



## Rapport

### Reduktion af patogene bakterier ved sous vide behandling af kød ved 58 °C

15. juli 2014  
Proj.nr.1379348-36  
Version 01  
AGG/HNH

Annemarie Gunvig

#### Sammendrag

#### Baggrund

I catering- og kødbranchen har der inden for de seneste år været stor fokus på at anvende sous vide behandling af kød ved temperaturer under 75 °C. Med denne tilberedningsmetode kan der opnås mere saftigt kød med en rødere kerne.

Ifølge bekendtgørelse om fødevarerhygiejne (Bek. Nr. 788 af 24/7 2008), § 24, stk. 2, kan varmebehandling ved lavere temperaturer end 75 °C anvendes, hvis det kan dokumenteres, at varmebehandlingen ikke indebærer nogen sundhedsfare.

Denne rapport indeholder resultater fra forsøg på DMRI, der dokumenterer inaktivering af *L. monocytogenes* under sous vide behandling af forskellige kødudskæringer ved 58 °C.

#### Formål

Formålet er at dokumentere drab af *L. monocytogenes* under sous vide behandling ved 58 °C i forskellige kødudskæringer og sammenholde resultaterne med teoretiske beregninger.

#### Konklusion

Under opvarmning til 58 °C sker der en varmeadaptation af *L. monocytogenes* i kamber, hjerter, kam u/fedtkant og krebinetter, hvilket giver en D-værdi der er ca. 2 gange højere end den laboratoriebestemt D-værdi.

I dette forsøg med rullepølse (med højt fedtindhold og tilsat salt) øges D-værdien med en faktor 22. Resultatet bør verificeres før der angives anbefalinger for sous vide behandling af rullepølse og lign. salt- og fedtholdige produkter.

Det anbefales, at holdetiden beregnes med udgangspunkt i, at *L. monocytogenes* skal inaktiveres med 4 log cfu/g under holdetiden.

## Baggrund

I catering- og kødbranchen har der inden for de seneste år været stor fokus på at anvende sous vide behandling af kød ved temperaturer under 75 °C. Med denne tilberedningsmetode kan der opnås mere saftigt kød med en rødere kerne.

Ifølge bekendtgørelse om fødevarerhygiejne (Bek. Nr. 788 af 24/7 2008), § 24, stk. 2 kan varmebehandling ved lavere temperaturer end 75 °C anvendes, hvis det kan dokumenteres, at varmebehandlingen ikke indebærer nogen sundhedsfare.

Denne rapport indeholder resultater fra forsøg på DMRI, der dokumenterer inaktivering af *L. monocytogenes* under sous vide behandling af forskellige kødudskæringer ved 58 °C.

Rapporten indeholder følgende punkter:

- Begrundelse for valg af testorganisme
- Beskrivelse af fremgangsmåde til praktiske forsøg
- Resultater og diskussion
- Sammenligning med resultater for teoretisk vurdering af inaktivering.

## Formål

Formålet er at dokumentere drab af *L. monocytogenes* under sous vide behandling ved 58 °C i forskellige kødudskæringer og sammenholde resultaterne med teoretiske beregninger.

## Valg af testorganisme

Det er relevant at anvende en testorganisme med høj varmeresistens, så det sikres at relevante patogener inaktiveres. Ligeledes skal det sikres, at der ikke er sket en kraftig vækst af patogener under opvarmning.

*L. monocytogenes* har en høj varmeresistens sammenlignet med andre patogene bakterier. Den høje varmeresistens afspejles i høje D-værdier i forhold til f.eks. Salmonella og vegetative celler af *C. perfringens* (se tabel 1).

Det er derfor relevant at anvende en cocktail af *L. monocytogenes* stammer som testorganisme, da drab af denne også vil sikre drab af de øvrige vegetative patogener.

For *L. monocytogenes* ses i tabel 1, at hurtig opvarmning resulterer i  $D_{58\text{ °C}}$ -værdi på 13 min mod 14 min ved langsom opvarmning, hvilket ikke er signifikante forskelle i forhold til den øvrige variation, der findes mellem bakteriestammer og temperatur/tid forhold under industriel produktion (Hansen og Knöchel, 1996). I sous vide behandlede kødudskæringer med forskellige dimensioner varierer temperaturstigning pr. minut fra 2,4 °C/min (hakkebøffer) til 0,2 °C/min (okseinderlår). Ud

fra resultaterne fra Hansen og Knöchel, 1996, antages det, at temperaturstigninger pr. minut i dette interval ikke giver anledning til varmeadaptation.

Sammenlignes D-værdier for *L. monocytogenes* i hakket oksekød med hhv. 30,5 og 2 % fedt (se tabel 1), som er udført under de samme forhold ses, at D-værdien ca. fordobles i hakket oksekød med høj fedtprocent. Ved teoretiske beregninger af reduktion under varmebehandling skal der vælges en høj D-værdi, så en evt. øgning af D-værdi pga. af varmeadaptation vil være inkluderet i beregningen

**Tabel 1.** Eksempler på  $D_{58\text{ }^{\circ}\text{C}}$ -værdier og z-værdier for *L. monocytogenes*, *Salmonella* og vegetative celler *C. perfringens* bestemt i fersk kød.

| Bakterie                                  | Produkt                        | Temp. (°C) | D-værdi (min) | z-værdi (°C) | Kilde                  |
|---|--------------------------------|------------|---------------|--------------|------------------------|
| <i>L. mono</i>                            | Kyllingefilet (<10% fedt)      | 58         | 18,1*         | 6,3          | Doyle et al. 2001      |
| <i>L. mono</i>                            | Svinekød 40% fedt              | 57,5       | 14,8*         | 5,92         | Murphy et al. 2004     |
| <i>L. mono</i>                            | Hakket oksekød (30,5%/2% fedt) | 57,2       | 5,8/2,6       | 6,3/5,17     | Doyle et al. 2001      |
| <i>L. mono</i>                            | Oksekød >10 °C stigning/min.   | 58         | 13,01*        | 6,9          | Hansen & Knöchel, 1996 |
| <i>L. mono</i>                            | Oksekød 0,6 °C stigning/min.   | 58         | 14,01*        | 6,5          | Hansen & Knöchel, 1996 |
| <i>L. mono</i>                            | Oksekød 0,3 °C stigning/min.   | 58         | 14,3*         | 6,6          | Hansen & Knöchel, 1996 |
| <i>Salmonella</i>                         | Oksekød                        | 58         | 8,65          | 6,01         | Juneja et al. 2001     |
| <i>Salmonella</i>                         | Svinekød                       | 58         | 6,68          | 7,1          | Juneja et al. 2001     |
| <i>Salmonella</i>                         | Kylling                        | 58         | 7,08          | 6,11         | Juneja et al. 2001     |
| <i>Salmonella</i>                         | Svinekød                       | 58         | 11,08*        | 5,89         | Murphy et al. 2004     |
| <i>C. perfringens</i> (vegetative celler) | Oksekød                        | 57,5       | 10,2          | 6,74         | Juneja & Marmar, 1998  |
| <i>C. perfringens</i> (vegetative celler) | Kalkunkød                      | 57,5       | 9,1           | 6,77         | Juneja & Marmar, 1998  |

\*=omregnet med logD/z konceptet fra D-værdien ved 60 °C

### *Forekomst af L. monocytogenes i fersk kød*

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

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.

Nørrung et al (1999) har påvist *L. monocytogenes* i et niveau på 10 - 100 *L. monocytogenes*/g i 12 ud af 343 prøver af fersk kød (uspecificeret), hvilket svarer til 3,5 % positive prøver. Det høje indhold blev fundet i hakket kød (uspecificeret).

Multistiksaltet kød er valgt som worst case i forhold til krav til varmebehandlingens drabseffekt på *L. monocytogenes*, da centrum af kød vil kunne forurenes med bakterier. På fersk kød er bakterier udelukkende på overfladen. Antages det, at der på overfladen af fersk kød kan påvises 100 *L. monocytogenes*/g, vil multistiksaltet kød i værst tænkelige tilfælde indeholde 90 - 100 cfu/g i centrum af steg eller bøf.

*L. 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 *L. monocytogenes*/g, vil der teoretisk kunne være maksimalt 10.000 *L. monocytogenes*/g i centrum af en steg. 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 ifølge mikrobiologiske kriterier for fødevarer (2005) accepteres op til 100 *L. monocytogenes*/g i produktet ved udløb af holdbarhed (Vejl. Nr. 9809 af 23/12/2005). Holdbarhed af sous vide kød kan sættes til 5 dage ved køleopbevaring, da der ikke er krav til listeria stabilisering, hvis holdbarheden af produktet er <5 dage (Vejl. Nr. 9809 af 23/12/2005).

En varmebehandling der sikrer en 4 log reduktion af *L. monocytogenes* (f.eks. 10.000 bakterier reduceres til 1) antages at være tilstrækkelig til, at produktet er mikrobiologisk acceptabelt, når det spises umiddelbart efter varmebehandling eller senest efter 5 dages køleopbevaring.

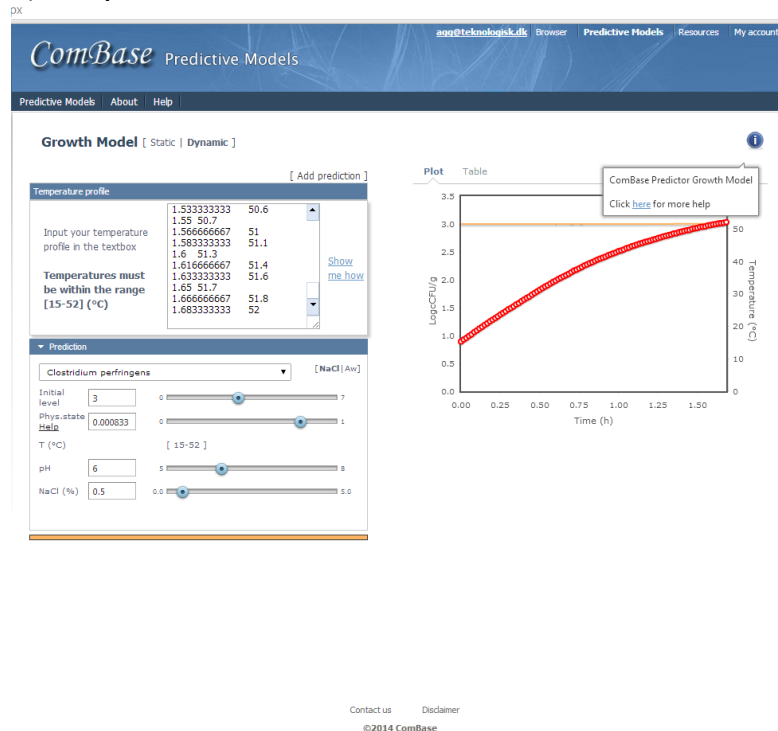
### Opformering af *C. perfringens* under opvarmning

Ved opvarmning til 58 °C i centrum kan opvarmningstiden være på mere end 2 timer i store kødudskæringer. Det er derfor relevant at vurdere om der er risiko for opformering af *C. perfringens* til et uacceptabelt niveau.

Ved temperaturer over 50 °C forventes der ingen vækst af *C. perfringens* under opvarmning (Fødevarestyrelsen, 2005). Duan et al. 2013 har vist, at *C. perfringens* kan opformeres under langsom opvarmning (4 timer) til 53 °C med 3 log og med  $D_{53\text{ °C}} = 320$  min. Tiden i temperaturintervallet 50-54 °C skal derfor minimeres. Ved omregning af  $D_{53\text{ °C}} = 320$  min for *C. perfringens* til andre tilberedningstemperaturer med log D/z konceptet ( $z = 6,7$  °C, Juneja & Marmer, 1998) er D-værdien for *C. perfringens* lavere end for *L. monocytogenes*, svarende til at der vil opnås mere end 4 log reduktion af vegetative celler af *C. perfringens* ved 58 °C.

Prædiktion af vækst af *C. perfringens* i Combase predictive models (pH=6,0 og 0,5% NaCl) for en tid- og temperaturprofil for opvarmning af en skinke (d=6,0 -6,5 cm) viser, at *C. perfringens* ikke opformeres inden for 1,5 time i intervallet 15-52 °C (muligt temperaturinterval i Combase models), se figur 1.

Figur 1. Output fra *C. perfringens* model i Combase Predictive models for temperaturprofil for opvarmning af skinke (d=6,0-6,5 cm)



Accessed 15. juli 2014. Skinke (d= 6-6,5 cm, opvarmet til 58 °C). Prediktionsinterval for temperatur= 15-52 °C

Med baggrund i ovenstående er *L. monocytogenes* valgt som indikatororganisme for sikker varmebehandling ved temperaturer  $<75\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da denne bakterie har en relativ høj varmeresistens. Vegetative celler af *C. perfringens*, *Salmonella* og *E.coli* vil være inaktiveret tidligere end *L. monocytogenes*, da de har en lavere D-værdi.

### Fremgangsmåde

#### Forsøgsdesign

Kam u/fedtkant, krebnetter, hjerter, kamben og rullepølse er sous vide behandlet ved  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  i sous vide kar fra Classic Gastro A/S, model 40 kg. Der blev udtaget prøver til bestemmelse af antal *L. monocytogenes* ved forsøgsstart, når centrumtemperaturen i produktet var  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $=T_c$ ) og herefter 2, 5, 10 og 15 min efter at  $T_c$  var opnået, i alt 5 gange under holdetid ved  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Fra hvert udtag var der 3 gentagelser. Opvarmningsprofilerne for hver forsøgsrunde blev registreret ved at isætte Testo temperaturfølere i centrum af 4 produkter pr. sous vide behandling. Temperaturen blev registreret hvert minut.

#### Podcocktail

Podcocktailen bestod af en blanding af følgende stammer af *L. monocytogenes* i forholdet 1:1:

Der anvendes en cocktail af følgende stammer:

- DMRICC 3012 (miljø) ( $D_{60\text{ }^{\circ}\text{C}} = 1,77\text{ min}$ )
- DMRICC 4106 (human) ( $D_{60\text{ }^{\circ}\text{C}} = 0,58\text{ min}$ )
- DMRICC 4124 (kød, serotype 1) ( $D_{60\text{ }^{\circ}\text{C}} = 1,67\text{ min}$ )
- DMRICC 4127 (pølse, serotype 4) ( $D_{60\text{ }^{\circ}\text{C}} = 0,58\text{ min}$ )
- DMRICC 4140 (bacon) ( $D_{60\text{ }^{\circ}\text{C}} = 0,55\text{ min}$ )

Disse stammers D-værdier svarer til gennemsnitsværdien for  $D_{60\text{ }^{\circ}\text{C}} = 2,33\text{ min}$  for 940 *L. monocytogenes* stammer i forskellige produkter (Asselte et al, 2006).

Hver stamme var dyrket i BHI ved  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  natten over og efterfølgende blev de blandet i forholdet 1:1.

Podcocktailen blev farvet med grøn frugtfarve (Dr. Øtker) i forholdet 11:1 (12x fortynding). Indledningsvis var grøn frugtfarves påvirkning af vækst af *L. monocytogenes* testet. Resultaterne viste, at vækst af *L. monocytogenes* ikke blev påvirket af grøn frugtfarve i den valgte fortynding (x12) (Gunvig, 2012c).

### Analyser

De grønfarvede områder blev udskåret med steril skalpel. Antal *L. monocytogenes* blev bestemt på Oxford-agar (Oxoid CM0856) og blev inkuberet ved 37 °C i 2 døgn.

### Produkter

Kam u/fedtkant – 3 stege pr. kam:

- Højde 5-5,5 cm
- Bredde 13 cm
- Længde 15 cm
- Kultur og frugtfarve blev injiceret i centrum af stegen



Krebinetter (12% fedt)

2 g kød blev tilsat 0,1 ml af den farvede pødecocktail og placeret i centrum af krebinetter (70 g), som var nedkølet til 5 °C. Herefter blev placeret endnu en krebinet af 70 g og de to skiver blev presset sammen med en bøfformer. I hver pakke var der tre krebinetter á 140 g.



Hjerter:

- Hjertet blev flækket, hjerteklapper, blodårer mv. blev fjernet og skåret i 0,5 cm strimler i hjertets tykkelse
- 800 gram hjerter blev lagt i plastpose, og der blev tilsat 10 ml af farvet cocktail, svarende til ca.  $1 \times 10^7$  cfu/g hjerter.
- Herefter kom massen i kogepose CN300, 150x550 mm, hvor hjerterne blev presset sammen så kogeposen (CN300, 150x550 mm) blev vakuumpakket ved en længde på 21 cm. Herved var højden 3,5 cm.



Kamben:

- Helt rack af smalt kamben
- Kultur og frugtfarve blev injiceret mellem 3. og 4. ribben fra nakkeenden, hvor højden af kambenene er størst. Hvis det første kamben (som på billedet) ikke er helt, talte det ikke med.



Rullepølse – 3 stk. pr. hele rullepølse "Tender pork" fra Danish Crown

- Højde 8 cm
- Bredde 8 cm
- Længde 10 cm

Kultur og frugtfarve blev injiceret i musklen tættest på centrum



*Databehandling*

$D_{58C}$ -værdier er bestemt som hældningen af regression linjen for de logaritmerede kimalt versus tid (se bilag 2).

## Resultater

*Tid- og temperatur-  
profiler*

I sous vide karret blev der anvendt vandværksvand, som var ca. 20 °C. Inden for få min var vandtemperaturen ca. 40 °C og opvarmningen til den endelige vandtemperatur ( $T_C + 2$  °C) var opnået inden for 20 min.

I tabel 1 ses, at opvarmningstiden til 58 °C varierer mellem 32-88 min for udskæringer med en lav højde (krebnetter, kamben, hjerter). Opvarmningstiden for hjerter adskiller sig markant fra kamben og krebnetter ved at have en opvarmningstid på 88 min mod 32-37 min for kamben og krebnetter. Det kan skyldes, at fyldningsgraden af karret var 2-4 gange højere ved varmebehandling af hjerter i forhold til krebnetter og kamben. Det betyder, at varmeoverførselen tager længere tid, da vandmængden er mindre ved varmebehandlingen af hjerter.



Ved opvarmning af kamberen er der en stor variation i mellem de fire målinger (se bilag 1), hvilket skyldes at produktet er meget uensartet i forhold til de andre produkter.

Opvarmning af rullepølse til 58 °C i centrum har en markant fladere kurve, specielt i starten tager det lang tid inden temperaturen begynder at stige. Det kan skyldes fedtlaget på ydersiden af rullepølse, da det vil virke varmeisolerende.

Tabel 1. Målt reduktion af *L. monocytogenes* i forskellige produkter efter opvarmning til 58 °C (=T<sub>c</sub>) og målte D<sub>58 °C</sub>-værdier og holdetid ved 58 °C til 4 log for hele processen.

| Produkt           | Temperatur (T <sub>c</sub> ) | Tid til T <sub>c</sub> (timer) | Reduktion ved T <sub>c</sub> (log) | Målte D <sub>58 °C</sub> -værdi** (min) | Holdetid til 4 log <sub>red</sub> ved 58 °C for hele processen (min) | Stamme D <sub>58 °C</sub> (min) |
|-------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|---|--|---------------------------------|
| Kam               | 58                           | 155                            | >6                                 | -*                                      |  | 3,9                             |
| Kamberen          | 58                           | 36                             | 0,2                                | 10,63                                   | 40,4   | 3,9                             |
| Krebinetter       | 58                           | 37                             | 0,5                                | 10,45                                   | 36,6   | 3,9                             |
| Hjerter           | 58                           | 88                             | 1,1                                | 10,55                                   | 30,6   | 3,9                             |
| <b>Rullepølse</b> | <b>58</b>                    | <b>153</b>                     | <b>1,35</b>                        | <b>88,5</b>                             | <b>234</b>   | <b>3,9</b>                      |

\*D-værdi er ikke beregnet da *L. monocytogenes* var under detektionsgrænsen efter at T<sub>c</sub> var opnået.

\*\* rådata kan ses i bilag 1.

#### Drab af *L. monocytogenes*

I tabel 1 ses, at reduktion af *L. monocytogenes* under opvarmning varierer fra 0,2 til >6 log. Mere end 6 logs reduktion opnås i kam, hvor temperaturen i centrum er mellem 50 °C og 58 °C i ca. 60 min. Dette er i overensstemmelse med resultater fra et tidligere forsøg (Gunvig, 2011b). I kamberen og krebinetter er der opnået en reduktion på hhv. 0,2; 0,5 g af *L. monocytogenes*. I disse to produkter er temperaturen i intervallet 50-58 °C i 10 til 15 min, hvilket svarer til at de to opvarmningsforløb har samme F-værdi. I hjerter er der opnået en højere reduktion af *L. monocytogenes*, da temperaturen er i intervallet fra 50-58 °C i ca. 40 min (~ en højere F-værdi), da opvarmningen har taget længere tid pga. en større fyldningsgrad i sous vide karret.

Rullepølse adskiller sig ved, at tiden i intervallet 50-58 °C er 60 min, men reduktionen er 1,35 log mod >6 log i kam. Det skyldes sandsynligvis, at der sker en varme-adaptation sandsynligvis på grund af af fedtets beskyttende effekt og indhold af salt i produktet. Asselte et al (2006) har dokumenteret at salt i produktet øger varmeresistens af *L. monocytogenes*.

Ved vurdering af varmedrab i sous vide produkter er det vigtigt, at det er de konkrete tid-/temperatur-profiler som indgår i vurderingen, da varmedrab varierer betydeligt i forhold til

tiden i intervallet 50-58 °C, og opvarmningstiden påvirkes af produktets form og sammensætning (varmeledning afhænger af fordeling af vand, protein, fedt, ben, bindevæv osv.) samt karrets fyldningsgrad og vandcirkulation m.m.

#### *D<sub>58 °C</sub>-værdier for L. monocytogenes i forskellige sous vide produkter*

Ud fra fem målinger af kimtal for *L. monocytogenes* under holdetiden ved 58 °C) er der beregnet en D<sub>58 °C</sub>-værdi for *L. monocytogenes* for hvert produkt. I tabel 1 ses, at D<sub>58 °C</sub> for *L. monocytogenes* er ca. 10,5 min for kamber, krebinetter og hjertes. Det er ca. 2,5 gang højere end podcocktailens D-værdi bestemt i kødemulsion uden langsom opvarmning, som er 3,9 min for den mest varmeresistente stamme (DMRICC 3012) i cocktailen (Jacobsen, 2011). Det tyder på at der sker en varmeadaptation under opvarmningen på grund af varierende varmeledning. Doyle et al. 2001 refererer flere undersøgelser som viser, at D-værdier øges med stigende fedtindhold i kød. Med en D<sub>58 °C</sub> = 10,5 min betyder det, at der kræves en holdetid på 42 min ved 58 °C for at opnå en reduktion af *L. monocytogenes* på 4 log.

I rullepølse er der målt en minimal reduktion under holdetiden ved 58 °C, hvilket resulterer i D<sub>58 °C</sub> = 88,5 min svarende til en meget kraftig varmeadaptation. D-værdien øges med en faktor 22 i forhold til laboratorieværdier for de anvendte stammer. Denne øgning af D-værdien er væsentligt højere end de forskelle på en faktor 2-2,5, som er vist i Doyle et al, 2001 og Murphy et al., 2003. Den markante forskel må tilskrives kombinationen af, at rullepølsebakterier er beskyttet af fedtet og at produktets saltindhold øger varmeresistensen.

Resultatet indikerer, at produkter med salt og markante fedtlag ikke er velegnet til sous vide behandling. En verifikation af resultatet for rullepølse bør foretages inden der gives anbefaling for sous vide behandling af rullepølse og lignende produkter.

På baggrund af ovenstående anbefales det, at varmedrabet på 4 log af *L. monocytogenes* skal opnås under holdetiden ved 58 °C for at inkludere en sikkerhedsmargin i forhold til evt. varmeadaptation, produktsammensætningens påvirkning på *L. monocytogenes* og forskel i fyldningsgrad af sous vide kar m.m.

## Teoretisk sikkerhedsvurdering af holdetid

Tabel 2. Beregning af reduktion under opvarmning ud fra målt tid-og temperatur profil og beregnet holdetid til 4 log reduktion af *L. monocytogenes* med  $D_{60\text{ °C}} = 8,7$  min og  $z = 6,3\text{ °C}^*$

| Produkt           | Temperatur (T <sub>c</sub> ) | Tid til T <sub>c</sub> | Beregnet reduktion ved T <sub>c</sub> (log cfu/g)* | Beregnet tid* ved 58 °C for at opnå 4 log <sub>red</sub> (min) for hele processen | Tid til 4 log <sub>red</sub> under holdetiden*** (min) |
|-------------------|------------------------------|------------------------|--|---|--|
| Kam               | 58                           | 155                    | 2,2  | 33  | 76,3   |
| Kamben            | 58                           | 32                     | 0,3  | 67  |  |
| Krebinetter       | 58                           | 37                     | 0,4  | 65  |  |
| Hjerter           | 58                           | 88                     | 1,0  | 53  |  |
| <b>Rullepølse</b> | <b>58</b>                    | <b>153</b>             | <b>1,9</b>   | <b>38</b>   |  |

\* $D_{60\text{ °C}} = 8,7$  min og  $z = 6,3\text{ °C}$  er anvendt til beregning. Omregnet med log D/z til  $D_{58\text{ °C}} = 18,4$  min

\*\* =  $(4 \log \text{ cfu/g} - \log \text{ reduktion under opvarmning}) * 18,4 \text{ min } (D_{58\text{ °C}})$

\*\*\* =  $4 * 18,4 \text{ min}$

I tidligere rapport er det anbefalet at anvende en  $D_{60\text{ °C}} = 8,7$  min og  $z = 6,3\text{ °C}$  til beregning af holdetider for et konkret produkt med en kendt tid/temperatur-profil (Gunvig et al., 2011a). Ved at vælge en høj D-værdi til beregning af holdetid sikres det, at der inkluderes en sikkerhedsmargin i forhold til variation i D-værdier for *L. monocytogenes* stammer og evt. varmeadaptation under processen.

I tabel 2 ses, at ud fra de målte tid- og temperatur-profiler er de "beregne holdetider" ved 58 °C højere end de holdetider, der er bestemt ud fra målte D-værdier (se tabel 1). De "beregne holdetider" inkluderer reduktion under opvarmning. Hvis der ønskes en yderligere sikkerhedsmargin, kan det vælges, at reduktion på 4 log af *L. monocytogenes* udelukkende skal opnås i holdetiden, dvs. at reduktion under opvarmning ikke indgår i beregningen. I disse tilfælde vil den beregnede holdetid ved 58 °C være  $4 \times 18,4 \text{ min}$  (D-værdi for kyllingekød, Doyle et al., 2001) = 73,6 min uanset størrelse på kødet.

Undtaget er rullepølse, hvor den teoretiske holdetid er væsentlig kortere. Ud fra dette enkeltstående forsøg tages der forbehold for, at sous vide behandle produkter med salt som indeholder tykke fedtlag i produktet.

### Sammenligning af vandbads- og sous vide forsøg

I hakkebøffer (140 g og 9-15% fedt,  $d = 10 \text{ cm}$  og  $h = 1,5 \text{ cm}$ ), som er varmebehandlet i laboratorievandbad er der målt en reduktion på 1,1 log ved T<sub>c</sub>, som opnås efter 23 min. Efter en holdetid på 30 min ved 58 °C var *L. monocytogenes* reduceret med  $> 6,7 \text{ log}$  (Gunvig et al, 2012).

Ved sous vide behandling af krebinetter i sous vide kar blev der målt en reduktion af *L. monocytogenes* på 0,4 log under opvarmning til 58 °C (37 min).

De to opvarmningsprofiler giver en  $F_{60\text{ °C}, D=8,7\text{min}}$  på 3,59 min og 2,31 min for hhv. krebinetter og hakkebøffer. Resultatet for krebinetter er i overensstemmelse med resultatet for den målte D-værdi på ca. 10 min. I hakkebøffer er der målt en ca. 2,5 gange højere reduktion, hvilket tyder på at der ikke er sket en varreadaptation under opvarmning af hakkebøffer i laboratorievandbad, hvor vandtemperaturen fra processens start var 58 °C.

Det understreger, at det er vigtigt at der inkluderes i sikkerhedsmargin ved beregning af holdetider.

### **Konklusion**

Under opvarmning til 58 °C sker der en varreadaption af *L. monocytogenes* i kamber, hjerter, kam u/fedtkant og krebinetter, hvilket giver en D-værdi der er ca. 2 gange højere end den laboratoriebestede D-værdi.

I dette forsøg med rullepølse (med højt fedtindhold og tilsat salt) øges D-værdien med en faktor 22. Resultatet bør verificeres før der angives anbefalinger for sous vide behandling af rullepølse og lignende salt- og fedtholdige produkter.

Det anbefales, at holdetiden beregnes med udgangspunkt i, at *L. monocytogenes* skal inaktiveres med 4 log cfu/g under holdetiden.

### **Referencer**

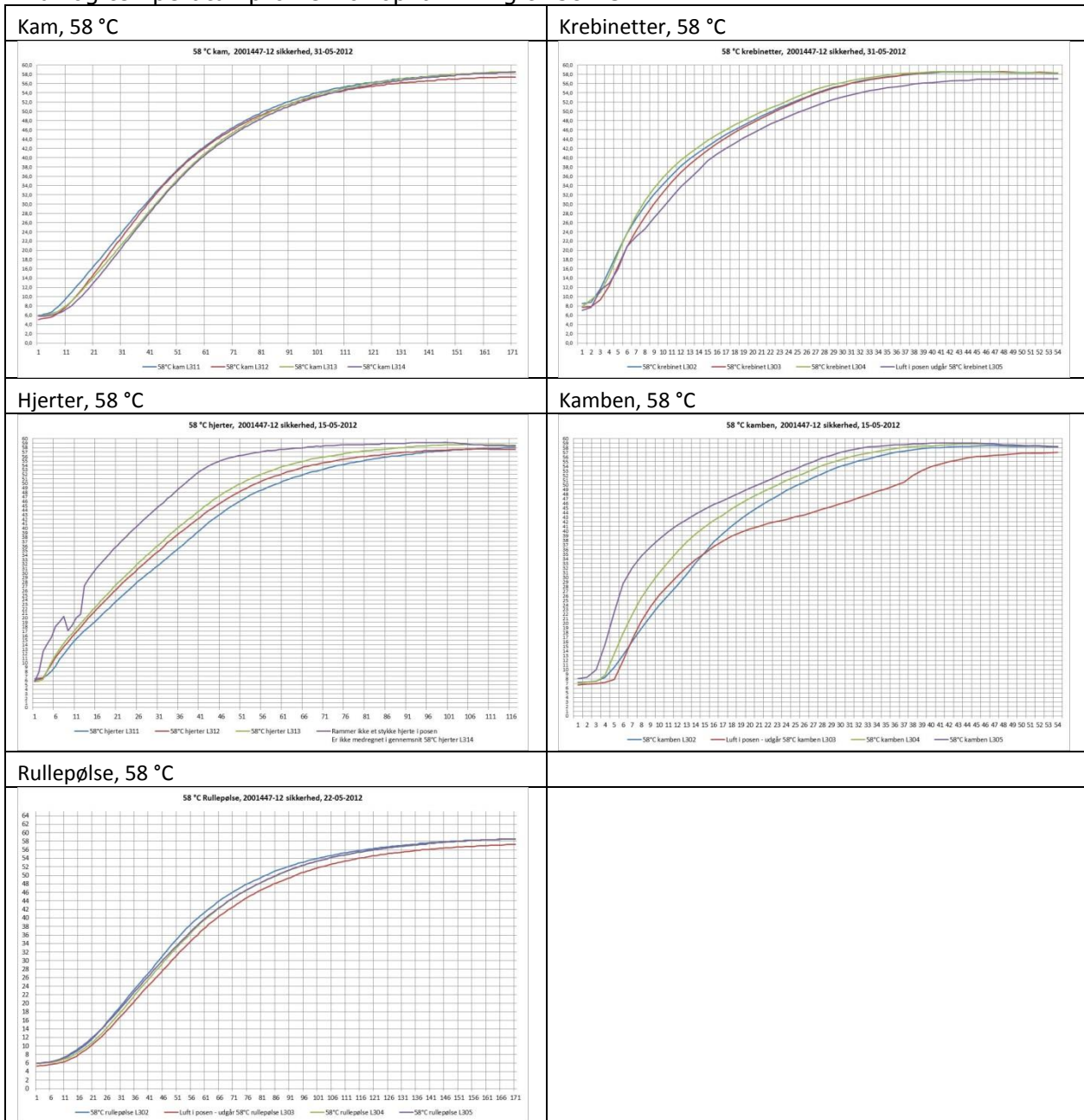
*Sidste opdatering*

1. Anonym (2008). Bekendtgørelse om fødevarerhygiejne nr. 788 af 24/07/2008.  
<https://retsinformation.dk/forms/R0710.aspx>
2. Anonym (2005) Vejledning om mikrobiologiske kriterier for fødevarer. Vejledning nr. 9809 af 23/12/2005.  
<https://retsinformation.dk>
3. 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.

4. Combase Predictive models.  
[http://modelling.combase.cc/ComBase\\_Predictor.aspx](http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx), accessed 15. Juli 2014
5. Doyle, M. E., Mazzotta, A. S., Wang, T., Wiseman, D. W. and Scott, V. N. (2001). Heat Resistance of *L. monocytogenes*. *J. of Food Protection*, Vol. 64, No. 3, p. 410 – 429
6. Duan, Z., T. B. Hansen, T. H. Hansen, P. Dalgaard and S. Knöchel. (2013). Predicting outgrowth and inactivation of *Clostridium perfringens* in meat products during Low Temperature Long Time (LTLT) heat treatment. In Proceedings 8th Int. Conference on Predictive Modelling in Food, Paris September, p. 76-77
7. Fødevarestyrelsen (2005) Fakta om fødevarerhygiejne. Bakterier Juni 2005, 4. Opgave, 1. Oplag. ISBN 87-91569-70-2
8. Gunvig, A., T. Jacobsen and M. A. Tørngren (2012). How to make safe, juicy and rose beef patties for the food service sector. In proceedings 58th Int. Congress of Meat Science and Technology, 12-17 August 2012, Montreal, Canada.
9. Gunvig, A. (2006). Marinering af svinekød. Lagesammensætningens og emballagens betydning for opformering af *L. monocytogenes* i marineret svinekød. Projekt 18499, rapport, SF:35238. Slagteriernes Forskningsinstitut.
10. Gunvig, A. (2011a). Sikkerhedsvurdering af sous vide behandling ved 53 °C. Proj. Nr. 1379348-17. Konsulentopgave for Landbrug & Fødevarer.
11. 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. Proj. Nr 2000232, Rapport, LTLT behandling af kød.
12. Hansen, T.B. & S. Knöchel (1996). Thermal inactivation of *L. monocytogenes* during rapid and slow heating in sous vide cooked beef. *Lett. Appl. Microbiol.* 22, p. 425-428.
13. Jacobsen, T. (2011). D-værdi bestemmelse af *Listeria* og *Streptococcus thermophilus*. Rapport. D3 Sous vide. Proj. nr. 2000532-01

14. 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.
15. 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
16. Murphy, R. Y., B.L. Beard, E.M. Martin, L.K. Duncan and J. A. Marcy (2004). Comparative Study of Thermal Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in Ground Pork. *J. of Food Science*. Vol. 69. Nr. 4.
17. 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
18. 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.

Tid- og temperatur-profiler for opvarmning til 58 °C



Beregning af D-værdi ved 58 °C

