6 Microbiologische analyse

Direct na verbitting en koeling werd van elke variant twee busje boterhamworst microbiologisch onderzocht op aëroob koloniegetal en aantal sulfietreducerende *Clostridium* bacteriën. Gedurende de opslag bij 7, 10 en 15°C werd de bacterieontwikkeling in de busjes boterhamworst gevolgd door regelmatig onderzoek op genoemde parameters volgens het in Tabel 3 aangegeven schema.

Per bemonsteringstijdstip werden telkens 2 busjes per variant onderzocht. Afhankelijk van de resultaten vond bijstelling van het schema plaats.

Tabel 3 Onderzoeksschema van de busjes vleeswaren

Onderzoekstijdstip	Opslagtemperatuur		
	15°C	10°C	7°C
2 weken	x		
4 weken	x	x	x
6 weken	x		
8 weken	x	x	x
10 weken	x		
12 weken	x	x	x

2.2.7 Analyse op botuline toxine

Na vaststelling van de ontwikkeling van *C. botulinum* in busjes boterhamworst werden monsters onderzocht op aanwezigheid van botulinum toxine. Dit onderzoek is uitgevoerd door ASG, Lelystad.

3 Resultaten

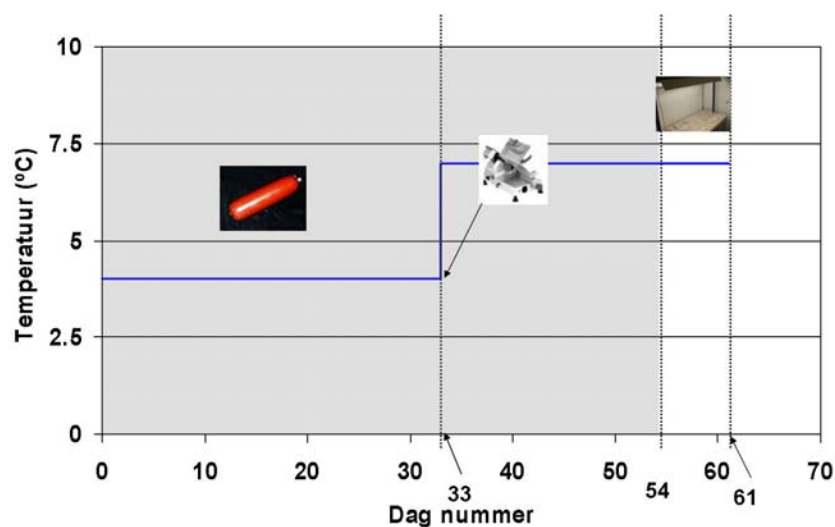
3.1 Boterhamworst

De productie van de boterhamworst is uitgevoerd op 19 oktober 2005. Deze productie is volledig volgens protocol uitgevoerd. De uiteindelijke samenstelling van de boterhamworsten is weergegeven in Tabel 4. Bij opening van de kunstdarmen bleek een minimale hoeveelheid (eiwithoudend) vocht uitgetreden te zijn en een (stevige) laag van 1-2 mm net onder de darm te hebben gevormd.

Tabel 4 Samenstelling van de geproduceerde boterhamworsten.

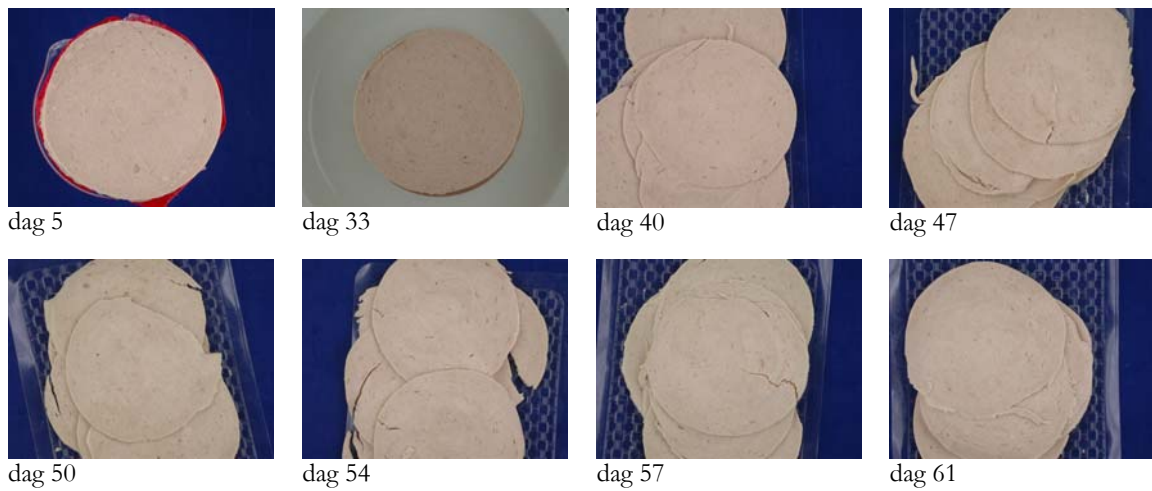
Samenstelling	matig in nitriet	laag in nitriet	nitrietvrij
Nitriet (ppm)	82	41	0
Vlees (%)	77,5	77,5	77,5
Water %	16,7	16,7	16,7
NaCl %	1,8	1,8	1,8
Kruiden en Ascorbaat %	1,45	1,45	1,45

Na ongeveer 4 weken conditioneren bij 4 °C (dag 33) zijn de vleeswaren gesneden, verpakt onder gemodificeerde atmosfeer en weer bewaard bij 7 °C in het donker. De laatste week zijn de monster verlicht (vanaf dag 54), zie ook Figuur 5 voor een schematische weergave.

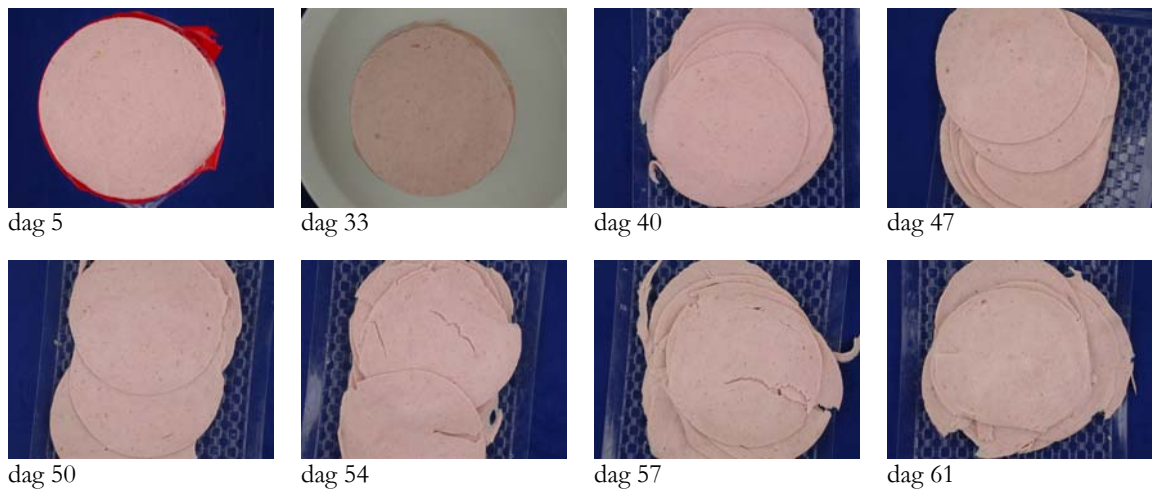


Figuur 5 Opgelegd temperatuursverloop en andere processtappen bij de productie en het bewaren van boterhamworst.

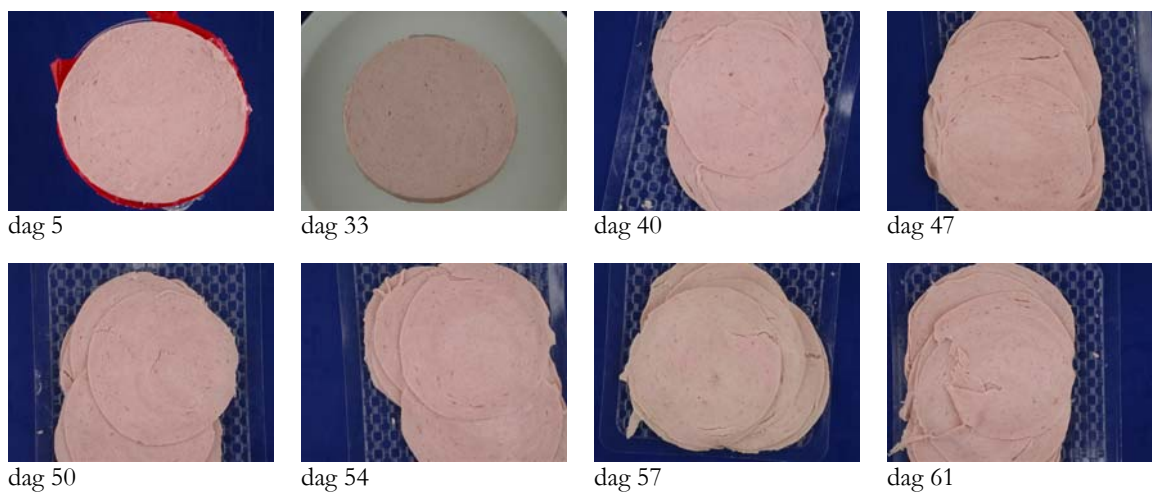
Gedurende de gehele bewaarperiode is de kleurontwikkeling van de vleeswaren gevolgd. Aan de hand van foto's is het kleurverloop weergegeven in het volgende overzicht (Figuur 6, Figuur 7 en Figuur 8). In Bijlage 3 wordt een uitgebreider overzicht weergegeven met enkele extra en grotere foto's.



Figuur 6 Overzicht van de kleur en het kleurverloop in de tijd van nitrietvrije boterhamworst.



Figuur 7 Overzicht van de kleur en het kleurverloop in de tijd van boterhamworst laag in nitriet (41 ppm).

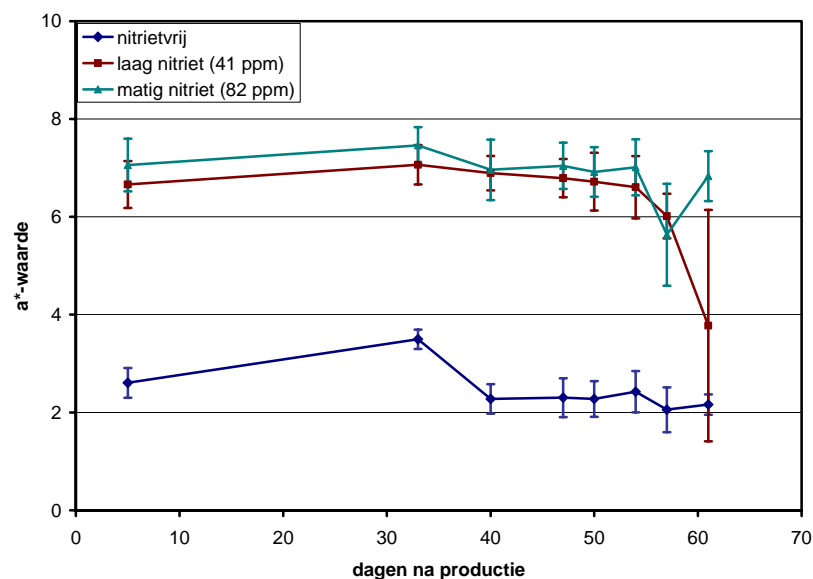


Figuur 8 Overzicht van de kleur en het kleurverloop in de tijd van boterhamworst matig in nitriet (82 ppm)

Uit Figuur 5 blijkt duidelijk de noodzaak voor nitriet voor het verkrijgen van de roze kleur van de boterhamworst. Al direct vanaf dag 5 (het eerste moment dat het vleeswaar geopend en bekeken is) heeft de boterhamworst een grauwe kleur. Deze kleur wordt nog iets grauwer gedurende de volledige periode.

In Figuur 7 en Figuur 8 valt te zien dat toepassing van zowel 41 ppm als 82 ppm nitriet voor een (gewenste) kleuring zorgt. Een duidelijk verschil tussen “laag in nitriet” en “matig in nitriet” valt niet waar te nemen. Kleurvariaties tussen de monsters onderling zijn groter dan tussen de boterhamworst geproduceerd met de verschillende nitriethoeveelheden, zie ook de spreiding in Figuur 9. In Figuur 8 valt bijvoorbeeld op dat het monster van dag 57 meer verkleuring laat zien dan het monster dat op dag 61 gefotografeerd is. Aan de andere kant is de gemiddelde kleur van dag 61 minder roze dan de roze gedeeltes bij dag 57, zie ook Bijlage 3 voor een duidelijker beeld. Nitriet blijkt hiermee tijdens deze experimenten een significant effect op de kleur(stabiliteit) te hebben, waarbij er geen zichtbaar verschil was tussen boterhamworst met 41 en 82 ppm.

In de volgende figuur wordt de gemeten a^* -waarde weergegeven (de roodwaarde) in de tijd voor de verschillende boterhamworsten. De L^* -waarde (licht/donker) en de b^* -waarde (geel/blauw)-wordt in Bijlage 5 gegeven.



Figuur 9 Kleurverloop boterhamworst a^* - waarde (rood/groen).

Uit Figuur 9 valt te zien dat er geen significant verschil is tussen de kleur en het kleurverloop van de boterhamworst bereid met 41 ppm nitriet en die bereid met 82 ppm nitriet. Een duidelijke daling in a^* -waarde is waar te nemen op het moment dat het licht is aangezet in de koelruimte (dag 54). De spreiding laat zien dat hoewel sommige monsters duidelijk minder roze worden, er ook monsters zijn die nog niet echt verkleuren. Het verschil wordt waarschijnlijk veroorzaakt

door een niet altijd volledig lekdicthe verpakking. Gedurende de loop van het experiment bleken sommige verpakkingen niet hermetisch dicht geseald te zijn geweest. Waar duidelijk sprake was van lekkage zijn de vleeswaren verwijderd. Waar dit echter niet eenduidig was (waar geen lucht uit de verpakking gedrukt kon worden) zijn deze monsters niet verwijderd en meegenomen in de beoordeling. Een minimale lek kan er echter ook voor zorgen dat er toch een geringe hoeveelheid zuurstof bij het vleeswaar kan komen. In combinatie met de verlichting kan dit voor een zeer snelle verkleuring zorgen. Hier wordt verder op ingegaan in de discussie, Hoofdstuk 4.

3.1.1 Controle op microbiologische gesteldheid en restnitriet gehalten

Voor de metingen van kiemgetallen en restnitriet gehalten zijn monsters genomen die, in het geval van de nog intacte worsten (dag 5 en dag 33) van de vleespaal zijn gesneden en direct weer vacuüm verpakt en gekoeld bewaard zijn. Voor dag 54 en dag 61 werden voorverpakte en gesneden monsters gebruikt.

Zoals hierboven vermeld, waren de vleeswaren in enkele verpakkingen verkleurd en in andere verpakkingen niet. Vanwege de aanname dat de verkleuring door een lekkage veroorzaakt werd en dat deze lekkage voor een versnelde veroudering zou kunnen zorgen zijn, werden, indien er sprake was van kleurverschil, de meer verkleurde monsters gebruikt voor de bepaling van de kiemgetallen en de meer roze monsters voor de nitrietbepalingen. Op dag 61 was dit het geval met het monster van 41 ppm; het monster waarop de restnitriet bepaling heeft plaatsgevonden was nog volledig roze, terwijl het monster voor de bepaling van de kiemgetallen al in geringe mate aan het verkleuren was. Bij de boterhamworst bereid met 82 ppm nitriet waren op dag 61 zowel het monster ter bepaling van de kiemgetallen als die voor nitriet niet meer roze.

De analysesresultaten (Tabel 5, pagina 19) laten zien dat de verkleurde monsters duidelijk hogere kiemgetallen vertoonden. Een mogelijke oorzaak voor deze vertoonde snelle stijging in kiemgetallen zou de hierboven veronderstelde lekkage van de verpakking kunnen zijn (waardoor de waarden voor deze monsters dus ook al in een eerder stadium hoger zijn geweest). Maar ook zou er sprake kunnen zijn geweest van een besmetting die al eerder in het proces heeft plaatsgevonden (bij alle handelingen is zoveel mogelijk besmetting tegengegaan, er is echter niet onder “high-care” omstandigheden gewerkt). Ook is het mogelijk dat er uitgroei van microflora plaats heeft gevonden waar de aanwezigheid van nitriet geen invloed op heeft gehad. Tijdens het openen van de verpakkingen aan het eind van de proef viel op dat er een licht zure guur van de vleeswaren kwam, waarschijnlijk veroorzaakt door melkzuurbacteriën (deze zijn facultatief anaëroob en kunnen dus zowel met als zonder zuurstof gedijen).

Dat de hoge kiemgetallen niet veroorzaakt zijn door een te lage concentratie ingangsnitriet, blijkt enerzijds uit het feit dat er nog steeds een gedeelte van het toegevoegde nitriet aanwezig was in de monsters op de laatste dag van het experiment. Anderzijds blijkt uit de analyses van de nitrietvrije boterhamworst dat de kiemgetallen ook na de volledige bewaartijd verwaarloosbaar klein kunnen zijn indien geen nitriet aanwezig is.

In vergelijking met boterhamworst geproduceerd met een gangbare hoeveelheid nitriet van 150 ppm is een aanzienlijke reductie bereikt in de hoeveelheid restnitriet. In dit geval zijn waarden van rond 6 ppm waargenomen na de productie, terwijl bij de gangbare productie waarden van 50 à 80 ppm restnitriet worden gevonden. Aan de hand van de analyseresultaten wordt geen relatie gezien tussen de hoeveelheid restnitriet en de ingangconcentraties.

Tabel 5 Analyses van kiemgetallen en residunitriet in boterhamworst als functie van de bewaartijd.

	dag 5			dag 33			dag 54			dag 61		
ingangsnitriet (ppm)	0	41	82	0	41	82	0	41	82	0	41	82
Aëroob mesofiel kiemgetal (kve/g)	900*	<100	<100	1100	3800*	100*	100*	<100	200*	<100	2,4 x 10 ⁵	7,3 x 10 ⁶ *
Anaëroob mesofiel kiemgetal (kve/g)	200*	<100	<100	100*	3300	<100	100*	<100	300*	200*	2,2 x 10 ⁵	5,1 x 10 ⁶ *
restnitriet (ppm)	n.b.	6,1	6,4	n.b.	4,3	3,5*	n.b.	2,0	2,3	n.b.	2,5	5,6

* geeft indicatieve waarde weer, n.b. = niet bepaald (geen nitriet aanwezig)

3.2 Achterham

De hammen werden op 14 oktober 2005 bij TNO Kwaliteit van Leven in Zeist geproduceerd volgens eerder gegeven receptuur. De uiteindelijke samenstelling van de vleeswaren is weergegeven in Tabel 6.

Tabel 6 Samenstelling van de geproduceerde hammen.

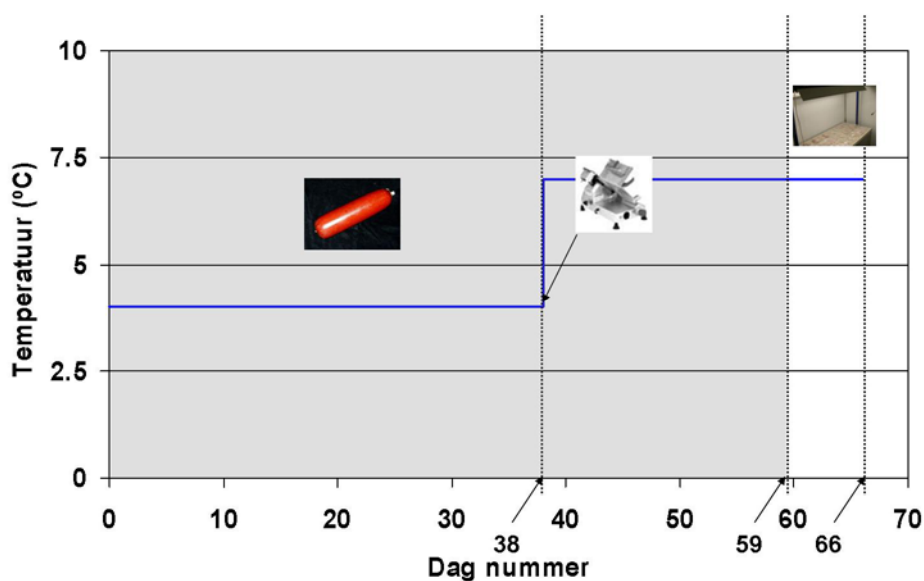
Samenstelling	matig in nitriet	laag in nitriet	nitrietvrij
Nitriet (ppm)	94	59	0
Vlees (%)	83,2	81,9	83,0
Water %	14,4	15,5	14,5
NaCl %	2,3	2,5	2,4
Ascorbaat %	0,06	0,07	0,06

Na afloop van de pasteurisatie bleek er sprake te zijn van vochtuittrekking. De verschillende stukken vlees waren hierbij niet volledig aan elkaar gehecht en in de ruimtes tussen het vlees kon het vocht zich ophopen, zie Figuur 10. Tijdens de vervolgstappen is de fractie van vochtuittrekking bepaald op 17-18 gew.%.



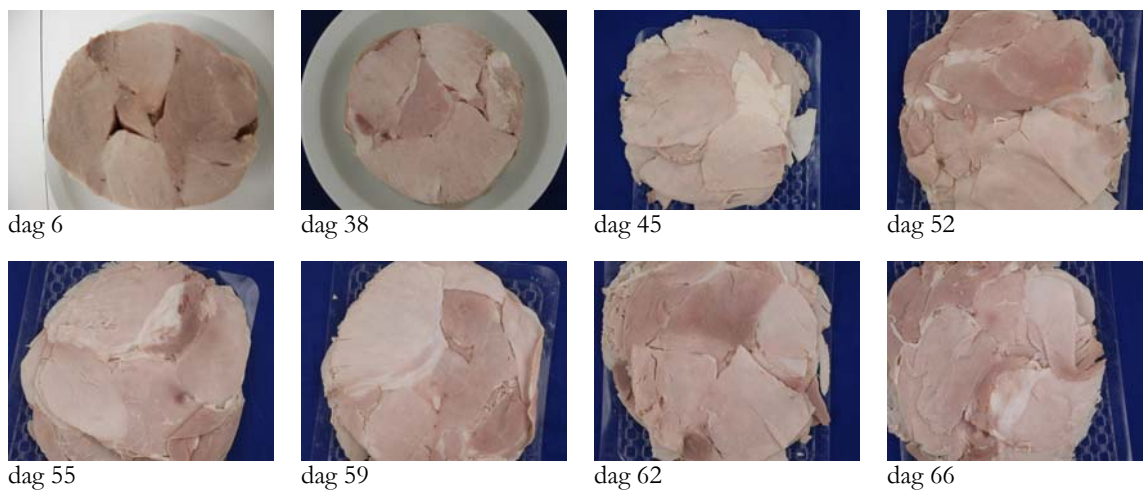
Figuur 10 Foto van de ham waarop duidelijk te zien is dat na het koken het vocht niet meer volledig door het vlees is opgenomen.

Na productie werden de hammen ongeveer 5 weken bij 4 °C bewaard, vervolgens gesneden en eerst 3 weken in het donker en daarna 1 week met verlichting bij 7 °C bewaard. In Figuur 11 is dit schematisch weergegeven.

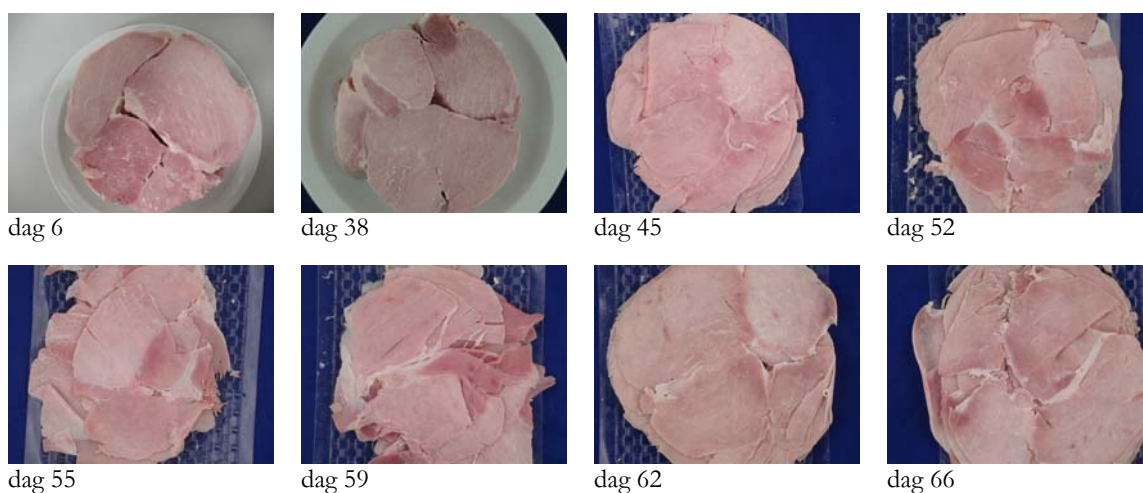


Figuur 11 Opgelegd temperatuursverloop en andere processtappen bij de productie en het bewaren van boterhamworst.

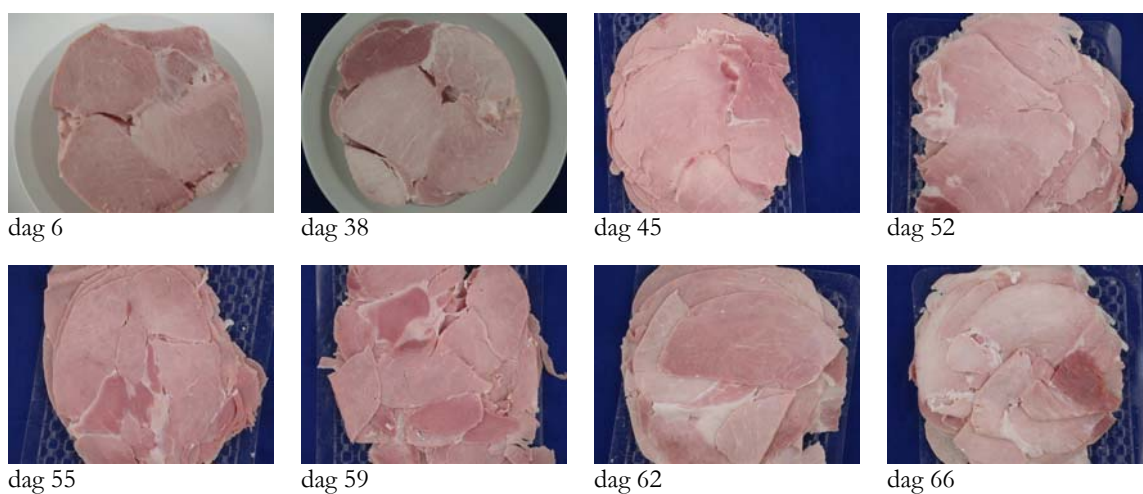
De overzichten van de foto's van ham worden gegeven in de volgende figuren. In Bijlage 4 wordt een uitgebreider overzicht van de foto's gegeven.



Figuur 12 Overzicht van de kleur en het kleurverloop in de tijd van nitrietvrije achterham.



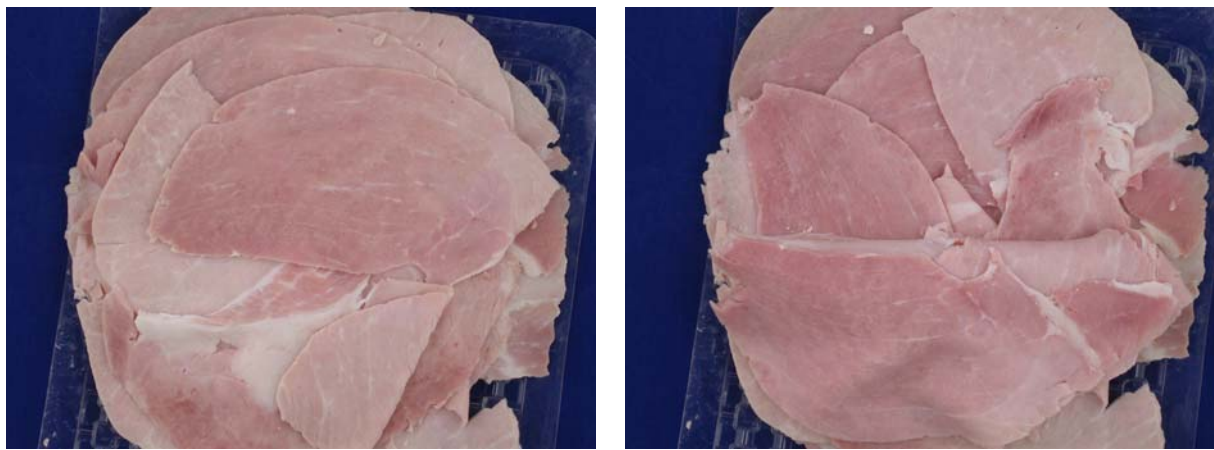
Figuur 13 Overzicht van de kleur en het kleurverloop in de tijd van achterham laag in nitriet (59 ppm).



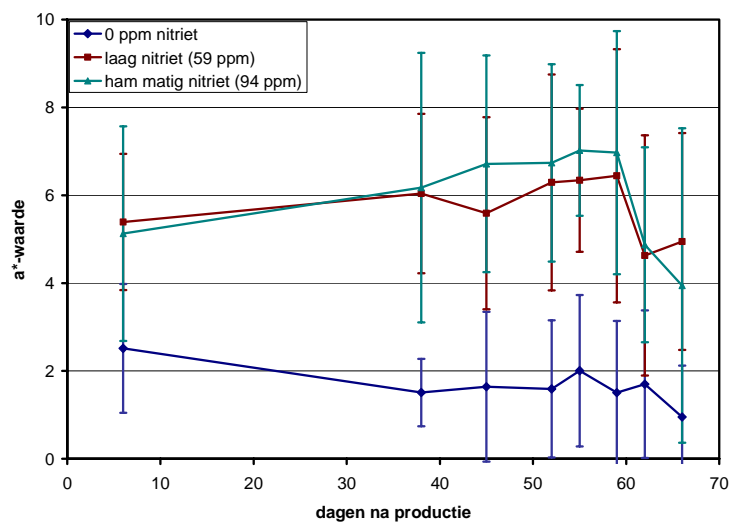
Figuur 14 Overzicht van de kleur en het kleurverloop in de tijd van achterham matig in nitriet (94 ppm)

Ook bij achterham (Figuur 12) valt te zien dat de nitrietvrije variant een grauw uiterlijk heeft. Tevens is er weinig verschil waar te nemen is tussen de ham bereid met een laag nitrietniveau en die met een matig niveau. Ook uit de gemeten kleurwaarden, zie Figuur 16 en Figuur 19 t/m Figuur 22 in Bijlage 5, is geen significant verschil aan te tonen tussen de twee verschillende nitrietniveaus.

Hoewel uit het bovenstaande overzicht (Figuur 12 t/m Figuur 14) niet direct een duidelijke vermindering van de kleur te zien valt, blijkt bij een betere bestudering van de kleur *aan het oppervlak* ten opzichte van de kleur *in het stapeltje* vleeswaren dat er wel een verkleuring aan het oppervlak heeft plaatsgevonden onder invloed van licht, zie Figuur 15. Zoals bij materiaal en methoden is vermeld kan hierbij het effect van licht tijdens het fotograferen als verwaarloosbaar worden geacht en is dit volledig toe te schrijven aan de verkleuring tijdens (verlichte) opslag.



Figuur 15 Achterham bereid met 94 ppm nitriet op dag 62. Op de rechter foto is de bovenste plak ham omgeslagen zodat de verkleuring aan de buitenkant duidelijker zichtbaar wordt. Op de plaats waar geen licht is gekomen is de plak nog steeds zeer roze.



Figuur 16 Kleurverloop a*-waarde achterham (rood/groen verkleuring).

3.2.1 Controle op microbiologische gesteldheid en restnitriet gehaltes

De analyseresultaten van de bepalingen van de kiemgetallen en restnitriet gehaltes staan vermeld in Tabel 7. De resultaten vertonen hetzelfde beeld als die van boterhamworst. Ook in dit geval is een significante hoeveelheid restnitriet aanwezig in de vleeswaren over de gehele bewaartijd. In vergelijking met ham geproduceerd met een gangbare hoeveelheid nitriet van 150 ppm is een aanzienlijke reductie bereikt in de hoeveelheid restnitriet. In dit geval werden waarden van 16 tot 25 ppm gemeten na de productie, terwijl bij de gangbare productie waarden van 40 à 50 ppm restnitriet worden gevonden. Ook hier zijn weer fluctuaties in de kiemgetallen gevonden die waarschijnlijk duiden op een niet volledig gecontroleerd proces (via bijvoorbeeld lekkage van de verpakkingen of nabesmettingen). Wat opvalt, is een zeer hoog anaëroob mesofiel kiemgetal op dag 66 van het monster bereid met 94 ppm nitriet. De waarde is hierbij zowel absoluut hoog als ook in relatie tot het aërobe kiemgetal. Bij alle andere analyses zijn deze twee kiemgetallen van gelijke orde grootte. Een directe verklaring hiervoor kan niet gegeven worden. Het enige opvallende aan het monster was de duidelijke verkleuring (grauwbruin) toen het werd aangeboden voor analyse. Dit laatste zou echter eerder aanleiding moeten geven tot een verhoogde hoeveelheid zuurstof, waarbij verwacht werd dat dit tot een verhoogde waarde voor het aërobe kiemgetal zou leiden in plaats van een verhoogde waarde voor het anaërobe kiemgetal. Ook in het geval van ham bleek de vleeswaar aan het einde van het experiment een zure geur te hebben, waarschijnlijk veroorzaakt door groei van melkzuurbacteriën.

Tabel 7 Analyses van kiemgetallen en residunitriet in achterham als functie van de bewaartijd.

	dag 6			dag 38			dag 59			dag 66		
ingangsnitriet (ppm)	0	59	94	0	59	94	0	59	94	0	59	94
Aëroob mesofiel kiemgetal (kve/g)	200*	300*	500*	400*	400*	100*	1,8 x 10 ⁴	400*	<100	3100	<100	2,8 x 10 ⁴
Anaëroob mesofiel kiemgetal (kve/g)	300*	500*	100*	<100	<100	100*	1,6 x 10 ⁴	300*	<100	3100	500*	>10 ⁷
restnitriet (ppm)	n.b.	16,7	24,7	n.b.	12,1*	16,3*	n.b.	4,9	7,1	n.b.	5,7	4,0

* geeft indicatieve waarde weer, n.b. = niet bepaald (geen nitriet aanwezig)

3.3 Challengetest

In Tabel 8 en Tabel 9, pagina 24 is een volledig overzicht weergegeven van de resultaten van respectievelijk de chemische analyses en de microbiologische analyses gedurende de opslag bij verschillende temperaturen.

Uit de resultaten van de chemische analyses blijkt dat de nagestreefde productsamenstellingen redelijk werden benaderd. Het vetgehalte van de magere worst was echter aan de lage kant. Desondanks waren de a_w -waarden van de magere worsten nauwelijks hoger dan van de vette worsten. Hiervoor is geen duidelijke verklaring aanwijsbaar. Opvallend was dat beide boterhamworsten zonder nitriet relatief de hoogste a_w -waarden hadden. Van de toegevoegde nitrietgehalten werd minder dan 25% teruggevonden in de producten na verhitting.

De microbiologische analyses laten zien dat direct na verhitting gemiddeld 65 *Clostridium* sporen per gram boterhamworst aanwezig waren.

Tabel 8 Fysisch-chemische en microbiologische parameters van de verschillende worstvarianten gebruikt bij de challengetest direct na productie.

Soort boterhamworst Code	Vette worst			Magere worst		
	1	2	3	4	5	6
Toegevoegd nitriet (ppm)	0	54	108	0	54	108
a _w -waarde	0,973	0,968	0,968	0,975	0,971	0,972
pH-waarde	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Nitriet (ppm)	< 5	12	28	< 5	< 5	14
Zout (%)	1,86	1,90	1,99	1,88	1,86	1,81
Vocht (%)	50,8	50,9	50,7	68,7	69,4	70,1
Pekel (%)	3,54	3,59	3,78	2,66	2,61	2,52
Vet (%)	33,2	33,3	32,4	10,9	10,1	10,5
Sulfietreducerende <i>Clostridium</i> per gram	20 40	20 50	100 50	60 90	70 90	120 80

Tabel 9 Aantal Sulfietreducerende *Clostridium* per gram product in de tijd bij verschillende opslagtemperaturen.

Soort boterhamworst Code	Vette worst			Magere worst		
	1	2	3	4	5	6
Toegevoegd nitriet (ppm)	0	54	108	0	54	108
T=0	20 40	20 50	100 50	60 90	70 90	120 80
2 weken 15°C	10 20	20 30	30 10	640 3200	70 40	60 20
4 weken 15°C	< 10 65000	20 20	< 10 50	1,8 x 10 ⁶ 8,2 x 10 ⁵	< 10 10	20 < 10
6 weken 15°C	10 < 10*	20 < 10	20 < 10	2,6 x 10 ⁶ 2,9 x 10 ⁶	20 20	10 10
8 weken 15°C	1,1 x 10 ⁵ 7,9 x 10 ⁵ *	< 10 < 10	< 10 < 10	nb (bol) nb (bol)	190 10	< 10 30
12 weken 15°C	2,5 x 10 ⁶ 3,5 x 10 ⁶	< 10 < 10	< 10 < 10	nb (bol) nb (bol)	1,1 x 10 ⁵ 1,7 x 10 ⁶	9,1 x 10 ⁵ 8,3 x 10 ⁴
4 weken 10°C	nb nb	nb nb	nb nb	30 30	nb nb	nb nb
6 weken 10°C	50 30	< 10 30	20 10	< 10 < 10*	30 20	10 10
12 weken 10°C	40 < 10	40 < 10	20 20	10 20	10 10	10 10
12 weken 7°C	< 10 30	20 20	20 60	40 20	40 80	40 50

* aërobe sporevormende bacteriën aanwezig (6 wk 15°C: 4,9 x 10³; 8 wk 15°C: 6,9 x 10²; 6wk 10°C: 6,3 x 10⁴).

Alle overige monsters < 10 aërobe bacteriën per g

botuline toxine niet aangetoond botuline toxine aangetoond

Opslagtemperaturen 7 en 10°C

Gedurende de totale bewaarperiode van 12 weken werd in de busjes met boterhamworst opgeslagen bij 7°C en 10°C geen ontwikkeling van *Clostridium* bacteriën waargenomen, ook niet in de producten zonder nitriet.

Opslagtemperatuur 15°C

Bij een opslagtemperatuur van 15°C werd vanaf 2 weken opslag in de busjes met magere boterhamworst zonder nitriet een toename van het aantal *Clostridium* geconstateerd. Vanaf 8 weken opslag trad bij deze busjes boterhamworst zichtbare bombage op als gevolg van gasvorming. Bij de vette boterhamworst zonder nitriet was vanaf 4 weken 15°C ontwikkeling van *Clostridium* waarneembaar. Dit leidde echter binnen de bewaarperiode van 12 weken niet tot zichtbare bombage.

Zowel in de magere boterhamworst met 54 mg/kg als met 108 mg/kg toegevoegd nitriet werd na 12 weken opslag bij 15°C ontwikkeling van *Clostridium* vastgesteld. In de vette boterhamworst met 54 en 108 mg/kg toegevoegd nitriet werd daarentegen geen significante toename van *Clostridium* geconstateerd gedurende de gehele bewaarperiode van 12 weken. Ontwikkeling van aërobe bacteriesporen werd slechts zeer incidenteel waargenomen.

In magere boterhamworst zonder nitriet werd botuline toxine aangetoond na 6 weken opslag bij 15°C. In vette boterhamworst zonder nitriet was dit mogelijk na 8 weken opslag, maar in ieder geval na 12 weken opslag het geval. In magere boterhamworst met 54 mg/kg toegevoegd nitriet was na 12 weken opslag bij 15°C botuline toxine aantoonbaar. Ondanks de na 12 weken opslag bij 15°C waargenomen ontwikkeling van *Clostridium* in de boterhamworst met 108 mg/kg toegevoegd nitriet, werd hierin nog geen botuline toxine aangetoond.

4 Discussie

De kleurexperimenten tonen duidelijk het nut van toevoegen van nitriet bij de bereiding van vleeswaren voor kleurontwikkeling en een verbeterde kleurstabiliteit. De resultaten van de gekozen nitriet niveaus wijken voor boterhamworst en ham onderling niet significant van elkaar af. De kleurstabiliteit tussen de monsters met dezelfde nitriethoeveelheden toegevoegd vertoonden juist vaak onderling meer variatie dan die werd gezien tussen de monsters bereid met verschillende hoeveelheden nitriet. De reden voor het optreden van extra verkleuring bij sommige verpakte monsters is dat deze verpakkingen niet volledig dicht zijn geweest. Een minimale lek kan er al voor zorgen dat er toch een geringe hoeveelheid zuurstof bij het vleeswaar kan komen. In combinatie met de verlichting kan dit vervolgens voor een snelle verkleuring gezorgd hebben.

Om hier een betere uitspraak over te kunnen doen zijn verschillende verpakte vleeswaren aan het einde van de bewaarperiode met elkaar vergeleken. Zowel de foto's als de gemeten gassamenstelling van deze monsters zijn weergegeven in Bijlage 6. Bij deze resultaten wordt een verband gezien tussen de mate van verkleuring en de zuurstofconcentraties in de verpakking. Bij hoge zuurstofconcentraties (>1%) was het vleeswaar volledig verkleurd terwijl nog geen verkleuring zichtbaar was bij zuurstofconcentraties onder de 0.1%. In het tussenliggende gebied was een verkleuring waarneembaar, maar is ook nog steeds een roze kleur te zien. Deze metingen ondersteunen de aanname dat de verlaagde kleurstabiliteit bij sommige monsters veroorzaakt is door een lekkage in de verpakking. Omdat niet van alle eerder besproken monsters de gassamenstelling bepaald is, kan niet met zekerheid gezegd worden dat dit de belangrijkste of enige reden voor de kleurvariatie is geweest. Er dient ook opgemerkt te worden dat tijdens de behandelingen zo hygiënisch mogelijk is gewerkt. Er is echter niet onder high care condities gewerkt. Hierdoor kunnen ook nabesmettingen in het proces een rol hebben gespeeld in de verkleuring van de vleeswaren. Deze mogelijke nabesmetting zou ook de fluctuaties in kiemgetallen kunnen verklaren.

Verwacht wordt dat bij een toekomstige proef op fabrieksschaal onder volledig gecontroleerde condities de nu aangegeven problemen zich niet zullen voordoen, zodat de kleurstabiliteit beter zal zijn dan in het huidige onderzoek. Hiernaast zal in de praktijk vleeswaren niet aan de nu gebruikte hoge intensiteit licht worden blootgesteld, waardoor de verkleuring langzamer zal verlopen. Tijdens normale bewaring van vleeswaren worden de verpakte vleeswaren aan licht blootgesteld waarvan de intensiteit bijna een factor 2 lager is en waarbij de vleeswaren vaak slechts enkele uren volledig aan dit licht worden blootgesteld doordat ze de rest van de tijd afgeschermd zijn door pakjes vleeswaren die voor of op deze pakjes hangen/licgen.

Door de behaalde resultaten van de challengetesten van *Clostridium botulinum*, geen waarneembare groei onder de 7 °C bij voldoende lage a_w en pH, is een verder onderzoek naar mogelijke uitgroei van micro organismen zoals *Listeria monocytogenes* (die bijvoorbeeld door nabesmetting tijdens het

snijden en verpakken op de vleeswaren terecht kunnen komen) onder verlaagde hoeveelheden toegevoegd nitriet ook van belang.

Verder dient opgemerkt te worden dat naast nitrietgehalten, receptuur en procesomstandigheden (vooral zoutconcentraties en de opgelegde temperatuur) in grote mate de microbiële stabiliteit bepalen. De resultaten verkregen tijdens het huidige onderzoek zijn daarmee representatief voor de beschreven receptuur en condities. De gepresenteerde resultaten op sporenvormers zouden kunnen verslechteren indien de zoutconcentratie - en hiermee de a_w -waarden - verlaagd worden, of als bij een lagere temperatuur gepasteuriseerd wordt. Werken onder juiste procescondities (a_w , pH, temperatuur) en hygiëne zijn cruciaal voor de het beheersen van de risico's en voedselveiligheid.

5 Conclusies

Een reductie van de nitriethoeveelheid bij de bereiding van biologische ham en boterhamworst lijkt mogelijk zonder dat dit een nadelig effect heeft op de kleurontwikkeling en –stabiliteit. Bij boterhamworst zijn experimenten uitgevoerd waarbij de hoeveelheid nitriet met maximaal 2/3 is gereduceerd, bij ham zijn experimenten met een maximale reductie van ongeveer 50% uitgevoerd. In beide gevallen heeft het grootste gedeelte van de vleeswaren na verpakken en bewaren na blootstelling aan licht nog steeds een gewenste acceptabele kleur. Ook blijkt in alle gevallen dat na deze bewaring nog een geringe hoeveelheid nitriet aanwezig te zijn die kan bijdragen aan een verdere kleurstabiliteit. Deze hoeveelheid is beduidend lager dan in vleeswaren geproduceerd met de reguliere hoeveelheid nitriet. Bij boterhamworst is nog maar zo'n 6 ppm aanwezig t.o.v. 50-80 ppm in standaard boterhamworst. Bij ham was dat 16 tot 25 ppm t.o.v. een gangbare hoeveelheid van 40 à 50 ppm restnitriet.

De uitgevoerde experimenten tonen duidelijk het nut van nitriet op de kleurontwikkeling en -stabiliteit in de vleeswaren. De monsters (zowel ham als boterhamworst) waaraan geen nitriet is toegevoegd zijn vanaf de eerste bemonstering grauwgrijs van kleur, terwijl de monsters met toegevoegd nitriet na productie roze van kleur zijn. Er blijkt een grotere spreiding in kleurstabiliteit tussen gelijkbehandelde monsters onderling te zijn dan tussen de monsters met verschil in de hoeveelheid toegevoegd nitriet. Hoewel sommige monsters duidelijk minder roze worden gedurende de laatste week van het experiment, zijn er ook monsters geproduceerd die maar een zeer geringe verkleuring vertonen als gevolg van de (extreme) blootstelling aan licht. Het verschil wordt waarschijnlijk veroorzaakt door een niet volledig gecontroleerde handeling (bijvoorbeeld nabesmetting, niet volledig dichte verpakking).

Geconcludeerd kan worden dat de kans op ontwikkeling van *C. botulinum* bacteriën en de vorming van botuline toxine relatief klein is voor gepasteuriseerde vleesproducten zonder nitriet die gekoeld bewaard worden ($< 7^{\circ}\text{C}$) en qua productsamenstelling (qua pH en a_w) lijken op de in dit onderzoek onderzochte modelvleesproducten.

In gepasteuriseerde vleesproducten die langdurig buiten de koeling worden bewaard, kan ontwikkeling van *Clostridium* bacteriën eerder optreden dan in gekoeld bewaarde producten waaraan geen nitriet is toegevoegd. Vanaf circa 6 weken opslag bij 15°C was bij de in dit onderzoek betrokken producten zonder nitriet botuline toxine aantoonbaar en bij producten met nitriet vanaf circa 12 weken.

In de praktijk is de kans op ontwikkeling van *C. botulinum* in gepasteuriseerde vleesproducten zonder nitriet klein vanwege de wettelijk voorgeschreven gekoelde opslag ($< 7^{\circ}\text{C}$). Het relatief lage besmettingsniveau van vleesproducten met *C. botulinum* sporen, de lage a_w -waarden, de wijze van verpakking, de houdbaarheidstermijn en de vaak snelle doorlooptijd dragen bij aan het geringe risico.

Uitgaande van dit onderzoek wordt aangenomen dat voor gepasteuriseerde (biologische) vleeswaren de nitrietgehalten tijdens bereiding verlaagd kunnen worden tot maximaal 80 ppm, wellicht tot 40 - 50 ppm zonder dat dit ten nadele komt van de veiligheid en kleurontwikkeling en –stabiliteit van het product, mits deze onder normale gekoelde condities bewaard worden. Om deze stelling verder te kunnen staven zal vervolgonderzoek met ham en boterhamworst bereid met de gegeven verlaagde nitrietgehalten op industriële schaal uitgevoerd worden.

Literatuur

EU, 2006, Verordening (EG) Nr. 780/2006 van de commissie tot wijziging van bijlage VI bij Verordening (EEG) nr. 2092/91 van de Raad inzake biologische productiemethode en aanduidingen dienaangaande op landbouwproducten en levensmiddelen, 24 mei 2006, in Publicatieblad van de Europese Unie L137, 25.5.2006.

Stegeman, D., T.J. Verkleij en F.K. Stekelenburg, 2005, Reductie van nitrietgebruik bij biologische vleeswarenbereiding. – Een literatuuroverzicht, Agrotechnology & Food Innovations BV, Wageningen, Rapport nummer 560.

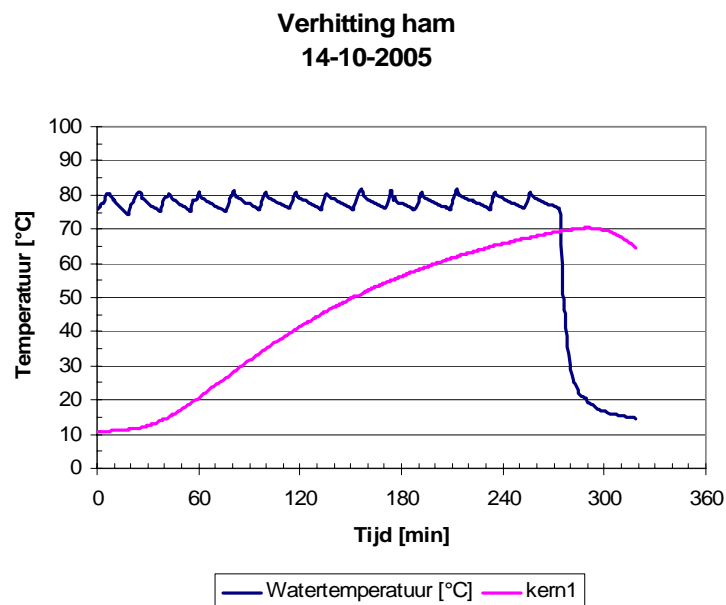
Bijlagen

- Bijlage 1 Werkwijze bereiding Achterham
- Bijlage 2 Werkwijze bereiding Boterhamworst
- Bijlage 3 Overzicht van het kleurverloop van boterhamworst
- Bijlage 4 Overzicht van het kleurverloop van achterham
- Bijlage 5 Kleurverloop (L , b^*) in de tijd voor de vleeswaren.
- Bijlage 6 Controle op kleur

Bijlage 1 Werkwijze bereiding Achterham

1. Mager vlees nagelopen op aanwas vet en onjuistheden verwijdert,
2. Opslag voor gebruik in 4°C koelcel,
3. 40 liter pekkel worden samengesteld (zie receptuur),
4. Vlees wordt met behulp van pekkel injector Inject-o-mat 15 gespoten,
5. Tijdens spuiten bleek het minimum spuitpercentage op 17% te liggen, dit is voor alle drie de batches hetzelfde gehouden,
6. Vlees is per batch afgevuld in een vacuüm zak,
7. Vacuüm zak is in een vacuüm tumbler, merk Rewi, type 250 MC gedurende 24 uur intermitterend getumbled; 10 minuten rechtersom draaien, 10 minuten linksom en 10 minuten rust. Omgevingstemperatuur 4°C,
8. Ham is per batch afgestopt in een kunst darm met behulp van de vacuüm vulmachine Handtmann, type VF 80. Gebruikte kunst darm: Euro E LFW 224, 75µ, kleur smoke. [leverancier van Hessen B.V.],
9. Ham is gepasteuriseerd in een kookketel, merk Muvero, inhoud 200 liter. Duur: 4,5 uur tot het bereiken van een kerntemperatuur van 70°C.

Product is na verhitting opgeslagen in koelcel 2 tot 4 °C.

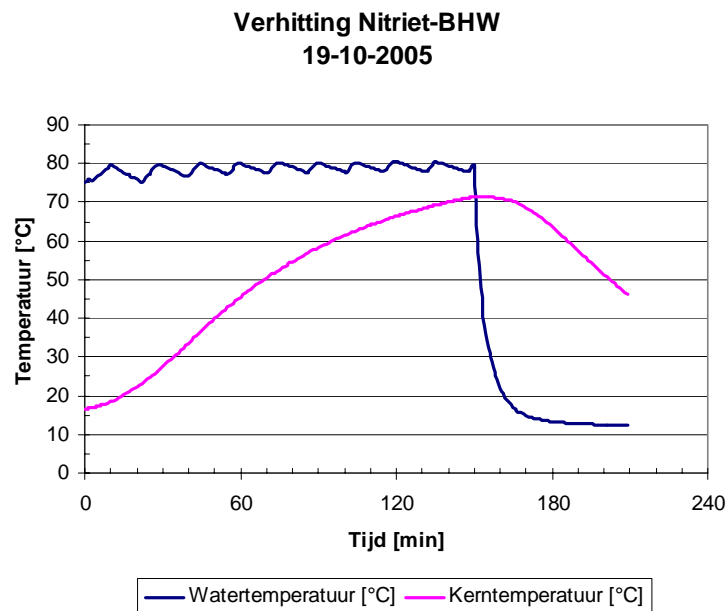


Figuur 17 Verhittingsprofiel tijdens kookproces van achterham.

Bijlage 2 Werkwijze bereiding Boterhamworst

1. Magervlees 2 dagen voor gebruik van -20°C naar 0°C koelcel,
2. Kinnebak 1 dag voor gebruik van -20°C naar 0°C koelcel,
3. Cutter voorgekoeld met scherfijs,
4. Scherfijs verwijderd en droog gemaakt,
5. Magervlees in cutter en bij stand 1-1⁴ zout toegevoegd en water
6. Stand cutter naar 3-2,
7. Cutteren tot 10°C,
8. Messenhuis schoonschrapen,
9. Kruiden toevoegen bij stand 1-1,
10. Gelijk daarna de kinnebak bij stand 1-1,
11. Cutteren tot 10 °C bij stand 3-2,
12. Messen huis schoonschoon schrapen,
13. Cutteren tot 15 °C bij stand 3-2,
14. Vacumeren gedurende 1 minuut bij stand 1-2,
15. Afstoppen in 100 mm kunststof darm,
16. Verhitten bij 78°C gedurende 2 uur 30 min gelijk nadat de laatste paal is gestopt.

Temperatuur grondstoffen: -1°C tot -3°C.

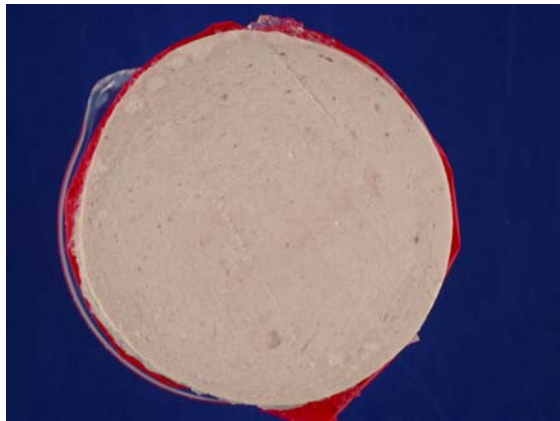


Figuur 18 Verhittingsprofiel tijdens kookproces van boterhamworst.

⁴ Eerste getal is snelheid schotel, 2^e getal is snelheid messen; 1 is langzaam, 2 is snel, 3 is emulgeren op vol vermogen. Stand 1-1 betekent dus zowel schotel als messen langzaam.

Bijlage 3 Overzicht van het kleurverloop van boterhamworst

Foto's van boterhamworst, nitrietvrij, productiedatum 19 oktober 2005.



24 oktober



21 november



28 november



5 december



8 december



12 december

Foto's van boterhamworst, nitrietvrij, productiedatum 19 oktober 2005, vervolg

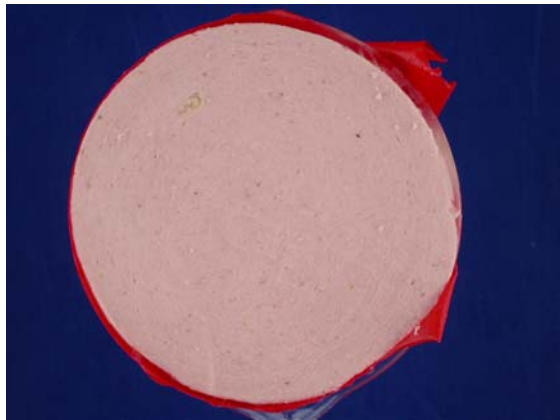


15 december



19 december

Foto's van boterhamworst, laag in nitriet (41 ppm), productiedatum 19 oktober 2005.



24 oktober



21 november



28 november



5 december



8 december



12 december

Foto's van boterhamworst, laag in nitriet (41 ppm), productiedatum 19 oktober 2005, vervolg.



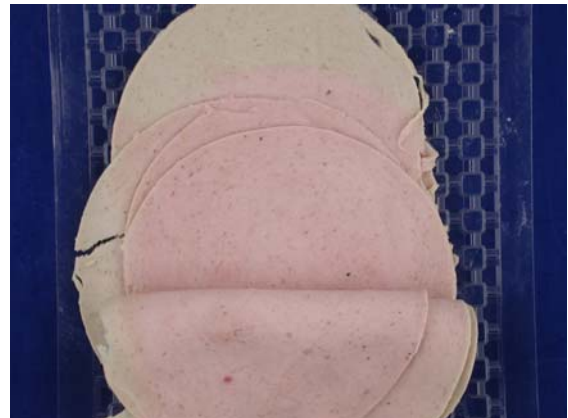
15 december



15 december omgeslagen

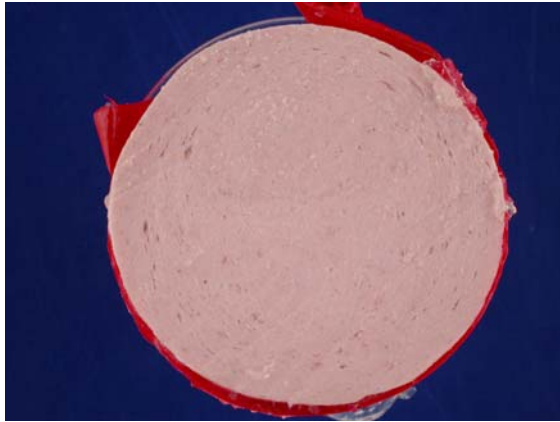


19 december



19 december omgeslagen

Foto's van boterhamworst, matig in nitriet (82 ppm), productiedatum 19 oktober 2005.



24 oktober



21 november



28 november



5 december

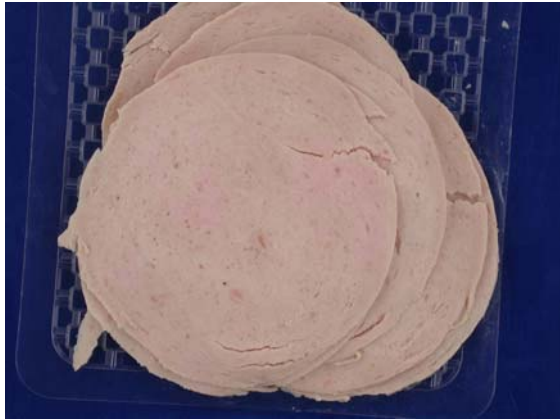


8 december



12 december

Foto's van boterhamworst, matig in nitriet (82 ppm), productiedatum 19 oktober 2005, vervolg



15 december



15 december omgeslagen



19 december



19 december omgeslagen

Bijlage 4 Overzicht van het kleurverloop van achterham

Foto's van ham, nitrietvrij, productiedatum 14 oktober 2005.



20 oktober



21 november



28 november



5 december



8 december



12 december

Foto's van ham, nitrietvrij, productiedatum 14 oktober 2005, vervolg.



15 december

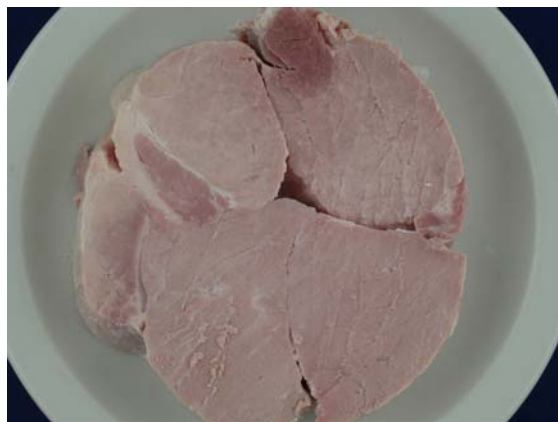


19 december

Foto's van ham, laag in nitriet (59 ppm), productiedatum 14 oktober 2005.



20 oktober



21 november



28 november



5 december



8 december



12 december

Foto's van ham, laag in nitriet (59 ppm), productiedatum 14 oktober 2005, vervolg.



15 december

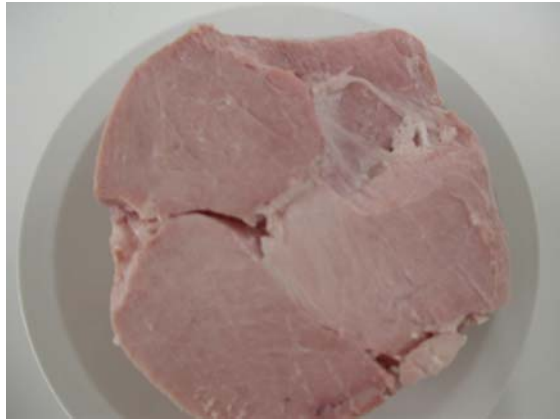


19 december

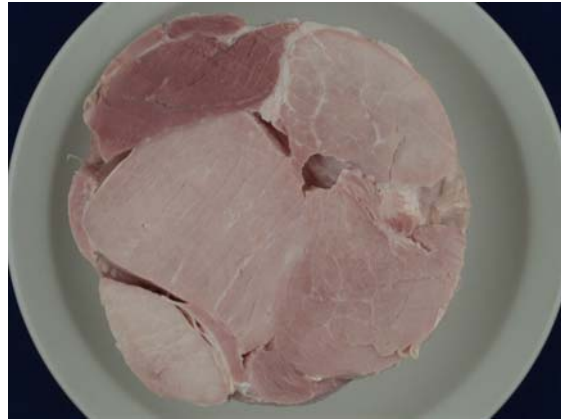


19 december opengeslagen

Foto's van ham, matig in nitriet (94 ppm), productiedatum 14 oktober 2005.



20 oktober



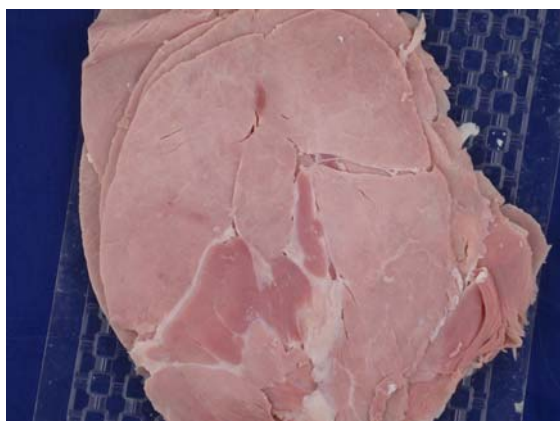
21 november



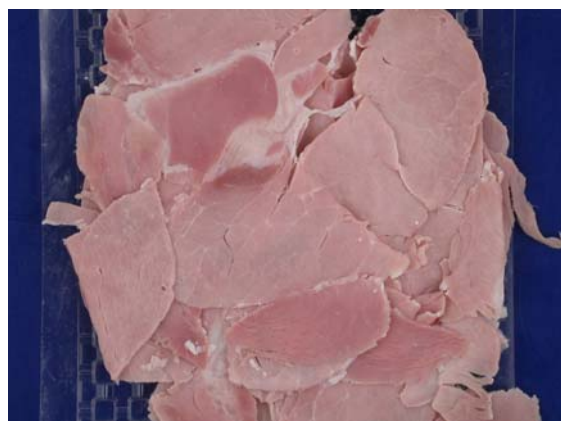
28 november



5 december



8 december



12 december

Foto's van ham, matig in nitriet (94 ppm), productiedatum 14 oktober 2005, vervolg.



15 december



15 december omgeslagen

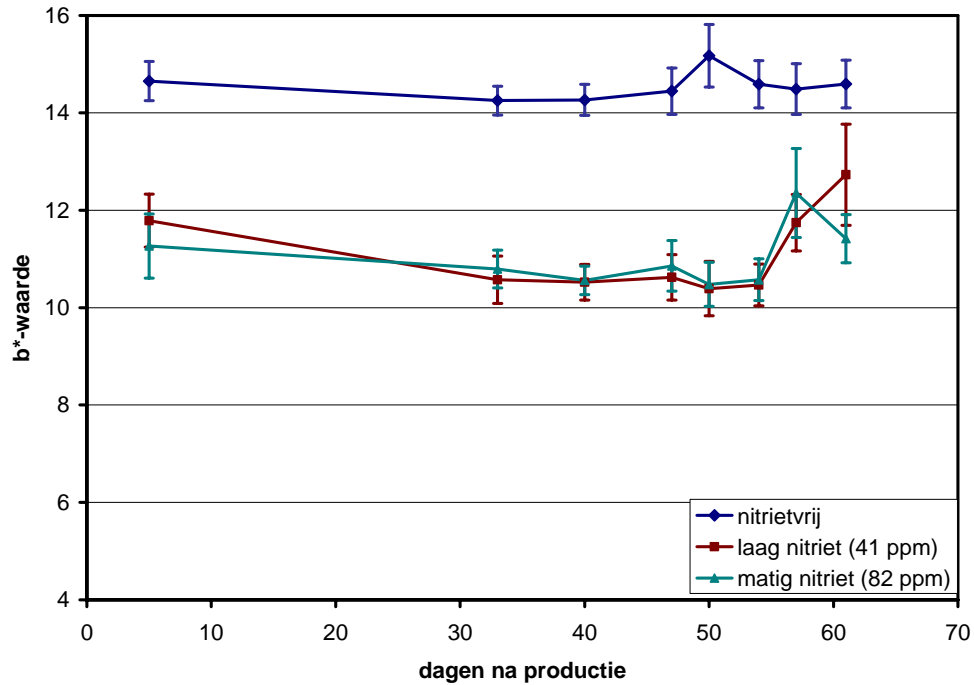


19 december

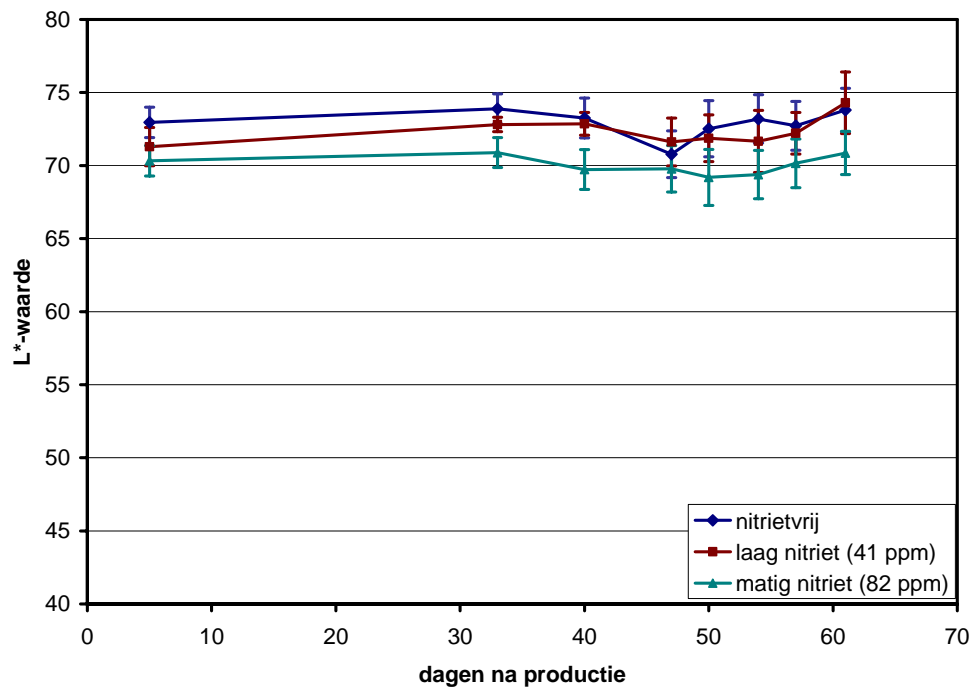


19 december omgeslagen

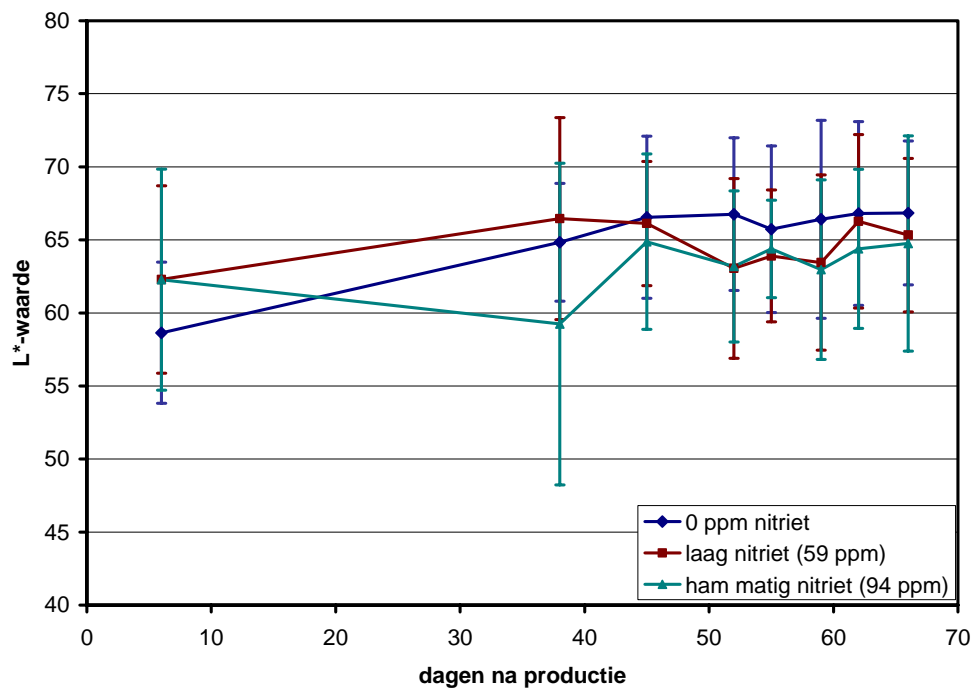
Bijlage 5 Kleurverloop (L , b^*) in de tijd voor de vleeswaren.



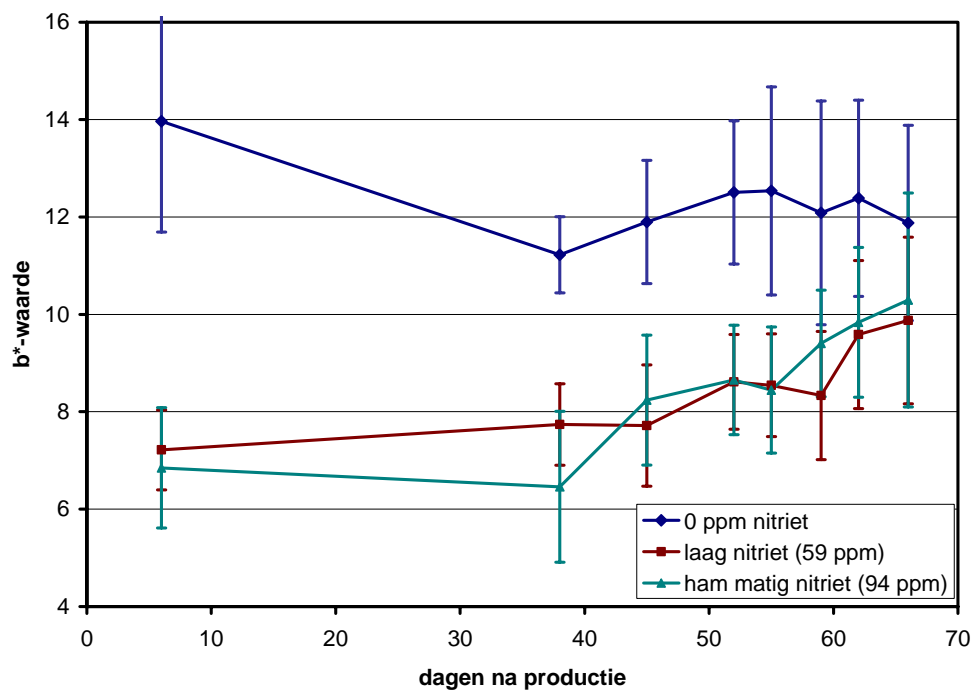
Figuur 19 Kleurverloop boterhamworst voor de b^* -waarde (geel/blauw waarde).



Figuur 20 Kleurverloop boterhamworst L^* -waarde (licht/donker).



Figuur 21 Kleurverloop achterham, L*-waarde (licht/donker).



Figuur 22 Kleurverloop achterham, b*-waarde (geel/blauw).

Bijlage 6 Controle op kleur

Op 23 december (dag 70 voor ham en dag 65 voor boterhamworst, na respectievelijk dag 66 en dag 61 is het licht weer uitgedaan) is van enkele monsters de gassenstelling gemeten om na te gaan of de verkleuring veroorzaakt kan zijn door een geringe lekkage van de verpakking. Hiervoor zijn verschillende soorten monsters met elkaar vergeleken: zowel niet als wel verkleurde monsters, maar ook monsters (wel en niet verkleurd) waar naast de ham ook een zuurstofvanger in de verpakking aanwezig is geweest (dus in principe zal hier de zuurstofconcentratie in dat laatste geval lager moeten zijn). Per monster is een foto weergegeven van het gehele stapeltje vlees waar direct na openen van de verpakking en van het vleesstapeltje, waarbij de bovenste plakjes zijn omgeslagen. De geanalyseerde gassenstelling is onder de foto's geplaatst.



BHW 82 ppm maar bruin
1.16% O₂, 42.56% CO₂, 56.19% N₂



Als links, nu omgeslagen
1.16% O₂, 42.56% CO₂, 56.19% N₂



BHW 82 ppm nog redelijk roze
0.5% O₂, 60.2% CO₂, 39.5% N₂



Als links, nu omgeslagen, binnenkant nog iets roze
0.5% O₂, 60.2% CO₂, 39.5% N₂



BHW 82 ppm met zuurstofvanger, wel verkleurd
3.78% O₂, 38.77% CO₂, 57.45% N₂



Als links nu omgeslagen
3.78% O₂, 38.77% CO₂, 57.45% N₂



BHW 82 ppm met zuurstofvanger, niet verkleurd
0.05% O₂, 60.18% CO₂, 39.31% N₂



Als links, nu omgeslagen
0.05% O₂, 60.18% CO₂, 39.31% N₂



Ham 59 ppm normale kleur
0.09% O₂, 64.22% CO₂, 35.69% N₂



als links, nu omgeslagen
0.09% O₂, 64.22% CO₂, 35.69% N₂



Ham 59 ppm met zuurstofvanger, wel verkleurd
0.32% O₂, 56.53% CO₂, 43.15% N₂



als links nu omgeslagen
0.32% O₂, 56.53% CO₂, 43.15% N₂



Ham 59 ppm met zuurstofvanger, niet verkleurd
0.07% O₂, 65.11% CO₂, 34.83% N₂



als links, nu omgeslagen
0.07% O₂, 65.11% CO₂, 34.83% N₂