



Rapport 2 af 2

Styring af actinidin ved sous vide-behandling

Semiforædlede produkter til foodservice

Louise Hededal Hofer og Mianne Tenna Darré

27. september 2017
Projektnr. 2004287-17
Init.: LHHR/MTDE/MT

Sammendrag	<p><i>Baggrund</i></p> <p>Sous vide-tilberedning af kød er en metode, som bliver mere og mere udbredt til industriel fremstilling af kødprodukter. Det skyldes sandsynligvis, at der er en lang række fordele ved at anvende metoden, og at der er få ulemper, hvor den ekstra lange procestid kan give udfordringer i forbindelse med kapacitet og flow. Det er derfor ønsket, at procestiden kan reduceres, uden at det kompromitterer de fordele, tilberedningsmetoden ellers giver produktet.</p> <p>For produkter som pulled pork skyldes den lange procestid hovedsageligt, at produktet skal bruge tid på at mørne. Flere steder i litteraturen er det beskrevet, hvordan tilsætning af proteolytiske enzymer kan katalysere kødets naturlige mørningsproces [1]. Actinidin, som udvindes fra kiwi, er et eksempel på et proteolytisk enzym med denne egenskab. Enzymet nedbryder hovedsageligt kollagen og er aktivt i temperaturintervallet 0-40°C. Det har i tidligere forsøg, udført på DMRI, udvist potentiale for at accelerere mørningsprocessen uden negativ påvirkning af svind, saftighed, udseende og smag [2].</p> <p>For at actinidin kan anvendes i industriel sammenhæng/produktion er det dog væsentligt at dokumentere, at aktiviteten af det mørnende enzym kan styres/stoppes, således at producenter, som anvender det aktive stof, kan sikre deres kunder, at produkterne ikke overmørner.</p>
Formål	<p>At dokumentere, at actinidin kan styres og ikke har en mørnende effekt efter endt varmbehandling.</p>
Konklusion	<p>Forsøgets resultater viser, at actinidins aktivitet stoppes efter opvarmning til 56°C. For prøver behandlet med actinidin blev der ikke fundet nogen indikatorer for, at mørningsprocessen fortsatte under lagring ved 5°C efter sous vide-tilberedning. Dette gør, at enzymet har potentiale som mørningsingrediens til produktion af sous vide-tilberedte kødprodukter, som tilberedes af producenten til minimum 56°C, inden de videredistribueres som kølede produkter.</p>

Indledning

Sous vide-tilberedning af kød er en metode, som bliver mere og mere udbredt til industriel fremstilling af kødprodukter. Det skyldes sandsynligvis, at der er en lang række fordele ved at anvende metoden, og at der er få ulemper, hvor den ekstra lange procestid kan give udfordringer i forbindelse med kapacitet og flow. Det er derfor ønsket, at procestiden kan reduceres, uden at det kompromitterer de fordele, tilberedningsmetoden ellers giver produktet.

For produkter som pulled pork skyldes den lange procestid hovedsageligt, at produktet skal bruge tid på at mørne. Flere steder i litteraturen er det beskrevet, hvordan tilsætning af proteolytiske enzymer kan katalysere kødets naturlige mørningsproces [1]. Actinidin, som udvindes fra kiwi, er et eksempel på et proteolytisk enzym med denne egenskab. Enzymet nedbryder hovedsageligt kollagen og er aktivt i temperaturintervallet 0-40°C. Det har i tidligere forsøg, udført på DMRI, udvist potentiale for at accelerere mørningsprocessen uden negativ påvirkning af svind, saftighed, udseende og smag [2].

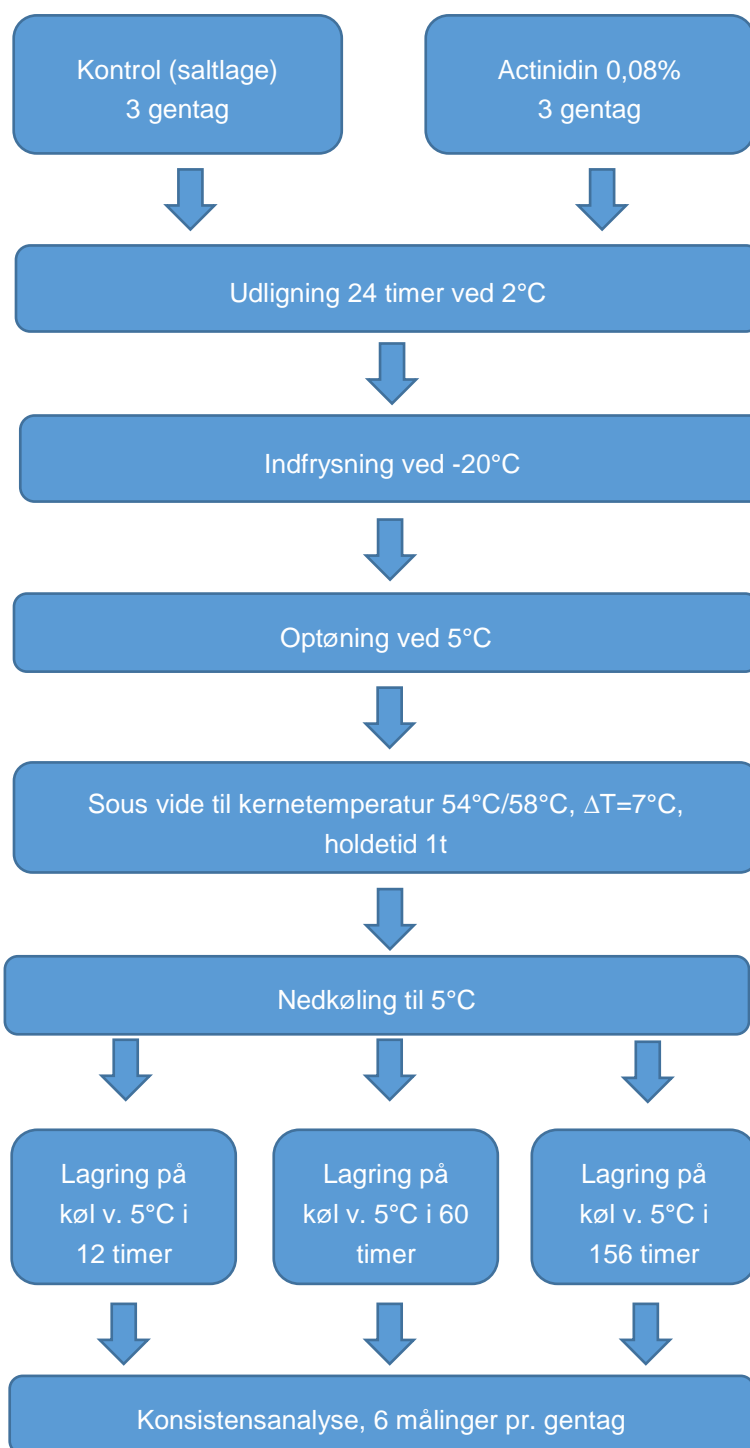
For at actinidin kan anvendes i industriel sammenhæng/produktion er det dog væsentligt at dokumentere, at aktiviteten af det mørnende enzym kan styres/stoppes, således at producenter, som anvender det aktive stof, kan sikre deres kunder, at produkterne ikke overmørner. Forsøget er udført som to delforsøg, hvor resultaterne fra delforsøg 1 er beskrevet i rapport 1 af 2 "Reduktion af kogetid for pulled pork med enzymet actinidin". Delforsøg 2, hvis resultater er beskrevet i denne rapport (rapport 2 af 2), har til formål at dokumentere, at actinidin kan styres og ikke har en mørnende effekt efter endt varmbehandling.

Fremgangsmåde

For at undersøge effekten af varmeinaktivering på tilført actinidin blev 0,08% actinidin tilsat i produktet efter injicering og testet op mod en kontrol (lagesaltet uden enzym). Som indirekte mål for enzymets aktivitet blev der udført en konsistensanalyse med Warner Bratzler. Efter varmebehandling blev kødet analyseret 3 gange indenfor en lagringsperiode på 6 dage ved 5°C med udtag efter ½, 2½ og 6½ dage svarende til 12 timer, 60 timer og 156 timer.

Der blev vurderet inaktivering efter varmebehandling til henholdsvis 54°C og 58°C med en holdetid på 1 time. Prøverne blev analyseret uafhængigt af hinanden som forsøg 2a (opvarmning til 54°C) og forsøg 2b (opvarmning til 58°C). Forsøgsdesign for forsøg 2a og 2b fremgår af figur 1.

Forsøgsdesign



Figur 1. Forsøgsdesign – styring af actinidin ved sous vide

Råvarer

Der blev benyttet nakkefileter, udskåret som produkt 1320. For at sikre ensartet råvarekvalitet blev der ved ankomst til DMRI målt pH i alle nakkefileter [3]. pH i de 36 nakkefileter til delforsøg 2 var mellem 5,79 og 6,12.

Hver nakkefilet blev delt i en hovedside og en kamside, kun kamender indgik i forsøget.

Opdelingen af nakkefileten ses af figur 2.



Figur 2. Opdeling af nakkefilet

Marinering

Alle stegene blev multistiksprøjtet med henholdsvis en basissaltlage (kontrol) og en basislage tilsat actinidin (actinidin 0,08) til en enzymkoncentration på 0,08% i produktet efter saltning (Ingredient Resources, Warriewood, Australien). Recepterne for de to behandlinger fremgår af tabel 1. Der er i recepten regnet med en marineringstilvækst på 10%.

Tabel 1. Recept for saltlager med og uden actinidin

	Kontrol	Actinidin 0,08%
Kød (%)	90,91	90,91
Vand (%)	8,49	8,41
Salt (%)	0,60	0,60
Enzym (%)	-	0,08

Stegene blev injiceret med multistiksprøjte FGM 26/52 (Food Machinery Company APS, Danmark), med 60 slag/min og ved et tryk på 1,2 bar.

Pakning

Stegene blev pakket i vakuumpogeposer (Cryovac CN300 str. 300x250 mm, på VM 51/2, Röscher Vakuumtechnik GmbH, Tyskland) og efterfølgende opbevaret på køl ved 2°C natten over. Herefter blev prøverne indfrosset.

Optøning

Inden sous vide-behandling blev prøverne optøet i kølerum på hyldevogn ved 5°C i 63-69 timer.

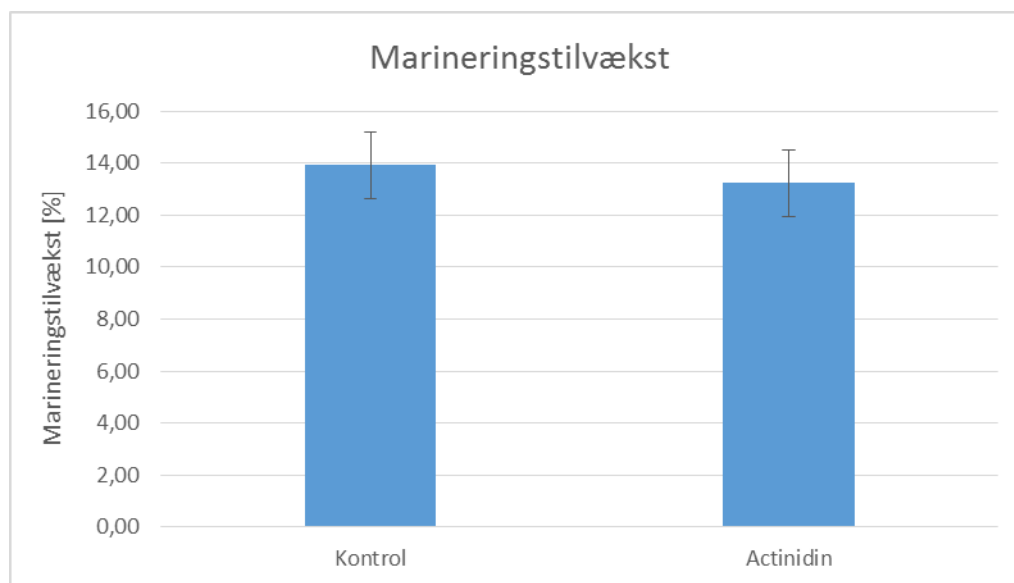
<i>SV-behandling – forsøg 2a</i>	<p>Prøverne blev sous vide-behandlet i sous vide-kar 1 (Classic Gastro, model 40 kg). Sous vide-karrets indstilling:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vandstand 16 cm • Rist 16 cm • Trin 1: opvarmning til kerntemperatur på 54°C, holdetid: 60 min, $\Delta T=7^{\circ}\text{C}$ • Nedkøling til 5°C
<i>SV-behandling – forsøg 2b</i>	<p>Prøverne blev sous vide-behandlet i sous vide-kar 1 (Classic Gastro, model 40 kg). Sous vide-karrets indstilling:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vandstand 16 cm • Rist 16 cm • Trin 1: opvarmning til kerntemperatur på 58°C, holdetid: 60 min, $\Delta T=7^{\circ}\text{C}$ • Nedkøling til 5°C
<i>Energi</i>	Energiforbruget (kWh) blev registreret under opvarmning, holdetid og nedkøling.
<i>Svind</i>	Stegene blev vejret for at beregne marineringstilvæksten samt for finde det totale vægtsvind. Vægten blev noteret før marinering, efter marinering og efter sous vide-behandling.
<i>Temperatur</i>	<p>Temperaturprofilen målt i dummyprøven under sous vide-behandlingen er afbildet i bilag 1 og 2.</p> <p>Kølerumstemperaturen blev ligeledes registreret og er afbildet i bilag 3.</p>
<i>Warner Bratzler-analyse</i>	<p>På alle prøver blev der udført mekanisk konsistensmåling. Der blev udført en dobbeltbestemmelse for hver behandling efter 3 tidsintervaller i løbet af 6 dage.</p> <p>Fra hver kamende blev der udboret 8 prøver (Bosch GSR 10,8-2-LI monteret med et propbor, $\text{Ø}=1,3$ cm, $L=4,5$ cm). Prøverne blev udboret fra muskelen <i>Serratus ventralis cervicis</i> parallelt med fiberretningen. De 6 bedste prøver blev benyttet til analyse. Analysen blev udført med Warner Bratzler-kæber på Texture Analyser TA-HDKi (Stable Micro Systems).</p> <p>Ved analysen blev målt 'Maks. kraft anvendt til brud' (N), 'Distance til brud' (mm) og 'Samlet kraft fra start til brud' (Area N. sec.).</p>
<i>Databehandling</i>	<p>Data blev analyseret ved en tosidet variansanalyse, hvor effekt af lagesammensætning og lagringstid samt deres interaktion blev beregnet. Variansanalysen blev udført i programmet R med følgende model.</p> $Y = \mu + \text{marinering} + \text{lagringstid} + \text{marinering} * \text{lagringstid}$ <p>Excel blev benyttet til beregning af gennemsnit, standardafvigelser samt opstilling af grafer.</p>

Marineringsstilvækst

Resultater

Det var tilsigtet, at de hele nakkeender skulle opnå en tilvækst på 10%, men reelt havde de en gennemsnitlig tilvækst på $13,6 \pm 1,3\%$. Den højere tilvækst betyder, at der har været en smule mere enzym i produktet efter saltning end 0,08%. Tilsætningen af enzymer til marinaden påvirkede ikke marineringsstilvæksten.

Marineringsstilvæksten fremgår af figur 3.

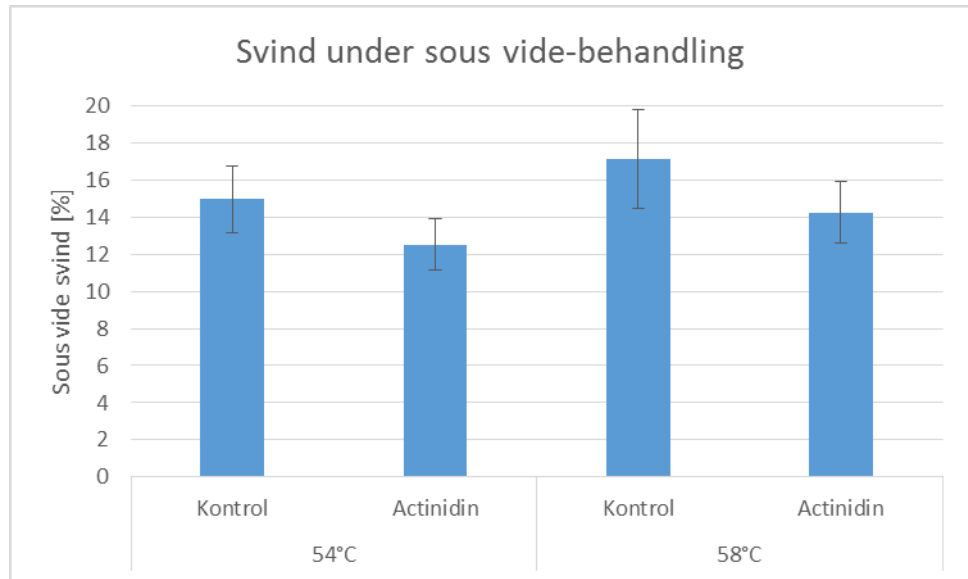


Figur 3. Procentvis marineringsstilvækst i nakker marineret med henholdsvis en saltlage (kontrol) og en saltlage tilsat actinidin.

Svind under sous vide-behandling

Både temperatur under varmebehandling og lagesammensætning havde effekt på svindet under sous vide-behandling. Nakkefileter lagesaltet med actinidin havde lavere svind under sous vide-behandlingen end nakkefileter lagesaltet med kontrollagen uden enzym ($P > 0,001$).

En øgning i temperaturen fra 54 til 58°C under sous vide-behandlingen resulterede i et øget svind ($P < 0,01$), hvilket betyder, at enzymkoncentrationen i nakker varmebehandlet ved 58°C var relativt lavere end ved 54°C. Det totale svind for sous vide-behandling er afbildet i figur 4.

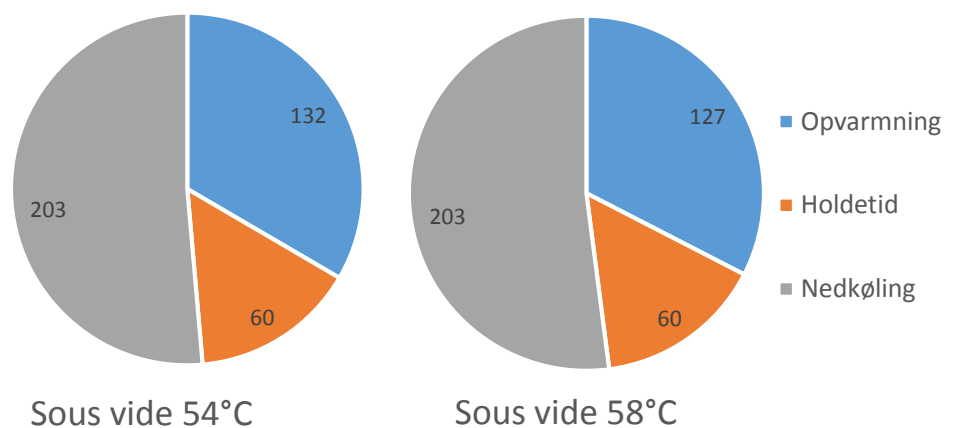


Figur 4. Svind under sous vide-behandlingen for de forskellige behandlinger. 54 og 58°C angiver den programmerede temperatur i holdetiden under sous vide-behandlingen. Actinidin = saltlage samt actinidin. Kontrol = basissaltlage.

Procestid

Processen for sous vide-behandlingen fordelte sig over 3 procestrin. Opvarmning, holdetid og nedkøling.

Ved varmebehandling ved 54°C med en holdetid på 60 minutter var den samlede procestid 395 minutter, mens den ved varmebehandling ved 58°C med en holdetid på 60 minutter var 389 minutter. Procestiden fordelte sig næsten ens for de to temperaturer. Fordelingen af procestiden mellem de tre procestrin fremgår af figur 5.



Figur 5. Fordelingen af procestid på de tre procestrin ved opvarmning til 54°C og 58°C.

Temperaturlogning fra sous vide-kar

Nedkølingstiden var ikke påvirket af den højere temperatur.

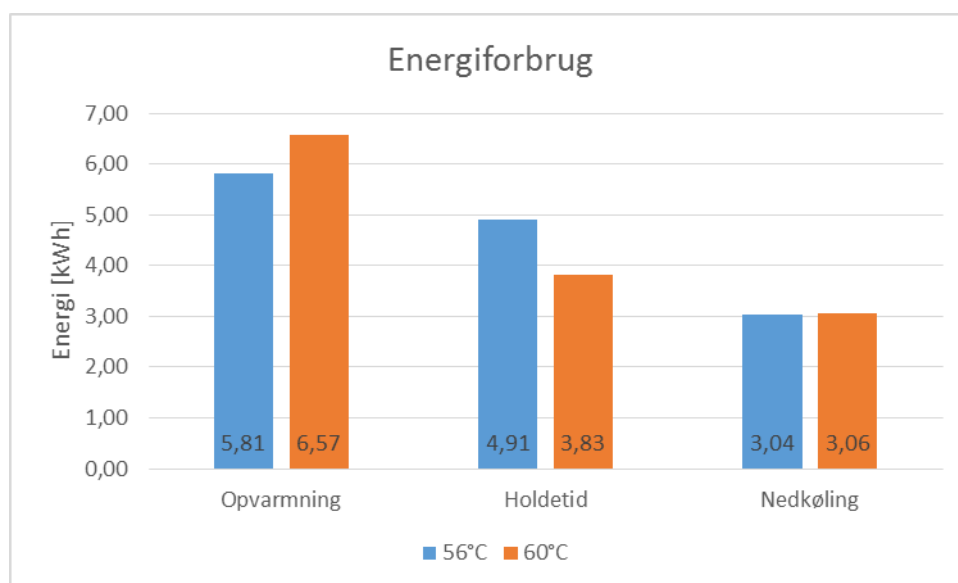
Temperaturlogning under sous vide-behandlingen viser, at temperaturen i produkterne reelt har været højere end ønsket. Både under opvarmning til 54 og 58°C blev anvendt en ΔT på 7°C. En upræcis styring i karret betød, at kernetemperaturen i produkterne nåede op på henholdsvis 56 og 60°C, inden programmet begyndte at køle vandet. Samtidig blev vandet efterfølgende kølet for kraftigt, hvilket betød, at produkternes kernetemperatur faldt til under den ønskede temperatur, før temperaturen blev reguleret til den ønskede temperatur (bilag 1 og 2). Dette betyder, at det ikke er muligt at fastslå, hvorvidt enzymaktiviteten har været stoppet ved præcis 54 og 58°C eller ved 56 eller 60°C, og holdetiden ved den ønskede centrumstemperatur har reelt også været kortere. I den efterfølgende rapportering vil de maksimale temperaturer på henholdsvis 56 og 60°C blive benyttet.

Temperaturlogning fra kølerummet

Temperaturlogningen fra kølerummet i tiden under lagring viste, at temperaturen i hele perioden har ligget i intervallet 2-6,5°C. Temperaturprofilen fremgår af bilag 3.

Energimåling

Der blev under sous vide-behandlingen registreret energiforbrug. Det samlede energiforbrug var højest ved varmebehandling ved 56°C. Dette skyldes formentlig de temperatursvingninger, som forekom under holdetiden grundet for høj ΔT . Energiforbruget til opvarmning var højest ved varmebehandling ved 60°C, hvilket var forventet grundet den højere temperatur. Fordelingen af energiforbruget over de tre procestrin fremgår af figur 6.



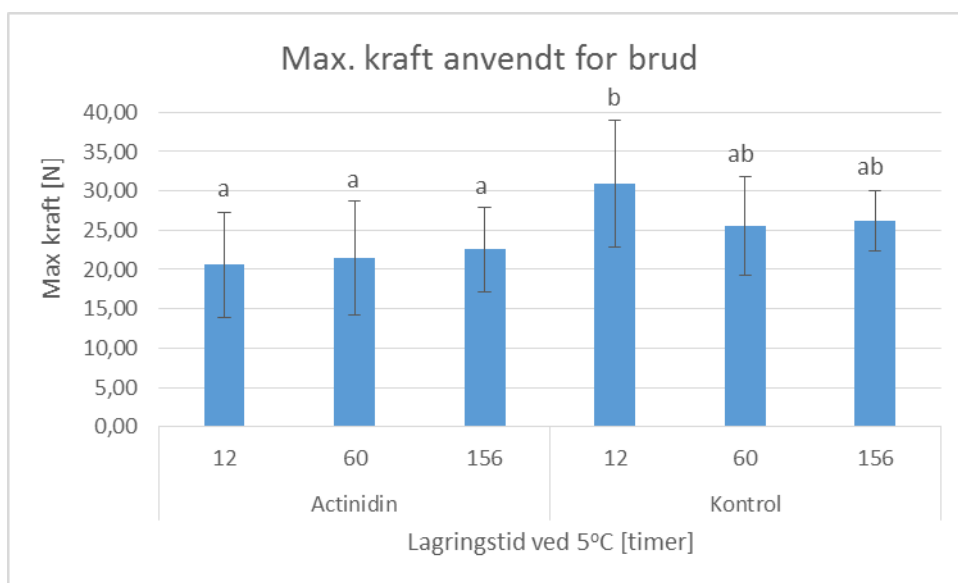
Figur 6. Energiforbrug (kWh) under sous vide-behandling for opvarmning til henholdsvis 56 og 60°C. Energiforbruget er fordelt ud på de tre procestrin: opvarmning, holdetid og nedkøling.

Warner Bratzler-analyse – varmebehandling 56°C

Maks. kraft anvendt til brud, N

Lagringstiden blev ikke fundet til at have nogen effekt på den maksimale kraft anvendt til brud. Marinering havde en effekt ($P < 0,001$). Ved marinering med actinidin var en mindre kraft påkrævet for at opnå brud. Dette stemmer overens med actinidins mørnende effekt. Der blev også fundet effekt af interaktionen mellem lagringstid og marinering ($P < 0,05$), hvilket kan skyldes den høje maksimale kraft påkrævet for at gennemskære kontrollen ved lagringstiden på 12 timer.

De gennemsnitlige værdier for den maksimale kraft anvendt til brud for prøver varmebehandlet til 56°C fremgår af figur 7.

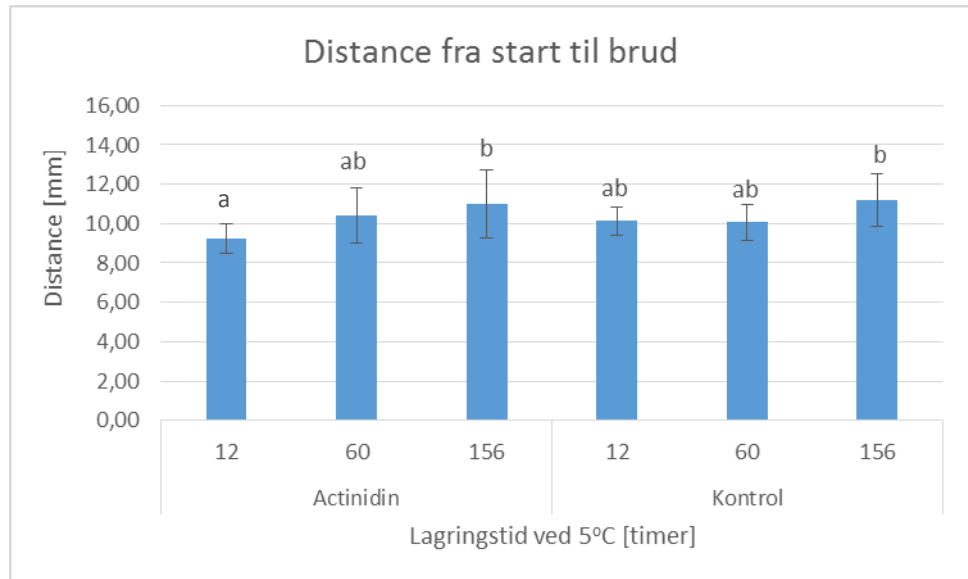


Figur 7. Gennemsnitlige værdier for maksimal kraft anvendt for brud for prøver opvarmet til 56°C. Målingerne er foretaget hen over en lagringsperiode på op til 156 timer (6½ døgn) ved 5°C for prøver behandlet med actinidin og uden (kontrol). Forskel i bogstaver angiver signifikant forskel på behandlinger ($P < 0,05$).

Distance, m.m.

Marinering blev ikke fundet til at have nogen effekt på distancen fra start til brud. Lagringstiden havde en effekt ($P < 0,001$). Ved længere lagringstid steg distancen, hvilket indikerer, at kødets struktur blev mere fast hen over lagringsperioden. Dette gjorde sig gældende ved marinering både med og uden actinidin.

De gennemsnitlige værdier for distance fra start til brud for prøver varmebehandlet til 56°C fremgår af figur 8.

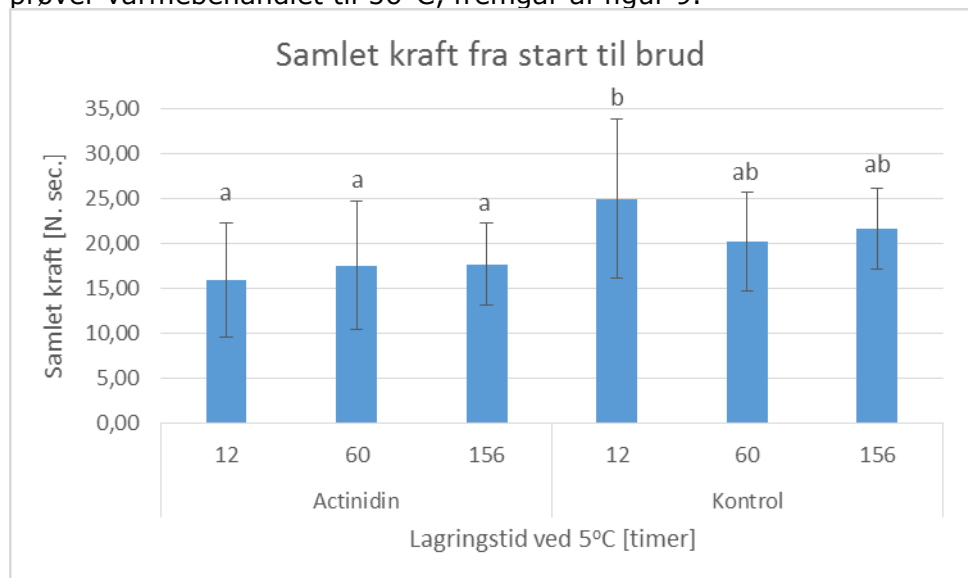


Figur 8. Gennemsnitlige værdier for distancen fra start til brud for prøver opvarmet til 56°C. Målingerne er foretaget hen over en lagringsperiode på 156 timer (6½ døgn) ved 5°C for prøver behandlet med actinidin og uden (kontrol). Forskel i bogstaver angiver signifikant forskel på behandlinger ($P < 0,05$).

Samlet kraft fra start til brud, N. sec.

Lagringstiden blev ikke fundet til at have nogen effekt på samlet kraft anvendt fra start til brud. Marinering havde en effekt ($P < 0,001$). Ved marinering med actinidin var den samlede kraft mindre for at opnå brud. Dette stemmer overens med actinidins mørnende effekt.

De gennemsnitlige værdier for samlet kraft anvendt fra start til brud, for prøver varmebehandlet til 56°C, fremgår af figur 9.



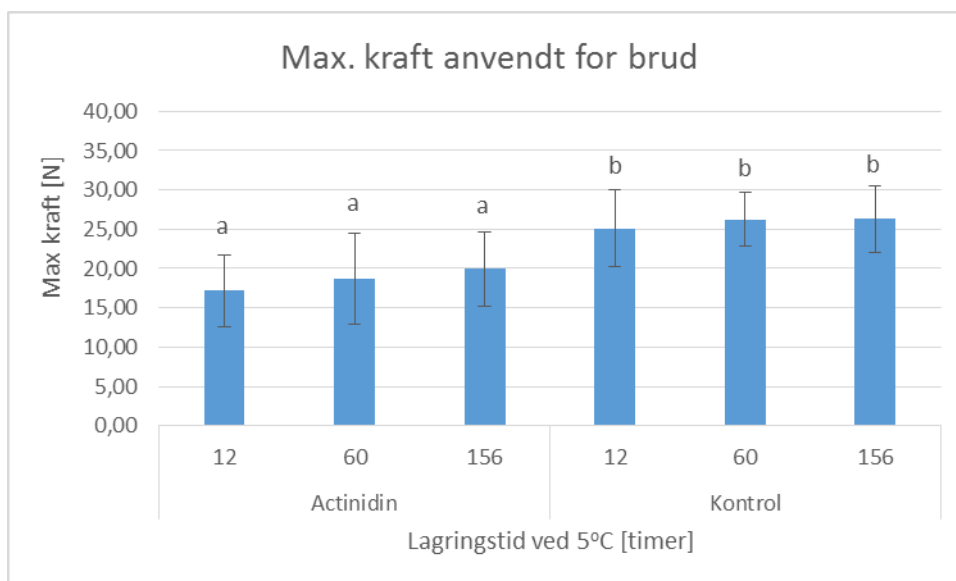
Figur 9. Gennemsnitlige værdier for samlet kraft anvendt fra start til brud for prøver opvarmet til 56°C. Målingerne er foretaget hen over en lagringsperiode på 156 timer (6½ døgn) ved 5°C for prøver behandlet med actinidin og uden (kontrol). Forskel i bogstaver angiver signifikant forskel på behandlinger ($P < 0,05$).

Warner Bratzler-analyse – varmebehandling 60°C

Maks. kraft anvendt til brud, N

Lagringstiden blev ikke fundet til at have nogen effekt på 'maks. kraft anvendt til brud'. Marinering havde en effekt ($P < 0,001$). Ved marinering med actinidin var en mindre kraft påkrævet for at opnå brud. Dette stemmer overens med actinidins mørnende effekt.

De gennemsnitlige værdier for 'maks. kraft anvendt til brud' for prøver varmebehandlet ved 60°C fremgår af figur 10.

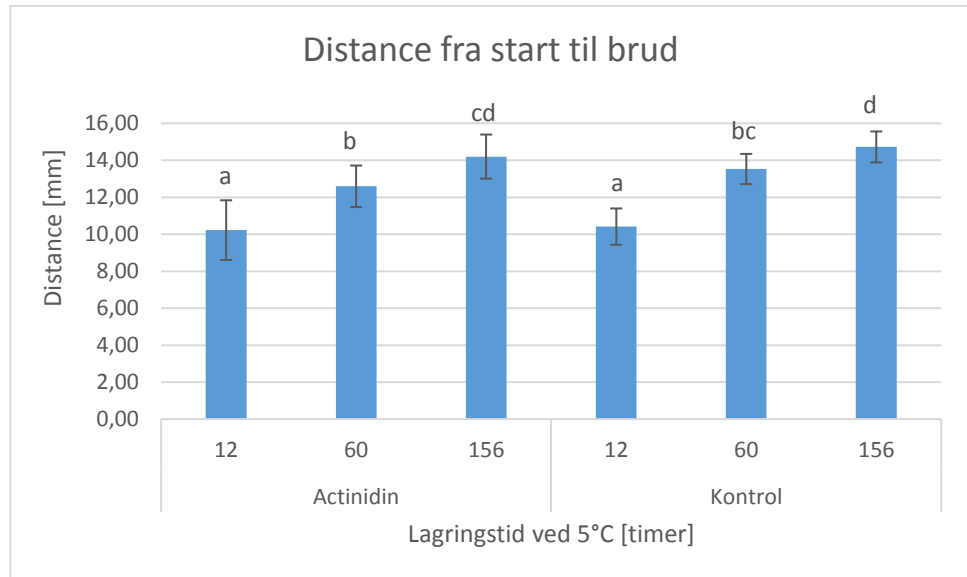


Figur 10. Gennemsnitlige værdier for maks. kraft anvendt for brud for prøver varmebehandlet til 60°C. Målingerne er foretaget hen over en lagringsperiode op til 156 timer (6½ døgn) ved 5°C for prøver behandlet med actinidin og uden (kontrol). Forskel i bogstaver angiver signifikant forskel på behandlinger ($P < 0,05$).

Distance m.m.

Lagringstiden havde en effekt på distancen fra start til brud ($P < 0,001$). Ved længere lagringstid steg distancen, hvilket indikerer, at kødets struktur blev mere fast hen over lagringsperioden. Dette gjorde sig gældende ved marinering både med og uden actinidin. Marinering havde ligeledes en effekt på distancen fra start til brud ($P < 0,05$). Ved marinering med actinidin var distancen kortere, hvilket indikerer, at marinering resulterede i en mindre udvikling af sejhed.

De gennemsnitlige værdier for distance fra start til brud for prøver varmebehandlet til 60°C fremgår af figur 11.

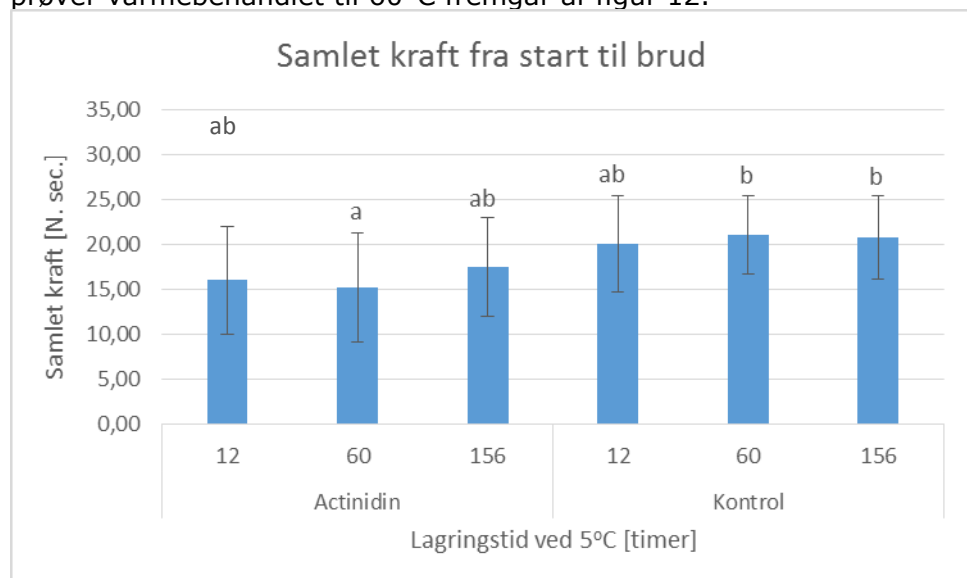


Figur 11. Gennemsnitlige værdier for distancen fra start til brud for prøver varmebehandlet til 60°C. Målingerne er foretaget hen over en lagringsperiode på 156 timer (6½ døgn) ved 5°C for prøver behandlet med actinidin og uden (kontrol). Forskel i bogstaver angiver signifikant forskel på behandlinger ($P < 0,05$).

Samlet kraft fra start til brud, N. sec.

Lagringstiden blev ikke fundet til at have nogen effekt på samlet kraft anvendt fra start til brud. Marinering havde en effekt ($P < 0,001$). Ved marinering med actinidin var den samlede kraft mindre for at opnå brud. Dette stemmer overens med actinidins mørnende effekt.

De gennemsnitlige værdier for samlet kraft anvendt fra start til brud for prøver varmebehandlet til 60°C fremgår af figur 12.



Figur 12. Gennemsnitlige værdier for samlet kraft anvendt fra start til brud for prøver varmebehandlet ved 60°C og lagret ved 5°C i op til 156 timer (6½ døgn) for prøver lagesaltet med actinidin og uden (kontrol). Forskel i bogstaver angiver signifikant forskel på behandlinger ($P < 0,05$).

Diskussion

Svind

Der blev målt et lavere sous vide-svind for prøver marineret med actinidin, hvilket ikke kan understøttes af resultaterne fra delforsøg 1 [4]. Årsagen er muligvis muskelforskelle, idet der er målt på henholdsvis kamender og nakkeender (delforsøg 1).

Warner Bratzler-analyse

Lagringstiden havde ingen betydning for 'maks. kraft anvendt til brud' eller 'samlet kraft anvendt fra start til brud', hverken efter varmebehandling til 56°C eller 60°C. Hvis enzymet havde været aktivt, ville teksturen have ændret sig i løbet af lagringsperioden på 156 timer (6½ døgn). På baggrund af disse resultater konkluderes derfor, at enzymaktiviteten er stoppet.

For parameteren 'distancen fra start til brud' blev det fundet, at der sker ændringer i prøverne i løbet af lagringsperioden. Den øgede distance indikerer, at fastheden af den kolde kødprøve øges med lagringstiden på køl. Ændringen i fastheden gør sig gældende for prøver både med og uden tilsat actinidin. Fastheden forventes derfor ikke at være påvirket af actinidins tilstedeværelse. Hvad det skyldes, og hvorvidt det har en betydning for det genopvarmede produkt er uvist.

Konklusion

Forsøgets resultater viser, at actinidins aktivitet stoppes efter opvarmning til 56°C. For prøver behandlet med actinidin blev der ikke fundet nogen indikatorer for, at mørningsprocessen fortsatte under lagring ved 5°C efter sous vide-tilberedning. Dette gør, at enzymet har potentiale som mørningsingrediens til produktion af sous vide-tilberedte kødprodukter, som tilberedes af producenten til minimum 56°C, inden de videredistribueres som kølede produkter.

Perspektivering

Varmebehandlingstemperaturerne 54°C og 58°C blev fastlagt på baggrund af fødevarerikkerhed. En fejl i sous vide-karrets temperaturstyring gjorde, at der ikke blev testet ved lavere temperaturer end 56°C. Det er forventet, at actinidin kan inaktiveres helt ned til 38°C, hvilket bør undersøges yderligere, hvis dokumentation herfor er påkrævet.

Konsistensanalysen indikerede, at der skete en ændring i fastheden af det kolde produkt. Da produktet ikke er beregnet til at blive spist koldt, er dette ikke nødvendigvis noget, som har betydning, men det kunne være relevant at undersøge, om den sensoriske oplevelse af det genopvarmede produkts tekstur er afhængig af lagringstiden på køl.

Det kunne være relevant at lave en direkte måling af enzymaktiviteten, hvilket ikke har været en mulighed i indeværende undersøgelse, men bør overvejes i fremtidigt arbejde.

Referencer

[1] Hofer, L. (2016). State of the Art – mørningsenzymer

[2] Hofer, L. og Darré, M. (2016). Dosis-responsforsøg med proteolytiske enzymer

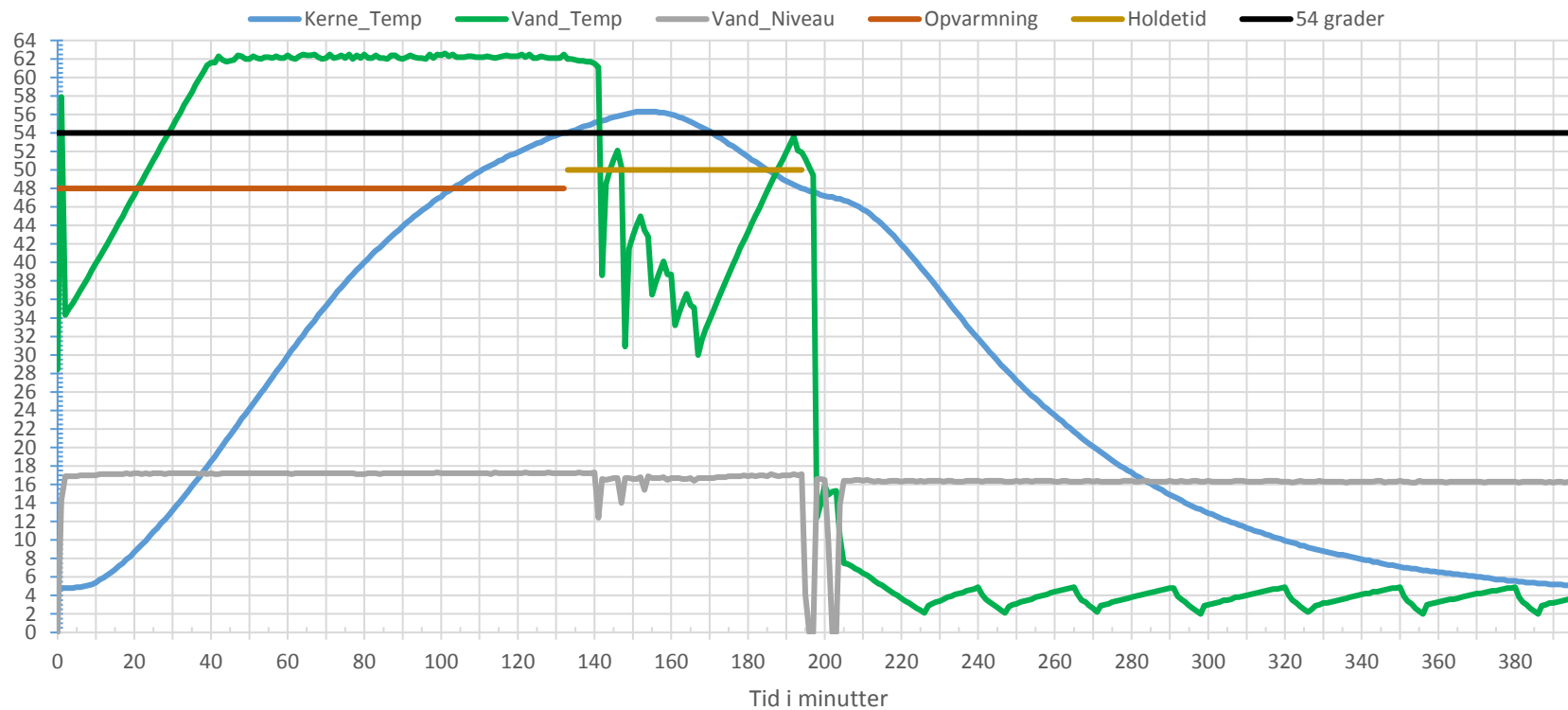
[3] Darré, M. (2015). Manual for pH-målinger i svine-, okse- og kyllingekød med pH-meter KNICK model 913 (x) pH & Mettler Toledo pH 1140

[4] Hofer, L. og Darré, M. (2017). Reduktion af kogetid for pulled pork med enzymet actinidin

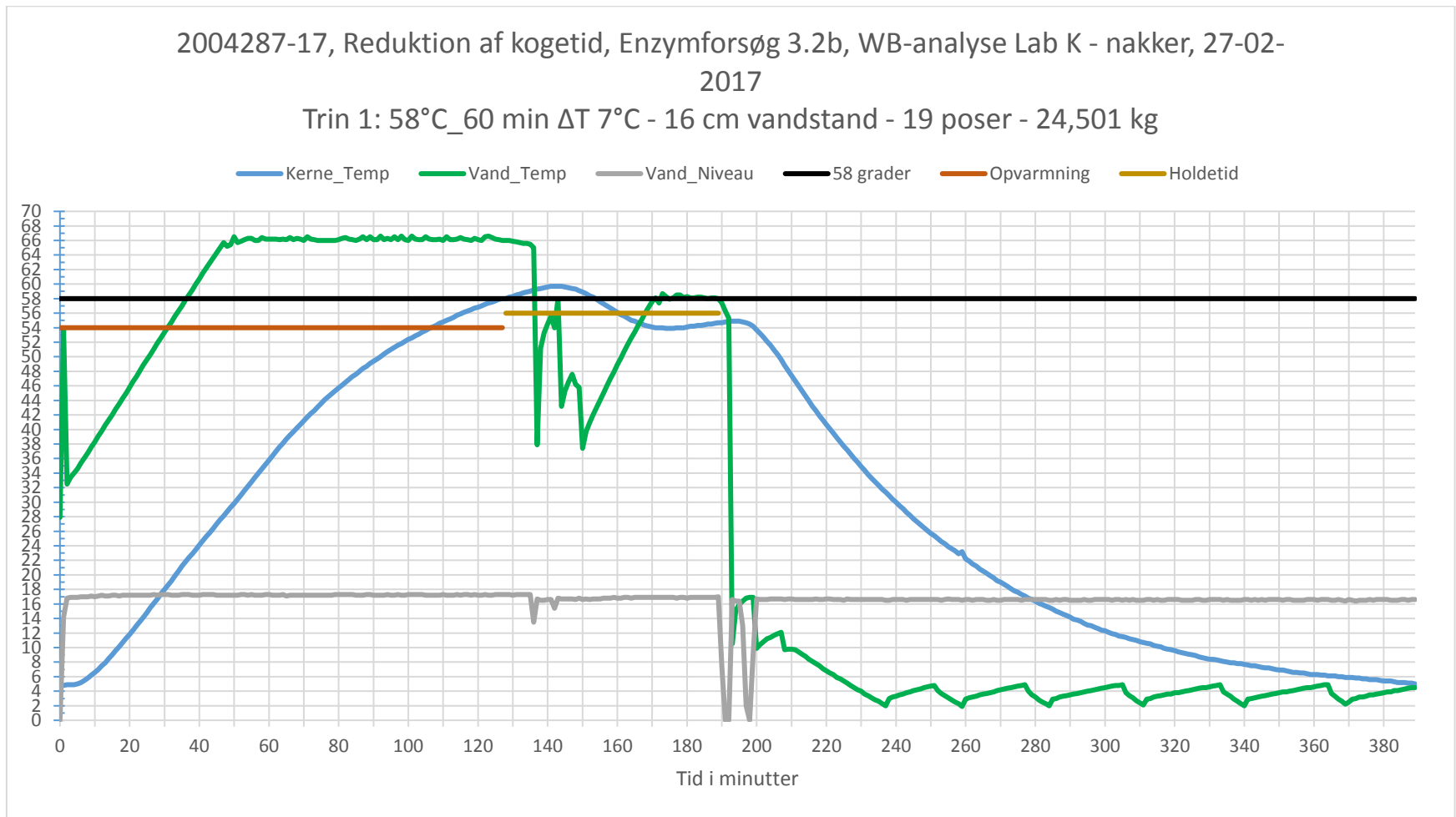
Bilag 1 – Temperaturkurver fra sous vide-behandling i delforsøg 2a.

2004287-17, Reduktion af kogetid, Enzymforsøg 3.2a, WB-analyse Lab K - nakker, 20-02-2017

Trin 1: 54°C_60 min ΔT 7°C - 16 cm vandstand - 19 poser - 23,415 kg



Bilag 2 – Temperaturkurver fra sous vide-behandling i delforsøg 2b.



Bilag 3 – Temperaturkurver fra kølerum 1071, i lagringsperioden for delforsøg 2a og 2b

