



Notat

Holdbarhed af konserver med lavere nitritindhold

Opsummering af data fra challengetest i konserverdåser 2025

Nanna Bygvraa Svenningsen

18. december 2025

Proj.nr. 2012297

Version 1

Init. NBS/MT/AGLK

Baggrund

EU har skærpet reglerne for, hvor meget nitrit der må tilsættes til kødprodukter. Tidligere har det været tilladt at tilsætte op til 150 ppm Na-nitrit i konserver, men med de nye EU-regler må der for produkter varmebehandlet til en $F_0 \geq 3$ (en varmebehandling, der er ækvivalent med $121,1^\circ\text{C}$ i mindst 3 minutter) kun tilsættes 82 ppm Na-nitrit, og for produkter varmebehandlet til en $F_0 \leq 3$ må der tilsættes 120 ppm Na-nitrit. Dette er en udfordring, da de Codex Alimentarius guidelines, der i dag anvendes som udgangspunkt for valg af F_0 -kog <3 for forskellige produkter tilsat forskellige mængder salt, er baseret på, at der tilsættes 150 ppm Na-nitrit. Der mangler derfor dokumentation for, om reduktion af mængde tilsat nitrit påvirker holdbarheden af kødkonserver.

Formål

At undersøge effekt på holdbarhed af kødkonserver med reduceret mængde tilsat nitrit ved forskellige niveauer af salt i vand (WPS) og forskellige varmebehandlinger i en accelereret challengetest, som kan anvendes til at se på relative holdbarhedstider.

Konklusion

Data fra 29 serier af challengetest med dåsekonserver med varierende mængde nitrit tilsat, WPS, tilsætning af laktat/acetat og varmebehandlet til forskellige F_0 -værdier viser, at der er en tendens til lidt dårligere holdbarhed (vurderet ud fra den observerede tid til 50% bombage under accelereret test ved 37°C) ved reduktion af mængden af tilsat nitrit fra 139-150 ppm til 118-120 ppm, især jo lavere WPS er. Forskellen er dog meget lille, idet den vurderes at være 1-2 dage, hvilket dog også svarer til 4-8%, når produkterne er podet med 3-4 log Clostridium sporer/g før varmebehandling. Det skal efterprøves i kommende forsøg, om denne forskel har en signifikant betydning for holdbarheden.

Enkelte forsøg indikerer, at forskellen i den hæmmende effekt af nitrit ved tilsætning af forskellige mængder nitrit er større, jo større varmepåvirkning sporerne har fået. Dette undersøges nærmere i kommende forsøg.

Forsøgene har dog også vist, at det kan være svært altid at se en tydelig sammenhæng mellem kimtal og bombage, idet der godt kan observeres kimtal >6 log CFU/g, uden der nødvendigvis observeres bombage. I fremtidige forsøg vil sammenligning af serier med forskellig mængde tilsat nitrit derfor både baseres på kimtal og på tiden til 50% bombage.

Tilsætning af laktat/acetat har en betydelig forlængende effekt på tiden til 50% bombage, som langt overstiger den eventuelle holdbarhedsforringende effekt af at reducere mængden af tilsat nitrit fra 139-150 ppm nitrit til 118-120 ppm.

<i>Forsøgsprincip</i>	Fremgangsmåde Der fremstilles et luncheon meat-produkt som modelprodukt med forskellige mængder tilsat Na-nitrit og salt, som podes med <i>Clostridium sporogenes</i>. I enkelte serier tilsættes desuden K-laktat og K-acetat. Fars fyldes på dåser, der lukkes og opbevares på køl (2°C) til næste dag, hvor de varmebehandles i autoklave i pilot plant. Dåserne lagres efter varmebehandling ved 37°C, hvor de jævnligt inspiceres for bombage. Holdbarheden bestemmes relativt ud fra tid, til at 50% af dåserne i en serie er bomberet, sammenlignet med tid til at 50% af dåserne fra en anden serie er bomberet.
<i>Clostridiestammer</i>	Der er udvalgt 3 stammer af <i>C. sporogenes</i>, som tidligere er brugt i forsøg med konserver (Projektet "<i>C. botulinum</i> i helkonserver", 2011-2013). <i>C. sporogenes</i> er accepteret som surrogat for mesofile <i>C. botulinum</i>. De 3 udvalgte stammer er kendte fordærvere, som producerer luft og altså medfører bombage af dåserne ved vækst. Stammernes D-værdier er tidligere undersøgt (Jacobsen, 2011). Her blev D_{120°C} bestemt til ca. 1,9 for alle 3 stammer, hvilket er ca. 4 gange højere end de mest varmeresistente proteolytiske <i>C. botulinum</i> med D_{120°C} på 0,48 (Van Asselt & Zwietering, 2006). <i>Clostridium sporogenes</i> og specifikt stammen PA3679, som indgår i den benyttede bakteriecocktail i forsøg beskrevet i dette notat, har været brugt til de fleste forsøg med dokumentation af varmebehandling af <i>C. botulinum</i> og derved dannet grundlag for anbefalinger i Codex Alimentarius (Bøgh-Sørensen & Zeuthen, 2002).
<i>Produktion af dåser med fars og varmebehandling</i>	Produktionen foregår over to dage, hvor kød hakkes og luncheon meat-farser produceres i hurtighakker, fyldes i dåser med 200 ± 1g, som lukkes og sættes på køl ved 2°C natten over. Næste dag autoklaveres dåserne og placeres efterfølgende i inkubatorer ved 37 ± 2°C. Der inkuberes 70-80 dåser pr. serie.
<i>Podeniveau i fars</i>	Farserne podes med sporer, så der før varmebehandling er ca. 3-4 log sporer pr. g.
<i>Podeprocedure</i>	Der produceres 18 kg fars for hver serie. Der podes med 1 ml sporecocktail pr. kg, dvs. 18 ml i alt under produktion i hurtighakker.

Undersøgte kombinationer af konservering og varmebehandling

Tabel 1. Undersøgte kombinationer af konservering og varmebehandling.

F0	WPS	Nitrit (ppm)	Laktat/acetat %	Serie
1,0	2,5	0		24
		75		25, 30
		75	1,47*/0,1	26, 31
		100		27, 32
		118		28, 33
		150		29, 34
1,6-1,8	2,2	100		13
		118		15
		150		17
	2,6-2,7	120		11
		139		10, 12
	3,2-3,3	120		7, 19
		120	1,6*/0,12	20
	3,5-3,6	120		21
		120	1,6*/0,12	8
		139		22, 23
2,0	2,2	120		9
2,9	2,2	100		14
		118		16
		150		18
3,3	2,2	100		1
		118		2
		150		3
	2,7	100		4
		118		5
		150		6

*L-laktat

Beregning af F0-værdi

Temperaturen i dåserne blev løbende registreret under varmebehandlingsprocessen med ELLAB termologgere, som blev skruet ind i 3 dåser pr. varmebehandling med temperaturføler placeret, så temperaturen blev målt i kernen af produktet. Efterfølgende blev den samlede F0-værdi beregnet. Til beregning benyttes varmepåvirkningen i hele varmebehandlingsforløbet, dvs. inklusiv stige-, holde- og afkølingstid, når temperaturen er over 98°C.

Kemiske analyser

Efter varmebehandling blev to dåser fra hver serie analyseret for salt, vand og pH. Der blev ikke analyseret for nitrit i de første serier; dette blev ændret, så der efter varmebehandling også blev analyseret for residual-nitrit.

Vandaktivitet blev målt i de første serier, men da analysen, der blev kørt i det kemiske laboratorium, kun er præcis nok til, at resultater kan angives med to decimaler, blev der ikke analyseret for a_w .

I serier tilsat K-laktat og K-acetat blev der desuden analyseret for L-laktat samt acetat.

Mikrobiologiske analyser

Kimtal og sporetal af podcocktail samt den podede fars før varmebehandling blev analyseret på Reinforced Clostridium Medium agar (RCM) (dybdeudsæd, anaerob inkubering 30°C i 3-4 dage). Desuden blev sporetallet i luncheon meat efter varmebehandling bestemt på RCM-agar.

Ved bombage af dåser blev kimtallet bestemt; for serie 24-29 blev der desuden bestemt kimalt en gang om ugen frem til bombage.

Alle prøver blev udtaget anaerobt.

Observation af bombage

Dåserne blev tjekket 2-3 gange ugentligt for luftproduktion (=bombage) ved at trykke på siden samt på toppen og bunden af dåserne.

Resultater

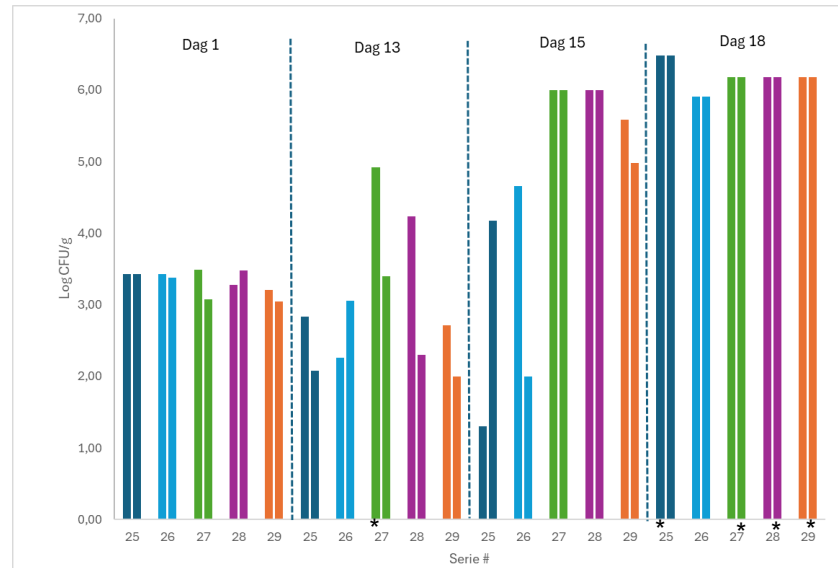
%-del bomberede dåser blev plottet som funktion af tid i Excel (se eksempel i bilag 1). I tabel 2 er tiden til bombage af 50% af dåser i en serie (aflæst på plottene) noteret. Detaljerede oplysninger om de enkelte serier kan ses i tabel i bilag 2.

Tabel 2. Kombinationer af F0, WPS, tilsat nitrit, laktat/acetat og den observerede tid til 50% bombage.

F0	WPS	Nitrit (ppm)	Laktat/acetat %	Serie	Tid til 50% bombage (dage)
1,0	2,5	0		24	<4
		75		25	19,8
		75	1,47*/0,1	26	25
		100		27	18
		118		28	19
		150		29	19,8
1,6-1,8	2,2	100		13	22
		118		15	23
		150		17	26
	2,6-2,7	120		11	23
		139		10, 12	23-24
	3,2-3,3	120		7, 19	23
		120	1,6*/0,12	20	49
	3,5-3,6	120		21	24
		120	1,6*/0,12	8	49
		139		22, 23	24-26
2,0	2,2	120		9	21
2,9	2,2	100		14	20
		118		16	23
		150		18	23
3,3	2,2	100		1	24
		118		2	27
		150		3	28
	2,7	100		4	27
		118		5	24
		150		6	32

*L-laktat

Kimtal under lagring – serie 25-29



Figur 1. Kimtal på RCM i 2 dåser fra serie 25-29 på dag 1 (lige efter autoklaving), dag 13, 15 og 18. Søjlerne angiver kimtal i én dåse. Søjler markeret med "*" angiver, at kimtal er analyseret på dåse med bombage; de øvrige kimtal stammer fra dåser uden synlig bombage. Kimtal for serier 25, 27, 28 og 29 på dag 18 er "mindst X log CFU/g", da der var tæppevækst på RCM-pladerne i den højeste fortynding.

Under lagring af serierne 24-29 blev der udover observation af luftproduktion også målt kimtal (RCM, anaerobt).

Startkimtallene i denne forsøgsrække lå på 3-3,5 log CFU/g.

Da der blev observeret bombage i alle dåser fra serie 24 (0 ppm nitrit) efter 4 dages lagring, blev der ikke målt kimtal på serie 24. Efter 7 dage blev der kun målt kimtal på serie 25, da det forventedes, at der ville kunne måles vækst i serie 25 (75 ppm nitrit), før der kunne måles vækst i de resterende serier. Kimtallet i serie 25 var på hhv. 2,53 log CFU/g og 2,30 log CFU/g i to dåser efter 7 dages inkubering ved 37°C.

Som det ses i figur 1, blev der ikke observeret en tydelig sammenhæng mellem tilsat nitrit og kimtal, idet serie 25 med laveste mængde tilsat nitrit (75 ppm) havde længere lagfase end serier med større mængder nitrit tilsat (serie 27-29). Dog ses der på dag 13 og 15 en tendens til, at kimtallene er lavest i serie 29 med 150 ppm nitrit, når serie 27, 28 og 29, som er tilsat hhv. 100 ppm, 118 ppm og 150 ppm nitrit, sammenlignes. Dette peger altså på, at sporespiring har længere lagfase, når der tilsættes 150 ppm nitrit sammenlignet med 100 ppm hhv. 118 ppm. Men som det ses i tabel 2, resulterer den længere lagfase af sporespiring kun i en meget lille stigning i tid til 50% bombage, som ligger indenfor den usikkerhed, som forsøgssetuppet vurderes at have. Observationen, at serie 25 har den længste lagfase for sporespiring, kan ikke umiddelbart forklares, derfor gentages forsøgsrækken.

Det ses desuden, at der ikke altid er en sammenhæng mellem observeret bombage og kimtal, idet der på dag 18 blev målt høje kimtal (>6 log CFU/g) for begge replikater af serierne 25, 27, 28 og 29, mens der kun blev observeret bombage i det ene replikat. I begge replikater af serie 26 var kimtallene på dag 18 >5,5 log CFU/g, men der blev ikke observeret bombage i nogen af

dåserne fra denne serie. Til sammenligning var der på dag 13 bombage i det ene replikat af serie 27, hvor der blev målt et kimtal på 4,9 log CFU/g.

Reproducerbarhed og usikkerheder

Enkelte af serierne blev gentaget og kan derfor benyttes som en indikation på, hvor reproducerbart forsøgssetuppet er, samt på hvor stor usikkerhed der er på den observerede tid til 50% bombage.

Sammenligning af serierne 8 og 20, der er tilsat laktat/acetat, og hvor tiden til 50% bombage for begge serier er 49 dage, indikerer, at setuppet er reproducerbart.

Som det ses i tabel 2 og i bilag 2, er parametrene for serie 10 og 12 direkte sammenlignelige. Det samme gælder for serie 22 og 23. Tiden til 50% bombage i disse serier varierer mellem 1 og 2 dage.

Serierne 9, 15 og 16 er sammenlignelige i konservering, men varmebehandlet til forskellig F0. For disse serier ses der ligeledes op til 2 dages variation i tiden til 50% bombage. Sporetal efter varmebehandling varierer fra 2,7-3,1 log CFU/g (bilag 2) i serierne.

Serierne 13-14, 15-16 og 17-18 er også sammenlignelige i tilsat konservering, men varmebehandlet til forskellig F0. Her er den største forskel mellem serierne på 3 dage. Forskellene kan ikke umiddelbart forklares af forskelle i varmebehandling og antal sporer efter varmebehandling.

Sammenligning af serierne 7 og 19 giver 5 dages forskel på tid til 50% bombage.

Baseret på disse forsøg vurderes det altså, at usikkerheden på måling af tid til 50% bombage ligger på omkring 1-5 dage. Et skøn på en middel usikkerhed vil derfor være 2-3 dage.

Det skal dog i denne sammenhæng noteres, at der, som tidligere beskrevet, er observeret en forsinkelse mellem høje kimtal (>6 log CFU/g) og observerbar bombage. Derfor vil serier, hvor tiden til 50% bombage varierer med >3 dage, godt kunne opnå et kimtal på >6 log CFU/g på samme tid.

Effekt af reduktion af nitrittilsætning

Regnes der med en usikkerhed på op til 2-3 dage, ses der i størstedelen af data i tabel 2 og bilag 1 altså, at holdbarheden ikke reduceres, når tilsat nitrit reduceres fra 150 ppm til 118 ppm eller fra 139 ppm til 120 ppm. Dog er forskellen mellem serie 5 og 6, som er tilsat hhv. 118 ppm og 150 ppm nitrit, WPS% på 2,7% og er varmebehandlet til $F_0=3,3$, på 8 dage. En hypotese, der kan forklare denne forskel, kan være, at den hårdere varmebehandling gør sporene mere følsomme overfor ændringer i nitritindhold. Denne hypotese stemmer også overens med, at der i sammenligning mellem serie 28 og 29, der er tilsat hhv. 118 ppm og 150 ppm nitrit og varmebehandlet til en $F_0=1$, er <1 dags forskel i tiden til 50% bombage. Denne teori skal efterprøves.

Ses der til gengæld bort fra usikkerheden på 2-3 dage, er der dog en tendens til, at tiden til 50% bombage er 1-2 dage længere ved de høje nitrittilsætninger (139 ppm og 150 ppm), især ved lavere WPS. Dette skal dog undersøges nærmere, før der kan konkluderes på dette.

Effekt af organiske syrer

Der ses en tydelig effekt af tilsætning af en blanding af K-laktat og K-acetat. Koncentrationen på 1,6% laktat og 0,12% acetat i serie 8 og 20 er valgt, da erfaringen siger, at produkter tilsat denne mængde er sensorisk acceptable. I begge forsøg ses ca. en fordobling af tiden til 50% bombage sammenlignet med serierne uden laktat/acetat (sammenligning af serie 7+8 og serie 19+20).

Tilsætning af en lidt mindre mængde laktat/acetat (1,47% laktat/0,1% acetat) til serie 26 resulterede i en stigning af tiden til 50% bombage med ca. 25% sammenlignet med serie 25, hvor der ikke var tilsat laktat/acetat. Dog var det forventet, at tiden til 50% bombage i serie 25 havde været kortere (sammenlignet med serierne 27-29). Det er derfor muligt, at der har været noget galt med serie 25, og at den forøgede holdbarhed ved tilsætning af laktat/acetat til serie 26 reelt er større. Forsøget gentages.

Konklusion

Data fra 29 serier af challengetest med dåsekonserves med varierende mængde nitrit tilsat, WPS, tilsætning af laktat/acetat og varmebehandlet til forskellige F0-værdier viser, at der er en tendens til lidt dårligere holdbarhed (vurderet ud fra den observerede tid til 50% bombage under accelereret test ved 37°C) ved reduktion af mængden af tilsat nitrit fra 139-150 ppm til 118-120 ppm, især jo lavere WPS er. Forskellen er dog meget lille, idet den vurderes at være 1-2 dage, hvilket dog også svarer til 4-8%, når produkterne er podet med 3-4 log Clostridium sporer/g før varmebehandling. Det skal efterprøves i kommende forsøg, om denne forskel har en signifikant betydning for holdbarheden.

Enkelte forsøge indikerer, at forskellen i den hæmmende effekt af nitrit ved tilsætning af forskellige mængder nitrit er større, jo større varmepåvirkning sporerne har fået. Dette undersøges nærmere i kommende forsøg.

Forsøgene har dog også vist, at det kan være svært altid at se en tydelig sammenhæng mellem kimal og bombage, idet der godt kan observeres kimal >6 log CFU/g, uden der nødvendigvis observeres bombage. I fremtidige forsøg vil sammenligning af serier med forskellig mængde tilsat nitrit derfor både baseres på kimal og på tiden til 50% bombage.

Tilsætning af laktat/acetat har en betydelig forlængende effekt på tiden til 50% bombage, som langt overstiger den eventuelle holdbarhedsforringende effekt af at reducere mængden af tilsat nitrit fra 139-150 ppm nitrit til 118-120 ppm.

Referencer

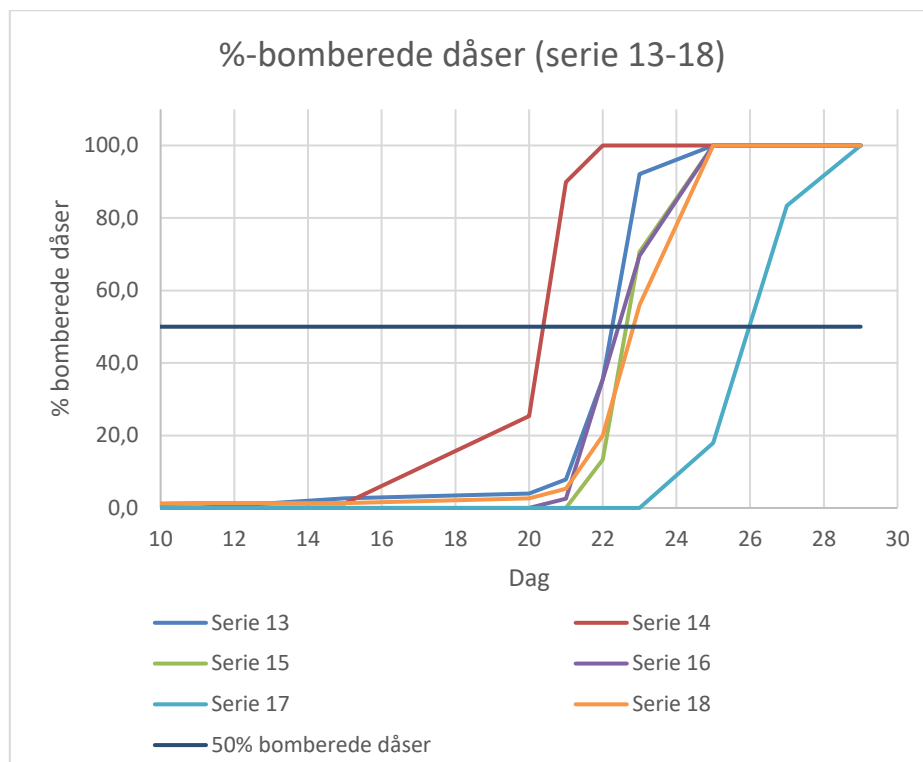
Asselt, E.D. v. & Zwietering, M.H. (2006) A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. Int J Food Microbiol. 107(1):73-82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.08.014>

Flemming Hansen (2013) Accelereret holdbarhedstest af 26 kombinationer af F_0 og salt/vand%. Rapport maj 2023, projekt 2000249-13.

Tomas Jacobsen (2011). D-værdi af Clostridium sporer. Rapport af 4. februar 2011, projekt 2000249.

Konserveringsteknik bind 2 (2002) Kapitel 11, Varmekonservering (Bøgh-Sørensen, L. & Zeuthen, P., eds.), DSR Forlag, Frederiksberg, Danmark.

Eksempel på plot af %-del bomberede dåser som funktion af tiden



Tabel over tid til bombage for serie 1-29.

Serie	pH	Salt (%)	Vand (%)	WPS (%)	Nitrit tilsat (ppm)	Residual nitrit (målt, ppm)	Ace-tat målt (%)	L-Lak-tat målt (%)	F0	Sporetal dåser start (log CFU/g)	Tid til start af bom-bage (dage)	Tid til 50% bom-bage (dage)
1	6,4	1,45	65,1	2,2	100	n.d.	-	-	3,3	2,2	21	24
2	6,4	1,45	65,3	2,2	118	n.d.	-	-	3,3	1,5	26	27
3	6,4	1,46	66	2,2	150	n.d.	-	-	3,3	1,5	26	28
4	6,4	1,81	65,9	2,7	100	n.d.	-	-	3,3	2,0	26	27
5	6,4	1,81	65,8	2,7	118	n.d.	-	-	3,3	1,9	24	24
6	6,4	1,8	66	2,7	150	n.d.	-	-	3,3	1,6	30	32
7	6,3	2,29	66,4	3,3	120	n.d.	-	-	1,8	2,9	25	28
8	6,4	2,29	63,8	3,5	120	n.d.	0,12	1,61	1,8	3,1	44	49
9	6,3	1,48	66,1	2,2	120	n.d.	-	-	2,0	3,1	19	21
10	6,3	1,81	66	2,7	139	n.d.	-	-	1,8	3,1	22	24
11	6,3	1,8	66,5	2,6	120	n.d.	-	-	1,8	3,0	21	23
12	6,3	1,81	66,1	2,7	139	n.d.	-	-	1,8	3,1	22	23
13	6,4	2	66	2,2	100	12	-	-	1,7	3,8	21	22
14	6,4	2	66	2,2	100	11	-	-	2,9	2,7	18	20
15	6,4	2	66	2,2	118	19	-	-	1,7	2,8	22	23
16	6,4	2	66	2,2	118	12	-	-	2,9	2,7	21	23
17	6,4	2	66	2,2	150	27	-	-	1,7	2,5	25	26
18	6,4	2	66	2,2	150	12	-	-	2,9	3,0	21	23
19	6,2	2,2	66,9	3,2	120	18	-	-	1,7	3,2	23	23
20	6,3	2,2	65,6	3,2	120	16	0,12	1,64	1,7	3,3	41	49
21	6,3	2,5	66,8	3,6	120	19	-	-	1,7	3,2	23	24
22	6,3	2,5	66	3,6	139	17	-	-	1,7	3,2	23	24
23	6,3	2,5	66,4	3,6	139	17	-	-	1,6	3,1	23	25,5
24	6,3	1,8	67,1	2,6	0	n.d.	-	-	1,0	3,5	<4	<4
25	6,3	1,8	66,7	2,6	75	17	-	-	1,0	3,4	18-20	19,8
26	6,3	1,8	66,4	2,6	75	15,5	0,1	1,47	1,0	3,4	21	25
27	6,3	1,8	67,3	2,6	100	21	-	-	1,0	3,3	15-18	18
28	6,3	1,8	67,5	2,6	118	19,5	-	-	1,0	3,4	18-20	19
29	6,3	1,8	68,3	2,6	150	23	-	-	1,0	3,1	18-20	19,8

<i>Kulturer</i>	Fremstilling af sporer Der anvendes 3 stammer af <i>Clostridium sporogenes</i>: (Alle 3 er oprindeligt isoleret af Terry Roberts).
	Stammerne er tidligere benyttet til forsøg med konserves (Hansen, 2013). • DMRICC 4006 ("Putrefactive anaerobe" 93R) • DMRICC 4008 ("Putrefactive anaerobe" 3679) • DMRICC 4009 ("Putrefactive anaerobe" 1075) Stammerne vækkes fra frost eller køl ved at pøde en frysevial (1 ml) til 10 ml Tryptose Pepton Glucose Yeast extract (TPGY) og inkubere ved 30°C i 3 -4 dage i anaerob bæk.
<i>Sporeproduktion</i>	Fra ovenstående TPGY-kulturer overføres 1 ml videre til Cooked Meat Medium (CMM) 2-fase substrat (12-13 dage ved 30°C).
<i>Fremstilling af CMM</i>	CMM 2-fase system (pr. 75 ml). 15 g kødpiller, 1,12 g agar og 0,075 g glukose opblødes i 75 ml vand i en 1/4 l bluecap flaske og står 20-30 min. ved stuetemperatur. Flaskerne autoklaveres i 15 min. ved 121°C og omrystes let efter autoklavering. Straks inden podning dækkes den stivnede agar med 10 ml sterilt vand, som er strømmet umiddelbart inden brug. OBS: Der anvendes dobbelt portion af CMM 2-fase system!
<i>Inkubering af CMM</i>	De podede CMM inkuberes anaerobt (anaerob bæk) i 12-13 dage ved 30°C. Inden sporerne høstes, kontrolleres kulturerne i mikroskop for sporer.
<i>Høstning af sporer</i>	De 20 ml sporesuspension fra hver flaske med CMM overføres til et sterilt centrifugerør og centrifugeres i 20 min. ved 5000 rpm i kølecentrifugen. Inden første centrifugering køles centrifugen ned til 4°C. Supernatanten fjernes forsigtigt, og der tilsættes 20 ml kølet (4°C) sterilt vand. Sporesuspensionerne opbevares på køl indtil senere anvendelse.