

Rapport

Sikkerhedsvurdering af sous vide varmebehandling ved 53 °C

26. september 2011
erstatte 19. august
2011
Proj.nr. 1379348-17
Version 5
AGG/MT

Annemarie Gunvig

Sammendrag

Baggrund

I cateringbranchen og blandt molekylære gastronomiske kokke er der opstået en interesse for at varmebehandle kød i længere tid, men ved lavere temperaturer - en såkaldt LTLT-tilberedning (Lav Temperatur i Lang Tid). Fordelen ved en LTLT-tilberedning er, at den sikrer en god kødfarve samt mørt og saftigt kød. Der er dog visse sikkerhedsmæssige udfordringer ved LTLT-tilberedning, da en varmebehandling under disse forhold ikke nødvendigvis sikrer drab af eventuelle patogene bakterier, men i værste fald fremmer væksten.

Vurdering af varmdrab af specifikke patogene bakterier er baseret på log D/z-konceptet, hvori det antages, at der er en lineær sammenhæng mellem log til D-værdier og z-værdier. Ved at anvende mild varmebehandling ($T < 58\text{ °C}$) kan der være afvigelser i den lineære sammenhæng mellem log til D-værdi og z-værdier.

Formål

Formålet med forsøget er at teste, om der er god overensstemmelse mellem teoretisk vurdering af varmedrab og reelt varmedrab ved varmebehandling til 53 °C i centrum.

Konklusion

Ved varmebehandling til 53 °C i centrum i udskæringer med højder i intervallet 3 - 8 cm og en holdetid på 6 timer ved 53 °C kan der opnås mere end 4 log reduktion af en 5-stamme cocktail af *L.monocytogenes*, med $D_{53\text{°C}}$ -værdier i intervallet 14 - 37 minutter. Det betyder at den teoretiske vurdering vil resultere i længere holdetider end nødvendigt, svarende til en "fail safe" vurdering. Ud fra sammenligningen mellem forsøgsresultaterne og de teoretiske beregninger af holdetider vha. log D/z-konceptet anbefales det at anvende den lidt mere konservative $D_{60\text{°C}}$ -værdi på 8,7 min for sikre, at evt. forekomst af mere varmeresistent *L. monocytogenes* vil blive inaktiveret ved varmebehandlingen. Ved at anvende $D_{60\text{°C}}$ -værdi på 8,7 min og $z = 6,3\text{ °C}$ vil holdetiderne ved 53 °C variere mellem 6,4 h og 7,2 h i forhold til udskæringens dimensioner.

Baggrund

I cateringbranchen og blandt molekylære gastronomiske kokke er der opstået en interesse for at varmebehandle kød i længere tid, men ved lavere temperaturer - en såkaldt LTLT-tilberedning (Lav Temperatur i Lang Tid). Fordelen ved en LTLT-tilberedning er, at den sikrer en god kødfarve samt mørt og saftigt kød. Der er dog visse sikkerhedsmæssige udfordringer ved LTLT-tilberedning, da en varmebehandling under disse forhold ikke nødvendigvis sikrer drab af eventuelle patogene bakterier, men i værste fald fremmer væksten.

Vurdering af varmedrab af specifikke patogene bakterier er baseret på log D/z-konceptet, hvori det antages, at der er en lineær sammenhæng mellem log D-værdier og z-værdier. Ved at anvende mild varmebehandling ($T < 58$ °C) kan der være afvigelser i den lineære sammenhæng mellem log til D-værdi og z-værdier.

I et tidligere projekt på DMRI er der udviklet et Excel-regneark, der beregner bakteriedrab i forhold til et given tids- og temperaturforløb og den valgte bakteries D-værdi. Regnearket er anvendt til vurdering af drabseffekten af varmebehandling i sous-vide kar, stegning i ovn og på pande. Varmebehandlingens drabseffekt er vurderet ved at varmebehandle til forskellige centrumstemperaturer (53, 56, 59, 62, 65, 70, 75 og 80 °C). For at sikre at vurderingen for varmebehandling til 53 °C i centrum er i overensstemmelse med virkeligheden, er der gennemført podoforsøg i fire udskæringer med forskellige dimensioner.

Normalt er hele kødstykker kun kontamineret på overfladen, men der kan forekomme bakterier i centrum, f.eks. efter for langsom afblødning, ved at bakterierne etableres i eventuelle kødlommer o.l., ved multistiksaltning eller mekanisk mørning. Tids- og temperaturprofilen for centrum af produktet er derfor valgt som worst case varmebehandling. Samtidig giver det mulighed for at anvende vurderingerne til neutralmarinerede produkter, hvor der via luge kan tilføres patogene bakterier til centrum af hele stege.

Fødevarestyrelsen anbefaler, at hele kødstykker varmebehandles til 60 °C i centrum og derefter hviler i 20 min. Udskåret kød, hakket kød samt mekanisk mørnet og multistiksprøjtet kød skal gennemsteges til en temperatur på mindst 75 °C. (Fødevarestyrelsen (b), 2005).

Formål

Formålet med forsøget er at teste, om der er god overensstemmelse mellem teoretisk vurdering af varmedrab og reelt varmedrab ved varmebehandling til 53 °C i centrum.

Afgrænsning af opgave

Opgaven omfatter kun en vurdering af varmebehandlingens bakteriedrab af vegetative celler. Anbefalingerne vedr. sikker varmebehandling gælder derfor kun tilberedt kød, som enten konsumeres umiddelbart efter tilberedning eller nedkøles fra 65°C til 10° C inden for 3 timer og efterfølgende opbevares ved 3°C eller lavere.

Opgaven skal desuden beskrive følgende:

Valg af *L. monocytogenes* som testorganisme

D-værdier for den anvendte cocktail af listeria-stammer

Argumenter for valg af D-værdi til teoretisk beregning

Beskrivelse af metode til genfindning af *L. monocytogenes*

Fremgangsmåde

Valg af *L. monocytogenes*
som testorganisme

L. monocytogenes er valgt som testorganisme, da den har en høj varmeresistens, hvilket afspejles i høje D-værdier i forhold til f.eks. Salmonella og vegetative celler af *C. perfringens* (se tabel 1).

Tabel 1. Eksempler på $D_{60^{\circ}\text{C}}$ -værdier og z-værdier for *L. monocytogenes*, Salmonella og vegetative celler *C. perfringens*.

Bakterie	Produkt	Temp. °C	D-værdi	z-værdi	Kilde
<i>L. mono</i>	Kyllingefilet	60	8,7	6,3	Doyle et al. 2001
<i>L. mono</i>	Svinekød	60	5,61	5,92	Murphy et al. 2003
<i>L. mono</i>	Hakket oksekød	60	3,8	5,98	Doyle et al. 2001
<i>Salmonella</i>	Oksekød	60	5,48	6,01	Juneja et al. 2001
<i>Salmonella</i>	Svinekød	60	6,65	7,1	Juneja et al. 2001
<i>Salmonella</i>	Kylling	60	5,2	6,11	Juneja et al. 2001
<i>Salmonella</i>	Svinekød	60	5,07	5,89	Murphy et al. 2004
<i>C. perfringens</i> (vegetative celler)	Oksekød	60	5,3	6,74	Juneja & Marmer, 1998
<i>C. perfringens</i> (vegetative celler)	Kalkunkød	60	4,2	6,77	Juneja & Marmer, 1998

Der eksisterer ikke mange undersøgelser for prævalens af *L. monocytogenes* på slagtelinien. *L. monocytogenes* isoleres oftere fra detailudskæringer, hvilket skyldes, at kødet kan forurenes med *L. monocytogenes* både fra slagtekrop og udstyr mm.

Rhoades et al. (2009) refererer FSIS's undersøgelse af hakket oksekød (1996), hvor der var 52 positive prøver ud af 99. De positive prøver havde et gennemsnit på 2,9 MPN/g.

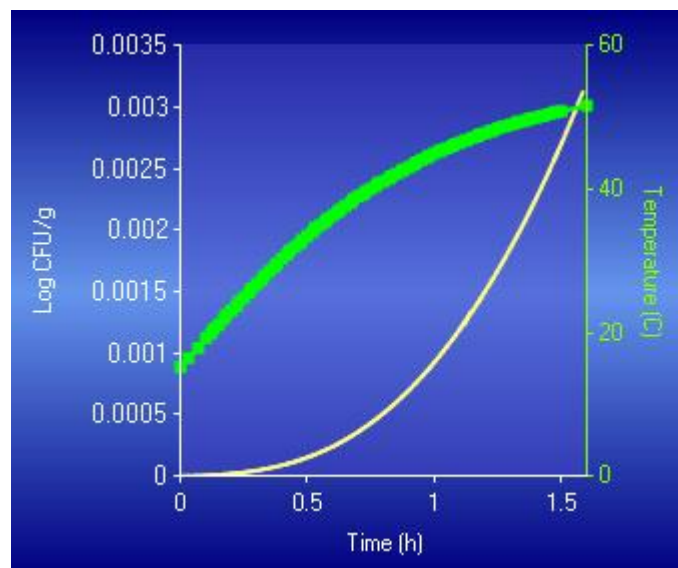
Nørnung et al (1999) har påvist *Listeria monocytogenes* i et niveau på 10 - 100

Listeria monocytogenes/g i 12 ud af 343 prøver af fersk kød, hvilket svarer til 3,6 %. Det høje indhold blev fundet i hakket kød.

Antages det, at der er 100 *Listeria monocytogenes*/g fersk kød, vil multistiksaltet oksekød i værst tænkelige tilfælde indeholde 90 - 100 cfu/g i centrum af steg eller bøf.

Listeria monocytogenes kan opformeres med 2 log i multistiksaltet kød under kølelagring (5 °C) i 19 dage i værst tænkelige tilfælde (Gunvig, 2006). Sammenholdt med at fersk kød kan indeholde 100 *Listeria monocytogenes*/g, vil der teoretisk kunne være maksimalt 10.000 *L. monocytogenes*/g i centrum. Hvis varmebehandling af marineret kød sikrer en 4 log reduktion af *L. monocytogenes*, vurderes det derfor, at produktet er sikkert til konsum umiddelbart efter varmebehandling. Sandsynligheden for overlevende bakterier vil være lav, og antallet af celler så lavt, at sandsynligheden for sygdomsudbrud er negligeabel. Marineret kød er her anvendt som worst case i forhold til krav til varmebehandlingens drabseffekt af *L. monocytogenes*.

I en tidligere rapport (Gunvig, 2011a) er det prædikeret, at *C. perfringens* opformeres med mindre end 0,05 log cfu/g i forhold til de konkrete tids- og temperaturprofiler under opvarmning til 53 °C i centrum i svinekam og tre oksekødsudskæringer (se figur 1). Opformering med 0,05 log cfu/g udgør ingen risiko, da der ifølge EFSA (2005) skal indtages mere end $1 \cdot 10^8$ *C. perfringens*/g for at fremkalde forgiftning.



Figur 1. Vækst af *C. perfringens* i forhold til den viste temperaturprofil (grøn linje) prædikeret i CombasePredictor

(http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx, accessed 25.11.2010)

Valg af D-værdi for *L. monocytogenes*

Doyle et al. (2001) har samlet D-værdier for *L. monocytogenes*, bl.a. for forskellige kødtyper (se tabel 1). I fersk kød er den højeste $D_{60^{\circ}\text{C}} = 8,7$ min ($z = 6,3$ °C) i kød (kylling), og den er derfor valgt til teoretisk vurdering af drabseffekt af *L. monocytogenes*. I oksekød med pH 6,2 er der fundet $D_{60^{\circ}\text{C}} = \text{ca. } 12$ min for stationære celler af *L. monocytogenes* med og uden heat shock (Hansen et al, 1996), men der er set bort fra disse, da pH er relativ høj. I kød anvendt til forsøgene er pH 5,8, som svarer til pH i fersk svinekød.

Ifølge Doyle et al. (2001) kan opvarmningshastigheden også have betydning for D-værdiens størrelse, men i de refererede forsøg er $D_{60^{\circ}\text{C}}$ ved langsom opvarmning (< 10 °C/min) lavere end den valgte D-værdi i denne rapport ($D_{60^{\circ}\text{C}} = 8,7$ min, $z=6,3^{\circ}\text{C}$)).

Teoretisk beregning af varmedrab

Varmedrabet af *L. monocytogenes* er beregnet vha. log D/z-konceptet og $D_{60^{\circ}\text{C}} = 8,7$, $z = 6,3$ °C min., samt tids- og temperaturforløb for opvarmning til 53 °C i centrum af svinekam (Gunvig, 2011). Den teoretiske beregning resulterede i, at 6 timers holdetid efter det konkrete opvarmningsforløb kan sikre mere end 4 logs reduktion af *L. monocytogenes*.

Indledning

Praktiske forsøg

Formålet med de praktiske forsøg er at bestemme drab af *L. monocytogenes* efter 6 timers holdetid ved 53 °C i fire forskellige udskæringer.

Kød

Til forsøget blev anvendt mørbrad, kam u/svær, skinkeyderlår m/lårtunge og oksesteg af yderlår.



Oksekyderlår, bredde 8 cm, højde 7 - 8 cm



Kam, 3 stege, længde 15 cm, bredde 13 cm, højde 5 - 5,5 cm



Skinkesteg, yderlår m/lårtunge og fedtkant, længde 16 cm, bredde 14 cm, højde 6 - 6,5 cm



Mørbrad, 2 stege. Længde 8 cm, bredde 5,5 - 7 cm, højde 3 - 3,5 cm

Der blev i alt anvendt 9 podede stykker til varmebehandling og 1 stykke upodet til temperaturmåling og 9 stykker til kontrol. Efter udskæring blev kødet opbevaret ved 0 °C indtil opstart af podedeforsøg. Alt kød blev tempereret til 5 °C inden start af varmebehandling.

Podekultur

Overnatskulturer af *L. monocytogenes*:

Der blev anvendt en cocktail af følgende stammer:

- DMRICC 3012 (miljø), ($D_{53^{\circ}\text{C}} = 28,28$ min, Jacobsen 2011)
- DMRICC 4106 (human), ($D_{53^{\circ}\text{C}} = 17,12$ min, Jacobsen 2011)
- DMRICC 4124 (kød, serotype 1), ($D_{53^{\circ}\text{C}} = 36,60$ min, Jacobsen 2011)
- DMRICC 4127 (pølse, serotype 4), ($D_{53^{\circ}\text{C}} = 24,90$ min, Jacobsen 2011)
- DMRICC 4140 (bacon), ($D_{53^{\circ}\text{C}} = 14,93$ min, Jacobsen 2011)

Kulturerne blev blandet i forholdet 1:1.

Podeblandingen bestod af: 1 del (cocktail af *L. monocytogenes*) + 2 dele Brain-Heart Infusion Broth (BHI-B + 1 del sterilfiltreret frugtfarve 1 (Dr. Oetker). 0,1 ml af den farvede listeria-cocktail blev injiceret i centrum.

Alle podede kødstykker blev opbevaret ved 5 °C i 15 min., inden varmebehandlingen startede.

Rør med listeria-cocktail blev opbevaret ved 5 °C under forsøget. Podecoocktails blev analyseret umiddelbart efter blanding ($t = 0/5$ °C) og ved afslutning af forsøget (opvarmningstid + 6 h). Resultaterne viste, at frugtfarven ikke havde en

reducerende effekt på celletallet i podcocktailen.

De podede kødstykker blev vakuumpakket i kogeposer (Mørbrad Cryovac CN300 str. 130 x 550 mm, øvrige muskler Cryovac CN300 str. 300 x 400 mm).

Varmebehandling

Der blev anvendt to vandbade, som blev opvarmet til 53 °C. Vandbad 1 blev anvendt til mørbrad (i alt 9 podede stykker og 1 stykke til temperaturmåling) og vandbad 2 til kam (i alt 9 podede stykker og 1 stykke til temperaturmåling). Forsøget blev gentaget med skinke- og okseyderlår.

Efter centrumtemperaturen på 53 °C (T_c) var opnået, blev temperaturen holdt på 53 °C i yderligere 6 timer. Der blev udtaget prøver efter 2 timer og 6 timers holdetid til bestemmelse af antal listeria i centrum.

Prøveudtagning

Tid (h)	Muskel	Antal prøver pr. udsækering (varmebehandlet)	Antal kontrolprøver pr. udsækering (podet, 5 °C)	Antal prøver (kulturer 5 °C)
1*	Mørbrad	3	3	1
4*	Skinkeyderlår	3	3	1
2*	Kam Okseyderlår	3	3	1
1+2	Mørbrad	3	3	1
4+2	Skinkeyderlår	3	3	1
2+2	Okseyderlår	3	3	1
1+6	Mørbrad			1
4+6	Skinkeyderlår	3	3	1
2+6	Kam Okseyderlår	3	3	1

*Estimeret tid til en centrumstemperatur på 53 °C er opnået.

Analyser

Det farvede område blev udskåret med steril skalpel (se figur 2), og prøverne blev analyseret for *L. monocytogenes* på Oxford agar (Oxoid CM0856) og inkuberet ved 37 °C i 2 døgn.



Figur 2 : Prøveudtagning af grønfarvet centrum

Resultater

Table 1. Målt reduktion (log cfu/g) af *L. monocytogenes* ved varmebehandling til 53 °C i centrum med 6 timers holdetid

Produkt	Kimtal (log cfu/g) v/tid T=53°C		Tid til T=53°C h	Red. u/opv. Log cfu/g**	Kimtal (log cfu/g) efter 6 h v/53°C		Red. 6h v/53°C Log cfu/g**	Total reduktion Log cfu/g
	5°C	53°C			5°C	53°C		
Kam	6.6	4.9	5,4*	1.7	6.6	0.7	4.2	5.9
Mørbrad	6.7 ±0,1	5.6 ±0,1	1.7	1.2	6.8 ±0.1	0.9 ±0,2	4.7	5.9
Okseyderlår	6.7 ±0,2	5.5 ±0,1	2.8	1.3	6.8 ±0,1	0.7	4.8	6.1
Skinkeyderlår	6.6 ±0.2	4.5 ±0.3	6.2	2.0	6.4 ±0,2	1.2 ±0.6	3.3	5.3

*= opvarmningstiden er 3 timer længere end forventet

**= reduktion er beregnet som forskel mellem gns. af prøver opbevaret ved 5 °C (ingen reduktion) og prøver varmebehandlet ved 53 °C

0,7 log cfu/g ~| <1 log cfu/g

I tabel 1 ses, at under opvarmning til en centrumstemperatur på 53 °C kan der opnås en reduktion på 1 - 2 log. Reduktionen stiger med stigende diameter på kødstykket, hvilket resulterer i laveste reduktion i mørbrad, hvor opvarmningstid er kort og højeste reduktion i skinkesteg, hvor opvarmningstiden er lang. Det betyder, at udskæringer med lille diameter skal have relativt længere holdetider end udskæringer med stor diameter. I skinkesteg er opvarmningstiden yderligere forlænget pga. spæklaget på oversiden af stegen.

Ved en holdetid på 6 timer ved 53 °C varierer reduktionen fra 3,2 log til 4,9 log *L. monocytogenes*/g. I alle fire udskæringer er den totale reduktion større end 4 log cfu/g, hvilket viser, at både opvarmning og holdetid bidrager til reduktionen af *L. monocytogenes*.

I stege med spæklag er reduktionen mindre end 4 log efter 4 h's holdetid, hvilket formentlig skyldes, at en stor del af drabet foregår under opvarmningen, og at den maksimale reduktion er opnået i forhold til podeniveau (6 - 7 log cfu/g).

Ifølge L&F's vurdering (2011) er holdetiderne til at opnå en 4 log reduktion under opvarmning og holdetid beregnet til at være mellem 6,4 h og 7,2 h for de fire udskæringer. Forsøgsresultaterne viser, at 4 log reduktion opnås inden for 6 timers holdetid. Forskellen skyldes, at den anvendte D-værdi til de teoretiske beregninger er højere end D-værdierne for de enkelte stammer i podcocktailen. Det understreger, at valget af D-værdi er vigtigt i forhold til beregning af holdetider. Det anbefales, at der vælges relativt høje D-værdier, hvilket resulterer i et mere konservativt estimat for holdetiden, som vil sikre inaktivering af evt. forekomst af mere varmeresistente stammer.

Det kan derfor konkluderes, at den teoretisk vurdering af nødvendig holdetid kan anvendes ved 53 °C, på trods af at den anvendte D-værdi er bestemt ved 60 °C. Desuden er der god overensstemmelse mellem den teoretiske beregning og forsøgsresultaterne.

Ved anvendelse af teoretiske beregninger er det vigtigt at kende den konkrete

tids- og temperaturkurve, da beregning af holdetid er afhængig af udskæringens dimensioner og evt. spækklag.

D-værdier for anvendt podcocktail

Ifølge Jacobsen, 2011 ligger $D_{53^{\circ}\text{C}}$ for den anvendte podcocktail mellem 14,93 minutter og 36,60 min (se tabel 2), hvilket er lavere end den D-værdi, der er anvendt til de teoretiske vurdering ($D_{60^{\circ}\text{C}} = 8,7$ min og $z = 6,3$ °C, svarende til $D_{53^{\circ}\text{C}} = 112$ min).

Asselt et al. (2006) har beregnet en gennemsnitlig $D_{70^{\circ}\text{C}}$ -værdi for *L. monocytogenes* til 0,08 min og $z = 7$ (n = 940), svarende til hhv. $D_{60^{\circ}\text{C}} = 2,33$ min og $D_{53^{\circ}\text{C}} = 23,36$ min. Derudover har Asselt et al. beregnet $D_{60^{\circ}\text{C}} = 14,06$ min og $D_{53^{\circ}\text{C}} = 140,8$ min for *L. monocytogenes*, svarende til et øvre konfidens interval på 95%, som kan anvendes som et mere konservativt estimat. De målte D-værdier for den anvendte podcocktail er tættere på den gennemsnitlige $D_{60^{\circ}\text{C}}$ -værdi på 2,33 min end Doyles $D_{60^{\circ}\text{C}}$ -værdi på 8,7 min.

$D_{60^{\circ}\text{C}} = 14,06$ min (Asselte et al, 2006) er fravalgt til teoretisk vurdering, da prævalensen af *L. monocytogenes* i fersk kød er lav og at forekomsten i centrum kun er mulig i multistiksaltet kød. Samtidigt vil anvendelse af $D_{60^{\circ}\text{C}} = 14,06$ min resultere i en holdetid på 8,5 h ved 53°C, hvilket øger risikoen for vækst af *C. perfringens*. Prædiktion med "perfringens predictor" viser, at opformering af *C. perfringens* starter efter 6 h's holdetid ved 53°C. Efter ca. 9,5 h ved 53°C er *C. perfringens* opformeret med 1 log cfu/g, svarende til den tilladte grænse for opformering af *C. perfringens* under afkøling.

Ud fra forsøgsdata er $D_{53^{\circ}\text{C}}$ -værdier beregnet til at være mellem 75-112 min for tre af de fire testede udskæringer, se tabel 2. Disse værdier er i god overensstemmelse med den valgte D-værdi til den teoretisk vurdering. Det skal bemærkes at der til beregning af D-værdier for forsøgsdata kun har været tre målepunkter. Det betyder at beregningen er behæftet med en del usikkerhed, da sidste prøveudtagning ofte er under detektionsgrænsen, svarende til at de beregnede D-værdier er for høje.

Den anvendte podcocktail er en god repræsentant for de beregnede gennemsnitlige D-værdier fra van Asselt et al. (2006), mens $D_{60^{\circ}\text{C}}$ -værdien anvendt i den teoretiske beregning inkluderer en passende sikkerhedsmargin i forhold til inaktivering af evt. mere varmeresistente stammer af *L. monocytogenes*.

Tabel 2. Sammenligning af beregnede, målte og gennemsnitlige D-værdier for *L. monocytogenes*.

	D _{53°C}	D _{60°C}	Reference
Teoretisk vurdering	112 min	8,7 min (z=6,3°C)	Doyle, 2001
Cocktail (målt)	14-36 min	0,5-1,8	Jacobsen, 2011
Beregnet i dette forsøg*	75-112 min		Gunvig, 2011
Gns. (n=940)	23,36 min	2,33 min (z=7°C)	Asselt et al, 2006
PI 95% (n=940)	140,8 min	14,06 min (z=7°C)	Asselt et al, 2006

Konklusion

Ved varmebehandling til 53 °C i centrum i udskæringer med højder i intervallet 3 - 8 cm og en holdetid på 6 timer ved 53 °C kan der opnås mere end 4 log reduktion af en 5-stamme cocktail af *L.monocytogenes*, med D_{53°C}-værdier i intervallet 14 - 37 minutter. Det betyder at den teoretiske vurdering vil resultere i længere holdetider end nødvendigt, svarende til en "fail safe" vurdering. Ud fra sammenligningen mellem forsøgsresultaterne og de teoretiske beregninger af holdetider vha. log D/z-konceptet anbefales det at anvende den lidt mere konservative D_{60°C}-værdi på 8,7 min for sikre, at evt. forekomst af mere varmeresistent *L. monocytogenes* vil blive inaktiveret ved varmebehandlingen. Ved at anvende D_{60°C}-værdi på 8,7 min og z = 6,3 °C vil holdetiderne ved 53 °C variere mellem 6,4 h og 7,2 h i forhold til udskæringens dimensioner.

Referencer

1. van Asselt, E. D. and Zwietering, M. H. (2006). A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *Int. J. of Food Microbiology*, 107, p. 73 - 82.
2. Doyle, M. E., Mazzotta, A. S., Wang, T., Wiseman, D. W. and Scott, V. N. (2001). Heat Resistance of *Listeria monocytogenes*. *J. of Food Protection*, Vol. 64, No. 3, p. 410 – 429
3. EFSA (2005). Opinion of the Scientific Panel on biological Hazards on a request from the Commission related to Clostridium spp in foodstuffs. *The EFSA Journal* 2005 199, 1-65
4. Fødevarestyrelsen (2005). Fakta om fødevarerhygiejne, Bakterier. www.fvst.dk

5. Gunvig, A. (2007) Marinering af svinekød - vurdering af stegeprofilers mikrobiologisk sikkerhed. Projekt nr. 18499, rapport, SF: 44904. Slagteriernes Forskningsinstitut.
6. Gunvig, A. (2011a) Sikkerhed og gastronomisk kvalitet af LTLT-behandlet kød. Vurdering af sikkerhed i LTLT-behandlet okse- og svinekød. Projekt nr. 2000232. Rapport, DMRI.
7. Gunvig, A. (2011b) Test af reduktion af *L. monocytogenes*, Salmonella, VTEC og *C. perfringens* ved varmebehandling til 53 °C og 58 °C i centrum og med holdetider. Projekt nr. 2000232. Rapport, DMRI.
8. Hansen, T. B. and Knöchel, S. (1996). Thermal inactivation of *L. monocytogenes* during rapid and slow heating in sous vide cooked beef. Lett. Appl. Microbiol. 22, p. 425-428.
9. Jacobsen, T. (2011). D-værdi bestemmelse af listeria, mælkesyrebakterier, salmonella og *E. coli*. Rapport, proj. Nr. 2000532-01, DMRI.
10. Juneja, V.K., Marmer, B.S (1998) "Thermal inactivation of Clostridium perfringens vegetative cells in ground beef and turkey as affected by sodium pyrophosphate", Food Microbiology, 1998, 15, 281-287.
11. Juneja, V.K., Eblen, B.S., Ransom, G.M. (2001) "Thermal inactivation of Salmonella spp. in chicken broth, beef, pork, turkey, and chicken: determination of D- and Z-values" Journal of Food Science, Vol. 66, No. 1
12. Landbrug og Fødevarer (2011). Sikker tilberedning ved sous vide. Pjece udarbejdet af DMRI for L&F.
13. Murphy, -R-Y; Beard, -B-L; Martin, -E-M; Duncan, -L-K; Marcy, -J-A (2004) "Comparative study of thermal inactivation of Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Listeria monocytogenes in ground pork", Journal of Food Science, Vol. 69, Nr. 4
14. Nørrung, B, Andersen J. K., Schlundt, J. (1999). Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. Int. J. of Food Microbiology. 53, p. 195-203
15. Rhoades, J. R., Duffy, G. and Koutsoumanis, K. (2009). Prevalence and concentration of verocytotoxigenic Escherichia coli, Salmonella enterica and Listeria monocytogenes in the beef production chain: A review. Food Microbiology, 26, p. 357-376.