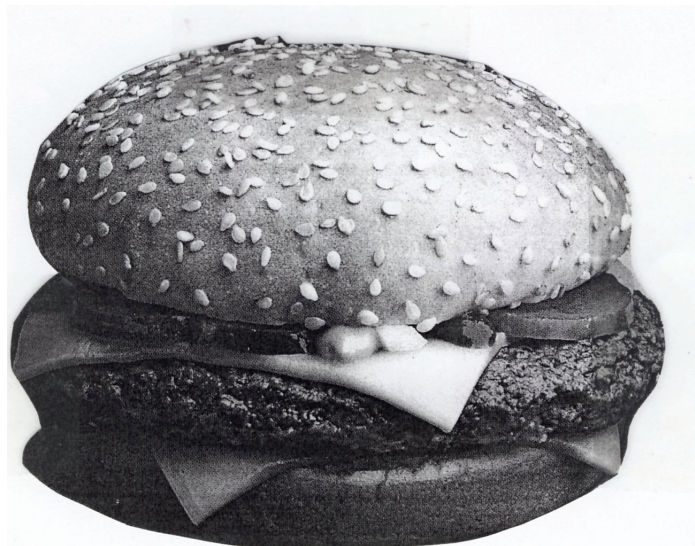




Problem med röda hamburgare efter tillagning – bakgrund och möjliga lösningar

Carina Gossas



Examensarbete

Institutionen för Livsmedelsvetenskap

Publikation nr 225

Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Food Science

Uppsala 2006



Problem med röda hamburgare efter tillagning – bakgrund och möjliga lösningar

Carina Gossas

Handledare: Gunilla Lindahl och Kerstin Lundström

Institutionen för Livsmedelsvetenskap

Publikation nr 225

Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Food Science

Uppsala 2006

Sammanfattning

Det har sedan länge varit känt att röd färg kan uppstå inuti hamburgare trots tillräckligt hög tillagningstemperatur. Fenomenet kallas ”persistent pink” och har uppmärksammats av forskare runt om i världen. Flertalet undersökningar har genomförts för att försöka förstå hur den röda färgen uppkommer, men någon lösning på problemet har ännu inte hittats. Det som man kommit fram till är att högt pH, mängd myoglobin och myoglobinform i köttet, handhavande av djur innan slakt såsom att utsätta dem för avgaser eller långvarig stress kan påverka hamburgarna negativt och ge röd färg. Livsmedelstillsatser, kontaminering med nitrat eller nitrit, organiska och ickeorganiska ämnen, och mikrobiologisk aktivitet är andra orsaker som på olika sätt kan ge röd färg inuti hamburgare.

I detta examensarbete undersöktes röda hamburgare där målet var att försöka förstå varför fenomenet uppstår och därefter kunna lösa problemet med uppkomst av röda hamburgare hos ett charkuteriföretag. Flertalet försök genomfördes där temperatur, tid, olika råmaterial och tillsatser testades. Egentillverkade hamburgare med tillsatserna kryddblandning, jästextrakt och även nollprover (enbart köttfärs) gjordes varpå de lagrades i olika antal dagar och temperaturer. Efter de olika lagringstiderna tillagades hamburgarna tills de uppnått en kärntemperatur av 80°C. När hamburgarna sedan avsvanat mättes färgen med ett Minolta-instrument, vilken mäter L*(ljushet), a*(röd-grön färg) och b*(gul-blå färg) men även reflektansspektra i våglängdsområdet 280-700nm. Resultaten visade att hamburgare som blandats med kryddblandning och som förvarats i flera dagar innan tillagning (mellan tre och fem dagar) hade något högre a*-värden, dvs. rödare färg. De högre värdena berodde på att det hade bildats röda prickar inuti hamburgarna. Även spektrat som man fick fram efter mätning av de rödprickiga hamburgarna visade sig överensstämma något mer med spektrat för röda hamburgare från charkuteriföretaget än övriga egentillverkade hamburgare. Det var dock inget spektrum som överensstämde helt med spektrat för de röda hamburgarna från charkuteriföretaget. Utifrån resultaten från mätningarna med Minolta-instrumentet kunde en statistisk principalkomponentanalys utföras. Den visade att de egentillverkade hamburgarna med röda prickar överensstämde väl med de röda hamburgarna. Hamburgare gjorda av DFD-kött (pH >6,2) och hamburgare med tillsatt kryddblandning hade även de stor likhet med de röda hamburgarna från charkuteriföretaget.

Analys av den mikrobiologiska aktiviteten visade att de röda hamburgarna från charkuteriföretaget hade höga värden. Det kan påverka färgen inuti hamburgarna negativt då bakterier kan reducera metmyoglobin till deoxymyoglobin, vilket kan bidra till röd färg efter värmebehandling. Resultaten visade även höga värden av jäst, men det är dock inte känt om jäst kan påverka färgen såsom vissa bakterier kan.

Extraktion av myoglobin från röda, normala och egentillverkade hamburgare gjordes och absorptions- och reflektansspektra mättes. Metoden visade sig enbart fungera på råa prover men där kunde man inte se någon skillnad mellan olika egentillverkade hamburgare, röda och normala hamburgare från charkuteriföretaget.

Slutsatsen utifrån detta försök är att tid och temperatur vid förvaring av hamburgersmet och färdiga råa hamburgare, råmaterial och tillsatser påverkar rödheten inuti hamburgarna efter värmebehandling. Exakt vilken tid och temperatur som behövs och vilka tillsatser som påverkar mest är inte klarlagt. Till detta är det också troligt att det behövs en ytterligare okänd faktor, t.ex. hög bakteriehalt, för att den röda färgen ska uppträda i hamburgarna.

Innehållsförteckning

INLEDNING	5
LITTERATURSTUDIE	6
MATERIAL OCH METODER	10
RÅMATERIAL.....	10
PROVHANTERING.....	10
Tillverkning, förvaring och provtagning av egentillverkade hamburgare.....	10
Värmebehandling av hamburgare.....	10
Försöksbeskrivning.....	11
<i>Försök 1</i>	11
<i>Försök 2</i>	11
<i>Försök 3</i>	11
<i>Försök 4</i>	11
<i>Försök 5</i>	12
FÖRSTUDIE AV HAMBURGERLINJEN.....	12
ANALYSER.....	13
pH-mätning.....	13
Färganalys.....	13
Pigmentanalys.....	13
Mikrobiologisk analys.....	13
RESULTAT OCH DISKUSSION	14
pH-MÄTNINGAR.....	14
EXTRAKTION AV MYOGLOBIN.....	14
FÄRGMÄTNING MED MINOLTA.....	15
Försök 1.....	15
Försök 2.....	16
Försök 3.....	17
Försök 4.....	19
Försök 5.....	19
PRINCIPALKOMPONENTANALYS.....	21
MIKROBIOLOGISK ANALYS.....	22
SLUTSATSER	23
SUMMARY	24
REFERENSER	25

Inledning

Köttkvalitet har visat sig vara olika för olika människor och i olika länder. Det finns många olika kvalitetsaspekter att ta hänsyn till vid valet av kött och köttprodukter. Utseende och köttfärg är några av de viktigaste kriterier som konsumenten går efter för att bedöma kött och köttprodukter. Varje djurart och muskel har särskilda karaktäristiska utseende och färg. Generellt så är muskelfärgen klar röd-rosa men i vissa fall kan den se brun-, lila- eller gråaktig ut (Warris, 2004).

Idag finns en uppsjö av olika förädlade köttprodukter som köttbullar, hamburgare, korv m.m. Det kan därför vara svårt för konsumenten att utvärdera sådana produkter. Färgen på produkten är viktig men likaså smak, textur, fettmängd osv. Många konsumenter tror att synbara tecken såsom färgförändring i kött är indikatorer på att maten är tillräckligt tillagad. Under senare år har forskare kommit fram till att färg och texturförändringar inte är tillräckligt tillförlitliga för att kunna bedöma om köttet är genomstekt vid tillagning (FSIS, USDA, 2003). Ett fenomen som kallas ”persistent pink” kan förekomma i tillagat nötkött och då särskilt i hamburgare. ”Persistent pink” innebär att köttet ser rosa ut (rå färg) fastän temperaturen överstigit + 80°C (Moiseev & Cornforth, 1999; Mendenhall, 1989). Orsaken till denna rödrosa färgutveckling i tillagat kött är omdiskuterad och kan bero på flera olika orsaker. Som exempel finns teorier om nitritkontaminering, bakteriepåverkan, myoglobinform, DFD-kött m.m., men ingen har hittills hittat någon lösning på problemet (Warren *et al.*, 1996; Ledward & Shaw, 1994; Mendenhall, 1989; Fox, 1966)

Syftet med detta arbete var att studera och förstå vad det är som påverkar att hamburgare blir röda inuti trots att de är tillagade till en hög kärntemperatur. Dessutom ingick även att försöka lösa problemet hos livsmedelsproducenten genom att se över produktionslinjen och informera personal om orsaken till detta problem.

Detta examensarbete har genomförts i samarbete med en mellanstor livsmedelsproducent i Sverige där material och andra hjälpmedel som de kunnat stå till förfogande med har använts. Institutionen för livsmedelsvetenskap, SLU, i Uppsala har bistått med handledarkompetens och utrustning för de laborativa momenten.

Litteraturstudie

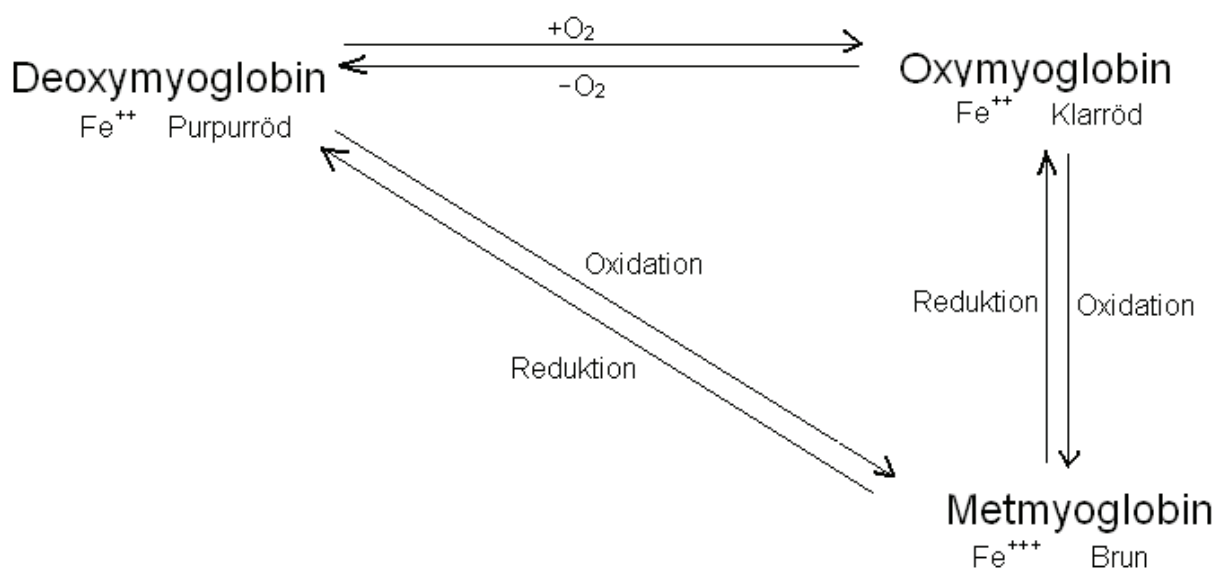
Kött är en produkt som ur kvalitetssynpunkt ofta bedöms utifrån färg, fetthalt och ibland även ursprungsland. En köttbit som är fräsch klarröd är önskvärd medan en som har en brunaktig yta och badar i vätska väljs bort av konsumenten. En tillagad köttprodukt däremot värdesätts för det mesta utifrån smak, mörhet och utseende (Warriss, 2004; Cornforth *et al.*, 1991). Köttets färg är viktig för konsumenten då den ses som en indikator hur färskt rått kött är och hur klart köttet är vid tillagning (Boyle, 1994).

Hamburgare är en snabbmatsprodukt som är baserad på nötkött med en fetthalt på ungefär 20-23 %. De går att köpa som halvfabrikat och göra i ordning hemma, men många köper dem på restaurang eller kiosk, med eller utan diverse tillbehör. Det har visat sig att färgfel kan förekomma vid tillagning av hamburgare, vilket därmed inneburit reklamationer och klagomål hos producenten (H. Linnér, personligt meddelande, 2006). Detta är ett kvalitetsproblem i första hand och i längden kan det bli dyrt för producenten då produkter med detta fel inte tilltalar konsumenten och väljs bort (King *et al.*, 2006). Det kan också leda till att konsumenten slutar äta nötkött och istället använder sig av en annan proteinrik föda (Kropf & Hunt, 1998).

Escherichia coli O157:H7 (EHEC) är en av de vanligt förekommande bakterierna i nötfärs som kan orsaka sjukdom (Adams and Moss, 2000; livsmedelsverkets hemsida, 2006-05-20). I USA har man noggranna riktlinjer för hur man ska steka en hamburgare för att den ska vara tillräckligt genomstekt för att undvika utbrott av EHEC. Förr har man gett rådet att se efter så att köttet inte har kvar någon rosa färg inuti som indikator på tillräckligt genomstekt kött. Det har visat sig vara en dålig indikator på tillräcklig upphettning och därför råder livsmedelsverket i USA konsumenter att upphetta hamburgare och färsbiffar till minst 71°C för att undvika eventuella livsmedelsburna sjukdomar (USDAs hemsida, 2006-05-26). Även här i Sverige har Livsmedelsverket liknande rekommendationer (upphettning till minst 70°C) för att undvika smitta från EHEC (Livsmedelsverkets hemsida, 2006-05-20). Orsaken till att Livsmedelsverket ger rekommendationer för tillagning av hamburgare och färsbiffar är att det finns två olika fenomen som kan uppstå vid tillagning, och som kan lura konsumenten. ”Premature browning” (PMB) är ett fenomen som innebär att färsbiffen ser brungrå och färdig ut inuti trots en alltför låg kärntemperatur (Hauge *et al.*, 1994). ”Persistent pink” (PP) är ett annat fenomen som gör att färsbiffen ser rosa ut inuti efter tillagning, trots kärntemperaturer väl över vad som normalt ger färgomslag till brunt (Moiseev & Cornforth, 1999; Van Laack *et al.*, 1996; Trout, 1989).

Färg och färgstabilitet i kött är en viktig parameter inom köttindustrin och det sker mycket forskning på området. Färgen på kött beror på hempigmenten myoglobin, hemoglobin (Fox, 1966) och cytokrom c (Mancini & Hunt, 2005) och på vilken kemisk status de har. Av dessa pigment är det myoglobin som har störst betydelse för köttfärgen. Hemoglobin ger blodet dess färg och står för upp till 20-30 % av färgpigmenten i kött. Kemiska reaktioner och förändringar är likartade för myoglobin och hemoglobin, även om förändringshastigheten är olika. Därför anser vissa att man ska ta båda pigmenten i beaktande när man undersöker köttfärg och färgförändringar (Fox, 1966). Mängden myoglobin påverkar också färgen och är olika i olika muskler och varierar beroende på art, ålder och utfodringssystem. Även yttre parametrar som förhållanden före slakt, utförandet av slakten och oxygenerings- och oxidationsprocesser i köttet under mörning spelar roll (Honikel, 1997). Dessa yttre parametrar kan ge struktur och pH-förändringar som resulterar i färg- och kvalitetsdefekter som DFD (pH >6,2) eller PSE-kött (45 minuter *post mortem* har köttet ett pH under 6,) (Warriss, 2004).

Myoglobinet har tre olika kemiska former som påverkar köttets färg (figur 1). I sin ursprungsform är myoglobinet purpurrött och är synlig på en nyskuren yta av en köttbit. Den formen kallas deoxymyoglobin och innebär att hemgruppen inte har någon sjätte ligand bunden till sig och att järnet är tvåvärt. Om deoxymyoglobinet exponeras för syre sker en oxygenering och den kemiska formen ändras genom att hemgruppen får syre som ligand. Då detta uppstår sker en så kallad blomning i köttet och en klarröd färg uppträder, vilken är mycket uppskattad av konsumenten. Under blomningen fortsätter järnet att vara tvåvärt och det är inte förrän det sker en oxidation av myoglobinet till metmyoglobin, som järnet blir trevärt. Oxidationen resulterar i att en brunaktig färg uppträder. Förutom syretillgången och syrets partiella tryck så påverkas oxidation av temperatur, pH, reducerande förmåga, lagringstid och ibland tillväxt av mikroorganismer. Metmyoglobinet kan reduceras tillbaka till deoxymyoglobin och den reaktionen är viktig för köttfärgen (Warren *et al.*, 1996). Den reducerande kraften är begränsande och minskar med ökad mörning av köttet p.g.a. att enzymaktiviteten sjunker. Låg temperatur påverkar reduktionskraften i köttet positivt, man ser ofta att kött som förvaras i kylskåpstemperaturer har en klarröd färg (Warriss, 2004).



Figur 1. Myoglobinet's olika redoxformer och förhållandet mellan dem (Lindahl, 2005; King & Whyte, 2006).

För att mäta och utvärdera färgen i råa och stekta hamburgare och färsbiffar har man ofta använt sig av mätning med instrument och/eller en tränad panel. Minolta-instrumentet är en enkel och smidig analysmetod som mäter färgvärden i tre olika koordinater, L* (ljushet), a* (röd-grön) och b* (gul-blå), men även reflektansspektra mellan 280 och 720 nm (Warriss, 2004). Har man en tränad panel som utvärderar köttfärgen måste man vara noga med att ha rätt sorts ljus och intensitet av ljuset för att det ska bli ett bra resultat, det vill säga undvika fotooxidation och att lamporna ger ifrån sig ett onormalt färgskimmer. Dessutom måste man vid panelbedömning sätta upp ett poängsystem som panelen använder sig av. Poängsystemen kan variera en del beroende på vem som satt upp försöket och det kan därför vara svårt att jämföra resultaten mellan olika studier (Mancini & Hunt, 2005). Ytterligare sätt att utvärdera köttfärgen är att ta kort med en digitalkamera och sedan analysera färgen via ett datorprogram som ger en statistisk beräkning av köttfärgen (Manchini & Hunt, 2005; O'Sullivan *et al.*, 2003). Det är också möjligt att använda sig av mätning med en kolorimeter eller spektrofotometer (Mancini & Hunt, 2005). Krzywicki utvecklade i början av 80-talet en metod och en ekvation för att med hjälp av spektrofotometri mäta den relativa proportionen av myoglobinredoxformer i utspätt köttextrakt. Denna ekvation har använts av många, men

man upptäckte slutligen att den gav negativa värden för kött som var väldigt färskt eller välhängt. Därför omvärderades Krzywickis resultat och genom beräkningar kom man fram till nya våglängder som överensstämde bättre för bestämning av olika myoglobinform (Tang *et al.*, 2004).

Det tillstånd myoglobinet befinner sig i innan tillagningstillfället påverkar färgen hos nötfärsbiffar när de är tillagade (Warren *et al.*, 1996). Därför är det viktigt att köttet har ”rätt” myoglobinform och att myoglobinet har en viss stabilitet för att inte ändra sig mellan sina olika former. Vid tillagning av färsbiffar har Warren *et al.* (1996) kommit fram till att PMB ofta uppträder i oxidativ miljö i biffarna, d.v.s. myoglobinet förekommer i form av oxymyoglobin, medan reducerat deoxymyoglobin ger normal eller i vissa fall röd-rosa färg.

Då myoglobinet denatureras vid tillagning sker en färgförändring från rött till brungrått. När ”persistent pink” (rosa färg) uppstår sker inte denna färgförändring. Vid utveckling av denna rosa färg i tillagat kött har man genom spektrofotometriska studier påvisat att både myoglobin och cytokromer kan vara en del av orsaken till den rosa färgen, och det betyder därför inte nödvändigtvis att köttet är otillräckligt tillagat bara för att det ser rosa ut (Girard *et al.*, 1990). Den mest kända orsaken till rosaröd färg i tillagat kött är högt pH och därtill även en hög pigmentkoncentration, vilket till viss del hindrar fullständig denaturering av myoglobinet (Mendenhall, 1989). Mendenhall (1989) visade att stekta nötfärsbiffar som uppnått en temperatur av 71°C och har högre pH än 5,7 har en tydlig rosaröd färg inuti. Köttprover med hög koncentration av pigment visade också högst färgintensitet. Man såg även att kött från tjurar hade något högre pH och högre koncentration pigment än kor och kalvar. Resultatet gav idén att pH kanske borde inkluderas i specifikationen för råmaterialet som hjälp till konsumenten för rätt tillagning av köttet. Trout (1989) kom fram till att kött med högt pH uppvisade rosa färg vid tillagningstemperatur under 76°C på grund av ofullständig denaturering av myoglobin. Rosa färg vid tillagningstemperaturer över 76°C uppkom troligtvis på grund av bildning av ett rosa hemokrom. Han tittade även på hur olika parametrar påverkar myoglobindenaturering vid olika tillagningstemperaturer (55-83°C). Resultatet visade att natriumklorid och natriumtripolyfosfat ökade myoglobindenatureringen, medan högt pH gav motsatt resultat. Trots att natriumtripolyfosfatjoner har en förmåga att minska rosa färg i tillagat kött så har det även en pH-höjande effekt vilket har en starkare påverkan på köttfärgen och därmed också bidrar till rosa färg i kött. Rekommendationen var därför att inte använda natriumtripolyfosfat på grund av dess pH-höjande förmåga och istället använda andra fosfatföreningar med lägre pH.

Vissa typer av hemokromer kan under särskilda förutsättningar utveckla rosa färg. Denaturerat myoglobin där järnet finns i tvåvärd form kan i vissa fall reagera med aminosyror, denaturerade proteiner och andra kvävekällor i muskeln och därigenom skapa ett rosa hemokrom (Dymicky *et al.*, 1975). Rosa hemokrom eller ”persistent pink” uppkommer sporadiskt och det är oklart varför det sker. Det kan uppkomma under reducerande förhållanden och det som mest påverkar om det händer är redoxpotentialen i köttet (Cornforth, 1989). I reducerande miljö kan också rosa hemokrom skapas genom reaktion mellan hemgruppen i myoglobinet och nikotinamid, som finns naturligt i muskler. Reaktionen är dock till viss del beroende av nikotinamidkoncentrationen i muskeln (Cornforth *et al.*, 1986). Reducerande miljö i och på kött har man även kunnat se efter hög bakteriell påverkan. Vissa bakterier har en förmåga att reducera metmyoglobin till deoxymyoglobin genom att de använder upp allt syre (Arihara *et al.*, 1993, Satterlee & Hansmeyer, 1974). Kropf (1998) menar att reducerat hemokrom och värme tillsammans är nödvändiga för att röd färg ska

uppstå. Genom att tillsätta ett oxiderande ämne eller ett ämne med lågt pH är användbart för att undvika ett reducerat förhållande i köttet och därmed få en normal färg på köttet.

Andra orsaker som kan ge upphov till rosa färg i tillagat kött är om hamburgarna i produktionslinjen kontamineras av olika ämnen (Trout, 1989). Flertalet organiska och ickeorganiska föreningar kan ge stabil rosa färg, liknande den för nitritbehandlat kött (Dymicky *et al.*, 1975). Ammoniak har högt pH och kan resultera i utveckling av liknande rosa färg som hemokromer kan ge (Shaw *et al.*, 1992). Ammoniak kan finnas i rengöringsmedel och utrustning som används inom livsmedelsindustrin (Kropf, 1998). Nitrosohemokrom, pigmentet som ger den rosa färg effekten i rimmat kött, uppkommer om nitrat, nitrit eller kväveoxider finns i köttet (Kropf, 1998; Fox, 1966). Nitrit eller nitrat kan tillföras bl.a. genom processutrustning eller vatten (Kropf, 1998). Nitrat måste däremot omvandlas av bakterier till nitrit för att ge rosa färg (Ledward & Shaw, 1994). Grönsaker såsom morot, selleri, lök m.m. innehåller nitrater och tillsätts ibland i olika köttberedningar. Förvaras köttmixen i kylrum över natten innan produktion, kan bakterier omvandla nitraten till nitrit, vilket i sin tur ger en rosa färg till den tillagade köttprodukten (Kropf, 1998). Om man kombinerar skinka, som beretts med nitrit, och färskt nötkött till en köttprodukt kan den tillagade slutprodukten ha utvecklat en rosa färgnyans. Detta kan uppstå med en inblandning av bara 5 % nitritbehandlad skinka (Boyle, 1994). Man har sett att så låg nivå som 40 ppm nitrit ger mätbar färg av nitrit i köttberedningar (G. Lindahl, personligt meddelande, 2006). Nitrosohemokrom och nikotinamid-hemokrompigment har unika reflektans- och absorptionskaraktärer vid specifika våglängder. Att mäta absorptionspektra kan ge ledtrådar till vilken status myoglobinet har och därmed vara en hjälp för att hitta orsaken till den rosa färgen (Kropf & Hunt, 1998).

Kväveoxider från frysutrustning eller utsläppsgaser kan binda till myoglobin och därmed ge rosa färg i tillagat kött (Kropf, 1998). Kolmonoxid är en annan gas som binder till myoglobinet och ger en klarröd färg i färskt kött. Den gasen kan användas för förpackning av färskt kött i modifierad atmosfär och kan ge lite röd färg hos tillagat kött (Shaw, 1994; Cornforth *et al.*, 1991). Även kolmonoxid från bilavgaser och som inandas av djur innan slakt och tillagning av kött i gasugnar kan vara en förklaring till rosa färg i tillagat kött (Kropf, 1998; Trout, 1989).

Genom att påverka kött på olika sätt har man försökt eliminera uppkomsten av rosa färg efter tillagning. Erytrobatsyra, som är en isomer till askorbinsyra men inte har någon C-vitamineffekt, har visat sig fungera som en antioxidant som stabiliserar både färg och smak i färskt kött. Man har trott att erytrobatsyra skulle kunna förhindra PMB på grund av dess förmåga att behålla den röda färgen i färskt kött och detta kan i sin tur vara fördelaktigt ur ett livsmedelssäkerhetsperspektiv (Phillips *et al.*, 2001). Phillips *et al.* (2001) studerade effekten av erytrobatsyra och om det hade någon påverkan på tillagad nötfärs. Det visade sig att erytrobatsyra inte påverkade färgen vid 10 timmars förvaring, men gav däremot viss färgpåverkan efter 58 timmar (högre a*-värden). Den längre förvaringstiden gav behandlingen av erytrobatsyran tid att ge effekt och med mindre oxidativ stress och omvandling från oxy- till metmyoglobin. Tillsats av erytrobatsyra hade dock inte någon effekt vid tillagningstemperaturer över 71°C. Lavelle *et al.* (1995) gjorde försök med att tillsätta vitamin E i fodret till nötkreatur, men det visade sig att tillsats av vitamin E inte påverkade färgen på tillagade färsbiffar. Vitamin E orsakade inte PMB eller PP och det påverkade heller inte nivån av oxidation-reduktionspotentialen.

Trots många olika försök har forskarna alltså inte kommit fram till någon konkret lösning på problemet med ”persistent pink”. Vad de flesta har sett är att högt pH och hög myoglobinmängd kan ge upphov till PP. Därför rekommenderar flera forskare att producenter undviker användning av DFD-kött i stor mängd vid produktion av hamburgare (Abril *et al*, 2001; Kropf, 1998; Trout, 1989; Mendenhall, 1989). Problemet uppkommer dock ibland sporadiskt och utan synbar förklaring. ”Persistent Pink” eliminerades i ett försök med hjälp av mjölksyra, kalciumperoxid (CaO₂) och brunaktig karamellfärg (Moiseev & Cornforth, 1999). Det återstår att se vilka andra parametrar såsom smak och livsmedelssäkerhet som påverkas vid sådana tillsatser.

Material och metoder

Råmaterial

Normala och röda hamburgare från olika tillverkningsdatum hämtades från charkuteriföretaget och förvarades i frystemperatur (-20°C) innan de användes i laborativa experiment. Vid tillverkning av egna hamburgare användes färsk köttfärs inköpt från en lokal livsmedelsbutik eller fryst köttfärs från ett svenskt livsmedelsföretag. Kryddblandning, jästextrakt och natriumglutamat som användes i försöken var de som normalt användes av charkuteriföretaget.

För försöket med hamburgare bestående av DFD-kött hämtades kött från styckningen hos charkuteriföretaget. pH-mätningar på helfall gjordes på plats i helfallskylen hos charkuteriföretaget, men även i styckningen där pH mättes på styckade detaljer. Mätningarna gjordes i *M. longissimus dorsi* vid parteringsstället mellan 10:e och 11:e revbenen.

Provhantering

Tillverkning, förvaring och provtagning av egentillverkade hamburgare

Vid tillverkning av egna hamburgare följdes receptet som charkuteriföretaget använder sig av. Receptet räknades om så att det passade försöken på laboratoriet. Recept för hamburgare med andra tillsatser räknades ut genom omarbetning av grundreceptet. Hamburgare gjorda på enbart köttfärs utan någon tillsats (nollprov) användes till varje försöksomgång. Hamburgare formades till stora tillplattade köttbullar som vägde 40, 50 eller 150 g beroende på försöksomgång. Därefter placerades de i vakuumpåsar och packades i ett lättare vakuum (Multivac, Sepp Haggenmüller KG., Tyskland). Förvaring av hamburgarna följde den försöksplanering som var utarbetad för varje försökstillfälle, vilket innebar förvaring vid olika temperaturer och olika antal dagar.

Värmebehandling av hamburgare

Vid användandet av alla tillagade hamburgare i experimenten, upphettades de till 80°C i vattenbad (11 DT-1, Heto-Holten A/S, Alleröd, Danmark). Hamburgare från charkuteriföretaget lades i vakuumpåsar och förslöts utan att vakuumpackas. Vid värmebehandlingen nedsänktes hamburgarna i vattenbad och hölls på plats med hjälp av en metallställning. Temperaturen övervakades med hjälp av en instickstermometer (Line Seiki Thermometer TC-1100, Peritronic, Gunnebo, Sverige). Då hamburgarna uppnått en kärntemperatur av 80°C togs de ur vattenbadet och avsvalnade under rinnande kallt vatten innan vidare analyser. De egentillverkade hamburgarna tillagades och avsvalnade på samma sätt.

Försöksbeskrivning

Försök 1

Normala och röda hamburgare från charkuteriföretaget tinades och färgen mättes med Minolta inuti de råa hamburgarna efter horisontell delning. Odelade hamburgare placerades i vakuumpåsar och tillagades. Efter avkylning delades hamburgarna horisontellt och färgen mättes åter igen med Minolta.

Försök 2

Hamburgare av köttfärs köpt i butik med tillsats av jästextrakt eller nitrit samt köttfärs med högt pH (efter tillsats av NaOH) eller med enbart köttfärs utan någon tillsats (nollprov) tillverkades. En hamburgare (150 g) med varje tillsats gjordes, varefter de placerades i 4°C i ett dygn. Därefter togs råa prover om 1g för extraktion av myoglobin. Efter tillagning och efter nedkylning av hamburgarna togs ytterligare prover för extraktion av myoglobin.

Försök 3

Hamburgare gjordes på tinad köttfärs som antingen frystes in samma dag som den maldes (dag 0) eller lagrades 8 dagar i modifierad atmosfär med hög syrehalt före infrysning (dag 8). Tre olika sorters hamburgare gjordes av varje köttfärsvariant: kryddblandning, jästextrakt och nollprov. Dessa placerades i 4°C i noll till fem dagar eller i 25°C i två dagar (tabell 1). Efter varje dag värmebehandlades proverna.

Tabell 1. Antal prover, lagringsdagar, temperatur och mängd köttfärs som behövdes för försök 3. Varje hamburgare vägde 50 g

Dag	Temperatur (°C)	Antal prover	Mängd (g)
0	-	6	300
1	4 eller 25	12	600
2	4 eller 25	12	600
3	4	6	300
4	4	6	300
5	4	6	300

Försök 4

Köttfärs infrost dag 0 användes och hamburgare med kryddblandning eller jästextrakt samt ett nollprov blandades till. Dessa förvarades i 4°C eller 9°C mellan noll till fem dagar, och i två dagar i 23°C (tabell 2). Efter varje dag samlades proverna ihop och lades i frysen (-20°C). En vecka senare tinades och tillagades proverna.

Tabell 2. Antal prover, lagringsdagar, temperatur och mängd köttfärs som behövdes för försök 4. Varje hamburgare väger 40 g

Dag	Temperatur (°C)	Antal prover	Mängd (g)
0	-	3	120
1	4, 9 eller 23	9	360
2	4, 9 eller 23	9	360
3	4 eller 9	6	240
4	4 eller 9	6	240
5	4 eller 9	6	240

Försök 5

För tillverkning av hamburgare med DFD-kött maldes köttet (Electrolux Assistent N4, Sverige; hålskiva 3mm). Hamburgare med kryddblandning eller jästextrakt tillverkades och förvarades i 4 eller 8°C mellan noll och fem dagar. Prover förvarades även i 23°C i två dagar (tabell 3). Hamburgarna frystes in efter respektive antal lagringsdagar. Efter alla prover frysts in tinades de i rumstemperatur ca 1-2 timmar och värmebehandlades.

Tabell 3. Antal prover, lagringsdagar, temperatur och mängd köttfärs som behövdes för försök 5. Varje hamburgare vägde 40 g

Dag	Temperatur (°C)	Antal prover	Mängd (g)
0	-	2	100
1	4, 8 eller 23	3	150
2	4, 8 eller 23	3	150
3	4 eller 8	2	100
4	4 eller 8	2	100
5	4 eller 8	2	100

Förstudie av hamburgerlinjen

En studie av hamburgerlinjen hos charkuteriföretaget gjordes för att förstå hur produkten hanterades och vilka steg som ingick vid produktionen. Plan över hamburgerlinjen ses i figur 2.

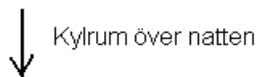
1. Styckning och uppsamling av Nöt III -sortering



2. Satsning och saltning → fettanalys



3. Malning och blandning av hamburgersmeten



4. Stansning



5. Frysning och paketering

Figur 2. Schematisk bild över hamburgerlinjen där maximala antal dagar som det kan ta att producera hamburgare är angivna.

Analyser

pH-mätning

För bestämning av pH tinades både normala och röda hamburgare varpå de delades horisontellt. Inuti hamburgarna plockades rödrosa kött ut med pincett och ca 1 gram placerades i ett homogeniseringsrör. Vid bestämning av pH i egentillverkade hamburgare togs ca 1 gram ur smeten när de var färdigblandade med kryddor eller tillsatser. Även ren köttfärs analyserades. Till köttet tillsattes 10 ml 0,15 M KCl och med hjälp av en gaffel rördes proven om ordentligt. När blandningen sedan stått i ca 1 timme i rumstemperatur mättes pH med en bärbar pH-meter (WTW pH340, Christian Berner AB, Partille, Sverige), försedd med en gelelektrod (Xerolyte®, SE104, Knick Berlin, Tyskland).

Färgmätning

Normala och röda hamburgare togs fram ur frysen och tinades i rumstemperatur (22-25°C) ca 2 timmar. Därefter värmebehandlades hamburgarna i vattenbad och efter avsvälning delades de horisontellt och färgen mättes med spektrokolorimeter (Minolta CM-2500d, Konica Minolta Sensing inc., Japan). Plastfolie lades på hamburgarna innan mätning för att inte Minoltans mät huvud skulle bli kladdig av köttsaft. Även några mätningar av råa normala och röda hamburgare gjordes och där mättes även hamburgarnas yta. Minolta har en tredimensionell skala och mäter L* (Ljushet), a* (rött +, grönt -) och b* (gult +, blått -). Fyra mätningar gjordes på varje hamburgare och ur dessa beräknades ett medelvärde. Vid mätningarna registrerades även reflektansspektra mellan 360 till 740nm. Egentillverkade hamburgare analyserades enbart efter tillagning och färgen mättes på samma sätt som de röda och normala hamburgarna.

Pigmentanalys

Hempigmenten extraherades och analyserades spektrofotometriskt enligt en metod från Trout (1989) och Warriss (1979). Både råa och tillagade röda, normala och egentillverkade hamburgare analyserades. Prover om ca 2 g lades i homogeniseringsrör och 10 ml 0,04 M natriumfosfatlösning (pH 6,8) tillsattes. Därefter homogeniserades proverna med ultra-turrax (Janke&Kunkel, IKE Werke, Tyskland) i 20 sekunder och med en hastighet av 9500 varv/min för de råa proverna och 13500 varv/min i 1 minut för de tillagade proverna. Under homogeniseringen hölls proverna i isbad för att hålla temperaturen nere. Mellan varje prov kördes homogeniseringsstaven i destillerat vatten och torkades sedan av. Efter homogeniseringen centrifugerades proverna (Sorvall Super T21, Sorvall Products L.P, Newton, Connecticut, USA) i 4°C med en hastighet av 10000 varv i minuten i 10 minuter. Supernatanten filtrerades sedan genom ett filterpapper (Munktell, nr 00K). Filtratet samlades upp i provrör och spektrat mättes mellan $\lambda=300-700\text{nm}$ i en spektrofotometer (Shimadzu UV-2401PC, UV-VIS recording spectrometer). Till vissa av proverna tillsattes ca 3 mg natrium ditionit till 2 ml filtrat för att få en reducerande miljö. Därefter mättes proverna över samma våglängder som tidigare.

Mikrobiologisk analys

Normala hamburgare från charkuteriföretaget analyserades vid Steins Laboratorium för bestämning av totalantal bakterier och salmonella. Röda hamburgare analyserades hos samma företag för bestämning av totalantal bakterier och jäst. Ingen mikrobiologisk analys gjordes av de egentillverkade hamburgarna.

Resultat och diskussion

pH-mätningar

Råa hamburgare och köttfärs visade sig ha normala pH-värden (tabell 4 och 5). Onormalt pH kan påverka hamburgarna på olika sätt och kan till exempel bero på DFD-kött, olika tillsatser, kemisk kontaminering eller mikrobiologisk tillväxt. pH för egentillverkade hamburgare med kryddblandning låg något längre än pH i hamburgarna från charkuteriföretaget och vad det beror på är svårt att veta, men troligtvis spelar pH i råmaterialet (köttfärsen) störst roll.

I litteraturen finns dokumenterat att pH kan påverka köttets färg efter tillagning. Kött som har ett pH över 6 är svårare att tillaga till rätt temperatur och kan se rött ut inuti. Det är ett fenomen som kallas ”hard to cook” och beror på att högt pH skyddar proteinerna från att denatureras till dess att de uppnått en viss temperatur (Mendenhall, 1989). Vid tillagning av de egentillverkade hamburgarna med förhöjt pH och DFD-hamburgare uppgick temperaturen till 80°C vilket är tillräckligt högt för att undvika ”hard to cook” fenomenet. Det var tydligt att de inte var mer röda än normala hamburgare, vilket styrktes av färgmätning med Minolta (tabell 6 och 7).

Tabell 4. pH-värden för råa normala, röda hamburgare och egentillverkade hamburgare med kryddblandning och hamburgare gjorda på DFD-kött

Normal	Röd	Med kryddblandning	DFD-hamburgare ¹
5,82	5,66	5,29	5,97
5,82	5,69	5,34	5,95
5,83	5,72	5,27	5,97
5,82	5,70	-	-

¹ Hamburgare gjord på DFD-kött och kryddblandning.

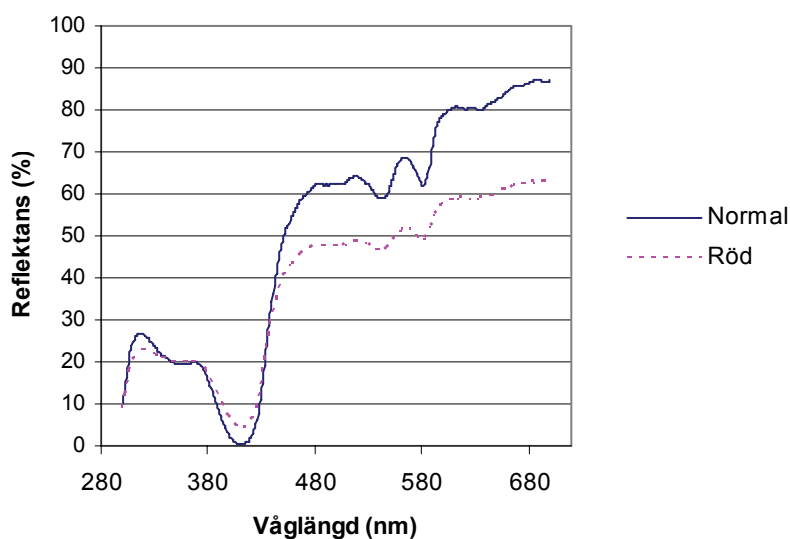
Tabell 5. pH-värden för normal och DFD-köttfärs

Normal köttfärs	DFD-köttfärs
5,64	6,12
5,69	6,16
5,70	6,13

Råa hamburgare gjorda på DFD-kött visade högt pH även om pH sjunkit om man jämför med pH i den råa DFD-köttfärsen. Att pH sjunker då köttfärs blandas med kryddblandning sker även när kryddblandning blandats med normal köttfärs. Om denna tendens även stämmer för de hamburgare som är gjorda hos charkuteriföretaget, så måste köttfärsen de använt ha ganska högt pH, då de råa normala hamburgarna har ett pH på ca 5,8. De röda hamburgarna har också ett ganska högt pH om än inte lika högt som de normala hamburgarna. Vad det har för betydelse att hamburgarna har högt pH är svårt att säga, men kanske kan det ge en något fördröjd proteindenaturering vid tillagning. Det innebär i så fall att det kan behövas något längre tillagningstid eller högre temperatur. Högt pH i de råa hamburgarna verkar dock inte vara förklaringen till den röda ”persistent pink” färgen i hamburgarna.

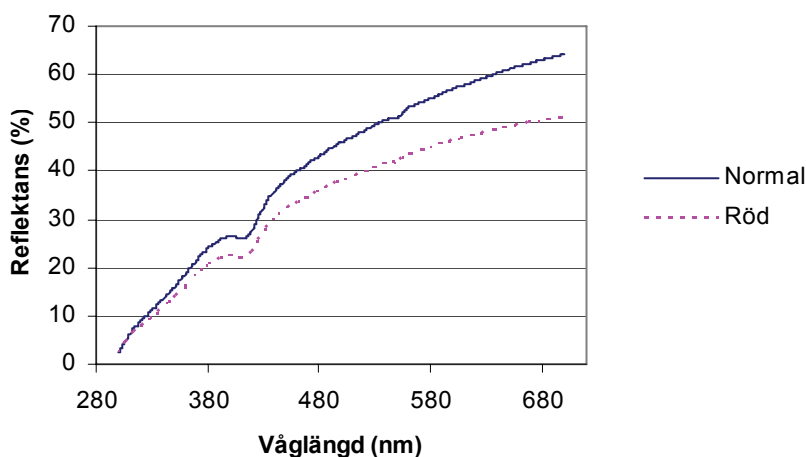
Extraktion av myoglobin

För att extrahera myoglobin användes en metod från Trout (1989) och Warriss (1979). Vid extraktion av råa hamburgare fungerade metoden bra och vid mätning i spektrofotometern fick man fram ett normalt spektrum för myoglobin. Det fanns inte någon skillnad i kurvans form mellan råa normala och röda hamburgare (Figur 3).



Figur 3. Spektrum (300-700nm) uppmätt i normala och röda råa hamburgare, mätt på extraherat myoglobin.

Extraktionsmetoden visade sig inte fungera på de tillagade proverna. Proteinerna och hemgrupperna i köttet efter värmebehandling visade sig vara olösliga i den fosfatbuffert som användes. Mätning av extrakten för de värmebehandlade proverna gav ett okaraktäristiskt spektrum (figur 4). Någon annan metod att extrahera proteinerna från råa och denaturerade köttprover hittades inte.



Figur 4. Spektrum (300-700nm) uppmätt i värmebehandlade normala och röda hamburgare, mätt på extraherat myoglobin.

Färgmätning med Minolta

Försök 1

För att få en uppfattning om hur de normala och röda hamburgarna skiljde sig åt i färgen mättes färgen på både råa och värmebehandlade hamburgare (tabell 6). Resultatet visar att råa röda hamburgare har ett högre a^* -värde än normala hamburgare. Efter värmebehandling sjunker a^* -värdet för både röda och normala hamburgare ungefär lika mycket, runt 3,7

enheter. Efter värmebehandlingen är det en större visuell skillnad mellan rödheten hos hamburgarna, vilket inte syntes lika väl hos de råa hamburgarna.

Tabell 6. Färgmätning med Minolta på hamburgare från charkuteriföretaget

	L*	a*	b*
Normal, rå	46,5	8,2	14,5
Röd, rå	45,1	11,1	16,1
Normal, värmebehandlad till 80°C	51,3	4,3	12,5
Röd, värmebehandlad till 80°C	50,0	7,5	11,2

Försök 2

Ett försök med olika köttfärsblandningar gjordes för att se hur man skulle kunna utveckla och gå vidare med projektet. Hamburgare med tillsats av antingen jästextrakt eller nitrit, hamburgare gjord på köttfärs med förhöjt pH och ett nollprov (enbart köttfärs) tillverkades. Nitrit togs med för att se om det möjligtvis kunde vara inblandning av nitritbehandlat kött eller nitritsalt i hamburgarna som gav upphov till den röda färgen. Den spekulationen grundade sig på att man hanterar nitrit i fabriken hos charkuteriföretaget. Dessutom kan nitrat, som t.ex. finns i olika grönsaker och i vatten, omvandlas till nitrit via bakterietillväxt (Kropf, 1998; Ledward & Shaw, 1994). Undersökningar av den mikrobiologiska aktiviteten i röda hamburgare har visat att det är höga mikrobiologiska nivåer (tabell 8) som skulle kunna påverka hamburgarna på något sätt. Efter tillagningen var nitrihamburgaren synbart mycket röd, vilket även a*-värdet visar (tabell 7).

Tabell 7. Inblandning av olika tillsatser i egentillverkade hamburgarna. Färg uppmätt med Minolta efter värmebehandling (80°C)

	L*	a*	b*
Nollprov ¹	54,1	5,6	14,9
Jästextrakt ² , 2 %	51,4	5,6	13,9
Högt pH (>6,2) ³	52,5	5,9	13,3
Nitrit ²	51,5	14,3	11,7
Röd hamburgare ⁴	50,0	7,5	11,2

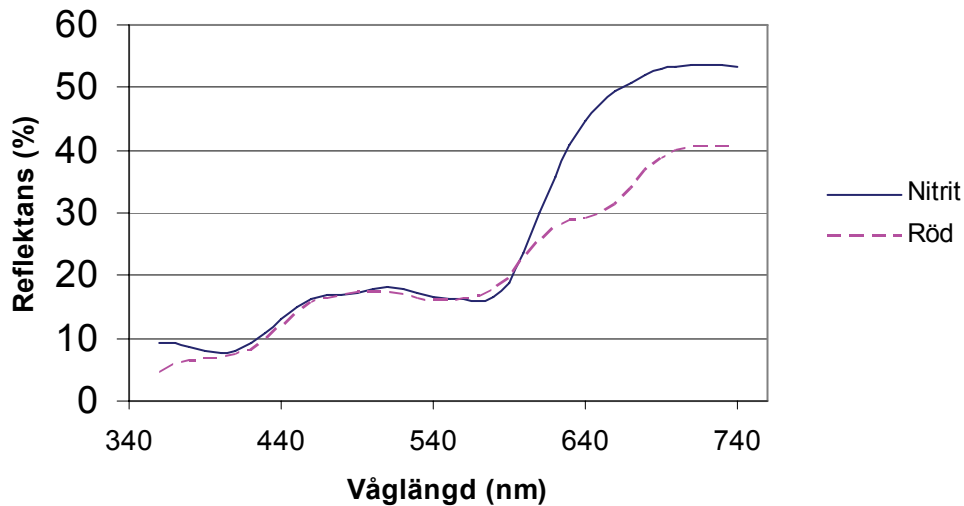
¹Hamburgare gjord på normal köttfärs utan tillsatser

²Koncentrationen avser inblandning i normal köttfärs med 1,6 % salttillsats

³Tillsats av NaOH i normal köttfärs med 1,6 % salttillsats

⁴Röd hamburgare från charkuteriföretaget.

Mätning av de tillagade proverna visar att spektrat för hamburgaren med tillsatt nitrit var helt annan än spektrat för röda hamburgare (figur 5). Det innebär att nitrit kan uteslutas som orsak till uppkomsten av röda hamburgare.

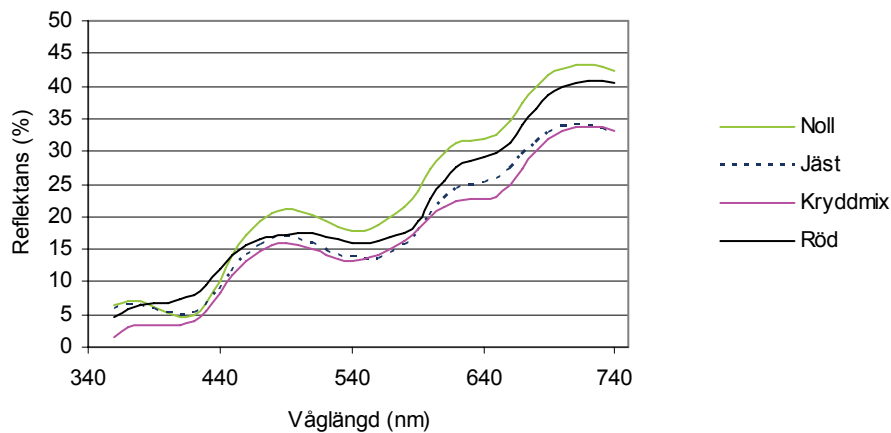


Figur 5. Spektrum över röda och nitritbehandlade hamburgare mätt med Minolta.

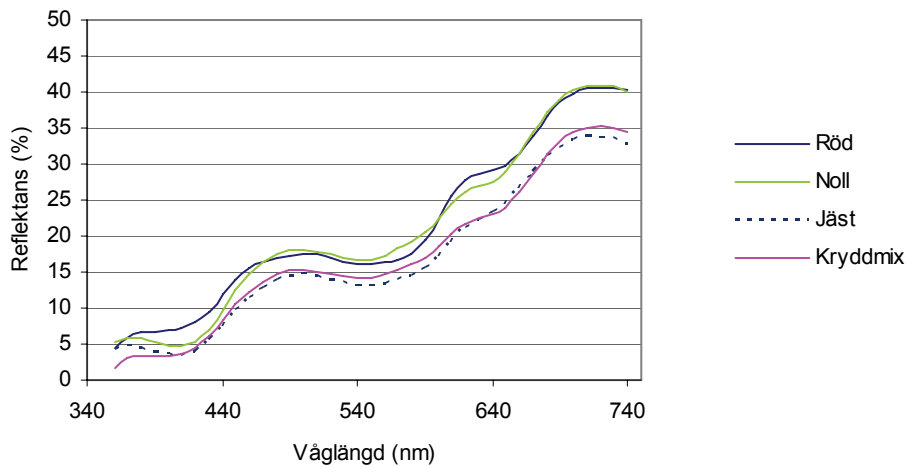
Trots att resultaten visade att nitrit inte är orsaken till röda hamburgare ska man för säkerhets skull vara noga med och försöka eliminera risk för att onödigt nitrat kommer i produkten. Det beror på att den mikrobiologiska aktiviteten är hög och att nitrat är svår att undvika i produkten då det kan finnas naturligt i vissa grönsaker som används som kryddor, i vatten m.m.

Försök 3

Försöket utformades efter en hypotes att kött som lagrats kortare tid i större grad skulle kunna bidra till uppkomst av "persistent pink" än längre lagrat kött. Det beror troligtvis på att de reducerande enzymerna är mer aktiva i färskt kött men även att det finns olika myoglobinformen i köttet (Warriss, 2000). Det innebär att köttfärsens ålder vid tillverkning av hamburgare kan ha betydelse och därför gjordes ett försök med hamburgare baserat på 0 och 8 dagars lagrat köttfärs. Resultatet från Minoltamätningarna efter tillagning av hamburgarna visade ingen direkt skillnad mellan 0 dagars köttfärs och 8 dagars köttfärs (figur 6 och 7). Nollproverna utan tillsatser gav relativt höga a^* -värden vilket troligtvis beror på att de hamburgarna är mer kompakta då de inte är utblandade med någon tillsats och därmed innehåller en högre andel myoglobin och hemoglobin. Jästextraktproverna gav även de höga a^* -värden vid mätning, men det var tydligt att efter några minuter mattades den röda färgen och de blev mer bruna i färgen. Denna färgförändring sågs hos alla jästextraktprover vid alla försök som gjordes. Därför mättes färgen på hamburgarna i de två efterföljande försöken 20 minuter efter delning av hamburgarna istället för direkt efter delning.



Figur 6. Reflektansspektra för egentillverkade hamburgare av 0 dagar lagrat köttfärs lagrat i fem dagar i 4°C.



Figur 7. Reflektansspektra för egentillverkade hamburgare av 8 dagar lagrat köttfärs lagrat i fem dagar i 4°C.

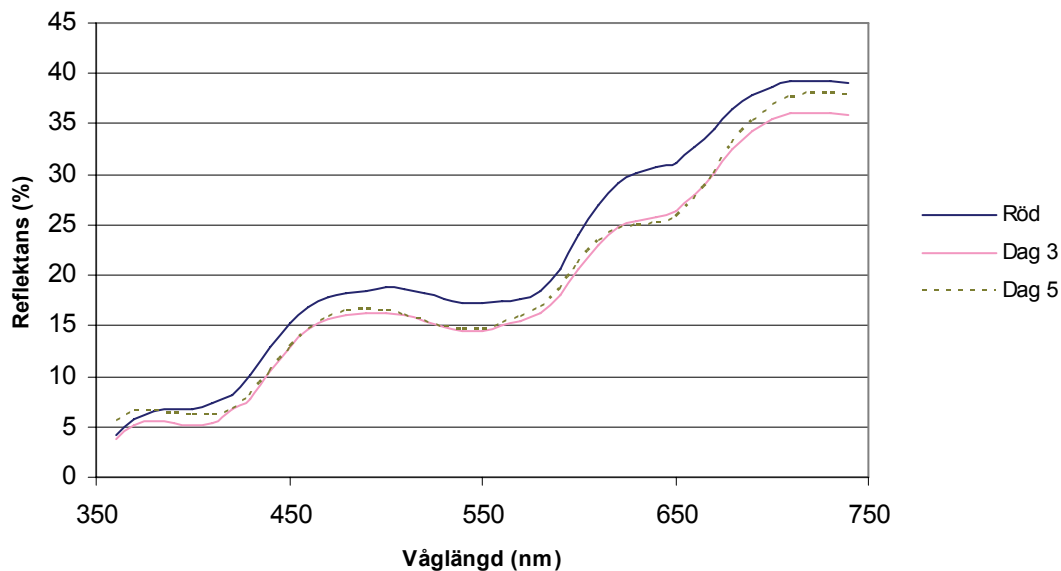
Hamburgare med kryddblandning uppvisade röda prickar efter fem dagar i 4°C hos 8 dagar lagrat köttfärs. Röda prickar sågs också hos hamburgare med kryddblandning efter både en och två dagar i 25°C, men här med 0 dagars köttfärs. De hamburgare som förvarats i 25°C uppvisade flera röda prickar än hamburgaren som förvarats i 4°C. Utifrån resultaten av hamburgarna med de röda prickarna kan man inte direkt säga att 0 dagar lagrat köttfärs är mer benägen att reagera och bilda rosaröda komplex än 8 dagar lagrat köttfärs. Grafer över dessa hamburgare visade heller inget avvikande mönster jämfört med de övriga hamburgarna.

Helhetsintrycket av de hamburgare som uppvisade röda prickar var att färgen och prickigheten inte var riktigt densamma som man kunde se hos de röda hamburgarna från charkuteriföretaget. Att det inte är samma röda färg stärks av att reflektansspektra över de röda prickarna inte följer exakt samma linje som spektrat för de röda hamburgarna (figur 8).

Försök 4

Ytterligare ett försök gjordes med hamburgare gjorda på köttfärs utan tillsats och med kryddblandning eller jästextrakt som tillsatser. Dessa hamburgare placerades i 4, 9 och 23°C för att försöka påvisa om temperatur och tid spelar roll för den slutliga färgen hos hamburgarna. Även här användes köttfärs med 0 dagars lagringstid för att enzymaktiviteten är större i den köttfärsen och att det därmed är troligare att något kan hända i hamburgarna som påverkar färgen, trots att försök 3 inte påvisat detta i någon större utsträckning.

Synbart vid detta försök var att hamburgare med kryddblandning uppvisade flera röda prickar då de förvarats i tre till fem dagar i 9°C (figur 8). Även kryddblandningsproverna som förvarats en dag i 23°C innehöll rosa prickar. Av de proverna som uppvisade röda prickar och som förvarats i 9°C togs ytterligare mätningar enbart på de röda prickarna för att lättare kunna jämföra det spektrat med de röda hamburgarna (figur 8), men det visade sig dock inte ge exakt samma spektrum.



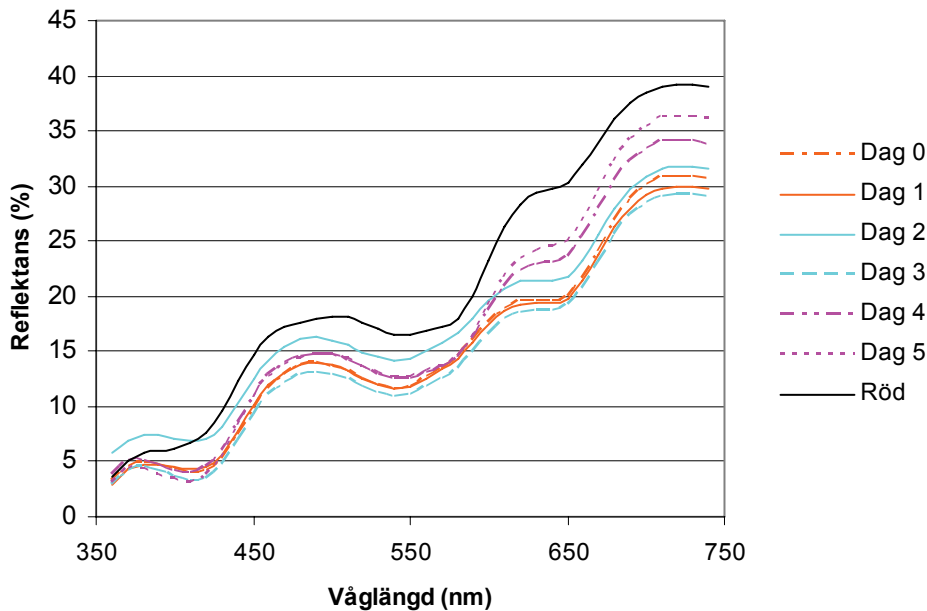
Figur 8. Spektrat för röda hamburgare och egentillverkade hamburgare med kryddblandning som uppvisat röda prickar, där mätningarna tagits direkt på de röda prickarna. Dag 3 och 5 anger dag i försöksserien.

Försök 5

Hamburgare gjorda på DFD-kött inkluderades i försöken på grund av att DFD-kött kan ha en annorlunda enzymaktivitet och andra metaboliter än i normalt kött (Bendall & Taylor, 1972) och att det därför eventuellt kan påverka färgen på hamburgarna. Vid mätning av färgen efter tillagning visade det ungefär samma resultat som tidigare försök. Hamburgarna med kryddblandning uppvisade några röda prickar efter tre till fem dagar i 8°C. Hamburgarna som förvarats i 23°C hade några små röda prickar efter en dag men inte efter två dagar. De hamburgare som förvarats i 4°C uppvisade även de några få röda prickar efter några dagar. Vad dessa röda prickar beror på är svårt att säga, men klart är att någon kemisk förändring skett inuti hamburgarna.

Alla de hamburgare som uppvisade röda prickar hade väldigt små röda prickar vilka var svåra att mäta exakt. Ur figurerna för Minoltmätningarna av DFD-hamburgarna kan man utläsa att

ingen DFD-hamburgare har samma spektra som de röda hamburgarna från charkuteriföretaget (se figur 9).

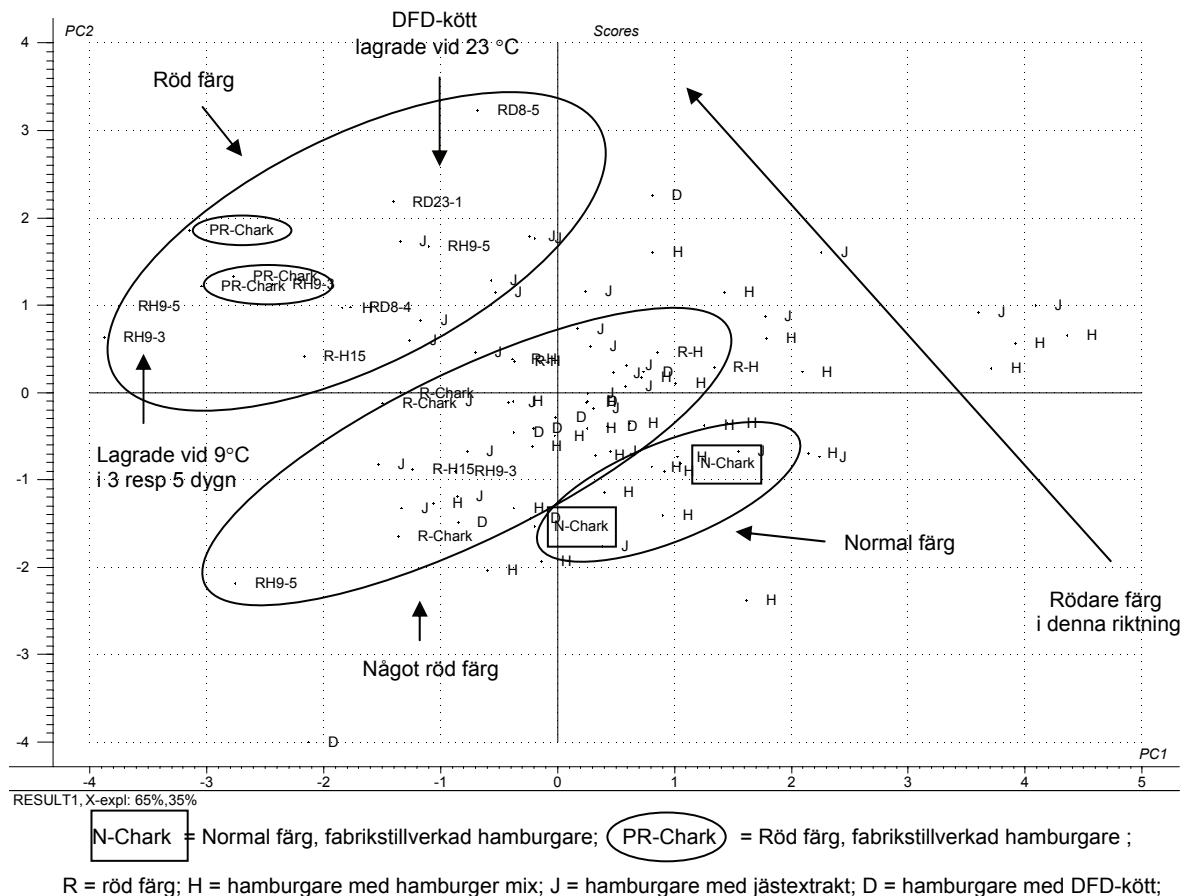


Figur 9. Spektrum över hamburgare gjorda på DFD-kött i en försöksserie om fem dagar. Röda hamburgare har tagits med för att illustrera skillnaderna.

Det intressanta i detta försök var att alla prover som förvarats i fyra och fem dagar hade röda kanter runt hamburgarna. Fenomenet uppträdde precis där det var som tunnast på kanterna av hamburgarna. Kanske kan det bero på att köttet där är väldigt hoppresat av det vakuum som blev i plastpåsen. Diskussioner har förts om syretrycket och tillgången på syre kan påverka att det blir röda hamburgare (M. Hunt, personligt meddelande). I skänkvagnarna där hamburgesmeten förvaras blir det väldigt kompakt i mitten av smeten. Det innebär att det finns väldigt lite syre i den kompakta smeten vilket eventuellt kan innebära att där bildas reducerat myoglobin. Reducerat myoglobin (deoxymyoglobin) ger en röd färg som har visat ge PP-tendenser i tillagat kött. Sedan blir det även ett högt tryck när smeten stansas ut till hamburgare. Att sedan stapla hamburgare på varandra kan också göra att hamburgarna i mitten trycks ihop mer och får sämre tillgång till syre och att det därmed kan påverka dem negativt vad gäller färgen (Arihara *et al.*, 1992; Cornforth *et al.*, 1991; Cornforth *et al.*, 1986; Satterlee & Hansmeyer, 1974).

Principalkomponentanalys

För att utreda om de röda prickarna som framträdde i vissa egentillverkade hamburgare hade något samband med den röda ”persistent pink”-färgen i charkuteriföretagets hamburgare, gjordes en principalkomponentanalys (figur 10).



Figur 10. Resultat av PCA (principalkomponentanalys) som illustrerar variation i röd färg hos hamburgare tillverkade på charkuteriföretaget och i denna studie. Det är en tydlig tendens till rödare färg i riktning från det nedre högra hörnet till det övre vänstra hörnet.

Figuren visar hamburgare med varierande grad av röd färg, från normal till kraftigt röd. Prover märkta PR-Chark är hamburgare tillverkade hos charkuteriföretaget och som bedömdes röda. Prover märkta N-Chark är normala hamburgare från charkuteriföretaget. Däremellan ligger några hamburgareprover från charkuteriföretaget märkta R-Chark och dessa bedömdes vara något röda. Några av de egentillverkade hamburgare som blev röda befinner sig i den övre ovalen på figuren. Detta gäller till exempel prover märkta RH9-3 och RH9-5 som var hamburgare med kryddblandning som lagrats vid 9 °C i 3 respektive 5 dygn och prov märkt RD23-1 som var tillverkat av DFD-kött och lagrat vid 23 °C i 1 dygn. Generellt fanns det en tendens till att hamburgare som tillverkats med jästextrakt (J i figuren) blev rödare än hamburgare med kryddblandning (H i figuren) och att lagring vid högre temperatur resulterade i rödare färg. Här visas också att kombinationen DFD-kött och hög lagringstemperatur resulterade i röd färg.

Mikrobiologisk analys

Resultat från analys av totalantal bakterier och jäst visade olika höga nivåer. För de normala hamburgarna som analyserades låg halterna långt under de rekommendationer som finns. Resultatet för de röda hamburgarna visade ett sämre resultat (tabell 8).

Tabell 8. Resultat av mikrobiologisk analys av röda och normala hamburgare tillverkade hos charkuteriföretaget (uttryckt som tiologaritmskt värde). Normala hamburgare har inte analyserats för jäst. Rekommendationer för kött råvaror; totalantal bakterier 6 och jäst 4 (EG kommissionens förordning om mikrobiologiska kriterier; SANCO/4198/2001 Rev. 20 (PLSPV/2001/4198/4198R20-SV.doc och livsmedelsverkets rekommendationer)

	Totalantal	Jäst
Röd hamburgare 2005-09-09 ¹	7,0	4,1
Röd hamburgare 2006-01-04 ¹	6,9	4,1
Normal hamburgare Aug. -06 ²	~ 5,5	-

¹Datum för tillverkning av hamburgarna

²Exakt datum saknas.

Bakterier och jäst producerar olika ämnen och enzymer (Adams & Moss, 2000) som eventuellt kan påverka produkten. Resultaten från de mikrobiologiska undersökningarna visade att de röda hamburgarna hade höga nivåer av jäst och mycket höga totalantal bakterier. Gränsvärden för jäst finns inte för hamburgare men om man tittar på andra köttprodukter finns ett gränsvärde på 4. De röda hamburgarna tangerar det gränsvärdet och det kan vara möjligt att den höga bakteriella belastningen hos de röda hamburgarna kan påverka uppkomsten av den röda färgen. Bakterier kan reducera metmyoglobin till deoxymyoglobin, som troligen kan ge PP efter tillagning. Reducerat myoglobin är nödvändigt för att röd färg ska uppträda, enligt vissa teorier (Kropf, 1997; Arihara *et al.*, 1992; Cornforth *et al.*, 1991; Cornforth *et al.*, 1986; Satterlee & Hansmeyer, 1974). Det är nödvändigt med en mer grundlig undersökning omkring den mikrobiologiska påverkan för att kunna se om bakterier eller jäst kan påverka rödheten i hamburgare.

Slaktkroppar i helfallskylan hos charkuteriföretaget har hängt tätt i omgångar när flödet från slakteriet till styckningen och försäljning av produkter kommit i otakt. Det innebär att slaktkropparna inte får en torr skyddande yta utan delvis varit kladdiga där de varit i kontakt med andra slaktkroppar. I dessa kontaktytor kan bakterier och jäst tillväxa, trots låg temperatur (<2°C). Vid styckning av slaktkropparna har det som varit kladdigt tagits bort och kasserats, men det är en kritisk punkt där det är mycket lätt att kontaminera och sprida bakterier och jäst till andra styckningsdetaljer. Det innebär att bakterier och jäst lätt kan kontaminera nötkött III och tillväxa i hamburgerköttet och smeten, särskilt då hamburgerlinjen är utformad så att det totalt tar minst ett par dagar att göra hamburgarna klara (figur 2).

Under de egna försöken har hamburgarna förvarats vid olika temperaturer i vakuumpackade plastpåsar under varierande tid. Därigenom kan den mikrobiologiska tillväxten eventuellt ha påverkats då anaeroba mikroorganismer enbart kunnat tillväxa. Hamburgersmeten förvarades inte vakuumpackade den gången röd färg uppkom vid egentillverkade hamburgare. Den är inte heller förvarad i vakuum hos producenten, men då smeten är förvarad i stora skänkvagnar blir den väldigt kompakt och därför kan troligtvis inte mycket syre tränga ned i smeten. Därför ansågs vakuumpackning vara det smidigaste och närmaste man kan komma verkligheten vid hantering av mindre volymer som i detta försök. Frågan är dock om det har någon annan påverkan att hamburgarna förvarades i vakuum vid de egna försöken. Inga mikrobiologiska tester gjordes på de egentillverkade hamburgarna.

Slutsatser

Efter genomförandet av dessa försök har det visat sig att framkalla röd färg i hamburgare och därigenom förstå bakomliggande orsaken till uppkomst av röd färg är mer invecklat och komplicerat än vad det verkade vara från början. Trots många olika laborativa experiment har ingen fullständig lösning på problemet hittats.

De laborativa experimenten gjordes i syfte att försöka framkalla den röda färgen i hamburgarna. Genom att ändra parametrar som råmaterial, tillsatser, tid och temperatur har jag försökt att se om något av detta kan vara orsaken till den röda färgen. Försöken har visat att under vissa förutsättningar finns en tendens till ökad röd färg inuti hamburgarna. Dessa förutsättningar är hög temperatur ($>8^{\circ}\text{C}$), tillsats av kryddor och därtill en lång lagringstid (3-5 dagar). Råmaterialet har också stor betydelse då myoglobinet i köttet kan påverka den slutliga färgen inuti de tillagade hamburgarna. Reducerat myoglobin, dvs. deoxymyoglobin har i andra studier påvisats ge upphov till röd färg i hamburgare. Denna studie har därmed kunnat stärka vissa hypoteser om hur och vad som påverkar hamburgarna, men inget resultat har fullständigt kunnat förklara fenomenet.

Vad försöken däremot har visat är att det finns vissa saker som helst ska undvikas vid tillverkning av hamburgare. DFD-kött har egenskaper som högt pH, annorlunda struktur och enzymaktivitet vilket har visat ge något större risk att frambringa röd färg. Efter försök med att tillsätta nitrit i hamburgarna visade det sig att nitrit inte var orsaken till röda hamburgare. Det är ändå viktigt att undvika kontaminering av nitrit, då nitrit kan påverka färgen redan vid en väldigt låg koncentration.

Det är också nödvändigt att ha ett bra flöde i slakten, styckningen och försäljning av produkter. Det kan vid ojämnt flöde av dessa tre enheter ge problem att uppehålla produktkvalitén. Bland annat så kan en hög belastning i helfallskylan innebära att slaktkroppar hänger för tätt och under lång tid vilket ger en hög mikrobiologisk belastning. Den mikrobiologiska aktiviteten i köttet kan ha stor betydelse för vilken myoglobinform som finns inuti hamburgarna. Bakterier har visat sig kunna reducera metmyoglobin till deoxymyoglobin, vilket kan vara en av orsakerna till att hamburgarna blir röda inuti. Ett annat flödesproblem är att det tar tre till fem dagar att producera hamburgare från styckning av helfall till färdig produkt. En förenklad och tidseffektivare produktionslinje kan enbart vara positiv med tanke på den mikrobiologiska belastningen och även en eventuell kemisk förändring inuti hamburgesmeten och hamburgarna. Att korta ned tillverkningslinjen, med tanke på tid och temperatur för att minska den mikrobiologiska belastningen, är troligtvis det viktigaste för att minska uppkomsten av röda hamburgare. Det är dock viktigt att betona att för att röda hamburgare ska utvecklas, kan det finnas ytterligare faktorer, som ännu är okända.

Summary

Problems with persistent pink in hamburgers after cooking - background and possible solutions

Persistent pink in beef patties and hamburgers is a problem in the meat industry that has been known for a few decades. It is a costly problem as it can give rejections of food by consumers. Studies around the world have tried to solve the problem but it still remains a mystery. There are many different theories of what is causing the red colour. Some of the most likely theories are reducing hemocromes, high microbiological loads, contamination of nitrite or organic/non organic substanses, DFD meat etc.

The intention of the experiments preformed in this project was to try to understand why the hamburgers turned pink and thereby help the company that have this problem to change their production of hamburgers so that pink hamburgers can be avoided. Several experiments were preformed where raw material, additives, time and temperature were tested. Hamburgers with spices (the same as the company use), yeast extracts and without any additive were made. These were stored between 0 and 5 days in different temperatures. After storing, the hamburgers were cooked until reaching a core temperature of 80°C. When the samples had cooled they were cut horizontally and the colour was measured by a Minolta instrument. The results of the measurements showed that hamburgers with spices showed higher a*-values, i.e. more reddish color, when stored in 9°C between 3 to 5 days compared with all other samples. There were obvious red spots in those hamburgers and the spectra were similar to that of the real red hamburgers. None of the spectra measured by the Minolta showed exact the same spectra as the red hamburgers.

The hamburgers were examined for microbiological load, which showed that there was a rather great load on the red hamburgers. This could have a negative effect on the colour of the hamburgers, as bacteria are known to be able to reduce myoglobin from metmyoglobin to deoxymyoglobin. Presence of reduced myoglobin is one theory of why red colour develops in the hamburgers.

A principalcomponent analysis was preformed on the results of the measurments from the Minolta instrument. This analysis verified some of the previous results that the hamburgers with added spices were close to the red hamburgers. Other visible results were that hamburgers made from DFD meat also were close to the red hamburgers.

The conclusion from this experiment is that time, temperature, raw material and additives affect the red colour in the hamburgers. Exactly how these parameters affect the hamburgers to develop persistent pink is not fully understood. It is also possible that there are other factors needed for this phenomenon to develop.

Referenser

- Abril, M., Campo, M.M., Önenç, A., Sañudo, C., Albertí, P. & Negueruela, A.I. 2001. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science* 58:67-78.
- Adams, M.R., & Moss, M.O. 2000. *Food microbiology*. Cambridge; The royal society of chemistry.
- Arihara, K., Kushida, H., Kondo, Y., Itoh, M., Luchansky, J.B. & Cassens, R.G. 1993. Conversion of metmyoglobin to bright red myoglobin derivatives by *Chromobacterium violaceum*, *Kurthia* sp., and *Lactobacillus fermentum* JCM1173. *Journal of Food Science* 58:38-42.
- Bendall, J.R. & Taylor, A.A. 1972. Consumption of oxygen by the muscles of beef animals and related species. II. Consumption of oxygen by post-rigor muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 23:707-719.
- Boyle, E., 1994. Pink color in cooked meat, Ph.D., Department of Animal Sciences and Industry, Kansas State University.
- Cornforth, D., Calkins, C.R. and Faustman, C. 1991. Methods for identification and prevention of pink color in cooked meat. *Reciprocal Meat Conference Proceedings* 44:53-58.
- Cornforth, D.P., Vahabzadeh, F., Carpenter, C.E. & Bartholomew D.T. 1986. Role of reduced hemochromes in pink color defect of cooked turkey rolls. *Journal of Food Science* 51:1132-1135.
- Claus, J.R., Shaw, D.E. & Marcy, J.A. J. 1994. Pink color development in turkey meat as affected by nicotinamide, cooking temperature, chilling rate and storage time. *Food Science*, 59: 1283-1285.
- Dymicky, M., Fox, J.B. & Wasserman, A.E. 1975. Color formation in cooked model and meat systems with organic and inorganic compounds. *Journal of Food Science* 40:306-309.
- Fox, J. B. 1966. The chemistry of meat pigments. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 14: 207-210.
- Girard, B., Vanderstoep, J. & Richards, J.F. 1990. Characterization of the residual pink color in cooked turkey breast and pork loin. *Journal of Food Science* 55:1249-1254.
- Hauge, M.A., Warren, K.E., Hunt, M.C, Kropf, D.H., Kastner, C.L., Stroda, S.L. & Johnson, D.E. 1994. Endpoint temperature, internal cooked color, and expressible juice color relationships in ground beef patties. *Journal of Food Science* 59:465-470.
- Honikel, K-O. 1997. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chemistry* 59:573-582.
- Hunt, M.C., Sørheim, O. & Slinde, E. 1999. Color and heat denaturation of myoglobin forms in ground beef. *Journal of Food Science*, 64:847-851.

- King, N. J. & Whyte, R. 2006. Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science* 71:R31-R40.
- Kropf, D.H. 1998. Persistent red color in cooked beef. Ph.D., Kansas State University, Manhattan, Kansas.
- Kropf, D.H. & Hunt, M.C. 1998. End point cooking temperature and meat color. *Reciprocal Meat Conference Proceedings* 51:144-148.
- Lavelle, C.L., Hunt, M.C. & Kropf, D.H. 1995. Display life and internal cooked color of ground beef from vitamin E-supplemented steers. *Journal of Food Science* 60:1175-1196.
- Lindahl, G. 2005. *Colour characteristics of fresh pork*. Doctoral diss. Dept. of Food Science, SLU. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae* vol. 2005:43.
- Ledward, D.A. & Shaw, R. 1994. Undesirable pink coloration in uncured cooked meats. *Research File, Meat Focus International* sid. 295-298.
- Mancini, R.A. & Hunt, M.C. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71:100-121. 2005.
- Mancini, R.A., Kropf, D.H., Hunt, M.C. & Johnson, D.E. 2005. Effects of endpoint temperature, pH, and storage time on cooked internal color reversion of pork *Longissimus* chops. *Journal of Muscle Foods* 16:16-26.
- Mendenhall, V.T. 1989. Effect of pH and total pigment concentration on the internal color of cooked ground beef patties. *Journal of Food Science* 54:1-2.
- Moiseev, I.V. & Cornforth, D.P. 1999. Treatment for prevention of persistent pinking in dark-cutting beef patties. *Journal of Food Science* 64:738-743.
- Phillips, A.L., Mancini, C., Sun, Q., Lynch, C. & Faustman, C. 2001. Effect of erythorbic acid on cooked color in ground beef. *Meat Science* 57:31-34.
- Satterlee, L.D. & Hansmeyer, W. 1974. The role of light and surface bacteria in the color stability of prepacked beef. *Journal of Food Science* 39:305-308.
- Shaw, D.E., Claus, F.R. & Stewart, K.K. 1992. Effect of ammonia exposure of fresh pork: a distinct pink color after cooking. *Journal of Muscle Foods* 3:169-174.
- Tang, J., Faustman, C. & Hoagland, T.A. 2004. Krzywicki revisited: Equations for spectrophotometric determination of myoglobin redox forms in aqueous meat extracts. *Journal of Food Science* 69:717-720.
- Trout, G.R. 1989. Variation in myoglobin denaturation and color of cooked beef, pork and turkey meat as influenced by pH, sodium chloride, sodium tripolyphosphate and cooking temperature. *Journal of Food Science* 54:536-540, 544.

Van Laack R.L.J.M., Berry, B.W. & Solomon, M.B. 1996. Variations in internal color of cooked beef patties. *Journal of Food Science* 61:410-414.

Warren, K.E., Hunt, M.C. & Kropf, D.H. 1996. Myoglobin oxidative state affects internal cooked color development in ground beef patties. *Journal of Food Science* 61:513-516.

Warriss, P.D. 2000. *Meat Science. An introductory text*. Wallingford; CABI Publishing.

Internetkällor

USDA´s hemsida. Fact sheets: Meat preparation.

http://www.fsis.usda.gov/Fact_Sheets/color_of_cooked_ground_beef/index.asp

Livsmedelsverkets hemsida. Mikroorganismer i livsmedel: EHEC.

http://www.slv.se/templates/SLV_Page__9462.aspx

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 10-20 poäng i agronomexamen) samt större enskilda arbeten (5-10 poäng) vid Institutionen för Livsmedelsvetenskap, Sveriges lantbruksuniversitet.

DISTRIBUTION:

Sveriges lantbruksuniversitet
Institutionen för Livsmedelsvetenskap
Box 7051
750 07 Uppsala
Tel. 018-67 20 06
