



INSTITUTET FÖR LIVSMEDEL OCH BIOTEKNIK

UPPDRAG • CONTRACT

P80598

Livsmedel utan farliga bakterier – *Listeria monocytogenes* och VTEC

Slutrapport till Jordbruksverket, SJV

Maria Lövenklev och Pernilla Arinder

Januari 2011

Projektinformation

Projekt påbörjat

December 2008

Granskad av

Elisabeth Borch

Projektledare

Maria Lövenklev

Projektgrupp

SIK:

Pernilla Arinder, Lisbeth Märs, Marie Blomqvist, Ingela Karlsson, Alexander Milanov, Dan Melin

Kontaktpersoner deltagande företag:

Jörgen Davenil och Johan Karlsson (Leröy Sverige AB), Niklas Korshag och Anders Hallberg (Falkenbergs Laxrökeri AB), Johan Bengtsson (Hörviks Rökeri 2009 AB), Jeppe Antonsson (David Nordqvist Fiskexport AB), Annette Blom Sedin (K. Lagerströmsföretagen AB), Sara Hakenmyr (DirektChark AB), Agneta Stenberg (ABBA Seafood AB).

Distributionslista

Jordbruksverket, SIK

Nyckelord

Listeria monocytogenes, Verotoxinbildande *E.coli*, kyld ätfärdig mat

Sammanfattning

- Teoretisk mikrobiologisk riskbedömning ingår i ett systematiskt arbetssätt för livsmedelsproducenter att utvärdera och bedöma sina produkter med avseende på produktsäkerhet och hållbarhetstid. I projektet fick sju livsmedelsföretag hjälp med att identifiera var i tillverkningsprocessen som förekomst, tillväxt och avdödning av *L. monocytogenes* och VTEC påverkades i deras kyllda ätferdiga produkter.
- Praktiska försök för att bedöma tillväxt eller avdödning av *L. monocytogenes* i flera av de ätferdiga produkterna verifierade resultaten från den teoretiska riskbedömningen.
- IR behandling har visat sig vara en möjlig processteknik för ytpastörisering och därmed avdödning av *L. monocytogenes* på olika sorters lax.
- Tillsats av konserveringsmedel som laktat/diacetat har visat sig ha en god hämmande effekt av *L. monocytogenes* i kallrökt och gravad lax samt räkor i lake.
- Hygien och rengöringsgenomgångar längs tre processlinjer har kartlagt svaga punkter samt gett företagen underlag för förbättrande åtgärder i sin hantering.
- Biologisk bekämpning av *L. monocytogenes* med bakteriofager (Listex™), direkt på produkt eller på en begränsad produktionsyta kan vara ett bra komplement till rengöring och desinfektion för att förbättra produktsäkerheten.
- Genom rätt val av process och produkt parametrar kan en effektiv reduktion av *Listeria* och *E. coli* O157 uppnås i kallrökt fermenterad korv. Valet av process och produktparametrar liksom val av startkultur bör leda till en bra tillväxt av mjölksyrabakterier och en snabb pH sänkning. I försöken bidrog en låg fetthalt i korven (23%) till en bättre tillväxt av startkulturen och därmed snabbare reduktion av *Listeria* och *E. coli* O157 i jämförelse med en korv med fetthalt på 63%.
- Genom att höja temperaturen under fermenteringen (upp till 30°C) och höja mognadstemperaturen från 16°C till 20°C blev reduktionen av *Listeria* och *E. coli* O157 högre.
- Lagring av kallrökt fermenterad korv vid 25°C istället för 8°C leder till en högre reduktion av *Listeria* och VTEC och därigenom en bättre produktsäkerhet. Detta gäller enbart då kombinationen av pH och vattenaktivitet inte tillåter tillväxt av bakterierna.

INNEHÅLL

PROJEKTINFORMATION.....	2
SAMMANFATTNING.....	3
BAKGRUND.....	5
SYFTE OCH MÅLGRUPP.....	5
PROJEKTETS MÅL.....	5
GENOMFÖRANDE OCH TIDSPLAN.....	6
NOVEMBER – DECEMBER 2008 UPPSTART OCH DEFINIERING AV FRÅGESTÄLLNING.....	6
JANUARI 2009 – DECEMBER 2010.....	7
<i>Behovsanalys av utvalda produkter/processer genom mikrobiologisk riskbedömning.....</i>	<i>7</i>
<i>Utvärdering av risk för tillväxt av Listeria monocytogenes.....</i>	<i>8</i>
<i>Hämma tillväxt av L. monocytogenes i produkt.....</i>	<i>10</i>
<i>Ytpastörisering med IR-teknik.....</i>	<i>11</i>
<i>Hygien och rengöringsgenomgång.....</i>	<i>11</i>
<i>Biologisk bekämpning av L. monocytogenes med Listex.....</i>	<i>12</i>
<i>Utvärdering av processbetingelser i kallrökt fermenterad korv i syfte att förbättra säkerheten m a p VTEC och L. monocytogenes.....</i>	<i>12</i>
<i>VTEC seminarium.....</i>	<i>17</i>
<i>Tidsplan.....</i>	<i>18</i>
SPRIDNING AV PROJEKTETS RESULTAT.....	18
PROJEKTETS FINANSIERING.....	19
PROJEKTETS ARBETSSÄTT.....	19
SLUTSATSER OCH REKOMMENDATIONER.....	19
KONTAKTPERSONER.....	20

Bakgrund

När sjukdomsframkallande bakterier som *Listeria monocytogenes* och VTEC hittas i en livsmedelsprodukt blir konsekvensen omfattande som återkallelse av produkter, kostsamma produktionsstopp och badwill. Risken finns också att man orsakar allvarlig personskada eller dödsfall. Gränsvärden för *L. monocytogenes* finns specificerade i EG-lagstiftningens mikrobiologiska kriterier (EG) nr 2073/2005. Producenten ska kunna visa att gränsvärdena uppfylls under produktens lagringstid. *L. monocytogenes* är känd för att kunna etablera sig i livsmedelslokaler och tillverkningsutrustning som en husflora. Verotoxinbildande *E.coli* (VTEC) är vanligt förekommande i tarmfloran hos nötkreatur. Då endast ett fåtal bakterier behövs för att orsaka allvarlig sjukdom, innebär detta att bakterien inte behöver tillväxa för att orsaka problem, det räcker med att den överlever. Fermenterad korv är en riskproduktgrupp. Eftersom dagens slaktteknik inte kan garantera att nötkött är helt fritt från VTEC måste fermenteringsprocessen vid korvtillverkningen styras så att bakterien inte överlever.

Det finns flera olika sätt att hantera *L. monocytogenes* och VTEC men är beroende på produkt och tillverkningsmetod. Dessa bygger på att minska förekomsten i produkten, hämma tillväxt och avdöda bakterierna. För att bestämma hur dessa bakterier skall hanteras och minimera deras förekomst behöver företagen börja tillämpa ett systematiskt arbetssätt som bygger på en riskbaserad kontroll i kombination med effektiva hygienrutiner och god produktionshygien. Det är i detta fall avgörande att veta om bakterierna t.ex. *L. monocytogenes* kan växa till oacceptabla halter i en viss produkt alternativt att VTEC reduceras under tillverkningen.

Projektet ”Livsmedel utan farliga bakterier” idé är att förmedla ett arbetssätt till små och medelstora livsmedelsföretag som bygger på systematik, riskbedömning och optimering av processer. Detta arbetssätt kan fungera som modell för hela branschen för att lyfta det lagstadgade HACCP-arbetet och öka produktsäkerheten.

Syfte och målgrupp

Syftet med projektet var att genom ett systematiskt arbetssätt bekämpa och förhindra tillväxt av sjukdomsframkallande bakterier; *Listeria monocytogenes* i ätfärdiga livsmedel och VTEC i kallrökt korv. Målgruppen var små och medelstora företag med tillverkning av ätfärdiga livsmedel som skivade charkprodukter, kallrökt fermenterad korv, rökt/gravad fisk, skaldjur i saltlake, paté, ost mm. Vidare skulle projektet samtidigt skapa nya kontakter mellan företagen och med SIK för att ge möjlighet till erfarenhetsutbyte.

Projektets mål

Kvalitativa mål: Att systematiskt identifiera, bedöma, utvärdera risk för tillväxt, kontaminering och överlevnad av de patogena bakterierna *L. monocytogenes* och VTEC för att förbättra produktsäkerheten i utvalda ätfärdiga livsmedel.

Kvantitativa mål: Att genomföra 1-2 seminarier/workshops för projektdeltagare, att utföra 3-5 belastningsförsök i befintliga produkter för att bedöma tillväxt, att genomföra 4-6 praktiska försök för att hitta konkreta förslag på förändringar i produkter och processer (inklusive tillverkning av kallrökt fermenterad korv i pilotskala, IR

behandling, belastningsförsök), att utföra rengöringsgenomgångar i 2-3 processlinjer, att sammanställa 1 underlag till branschrekommendationer för tillverkning av kallrökt korv, att hålla 1-2 öppna seminarier och att sammanställa en slutrapport för projektet.

Måluppfyllelse: Behovsanalys för utvalda ätbara produkter genom mikrobiologisk riskbedömning har genomförts med modeller och prognosmikrobiologi för förekomst, tillväxt och avdödning av *L. monocytogenes* och VTEC. Resultaten har verifierats med praktiska försök i produkt för att utvärdera tillväxt och avdödning. Ett antal konkreta förslag på förändringar i ätbara produkter och processer för att förbättra produktsäkerheten har genomförts och utvärderats. Inledande försök av ytpastörisering har utförts med IR teknik på kallrökt och varmrökt lax för att avdöda *L. monocytogenes*. Försöken utfördes i pilotskala i begränsad omfattning för att utvärdera hur laxstrukturen påverkades av IR behandlingen och bör följas upp i en mer omfattande studie i syfte att hitta optimala behandlings- och processinställningar och reduktionsdata. Tillsats av laktat och diacetat i kallrökt och gravad lax har utvärderats i vakuumpförpackning och i förpackning i koldioxid atmosfär med lovande resultat för både avdödning av *L. monocytogenes* och sensoriskt utlåtande. Produktionen av lax med tillsatser kördes av två laxproducenter i stor skala med goda resultat. Försöken bör kompletteras med mer omfattande sensoriska bedömningar. Även försök med tillsats av laktat/acetat i räkor i lake har utförts med goda resultat.

Hygien och rengöringsgenomgångar av processlinjer hos två charkföretag och på en fiskanläggning har utförts. Kunskapsöverföring, goda exempel, brister och förslag på förbättringar har diskuterats inom projektgruppen vid en gemensam workshop. Att använda bakteriofager för biologisk bekämpning av *L. monocytogenes* (Listex™), direkt på produkt t ex lax eller direkt på processutrustning har utvärderats med bra resultat. Tekniken är ny och har bra förutsättningar att användas som ett komplement till rengöring och desinfektion. Genom projektet har ett flertal kontakter inom området knutits mellan svenska livsmedelsföretag, branschföreningar, tillverkare av Listex™ och Livsmedelsverket.

För att öka produktsäkerheten i kallrökt fermenterad korv med avseende på VTEC och *L. monocytogenes* har flera processbetingelser utvärderats. Bland annat har olika starterkulturer i kombination med olika nitrit och fetthalter varierats för att uppnå så bra bakteriereduktion av som möjligt. Även förändringar i temperaturen under fermentation, mognad och lagring har stor betydelse för att minska halterna av *Listeria* och VTEC i kallrökt korv.

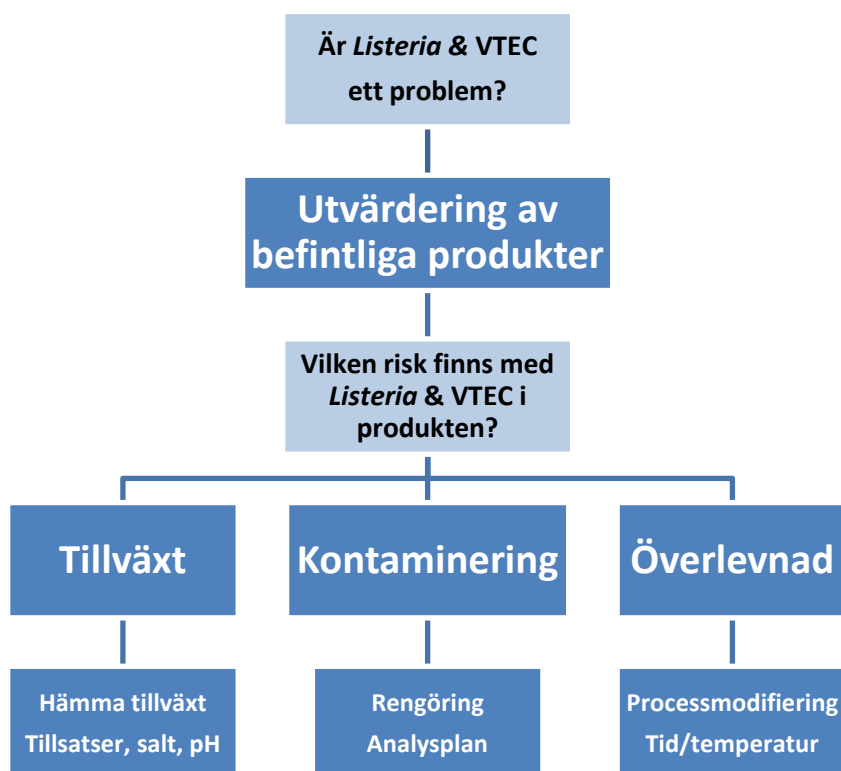
Genomförande och tidsplan

November – december 2008 Uppstart och definiering av frågeställning

Inför starten av projektet och för att ha ett bra underlag inför ett inledande arbets/diskussionsmöte samlades information in kring vilka frågeställningar som företagen skulle vilja prioritera. Företagen ombads att beskriva vilket problem och frågeställning kring *L. monocytogenes* och/eller VTEC som de ville ha svar på, vilka produkter som kunde vara aktuella att arbeta med i projektet samt beskriva hur de idag inom sitt företag arbetar för att visa att sina produkter klarar lagkrav och gränsvärden. Företrädare från elva företag som producerar ätbara livsmedel deltog vid det första arbetsmötet. Av dessa valde fem fisk/skaldjursföretag och två charkföretag att delta i projektet. Deltagande företag var: Leröy Sverige AB, Falkenbergs Laxrökeri AB, Hörviks Rökeri 2009 AB, David Nordqvist Fiskexport AB, K. Lagerströmsföretagen AB, DirektChark AB och ABBA Seafood AB.

Januari 2009 – December 2010

Deltagande företag valde initialt ut en till två produkter att arbeta med i projektet där risk för *L. monocytogenes* alternativt VTEC kunde förekomma. Produkterna var kallrökt och gravad lax, najad lax (som både är gravad och kallrökt), räkor i lake, storkornsrom, falukorv, bacon och kallrökt fermenterad korv. I nedanstående flödesdiagram (figur 1) finns systematiken och arbetsstegen beskriven. Ljusblå fält belyser frågeställningar och de mörkare blå fälten innebär arbetsinsatser. Frågeställningen som fanns i projektet var om det finns eller kan uppstå problem med *Listeria* eller VTEC i produkten och hur tillverkningen bör styras för att säkra produkter skall erhållas. Arbetsinsatserna beskrivs nedan.



Figur 1. Flödesschema som beskriver arbetsgången i projektet.

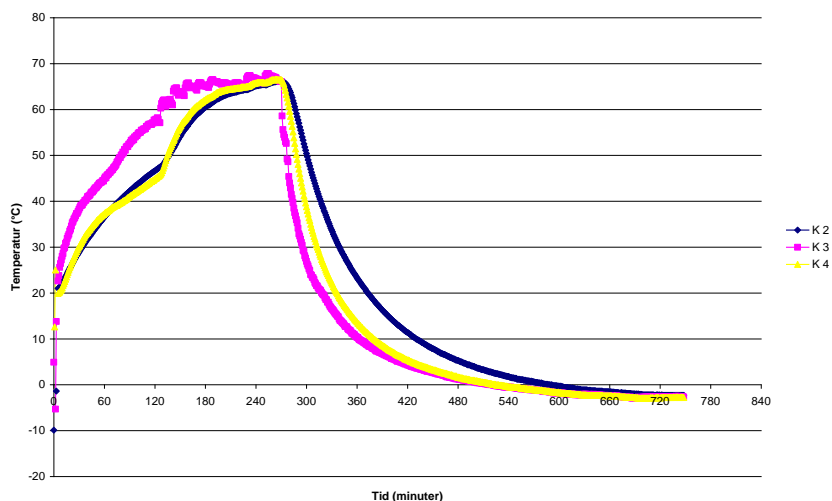
Behovsanalys av utvalda produkter/processer genom mikrobiologisk riskbedömning

De olika produkterna utvärderades med hjälp av teoretisk mikrobiologisk riskbedömning. Målet med detta delprojekt var att identifiera var i tillverkningen som förekomst, tillväxt och avdödning av *L. monocytogenes* eller VTEC påverkades och som i slutändan kan inverka på produktsäkerheten vid konsumtionstillfället. Metoden är ett bra arbetssätt för företag att utvärdera och bedöma att produktens hållbarhetstid är rimligt bestämd från början.

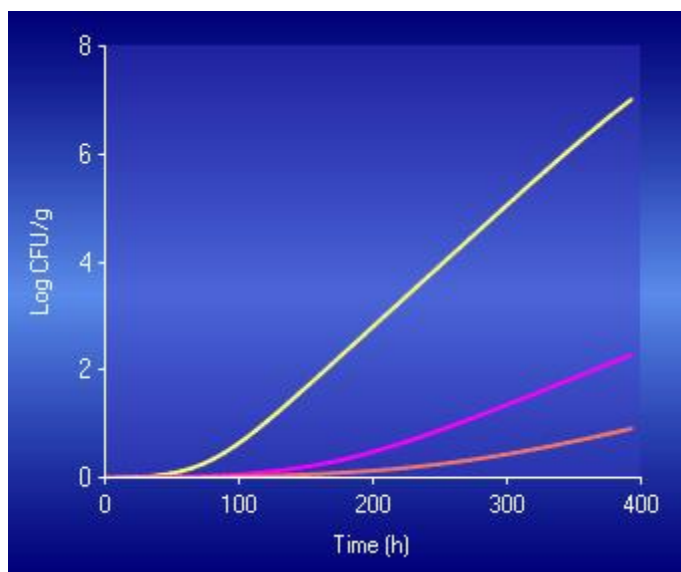
Utifrån företagets processbeskrivningar, befintlig produkt- och analysdata och praktiska genomgångar (figur 2; uppmätning av tid/temperaturförlopp och analys av produktparametrar) hos de enskilda företagen genomfördes riskbedömningarna på SIK. Utifrån all insamlad data och litteratur gjordes bedömningar teoretiskt med hjälp av modeller för tillväxt och avdödning (t. ex. Combase och SSSP v 3). Ett exempel på resultat på tillväxt av *L. monocytogenes* i produkt vid tre olika lagringstemperaturer

visas i figur 3. Utifrån dessa modeller och tillväxtkurvor har företagen och fått en bedömning och utvärdering av produktens hållbarhetstid.

Resultaten för varje företag har redovisats i 7 separata projektrapporter. I syfte att sprida ny kunskap om hur olika typer av produkter/processer påverkar livsmedelssäkerheten m a p *L. monocytogenes* och VTEC redovisades icke- konfidentiella resultat vid ett seminarium för projektdeltagarna i slutet av maj 2009 på SIK. Materialet användes dessutom som underlag för fortsatt planering i projektet.



Figur 2. Temperatur i köttprodukt under värmebehandling och nedkylning. Temperaturen är mätt i 3 olika punkter av SIK.

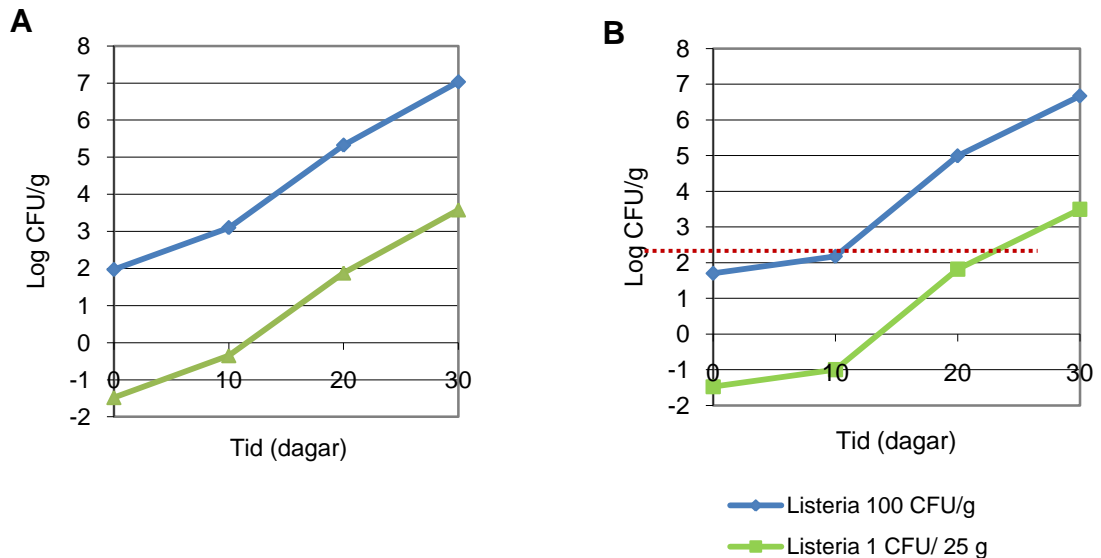


Figur 3. Tillväxt av *L. monocytogenes* under lagring vid 2°C (aprikos), 4°C (rosa) och 8°C (gul) i köttprodukt med pH 6,4, salthalt i vattenfas 3% och nitrithalt 150ppm.

Vid projektmötet i maj 2009 deltog även ett par externa föredragshållare för att ge projektdeltagarna en fördjupad kunskap kring *L. monocytogenes* och för att ge inspiration inför det fortsatta arbetet inom projektet. Från DTU Aqua i Danmark kom Birte Vogel Fonnesbach och pratade om deras arbete med att bekämpa *Listeria* inom fiskindustrin i Danmark. Vidare deltog Peter Gibson från Ecolab AB och pratade om nyheter inom rengöring för att ha kontroll på *Listeria* och från SIK deltog, utöver projektgruppen, Ingela Lindeblom som pratade om IR teknik för ytpastörisering och Birgitta Raaholt som pratade om kontinuerlig mikrovågsvärmning.

Utvärdering av risk för tillväxt av *Listeria monocytogenes*

Utifrån resultaten av riskbedömningen genomfördes belastningsförsök på kallrökt och gravad lax samt på kallrökt och gravad lax med en lägre salthalt (2 %). Även olika saltningssätt (injektor- eller torrsaltad) utvärderades. Vid försöket tillsattes en mix av olika *L. monocytogenes* på laxen för att simulera verklig kontaminering (smitta). Proverna lagrades under två olika temperaturförhållanden; serie 1: 4°C i 30 dagar och serie 2: 4°C i 20 dagar och därefter 8°C i 10 dagar för att återskapa konsumentledet. Prover togs även på pH, a_w och salthalt under hela lagringen.



Figur 4. Tillväxt av *L. monocytogenes* i (A) gravad lax (B) kallrökt lax som lagrats i 4°C i 20 dagar och därefter i 8°C i 10 dagar. Totala lagringstiden är 30 dagar.

Gravad lax var något mer känslig för en ojämn lagringstemperatur än kallrökt lax (Figur 4; blå kurva). Tillväxten av *L. monocytogenes* var som högst för gravad lax när den lagrats vid 4°C, 20 dagar och därefter 8°C i 10 dagar. Försöket visar att varken gravad eller kallrökt lax var tillräckligt stabila för att hämma tillväxten av *L. monocytogenes* under 30 dagars lagring.

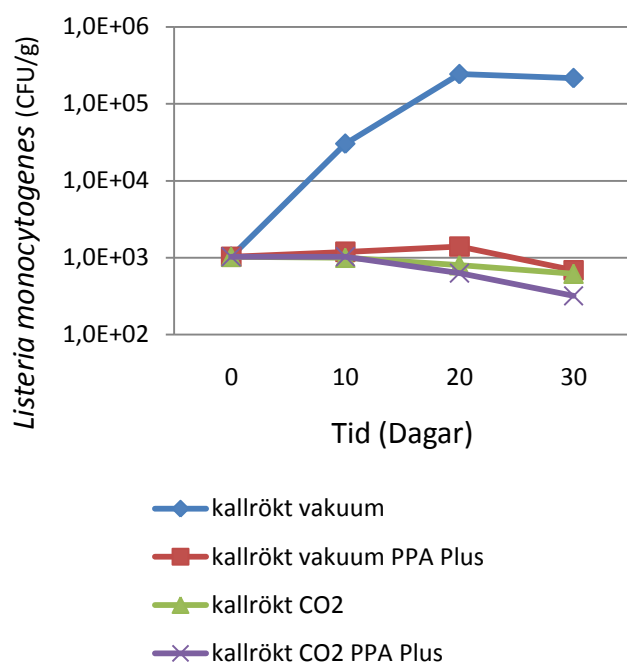
Om man överför dessa resultat till ett verkligt scenario där lax kan kontamineras med 1 CFU per 25 g (Figur 4; grön kurva) så når både gravad och kallrökt lax gränsvärdet på 100 CFU/g efter ca 20-21 dagar. Detta ger att bäst före datum för kallrökt och gravad lax bör vara mindre än 21 dagar.

Belastningsförsök gjordes också på räkor i lake då resultatet från riskbedömningen visade på en eventuell tillväxt av *L. monocytogenes* under hållbarhetstiden. Produkten utvärderades vid tre olika nivåer på konserveringsmedel; befintlig nivå, en högre och max tillåten nivå och en lägre nivå. Vid försöket tillsattes en mix av *L. monocytogenes* i produkten för att simulera en verklig kontaminering (smitta). Därefter lagrades produkterna vid 8°C i 10 veckor. Ingen produkt av de tre nivåerna på konserveringsmedel hämmade tillväxt av *L. monocytogenes*. En trolig orsak är produktens pH som var hög för att de två konserveringsmedlen skulle vara verksamma.

Hämna tillväxt av *L. monocytogenes* i produkt

Tillsatser som är baserade på laktat och diacetat kan hämma tillväxt av *L. monocytogenes*. I projektet har kommersiella tillsatser utvärderats för att hämma tillväxt av *L. monocytogenes* i kallrökt och gravad lax samt i räkor i lake. Livsmedelsföretagen tillverkade produkterna med tillsats av konserveringsmedel och tillväxtförsöken utfördes på SIK. För t ex lax användes två konserveringsmedel, Optiform PPA Plus (kräver E-nummer) och Purarom NA4V (naturlig tillsats) från Purac/Norfoods. Även CO₂ hämmar tillväxt av *L. monocytogenes* och används idag inom charkindustrin. All kallrökt och gravad lax vakuumpförpackas. Vid dessa försök valdes därför också förpackning av kallrökt och gravad lax i 95% CO₂ (AGA) ut som intressant tillväxthämmare att studera. All lax lagrades vid 4°C i 30 dagar. Utseende och färg bedömdes av SIK och smak och lukt av företrädare från deltagande företag.

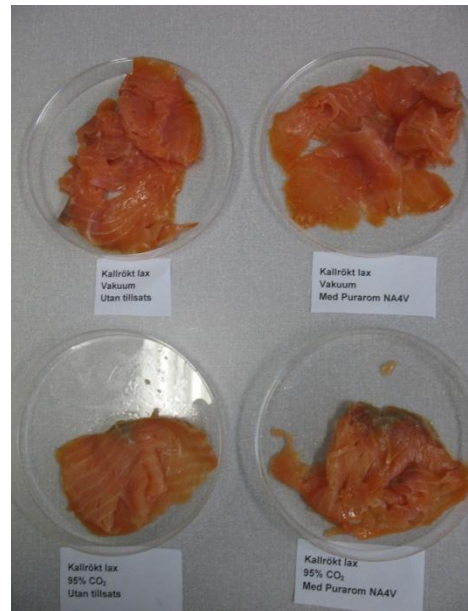
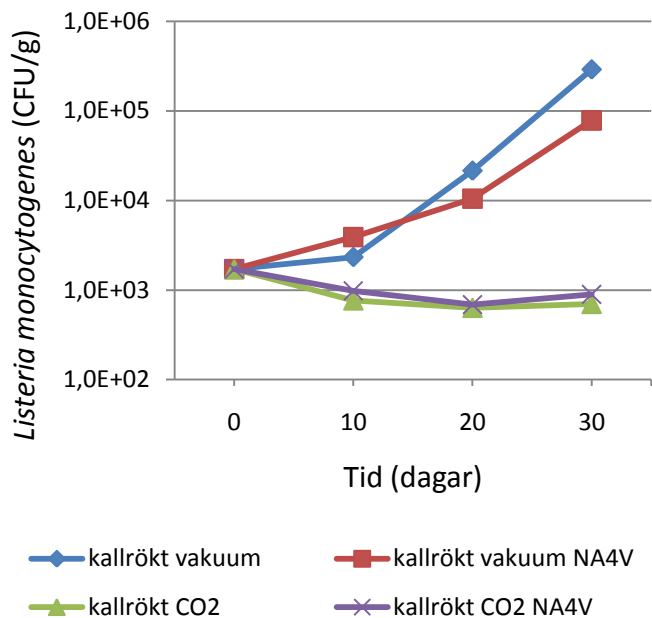
Utvärderingen av de olika tillsatserna gav varierande resultat. Förpackning i 95% CO₂ hämmade tillväxten av *L. monocytogenes* under 30 dagars lagring, både för gravad och kallrökt lax (kallrökt lax i figur 5). Även tillsats av Optiform PPA Plus hämmade tillväxten av *Listeria*. Däremot såg ingen ytterligare minskning av antalet *Listeria* bakterier då en kombination av 95% CO₂ och Optiform PPA Plus användes.



Figur 5. Tillväxt av *L. monocytogenes* och färgförändring av kallrökt lax lagrad med tillsats av Optiform PPA Plus, förpackad i vakuumpackning alternativt 95% CO₂.

Försöken visade att laxen blektes vid lagring i 95% CO₂; graden av blekning varierade något beroende om laxen var gravad eller kallrökt. Tillsatsen av Optiform PPA Plus kunde däremot förstärka laxens färg.

När tillsatsen Purarom NA4V användes i laxen sågs enbart en begränsad hämning av tillväxten av *L. monocytogenes* (Figur 6). Orsaken till detta beror på en feldosering vid beredning av laxen; den slutliga koncentrationen av Purarom NA4V var en tiondel av rekommendationerna från Purac/Norfoods. Här behövs ytterligare försök för att utvärdera Purarom NA4V's hämmande effekt på tillväxten av *Listeria*. Däremot hade lagring i CO₂ atmosfär en tydligt hämmande effekt av *Listeria* bakteriens tillväxt, då ingen tillväxt skedde i dessa prov under 30 dagars lagring.



Figur 6. Tillväxt av *L. monocytogenes* och färgförändring av kallrökt lax med tillsats av Purarom NA4V, förpackad i vakuum alternativt 95% CO₂.

Ytpastörisering med IR-teknik

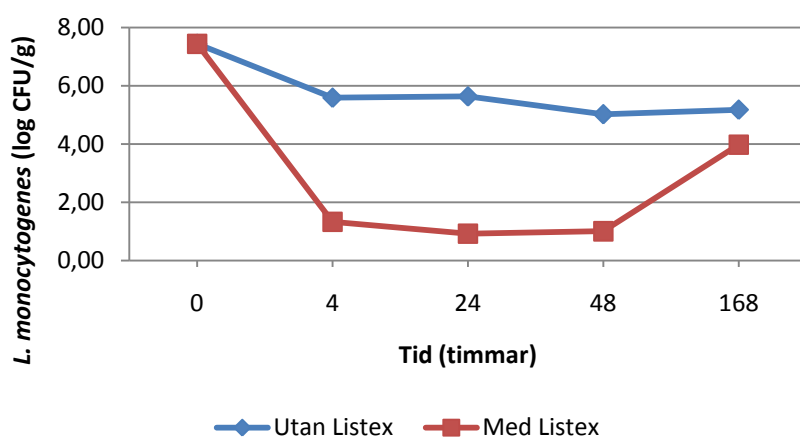
Möjligheten att använda ny processteknik för att ytpastörisera lax utvärderades inom projektet. Då tekniken aldrig använts på lax tidigare var företagen intresserade av att göra inledande försök på både kallrökt och varmrökt lax. Dessa försök utfördes i pilotskala och syftet med dessa initiala försök var att undersöka vilka färgförändringar som kan uppkomma på laxen under/efter en IR behandling t ex färg, struktur och vätskesläpp. Utvärderingen utfördes i två steg. Vid första omgången utfördes försök med olika tid och temperaturkombinationer (70-90°C/0s-2 min) som teoretiskt ska avdöda 6 logenheter av *L. monocytogenes*. Kvalitetsförändringarna studerades direkt efter behandlingen och 24 h efter en behandling av företrädarna från de fyra laxföretagen. Utifrån dessa bedömningar tillsammans med laxproducenterna valdes tre tid/temperaturkombinationer ut att gå vidare med för en andra omgång av IR körning och utvärdering tillsammans med hela projektgruppen vid projektmötet den 28 januari 2010. Följande tid/temperaturkombinationer valdes (70°C/1 min; 80°C/5 s; 90°C/0s). De största kvalitetsförändringarna som uppmärksammades vid bedömningarna var en kraftigare röksmak efter IR behandling (Detta uppfattades över lag som positivt) och en något torrare och lösare konsistens. Tekniken bedömdes som positiv för ytpastörisering av både kallrökt och varmrökt lax, men flera försök behövs för att fullständigt utvärdera tekniken på dessa typer av livsmedelsprodukt.

Hygien och rengöringsgenomgång

Tre processlinjer, en fisk och två chark, har i projektet granskats systematiskt för att utvärdera rengöring och kontaminering av personer från SIK. Erfarenheten från dessa genomgångar redovisades vid en workshop för projektdeltagarna under januari 2010. Vid denna workshop fick projektdeltagarna möjlighet att tillsammans utvärdera bra och mindre bra exempel på hantering i samband med rengöring samt gemensamt diskutera fram förslag till förbättringar. Deltagarna hade även vid detta tillfälle gemensamma gruppdiskussioner och möjligheter att utbyta erfarenheter kring rengöring, provtagning och analyser.

Biologisk bekämpning av *L. monocytogenes* med Listex

Bakteriofager är virus som kan användas för biologisk bekämpning av bakterier. Idag finns det kommersiella bakteriofager för biologisk bekämpning av olika patogena bakterier. Listex P100™ (www.ebifoodsafety.com) är en specifik fag för att bekämpa kontaminering av *L. monocytogenes*. Bakteriofagen är godkänd av FDA och kategoriseras som GRAS dvs General Recognised as Safe. Fager för biologisk bekämpning kan användas både på livsmedel och på produktionsytor. I detta projekt utvärderades användningen av Listex™ dels direkt på kallrökt lax där *Listeria* bakterien satts till och dels på skärbrädor och knivar som ”smutsats ner” av lax och *Listeria* bakterien. Reduktionen av *L. monocytogenes* både på lax och på skärbrädor är direktverkande; redan efter 4 h hade antalet bakterier minskat med flera log enheter. På skärbrädor var skillnaden mellan Listex behandlad skärbräda och obehandlad skärbräda mer än 4 logenheter efter 4 h (se figur 7). Listex™ behandlingen verkade upptill 48 h, detta gällde både på laxprodukter och på skärbrädor. Efter 48 h kunde ev *Listeria* bakterier som inte infekterats av bakteriofager börja tillväxa.



Figur 7. Reduktionen av *L. monocytogenes* på skärbrädor som behandlats med Listex alternativt inte behandlats med Listex.

Utvärdering av processbetingelser i kallrökt fermenterad korv i syfte att förbättra säkerheten m a p VTEC och *L. monocytogenes*

I detta delprojekt var syftet att utvärdera om det var möjligt att genom att modifiera olika processbetingelser eller receptet vid tillverkning av kallrökt fermenterad korv uppnå en säkrare korv m a p VTEC och *L. monocytogenes* med bibehållen hög sensorisk kvalitet. Kallrökt fermenterad korv är en produkt som inte genomgår någon värmebehandling som kan ses som ett reducerande steg för avdödning av VTEC. Däremot blir miljön i korven så ogynnsam genom fermentering att VTEC inte kan tillväxa utan minskar i antal med tiden. Då korven fermenteras tillsätts en startkultur bestående av bl.a. mjölksyrabakterier som bildar mjölksyra och sänker pH i produkten då de tillväxer. När pH sänks i korven sänks vattenaktiviteten. Kombinationen av lågt pH, låg vattenaktivitet och odissocierad mjölksyra gör att VTEC har svårt att överleva. VTEC är en kritisk bakterie för kallrökt fermenterad korv eftersom låga halter av bakterien kan orsaka sjukdom. Halten VTEC i korven vid konsumtion beror på halten av VTEC i kött råvaran, om bakterien tillväxer under tillverkningsprocessen och/eller hur mycket bakterien reduceras under tillverkning, lagring och fram till konsumtionstillfället.

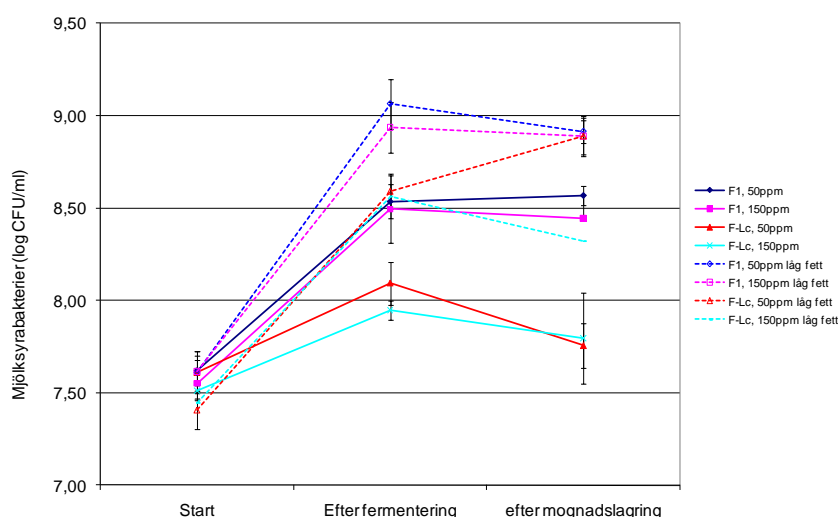
I projektet har korv tillverkats vid SIKs pilotskalanläggning. Faktorer som varierades vid beredning av korvsmet var *fetthalt* (23%, 63%), *nitrit* (50ppm, 150 ppm) och *startkultur* (F1 och F-LC; Chr. Hansen; olika hämmande effekt på *L. monocytogenes*). Vid utvärdering korv med olika fetthalt, nitrit och startkultur fermenterades korvarna vid 20°C under 4 dagar och mognadslagrades vid 18°C. Även försök utfördes där *fermenteringstemperaturen* (24°C alt. 30°C), *mognadslagringstemperaturen* (16°C alt 20°C) och *lagringstemperaturen* (8°C och 25°C) varierades.

Vid all tillverkning av korv användes en icke virulent indikatorbakterie, *Listeria innocua* istället för *L. monocytogenes* och icke patogen *E. coli* O157 då den blandades i korvsmeten. Även det totala antalet mjölksyra bakterier analyserades.

Variation av recept

pH i korvar tillverkade med olika startkulturer, FI och F-LC (Chr-Hansen) sjönk olika snabbt under den första delen av tillverkningen av korvarna, d.v.s. under fermenteringen. Skillnaden var störst för korv med fetthalten 63 % vid jämförelse med korv med 23 % ig fetthalt. De två olika nivåerna av nitrit (50ppm och 150ppm) resulterade inte i någon skillnad i pH sänkningen. Efter 5 dagars fermentering låg pH i korvarna mellan 4.4 och 4.6. Ingen tydlig skillnad i pH sågs mellan korv med 63% fetthalt och med 23% fetthalt. Dessa försök är enbart utförda vid ett tillfälle. Därför behöver fler upprepade försök utföras för att fastställa skillnader beroende av startkultur och av naturliga variationer i pH sänkning vid korvtillverkning.

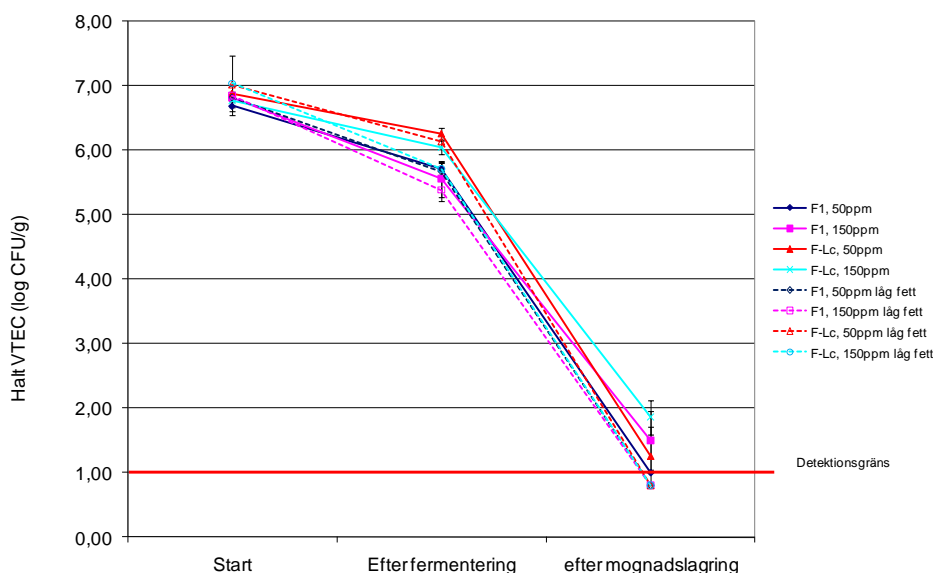
Tillväxten av startkulturen under fermenteringen illustreras genom analys av mjölksyrabakterier (se figur 8). Försöken visar att halten mjölksyrabakterier var högre efter fermentering i korv med 23% fetthalt än vid 63% fetthalt. Halten mjölksyrabakterier var även högre då startkulturen F1 användes jämfört då startkulturen F-LC användes. Tendensen var även att mjölksyran växte till något högre halter då korven innehöll 50 ppm nitrit jämfört med 150 ppm. Korven med låg och hög fetthalt tillverkades vid 2 olika tillfällen vilket skulle kunna innebära skillnader i sig själv.



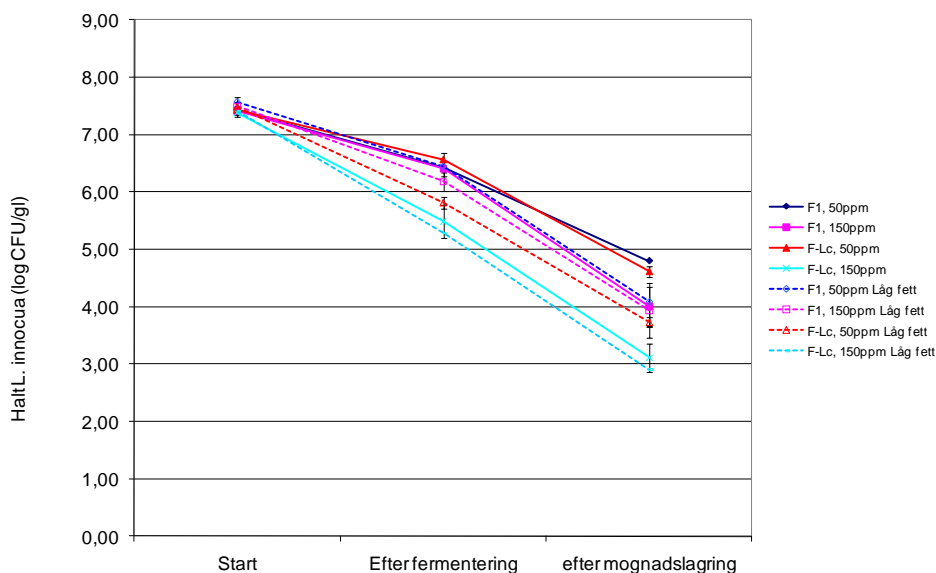
Figur 8. Halt av mjölksyrabakterier under fermentering och mognadslagring

Skillnaden i halten av *E. coli* O157 efter fermenteringsdelen var enbart 1 logenhet då fetthalt, startkultur och nitrithalt varierades (figur 9). Skillnaden efter mognadslagringen kan inte bedömas eftersom halten i några av korvarna var under detektionsnivån och därmed inte känd. Halten *E. coli* O157 reducerades i dessa försök betydligt snabbare än

vad som bedöms utifrån hur utbrottsstammar reduceras (se diskussion under rubriken *Variation av temperatur under mognadslagring*). Halten *E. coli* O157 är dock något lägre i korv med startkulturen F1 än med F-LC efter fermenteringssteget. Detta kan bero på att pH också sjönk snabbare och till lägre nivåer i dessa korvar. Halten mjölksyrabakterier var också högre i dessa korvar, d.v.s. startkulturen tillväxte till högre halter. Halten *L. innocua* var däremot lägre efter tillverkning i korv med startkulturen F-LC i de korvar med 150 ppm (figur 10). Kulturen F-LC är en kultur som skall hämma *Listeria*.



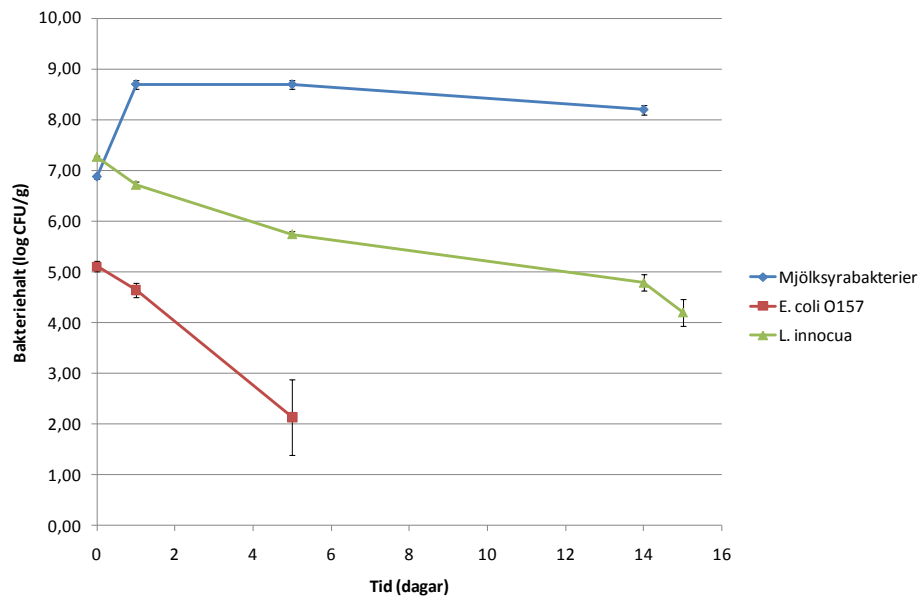
Figur 9. Halt av *E. coli* O157 under fermentering och mognadslagring



Figur 10. Halt av *L. innocua* under fermentering och mognadslagring

Variation av temperatur vid fermentering

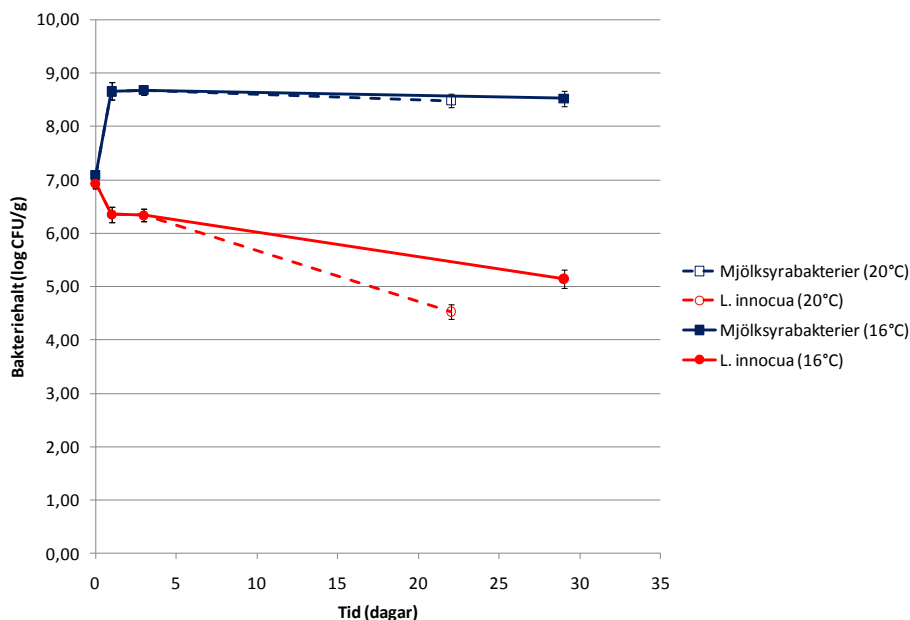
Då korven fermenterades vid 24°C respektive 30°C sänktes pH med olika hastighet; snabbast vid 30°C. Även luftfuktigheten i röskåpet påverkade pH-sänkningen; snabbare pH-sänkning vid högre luftfuktighet. Reduktionen i korv som fermenterades vid 30°C och luftfuktigheten 86-94% var snabbare än då fermentering skedde vid 20°C (se figur 11). Reduktionen av *E. coli* O157 vid fermenteringstemperaturen 30°C var 2-4 logenheter jämfört med 0,5-1,7 logenheter då temperaturen var 20°C. Det sågs dock ingen ökning i reduktion av *L. monocytogenes* vid fermentering vid 30°C jämfört med 24°C.



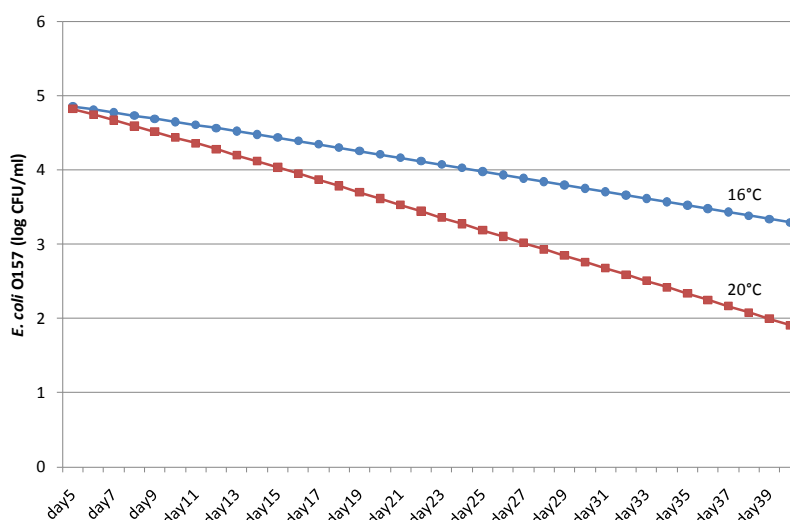
Figur 11. Tillväxt av mjölksyrabakterier (startkultur F1) och reduktion av *E. coli* O157 och *L. innocua* vid fermentering av korv vid 30°C och RH 86-94% under 5 dagar följt av mognadslagring vid 20°C.

Variation av temperatur under mognadslagring

L. innocua reducerades snabbare i fermenterad korv som mognadslagrades vid 20°C än vid 16°C (figur 12). Detta kan bero på en snabbare sänkning av vattenaktiviteten vid 20°C än vid 16°C samt att en högre temperaturer har den effekten att bakterieminskningen går snabbare då produkttegenskaperna inte tillåter tillväxt. De stammar av *E. coli* som användes i projektet minskade till under detektionsnivån efter mognadslagringen både då lagringen skedde vid 16°C och 20°C. Enligt modeller för överlevnad av *E. coli* O157 så reduceras dock även denna bakterie snabbare vid högre temperatur (figur 13). Det innebär att produkten blir säkrare om temperaturen under mognadslagringen höjs eftersom konsumenten sannolikt får i sig färre bakterier. Många företag låter fermenterad korv mognadslagras vid 16-18°C i dag.



Figur 12. Tillväxt av mjölksyrabakterier (startkultur F1) och reduktion av och *L. innocua* vid fermentering av korv vid 30°C (RH 81-83%) under 2 dagar följt av mognadslagring vid 16 respektive 20°C.

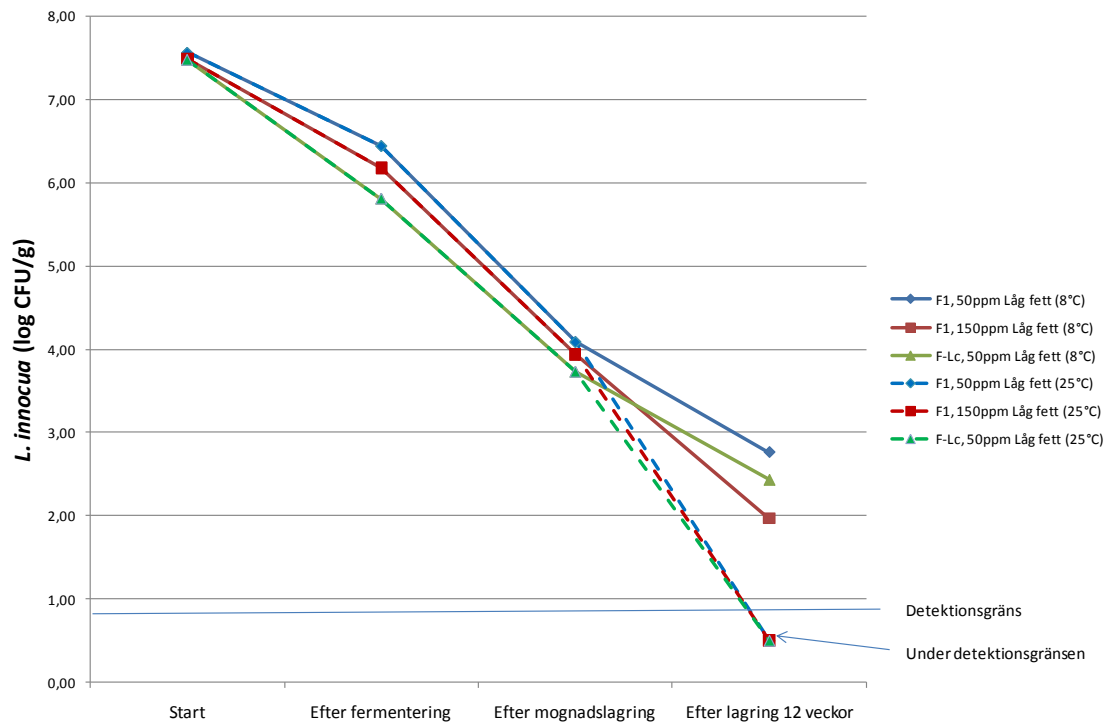


Figur 13. Reduktion av *E. coli* O157 under mognadslagring vid 16°C respektive 20°C enligt modell byggd på utbrottsstam från Sverige (modellen är framtagen i projekt Safe ferment).

Korv som tillverkats vid 30°C fermenteringstemperatur och 16°C respektive 20°C mognadstemperatur provsmakades efter ytterligare lagring vid 8°C respektive 20°C av 3 personer varav 2 med stor erfarenhet av kallrökt korv. Produkt som mognadslagrats vid 20°C var inte så jämn på ytan som den som mognadslagrats vid 16°C. Lukt och smakmässigt kunde ingen skillnad ses mellan produkterna. Den korv som mognadslagrats vid 20°C kunde möjligen uppfattas som något mörkare. Ingen skillnad kunde ses om produkten lagrats i kyla eller rumstemperatur (20°C) efter mognadslagringen. Det kan hända att skillnader kan ses för korvar som tillverkas med andra processer, t.ex. med kortare tid för mognadslagring.

Variation av lagringstemperaturen

pH och vattenaktivitet i den fermenterade korven tillåter inte tillväxt av *L. innocua* och *E. coli*. Istället reduceras dessa bakterier i antal med tiden vilket medför att även temperaturen under lagringen har betydelse. I figur 14 visas att *L. innocua* reduceras mer om produkten lagras vid 25°C än vid 8°C. Detta betyder att det är lägre risk att någon blir sjuk av *L. monocytogenes* i en produkt som lagrats i rumstemperatur än i kyla. Detsamma gäller för VTEC i denna korv.



Figur 14. Effekt av lagringstemperaturen på reduktion av *L. innocua* i kallrökt fermenterad korv.

VTEC seminarium

27 januari 2010 hölls ett öppet seminarium kring VTEC med titeln "Var finns VTEC och hur kan vi hantera denna bakterie?" i Uppsala tillsammans med JTI. Seminariet syftade till att sprida kunskap om hur VTEC läget ser ut i Sverige och vad man kan göra i olika led i livsmedelskedjan för att hantera VTEC. Föreläsare var Sofie Ivarsson (SMI) Karin Nyberg (SVA), Erik Eriksson (SVA), Mats Lindblad (SLV), Jakob Ottosson (SLU/SVA) och Pernilla Arinder (SIK).

Tidsplan

Aktivitet	2008 dec	2009 vt	2009 ht	2010 vt	2010 ht
Uppstart och planering					
Behovsanalys inkl MRA					
Tillväxt Listeria i bef. produkt					
Workshop projektdeltagare					
Försök i pilotskala/kallrökt korv					
Rengöringsgenomgång					
IR behandling lax					
VTEC seminarium					
Underlag branschriktlinjer VTEC					
Utvärdering förändringar i produkt/process					
Resultatsammanställning					
Slutrapport och slutseminarium					

Inga avvikelser förekommer från tidsplanen (nov 2008-nov 2010).

Spridning av projektets resultat

Projektet har presenterats skriftligen i branschtidsskriften Livsmedel i Fokus Nr 5 2010 samt i SIK's årsrapport 2010 (på svenska och engelska). SIK's årsrapport har stor spridning till svenska och internationella livsmedelsföretag. Resultat från projektet har även presenterats i form av en poster på den internationella konferensen 22nd International ICFMH Symposium Food Micro 2010, Köpenhamn.

Projektet har även presenterats med muntlig presentation vid SIK's medlemsdag "Färsforskning" i mars 2010, vid den internationella konferensen Food Factory 2010, Göteborg och vid SIKs nätverksträff (Säker Mat) 2010, Lund.

Slutresultat från projektet presenterades vid en temadag på SIK under namnet "Hantering av mögel och farliga bakterier i livsmedelsindustrin", 25 november 2010. Temadagen som lockade 85 deltagare innehöll förutom redovisning av projektet även presentationer från inbjudna talare. Presentationerna skulle ge ytterligare inspiration till hur man kan hantera mikroorganismer som orsakar problem vid livsmedelsproduktion. Även slutresultaten från projektet har presenterats på avslutningsmötet av projektet Hälsosamma Charkprodukter och på mejeritekniska föreningens årsmöte i december 2010 i Göteborg.

Projektets resultat är i första hand av intresse för livsmedelsproducenter för kylda ätfärdiga livsmedel men hela livsmedelsindustrin kan ha nytta av resultaten och framförallt av arbetssättet att systematiskt arbeta med sina produkter och processer för att bekämpa förekomst och förhindra tillväxt av olika patogena och produktförstörande bakterier.

Projektets finansiering

Detta projekt har drivits med finansieringsstöd från Jordbruksverket inom ramen för regeringens satsning ”En livsmedelsstrategi för Sverige”.

Projektets totala kostnad uppgick till 2 606 531 SEK.

Finansiärer:

Jordbruksverket:	1 303 265 SEK
Deltagande företag och SIK:	<u>1 303 265 SEK</u>
Totalt	2 606 531 SEK

Projektets arbetssätt

SIK – Institutet för livsmedel och Bioteknik har varit projektledare och har genomfört huvuddelen av det praktiska och teoretiska arbetet.

Deltagande företag har bidragit med att producera bl a specialanpassad lax och räkor i lake för försök på SIK, genomfört vissa produktanalyser, bidragit med produkt och processdata och varit aktiva deltagare vid bedömningar och projektmöten.

Slutsatser och rekommendationer

Teoretisk mikrobiologisk riskbedömning är ett bra systematiskt arbetssätt för livsmedelsproducenter att utvärdera och bedöma sina produkter med avseende på produktsäkerhet och hållbarhetstid. I projektet fick sju livsmedelsföretag hjälp med att identifiera var i tillverkningsprocessen som förekomst, tillväxt och avdödning av *L. monocytogenes* och VTEC påverkades i deras kyllda ätbara produkter.

Praktiska försök för att bedöma tillväxt eller avdödning av *L. monocytogenes* i flera av de ätbara produkterna verifierade resultaten från riskbedömningen.

Följande konkreta förslag på förändringar för att hämma tillväxt och avdöda *L. monocytogenes* och VTEC i ätbara livsmedel rekommenderas:

- IR behandling har visat sig vara en möjlig processteknik för ytpastörisering och därmed avdödning av *L. monocytogenes* på olika sorters lax.
- Tillsats av konserveringsmedel som laktat/diacetat har visat sig ha en god hämmande effekt av *L. monocytogenes* i kallrökt och gravad lax samt räkor i lake.
- Hygien och rengöringsgenomgångar längs tre processlinjer har kartlagt svaga punkter samt gett företagen underlag för förbättrande åtgärder i sin hantering.
- Biologisk bekämpning av *L. monocytogenes* med bakteriofager (Listex™), direkt på produkt eller på en begränsad produktionsyta kan vara ett bra komplement till rengöring och desinfektion för att förbättra produktsäkerheten.

- Genom rätt val av process och produkt parametrar kan en effektiv reduktion av *Listeria* och *E. coli* O157 uppnås i kallrökt fermenterad korv. Valet av process och produktparametrar liksom val av startkultur bör leda till en bra tillväxt av mjölksyrabakterier och en snabb pH sänkning. I försöken bidrog en låg fetthalt i korven (23%) till en bättre tillväxt av startkulturen och därmed snabbare reduktion av *Listeria* och *E. coli* O157 i jämförelse med en korv med fetthalt på 63%.
- Genom att höja temperaturen under fermenteringen (upp till 30°C) och höja mognadstemperaturen från 16°C till 20°C blev reduktionen av *Listeria* och *E. coli* O157 högre.
- Lagring av kallrökt fermenterad korv vid 25°C istället för 8°C leder till en högre reduktion av *Listeria* och VTEC och därigenom en bättre produktsäkerhet. Detta gäller enbart då kombinationen av pH och vattenaktivitet inte tillåter tillväxt av bakterierna.

Kontaktpersoner

Maria Lövenklev, projektledare
Pernilla Arinder, delprojektledare VTEC

maria.lovenklev@sik.se
pernilla.arinder@sik.se

Telefon SIK: 010-516 66 00



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