



## Rapport

# Undersøgelse af fosfat- og nitriterstattere i kogt skinke

20. oktober 2016  
P.nr. 2003820-15  
Version 0.1  
JMO/MTAN

Opdateret mht nitriterstattere NatPre T-10 der indeholder nitrit  
Jens Møller og Lise Nersting

*Baggrund* I projektet "Kødprodukter med mindre salt, nitrit og fosfat" skal fosfat- og nitriterstattere undersøges for deres funktionalitet i kødprodukter.

Det er i Følgegruppen godkendt at afprøvningen sker i en kogt skinke-model, hvor kontrollens recept er udformet således at især fosfats funktionalitet tydeliggøres, dvs. med saltniveau på 1,4%, og med 2 kontroller med og uden 0,25% fosfat.

Forsøget gennemføres som en screening af fundne ingrediens alternativer, og det er valgt udelukkende at undersøge leverandørens anbefalede dosis.

*Formål* Formålet er at afprøve to clean-label fosfaterstattere og to nitriterstattere i kogt skinke.

- For fosfaterstattere undersøges kogesvind og sliceudbytte.
- For nitriterstattere vurderes farven ud fra fotos og relativ væksthæmmende effekt i et podeforsøg med Listeria cocktail

*Konklusion* Fosfaterstatteren PRS-PHR (1% w/w) udviser gode egenskaber svarende funktionaliteten af 0,25% fosfat i en kogt sandwich skinke hvad angår kogesvind og sliceudbytte. Smagsbedømmelse af skinker tilsat 1% w/w PRS-PHR indikerer en svagt afvigende smag, hvorimod teksturen bedømmes næstbedst.

Nitriterstatteren NatPre T-10 plus (1% w/w) kan give samme farve i kogt skinke som 60 ppm nitrit, hvilket er ekseptionelt i et kogt kødprodukt. Bedømmelse af skinkerne viser en mindre forskel mht. smag for prøver tilsat NatPre T-10 ift. 60 ppm nitrit, og her vurderer det interne panel også farve og udseende ligeså højt som skinker med 60 ppm nitrit.

Efterfølgende analyser har vist at NatPre T-10 indeholder nitrit og derfor ikke kan anbefales som nitriterstatter.

Endvidere observeres der i pøde/vækstforsøg med *Listeria* en inhiberende virkning af NatPre T-10 (1% w/w) som er tæt på at modsvare 60 ppm tilsat nitrit.

#### *Fremgangsmåde*

I Tabel 1 er de i alt ni forsøgshold vist ift. brug af ingredienser, saltniveau og analyser. Der er fremstillet otte forskellige skinker i pilot, idet hold 9 fremkommer ved en efterbehandling inden pødeforsøg. Hold nr. 1-5 er tilsat alternativer til fosfat, mens de resterende hold 6-9 inkl. nr. 4 skal undersøges som alternativ til nitrit ift. antimikrobiel virkning og vurdering af farvedannelse.

#### *Alternative ingredienser*

Som fosfaterstatter afprøves Ezimoist fra firmaet Ulrick & Short Limited. Ingrediensen består af 100% tapiocastivelse og har ikke et E-nr (se produktblad i appendiks). For at kunne sammenligne med en standard stivelse, så er det valgt at lave et hold med almindelig kartoffelstivelse.

Ingrediensen PHR-PRS er også en fosfaterstatter fra firmaet Prosur, som angiver at ingrediensen indeholder ekstrakter af gær og citrus, og det er dermed også en clean-label ingrediens uden E-nr.

Endelig er nitriterstatteren NATPRE T-10 Plus (Prosur) afprøvet, og for denne ingrediens angives det at være en blanding af krydderier, frugt og bær fra Middelhavsområdet, der udgør basen for pulveret. Desuden angives det at ingrediensen er fri for både nitriter og nitrater.

Cytoguard® LA-2x er en antimikrobiel forbindelse fra A&B Ingredients, og den virker hæmmende over for bakterier ved tilsætning efter endt proces, f.eks. som en spray ved slicer.

#### *Fremstilling af skinker*

Recepter og proces for fremstilling af de 8 hold skinker er beskrevet i plan af 26.05.2015.

De alternative ingredienser, Ezimoist, PRS-PHR og NATPRE T-10 tilsættes først til lagerne, da de forventes at være sværest opløselige.

Holdene tumbles i tumbler, ved 6 omdr./min., med 5 min. kørsel, 5 min. pause i alt 6 timer. Der drænes frem til næste morgen, hvor de fyldes i 100 mm NaloFlex steriltarm (ca. 3,5 kg pr. stk). Skinkerne varmebehandles ved 80 °C til 75 °C i centrum, overbruses i 30 min., og afkøles til 5 °C.

Produkterne opbevares 4 dage på køl ved 2 °C for at "sætte sig".

**Tabel 1.** Forsøgshold med varierende ingredienser og tilhørende analyser.

Serie nr.	Ingrediens	Nitrit (60 ppm)	Fosfat (0,25%)	Salt (%)	Analyser, pilot	Analyser, Lab
1	Ezimoist 4 (1%)	+	-	1,4	Svind, Sliceability	
2	Kartoffelstivelse (1%)	+	-	1,4	Svind, Sliceability	
3	PRS-PHR (1%)	+	-	1,4	Svind, Sliceability	
4	Kontrol	+	+	1,4	Svind, Sliceability	Pode, farve
5	Kontrol	+	-	1,4	Svind, Sliceability	
6	Kontrol	-	+	1,4	Svind, Sliceability	Pode, farve
7	PRS-PHR + NAT-PRE T10 (1%+1%)	-	+	1,4	Svind	Pode, farve
8	NATPRE T10 (1%)	-	+	1,4	Svind	Pode, farve
9*	Cytoguard LA-2x	-	+	1,4	Svind	Pode, farve

\*Serie 9 er skinker fra serie 6 til Cytoguard LA-2x ifm. podeforsøg

<i>Analyser</i>	Der udføres teknologiske måling, kogesvind, sliceability og pH, på prøver tilsat fosfaterstattere. For nitriterstattere vurderes overfladefarve baseret på digitale fotos, mens der for nitriterstattere/antimikrobielle stoffer måles pH i skinker og udføres et podeforsøg til vurdering af væksthæmmende effekt relativt til 60 ppm nitrit eller ingen nitrit.
<i>Kogesvind</i>	Skinkerne i tarm vejes, hvorefter de peeles og kødet renses for væske, gele- og fedtudskillelse, som registreres. Resulterende skinker samt af-tørret tarm vejes, og anvendes til beregning af kogesvind. For hver af de 8 hold måles 2 skinker.  Efter bestemmelse af svind måles pH i de færdige skinker. Der måles 3 forskellige steder pr. skinke.
<i>Sliceability</i>	Sliceability bedømmes på 2 skinker fra hver af holdene 1-6 ved at der slices 50 skiver (2 mm) og andelen (inkl. vægten så vidt muligt) af ikke hele skiver noteres
<i>Fotos</i>	Både for holdene 1-5 og 6-9 (inkl. hold 4) skal der tages fotos med professionel opstilling, dvs. på baggrund af stort karton og med justeret lyssætning.
<i>Smagsbedømmelse</i>	Der er foretaget smagsbedømmelse af de forskellige skinker med internt dommerpanel. Der er 6 dommere, som har vurderet skinkerne ud fra 4 kriterier: udseende, tekstur, smag og farve. Bedømmelsen er på en skala fra 1-5, hvor 5 er normal/god og 1 er unormal/dårlig.

*Podde-/vækst-forsøg* Til vurdering af inhiberende effekt af nitriterstatter og antimikrobiel forbindelse udføres et poddeforsøg med DMRI's sædvanlige *Listeria monocytogenes* cocktail bestående af:

- DMRICC 3042 (miljø)
- DMRICC 4106 (human)
- DMRICC 4124 (kød, serotype 1)
- DMRICC 4127 (rullepølse, serotype 4)
- DMRICC 4140 (bacon)

Som det fremgår af Tabel 1 er der inkl. 2 kontroller og 3 alternativer til nitrit i alt 5 hold prøver til poddeforsøget, hvor der fremstilles prøver til 3 udtag i vækstforløbet.

Der podes på relativt tykke skiver på ca. 20 gram hver, hvor podning med 0,1 ml podcocktail på oversiden af skiven giver et forventet kimtal pr. skive på:

$$(1 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} \times 0,1 \text{ ml}) / 20 \text{ g} = 500 \text{ L. monocytogenes/g (2,7 log cfu/g)}$$

For ingrediensen Cytoguard LA-2x fortyndes til en 10% opløsning (10 g cytoguard:90 g H<sub>2</sub>O). Prøveserie med Cytoguard LA 2X fremstilles med skinke fra hold nr. 6, og efter at 0,1 ml cocktail er tilført og har fået tid til at tørre på overfladen, tilsættes 0,1 ml Cytoguard LA 2X (10%) opløsning, hvilket resulterer i ca. 100 ppm af den aktive komponent per prøve.

De podede halverede skiver placeres enkeltvis og fritliggende i plastbakker (125 ml PP, klar; Bunzl Greve), som lægges i "ilt-tætte" poser (PETP 12/PEP LLDPE 60) 155 mm x 225 mm. Pakkerne lukkes i gasblanding bestående af 30% CO<sub>2</sub>/70% N<sub>2</sub>, med et produkt:gas volumenforhold på ca. 1:2,3.

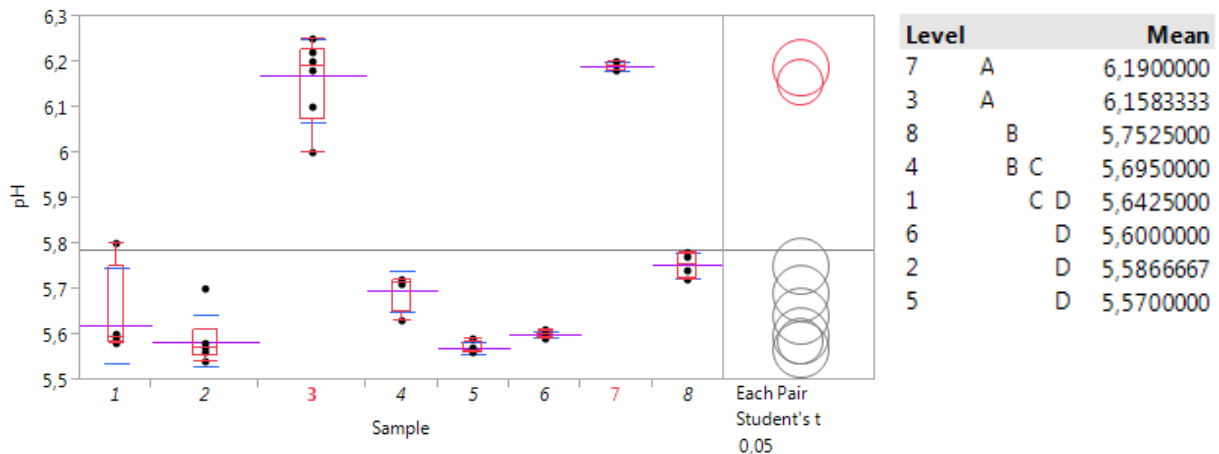
De podede pakker placeres i inkubator ved 8.0° ± 0,5°C.

Efter opbevaring ved 8°C i de pågældende kødprodukter blev 1. udtag på dag 8; 2. udtag på dag 12 og endelige 3. udtag på dag 18. Hver gang udtages 5 skiver fra hver prøve til bestemmelse af kimtal for *L. monocytogenes*.

*Statistik* Data for pH og for enkelt udtag i poddeforsøget analyseres statistisk med variansanalyse til påvisning af signifikant forskellige prøver.

*Resultater - pH* Måling af pH i de færdige skinker viser at ingrediensen PRS-PHR har en udtalt påvirkning af pH-værdien, idet de 2 skinker med denne ingrediens ligger på 6,16-6,19. Til sammenligning er pH i de øvrige skinker med og uden fosfat og 2 typer stivelse alle imellem 5,57-5,75.

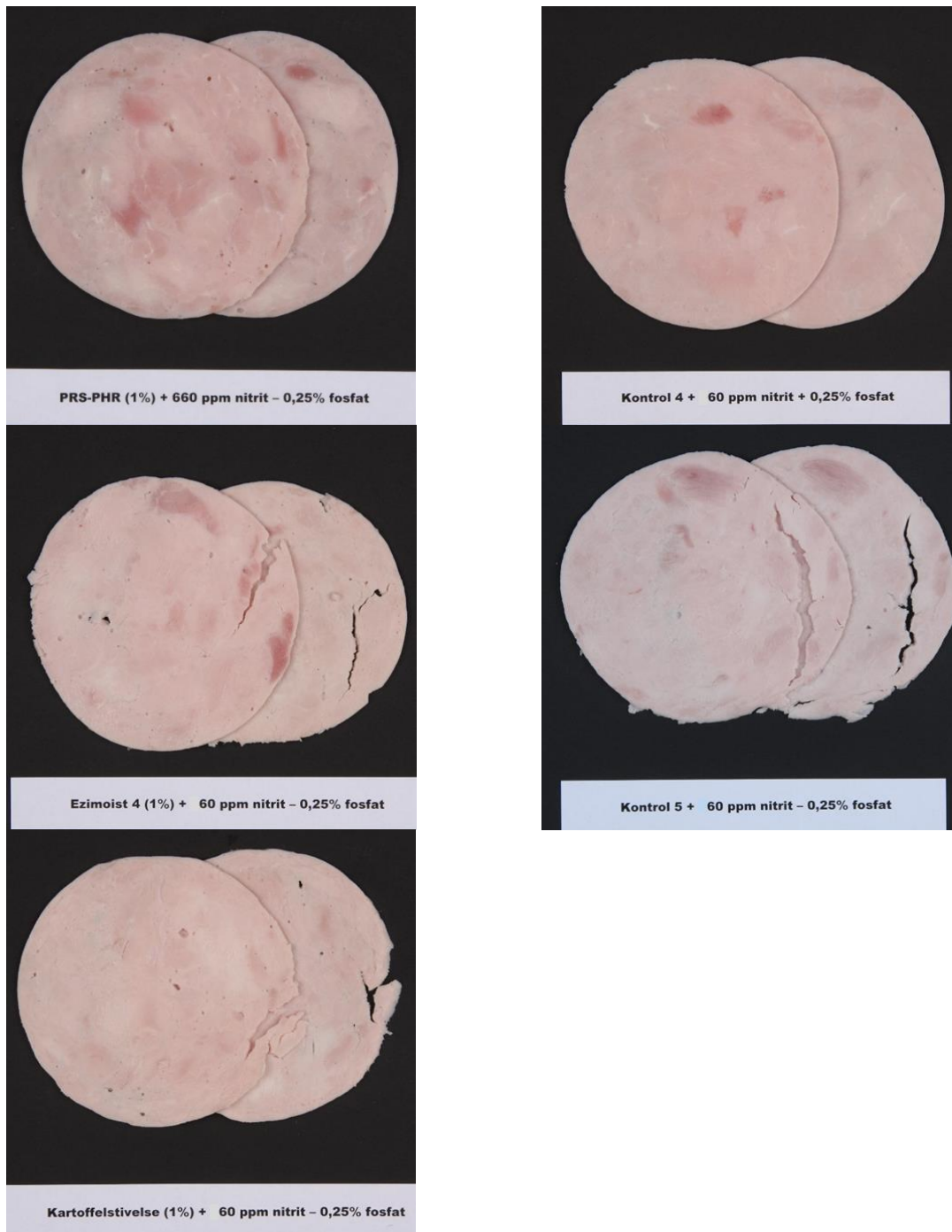
Det vides ikke hvad i PRS-PHR ingrediensen bestående af gær/citrus-ekstrakt, som bevirker en udtalt højere pH i skinkerne. Leverandøren PROSUR er kontaktet med henblik på en forklaring på denne observation. De forklarer, at ved anvendelse af PRS-PHR ingrediensen er pH i dette område normalt.



**Figur 1.** Data for pH målt i 7 hold kogte skinker (n=4), hvor nr. 3 og 7 har signifikant højere pH (6,15-6,19) i forhold til de 6 øvrige hold (5,75-5,57).

*Kogesvind og sliceudbytte*

Kogesvindet måles på minimum 2 skinker fra hvert hold og resultaterne er vist i Tabel 2 herunder. Det lavest svind på 1,7% findes for skinker tilsat 0,25% fosfat, mens 1% PRS-PHR i skinkerne giver et svind på 2,3%. Disse værdier er på samme niveau og mht. sliceudbytte ligger disse prøver også i en klasse for sig med 100% udbytte. For stivelsen Ezimoist måles et svind på 9,6%, hvilket er dårligere end kartoffelstivelsen som ligger på 8,8%.



**Figur 2.** Fotos af skinker med og uden tilsat fosfat, samt skinker med "clean-label" fosfaterstatnerne: PRS-PHR, Ezimoist og kartoffelmel.

Sliceudbyttet for de to stivelser er ligeledes uacceptabelt lavt på hhv. 72% og 81%, hvor kartoffelstivelse igen er den bedre. For kontrollen uden tilsat fosfat eller erstatner fandtes et højt kogesvind på 13,9% og med et sliceudbytte på 59% er det tæt hver anden skive som ikke kan bruges.

*Udseende af fosfatprøver*

I Figur 2 vises digitale billeder af skiveskårne skinkeprøver for fosfaterstatnerne. Det ses tydeligt at kontrollen med 0,25% fosfat og skinken

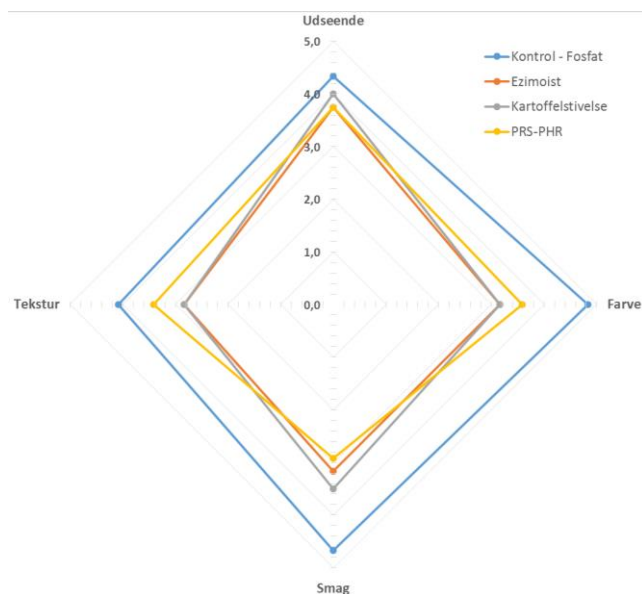
med 1% PRS-PHR har en fin ensartet snitflade, og faktisk er der flere små pibehuller i skinken med fosfat, mens prøven med PRS-PHR ikke har samme problem.

Billeder af de øvrige prøver med to slags stivelse og uden fosfat illustrerer problemer med højt kogesvind og dårligt sliceudbytte, idet alle prøver har usammenhængende struktur imod kanten.

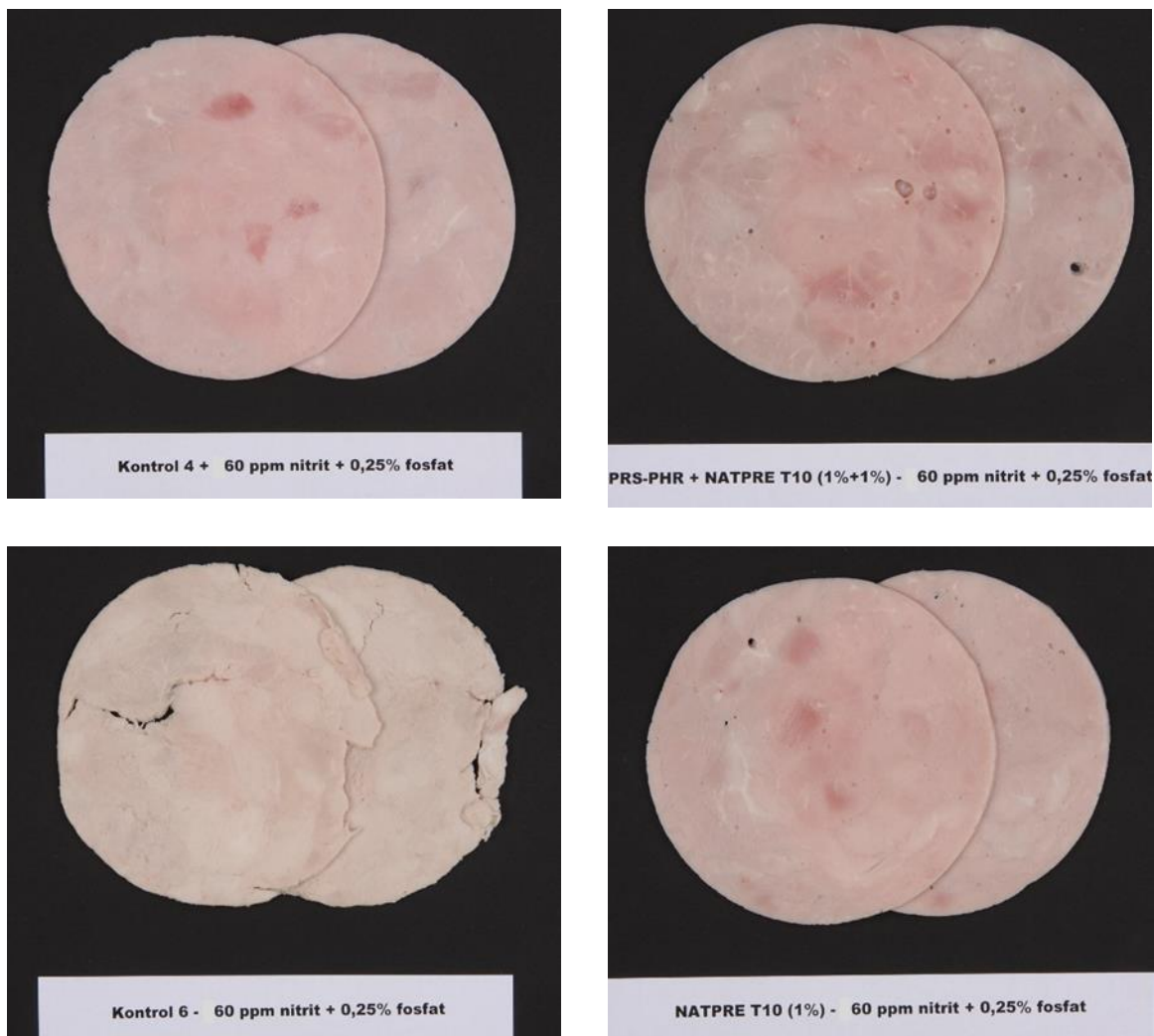
**Tabel 2.** Kogesvind og sliceudbytte for skinker fremstillet med og uden fosfat (n=3/4), samt med 3 forskellige fosfaterstattere (n=2). Sliceudbyttet er baseret på en opgørelse af gode og dårlige skiver (n=50).

Prøve	Svind (%)	Sliceudbytte (%)
Ezimoist	9,6%	72%
Kartoffelstivelse	8,8%	81%
PRS PHR	2,3%	100%
Fosfat	1,7%	100%
Neg. Kontrol (uden fosfat)	13,9%	59%

*Smagsbedømmelse* Figur 3 viser resultater fra smagsbedømmelsen og det fremgår at PRS-PHR prøven ligger lavest mht. smag, mens at den er næst bedst efter fosfat hvad angår tekstur.



**Figur 3.** Smagsbedømmelse af skinker med fosfat-erstatte, PRS-PHR og Ezimoist.



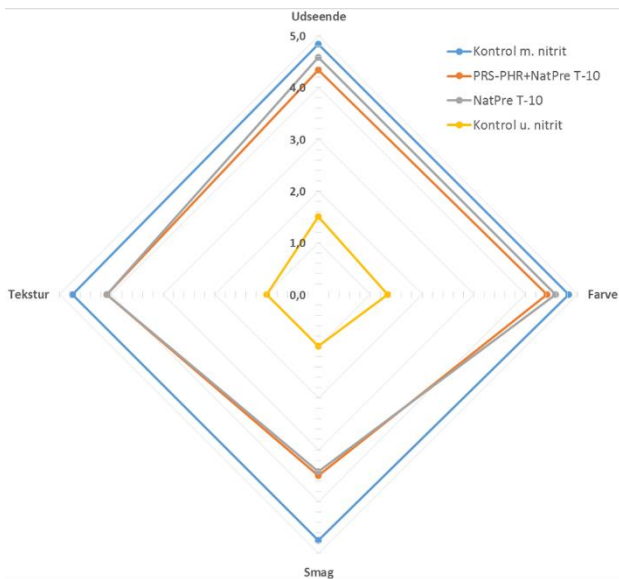
**Figur 4.** Fotos af skinker med og uden tilsat nitrit (venstre side), samt skinker med "clean-label" nitriterstatter NatPre T-10 Plus (med og uden PRS-PHR) (højre side).

*Udseende af nitritprøver* I Figur 4 vises digitale fotos af skinker med og uden 60 ppm nitrit og med nitriterstatteren Nat-Pre T-10 plus (1% w/w). Udseende af skinke-skiverne tilsat NatPre T-10 plus er sammenligning med 60 ppm nitrit, hvorimod kontrollen uden nitrit som forventet fremstår med en kedelig grå og bleg overfladefarve.

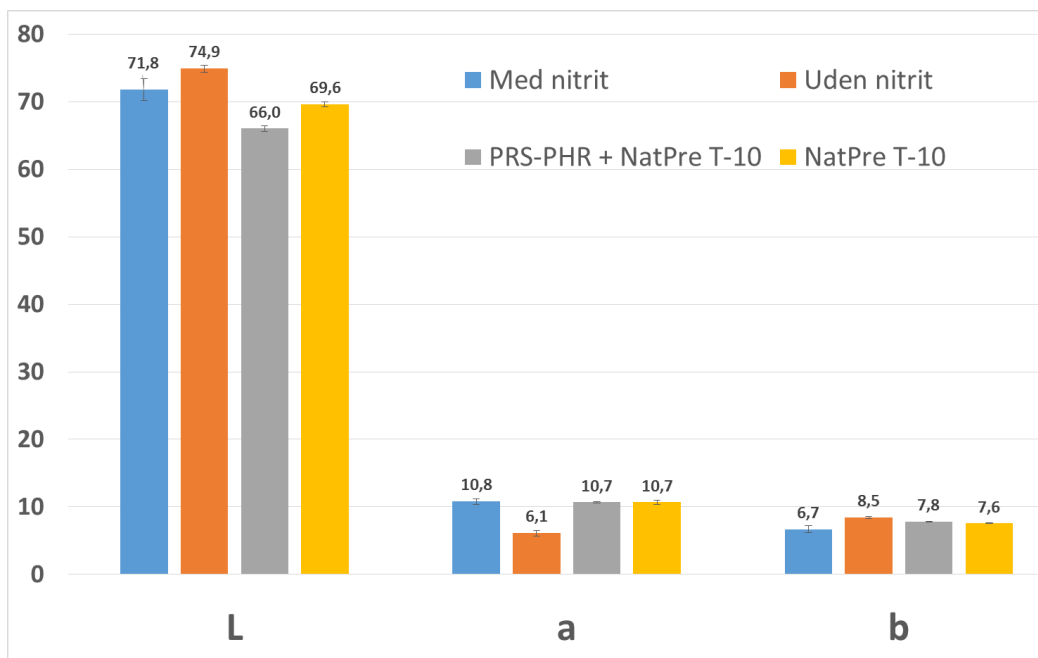
*Overfladefarve af nitritprøver* Figur 6 viser tristimulus parametrene L, a og b, der er et objektive udtryk for prøvernes overfladefarve udtrykt som lys-mørk for L-værdi, grøn-rød for a-værdi og gul-blå for b-værdi. Værdierne er fremkommet ved i billedbehandlingssoftware at udvælge et område på billede, hvorfra disse 3 farveparametre udtrækkes som gennemsnit for det aktive område. I udvælgelsen af aktivt område fravælges så vidt muligt både hvidfarvet fedt/sene og mørkere farvede områder pga. variation i muskeltype.



Det fremgår af data for a-værdien at skinker med 60 ppm nitrit og de to skinkeprøver tilsat NatPre T-10 plus har sammenlignelige værdier, hvilket indikere at prøver har sammen rødhed. Skinke uden nitrit har a-værdier ca. på det halve og altså en utilfredsstillende rød farve, mens den højere L-værdi viser en lysere overflade ift. de resterende prøver.



**Figur 5.** Smagsbedømmelse af skinker med nitrit-erstatte, NatPre T-10 plus.

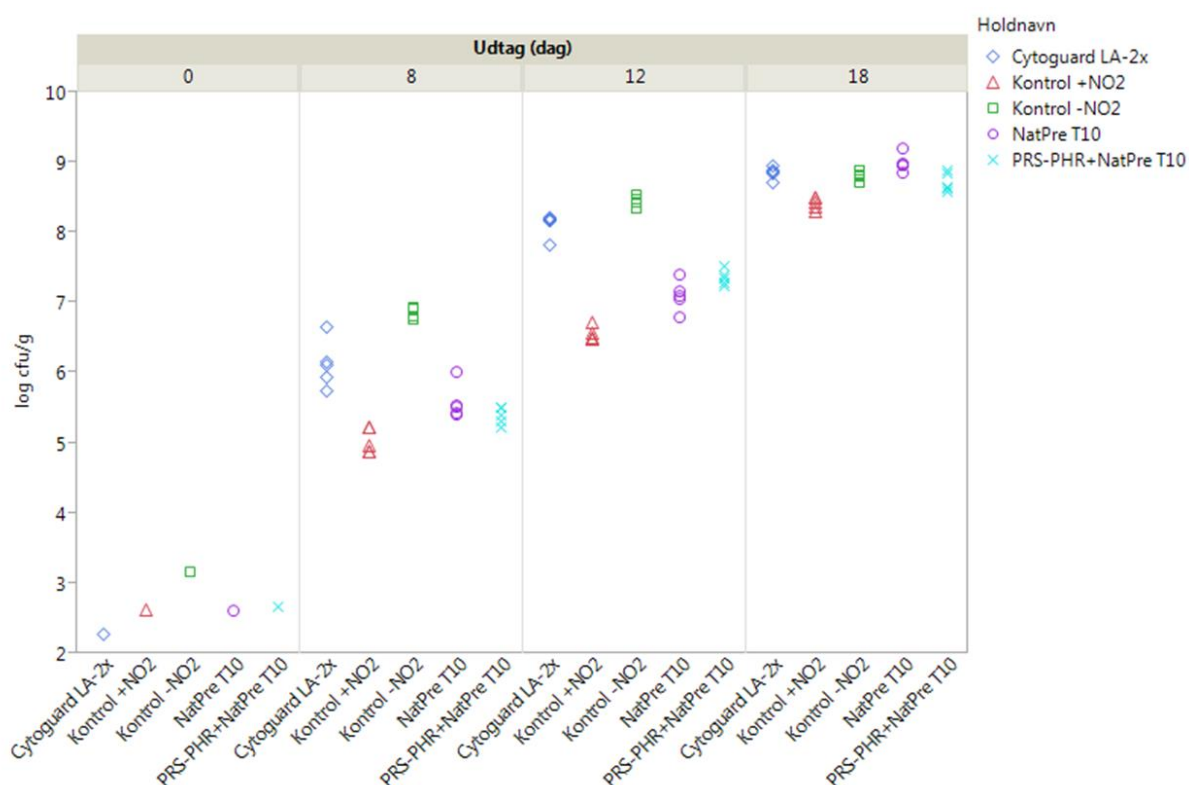


**Figure 6.** Overflade farveparametre ekstraheret fra digitale fotos af skinker med (n=5) og uden (n=3) 60 ppm nitrit og tilsat ingredienserne NatPre T-10 (n=2) (1% w/w) og kombinationen af NatPre T-10 og PRS-PHR (n=2) (1%+1% w/w).

*Podeniveau-  
vækst-  
forsøg*

Figur 7 viser grafisk hvor podeniveauet for de fem hold af prøver ligger, og det ses at *L. monocytogenes*-antallet i skinke med nitrit og de to hold med NatPre T-10 ligger fint på log 2,6-2,7 cfu/g svarende til ønskede 400-500 cfu/g. I prøver uden nitrit viser enkeltbestemmelsen et lidt højere podeniveau på log 3,18 cfu/g svarende til 1500 cfu/g.

Skinker tilsat antimikrobielle Cytoguard LA-2x ligger noget lavere på log 2,28 eller 190 cfu/g, men hvorvidt denne reduktion i startniveauet for *Listeria* kan tilskrives Cytoguards direkte antimikrobielle effekt er uklart og vil kræve yderligere analyser for påvisning.



**Figur 7.** Podning og vækst af *L. monocytogenes* cocktail ved 8°C på overfladen af MA-pakkede skinker med/uden 60 ppm nitrit eller tilsat antimikrobiel forbindelse. Podeniveau bestemt på 1 prøve, mens der ved udtag efter 8, 12 og 18 dage analyseres 5 prøver per hold.

**Tabel 3.** Data for vækstofforsøg med cocktail af *L. monocytogenes* i skinker med og uden tilsat nitrit, samt naturlig nitriterstatter og antimikrobiel forbindelse. For hver udtagsdag vises forskelle fundet ved statistisk analyse på signifikansniveau  $p=0,05$ .

Prøve	Antal <i>L. monocytogenes</i> (Log cfu/g)			
	Dag 0	Dag 8	Dag 12	Dag 18
Kontrol -nitrit	3,2	6,9 <sup>a</sup>	8,4 <sup>a</sup>	8,8 <sup>b</sup>
Kontrol +nitrit	2,6	5,0 <sup>d</sup>	6,6 <sup>e</sup>	8,4 <sup>c</sup>
NatPre T10	2,6	5,6 <sup>c</sup>	7,1 <sup>d</sup>	9,0 <sup>a</sup>
NatPre T10+PRS-PHR	2,7	5,4 <sup>c</sup>	7,4 <sup>c</sup>	8,7 <sup>b</sup>
Cytoguard LA-2x	2,3	6,1 <sup>b</sup>	8,1 <sup>b</sup>	8,9 <sup>b</sup>

Ved analyse af data for de efterfølgende prøveudtag på dag 8 og 12, hvor det antages at *Listeria cocktailen* er i eksponentiel vækstfase, er det tydeligt at prøver med 60 ppm nitrit ligger signifikant lavere end alle andre prøver.

Prøver med NatPre T-10 tilsat, uanset tilstedeværelsen af PRS-PHR, viser sig at ligge med kimtal på ca. 0,5 log enheder højere end 60 ppm nitrit både dag 8 og dag 12. Prøverne med NatPre T-10 er dog også signifikant lavere end både prøver uden nitrit (~1,5-1,0 log lavere) på dag 8 og dag 12. Prøver tilsat Cytoguard LA-2x er på dag 8 vokset til et niveau 0,8 log enheder under prøver uden nitrit, mens Cytoguard LA-2x på dag 12 har nået kimtal som er tættest på kontrol uden nitrit.

På dag 18 er podede skinkeprøver i alle tilfælde nået meget høje kimtal, men prøver indeholdende de 60 ppm nitrit ligger gennemsnitlig lavere end alle øvrige prøver, hvorimod der på dette tidspunkt i vækstforløbet ikke ses forskelle mellem prøver tilsat NatPre T-10, Cytoguards LA-2x og kontroller uden nitrit.

#### *Konklusion*

Fosfaterstatteren PRS-PHR (1% w/w) udviser gode egenskaber svarende funktionaliteten af 0,25% fosfat i en kogt sandwich skinke hvad angår kogesvind og sliceudbytte.

Smagsbedømmelse af skinker tilsat 1% w/w PRS-PHR indikerer en svagt afvigende smag, hvorimod teksturen bedømmes næstbedst.

Nitriterstatteren NatPre T-10 plus (1% w/w) kan give samme farve i kogt skinke som 60 ppm nitrit, hvilket er ekseptionelt i et kogt kødprodukt.

Bedømmelse af skinkerne viser en mindre forskel mht. smag for prøver tilsat NatPre T-10 ift. 60 ppm nitrit, og her vurderer det interne panel også farve og udseende ligeså højt som skinker med 60 ppm nitrit.

Endvidere observeres der i pode/vækstforsøg med *Listeria* en inhiberende virkning af NatPre T-10 (1% w/w) som er tæt på at modsvare 60 ppm tilsat nitrit.

Efterfølgende analyser har vist at NatPre T-10 indeholder nitrit og derfor ikke kan anbefales som nitriterstatter.