



Forord

Denne oppgaven er skrevet som en avsluttende masteroppgave ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (IKBM). Arbeidet med oppgaven er utført ved Nofima Mat, Ås, høsten 2013.

Først og fremst vil jeg takke mine to veiledere Marit Kvalvåg Pettersen og Elling-Olav Rukke for god oppfølging, veiledning og verdifulle innspill. Jeg er utrolig takknemlig for den tid og energi dere har satt av til meg.

Jeg ønsker å takke Karin Solgaard og Aud Espedal for teknisk assistanse. En takk rettes også til Janina Sofie Berg for gode råd og hjelp på laben, samt de øvrige ansatte ved avdelingen for mikrobiologimat på Nofima Mat, Ås.

Jeg vil tilslutt takke venner, familie og kjæreste som har motivert meg gjennom studiene.

Ås, februar 2014

Hanne Therese Aahlin

Sammendrag

Emballasje forbruket i næringsmiddelindustrien har vokst kraftig de siste årene. Dagens forbrukersamfunn har en livsstil hvor etterspørsel etter ferske produkter med lang holdbarhetstid stadig øker.

Aktiv emballering har fått økende interesse grunnet dens effekt på matvaren. Ferskt kjøtt er et lett bederelig produkt, som må holdes ved kjøletemperaturer for å redusere ødeleggelsen av kvaliteten. Bruk av aktiv emballering kan være med på å opprettholde og øke kvaliteten for kjøttet.

Intensjonen med oppgaven var å undersøkt hvordan ulike pakkemetoder vil kunne bevare og øke holdbarheten for kjøttproduktene. Der tradisjonell vakuum pakking og Modifisert Atmosfære Pakking (MAP), ble sammenlignet med den relativt nye pakkemetoden skinpack. Det ble undersøkt om bruk av aktiv emballering, kunne øke holdbarheten for kjøttproduktet for ulike kvalitetsparametere. I dette forsøket ble det benyttet en CO₂-emitter.

Abstract

Packaging in the food industry has increased rapidly the recent years. The consumers in today's society have a lifestyle that increases the demands for fresh products with an extended shelf life.

Active packaging has received increasing interest due to its effect on food product. Fresh meat is a highly perishable product, which must be held at refrigeration temperature due to reduction of quality spoilage. The use of active packaging can help to maintain and improve the meat quality.

The intention of this thesis was to study how different packaging methods can preserve and increase the shelf life of meat products. Where traditional vacuum packaging and modified atmosphere packaging (MAP), were compared with the relatively new packing method skinpack. It was tested whether active packaging could increase shelf life of meat products for different parameters of quality. Where in this experiment a CO₂-emitter.

Innholdsfortegnelse

| | |
|---|------------|
| FORORD | I |
| SAMMENDRAG | II |
| ABSTRACT | III |
| 1. INNLEDNING | 2 |
| BAKGRUNN..... | 2 |
| PROBLEMSTILLING | 3 |
| 2. TEORI | 4 |
| 2.1 KJØTT OG KVALITETSBEVARING | 4 |
| <i>Bakterieflora</i> | 4 |
| <i>Pseudomonas</i> | 6 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 7 |
| <i>Melkesyrebakterier</i> | 7 |
| <i>Brochothrix thermosphacta</i> | 8 |
| <i>Farge</i> | 8 |
| <i>Drypptap</i> | 10 |
| 2.2 PLAST | 11 |
| <i>Historie</i> | 11 |
| <i>Råmateriale</i> | 11 |
| <i>Oppbyggingen</i> | 12 |
| <i>Egenskaper</i> | 12 |
| <i>Framstilling</i> | 13 |
| <i>Film/folie</i> | 13 |
| <i>Forming</i> | 14 |
| <i>Generelt om emballering</i> | 14 |
| <i>Permeabilitet</i> | 15 |
| <i>Headspace</i> | 16 |
| 2.3 PAKKING/EMBALLERING | 17 |
| <i>Pakkemaskiner</i> | 17 |
| Dyptrekker..... | 17 |
| Skålpakkemaskin..... | 17 |
| Kammermaskin..... | 18 |
| Vakuumpakking..... | 18 |
| <i>Modifisert atmosfære pakking (MAP)</i> | 19 |
| <i>Skinpack</i> | 20 |
| <i>Aktiv emballering</i> | 20 |
| Absorber..... | 21 |
| Emitter..... | 22 |
| 3. MATERIALER OG METODER | 23 |
| 3.1 FØRFORSØK I KARLSTAD | 25 |
| <i>Materialer</i> | 25 |
| <i>Metode</i> | 26 |
| 3.2 LAGRINGSFORSØKET | 28 |
| PAKKING..... | 28 |
| OKSYGEN ANALYSER | 33 |
| FARGEMÅLING | 34 |
| MIKROBIOLOGI:..... | 35 |
| PH..... | 39 |
| DRYPPTAP | 40 |

| | |
|--|-----------|
| DATABASEHANDLING..... | 41 |
| 4. RESULTATER..... | 42 |
| 4.1 GASSMÅLINGER..... | 42 |
| 4.2 FARGEMÅLINGER | 43 |
| 4.3 MIKROBIOLOGISKE ANALYSER | 46 |
| <i>Totaltall</i> | 46 |
| <i>Pseudomonas</i> | 47 |
| <i>Melkesyrebakterier</i> | 48 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 49 |
| <i>Brochothrix thermosphacta</i> | 49 |
| 4.4 PH-MÅLINGER..... | 50 |
| 4.5 DRYPPTAP..... | 51 |
| 5. DISKUSJON | 52 |
| 5.1 GASSMÅLINGER..... | 52 |
| 5.2 FARGEMÅLINGER | 52 |
| 5.3 MIKROBIOLOGISKE ANALYSER | 54 |
| <i>Totaltall</i> | 54 |
| <i>Pseudomonas</i> | 54 |
| <i>Melkesyrebakterier</i> | 55 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 55 |
| <i>Brochothrix thermosphacta</i> | 56 |
| <i>Oppsummering av de mikrobiologiske resultatene</i> | 56 |
| 5.4 PH-MÅLINGER..... | 57 |
| 5.5 DRYPPTAP..... | 58 |
| KONKLUSJON | 59 |
| VIDERE ARBEID | 60 |
| REFERANSER..... | 61 |
| VEDLEGG 1: ANGÅENDE MATERIALER, UTSTYR OG KJEMIKALIER..... | 63 |
| LABORATORIEUTSTYR BENYTTET I DETTE STUDIET | 63 |
| KJEMIKALIER BENYTTET I DETTE STUDIET | 64 |
| VEDLEGG 2: SAMMENSETNINGEN AV BAKTERIESUBSTRAT (AGAR) | 65 |
| PCA (STANDARD PLATE COUNT AGAR)..... | 65 |
| MRS (THE MAN, ROGOSA AND SHARPES AGAR) | 65 |
| CFC (PSEUDOMONAS AGAR BASE) | 66 |
| STAA (STREPTOMYCIN-THALLOUS ACETATE-ACIDIONE AGAR)..... | 66 |
| VRBGA (VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR) | 67 |

1. Innledning

Bakgrunn

Dagens forbrukersamfunn etterspør ferske, velsmakende og lettvinde matvarer med lang holdbarhet. Aktiv emballering kan være med på å opprettholde og øke kvaliteten for en matvare.

Oppgaven er et samarbeid mellom Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, NMBU og Nofima Mat, Ås. Prosjektets mål er undersøke om aktiv emballering sammen med en av de nyeste pakkemetodene, skinpack, kan oppnå økt holdbarhet av svinekjøtt.

Det ble benyttet en kommersiell tilgjengelig CO₂-emitter. Den utvikler CO₂-gass i pakningen etter forsegling og vil med dette bidra til å beholde og gjerne øke produktets kvalitet og holdbarhet.

Problemstilling

Hovedmålet med forsøket var å evaluere om det er mulig å oppnå økt holdbarhet av svinekjøtt ved bruk av en av de nyeste pakkemetodene, skinpack, tilsatt en CO₂ emitter, uten at dette går på bekostning av kvalitet og lagringsevne. Det har blitt arbeidet ut fra følgende delmål:

- Undersøke om bruk av aktiv emballering – i dette tilfellet om bruk av CO₂-emitter er egnet og eventuelt øke holdbarheten for valgte kjøttprodukt (strimlet svinekjøtt).
- Undersøke om den relativt nye pakkemetoden skinpack påvirker kvaliteten for strimlet svinekjøtt, sammenlignet med tradisjonell vakuumpakking og Modifisert Atmosfære Pakking (MAP).
- Hvordan ulike pakkemetoder påvirker kvalitetsparameter for strimlet svinekjøtt over tid. Vedrørende kvalitetsparameter som omhandler mikrobiologisk kvalitet, pH, drypptap og utseende/farge på kjøtt.

2. Teori

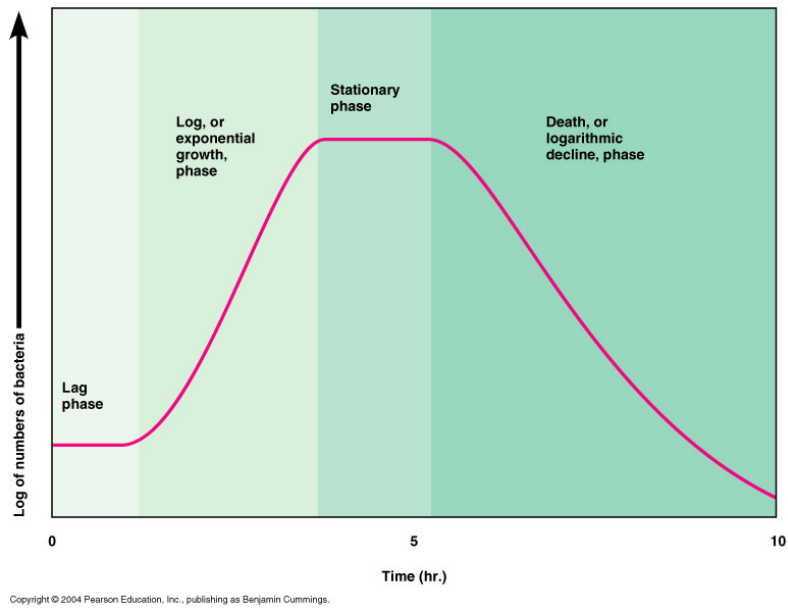
2.1 Kjøtt og kvalitetsbevaring

”Ferskt kjøtt” er en felles betegnelse for kjøtt fra nylig behandlet dyr, vakuumpakket kjøtt og kjøtt pakket under kontrollert gassatmosfære. Næringsstoff sammensetningen i kjøttet gir et ideelt vekstmiljø for mikroorganismer og matbårne patogener. Dette gjør at kjøtt er et lett bederelig produkt, som må holdes ved kjøletemperaturer for å redusere ødeleggelsen av det ferske kjøttets kvalitet lengst mulig (Aymerich et al. 2008). Kjøling er en teknologi som primært hemmer den mikrobiell aktivitet av to grunner, det vil redusere bakterievekstraten og øke lengden av lag fasen (Warriss 2010; Zhou et al. 2010)

Bakterieflora

Bakterier er mikroskopiske, ofte encellede organismer. De kan vokse ved de fleste temperaturer og deles ofte inn i tre primærgrupper etter hvilke temperaturer de trives ved. De tre gruppene er psykrofile (kjøletemperaturer), mesofile (moderate temperaturer) og termofile (varme temperaturer). Psykrotrofe bakterier er en gruppe psykrofile som vokser ved 0°C og har optimums veksttemperatur ved 20-30°C. Mesofile bakterier har optimum veksttemperatur mellom 25 og 40°C, mens termofile har optimums veksttemperatur mellom 50 og 60°C. (Tortora et al. 2010).

Veksten av bakterier deles inn i fire kjente faser, lag fasen, eksponentiell fasen, stasjonær fasen og døds fasen. Se figur 1.



Figur 1. Vekstfasene for bakterier (Pearson).

I den initiale lag fasen, vil bakteriene tilpasse seg det nye miljøet. Etter tilpassing formerer bakteriene seg raskt i den eksponentielle fasen. I stasjonærfasen vil vekstraten balanseres med antall bakterie celler som dør. Avsluttende er døds fasen, hvor antall døde celler er større enn bakterieveksten (Warriss 2010).

Bakteriene formerer seg ved celledeling. Den eksponentielle bakterieveksten defineres derfor ofte som tiden det trengs for å doble antall celler. Ved optimale betingelser kan doblingen skje ved intervaller på 20 minutter. Dette gir et antall på åtte datterceller etter en time, og mer enn 8000 på fire timer. Grunnet disse høye verdiene, oppgis bakterieveksten i en logaritmisk skala (Warriss 2010).

Bakterievekstraten reduseres som nevnt ved kjøletemperaturer, men noen mikroorganismer, som de psykrotrofe, trives ved disse lave temperaturene. Derfor dominerer de ofte mikrofloraen som utvikler seg ved kjølelagring. Kjøtt som lagres ved kjøletemperaturer under aerobe forhold gir gode vekstvilkår for psykrotrofe bakterier på kjøttets overflate (Ercolini et al. 2009). Mens det er få av den originale mesofile mikrofloraen som vil fortsette å vokse (Gill & Greer 1993). I den psykrotrofe slekten, finnes Gram-negative bakterier som *Pseudomonas* spp. og Enterobacteriaceae, der *Pseudomonas* spp. ofte vokser raskest. Mens det i

begrensede omfang finnes Gram-positive melkesyrebakterier og *Brochothrix thermosphacta* (Adams & Moss 2008).

Den første indikasjonen på ødeleggelse av kjøtt er merkbar, vond lukt, som normalt blir produsert når mikrofloraen når et antall på ca. 10^7 cfu cm^{-2} (Adams & Moss 2008). Det antas at ved dette punktet, endrer mikroorganismene sin bruk av vekstsubstrat. Normalt er substratet glukose, men når nivået synker i kjøttet, kan mikroorganismene benytte seg av aminosyrene. Av aminosyrene produseres det mikser av flyktige estere, alkoholer, ketoner og svovelforbindelser, som resulterer i vonde lukter (Adams & Moss 2008).

Den mikrobielle aktiviteten som gjør kjøttet uakseptabelt for forbruker, kan stoppes dersom kjøttet fryses til temperaturer som er for lave for mikrobiell vekst. Ved kjøletemperaturer, som i dette forsøket, vil ikke den mikrobielle aktiviteten stoppes, men den vil reduseres. Men sammen med endring av atmosfæren som bakteriene utsettes for, kan veksten reduseres ytterligere (Gill & Greer 1993).

Holdbarheten av næringsmidler er avhengige av miljøet og den atmosfæren som omgir dem. Luft består av 78% nitrogen (N_2), 21% oksygen (O_2), 0,03% CO_2 og 0,97 edelgasser. O_2 påvirker de fleste næringsmidler på en negativ måte. Mange bedervelsesbakterier er avhengige av O_2 for å leve og formere seg. I kjøtt vil oksidasjon av pigmenter, fett og proteiner føre til fargeforandring, harskning, luktproblemer og dårligere vannbindingsevne for proteinene (Eie & Larsen 2007b).

Pseudomonas

Pseudomonas er aerobe, bevegelige Gram-negative staver. De er katalase-positive, oksidase-positive og arginin-positive. De oksiderer sukker, men produserer ikke gass. *Pseudomonas* benytter glukose som vekstsubstrat, men når det begrenses, kan de benytte seg av aminosyrer. Produkter fra aminosyrene gir kjøttet vond lukt og smak (Gill & Greer 1993).

Pseudomonas vurderes som en negativ kvalitetsreducerende organisme for kjølelagret svinekjøtt, ved ulike emballasje metoder og lagringstemperaturer (Drosinos & Board 1994;

Gill & Newton 1977). *Pseudomonas* er dominerende for aerobisk forringelse av kjølelagret kjøtt, der de vokser raskere enn konkurrerende arter (Brody 1989; Tortora et al. 2010)

Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae er Gram-negative, fakultative anaerobe, bevegelig eller ikke-bevegelige staver. De er katalase-positive, oksidase-negative og arginin-negative eller -positive. De fermenterer sukker, og produserer som regel gass (Gill & Greer 1993).

Familien Enterobacteriaceae er sammensatt av et stort utvalg fakultative anaerobe organismer, som inkluderer noen patogene arter (Gill & Greer 1993). Ved lave temperaturer, bidrar de sjelden til aerobisk kvalitetsforringende flora. Da de vokser ved en saktere hastighet enn *Pseudomonas*. Men i likhet med *Pseudomonas* er glukose vekstsubstratet, før videre benytter seg av og danner ødeleggende biprodukter av aminosyrene (Brody 1989).

Melkesyrebakterier

Melkesyrebakterier ble definert tidlig på 1900-tallet som Gram positive, ikke sporedannende staver eller kokker, og med melkesyre som endeprodukt ved fermentering av karbohydrater (Stiles & Holzapfel 1997). Melkesyrebakterier kan være homofermentative, der hovedproduktet fra glukose-fermenteringen er melkesyre, og heterofermentative, der det produseres en miks av laktat, karbondioksid og etanol fra glukose (Adams & Moss 2008).

Foringelse av kjøtt forårsaket av melkesyrebakterier kan gi misfarging, tekstur endringer, slimdannelse, harskning og utvikling av vond smak og lukt (Dalcanton et al. 2013). Disse bakteriene har en tendens til å vokse sakte ved kjøletemperaturer og kan kun benytte seg av glukose som vekstsubstrat i kjøtt. Dette gjør at de under aerobiske miljøer vil bli utkonkurrert av *Pseudomonas* (Huis in't Veld 1996). Noen få melkesyrebakterier kan også benytte seg av aminosyrene aginin, valin og leucin. Når disse aminosyrene degraderes, dannes flyktige fettsyrer som gir vond smak til kjøttet (Gill & Greer 1993).

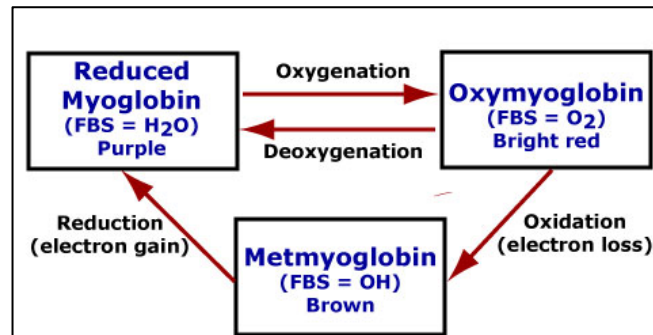
Brochothrix thermosphacta

Brochothrix thermosphacta er en ikke sporedannende, ikke-bevegelig Gram-positiv stav. Den er katalase-positiv, oksidase-negativ og aginin-negativ. Denne fakultative anaerobe bakterien fermenterer sukker (Gill & Greer 1993).

Kjøtt lagret i både luft og vakuum, kan inneholde en mikroflora hvor *B. Thermosphacta* er representert. Som vekstsubstrat forbruker den glukose og produserer eddiksyre og acetoin under aerobiske omgivelser, og melkesyre under anaerobe omgivelser. *B. thermosphacta* kan som melkesyrebakterier, metabolisere leucin og valin, til syrer som danner vond lukt på kjøttet (Gill & Greer 1993).

Farge

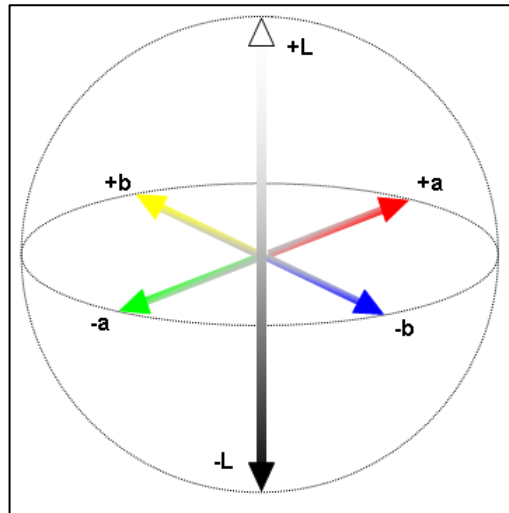
Kjøttets farge er en viktig kvalitetsindikator for forbruker og setter ofte grensen for aksept. Forbruker ønsker en frisk rødfarge for kjøttet. Dette assosieres med ferskhet (Warriss 2010). Fargebæreren i kjøtt er proteinet myoglobin. Den består av en hemegruppe hvor små molekyler av for eksempel O₂, NO₂ eller CO kan bindes. Hvilke molekyler som binder seg resulterer i ulike rødfarger på kjøttet. Se figur 2. Bruk av ulik pakkegass og pakkeatmosfære vil derfor kunne påvirke kjøttets farge og hvordan forbruker opplever fargen. Dersom O₂ binder seg, dannes oksymyoglobin (OMB) som gir en frisk rødfarge. CO danner karboksymyoglobin (COMB), som danner en kirsebærrød farge. Når ingen av molekylene binder seg dannes deokstymyoglobin (DMB), som resulterer i en mørk rød eller purpur farge. Det kan også dannes en uønsket brun og misfarget farge på kjøttet, dette kommer av dannelsen av metmyoglobin (MMB) (Eie & Larsen 2007b; Robertson 1992c).



Figur 2. Ulike former og farger av myoglobin som er fargebæreren i kjøtt (Texas).

Misfarging oppstår ofte i modifiserte atmosfærer av CO₂ eller CO₂/N₂, hvor lave rest-oksygen konsentrasjoner kan danne metmyoglobin. Selv om bakteriene i kjøttet forbruker oksygen, vil de ikke gjøre dette raskt nok til å forhindre at rest-oksygenet danner misfarging. Det er satt opp toleransegrense for oksygen innhold i atmosfæren i emballasjen på 0,5% for svinekjøtt og 0,1% for storfekjøtt og lammekjøtt. Det vil også komme oksygen inn gjennom emballasjen og ved små lekkasjer, dette resulterer i vanskeligheter for ikke å overgå toleransegrensene i praksis (Eie & Larsen 2007b).

Kjøttets farge kan måles på ulike måter, i dette forsøket ble det gjort ved CIELABs fargemålingssystem. Det tilsier at objektivt kan alle farger bli spesifisert som en kombinasjon av ulike mengder rent rødt, rent grønt og rent blått lys. Disse er reelle primærvalg, basert på kjennskapen om det menneskelige øyet, der reseptorer i netthinnen, retina, har tapper som er sensitive for disse tre primær fargene. Systemet ble utviklet for å måle farge og transformere disse til imaginære primærvalg, X, Y og Z. Verdiene av X, Y og Z er tre stimulanse-verdier som definerer en farge som et punkt i rommet. De tre stimulus-verdiene kan bli brukt for å spesifisere forskjellige fargerom (Warriss 2010-185).



Figur 3. CIELAB farge rom, viser L^* : lyshet, a^* :rød-grønn koordinater og b^* : gul-blå koordinater (JISC).

The Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), har spesifisert et fargerom referert til som CIELAB. Se figur 3. Den har en sfærisk form, og fordelen at den nærmer seg visuell uniformitet slik at like distanser i systemet representerer omtrent like visuelle distanser som oppfattes av mennesker. De tre stimulus-verdiene er benyttet for å kalkulere de tre koordinatene L^* , a^* og b^* . Alle serier av L^* , a^* og b^* verdier definerer en farge nøyaktig som et punkt i den tre-dimensjonale farge-sfæren. L^* står for lyshet, mens a^* og b^* er kromatisitet, chroma, (farge) koordinater. Der a^* koordinatene måler rød-grønnhet og b^* koordinaten er gul-blåheten (Warriss 2010-185).

Drypptap

Drypptap betyr den væsken som forsvinner fra et stykke kjøtt uten noen form for påvirkning. Denne væsken består av vann og proteiner. Dårlig vannbindingsevne er uønsket av mange årsaker, som blant annet dårlig kjøttkvalitet og vekttap (Fischer 2007).

pH fallet etter slaktning har størst betydning for drypuppet, der raskt fall av pH ved en høy temperatur vil denaturere muskelproteinene. Dette fører til at cellestrukturen brytes og vannbindingsevnen blir redusert. For svinekjøtt resulterer et stort dryp med et kjøtt som er seigt og tørt (Fischer 2007).

2.2 Plast

Historie

For den vestlige verden ble de første polymerene oppdaget i form av naturgummi, da sjøfolkene til Columbus så at de innfødte lekte med gummiklumper. Dette var allerede på slutten av 1400-tallet, men ikke før etter 1850 startet modifisering av naturlige polymere og framstilling av syntetiske polymerer. I dag er det de syntetiske plastfilmene som dominerer emballasje markedet. (Eie & Ditlefsen 2007).

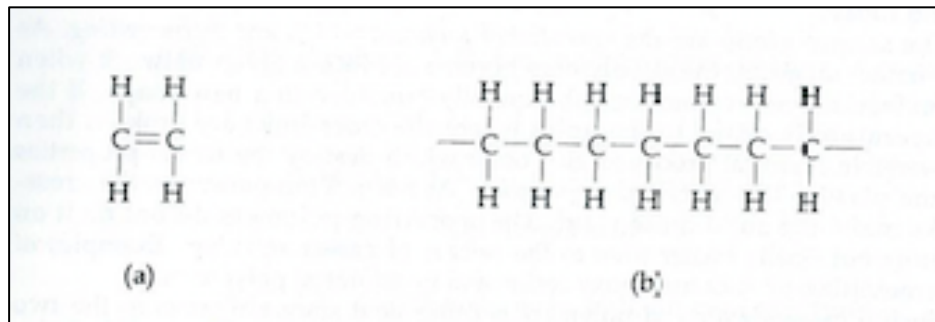
Den industrielle utviklingen av plastmaterialer startet i 1930-årene, med polyvinylklorid (PVC), polystyren (PS) og polyetylen (PE). PE ble introdusert som emballasjefilm i 1947. Andre kjente plastfilmer med betydning innen emballasjeområdet, fra kommersielt tilgjengelighet i stigende grad PVDC (saran), polyvinylalkohol (PVOH), polyester (PET), polyamid (PA) og polypropylen (PP). Etter PP, som kom i 1961, har det ikke blitt introdusert noen nye polymerer som emballasjematerialer (Eie & Ditlefsen 2007).

Råmateriale

Plastmaterialene i dag blir produsert med tilknytning til olje og petrokjemisk industri. Det var i løpet av 1960-årene, hvor olje og gass tok over som råstoff i plastindustrien. Tidligere ble polymermaterialer fremstilt fra vegetabiliske råvarer, som sukkerrør og vegetabiliske oljer. Fra den petrokjemiske industrien var det biproduktene, "nafta", fra destillasjonen av olje, som ble utgangspunkt for plastmaterialene som benyttes i dag (Eie & Ditlefsen 2007).

Fra raffinering av råolje, brytes nafta ned og danner monomerer og andre kjemikalier. Denne prosessen kalles "cracking". Videre kan disse kjemikaliene omdannes til monomerer som ikke dannes direkte ved nedbrytningen. Omdannelsen kan skje ved oksidering, halogenering, alkylering og karbonylering (Eie & Ditlefsen 2007).

Polymerer er molekylære materialer hvor hvert molekyl er langkjedet eller består av et nettverk av repeterende enheter. Dette kan best beskrives ved å se nærmere på polyetylen, PE, som er en av den mest brukte i mat emballasje filmer. PE har formelen $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)_n$ og er en sammensetning av monomeren etylen $(\text{CH}_2=\text{CH}_2)_n$, se figur 4 (Robertson 1992d).



Figur 4. Monomeren etylen (a) og polymeren polyetylen (b) (Robertson 1992a).

Oppbyggingen

Råstoff til plast dannes ved polymerisasjon. Polymerisasjon er en fellesbetegnelse på prosesser der små molekyler, monomerer, binder seg sammen til større molekyler. Det dannes polymerer, som er høymolekylære stoffer. Det er to hovedgrupper av polymerisasjon, addisjonspolymerisasjon og polykondensasjon. (Eie & Ditlefsen 2007).

Addisjonspolymeriseringen er en ren addisjonsreaksjon, som består av tre trinn, initiering, kjedevekst og terminering. Denne polymeriseringen benyttes for å danne plastmaterialene polyetylen (PE), polypropylen (PP), polyvinylklorid (PVC), polystyren (PS), polyvinylidenklorid (PVDC) og polyvinylacetat (PVA). Felles for alle monomere er at de har reaktive dobbeltbindinger mellom to karbonatomer (Eie & Ditlefsen 2007).

I en polykondensasjon, er selve reaksjonen en kondensasjon. Det vil si at reaksjonene skjer samtidig som det avspaltes et lavmolekylært stoff, som ofte er vann. Polymeriseringen danner en stabil kjemisk forbindelse, eksempler er polyester og polyamid (Eie & Ditlefsen 2007).

Egenskaper

Betydningen av oppbyggingen av polymerene, er viktig for å forstå plastmaterialenes egenskaper. Oppbygging innebærer kjedens sammensetning, forgreining, kjedens romlige fasong og bevegelsesmulighet, fasetilstand, molekylvekt og molekylvekts fordeling. Et eksempel er graden av forgreininger av PE, som har betydning for densitet og krystallinitet. Der PE med mange og lange forgreininger, gir lav tetthet, kalles LDPE (Low Density PolyEthylen). Motsatt gir den med få forgreininger, en høy tetthet, kalles HDPE (High Density PolyEthylen). Videre bestemmer krystallinitet andre egenskaper som permeabilitet, smeltepunkt og strekkstyrke (Eie & Ditlefsen 2007; Robertson 1992d).

Framstilling

Bearbeiding av plast til emballasjeprodukter, kan gjøres på mange ulike teknikker. Etter polymerisasjonen foreligger plasten som granulat eller som pulver. Det er flere forhold å ta hensyn til for å velge riktig bearbeidingsmetode, både kvalitetsmessige og økonomiske. Egenskapene til plastråstoffet kan også variere, avhengig av metode en velger. For de fleste bearbeidingsmetodene, vil plastmassen gjennomgå smelting, forming og avkjøling (Eie & Ditlefsen 2007).

Film/folie

Ekstrudering er en kontinuerlig prosess. I en ekstruder blir plastmassen blandet, komprimert, smeltet og transportert til en utgangs dyse. Materialet blir presset ut gjennom en dyse til en form (Almar-Næss & leksikon 2005-2007).

Ekstruderskruens utforming er viktig for homogenisering og transportkapasitet og hvert enkelt plastråstoff har sin egen skruedesign. Avhengig av utgangsdysens utforming, framstilles ulike produkter som slanger, filmer, folier, rør og profiler (Eie & Ditlefsen 2007).

Foliefremstilling tar også utgangspunkt i en ekstruder, men dysen er forskjellig. Ringdysen er byttet ut med en breddeyse, der bredden på dysen tilsvarer bredden på den ekstruderte folien. Spalteåpningen bestemmer folietykkelsen. Foliefremstilling ved denne teknikken brukes ofte for termoforming (Eie & Ditlefsen 2007).

Laminering betyr å sette sammen ulike filmtyper av for eksempel PE, PA, PP, EVOH. Her brukes de enkelte filmtypenes funksjoner, til å sammen skreddersy laminater med egenskaper som er tilpasset ulike behov. Det er ulike måter å framstille laminater på, og forskjellen ligger i hvordan de ulike film typene blir festet til hverandre (Eie & Ditlefsen 2007).

Forming

Termoforming tar som regel utgangspunkt i termoplastisk folie på rull, som trinnvis føres inn i maskinen. Folien plastifiseres ved hjelp av infrarøde varmeelementer, eller varmeplater som er direkte i kontakt med materialet. Folien suges eller presses ned i en form ved hjelp av vakuum eller trykkluft (Eie & Ditlefsen 2007).

Generelt om emballering

Emballasjens hovedhensikt er å beskytte næringsmidler mot ytre påkjenninger slik at kvaliteten bevares. Eksempler på ytre påkjenninger kan være temperatur, lys og fysiske krefter i form av trykk eller støt (Eie & Larsen 2007a). Andre skadelige effekter for produktet kan inkludere misfarging, avsmak, vondt lukt, tap av næringsinnhold, tekstur forandringer, patogene organismer og andre målbare faktorer (Zhou et al. 2010).

Emballasjeforbruket i næringsmiddelindustrien har vokst kraftig de siste årene.

Tilgjengelighet har blitt viktigere, ettersom det moderne industrialiserte samfunnet har endret livsstil voldsomt. Emballasjeindustrien må derfor respondere til disse endringene (Robertson 1992b). I dagens forbrukersamfunn er behovet for et bredt varesortiment, høy bearbeidingsgrad, lang holdbarhet, lite svinn og små enheter. Samtidig som produksjonen blir stadig mer sentralisert og fører til lengre transport (Eie & Ditlefsen 2007).

Etterspørselen etter ferske eller lett konserverte, velsmakende og lettvinde matvarer med lang holdbarhet, øker stadig. Dette setter store krav til hygiene prosess og emballering. Aktiv og

intelligent emballering kan her være avgjørende for matvaretrygghet og holdbarhet/kvalitetsbevaring (Eie & Larsen 2007a).

Til alle materialer som er i kontakt med næringsmidler er det et regelverk man skal forholde seg til. For alle materialer gjelder: Forordningene (EC) No 1935/2004 og (EC) No 2023/2006. Kravet i forordning (EC) No 1935/2004 om at materialer ikke skal forringe matens sensoriske egenskaper kan kun sikres ved egne undersøkelser med det aktuelle næringsmiddelet. Og for plast gjelder: Forordning (EC) No 10/2011 og forordning (EC) No 1282/2011. Det finnes i dag flere pakkemetoder som gjør det mulig å forandre atmosfæren rundt produktet for å oppnå lengre holdbarhet. De viktigste metodene er vakuumpakking, og pakking i ulike former for modifisert og kontrollert atmosfære (gasspakking).

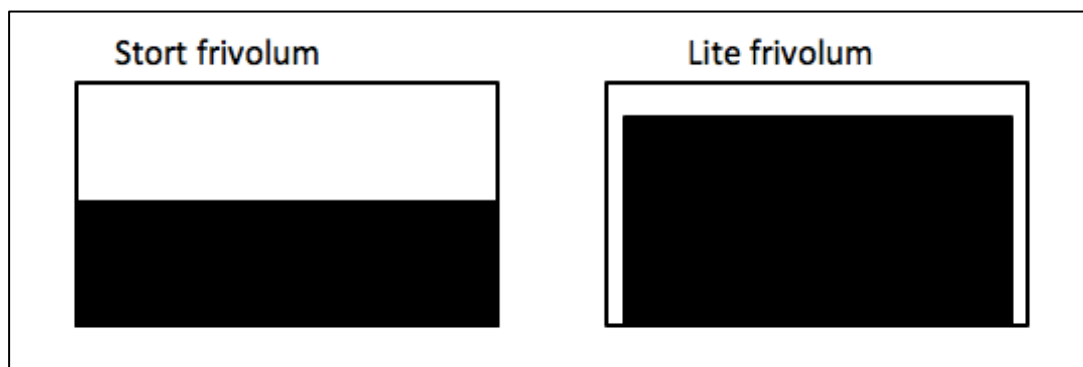
Permeabilitet

Permeabilitet er en egenskap som har stor betydning for kvaliteten til næringsmiddelemballasjen. Gassgjennomgang, vandampgjennomgang og gjennomgang av organiske luftkomponenter, er egenskaper som alle går under felles betegnelsen permeabilitet. Egenskapene varierer veldig mellom ulike materialer, og er knyttet til holdbarheten til næringsmiddelet. Både diffusjon og løselighet er viktig for produktets permeabilitet (Eie & Ditlefsen 2007).

Det er plastkjedenes oppbygging som bestemmer hastigheten på oksygenmolekylenes vandring gjennom plastmaterialene. Oksygenmolekylets diameter gjør at diffusjonsprosessen bare kan forekomme i det frie volumet mellom kjedene. Dette området består som regel av 2-5 prosent av totalvolumet. Åpne lokale passasjer, som har større tverrsnitt enn oksygenets diameter, vil også danne en høyere oksygengjennomgang i filmen. Dette bestemmes ikke bare av hvor tette kjedene er, men kjedefleksibiliteten og kreftene som holder de sammen. Passasje av oksygen blir redusert ved krystallinske strukturer, her vil tette kjedepakninger hindre polymerkjedenes bevegelighet. Løseligheten av gassmolekylene i plasten er også viktig for permeabiliteten (Eie & Ditlefsen 2007).

Headspace

Headspace, vil si det frivolumet pakningen har rundt næringsmiddelet. Frivolumet har betydning for hvor mye oksygen som kan penetrere inn i pakningen, for å oppnå en viss oksygenkonsentrasjon. Ved et lite frivolum, vil dette skje tidligere i lagringsperioden, enn ved et stort frivolum. Se figur 5. Når frivolumet avtar, vil partialtrykk forskjellen avta raskere, som resulterer i at den absolutte oksygenmengden som passerer filmen også vil avta. Partialtrykket er også avhengig av næringsmiddelets evne til å ta opp oksygen, som vil påvirke oksygengjennomgangen. Frivolumet har betydning for holdbarheten av næringsmiddelet, der oksygenmengde og oksygenkonsentrasjon er en kritisk holdbarhetsfaktor (Eie & Ditlefsen 2007).



Figur 5. Frivolum, eller headspace i pakninger. Til venstre stort frivolum og til høyre lite frivolum.

2.3 Pakking/emballering

Visse betingelser må oppfylles for at et produkt skal opprettholde ønsket kvalitet i den forutsatte holdbarhetstiden, uansett hvilken pakkemetode som benyttes. Det er viktig å bruke råvarer av god kvalitet, ha en god produksjonshygiene og temperaturkontroll, velge rett emballasje og ha et effektivt og hygienisk pakkeutstyr. Produktets holdbarhet kan bli vesentlig redusert i forhold til det som er forventet, ved slurv på bare et av disse områdene. For eksempel kan et produkt som forskriftsmessig skal lagres ved 4°C i en kjøledisk, få holdbarhetstiden redusert til det halve ved at butikkens kjøledisk holder 8°C isteden for 4°C. (Eie & Larsen 2007b)

Pakkemaskiner

Dyptrekker

Dyptrekker maskiner benytter seg av en prosess som i plastindustrien kalles for termoforming. Pakningene som fremstilles består av en underfilm og en overfilm. Filmen går gjennom formverktøyet, der underfilmen varmes opp og formes som en skål ved hjelp av vakuum. Deretter kommer ileggingssone, hvor produktet legges i pakningene manuelt, eller automatisk ved større maskiner. Deretter føres underfilmen og overfilmen inn i et vakuumkammer som lukkes. Her blir luften pumpet ut, og filmene blir sveiset sammen langs randen av pakningen. Helt til slutt skilles hver pakning med kniv

(Eie & Ditlefsen 2007).

Skålpakkemaskin

Prefabrikkerte dyptrukne skåler fylles med produkt og sendes gjennom maskinen. Inni maskinen fylles det med ønsket gassblanding, før pakningen får et lokk som lages ved påsveising av et fleksibelt plastlaminat (Eie & Ditlefsen 2007).

Kammermaskin

Her legges produktet i prefabrikkerte poser, og posen legges manuelt inn i maskinens kammer. Kammeret lukkes og luften pumpes ut av kammeret ved hjelp av en vakuumpumpe. Deretter sveises posen igjen og luft slippes tilbake i kammeret, slik at det kan åpnes (Eie & Ditlefsen 2007).

Vakuumpakking

Pakking med vakuum er en gammel metode som ble introdusert på 1950-tallet. Det benyttes et fleksibelt pakkematerial som vil omslutte produktet ved at luft suges ut ved hjelp av et undertrykk. Under forutsetning av helt tett emballasje, vil oksygenet fjernes og pakkemetoden har da en konserverende effekt ved at et O₂-sensitivt produkt får en økt holdbarhetstid (Eie & Larsen 2007b).

I dag benyttes vakuum først og fremst til ferske og bearbeidede kjøtt,- og fiskeprodukter, samt pakking av ost. De vanligste emballasje variantene som brukes i vakuum pakking av næringsmidler, er poser laget av et barriere materiale, til bruk i kammermaskiner, og ulike filmer beregnet for ulike dyptrekkerutstyr (Eie & Larsen 2007b). Pakking i vakuum med en film som har lav oksygen permeabilitet, er den vanligste måten for å få en anaerob atmosfære rundt kjøttet. Under lagringsperioden vil atmosfæren forandre seg, ved at det resterende oksygenet i pakningen blir brukt opp av biokjemiske aktiviteter fra muskel vev, som også konsumerer de små mengdene av oksygen som trenger igjennom filmen (Gill & Greer 1993).

Hvor høyt vakuum man kan oppnå er avhengig av næringsmidlets vanninnhold og temperaturen ved pakking. Det gjelder at jo høyere vakuum, desto mindre oksygen vil være igjen i pakningen. Eksempelvis vil et vakuum på 50mbar, teoretisk gi et restoksygen i pakningen på 1,05 prosent. Det er bevist at mugg,- og bakterievekster, samt de fleste oksidasjonsprosesser, reduseres tilstrekkelig ved oksygenkonsentrasjoner under 1-2 prosent. Dette tilsier at et vakuum på 50mbar vil være tilstrekkelig for å øke holdbarheten for de fleste næringsmidler (Eie & Larsen 2007b).

Modifisert atmosfære pakking (MAP)

Modifisert atmosfære pakking, MAP, betyr at en bytter ut luften i pakningen med gasser i andre konsentrasjoner. Ved pakking trekkes all luften ut av pakningen, deretter erstattes det med en ønsket gass-sammensetning, før pakningen forsegles. I MAP blir ikke den nye gassmiksen som tilsettes kontrollert eller justert under lagringsperioden. Den vil derfor forandres over tid, avhengig av gassenes transport gjennom emballasjen og matvarens opptak av gassene (Eie & Larsen 2007b).

Gassmiksen som benyttes i kjøttprodukter i dag består normalt av karbondioksid (CO_2) og nitrogen (N_2) i ulike mengder. Tidligere ble det pakket med en gass som bestod av 50-70% CO_2 /30-50% N_2 og 0,3-0,5% CO. En gassmikse med CO gav en mer delikat farge på kjøttet, ettersom CO stabiliserer fargen. Men CO hadde ingen forlengende effekt på holdbarheten, og oppfattes derfor som matsminke. CO kan være giftig i store mengder, og er derfor blitt forbudt i mange land (Eie & Larsen 2007b).

I dette forsøket ble det pakket med et forhold på 60% CO_2 og 40% N_2 , det er den samme gassblandingen som benyttes i norsk kjøttdeig og i hele stykker av svin. Funksjonene for de ulike komponentene er at CO_2 forlenger den bakteriologiske holdbarheten på kjøttet fra 3 til 10-14 dager (sammenlignet med lagring i luft), mens N_2 fungerer som fyllgass for å hindre at pakningen klapper sammen. Samtidig er pakkegassen avhengig at det er et lavt nivå av rest- O_2 , helst under 0,2%, for å hindre at kjøttet blir grått (Eie & Larsen 2007b).

Det er ønskelig å opprettholde gassblandingen som injiseres ved pakketidspunktet, så lenge som mulig under lagringsperioden. Avhengig av type næringsmiddel og hvor lang holdbarhetstid som ønskes for produktet, velges det ut hvor god gassbarriere som er nødvendig på emballasjen. Derfor benyttes det vanligvis laminater med et eller flere barrieresjikt, som gir en høy gassbarriere for pakningen (Eie & Larsen 2007b).

Skinpack

En nyere metode for pakking i vakuum er skinpack. Dette kan enkelt beskrives som ”vakuumpå et brett”, der stive underfilmer blir tillaget i en termoformer som benytter vakuum og varme for å danne et ”brett”. Teknikken porsjonerer kjøtt på ”brettene”, som deretter blir skinpakket i et barriere film materiale. Overfilmen former seg etter formen på kjøttet (produktet), og danner en stram pakke som sveises sammen med underfilmen i et vakuum kammer. Kjøttet holdes da under anaerobe forhold (Robertson 1992c).

Aktiv emballering

Det er flere måter å definere aktiv emballering på, ifølge Brody: Emballasje som reagerer på miljømessige forandringer (Brody 2001). Mens EMB direktiver forordning 450/2009 er definerer det slik: Aktive materialer og varer, betyr varer og materialer som er ment å øke holdbarheten eller opprettholde eller forbedre tilstanden for pakket mat. De er designet for å bevisst inkorporere komponenter som ville slippe ut eller absorbere stoffer til eller fra pakket mat eller til miljøet rundt maten.

Aktiv emballasje er inkorporering av spesifikke komponenter i emballasje systemet som virker sammen med innholdet eller miljøet for å opprettholde eller utvide kvaliteten og holdbarheten (Kerry et al. 2006). I hovedsak kan aktiv emballering deles inn i tre konsepter, absorber, avgiver og andre konsepter. Absorber, fjerner uønskede komponenter i atmosfæren rundt matvaren. Avgiver (emitter), tilføyer komponenter til matvaren eller til atmosfæren rundt matvaren. Hensikten med absorber og avgiver er å forlenge holdbarheten og/eller forbedre kvaliteten. Andre konsepter, inkluderer mikrobølgeomottakere, løsninger for å blokkere UV-lys, temperaturreguleringer (selv-varmende eller selv-kjølende) og emballasje som kontrollerer gassgjennomtrengelighet (Eie & Larsen 2007a).

Eksempler på bruk av aktiv og intelligent emballering kan være en O₂-absorber, som fjerner oksygen i pakningens atmosfære. CO₂-emitter, som sørger for at det alltid er CO₂ tilstede. O₂-indikator, som påviser om det har vært lekkasje i emballasjen. Tid-temperatur-indikator (TTI), som overvåker produktet og forteller tid/temperaturer produktet har blitt utsatt for.

Ferskhetsindikator, som påviser om noen uønskede bakterier har utviklet seg i matvaren (Eie & Larsen 2007a).

Absorber

Fukt absorber er den største og viktigste kommersielt brukte absorbereren. Andre kan være CO₂-absorber, etylen absorber og oksygen absorber. Felles for alle absorbere er at de fjerner uønskede komponenter rundt matvaren, for å forlenge holdbarhetstiden og/eller forbedre kvaliteten. En tradisjonell måte å tilsette absorbenter på i pakningen er i form av små poser (Eie & Larsen 2007a).

Det er mange hensyn å ta ved valg av absorber, kapasitet en ønsker, hva som kreves for at absorbere skal fungere, emballasje-materialets barriere (for eksempel krever en oksygen absorber en gass-tett pakning), pakningens geometri for sirkulering rundt produktet, og overflateareal i forhold til volum. Det er også viktig at absorbere ikke må ta for stor plass i pakningen og være trygge å bruke (ikke inneholde noe toksisk) (Eie & Larsen 2007a).

Absorber som benyttes i dette forsøket er en kommersielt tilgjengelig absorber. Den absorberer væske, som er med på å forbedre utseende for forbruker og forhindre mikrobiell vekst. Valg av hvordan type fuktighets absorber er avhengig av flere faktorer. Viktige faktorer å ta hensyn til for valg av væske absorber er vekt av produkt, initial vann aktiviteten, vanndamps transmisjon fra pakningen, temperatur og fuktighet under lagring, produktets sensitivitet til fuktighet og lengden på kommersiell levetid (Pereira de Abreu et al. 2011).

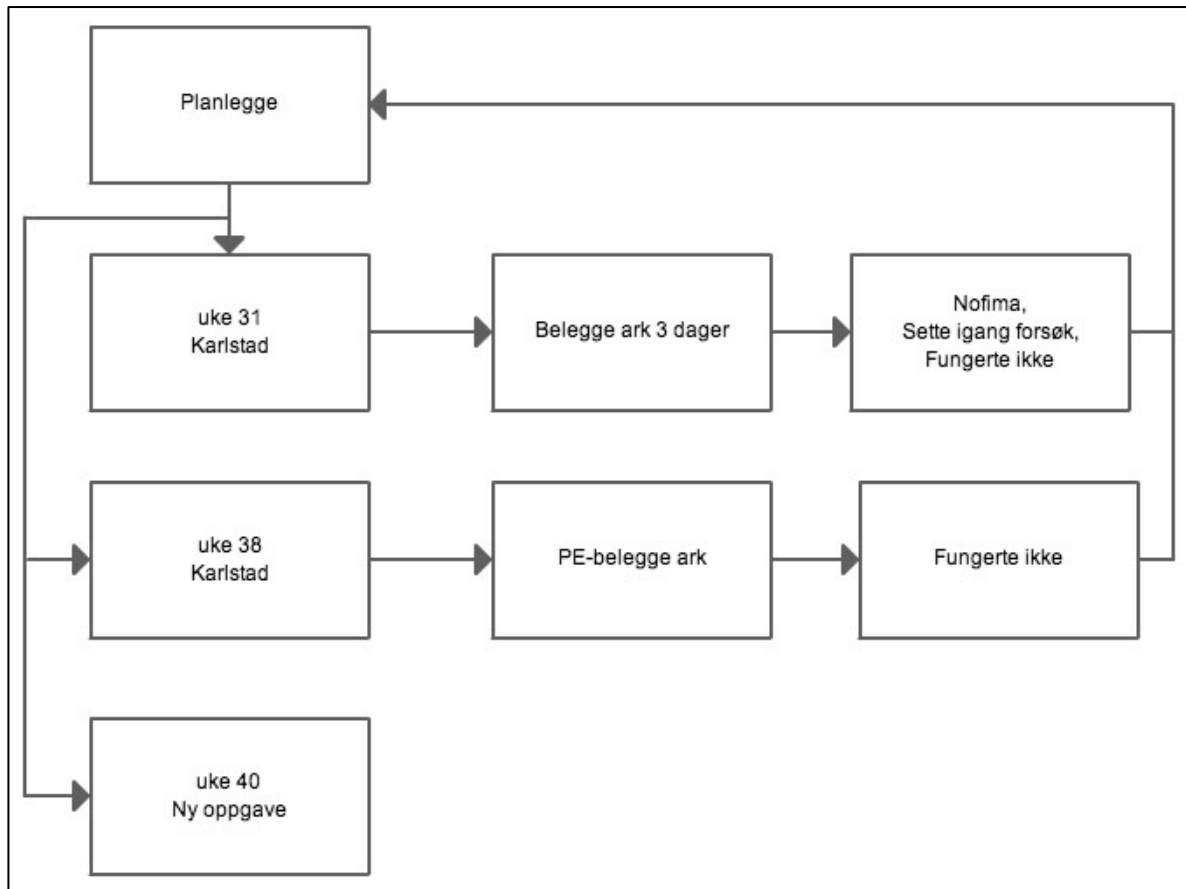
Emitter

Avgivere finnes i mange ulike typer, antioksidanter, aroma-emitter og CO₂-emitter er blant noen av konseptene. Det er spesielt mange patenter på avgivere av antimikrobielle stoffer (Eie & Larsen 2007a).

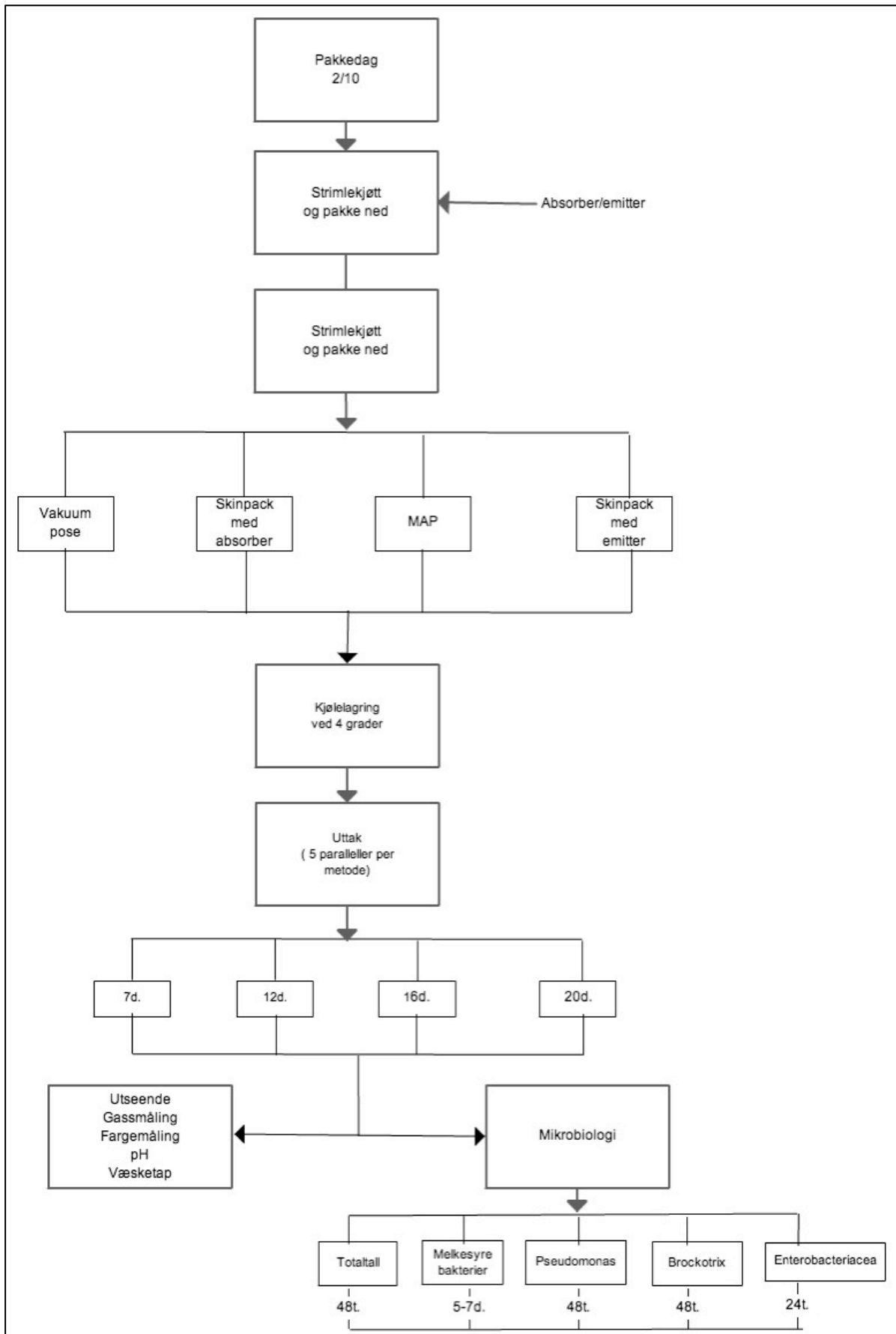
I dette forsøket ble det benyttet en CO₂-emitter, som utvikler CO₂-gass i pakningen etter forsegling, dette bidrar til å beholde og gjerne øke produktkvaliteten og holdbarheten av kjøttet, samt redusere ineffektiv emballering og distribusjon. CO₂-emitteren aktiveres av fuktighet, mengde fuktighet tilgjengelig i lagringsperioden av produktet påvirker i stor grad genereringen av CO₂.

Høyt nivå av karbondioksid spiller ofte en gunstig rolle ved å forsinke mikrobiell vekst på overflater av kjøtt og fjørfe, samt forsinke respiratorraten for frukt og grønnsaker. Siden karbondioksid er mer gjennomtrengelig enn oksygen, gjennom mange ulike plastfilmer brukt til emballasje, vil mesteparten av karbondioksidet på innsiden av pakningen trenge ut gjennom filmen. For tilfeller der pakningen har høy gjennomtrengelighet av karbondioksid vil et system med bruk av CO₂-emitter være nødvendig, for å redusere raten av respirasjon og hemme mikrobiologisk vekst. Et dobbelt funksjons system hvor en oksygen fjerner og en CO₂-emitter er normal praksis for å øke holdbarhetstiden for lett bederverlige matvarer (Ozdemir & Floros 2004).

3. Materialer og metoder



Figur 6. Flytskjema for forsøket. Planlegging i Norge og belegge ark i Karlstad foregikk i to omganger. Forsøket fungerte ikke og oppgave måtte tilslutt endres etter 2 måneder.



Figur 7. Flytskjema for gjennomføring av lagringsforsøket.

3.1 Førforsøk i Karlstad

Forsøkene ble utført på Universitetet i Karlstad.

Arbeidet utført i førforsøket er oppsummert i et flytskjema figur 6.

Førforsøket fungerte ikke etter planen og måtte derfor avsluttes uten noen resultater. Det ble gjort forberedende arbeid, som jeg kort oppsummerer i denne materialer og metode delen.

Planen for forsøket var et lagringsforsøk på kyllingkjøtt. Der en skulle testes 4 ulike varianter av papir bestrøket med ulike biomaterialer, mot en referanse som skulle være en vakuumpose.

De 5 variantene som skulle testes var som følger:

- Nr. 1: SuperPerga, kun PE-belegg
- Nr. 2: SuperPerga, Pilot-bestrøket med stivelsesløsning tilsatt sitronsyre.
- Nr. 3: SuperPerga bestrøket i lab med stivelsesløsning tilsatt sitronsyre
- Nr. 4: SuperPerga bestrøket i lab med leireløsning.
- Nr. 5: Referanse, Vakuumpose.

Materialer

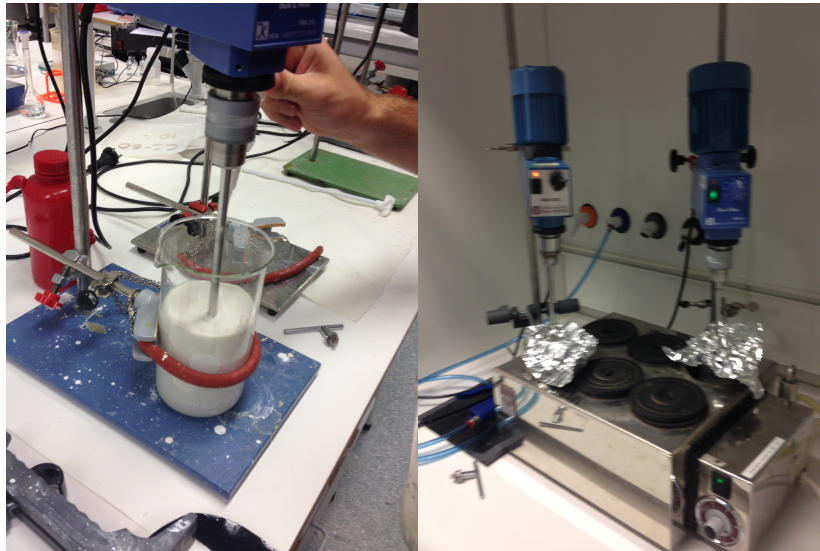
Tabell 1. Materialer og kjemikalier anvendt i førforsøk i Karlstad.

| Materialer/kjemikalier | Spesifikasjon | Leverandør |
|--------------------------------|---------------------|-----------------------------------|
| SuperPerga WS Parchment | 50g/m ² | Nordic Paper Greåker, Norge |
| Potetstivelse, Solocoat 155 | 20% tørrstoff | Solam, Kristianstad, Sverige |
| Sitronsyre | | Puriss, Sigma-Aldrich Inc, USA |
| NaOH løsning | | Southern Clay Products, USA |
| Leire, Barrisurf LX | | |
| Benke-bestrøker | K202 control coater | RK Coat Instrument, UK |

Metode

Løsninger ble tilgjort og deretter bestrøket på papir.

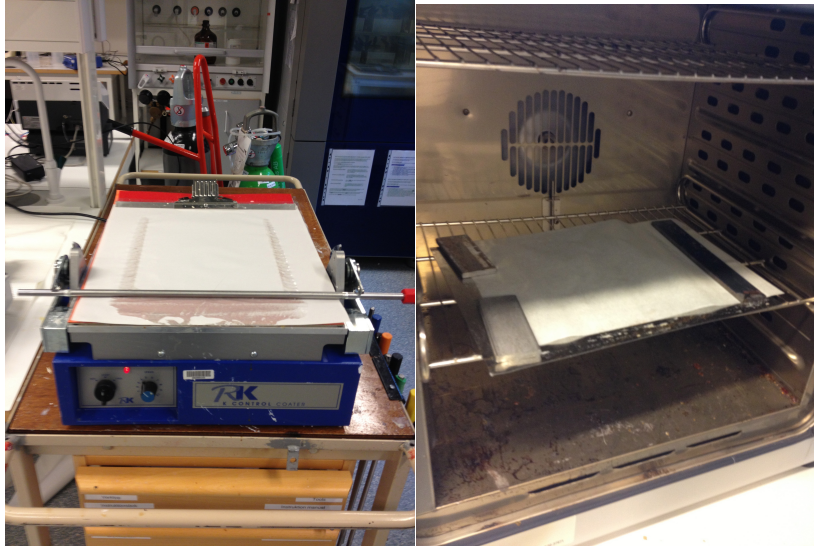
Først ble det gjort en tørrstoffprøve for å tilpasse hvor mye stivelses som skulle tilsettes i avionisert vann. Stivelsen ble gelatinisert i kokende vannbad under kraftig omrøring med drill i 45 minutter, se figur 8.



Figur 8. Omrøring av løsninger med drill. Til venstre: omrøring i vannbad.

Sitronsyre ble tilsatt den gelatiniserte stivelsen etter den hadde kjølt seg ned til romtemperatur og pH ble justert med NaOH løsning.

Deretter ble papir substratet Super Perga WS bestrøket, se figur 9. Bestrykningen ble gjort i to lag med en benke-bestryker. Den hadde en metalltråd-viklet bar 0,31 og en bestrykningshastigheten var på 6m/min. Dette resulterte i en total bestrykningsvekt på 0,10g/m². For hver bestrykning ble arkene tørket i ovnen i 90 sekunder ved 105°C.



Figur 9. Bestrykning av ark med ulike løsninger. Til venstre: benke-bestryker. Til høyre: ferdig bestrøket ark i ovn for å tørke.

Den samme prosedyren ble benyttet for arkene som ble bestrøket med leire løsningen.

Det ble bestrøket 100 ark av hver løsning.

3.2 Lagringsforsøket

Pakking

Forsøkene ble utført på pakkehallen ved Nofima As, Ås.

Arbeidet utført i dette forsøket er oppsummert i et flytskjema i figur 7.

Informasjon om materialer og kjemikalier benyttet i forsøket kan sees i vedlegg 1.

Svin ytrefilet fra Furuseth slakteri kom i hele stykker på 2-4 kilo. For lagringsforsøket skulle kjøttet fordeles i ulike forpakninger for å videre vurdere eventuelle forskjeller mellom disse.

Det ble benyttet tre ulike pakkemetoder. Der skinpack blir videre beskrevet i oppgaven som to forskjellige metoder, der den ene har en absorber og den andre en emitter. De fire ulike metodene er demonstrert i figur 10. De fire ulike pakkemetodene var henholdsvis:

- MAP (modifisert atmosfære pakning)
- Skinpack med absorber
- Skinpack med emitter
- Vakuumpose



Figur 10. De fire forskjellige pakkemetodene av svinekjøtt benyttet i dette lagringsforsøket.
Øverst fra venstre: MAP, skinpack med absorber, skinpack med emitter, vakuumpose.

Materialer:

- Kniv
- Kjøtt
- Vekt (Mettler Toledo, Sveits)
- Termoformer (Multivac R145, Wolfertschweden, Tyskland)
- Kammermaskin (Intevac IN30, Wallenhorst, Tyskland)
- Skålpakkemaskin (Polimoon 511G, Promens, Norge)
- Skåler
- Overbane
- Vakuumpose
- Absorber
- Emitter

Metode:

Svinekjøttet ble skåret opp i strimler på ca. 3x3x1 cm. Deretter ble strimler fra ulike kjøttstykker blandet og fordelt med 315 ± 2 gram i hver pakke. Før ileggelse av kjøtt ble en absorber eller en emitter lagt i bunn av pakningen. En stor absorber ble delt i tre, de ulike delene i hver sin pakning. Emitter ble plassert kun i skinpack.

Informasjon absorber/emitter som ble benyttet er beskrevet i tabell 2.

Tabell 2. Paknings materiale anvendt i dette studiet, spesifikasjoner og leverandører.

| | Materialer | Spesifikasjon | Leverandør |
|------------|---|----------------------|--|
| Vakuumpose | PA/PE | 20/70µm | M. Neemann OHG, Leer, Tyskland |
| MAP | APET/PE svarte, prefabrikerte skåler | 550µm | Wipak, Nastola, Finland (Termoformet av JiHå Plast AB, Karlskoga, Sverige) |
| | PET/PE/EVOH/PE overbane | ESB 65 HFP/AM | Biaxer film fra Wipak, Nastola, Finland |
| Skinpack | APET/PE svart folie, termoformede skåler | 550 µm | Wipak Nastola, Finland |
| | Darfresh TH 300 overbane | 150 µm | Sealed Air Corporation, Elmwood Park, NJ, USA |
| Emitter | PE/Luna/(PP-PE-nonwoven) + aktive komponenter | | Cellcomb Foodpads AB, Kulinggatan2, 652 21 Karlstad |
| Absorber | PLA/Luna/(PP/PE-nonwoven) | | Cellcomb Foodpads AB, Kulinggatan2, 652 21 Karlstad |

MAP pakningene ble tillaget ved bruk av en skålpakkemaskin, se figur 11, med prefabrikkerte dyptrukne skåler. Det ble ilagt en absorber og kjøtt. Deretter ble pakningen sendt igjennom maskinen hvor en gassblanding på 60% CO₂ og 40% N₂ ble tilsatt før forsegling med en påsveiset film. Forholdet mellom gassvolum og produktvolum er i dette forsøket 1:1. Dette tilsvarer ca. 315 gram kjøtt. Denne kjøttmengden ble også benyttet i de andre pakkemetodene.



Figur 11. Skålpakkemaskin benyttet i dette forsøket for å lage MAP.

Skinpack ble tillaget i en termoformer (dyptrekker), se figur 12, deretter ble absorber/emitter og kjøtt manuelt lagt i skålene, før pakningen automatisk ble sveiset igjen.



Figur 12. Termoformer (dyptrekker) benyttet i dette forsøket for å lage skinpack.

Prefabrikkerte vakuumposer ble ilagt en absorber og kjøtt før posene manuelt ble lagt i en kammermaskin og sveiset igjen. Se figur 13.



Figur 13. Kammermaskin benyttet i dette forsøket for å lage vakuumposer.

Informasjon om skåler, poser og filmer som ble benyttet er beskrevet tabell 2.

Det ble tillaget 20 pakker av hver metode. Det ble tatt ut 5 paralleller per metode ved 4 ulike uttak gjennom perioden, som gav 80 pakker totalt.

Det ble også tatt ut 5 paralleller ved pakkedag for å tallfeste startkvaliteten på kjøttet.

Pakningene ble lagret i kjøleskap ved 4°C gjennom perioden, i henholdsvis 7,12,16 og 20 dager.

Oksygen analyser

På pakkedagen ble det målt gasskonsentrasjon av alle MAP pakningene som inneholder N_2/CO_2 for å ha startkonsentrasjon. Dette ble videre gjort for hvert uttak hovedsakelig for å sjekke at pakningene var tette, samt å måle mengde CO_2 i pakningen.

På pakkedagen (dag 0) ble det målt O_2/CO_2 -innhold i pakningene som innehold gass.. Ved dag 0 ble det målt av alle 20 pakningene av MAP, for å finne gjennomsnittet for startkonsentrasjonen. Disse ble så lagt tilbake til lagring ved 4 grader. Deretter ble det tatt ut 5 pakker per måling (uttak) gjennom resten av forsøket.

Instrument:

- Gassmåler (Checkmate 9900, PBI Dansensot, Danmark)

Metode:

Analysene ble gjort ved bruk av en O_2/CO_2 -måler, der en nål settes inn i et septa som er satt på pakningens overbane og konsentrasjonen blir målt automatisk.

Resultatene oppgis som % CO_2 og % O_2 (det resterende er da % N_2).



Figur 14. Gassmåler benyttet i dette forsøket.

Fargemåling

Før pakkene ble åpnet ble kjøttets farge analysert. Analysen ble gjennomført ved bruk av et instrument som måler L^* (lyshet), a^* (rødhet) og b^* (gulhet) verdier. Instrumentet ble tilkoblet en datamaskin med en programvare som viste tallverdier for de tre ulike parameterne.

Instrument:

- Minolta Chroma meter (CR-400, Minolta Camer Co, Japan)
- Programvare: ChromaMagic 1,0

Metode:

En fargemåler, Minolta, ble benyttet for å analysere kjøttets farge. For hvert uttak ble hver enkelt pakning målt. Dette gav 5 pakker av hver metode, som utgjør 20 pakninger totalt. Før måling ble Minolta kalibrert med en hvit referanseplate. Ved måling ble det valgt tre tilfeldige punkter på overflaten, se figur 15a). Sensoren ble satt direkte på filmen av den uåpnede pakningen, og instrumentet målte L^* , a^* og b^* verdier. Se figur 15b) Minolta ble tilkoblet en datamaskin og programmet SpectraMagic. Programmet viste tallverdier for de ulike målingen. Resultatene ble deretter importert inn i Excel for videre beregninger.



Figur 15: Eksempel på Minolta fargemåling av emballert svinekjøtt. Til venstre: tre tilfeldige punkter. Til høyre: Minolta CR-400 fargemåler.

Mikrobiologi:

Forsøkene ble utført på mikrobiologisk laboratorium ved Nofima As, Ås.

Etter fargemåling ble pakkene åpnet og det ble tatt ut prøver til mikrobiologiske analyser. Kontrollen av de mikrobiologiske analysene vises i tabell 3.

Bakteriell plate telling ble utført ved pakketidspunkt og for hver prøve under lagring. Omtrent 10 gram fra hver prøve. En egnet tifolds fortynnelse ble brukt på agar platene. Agarene som ble brukt ble inkubert aerobt ved ulike temperaturer og tider, se tabell 3. Antall bakterier var uttrykt som kolonidannende enheter (CFU) per gram.

Tabell 3. Mikrobiologiske metoder benyttet til kontroll av emballasjeforsøkene i studiet.

| Mikroorganisme | Agar | Forkortelse | Inkubasjons temperatur | Inkubasjons tid |
|---------------------------|--|-------------|------------------------|-----------------|
| Totaltall | Standard Plate Count Agar | PCA | 30°C | 48 timer |
| Pseudomonas | Pseudomonas Agar Base | CFC | 30°C | 48 timer |
| Melkesyrebakterier | The Man, Rogosa and Sharpes Agar | MRS | 25°C | 5-7 dager |
| Brochothrix thermosphacta | Streptomycin-Thallos Acetate-Acidione Agar | STAA | 30°C | 48 timer |
| Enteriobakteracea | Violet Red Bile Glucose Agar | VRGB | 37°C | 24 timer |

Mediene ble autoklavert ved 121°C og 1 atm i 15 minutter. MRS ved 115°C og 1 atm i 15 minutter.

Tilberedning av medier som ble benyttet i oppgaven er beskrevet i vedlegg 2.

Materialer:

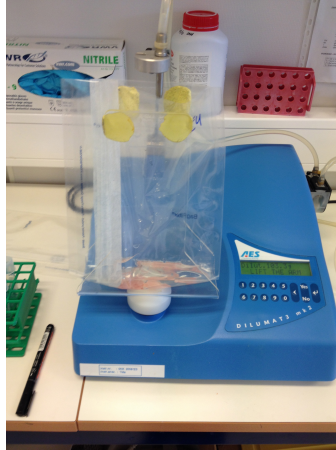
- Skalpell
- Pinsett
- Stomacherpose 400
- Dilumat (MK2, AES laboratorie)
- Stomacher (400, Colworth)
- Falcon-rør
- Vortex mikser
- Målepipette
- Automatpipette
- Vinkelstav
- WASP (Whitley Automatic Spiral Plater, Don Whitley Scientific Ltd., Storbritannia)
- Programvare: Protocol (Synbiosis)

Metode:

De ulike pakningene med kjøtt ble åpnet, en av gangen, sterilt med en skalpell. Det ble plukket ut kjøttstrimler i overflaten av pakningen med en steril pinsett. Kjøttstrimlene på ca. 3x3x1 cm ble puttet oppi en stomacher pose. Posen ble veid, slik at den inneholdt ca. 10 gram kjøtt.

Videre ble posen plassert i en Dilumat, se figur 16, som automatisk tilsatte pepton vann til fortynningsforholdet 1:10. Kjøtt og peptonvann ble homogenisert i en stomacher i 60 sekunder, før prøvematerialet ble overført til et Falcon rør med en målepipette.

Prøvematerialet ble videre fortynnet i en tifolds fortynningsrekke, der 0,5ml av prøvemateriale ble tilsatt sterile rør med 4,5ml peptonvann. Mellom hver fortynning ble rørene homogenisert ved hjelp av en vortex mixer.



Figur 16. Dilumaten benyttet i dette forsøket. Det er en maskin som automatisk tilsette ønsket fortynningsforhold av væske.

For å bestemme antall *Pseudomonas*, totaltall, melkesyrebakterier og *Brochothrix thermosphacta* ble det gjort en overflatespredning på ulike agarer, se tabell 3.

Enterobacteriaceae i kjøttet ble kvantifisert ved innstøpning i VRBGA med agarlokk.

Ved 1:10 fortynning med et volum på 500µl manuelt sådd ut på agarskåler og spredt med en steril vinkelstav. Skålene ble inkubert ved ulike betingelser, se tabell 3. Tellingen ble gjort manuelt og oppgis i kolonidannende enheter per gram (cfu/g).

Fortynninger fra 10^{-1} til 10^{-3} ble automatisk sådd ut ved hjelp av en automatisk spiralutplater, WASP. WASPen sår 50 µl av fortynning automatisk ut i en spiral, koloniene telles dermed enkelt ved hjelp av tellemaskin, se figur 17.

Skålene ble inkubert ved ulike betingelse, se tabell 3. Tellingen foregikk ved bruk av automatisk tellemaskin, Protocol, som oppgir kolonidannende enheter per gram (cfu/g).



Figur 17. WASP, en automatisk spiralutplater, som sår fortynninger automatisk ut i en spiral og koloniene kan telles ved en tellemaskin. Til venstre: WASPen og til høyre: hvordan spiral utsåingen ser ut på agarskålen.

pH

Etter uttak til mikrobiologisk analyse ble pH målt ved bruk av et pH-meter. Det ble tatt 3 paralleller av hver pakningen.

Materialer:

- pH Meter (Model 45, Beckman, USA)
- Destillert vann, (dH_2O)

Metode:

pH-målingene ble utført ved bruk av et pH-meter. Før hver analyse ble pH-meter kalibrert med standard buffer med pH 4 og 7. Det ble vasket med destillert vann mellom hver måling.



Figur 18. pH-målinger. Til venstre: pH-meter benyttet i dette forsøket. Til høyre: eksempel på pH-måling.

Drypptap

Etter alle analyser var gjort ble drypptapet beregnet. Dette ga en indikasjon på hvor god absorber/emitter.

Materialer:

- vekt (Mettler Toledo, Sveits)

Metode:

Kjøttet ble tatt ut av pakningen og vekten av gjenstående pakning med absorber/emitter og væske ble registrert. Deretter ble vekt av gjennomsnittlig pakning og absorber/emitter subtrahert, og resterende vekt er drypptap.



Figur 19. Eksempel på veiing av skinpack og emitter for å beregne drypptap.

Databehandling

De ulike dataverktøy som ble benyttet under arbeid med oppgaven vises i tabell 4.

Tabell 4. Dataverktøy benyttet under arbeid med oppgaven.

| Program | Funksjon | Leverandør |
|---|--------------------------------|---|
| ChromaMagic 1,0. | Fargeanalyser | |
| Microsoft [®] Excel [®] for Mac 2011. | Utrekning, grafer og tabeller | |
| Microsoft [®] Word for Mac 2011. | Skriveverktøy | |
| MINITAB [™] | Forsøksdesign | Minitab Inc, USA |
| Protocol 2 | Automatisk avlesning av skåler | Synbiosis |
| Creately | Design flytskjema | http://creately.com/ |

Ved bruk av MINITAB[™] ble et signifikantnivå på 5% ($p < 0,05$) benyttet.

Det ble gjort en Generell lineær modell (ANOVA) for å se på alle variablene og evaluerer om parallellene var signifikant forskjellige.

Deretter en One-way ANOVA for hvert uttak for å evaluerer effekten av pakkemetodene, dette er fordi man kan forvente en tidseffekt.

I tillegg ble det testet om det var korrelasjoner mellom de ulike pakkemetodene for hele lagringsperioden og korrelasjoner for hvert uttak.

4. Resultater

Rådata brukt til fremstilling av grafer og tabeller er vedlagt i vedlegg 2.

4.1 Gassmålinger

På pakkedagen (dag 0) ble det målt O₂/CO₂-innhold i pakningene som innehold gass. Dette ble videre gjort ved hvert uttak for å undersøke om det var lekk i noen av pakningene. Tabell 5 viser registreringene utført for de ulike uttakene.

Tabell 5. Oksygenmålinger og karbondioksidmålinger av svinekjøtt pakket i modifisert atmosfære (MAP). Angitt o prosent etter lagring ved henholdsvis 4 grader i 7, 12, 16 og 20 dager.

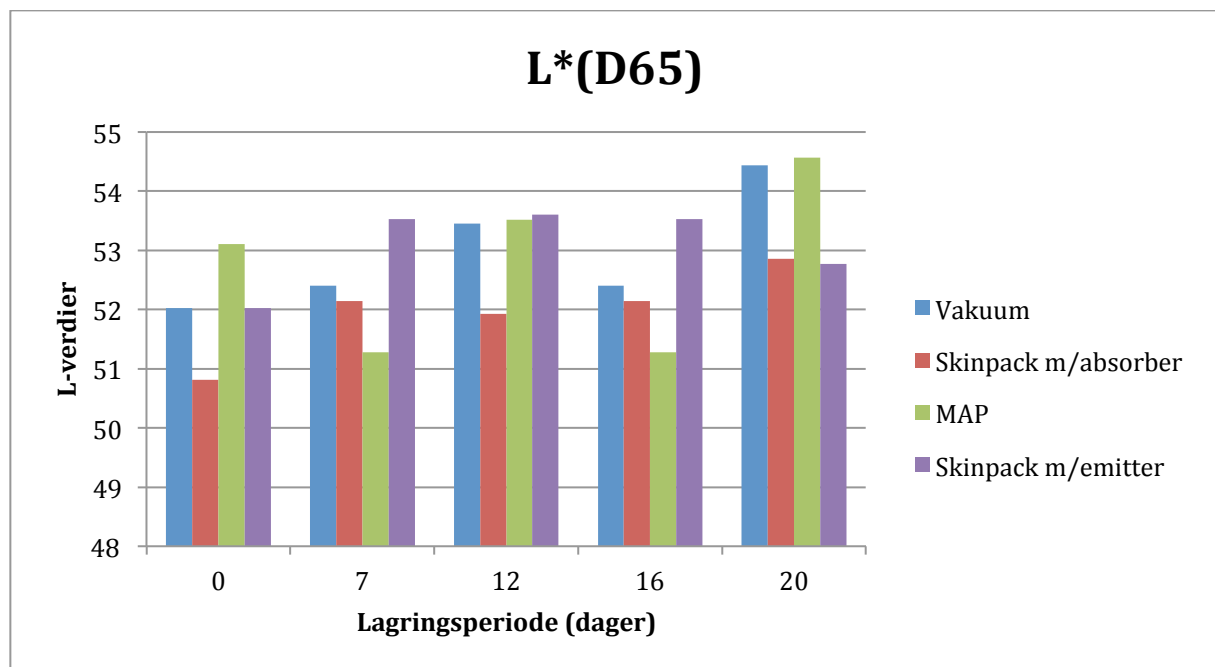
| Dag | 0 | 7 | 12 | 16 | 20 |
|-----------------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| O ₂ -gass | 0,028 | 0,078 | 0,090 | 0,066 | 0,058 |
| CO ₂ -gass | 59,359 | 37,520 | 37,360 | 37,440 | 37,140 |

Resultatene fra MAP pakningene viser lave nivåer av O₂-gass ved alle uttak, dette tilsier at det ikke var lekkasje i pakningene. CO₂-gass nivået ble redusert gjennom lagringsperioden.

4.2 Fargemålinger

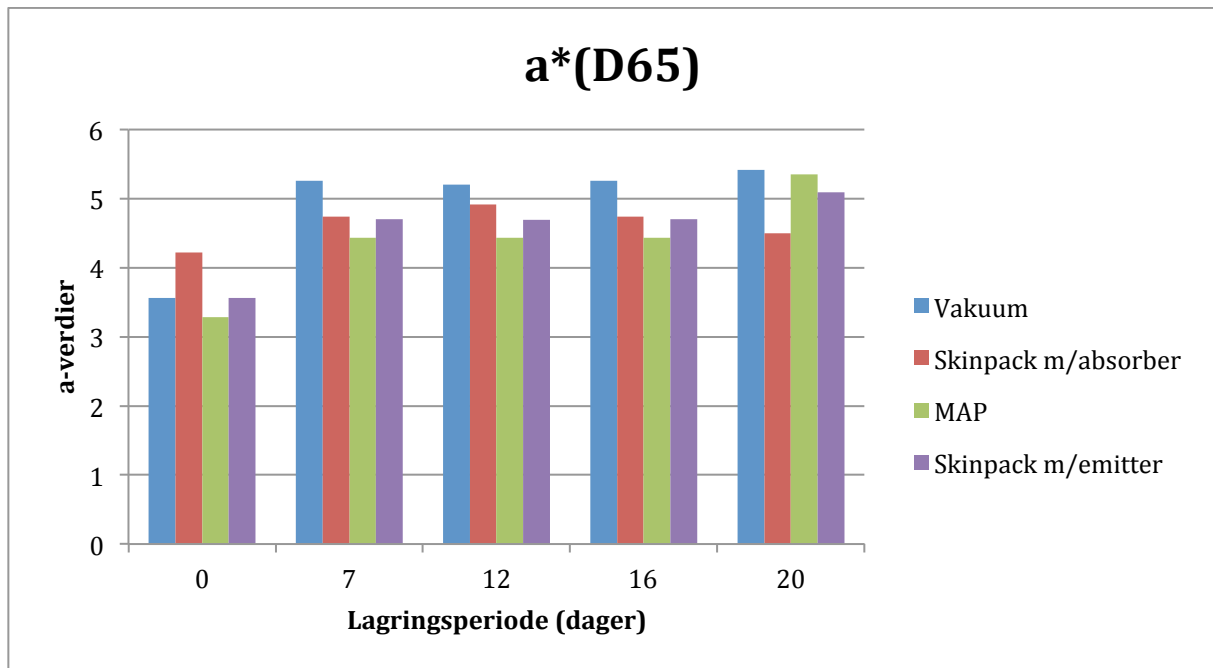
Analyser av fargen på kjøttet ble utført ved bruk av Minolta Chroma Meter som beregner CIELAB verdier for $L^*(65)$, $a^*(65)$ og $b^*(65)$. Påfølgende figurer viser for $L^*(D65)$ -verdier for lyshet, $a^*(D65)$ -verdier for rødhet og $b^*(D65)$ -verdier for gulhet.

Innenfor hver dag gir ulike bokstaver en indikasjon på at metodene er signifikant forskjellige fra hverandre.



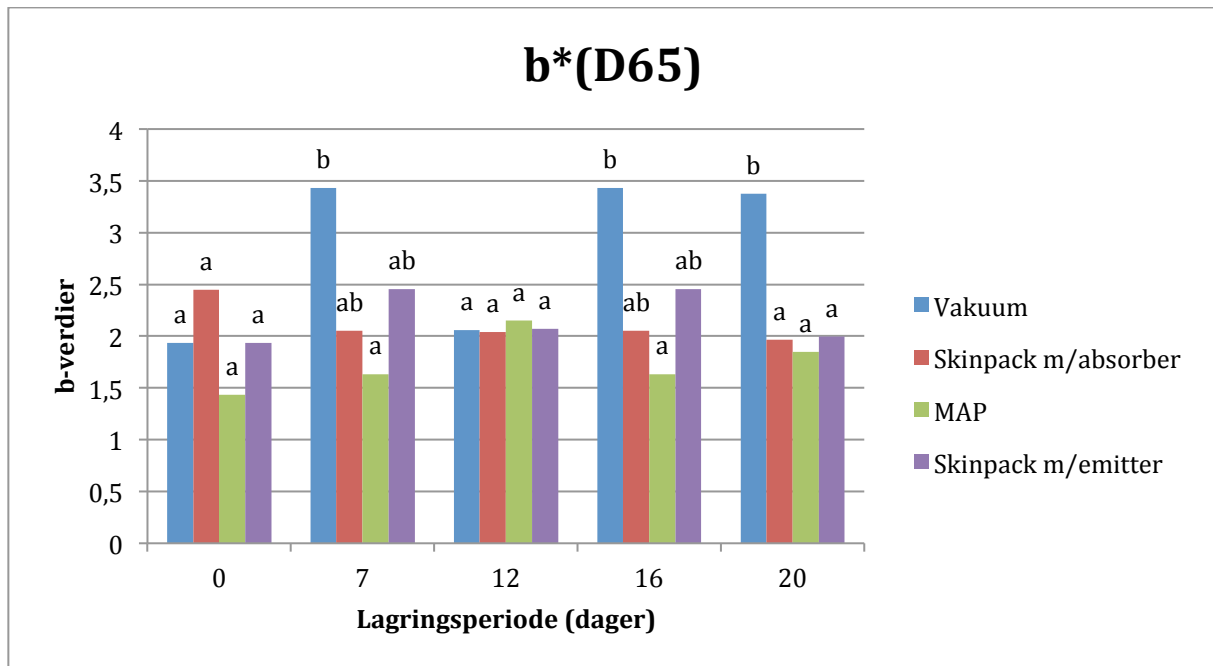
Figur 20. $L^*(D65)$ - verdier (CIELAB verdier). Lyshet av svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager.

$L^*(65)$ -verdiene varierte mellom 50,8 og 54,5 og var ustabile for alle pakkemetodene utover i lagringsperioden. Det var forskjellige $L^*(65)$ -verdier mellom de ulike pakkemetodene, men forskjellen var ikke signifikant.



Figur 21. $a^*(D65)$ verdier (CIELAB verdier). Rødhet av svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager.

$a^*(65)$ -verdiene varierte mellom 3,2 og 5,4 og økte utover i lagringsperioden. Det var forskjellige $a^*(65)$ -verdier mellom de ulike pakkemetodene, men forskjellen var ikke signifikant.



Figur 22. $b^*(D65)$ - verdier (CIELAB verdier). Gulhet av svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager. Innenfor hver dag vil ulike bokstaver indikere at pakkemetodene er signifikant forskjellige fra hverandre.

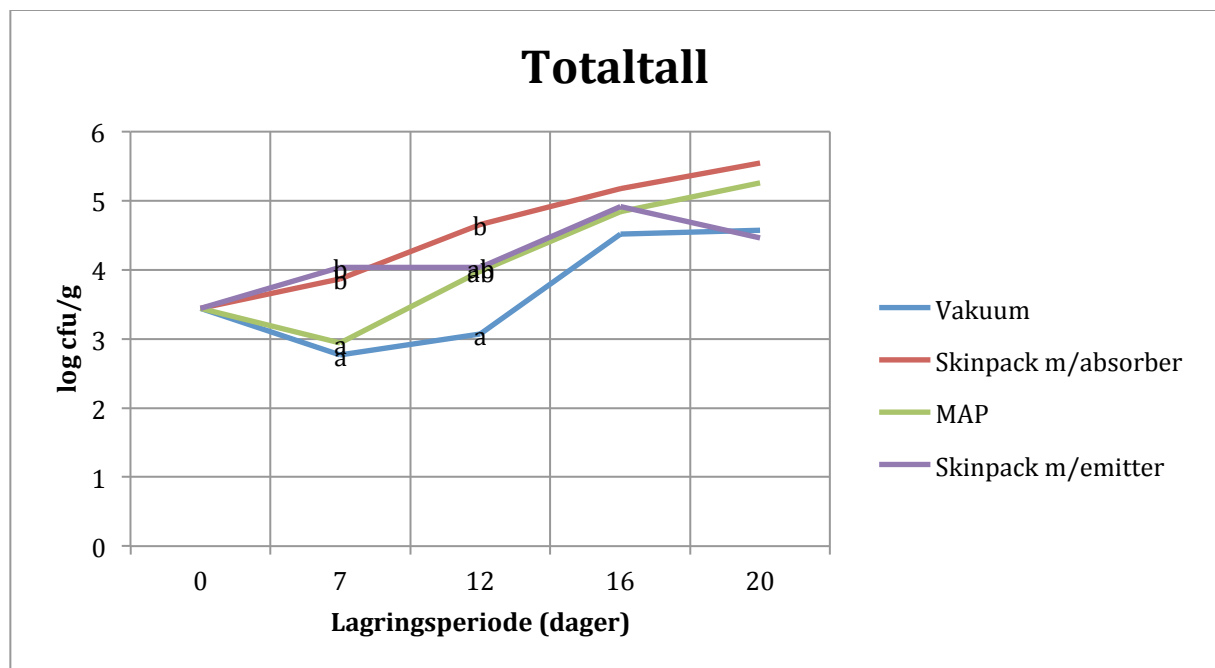
$b^*(65)$ -verdiene varierte gjennom lagringsperioden. Vakuum hadde en høyere verdi enn de andre tre pakkemetodene ved 3 av 4 uttak. Det var signifikant forskjellige $b^*(65)$ -verdier mellom de ulike pakkemetodene ved dag 7, 16 og 20.

4.3 Mikrobiologiske analyser

Totaltall

Overflatespredt på PCA for kvantifisering av totaltall bakterier.

Figur 23 viser totaltall for de fire ulike pakkemetodene i log cfu/g. Innenfor hver dag gir ulike bokstaver en indikasjon på at metodene er signifikant forskjellige fra hverandre.

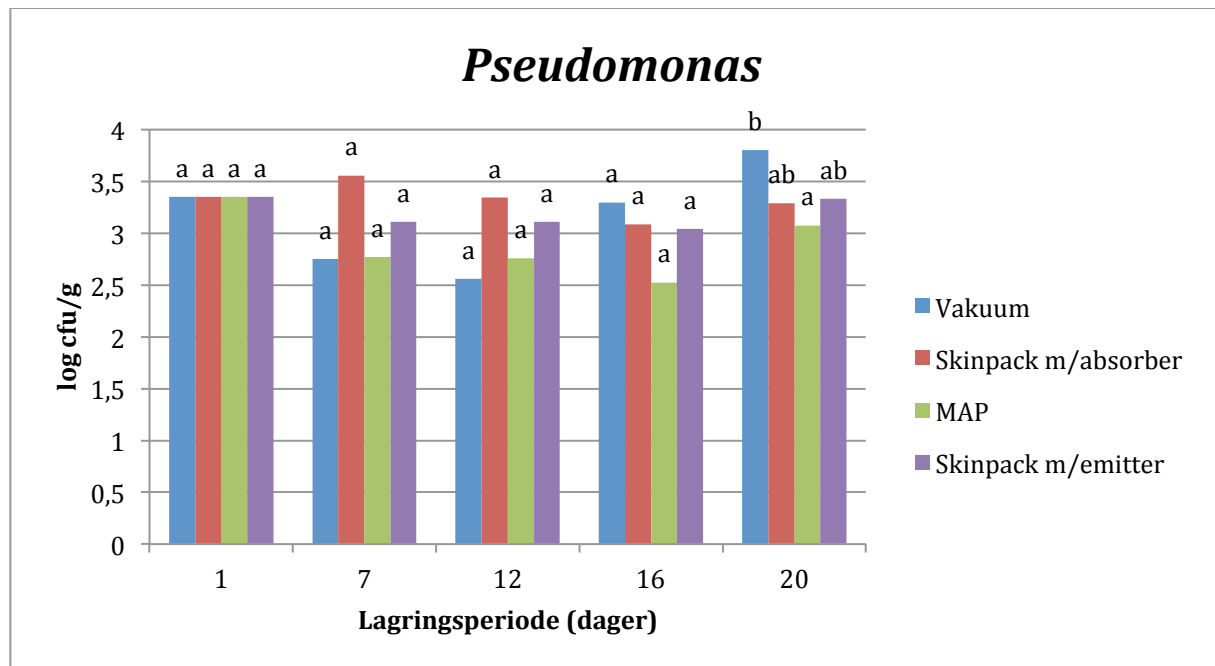


Figur 23. Totaltall (i log cfu/g) for svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager. Innenfor hver dag vil ulike bokstaver indikere at pakkemetodene er signifikant forskjellige fra hverandre.

Totaltall bakterier økte utover i lagringsperioden. Ved dag 7 og dag 12 var det signifikant forskjellige verdier av totaltall mellom de ulike pakkemetodene. Det siste uttaket varierer totaltall bakterier med ca. 1 log mellom den høyeste og den laveste.

Pseudomonas

Analyser av *Pseudomonas* ved 4°C ble utført ved vekst på CFC agar. Figur 24 viser *Pseudomonas* for de fire ulike pakkemetodene i log cfu/g. Innenfor hver dag gir ulike bokstaver en indikasjon på at metodene er signifikant forskjellige fra hverandre.



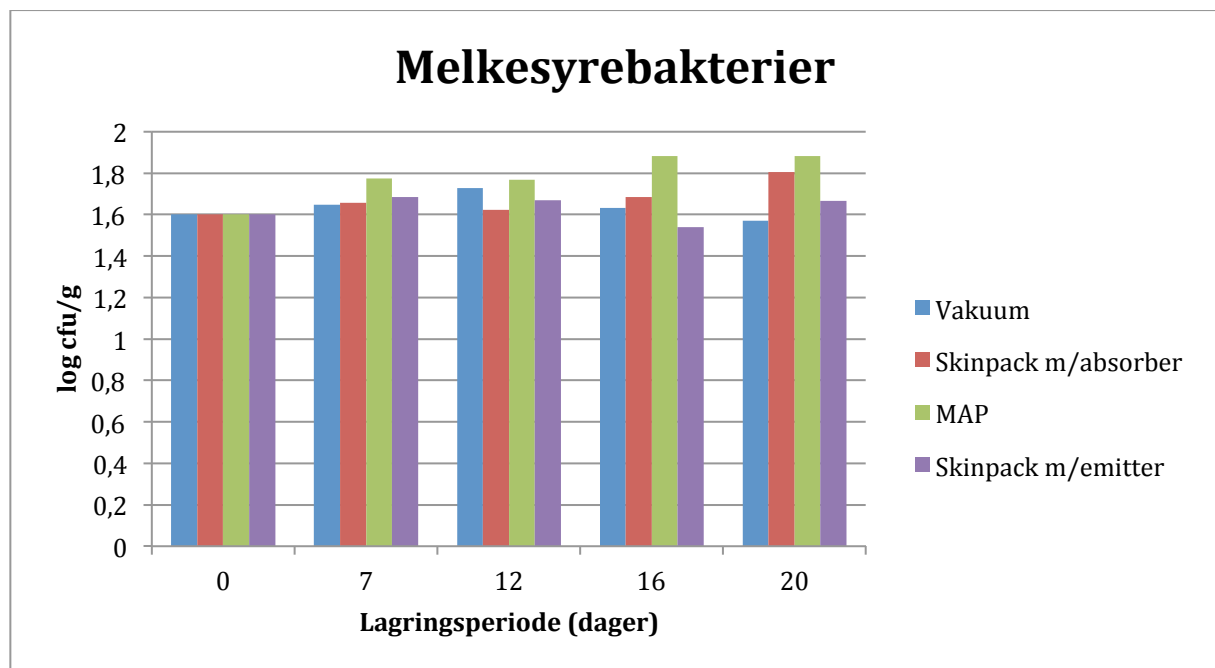
Figur 24. *Pseudomonas* (i log cfu/g) for svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager. Innenfor hver dag vil ulike bokstaver indikere at pakkemetodene er signifikant forskjellige fra hverandre.

Pseudomonas hadde ingen stabil utvikling i lagringsperioden. Det var forskjeller mellom de ulike pakkemetodene ved hvert uttak. Men det var kun ved dag 20 det var signifikant forskjellige verdier av *Pseudomonas* mellom de ulike pakkemetodene.

Melkesyre bakterier

Melkesyre bakterier ble analysert ved vekst på MRS agar lagret ved 25°C over 5-7 dager.

Figur 25 viser resultater for melkesyre bakterier over lagringsperioden, oppgitt i cfu/gram.

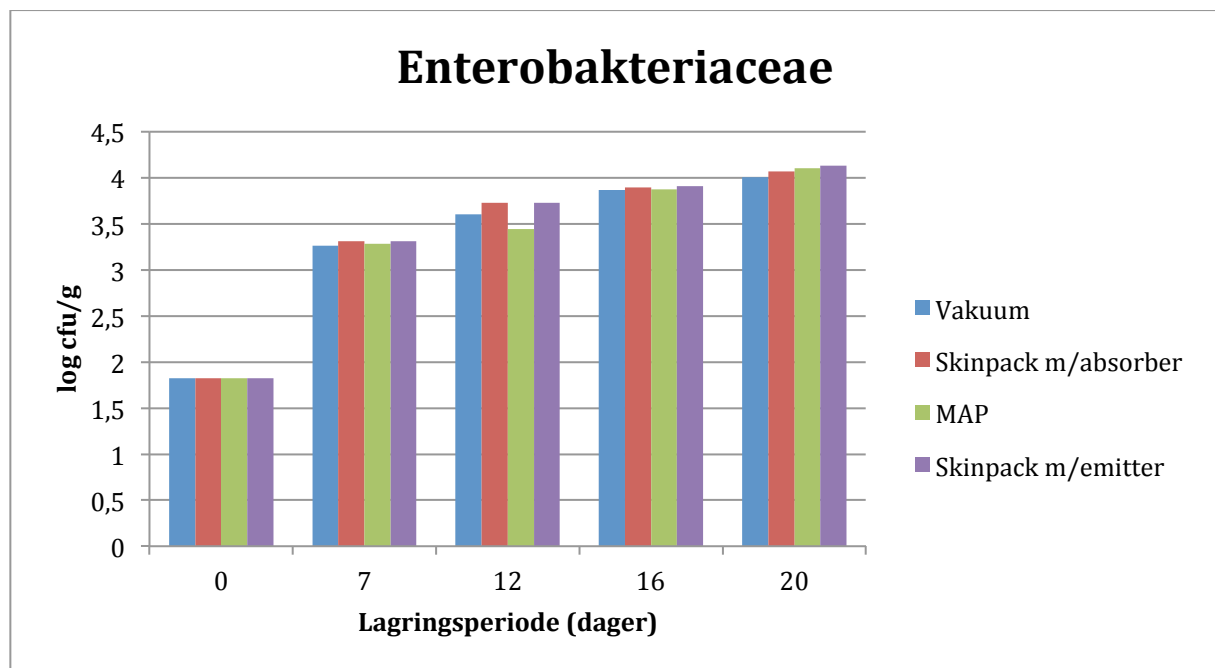


Figur 25. Melkesyre bakterier (i log cfu/g) for svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager.

Melkesyre bakteriene hadde små variasjoner både mellom pakkemetodene og de ulike uttakene. Antall bakterier varierte mellom 1,5 og 1,8 og det ingen signifikante forskjeller mellom de ulike pakkemetodene.

Enterobacteriaceae

Antall Enterobacteriaceae ble funnet ved innstøping i VRBA med agarlokk, lagret ved 37°C i 24 timer, Figur 26 viser resultatene oppgitt i cfu/gram.



Figur 26. Enterobacteriaceae (i log cfu/g) for svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager.

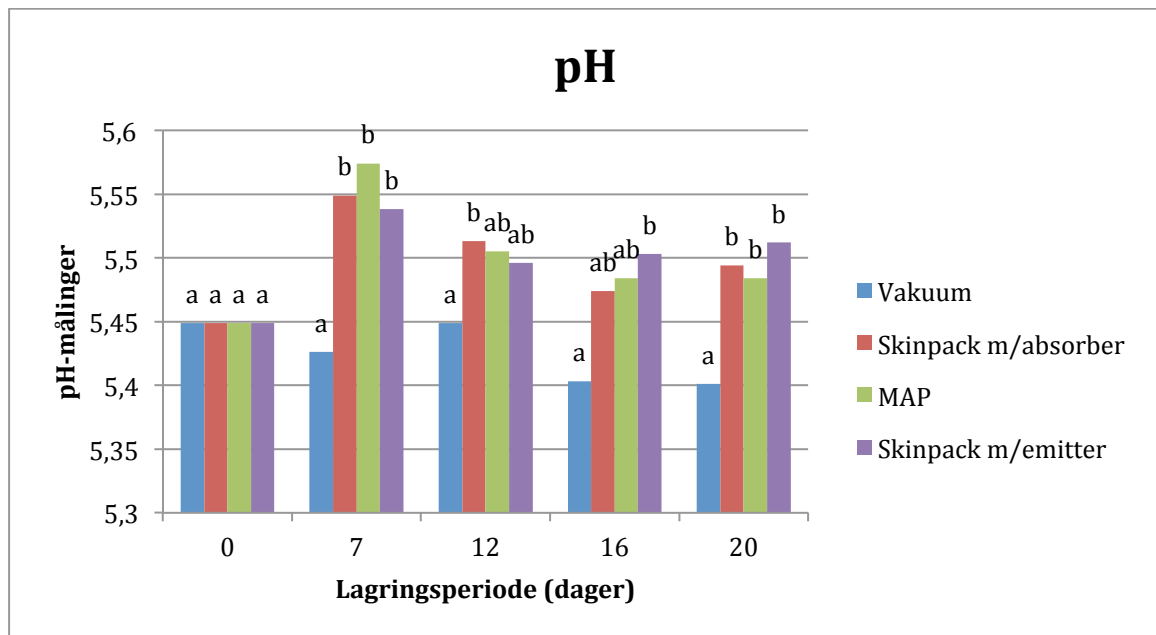
Enterobacteriaceae hadde en jevn økning for alle pakkemetodene gjennom lagringsperioden. Det var veldig lite variasjon mellom de ulike pakkemetodene. Resultatene viste ingen signifikante forskjeller mellom de ulike pakkemetodene.

Brochothrix thermosphacta

Det ble utført analyser av *Brochothrix thermosphacta*, da det ikke vokste kolonier gjennom hele forsøket, er dette et resultat som tilsier at nedre deteksjonsgrenseverdi er på fortyningen 500 µl.

4.4 pH-målinger

Det ble tatt ut 5 paralleller av hver pakkemetode. For hver pakke ble det gjort 3 pH-målinger og deretter ble gjennomsnittet brukt for videre analyser.

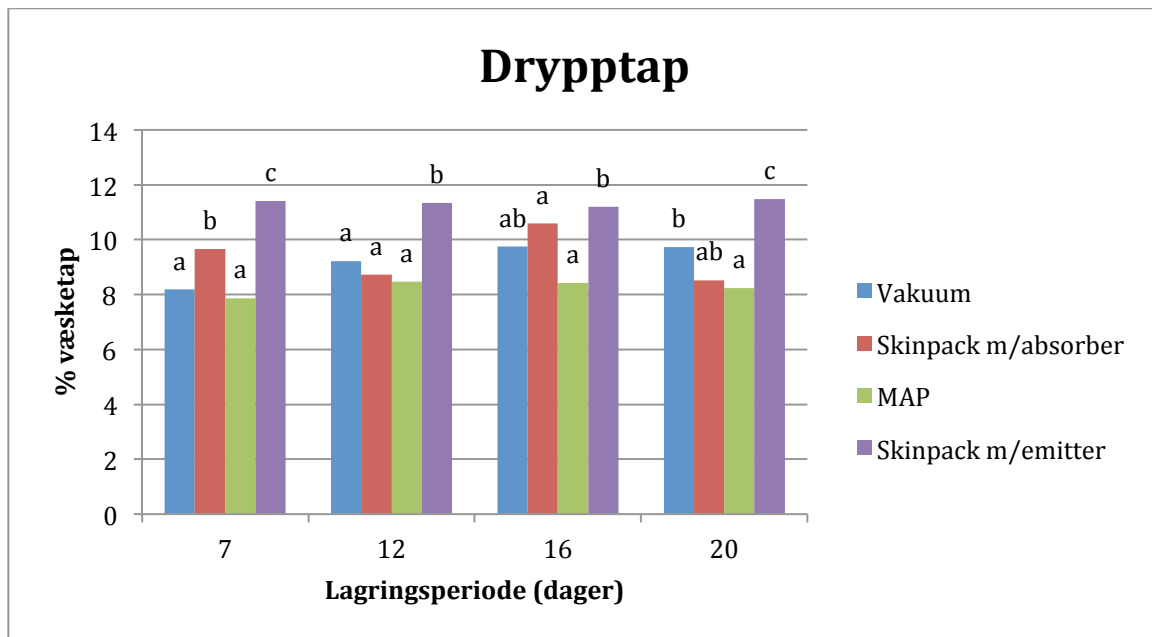


Figur 27. pH-målinger for svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager. Innenfor hver dag vil ulike bokstaver indikere at pakkemetodene er signifikant forskjellige fra hverandre.

pH-verdiene hadde små variasjoner gjennom lagringsperioden, da verdiene varierte mellom 5,4 og 5,57. Det var signifikant forskjellige pH-verdier mellom de ulike pakkemetodene ved alle uttakene. Vakuum hadde lavest pH-verdi ved alle uttak.

4.5 Drypptap

Drypptapet var den siste analysen som ble gjort ettersom kjøttet måtte tas ut for å beregne vekten av drypptapet etter lagring.



Figur 28. Drypptap (i prosent) for svinekjøtt pakket i vakuum ■, skinpack med absorber ■, modifisert atmosfære (MAP) ■ og skinpack med emitter ■, lagret ved 4 grader i henholdsvis 7, 12, 16 og 20 dager. Innenfor hver dag vil ulike bokstaver indikere at pakkemetodene er signifikant forskjellige fra hverandre.

Verdiene for drypptap varierte 7,8 og 11,4 gjennom lagringsperioden. Det var signifikant forskjellige verdier for drypptap ved alle uttakene for de ulike pakkemetodene. Skinpack med emitter hadde høyest tapsprosent ved alle uttak.

5. Diskusjon

5.1 Gassmålinger

Gassmålingene ble gjort på pakkedagen og ved hvert uttak, for å sjekke innholdet av O₂ og CO₂. Målingene ble direkte registrert i prosent av de ulike gassene. Dette ble gjort for å undersøke om det var lekkasje i noen av pakningene. Oksygenmålingene var lave gjennom hele lagringstiden, dette betyr at det ikke var lekk i noen av pakningene.

Karbondioksidmålingen var forventet at skulle reduseres utover i lagringsperioden, ettersom kjøttet tar opp CO₂. Dette bekreftes i dette forsøket. Gassmålingene ble bare gjort på MAP pakningene, men det kunne også blitt gjort på skinpack med emitter. Måling av skinpack ble ikke gjennomført fordi det var vanskelig å stikke i pakningene. Ettersom det er en liten headspace i skinpack, ville det vært fare for å stikke i pakken og i kjøttet. Dette ville da ødelagt utstyret.

5.2 Fargemålinger

Kjøttets farge ble analysert ved bruk av en Minolta fargemåler som beregner CIELAB verdier for lyshet, rødhet og gulhet. For fargemålingen av lyshet (L*(65)-verdiene), er det variasjon både mellom de ulike pakkemetodene og for de ulike uttakene. Det er ingen trend for stigning eller reduksjon gjennom lagringen for de ulike pakkemetodene. Det er ingen signifikante forskjeller for de ulike uttakene.

For rødhet (a*(65)-verdier), var det variasjoner mellom pakkemetoder og uttak. Verdiene ved pakkedag (dag 0) var litt lavere enn ved uttakene. Variasjonen for uttakene var ca. 1 da verdiene lå mellom 4,3 og 5,4. Vakuum hadde tilsynelatende litt høyere verdier enn de andre pakkemetodene ved alle uttakene. Det var ingen signifikant forskjell for de ulike pakkemetodene gjennom lagringsperioden.

Gulheten av kjøttet, $b^*(65)$ -verdiene hadde signifikante forskjeller ved dag 7, 16 og 20. Vakuum hadde en høyere verdi enn de andre tre pakkemetodene ved dag 7, 16 og 20. Ved dag 20, var vakuum signifikant forskjellig fra de andre pakkemetodene. Mens ved dag 7 og dag 16, var det signifikant forskjell på MAP og vakuum. Det er nærliggende å anta at de lave verdien til MAP skyldes at CO_2 -molekyler fra gassen som ble tilsatt, har dannet karboksymyoglobin (COMB). COMB vil gi en mørkere rødfarge (kirsebærrød) (Eie & Larsen 2007b; Robertson 1992d).

Ettersom vakuum har høyere verdier for gulhet, skulle ifølge teorien dette gitt en mørkere farge. Da vakuum ikke inneholder O_2 eller CO_2 , er det ingen molekyler som vil binde seg til myoglobin i kjøttet. Da ville det dannet seg deoksymyoglobin (DMB), som gir en mørk rød eller lilla farge (Eie & Larsen 2007b; Robertson 1992d). Men det motsatte ble bevist i dette forsøket.

Det var ikke mulig med det blotte øyet å variasjonene på de ulike pakkemetodene i dette forsøket. Selv om det er signifikant forskjell på de ulike pakkemetodene ved gulhet, basert kun på utseende ville produktene vært innenfor forbrukerens aksept.

5.3 Mikrobiologiske analyser

Totaltall

Totaltall bakterier omfatter svært mange forskjellige mikroorganismer som kan stamme fra en rekke kilder. Temperaturen som ble benyttet ved inkubering av agarskålene med PCA var 30°C, noe som er optimalt for vekst for de mesofile bakteriene. Men psykrotrofe kan også vokse ved denne temperaturen. Derfor er det antakelig PCA-resultater fra forsøket er basert på både mesofile og psykrotrofe bakterier.

Det er signifikant forskjell på skinpack med emitter og skinpack med absorber, i forhold til vakuum og MAP ved dag 7 av forsøket. Ved dag 12 er det signifikant forskjell på vakuum og skinpack med absorber. Skinpack med absorber har en høyere verdi enn de andre pakkemetodene ved de tre siste uttakene.

Totaltall bakterier er relativt lave til tross for at start-nivået ikke er ekstremt lavt, dette gjelder også etter lagring i 20 dager. Et lignende resultat er dokumentert i et forsøk med fisk der totaltallene var lave frem til dag 17, og deretter begynte de å stige (Hansen et al. 2009). Det kunne vært en mulighet at vi hadde sett en økning etter dag 20, med det fikk vi ikke tid til å undersøke i dette forsøket.

Pseudomonas

Det var store variasjoner i utvikling av *Pseudomonas* i lagringsperioden. Pakkemetodene hadde forskjeller ved hvert uttak, men det var kun ved dag 20 forskjellene var signifikante. Ved dag 20 var vakuum signifikant forskjellig fra MAP. Vakuum hadde ved dag 20 en høyere verdi enn MAP. Det er påvist at nærvær av CO₂ kan inhibere veksten av mange Gram-negative, aerobic stav-formet organismer som *Pseudomonas* og Enterobacteriaceae (Pettersen et al. 2004; Rousset & Renner 1991). Men resultater fra dette forsøket kan ikke vise til noen trend som bekrefter dette.

Melkesyrebakterier

Det var ingen signifikant forskjell mellom pakkemetodene etter uttakene gjennom lagringsperioden. Melkesyrebakteriene hadde små variasjoner og nivået av bakteriene var veldig lave.

Det er dokumentert at melkesyrebakterier er en av de viktigste forringelses bakteriene av vakuumpakket og modifisert atmosfære pakket kjøtt lagret ved kjøleskaps temperaturer (Borch et al. 1996; Hugas 1998), og bakteriefloraen på anaerobt lagret kjøtt lagret domineres i følge teorien ofte av melkesyrebakterier (Gill & Greer 1993). Resultatene i dette forsøket viser det motsatte.

En faktor som må tas i betraktning er at melkesyrebakterier har en tendens til å vokse sakte under kjøletemperaturer. Det er vanlig at *Pseudomonas* vil utkonkurrere melkesyrebakterier ved lave temperaturer (Huis in't Veld 1996) Ettersom nivået av *Pseudomonas* er så mye høyere enn for melkesyrebakteriene tyder det på at de er blitt utkonkurrert.

Enterobacteriaceae

Kvantifiseringen av Enterobacteriaceae ble gjort ved bruk av VRBA, som er et selektiv agar for koliforme bakterier, og med inkubasjonstemperatur på 37°C. Det var liten variasjon mellom de ulike pakkemetodene, og det var ingen signifikant forskjell gjennom lagringsperioden. Alle pakkemetodene hadde en jevn økning gjennom lagringen.

Enterobacteriaceae vokser saktere enn *Pseudomonas* ved lave temperaturer (Gill & Greer 1993), dette stemmer ikke med resultatene i dette forsøket. Start nivået til Enterobacteriaceae er lavere enn *Pseudomonas*, men allerede ved første uttak har de tatt igjen *Pseudomonas*.

Brochothrix thermosphacta

Brochothrix thermosphacta er ofte en del av mikrofloraen på kjøtt lagret både aerobt og anaerobt (Gill & Greer 1993). Det var ingen vekst av *Brochothrix thermosphacta* ved noen av uttakene for dette forsøket. Dette er et resultat som tilsier at nedre deteksjonsgrense er på fortynningen 500 µl.

Oppsummering av de mikrobiologiske resultatene

Det er stor forskjell på totaltall bakterier og de andre mikrobiologiske analysene som er gjort. Det er ingen av de andre som er i nærheten mengdemessig av totaltall bakterier. Dette indikerer at det er fanget opp en del bakterier i totaltall bakterier, som ikke er fanget opp ved de analysene som vi har valgt for dette forsøket. Likevel er totaltall bakterier relativt lave, også etter lagring i 20 dager.

MAP viste et lavere nivå enn de andre pakkemetodene av *Pseudomonas*. Den samme trenden gjaldt Enterobacteriaceae, hvor MAP hadde et lavere nivå ved de tre første uttakene, men det var ingen signifikante forskjeller for de ulike pakkemetodene. MAP viste som tidligere påvist (Devlieghere & Debevere 2000) ingen effekt på de Gram-positive melkesyrebakteriene.

Skinpack med emitter viste seg ikke å være signifikant forskjellig fra de andre pakkemetodene ved noen av de mikrobiologiske analysene. Man kunne forventet at skinpack med emitter ville hatt samme effekt som MAP på *Pseudomonas* og Enterobacteriaceae. Da tidligere studier viser at nærvær av CO₂, inhiberer de Gram-negative organismene, *Pseudomonas* og Enterobacteriaceae (Devlieghere & Debevere 2000).

Skinpack med emitter og skinpack med absorber viser små variasjoner ved alle de mikrobiologiske analysene, og det var ingen signifikante forskjeller mellom disse to pakkemetodene.

5.4 pH-målinger

Svinekjøtt pakket i vakuum hadde ved hvert uttak lavere pH enn noen av de andre pakkemetodene. Etter 7 og 20 dagers lagring var pH i vakuum signifikant lavere enn alle de andre, og ingen forskjell mellom MAP og de to skinpackene. Mens etter 12 dagers lagring ble det målt signifikant lavere pH i svinekjøtt pakket i vakuum, enn skinpack med absorber. Tilsvarende var skinpack med emitter etter 16 dagers lagring, signifikant forskjellig fra vakuum.

Innholdet av CO₂ i MAP ble redusert i lagringsperioden, se tabell 5. Etersom CO₂ absorberes av produktet (Gill 1988), vil dette føre til at pH blir redusert. Dette kan bekreftes i dette forsøket, der pH-verdiene for MAP ble lavere utover i forsøket.

Skinpack med absorber og skinpack med emitter er ikke signifikant forskjellige ved noen av uttakene. Dette kan indikere at den emitteren vi har benyttet ikke produserer CO₂ i store nok mengder eller at det blir absorbert så store mengder, at det vil påvirke pH. Det er i praksis en relativt liten forskjell på alle pH-verdier som ble målt.

5.5 Drypptap

Det er ønskelig å minimere drypptapet under lagring ettersom dette kan gjøre produktets utseende mindre attraktivt for forbruker samt mye drypptap i bunnen av skålene vil gi et godt vekstmiljø for bakterier. Absorber og emitter, som også har en absorberende effekt, vil redusere dette drypptapet.

Skinpack med emitter viser seg å være signifikant forskjellig fra de andre ved dag 7,12 og 20. Ved alle uttakene hadde skinpack med emitter en høyere verdi enn de andre pakkemetodene. MAP hadde den laveste verdien ved alle uttakene. Skinpack med absorber varierte litt, mens vakuumpakkning hadde en jevn stigning gjennom lagringsperioden. Teoretisk sett kunne det vært forventet et høyere drypptap for vakuumpakkningene. Da disse blir påført en større mekanisk kraft under tillaging, som fører til økt drypptap (Robertson 1992c). Utfra teorien kunne man forventet at drypptapet da ville vært lavere for kjøtt pakket med skinpack, siden denne pakkemetoden er mer skånsom på kjøttet. Dette ser vi ikke i vårt forsøk.

Skinpack med emitter og skinpack med absorber er i prinsippet samme pakkemetode, og derfor blitt utsatt for samme mekaniske kraft under tillaging. Det er signifikant forskjell mellom disse to gjennom hele forsøket. Dette kunne indikert at CO₂ avgivning fra emitteren øker drypptappet, men det stemmer ikke med forskjeller i pH mellom disse variantene.

Konklusjon

Analyse av kjøttets farge viste liten variasjon og det var kun signifikante forskjeller ved de ulike pakkemetodene for gulhet av kjøttet.

De mikrobiologiske analysene gav lavere tall enn forventet ved alle analysene. Det var kun signifikante forskjeller mellom de ulike pakkemetodene for totaltall bakterier og *Pseudomonas*. Det kan tyde på at *Pseudomonas* har utkonkurrert de andre bakteriene.

pH viste små variasjoner mellom de ulike pakkemetodene og uttakene, men tross de små forskjellene hadde vakuum en lavere verdi enn det andre gjennom hele forsøket.

Drypptap viste signifikante forskjeller for de ulike pakkemetodene ved alle uttakene, og skinpack med emitter hadde høyest tapsprosent ved alle uttak.

Videre arbeid

Noen av resultatene som vi har kommet frem til har lite forskjeller på de ulike pakke metodene. Samtidig er det veldig lave tall. For å kunne konkludere med at det fungerer eller ikke ville man gjort forsøket om igjen, for å bekrefte resultatene funnet i denne oppgaven.

Det ble i dette forsøket brukt en kommersiell tilgjengelig CO₂-emitter. Det ville vært hensiktsmessig å bruke en emitter som er helt spesifikk tilpasset mitt produkt og produktmengde. Samtidig som man økte emitterens kapasitet.

Referanser

- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2008). *Food Microbiology*. 3 utg. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0WF, UK: RSC Publishing.:136-138, 315
- Almar-Næss, A. & leksikon, S. n. (2005-2007). *Ekstrudering*. Tilgjengelig fra: <http://snl.no/ekstrudering>. 25/1-2014
- Aymerich, T., Picouet, P. A. & Monfort, J. M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78 (1-2): 114-129.
- Borch, E., KantMuermans, M. L. & Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33 (1): 103-120.
- Brody, A. L. (1989). *Controlled-Modified Atmosphere-Vacuum Packaging of Foods*: Food and Nutrition Press.:20
- Brody, A. L. (2001). What's active about intelligent packaging. *Food Technology*, 55 (6): 75-78.
- Dalcanton, F., Pérez-Rodríguez, F., Posada-Izquierdo, G. D., de Aragão, G. M. F. & García-Gimeno, R. M. (2013). Modelling growth of *Lactobacillus plantarum* and shelf life of vacuum-packaged cooked chopped pork at different temperatures. *International Journal of Food Science & Technology*, 48 (12): 2580-2587.
- Devlieghere, F. & Debevere, J. (2000). Influence of dissolved carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie-Food Science and Technology*, 33 (8): 531-537.
- Drosinos, E. H. & Board, R. G. (1994). Metabolic activities of pseudomonads in batch cultures in extract of minced lamb. *Journal of Applied Bacteriology*, 77 (6): 613-620.
- Eie, T. & Ditlefsen, A. (2007). *Emballering av næringsmidler bind 1*. Ås: MATFORSK.
- Eie, T. & Larsen, H. (2007a). Aktiv og intelligent emballering. I: Innføring i emballasje- og emballeringsteknologi, *Emballering av næringsmidler bind 2*.
- Eie, T. & Larsen, H. (2007b). Pakking i modifisert atmosfære. I: Innføring i emballasje- og emballeringsteknologi, *Emballering av næringsmidler bind 2*.
- Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P. & Villani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Appl Environ Microbiol*, 75 (7): 1990-2001.
- Fischer, K. (2007). Drip loss in pork: influencing factors and relation to further meat quality traits. *J Anim Breed Genet*, 124 Suppl 1: 12-8.
- Gill, C. O. & Newton, K. G. (1977). The Development of Aerobic Spoilage Flora on Meat Stored at Chill Temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 43 (2): 189-195.
- Gill, C. O. (1988). THE SOLUBILITY OF CARBON-DIOXIDE IN MEAT. *Meat Science*, 22 (1): 65-71.
- Gill, C. O. & Greer, G. G. (1993). *Enumeration and identification of meat spoilage bacteria*. Research Branch, Agriculture Canada: Minister of Supply and Services Canada. 24 s.2-5
- Hansen, A. Å., Høy, M. & Pettersen, M. K. (2009). Prediction of optimal CO2 emitter capacity developed for modified atmosphere packaging of fresh salmon fillets (*Salmo salar* L.). *Packaging Technology and Science*, 22 (4): 199-208.
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49: S139-S150.

- Huis in't Veld, J. H. J. (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33 (1): 1-18.
- JISC, D. m. *Figur 3. CIELAB fargerom*. Tilgjengelig fra: http://www.codeproject.com/KB/miscctrl/RevisedKnownColorsPalette/CIE_Lab.png 27/1-2014
- Kerry, J. P., O'Grady, M. N. & Hogan, S. A. (2006). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74 (1): 113-130.
- Ozdemir, M. & Floros, J. D. (2004). Active Food Packaging Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (3): 185-193.
- Pearson, e. i. *Figur 1. Vekstfase for bakterier*. Tilgjengelig fra: http://classes.midlandstech.com/carterp/Courses/bio225/chap06/06-14_BacteriaGrowth_1.jpg 27/1-2014
- Pereira de Abreu, D. A., Cruz, J. M. & Paseiro Losada, P. (2011). Active and Intelligent Packaging for the Food Industry. *Food Reviews International*, 28 (2): 146-187.
- Pettersen, M. K., Nissen, H., Eie, T. & Nilsson, A. (2004). Effect of packaging materials and storage conditions on bacterial growth, off-odour, pH and colour in chicken breast fillets. *Packaging Technology and Science*, 17 (3): 165-174.
- Robertson, G. L. (1992a). *Figur 4. Monomeren etylen og polymeren polyetylen*.
- Robertson, G. L. (1992b). Introduction to Food Packaging. I: Hughes, H. A. (red.) b. 6 *Food Packaging:Principles and Practice*, s. 1-8.
- Robertson, G. L. (1992c). Packaging of Flesh Foods. I: Hughes, H. A. (red.) b. 6 *Food Packaging:Principles and Practice*, s. 431-470.
- Robertson, G. L. (1992d). Structure and Related Properties of Plastic Polymers. I: Hughes, H. A. (red.) b. 6 *Food Packaging:Principles and Practice*, s. 9-62.
- Rousset, S. & Renerre, M. (1991). Effect of Co2 or vacuum packaging on normal and high pH meat shelf-life. *International Journal of Food Science & Technology*, 26 (6): 641-652.
- Stiles, M. E. & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36 (1): 1-29.
- Texas, A. M. U. *Figur 2. Ulike former og farger av myoglobin*. Tilgjengelig fra: <http://meat.tamu.edu/files/2012/11/colorflowchart.jpg> 27/1-2014
- Tortora, G. J., Funke, B. R. & Case, C. L. (2010). *Microbiology: an introduction*: Pearson Benjamin Cummings.:308
- Warriss, P. D. (2010). *Meat Science: an introductory text*. 2 utg. Modular Text Series. School of Clinical Veterinary Science, University of Bristol, UK: CAB International North America. 248 s.121, 133-138
- Zhou, G. H., Xu, X. L. & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*, 86 (1): 119-128.

VEDLEGG 1: Angående materialer, utstyr og kjemikalier

Laboratorieutstyr benyttet i dette studiet

| Utstyr | Spesifikasjon | Leverandør |
|---|--|---|
| Automatpipetter | Pipetboy acu | Integra Biosciences |
| Automatpipetter | M 1000 | Biohit |
| Avtrekkskap | HT 2060 S | OAS LAF |
| Avtrekkskap | HF 1206 KS | ClanLaf |
| Blåkorkflasker | 1000 mL | VWR |
| Blåkorkflasker | 500 mL | VWR |
| Certoklav | Tish-Autoclav CV-EL 12L-18L | Certoclav Sterilizer GmbH, A-4050 Traun/Austria |
| Dilumat | Dilumat 3 mk2 | AES laboratorie |
| Falcon polypropylene Round Bottom Tube | 14 ml | BD Sciences, USA |
| Gassbrenner | | |
| Gassmåler (CO ₂ /O ₂ -analyser) | Checkmate 9900 | PBI Dansensor, Danmark |
| Målepipette | 10ml seriological pipette | VWR |
| Minolta Chroma Meter | CR-400 | Minolta Camer Co, Japan |
| Petriskåler | 94 x 16 | Greiner bio-one |
| pH-meter | pH Meter Model 45 | Beckman, USA |
| Rør | 4,5ml | |
| Skålpakkemaskin | Polimoon 511G | Promens, Kristiansand, Norge |
| Sprøyte | 5ml | BD Plastpak |
| Sprøyte filter | 33mm | Millex R*-GS Merck Milipore Ltd |
| Stomacher 400 | | Colworth |
| Stomacher pose | 400ml | Bagfilter r* |
| Termoformer maskin | Multivac R145 | Wolfertschweden, Tyskland |
| Vakuüm kammer maskin | Intevac IN30 Verpackungsmaschinen, | Wallenhorst, Tyskland |
| Vekt | 2 | Mettler Toledo, Sveits |
| Vinkelstav | | VWR |
| Vortex mikser | | IKA R* MS 3 basic |
| WASP | WASP 2 (Whitley Automatic Spiral Plater) | Don Whitley Scientific Ltd, Storbritannia |

Kjemikalier benyttet i dette studiet

| Utstyr | Leverandør |
|------------------------------------|--|
| Agar base | OXID LTD, Basingstoke, Hampshire England |
| Destillert vann, dH ₂ O | |
| Milli-Q ELGA vann | OPTION R-7. ELGA, UK (ELGA, High Street, Lane End High Wycombe, Bucks, HP14 3JH, UK) |
| pH buffer 4,01 | WTW, Weilheim |
| pH buffer 7,0 | WTW, Weilheim |
| Supplement agar | OXID |

VEDLEGG 2: Sammensetningen av bakteriesubstrat (agar)

PCA (Standard Plate Count Agar)

23,5 gram ble løst opp i en liter Milli-Q-vann i glassflasker og sterilisert i en certoklav ved 121°C i 15 minutter. Mediet ble deretter avkjølt til 45°C og fordelt i petriskåler.

Etter utstryk ble skålene inkubert ved 30°C i 48 timer.

| Formula | Gram/liter |
|-----------------------------|------------|
| Yeast extract | 2.5 |
| Pancreatic digest of casein | 5.0 |
| Glucose | 1.0 |
| Agar | 15.0 |

pH 7.0±0.2

MRS (The Man, Rogosa and Sharpes Agar)

62 gram ble løst opp i 1 liter Milli-Q vann i en glassflaske og sterilisert i en certoklav ved 121°C i 15 minutter. Mediet ble deretter avkjølt til 45°C og fordelt i petriskåler. Etter utstryk ble skålene inkubert ved 25°C i 5-7 dager.

| Formula | Gram/liter |
|--------------------------------------|------------|
| Peptone | 10.0 |
| Lab-Lemco Powder | 8.0 |
| Yeast extract | 4.0 |
| Glucose | 20.0 |
| Sorbitan mono-oleate | 1 ml |
| Di-potassium hydrogen sulphate | 2.0 |
| Sodium acetate 3H ₂ O | 5.0 |
| Tri-ammonium citrate | 2.0 |
| Magnesium sulphate 7H ₂ O | 0.2 |
| Manganese sulphate 4H ₂ O | 0.05 |
| Agar | 10.0 |

pH 6.2±0.2

CFC (Pseudomonas Agar Base)

24,2 gram ble løst opp i 500ml Milli-Q vann i en glassflaske, blandet med 5 ml glyserol og sterilisert i en certoklav ved 121°C i 15 minutter. Mediet ble avkjølt til 50°C. Pseudomonas C-F-C Supplement (SR103) tilsatt 2 ml etanolløsning (1:1 etanol og sterilisert vann), tilsatt mediet, blandet godt og fordelt i petriskåler.

Etter utstryk ble skålene inkubert ved 30°C i 48 timer.

| Formula | Gram/liter |
|--------------------|-------------------|
| Gelatin peptone | 16.0 |
| Casein hydrolysate | 10.0 |
| Potassium sulphate | 10.0 |
| Magnesium chloride | 1.4 |
| Agar | 11.0 |

pH 7.1±0.2

STAA (Streptomycin-Thallos Acetate-Acidione Agar)

18,5 gram ble løst opp i i 500ml Milli-Q vann i en glassflaske, blandet med 7,5gram glyserol og sterilisert i en certoklav ved 121°C i 15 minutter. Mediet ble avkjølt til 50°C. STAA Selective Supplement (SR0151E) ble tilsatt 2ml sterilt vann og blandet inn i mediet før løsningen ble fordelt i petriskåler.

Etter utstryk ble skålene inkubert ved 30°C i 48 timer.

| Formula | Gram/liter |
|---------------------------------|-------------------|
| Peptone | 20.0 |
| Yeast extract | 2.0 |
| Magnesium sulphate | 1.0 |
| Di-pottasium hydrogen phosphate | 1.0 |
| Agar | 13.0 |

pH 7.0±0.2

VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar)

38,5 gram ble løst opp i 1 liter Milli-Q vann ved oppvarming til kokepunkt i en trykkoker, deretter oppbevart i vannbad (50°C), inntil fordeling i petriskåler.

Etter innstøpning med agarlokk blå skålene inkubert ved 37°C i 24 timer.

| Formula | Gram/liter |
|-----------------|-------------------|
| Peptone | 7.0 |
| Yeast extract | 3.0 |
| Sodium chloride | 5.0 |
| Bile salts No.3 | 1.5 |
| Glucose | 10.0 |
| Neutral Red | 0.03 |
| Crystal Violet | 0.002 |
| Agar | 12.0 |

pH 7.4±0.2