

Langere afkoeltijden niet altijd zonder risico

Clostridium perfringens in gep

Sporen van *Clostridium perfringens* kunnen het verhittingsproces van vleesproducten overleven. Bij een te langzame afkoeling van producten kan deze pathogeen in bepaalde situaties uitgroeien tot zodanige aantallen dat voedselvergiftiging het gevolg kan zijn. Snellere afkoeling is de remedie. Gebruik van nitriet voorkomt eveneens dat *C. perfringens* tot problemen leidt.



Gepasteuriseerde vleesproducten, zoals rosbief, rollade en gehaktballen, moeten snel worden afgekoeld. Vooral bij grote batches en bij opeengestapelde en volumineuze producten is dit een aandachtspunt om het risico op uitgroei van *C. perfringens* te beheersen.

De pathogeen *Clostridium perfringens* verdient aandacht bij het opstellen en onderbouwen van onderdelen van het HACCP-procesbeheersingschema voor vleesproducten die na pasteuriseren een lang afkoelproces ondergaan. Sporen van het micro-organisme kunnen het pasteurisatieproces overleven en bij langzame afkoeling ontkiemen en uitgroeien tot hoge aantallen. In de Verenigde Staten is om dit risico te vermijden jaren geleden regelgeving opgesteld en zijn aanbevelingen gedaan voor maximale afkoeltijden. Verschillende onderzoeken zijn in-

middels uitgevoerd om na te gaan of de genomen maatregelen de gewenste resultaten hebben gesorteerd. In deze literatuurstudie zijn die onderzoeken bijeen gebracht en wordt antwoord gegeven op de vraag hoe groot het risico van *C. perfringens* is en welke aanpassingen in procesvoering of receptuur nodig zijn.

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens is een pathogeen micro-organisme dat van bijzonder belang is bij gepasteuriseerde vleesproducten. Het micro-organisme groeit bij

een temperatuur van circa 10 tot 52°C. Snelle vermeerdering treedt op tussen 35 en 49°C. Vegetatieve cellen worden bij het pasteuriseren gedood, maar de sporen overleven dit proces.

Bij vlees zijn de besmettingsniveaus met sporen volgens internationale bronnen betrekkelijk laag, variërend van geen of slechts een paar tot circa 100 sporen/gram. Wanneer na het koken/pasteuriseren het product langzaam wordt afgekoeld of te lang bij temperaturen in het groeigebied wordt bewaard, kunnen de sporen uitgroeien tot vegetatieve cellen

Samenvatting

Sporen van *Clostridium perfringens* overleven het pasteurisatieproces van vleesproducten en kunnen bij te langzame afkoeling ontkiemen en uitgroeien tot hoge aantallen. Om dit risico te beheersen is in de Verenigde Staten wetgeving opgesteld. Tevens werden maximale afkoeltijden voor vleesproducten na verhitten aanbevolen. Onderzoek toont aan dat langere dan de aanbevolen afkoeltijden soms, vooral bij producten zonder nitriet, groei van *C. perfringens* tot een ongewenst niveau laat zien. Verwerking van ten minste 2% keukenzout of 1-2% zouten van organische zuren (vooral citraat en verder lactaat en (di)acetaat) remt de uitgroei van dit organisme in gesimuleerde producten.

Abstract

Spores of *Clostridium perfringens* survive the pasteurisation of meat products and can multiply to high numbers during prolonged chilling procedures after heating. In the USA legislation was imposed regarding *C. perfringens*. Also maximum chill down periods after heating of meat products were recommended. Applying longer chilling times than recommended, showed in some cases growth to undesirable levels, particularly when products did not contain nitrite. Incorporation of at least 2% common salt or 1-2% salts of organic acids (especially citrate and further lactate and (di)acetate) effectively contributed to growth inhibition of the organism in product simulations.

pasteuriseerde vleesproducten

Resultaten recent onderzoek gericht op *C. perfringens* in gepasteuriseerde vleesproducten naar aanleiding van de regelgeving in de VS

Producten (Geënt met <i>C. perfringens</i> -sporen)	Toevoegingen	Verhitting	Afkoelperiodes (uren)	Toename <i>C. perfringens</i> in log cycli	Referentie
ZONDER NITRIET			MAAT**: 1,5+5,0		
Kalkoenborst (4 kg)	-	72°C (kern)	6 8 10	≤1 ≤1 1,3	[12]
Kalkoengehakt*	-	73,9°C (kern)	6	2,3	[6]
Kalkoengehakt*	-	10 min 70°C	4 5 6 7	0,3 1,0 1,7 2,0	[2]
Rundergehakt*	0 - 1,0% NaCl 0 - 1,0% NaCl 0 - 1,0% NaCl 2% NaCl ≥3% NaCl	20 min 75°C	15 18 21 15; 18 en 21 15; 18 en 21	≥3 5 5 ≤1 0	[15]
Rundergehakt* (met 10% water, 1,5% NaCl, 0,5% Na-tripolyfosfaat)	Blanco 2% Na-citraat 2% Na-lactaat 2% Na-lactaat	20 min 75°C	15; 18 en 21 15; 18 en 21 15 en 18 21	2,2 tot 3,0 -0,4 tot -1,1 ≤1 1,8	[10]
Kalkoengehakt* (met 0,85% NaCl, 0,25% zetmeel, 0,2% K-pyrosfosfaat)	Blanco 1% Ional*** 1% Ional 1% Na-acetaat/-lactaat 2% Na-acetaat 2-4% Na-lactaat	60 min 60°C	15; 18 en 21 15 18 en 21 15 15; 18 en 21 15; 18 en 21	3,8 tot 5,2 <0 ≤1 ≤1 <0 <0	[5]
Rundergehakt* (met 1,0% NaCl, 0,2% zetmeel, 0,2% K-pyrosfosfaat)	Blanco 1,3% Ional Combinaties zouten van voedingszuren	20 min 75°C	15; 18 en 21 9 tot 21 9 tot 21	2,0 tot 5,7 ≤1 ≤1	[11]
Kalkoenvlees (1,3-5kg)	-	74°C (kern)	2,3+6,3 3,1+9,3 6,2+13,8 8,7+19,5	≤1 ≤1 1,5 4,0	[8]
MET NITRIET			MAAT: 5,0+10,0		
Kalkoengehakt* (156 mg/kg NaNO ₂)	-	73,9°C (kern)	6 24	≤1 3,1	[6]
Verkleinde boterhamworst en twee types kookham* (2,2-3,1% NaCl)	-	66 tot 80°C (kern)	4+4,5 4+20 10+15 6+20	≤1 ≤1 ≤1 ≤1	[13]
Verkleinde kookham* (1,25% NaCl)	-	ca. 67°C (kern)	15	1,4	[1]

* Monstergroottes (gesimuleerde kernen van producten) variërend van 5 tot 100 g; **MAAT: door FSIS aanbevolen maximale afkoeltijden, zie ook tekst; ***IonalTM: gebufferd natriumcitraat.

[3,4]. De cellen kunnen zich vermenigvuldigen tot aantallen veel groter dan 10⁶ per gram. Consumptie van dergelijk

besmet voedsel kan leiden tot passage van een aantal cellen door de maag en sporulatie in het darmkanaal. Ongeveer

Inspection Service (FSIS) in 1999 wel een regeling ingesteld om vermeerdering van *C. botulinum* en *C. perfringens* tijdens

5% van de stammen vormt bij het sporuleren een toxine, dat uiteindelijk verantwoordelijk is voor voedselvergiftiging [7]. Voor een gezonde volwassene verloopt de vergiftiging betrekkelijk mild, maar voor risicogroepen kunnen de gevolgen ernstig zijn.

Afkoeltijden

Welke afkoeltijden bij de productie van gepasteuriseerde vleesproducten worden gehanteerd, zal in de praktijk veelal samenhangen met de batchgrootte en met de vorm en afmetingen van de afzonderlijke producten. Lange afkoeltijden zullen vooral voorkomen bij grotere batches, dicht opeen gestapelde producten en grote producten (bijvoorbeeld een rollade of stuk rosbief). De wetgeving geeft weinig concrete richtlijnen. Verordening 852/2004, bijlage II, Hoofdstuk IX, punt 6 schrijft voor de afkoeling na het voorbereiden van voedsel voor: "Wanneer levensmiddelen koel moeten worden bewaard of opgediend, moeten zij zo snel mogelijk na de warmtebehandeling, dan wel na de laatste fase van de bereiding wanneer geen warmtebehandeling wordt toegepast, worden gekoeld tot een temperatuur die geen risico's voor de gezondheid oplevert."

Amerikaanse regelgeving

In de Verenigde Staten heeft de Food Safety and

het bereidingsproces van vleesproducten tegen te gaan [14]. Wettelijk is bepaald dat tijdens een proces geen vermeerdering van *C. botulinum* mag optreden en dat het aantal *C. perfringens* hooguit mag toenemen met een factor tien. Daarmee is gekozen voor een zeer veilige aanpak, waarbij de vraag kan worden gesteld of de factor tien niet al te scherp is vastgelegd.

Verder zijn er om de vermeerderingskansen van *C. perfringens* te beperken aanbevelingen gedaan voor de afkoeltijden [14]. Aanbevolen wordt om bij 'uncured' producten (producten die geen of weinig nitriet bevatten) de temperatuur na verhitten in de kern te laten dalen van 54,4 tot 26,7°C in minder dan 1,5 uur en van 26,7 naar 7,2°C in minder dan vijf uren. Voor 'cured' producten (≥ 100 mg NaNO₂/kg toegevoegd volgens VS-regels) wordt aanbevolen de temperatuur in de genoemde trajecten in minder dan vijf respectievelijk minder dan tien uren te laten dalen. Producten waarbij deze afkoelvereisten werden aangehouden, konden tot op heden niet in verband worden gebracht met een voedselvergiftiging door *C. perfringens*. *C. botulinum* levert dan ook geen problemen op, daar dit organisme zich duidelijk langzamer vermenigvuldigt en veel gevoeliger is voor nitriet. Overigens kunnen ook sporen van andere pathogene *Bacillus*- en *Clostridium*-soorten het pasteurisatieproces van vleesproducten overleven. Psychrotrofe stammen van *Bacillus cereus* en *C. botulinum* groeien niet meer bij een temperatuur lager dan 4°C respectievelijk 3°C [9]. *B. cereus* kan zich alleen in aanwezigheid van zuurstof vermenigvuldigen.

Onderzoeksresultaten

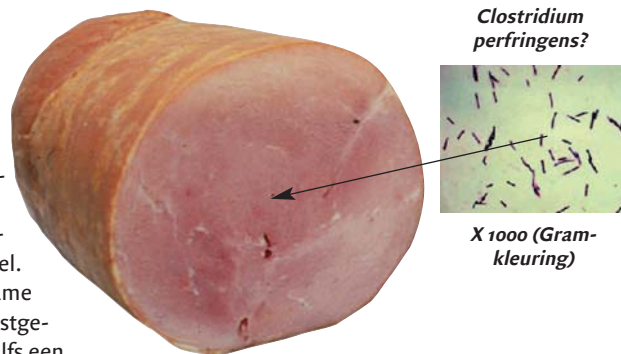
De regelgeving in de VS heeft in de afgelopen jaren geleid tot diverse onderzoeken. De belangrijkste resultaten zijn samengevat in de tabel. Het opzetten van statistisch verantwoorde proeven met grote vleesproducten, die tot zo'n 9 kg wegen, is een kostbare zaak. Om die reden is in onderzoeken vaak gewerkt met veel kleinere monsters. Deze monsters werden zodanig verhit en afgekoeld dat het temperatuurverloop in de kern van gepasteuriseerde vleesproducten werd gesimuleerd. Uit de tabel blijkt dat de sporen van *C. perfringens* die het pasteurisatieproces overleven, bij erg langzame afkoeling kunnen uitgroeien tot hoge aantallen. Dit is vooral het geval bij producten zonder nitriet. Indien nitriet is toegevoegd werd slechts in een sporadisch geval duidelijke vermeerdering tijdens te langzame afkoeling waargenomen [6].

Er zijn alternatieven voor nitriet. Verwerking van ten minste 2% keukenzout of 1 tot 2% zouten van organische zuren, vooral citraat en verder lactaat en (di)acetaat, heeft een duidelijk remmende werking op de uitgroei van *C. perfringens* in gesimuleerde producten, zo blijkt uit de tabel. In proeven werd tijdens te langzame afkoeling geen vermeerdering vastgesteld en bij gebruik van citraat zelfs een lichte afname van *C. perfringens* waargenomen.

De conclusie is dat *C. perfringens* in gepasteuriseerde vleesproducten goed beheersbaar is, maar wel enige aandacht behoeft. Aanbevolen wordt om de afkoeltijden in potentieel kritieke situaties te meten en te vergelijken met de door FSIS aanbevolen maximale waarden. Indien duidelijk langere afkoeltijden worden gehanteerd, moet zeker bij producten die geen of weinig nitriet bevatten het afkoelproces worden versneld. Alternatief is om de intrinsieke stabiliteit van het betreffende product tegen vermeerdering van *C. perfringens* wezenlijk te versterken door aanpassing van de receptuur.

Literatuur

1. Amézquita, A., C.L. Weller, L. Wang, H. Thippareddi & D.E. Burnon, 2005. Development of an integrated model for heat transfer and dynamic growth of *Clostridium perfringens* during the cooling of cooked boneless ham. *Int. J. Food Microbiol.* 101, 123-144.
2. Andersen, T.B. Hansen & S. Knöchel, 2004. Growth of heat-treated enterotoxin-positive *Clostridium perfringens* and the implications for safe cooling rates. *J. Food Prot.* 67 (1), 83-89.
3. Fazil, A.M., T. Ross, G. Paoli, P. Vanderlinde, P. Desmarchelier & A.M. Lammerding, 2002. A probabilistic analysis of *Clostridium perfringens* growth during food service operations. *Int. J. Food Microbiol.* 73, 315-329.
4. Jong, A.E.I. de, 2003. *Clostridium perfringens*: Spores & Cells, Media & Modeling. Proefschrift Wageningen Universiteit.
5. Juneja, V.K. & H. Thippareddi, 2004. Inhibitory effects of organic acid salts on growth of *Clostridium perfringens* from spore inocula during chilling of marinated ground turkey breast. *Int. J. Food Microbiol.* 93, 155-163.
6. Kalinowski, R.M., R.B. Tompkin, P.W. Bodnaruk & W.P. Pruett, Jr., 2003. Impact of cooking, cooling and subsequent refrigeration on the growth or survival of *Clostridium perfringens* in cooked meat and poultry products. *J. Food Prot.* 66 (7), 1227-1232.
7. Labbe, R.G. & V.K. Juneja, 2002. *Clostridium perfringens* in Foodborne diseases. Ed. D.O. Cliver & H.P. Riemann. Second Edition. Ac. Press, Amsterdam, 119-126.



Clostridium perfringens?

X 1000 (Gram-kleuring)

Sporen van *Clostridium perfringens* kunnen het pasteurisatieproces overleven en bij langzame afkoeling ontkiemen en uitgroeien tot hoge aantallen.

8. Olds D.A., A.F. Mendonca, J. Sneed & B. Bisaha, 2006. Influence of four retail food service cooling methods on the behaviour of *Clostridium perfringens* ATCC 10388 in turkey roasts following heating to an internal temperature of 74°C. *J. Food Prot.* 69 (1), 112-117.
9. Peck, M.W. & S.C. Stringer, 2005. The safety of pasteurised in-pack chilled meat products with respect to the foodborne botulism hazard. *Meat Sci.* 70, 461-475.
10. Sabah, J.R., V.K. Juneja & D.Y.C. Fung, 2004. Effect of spices and organic acids on the growth of *Clostridium perfringens* during cooling of cooked ground beef. *J. Food Prot.* 67 (9), 1840-1847.
11. Sánchez-Plata, M.X., A. Amézquita, E. Blankenship, D.E. Burson, V. Juneja & H. Thippareddi, 2005. Predictive model for *Clostridium perfringens* growth in roast beef during cooling and inhibition of spore germination and outgrowth by organic acids. *J. Food Prot.* 68 (12), 2594-2605.
12. Steele, F.M. & K.H. Wright, 2001. Cooling rate effect on outgrowth of *Clostridium perfringens* in cooked, ready-to-eat turkey breast roasts. *Poultry Sci.* 80, 813-816.
13. Taormina, P.J., G.W. Bartholomew & W.J. Dorsa, 2003. Incidence of *Clostridium perfringens* in commercially produced cured raw meat product mixtures and behaviour in cooked products during chilling and refrigerated storage. *J. Food Prot.* 66 (1), 72-81.
14. U.S. Department of Agriculture, 1999. Performance standards for the production of certain meat and poultry products. Final rule. *Fed. Reg.* 64, 732-749. Beschikbaar via: <http://www.fsis.usda.gov/> (geopend op 24/1/2006)
15. Zaika, L.L., 2003. Influence of NaCl content and cooling rate on outgrowth of *Clostridium perfringens* spores in cooked ham and beef. *J. Food Prot.* 66 (9), 1599-1603.

Jacques Houben en Frits Eckenhausen

Dr. ir. J.H. Houben, IRAS Divisie Volksgezondheid en Voedselveiligheid, Universiteit Utrecht, j.h.houben@vet.uu.nl en F. Eckenhausen, Eckenhausen WarmteTechnologie, Deventer, eckenhausen@wxs.nl.