



Marinering af kød i mælk og fermenterede mælkeprodukter - indflydelse på spisekvaliteten

Bacheloropgave i fødevarevidenskab afleveret 24/01-2011

Forfattet af

Mia Irene Kristensen

Studienummer LMB 07078

Institut for Fødevarevidenskab/Kødvidenskab

Det Biovidenskabelige Fakultet



Marinering af kød i mælk og fermenterede mælkeprodukter - indflydelse på spisekvalitet

Bacheloropgave i fødevarevidenskab

Forfattet af

stud.tech.al

Mia Irene Kristensen

Studienummer LMB 07078

Institut for Fødevarevidenskab/Kødvidenskab

Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Vejledere

Hovedvejleder:

Lektor, Mette Christensen

Institut for Fødevarevidenskab/Kødvidenskab

Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Medvejleder:

Christian Hovmann

Application & Development Manager

Arla Foods Amba



Resume

Marinering er en hyppigt benyttet metode til at forbedre spisekvaliteten af kød. Marinader er typisk vand- eller oliebase og indeholder ofte smagsgivere. Gamle traditioner verden over foreskriver, at marinader på basis af mælk kan forbedre spisekvaliteten af kød. Denne effekt har dog tidligere kun været undersøgt af Zochowska *et al.* (2010).

Formålet med projektet var på baggrund af et litteraturstudie at belyse den potentielle effekt af marinering af kød med mælkeprodukter og indflydelse på spisekvaliteten. Fokus har ligget på mælkeprodukternes komponenter, som er inddelt under mælk og fermenterede (syrnede) mælkeprodukter, uden nogen form for tilsætning. Derudover er traditionelle marineringsmetoder, -komponenter og recepter gennemgået. I projektet er der fundet indikationer på, at mælk kan have en potentiel positiv effekt på spisekvalitetssegenskaberne ved marinering af kød. Ifølge litteraturen kan mælkebestanddelene muligvis have følgende effekter: calcium kan aktivere calpainerne, fosfat og klorid kan indvirke på vandbindingsevnen, de frie aminosyrer kan mørne af kødet (mekanismen er ikke kortlagt), glutamat kan virke smagsfremhævende, laktose kan ændre det osmotiske tryk i kødet samt forbedre smagen.

Den potentielle effekt af marinering i syrnede mælkeprodukter fremhæves over marinering i mælk, da der her muligvis vil opstå en form for synergi effekt mellem de ovennævnte komponenter, calciumaktiverede calpainer (i mindre grad, pga. den lave pH), pH-sænkning (førende til en øget vandbindingsevne), mørning via cathepsiner og bakterielle proteaser.



Abstract

Marinating is an often used method to improve the eating quality of meat. Marinades are often based on water or oil and often contain flavors. All over the world tradition dictates that marinades based on milk can improve the eating quality of meat. This effect has only been examined by Zochowska *et al.* (2010).

This project has on the basis of a literature study shown the potential effect of marinating meat in milk products. The main focus has been the components of milk products, subdivided into milk and fermented milk. In addition marinating techniques, components and recipes has been reviewed. In this study indications have been found that milk might have a positive effect on the eating quality of meat. According to the literature milk components may have the following effects: calcium can activate the calpains, phosphate and chloride can affect the water holding capacity, the amino acids can tenderize the meat (this mechanism is not yet fully identified), glutamate might act as a flavor enhancer, lactose can change the osmotic pressure in the flesh and improve the flavor.

The potential effect of marinating in fermented milk products is highlighted above marinating in milk, since this might cause a sort of synergy between the above mentioned components and calcium activated calpains (to a lesser degree, because of the low pH), pH lowering (and thereby increased water holding capacity), tenderizing by the cathepsins, bacterial proteases and free amino acids.



Forord

Denne bacheloropgave er skrevet i forbindelse med afslutningen af bacheloruddannelsen i fødevarevidenskab med fagpakken ”kvalitet og teknologi”. Opgaven svarer til 15 ETCS-point og er skrevet over en periode på ni uger, svarende til én bloks studier, fuld tid.

Ideen til projektet stammer oprindeligt fra Arla Foods og opgaven kan bruges som en litteratur gennemgang og som baggrund for eksperimentelle studier i fremtiden. Det har været et stort privilegium at arbejde med et så relevant og brugbart emne. Jeg håber derfor, at andre vil fortsætte forskningen indenfor området efter afslutningen af dette projekt.

Tak til Tove Færch, leder af Karolines Køkken Arla Foods, for vidensdeling indenfor produktudvikling og for at give sit syn på fremtiden indenfor marinering i mælkeprodukter.

En stor tak til Christian Hovmann, Arla Foods Amba, for vidensdeling og god vejledning, samt for sit store engagement i projektet. Det har været en fornøjelse at lave dette projekt på baggrund af jeres ide.

En helt særlig tak til hovedvejleder, Lektor Mette Christensen, Institut for fødevarevidenskab KU, for hendes kompetente vejledning, inspiration, personlige engagement og sin store tro på projektets anvendelighed.

Det har været en fornøjelse at have Mette og Christian som vejledere på projektet.

Januar 2011

Mia Irene Kristensen, LMB 07078



Indholdsfortegnelse

1. Indledning	7
2. Kød – Struktur og spisekvalitet	9
2.1 Kødets opbygning.....	9
2.2 Bindevæv	11
2.3 Spisekvalitet	12
3. Marinering	13
3.1 Marineringstekniker	13
3.2 Marinadekomponenter.....	14
3.3 Marinering i mælkeprodukter – recepter	14
4. Mælk – aktive komponenter og effekter	15
4.1 Mælkens salte	18
4.1.1 Fosfat	19
4.1.2 Aminosyrer	20
4.1.3 Calcium.....	21
4.3 Laktose	23
5. Fermenterede mælkeprodukter – aktive komponenter og effekten på kød	24
5.1 Mælkens syre.....	25
5.2 Enzymer og starterkulturer i fermenterede mælkeprodukter	28
Diskussion	31
Konklusion	35
Perspektivering	36
Litteraturliste	37



1. Indledning

Spisekvaliteten er et begreb, som dækker over tekstur (mørhed), aroma, saftighed, smag og udseende (Cardello & Wise 2008). De er alle vigtige kvalitetsparametre ved kød til konsum. Rangeringen af de sensoriske deskriptorer hos nutidens forbrugere afhænger af kødtypen. Mørhed er særdeles vigtigt i forhold til oksekød, hvor saftighed og smag er mere centralt i forhold til svinekød (Whipple & Koohmaraie 1993; Varnam & Sutherland 1995). Mørhed, saftighed, udseende og smag er som udgangspunkt afhængig af faktorer som muskeltype, placering på dyret, art og ikke mindst alder. Det er muligt at påvirke de enkelte kvalitetsdeskriptorer via eksterne faktorer. Det er for eksempel veldokumenteret, at en slagteproces uden stres af dyrene kan forbedre vandbindingsevnen i svine- og oksekød (Varnam & Sutherland 1995).

Marinering af kød har været en flittigt benyttet teknik gennem århundreder. Tidligere blev marinering af kød brugt til at konservere og kamuflere smagen i fordærvet kød (McGee 2004). I dag bruger vi marinader til at introducere nye smage i kødet, gøre det saftigt, mørne det eller for at give det en smagfuld stegeskorpe. Ofte sammensættes marinader så de indeholder fire af de fem grundsmage altså salt, sødt, surt og bittert (kødet bidrager med umami). På denne måde opnås et produkt, som har den optimale smag (McGee 2004; Davidson 2006). Marinader kan baseres på en grundingrediens fx olie eller vand tilsat smagsgivere og ofte sure ingredienser (Lawrie 1991). Fermenterede (også kaldet syrnede) mælkeprodukter indeholder syre produceret af mælkesyrebakterier og kan derfor tænkes at udgøre den syrlige ingrediens i marinader (Tamime & Robinson 1999). Syre har altid været kendt som en vigtig ingrediens i forhold til holdbarhed af let fordærlige fødevarer, da den hindrer vækst af mange patogene mikroorganismer, men i dag er denne effekt ikke ligeså essentiel, pga. større mikrobiologisk kontrol og viden herom (Kinsman et al. 1994; McGee 2004; Davidson 2006).

Mælk har fra gammel tid været brugt til at udtrække bitre blodrester, sur smag og transmag fra kød (Buhl 2010). Det er af denne grund særdeles interessant at undersøge, om der er videnskabelige studier, som understøtter disse og yderligere effekter på kødet ved marinering i mælk. Det er allerede kendt at calcium, fx i form af calciumklorid, har en mørnende effekt, når det tilsættes i marinader (Whipple & Koohmaraie 1993; Miller et al. 1995 ; Aktas & Kaya 2001; Kanimozhi &



Mendiratta 2002; Lawrence et al. 2003; Ostojca & Cierach 2003; Perez-Chabela et al. 2005). Der findes en stor variation af mejeriprodukter alle med forskellige karakteristika. Kærnemælk er et mindre surt mælkeprodukt, som i nogle kulturer bruges som grundingsrediens i lager til kød (McGee 2004; Lopez-Alt 2010). Yoghurt fremstilles på basis af mælk syrnede med starterkulturer. Dette ændrer mælkenes kemiske sammensætning og heriblandt pH. Yoghurt er særlig brugt i Østen til marinerings af blandt andet kylling og lammekød. Her blandes yoghurten typisk med krydderier som ingefær, hvidløg, chili og garam masala (Mehta 1999, Blumenthal 2007). Det kan derfor være svært at finde evidens for, hvilke ingredienser som bidrager med den positive effekt på spisekvaliteten. Derfor er fokus i dette projekt at undersøge effekten af mælkeprodukter uden nogen form for tilsætning.

Formålet med denne opgave er at belyse den potentielle effekt af marinerings med mælkeprodukter på spisekvaliteten.

Hypoteser:

- Der findes aktive komponenter i mælkeprodukter, som kan forbedre spisekvaliteten, herunder smag, mørhed og saftighed.
- Calcium i mælkeprodukter kan aktivere proteaser, som kan mørne kødet.
- Syren i yoghurt virker nedbrydende på bindevævet.
- Enzymer i fermenterede mælkeprodukter kan øge nedbrydningen af kødets strukturproteiner.

Afgrænsning

Projektet vil primært fokusere på de enkelte mælkebestanddeles indflydelse på spisekvaliteten og mindre på helhedseffekten af mælkeprodukter, da denne ikke er undersøgt tilstrækkeligt ved eksperimentelle studier. Mælk defineres som komælk og ud fra Fødevaredatabankens data for konventionel sødmælk (3,5 %) (Foodcomp 2010 a).

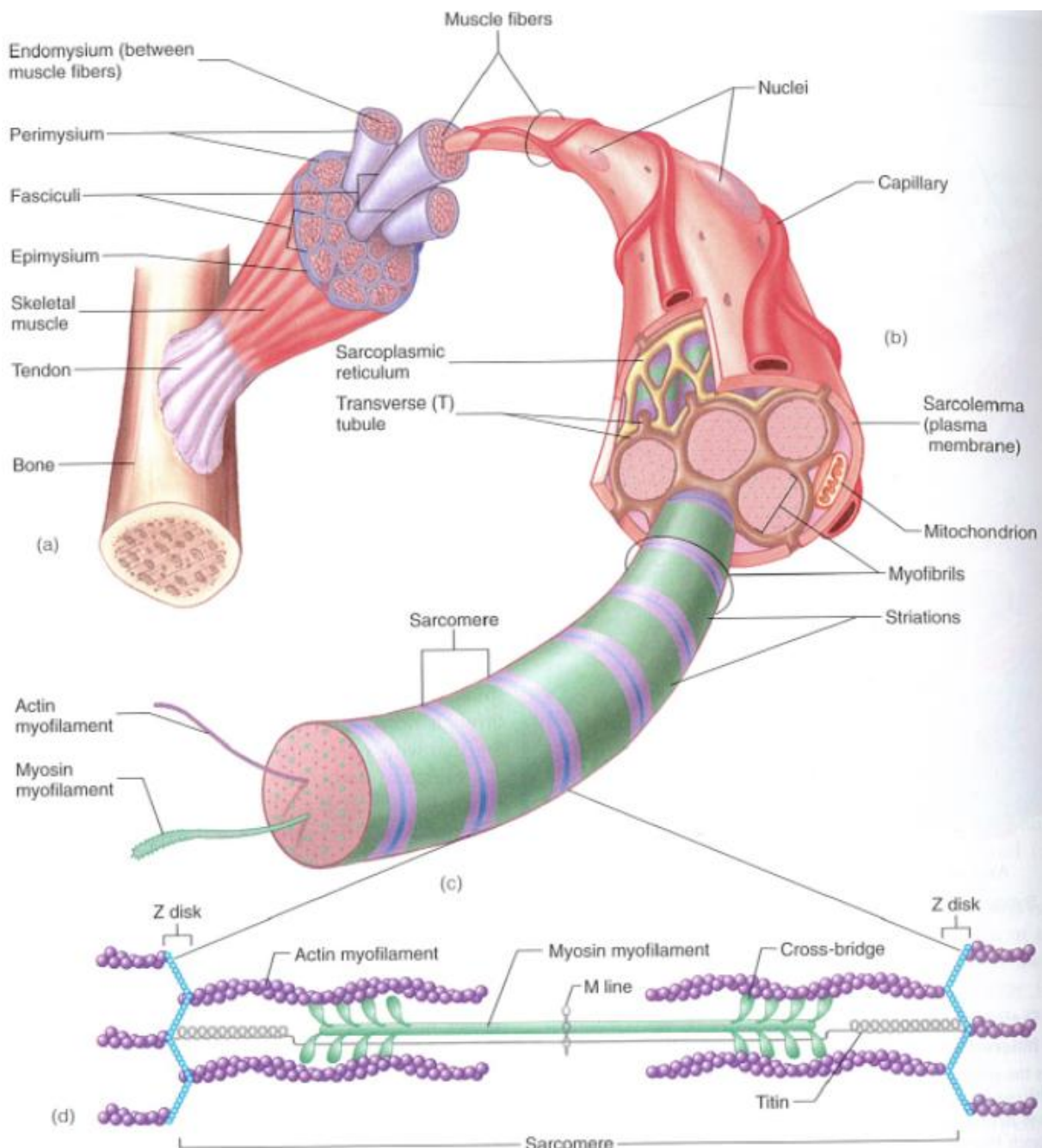
Der tages i dette projekt ikke højde for dyrets oprindelse, samt processer før, efter og under slagting.



2. Kød – Struktur og spisekvalitet

2.1 Kødets opbygning

Kød er generelt set tværstribet skeletmuskulatur bestående af muskelfibre, fedt og bindevæv. Opbygningen er i store træk ens på tværs af art og oprindelse (Wismer-Pedersen 1988). Alt efter muskeltypen er forholdet mellem de forskellige komponenter forskellig. Muskelfibrene, også kaldet muskelcellerne, er lange, cylinderformede og indeholder celleorganeller (heriblandt mitokondrier) i sarcoplasma. Figur 1 er en illustration af en muskel og opbygningen af denne. Af figur 1 ses det, at muskelfibrene består af myofibriller. Myofibrillerne er opbygget myofilamenterne. Disse er sammensat af to strukturproteiner aktin, de tynde filamenter, og myosin, de tykke filamenter. De to filamenter er aktive, når musklen er i bevægelse, men har også vigtig betydning for kødstrukturen *post-mortem*. Tilsammen udgør de to myofilamenter A-båndet. Aktinfilamenterne forbindes under kontraktion med ”myosinhovederne” (se figur 1). Et sarcomer er organiseret af aktin- og myosinfilamenterne, hvoraf aktinfilamenterne udgør det såkaldte I-bånd. I-båndet gennemskæres på midten af Z-skiven, som er sammensat af bl.a. desmin og α -actinin og overordnet set hæfter myofibrillerne sammen. Også de enkelte myosinfilamenterne hæfter ved Z-skiven, dette via det lange elastiske protein titin. Hele denne unikke opbygning giver muskulaturen sin tværstribede fremtoning (heraf navnet) (Wismer-Pedersen 1988; Offer *et al.* 1989; Varnam & Sutherland 1995; Warberg 2005; Seeley *et al.* (2008)).



Figur 1 Skeletmuskel inkl. Forstørrede komponenter. (a) Musklene er fæstnet til skelettet vha. sener (tendon). (b) Forstørrelse af muskelfiber. Muskelfibren (muskelceller) består af flere myofibriller. (c) Myofibril isoleret og forlænget. Heraf ses den tværstribede struktur. (d) Et isoleret udsnit af myofibrillen (sarcomer), bestående af aktin- og myosinfilamenterne. Aktinfilamenterne forbindes z-skiven, mens titin og M-linjen holder myosinfilamentet på plads. (mod.e. Seeley *et al* 2008).



2.2 Bindevæv

Bindevæv findes i varierende mængde i skeletmuskulatur. Det har væsentlig betydning for teksturen af kødet næst efter de myofibrillære proteiner. Bindevæv består af en ekstracellulær matrix, heri findes forskellige celler og fibre blandt andre makrofager, fedtceller og fibroblaster. I fibroblasterne syntetiseres fiberproteinerne kollagen og elastin. Kollagen udgør 20-25 % af den samlede mængde protein i pattedyr. Kollagen spiller en central rolle i stabiliteten og den mekaniske styrke i bindevævet, men også i teksturen af det tilberedte kød. Der findes flere typer kollagen (I,II,III,IV,V), disse er karakteristiske for forskellige væv og er til stede i varierende mængder (Wismer-Pedersen 1988; Offer et al.1989; Lepetit 2007).

Den primære strukturelle enhed i kollagen er tropokollagen, som er opbygget af tre peptid kæder, der hver især har α -helix struktur, men tilsammen danner en trippelhelix. Tropokollagenfibrene er orienterede i en speciel struktur, som giver kollagen en tværstribet fremtoning. Når det levende dyr ældes eller er fysisk aktivt, bliver bindevævsstrukturen stabiliseret under dannelsen af krydsbindinger mellem kollagenmolekyler og -fibre (Lepetit 2007). Disse bindinger giver kollagenfibrene deres mekaniske styrke og funktionelle struktur i forhold til det levende dyr (Belitz et al.2004; Varnam & Sutherland 1995). Ved opvarmning af kollagen, fx under tilberedning, trækker kollagenfibrene sig sammen. Dette sker typisk ved 60-65°C(pattedyr) og bevirker en fastere kødstruktur. Fortsættes opvarmningen vil det ikke-varmestabile kollagen omdannes til gelatine (Wismer-Pedersen 1988, Belitz et al 2004).

Elastinfibre er tykke, meget elastiske og uopløselige, selv under tilførsel af varme. Dette skyldes varmestabile krydsbindinger mellem desmosin og isodesmosin i elastin (Kinsman et al.1994). Det vil derfor ikke umiddelbart være muligt at manipulere med indholdet eller strukturen af elastin ved brug af marinering. Indholdet af elastin er generelt lavt. (Kinsman et al.1994).

Bindevæv besidder en central rolle i opbygningen og strukturen af musklerne. De enkelte muskelfibre er omgivet af en tynd bindevævshinde kaldet endomysium. Inde i musklen adskiller bindevævshinder kaldet perimysium, primær, sekundær og tertiær bundter af muskelfiber samt blodårer og nervebaner (se figur 1). Musklerne er som helhed er omgivet af epimysium. Denne bindevævshinde er for sej til konsumering, så derfor fjernes den inden tilberedning.



Der er udpræget forskel på andelen af kollagen i muskler. For eksempel er indholdet af kollagen tre gange højere (% tørstof) i *Sternomadibularis* (nakke), end i *Longissimus dorsi* (filet).

Kollagenfibrene varierer i størrelse. I perimysium ses tynde fibre i flere lag, der ligger ovenpå hinanden og i flere retninger, hvor kollagen fibrene i endomysium er meget tynde og nærmest vævet omkring den enkelte muskelfiber (Wismer-Pedersen 1988; Offer et al. 1989).

På baggrund af dette afsnit er det tydeligt at processer, som nedbryder eller ændrer strukturen af bindevævet (kollagen), sandsynligvis kan medvirke til en forbedring af kødstrukturen og derved mørheden.

2.3 Spisekvalitet

Spisekvaliteten er et begreb sammensat af forskellige deskriptorer. Spisekvalitet betegner det, som de menneskelige sanser kan registrere og bedømme. Det vil sige, det som kan smages, føles, lugtes, ses og høres (Cardello & Wise 2008). Kød bedømmes typisk efter de fire første, hvor følesansen beskriver mørhed, saftighed og evt. hårdhed (Kinsman et al. 1994; Varnam & Sutherland 1995). Alt efter forventning, opdragelse, vane og kultur kan hver kvalitetsfaktor have større eller mindre betydning for den enkelte forbruger (Cardello & Wise 2008). Afhængig af kødtypen er prioriteringen af kvalitetsfaktorerne forskellig. Saftighed og smagsintensitet er i fokus ved svinekød og mørheden ved oksekød (Whipple & Koohmaraie 1993; Varnam & Sutherland 1995).

Smagsdeskriptorene bedømmes oftest af et trænet panel, i nogle tilfælde et ekspert panel, da de menneskelige sanser kan detektere flere nuancer end den tilgængelige teknologi. Dog er det altid en god ide under udførsel af eksperimentelt arbejde også at benytte andre analysemetoder (Kinsman et al. 1994).



3. Marinering

3.1 Marineringstekniker

Der findes overordnet tre marineringstekniker: injektion, tumbling og overflademarinering (Lawrie 1991). I industrien er injektion med marinade en særdeles benyttet og effektiv metode. Kødet stikkes med fikserede nåle, hvorefter der injiceres en marinade. Injektion sikrer en ligelig fordeling af marinaden i kødet og en hurtig indtrængning. Til injektion bruges marinader med lav viskositet, uden partikler og ofte tilsat salt for at øge vandbindingsevnen og derved optaget af marinade (Varnam & Sutherland 1995).

Tumbling med marinader og saltopløsninger er en anden meget benyttet industriteknik (Lawrie 1991). Her blandes kød og marinade i en tumbler, hvor trykket i nogle tilfælde sænkes til 50kPa for at opnå vakuum. Alternativt kører tromlen rundt ved normaltryk 101kPa (Smith & Young 2007). Der findes forskellige fremgangsmåder for tumblingen. Det er fx meget brugt at pause kørslen undervejs og derved forlænge opholdstiden af kødet i marinaden. Kødet optager mere marinade, idet trykforskellen presser marinaden ind i kødet, kombineret med en mekanisk indarbejdning af marinaden (Varnam & Sutherland 1995). Kødets overflade forsegles under tumblingen af ekstraherede saltopløselige proteiner (myosin og aktin). Disse proteiner danner en matrix, som holder vandet inde i kødet under tilberedningen (Alvarado & McKee 2007). Smith og Young (2007) mener dog, at vakuum under tumbling er overflødigt og finder ingen signifikant effekt herved.

Ovenstående metoder kan ikke bruges i de private husholdninger, og derfor benytter man her overflademarinering, hvor kødet lægges i blød i marinaden eller blot indsmøres (Lawrie 1991; Alvarado & McKee 2007). Marinaden trænger ved denne metode langsomt ind i kødet og alt efter ingredienserne marineres der i alt fra minutter til adskillige dage inden tilberedning.

Post mortem udvikles der i kødet såkaldte drypkanaler hvorigennem vand kan passere også kendt som dryptab. Kanalerne er 20-50 μ m og opstår mellem muskelfiberbundterne og perimysium (Offer & Knight 1988). Disse kanaler kan tænkes at lede marinaden ind i kødet, men der findes endnu ikke studier, som be- eller afkræfter denne hypotese.



3.2 Marinadekomponenter

Lawrie (1991) inddeler marinader i vand- og oliebaseerede. De vandbaseerede marinader kan tilsættes sure væsker, typisk eddike, vin, frugtsaft for at sænke pH. Syre, specielt eddike, har den bivirkning, at kødets overflade ved længere tids marinerings kan få en kedelig gråbrun farve. Neutrale vandbaseerede marinader indbefatter saltlager, marinader indeholdende vand og salte, fx NaCl og polyfosfater. Oliebaseerede marinader laves på basis af flydende fedtstoffer, ofte planteolier.

Fælles for marinadekomponenterne er, at de alle tilføjes for at forbedre smagen og tekturen af kødet (Lawrie 1991). Ved overflademarinerings tilsættes grundmarinaden ofte smagsgivere fx urter, tørrede krydderier eller pastaer i form af sennep, frisk ingefær, hvidløg (Davidson 2006). I de seneste år er marinader tilsat proteaseholdige ingredienser blevet udbredt. Proteaser i ingefær(zingibain), ananas(bromelain), papaja (papain) og figer(ficin) har en positiv effekt på tekturen af kødet. Marinerings med denne type af ingredienser kan i nogle tilfælde, fx ved brug af zingibain, give en utiltalende farve og konsistens af kødets overflade (Varnam & Sutherland 1995; Sullivan & Calkins 2010).

3.3 Marinerings i mælkeprodukter – recepter

Danmark og vesten har en gammel tradition for at bruge mælk som marinadeingrediens eller til afvaskning af vildtkød inden tilberedning (Jensen 1901). ”Marinaden” bliver primært brugt til at fjerne den dårlige smag fra fordærvt kød. Buhl (2010) har haft adgang til gamle skrifter og kogebøger, som beretter, at to dage i syrnet mælk får kødet til smage dejligt igen, selvom det er fordærvt.

Nordmændene bruger en mælke-type, som ligner kærnemælk, kaldet kulturmælk under tilberedningen af surstek (sursteg). Her marineres okseinderlår i kulturmælk i 6-7 dage på køl. Kødet siges at blive særdeles mørt og få en let syrlig smag, der anses for delikat som kontrast til den fyldige oksesmag (Heggenhougen et al. 1984; Brimi & Kaspersen 2009).

Lopez-Alt (2010) har for Cook’s Illustrated udviklet den ”perfekte” marinerings i kærnemælk. Her marineres kyllingen for at opnå smagfuldt og mere mørt kød. Kærnemælken saltes for at opnå en



saltkoncentration som i en normal saltlage. Kyllingen marineres ved overflademarinerings i 1-8 timer.

I Indien og Mellemøsten er marinerings i yoghurt også en tradition. De mest kendte retter er Chicken Tikka Masala, Tandoori Chicken og marineret, stegt lam (Ainley 2005; Mehta 1999). Af recepterne fremgår det, at marinadeblandingen er sammensat af yoghurt, frisk revet ingefær, salt, frisk revet hvidløg, citronsaft, rød chili og en krydderblanding (Ainley 2005; Mehta 1999). Kødet overflademarineres på køl i fra 20 min til 3 dage (Ainley 2005; Blumenthal 2007).

4. Mælk – aktive komponenter og effekter

Mælk er en dispersion og består af en vandig plasmafase, hvori de proteinrige kaseinmiceller, ionerne af de ubundne salte og de vandopløselige vitaminer findes. Lipidfasen består af lipidkugler, hvori hovedandelen af mælkens lipider og de fedtopløselige vitaminer findes. Tabel 1 (næste side) viser indholdet af næringsstoffer og de vigtigste mineraler og vitaminer.

Lipidkuglerne har en diameter på 1-10 µm og klister sammen ved henstand. Denne proces forsinkes ved homogenisering af mælken. Diameteren af lipidkugler efter homogenisering er under 1 µm. Homogenisering er en standardmetode, som bruges på al konventionel mælk (Tamime & Robinson 1999).

Serum betegner mælken fraregnet lipidfase og kaseinmicellerne. Mælkens karakteristiske sammensætning giver den hvide farve og en specielle mundfølelse. Mælkens pH-værdi er ca. 6,7 ved stuetemperatur. Generelt har mælk, ligesom kød, en god bufferevne, hvor adskillige af mælkens komponenter bidrager til denne effekt. De bedst kendte er opløst fosfat, CCP (kolloid calcium fosfat), citrat, bikarbonat og kasein. Viskositeten er lav, cirka to gange vands (Welstra *et al.* 2006; Fox 1997).



Tabel 1. Næringsfordelingen i standardiseret, konventionel sødmælk 3,5 % (mod.e. Foodcomp 2010 a)

Sødmælk 3,5 %		pr.100g	(pH 6,7)	
Energi	269	kJ		
Protein	3,4	g	(total-N 0,5g)	
Fedt	3,5	g		
Kulhydrat	4,8	g	(100 % laktose)	
Aske	0,8	g		
Vand	87,8	g		
Citronsyre	0,18	g		
Natrium	45,4	mg		
Kalium	144	mg		
Calcium	116	mg		
Magnesium	11,1	mg		
Fosfor	93	mg		
Jern	0,04	mg		
Kobber	0,01	mg		
Zink	0,419	mg		
A-vitamin	30,5	RE	(Retinol+ β -caroten)	
D-vitamin	100	μ g		
C-vitamin	1,2	mg	(Ascorbinsyre)	
Thiamin(B1)	0,042	mg		
Riboflavin(B2)	0,172	mg		
B6-vitamin	0,047	mg		
Pantotensyre	0,34	mg		



Tabel 2 Estimeret indhold af de vigtigste mineraler i serum, opdelt efter ladning (Welstra et al.2006).

Estimated Average Composition of Milk Serum, i.e., the Salt Solution of Milk, including the Other Dissolved Substances

Cations					Anions					Neutral	
Ion	<i>m</i>	<i>mz</i>	<i>mz</i> ²	<i>a</i>	Ion	<i>m</i>	<i>mz</i>	<i>mz</i> ²	<i>a</i>	Molecule	<i>m</i>
K ⁺	36.3	36.3	36.3	29	Cl ⁻	30.9	30.9	30.9	25.0	KCl	0.7
Na ⁺	20.9	20.9	20.9	17	SO ₄ ²⁻	1.0	1.9	3.8	0.4	NaCl	0.4
Ca ²⁺	2.0	4.0	8.0	0.84	KSO ₄	0.1	0.1	0.1	0.1	CaSO ₄	0.1
CaCl ⁺	0.3	0.3	0.3	0.2	Citrate ³⁻	0.3	0.8	2.3	-	CaHPO ₄	0.6
CaH ₂ PO ₄ ⁺	0.1	0.1	0.1	0.1	H Citrate ²⁻	-	0.1	0.2	-	MgHPO ₄	0.3
Mg ²⁺	0.8	1.6	3.2	0.34	Ca Citrate ⁻	7.0	7.0	7.0	5.6	KH ₂ PO ₄	0.2
MgCl ⁺	0.1	0.1	0.1	0.1	Mg Citrate ⁻	2.0	2.0	2.0	1.6	NaH ₂ PO ₄	0.1
RNH ₃ ⁺	0.7	0.7	0.7	0.6	RCOO ⁻	3.0	3.0	3.0	2.4	CaROPO ₃	0.2
H ⁺				2·10 ⁻⁴	HPO ₄ ²⁻	2.6	5.3	10.6	1.1	MgROPO ₃	0.1
					H ₂ PO ₄ ⁻	7.5	7.5	7.5	6.1	CO ₂	0.2
					KHPO ₄	0.5	0.5	0.5	0.4	H ₂ CO ₃	0.1
					NaHPO ₄	0.4	0.4	0.4	0.3	Lactose	147
					ROPO ₃ ²⁻	1.6	3.2	6.4	0.7	Urea	5
					HROPO ₃	0.5	0.5	0.5	0.4	Other	4
					KROPO ₃	0.1	0.1	0.1	0.1		
					NaROPO ₃	0.1	0.1	0.1	0.1		
					HCO ₃ ⁻	0.5	0.5	0.5	0.4		
Total	61.2	64.0	69.6		Total	58.1	63.9	75.9		Total	159

Note: pH = 6.7; *m* = concentration in mmol/l solution; *z* = valency; *a* = free-ion activity; -- <0.05.

To convert the composition to millimoles per kg of milk, multiply by 0.904; to convert to millimoles per kg water in milk, multiply by 1.045.

Tabel 2 viser indholdet af ioner i serum, disse er ikke bundet til hverken fedtkuglerne eller kaseinmicellerne og de er derfor tilgængelige i forhold til kødet under marineringen i mælk. De fermenterede mælkeprodukter indeholder ligeledes disse salte, men under syrningen ændres pH og derved opløseligheden af saltene. Tabel 2 gælder derfor ikke de syrnede mælkeprodukter (Welstra et al.2006; Tamime & Robinson 1999).



4.1 Mælkens salte

Mælk er, som tidligere nævnt, rig på salte, ikke alle saltene er dog lige opløselige. Størstedelen af natrium og kalium i mælken er bundet som modion til bl.a. fosfat på kaseinmicellernes overflade, den tilgængelige koncentration af saltene findes i tabel 2 (Welstra et al. 2006).

Kød indeholder i fedtfri tilstand helt op til 76 % vand (Wismer-Pedersen 1988; Offer et al. 1989). Det betyder, at vand er en yderst vigtig komponent i kødet, når det kommer til tekstur og spisekvalitet. Jo mere vand, desto saftigere kød. På grund af myofibrillernes tredimensionelle struktur er de særligt egnede til at binde vand. Vandet er hovedsagelig bundet i den myofibrillære struktur i muskelfiberen, dvs. ”i myofibrillerne”(ca.85 % af vandet) og ”mellem myofibrillerne og cellemembranen (sarcolemma)”, ”mellem muskelfibrene” og ”mellem bundterne af muskelfibre” (Offer et al.1989; Huff-Lonergan & Lonergan 2005). Vand forefindes henholdsvis bundet, frit og immobil. Bundet vand udgør en meget lille del af det samlede vandindhold. Vandmolekylerne er stærkt bundet til ladede sidegrupper på proteinerne som følge af elektrostatiske tiltrækning. Immobil vand er ikke fast bundet, men holdes på plads af den steriske effekt og elektrostatiske tiltrækning til de bundne vandmolekyler. I alt udgør bundet og immobil vand cirka 15-20 % af den samlede mængde vand. Dette vand kan fjernes primært ved opvarmning, hvorimod frit vand også kan frigøres under processer, fx udskæring og hakning (Huff-Lonergan & Lonergan 2005).

Tendensen til at binde ”frit” vand i det intrafibrillære rum kaldes for vandbindingsevnen (VBE) og har stor betydning for saftigheden i det tilberedte kød. Begrebet dækker den del af vandet i kødet som er frit dvs. findes mellem myofilamenterne og som kan frigives mekanisk ved fx hakning. Kloridioner, som også findes i mælkeprodukter, øger den elektrostatiske frastødning mellem filamenterne, hvorved det intrafibrillære rum mellem de tykke og tynde filamenter øges. Dette fører til en øget VBE (Wismer-Pedersen 1988). Af denne grund påvirkes VBE af faktorer, som indvirker på rumfanget af det intrafibrillære rum (Wismer-Pedersen 1988; Offer et al.1989; Lawrie 1991; Huff-Lonergan & Lonergan 2005; Alvarado & McKee 2007).

Salte virker samtidig smagsfremhævende, selv i mindre mængder. Dette gælder både kloridsalte indeholdende natrium, kalium, calcium og fosfor (Alvarado & McKee 2007). Saltene øger samtidig opløseligheden af de myofibrillære proteiner, hvilket ændrer tekturen positivt (Ouali 1990).



4.1.1 Fosfat

Størstedelen af fosfatsaltene i mælk er bundet i kaseinmicellerne. Fosfatsaltene varierer i deres opløselighed alt efter pH, og andelen af dissocierede salte vil af denne grund være forskellig alt efter typen af mælkeprodukt. Indholdet af dissocieret fosfat i serum ses i tabel 2.

Fosfater menes at have næsten samme effekt som kloridioner i kød. De ændrer pH, ionstyrken og faciliterer derved en ladningsforskydelse i det intrafibrillære rum og skaber en gitterstruktur med de uopløste proteiner og fosfat (Varnam & Sutherland 1995). Denne struktur giver øget binding af vand, som holdes bundet, selv under tilberedning. Flere studier viser, at dette giver mere saftigt kød og mindsker stegesvindet (Xiong & Kupski, 1999, Smith & Young 2007). Et af studierne er lavet af Smith og Young (2007), som har testet effekten af fosfat på kyllingebrystfileter. Fileterne blev marineret ved tumbling ved forskellig tryk (50kPa, 101 kPa og 204kPa). Der blev tilført 15 % (v/v) marinade bestående af 91 % vand, 6 % NaCl og 4 % natriumfosfat. Kontrolprøven blev marineret i 94 % vand og 6 % NaCl. Det blev konkluderet, at tumbling med vakuum ikke har signifikant positiv effekt sammenlignet med tumbling ved normaltryk. Derudover påviste Smith og Young (2007), at marineret med fosfat mindsker stegesvind og øger vægten efter tilberedning.

I et andet studie af Lyon *et al.* (2005) er der testet marinader med kombinationer af 6 % NaCl, 1-2 % fosfat og 1-2 % citronsyre, på effekten på kyllingebrystfilet. 26 smagsdeskriptorer og tekturen blev bedømt af et panel bestående af 9 trænedede eksperter. Brystfileter af kylling blev tumblet med 10 % (batchvægt) marinade ved 15mmHg (2 kPa) og 2°C, i 20min. Kontrolprøver blev marineret i 6 % NaCl opløsning. Efter marineret blev prøverne frosset i 3 uger og herefter tilberedt ved 177°C til en centrumstemperatur på 80°C. Lyon *et al.* (2005) konkluderede, at kød marineret med 2 % citronsyre, 2 % fosfat og 6 % NaCl scorede højest i smagsdeskriptoren ”eddike”. Smagen af prøverne marineret i 1 og 2 % citronsyre og 6 % NaCl blev beskrevet som ”metallisk” og ”sur”. Fosfat menes derfor at forandre smagsindtrykket af syre og fjerne bitre og astringerende smag. Prøverne marineret med fosfat havde de dårligste teksturbedømmelser (mindre saftig og trævlet struktur), dog pointerer Lyon *et al.* (2005) at denne effekt kan stamme fra kombinationen mellem citronsyre, fosfat og effekten på pH.



4.1.2 Aminosyrer

L-Glutaminsyre er en ikke-essentiell aminosyre, som findes i et utal af fødevarer, herunder mælk og kød. Når aminosyren findes frit i produktet, er den bedre kendt som umami, eller den femte grundsmag. L-glutaminsyre (i form af glutamat) har en smagsfremhævende effekt, når den tilsættes fødevarer og kan derfor ændre smagsudtrykket ved en ret eller ingrediens (Skurray & Pucar 1988; Bellisle 1999; Halpern 2000). Pasteuriseret mælk har et indhold af fri L-glutaminsyre på mellem 2-15mg/100g, mens yoghurt indeholder 5-7mg/100g (Tamime & Robinson 1999). Det er ikke nok til, at mælk kan klassificeres som værende rig på umami. Til sammenligning indeholder valnødder 658mg/100g (Skurray & Pucar 1988; Bellisle 1999; Halpern 2000).

Arginin er en anden aminosyre, som findes i mælk (Welstra et al 2006). Indholdet af arginin i mælk er ca. 0,16-0,96 mg/100g og 0,70-1,39 mg/100g i yoghurt. Indholdet af frie aminosyrer påvirkes dels af lagringstiden, jo ældre produkt, desto flere frie aminosyrer, men også af mikroorganismene brugt under produktionen (fermenterede produkter), samt indholdet af mælkesyre; jo højere indhold af mælkesyre, desto højere indhold af frie aminosyrer. Det totale indhold af frie aminosyrer i mælk er 3,29-10,31mg/100g og i yoghurt 18,77-33,06mg/100g (Tamime & Robinson 1999).

Miyaka og Tanaka (1971) har testet effekten af de basiske aminosyrer lysin, arginin og histidin, ved marinering af henholdsvis oksefilet, fersk skinke, fersk rødt hvalkød, saltet hvalkød og rensede blæksprutte. Kødet blev indsmurt i pulver indeholdende henholdsvis 1 % arginin, lysin, histidin, histidin-hydroklorid og arginin-glutamat. Alle behandlinger havde en tydelig effekt på kødets mørhed efter 3 timers marinering. Kødprøverne behandlet med arginin og lysin havde efter tilberedningen en lidt lysere farve og øget mørhed i forhold til kontrolprøven og de andre behandlinger. Der blev derudover udført fortyndingstest med arginin på oksefilet. Der blev her fundet en positiv effekt på mørhed og mindsket svind ved overflademarinering i en 2 % argininopløsning i 30 min, samt yderligere effekt ved højere koncentrationer (5 og 10 %) og længere behandlingstid (60 og 120min). Miyaka og Tanaka (1971) konkluderer, at indsmøring er mest praktisk primært på grund af en risiko for bakterievækst i argininopløsningerne ved gentagen brug. Et smagspanel fandt, at der var positiv effekt på smagen ved brug af arginin, i kombination



med tilberedningsmetoden ”stegning”, sammenlignet med metoden ”kogning”. Der blev ikke fundet smagsforskelle mellem de andre behandlinger og kontrolprøven.

4.1.3 Calcium

Calcium er et af de vigtigste mineraler i mælk. Mælk er principielt en mættet opløsning af calciumsalte, men mineralet findes i mindre grad på ionform som Ca^{2+} -ionen i serum og som calciumcitrat eller i kaseinmiceller som calciumfosfat. Calciumfosfat er tungtopløseligt og derfor er andelen af ioniseret calciumfosfat relativt lille. Kaseinmicellerne består af en kerne af protein, vand og uopløste salte, heriblandt det kolloidale calciumfosfat, hvilket muliggør en høj nettokoncentration af calcium uden en udfældning af calciumfosfat. Proteinet kasein udgør en stor del af micellerne og findes som kaseinat med en negativt ladet overflade og binder derfor kationerne natrium, calcium og kalium. Ca. 10 % af kaseinmicellerne findes opløst i serum. Når mælken fermenteres under produktionen af yoghurt, falder pH til 4,3-3,8 og kaseinmicellerne udfælder. Dette gør mælken mere viskøs, og ændrer den aktuelle koncentration af calcium i serum (Welstra et al. 2006).

Strukturen af muskel- og bindevævet i kød er ikke uforanderlig og i kød er calcium særdeles vigtig i forhold til strukturen. *Post-mortem* begynder endogene enzymer en proteolytisk nedbrydning af de myofibrillære proteiner. Calpainsystemet spiller en central rolle i denne nedbrydning. Systemet består af de endogene proteaser m-calpain og μ -calpain, samt muligvis calpain 3, hvoraf μ -calpain menes at være ansvarlig for den primære proteaseeffekt *post-mortem* (Goll et al. 1992; Ilian et al. 2004; Koohmaraie & Geesink 2006; Veiseth-Kent et al. 2010). Calpain 3 menes først at blive aktiveret ved høje calciumkoncentrationer, men den præcise koncentration og virkning er endnu ikke kortlagt (Goll et al. 1992; Ilian et al. 2004). Calpain aktiveres af Ca^{2+} i sarcoplasma og fungerer optimalt ved pH 6,0-7,5. Calpain inducerer en nedbrydning af bl.a. tropomyosin, titin, desmin. Heraf følgende en svækkelse af Z-skiverne og I-båndet. Derved opnås en fragmentering af de myofibrillære proteiner (Koohmaraie 1992; Goll et al. 1992; Koohmaraie 1994; Koohmaraie & Geesink 2006). De to mest undersøgte calpainer aktiveres ved henholdsvis 5-70 μM Ca^{2+} (μ -calpain) og 100-2000 μM Ca^{2+} for (m-calpains) (Goll et al. 1992).



Flere studier viser, at marinering med CaCl_2 kan forbedre spisekvaliteten ved at øge mørheden og i nogle tilfælde øge saftigheden (Whipple & Koohmaraie 1993; Miller et al. 1995 ; Aktas & Kaya 2001; Kanimozhi & Mendiratta 2002; Lawrence et al. 2003; Ostojca & Cierach 2003; Perez-Chabela et al. 2005). Ca^{2+} aktiverer de førnævnte proteaser μ -calpain, m-calpain og derudover calpastatin – en naturlig inhibitor som aktiveres ved høje Ca^{2+} -koncentrationer. Inaktiveringen af calpain skyldes, førnævnte calpastatin, et endogent enzym og naturlig inhibitor, som inaktiverer calpainsystemet når calciumkoncentrationen bliver for høj (Koohmaraie 1992; Perez-Chabela et al. 2005). Kødets temperatur og pH-værdi er af central betydning for inaktiveringen af calpain via calpastatin. Ved 25°C og pH 7,5 er inhiberingen 87 %, mens den ved 5°C og pH 5,7 falder til 6 % (Koohmaraie 1992). Ved marinering med opløsninger indeholdende Ca^{2+} accelereres den proteolytiske nedbrydning, idet calpainerne, som tidligere nævnt, aktiveres, førende til en svækkelse af strukturen og øget mørhed (Perez-Chabela et al. 2005; Ilian et al. 2004).

En anden og mindre udbredt calciumteori beror på ændringen af det osmotiske tryk i kødet *post rigor*. Når det osmotiske tryk øges, forårsager det en øget opløselighed af de myofibrillære proteiner (Ouali 1990; Varnam & Sutherland 1995). Calciumionerne i mælken vil, set ud fra denne teori, sandsynligvis bidrage til en yderligere forøgelse af ionstyrken i kødet. Dette fører til en øget opløselighed af myofibrillære proteiner og derved en potentielt positiv ændring af kødstrukturen, altså mørheden.

Aktas og Kaya (2001) har testet effekten af marinering af kød i CaCl_2 , NaCl og mælkesyre. De fandt ved overflademarinering af *Longissimus dorsi* fra okse (total kollagen 3,4 %) i 24 timer, at 0,15 M CaCl_2 gav det bedste resultat (smag, saftighed, mørhed og helhedsindtryk) bedømt af et sensorisk panel bestående af fem dommere. Marineringen forårsagede en lysere kødoverflade (høj Hunter farve L^* -værdi) og havde en positiv effekt på både smag, mørhed, saftighed og aroma. Sammenlignet med marinering i NaCl , havde prøverne marineret med CaCl_2 en dårligere vandbindingsevne.

Zochowska-Kujawska et al (2010) har ved marinering af *Biceps femoris* (BF, yderlår) og *Semimembranosus* (SM, inderlår) fra indfangende vildsvin med henholdsvis 100 % kefir og 0,3M calciumklorid 48 timer post-mortem lagret i ca. 5 dage. Der blev ved marinering med calciumklorid



fundet en nedbrydning af endomysium og perimysium på 7-9 %, i forhold til kefir 1-7 % kontrol (kun modning) 1-3 %. Hårdheden af kødet faldt med 42-44 % (CaCl_2) og 35-49 % (kefir) i forhold til kontrollen. Effekten af CaCl_2 menes at bero på en øget proteolytisk aktivitet af calpainproteaserne forårsaget af calcium. Kefirmarineren menes, at involvere flere mekanismer: svækkelse af fiberstrukturen og som følge en forøgelse af det myofibrillære rum, højnet proteolytisk aktivitet pga. aktivering af cathepsin ved sænkningen af pH og øget omdannelse af kollagen til gelatine under tilberedning. Et trænet ekspertpanel fandt derudover, at kød behandlet med kefirmarinaden var specielt saftigt og det sensoriske helhedsindtryk meget positivt sammenlignet med kød marineret med bromelin (enzym fra ananas) og rødvin.

Resultaterne i et forsøg af Kanimozhi og Mendiratta (2002) var signifikante, ved overflademarineren af hønsekød (bryst- og lårkød), i en blanding af 0,5 % (v/v) mælkesyre og 0,3M CaCl_2 i 24 timer. De pågældende koncentrationer havde en positiv effekt på mørhed. Tumbling under marineren med marinaden øgede effekten af marineren.

Flere studier har vist, at der ved længerevarende (> 48 timer) marineren eller høj koncentration af CaCl_2 (> 0,3M) kan udvikles en let bitter, sur, lever- eller løgagtig og metallisk smag, samt en nedsat aktivitet af mørningsenzymer (Lawrence *et al.* 2003; Perez-Chabela *et al.* 2005).

4.3 Laktose

Mælk indeholder ca. 4g kulhydrat pr. 100g, hvoraf næsten 100 % udgøres af laktose (Foodcomp 2010 a; Fox 1997). Laktose er et disakkarid sammensat af galaktose og glukose (Fox 1997). Sukkerstoffet bruges under forædlingen af kød og oftest som substrat for en starterkultur. Laktose tilsættes derudover for at kamouflere bismage fra fx tilsatte fosfater og bitterstoffer, samt til kontrolleret brunning via maillard-reaktioner og som smags- og aromabære (Fox 1997). Der er endnu ikke lavet forskning som påviser en egentlig effekt af laktose ved marineren af kød. Laktose kan dog tænkes at ændre det osmotiske tryk og derved skabe strukturændringer i kødet.



5. Fermenterede mælkeprodukter – aktive komponenter og effekten på kød.

Når mælken fermenteres under produktionen af fermenterede mælkeprodukter, også kaldet syrnede produkter, fx yoghurt, omdannes mælkenes laktose til organiske syrer, primært mælkesyre. pH sænkes og øger derved opløseligheden af det kolloidale calciumfosfat og dannelsen af en proteinmatrix. Dette medfører en udfældning af kaseinmicellerne ved pH 4,7-4,6 og viskositeten forøges. (Welstra et al. 2006; Fox 1997; Tamime & Robinson 1999). Ændringen i pH, giver også en ændring i opløsningens ionstyrke. Dette betyder at koncentrationen af Ca^{2+} potentielt kan øges da opløseligheden af CaCl_2 øges ved sænkning af pH (Fox 1997). Af denne grund gælder koncentrationerne fra tabel 2 ikke for syrnede mælkeprodukter. Tabel 3 viser sammensætningen af konventionel standardiseret yoghurt 3,5 %.

Tabel 3. Næringsfordelingen i standardiseret, konventionel yoghurt naturel 3,5 % (mod.e. Foodcomp 2010 b; Belitz et al. 2004)

Yoghurt naturel 3,5 %	Indhold	pr. 100 g	(pH 4,3-3,8)	
Energi	262	kJ		
Protein	3,8	g	(total-N 0,5g)	
Fedt	3,6	g		
Kulhydrat	3,8	g	(100 % laktose)	
Aske	0,8	g		
Vand	87,9	g		
Natrium	46,6	mg		
Kalium	146	mg		
Calcium	136	mg		
Magnesium	11,7	mg		
Fosfor	99	mg		
Jern	0,058	mg		
Kobber	0,01	mg		
Zink	0,469	mg		
A-vitamin	29,8	RE	(Retinol+ β caroten)	
D-vitamin	0,101	μg		
C-vitamin	0,2	mg	(Ascorbinsyre)	
Thiamin(B1)	0,042	mg		



Riboflavin(B2)	0,175	mg		
B6-vitamin	0,038	mg		
Pantothensyre	0,31	mg		
Mælkesyre	1,08	g		
Citronsyre	NA			
Eddikesyre	NA			

5.1 Mælkens syre

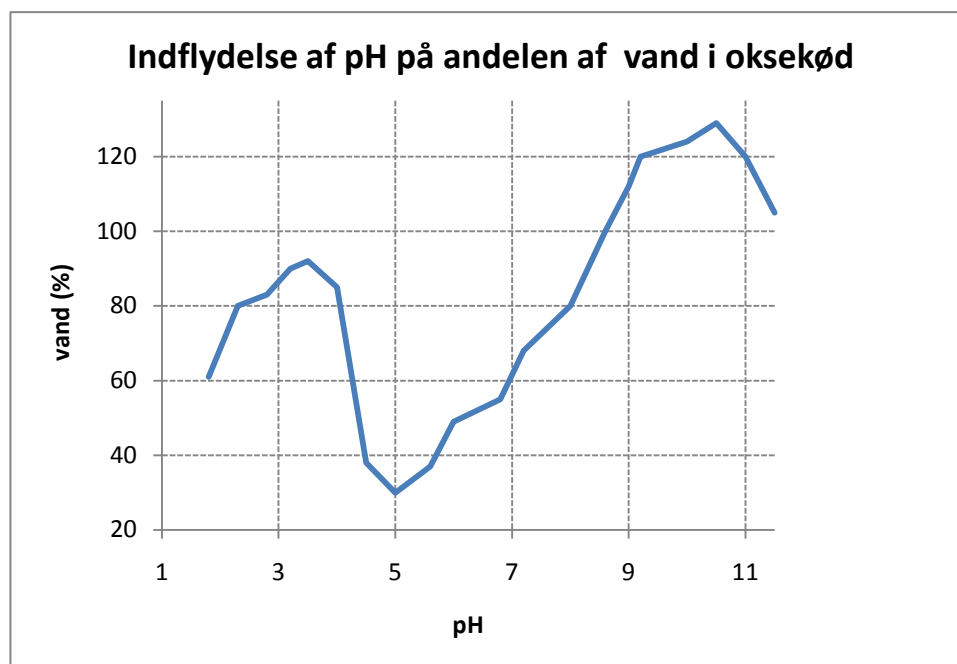
Fermenterede mælkeprodukter indeholder forskellige organiske syrer, men hovedsagligt mælkesyre. Alt efter syrningsgraden har produkterne varierende pH-værdi. Tabel 4 viser pH-værdien i de mest anvendte syrnede mælkeprodukter til marinering.

Tabel 4 pH-værdier i Arla mælkeprodukter anvendt til marinering (Hovmann 2010, personlig kommunikation)

<u>Produkt</u>	<u>pH</u>
Mælk	6,7
Kærnemælk	4,5-4,2
Yoghurt, naturel	4,3-3,8

Syren i mælkeprodukterne giver et medie med samme pH-værdi som let sure frugtjuicer, sennep og vin. Kærnemælk indeholder ca. 0,86 % (v/v) mælkesyre, yoghurt indeholder ca. 1,08 % og kefir ca. 0,5-1 % mælkesyre (Belitz et al.2004).

pH-værdien i kød er af central betydning for kødets vandbindingsevne (VBE) og derved saftigheden. Når pH i kødet kommer under proteinernes isoelektriske punkt (IEP) forskydes nettoladningen mellem aktin- og myosinfilamenterne, og strukturen i myofibrillerne ændres. Ved pH omkring IEP (pH 5,0) er kødets VBE mindst, da tiltrækningen mellem myofilamenterne er størst. Af figur 2 (herunder) ses det, at når pH i kødet falder til under IEP, vil VBE igen stige.



Figur 2 Indflydelse af pH på andelen af vand i oksekød (mod.e. Lawrie 1991).

Lawrie skriver, at kombinationen mellem sur pH og salte (fx NaCl) forskyder kurven på figur 2, således at minimum forskydes til en lavere pH-værdi. Ligesom også andelen af kollagen gør en forskel. Kollagen og derved hovedbestanddelen af bindevævet svulmer op ved pH-værdier under ca.5,6. Dette er af central betydning for syremarinerering af udskæringer med højt indhold af bindevæv (Wismer-Pedersen 1988; Lawrie 1991; Chang et al.2010).

Bindevævet konsistens afhænger delvist af pH. Når pH falder aktiveres cathepsinerne, en gruppe af endogene proteaser som nedbryder kollagen og de myofibrillære proteiner. Cathepsinerne er aktive ved et lavere pH (3,0-6,0) end calpain (pH 6,5-7,5). De bliver derfor først aktiveret efter pH er faldet i kødet (fx under marinerering). Cathepsin frigives fra lysosomerne og er ansvarlig for nedbrydning myosin, titin og i mindre grad kollagen. Tabel 5 viser substraterne og den optimale pH-værdi for henholdsvis cathepsinerne og calpainerne (Calkins & Seideman 1988; Koohmaraie 1992).



Tabel 5 Endopeptidaser involveret i modningsprocesserne (mod.e. fra Belitz et al. 2004)

Kilde:	Enzym:	Aktiv ved pH:	Hydrolyserer:	Aktiveres af:
Sarcoplasma	Calpainer	6,5-7,5	Proteiner i z-skiven (tropomyosin, desmin, titin)	Calciumioner
	Herunder:			
	(μ -calpain)	-	-	(5-70 μ M)
	(m-calpain)	-	-	(100-2000 μ M)
Lysosomer	Cathepsiner	3,0-6,0	Kollagen, myosin, titin	Lavt pH

Marinering i sure opløsninger giver ofte for sur smag og kan derfor kun benyttes i begrænset omfang, da det er vigtigt at denne bismag enten kamufleres eller direkte bidrager til smagsprofilen i det endelige produkt (Varnam & Sutherland 1995)

Serdaroglu et al.(2007) har undersøgt effekten af marinering med forskellige koncentrationer (0,05M (C1), 0,1 (C2) og 0,2M (C3)) af citronsyre på fersk udbenet kalkunbryst(skiver af 1,5cm tykkelse). Brystkødet blev overflademarineret med ratio 1:1 af marinade/kød og ved 4°C i 24 timer. pH blev målt i marinaden og i kødet før og efter marinering. pH i marinaderne var 3,8-2,6 (6,9 i kontrol, destilleret vand). Kødets pH-værdi inden marinering var ens for alle prøver 6,0. Efter marinering var denne faldet til 5,2 (C1), 4,9 (C2) og 3,9 (C3). Vandindholdet blev sammenlignet med kontrolprøven. Alle prøver havde et højere vandindhold på nær C1(0,05M). Studiet pointerer, at ved marinering af kød i citronsyre, opnås en pH-værdi under 5, kødet optager mere vand og opnår et større vandindhold efter tilberedning samt bliver mere saftigt (Serdaroglu et al 2007).

Önenç et al.(2004) finder modsatte effekt af citronsyre i deres studie. Her marineres *Longissimus dorsi* fra ungtyre (Holstein Friesian) i en opløsning af 0,5 % citronsyre. De fandt at marineringen i citronsyre øgede kødets mørhed, men førte til utiltalende farve og øget stegesvind.



Chang et al. (2010) marinerede oksekød, *Semitendinosus*, i henholdsvis 1,5 % mælkesyre, eddikesyre, citronsyre og 2 % NaCl, samt kombinationer heraf. Alle prøver blev overflademarineret i 24 timer. Chang et al. fandt, i prøverne marineret med kombinationen af 1,5 % mælkesyre og 2 % NaCl, en øget nedbrydning af endomysium og perimysium, med lysmikroskopi og ved analyse af det opløste kollagen under tilberedning.

Som tidligere omtalt, har Aktas og Kaya (2001) undersøgt overflademarineret af *Longissimus dorsi* (fra okse) i 24 timer, i 1,5 % mælkesyre mindskede stegesvindet til 20,3 %, kontra kontrollen på 30,8 % (uden mælkesyre). Dette menes forårsaget af proteinernes forbedrede vandbindingsevne når kødets pH kommer under IEP.

5.2 Enzymer og starterkulturer i fermenterede mælkeprodukter

Mælk indeholder en række forskellige enzymer, men under pasteuriseringen opvarmes mælken til 72-75°C i 15-30 sekunder og dette denaturerer hovedandelen af disse enzymer (Tamime & Robinson 1999; Belitz et al. 2004; Adams & Moss 2008). Af denne grund udelades beskrivelsen af den potentielle effekt af disse.

Til fermentering af mælkeprodukter bruges forskellige starterkulturer alt efter de ønskede karakteristika for det endelige produkt. Afhængig af bacteria species dannes forskellige biprodukter simultant med produktion af bl.a. mælkesyre. Codex Alimentarius (FAO/WHO) skriver, at de homofermentative *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bruges til at syrne mælken med ved produktionen af klassisk yoghurt (Tamime & Robinson 1999, Codex Alimentarius 2003). Mikroorganismene indeholder en række forskellige enzymer, hvoraf nogle har proteolytisk effekt. Både *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* menes at indeholde forskellige peptidaser og exopeptidaser, som nedbryder polypeptider til aminosyrer og spalter nær enden på peptidkæden (Tamime & Robinson 1999; Adams & Moss 2008). Exopeptidaser inddeles efter deres substrat og specificitet; således findes fx metallo-carboxypeptidaser, peptidyl-dipeptidaser og omegapeptidaser. Til produktion af kefir



anvendes både gær og mælkesyrebakterier, fx *Candida kefir* eller *Saccharomyces exiguus* og den homofermentative *Lactobacillus kefir* (Adams & Moss 2008).

Kærnemælk fremstilles på basis af mælk syrnede med *Lactococcus lactis* (homofermentativ) og *Leuconostoc mesenteroides* (heterofermentativ). Sidstnævnte betegnes som en smagsgivende bakterie, da dens produktion af diacetyl giver kærnemælken den karakteristiske smørsmag (Fox 1997; Adams & Moss 2008).

Efter endt syring falder antallet af mikroorganismene ved naturlig inhibering, og der vil derfor i varierende udstrækning eksistere levende organismer i det syrnede mælkeprodukt. Dog mindskes populationen med tiden under lagring da laktoseindholdet, og derved substratet, i samme grad formindskes. Starterkulturerne er alle mesofile eller termofile, dvs. med en optimal væksttemperatur $>15^{\circ}\text{C}$ (Adam & Moss 2008).

Sullivan og Calkins (2010) har testet en række exogene enzymer og deres indflydelse på spisekvaliteten. Her testede de proteaser fra *Bacillus subtilis* (en kendt fordærver i autoklaverede fødevarer) og *Aspergillus oryzae* (også kendt under betegnelsen NS, primært benyttet til fermentering af sojabønner) på to muskler af okse, *Triceps brachii* (TRB) og *Supraspinatus* (SUP). Steaks af de to muskler blev marineret ved injektion af henholdsvis 17,8 PPM *Aspergillus oryzae* protease koncentrat, 21,1 PPM *Aspergillus oryzae* protease, og 8,8 PPM *Bacillus subtilis* protease. Kødet indfrosset 4 timer efter injektion. Efter optøning og tilberedning bedømte et trænet panel kødet på en række sensoriske deskriptorer, herunder mørhed, saftighed, bindevæv og bismag. Panelet fandt en positiv effekt på mørhed (specielt *Aspergillus* ($P < 0,0115$)) og også på bindevævsindholdet. Prøver af TRB viste sig mere møre end SUP efter marineret. Prøver af TRB behandlet med *Bacillus*-protease blev bedømt som mindre saftige end kontrolprøven, herudover blev der ikke fundet forskel på kontrol og marinerede prøver af SUP. Der blev ikke fundet signifikant forskel i bismag mellem kontrol og marinerede prøver.

To andre studier fandt ligeledes en positiv effekt af NS på både mørhed, i form af en øget nedbrydning af de myofibrillære proteiner og specielt en nedbrydning af Z-linjen, men også på smag og helhedsindtrykket (Diaz et. al 1997; Gerelt et al.2000).



Også *Lactobacillus casei* CRL705 har proteolytiske egenskaber på sarcoplasmatiske- og myofibrillæreproteiner, ved samtidig tilsætning af ascorbinsyre forstærkes denne effekt (Fadda 2001).

Nogle bakterier producerer derudover enzymet kollagenase, et enzym som nedbryder kollagen. Dette er tidligere testet af Foegeding og Larick (1986), med kollagenase fra *Clostridium histolyticum*. Der blev i dette forsøg ikke fundet en direkte effekt, men Foegeding og Larick (1986) henstiller til flere forsøg med kollagenase, da den manglende effekt kan ligge i forsøgsopstillingen og manglende viden om enzymet. Kollagenaseaktiviteten er højest ved 40-60°C, hvilket betyder, at enzymet primært vil have en effekt under tilberedningen af kødet.

Ingen af de beskrevne mikroorganismer i Sullivan og Calkins (2010), Diaz et. al 1997, Gerelt et al.(2000), Fadda (2001), Foegeding og Larick (1986), anvendes normalt i produktionen af syrnede mælkeprodukter (Adam & Moss 2008).



Diskussion

I de foregående afsnit er marinerings af kød i mælkeprodukter og den teoretiske effekt på spisekvaliteten blevet gennemgået. Herunder er belyst marineringsmetoderne, og de forskellige komponenter i mælken herunder calcium, fosfat, laktose og aminosyrer samt de yderligere komponenter i fermenterede mælkeprodukter herunder mælkesyre og enzymer fra starterkulturer.

Effekten af nogle af saltene på kødet som forefindes i mælken serumfase, er testet i forskellige studier. Calciumklorid er et af de veltestede salte i mælken og her ses en tydelig tendens til at kødet opnår en forbedret mørhed (Whipple & Koohmaraie 1993; Miller et al. 1995; Aktas & Kaya 2001; Kanimozhi & Mendiratta 2002; Lawrence et al. 2003; Ostoja & Cierach 2003; Perez-Chabela et al. 2005). Ifølge Welstra et al. 2006 indeholder mælken serum i gennemsnit 0,2mM Ca^{2+} . I henhold til Goll et al. (1992) aktiveres m-calpain ved en koncentration på 0,01-0,2mM Ca^{2+} . m-calpain nedbryder de myofibrillære proteiner og har derved en positiv effekt på mørheden (Goll et al. 1992).

Fosfat findes i mælken på forskellig form jf. tabel 1. Flere studier viser, at marinerings med fosfat giver mere saftigt kød og mindsker stegesvindet (Xiong & Kupski, 1999, Smith & Young 2007). Lyon et al. (2005) har fundet at marinerings (ved tumbling) med en kombination af fosfat, NaCl og citronsyre giver en udpræget bismag af ”eddike”, samt mindsket vandbindingsevne. Forklaringen på den mindskede vandbindingsevne ligger ifølge Lyon et al. (2005) i ændringen i pH, da pH ikke kommer under proteinernes isoelektriske punkt, hvor vandbindingsevnen er mindst jf. Figur 2

Udover salte indeholder mælkeprodukter frie aminosyrer. Effekten ved marinerings af kød med forskellige basiske aminosyrer er testet af Miyaka og Tanaka (1971), som fandt at overflademarinerings med lysin, arginin og histidin gav den mest positive effekt herunder mere mørt kød uden bismag. Kødet blev kun marineret i 3 timer, der er derfor en mulighed for sandsynligvis at opnå samme effekt ved lavere koncentration (som i mælkeprodukter) i længere tid. Indholdet af arginin i mælk er ca. 0,16-0,96mg/100g og 0,70-1,39mg/100g i yoghurt og det totale indhold af frie aminosyrer er i mælk 3,29-10,31mg/100g og i yoghurt 18,77-33,06mg/100g. Dette indhold stiger desto ældre produktet er pga. den proteolytiske nedbrydning af mælken proteiner. (Tamime & Robinson 1999).



Mælkens indhold af glutaminsyre er relativt lavt, men glutaminsyre vil selv i mindre koncentrationer virke smagsfremhævende, når det tilsættes fødevarer. Af denne grund er der potentiale for, at marinerings med mælk og yoghurt kan fremhæve kødsmagen.

Kulhydraterne i mælk består primært af laktose. Der er ikke fundet studier med brug af laktose til marinerings af kød, men Ouali (1990) mener, at en ændring i det osmotiske tryk i kødet kan forårsage en øget opløselighed af de myofibrillære proteiner. Laktose tilsættes ifølge Fox (1997) for at kamuflere bismage samt som smags- og aromabære.

Fermenterede mælkeprodukter herunder yoghurt, kefir og kærnemælk, indeholder udover de ovennævnte mælkekomponenter også mælkesyre og muligvis enzymer af bakteriel oprindelse. De eneste der har testet effekten af marinerings i et mælkeprodukt, er, så vidt vides, Zochowska-Kujawska et. al (2010). Effekten af overflademarinerings med kefir blev testet og der blev konstateret en effekt på mørhed, saftighed og smag. Zochowska-Kujawska et. al (2010) mener, at effekten skyldes proteolytisk aktivitet forårsaget af Ca^{2+} aktivering af calpainproteaserne, samt aktiveringen af cathepsin, som følge af den lave pH-værdi i den syrnede mælkeprodukt. Studiet blev udført på vildtlevende vildsvin slagtet til lejligheden. Zochowska-Kujawska et. al (2010) udførte forsøgene på *Biceps femoris* (BF, yderlår) og *Semimembranosus* (SM, inderlår) marineret i 100 % kefir.

En afgørende effekt for overflademarinerings er marineringsstiden. Der er stor variation i marineringsstiden blandt de gennemgæede studier. Nogle marinerer i få timer, mens andre marinerer i op til 7 dage uafhængig af marineringsmetoden. Der er af denne grund brug for undersøgelser af forskellen på effekten over tid. Det kunne i den forbindelse være interessant at undersøge hastigheden, hvormed marinaden trænger ind til centrum ved brug af mælkeprodukter sammenlignet med andre marinadetyper. *Post-mortem* sker væsketab fra kødet via kanaler med en diameter på 20-50 μm , hvoraf vand trænger ud (Offer & Knight 1988). Det er muligt, at marinaden kan trænge ind via disse kanaler og derved faciliterer en øget disponering af kødet overfor marinaden og derved mælkeproduktets aktive komponenter. Der vil dog teoretisk set være en risiko for en tilstopning af disse kanaler, da mælkens lipidkugler med en diameter på 1-10 μm (<1 μm efter homogenisering) (Tamime & Robinson 1999) har tendens til at klumpe sammen og derved kunne



tilstoppe disse kanaler og forhindre en potentiel indtrængning af marinaden. Det vil her være væsentligt at adskille syrnede produkter og mælk, da yoghurtens viskositet er højere end mælken, og man ikke på samme måde inddeler de syrnede mælkeprodukter i faser. Yoghurt udgør i højere grad en sammenhængende matrix indeholdende mælkenes forskellige komponenter. Yoghurtens høje viskositet gør det praktisk nemt at benytte den til overflademarinering, da den i højere grad vil hænge fast på overfladen også under tilberedning. En hypotese er, at det vil være lettere at bruge mælk til stikmarinering på trods af indholdet af lipidkuglerne. I denne forbindelse vil det være en fordel at benytte homogeniseret mælk (primært konventionel mælk), der indeholder mindre lipidkugler, end uhomogeniseret mælk (størstedelen af økologisk mælk) (Hovmann 2010, personlig kommunikation).

Temperaturen under marinering er betydningsfuld for aktiviteten af enzymerne i både mælk og kød. Koohmaraie (1992) skriver, at calpastatins aktivitet som inhibitor på calpain er yderst temperaturafhængig. Det betyder, at calpastatins aktivitet er særdeles lav ved marinering under køleskabstemperatur (5°C).

Modsat er de bakterielle enzymer i de fermenterede mælkeprodukter mere aktive ved stuetemperatur. Sullivan og Calkins (2010) har testet forskellige proteaser isoleret fra *Bacillus subtilis* (en kendt fordærver i autoklaverede fødevarer) og *Aspergillus oryzae* (også kendt under betegnelsen NS, primært benyttet til fermentering af sojabønner). Proteaserne fra disse er mest aktive ved stuetemperatur og derover. Det betyder, at effekten af disse potentielt vil indtræde under tilberedning (temperaturstigningen i kødet), og den effektive tid vil derfor være tilsvarende kort.

pH-værdien er af central betydning for kødets vandbindingsevne og derved saftigheden. Når pH i kødet sænkes til under det isoelektriske punkt, øges det myofibrillære volumen, hvilket frigiver rum til binding af mere vand. Da cathepsinerne samtidig aktiveres og bidrager til nedbrydningen af kollagen, vil marinering i syrnede mælkeprodukter med lav pH, fx kærnemælk (pH 4,5-4,2) og yoghurt (pH 4,3-3,8), kunne medføre mere mørt og saftigt kød via disse reaktionsveje. Det tyder på, at sænkes pH nok vha. fermenterede mælkeprodukter, kan både bindevævet svækkes og vandbindingsevnen forbedres; sandsynligvis med det udfald at kødet bliver mere mørt og saftigt. Indholdet af mælkesyre i kærnemælk, kefir og yoghurt ligger på henholdsvis 0,86 %, 0,5-1 % og 1,08 % (v/v) mælkesyre (Belitz et al. 2004). De gennemgåede studier viser, at marinering med



mængder omkring 0,5-1,5 % mælkesyre giver den positive effekt (Aktas & Kaya 2001; Kanimozhi & Mendiratta 2002; Chang et al.2010).

Opsummerende kan mælk i sin rene form have en potentiel positiv effekt på spisekvalitetsegenskaberne ved marinerung af kød. Ifølge litteraturen kan mælkebestanddelene muligvis have en effekt via calciums aktivering calpainerne, fosfat- og kloridionernes indvirkning på vandbindingsevnen, de frie aminosyrers mørning af kødet (mekanismen er ikke kortlagt), laktose indflydelse på det osmotiske tryk i kødet, samt glutaminsyres smagsfremhævende effekt.

Alt i alt kan den potentielle effekt af marinerung i syrnede mælkeprodukter fremhæves over marinerung i mælk, da der her muligvis vil opstå en form for synergi effekt af calciumaktiverede calpainer (i mindre grad, pga. den lave pH), pH-sænkning (pga. mælkesyre), mørning via bakterielle proteaser og frie aminosyrer. Alt afhængig af graden af kollagenedbrydning kan marinerung med syrnede mælkeprodukter applikeres kød af mindre god kvalitet og udskæringer med naturligt højt bindevæv.



Konklusion

Der er i denne litterære gennemgang fundet indikationer for at marinering af kød i mælkeprodukter har en positiv effekt på spisekvaliteten. Komponenterne i mælken, herunder calcium, fosfat, klorid, frie aminosyrer og laktose, kan potentielt have en positiv effekt på spisekvalitetssegenskaberne ved at øge mørheden, samt forbedre smagen og vandbindingsevnen. Lignende og yderligere effekt kan potentielt findes ved brug af yoghurt, som derudover indeholder mælkesyre og enzymer af bakteriel oprindelse.



Perspektivering

Marinering med mælkeprodukter har potentiale for at blive en brugbar metode til at forbedre spisekvaliteten af kød, samt præge kødet med nye sensoriske indtryk. Der mangler dog stadig brugbare studier på området. Det vil derfor være relevant at udføre forsøg med marinering i henholdsvis mælk og yoghurt med henblik på deres effekt på forskellige muskler, muskeltyper og indhold af bindevæv. Det kan samtidig anbefales at undersøge effekten af de mindre testede komponenter i mælkeprodukterne, som ikke afdækkes af dette projekt, herunder Mg, K, Na, forskellige aromastoffer, EPS (exopolysakkarid), eventuelle bakteriociner (Jelle 2001) og ikke mindst mælkeprodukter syrnede med heterofermentative starterkulturer og derved en mikset syreprofil. Det kan yderligere være brugbart at undersøge effekten af laktose som smagsbære ved tilsætning af krydderier og andre smagsgivere til marinader baseret på mælkeprodukter.

Der vil herefter være potentiale for yderligere at sige noget om effekten af mælkeprodukter på kød. Det er muligt, at mindre møre udskæringer inden salg kan mørnes ved en simpel marinade baseret på mælkeprodukter og fx salt. Også hjemme hos forbrugerne kan marinering med mælkeprodukter bidrage til en forbedret spiseoplevelse, da mælkeprodukter er lettilgængelige og overflademarinering potentielt er lettest anvendeligt ved tyktflydende marinader baseret på fermenterede mælkeprodukter.

Leder af Karolines Køkken (bl.a. opskriftudvikling og test af nye produkter, Arla Foods), Tove Færch, mener, at der kan være et stort potentiale for et marinadeprodukt baseret på mælk. Det kræver dog, at effekten påvises ved forsøg, så der er belæg for at lave et sådant produkt. Det er også særdeles vigtigt, at der opnås et produkt, som er prismæssigt plausibelt og at der ydes en indsats for markedsføringen. Der findes ikke lignende produkter på markedet, og forbrugeren skal derfor lære et helt nyt produkt og dets muligheder at kende. I Danmark og norden har vi i forvejen en lang tradition for brug af mælkeprodukter i madlavning og der er derfor potentiale for en hurtigere implementering, da forbrugeren har større tillid til basisproduktet. Tove Færch fortæller samtidig, at KK ikke tidligere har arbejdet videre med marinering i mælkeprodukter, primært fordi medarbejderne i KK ikke har stiftet bekendtskab med metoden under deres uddannelser, men også fordi det ikke historisk set ikke er så udbredt i Danmark. Alt i alt er der altså god grund til at arbejde videre med marinering af kød i mælkeprodukter.



Litteraturliste

Adams, M.R. & M.O. Moss (2008): Fermented and microbial foods. *Food Microbiology*, 3rd edition. RSC Publishing, UK, pp. 78, 323-330, 367.

Ainley, S. (2005): India and Middle East. *Around the world in 450 recipes*, Hermes House, London, pp. 182, 188-190, 225.

Aktaş, N. & M. Kaya (2001): The influence of marinating with weak organic acids and salts on the intramuscular connective tissue and sensory properties of beef. *European Food Research and Technology*, Vol. 213, pp. 88-94.

Alvarado, C. & S. McKee (2007): Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. *Journal of Applied Poultry Research*, Vol. 16, pp.113-120.

Belitz, H.-D., W. Grosch & Schieberle (2004): Muscle tissue: Composition and function. *Food Chemistry*, 3rd revised edition. Springer-Verlag, Berlin. pp. 571-576, 579-586.

Bellisle, F. (1999): Glutamate and the Umami taste: Sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, Vol. 23, pp. 423-438.

Blumenthal, H. (2007): Chicken tikka masala – The quest for the best. *Further adventures in search of perfection*. Bloomsbury, London, pp. 98-129.

Brimi, A. & A. Kaspersen (2009): Surstek à la Vest-Agder. *Norsk mat og kultur – en reise i landet vårt*. Norsk fakta forlag, Oslo,

Buhl, B. (2010): Råd om kød – før vi fik køleskab. *Historien om danskernes mad i 15.000 år*. Ministeriet for fødevarer, landbrug og fiskeri, pp. 37.

Calkins, C. R. & S. C. Seideman (1988): Relationship among calcium dependent protease, cathepsins B and H, meat tenderness and the response to muscle aging. *Journal of Animal Science*, Vol. 66, pp. 1186-1193.



Cardello, A.V. & P.M. Wise (2008): Taste, smell and chemesthesis in product experience. *Product Experience*, Elsevier Ltd. pp. 91-121.

Chang, H., Q. Wang, G. Zhou, X. Xu & C. Li (2010): Influence of weak organic acids and sodium marination on characteristics of connective tissue collagen and textural properties of beef semitendinosos muscle. *Journal of Texture Studies*, Vol. 41, pp. 279-301.

Codex Alimentarius (2003): Codex standard for fermented milks. *Codex Standard 243-2003*.
FAO/WHO.

Davidson, A. (2006): Marinade, marinate. *Oxford Companion to Food, 2nd edition*, Oxford University press, pp. 482.

Diaz, O., M. Fernandez, G. D. Garcia De Fernando, L. de la Hoz & J. A. Ordonez (1997): Proteolysis in dry fermented sausages: The effect of selected exogenous proteases. *Meat Science*, Vol. 46, No. 1, pp. 115-128.

Fadda, S., G. Vignolo, M.-C. Aristoy, G. Oliver & F. Toldrá (2001): Effect of curing conditions and *Lactobacillus casei* CRL705 on the hydrolysis of meat proteins. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 91, pp. 478-487.

Foodcomp (2010 a): *Sødmælk, konventionel (ikke økologisk)*, [online], Fødevaredatabanken, DTU Fødevareinstituttet, Lyngby, [citeret 14. januar 2011]. Tilgængelig på internettet:
http://www.foodcomp.dk/v7/fvdb_details.asp?FoodId=0156.

Foodcomp (2010 b): *Yoghurt naturel*, [online], Fødevaredatabanken, DTU Fødevareinstituttet, Lyngby, [citeret 14. januar 2011]. Tilgængelig på internettet:
http://www.foodcomp.dk/v7/fvdb_details.asp?FoodId=0333.

Fox, P.F. (1997): Physical and chemical properties of lactose - Food applications. *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 3. 2nd edition*. Chapman & Hall, London, pp. 28-29.

Foegeding, E. A. & D. K. Larick (1986): Tenderization of beef with bacterial collagenase. *Meat Science*, Vol. 18, pp. 201-214.



Færch, T. (2010): Personlig henvendelse. Recipe and inspiration manager. Arla Foods, Sønderhøj 14, 8260 Viby J. Telefon: +45 89381674. e-mail: tof@arlafoods.com.

Goll, D.E., V.F. Thompsen, R.G. Taylor & J.A. Christiansen (1992): Role of the calpains system in muscle growth. *Biochimie*, Vol.74, pp. 225-237.

Gerelt, B., Y. Ikeuchi & A. Suzuki (2000): Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Science*, Vol.56, pp. 311-318.

Halpern, B.P. (2000): The use and utility of glutamates as flavoring agents in foods. *American Society for Nutritional Sciences*, Vol. Ikke tilgængelig, pp. 910-914.

Hamlyn (Oprindeligt af Prosper Montagne) (2007): Marinade/Marinate. *New Concise Larousse Gastronomique – The culinary classic, revised and updated*, Octopus publishing group, pp. 715-716.

Heggenhougen, J., U. Lindberg, G. Hoel, B. A. Raybo & A.-B. Sjaamo (1979): Surtstek. *Mat med tradisjon*. Hjemmets bokforlag, pp. Ikke tilgængelig.

Hovmann, Christian (2010): Personlig henvendelse. Application & Development Manager. Arla Foods, Sønderhøj 14, 8260 Viby J. Telefon: +45 76434452. e-mail: chhov@arlafoods.com.

Huff-Lonergan, E. & S. M. Lonergan (2005): Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of post-mortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, Vol. 71, pp. 194-204.

Ilian, M. A., A. E-D. Bekit & R. Bickerstaffe (2004): The relationship between meat tenderization, myofibril fragmentation and autolysis of calpain 3 during post-mortem aging. *Meat Science*, Vol. 66, pp. 387-397.

Jelle, B. (2001): Bakteriociner – bakteriernes eget forsvar, Ny teknologi. *Dansk Kemi*, Vol. 82 (Tillæg), nr. 5, pp. 22-24.

Jensen, F. (1901): Dyrevildt – Rensdyrkød. *Frøken Jensens kogebog*, Det Nordiske Forlag, København, pp. 246.



- Kanimozhi, K. & S.K. Mendiratta (2002):** Effect of calcium chloride and lactic acid treatments on quality of spent hen meat. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 39 (3), pp. 208-213.
- Kinsman, D.M., A.W. Kotula & B.C. Breidenstein (1994):** Structure and properties of tissues. *Muscle Foods - Meat, Poultry and Seafood Technology*, Chapman & Hall, New York, pp. 39, 59.
- Koohmaraie, M (1992):** The role of Ca²⁺-dependent proteases (calpains) in *post mortem* proteolysis and meat tenderness. *Biochimie*, Vol. 74, pp. 239-245.
- Koohmaraie, M (1994):** Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, Vol.36, pp. 93-104.
- Koohmaraie, M. & G.H. Geesink (2006):** Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat science*, Vol. 74, pp. 34-43.
- Lawrence, T.E., M.E. Dikeman, M.C. Hunt, C.L. Kastner & D.E. Johnson (2003):** Effects of calcium salts on beef *Longissimus* quality. *Meat Science*, Vol. 64, pp. 299-308.
- Lawrie, R. (1991):** Marinated meat. *Developments in Meat Science – 5*. Elsevier Science Publishers, pp. 191-233.
- Lepetit, J. (2007):** A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. *Meat Science*, Vol. 76, pp. 147-159.
- Lopez-Alt, J.K., (2010):** A new way to fry chicken. *Cook's illustrated*, Vol. Sep/oct, pp.6-7.
- Lyon, B.G., D.P. Smith & E.M. Savage (2005):** Descriptive sensory analysis of broiler breast fillets marinated in phosphate, salt, and acid Solutions. *Poultry Science*, Vol. 84, pp. 345-349.
- McGee, H. (2004):** Chapter 3 – Meat. *On Food and cooking – the science and lore of the kitchen*. Scribner, New York, pp. 144, 155-156.
- Mehta, N. (1999):** Chicken and lamb. *Flavours of Indian cooking*, Snab Publishers, New Delhi, India, pp.98.



Miller, M. F., K. L. Huffman, S. Y. Gilbert, L. L. Hamman & C. B. Ramsey (1995): Retail consumer acceptance of beef tenderized with calcium chloride. *Journal of Animal Science*, Vol. 73, pp. 2308-2314.

Miyake, M. & A. Tanaka (1971): Studies of utilization of amino acids for foodstuffs – 5. Basic amino acids as a meat improving agent. *Journal of Food Science*, Vol. 36, pp. 674-676.

Offer, G., P. Knight, R. Jeacocke, R. Almond, T. Cousins, J. Elsey, N. Parsons, A. Sharp, R. Starr & P. Purslow (1989): The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food Microstructure*, Vol. 8, pp. 151-170.

Ostoja, H. & M. Cierach (2003): Effect of calcium ions on the solubility of muscular collagen and tenderness of beef meat. *Nahrung/Food*, Vol. 47, pp. 388-390.

Önenc, A., M. Serdaroglu & K. Abdraimov (2004): Effect of various additives to marinating baths on some properties of cattle meat. *European Food Research and Technology*, Vol. 218, pp. 114-117.

Oreskovich, D.C., P.J. Bechtel, F.K. McKeith, J. Novakofski & E. J. Basgall (1992): Marinade pH effects textural properties of beef. *Journal of Food Science*, Vol. 57, No. 2, pp. 305-311.

Ouali, A (1990): Meat tenderization: Possible causes and mechanisms - A Review. *Journal of Muscle Foods*, Vol. 1, pp. 129-165.

Perez-Chabela, M. L., I. Guerrero, M.C. Gutierrez-Ruiz & J.M. Betancourt-Rule (2005): Effect of calcium chloride content on beef, horse, rabbit and hen meat hardness. *Journal of Muscle Foods*, Vol. 16, pp. 141-154.

Serdaroglu, M., K. Abdraimov & A. Önenc (2007): The effects of marinating with citric acid solutions and grapefruit juice on cooking and eating quality of turkey breast. *Journal of Muscle Foods*, Vol. 18, pp. 162-172.

Skurray, G.R. & N. Pucar (1988): L-Glutamic content of fresh and processed foods. *Food Chemistry*, Vol.27, pp.177-180.



- Smith, D.P. & L.L. Young (2007):** Marination pressure and phosphate effects on broiler breast fillet yield, tenderness, and color. *Poultry Science*, Vol. 86, pp. 2666-2670.
- Sullivan, G.A & C.R. Calkins (2010):** Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Science*, Vol. 85, pp. 730-734.
- Tamime, A.Y. & R.K. Robinson (1999):** Background to manufacturing practice. *Yoghurt Science and Technology*, 2nd edition. Woodhead Publishing Limited, England, pp .
- Varnam, A.H. & J.P. Sutherland (1995):** Nature of muscle tissue. *Meat and meat products – Technology, chemistry and microbiology*, Chapman og Hall, UK, pp. 9-22,86-91.
- Veiseth-Kent, E., K. Hollung, R. Ofstad, L. Aass & K. I. Hildrum (2010):** Relationship between muscle microstructure, the calpain system, and shear force in bovine muscle. *Journal of Animal Science*, Vol. 88, pp. 3445-3451.
- Warberg, J. (2005):** Muskelfysiologi – Tværstribet muskulatur. *Human Fysiologi*. Polyteknisk Forlag, 5. Udgave, pp. 85-88.
- Welstra, P., J. Wouters & T.J. Geurts (2006):** Salts. *Dairy Science and Technology*, 2nd edition, CRC/Taylor and Francis, pp. 29-35.
- Whipple, G. & M. Koohmaraie (1993):** Calcium chloride marination effects on beef steak tenderness and calpain proteolytic activity. *Meat Science*, Vol. 33, pp.265-275.
- Wismer-Pedersen, J. (1988):** Bindevæv, Kødets vandindhold. *Kød som levnedsmiddel*. Danmark, Kap. 4+5, pp. 62-75, 83-93.
- Xiong, Y.L. & D.R. Kupski (1999):** Time-dependent marinade absorption and retention, cooking yield, and palatability of chicken filets marinated in various phosphate solutions. *Poultry Science*, Vol. 78, pp. 1053-1059.
- Zochowska, J., K. Lachowicz & M. Sobczak (2010):** The tenderization of wild boar meat using calcium chloride, kefir, wine and pineapple marinade. *Food Science and Technology*, Vol. 13(4), pp. Ikke tilgængelig.