

## 8.3

Study of occurrence in the permeability of plastic wrappers on the growth of microflora in cured meat products : growth of sulfite-reducing Clostridia

HUYNH, C.H. et FROUIN, A.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Caen et Service de Recherche de la Société Olida à Levallois-Perret, FRANCE.

We have analysed cured meat products packed in plastic films as portions intended for public cunsumption and established that exists a contamination of these products by sulfite-reducing Clostridia, specially by Clostridium perfringens in most of the cases. We focused our studies on the possible sources of contaminations : spices, herbes for seasoning and other condiments (salt, pepper, etc...), the bowel-casings used in the fabrication of sausages, the meat it self and particularly frozen poultry meat.

We have studied the conditions of the growth of Cl.perfringens - especially in the Strasbourg sausages as well as boiled sliced hams. In the Strasbourg sausages, there is true commensalism between Pseudomonas fluorescens omnipresent in cured meat products and Cl.perfringens. Pseudomonas fluorescens - an aerobic species, grows initially thanks to the residual oxygen present in the sausages, which paves the way to the growth of Cl.perfringens - an anaerobic species.

The conditions of these growths were discussed and hygienic measures recommended.

Studie der Auswirkung der Durchlässigkeit von Kunststoffpackungen auf die Entwicklung der Mikroflora von Pökelwaren: Entwicklung der sulfiteduzierenden Clostridien.

HUYNH, C.H. et FROUIN, A.

Laboratorium für Mikrobiologie der Universität CAEN und Forschungsabteilung der Firma Olida.

Nachdem wir in Plastikfolie für den Verbraucher abgepackte Pökelwaren untersucht, und bewiesen hatten, dass eine Verseuchung dieser Produkte durch sulfiteduzierende Clostridien, und vor allem durch Clostridium perfringens oft vorkam,befassten wir uns damit, den möglichen Ursachen dieser Verseuchungen näherzukommen: die Gewürze, Gewürzkräuter, die verschiedenen Zusätze (Salz, Pfeffer...), die für die Wurstherstellung gebrauchten Därme, das Fleisch selbst, und insbesondere das gefrorene Geflügel.

Wir untersuchten auch die Entwicklungsbedingungen der Cl.perfringens, vor allem in der Strassburger Wurst, sowie in Kochschinken in Scheiben.In der Strassburger Wurst besteht ein regelrechter Kommensalismus zwischen Pseudomonas fluorescens, in allen Pökelwaren ebenfalls immer anwesend, und Cl.Perfringens.Pseudomonas fluorescens, aerob, entwickelt sich zuerst dank des in der Wurst zurückbleibenden Sauerstoffes, was dann wiederum das Wachstum der Cl. perfringens,anaerob, begünstigt. Die Bedingungen dieses Wachstums werden erörtert und Hygienemassnahmen empfohlen.

## 8.3

Etude de l'incidence de la perméabilité des emballages plastiques sur l'évolution de la microflore des produits de salaison. Evolution des Clostridia sulfitoréducteurs.

HUYNH, C.H. et FROUIN, A.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Caen et Service de Recherche de la Société Olida à Levallois-Perret, FRANCE.

Après avoir analysé des produits de salaison, en portion consommateur, emballés sous film plastique et démontré qu'une contamination de ces produits par des Clostridia sulfitoréducteurs, et en particulier Clostridium perfringens, était fréquente, nous nous sommes attachés à étudier les sources possibles de ces contaminations: les épices, fines herbes, et divers condiments (sel, poivre, etc...), les boyaux utilisés dans la fabrication des saucisses, la viande elle-même, et en particulier la volaille congelée.

Nous avons également étudié les conditions de développement de Clostridium perfringens, surtout dans la saucisse type Strasbourg, ainsi que sur les jambons blancs en tranches. Dans les saucisses de Strasbourg, il existe un véritable commensalisme entre Pseudomonas fluorescens omniprésent, lui aussi, dans les produits de salaison et Clostridium perfringens; Pseudomonas fluorescens, aérobie, se développe d'abord grâce à l'oxygène résiduel contenu dans les saucisses, ce qui favorise ensuite la croissance de Clostridium perfringens, anaérobiose. Les conditions de cette croissance sont discutées et les mesures d'hygiène recommandées.

Изучение воздействия проницаемости пластмассовых упаковок на эволюцию микрофлоры соленых продуктов : - Эволюция Clostridia , раскислителей сульфита .

HUYNH, C.H. et FROUIN, A.

Микробиологическая лаборатория канского университета и научно-исследовательское отделение фирмы Олида в Левалуа-Перре, Франция.

Анализировав соленые продукты, в потребительских порциях, в пластмассовых упаковках и доказав, что часто происходит загрязнение этих продуктов из-за Clostridia, раскислителей сульфита и в особенности из-за Clostridium perfringens, мы приступили потом к изучению возможных причин этих загрязнений: пряности, душистые травы и разные приправы, соль, перец и т. д., кишki, употребленные для изготовления сосисок, самое мясо, в особенности мороженая птица. Мы также изучили условия развития Clostridium perfringens, в особенности в сосисках типа страсбургского и в нарезанной тушеной ветчине.

В страсбургских сосисках существует настоящий комменсализм между Pseudomonas fluorescens, тоже вездесущей в соленых продуктах и Clostridium perfringens. Аэробная Pseudomonas fluorescens сначала развивается благодаря остаточному кислороду, содержимому в сосисках и совокупность всего этого потом способствует размножению анаэробных Clostridium perfringens. Условия этого размножения изучаются и гигиенические меры рекомендуются.

Etude de l'incidence de la perméabilité des emballages plastiques sur l'évolution de la microflore des produits de salaison. Evolution des Clostridium sulfitoréducteurs.

HUYNH, C.H. et FROUIN, A.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Caen et Service de Recherche de la Société Olida à Levallois-Perret, FRANCE.

Introduction.

Les toxico-infections par des Clostridiums sulfito-réducteurs et en particulier par *Clostridium perfringens* sont de plus en plus fréquentes ; on a cité de nombreux cas, en France (1) comme à l'étranger. *Clostridium perfringens* est un germe très résistant. Il faut chauffer 10 minutes à 80° C pour détruire ses formes végétatives et 1 heure à 100° C pour détruire ses spores.

C'est un germe naturel du sol ; on le trouve aussi dans l'intestin des animaux.

Dans cette étude, nous nous proposons de déterminer les conditions de son développement avec l'application de la technologie d'emballage sous film plastique et sous vide.

Matériel et Méthodes.

1- La matière première :

Les saucisses de Strasbourg proviennent de lots commerciaux fabriqués par la Société OLIDA. Aucune préparation particulière n'a été appliquée à ces lots. Nous avons seulement veillé à leur homogénéité, ils proviennent donc d'une même fabrication et servent à la même expérimentation.

Les autres produits de salaisonnerie analysés, proviennent soit des fabricants, soit des surfaces de vente.

2- Analyses microbiologiques :

Les numérasions de la flore totale mésophile se font sur le milieu PCA (produit Difco) celles concernant les entérobactéries et les coliformes, sur les milieux VRBG et VRBL (produits de l'Institut Pasteur de Paris).

Pour la recherche des staphylocoques, on précède d'abord à leur enrichissement grâce au milieu de Giolitti-Cantoni (produit Merck) et on les identifie par la méthode de Baird-Parker (2) (milieu Merck). Nous ne nous occupons dans cette étude que des staphylocoques coagulant le plasma de lapin fourni par l'Institut Pasteur de Paris (staphylocoques à coagulase positive). La flore psychrophile est comptée sur le milieu GSP (Merck) recommandé aussi pour les *Pseudomonas psychrotrophes*. Cependant que les *Pseudomonas* producteurs de pigments sont identifiés sur les milieux de King, King A (Merck) pour la recherche de la proveridine et King B (Merck) pour la recherche de la fluoresceine. L'identification de *Pseudomonas fluorescens* s'effectue grâce à ce dernier milieu, néanmoins on confirme le genre et l'espèce par le système API (La Balme les Grottes, France).

Les formes végétatives des Clostridiums sulfito-réducteurs et en particulier de *Clostridium perfringens* sont recherchées sur le milieu TSN (Bio-mérieux) (3) après incubation à 46° C.

3- Mise sous film plastique et sous vide :

Le film plastique d'emballage utilisé provient de chez Cryovac (Société GRACE à Epernon, France) modèle E124 à structure polyamide-polyéthylène étirable dans les deux sens ayant une perméabilité moyenne à l'oxygène de 25 cc/m<sup>2</sup>/24h. La mise sous vide se fait grâce à une machine Cryovac, modèle 650.

4- Expériences de commensalisme :

Le tube de gélose TSN ensemencé avec *Clostridium perfringens* (100 germes par tube) est rendu solitaire, grâce à un élastique et par le vide, au tube de gélose ordinaire ensemencé ou non avec *Pseudomonas fluorescens*. Les plissures, ainsi formées, après mise sous vide du sac plastique, permettent des échanges gazeux intimes entre les deux tubes. L'incubation se fait à +18° C pendant 48 heures. Les sacs utilisés sont du type E124, de dimensions 150X120 mm.

Résultats.

1- Fréquence de contamination par Clostridiums sulfito-réducteurs, en relation avec une contamination par des *Pseudomonas*. 40% de saucisses de Strasbourg analysées, présentent une contamination par *Clostridium perfringens*. Or la flore totale de ces produits est expliquée pour 36% par les *Pseudomonas*.

2- Inoculation d'une souche lyophilisée de *Ps. fluorescens* à des saucisses de Strasbourg - Etude de l'évolution des Clostridiums sulfito-réducteurs.

Nous avons inoculé à chaque saucisse, environ  $10^5$  germes de *Ps. fluorescens*, sous forme lyophilisée, afin d'éviter d'apporter de l'humidité supplémentaire au produit. Les saucisses sont alors regroupées par quatre et emballées sous film E124 et sous-vide (76cm de dépression de mercure). L'évolution de la microflore totale, des entérobactéries, des coliformes, des *Pseudomonas* et en particulier de *Ps. fluorescens*, des Clostridiums sulfito-réducteurs (*Cl. perfringens*) et des staphylocoques coagulase positive, est alors suivie au cours du temps et du conditionnement au froid à + 8°C. Avant chaque analyse, le pH de l'échantillon est relevé. Un lot provenant de la même fabrication et emballé de la même manière, sans être ensemencé par *Pseudomonas fluorescens*, sert de premier témoin. Un autre est emballé seulement sous film aluminium, sert de second témoin. Les résultats sont consignés dans les tableaux I et II pour les deux séries témoins et dans le tableau III pour la série expérimentale. Le pH moyen des saucisses au début des expérimentations est de 6,50. La présence des staphylocoques a été remarquée après 20 jours de conservation au froid, dans la première série témoin, alors que dans la série expérimentale, sa présence est concomitante à celle des Clostridiums, puis les staphylocoques et les Clostridiums semblent disparaître au bout de 30 jours de conservation.

3- Etude du commensalisme entre *Cl. perfringens* et *Ps. fluorescens*, en culture pure, sous film plastique et sous vide.

Quatre dépressions de vide ont été appliquées.

Avec une pression totale résiduelle de 36 cm de mercure, Clostridium cultivé tout seul fait noircir la gélose TSN sans la faire éclater. Quant ce germe est cultivé avec *Pseudomonas*, il noircit encore la gélose mais cette fois-ci, fait éclater la gélose TSN qui est ainsi refoulée jusqu'à la demi-hauteur du tube.

Quand il ne reste qu'une pression de 26 cm, Clostridium pousse sous forme d'une centaine de petites colonies sans faire éclater la gélose. Dans le cas où il est enfermé avec *Pseudomonas*, il apparaît sous forme de 2 à 3 grosses colonies noires, alors que tout le reste de la gélose se trouve rapidement noircie et éclatée jusqu'à la demi-hauteur du tube TSN. Lorsque la pression totale résiduelle n'est plus que de 10 cm, Clostridium cultivé seul, fait bien éclater la gélose TSN, mais seulement jusqu'à la demi-hauteur du tube. Alors que la gélose est refoulée jusqu'aux 2/3 de la hauteur du tube (avec la même pression résiduelle de 10 cm) et jusqu'aux 3/4 de la hauteur (avec un vide presque parfait) quand les deux germes vivent côté à côté.

*Pseudomonas* pousse dans tous les cas, sa culture est cependant, d'autant plus étendue que le vide est moins poussé. D'autres expériences ont été effectuées avec des concentrations différentes en germes de *Cl. perfringens*. Même en tenant compte des graves défauts inhérents à la méthode de dilution, il faut reconnaître que l'éclatement de la gélose est toujours plus spectaculaire quand *Cl. perfringens* est cultivé en présence de *Ps. fluorescens*, témoignant d'un métabolisme plus important du Clostridium. Dans le même sens, quand il apparaît des colonies isolées celles-ci sont toujours plus grosses dans ce dernier cas.

Discussion et Conclusion.

Nous devons nous rendre à l'évidence que les produits de salaisonnerie sont fréquemment contaminés par des Clostridiums sulfito-réducteurs et en particulier par *Cl. perfringens*. Les sources de ces contaminations sont multiples : la viande elle-même, surtout la viande de volaille congelée, entrant dans la fabrication de la galantine, le persil et en général toutes les fines herbes, condiments et assaisonnements ajoutés pour agrémenter ces produits. Il est significatif que des préparations comme le persillade de museau, la roulade dijonnaise ou le cervelas à la vinaigrette livrés au consommateur, bien saupoudrés de persil, présentent une contamination fréquente en Clostridiums, et ceci malgré la présence du vinaigre. Les boyaux de mouton comme ceux du porc recèlent d'innombrables Clostridiums. Et il n'est pas toujours facile de s'en défaire, malgré des lavages nombreux. Le jambon blanc ainsi que les saucisses de Strasbourg pourtant étuvées et fumées, sont néanmoins sujets à ces contaminations.

Si ces produits sont ensuite emballés sous film plastique et sous vide, le développement de ces Clostridiums dépendra alors de nombreux facteurs : en premier lieu, la température de conditionnement. Entre + 4°C et + 8°C, la croissance des Clostridiums reste ralentie. En second lieu, comme la perméabilité des sacs à l'oxygène est tout relative, l'oxygène s'opposera au développement de ces germes.

Cependant dès que *Cl. perfringens* trouvera à côté de lui des germes aérobies avides d'oxygène, capables non seulement de vider le sac de son oxygène résiduel mais encore de pomper au fur et à mesure l'oxygène atmosphérique qui arrive par diffuser lentement à travers les parois du sac, sa croissance devient alors possible, surtout à la faveur d'une remontée accidentelle de la température.

Dès lors la rencontre de ces deux types respiratoires n'est plus fortuite. Nous avons pu établir une corrélation entre la présence de certains germes aérobies comme *Ps. fluorescens*

et celle des Clostridiums sulfito-réducteurs, tels que *Clostridium perfringens* sur la saucisse de Strasbourg. Lorsque la présence du premier est signalée, nous risquons de retrouver les seconds dans nos analyses.

Aussi avons-nous monté des expériences où nous introduisons délibérément *Ps. fluorescens* dans nos saucisses. Alors que la conservation des séries témoins, même au-delà de 30 jours ne révèle pas la présence des sulfito-réducteurs, les séries expérimentales sont le siège par contre d'une activité prépondérante des Clostridiums et des Pseudomonas, dès le 6<sup>e</sup> jour. Les expériences avec des cultures pures en tubes, tels des modèles des saucisses, nous ont alors permis de comprendre les interrelations entre les deux micro-organismes. À travers les plissures nombreuses formées lors de la mise sous vide, comme autant de microtuyaux de communication, *Ps. fluorescens* va respirer, au plus profond recouin du sac, l'oxygène résiduel et atmosphérique diffusible, nuisible au développement de *Clostridium perfringens*. L'éclatement de la gélose TSN témoigne alors de l'exaltation du métabolisme de ce dernier. Le concours de Pseudomonas sera d'autant plus précieux que le vide est moins poussé dans le sac.

Il existe donc une véritable entraide entre les deux germes. Leur commensalisme fondé au départ sur de simples échanges gazeux, se poursuit probablement par la digestion de la matière première nutritive consistant en des processus de protéolyse et de lipolyse qui profitent à l'un et à l'autre.

Or *Pseudomonas fluorescens* est omniprésent, il a une vitesse de croissance rapide, s'adapte parfaitement au froid (4) et résiste à de nombreux désinfectants et antibiotiques. C'est un germe contaminant redoutable et un allié vigoureux pour *Clostridium perfringens*. Malgré un pochage de la saucisse à 65°C pendant deux heures nous n'avons pas pu nous débarrasser ni de l'un ni de l'autre. Alors que les staphylococques, certes en nombre plus réduit, ont pu être éliminés.

Il faut donc veiller à une bonne hygiène des fabrications faisant intervenir le moins de manipulation possible, à un conditionnement rapide sous film plastique et avec une humidité réduite et à l'application immédiate du froid. Naturellement, il est recommandé d'effectuer des contrôles microbiologiques (et en particulier de la flore psychrophile) fréquents sur la matière première et les produits finis.

#### Bibliographie

- 1) Billon, J., Perpezat, A., Charrier, M. (1977) *Méd. et Nutr.*, 13, 277.
- 2) Baird-Parker, A.C. (1963), *J. Gen. Microbiol.*, 30, 409.
- 3) Marshall, R.S., Steenbergen, J.F., et Mc Clung, L.S. (1955). *Appl. Microbiol.*, 3, 559.
- 4) Zachariah, P et Liston, J. (1973) *Appl. Microbiol.*, 26, 437.

TABLEAU I

TABLE I

Nombre de germes microbiens par gramme de la série témoin 1, conditionnée sous film plastique et sous vide.  
Number of colonies per gram in control samples (1) vacuum-packed in plastic films.

Temps (en jours de conditionnement) Storage time (days)	pH	Flore totale mesophilic aérobies	Entérobactéries enterobacteriaceae	Coliformes coliform organisms	Pseudomonas pseudomonas	Pseudomonas fluorescens	Pseudomonas fluorescens	Clostridiums sulfito - réducteurs sulfite-reduc-	Staphylococcus aureus Staphylococcus aureus
1	6,38	10 <sup>4</sup> Germes/g	0	0	300	0	0	0	0
6	6,44	10 <sup>4</sup> Germes/g	20	10	10 <sup>3</sup>	0	0	0	0
12	6,42	10 <sup>6</sup> Germes/g	10	0	10 <sup>3</sup>	0	0	0	0
20	6,45	10 <sup>4</sup> Germes/g	0	0	10 <sup>3</sup>	0	0	0	10
26	6,38	10 <sup>4</sup> Germes/g	0	0	10 <sup>3</sup>	0	0	0	10

# 8.3

4

TABLEAU II

TABLE II

Nombre de germes microbiens par gramme de la série témoin 2 conditionnée sous film aluminium.  
Number of colonies per gram in control samples (2) packed in aluminium wrappers.

Temps (en jours de conditionnement) Storage time (days)	pH	Flore totale mesophilic aerobes	Entérobactéries enterobacteriaceae	Coliformes coliform organisms	Pseudomonas pseudomonas	Pseudomonas fluorescens Pseudomonas fluorescens	Clostridiums sulfite-reducteurs sulfite-reducing Clostridia	Staphylococcus aureus Staphylococcus aureus
1	6,58	$10^4$ Germes/g	0	0	580	0	0	0
6	6,41	$10^4$ Germes/g	0	0	$10^3$	0	0	0
12	6,40	$10^6$ Germes/g	0	0	$10^4$	0	0	0
20	6,44	$10^7$ Germes/g	30	0	$10^6$	0	0	0
26	6,44	$10^9$ Germes/g	60	0	$10^7$	$10^3$	0	0

TABLEAU III

TABLE III

Nombre de germes microbiens par gramme de la série expérimentale conditionnée sous film plastique et sous vide.  
Number of colonies per gram in experimental samples vacuum-packed in plastic films.

Temps (en jours de conditionnement) Storage time (days)	pH	Flore totale mesophilic aerobes	Entérobactéries enterobacteriaceae	Coliformes coliform organisms	Pseudomonas pseudomonas	Pseudomonas fluorescens Pseudomonas fluorescens	Clostridiums sulfite-reducteurs sulfite-reducing Clostridia	Staphylococcus aureus Staphylococcus aureus
1	6,30	$10^6$ germes/g	0	0	$10^5$	$10^5$	0	0
6	6,33	$10^6$ germes/g	0	0	$10^6$	$10^6$	20	0
12	6,40	$10^6$ germes/g	0	0	$10^4$	$10^4$	30	0
20	6,41	$10^7$ germes/g	0	0	$10^6$	$10^6$	20	10
26	6,37	$10^6$ germes/g	0	0	$10^5$	$10^5$	0	0

An attempt of use of monascorubrine as sausage colourant.

WASILEWSKI S.

Institute of Food Technology, Agricultural University of Warsaw, Poland

The technology of *Monascus purpureus* cultivation and of getting and purification of red pigment /monascorubrine/, in the sphere of laboratory experiments, was made. The physico-chemical properties of the pigment were partly characterized.

Our study showed, that monascorubrine was very well adsorbed by meat and non-meat proteins, giving them pink colour which was typical of cooked sausages. In the course of thermal processes the pigment was stable and it didn't get into the meat juice. It didn't colour fats, also. Results of technological experiments indicate that monascorubrine is useful particularly for colouring the chopped meat.

Versuche zur Verwendung von Monascorubrine für Wurstfärbung.

WASILEWSKI S.

Institut für Lebensmitteltechnologie, Landwirtschaftliche Universität zu Warschau, Polen

Im Labormaßstab wurde die Technologie der Zucht von *Monascus purpureus* Schimmelpilzen, sowie der Gewinnung und der Reinigung vom roten Farbstoff /Monascorubrine/ erarbeitet. Die physikochemische Teilcharakteristik des Farbstoffes wurde durchgeführt.

Es wurde festgestellt, dass Monascorubrine sehr gut von den Fleischeiweißen und Nicht-fleischproteinpräparaten adsorbiert wird und ihnen die charakteristische Rosafärbung der Brühwürsten verleiht, thermisch haltbar ist, in den Fleischsaft nicht übergeht und Fett nicht färbt. Die Ergebnisse der technologischen Versuche zeigen, dass Monascorubrine besonders für die Färbung von gekuttertem Fleisch geeignet ist.

## 12.2

Les essais sur l'emploi de monascorubrine comme colorant dans les saucisses.

WASILEWSKI S.

Institute de Technologie Alimentaire, Université Agronomique de Varsovie, Pologne.

Une méthode de culture de la moisissure *Monascus purpureus* et de l'extraction du pigment rouge /monascorubrine/, suivie de la purification a été élaborée à l'échelle laboratoire. Une caractéristique physicochimique du colorant obtenus a été amorcée.

On a constaté que ce colorant s'adsorbe très bien sur les protéines de la viande et des concentrés protéiques d'origine végétale en leur donnant une teinte rose, caractéristique des saucisses à vapeur. Il est thermostable et ne passe pas dans le jus de la viande ni la graisse. Les résultats des essais technologiques ont démontré que la monascorubrine s'adapte surtout pour colorer la viande hachée.

Попытки применения монаскорубрина для окраски колбас.

ВАСИЛЕВСКИ С.

Сельскохозяйственная Академия в Варшаве, Варшава, Польша.

Разработано в лабораторном масштабе технологию выращивания плесни *Monascus purpureus* а также получения и очистки красного пигмента /монаскорубрина/. Проведена частичную физико-химическую характеристику пигмента.

Обнаружено, что монаскорубрин очень хорошо адсорбируется на белках мяса и растительных белковых препаратах придавая им розовый цвет характерный для вареных колбас, пигмент этот термостабильный и не перемещается во время варки до бульона, не окрашивает жира. Результаты технологических опытов показывают, что монаскорубрин особенно пригоден для окраски куттерованного мяса.

An attempt of use of monascorubrine as sausage colourant

Stanislaw WASILEWSKI

Institute of Food Technology, Agricultural University of Warsaw, Poland

Introduction

Red colour of meat products has been fixed since long ago by pickling, treating the meat dyes with substances deriving from nitrate or nitrite processes. Unfavourable sanitary aspects of applying these compounds induce to limit or eliminate their use in meat processing. In searching for other ways of giving adequate colour to meat products, research is being carried on the use of dyes of natural derivation for this purpose.

One of those is the red dye produced by the mould *Monascus purpureus*. This dye is contained in the "red rice" and has been known and applied since long ago in the Far East. It is used for dying of fish salads, Chinese red cheese, for production of Chinese red wine, and for giving attractive red colour to various other food products /1,3/.

*Monascus purpureus* grows very well on soaked rice. Rice inoculated with this mould, at the initial phase of the mould's growth gets a fluffy coating, and later acquires red colour. All the mass of a rice grain becomes overcoloured, the grain becomes soft and easy to grind /3/. It is also possible to develop the mould in liquid culture /4/.

Methods

Soaked and sterilized rice was inoculated with an *Monascus purpureus* culture grown in liquid medium. The incubation of the mould on rice was carried on for 2 weeks in 32°C. During that time the whole mass of inoculated rice acquired intensive red colour. After completion of incubation, rice was spread in a thin layer on a tray, dried and ground. In order to remove the disturbing yellow dye /monascoflavine/ initial extraction by hexan was done. After removal of hexan residue, the red dye - monascorubrine - was washed out.

The sausage meat was prepared of unpickled beef and pork /2:1/, the whole process of producing sausage ran according to applied technology, no nitrates were added to the meat. By the end of cutting a dose of dye in ethanol solution was introduced in the sausage meat.

Results

The *Monascus purpureus* mycelium produces at least two dyes/2/:

Yellow monascoflavine /max.abs. 395 nm/ characterized by good solubility in various solvents and in water, showing affinity to lipides,

Red monascorubrine /max.abs. 500 nm/ solving well in ethanol, not solving in water and in fats.

Monascorubrine introduced in alcohol solution to water makes a fairly stable suspension of brown-red colour. This dye easily absorbs from water system on proteins /muscle and plant proteins/ giving them red colour almost identical with the characteristic colour of pickle meat products. The dye adsorbed on protein cannot be washed out with water or with ethanol. Monascorubrine is indifferent as for organoleptic and aromatic properties.

Sausages produced with monascorubrine added showed pink colour on cross section with did not differ visually from comparative sausage /nitrate-pickled/. It appeared from instrumental measurements that colour parameters of sausages with monascorubrine were very close to colour measurement results of comparative sausages /Table 1/. The obtained data indicate that the most adequate dose of the dye is 0,03 per cent.

Table 1  
Results of instrumental colour evaluation of sausages

%	d	Y	Pe	
0,02	588,83	28,36	0,231	% - dose of dye in per cent
0,03	589,8	28,06	0,252	d - dominating wave-length
0,04	593,6	26,10	0,244	Y - clarity
comp.	590,7	30,27	0,198	Pe - excitation purity

The tested sausages were submitted to consumer evaluation as regards colour, carried out by a 10-person jury. As can be seen in Table 2 the best evaluations were given to samples dyed with monascorubrine, containing the addition of 0,02 and 0,03 per cent of the dye /they obtained the first and second place the most number of times/.

Stability of colour was tested by exposing cut sausages to light of 1000 lx intensity for 1,2,3, and 4 hours /with the possibility of surface drying ruled out/. As it appeared from the above analysis the fastest discoloured sausage was the comparative one. Sausages dyed with monascorubrine show a considerable stability of colour, though of the tinge, however slower, do occur.

## 12.2

2

Table 2  
Results of consumer evaluation of sausage colour

Place	Comp.	dose of the dye / per cent/			
		0,02	0,03	0,04	0,05
I	3	2	3	1	1
II	2	2	4	1	1
III	1	1	2	3	3
IV	2	2	1	3	2
V	2	3	0	2	3

Discussion

Monascorubrine is a natural dye produced by live organisms /mould/, the colouring property of which has been known since long ago to nations of the Far East. The mould can be cultivated easily on solid substrates, such as rice and cereal grains, and in liquid medium. Red dye produced by it is visually highly resembling the colour of pickled meat products and can therefore successfully substitute the pickling process applied so far /nitrate application/. The dye is closely related to meat proteins and does not appear in the "juice", which occurs, for example, in case of applying beetroot dye - betanine, and does not colour the fat. In the available literature we have not come across information on harmful effect of this dye or of the presence of mycotoxins.

The obtained initial results indicate full usability of monascorubrine for dyeing fine-shredded sausage meat.

References

1. Hasseltine CW. Mycologia, 1965, 57, 149.
2. Hidejiro N., J.Agr.Chem.Soc.Japan, 1932, 8, 1007
3. Paolo A., Bacede H., The Philippine Journal of Science, 1960, 89, 1
4. Yoshimura N., Yamanaka S., Mitsugi K., Agr.Biol.Chem., 1975, 39, 1789

THE USE OF IRRADIATION TO REDUCE OR ELIMINATE NITRITE IN CURED MEATS

by

EUGEN WIERICKI and ARI BRYNJOLFSSON

Radiation Preservation of Food Division, Food Engineering Laboratory

U.S. Army Natick R & D Command, Natick, MA 01760, USA

223

25th European Meeting of Meat Research Workers

Budapest, Hungary

27-31 August 1979

EUGEN WIERICKI and ARI BRYNJOLFSSON

Radiation Preservation of Food Division, Food Engineering Laboratory, US Army Natick R&D Command, Natick, MA, 01760, USA

Irradiation allows reduction or elimination of nitrite in cured meats. Experiments have shown that added NaNO<sub>2</sub> in ham could be reduced from 156 to 25 mg/kg, and in corned beef to 50 mg/kg. 25 mg/kg NaNO<sub>3</sub> is needed to prevent the color fading in ham after irradiation. However, corned beef without NaNO<sub>2</sub> was of good overall quality. Addition of nitrite to bacon, preserved by irradiation, could be reduced from the present level of 120 to 20 mg/kg. All the quality characteristics, before and after frying, were similar to the nonirradiated, fully cured bacon. Experiments have shown that nitrite addition can be entirely eliminated from bacon preserved by irradiation. The resulting products had the normal color of raw bacon, the spoilage microorganisms were destroyed, there was no residual nitrite and no nitrosamines. The estimated cost of the process is below 1 cent per pound for low dose irradiated bacon for distribution under refrigeration, and not more than three cents per pound for the bacon packed in hermetically sealed packages, and treated with a sterilizing dose for distribution without refrigeration.

*UTOTRERIPRIT TPD səgəmɪ səpərətə səpərətə rətərətə nəp uotərətə wətərə no uotərətə*

Anwendung von Bestrahlung zur Verringerung oder Abschaffung von  
Nitritverwendung in Pökel- und Räucherfleisch.

EUGEN WIERBICKI und ARI BRYNJOLFSSON

R & D Command, Natick, MA, 01760, USA

Nitritzugabe zum Fleisch kann durch Bestrahlung reduziert oder völlig vermieden werden. Es ist durch Experimente bewiesen worden, daß die Zugabe von NaNO<sub>2</sub> zu gekochtem Schinken von 156 auf 25 mg je kg und zu Corned Beef auf 50 mg je kg reduziert werden kann. 25 mg NaNO<sub>3</sub> je kg sind notwendig, um nach Bestrahlung das Verblasen der Farbe in gekochten Schinken zu verhindern. Corned Beef jedoch war auch ohne NaNO<sub>2</sub> von guter Gesamtqualität. Die Zugabe von Nitrit zu geräuchertem Bacon, der durch Bestrahlung konserviert wurde, konnte von der zur Zeit gebräuchlichen Menge von 120 auf 20 mg je kg reduziert werden. Alle Qualitätseigenschaften waren, sowohl vor, als auch nach dem Braten, vergleichbar mit dem nichtbestrahlten, voll gepökelteten Bacon. Experimente ergaben, daß die Nitritzugabe zu bestrahlungskonserviertem, geräuchertem Bacon völlig vermieden werden kann. Die auf diese Weise erzeugte Ware hatte die übliche Farbe von rohem, geräuchertem Bacon, die verderbenden Mikroorganismen wurden zerstört, es gab keinen Nitrit- oder Nitrosaminenrückstand. Die Kostenvoranschläge für dieses Verfahren liegen, für einen mit niedriger Dosis bestrahlten und zum Vertrieb gekühlten, geräucherten Bacon, unter einem Cent pro Pfund, und für hermetisch versiegelten, geräucherter Bacon, der mit einer sterilisierenden Dosis behandelt wurde (für den Vertrieb ohne Kühlung) bei weniger als drei Cent pro Pfund.

EUGEN WIERBICKI et ARI BRYNJOLFSSON

Radiation Preservation of Food Division, Food Engineering Laboratory, US Army Natick  
R & D Command, Natick, MA, 01760

L'irradiation permet de réduire ou d'éliminer le nitrite dans les viandes fumées. Des expériences ont démontré que l'addition de  $\text{NaNO}_2$  au jambon peut être réduite de 156 à 25 mg/kg et, dans le corned beef à 50 mg/kg. La décoloration du jambon après irradiation. Toutefois, le corned beef sans  $\text{NaNO}_2$  était de bonne qualité générale. L'addition de nitrite au bacon conservé par irradiation pourrait être réduite du niveau actuel de 120 à 20 mg/kg. Toutes les caractéristiques de qualité, avant et après friture, étaient similaires à celles du bacon complètement fumé non-irradié. Des expériences ont démontré qu'on peut éliminer complètement l'addition de nitrite dans le bacon conservé par irradiation. Les produits ainsi obtenus avaient la même couleur normale du bacon cru, les micro-organismes facteurs de détérioration ont été détruits et il n'y avait aucun résidu de nitrite ni de nitrosamines. On estime le prix du procédé à moins d'un cent par lb. pour le bacon irradié à petite dose pour commercialisation sous réfrigération et à pas plus de trois cents par lb. pour le bacon conditionné en emballages scellés hermétiquement et traité avec une dose de stérilisation pour commercialisation sans réfrigération.

замены нитрита

Юджин Вербицкий и Ари Бриннёлфсон

EUGEN WIERBICKI and ARI BRYNJOLFSSON

Radiation Preservation of Food Division, Food Engineering Laboratory, US Army R&D  
Command, Natick, MA, 01760, USA

Облучение мясных продуктов позволяет частично или полностью заменить нитрит, используемый для их сохранения. Согласно экспериментам, количество  $\text{NaNO}_2$ , добавляемого в ветчину, можно снизить с 156 до 25 мг/кг, а в соленую говядину (corned beef) — до 50 мг/кг. Чтобы цвет ветчины не изменился после облучения, в нее следует добавить 25 мг/кг  $\text{NaNO}_3$ . Однако качество соленой говядины без добавки  $\text{NaNO}_2$  было в целом хороншим. Количество нитрита, добавляемого в бекон после облучения, можно было снизить с современного уровня 120 до 20 мг/кг. Все качественные характеристики облученного бекона до и после поджаривания были аналогичны тем же характеристикам полностью обработанного необлученного бекона. Эксперименты показали, что бекон, подвергнутый облучению, совершенно не требует добавки нитрита. Конечный продукт имел нормальный цвет сырого бекона, гнилостные микроорганизмы были уничтожены, не было ни остаточного нитрита, ни нитрозамина. Стоимость процесса облучения составляет менее 1 цента на фунт бекона, обработанного малой дозой облучения и предназначенному для хранения в холодильнике, и не более 3 центов на фунт бекона в герметической упаковке, обработанного стерилизующей дозой облучения и предназначенного для хранения без холодильника.

EUGEN WIERBICKI and ARI BRYNJOLFSSON

Radiation Preservation of Food Division, Food Engineering Laboratory, U.S.Army Natick R&D Command,Natick,MA  
01760, USA.

#### Introduction

The importance of the use of nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) for processing meats is well known to the attendees of this meeting: Protection of consumers against Clostridium botulinum poisoning, development of the characteristic flavor and color of the products, and an antioxidative effect. During the last decade, the use of nitrite and nitrate ( $\text{NaNO}_3$ ) in meat curing became very controversial because of production of carcinogenic nitrosamines (NA), as for instance during frying of bacon (FIDDLER, 7). However, nitrites and possible NA are produced endogenously in saliva and in the human intestines (TANNENBAUM et al., 13). It is generally agreed that the addition of nitrite and nitrate to cured meats should be as small as possible, limited to the amount needed to protect the consumer against the risk of the formation of bacterial toxins. Research in the field conducted in the United States (ANON., 2) and abroad (MIRNA, 9) resulted in some reduction of the nitrite and nitrate additions to cured meats. The use of additives, like potassium sorbate, which has inhibitory microbiological effects was investigated (LEISTNER et al., 8). However, the use of sorbate with reduced nitrite addition in bacon is being investigated because of its apparent allergic and possible mutagenic effects, (ANON., 3,4). In May 1978, results of a 5-year study for the FDA by the MIT toxicologist Newberne became known, which indicates that nitrite itself produces significant incidence of cancer (Lymphoma) in rats (NEWBERNE, 10). As a result of this study the use of nitrite in cured meats may be banned in the United States after 1 May 1980, and in the meantime the search for substitutes for nitrite is intensified (CALIFANO, 6).

At the present time we see irradiation as the most promising alternate to nitrite in meats because it destroys C. botulinum and other meat spoilage microorganisms (WIERBICKI et al., 14, 16). This paper summarizes research conducted at the U.S. Army Natick Research and Development Command (NARADCOM) on reduction or elimination of nitrite in ham, corned beef, conventional bacon, pre-fried bacon, and frankfurters, preserved by irradiation.

#### Experimental Processing of cured meats prior to irradiation followed essentially common commercial practice. Details for

product preparation, packaging, irradiation and post-irradiation storage and evaluation are given by WIERBICKI (et al.)<sup>1</sup>, (14-19) and SHULTS et al.<sup>2</sup> (12). For shelf-stable products, 12D sterilizing doses (Table 1) were used, of 8 to 12 members was used to evaluate color, odor, flavor and texture; (b) consumer panel of 30 to 40 members using the 9-point hedonic scale for preference by PERYAM and PILGRIM (11). The ratings above 5, as determined by both panels, are indicative of products of good quality. NA determinations were conducted on the experimental samples by the USDA Laboratory, Eastern Regional Research Center in Philadelphia, PA, using the FDA approved techniques of gas chromatographic (GC) separation, Thermal Electron Analyzer (TEA) detection, and mass spectrometric (MS) confirmation of the positive GC-TEA findings for the nitrosamines (FIDDLER, 7). In ham and corned beef, the determinations were made for six nitrosamines: nitrosodimethylamine (NDMA), nitrosomethylamine (NMEA), nitrosodiethylamine (NDEA), nitrosomorpholine (NMOR), nitrosopyrrolidine (NPYR), and nitrosopiperidine (NPIP). In bacon the analyses were conducted only for NMDA and NPYR, since these are the only two nitrosamines detected in bacon.

Table 1: Minimal irradiation sterilizing (12D) doses in kGy (1 Gy = 100 Rad)

Food	Irrad. Method of Est. 12D dose <sup>1</sup>		
	Temp. (°C)	Extreme Value <sup>2</sup>	Spearmann-Karber <sup>3</sup>
Beef	-30±10	41.2	43.4
Chicken	-30±10	42.7	44.3
Ham	-30±10	31.4	38.1
Pork	-30±10	43.7	39.2
Codfish cake	-30±10	31.7	32.4
Corned beef	-30±10	26.9	24.4
Pork sausage	-30±10	25.5	26.5
Bacon	5 to 25	--	25.2

Source: D.B. ROWLEY, NARADCOM. <sup>1</sup>Based on recoverable botulinic cells and an assumed one most resistant strain/can. <sup>2</sup>Based on an assumed exponential spore death rate with an initial shoulder. <sup>3</sup>Based on an assumed exponential spore death rate without an initial shoulder.

Ham: The present nitrite addition to ham, allowed by USDA, is 156 ppm and no added nitrate. In our previous research (WIERBICKI et al., 14-17) the lowest level of added nitrite in irradiated ham was 25 ppm supplemented with 100 ppm nitrate for prevention of fading of cured meat color after irradiation. One objective of this last series of experiments was to reduce the amount of added nitrate to below 100 ppm when used in combination with 25 ppm nitrite. Another objective was to eliminate nitrite entirely. Results of the latest experiments indicate that a good quality, shelf-stable color can be produced by adding only 25 ppm nitrate in combination with 25 ppm nitrite (Table 3).

Corned Beef: In corned beef the nitrite addition can be reduced from 156 ppm to 50 ppm. An acceptable product was produced by further reduction of added nitrite to 25 ppm (SHULTS et al., 12). However, during repeated production of the item in our laboratory, uncured spots

**Frankfurters:** Research is in progress to develop irradiated frankfurters under a contract with Texas A&M University. Results obtained so far indicate that the addition of nitrite in irradiated frankfurters can be reduced to a 50 ppm level (Table 2). Acceptable irradiated frankfurters can also be produced without nitrite addition, but the resulting product is rated inferior in flavor. This can be remedied by modifying the spice formula and including flavor enhancing compounds.

**Bacon:** A. Irradiation sterilized (radapertized) bacon. The objectives of this investigation were: (1) to produce shelf-stable, nitrosamine free bacon, preserved by sterilizing doses of ionizing radiation, processed with the smallest amount of added nitrite needed to achieve the characteristic color and flavor of the bacon, and (2) to produce shelf-stable bacon of acceptable quality without addition of nitrite. The use of nitrite in commercial bacon at the present time in the U.S. is 120 ppm in combination with 550 ppm ascorbate.

Table 2: Minimal additions of nitrite to irradiated meats.

Product	Minimum Addition ppm NaNO <sub>2</sub>	Product Quality
Ham	None	Slightly different color and flavor.
	20	Color, flavor & taste similar to commercial bacon. Color fades.
	25	Color stabilized.
	25/25 <sup>1</sup>	In research stage (texture excellent).
Corned Beef	50 <sup>2</sup>	Regular quality product. Brown color, otherwise accept.
	None	Brown color, otherwise accept.
	50	Good quality product.
Frankfurters	None	Acceptable, diff. flavor & color.

<sup>1</sup>25 ppm NaNO<sub>3</sub> addition is needed to prevent fading of the color. <sup>2</sup>25 ppm NaNO<sub>2</sub> addition is sufficient if NaNO<sub>2</sub> is uniformly distributed during pumping.

A series of experiments were conducted using different levels of added nitrite (from 0 to 120 ppm) and nitrate (from 0 to 500 ppm) to bacon during curing. The bacon was procured from an industry source using our curing formula. The bacon was processed, sliced, packed in commercial films and then shipped in a refrigerated car to NARADCOM for further processing. Before irradiation, the product was repacked into metal cans or flexible pouches, vacuum sealed, and irradiated with sterilizing doses of ionizing radiation, either with 23 kGy at 50°C or with 30 kGy at -300±100°C. Table 4 lists the composition of five cures used in the last experiment. A combination of nitrite and nitrate was used in one lot to obtain information on color stability (as found in irradiated ham). Since the combination was not beneficial, nitrate addition in bacon is not needed. The overall evaluation (WIERBICKI et al., 19) showed that the added nitrite can be reduced from the present level of 120 ppm down to 20 ppm with the resulting product retaining all quality attributes. A good quality bacon was also produced by eliminating nitrite entirely; however, it had

a slightly different flavor and color after frying as judged by meat experts. In Table 4 data are given for color, odor, flavor, and texture, and in Table 5 for consumer preference of the irradiated bacon. No nitrosamines (NDAM and NPYR) were detected in the bacon made without nitrite. In the product cured with 20 to 40 ppm added nitrite, no NDMA was detected; the NPYR content was very low and varied from "none detected" to 2 ppb (parts per billion), (Table 6). Irradiation destroys residual nitrite in cured bacon, thus decreasing the probability for NPYR formation during frying of bacon. The data given in Table 6 have been confirmed in a joint study with the Philadelphia USDA Lab. Comparison was made among the paired bacon bellies (irradiated vs. nonirradiated) cured with 120 vs. 20 and 0 ppm added nitrite. In all irradiated bacon samples, including those cured with 120 ppm nitrite, no residual nitrite was detected. There was no NDMA in 0 and 20 ppm bacon; NPYR in irradiated 0 and 20 ppm bacon was in the range as given in table 6. In a bacon cured with 120 ppm nitrite, the amounts of NDMA and NPYR in the irradiated samples (unpublished data) were on the average only one-third of the amounts detected in nonirradiated paired bacon samples (unpublished data). The same results were obtained on irradiation sterilized pre-fried bacon (Table 6; WIERBICKI et al., 15, 17, 19).

Table 3: Effect of nitrate to prevent color fading in reheated ham, evaluated immediately and after 2 hrs exposure to air at 21°C (n=16).

Added NO <sub>2</sub> /NO <sub>3</sub> ppm*	Nonirradiated		32 kGy at -40°C	
	0 (hrs)	2 (hrs)	0 (hrs)	2 (hrs)
25/0	7.8	6.4	6.9 <sup>a,b</sup>	4.6 <sup>a</sup>
50/0	7.5	6.4	6.3 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>
75/0	7.6	6.4	7.1 <sup>a,b</sup>	5.2 <sup>a,b</sup>
25/25	7.6	6.6	7.8 <sup>b</sup>	6.3 <sup>b,c</sup>
25/50	7.4	6.4	7.8 <sup>b</sup>	6.5 <sup>c</sup>

Table 4: Sensory quality of irradiated (30 kGy at -30°C) bacon cured without and with reduced nitrite addition (n=12).

Added NaNO <sub>2</sub> ppm	Color	Odor	Flavor	Texture	P<0.05	NSD	NSD	NSD	NSD
					NSD	SD	SD	SD	SD
0	5.7	6.9	6.5	6.3					
20	6.2	6.8	6.3	6.5					
40 <sup>2</sup>	6.7	6.9	6.0	6.8					
20	7.2	6.9	6.6	6.7					
6.5	6.9	6.4	6.3						

No sig. diff. between means with the same letter.

\*Other additives: 2.4% NaCl, 0.3% sodium tripoly-phosphate and 550 ppm sodium ascorbate-isoascorbate 1:1 mixture.

1With added 275 ppm sodium isoascorbate; other lots had added 550 ppm. 2Supplemented with 20 ppm NaNO<sub>3</sub>. Other additives in all bacon lots were 1.5% NaCl, 0.75% sucrose and 0.3% sodium tripolyphosphate.

Table 5: Preference by consumer panel or irradiated (30 kGy at -30°C) and nonirradiated bacon (Block, 5 to 5, 35 subjects)

Added NaNO <sub>2</sub> ppm	Irrad. ppm	Nonirrad.
0 <sup>1</sup>	5.0	5.9
0	6.3	5.3
20	6.4	5.9
40	6.8	6.3
20 <sup>2</sup>	6.4	5.5
DUNCAN 0.05	LSD	0.80
		0.65

1,2 - See Table 4

4 See Table 4

3 Edible portion after frying.  
<sup>4</sup> None detected, min. detectability, 0.5 ppm NaNO<sub>2</sub>  
<sup>5</sup> None detected, min. detectability, 1< ppb NA

#### B. Low dose irradiated (radurized bacon)

Bacon is distributed in the United States as slices that are vacuum packed in transparent plastic film, 1-lb. packages, shipped, stored and marketed under refrigeration. Refrigerated shelf-life of the product is 45 to 60 days. Loss of vacuum and bacterial growth limit the shelf-life. The 120 ppm nitrite addition together with the added salt, controls the bacterial growth and assures the shelf-life of 60 days. This high level of nitrite is also needed to prevent growth and toxin formation by *C. botulinum*. Irradiation of bacon for refrigerated distribution should be particularly welcomed by bacon processors since irradiation can be applied to the product packed in conventional packaging. The irradiation dose needed for bacon for refrigerated distribution would be much lower than the 12D sterilizing dose. For the irradiated product processed without nitrite or with only 20 ppm added nitrite, the dose should be sufficient to provide safety to the product comparable or better than presently assured by the 120 ppm nitrite addition to commercial nonirradiated bacon. This irradiation dose is estimated to be in the range of 7.5 to 10 kGy at refrigerated temperature of 5°±5°C. Application of low dose irradiation to bacon packed in conventional packaging and stored in a refrigerator at 5°±1°C up to 80 days was investigated. Nonirradiated samples were also stored for comparison. The most dramatic effect of the irradiation was observed in the color of the product, which was the normal pinkish-red color of raw wholesome bacon desired by the processor and the consumer. The color and appearance of nitrite-free bacon were equally good up to 80 days storage at 5°C, the longest period investigated. Nonirradiated bacon samples, cured without nitrite, showed objectionable discoloration after 2 weeks of storage. After 30

Table 6: Nitrosamines and residual nitrite in regular and pre-fried irradiated bacon (30 kGy at -30°C).

Added NaNO <sub>2</sub> ppm	Irrad. ppm	Pre-Fried			Regular Bacon <sup>3</sup>		
		Res. NaNO <sub>2</sub>	NDMA ppb	NPYR ppb	Res NaNO <sub>2</sub>	NDMA ppb	NPYR ppb
0 <sup>1</sup>	5.0	0 <sup>1</sup>	N.D. <sup>4</sup>	n.d. <sup>5</sup>	N.D. <sup>4</sup>	n.d. <sup>5</sup>	n.d. <sup>5</sup>
0	6.3	0	N.D.	n.d.	N.D.	n.d.	n.d.
20	6.4	20	N.D.	n.d.	1	N.D.	n.d.
40	6.8	40	N.D.	n.d.	2	N.D.	n.d.
20 <sup>2</sup>	6.4	20 <sup>2</sup>	N.D.	n.d.	1	N.D.	1

days storage, the product was strong and gave off a definite rancid odor. Degradation was less severe in nonirradiated bacon cured with 20 ppm and 40 ppm nitrite additions. The 1-pound bacon samples, packed in the conventional bacon packaging representing five different cures, irradiated (7.5 kGy) and nonirradiated were analyzed for the total aerobic plate count (APC) after 78 days storage at  $50 \pm 1^\circ\text{C}$ . The results of this investigation are given in Table 7. As the data indicates, irradiation with 7.5 kGy is sufficient to destroy the common bacon spoilage microorganisms.

Table 7: Aerobic plate count (APC) in commercially packed, nonirradiated and low-dose irradiated, bacon after refrigerated storage at  $5^\circ\text{C}$  for 78 days, as determined in lean and fat portions of the product.

Added NaNO <sub>2</sub> ppm	APC, cells/gram			
	Nonirradiated Lean	Nonirradiated Fat	7.5 kGy Lean	7.5 kGy Fat
0 <sup>1</sup>	>3X10 <sup>6</sup>	>3X10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
0	>3X10 <sup>6</sup>	3X10 <sup>7</sup>		
20	7.8X10 <sup>6</sup>	7.4X10 <sup>6</sup>		
40	2.6X10 <sup>6</sup>	1.1X10 <sup>7</sup>		
202	>3X10 <sup>6</sup>	>3X10 <sup>6</sup>		

<sup>3</sup> 10 = Negative at 1:10 dilution.  
<sup>1,2</sup> See Table 4.

Table 8: Cost of irradiation sterilizing bacon. Dose: 25 kGy at refrigerated temp.; Plant size: 100 million lbs per year.

Source	5-yr Plant Depreciation ¢/lb	Operation ¢/lb	Total ¢/lb
Co-60 isotope	2.03	1.20	3.23
Cs-137 isotope	2.03	0.32	2.38
10 MeV accelerator	0.49	0.43	0.92
4 MeV accelerator	0.36	0.40	0.76

Source: A. BRYNJOLFSSON, NARADCOM, 1979

Cost of Irradiation: Irradiation technology already exists, and is used widely by chemical and medical supply industries. Food irradiation on a commercial scale can be established. The current supply of radioisotopes, a significant portion of which is cesium-137, is sufficient to satisfy all needs in food irradiation. At present these by-products from atomic reactors are stored underground and are being wasted. Their utilization for food irradiation would provide additional energy, resulting in energy savings of other available energy sources. The cost of irradiating bacon and the associated energy savings has been recently estimated by BRYNJOLFSSON (5). Irradiation sterilization of bacon at 25 kGy under refrigeration would cost about 0.8¢/lb; if irradiation sterilized while frozen, the cost of irradiating and freezing would be about 3¢/lb. Using substerilizing doses of 7.5 to 15 kGy would cost about 0.7¢/lb. From an organoleptic standpoint, there is no need to irradiate bacon in a frozen state. However, there might be some concern about the greater effect of irradiation on the vitamin B<sub>1</sub> content and the lipids of irradiated bacon. Irradiation sterilization of ham, corned beef,

*frankfurters, and other meats has to be accomplished in the frozen state ( $-40^{\circ}\pm 5^{\circ}C$ ) to preserve their sensory properties (mainly flavor). The cost of irradiation of these products with sterilizing doses of 25 to 50 kGy, including the freezing, would be approximately twice as high as irradiation sterilizing bacon in the frozen state, or about 6¢/lb. Irradiation will be applied at the end of the processing.*

**FDA and USDA clearances:** Raw bacon, vacuum-packed in metal cans and sterilized by irradiation (56 kGy) was approved by the FDA and USDA in 1963. In 1968, clearance was rescinded, since additional data was thought necessary. At present, consultations are in progress among the Army, USDA, and FDA to evaluate irradiation as an alternative to nitrite and to review requirements for obtaining clearance for its use. The clearances for other irradiation sterilized meats will be included in the clearance of irradiation sterilized chicken, the wholesomeness studies of which involve multigeneration animal feeding tests and are now close to completion. Using the wholesomeness data for irradiation-sterilized chicken, supplemented with broad chemical and microbiological data on other meats (beef, pork, ham) and applying the principle of "chemi-clearances," it is expected that the irradiation will be cleared by the health authorities as a food process applicable to all foods. Consultation with the FDA on the subject are in progress.

Summary:

1. Nitrite in commercial cured meats is used currently in the United States at the level of 120 ppm in bacon and 156 ppm in other meats.
2. These nitrite levels are used primarily to protect consumers from an incidence of botulinum food poisoning. Other effects are development of the characteristic color and flavor of the products and the antioxidative effect.
3. Irradiation very effectively destroys *C. botulinum*. This allows a great reduction in the addition of nitrite to cured meats preserved by irradiation.
4. Addition of nitrite to irradiated cured meat products can be limited to the low levels needed only for the color, odor, and flavor of the products. These are: (a) 20 ppm in bacon; (b) 25 ppm each, nitrite and nitrate, in ham; (c) 50 ppm in corned beef and frankfurters.
5. In some products preserved by irradiation, such as bacon, corned beef and frankfurters, the use of nitrite can be entirely eliminated. The resulting nitrite-free products are of acceptable quality and retain their product identity even though slightly different in color and flavor from what consumers are used to in nitrite-cured products.

References

- 1) ANELLIS, A., SHATTUCK, E., LATT, T., SONGPASERTHAL, S. ROWLEY, D.B., ROSE, E.W., JR. - Gamma irradiation at  $-30 \pm 100^\circ\text{C}$  of low level nitrite/nitrate ham. Spore Research II p. 631, Academic Press, London, 1976.
- 2) ANON. 15th Meat Ind. Res. Conference, "Update on Meat Curing." The Nat. Provisioner, p. 8, 2 June 1979.
- 3) ANON. Monsanto Reports Mutagenicity Results to USDA, FDA. Food Chem. News, p. 49, 11 June 1979.
- 4) ANON. Allergic type reactions in bacon project described in USDA report. Food Chem News, p. 74, 23 July 1979.
- 5) BRYNJOLFSSON, A. Cost of irradiating bacon and the associated energy savings. Tech. Rpt. FEL-89, U.S. Army Natick R&D Command, March 1979.
- 6) CALIFANO, J.A., Jr. U.S. Department of Health, Education and Welfare, HEW New News, 30 March 1979.
- 7) FIDDLER, W. Summary of nitrosamine research at the Eastern Regional Res. Center, Proc. 21st EMMRW, Bern, 1975.
- 8) LEISTNER, L., Z. BEM and H. HECHELMANN. Kaliumsorbit-eine Alternative zum Nitrit bei Fleischherzeugnissen. Proc. 24th EMMRW, Kulmbach, W2, 1978.
- 9) MIRNA, A. Möglichkeiten zur Verringerung des Zusatzes von Nitrit und Nitrat in Fleischerzeugnissen. Proc. 24th EMMRW, Kulmbach, W5, 1978.
- 10) NEWBERNE, P.M. Nitrite promotes Lymphoma incidence in rats. Science, p. 1079, June 8, 1979.
- 11) PERYAM, D. R. and PILGRIM, F. J. Hedonic scale method for measuring food preferences. Food Technol. 11 (9), Supp. 9, 1957.
- 12) SHULTS, G.W., COHEN, J.S., HOWKER, J.J., and WIERBICKI, E. 1977. Effect of sodium nitrate and sodium nitrite additions and irradiation processing variables on the color and acceptability of corned beef briskets. J. Food Science, 42 (6), 506, 1977.
- 13) TANNENBAUM, S.R., FETT, D., YOUNG, V.R., LAND, P.D. and BRUCE, W.R. Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestines. Science 200, p. 1487, 1978.
- 14) WIERBICKI, E., HEILIGMAN, F. Shelf stable cured ham with low nitrite-nitrate additions preserved by radappertization. Proc. Int. Symp. Nitrite in Meat Prod., Zeist, p. 189, PUDOC, Wageningen, 1973.
- 15) WIERBICKI, E., F. HEILIGMAN, and A.E. WASSEMAN. Cured meats with reduced nitrite preserved by radappertization. 20th EMMRW, Dublin, p. 101, 1974.
- 16) WIERBICKI, E., BRYNJOLFSSON, A., JOHNSON, H.C. and ROWLEY, D.B. Preservation of Meats by Ionizing Radiation. 21st EMMRW, Bern, 1975.
- 17) WIERBICKI, E., HEILIGMAN, F., and WASSERMAN, A.E. Irradiation as a conceivable way of reducing nitrites and nitrates in cured meats. Proc. 2nd Int. Symp. Nitrite in Meat Products, Zeist, p. 75, PUDOC, Wageningen, 1976.
- 18) WIERBICKI, E., HOWKER, J.J., and SHULTS, G.W. Effect of salt, phosphates and other curing ingredients on shrinkage of lean pork meat and the quality of smoked processed ham. J. Food Sci. 41: p. 1116, 1976.
- 19) WIERBICKI, E. The importance and feasibility of irradiated low nitrite meat products. Activities Report of the R&D Associates, Vol. 31, No. 2, 1979.