Het toepassen van zachte conserveringstechnieken heeft geleid tot een sterke toename in het vermarkten van microbieel bederfbare levensmiddelen. Deze producten hebben een veel beperktere houdbaarheid. Het is essentieel om deze houdbaarheid adequaat te kunnen bepalen, door houdbaarheidstesten en microbiële analyses. Voedingsbedrijven maken nog regelmatig gebruik van algemene kiemgetallen zoals het totaal aëroob kiemgetal, wat leidt tot discussies tussen producenten en afnemers.

Microbieel bederf: een kwestie van kiemgetallen?

Foto: Tom Anthierens

De SIFT-MS-techniek voor bepaling van vluchtige bederfmetabolieten in levensmiddelen.

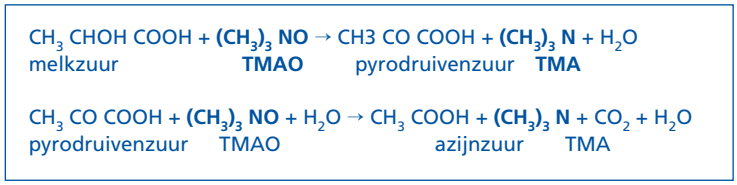
Om de houdbaarheid van zacht geconserveerde levensmiddelen te bepalen is het cruciaal om inzicht te verwerven in de microbiële uitgroei en in de microbiële bederfmechanismen van desbetreffende levensmiddelen. Zo kunnen de geschikte microbiële parameters worden vastgelegd om de houdbaarheid van het betreffende levensmiddel te bepalen en te controleren.

Omgevingsfactoren

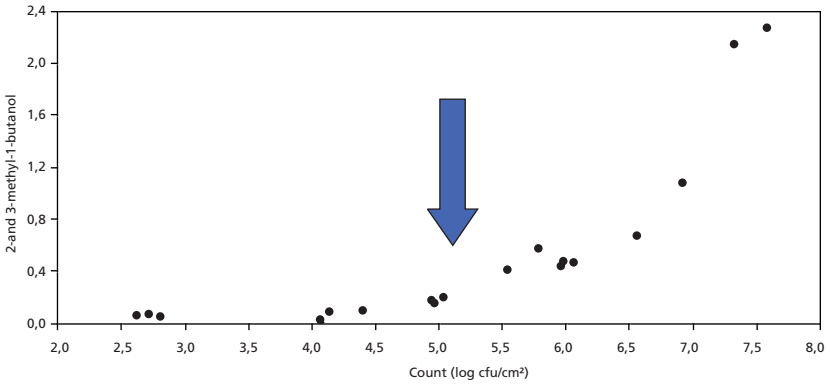
Belangrijk hierbij is rekening te houden met de invloed van zowel intrinsieke (pH, aw, organische zuren) als extrinsieke (T, O_2, CO_2) factoren. Dergelijke omgevingsfactoren hebben niet alleen een effect op de uitgroei van specifieke bederforganismen (SBO), maar ook op het bederfmetabolisme van deze SBO's. En op de soorten metabolieten die ze produceren en de daarbij behorende sensorische kwaliteit van het betreffende product. Ondanks gelijkaardige kiemgetallen kunnen twee dezelfde producten, bewaard onder verschillende omstandigheden, namelijk een ander microbieel bederf vertonen en dus in het ene geval sensorische afwijkingen vertonen terwijl dit in het andere geval niet zo is. Inzicht in deze microbiële bederfmechanismen kan dus ook een praktisch middel zijn om de houdbaarheid van het levensmiddel te beheersen en te optimaliseren.

Bederver op vlees en vis

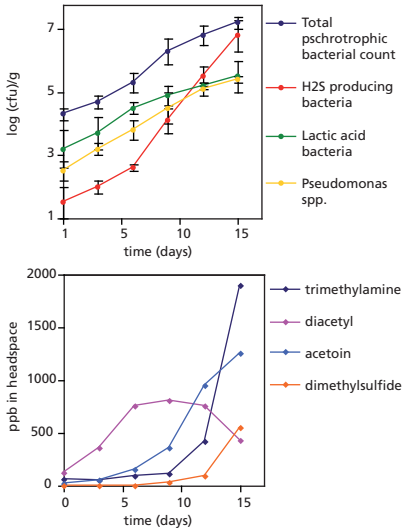
Als voorbeeld kan de bederver *Brochothrix thermosphacta* vermeld worden. *B. thermosphacta* is een Gram-positieve bederver die op vooral dierlijke producten, zoals vlees en vis, voorkomt en bij lage temperatuur kan uitgroeien. Bij relatief lage kiemgetallen (ca 10^5/g) zal *B. thermosphacta* onder aërobe omstandigheden reeds acetoïne en diacetyl produceren, twee componenten die bij erg lage concentraties door de mens worden waargenomen. Wanneer geen zuurstof aanwezig is, zal *B. thermosphacta* wel uitgroeien maar geen acetoïne/diacetyl produceren. In dit geval kunnen dus hogere aantallen getolereerd worden. Uit recente literatuur blijkt bovendien dat het zuurstofgehalte vanaf wanneer acetoïne/diacetyl wordt geproduceerd, afhankelijk is van de hoeveelheid CO_2 dat in de kopruimte aanwezig is. Bij hogere CO_2-concentraties zal de bacterie meer O_2 nodig hebben om acetoïne/diacetyl te produceren.
Ook het verpakken van verse vis zal in een belangrijke mate het type bederf beïnvloeden. Gram-negatieve kiemen, zoals *Pseudomonas* of *Shewanella*, zullen in de regel vis bewaard onder ijs bederven. In de eerste fase van de bewaring gebruiken deze micro-organismen zuurstof als elektronenacceptor. Wanneer geen zuurstof meer ter beschikking is (normaal na ongeveer zes dagen onder ijs), zal bij mariene vissoorten zoals kabeljauw en tong trimethylamineoxide (TMAO) als elektronenacceptor fungeren. Deze molecule wordt



Bederfmetabolisme voor TMA-vorming bij mariene vis.



Figuur 1. Productie van 2- en 3-methyl-1-butanol door de gist Pichia fermentans op versneden sla verpakt onder evenwichtsgemodificeerde atmosfeer (Ragaert et al., 2006).



Figuur 2. Rationale van het nieuwe onderzoek rond bederf van levensmiddelen.

gereduceerd tot trimethylamine (TMA), een component die typisch de geur heeft van onverse vis. Vanaf dat moment zal het product dan ook snel als onaanvaardbaar worden beschouwd.

Zuurstof toevoegen

Uit de kennis van dit bederfmetabolisme (zie vorige pagina) kan worden afgeleid dat we de houdbaarheid van verpakte mariene vis kunnen verlengen door zuurstof toe te voegen aan de atmosfeer. Op deze manier is zuurstof langer ter beschikking als electronenacceptor voor de SBO's en wordt TMA-vorming uitgesteld en dus de houdbaarheid van de verpakte vis verlengd. Vele verpakkers zullen dus bijvoorbeeld bij magere witvisconcentraties van 30 tot 60% zuurstof in de kopruimte van hun verpakking brengen. Als derde voorbeeld vermelden we microbieel bederf van versneden groenten. Hier wordt vaak alleen gebruikgemaakt van een totaal aëroob kiemgetal en eventueel van een bepaling van het aantal melkzuurbacteriën om de microbiële houdbaarheid te definiëren. Bij bepaalde groenten (bijvoorbeeld bladgroenten), spelen ook gisten een belangrijke rol. Deze beginnen reeds significante hoeveelheden bederfmetabolieten, zoals secundaire alcoholen (bijv. 2- en 3-methyl-1-butanol), te produceren vanaf kiemgetallen van 5 x 10^5/g (zie figuur 1). Bij deze producten is het dus van belang om ook gisten als bederfparameter op te nemen bij de houdbaarheidsbepaling.

De juiste parameters analyseren

Om conclusies te kunnen trekken uit een houdbaarheidstest, is het uiteraard van belang om de juiste microbiële parameters te analyseren in functie van de bewaartijd. Hiervoor gebruiken velen in de praktijk het aëroob mesofiel kiemgetal, waarbij een algemeen, niet selectief medium wordt gebruikt dat geïncubeerd wordt bij 30°C. Het is belangrijk te beseffen dat dit betekent dat ze via deze analyse alle micro-organismen zullen tellen die onder aërobe omstandigheden bij 30°C snel kunnen uitgroeien.
Gekoelde levensmiddelen, verpakt onder een anaërobe atmosfeer, zullen echter bederven door micro-organismen die bij een lage temperatuur en onder anaërobe omstandigheden kunnen uitgroeien. Dit stemt dus niet noodzakelijk overeen met een totaal aëroob mesofiel kiemgetal. Bij gekoelde levensmiddelen is het aan te raden het totaal aëroob of anaëroob psychrotroof kiemgetal (incubatie bij 22°C gedurende 5 dagen) als parameter op te nemen voor het bepalen van de microbiële houdbaarheid van een gekoeld levensmiddel.
De laatste jaren wordt in het Laboratorium voor Levensmiddelenmicrobiologie en –conservering van de Universiteit Gent vastgesteld dat steeds meer specifieke bederforganismen van gekoelde levensmiddelen strikter psychrotroof worden en niet langer kunnen uitgroeien bij een incubatietemperatuur van 30°C en wel bij 22°C. Dit is in het bijzonder het geval voor melkzuurbacteriën. Vaak betreft het species van het genus *Leuconostoc*. Bedrijven worden dan geconfronteerd met producten die duidelijke sensorische afwijkingen vertonen, maar lage kiemgetallen hebben die wel bij 30°C zijn bepaald.

Nieuw onderzoek noodzakelijk

In het kader van deze problematiek is het Laboratorium voor Levensmiddelenmicrobiologie en –conservering gestart met verschillende onderzoeksprojecten die de link willen leggen tussen conserveringsfactoren, uitgroei van specifieke bederforganismen, productie van specifieke bederfmetabolieten en de sensorische kwaliteit van levensmiddelen tijdens de bewaring (figuur 2).
Er wordt samengewerkt met specialisten in de bepaling van vluchtige componenten – prof. Herman Van Langenhove en Prof. Jo Dewulf van de vakgroep Organische Chemie, Universiteit Gent – en er zijn belangrijke investeringen gedaan in geavanceerde analyseapparatuur om op een snelle manier adequaat metabolieten te identificeren en te kwantificeren.

'Bij bladgroenten spelen ook gisten een belangrijke rol'

Referentie

Ragaert, P., Devlieghere, F., Devuyst, E., Dewulf, J., Van Langenhove, H. & Debevere, J. (2006). Volatile metabolite production of spoilage micro-organisms on a mixed-lettuce agar during storage at 7°C in air and low oxygen atmosphere. International journal of food microbiology, 112, 162-170

Frank Devlieghere & Bert Noseda

Prof. dr. ir. F. Devlieghere & ir. B. Noseda, Food2Know, Universiteit Gent, Laboratorium voor levensmiddelenmicrobiologie en –conservering, frank.devlieghere@UGent.be