



INSTITUTET FÖR LIVSMEDEL OCH BIOTEKNIK

PX20099

## **Dekontaminering av bladgrönsaker i förädlingsledet**

Delrapport inom projektet Mikrobiologisk  
riskbedömning - grönsakskedjan

*Maria Lövenklev*

**November 2013**

## **Projektinformation**

### **Projekt påbörjat**

Mars 2012

### **Projektledare**

Pernilla Arinder

### **Projektgrupp**

Maria Lövenklev

Lisbeth Märs

Marie Blomqvist

### **Nyckelord**

Dekontaminering, grönsaker, reduktion, avdödning, bakterier, processhjälpmedel

## **INNEHÅLL**

PROJEKTINFORMATION.....	2
INNEHÅLL.....	3
SAMMANFATTNING.....	4
INLEDNING.....	5
MIKROBIOLOGISKA FAROR.....	5
LITTERATURSTUDIE.....	7
DEKONTAMINERINGSTEKNIKER .....	7
DEKONTAMINERING AV RUCOLA SALLAD OCH RÖDBETSSKOTT MED ELEKTROLYSERAT VATTEN OCH ULTRASONIKERING .....	12
LIVSMEDELSTILLSATS ELLER PROCESSHJÄLPMEDEL.....	15
VAD ÄR TILLÅTET ATT ANVÄNDA I SVERIGE? .....	15
PROCESSHJÄLPMEDEL .....	17
SLUTSATSER.....	18
REFERENSER.....	19

## Sammanfattning

Bladgrönsaker som förpackas och lagras i kyl för senare konsumtion har vid ett flertal tillfällen varit inblandade i sjukdomsutbrott och i återkallelser på grund av att sjukdomsframkallande bakterier identifierats. Ett problem är att det inte finns något bakteriedödande steg för dessa produkter under produktionen.

Resultatet från detta projekt visar att det finns idag ett fortsatt behov att arbeta vidare med dekontaminering av grönsaker, framförallt i syfte att minska risken av korskontaminering mellan bladgrönsaker i förädlingsledet och på så sätt minimera antalet förpackningar av bladsallad som kan vara kontaminerade.

Många tekniker för dekontaminering finns i dag tillgängliga men detta projekt visar på att det inte heller finns någon universell teknik som direkt kan tillämpas i förädlingsledet. Många publicerade studier som genomförts i labbskala visar på att många tekniker endast kan uppnå 1-3 logenheters reduktion av bakterier vilket inte är tillräckligt. En annan problematik är att skala upp dekontamineringstekniker utförda i labbskala till verklig process. Få studier finns genomförda inom detta område.

Flertalet tekniker för dekontaminering som tagits upp i projektet bygger också på att något desinficerande ämne satts till i tvättvattnet för att verka rena vattnet och avdödande på bakterier. Vilka ämnen som får användas och i vilka koncentrationer avgör om de är tillåtna eller ej att använda. Tex får klor användas om halten inte är högre än vad som är tillåtet i dricksvatten. Frågeställningen behöver vinklas till huruvida nya metoder för behandling och dekontaminering är ett processhjälpmedel i stället för en livsmedelstillsats. Syftet med att tillsätta de desinficerande ämnena är då att reducera mängden bakterier i tvättvattnet och på så sätt minimera risken för korskontaminering inom och mellan olika batcher. Detta är en fråga som måste lyftas fram på agendan i Sverige och diskuteras vidare mellan olika intressenter i grönsakskedjan, livsmedelsproducenter, myndigheter och forskningsutförare.

Studien är en del av projekt Dnr 19-666/12 -*Mikrobiologisk riskbedömning – grönsakskedjan* som delvis finansierats av Jordbruksverket.

## Inledning

Bladgrönsaker som förpackas och lagras i kyl för senare konsumtion har vid ett flertal tillfällen varit inblandade i sjukdomsutbrott och i återkallelser på grund av att sjukdomsframkallande bakterier identifierats. Ett problem är att det inte finns något bakteriedödande steg för dessa produkter under produktionen.

Under odling och primärproduktion kan bladgrönsaker kontamineras med sjukdomsframkallande bakterier via vatten, jord och gödsel, djur, kontakt med utrustning och människor. Det finns regler och riktlinjer för hur produktionen skall utföras för att minimera kontamineringen. Många av spridningsvägarna är dock svåra att helt undvika och erfarenheten visar att sjukdomsframkallande bakterier med jämna mellanrum identifieras på produkterna och flera utbrott kan knytas till konsumtion av bladgrönsaker både odlade i Sverige och utomlands.

Efter skörd transporteras grönsakerna till företag som ansvarar för vidare förädling som tvätt, uppskärning och förpackning innan produkten transporteras vidare för lagring i grossist och butiksled och därefter hos kund. Bakterier som kontaminerat produkten kan tillväxa om temperaturen är tillräckligt hög för att tillåta detta. *Salmonella* kan tillväxa över 5 °C, *E. coli* över 4 °C, *L. monocytogenes* över 0 °C, *Shigella* över 10 °C, *S. aureus* över 7 °C. Att kylkedjan styrs är därför viktigt för att minska att antalet bakterier ökar.

I samband med hantering av bladgrönsaker under produktionen finns det risk för att korskontaminering sker. Kontaminerade blad kan kontaminera backar, transportband, knivar och sköljvatten. Om kontaminationen sprids effektivt kan enskilda kontaminerade blad korskontaminera en hel batch och om inte kylkedjan senare hämmar tillväxten så kan halter av sjukdomsframkallande bakterier i produkten vid konsumtion orsaka sjukdom.

I projektet *Mikrobiologisk riskbedömning – grönsakskedjan* har projektdeltagarna i samarbete med SIK utvärderat och tittat på olika möjligheter kring hur produktsäkerheten kan styras i olika delar av kedjan för bladgrönsaker. I detta delprojekt har olika tekniker för dekontaminering av grönsaker i förädlingsledet sammanställts utifrån undersökningar som finns publicerade i litteraturen. En del tekniker baseras på att det i skölj/tvättvattnet tillsätts desinficerande ämnen t ex klor för att reducera antalet mikroorganismer på grönsakerna och en del tekniker behandlar grönsakerna direkt. En central fråga i projektet har varit kring vad som är tillåtet eller ej att använda då flera tekniker bygger just på att någon form av desinficerande ämne finns närvarande i tvättvattnet. Även praktiska försök har genomförts på SIKs mikrobiologiska laboratorium och två dekontamineringsstekniker, som valts ut av projektdeltagarna, utvärderades för tvättning och reduktion av bakterier på rucola sallad och rödbetsskott. Teknikerna som utvärderades var elektrolyserat vatten och vanligt sköljvatten i kombination med ultraljudsbehandling.

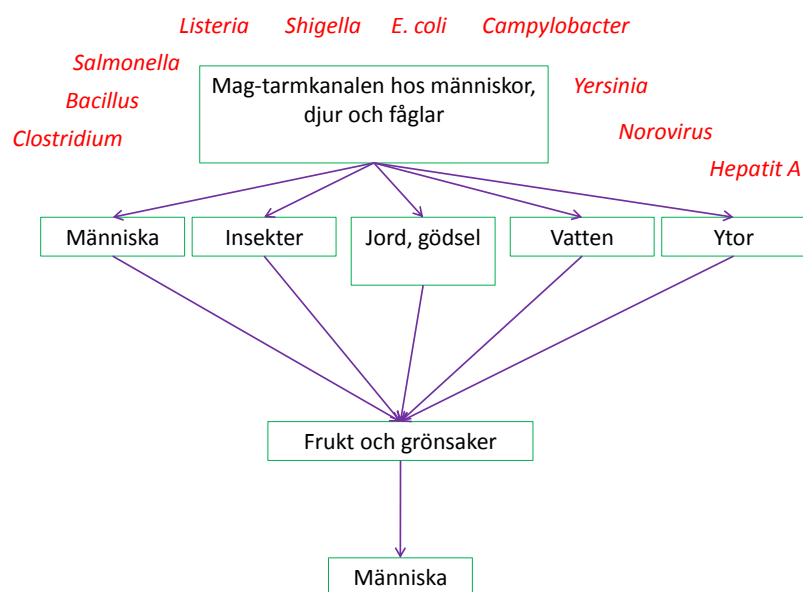
Delprojektet är en del av projekt Dnr 19-666/12 -*Mikrobiologisk riskbedömning – grönsakskedjan* som delvis finansierats av Jordbruksverket.

## Mikrobiologiska faror

De bakterier som finns naturligt på bladsallad, färska kryddor och andra grönsaker är gram negativa icke patogena bakterier t ex *Pseudomonas* eller *Enterobacteriaceae*.

Beroende på odlingsplats och årstid varierar halterna mellan  $10^4$ - $10^8$  CFU per gram. Patogena bakterier som kan förekomma och orsaka livsmedelsburna utbrott på grönsaker är t ex *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Stafylococcus aureus*, *Aeromonas* spp. Även virus t ex Norovirus och Hepatit A och parasiter t ex Cyclospora, Giardia och Cryptosporidium kan förekomma.

Kontaminering med patogena bakterier kan förenklat ske enligt två vägar dels som tarmsmitta (bakterier som finns i faeces hos människor och djur) och dels som miljösmitta (bakterier som finns naturligt i miljön, bl a i jord och vatten) och kan därifrån spridas på olika vägar till grönsakerna (Figur 1). Kontaminering under odling kommer inte att behandlas i denna rapport utan denna litteraturstudie sammanfattar kontaminering och olika dekontamineringstekniker i förädlingsledet dvs tvättning efter skörd, delning/skivning och förpackning.



Figur 1. Illustration av spridningsvägar för sjukdomsframkallande bakterier och virus till människa via frukt och grönsaker.

Dekontaminering av bakterier på skadade grönsaksytor är svårare att reducera än bakterier på intakta grönsaksytor. Han et al. [1] visade att reduktionen av *Listeria* bakterier var mindre på skadade grönsaksytor än på intakta. Detta gällde oavsett dekontamineringsteknik (flytande, gasformig klordioxid och vatten). Till exempel *Listeria* reduktionen efter tvätt med vatten var 1,53 log CFU/5g på en intakt yta medan på en skadad ytan så var reduktionen enbart 0,51 log CFU/5g. Motsvarande efter dekontaminering med gasformig klordioxid var 3,05 log CFU/5g för intakt yta och 1,88 log CFU/5g för en skadad yta.

# Litteraturstudie

## Dekontamineringstekniker

### Vattenbaserade tekniker

Flera dekontamineringstekniker bygger på vatten där olika desinfektionsmedel finns tillsatta antingen enskilt eller i kombination med varandra i t ex organiska syror, klor, klordioxid och bakteriocin. Flera faktorer har en inverkan på hur effektiv tekniken är avseende bakteriereduktion. Det kan vara koncentration av desinfektionsmedel eller annan antimikrobiell tillsats, uppehållstid, temperatur, pH och dess inverkan på desinfektionsmedlets bakteriereducerande aktivitet och flöde/turbulens. Även annan smuts och organiskt material påverkar hur effektiv tvättsteget är då en del antimikrobiella ämnen kan reagera med organisk smuts.

### Klorbaserat vatten

Klorbaserat vatten är en vanligt använd dekontamineringsteknik av grönsaker där man till vatten tillsätter natrium hypoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) eller kalciumhypoklorit ( $\text{Ca(OCl)}_2$ ). Simmons (2006) jämförde att klorera vatten med både natriumhypoklorit och kalciumhypoklorit för att nå samma fria klorhalt (50-200  $\mu\text{g/ml}$ ) i vattnet. Ingen skillnad fanns mellan de båda klorsalternerna när de användes för att dekontaminera ( $3^\circ\text{C}$  i 30 s) sallad och tomat utan reduktionen av totala antalet bakterier var mellan 0,69-1,65 log CFU/g, beroende på salladssort och tomat.

I en annan studie har man tittat på effekten av klorerat vatten på att reducera *Listeria innocua* på sallad och jämfört detta med att använda enbart vatten (Francis 2002). Bäst reduktion (ca 1,5 logenheter) fick man av att använda 100 ppm klorerat vatten, 5 minuter vid  $3^\circ\text{C}$ . Däremot när salladen fortsatte att lagras vid  $3^\circ\text{C}$  så var skillnaden mellan behandlad och obehandlad sallad fortsatt ca 1,5 logenheter fram till dag 9, därefter ökade halten av *L. innocua* till samma halt som för obehandlad. Dessa resultat verifieras i en liknande studie av Hellström et al. [2]. Här testades också klorerat vatten (100 ppm) och jämfördes i detta fall med perättikssyra (0,05%) och en kommersiell citronsyrabaserad tvättlösning (0,25%; Fresh produce Wash, UK). Bäst reduktion (1,7 logenheter) av både *L. monocytogenes* och av totala antalet bakterier erhöles efter användning av perättikssyra. Klorerat vatten och det kommersiella tvättvattnet gav ca 0,7-1,0 logenheters reduktion. Även i denna studie ökade halten under lagringen vid  $6^\circ\text{C}$ .

### Klordioxid

Klordioxid ( $\text{ClO}_2$ ) kan användas som dekontamineringsteknik både i gasform och i flytande form i vatten. Generellt har klordioxid ca 2,5 gånger så hög oxidationskapacitet som klor [3]. Studier har visat att flytande klordioxid har sämre effektivitet avseende dekontaminering än gasformig klordioxid. Detta beror troligtvis på att gas har bättre genomträngningsförmåga på ytor än vad vätska har. Han et al. [1] jämförde effektiviteten att reducera *L. monocytogenes* på grön pepparfrukt med flytande och gasformig klordioxid med att tvätta med vanligt vatten. Resultaten var att gasformig klordioxid var signifikant mer effektiv av att reducera *L. monocytogenes* än både flytande klordioxid och vatten. Vid en koncentration av 0,3 mg/l  $\text{ClO}_2$  var reduktionen av *L. monocytogenes* på intakta pepparfrukter efter att använda gasformig klordioxid 3,05 log CFU/5 g och flytande 1,87 log CFU/5 g (Tabell 1). Då koncentrationen av

klordioxid ökades 10 gånger, ökade reduktionen till 7,39 log CFU/5 g för gasformig och 3,67 log CFU/5 g för flytande. Liknande studier finns även på *E. coli* O157:H7.

Tabell 1. Reduktion av *L. monocytogenes* på grön pepparfruk vid dekontaminering med ClO<sub>2</sub> i vätske- respektive gasform [1].

Koncentration	Reduktion (log CFU) ClO <sub>2</sub> vätskeform	Reduktion (log CFU) ClO <sub>2</sub> gasform
0,3 mg/l	1,87	3,05
3 mg/l	3,67	7,39

Metoden att använda gasformig klordioxid har utvärderats i ett flertal studier på olika grönsaker, rotfrukter och frukter. I en studie utvärderades klordioxid för att reducera *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* och jäst och mögel på olika frukt och grönsaker [4]. Koncentration av ClO<sub>2</sub>, behandlingstid, frukt/grönsakssort och relativ fuktighet påverkade den totala reduktionen av bakterierna. På morötter var den totala reduktionen hög vid en användning av 4,1 mg/l och en behandlingstid av 30 minuter. För alla tre studerade bakterier var reduktionen mellan 5,1-5,9 log CFU/g. Enligt författaren till studien beror den höga reduktionen av bakterier på morötter på en synergi effekt mellan phytoalexiner (6-methyloxymellin hämmar tillväxt av olika bakterier och svamp) i morotssaften och klordioxiden. Däremot försämrades morotens utseende och färg, även vid lägre koncentration av koldioxid, vilket begränsar den kommersiella användningen av CO<sub>2</sub> dekontaminering på morötter. För skuren bladsallad var reduktionen mellan 1,5-1,6 log CFU/g på de tre bakterierna, även här såg man begränsningar för en kommersiell användning pga sensoriska förändringar. Andra studier har fått en högre reduktion (ca 3,5-5,0 log CFU/g) av *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* då CO<sub>2</sub> gas applicerats på skivad bladsallad [5]. Skillnaden i reduktion kan bero på att de olika studierna anpassat bakterierna olika innan dessa ympats på grönsakerna. I de fall där bakterierna anpassats i växtsaften från bladsalladen verkar bakterierna blivit mer motståndskraftiga mot klordioxid (och sålunda lägre bakteriereduktion) än om de inte anpassats i växtsaften.

### Bakteriocin, organiska syror och komplexbildande ämnen

Pediocin och nisin är naturliga antimikrobiella ämnen, s k bakteriociner, som produceras av olika mjölksyrabakterier. I en studie där man använder pediocin och nisin som dekontaminering av grönsaker t ex kål och broccoli har man sett en reduktion av *L. monocytogenes* på ca 2,5-2,8 logenheter efter användning av nisin och ca 1,1-1,9 logenheter efter behandling med pediocin [6]. Tvätt av mungbönor i vatten med nisin/pediocin har visat på ca 1,3-1,5 logenheters reduktion. I studien har man också kombinerat nisin och/eller pediocin med citronsyra (10mM), kaliumsorbat (0,02%), EDTA (0,02 M), natriumlaktat (2%) och fytinsyra (0,02%). Bäst reduktion sågs på kål vid jämförelse med broccoli och mungbönor. På kål låg reduktionen mellan 1,94-4,35 logenheter, på broccoli låg bakterie reduktionen mellan 1,11-4,18 logenheter och för mungbönor låg bakteriereduktion mellan 0,82-2,31 logenheter. Den högsta reduktionen erhöles med nisin i kombination med 0,02% fytinsyra, både för kål (4,35 log CFU) och broccoli (4,18 log CFU). pH i denna behandlingslösning var 2,5. I en annan studie har nisin använts i kombination med natriumlaktat, EDTA och kaliumsorbat för att reducera *Salmonella* på melonbitar. Den totala *Salmonella* reduktionen var ca 3 logenheter [7].



Dekontaminering med organiska syror av delade morötter har utvärderats av Landfeld [8]. I studien utvärderades peroxyättiksyra (Kommersiell produkt Persteril®) genom att dels tillsätta det i tvättvattnet (0,2%) och dels att tillsätta det i koncentrerad form i själva förpackningen innan försegling och efter 24 h lagring. Resultaten visade på en knapp logenhets reduktion mellan att använda tvättvatten och tvättvatten med 0,2% Persteril tillsatt i 5 min (temperatur 14°C). Bäst reduktion av Persteril erhöles då man först tvättade med det tillsatt i vattnet i ca 5 minuter, därefter tillsatte koncentrerad (36%) Persteril vid förpackningstillfället och efter 24 h tillsatte ytterligare koncentrerad Persteril i förpackningen. Då var reduktionen av totala antalet bakterier ca 4 logenheter och av jäst och mögel ca 3,5 logenheter. Morötterna lagrades därefter vid 7°C i 28 dagar och ingen tillväxt av mikroorganismer kunde registreras. Ingen färgförändring upptäcktes under lagringen. Morötterna fick mindre smak och lukt förändringar direkt efter behandling men enligt författaren minskade dessa problem under lagringen.

Fumarsyra (E297) har använts som dekontaminering av hackad sallad [9]. I försöket utvärderades både reduktion av patogena bakterier och totala antalet bakterier. En tvätt med vatten innehållande 50 mM fumarsyra reducerade halten av totala antalet bakterier, *S. aureus*, *E. coli* och *Salmonella* med ca 1,3-1,5 logenheter. Problemet med fumarsyra var att brunfärgningen av salladen ökade vid jämförelse mot tvätt med vatten och även med natriumhypoklorit.

### Ozonbehandlat vatten

Ozon (O<sub>3</sub>) är mycket reaktiv och har en stor antimikrobiell effekt och används bl a för rening av vatten. Även klorresistenta parasiter som *Cryptosporidium parvum* och *Giardia lamblia* avdödas av ozon. 1997 blev ozonanvändning för rening av vattensystem för livsmedelsapplikationer godkänd som General Recognized as Safe (GRAS) i USA. Ozon avdödar mikroorganismer genom oxidation av det yttre cell membranet hos vegetativa bakterier, sporer, jäst och mögelsporer och därefter lyseras cellerna. I en studie av Koseki [10] utvärderades bl a reduktionen av det totala antalet bakterier, brunfärgning och innehållet av askorbinsyra i isbergssallad som behandlats med olika koncentrationer av ozonbehandlat vatten. Även kombination av ozon och varmt vatten (50°C, 2,5 min) utvärderades. Försöken visade att högre koncentration än 5 ppm av ozon ökade inte på bakteriereduktionen; 5 ppm ozon i tvättvattnet och 2,5 minuters behandling gav ca 1,5 logenheters reduktion. Kombinationen med varmt vatten gav ingen ytterligare bakteriereduktion.

Även alfaalfa frön och groddar har också dekontaminerats med ozonbehandlat vatten [11]. Ett av problemen med att inte få tillräcklig reduktion tros bero på bristande kontakt mellan ozon och bakterierna i fall dessa ligger inbäddade eller internaliserade inuti livsmedlet.

### Elektrolyserat vatten

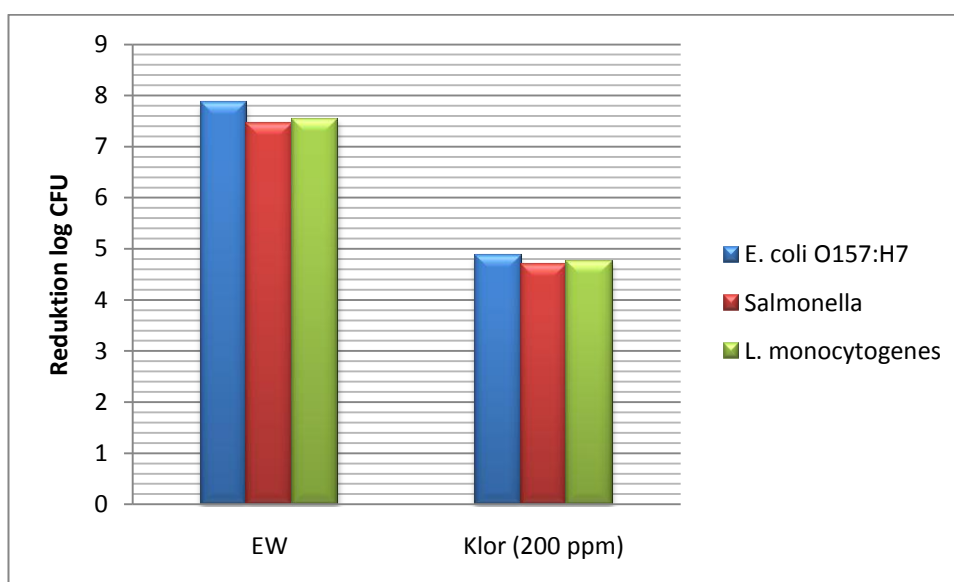
Tekniken med elektrolyserat vatten kommer från Japan och bygger på elektrolys av vatten som innehåller natriumklorid. Tekniken består av en elektrolyscell som har en mellanvägg som släpper igenom elektrisk laddning, så att strömkretsen sluts, men den stoppar de kemiska föreningar och joner som bildas.

Därmed är vätskan runt anoden (anolyt) separerad från vätskan runt katoden (katolyt). Den anolyt som bildas kan vara av två sorter, dels med hög surhet (StAEW; pH 2,7, klor koncentration 20-60 mg/l och en ox/red potential på >1000mV) och dels med neutral

surhet (SAEW; pH5-6,5, klor koncentration 10-30mg/l och en ox/red potential på ca 700mV).

I litteraturen lyfts flera fördelar fram med tekniken vid jämförelse med många t ex klorbaserade dekontamineringsstekniker bl a miljövänlig, icke termisk, bra för arbetsmiljön då inga kemikalier förutom natriumklorid används och ger inga sensoriska förändringar (smak, färg, lukt) på livsmedlet [12]. I samma artikel [12] har surt elektrolyserat vatten använts som dekontaminering av selleri, rättika och bladsallad. Resultaten visade på en signifikant reduktion av totala antalet bakterier på  $\geq 2,5$  logenheter vid jämförelse med tvättad i vanligt vatten. Även halten av t ex *Salmonella* reducerades med  $\geq 2,9$  logenheter.

I en annan studie av Bari [13] jämfördes surt elektrolyserat vatten med 200 ppm klor i tvättvattnet för att dekontaminera tomater. Skillnaden i reduktion mellan de båda teknikerna var signifikant och med elektrolyserat vatten var reduktionen av *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* och *L. monocytogenes* generellt ca 3 logenheter högre än med klorerat vatten (Figur 2). I en annan studie med bladsallad jämfördes elektrolyserat vatten med klorbaserat vatten (45 ppm) direkt efter behandling och efter 2 veckors lagring [14]. Resultaten från denna studie visade att ingen signifikant skillnad i reduktion fanns mellan de båda teknikerna, vid jämförelse med vanligt vatten, varken för *L. monocytogenes* eller *E. coli* O157 eller direkt efter behandling och efter lagringen.



Figur 2. Reduktion av *E. coli* O157:H7, *Salmonella* och *L. monocytogenes* efter dekontaminering av tomater med surt elektrolyserat vatten och klorerat vatten [13].

## Ultrasonikering

Ultrasonikering är en teknik som använder höga frekvenser (> 16 kHz) av ljud för att få bakterier att lossna och/eller att lysa (gå sönder). Tekniken används för rengöring av ytor och har bl a utvärderats på fjäderfä produkter för att reducera halten av bakterier. För grönsaker har den testats på olika bladsallader, både enskilt och i kombination med t ex klor, ättikssyra, väteperoxid och perättikssyra. Att använda enbart ultrasonikering har visat sig ha en begränsad effekt på bakteriereduktion om man jämför med enbart tvätt med vatten. Även kombinationer av sonikering tillsammans med andra kemikalier (t ex klor) har visat sig ha mindre effekt på bakteriereduktion än om man jämför med enbart dekontaminering med kemikalien. Ajlouni [15] såg i sin studie ingen signifikant skillnad mellan att behandla sallad i enbart klorerat vatten (200 mg/l) i 2 min, 50°C och

att först tvätta i klorerat vatten och därefter behandling med ultrasonikering. Båda behandlingarna resulterade i ca 2-logs reduktion av psykrotrofa bakterier. Liknande resultat erhöles när väteperoxid (4 mg/l), ättikssyra (2%) och perättikssyra utvärderades enskilt och/eller i kombination med varandra och tillsammans med ultrasonikering. Enbart tvätt med väteperoxid gav en 1,73 logenheters reduktion vid 50°C, ättikssyra 2,70 logenheters reduktion och kombination av väteperoxid/ättikssyra ca 2,47 logenheters reduktion. Ingen ytterligare effekt såg i kombination med ultrasonikering.

I en nyligen publicerad studie [16] har man byggt ett kontinuerligt tvättsystem med ultraljudsbehandling (25, 40 och 75 kHz) för att få en bättre bakteriereduktion än tidigare studier visat. Vid försök gjorda på bladspenat såg man att en kombination av ultraljudsbehandling i klorerat vatten gav ca 1 logenhets högre bakteriereduktion än om man enbart tvättar i klorerat vatten. Författaren är positiv till tekniken och lyfter fram olika parametrar att ta hänsyn till vid en vidare optimering av ett kontinuerligt tvättsystem men ultraljudsbehandling.

## **Strålning**

### **Joniserad strålning**

Joniserad strålning har utvärderats på olika grönsaker för att reducera bakterier och har visat sig vara mycket effektiv att reducera bakterier som internaliserat grönsakerna. I en studie dekontaminerades internaliserad *E. coli* O157:H7 i romansallad och i babyspenat med strålning (0,25-1,5 kGy) [17]. Metoden jämfördes med att tvätta salladen med vatten och med klorerat vatten (300-600 ppm). Den totala reduktionen av *E. coli* var < 1 logenhet då klorerat vatten användes medan strålningen resulterade i ca 4 logenheters reduktion på romansallad och ca 3 logenheter på bladspenat. Författaren betonar skillnaden i reduktion mellan de båda salladssorterna.

Man har också testat tekniken på koriander [18], enskilt och i kombination med först tvätt i klorerat vatten (200 ppm). Enbart tvätt i klorerat vatten resulterade i en reduktion av *E. coli* O157:H7 på ca 1 logenhet, enbart strålning gav en reduktion på 6,7 logenheter och kombinationen gav en total reduktion på > 7 logenheter.

### **UV-ljus**

I en studie av Hadjok [19] har man utvärderat UV ljus (254 nm) i kombination med väteperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) för att reducera antalet patogena och förskämmande bakterier på flera olika grönsaker (isbergssallad, romansallad, babyspenat, broccoli och tomat). Behandlingen gick till så att 1,5% väteperoxid sprayades på grönsakerna under kontinuerligt UV belysning (37,8 mJ/cm<sup>2</sup>). Direkt efter behandlingen reducerades halten av *Salmonella* med 4 logenheter på ytan av grönsakerna och med ca 2,8 logenheter av internaliserade bakterier. Man konkluderade även att reduktionen av bakterier efter denna behandling var högre på bladiga grönsaker (sallad) än på andra grönsaker (broccoli).

## **Processteknik**

Nya processtekniker som t ex mikrovågsvärmning och Cold Plasma finns också tillgängliga för att reducera bakterier på grönsaker. Ett exempel med mikrovågsvärmning är där tekniken använts för att reducera *Samonella* på jalapeño och

koriander [20]. Behandlingen gick till så att kryddorna först sköljts med vatten för att därefter behandlas med mikrovågsvärmning (950W vilket motsvarar  $< 63^{\circ}\text{C}$  i 10 s resp 25 s) och därefter kylas ner vid  $4^{\circ}\text{C}$ . Behandlingen resulterade i en reduktion av *Salmonella* på 4 logenheter och att kryddorna blev mörkare i färgen. Rekommendationen var att jalapeñon var lämplig att använda i salsa ej rå.

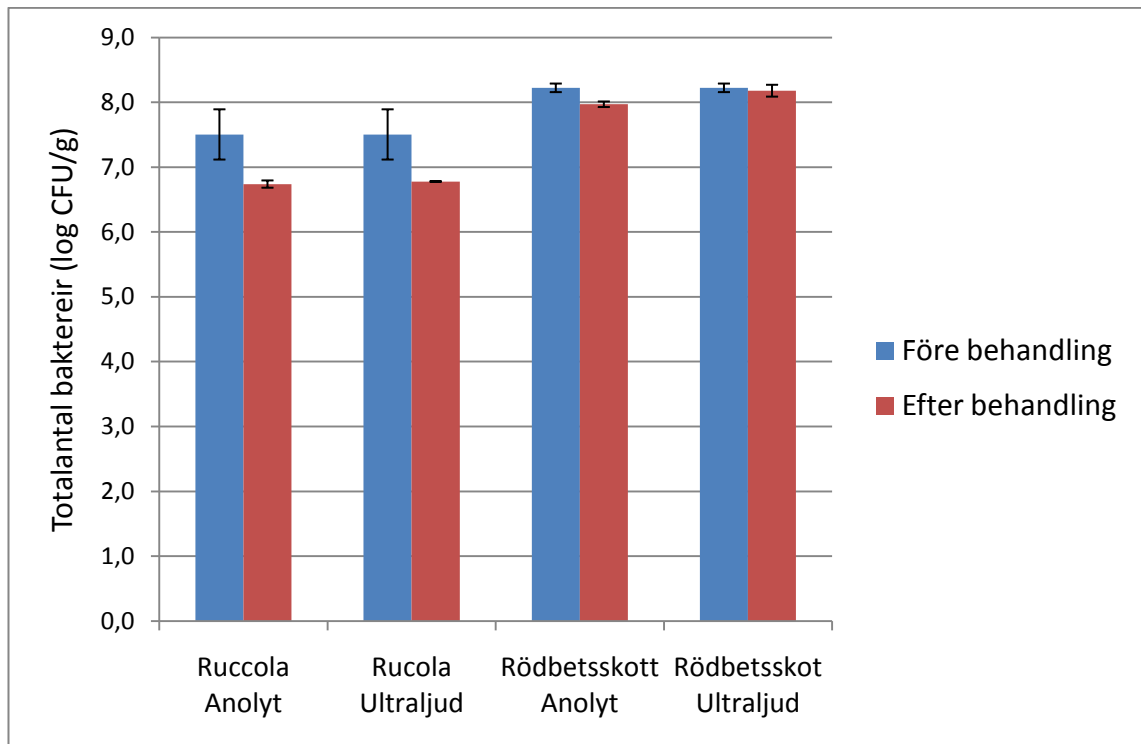
## Dekontaminering av rucola sallad och rödbetsskott med elektrolyserat vatten och ultrasonikering

I detta projekt har två tekniker för dekontaminering av rucola sallad och rödbetsskott utvärderats. Den ena tekniken var elektrolyserat vatten (Anolyt, Aquacode AB) och den andra var vanligt vatten i kombination med av ultraljud. Både rucola salladen och rödbetsskotten utvärderades med båda teknikerna och jämfördes med obehandlad sallad respektive obehandlade rödbetsskott.

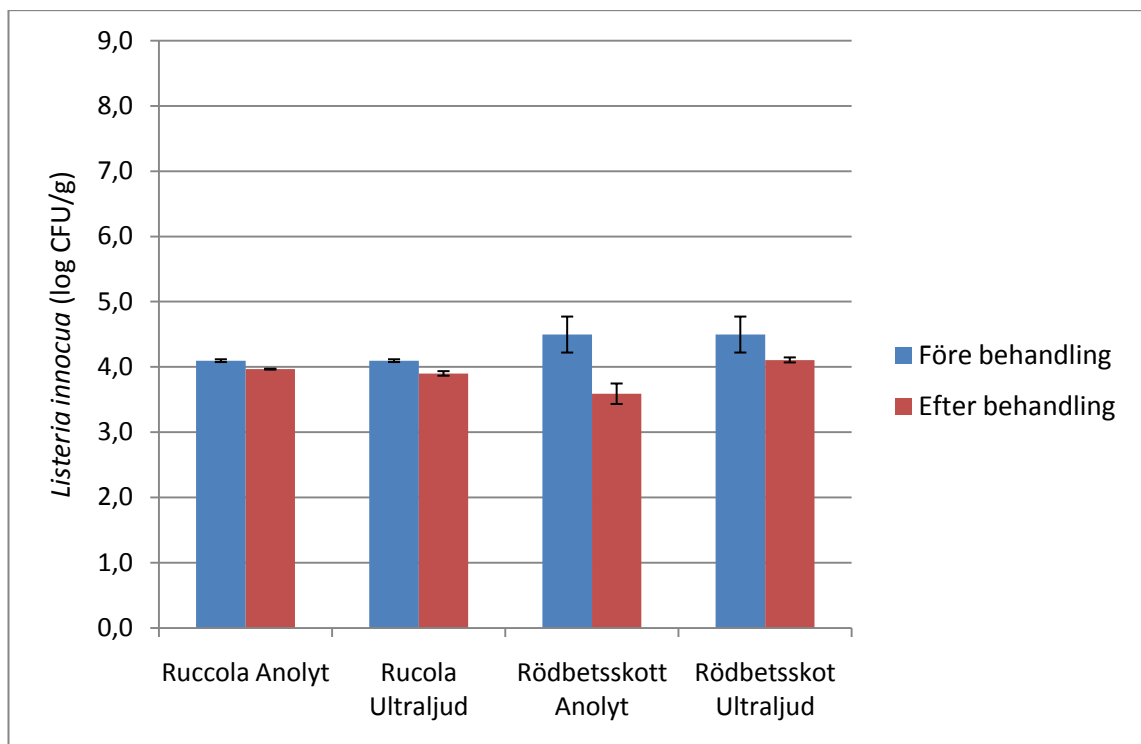
Rucolan och rödbetsskott levererades till SIK från deltagare i projektet. I försöken analyserades halten av naturligt förekommande bakterier dvs totala antalet bakterier samt *Listeria innocua*, som ympades på grönsakerna. *L. innocua* bestämdes genom spädning och odling på Palcam plattor som inkuberades vid  $37^{\circ}\text{C}$  i 48 h. Totala antalet bakterier bestämdes genom spädning och odling på TSA-plattor som inkuberades vid  $37^{\circ}\text{C}$  i 48. Startkoncentrationen av inympad *L. innocua* var mellan 4,1-4,7 log CFU/g på de båda grönsakerna. Den naturliga förekomsten av bakterier var mellan 7,2-8,3 log CFU/g på de båda grönsakerna.

Efter inympning av *L. innocua* fick salladen och rödbetsskotten ligga i  $4^{\circ}\text{C}$  ca 3 h för infästning av bakterierna på ytan av grönsakerna. Därefter behandlades sallad respektive rödbetsskott med elektrolyserat vatten alternativt vanligt vatten i kombination med ultrasonikering. Grönsakerna badades i elektrolyserat vatten (10% anolyt) i 3 min och därefter sköljdes grönsakerna under rinnande vatten i 1 min enligt instruktioner från leverantören Aquacode AB. Vid ultrasonikering lades sallad respektive rödbetsskott i en korg och sänktes ned i ett ultraljudsbad med vatten. Därefter behandlades grönsakerna med ultraljud i 1 minut vid en frekvens på 35 kHz [16]. Efter behandlingarna fick grönsakerna torka i sterilbänk innan de förpackades (ca 100 g per förpackning) i påsar (rucola sallad) respektive plasttråg (rödbetsskott). Före förpackning togs prover ut för analys av halten *L. innocua* och totala antalet bakterier efter behandling (tidpunkt 0). Förpackningarna lagrades slutligen vid  $8^{\circ}\text{C}$  under totalt 8 dagar och prover för *L. innocua* och totala antalet bakterier togs ut efter 4 och 8 dagar.

Reduktionen av antalet naturligt förekommande bakterier på rucola salladen och rödbetsskotten var  $< 1$  logenhet efter både tvätt i elektrolyserat vatten och efter ultrasonikering (figur 3). Även reduktionen av inympad *L. innocua* var låg,  $< 1$  logenhet efter behandlingarna.

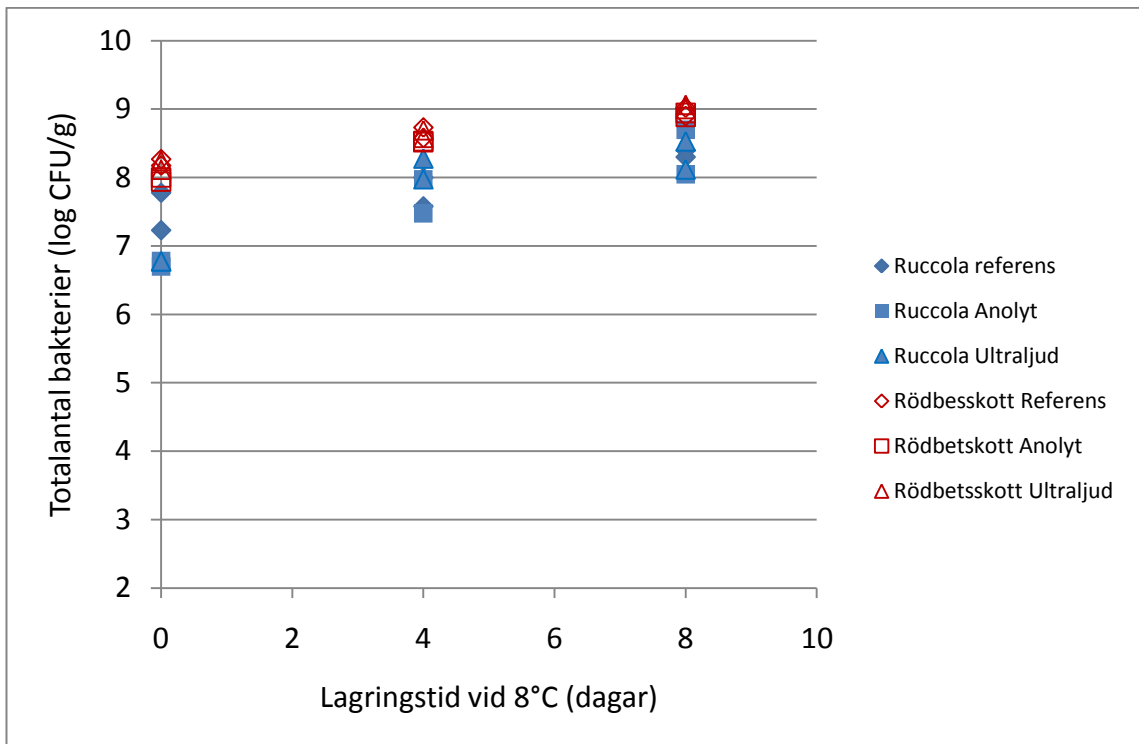


Figur 3. Halt av totala antalet bakterier före och efter tvätt med elektolyserat vatten (anolyt) alternativt vatten och ultrasonikering.



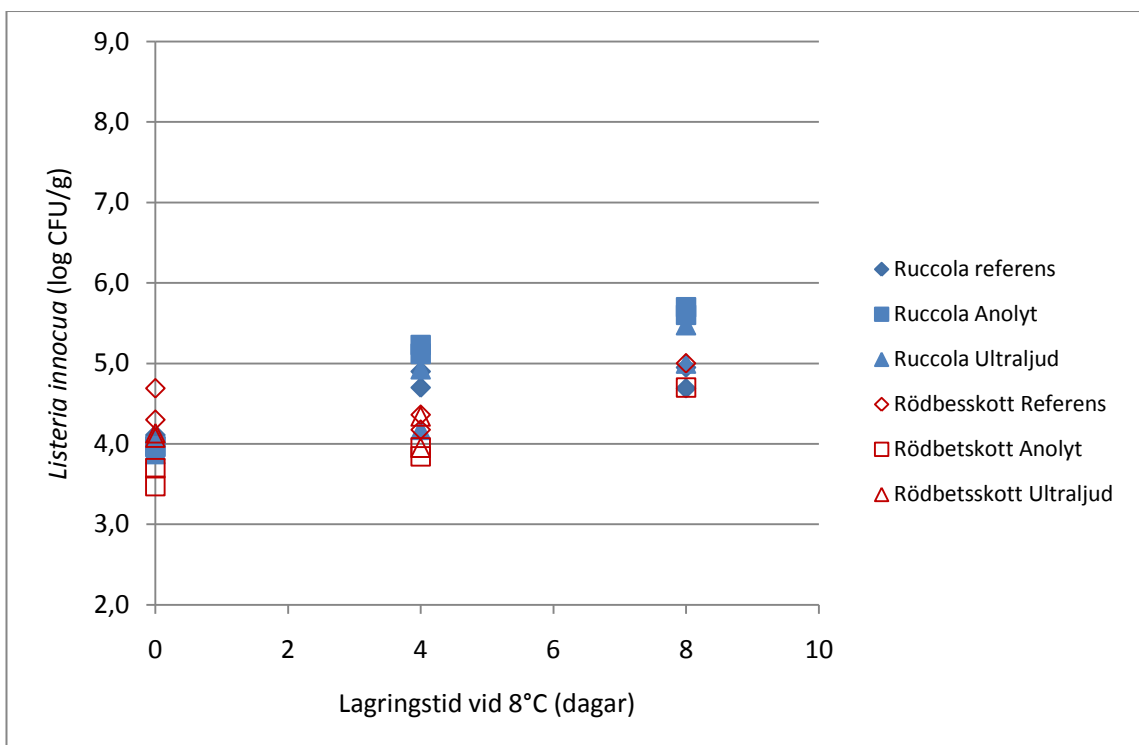
Figur 4. Halt av *Listeria innocua* före och efter tvätt med elektolyserat vatten (anolyt) alternativt vatten och ultrasonikering

Under lagringen vid 8°C tillväxte det totala antalet bakterier i rucola salladen och rödbetsskotten med 1-1,5 logenheter under 8 dagar (Figur 5) till halter mellan 8-9 log CFU/g. Ingen skillnad kunde noteras i tillväxten mellan de olika behandlingarna.



Figur 5. Halt av totala antalet bakterier efter tvätt med elektolyserat vatten (anolyt) alternativt vatten och ultrasonikering vid 8°C lagring i totalt 8 dagar.

Halten av *L. innocua* tillväxte med ca 2 logenheter under 8 dagars lagring till halter mellan 5-6 log CFU/g. Något högre tillväxt noterades i rucola salladen vilket troligen berodde på en kraftig växt av mögel efter 8 dagar på rödbetskotten, vilket försvårade avläsningen. Ingen skillnad kunde noteras i tillväxten av *L. innocua* mellan de olika behandlingarna.



Figur 6. Halt av *L. innocua* efter tvätt med elektolyserat vatten (anolyt) alternativt vatten och ultrasonikering vid 8°C lagring i totalt 8 dagar.

# Livsmedelstillsats eller processhjälpmedel

## Vad är tillåtet att använda i Sverige?

Under projektet lyftes frågan av branschen kring vilka tekniker som är tillåtna att använda i Sverige för dekontaminering av grönsaker under förädlingen. Under sommaren 2012 skickades frågor till SLV för att utreda om följande tekniker var tillåtna att användas och i så fall om det klassades som tillsats eller processhjälpmedel.

1. Är det tillåtet att använda UVC behandlat vatten eller UVC direkt på grönsaker för att dekontaminera och i så fall är det en tillsats eller processhjälpmedel?
  2. Är det tillåtet att använda ozonbehandlat vatten för att tvätta grönsaker med?
  3. Är det tillåtet att använda väteperoxid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> som tillsats i tvättvattnet för grönsaker och i så fall är det en tillsats eller processhjälpmedel?
- Angående klor/klorbaserade tekniker. Här känner projektgruppen till att klor inte är tillåtet att användas i tvättvattnet då de klassificeras som en livsmedelstillsats. Men vad gäller i fall klor används i tvättvattnet för dekontaminering och därefter sköljs grönsakerna i enbart vatten utan klor för att ta bort rester av klor. Resultatet skulle vara att ha resthalter av klor under gränsvärdet för dricksvatten. Vid denna tillämpning skulle klor kunna deklarerars som ett processhjälpmedel?

Följande svar erhöles från SLV den 17 december 2012.



LIVSMEDELS  
VERKET

NATIONAL FOOD  
AGENCY

Rådgivningsavdelningen

Rådgivningsenheten

C Lantz

1 (2)

2012-12-17

Dnr 2152/2012

Hej Maria, rektangulärt klipp

Livsmedelsverket har sedan tidigare gjort följande tolkning gällande klor för dekontaminering av grönsaker.

"Livsmedelsverkets uppfattning är att det inte är tillåtet att tillsätta klor till ett dricksvatten som ska användas som sköljvatten för exempelvis grönsaker. Det är tillåtet att använda ett dricksvatten med den tillåtna klorhalt detta vatten har behov av som dricksvatten, men det är inte tillåtet att höja klorhalten i ett dricksvatten till maxnivån för dricksvatten i Sverige. Om ytterligare klor tillsätts till ett dricksvatten som ska användas för sköljning av exempelvis grönsaker bedöms tillsättningen göras för att påverka grönsakerna, vilket innebär att klor är att betrakta som en livsmedelstillsats. Klor är inte en godkänd tillsats."

Om väteperoxid och ozon används i samma syfte som klor, gör Livsmedelsverket i dagsläget samma tolkning för dessa ämnen som för klor.

För att få en ny tillsatts godkänd kan företagaren själv ansöka till Kommissionen. I förordning (EG) 1331/2008 och (EU)234/2011 anges hur en ansökan ska vara utformad.

Det är tillåtet att använda ett dricksvatten som UV behandlats som sköljvatten, förutsatt att UV behandlingen endast har använts i den utsträckning som dricksvattnet har behov av. I dagsläget finns inga särskilda regler för bestrålning av livsmedel med UV-ljus. Väljer företagaren att använda UV-ljus direkt på livsmedlen måste företagaren visa att livsmedlen inte förändras, eller på något annat vis ändrar egenskaper så att de inte längre är säkra att konsumera. För förpackade livsmedel kan då även 20§ i Livsmedelsverkets föreskrifter om märkning och presentation av livsmedel, LIVSFS 2004:27, bli aktuell att tillämpa.

På nästa sida följer en redogörelse för de lagar vi har baserat vårt ställningstagande på.

Med vänlig hälsning

Christina Lantz

Postadress  
Postal address  
Box 622  
SE-751 26 UPPSALA  
SWEDEEN

Besöksadress  
Office address  
Hamnesplanaden 5  
UPPSALA

Telefon  
Telephone  
Nat 018-17 55 00  
Int +46 18 17 55 00

Telefax  
Nat 018-10 58 48  
Int +46 18 10 58 48

E-post  
livsmedelsverket@slv.se

Webbplats  
www.livsmedelsverket.se

Bankinfo

AD 50 2009-12 25 000

Av artikel 3.2 i förordning (EG) nr 853/2004 framgår att andra ämnen än dricksvatten eller, i särskilt reglerade fall, rent vatten, inte får användas för att avlägsna ytkontaminering från produkter av animaliskt ursprung, såvida inte ämnets användning godkänts i enlighet med ett särskilt förfarande. Varken förordning (EG) nr 852/2004 eller annan lagstiftning innehåller motsvarande regel avseende livsmedel av icke-animaliskt ursprung. Det finns alltså inte något generellt förbud mot användning av andra ämnen än dricksvatten/rent vatten för avlägsnande av ytkontaminering på vegetabilier.

Inom EU:s livsmedelslagstiftning är avsikten med användningen av ett ämne, i de allra flesta fall, avgörande betydelse. När klor/klorlösningar används i dekontaminerings syfte bedömer Livsmedelsverket att det används som en livsmedelstillsats. Vad som avses med begreppet "livsmedelstillsats" framgår av definitionen i artikel 3.2 a i förordning (EG) nr 1333/2008, vilken lyder: "livsmedelstillsats: varje ämne som normalt inte i sig konsumeras som ett livsmedel och som normalt inte används som en karakteristisk ingrediens i livsmedel, oavsett om det har något näringsvärde eller inte, och som liksom dess biprodukter på goda grunder kan antas direkt eller indirekt bli en beståndsdel i livsmedel när det för något tekniskt ändamål avsiktligt tillförs sådana vid framställning, bearbetning, beredning, behandling, förpackning, transport eller lagring."

I väntan på att förteckningen över godkända livsmedelstillsatser i bilaga II till förordning (EG) nr 1333/2008 ska börja användas ska vissa övergångsbestämmelser tillämpas (jfr. artikel 34 i förordningen). Det är av denna anledning som Livsmedelsverkets föreskrifter (LIVSFS 2007:15) om livsmedelstillsatser fortfarande gäller. Av 25 § LIVSFS 2007:15 följer att endast sådana ämnen som nämns i bilaga 5 till föreskrifterna får vid framställning av livsmedel användas för de ändamål som avses i Bilaga I till förordning (EG) nr 1333/2008, dvs. som livsmedelstillsatser (se även artiklarna 4-5 i förordning (EG) nr 1333/2008). Varken klor eller någon form av klorlösning har godkänts för användning som livsmedelstillsats, varför det enligt Livsmedelsverkets uppfattning inte är tillåtet att använda klor för dekontaminering av icke-animaliska livsmedel.

Svaret från Livsmedelsverket gav att alla desinficerande tekniker som klor, ozon och väteperoxid behandlas som livsmedelstillsatser och inte processhjälpmedel.

- Det är inte tillåtet att tillsätta klor till ett dricksvatten som ska användas som sköljvatten för exempelvis grönsaker. Det är tillåtet att använda ett dricksvatten med den tillåtna klorhalt detta vatten har behov av som dricksvatten, men det är inte tillåtet att höja klorhalten i ett dricksvatten till maxnivån för dricksvatten i Sverige. Om ytterligare klor tillsätts till ett dricksvatten som ska användas för sköljning av exempelvis grönsaker bedöms tillsättningen göras för att påverka grönsakerna, vilket innebär att klor är att betrakta som en livsmedelstillsats. Klor är inte en godkänd tillsats.
- Samma bedömning görs för väteperoxid och ozon.
- Det är tillåtet att använda ett dricksvatten som UV behandlats som sköljvatten, förutsatt att UV behandlingen endast har används i den utsträckning som dricksvattnet har behov av. I dagsläget finns inga särskilda regler för bestrålning av livsmedel med UV-ljus. Väljer företagaren att använda UV-ljus direkt på livsmedlen måste företagaren visa att livsmedlen inte förändras, eller på något annat vis ändrar egenskaper så att de inte längre är säkra att konsumera.



## Processhjälpmedel

Då det finns en risk för korskontaminering under förädlingssteget och att det i värsta fall kan medföra att enskilda kontaminerade blad kan korskontaminera en hel batch så finns risken att sjukdomsframkallande bakterier i produkten kan tillväxa till halter som vid konsumtion kan orsaka sjukdom hos människan. Därför är det mycket viktigt att hanteringen av grönsaker sker på ett sådant sätt att korskontaminering till flera batcher av produkter minimeras och därmed kan orsaka att flera personer blir sjuka.

Åtgärder som effektiva rengöringsprogram av processutrustning och produktionslokaler och god processhygien är viktiga parametrar för industrin att arbeta med. Som ett viktigt komplement till detta så måste tvätten av bladgrönsaker genomföras på ett sådant sätt att korskontaminering minimeras. Idag sker tvätt av grönsaker oftast i stora bad där man tillsätter vatten av dricksvattenkvalitet för att skölja bort löst sittande smuts såsom jord, sten och bakterier. Studier har dock visat att det är enbart en liten andel av bakterierna på bladen som tvättas bort [21]. Vattnet i tvättbaden blir snabbt kontaminerat och tappar snabbt dricksvattenkvalitet status. Stora mängder vatten krävs för att hålla nere kontamineringen i vattnet. Genom att hantera vattnet så att hygieniska kvaliteten bibehålls så kan vattenåtgången hållas nere och risken för korskontaminering mellan enstaka kontaminerade blad och hela batcher minskas.

Hantering av tvättvatten som kontaminerats kan delvis göras på liknande sätt som i vattenverk, t.ex. genom filtrering, UV, och tillsats av processhjälpmedel som klor, ozon eller andra desinficerande ämnen. Det finns studier som visar att stora mängder vatten inte leder till undvikande av korskontaminering [22]. Olika tekniker har sina för och nackdelar. Hanteringen måste vara praktiskt och ekonomiskt genomförbar. Det finns studier som visar effekt av flera metoder [23]. En hantering av tvättvattnet innebär att livsmedelsföretag som förädlar bladgrönsaker och andra ätfärdiga grönsaker skulle ha en möjlighet att arbeta förebyggande med att minimera riskerna för spridning av sjukdomsframkallande bakterier och kontaminering mellan batcher. I förlängningen innebär denna även stora besparing för företagen vad gäller att minska svinn av livsmedel och förbättra företagets globala miljöpåverkan.

## Slutsatser

Det finns idag ett fortsatt behov att arbeta vidare med dekontaminering av grönsaker, framförallt i syfte att minska risken av korskontaminering mellan bladgrönsaker i förädlingsledet och på så sätt minimera antalet förpackningar av bladsallad som kan vara kontaminerade. Idag finns inget bakteriedödande steg för dessa produkter under produktion vilket gör att om oönskade bakterier finns på grönsakerna så kan dessa tillväxa under lagringen, orsaka sjukdomsutbrott hos konsument och medföra stora återkallelser för producenterna, vilket slutligen bidrar till stor belastning för vårt samhälle och vår globala miljö.

Många tekniker för dekontaminering finns i dag tillgängliga men detta projekt visar på att det inte heller finns någon universell teknik som direkt kan tillämpas i förädlingsledet. Många publicerade studier som genomförts i labbskala visar på att många tekniker endast kan uppnå 1-3 logenheters reduktion av bakterier vilket inte är tillräckligt. En annan problematik är att skala upp dekontamineringstekniker utförda i labbskala till verklig process. Få studier finns genomförda inom detta område.

Flertalet tekniker för dekontaminering som tagits upp i projektet bygger också på att något desinficerande ämne satts till i tvättvattnet för att verka rena vattnet och avdödande på bakterier. Vilka ämnen som får användas och i vilka koncentrationer avgör om de är tillåtna eller ej att använda. T ex får klor användas om halten inte är högre än vad som är tillåtet i dricksvatten. Om man skulle lyfta frågan i fall nya metoder för behandling och dekontaminering är ett processhjälpmedel i stället för en livsmedelstillsats skulle syftet med att tillsätta de desinficerande ämnena vara för att reducera mängden bakterier i tvättvattnet i stället och på så sätt minimera risken för korskontaminering mellan olika batcher. Detta är en fråga som måste lyftas fram på agendan i Sverige och diskuteras vidare mellan olika intressenter i grönsakskedjan, livsmedelsproducenter, myndigheter och forskningsutförare.

## Referenser

1. Han, Y., et al., *Reduction of listeria monocytogenes on green peppers (Capsicum annuum L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 degrees C.* Journal of food protection, 2001. **64**(11): p. 1730-8.
2. Hellstrom, S., et al., *Efficacy of disinfectants to reduce Listeria monocytogenes on precut iceberg lettuce.* Journal of food protection, 2006. **69**(7): p. 1565-70.
3. Benarde, M.A., et al., *Efficiency of chlorine dioxide as a bactericide.* Applied microbiology, 1965. **13**(5): p. 776-80.
4. Sy, K.V., et al., *Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing Salmonella, Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes, and yeasts and molds on fresh and fresh-cut produce.* Journal of food protection, 2005. **68**(6): p. 1176-87.
5. Lee, S.Y., M. Costello, and D.H. Kang, *Efficacy of chlorine dioxide gas as a sanitizer of lettuce leaves.* Journal of food protection, 2004. **67**(7): p. 1371-6.
6. Bari, M.L., et al., *Combined efficacy of nisin and pediocin with sodium lactate, citric acid, phytic acid, and potassium sorbate and EDTA in reducing the Listeria monocytogenes population of inoculated fresh-cut produce.* Journal of food protection, 2005. **68**(7): p. 1381-7.
7. Ukuku, D.O. and W.F. Fett, *Effect of nisin in combination with EDTA, sodium lactate, and potassium sorbate for reducing Salmonella on whole and fresh-cut cantaloupe.* Journal of food protection, 2004. **67**(10): p. 2143-50.
8. Landfeld A., E.V., Kovarikova E., Houska M., Kyos K., Pruchova J. and Novotna P., *Decontamination of cut carrot by Persteril agent based on the action of peroxyacetic acid.* Czech J Food Science, 2010. **28**(6): p. 564-571.
9. Kondo, N., M. Murata, and K. Isshiki, *Efficiency of sodium hypochlorite, fumaric acid, and mild heat in killing native microflora and Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium DT104, and Staphylococcus aureus attached to fresh-cut lettuce.* Journal of food protection, 2006. **69**(2): p. 323-9.
10. Koseki, S. and S. Isobe, *Effect of ozonated water treatment on microbial control and on browning of iceberg lettuce (Lactuca sativa L.).* Journal of food protection, 2006. **69**(1): p. 154-60.
11. Fan X., N.B.A., Doona C.J., Feeherry F.E. and Gravani R.B., ed. *Microbial Safety of Fresh produce.* IFT Press 2010, Wiley-Blackwell.
12. Issa-Zacharia, A., et al., *In vitro inactivation of Escherichia coli, Staphylococcus aureus and Salmonella spp. using slightly acidic electrolyzed water.* Journal of bioscience and bioengineering, 2010. **110**(3): p. 308-13.
13. Bari, M.L., et al., *Effectiveness of electrolyzed acidic water in killing Escherichia coli O157:H7, Salmonella enteritidis, and Listeria monocytogenes on the surfaces of tomatoes.* Journal of food protection, 2003. **66**(4): p. 542-8.
14. Park C.M., H.Y.C., Doyle M.P., Ezeike G.O.I and Kim C., *Pathogen reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water.* Journal of Food Science, 2001. **66**(9): p. 1368-1372.
15. Ajlouni A., S.H., Premier R. and Tomkins B., *Ultrasonication and fresh produce (cos lettuce) preservation.* Journal of Food Science, 2006. **71**(2): p. M62-M68.
16. Zhou B., F.H.a.P.A.J., *Continous-flow ultrasonic washing system for fresh produce surface decontamination.* Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2012. **16**: p. 427-435.
17. Niemira, B.A., *Relative efficacy of sodium hypochlorite wash versus irradiation to inactivate Escherichia coli O157:H7 internalized in leaves of Romaine lettuce and baby spinach.* Journal of food protection, 2007. **70**(11): p. 2526-32.

18. Foley, D., et al., *Irradiation and chlorination effectively reduces Escherichia coli O157:H7 inoculated on cilantro (Coriandrum sativum) without negatively affecting quality*. Journal of food protection, 2004. **67**(10): p. 2092-8.
19. Hadjok, C., G.S. Mittal, and K. Warriner, *Inactivation of human pathogens and spoilage bacteria on the surface and internalized within fresh produce by using a combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide*. Journal of applied microbiology, 2008. **104**(4): p. 1014-24.
20. De La Vega-Miranda B., S.-L.N.A., Lóáez-Malo A. and Sosa-Morales M.E., *Inactivation of Salmonella Typhimurium in fresh vegetables using water-assisted macrowave heating*. Food Control, 2012. **26**: p. 19-22.
21. Allende, A., et al., *Impact of wash water quality on sensory and microbial quality, including Escherichia coli cross-contamination, of fresh-cut escarole*. Journal of food protection, 2008. **71**(12): p. 2514-8.
22. Holvoet, K., et al., *Insight into the prevalence and distribution of microbial contamination to evaluate water management in the fresh produce processing industry*. Journal of food protection, 2012. **75**(4): p. 671-81.
23. Lopez-Galvez, F., et al., *Prevention of Escherichia coli cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce*. International journal of food microbiology, 2009. **133**(1-2): p. 167-71.



**Huvudkontor/Head Office:**

SIK, Box 5401, SE-402 29 Göteborg, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00, fax: +46 (0)31 83 37 82.

**Regionkontor/Regional Offices:**

SIK, Ideon, SE-223 70 Lund, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00.

SIK, Forslunda 1, SE-905 91 Umeå, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00.

SIK, c/o Almi, Box 1224, SE-581 12 Linköping, Sweden.

Telephone: +46 (0)10 516 66 00.

[www.sik.se](http://www.sik.se)