

# Test av verktøy for kontroll med *Listeria* i laks og lakseprodukter

## Faglig sluttrapport

Even Heir, Askild Holck, Mats Carlehög, Edgar Henriksen, Lars Erik Solberg, Merete R. Jensen, Kristian H. Liland og Birgitte Moen





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 390 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

**Hovedkontor Tromsø:**

Muninbakken 9–13  
Postboks 6122 Langnes  
NO-9291 Tromsø

**Ås:**

Osloveien 1  
Postboks 210  
NO-1431 ÅS

**Stavanger:**

Måltidets hus, Richard Johnsgate 4  
Postboks 8034  
NO-4068 Stavanger

**Bergen:**

Kjerreidviken 16  
Postboks 1425 Oasen  
NO-5844 Bergen

**Sunnalsøra:**

Sjølsengvegen 22  
NO-6600 Sunndalsøra

**Felles kontaktinformasjon:**

Tlf: 02140  
E-post: [post@nofima.no](mailto:post@nofima.no)  
Internett: [www.nofima.no](http://www.nofima.no)

**Foretaksnr.:**

**NO 989 278 835 MVA**



Creative commons gjelder når ikke annet er oppgitt

# Rapport

<b>Tittel:</b> <b>Test av verktøy for kontroll med <i>Listeria</i> i laks og lakseprodukter</b> <b>Faglig sluttrapport</b>	ISBN 978-82-8296-617-7 (pdf) ISSN 1890-579X
<b>Title:</b> <i>Evaluation of tools for control of <i>Listeria</i> in salmon and salmon products</i>	<b>Rapportnr.:</b> 1/2020
<b>Forfatter(e)/Prosjektleder:</b> Even Heir (Prosjektleder), Askild Holck, Mats Carlehög, Edgar Henriksen, Lars Erik Solberg, Merete R. Jensen, Kristian H. Liland, Birgitte Moen	<b>Tilgjengelighet:</b> <b>Åpen</b>
<b>Avdeling:</b> Trygg og holdbar mat	<b>Dato:</b> 20. januar 2020
<b>Oppdragsgiver:</b> Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering (FHF)	<b>Ant. sider og vedlegg:</b> 37 + 13
<b>Stikkord:</b> <i>Listeria</i> , laks, mattrygghet, UV-lys, fermentat, sensorikk	<b>Oppdragsgivers ref.:</b> FHF 901166
<b>Sammendrag/anbefalinger:</b> Målet med prosjektet var å framskaffe kunnskap om metoder for å redusere <i>Listeria</i> på rå og røkt laks. Metoder og teknologier som ble ansett å kunne oppfylle viktige kriterier knyttet til <i>Listeria</i> -effekt, laksekalitet, regelverk samt mulig implementering i anlegg ble valgt. Det ble fokusert spesielt på bruk av UV-belysning for å drepe <i>Listeria</i> (inntil ca 1 log drap ble oppnådd) samt bruk av salter av organiske syrer/fermentat for å hemme <i>Listeria</i> -vekst i både røkt og rå laks. Kombinasjoner av UV-belysning og fermentat ga både drap og veksthemming av <i>Listeria</i> på røkt laks. Sensoriske undersøkelser indikerte at behandlingene ga mindre sensoriske endringer i laks. Andre evaluerte teknologier/metoder inkluderte sur natriumkloritt for behandling av rå laks, samt nisin og bakteriofager (PhageGuard Listex) brukt alene og i kombinasjon med fermentat i både rå og røkt laks. Inntil ca. 1 log og 3 log drap av <i>Listeria</i> (tilsvarende inntil 99,9% reduksjon) ble oppnådd med henholdsvis Nisin og Listex, men behandlingene hemmet ikke vekst av eventuelle overlevende <i>Listeria</i> . Salter av organiske syrer/fermentater ga ulik effekt avhengig av type hemmestoff, men effektiv veksthemming av <i>Listeria</i> på laks kan oppnås. Sur natriumkloritt bidro i liten grad til økt <i>Listeria</i> -kontroll. Enkle kostnynytte vurderinger indikerer at implementering av teknologier og metoder for behandling av laks vil kunne gi reduserte <i>Listeria</i> -forekomster/-nivåer på laks innenfor akseptable kostnadsrammer, men at ytterligere optimalisering og kalkyler er nødvendig for optimal anvendelse og effekt av slike tiltak. Prosjektet ble finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering (FHF) og gjennomført i god kontakt med næringen i prosjektperioden.	<b>Prosjektnr.:</b> 11545
<b>English summary/recommendation:</b> The aim of the project was to provide documentation on methods to reduce <i>Listeria</i> on salmon. Methods and technologies that were considered to meet important criteria for <i>Listeria</i> effects and applications were selected for testing and evaluation. Particular focus was on the use of UV-illumination to kill <i>Listeria</i> and salts of organic acids/fermentate to inhibit <i>Listeria</i> growth on raw and smoked salmon. Combined UV-treatments and use of fermentate provided both kill and <i>Listeria</i> inhibition in smoked salmon and with minor changes in sensory effects. Evaluated technologies also included acidic sodium chlorite on raw salmon, and nisin and bacteriophages (PhageGuard Listex) used alone and in combination with fermentate. The results showed that UV light, nisin and Listex reduced <i>Listeria</i> levels on salmon by about 0.5-3 log units but did not inhibit growth of surviving <i>Listeria</i> . Salts of organic acids/fermentate can provide effective <i>Listeria</i> growth inhibition although dependent on the compounds applied. Treatment of raw salmon with acidic sodium chlorite showed limited effects on <i>Listeria</i> reduction. Simple cost-benefit assessments indicate that the implementation of technologies/methods for treatment of salmon can provide reduced <i>Listeria</i> occurrences/levels on salmon within reasonable cost limits, but further optimization and calculations are needed for optimal application and effects of such measures. The project was funded by FHF- Norwegian Seafood Research Fund and was carried out in good dialog with the salmon industry.	

## Forord

Denne rapporten gir oversikt over resultater fra prosjektet «Test av verktøy for kontroll med *Listeria* i laks og lakseprodukter». Prosjektet er gjennomført i perioden 2016-2019 med Nofima som ansvarlig forskningsinstitusjon. Prosjektet har blitt gjennomført med finansiering av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering (FHF; totalramme på 6 818 000 NOK) og i god kontakt med næringen. Prosjektet var i utgangspunktet et to-årig prosjekt, men ble etter søknad og innsending av revidert prosjektbeskrivelse forlenget med ytterligere to år. Denne sluttrapporten beskriver aktiviteter og resultater fra hele prosjektperioden 2016-2019.

# Innhold

<b>1</b>	<b>Sammendrag .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Innledning.....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Problemstilling og formål .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Prosjektgjennomføring.....</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....</b>	<b>6</b>
5.1	Valg av teknologier for uttesting - oversikt .....	6
5.2	Effekt av UV-lys på <i>Listeria</i> i rå og røkt laks.....	6
5.2.1	Dose-respons UVC og puls UV .....	7
5.2.2	Hvordan påvirkes den <i>Listeria</i> -drepende effekten av UV-lys av relevante faktorer? .....	8
5.2.3	Sensorikk og forbrukerundersøkelse ga ikke sensoriske endringer i UVC- og puls UV-behandlet laks .....	9
5.3	Effekt av salter av organiske syrer/fermentater på <i>Listeria</i> i laks .....	11
5.3.1	Røkt laks: Salter av organiske syrer/fermentater kan hemme vekst av <i>Listeria</i> .....	12
5.3.2	Sensoriske egenskaper: Salter av organiske syrer/fermentater gir små sensoriske endringer i røkt laks.....	13
5.3.3	Rå laks: Salter av organiske syrer/fermentater kan gi økt <i>Listeria</i> -kontroll .....	15
5.3.4	Sensoriske egenskaper: Eksponeringstid og konsentrasjon av fermentat påvirket sensoriske egenskaper i behandlet rå laks .....	16
5.4	Effekt av andre behandlinger på rå og røkt laks .....	17
5.4.1	Rå laks.....	17
5.4.2	Røkt laks .....	22
5.5	Andre effekter av teknologiene anvendt på laks .....	24
5.5.1	Effekt av behandlinger på mikrobiologisk kvalitet .....	25
5.5.2	Effekt av Listex og nisin på <i>Listeria</i> -stammer med nedsatt følsomhet mot Listex.....	27
5.5.3	Kan bruk av Verdad i laks gi endringer i pH, actetat-nivå eller utbytte?.....	28
5.6	Kost-nytte vurderinger .....	29
5.6.1	Enhet for UV-belysning i lakseslakteri.....	29
5.6.2	Enhet for UV-belysning i lakserøykerier .....	30
5.6.3	Bruk av Verdad .....	31
5.6.4	Nyttevurderinger for økt <i>Listeria</i> -kontroll.....	31
5.7	Vurdering av muligheter for videre anvendelse av resultatene i prosjektet .....	32
<b>6</b>	<b>Hovedfunn .....</b>	<b>35</b>
<b>7</b>	<b>Leveranser .....</b>	<b>36</b>
	<b>Vedlegg</b>	

# 1 Sammendrag

*Norsk sammendrag:* Prosjektet ble gjennomført i 2016-2019 med finansiering fra Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfinansiering (FHF). En referansegruppe har bidratt med kompetanse og næringsrelevante råd i prosjektperioden. Målet med prosjektet var å framskaffe kunnskap og dokumentasjon om metoder for å redusere nivået og/eller forekomst av *Listeria* på rå og røkt laks. Metoder og teknologier som ble ansett å kunne oppfylle viktige kriterier knyttet til *Listeria*-effekt, laksekvalitet, regelverk samt mulig implementering i anlegg ble valgt for uttesting og evaluering. I henhold til dette ble det fokusert spesielt på bruk av UV-belysning for å drepe *Listeria* på rå og røkt laks samt bruk av salter av organiske syrer/fermentat for å hemme *Listeria*-vekst i både røkt og rå laks. Kombinasjoner av UV-belysning og fermentat ga både drap (inntil ca 1 log reduksjon) og veksthemming av *Listeria* på røkt laks. Sensoriske undersøkelser indikerte at UV-lys (røkt laks) og fermentat (rå og røkt laks) generelt ga små sensoriske endringer i laks. Andre evaluerte teknologier/metoder inkluderte sur natriumkloritt for behandling av rå laks, og nisin og bakteriofager (PhageGuard Listex) brukt alene og i kombinasjon med fermentat i både rå og røkt laks. Resultatene viste at UV-lys, nisin og Listex var i stand til å redusere nivået av *Listeria* på laks med om lag 0,5-3 log-enheter (tilsvarende inntil 99,9% reduksjon). Behandlingene hemmet ikke vekst av *Listeria*. Salter av organiske syrer/fermentater ga ulik effekt avhengig av type hemmestoff. Slike forbindelser kan gi god veksthemming, men ikke drap av *Listeria* på laks. Sur natriumkloritt bidro i liten grad til økt *Listeria*-kontroll. Enkle kost-nytte vurderinger indikerer at implementering av teknologier og metoder for behandling av laks vil kunne gi reduserte *Listeria*-forekomster/-nivåer på laks innenfor akseptable kostnadsrammer, men at ytterligere optimalisering og kalkyler er nødvendig for optimal anvendelse og effekt av slike tiltak.

*Engelsk sammendrag:* The project was carried out in 2016-2019 and funded by FHF - Norwegian Seafood Research Fund. The aim of the project was to provide knowledge and documentation on methods to reduce *Listeria* on raw and smoked salmon. Methods and technologies that were considered to meet important criteria related to *Listeria* effect, salmon quality, regulations and possible implementation in the salmon processing industry were selected for testing and evaluation. The technologies/methods included UV illumination of raw and smoked salmon and the use of salts of organic acids/fermentate as an ingredient in cold-smoked salmon and for the treatment of raw salmon. Use of acidic sodium chlorite for the treatment of raw salmon, and nisin and bacteriophages (PhageGuard Listex) used alone and in combination with fermentate in both raw and smoked salmon were also evaluated. The results showed that UV light, nisin and Listex were able to reduce the level of *Listeria* on salmon by about 0.5-3 log units (corresponding to up to a 99.9% reduction). The treatments did not inhibit the growth of *Listeria*. Salts of organic acids/fermentate gave different effects depending on the type of active ingredients. Such compounds can provide growth inhibition, but no killing of *Listeria* on salmon. Acidic sodium chlorite applied on salmon showed limited effects on *Listeria* reduction. Sensory studies indicated that UV light (smoked salmon) and fermentate (raw and smoked salmon) generally produced small sensory changes in salmon. Simple cost-benefit assessments indicate that the implementation of technologies/methods for treatment of salmon can provide reduced *Listeria* occurrences/levels on salmon within reasonable cost limits, but further optimization and calculations are needed for optimal application and effects of such measures.

## 2 Innledning

Bakterier av typen *Listeria monocytogenes* (heretter kalt *Listeria*) er en stor utfordring for laksenæringen. Utfordringen er knyttet til produksjon av trygg mat med tilhørende krav til *Listeria*-nivåer i produkter og i råvarer. Kontroll med *Listeria* i laksenæringen oppnås gjennom hensiktsmessig og systematisk arbeid i hele produksjonskjeden. God produksjonshygiene som inkluderer effektivt renhold, kunnskap om smittekilder og tiltak for å hindre *Listeria*-smitte av fisk og anlegg i produksjonen er her helt vesentlig. I tidligere prosjekt (FHF 900521) ble viktige smitteveier, -kilder og tiltak for økt *Listeria*-kontroll i produksjonsmiljøet kartlagt. Prosjektet påviste betydningen av *Listeria*-kontroll i produksjonsmiljøet, men viste også at kontrollstrategier som inkluderer tiltak anvendt direkte på rå laks og ferdige produkter trolig er nødvendig for å sikre optimal kontroll med *Listeria* i laks.

Flere utbrudd og rapporterte tilfeller av *Listeria* i laks gjennom prosjektperioden har aktualisert behovet for tiltak som kan redusere eller eliminere *Listeria* direkte på både rund, prosessert og ferdige sluttprodukter av laks i ulike deler av produksjonskjeden. I et tidligere forprosjekt (FHF 901056) ble det gitt en oversikt og vurdering av teknologier og metoder som kunne anses relevante for bruk på laks for å oppnå økt *Listeria*-kontroll. I dette prosjektet (FHF 901166) har utvalgte teknologier og metoder fra forprosjektet blitt testet og evaluert med hensikt å finne fram til robuste strategier med dokumentert og egnet effekt for bruk til dette formålet.

Økonomisk ramme for prosjektet har vært 6 818 000 NOK. Even Heir, Nofima har vært prosjektleder. Arbeidet er i all hovedsak utført ved Nofima og har involvert en rekke ingeniører og forskere (Merete Rusås Jensen, Signe Drømtoptorp, Janina Berg, Anette Wold Åsli, Tove Maugesten (alle mikrobiologi), Askild Holck (mikrobiologi, prosessteknologi), Tom C. Johannessen (røyking, prosessteknologi), Mats Carlehög (sensorikk, forbrukerstudier), Kristian Hovde Liland (statistikk), Lars Erik Solberg (statistikk), Birgitte Moen (bakteriesamfunnsanalyser), Edgar Henriksen (kostnadsanalyser), Even Heir (prosjektleder, mikrobiologi). Videre bidro to laksebedrifter med laks for bruk i prosjektet. Eksterne aktører med prosessteknologisk kompetanse innen bestemte fagområder (UV-lys, ingredienser (salter av organiske syrer)) har bidratt med innspill og kompetanse rundt delaktiviteter i prosjektet.

En referansegruppe med representanter fra laksenæringen (Randi Haldorsen (Mowi), Hanne Tobiassen (Salmar), Rudi Jakobsen/Trine Rønning (Lerøy)) har deltatt med kompetanse og gode råd i prosjektperioden. Kristian Prytz har vært observatør og fulgt opp prosjektet fra FHF.

### 3 Problemstilling og formål

Prosjektet skulle framskaffe kunnskap og dokumentasjon om metoder for å redusere nivået og/eller forekomst av *Listeria* på laks ved industriell produksjon. Bruk av teknologier som har dokumentert effekt mot *Listeria* på laks vil gi redusert forekomst og nivåer av *Listeria* i produksjonskjeden fra råvare til ferdig produkt. Dette vil bidra til redusert smittepress og økt kontroll med *Listeria* i eget anlegg. Dette vil igjen gi redusert risiko for at råvarer og produkter skal inneholde *Listeria* over tillatte nivåer eller i doser som kan gi matbåren sykdom ved konsum av laks. Som verdens ledende produsent og eksportør av atlantisk laks, er det vesentlig at næringen har effektive tiltak som i størst mulig grad sikrer at råvarer og produkter er i tråd med regelverk, kunde- og mattrygghetskrav. Teknologier anvendt direkte på laks må i tillegg oppfylle kriterier knyttet til kvalitet og sensoriske egenskaper samt praktisk og kostnadseffektiv anvendelse i anlegg.

**Mål:** Framskaffe kunnskap og dokumentasjon om metoder for å redusere nivået og/eller forekomst av *Listeria* på laks ved industriell produksjon

Resultatmål i prosjektet ble oppnådd gjennom arbeid med følgende problemstillinger:

1. Valg av metoder og teknologier med størst potensial for å behandle laks med hensikt å oppnå økt *Listeria*-kontroll
  - a. På røkt laks
  - b. På rå laks (rund, sløyd, filet)
2. For to utvalgte behandlinger i) belysning av laks med ultrafiolett lys og ii) bruk av salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens i røkt laks eller som prosesshjelpemiddel på rå laks:
  - a. Avklare effekt på *Listeria* og undersøke hvordan relevante parametere under produksjon og lagring påvirker reduksjon og veksthemming av *Listeria* på rå og røkt laks.
  - b. Avdekke hvordan teknologiene/behandlingene påvirker de sensoriske egenskapene til laksen
  - c. Undersøke om behandlingene kan bidra til andre viktige endringer i laksen som mikrobiologisk kvalitet og/eller utbytte av ferdig produkt
3. Teste og evaluere om andre utvalgte teknologier/behandlinger anvendt enkeltvis eller i kombinasjon kan gi økt kontroll med *Listeria* på laks
  - a. Teknologiene som ble valgt anvendes kommersielt eller ble ansett å ha muligheter for kommersiell anvendelse, men hvor økt dokumentasjon knyttet til effekt og mulig bruk i laksenæringen var ønskelig
  - b. Avklare effekt på *Listeria* av enkeltbehandlinger og kombinerte behandlinger av *Listeria*-smittet rå og røkt laks
  - c. Avdekke andre effekter: Undersøke om teknologiene hadde potensiale for å bidra til laks med ønsket kvalitet og mattrygghet
4. Enkle kost-nytte vurderinger knyttet til implementering og bruk av utvalgte teknologier i produksjonsanlegg for laks.



## 4 Prosjektgjennomføring

En oversikt over prosjektgjennomføringen med valg av metoder og tilnærming er gitt under. Detaljer om metoder og forsøksoppsett er gitt i **Vedlegg 2**.

*Valg av metoder og teknologier:* Metoder og teknologier for uttesting ble valgt på bakgrunn av resultater fra tidligere forprosjekt (FHF 901056). Teknologier med antatt størst potensial til å oppfylle viktige kriterier som *Listeria*-effekt, ønsket kvalitet på behandlet laks, regelverk og forbrukerkrav samt mulig implementering i slakterier/prosesseringsanlegg for laks ble valgt.

Teknologier valgt for innledende uttesting:

- Ultrafiolett lys (ved bruk av kontinuerlig UVC-lys og puls UV-lys) for belysning av rå og røkt laks
- Salter av organiske syrer/fermentater. Anvendt som ingrediens i røkt laks eller som prosess/skylletrinn i produksjon av rå laks/filet

Ved planlegging av forsøkene ble det avholdt møter med teknologileverandører som grunnlag for valg av relevante forsøksbetingelser. Senere i prosjektet ble ytterligere teknologier og metoder valgt for uttesting. Disse ble valgt på grunnlag av at de anvendes i industriell lakseproduksjon og/eller at kombinasjoner av tiltak kunne gi antatt økt effekt på *Listeria*, men hvor økt dokumentasjon rundt effekt på *Listeria* og andre forhold var ønskelig.

Teknologier og kombinasjoner som ble testet senere i prosjektet inkluderte:

- Sur natriumkloritt (ASC; Acidified Sodium Chlorite) for behandling av rå laks
- Nisin
- Bakteriofager
- Kombinasjoner mellom tiltak som dreper (eks. UV, nisin, bakteriofager) og hemmer vekst (salter av organiske syrer) av *Listeria*

*Laks til forsøkene:* Rå laks til forsøkene ble levert av to lakseprodusenter, mens kaldrøkt laks ble levert av ekstern produsent eller produsert av Nofima. Av praktiske hensyn ble de fleste forsøkene gjennomført på mindre biter av røkt eller fersk laks. I enkelte forsøk ble resultatene fra disse forsøkene validert i oppsett hvor laks med reell størrelse ble benyttet.

*Produksjon av røkt laks:* I forsøk hvor salter av organiske syrer inngikk som ingrediens, ble røkt laks produsert i Nofima sin prosesshall. Dette inkluderte også all røkt laks benyttet i forbrukerundersøkelser og sensoriske analyser. Dette ga i størst mulig grad kontrollerte forhold og muliggjorde sammenligning av resultater og at konklusjoner kunne trekkes.

*Forsøk med patogene Listeria i laks:* Patogen prosesshall ved Nofima ble benyttet i alle forsøk hvor laks (rå, røkt) ble smittet med *Listeria*, behandlet med ulike teknologier og deretter emballert, lagret og analysert. I smitteforsøkene ble det benyttet en miks av *Listeria*-stammer som inkluderte stammer som påvises regelmessig i anlegg som produserer laks.

*Sensoriske analyser og forbrukerundersøkelser:* Laks til disse forsøkene ble preparert, behandlet og håndtert under hygieniske forhold i Nofimas prosesshall.

*Øvrige analyser:* Disse inkluderte målinger av pH og vannaktivitet på utvalgte prøver og effekt av organiske salter/fermentat på vekstvinn av laksen ved produksjon av røkt laks. I tillegg ble det utført enkelte kjemiske analyser ved eksternt laboratorium for å bestemme nivåer av salter av organiske syrer i utvalgt laks.

*Bearbeiding av resultater, formidling og rapportering:* Resultatene fra prosjektet ble bearbeidet og har blitt publisert i ulike fora som fagmøter, konferanser, og som artikler i bransjeblader og vitenskapelige tidsskrifter. Formidlingen har vært rettet mot ulike målgrupper inkludert laksenæringen og andre aktører i mat og sjømatnæringen samt academia. Resultatene fra hele prosjektet er oppsummert i denne sluttrapporten.

## 5 Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

Det er vesentlig for laksenæringen å ha kontroll med *Listeria* både i rå, fersk laks og i røkte produkter. Kaldrøkt laks inkluderer langtidsholdbare produkter hvor *Listeria* kan vokse til høye nivåer i holdbarhetstiden og dermed gi laks som kan gi årsak til sykdomstilfeller, tilbakekallinger av *Listeria*-smittet produkt og redusert markedsadgang og forbrukertillit. *Listeria*-kontroll i rå laks er også vesentlig. Rå laks har kort holdbarhetstid og *Listeria*-nivåene i rå laks ved konsum er derfor som regel svært lave. Kontroll med *Listeria* i rå laks er likevel svært viktig da *Listeria* på råvaren vil følge med laksen til videre prosessering til f.eks. røkt laks og dermed utgjøre en risiko dersom tiltak for å kontrollere *Listeria* på laksen ikke er til stede eller ikke er effektive. *Listeria* på rå laks vil også gi økt risiko for smittespredning av *Listeria* mellom anlegg, f.eks. fra lakseslakterier som leverer råvarer til prosesseringsanlegg for videre foredling. I dette prosjektet ble det derfor sett på tiltak på både røkt laks og på rå, fersk laks. Spesielt på sistnevnte område er det få studier som har dokumentert og evaluert effekt av slike tiltak. Resultatene fra prosjektet er beskrevet under. En oversikt i tabellformat over testede metoder/teknologier og resultater fra prosjektet er gitt i **Vedlegg 1**.

### 5.1 Valg av teknologier for uttesting - oversikt

Tabell 1 gir en oversikt over teknologier testet i dette prosjektet med hensikt å oppnå økt *Listeria*-kontroll ved behandling av laks. Effekt på *Listeria* (drap eller veksthemming), type laks som ble behandlet og om sensoriske analyser ble gjennomført på behandlet laks er vist.

Tabell 1 Oversikt over teknologier og metoder som har blitt testet og evaluert i prosjektet. Tabellen angir de ulike metodene, effekt metodene har på *Listeria* (drap eller veksthemming), type laks metoden er brukt på og om sensoriske analyser har blitt gjennomført på laks behandlet med teknologien.

Teknologi/metode	Effekt på <i>Listeria</i>	Type laks behandlet	Sensoriske analyser gjennomført
<b>Enkeltbehandlinger</b>			
UV-lys Kontinuerlig UVC Puls UV-lys	Drap	Rå og røkt	Ja
Salter av organiske syrer Verdad N6 Opti.Form PPA	Veksthemming	Rå og røkt	Ja
Sur natrium kloritt (ASC)	Drap	Rå	Nei
Nisin	Drap	Rå og røkt	Nei
Bakteriofager	Drap	Rå og røkt	Nei
<b>Kombinerte behandlinger</b>			
UVC + Verdad N6	Drap + veksthemming	Røkt	Nei
Nisin + Verdad N6	Drap + veksthemming	Rå og røkt	Nei
Bakteriofager + Verdad N6	Drap + veksthemming	Rå og røkt	Nei

### 5.2 Effekt av UV-lys på *Listeria* i rå og røkt laks

UV-lys er et energirikt lys i bølgeområdet 200 - 400 nm som gir skader i DNA. Disse skadene fører til at bakteriene dør. UV-lys trenger dårlig gjennom matmatrikser, så UV-behandling er først og fremst en overflatebehandling. Intakte matvarer er ofte forurenset på overflaten og effekten av UV-lys vil være

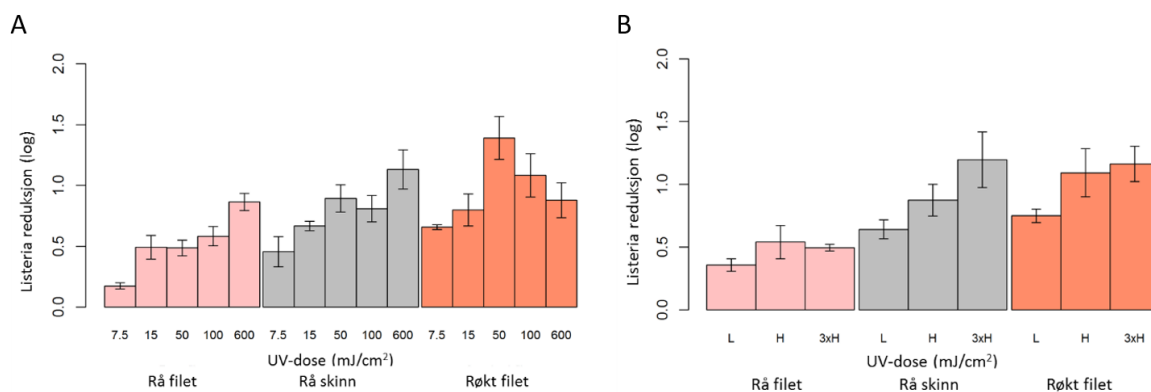
avhengig av overflatens beskaffenhet. Ujevne overflater hvor bakterier kan «gjemme seg» og unngå å bli truffet av UV-lys vil føre til en dårligere effekt av UV-belysning. Forsøkene med UV-lys er listet i Tabell 2 og også publisert i en egen vitenskapelig artikkel (Holck et al 2018; se Leveranser).

### 5.2.1 Dose-respons UVC og puls UV

To teknologier for UV-lys behandling ble benyttet; kontinuerlig belysning med UVC (bølgelengde ca. 254 nm) og intens puls UV (bredspektret lys med stor andel i det bakteriedrepende UV-lys området <400 nm). Rå og røkt laksefilet ble tilsendt fersk fra produsent. Biter av laksen ble smittet med *Listeria* og behandlet med UVC eller puls UV-lys. Det ble benyttet et stort spenn i UV-doser for å avdekke evt. doseeffekter og *Listeria*-drepende potensiale. *Listeria* kan være til stede på både rå og røkt laks. Behandlinger av både fersk rund laks og filet, samt røkt filet kan være relevant. *Listeria*-drepende effekt på overflaten av fersk rå filet, rå skinn samt røkt filet ble derfor undersøkt. Resultatene viste at om lag 70-97 % reduksjon (0,5-1,5 log) kan forventes (Figur 1). Best effekt ble oppnådd på overflater av skinn og røkt filet, mens lavere reduksjoner ble oppnådd på rå filet. I noen tilfeller ble det detektert en dose respons effekt, mens i andre tilfeller så vi ikke noen slik effekt.

Tabell 2 *Bruk av UVC og puls UV-lys på rå og røkt laks. Oversikt over forsøk gjennomført for å teste metodenes robusthet og hvordan ulike relevante faktorer påvirker effekt mot Listeria.*

Metode	Hva er testet	Hensikt
UVC og puls UV	Betydning av UV dose	Teste om økte doser gir økt drap
	Betydning av gjentatt eksponering (flere doser) for økt effekt på fersk laks og røkt laks	Optimalisere effekt
	Betydning av økt overflateeksponering på effekt på fersk laks og røkt laks (ved bøying av laksen under behandling)	Optimalisere effekt
	Betydning av smittemåte på effekt av UV (dråpesmitte vs. kontaktsmitte) på røkt laks	Teste effekt under industrirelevante forhold
	Betydning av tid mellom smitte og behandling for effekt på røkt laks	Teste effekt under industrirelevante forhold
	Betydning av fuktighet/vann og tid på fersk laks for effekt av UV belysning	Teste effekt under industrirelevante forhold
	Om UV-behandling reduserer bakgrunnsfloraen og dermed gir redusert konkurranse og økt vekst av <i>Listeria</i> på røkt og fersk laks	Avdekke ev. uønskede effekter av UV-behandling
	Sensorisk egenskaper etter UV-behandling	Teste om UV-behandling vil føre til endrede sensoriske egenskaper



Figur 1 *Listeria*-reduksjon ved behandling av laks (rå filet, rå skinn og røkt filet) med (A) UVC og (B) puls UV-lys (doser 1xLav, 1xHøy og 3xHøy (1,25 – 3,6 – 10,8 J/cm<sup>2</sup>)).

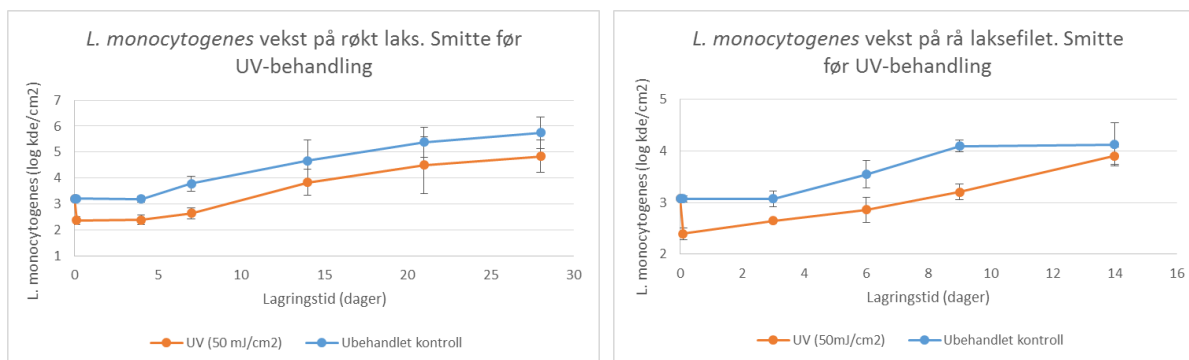
### 5.2.2 Hvordan påvirkes den *Listeria*-drepende effekten av UV-lys av relevante faktorer?

Det ble gjort forsøk på å optimalisere UV-behandlingen av røkt laks ved å belyse fisken flere ganger og ved å bøye fisken slik at overflaten ble mer eksponert. Ingen av disse behandlingene gav noen statistisk signifikant økning i drapet av *Listeria*. Tilsvarende forsøk ble gjort med fersk laks. Heller ikke her ble det funnet noe økt drap ved å belyse flere ganger eller å bøye fisken for å åpne overflaten.

Fisk kan smittes av *Listeria* ved direkte kontaktsmitte eller ved dråpesmitte (f.eks. aerosoler) som lander på fisken. Det ble derfor gjort forsøk på å se om smittemåten hadde betydning for hvor godt UV reduserte *Listeria*. *Listeria*-bakterier ble tilsatt til røkelaks og gnidd utover med en steril plaststav eller tilsatt i små dråper på overflaten. Vi fant ingen forskjell i drapet mellom de to metodene.

Fisk kan også smittes under slakting og sendes til prosesseringsanlegg for senere prosessering. Vi ønsket derfor å se om UV-drapet varierte med hvor lenge *Listeria* hadde vært på fisken. Røkelaks ble podet med *Listeria*, både ved direkte kontaktsmitte og ved dråpesmitte, og utsatt for UV-lys enten etter 30 min eller etter 24 timer. Ved kontaktsmitte ble det ingen forskjell i drap etter 30 min og etter 24 timer, mens ved dråpesmitte ble drapet redusert etter 24 timer i forhold til etter 30 min. UV-lys går lett gjennom rent vann. Det reduserte drapet kan skyldes at etter 30 min blir bakteriene i vanndråpene truffet av UV-lyset, mens etter 24 timer har vanndråpene trukket inn i fisken så bakteriene ligger delvis skjult på den ujevne røkelaksoverflaten.

Forsøkene med dråpesmitte og ved kontaktsmitte og forsøkene med å variere tiden *Listeria* var på fisken før UV-belysning ble gjentatt med fersk laks. For fersk laks var UV-reduksjonen 0,4 log og 0,7-0,8 log for henholdsvis fersk filetside og skinnside uansett om *Listeria* var applisert med dråpe eller kontaktsmitte og uavhengig om *Listeria* var på fisken i 30 min eller 24 timer.



Figur 2 Vekst av *Listeria* på røkt laks og fersk laks med og uten UVC-behandling. Prøvene ble behandlet med 0,05 J/cm<sup>2</sup> UVC og lagret i vakuum ved 4 °C.

Ved prosessering av laks kan særlig rå laks ha ulik grad av fuktighet/vann på overflaten. Det ble undersøkt om denne fuktigheten påvirket den *Listeria*-reducerende effekten av UV-lys. Fersk laksefilet ble smittet med *Listeria* og deretter påført ekstra fuktighet/vannfilm på filetoverflaten. Laksefilet med og uten denne vannfilmen ble deretter eksponert for UV-lys og reduksjon i *Listeria* ble undersøkt.

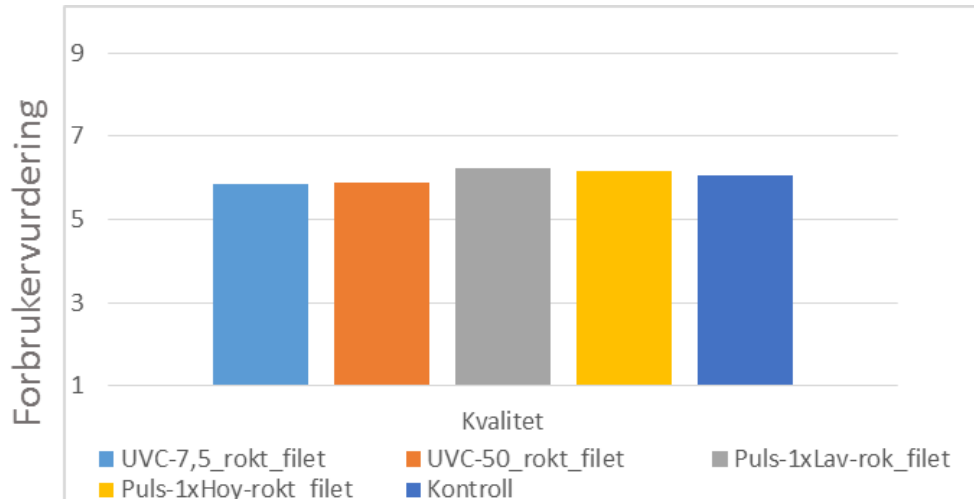
Resultatene viste at fuktighet/vann på laksen i liten grad påvirker *Listeria*-reduksjon ved UV- eller puls UV-behandling av laksen.

I forsøkene over fikk vi samme konklusjoner uansett om UV-belysningen var utført med UVC-lys eller puls UV-lys. Resultatene ble benyttet til å lage matematiske Weibull modeller for drap. Modellene viste at drapet var størst på røkt laks og minst på rå laks (kjøttside) og at lave UV-doser var tilstrekkelig til å gi ganske godt drap, men at for å øke drapet ytterligere måtte man øke UV-dosen betraktelig. UV-belysning hemmer ikke *Listeria*-vekst under lagring av rå og røkt laks

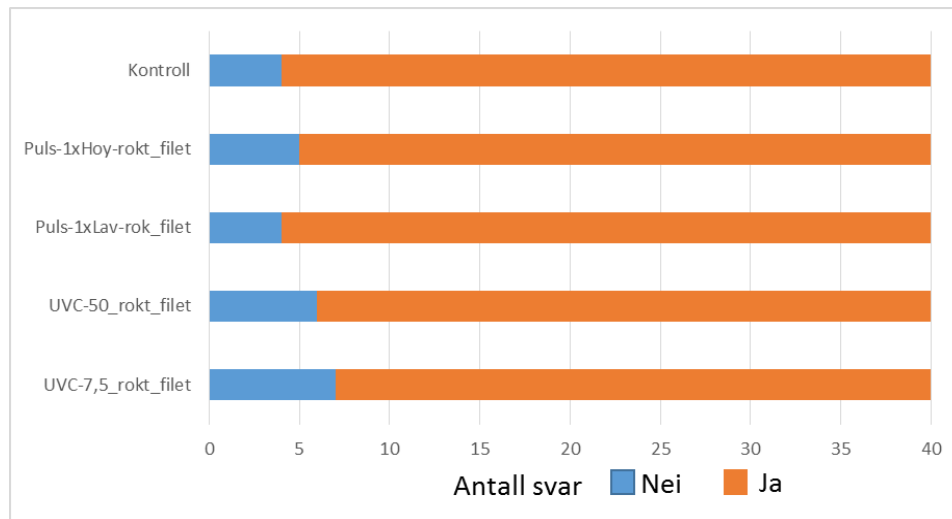
Vekst av *Listeria* etter UVC-behandling ble undersøkt i lagringsforsøk (Figur 2). Prøvene ble smittet med *Listeria* og belyst med 0.05 J/cm<sup>2</sup> UVC før lagring i vakuum ved 4 °C. UVC-behandlingen ga en umiddelbar nedgang i *Listeria* tallet på ca. 0,7 log. Denne forskjellen holdt seg gjennom en stor del av lagringstiden. UVC-belysning vil også drepe bakgrunnsflora på fisken, og man kan dermed tenke seg at *Listeria* kan vokse fortere på UV-belyst fisk siden den ikke konkurrerer med andre bakterier. *Listeria* vokste imidlertid med samme hastighet som i kontrollen under lagring, både på røkelaks og på fersk laks. Den mikrobielle holdbarheten med tanke på *Listeria* blir vesentlig forlenget ved bruk av UVC siden behandlingen dreper *Listeria* på overflaten av den belyste fisken.

### 5.2.3 Sensorikk og forbrukerundersøkelse ga ikke sensoriske endringer i UVC- og puls UV-behandlet laks

Det ble utført en forbrukerundersøkelse med UV-behandlet laks. Røkt laks ble behandlet med to doser UVC og to doser puls UV. Etter behandling ble behandlet laks og ubehandlet laks (kontroll) vakuumpakket og lagret i 15 dager ved 4 °C. Laksen ble presentert for hver forbruker (totalt 40 stk) som vurderte laksen basert på to spørsmål: 1) Hvordan vurderer du kvaliteten på denne laksen (skala 1-9)? og 2) Ville du brukt denne laksen i et måltid? Det var ingen forskjell i hvordan forbrukerne vurderte kvaliteten på UVC og puls UV-behandlet laks i forhold til ubehandlet kontroll (Figur 3; Figur 4).



Figur 3 Forbrukervurdering (lukt, utseende) av UVC-behandlet (7,5 og 50 mJ/cm<sup>2</sup>) og puls UV-behandlet (doser 1xLav og 1xHøy) røkt laks. Forbrukerne (40 stk) vurderte laksen på en skala fra 1-9 hvor 9 er best på spørsmålet «Hvordan vurderer du kvaliteten på denne laksen».



Figur 4 Forbrukervurdering av røkt laks hvor forbrukerne (40 stk) besvarte spørsmålet: «Ville du brukt denne laksen i et måltid?».

På bakgrunn av ingen signifikante forskjeller i hvordan forbrukerne vurderte lukt og utseende av UVC- og puls UV-behandlet røkt laks og kontroll-laks, ble det gjennomført en sensorisk test som også inkluderte smak. Testen ble gjennomført ved bruk av det sensoriske panelet (11 trente dommere) ved Nofima. Testen ble gjennomført på 3 typer UVC-behandlet røkt laks (doser 7,5 – 50 – 100 mJ/cm<sup>2</sup>) og ubehandlet kontroll-laks. Laksen ble lagret vakuumpakket ved 4 °C i 19 dager fra behandling til sensorikk ble gjennomført på slicede biter av laksen. Panelet vurderte 22 sensoriske parametere. De eneste egenskapene som ga statistisk forskjellige svar var harsk lukt og saltsmak. Når det gjaldt harsk lukt var noen behandlinger forskjellige, men ingen var forskjellige fra ubehandlet kontroll. Når det gjaldt saltsmak, ga prøvene behandlet ved 0.05 J/cm<sup>2</sup> høyest verdier.

#### Konklusjoner:

- UV belysning av laks ga 0,5-1,5 log drap avhengig av dose og type fiskeoverflate
- Overlevende *Listeria* etter UV-behandling vokste som på ikke-behandlet fisk
- Det vil ta vesentlig lengre tid for *Listeria* å nå samme kintall på UV-behandlet fisk som en har på tilsvarende ubehandlet fisk
- Forbrukertest viste ingen forskjell i hvordan forbrukerne vurderte kvaliteten (lukt, utseende) på UVC- og puls UV-behandlet røkt laks
- Effekt av UVC-lys på egenskaper til røkt laks (lukt, farge, smak, tekstur) med sensorisk panel viste kun marginale sensoriske endringer

### 5.3 Effekt av salter av organiske syrer/fermentater på *Listeria* i laks

Forsøkene på røkt og rå laks med salter/fermentater er oppsummert i Tabell 3. Forsøkene med Verdad på røkt laks er også presentert i vitenskapelig artikkel (Heir et al. 2019; se Leveranser). Ved produksjon av røkt laks ble to kommersielle preparater av salter, Verdad N6 og Opti.Form PPA Plus (Corbion) tilsatt i salteprosessen. Verdad er et fermentat bestående av salter av organiske syrer hvor natriumacetat er en hovedbestanddel. Verdad ble tilsatt ved tørrsalting. Opti.Form PPA Plus er en blanding av kaliumlaktat og kaliumacetat i væskeform. Opti.Form ble injisert i laksen før røyking. Etter røyking ble laksen slicet, smittet med *Listeria*, vakuumpakket og lagret. Vekst og overlevelse av *Listeria* ble undersøkt i lagringstiden på 29 dager ved 4 og 8 °C. Ved behandling av rå, fersk laks ble *Listeria*-smittet laks lagt i bad med Verdad løst i vann. Ulike konsentrasjoner og eksponeringstider for Verdad ble testet. Etter behandling og vakuumpakking av laksen ble vekst og overlevelse av *Listeria* undersøkt i lagringsperioden på inntil 12 dager.

Tabell 3      *Bruk av salter av organiske syrer/fermentater på røkt og rå laks. Oversikt over forsøk gjennomført for å teste metodenes robusthet og hvordan ulike relevante faktorer påvirker effekt mot Listeria.*

Metode	Hva er testet	Hensikt
Verdad røkt laks	Dose responstesting med Verdad	Avdekke hvilke konsentrasjoner som gir hemming av <i>Listeria</i>
	Ekstra paralleller for å avklare variasjon mellom prøver ved identiske behandlinger	Avdekke om robust effekt oppnås
Verdad røkt laks	Effekt av <i>Listeria</i> -reduksjon i røkt laks med/uten sukker i resepten	Avklare hvordan sukker i resepten påvirker <i>Listeria</i> -vekst i laks med og uten Verdad
	<i>Listeria</i> -hemming på slicet laks vs. hel, uslicet laks	Teste effekt under industrirelevante forhold
Verdad fersk, rå laks	Effekt av Verdad på <i>Listeria</i> -reduksjon/-hemming fersk filet (ulike konsentrasjoner i vann, lagringsforsøk)	Evaluere effekt av Verdad for behandling av fersk laks
Opti.Form røkt laks	Dose responstesting med Opti.Form	Avdekke hvilke konsentrasjoner som gir hemming av <i>Listeria</i>
Opti.Form røkt laks	Ekstra paralleller for å avklare variasjon mellom prøver ved identiske behandlinger	Avdekke om robust effekt oppnås

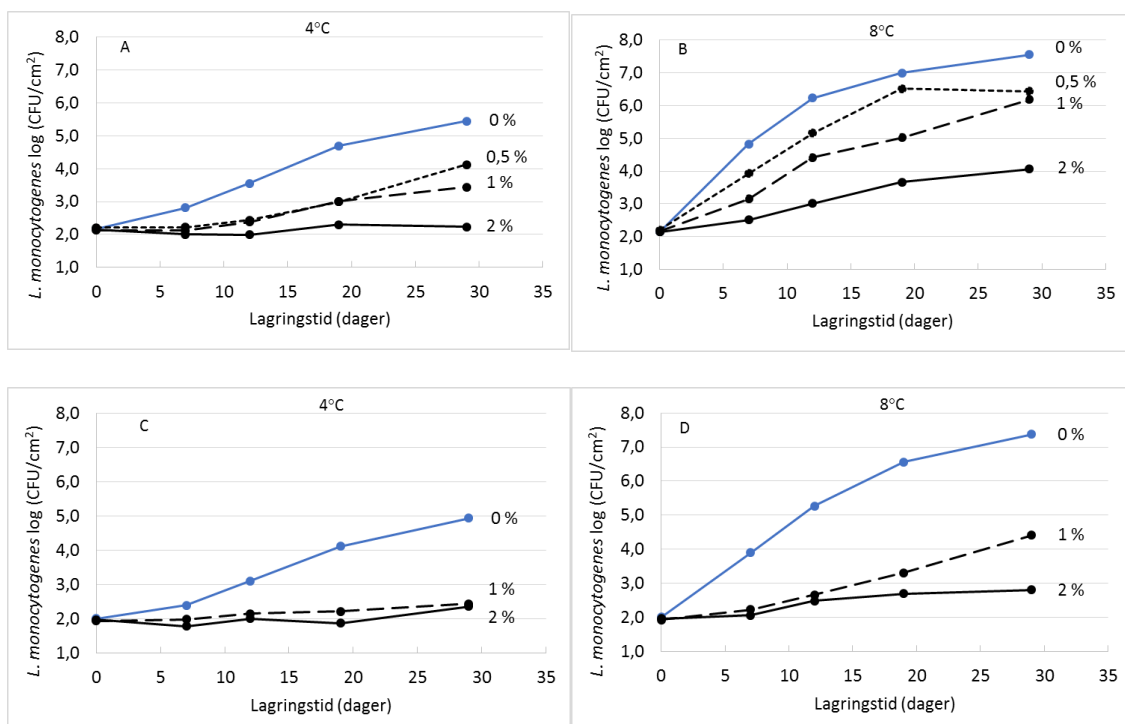


### 5.3.1 Røkt laks: Salter av organiske syrer/fermentater kan hemme vekst av *Listeria*

#### *Listeria*-kontroll med Verdad N6

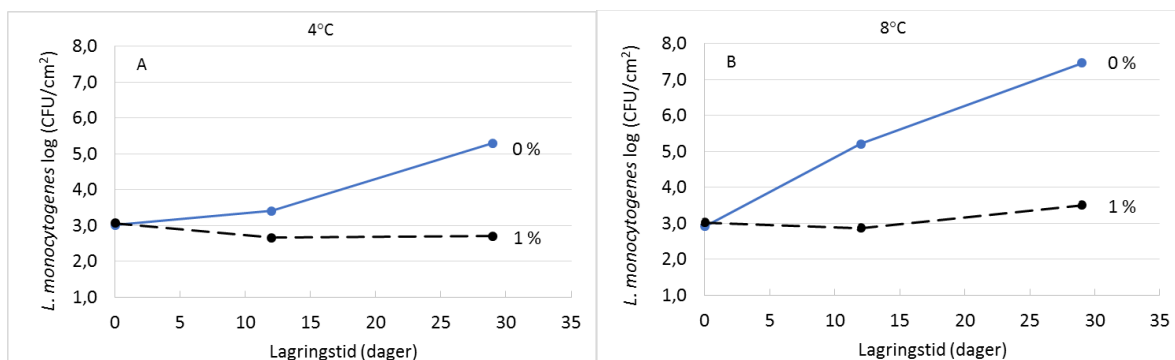
*Effekt på slicet laks:* Verdad ga ikke drap av *Listeria*, men ga en betydelig veksthemming av *Listeria* under lagring (Figur 5). Hemmeeffekten var avhengig av konsentrasjon av Verdad tilsatt og lagringstemperatur. Ved 4°C ble det oppnådd tilnærmet full veksthemming ved tilsetning av 2 % Verdad (vektprosent) til laksen, mens *Listeria*-nivået i kontroll-laks uten Verdad økte 10 000 ganger i lagringsperioden på 29 dager. Ved 8 °C lagring ble det ikke oppnådd full veksthemming, men Verdad ga betydelig hemming av *Listeria*-vekst sammenlignet med kontroll-laks uten Verdad hvor *Listeria*-nivået økte over 100 000 ganger i løpet av lagringsperioden. Resultatene illustrerte også betydningen av å lagre laksen ved lave kjøletemperaturer ≤ 4°C for å redusere vekst av *Listeria*.

Sukker er vanlig brukt ingrediens hos enkelte produsenter av røkt laks. Vi undersøkte om røkt laks med (1 %) og uten tilsatt sukker ga forskjeller i vekst av *Listeria* i laksen. Veksten av *Listeria* var ikke statistisk signifikant forskjellig i laks med og uten tilsatt sukker lagret ved 4°C eller 8°C i 29 dager.



Figur 5 Veksthemming av *L. monocytogenes* i slicet, røkt laks, lagret vakuumpakket i 29 dager ved 4 °C (A, C) og 8 °C (B, D). Nivåer av tilsatt Verdad N6 (0-2%) i laksen er indikert. Røkt laks uten Verdad N6 (kontroll) er vist i blått. Effekter på mildrøkt laks (A, B) og på kraftigere røyket laks (C, D). Resultatene er gjennomsnittet av 2-4 eksperimenter med 3-5 paralleller i hvert eksperiment.

*Effekt på uslicet laks:* Røkt laks selges også som hel bit/uslicet. Forholdene på overflaten av uslicet, røkt laks kan være forskjellig fra slicet laks, bl.a. med noe ulik grad av tørking og konsentrasjon av røykkomponenter. Dette kan gi ulik vekst av *Listeria* på slicet og uslicet laks. Våre forsøk viste at på uslicet laks ble det oppnådd tilnærmet full veksthemming av *Listeria* allerede ved 1 % Verdad i mildrøkt laks lagret både ved 4 °C og 8 °C, mens uslicet laks uten Verdad viste betydelig *Listeria*-vekst i lagringstiden (Figur 6). Med kraftigere røyking var det mulig å oppnå full veksthemming av *Listeria* uten bruk av Verdad når denne ble lagret ved 4 °C (Heir et al. 2019 (se Leveranser) for alle figurer).



Figur 6 Veksthemming av *L. monocytogenes* i uslicet, mildrøkt laks, lagret vakuumpakket i 29 dager ved 4 °C (A) og 8 °C (B). Nivåer av tilsatt Verdad N6 er indikert. Røkt laks uten Verdad (kontroll) er vist i blått. Resultatene er gjennomsnittet av 2 eksperimenter med 3-5 paralleller i hvert eksperiment.

### Listeria-kontroll med Opti.Form

Drap av *Listeria* ble ikke oppnådd og Opti.Form viste også begrenset veksthemmende effekt på *Listeria* under lagring. Opti.Form reduserte veksthastigheten til *Listeria* i første del av lagringsperioden, men etter 29 dagers lagring var det små forskjeller i *Listeria*-nivåer i laks med og uten tilsatt Opti.Form (resultater ikke vist).

Effekter av ulike behandlinger på bakgrunnsflora og mikrobiologisk kvalitet på laksen er gitt i avsnitt 5.5.

#### Konklusjoner: Effekt av salter av organiske syrer/fermentat på *Listeria* i røkt laks

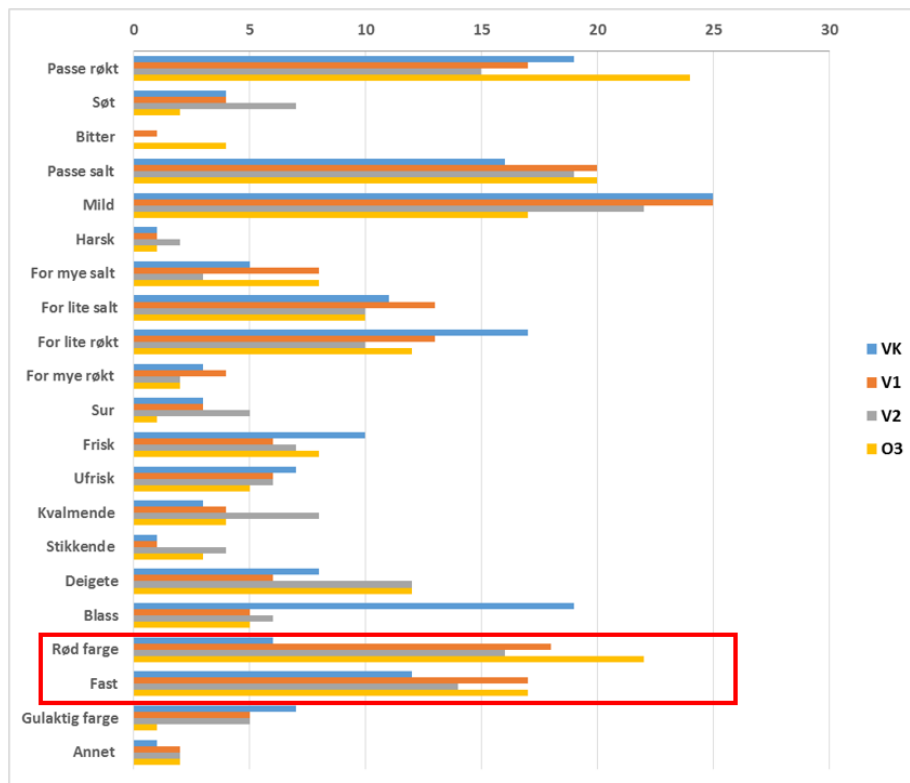
- Verdad viste god veksthemmende effekt av *Listeria* i røkt laks, men noe variasjon i effekt mellom prøver må påregnes
- Verdad hemmet *Listeria*-vekst ved 4 og 8 °C, men vekst av *Listeria* reduseres betydelig ved kontinuerlig og lav lagringstemperatur ( $\leq 4$  °C) i hele perioden fra produksjon til konsum
- Det ble ikke påvist forskjeller i *Listeria*-nivået i lagret røkt laks med og uten tilsatt sukker (1 %) i resepten
- *Listeria* vokser normalt raskere på slicer av røkt laks enn på overflaten av en tilsvarende bit av hel, uslicet røkt laks. Både Verdad og røykkomponenter bidrar til å hemme vekst av *Listeria* i røkt laks

### 5.3.2 Sensoriske egenskaper: Salter av organiske syrer/fermentater gir små sensoriske endringer i røkt laks

Det ble gjennomført en forbrukertest med 50 respondenter for å sammenligne røkt laks med Verdad og Opti.Form og tilsvarende laks uten tilsatt Verdad eller Opti.Form. Fire typer røkt laks ble servert forbrukerne som smakte og rangerte hver prøve på en skala fra 1-9 med hensyn til hvor godt de likte laksen (Tabell. 3.1). I tillegg ble forskjeller mellom laks med og uten Verdad eller Opti.Form vurdert av de 50 forbrukerne basert på utvalgte parametere knyttet smak, utseende, aroma og tekstur. Resultatene viste små forskjeller mellom røkt laks med og uten Verdad/Opti.Form med unntak av parametere knyttet til rødfarge og blasshet. Laks med Verdad eller Opti.Form var signifikant mer rød og mindre blass enn kontroll-laks.

Tabell 4 Resultater fra forbrukerundersøkelsen på spørsmålet «Hvor godt like du prøven? Svarene er gjennomsnittsverdier for vurderingen fra 50 forbrukere etter en skala fra 1-9 hvor 1 var «Likte ikke i det hele tatt» 5 var «Hverken likte eller mislikte» og 9 var «Likte den veldig godt». Det var ikke statistisk signifikante forskjeller i hvordan forbrukerne likte de ulike prøvene (p-verdi 0,492).

Prøve	Liking (gjennomsnitt)
Kontroll	6,24
Verdad 1 %	6,08
Verdad 2 %	5,70
Opti.Form 3 %	5,92
p-verdi	0,492



Figur 7 Egenskaper til laks basert på svar gitt i forbrukertest. Diagrammet viser antall ganger et produkt ble beskrevet med en egenskap av forbrukerne. Egenskaper hvor det ble påvist signifikante forskjeller mellom kontroll (VK) og laks med Verdad og Opti.Form er markert med ramme. Prøvebetegnelse: VK: kontroll-laks uten Verdad/Opti.Form; V1: Laks med 1 % Verdad; V2: Laks med 2 % Verdad; O3: Laks med 3 % Opti.Form.

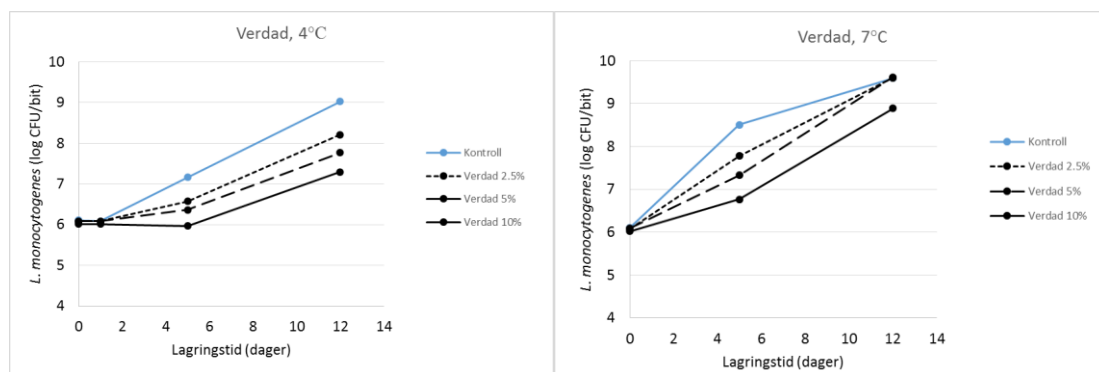
#### Konklusjoner: Effekt av salter av organiske syrer/fermentater på smak og preferanser av røkt laks

- Forbrukertest påviste ingen signifikante forskjeller på preferanse (liking) mellom de ulike typene: Laks med Verdad og Opti.Form anses som like gode som kontroll-laks uten Verdad/Opti.Form
- Laks med Verdad og Opti.Form ble vurdert som signifikant mindre blass og mer rød enn kontroll-laks.

### 5.3.3 Rå laks: Salter av organiske syrer/fermentater kan gi økt Listeria-kontroll

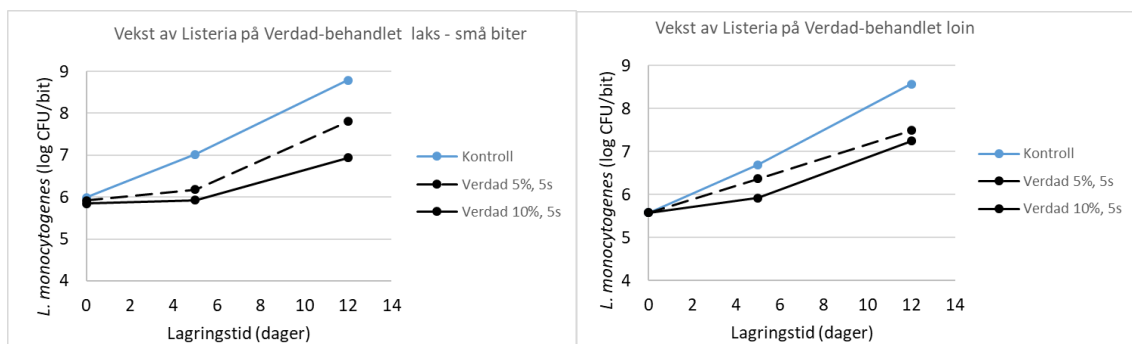
I tillegg til å bli brukt som ingrediens i røkt laks, kan Verdad også benyttes for behandling av rå, fersk laks. Metoden benyttes kommersielt av enkelte produsenter i andre land enn Norge, men effekten på *Listeria* er lite dokumentert. Ved behandling benyttes Verdad løst i vann. Verdad-løsningen kan benyttes som bad for laksen eller kan påføres laksen ved spyling eller lignende.

Effekt av Verdad på *Listeria* i lagringsperioden: Hemming av *Listeria* var doseavhengig med økt hemming med økende konsentrasjon av Verdad (Figur 8). Veksthemmingen var betydelig ved 4 °C lagring. Ved høyere lagringstemperatur (7 °C) var det god veksthemming de første dagene, men ved lang tids lagring var det små forskjeller i *Listeria*-nivåene i ubehandlet kontroll og Verdad-behandlet laks. Det må påpekes at 7 °C er en ekstremt høy lagringstemperatur for fersk fisk, der fisken vil bli vurdert som forringet relativt tidlig i lagringsforløpet. Ved lengre behandlingstid (30 sek) ble det oppnådd inntil ca. 1 log lavere *Listeria*-nivåer etter 12 dagers lagring (ikke vist), men lang behandlingstid anses som vanskelig å implementere i prosessanlegg.



Figur 8 Vekst av *Listeria* på fersk, rå laksefilet lagt i bad med ulike konsentrasjoner av iskald Verdad i 5 sek. Etter behandling ble laksen vakuumpakket og lagret ved 4 og 7°C med prøveuttak i lagringsperioden på 12 dager.

I lab-skala-forsøkene ble det av praktiske hensyn i hovedsak benyttet små biter av laks (10-20 g). Det er vesentlig at resultater oppnådd med små biter er sammenlignbare med resultater oppnådd på laks med realistisk størrelse. Parallelle forsøk med dypping av både små biter og loins (midloins) i løsninger med Verdad ble derfor gjennomført. Resultatene viste at Verdad også hemmer *Listeria*-vekst på loins (Figur 9).



Figur 9 Vekst av Listeria på fersk, rå laksefilet lagt i bad med iskald Verdad (5% og 10%) i 5 sek. Etter behandling ble laksen vakuumpakket og lagret ved 4°C med prøveuttak i lagringsperioden på 12 dager.

### 5.3.4 Sensoriske egenskaper: Eksponeringstid og konsentrasjon av fermentat påvirket sensoriske egenskaper i behandlet rå laks

Det ble undersøkt om behandling av rå laks med Verdad løst i vann påvirket de sensoriske egenskapene til laksen. Sensoriske analyser ble gjennomført både på rå laks og på varmebehandlet laks. I forsøket ble rå, fersk laks lagt i bad med tre ulike Verdad-konsentrasjoner (2,5 % - 5 % - 10 %). For hver Verdad-konsentrasjon ble 2 ulike dyppetider benyttet (5 sek og 300 sek). Ubehandlet kontroll-laks ble også inkludert slik at totalt 7 ulike typer laks ble vurdert av det sensoriske panelet. Etter Verdad-behandlingen ble laksen vakuumpakket og lagret ved 4 °C. Etter 6 dagers kjølelagring ble halvparten av laksen benyttet til sensoriske analyser av det trente sensoriske panelet ved Nofima bestående av 9 dommere. Den andre halvparten ble fryst for senere bruk i sensorisk test av Verdad-behandlet kokt laks. I analysene ble det benyttet beskrivende test i henhold til ISO 13299:2016.

Rå laks: Lang dyppetid (300 s) hadde spesielt effekt på stikkende lukt og -smak med økende intensitet ved lang dyppetid. Konsentrasjonen av Verdad hadde også en effekt på laksen for egenskapene stikkende lukt, men først når konsentrasjonen oversteg 5 %.

Kokt laks: Også for kokt laks hadde lang dyppetid (300 s) effekt på egenskapene stikkende lukt og -smak. Intensiteten blir høyere med lang dyppetid. Konsentrasjonen av Verdad hadde også en effekt på laksen for egenskapene stikkende lukt og emmen lukt og smak, med økende intensitet ved høye Verdad-konsentrasjoner. Syrlig lukt avtok noe med høyere Verdad-konsentrasjoner.

#### Konklusjoner: Effekt av salter av organiske syrer/fermentater på sensoriske egenskaper til rå og kokt laks

- Kort dyppetid (5 s) med Verdad i konsentrasjoner opp til 5 % ga små sensoriske endringer på både rå og kokt laks
- Lang dyppetid (300 s) og høye konsentrasjoner av Verdad (10 %) ga en liten, men statistisk signifikant høyere intensitet av enkelte lukt- og smaksegenskaper (stikkende lukt, emmen smak) enn i ubehandlet laks. Dette gjaldt både for rå og kokt laks
- Lang dyppetid og høye konsentrasjoner av Verdad bidro til noe lavere intensitet av marin lukt i rå laks og syrlig lukt i både rå og kokt laks

## 5.4 Effekt av andre behandlinger på rå og røkt laks

Etter vurdering av ulike teknologier og metoder for mulig *Listeria*-kontroll på industrielt prosessert laks, ble det bestemt å velge flere teknologier samt enkelte kombinasjoner for å vurdere effekt på *Listeria* og mulig egnethet for bruk i laksenæringen. Teknologiene ble valgt på bakgrunn av at de enten brukes i næringen eller ble ansett å ha potensiale for bruk, men hvor dokumentasjon på *Listeria*-kontroll og andre forhold mangler. Det ble valgt å ha spesielt fokus på evaluering av effekt på rå laks, men enkelte teknologier er også testet på røkt laks. Teknologiene ble benyttet alene eller i kombinasjon (se oversikt i Tabell 5). Hensikten med å teste utvalgte kombinasjoner var å avklare om teknologier som dreper eller hemmer vekst av *Listeria* kan kombineres for å oppnå både drap og veksthemming. For næringen vil optimal *Listeria*-kontroll på laks kunne oppnås ved bruk av teknologier som både dreper *Listeria* og hindrer vekst av overlevende *Listeria* i lagringstiden.

### 5.4.1 Rå laks

Oversikt over valgte metoder og kombinasjoner med gjennomførte forsøk på rå laks er vist i Tabell 5.

Tabell 5 Forsøk gjennomført for å evaluere effekt av ulike teknologier/metoder for behandling av rå laks.

Metode	Hva er testet	Hensikt
ASC*	Effekt av ASC ved ulike konsentrasjoner, behandlingstider/temperaturer	Evaluere effekt av ASC for behandling av fersk laks
	Effekt av ASC når ASC løsningspreparert på ulike måter (jfr. vitenskapelig publikasjon av Kim et al. (2014) J. Appl. Microbiol. 116, 1447-57.	Optimalisere effekt
	Effekt av ASC når ASC fjernes ved skylking i vann/ikke skylking etter behandling	Optimalisere effekt
Nisin	Draps- og veksthemmende effekt av nisin på <i>Listeria</i> i laks. Betydning av nisin-nivåer og lagringstemperaturer.	Avklare dose-respons effekter for <i>Listeria</i> reduksjon og vekst ved bruk av nisin
	Effekt av smittedose ( <i>Listeria</i> -nivå på laksen) for effekt av nisin	Avklare om smittedose har betydning for effekt av nisin
Kombinasjon: Verdad + Nisin	Avklare om behandling som kombinerer veksthemming (Verdad) og drap (nisin) gir økt <i>Listeria</i> -kontroll	Optimalisere <i>Listeria</i> -kontroll
PhageGuard (Listex)	Draps- og veksthemmende effekt av Listex på <i>Listeria</i> i laks. Betydning av Listex-nivåer og lagringstemperaturer.	Avklare dose-respons effekter for <i>Listeria</i> - reduksjon og vekst ved bruk av Listex
	Effekt av smittedose ( <i>Listeria</i> -nivå på laksen) for effekt av Listex	Avklare om smittedose har betydning for effekt av Listex
Kombinasjon: Verdad + PhageGuard (Listex)	Avklare om behandling som kombinerer veksthemming (Verdad) og drap (Listex) gir økt <i>Listeria</i> -kontroll	Optimalisere <i>Listeria</i> -kontroll

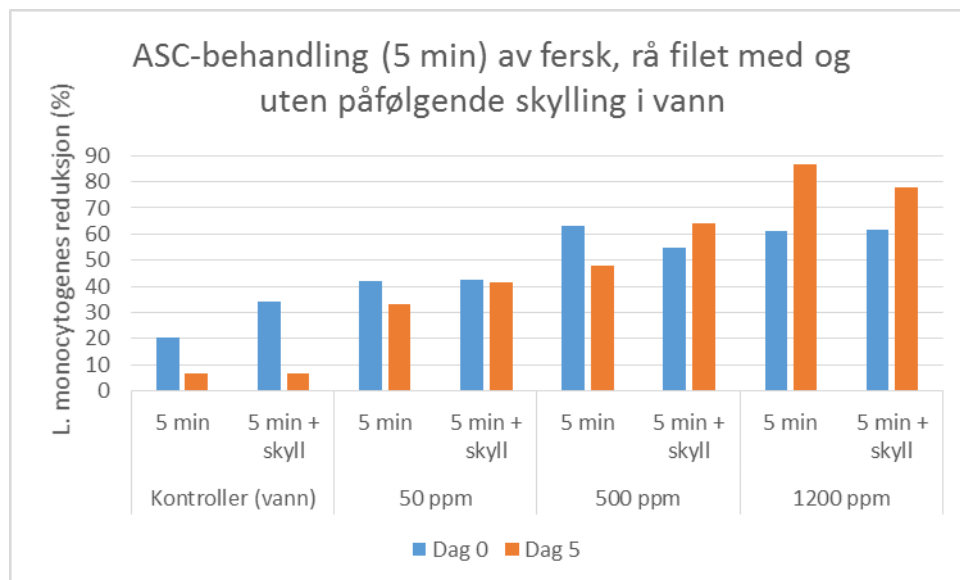
\*ASC = Acidified Sodium Chlorite (sur natrium kloritt)

### Sur natriumkloritt (ASC) gir lite *Listeria*-reduksjon i laks

Sur natriumkloritt (Acidified Sodium Chlorite, ASC) er tillatt brukt i enkelte markeder og benyttes kommersielt som et desinfeksjonsmiddel for desinfisering av overflater i matindustrien, men også for direkte bruk på mat inkludert rå laks. Bruk av ASC i nivåer < 1200 ppm natriumkloritt (pH 2.3-2,9) er tillatt brukt i ulike land for dekontaminering av mat som skal ha påfølgende varmebehandling. For produkter som ikke skal varmebehandles er tillatt grense 50 ppm. ASC lages ved å blande en organisk

syre, ofte sitron- eller melkesyre, med natriumkloritt. Dette genererer klorisyre som deretter gir utvikling av klor og klordioksid som har antimikrobiell effekt. Det er begrenset med dokumentasjon på effekt av ASC på *Listeria* på fisk. I tillegg til at ASC benyttes kommersielt, ble det nylig publisert en prosedyre for tillaging av ASC slik at denne skulle få optimal antimikrobiell effekt (Kim et al. J. Appl. Microbiol. 2014). Forsøk i dette prosjektet inkluderte uttesting av ASC som beskrevet i Tabell 5.

Behandling av laks med ASC i bad hadde liten ekstra effekt på reduksjon av *Listeria* sammenlignet med tilsvarende behandling med rent vann (Figur 10). Kun ca 50 % reduksjon i *Listeria*-nivået ble oppnådd selv ved høye konsentrasjoner av ASC (500 og 1200 ppm) og lange virketider (5 min). ASC ga en viss veksthemmende effekt på *Listeria* ved lang virketid og høy konsentrasjon av ASC og inntil 1 log (90 %) lavere *Listeria*-nivåer ble påvist i ASC-behandlet laks sammenlignet med kontroll-laks behandlet med vann etter 5 dagers aerob lagring ved 4 °C. Temperatur på ASC-løsningen ved behandling (2-4 °C vs. 20 °C) viste små forskjeller i effekt. Kortere behandlingstid (30 sek) ga effekter tilsvarende skylning i vann (data ikke vist). Det var til dels sterk lukt av klor ved bruk av ASC og høye ASC-konsentrasjoner (≥500 ppm) viste en tendens til bleking av filetfargen, men ingen systematiske sensoriske analyser ble gjennomført.



Figur 10 Reduksjon (%) av *L. monocytogenes* i fersk laksefilet behandlet med tre nivåer av ASC (50 ppm, 500 ppm, 1200 ppm) i 5 min og med/uten påfølgende skylning med vann. Reduksjonene for ASC-behandlingene er beregnet i forhold til tilsvarende behandlinger med vann. Reduksjonene for vann-behandlingene er i forhold til ubehandlet kontroll. *Listeria*-nivåer bestemt umiddelbart etter behandling og etter 5 dagers lagring, 4 °C.

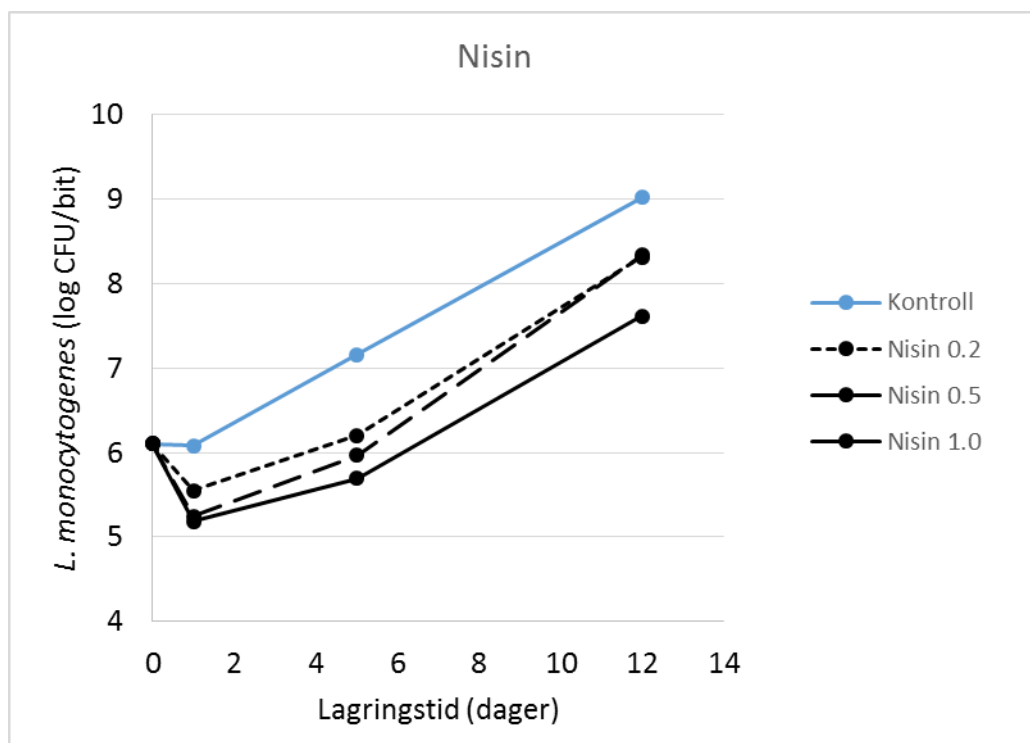
### Nisin gir *Listeria*-reduksjon, men hemmer ikke vekst av *Listeria* i laks

Nisin brukes kommersielt på røkt laks i markeder hvor dette er tillatt, blant annet USA. Bruk av nisin på rå laks er lite studert. Nisin-behandling av rå laks viste en viss dose-avhengig effekt av nisin på *Listeria*-nivået i laksen (Figur 11). Nisin dreper *Listeria*, men hemmer i liten grad *Listeria*-vekst under lagring. Inntil 1 log (90 %) reduksjon kan forventes, men ved videre lagring under temperaturer og forhold hvor *Listeria* kan vokse, vil *Listeria*-bakterier som har overlevd behandlingen kunne vokse med om lag samme hastighet som i ubehandlet laks. Ved normalt lave smittedoser vil imidlertid 90 % drap av *Listeria* bidra til betydelig økt *Listeria*-holdbarhet. Eksempelvis vil laks med 10 *Listeria* per gram som

nisin-behandles (1 ppm) og lagres ved 4 °C ikke overstige 100 bakterier før etter ca 10 dagers lagring. Ubehandlet kontroll-laks vil ikke nå 100 *Listeria* per gram etter ca 5 dagers lagring ifølge våre resultater. Det ble oppnådd samme relative effekt på drap av *Listeria* (log-reduksjon) uavhengig av mengde *Listeria* som var til stede på laksen ved nisinbehandling.

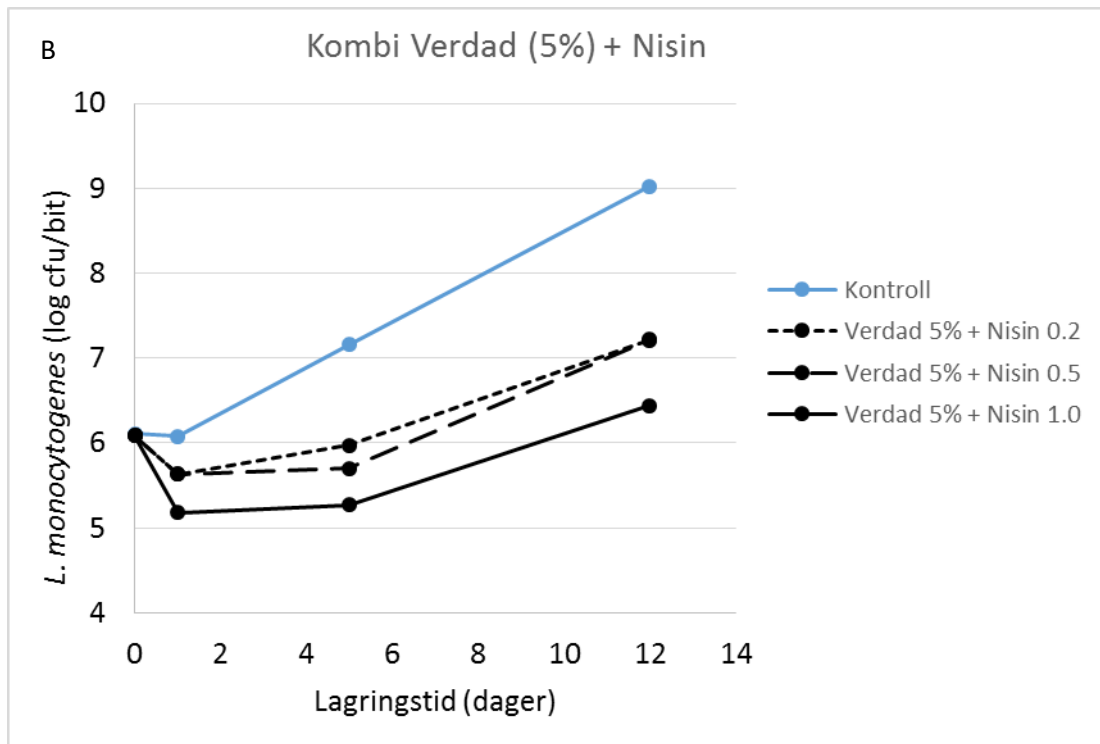
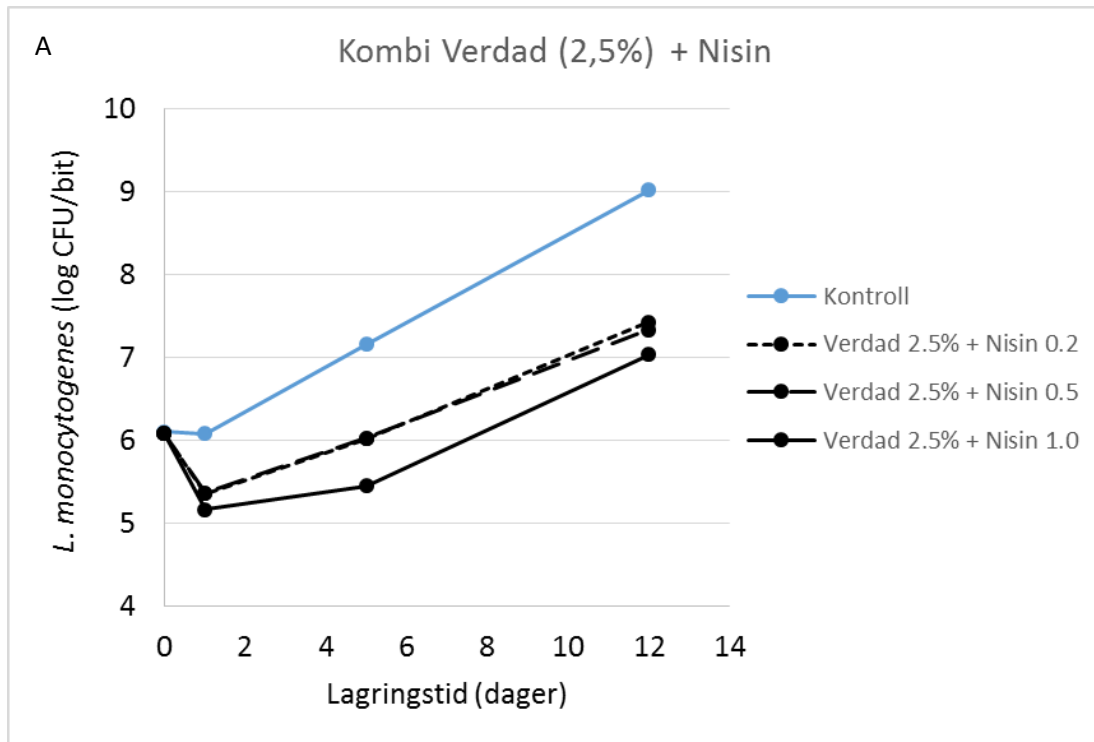
### Kombinert behandling med nisin og Verdad gir både drap og veksthemming av *Listeria*

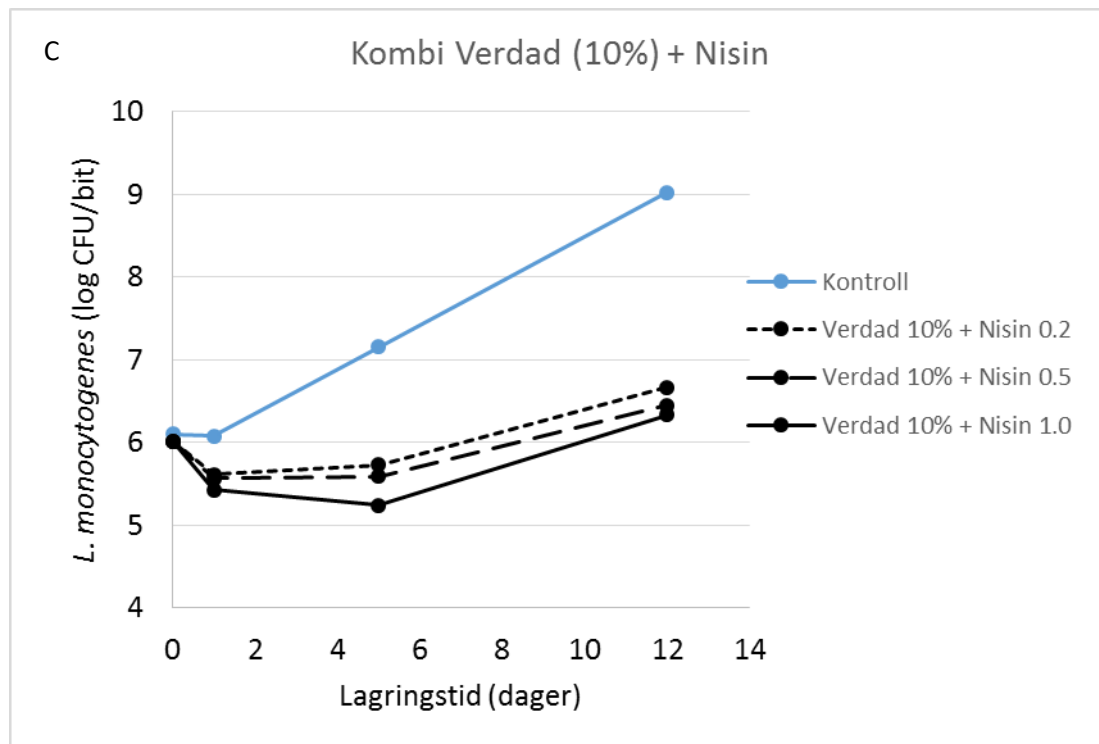
Kombinert behandling med dypping av laks i bad med Verdad og deretter behandling med nisin ga som forventet inntil 1 log (90 %) reduksjon av *Listeria*. Verdad bidro til redusert vekst av overlevende *Listeria* i lagingstiden (Figur 12). Effekten var avhengig av konsentrasjoner av nisin og Verdad i tillegg til lagringstemperatur. I laks behandlet med Verdad og nisin var det mulig å oppnå tilnærmet samme *Listeria*-nivå i laksen etter 12 dagers lagring som det i utgangspunktet var i laksen før behandling ved dag 0. For ubehandlet laks økte *Listeria*-nivået 1000 x i lagringstiden på 12 dager. Ved 7 °C lagring, økte *Listeria*-nivået raskere, både i behandlet og ubehandlet laks, men nivåene i ubehandlet kontroll var 100-1000 x høyere enn i behandlet laks.



Figur 11 *Listeria*-nivåer i rå laks etter nisin-behandling med ulike nivåer av nisin (0,2-1,0 ppm) og lagring i 12 dager ved 4 °C. Ved dag 0 ble biter av rå laksefilet (10 g) smittet med  $10^6$  *Listeria* per bit og deretter behandlet med nisin.







Figur 12 *Listeria*-nivåer i rå laks etter kombinerte behandlinger av rå laks med dypping av laksen i bad med Verdad-løsninger: A (2,5 % Verdad), B (5 % Verdad), C (1 0% Verdad) etterfulgt av nisinbehandling med ulike nivåer av nisin (0,2-1.0 ppm) og lagring i 12 dager ved 4°C. Ved dag 0 ble biter av rå laksefilet (10 g) smittet med  $10^6$  *Listeria* per bit og deretter behandlet med Verdad og nisin.

#### PhageGuard Listex alene og i kombinasjon med Verdad bidrar til drap og veksthemming av *Listeria*

PhageGuard Listex brukes kommersielt på røkt laks i markeder hvor dette er tillatt, blant annet USA. Bruk av Listex på rå laks er lite studert. På tilsvarende måte som for nisin, men i mindre omfang, gjennomførte vi uttesting av Listex alene og i kombinasjon med Verdad. Bruk av Listex ( $5 \times 10^7$  pfu/cm<sup>2</sup>) ga 1,5 log reduksjon, men hemmet i liten grad vekst av *Listeria* som hadde overlevd behandlingen under lagring. I kombinasjon med dypping i Verdad (5 %, 5 sek) ble også veksthemming oppnådd. Etter 12 dagers lagring ved 4 °C var *Listeria*-nivået i ubehandlet laks økt 1000 ganger (3 log), mens *Listeria*-nivået i Listex-behandlet laks og i kombinasjon Listex + Verdad-behandlet laks var henholdsvis 1,5 og 3 log-enheter lavere enn i ubehandlet laks.

### Konklusjoner: Effekt av andre behandlinger på rå laks

- Sur natriumkloritt gir liten drapseffekt på *Listeria* selv ved konsentrasjoner og behandlingstider som er langt over det som anses å være relevant for eventuell bruk i laksenæringen.
- Nisin gir inntil 1 log (90 %) drap av *Listeria*, men hemmer ikke vekst av *Listeria* som evt. overlever behandlingen. Drapseffekten er doseavhengig
- Nisin i kombinasjon med Verdad gir samme drap som nisin alene, men Verdad bidrar til veksthemming av *Listeria* ved lagring. Hemmeeffekten er avhengig av Verdadkonsentrasjon og lagringstemperatur med økende effekt ved høye konsentrasjoner og lav lagringstemperatur
- Behandling med Listex (bakteriofag) ga omkring 1,5 log reduksjon i *Listeria*, men hemmer ikke vekst av *Listeria*. Etter 12 dagers lagring ved 4 °C var *Listeria*-nivået 1000 x høyere i ubehandlet laks enn i laks behandlet med kombinasjon av Listex og Verdad

### 5.4.2 Røkt laks

I tillegg til bruk av UV-lys og salter av organiske syrer/fermentater på røkt laks (beskrevet i kap. 5.2 og 5.3), ble det gjennomført enkelte forsøk med utvalgte enkeltbehandlinger samt kombinasjoner av behandlinger (Tabell 6). Hensikten med å teste utvalgte kombinasjoner var å avklare om teknologier som dreper eller hemmer vekst av *Listeria* kan kombineres for å oppnå både drap og veksthemming. Slike kombinasjoner vil potensielt kunne gi optimal kontroll med *Listeria* i røkte lakseprodukter

Forsøkene ga til dels mye variasjon i effekt på *Listeria*, og ytterligere gjentak er nødvendig for å avklare hvordan enkelte av behandlingene påvirket reduksjon og veksthemming av *Listeria* på den behandlede laksen. Resultater og konklusjoner er kort oppsummert under.

Tabell 6 Utvalgte enkeltbehandlinger og kombinasjoner av behandlinger testet på røkt laks.

Metode	Hva er testet	Hensikt
Nisin	Draps- og veksthemmende effekt av nisin på <i>Listeria</i> i laks. Betydning av nisin-nivåer og lagringstemperaturer.	Avklare dose-respons effekter for <i>Listeria</i> reduksjon og vekst ved bruk av nisin
Kombinasjon: Verdad + Nisin	Draps- og veksthemmende effekt av nisin på røkt laks produsert med Verdad som ingrediens.	Avklare om kombinasjon av Verdad og Nisin ga økt effekt mot <i>Listeria</i>
PhageGuard- Listex	Draps- og veksthemmende effekt av Listex på <i>Listeria</i> i laks. Betydning av Listex-nivåer og lagringstemperaturer.	Avklare dose-respons effekter for <i>Listeria</i> -reduksjon og vekst ved bruk av Listex
Kombinasjon: Verdad + PhageGuard-Listex	Draps- og veksthemmende effekt av Listex på røkt laks produsert med Verdad som ingrediens	Avklare om kombinasjon av Verdad og Listex ga økt effekt mot <i>Listeria</i>
Kombinasjon: UVC + Verdad	Draps- og veksthemmende effekt av UV-lys på røkt laks produsert med Verdad som ingrediens	Avklare om kombinasjon av Verdad og UV ga økt effekt mot <i>Listeria</i>

### Nisin alene og i kombinasjon med Verdad kan bidra til økt *Listeria*-kontroll i røkt laks

Nisin brukt alene ga drap av *Listeria*. Ved bruk av 1 ppm Nisin ble det oppnådd inntil 1 log reduksjon (90 %) av *Listeria* på nisin-behandlet, røkt filet. Forsøk med større doser (inntil 10 ppm) viste ikke betydelig økning i drapseffekt på *Listeria*.

Nisin viste ingen veksthemmende effekt på *Listeria*, og *Listeria* som overlevde nisin-behandlingen på røkt laks vokste til samme nivåer eller høyere i ubehandlet laks ved lagring.

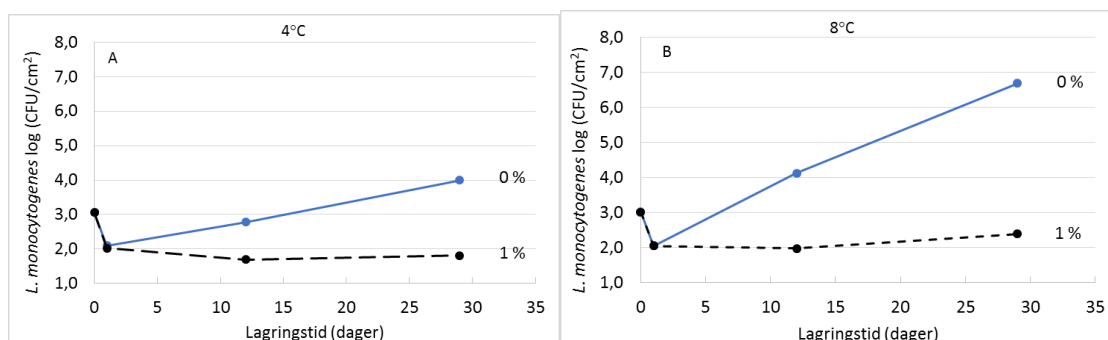
I røkt laks som inneholdt Verdad (1 % tilsatt ved salting i røkelaksprosessen) var det til dels stor variasjon i oppnådde effekter mot *Listeria* ved lengre tids lagring. Verdad i laksen bidro i alle tilfeller til å hemme vekst av *Listeria* i første del av lagringsperioden på 29 dager. I siste del av lagringsperioden varierte resultatene fra god hemmeeffekt til liten veksthemming av *Listeria* slik at *Listeria*-nivåene kunne være like høye eller høyere enn i ubehandlet laks. Dette var til dels overraskende. Årsaken til at nisin ser ut til å gi svært begrenset effekt ved lengre tids lagring, kan være at nisin ikke bare virker mot *Listeria*, men også har bakteriedrepende effekt mot andre bakterier. Dette kan bidra til at bakterier som i utgangspunktet er naturlige konkurrenter til *Listeria* drepes og svekkes og dermed får *Listeria* økt evne til å vokse i nisinbehandlet laks som lagres over lang tid og ved høye temperaturer. Det ble benyttet høy smittedose med *Listeria* (ca  $10^5$ /g) i forsøkene og dette kan også ha bidratt til å gi *Listeria* økt konkurransevne og økt vekst. Resultatene over ble oppnådd ved 8 °C lagring. Ytterligere forsøk er nødvendig for å avklare hvordan nisin bør benyttes for å oppnå optimal *Listeria*-kontroll i røkt laks.

### **Listex alene og i kombinasjon med Verdad kan bidra til økt *Listeria*-kontroll i røkt laks**

Listex dreper *Listeria* på røkt laks. Effektivt drap er avhengig av at bakteriofagene (fag) i Listex-løsningen treffer *Listeria* på laksen. Det må derfor brukes relativt høye nivåer/bakteriofagkonsentrasjoner av Listex for å oppnå god drapeseffekt. Det ble oppnådd ca 2-3 log (99-99,9 %) reduksjon av *Listeria* på røkt filet ved bruk av Listex med fag-nivåer i området  $5 \times 10^7$ -  $5 \times 10^8$  plakkdannende enheter per  $\text{cm}^2$  (pfu/ $\text{cm}^2$ ). Listex ( $5 \times 10^7$  pfu/ $\text{cm}^2$ ) hemmet i liten grad vekst av *Listeria*-bakterier som overlevde Listex-behandlingen. Men drap av *Listeria* etter behandling førte til lavere *Listeria*-nivåer gjennom lagringstiden på Listex-behandlet laks enn på ubehandlet laks. I kombinasjon med Verdad var det stor variasjon i resultatene. Mens Verdad hemmet *Listeria*-vekst i første del av lagringstiden, var det til dels dårlig hemmeeffekt av Verdad i siste del av lagringstiden på 29 dager. I forsøkene med både nisin (se over) og Verdad ble høy smittedose med *Listeria* benyttet for å kunne kvantifisere drapeseffekten av behandlingene. De unormalt høye smittedosene kan ha påvirket *Listeria* sin evne til å vokse i produktene. Listex virker kun på *Listeria* og dreper ikke andre bakterier. Det ble påvist *Listeria*-stammer med toleranse mot Listex-nivåene som ble brukt (se resultater oppsummert i kap. 5.5.2). Effektivt drap av *L. monocytogenes* i brukerkonsentrasjoner av Listex kan være en utfordring for bruk av Listex mot *Listeria* på laks. Videre forsøk er nødvendig for å avdekke hvordan Listex i kombinasjon med andre teknologier kan gi effektivt drap og veksthemming av *Listeria*. Lavere og mer realistiske smittedoser bør da trolig benyttes.

### **UVC-belysning og Verdad i kombinasjon gir både drap og veksthemming av *Listeria***

Uslicet, røkt laksefilet ble smittet med *Listeria* og deretter UV-behandlet, vakuumpakket og lagret ved 4 °C eller 8 °C (Figur 13). Både laks uten (0 %) og med (1 %) Verdad ble benyttet i forsøket. UV-behandling ga ca. 1 log (90 %) reduksjon av *Listeria* på laksefileten umiddelbart etter behandling. I laks uten tilsatt Verdad vokste *Listeria* ved både 4 °C og 8 °C i løpet av lagringstiden, men *Listeria*-nivåene var likevel om lag 1 log lavere i UV-behandlet laks enn i laks som ikke ble UV-behandlet etter endt lagring. UV-lys gir dermed drap av *Listeria*, men ser ikke ut til å påvirke veksthastigheten til overlevende *Listeria*. I laks med 1 % Verdad ga UV-behandlingen 1 log drap og ingen videre *Listeria*-vekst ble påvist i lagringstiden på 29 dager.



Figur 13 Vekst av *Listeria* i mildrøkt, uslicet laksefilet uten (0 %) og med (1 %) tilsatt Verdad. Ved dag 0 ble laksen UV-behandlet ( $0,050 \text{ J/cm}^2$ ) og deretter vakuumpakket og lagret i inntil 29 dager ved  $4^\circ\text{C}$  (A) eller  $8^\circ\text{C}$  (B).

#### Konklusjoner: Effekt av utvalgte enkeltbehandlinger og kombinasjoner på røkt laks

- Nisin ga inntil 1 log drap, men hemmer ikke vekst av *Listeria* som eventuelt overlever nisinbehandlingen på røkt laks
- Listex ga inntil 2-3 log drap, men hemmer ikke vekst av eventuelt overlevende *Listeria* i lagringstiden
- Kombinasjoner av Verdad og nisin samt Verdad og Listex ga ikke forventet veksthemming ved lengre tids lagring. Videre studier er nødvendig for å avklare årsaker til dette
- Kombinasjon av UVC-belysning og Verdad på uslicet røkt laks ga inntil 1 log drap og full veksthemming av *Listeria* i lagringstiden

## 5.5 Andre effekter av teknologiene anvendt på laks

For enkelte behandlinger ble det undersøkt om disse ga andre effekter utover kontroll med *Listeria* og endringer i sensoriske egenskaper. Oversikt over ulike behandlinger og undersøkte effekter av disse er gitt i Tabell 7 og beskrevet i avsnittene 5.5.1 - 5.5.3.

Tabell 7 Oversikt over teknologier/behandlinger og andre effekter knyttet til disse behandlingene som ble undersøkt (utover effekt mot *Listeria* og sensoriske egenskaper)

Type behandling	Hva som ble undersøkt
UVC- og puls UV-behandling av rå laks	Effekt på mikrobiologisk kvalitet
Røkt laks med organiske salter/fermentater som ingrediens	Effekt på mikrobiologisk kvalitet Utbytte/vekstvinn ved bruk av Verdad som ingrediens Nivå av acetat og andre salter av organiske syrer i røkt laks med Verdad pH i røkt laks med Verdad
Rå, fersk laks behandlet med Verdad	Effekt på mikrobiologisk kvalitet Nivå av acetat og andre salter av organiske syrer i røkt laks med Verdad pH i Verdad-behandlet rå laks
Nisin	Kartlegging av mulig nisin-tolerante <i>Listeria</i> -stammer
Listex	Kartlegging av mulig Listex-tolerante <i>Listeria</i> -stammer

### 5.5.1 Effekt av behandlinger på mikrobiologisk kvalitet

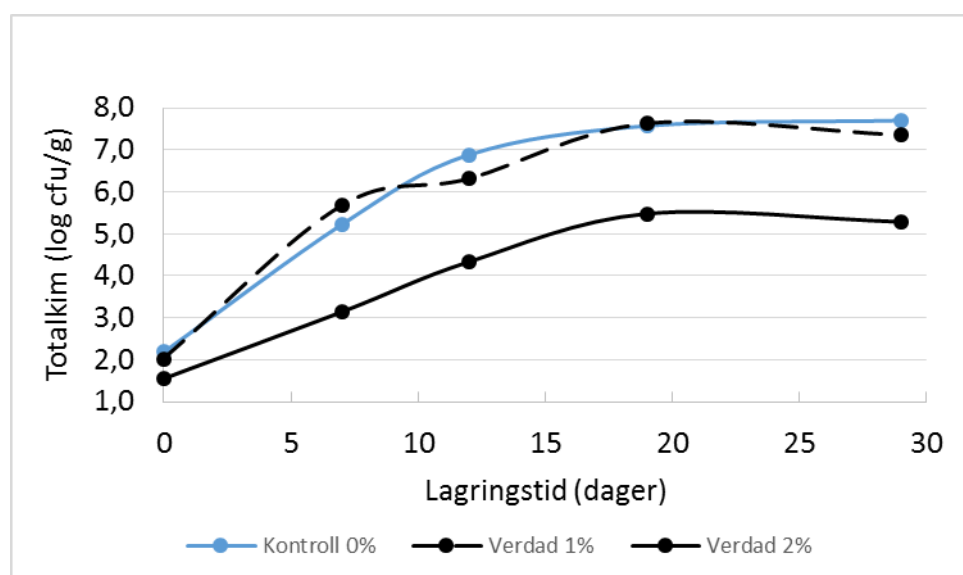
En mulig tilleggseffekt av å oppnå økt kontroll med *Listeria* i laks kan være at man også oppnår økt kontroll med andre bakterier som er til stede på laksen, inkludert bakterier som forringer kvaliteten.

#### Rå laks behandlet med UVC- og puls UV-lys

I rå, fersk laks indikerte resultatene at UVC-behandling (50 mJ/cm<sup>2</sup>) ga om lag 90 % (1 log-enhet) reduksjon av totalkim på laksen etter behandling, men ved videre lagring ved 4 °C var det små forskjeller i totalkim på UV-behandlet og ubehandlet laks. Resultatene er kun basert på ett forsøk og er derfor usikre, og figur er ikke inkludert i denne rapporten. Effekt av UVC- og puls UV-belyst laks på sammensetningen av bakgrunnsfloraen på røkt laks ble ikke undersøkt.

#### Røkt laks med Verdad eller Opti.Form som ingrediens

Forsøkene viste at laks tilsatt 2 % Verdad hemmet vekst av bakgrunnsfloraen og dermed ga lavere totalkim i røkt laks ved lagring, mens laks tilsatt 1 % Verdad ikke viste lavere nivåer av totalkim i lagringstiden enn kontroll-laks uten Verdad (Figur 14). For Opti.Form var tilsetninger  $\geq 3$  % nødvendig for å oppnå vesentlig veksthemming av bakgrunnsfloraen (ikke vist).



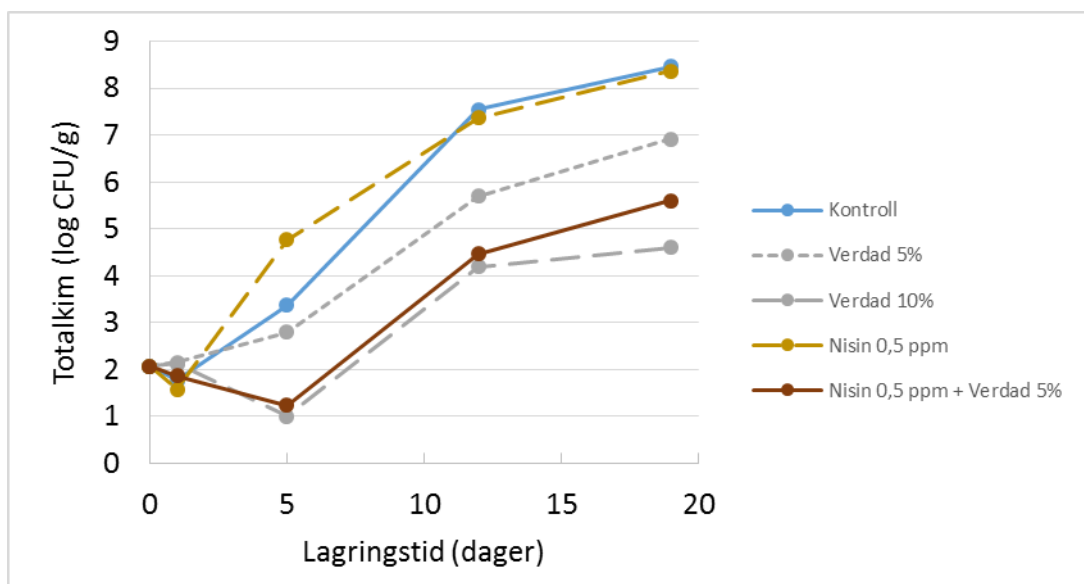
Figur 14 Effekt av Verdad (0% (blå), 1% (stiplet) og 2% (heltrukket)) på vekst av totalkim i røkt laks lagret i 29 dager ved 4 °C. Gjennomsnittet av 3 replikate prøver.

I tillegg til at effekt av Verdad på antall bakterier i laksen ble undersøkt, ble det også undersøkt om Verdad og andre betingelser i prosessen (røykeprosess, sukker, slicet/hel) påvirket sammensetningen av bakterier i den røykte laksen. Resultatene indikerte at 2 % Verdad reduserte det relative nivået av bakterier av typen *Photobacterium*, mens det relative nivået av melkesyrebakterier av typen *Carnobacterium* økte (se Heir et al. 2019 for detaljer; Se Leveranser). *Photobacterium* er en kjent forringer av laks (særlig fersk laks), mens melkesyrebakterier kan ha varierende effekt på den sensoriske kvaliteten. Resultatene indikerte ikke at forskjeller i røykegrad, tilsetning av sukker eller overflatebehandling med UVC påvirket bakteriesammensetningen i prøvene. Resultatene her er fra kun ett forsøk. Bakteriesammensetningen på røkt filet under lagring påvirkes av en rekke faktorer inkludert råvarekvalitet, hygieniske forhold i produksjonen samt øvrige prosess og resept-betingelser. Forringelsespotensialet kan også variere mellom bakterier av samme art. Resultatene tilsier at man

kan forvente redusert totalkim ved bruk av 2 % Verdad i resepten og at man kan redusere nivået av enkelte typiske forringelsesbakterier, men om dette gir en robust forbedret sensorisk kvalitet avhenger av flere forhold.

### Rå, fersk laks behandlet med Verdad og nisin

Behandlinger med Verdad (5 % og 10 %) og Verdad (5 %) i kombinasjon med nisin (0,5 ppm) ga reduserte nivåer av totalkim i lagringstiden (Figur 15). Best effekt ble oppnådd med 10 % Verdad hvor kimtallet ikke oversteg 5 log bakterier per gram etter 19 dagers lagring ved 4 °C, mens kimtallet i ubehandlet rå laks var nær 10000 ganger høyere. Kombinasjon av nisin og 5 % Verdad viste nær like god effekt som 10 % Verdad benyttet alene.

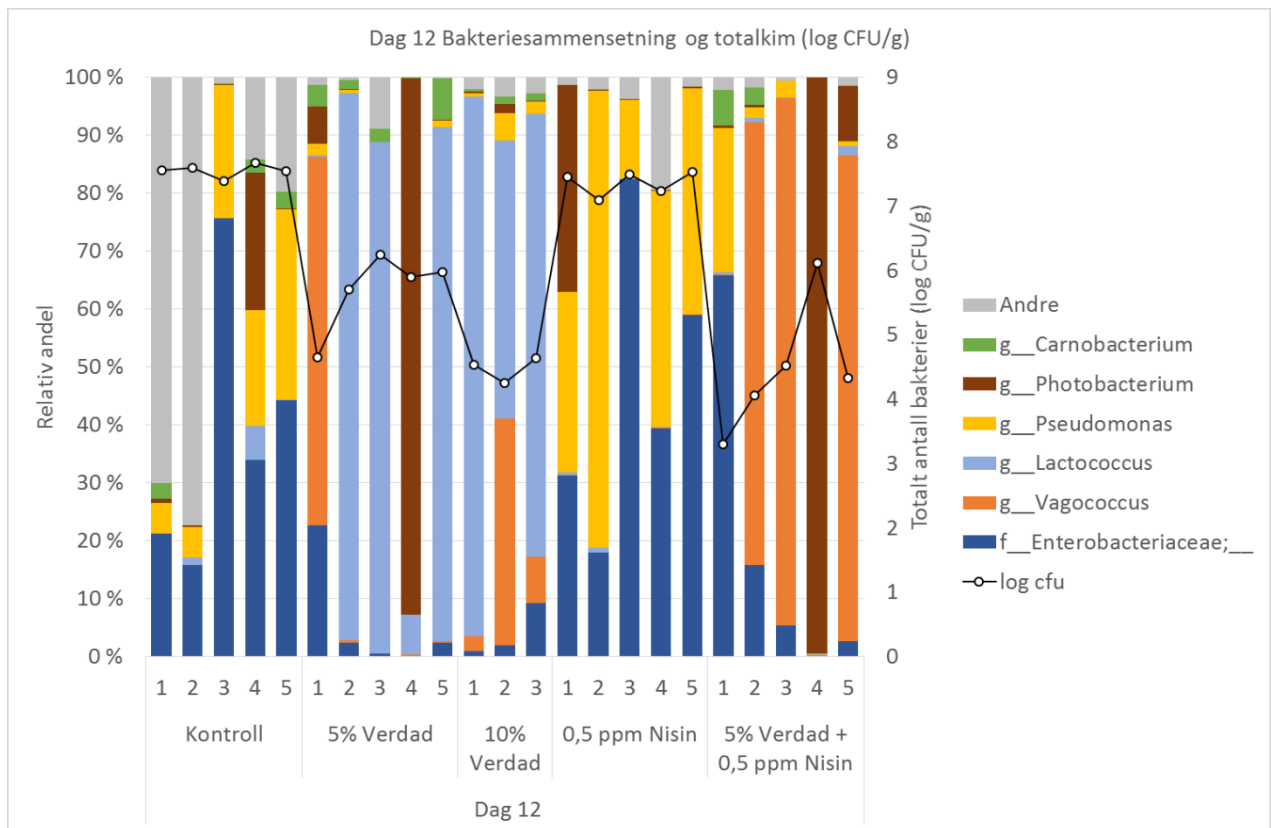


Figur 15 Vekst av totalkim på rå laks som ikke ble behandlet (kontroll) og som ble behandlet med Verdad alene (5 % og 10 %), Nisin og kombinasjonen Verdad + Nisin. Laksen ble lagret vakuumpakket i 19 dager ved 4 °C og prøvetatt i lagringstiden. Gjennomsnittet av 3-5 replikate prøver per prøvepunkt.

Bakteriesammensetningen i ubehandlet kontroll-laks og i Verdad- og nisin-behandlet rå laks viste at Verdad-behandlingen i tillegg til å gi lavere totalantall bakterier på laksen også påvirket bakteriesammensetningen i laksen etter 12 dagers lagring ved 4 °C (Figur 16). I Verdad-behandlet laks var det lavere relative nivåer av bakterier av typen *Pseudomonas* og *Enterobacteriaceae*, mens det relative nivået av *Lactococcus* så ut til å øke sammenlignet med ubehandlet kontroll. Nisin brukt alene indikerte relativt små endringer både i antall bakterier og i sammensetningen sammenlignet med kontroll. I laks behandlet med kombinasjonen Verdad + nisin var det en del variasjoner mellom parallelle prøver, men bakterier av typen *Vagococcus* dominerte i 3 av 5 analyserte prøver.

Resultatene er basert på et fåtall prøver og må tolkes med forsiktighet. Likevel indikerer dataene at til dels betydelig økt mikrobiologisk kvalitet kan oppnås ved behandling av rå laks med salter av organiske syrer/fermentater. Hvilken betydning endringene i bakteriesammensetningen har for mikrobiologisk holdbarhet av laksen krever ytterligere studier. En rekke faktorer vil kunne påvirke effekten av denne type behandlinger inkludert hygienisk kvalitet på laksen ved behandling, nivå og type fermentat/salter

til stede i brukt behandling og ikke minst lagringsforhold hvor temperatur og type emballering vil påvirke vekst og sammensetning av mikrobefloraen i lagringstiden.



Figur 16 Bakteriesammensetning og totalt antall bakterier/g i ubehandlet laks (kontroll) og i laks behandlet med Verdad (5% og 10%), Nisin (0,5 ppm) og kombinasjon av 5% Verdad og 0,5 ppm Nisin. Laksen ble lagret vakuumpakket i 12 dager ved 4°C før analyse. Bakteriesammensetning er gitt som relativ andel av den totale bakteriesammensetningen på laksen. 3-5 parallell prøver av hver behandling ble analysert.

### 5.5.2 Effekt av Listex og nisin på *Listeria*-stammer med nedsatt følsomhet mot Listex

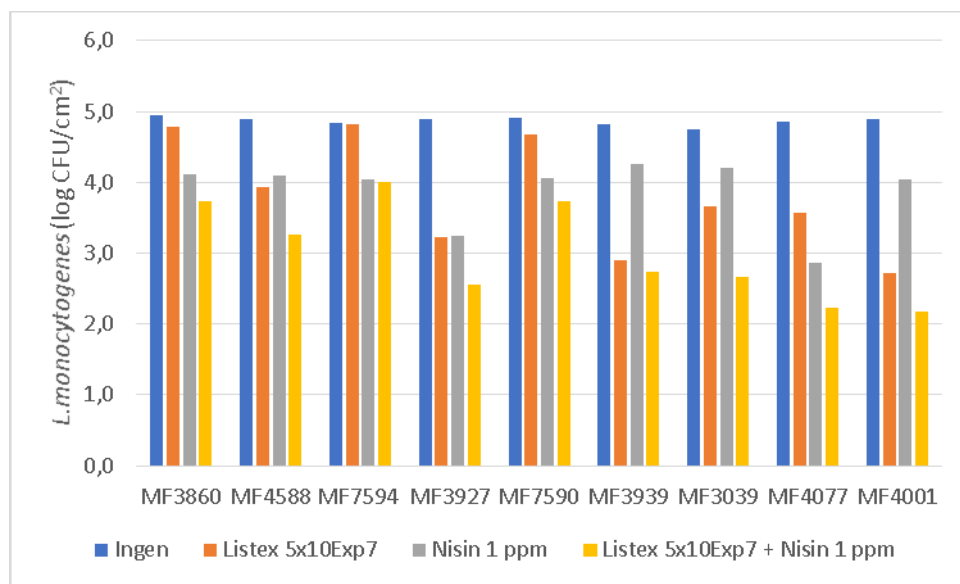
Stammer av *L. monocytogenes* som ikke drepes av relevante brukerkonsentrasjoner av Listex eller nisin har vært rapportert i vitenskapelig litteratur. For å oppnå ønsket effekt av Listex og nisin brukt mot *Listeria* på laks, er det vesentlig at omfanget av *L. monocytogenes* som er resistente eller har nedsatt følsomhet for Listex eller nisin er lav og at bruk av slike behandlinger/teknologier ikke gir resistensutvikling. Listex- og nisinfølsomhet i et begrenset utvalg av *L. monocytogenes* stammer er derfor blitt undersøkt. I tillegg har vi undersøkt mulig samvirkning mellom behandling med nisin og listex i kombinasjon. Stammene valgt for uttesting inkluderte typer av *L. monocytogenes* som er hyppig påvist i laksenæringen.

I innledende forsøk ble *Listeria*-stammer og Listex fag kryss-utsådd på petriskåler. I skjæringspunktet mellom bakterier og fag vil de fleste bakteriene dø, men noen få kan mutere og vokse opp til resistente kolonier. Metoden viste at enkelte stammer er resistente mot Listex i normale brukerkonsentrasjoner og at det kan oppstå resistente mutanter av stammer som i utgangspunktet er følsomme mot Listex. Påvisning av flere Listex-resistente stammer har blitt verifisert ved tilsats av Listex ( $5 \times 10^7$  Listex fag/ml) til flytende kulturer av *L. monocytogenes*. I tilsvarende forsøk med nisin (1 ppm) ble det ikke påvist



nisin-resistente stammer. Omfanget av *L. monocytogenes* fra norsk laksenæring som viser resistens eller nedsatt følsomhet mot Listex eller nisin er ikke kartlagt. Dersom Listex eller andre behandlinger skal ha ønsket effekt, er det likevel vesentlig at *L. monocytogenes* som potensielt er til stede er følsomme mot tiltakene.

Det ble gjennomført forsøk for å avklare effekt av Listex- og/eller nisinbehandling på laks som var smittet med *L. monocytogenes* med ulik følsomhet for Listex. Resultatene viste at Listex brukt alene ikke drepte Listex-resistente stammer/mutanter, men at nisin i kombinasjon med Listex har god drapeseffekt også på Listex-resistente *Listeria* (Figur 17).



Figur 17 *Listeria*-nivåer (log-verdier) på laks smittet med *Listeria* ( $10^5/cm^2$ ) med ulik følsomhet mot Listex og deretter behandlet med  $5 \times 10^7$  Listex, 1 ppm nisin, en kombinasjon av begge deler eller ingen behandling. MF7594 og MF7590 er Listex-tolerante mutanter av henholdsvis stamme MF4588 og MF3927.

### 5.5.3 Kan bruk av Verdad i laks gi endringer i pH, acetat-nivå eller utbytte?

**pH og acetat-nivåer i røkt laks:** Det ble undersøkt om bruk av Verdad som ingrediens i røkt laks ga endringer i pH i laksen samt endringer i nivået av salter av organiske syrer. Både i laks med og uten Verdad var pH i laksen nær pH 6,0 i hele lagringstiden på 29 dager. Analyser av nivået av organiske syrer i laksen viste at hovedbestanddelen i Verdad var acetat. Nivåene av acetat i laks var om lag 20 ganger høyere i laks med 2 % tilsatt Verdad enn i laks uten Verdad. Det var ingen forskjeller i laktat-nivået i laks med og uten tilsatt Verdad.

**Utbytte i Verdad-behandlet røkt laks:** Ved produksjon av røkt laks er det ønskelig å unngå unødig væsketap i produksjonsprosessen og dermed redusert utbytte. I våre forsøk ble vekstvinn i laks med og uten tilsatt Verdad undersøkt før røyking og på ferdig, røkt produkt. Det var 1,7 - 3,2 % høyere vekstvinn i laks med Verdad enn i kontroll-laks før røyking. Etter røyking var vekstvinnet fortsatt høyest i laks med Verdad, men røykeprosessen påvirket vekstvinnet og forskjellene ble mindre mellom laks med og uten Verdad ved en kraftigere røykeprosess. Vekstvinn fra rå fisk til ferdig røkt produkt lå på mellom 5 og 8 % i mildrøkt laks og 8-10 % i laks røkt i en kraftigere røykeprosess med høyere vekstvinn

i laks med økende nivåer (inntil 2 %) av Verdad. Relativt sett var målt vektsvinn i våre småskalaproduksjoner ved Nofimas anlegg ikke høyt i forhold til rapportert vektsvinn ved normal, kommersiell produksjon av røkt laks (muntlig meddelelse fra medlemmer i referansegruppen). Det er flere faktorer både i råvaren og prosessen som påvirker vektsvinnet. Det vil uansett være ønskelig å avklare faktorer og produksjonsbetingelser som minimerer vektsvinnet og som samtidig ivaretar behov og krav rundt kvalitet og mattrygghet (her *Listeria*-kontroll) i denne type produkter. Mer detaljert info om pH, acetat-nivåer og utbytte er gitt i Heir et al. 2019 (se Leveranser kap. 7).

**pH og acetat-nivåer i rå laks:** Dypping av rå, fersk laks i Verdad påvirker ikke pH i laksen i lagringstiden. Verdad-løsningene (5 % og 10 %) hadde en pH nær 6,0. Både ubehandlet laks og laks dyppet i 5 sek og 300 sek i disse løsningene hadde pH-verdier på 6,2-6,4 i hele lagringsperioden på 12 dager.

Målinger av acetat-nivået i ubehandlet laks og i laks behandlet med 5 % og 10 % Verdad i 5 sek viste ingen forskjell i acetat-nivåene mellom ubehandlet laks og 5 % Verdad-behandlet laks (0,46 mg/g), mens nivået i 10 % Verdad-behandlet laks var 45 % høyere (66 mg/g). Laksen hadde vært fryst før analyse.

## 5.6 Kost-nytte vurderinger

På bakgrunn av resultater fra prosjektet og diskusjoner i referansegruppen, pekte to teknologier seg ut for enkle kost-nytte vurderinger; bruk av UVC-lys for belysning av laks for reduksjon av *Listeria* på overflaten av ulike typer laks (rund, sløyd, filet) og bruk av et kommersielt tilgjengelig fermentat (Verdad N6, hovedbestanddel Natriumacetat) som ingrediens i røkt laks eller som overflatebehandling av rå laks ved bruk av vanndige løsninger med fermentat. Disse teknologiene ser ut til å ivareta flere viktige kriterier for at skal kunne egne seg for bruk ved produksjon og prosessering av laks. Potensielt egnede teknologier må ved anvendelse gi økt *Listeria*-kontroll gjennom nivåreduksjon eller veksthemming av *Listeria* på laksen, opprettholde eller forbedre kvalitet og sensoriske egenskaper til laksen, være tillatt brukt og ha potensiale for implementering i produksjonsprosessen innenfor akseptable kostnadmessige rammer og i henhold til trygg, sikker og helsemessig produksjon (HMS).

### 5.6.1 Enhet for UV-belysning i lakseslakteri

Bruk av UV-lys betyr investeringer i nye teknologiske løsninger som må inn i produksjonslinjene. Da har vi to alternativer; Ombygging for innpassing av UV-utstyr på linjer på eksisterende anlegg eller planlegging av nye anlegg med UV-linjer. Vi har konsultert utstyrsleverandører og næringsmiddel-teknologiske rådgivingsmiljø (FHS Skandinavia, sterilAir og Cabinplant) når det gjelder dimensjonering og kostnader forbundet med installering og drift. Forutsetningene har vært at bestråling på begge sider av fisken/produktet skal være i tilstrekkelige doser til at å redusere bakteriemengden på overflaten med inntil 1 log (90 % reduksjon), og utstyret skal ikke føre til redusert linjekapasitet.

Det ble også gjennomført diskusjoner med kompetent personell på et av Mowis lakseslakterier for å drøfte mest mulig hensiktsmessig innpassing av UV-enheter. Slakteriet har en kapasitet på i overkant av 400 tonn sløyd laks pakket for skipning per produksjonsdag på to 8 timers skift. Gitt forutsetningen at nytt utstyr ikke skal reduser kapasitet, må enheter for UV-bestråling av laks ha en samlet kapasitet til å bestråle 100 laks i minuttet med tilstrekkelige doser.

Det ble diskutert to steder på linja der fisken kunne bestråles; før den går inn i filetmaskinen og etter grading, men før pakking i kasser. Hensikten med UV-belysning av overflate før sløyning er å unngå kontaminering av bukhole i sløyeprosessen. Det ble imidlertid diskutert at fra sløyelinja, via kjøling og grading var det store muligheter for kontaminering før pakking. Når målet er å redusere sannsynlighet for påvising av *Listeria* på sløyd laks som skal sendes fra anlegget, vil det beste stedet for å sette inn en UV-enhet være umiddelbart før pakking. (Det samme vil sannsynligvis også gjelde i produksjon av filet. For kaldrøkt laks vil belysning under slicing være et alternativ).

Gitt kapasitet på 200 tonn per skift, må enheter plassert foran sløyemaskiner eller etter grader ha en kapasitet til å håndtere 100 fisk i minuttet. En vesentlig del av fisken er over 6 kg og laks over 9 kg kan gå gjennom anlegget. Dette betyr at enten så må UV-enheter dimensjoneres for å ta fisk opp til 9+, eller så må de største fiskene sluses utenom enhetene. De tekniske konsulentene har arbeidet med å komme med et forslag til UV-enheter både for å bestråle laks før sløyning og før pakking i kasser. Dette gjelder teknisk løsning og anslag for kostnader. Det har imidlertid vist seg at selv om det er relativt god plass på det slakteriet vi besøkte så vil det være vanskelig. Ved bygging av nye slakterier vil dette være enklere og billigere.

I henhold til foreløpige anslag fra rådgiverne vil det koste i underkant av 1 million kr for en UV-tunnel dimensjonert i henhold til de forutsetningene gitt innledningsvis i dette kapitlet. På anlegget vi besøkte er det tre pakkelinjer. En tunnel vil ha ca. 10 års levetid og det vil maksimalt koste 50 000 kr i året per tunnel i vedlikehold. Det arbeides fortsatt med et komplett kostnadsbilde, herunder kostnad for ombygging av linjer.

Utfordringene vil være å passe inn tunnelene på linjene og det vil det være store kostnadsforskjeller mellom anlegg. Det kan vise seg vanskelig/kostbart i eksisterende slakterier, men vil være enkelt når det bygges nye anlegg. Dette kan bety at kostnaden kan komme til å bli vesentlig høyere.

For anlegget med tilsvarende dimensjoner som det slakteriet vi besøkte vil dette bety økte årlige kostnader, før ombygginger av linjer, på ca 450 000 kr.  $((1\ 000' / 10 + 50') * 3)$ . Anslått årlig slaktemengde: 400 tonn/dag\*5 dager/uke\*40 uker/år= 80 000 tonn. Eksklusive ombyggingskostnader vil dette bety at produksjonskostnaden vil øke med ca. 0,006 kr/kg. Selv om ombygning kan bli vesentlig på enkelte anlegg vil likevel kostnadene ved å belyse sløyd laks med tilstrekkelige doser UV-lys neppe bli vesentlig større enn det dobbelte; 0,012 Kr/kg. For andre slakterier vil det sannsynligvis bli andre kostnader, men i samme størrelsesorden.

I gjennomsnitt ble det slaktet i underkant av 30 000 tonn per slakteri i 2018.

### **5.6.2 Enhet for UV-belysning i lakserøykerier**

I likhet med for slakterier var rådet fra de tekniske rådgiverne å plassere utstyr for UV-belysning på slutten av produksjonslinja, nærmere bestemt i slice-operasjonen. Anslaget var at en slik tunnel vil koste ca. 500 000 kr, ha 10 års levetid og årlig vedlikehold vil komme på ca. 25 000 kr. Dette betyr en årlig kostnad på 75 000 kr per linje. Kostnadene per kg for røyt laks vil sannsynligvis bli vesentlig høyere enn for rund slaktet laks på grunn av langt lavere kvantum å fordele kostandene på. Men i disse betraktningene må man også ta høyde for at *Listeria* i røkt laks utgjør en større direkte risiko for konsumentene siden slike produkter er langtidsholdbare og kan ved konsum inneholde høye nivåer av *Listeria* med risiko for sykdomstilfeller og utbrudd. *Listeria* i rå laks gir liten direkte sykdomsrisiko, men

lave forekomster og nivåer er vesentlig for økt *Listeria*-kontroll i hele produksjonskjeden (se også avsnitt 5.6.4).

### 5.6.3 Bruk av Verdad

Bruk av Verdad N6 er aktuelt som tilsetning i salt ved produksjon av røykt laks. Det legges til grunn at Verdad N6 blandes inn i saltet av produsent i tilstrekkelige mengder for å oppnå ønsket effekt. Det vil ikke innebære økte investeringskostnader og heller ikke påvirke produksjonen. Det vil imidlertid føre til at variable kostnader øker tilsvarende økningen av kostnaden ved å blande Verdad i saltet.

Behandling av rå laks med løsninger av Verdad eller andre typer fermentater kan også være aktuelt. Slike behandlinger dreper imidlertid ikke *Listeria*, men bidrar kun til redusert vekst under lagring. Denne type behandling kan enten gjennomføres ved behandling av laksen i bad med vannlige løsninger av fermentat eller påføres laksen ved dusjing. Teknologien er enkel, men enkelte investeringer må påregnes avhengig av type behandling. Videre analyser må gjennomføres hvis slike behandlinger anses som aktuelle.

Det er rettet flere forespørsler til leverandør av salt angående pris for salt tilsatt Verdad N6. Vi har ikke fått svar innen fristen.

### 5.6.4 Nyttevurderinger for økt *Listeria*-kontroll

Påvisning av *Listeria* i laks eller lakseprodukter vil ha ulikt potensial for økonomisk tap avhengig av faktorer som type produkt, omfang av *Listeria*-smitte (produktvolum, nivåer av *Listeria*, tidsbegrenset/kontinuerlig smitte), distribusjonsomfang av smittet laks og om laksen har gitt sykdomstilfeller eller forårsaket utbrudd. Ved påvisning av *Listeria* i rund laks eller laksefilet kan det økonomiske tapet begrenses ved å anvende råstoffet i produkter som varmebehandles. Dette vil eliminere risikoen for smitte. Det kan imidlertid føre til at produkter må returneres eller re-dirigeres til andre kunder, mer eller mindre omfattende nedvask av anlegg og eventuelle kundekrav. Når det gjelder kostnader ved retur/re-dirigering vil dette avhenge av destinasjon og avstander og vil derfor variere sterkt. Innenlands kan kostnaden per bil være under 10 000 kr, mens en tilbakekalling fra f.eks. Hellas vil komme opp mot 75 000 kr per bil. Kostnaden ved nedvask vil avhengig av omfang og kan bety alt fra nedvask av en mindre del av anlegget til total nedvask. For et slakteri kan en slik operasjon føre til anlegget vil være ute av produksjon opp mot en uke.

Når *Listeria* påvises i røkt laks, vil det ikke finnes en alternativ bruk av produktet. Dette betyr tilbakekalling fra kunde og destruksjon av tilbakekalt vare og varelager som kan være infisert. Avhengig av volum vil dette bli svært dyrt<sup>1</sup>. I tillegg kommer kostnader ved tilbaketrekking, nedvask, tapt produksjon og eventuelle kundekrav.

UV-belysning av laks vil gi inntil 1 log (90 %) reduksjon av *Listeria* på laksen. Dette vil kunne gi lavere forekomst og nivåer av *Listeria* på rund, sløyd, filetert eller røkt laks avhengig av hvor i prosessen UV-belysning blir gjennomført. Dermed kan UV-belysning bidra til at mindre *Listeria* kommer inn med laksen til anlegget/slakteriet, men også til at prosessert laks (sløyd, filet, røkt) har lavere forekomst og nivå av *Listeria*. Nytteverdien av redusert *Listeria*-forekomst og nivåer kan dermed være:

---

<sup>1</sup> En informant opplyste at de måtte destruere røkt laks til en verdi av over 4 millioner etter påvist *Listeria*.

- Redusert sannsynlighet for innførsel av *Listeria* til anlegg/slakteri og dermed redusert sannsynlighet for etablering av *Listeria* i anlegg og påfølgende ekstraordinære tiltak/kostnader knyttet til prøvetaking, smittesporing, produksjonsstopp og eliminering av *Listeria* i anlegg
- Reduserte forekomst av *Listeria*-positive prøver fra laks
- Økning i andel produkter som vil tilfredsstille regelverk (ikke detektert i 25 g alt. <100/g ved siste forbruksdag)
- Redusert risiko for tilbaketrekking av *Listeria*-positive produkter fra markedet
- Redusert risiko for sykdomstilfeller/utbrudd som skyldes laks med *Listeria*
- Redusert risiko for tapt renommé
- Økt omdømme hos kunder
- 

I tillegg til ovennevnte nytteeffekter er det en rekke faktorer som påvirker oppnådd nytte. Selv om nivå og forekomst av *Listeria* på laksen reduseres ved UV-behandling, er det mange faktorer som spiller inn før dette også gir nedgang i antall *Listeria*-positive prøver fra laks. Laksenæringen bruker nesten utelukkende kvalitative analyser (*Listeria* til stede eller ikke). For å oppnå *Listeria*-negativt prøvesvar betyr dette at UV-behandlingen må ha redusert *Listeria*-nivået i hele prøven som skal analyseres til <1 bakterie per prøve. Dermed må smittenivået før UV-behandling være mindre enn 10 bakterier (forutsatt 1 log reduksjon ved UV-belysning) på den delen av fisken som går til analyse dersom man ikke skal påvise *Listeria* i fisk som er UV-behandlet.

Andre faktorer som påvirker sannsynlighet for påvisning er at *Listeria* kan være ujevn fordeling på fisken, eller at deler av fisken som kan inneholde *Listeria* (eks. gjeller) ikke eksponeres for UV-lys. I tillegg har prøvetakingsmetodikken stor betydning for påvisning. Svabring av store overflater inkludert gjeller, skinn og buk gir økt sannsynlighet for *Listeria*-funn sammenlignet med 25 g kjøttprøve. Samleprøver hvor flere prøver samles til én prøve før analyse er også mye benyttet. Dette er kostnadseffektivt, men øker også sannsynligheten for å finne *Listeria* i prøven. Smitte av laksen etter UV-behandling inkludert i anlegg som mottar sløyd laks/rå filet som råvare (f.eks. røykerier) kan også ha stor betydning på nytteverdi. Riktig utført UV-belysning vil redusere nivået av *Listeria* på overflater av laksen som eksponeres for UV-lys, men om dette gir betydelig redusert påvisning av antall *Listeria*-positive prøver avhenger derfor av mange faktorer.

Vi har ikke data tilgjengelig som muliggjør kvantifisering av de totale nytteeffektene. Vi har ikke god dokumentasjon på nivået av *Listeria* på ulike typer laks og på ulike deler av laksen, f.eks. nivå på gjeller versus skinn eller inni buk på sløyd laks samt i hvilken grad f.eks. *Listeria* på gjeller vil smitte laksen ved transport og videre prosessering. Oppnådd nytte er dermed svært kompleks å tallfeste og inkludere i en kost-nytte-modell. Vi har derfor begrenset oss til en beskrivende vurdering av nytteeffekter i dette prosjektet.

## 5.7 Vurdering av muligheter for videre anvendelse av resultatene i prosjektet

Teknologier/behandlinger direkte på laksen i ulike deler av produksjonskjeden. Ingen av teknologiene kan gi noen garanti for at behandlet laks er *Listeria*-fri, men flere av teknologiene har potensiale for å bidra til lavere forekomst og nivåer av *Listeria* i laks. Resultatene oppnådd i dette prosjektet er hovedsakelig fra forsøk i laboratorieskala, men som gir et godt grunnlag for valg av teknologier og videre uttesting, optimalisering og implementering i industriell skala. Under gis en kort vurdering av muligheter for videre anvendelse av resultatene i prosjektet knyttet opp mot teknologier/behandlinger anvendt på laks for økt *Listeria*-kontroll.

**UV-belysning av rå og røkt laks.** UV-belysning av laks kan benyttes på råvare og ferdig produkt, inkludert ulike former for rå laks (rund, sløyd, filet) og røkt laks. Dette gir økte muligheter for å redusere nivåer og forekomst av *Listeria* på råvarer inn i eget anlegg og produkter fra eget anlegg enten dette er rå, fersk laks eller videreforedledede produkter som røkt laks. UV-lys gir en begrenset effekt med inntil ca 1 log (90 %) drap av *Listeria*, men med normalt lave smittenivåer av *Listeria* på laksen (<10 *Listeria*/g), vil selv en slik begrenset drapeseffekt gi økt *Listeria*-kontroll. Videre anvendelse krever utvikling og implementering av teknologien i nye og ikke minst eksisterende prosessanlegg slik at optimal effekt ved industriell storskala-prosessering av laks kan oppnås. Belysning med UV-lys er en overflatebehandling. Teknologien må derfor sikre at overflaten av laksen som kan være infisert med *Listeria* eksponeres for tilstrekkelige doser med UV-lys. Dette kan være utfordrende spesielt for belysning av f.eks. bukhulen i sløyd laks, gjeller samt muligens mellom slicer på røkt laks. Videre utvikling av puls UV teknologien for industriell bruk kan gi nye muligheter da denne teknologien krever svært kort eksponeringstid for effekt sammenlignet med kontinuerlig UV-lys behandling. Men per i dag er puls UV så vidt vites ikke brukt kommersielt i anlegg og kontinuerlig UV-lys synes mest relevant. UV-belysning av laks er tillatt brukt i Norge (ref. Mattilsynet) og dette er en viktig forutsetning for bruk i næringen. Kostnader og effekt ved implementering og bruk i ulike deler av laksenæringen bør studeres ytterligere for å avdekke hvor i produksjonskjeden denne teknologien har størst effekt for å gi økt *Listeria*-kontroll i laks.

**Salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens i røkt laks eller for behandling av rå laks.** Salter av organiske syrer eller såkalte fermentater som er salter oppnådd etter mikrobiell fermentering av sukker kan hemme bakterievekst, men dreper ikke bakterier. En rekke salter av organiske syrer brukes utstrakt i blant annet kjøttindustrien for å oppnå økt kontroll med bakterier og lenger holdbarhet på kjølelagrede, spiseklare produkter. Det er mange kommersielle aktører som tilbyr slike produkter, men de er hovedsakelig basert på de samme virkestoffene som ofte inkluderer laktat, acetat, diacetat eller blandinger av disse. Salter av organiske syrer er tilsetningsstoffer med egne identifikasjonsnummere, E-nummere, som må deklarerer på forpakningen. Fermentater er såkalt «label friendly» eller «clean label» ingredienser. Disse har ikke E-nummer, men må deklarerer i henhold til hensikt og bruk. Den veksthemmende effekten på blant annet *Listeria* gjør at slike produkter kan være spesielt egnet for bruk i spiseklare produkter med langholdbarhet, typisk kald-røkt laks, for å hindre at *Listeria* vokser i produktene og dermed redusere risikoen for matbåren listeriose ved konsum av slike produkter. På rå laks kan behandling med salter/fermentater løst i vann hemme mulig vekst av *Listeria* på laksen under distribusjon eller lagring før videre foredling til f.eks. røkt laks. Resultatene fra dette prosjektet viste at salter av organiske syrer og/eller fermentater kan ha svært god veksthemmende effekt på *Listeria* i røkt laks, men ulike produkter og virkestoffer ga forskjellig effekt. Et svært begrenset utvalg ble testet i dette prosjektet og ideelt sett burde flere produkter fra ulike kommersielle leverandører blitt undersøkt. Effekt av saltene/fermentatene ved ulike former for salting (tørssalting, injeksjon, lakesalting) bør også evalueres da det i dette prosjektet var hovedfokus på tørssalting. Det er videre behov for å optimalisere bruk av denne type salter/fermentater ved industriell produksjon slik at man har gode løsninger som sikrer at saltene kan anvendes effektivt og optimalt. Dette gjelder både ved bruk som ingrediens i røkt laks og for behandling av rå laks. Utfordringer ved røkt laks kan være å implementere bruk av disse saltene som en del av den eksisterende salteprosessen og å oppnå tilstrekkelige doser og jevn distribusjon av saltene i laksen som sikrer veksthemmende effekt mot *Listeria*. For behandling av rå laks ble det i dette prosjektet kun undersøkt dypping av laksen i bad med fermentat løst i vann. Alternativ påføring i form av dusjing kan være aktuelt. Mulig resirkulering av slike løsninger bør også undersøkes. Det er ikke kjent at slike salter/fermentater brukes i

laksenæringen i Norge, men det er anlegg og produsenter som benytter dette i Europa både for behandling av rå laks og som ingrediens i røkt laks. Dette indikerer gode muligheter og stort potensiale også for bruk i norsk laksenæring.

**Andre teknologier.** Andre teknologier enn de nevnt over kan i ulik grad ha muligheter for videre anvendelse. Surnatrium kloritt anvendt på rå laks ga svært begrenset effekt og anses etter en totalvurdering å være lite egnet for å oppnå økt *Listeria*-kontroll ved direkte bruk på laks. Nisin og Listex er kommersielle produkter som anvendes for *Listeria*-kontroll i mat. Regelverket for nisin gjør at dette antimikrobielle peptidet er tillatt brukt i enkelte produkter i noen land og i et større spekter av produkter i andre land og markeder. Lignende regelverk gjelder for bruk av Listex. Det kreves god forståelse av regelverket for anvendelse av denne type produkter i laksenæringen, men regelverket åpner opp for å bruke slike teknologier/behandlinger på laks som skal til markeder hvor dette er tillatt brukt på laks. Den *Listeria*-drepende effekten til slike produkter gjør de spesielt interessante, men de har ingen veksthemmende effekt på *Listeria* og bør derfor trolig anvendes i kombinasjon med tiltak som hemmer *Listeria*-vekst. Forekomst av *Listeria*-stammer som er resistente mot bakteriofager (Listex) og antimikrobielle peptider (nisin) bør trolig utredes ytterligere for å avklare hvordan slike midler bør benyttes for å oppnå optimal effekt uten potensielt negative konsekvenser.

## 6 Hovedfunn

- Det er mulig å oppnå reduserte forekomster og nivåer av *Listeria* på rå, fersk laks og på kaldrøkt laks ved å anvende teknologier og behandlinger direkte på laksen og som samtidig ivaretar viktige kriterier som kvalitet på behandlet laks, regelverk og kostnadseffektivitet.
- Belysning av både rå og røkt laks med UV-lys gir drap av *Listeria* på laksen med inntil ca 1 log (90%) reduksjon, men behandlingen kan ikke garantere *Listeria*-frie råvarer eller produkter. Det ble ikke påvist betydelige sensoriske endringer i røkt laks som følge av UV-behandling.
- Salter av organiske syrer og fermentater dreper ikke *Listeria*, men kan hindre vekst av bakterien i laksen ved lagring. Preparatene kan brukes som ingrediens i røkt laks eller ved dusjing/dypping av rå laks og gir kun små endringer i sensoriske egenskaper.
- Kombinerte behandlinger som gir både drap (f.eks. UV-belysning) og veksthemming (f.eks. fermentater) av *Listeria* under lagring har potensiale til å gi effektiv *Listeria*-kontroll i laks.
- Teknologier/behandlinger som dreper *Listeria* på rå og røkt laks inkluderer i tillegg til kontinuerlig UVC- eller puls UV-lys, også bruk av bakteriofager (Listex) eller nisin. Teknologiene reduserer nivået av *Listeria* på laksen fra <1- om lag 2 log (<90-99 % drap) på behandlet laks, men hemmer ikke vekst av eventuelle *Listeria* som overlever behandlingen.
- Metodene kan ikke gi garanti for *Listeria*-fri laks, men gir næringen et godt grunnlag for valg av teknologier for videre nødvendig uttesting, optimalisering og implementering i næringen for å oppnå nødvendig og økt kontroll med *Listeria* i norsk laks.



## 7 Leveranser

Resultatene fra prosjektet er formidlet i ulike fora. Dette inkluderer presentasjoner rettet mot laksenæringen på fagmøter, presentasjoner i møter/seminarer for spesifikke aktører i laksenæringen, presentasjoner på internasjonale konferanser både rettet mot næringen og mot akademia. I tillegg er det blitt publisert populærvitenskapelige artikler i bransjetidsskrifter både i Norge og internasjonalt. Det er per dags dato publisert to vitenskapelige artikler, og det forventes publisering av ytterligere 2-3 vitenskapelige artikler med resultater fra prosjektet. Disse vil ferdigstilles etter prosjektslutt.

Hovedmålgruppen for resultatformidlingen har vært aktører i laksenæringen. Men formidling har også vært rettet mot aktører i andre deler av mat- og sjømatnæringen inkludert Mattilsynet og i noen grad leverandører av utstyr og teknologi for laksenæringen.

I tillegg til ustruktureret ekstern formidling har leveransene inkludert:

- Minimum 2 årlige møter i Referansegruppen samt ad hoc møter ved behov
- Kvartalsvise rapporter til FHF
- Delrapport etter prosjektets to første år levert desember 2017
- Sluttrapport inkludert Tabell med oversikt over evaluerte metoder/teknologier og resultater fra prosjektet.

Under følger oversikt over formidlingsaktiviteter fra prosjektet.

### Fagdag

Fagdag om *Listeria*-kontroll. Arrangement i samarbeid mellom FHF og Nofima. Gardermoen 2019-11-13.

### Faglige foredrag

Heir, Even. *Listeria* kontroll i laks og lakseprodukter – hva er mulig – hva virker? Fagdag om *Listeria*-kontroll. Gardermoen 2019-11-13.

Holck, A. og Heir, E. (2019) Reductions of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked and raw salmon fillets by UV-C and pulsed UV light, Fagdag om Listeriakontroll, Gardermoen 2019-11-13.

Heir, Even. Kontroll med *Listeria* i sjømat. Erfaringssamling sjømat - Mattilsynet; Bodø 2019-10-16.

Heir, Even. Strategies for Microbial Control in Food. Food innovation Gateways Event: Assuring Food Safety & Maximising Shelf-life. Dublin 2019-06-14.

Holck, Askild Lorentz. Reduction of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked and raw salmon fillets by UV-C and pulsed UV light. Big Ideas for UV + EB Technology Conference. Los Angeles USA 2019-03-19.

Heir, Even. *Listeria* control in salmon and salmon processing and other relevant Nofima research activities: Update. Lerøy Competence Group Meeting VAP. Gardermoen 2019-02-20.

Heir, Even. Combatting *Listeria* in the salmon industry: Current status and future perspectives. Lerøy Quality competence group meeting; Bergen 2018-09-12.

Heir, Even. Verktøy mot *Listeria*. Fagsamling slakting av laks og fremtidige løsninger for prosessering. Stavanger 2018-03-06.

- Heir, Even; Liland, Kristian Hovde; Holck, Askild Lorentz. *Listeria monocytogenes* control strategies applied on fresh and cold-smoked Salmon. IAFP's European symposium on Food Safety; Brussel 2017-03-29 - 2017-03-31.
- Heir, Even. *Listeria* mitigation tools in salmon processing: Update. Annual Global Meeting Quality & Processing (Marine Harvest). Edinburgh 2017-05-31.
- Heir, Even. Strategies for control of *Listeria* on fresh and cold-smoked salmon. World Seafood Congress. Reykjavik 2017-09-10 - 2017-09-13.
- Heir, Even. *Listeria* in the food industry: Factors affecting their prevalence and selected strategies for their control. Biofilm Summit 2017; Lisboa 2017-10-25 - 2017-10-26.
- Heir, Even. *Listeria* mitigation agents – effect and limitation with using different available methods and tools. Annual Global Meeting Quality & Processing; Ålesund 2016-08-31.
- Heir, Even. Combating bacteria in the salmon industry. Are *Listeria* control and elimination possible? Salmon Showhow; København 2016-02-10.
- Heir, Even. Combating bacteria in the salmon industry. Are *Listeria* control and elimination possible? Internal seminar, Marel. København 2016-02-09.

### Postere

- Heir, Even; Jensen, Merete Rusås; Hovde Liland, Kristian; Carlehøg, Mats; Holck, Askild Lorentz. Effective control of *Listeria monocytogenes* on salmon by organic acid fermentate and UV-C treatments. International Symposium on Problems of *Listeria* and Listeriosis (ISOPOL); Toronto, Canada 2019-09-24.
- Heir, Even; Liland, Kristian Hovde; Carlehög, Mats; Holck, Askild Lorentz. *Listeria* mitigation strategies on fresh and cold smoked salmon. FoodMicro 2018; Berlin 2018-09-03 - 2018-09-06.

### Populærvitenskapelige artikler

- Heir, Even; Holck, Askild Lorentz. Ny teknologi viser lovende resultater for listeriabekjempelse. Norsk Sjømat 2019 (2) s. 32-35.
- Heir, Even; Holck, Askild Lorentz. Putting a stop to *Listeria* hysteria. *New Food Magazine* 2019; Volum 22 (5).

### Vitenskapelige artikler

- Heir, Even; Liland, Kristian Hovde; Carlehög, Mats; Holck, Askild Lorentz. Reduction and inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon by Verdad N6, a buffered vinegar fermentate, and UV-C treatments. *International journal of food microbiology* 2018; Volum 291. s. 48-58.
- Holck, Askild Lorentz; Liland, Kristian Hovde; Carlehög, Mats; Heir, Even. Reductions of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked and raw salmon fillets by UV-C and pulsed UV light. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2018; Volum 50. s. 1-10.

## **Vedlegg**

1. Evaluerte teknologier og metoder – Oppsummering i tabellformat
2. Metodebeskrivelse

## Vedlegg 1

Teknologi/Metode	Aktiv substans	Produkt	Hvordan produktet er testet i prosjektet	Hva var effekten?	Hva må til før en kan ta dette i bruk?	Kreves det merking? <sup>1</sup>	Godkjent i EU? <sup>1</sup>	Godkjent i andre land? I så fall hvilke?	Hva mangler vi av kunnskap for denne teknologien nå?
<b>UV-lys</b>									
Kontinuerlig UV	UV lys (254 nm)	Fersk laksefilet	Kjøttside	ca 0,5-0,8 log reduksjon på overflaten. Ingen endring i lukt og utseende (forbrukertest røkt laks)	Utvikle tekniske løsninger for bruk i anlegg	Nei (ref. Mattilsynet)	Tillatt i EU (unntatt Tyskland), intet regelverk	USA?	Utvikle teknologi for UV-behandling av laks i anlegg (rund, sløyd, filet, rå og røkt). Verifisere effekter i anlegg under ulike forhold. Sensorisk test rå laks
Kontinuerlig UV	UV lys (254 nm)	Fersk laksefilet	Skinnside	0,5-1,1 log reduksjon på overflaten				USA?	
Kontinuerlig UV	UV lys (254 nm)	Røkt laksefilet	Kjøttside, uslicet	ca 0,6-1,4 log reduksjon på overflaten. Ingen endring i lukt og utseende				USA?	
<b>Puls UV</b>									
Puls UV	UV lys (200-400 nm)	Fersk laksefilet	Kjøttside	ca 0,5 log reduksjon på overflaten	Vurdering av kommersielt utstyr, tekniske løsninger for anlegg	?	?	Tillatt i USA opptil 12 J/cm <sup>2</sup>	Utvikle teknologi for Puls UV-behandling av laks i anlegg (rund, sløyd, filet, rå og røkt). Verifisere effekter i anlegg. Sensorisk test rå laks. Forbrukeraksept?
Puls UV	UV lys (200-400 nm)	Fersk laksefilet	Skinnside	ca 0,6-1,2 log reduksjon på overflaten				Tillatt i USA opptil 12 J/cm <sup>2</sup>	
Puls UV	UV lys (200-400 nm)	Røkt laks	Kjøttside, uslicet	ca 0,7-1,2 log reduksjon på overflaten. Ingen endring i lukt og utseende				Tillatt i USA opptil 12 J/cm <sup>2</sup>	
<b>Organiske salter</b>									
Verdad N6 (som tørt salt)	Fermentat med acetat	Røkt laks, slicet, hel	Tilsatt varierende konsentrasjoner av Verdad, 4 °C og 8 °C. Røkt laks uten/med tilsatt sukker (1%)	Full hemming av Listeria ved 4 °C og 2 % Verdad. Delvis hemming ved 1 % Verdad. Uendret sensorisk preferanse, bedre farge. Intet drap.	Må testes under kommersielle betingelser	Merkes som vinegar, ikke som E-stoff	Antatt ok?	Antatt ok?	Må teste effekt av applisering under industribetingelser, optimalisering i kombi med andre metoder. Flere typer fermentater tilgjengelig - hvilke er best egnet? Effekt på
Verdad N6 (løst i vann)	Fermentat med acetat	Fersk laksefilet, hel	Dyping 2,5% - 5% og 10 % i 5 sekunder og 5 minutter, lagret 12 dager	Vekstreduksjon ved lagring ved 4 °C, ikke drap. Små sensoriske endringer ved høye kons. og lang dypetid	Må testes under kommersielle betingelser	Merkes som vinegar, ikke som E-stoff	Antatt ok?	Antatt ok?	Effekt av applisering under industribetingelser. Flere typer fermentater tilgjengelig - hvilke er best egnet? Effekt på
Opti.Form PPA plus (flytende)	K-lactat /-acetat blanding	Røkt laks, slicet		Dårlig effekt, Listeria vokser, om enn noe svakere vekst enn i kontrollen. Uendret sensorisk preferanse, bedre farge. Intet drap.			?	?	Kan bedre effekt oppnås ved kombinasjoner med andre metoder?

Teknologi/Metode	Aktiv substans	Produkt	Hvordan produktet er testet i prosjektet	Hva var effekten?	Hva må til før en kan ta dette i bruk?	Kreves det merking? <sup>1</sup>	Godkjent i EU? <sup>2</sup>	Godkjent i andre land? I så fall hvilke?	Hva mangler vi av kunnskap for denne teknologien nå?
<b>Oksiderende forbindelser</b>									
Sur natrium kloritt (ASC)	Klorsyre (HClO <sub>3</sub> )	Fersk laksefilet	Testing av ulike konsentrasjoner, behandlingstider og måter å preparere ASC	Ingen effekt ved tillatte doser (opptil 50 ppm). Ulovlig høye doser gir noe effekt (1200 ppm)	Manglende effekt			USA, andre?	
Sur natrium kloritt (ASC)	Klorsyre (HClO <sub>3</sub> )	Fersk laksefilet	Skylling i vann etter ASC behandling vs. ikke skylle	Ingen effekt ved tillatte doser (opptil 50 ppm). Ulovlig høye doser gir noe effekt (1200 ppm)	Manglende effekt				
<b>Antimikrobielle peptider</b>									
Nisin	Nisin løst i vann	Røkt laks, slicet + fersk laksefilet	Påført nisin (ulike konsentrasjoner) på kjøtttsiden, reduksjon og lagringsforsøk	Røkt: 1 log reduksjon- ingen veksthemming. Rå: 1 log reduksjon - ingen veksthemming	Regelverk på tillate bruk på laks (forskjellig regelverk i ulike land)	Ja	Ikke på laks	Tillatt i USA	Optimalisere bruk og kombinasjoner for effektiv Listeria-kontroll. Nisin-toleranse hos Listeria?
<b>Bakteriofager</b>									
Listex	Listex bakteriofagløsning	Røkt laks, slicet + fersk laksefilet	Påført Listex (ulike konsentrasjoner) på kjøtttsiden, reduksjon og lagringsforsøk	Røkt: 2-3 log reduksjon- ingen veksthemming. Rå: 1,5 log reduksjon - ingen veksthemming. Listex tolerante stammer forekommer	Regelverk på tillate bruk på laks (forskjellig regelverk i ulike land)	Ja, trolig. Regelverk i ulike land kan variere	Under godkjenning i Europa for bruk i mat og matproduksjonsmiljøer	Tillatt i USA	Omfang og betydning av Listeria som er tolerante mot Listex/bakteriofager. Forbrukeraksept?
<b>Kombinerte behandlinger</b>									
Verdad + Ekstra røyking	Fermentat med acetat og røykkomponenter	Røkt laks, slicet	Variere Verdad (0-2%) og tid røykeprosess, lagre 4 og 8 °C (uten dektrose)	Økt veksthemming ved hardere røyking	Må testes under kommersielle betingelser				Må teste effekt under kommersielle betingelser. Sensorikk på kombinerte behandlinger
Verdad + Ekstra røyking	Fermentat med acetat og røykkomponenter	Røkt laks, hel	Variere Verdad (0-2%) og tid røykeprosess, lagre 4 og 8 °C (med dektrose)	Økt veksthemming ved hardere røyking. Full hemming ved 4 °C selv uten Verdad ved hard røyking	Må testes under kommersielle betingelser				Må teste effekt under kommersielle betingelser. Sensorikk på kombinerte behandlinger
Verdad + kontinuerlig UV	Fermentat med acetat og UV lys	Røkt laks, hel	Verdad 1 %, UV lys	1 Log drap pga UV, Samme veksthemming under lagring som for Verdad alene	Må testes under kommersielle betingelser				Må teste effekt under kommersielle betingelser. Sensorikk på kombinerte behandlinger
Verdad + Nisin	Fermentat + antimikrobielt peptid	Røkt laks, slicet; Rå laksefilet	Røkt laks: Verdad (1%) som ingrediens + overflatebehandling med nisin. Rå laks: Bad med Verdad + overflatebehandling med nisin	Røkt laks: 1 log drap + delvis veksthemming; Rå laks: 1 log drap + delvis veksthemming	Variabel effekt røkt laks. spesielt ved lengre tids lagring av laksen				Variabel effekt av kombinasjon. Se sluttrapport kap. 5.4.2 for detaljer
Verdad + Listex	Fermentat + bakteriofag	Røkt laks, slicet; rå laksefilet	Røkt laks: Verdad (1%) som ingrediens + overflatebehandling med Listex. Rå laks: Bad med Verdad + overflatebehandling med Listex	Røkt laks: 2-3 log drap + delvis veksthemming; Rå laks: 1 log drap + delvis veksthemming	Variabel effekt røkt laks. spesielt ved lengre tids lagring av laksen				Variabel effekt av kombinasjon. Se sluttrapport kap. 5.4.2 for detaljer

<sup>1</sup> Spørsmålsteget (?) indikerer at regelverk på området ikke er avklart eller at dokumentasjon rundt regelverket på området må undersøkes nærmere

## Vedlegg 2: Metodebeskrivelse

### Innhold

Grunnlag for metodevalg og gjennomføring.....	2
Valg av metoder for uttesting .....	2
Laks brukt i forsøkene .....	2
Listeria brukt i forsøkene.....	2
Gjennomføring av forsøk og uttesting .....	3
Produksjon av røkt laks .....	3
Smitte av laksen med Listeria .....	4
Testede teknologier/metoder for behandling av laks.....	5
UV-belysning .....	5
Testede betingelser under UVC- og puls UV-behandlinger: .....	6
Salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens i røkt laks .....	6
Behandling av rå laks med Verdad N6.....	7
Behandling av rå laks med sur natriumkloritt (ASC) .....	7
Andre behandlinger.....	7
Bruk av Nisin eller bakteriofager på rå eller røkt laks .....	7
Kombinerte behandlinger for økt kontroll med Listeria .....	8
Analyser .....	8
Mikrobiologiske analyser.....	8
Fysio-kjemiske analyser.....	8
Bakteriesamfunnsanalyser på behandlet og ubehandlet røkt og rå laks.....	9
Forbrukertester og sensorisk tester på laks.....	9
Røkt laks: UV-behandling .....	9
Røkt laks: Salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens .....	10
Rå og kokt laks: Salter av organiske syrer/fermentater .....	10

## Grunnlag for metodevalg og gjennomføring

### Valg av metoder for uttesting

Valg av metoder/teknologi for uttesting ble gjort i samråd med styringsgruppen og var delvis basert på resultater oppnådd i forprosjektet «Nye verktøy for kontroll med *Listeria* i laks og lakseprodukter – Vurdering og uttesting av metoder for å redusere *Listeria*-nivået i råvarer og produkter» (FHF #901056). Valgte metoder/teknologier inkluderte belysning med UVC og puls UV av rå filet, rå skinn og røkt laksefilet, bruk av salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens i røkt laks, dekontaminering av rå laks ved bruk av Verdad N6. Ved planlegging av forsøkene ble det avholdt møter med teknologileverandører som grunnlag for valg av forsøksbetingelser.

Det ble i tillegg valgt kommersielt tilgjengelige metoder som anvendes for *Listeria*-kontroll i spiseklare produkter inkludert rå og/eller røkt laks, men hvor det var ønskelig med grundigere dokumentasjon på effekter ved bruk. Valgte teknologier inkluderte sur natrium kloritt (acidified sodium chlorite) for bruk på rå laks og bakteriofager (SafeGuard; tidligere Listex) og nisin for bruk på rå eller røkt laks.

I forsøk på å optimalisere effekten av ulike behandlinger mot *Listeria*, ble kombinasjoner av utvalgte behandlinger testet. Det var spesielt fokus på behandlinger som både ga drap av *Listeria* og hemmet vekst av *Listeria* under lagring av laksen.

### Laks brukt i forsøkene

Rå laks til forsøkene ble levert av Mowi (filet) samt noe av Salmar (loin) Laksen ble oppbevart i kasser med is i kjølerom inntil bruk 1-2 dager etter slakting. Vakuumpakket, kaldrøkt laks ble kjøpt av ekstern produsent og levert som kjølepakke til Nofima 1-2 dager etter produksjon. Kaldrøkt laks ble produsert ved Nofima ved behov (se under), vakuumpakket og oppbevart på kjølerom ved 0-1 °C inntil bruk.

### Listeria brukt i forsøkene

Det ble benyttet en blanding av *L. monocytogenes* stammer (Listeriamiks). Inntil 10 stammer ble brukt i samme miks (Tabell V1). Stammene inkluderte tre referansestammer og sju stammer tidligere isolert fra laksenæringen. Stammene ble dyrket ved 37 °C i 24 t i Brain Heart Infusion buljong (BHI) etterfulgt av ny oppdyrking (1 % inokulum) i BHI ved 12 °C i 48 t. Stammen ble oppbevart 20-24 t ved 4 °C for kuldetilpasning før smitte av laksen. Bruksløsninger som inneholdt en miks av hver stamme i likt antall ble lagd i fysiologisk saltvann og oppbevart på is inntil bruk.

Tabell V1: *Listeria*-stammer benyttet i smitteforsøk av laksen.

Stamme	Serotype	MLVA/ST-type	Kilde	Referanse
MF3860	1/2a	6-10-5-16-6/20	Prosesseringsanlegg laks	(Møretrø et al., 2017)
MF3939	1/2a	5-8-15-10-6/14	Prosesseringsanlegg laks	(Møretrø et al., 2017)
MF4001	1/2a	5-8-15-10-6/14	Prosesseringsanlegg laks	(Møretrø et al., 2017)
MF4077	1/2a	6-9-18-16-6/8	Prosesseringsanlegg laks	(Møretrø et al., 2017)
MF4588	1/2a	7-7-10-10-6/7	Prosesseringsanlegg laks	(Møretrø et al., 2017)
MF4804	1/2a	6-7-14-10-6/121	Prosesseringsanlegg laks	(Møretrø et al., 2017)
MF2184	1/2b	7-8-0-16-0/3	Kjøttpålegg, Utbrudd	2583/92; (Rudi et al., 2006)
MF3009	1/2b	n.d./5	Storfe	FSL J2-064; (Fugett et al., 2006) <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AARO0000000.2/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AARO0000000.2/</a>
MF3039	4b	n.d./6	Humanklinisk, utbrudd	FSL N1-227; (Cantinelli et al., 2013) ( <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3889766/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3889766/</a> )
MF3710	4b	7-7-20-6-10/n.d.	Humanklinisk	CCUG3998; Culture Collection University of Gothenburg

## Gjennomføring av forsøk og uttesting

### Produksjon av røkt laks

Det ble gjennomført fem produksjoner av røkt laks i Nofima, Ås sin prosesshall i prosjektperioden. I produksjonene ble det produsert røkt laks med standardisert mengde NaCl, men med variasjoner i andre utvalgte parametere som inkluderte type og nivå av salter av organiske syrer/fermentater og røykegrad («mild» og «hard» røyking).

To kommersielt tilgjengelig preparater av salter av organiske syrer/fermentater ble benyttet, Opti.Form PPA Plus og Verdad N6, begge fra Corbion. Opti.Form er en blanding av kaliumlaktat og kaliumactetat i væskeform. Verdad er et fermentat i pulverform som hovedsakelig består av acetat. Preparatene inngikk som del av salteprosessen ved produksjon av røkt laks:

- Fersk laksefilet ble mottatt fra slakteri, haleparti ble fjernet og øvrige del av fileten ble delt i 2 og veid
- Salt ble tilsatt i henhold til vekt laksefilet. Verdad ble tilsatt i salteprosessen ved tørrsalting. Saltløsninger var 3 % NaCl og ulike nivåer av Verdad som ble fordelt jevnt utover filetene. I



utvalgte forsøk ble dekstrose (1 % tilsatt) inkludert ved tørrsalting. Opti.Form ble tilsatt ved injisering av bruksløsninger med konsentrasjon av Opti.Form 10 x høyere enn ønsket sluttkonsentrasjon i laksen og deretter tørrsaltet med NaCl.

- Kontrollfileter inkluderte laks uten tilsatt Verdad og uten tilsatt Opti.Form. I forsøk med Opti.Form inkluderte kontroller laks som var injisert med like mengder vann istedenfor Opti.Form, men ellers prosessert på samme måte.
- Saltet og injisert laks ble vakuumpakket i pose og lagret ved 4 °C i 64-68 timer (for jevn fordeling av tilsatt salt i laksen).
- Etter saltutjevning ble laksen veid, tørket for fjerning av overskuddsvæske og røkt (se røykeprogram i Tabell V1).
- Etter røyking ble laksen veid, vakuumpakket og lagret ved 0 °C inntil bruk i smitteforsøk med *Listeria* på biter eller slicer av røkt laks som beskrevet under.

Tabell V2: Røykeprogram benyttet ved røyking av laksen\*

Beskrivelse	Varighet (min)	Temperatur (° C)
<b>Tørking</b>	<b>30</b>	<b>25</b>
<b>Røyk 1</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>Røyksirkulering</b>	<b>20</b>	<b>25</b>
<b>Utlufting</b>	<b>5</b>	
<b>Røyk 1</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>Røyksirkulering</b>	<b>20</b>	<b>25</b>
<b>Utlufting</b>	<b>5</b>	
<b>Røyk 1</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>Røyksirkulering</b>	<b>20</b>	<b>25</b>
<b>Røyk 1</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>Røyksirkulering</b>	<b>20</b>	<b>25</b>
<b>Røyk 1</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>Røyksirkulering</b>	<b>20</b>	<b>25</b>
<b>Utlufting</b>	<b>5</b>	

\* Dette er røykeprosessen for mild røyking. Ved hard røykeprosess inkluderte mild røykeprosess i tillegg til to ekstra runder med røyk, røyksirkulering og utlufting.

#### Smitte av laksen med *Listeria*

I alle forsøk med *Listeria* ble smitte av laksen, håndtering, emballering og lagring gjennomført i patogen prosesshall ved Nofima. Før smitte ble laksen enten delt i biter (rå laks, røkt laks) eller manuelt slicet (kun røkt laks) slik at ulike overflater av laksen kunne smittes. I enkelte forsøk ble det benyttet hele loins av fersk laks for å validere resultater fra forsøk med biter.

- Rå filet: Laksen ble delt opp i biter á ca. 3 x 3 x 1 cm tykkelse. Skinnsiden av laksen ble skåret bort manuelt før smitte, mens overflaten av filetsiden ikke ble skåret slik at denne siden opprettholdt samme overflate som mottatt fra fabrikk.
- Rå skinn: Laksen ble delt opp i biter á ca. 3 x 3 x 1 cm tykkelse med intakt skinnside.
- Røkt filet: Laksen ble enten delt opp i biter á ca. 3 x 3 x 1 cm tykkelse slik at filetsiden forble intakt (= uslicet filet) eller slicet manuelt i skiver (= slicet filet; ca. 0,5 cm tykkelse, totalt ca. 5-10 g per slice). Ved UV-behandling av bøyde laks, ble større biter benyttet (ca. 9 x 3 x 1 cm).
- Loin: Fersk loin i original forpakning ble mottatt fra produsent. Hele loinen ble benyttet i forsøk med *Listeria*-smitte, behandling, pakking og lagring.

Ved smitte av biter (uslicet) ble *L. monocytogenes* tilsatt ved pipettering av 20 µl *Listeria*-miks til filetoverflate eller skinnsiden til hver bit. *Listeria* ble i hovedsak spredt jevnt på laksen vha vinkelstav. I enkelte forsøk ble dråpesmitte av laksen gjennomført. Laksen ble deretter behandlet og evt pakket og prøvetatt (se detaljer under). Ved smitte av slicet laks, ble *Listeria* tilført ene siden av slicet laks ved å pipettering av 20 µl *Listeria*-miks til filetoverflaten. En annen slicet skive ble deretter plassert oppå smittet skive for å oppnå betingelser tilsvarende for slicet laks i forbrukspakninger. Laksen ble deretter pakket og lagret (se detaljer under).

Ved smitte av loins ble hver loin smittet på 3 steder med *L. monocytogenes*. Loins ble deretter behandlet, vakuumpakket og lagret. Ved prøvetaking ble hver loin delt i 3 slik at oppnådde 3 parallelle prøver fra hver loin.



Fig. V1: Smitte av slicet, røkt laks med *L. monocytogenes*. Smittet laks ble deretter vakuumpakket og lagret ved 4 og/eller 8 °C.

Det ble tilsatt ulike mengder *Listeria* avhengig av behandlingsmetode. Høye

nivåer (1 000-100 000 kde/g) av *Listeria*-miks ble tilsatt til biter som skulle behandles med antatt bakteriedrepende metoder (UV-C, puls UV). Lavere nivåer (ca 100/g) av *Listeria*-miks ble tilsatt biter som ble behandlet med metoder som ble antatt å ha *Listeria* veksthemmende effekt (Verdad N6 og Opti.Form PPA Plus). Etter smitte ble laksen behandlet umiddelbart eller lagret kaldt (på is) inntil behandling.

## Testede teknologier/metoder for behandling av laks

### UV-belysning

**Belysning med UVC:** Biter ble belyst i et aluminiumskammer med to UVC-lamper som emitterte UVC-lys med bølgelengde 254 nm. Laksen ble belyst med doser i området 7,5 – 600 mJ/cm<sup>2</sup> ved å kombinere ulike eksponeringstider og avstander mellom lyskilde og laksen.

**Belysning med Puls UV:** Utstyr XeMaticA-SA1L (SteriBeam systems GmbH, Tyskland) ble benyttet ved puls UV-behandling. Dosen i hver puls ble justert til 1,25 J/cm<sup>2</sup> (Lav dose) og 3,6 J/cm<sup>2</sup> (høy dose) ved justering av utløst spenning. Biter ble eksponert for ulike doser av varighet < 1ms: 1xL (1 puls Lav dose), 1xH (1 puls høy dose) og 3xH (3 pulser høy dose, totaldose 10,8 J/cm<sup>2</sup>).

Alle forsøk med UVC og puls UV ble utført på uslicet (hel) laks:

- Biter av *Listeria*-smittet laks ble belyst med ulike doser av kontinuerlig UVC og puls UV-lys
- Overflater av laks som ble behandlet inkluderte fersk, rå filet, rå skinnside og røkt filet
- Laksen ble behandlet 5-10 min etter smitte eller ca 24 timer etter smitte (for test betydning av tid mellom smitte og behandling).
- Bakterie-reducerende effekt av behandlingene ble undersøkt ved kimtallsbestemmelse for *L. monocytogenes* og totalkim (utvalgte prøver).

*Testede betingelser under UVC- og puls UV-behandlinger:*

- *Betydning av fuktighet på laksen for effekt av UV-behandling (rå laksefilet):* Det ble undersøkt om fuktighet/vann på laksen påvirket den *Listeria*-reducerende effekten av UV-lys. Fersk laksefilet ble smittet med *Listeria* og deretter påført ekstra fuktighet/vannfilm på filetoverflaten ved å dryppe og fordele vann på overflaten før UV-behandling. Laksefilet med og uten denne vannfilmen ble deretter eksponert for UV-lys (UVC eller puls UV) umiddelbart etter påføring og reduksjon i *Listeria* ble bestemt.
- *Betydning av tid mellom smitte og UV-behandling (rå laks og røkt filet):* Laks ble smittet med *Listeria* og oppbevart på is/kjøli i 24 timer før UV-behandling. Som kontroll ble laks også UV-behandlet umiddelbart etter smitte. Reduksjon i *Listeria* ble bestemt ved å kvantifisere nivået av *Listeria* i UV-behandlede (UVC og puls UV) og ubehandlede kontrollprøver. Forsøket ble gjennomført på rå, fersk filet og skinnside samt røkt filet.
- *Betydning av smittemåte på effekt av UV (røkt filet):* Betydning av smittemåte på effekt av UV-lys for *Listeria*-reduksjon i laks ble undersøkt. To smittemåter, kontaktsmitte (jevn overflatesmitte) og dråpesmitte ble testet. Effekt av UVC og puls UV ved kontaktsmitte og dråpesmitte ble undersøkt på røkt filet.
- *Betydning av økt UV-lys eksponering av laksen for å oppnå økt *Listeria*-reduksjon (rå filet, røkt filet):* Betydning av økt UV-lys eksponering ble testet ved å eksponere laksen to ganger for samme UV-behandling eller ved å håndtere laksen slik at overflaten av belyst laksefilet ble maksimert. Dette ble gjort ved å bøye laksefileten under belysning. *Listeria*-reduksjon etter dobbel eksponering og etter eksponering av bøyd laks ble undersøkt og sammenlignet med kontroll-laks eksponert én gang og uten bøying.
- *Betydning av UV-behandling på vekst av *Listeria* under lagring (rå og røkt filet):* Det ble undersøkt 1) i hvilken grad *Listeria* som overlever UV-behandling vokste på UV-behandlet laks under lagring 2) om reduksjon i bakgrunnsfloraen som følge av UV-behandlingen ga økt vekst av *Listeria* på grunn av redusert konkurranse. For test av 1), ble *Listeria*-smittet laks behandlet med UV (kun UVC testet) og deretter lagret ved 4 °C (rå laks) eller under vakuumbelagning (røkt laks) ved 4 og 8 °C. Smittet kontroll-laks ble ikke behandlet med UV, men pakket og lagret på samme måte. Prøveuttak for bestemmelse av *Listeria*-nivåer i laksen ble gjennomført ved ulike tidspunkt under lagring i 14 (rå laks) og 29 dager (røkt laks). For test av 2) ble laksen (rå og røkt filet) behandlet med UVC og deretter smittet med *Listeria*. Kontroll-laks ble ikke UVC-behandlet, men smittet med *Listeria*. *Listeria*-nivåer i laksen under lagring ble bestemt.

*Salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens i røkt laks*

Det ble undersøkt om salter av organiske syrer/fermentater kan hemme *Listeria*-vekst når disse inngår som ingrediens i den røkte laksen. Opti.Form og Verdad ble inkludert i salteprosessen for produksjon av røkt laks som beskrevet over. Den røkte laksen ble deretter brukt i smitteforsøk med *Listeria* (se over) med påfølgende mikrobiologiske og kjemiske analyser

### *Behandling av rå laks med Verdad N6*

Det ble undersøkt om behandling av rå laks med Verdad løst i vann kunne hemme *Listeria*-vekst under videre kjølelagring av den rå laksen.

Verdad N6 ble løst i vann til ulike konsentrasjoner (5, 10 og 18 vektprosent). Løsningene ble oppbevart kaldt inntil bruk.

- Biter av rå filet ble smittet med *Listeria* 2-24 timer før behandling og oppbevart ved 4 °C inntil behandling.
- Ved behandling ble laks lagt i bad med kald Verdad (2-4 °C). Som kontroll ble behandling med kaldt vann eller ingen behandling benyttet.
- To eksponeringstider for laksen ble benyttet: 30 sek og 5 min.
- Ved endt eksponering ble laksebitene tatt opp av badet, avrent og deretter pakket og lagret ved 4°C. Nivåer av *Listeria* ble bestemt i lagringstiden over 12 dager.

### *Behandling av rå laks med sur natriumkloritt (ASC)*

Bruksløsninger av ASC ble lagd ved å blande sammen løsninger av 25 % natrium kloritt og 50 % sitronsyre og fortynne i vann i henhold til prosedyre i Kim et al. 2014 (Kim et al. 2014. Enhanced bactericidal action of acidified sodium chlorite caused by saturation of reactants. J. Appl. Microbiol. 116: 1447-57). Tre konsentrasjoner av ASC ble testet: 50, 500 og 1200 ppm

- Biter av rå filet ble smittet med *Listeria* ca. 24 timer før behandling og oppbevart ved 4 °C
- Smittet laks ble lagt i bad med ASC (primært ble kalde løsninger (2-4 °C) benyttet, men effekt av behandling i romtemperert ASC (20 °C) ble også testet).
- To eksponeringstider for laksen i ASC ble benyttet: 30 sek og 5 min, både med og uten påfølgende skylling i rent vann. Nivåer av *Listeria* ble bestemt umiddelbart etter behandling og etter 5 dagers lagring (4°C, aerobt, ikke vakuum).
- For å verifisere at ASC-løsninger benyttet hadde *Listeria*-drepende effekt, ble bakteriedrepende effekt av ASC på suspensjoner av *Listeria* i vann demonstrert.

### *Andre behandlinger*

#### *Bruk av Nisin eller bakteriofager på rå eller røkt laks*

For røkt laks ble laksen slicet og deretter smittet og behandlet. Etter behandling ble en skive av røkt laks lagt oppå den smittede og behandlede skiven, vakuumpakket og lagret for å relatere betingelsene til lagring av slicet, røkt laks. Smitte, vakuumpakking og lagring av laksen ble utført som beskrevet over.

#### *Behandling med Nisin:*

Nisin-produkt benyttet (N5764, Sigma Aldrich) inneholdt 2,5% nisin = 25000 ppm. Nisin ble fortynnet i vann og 20 ul ble påført laksebiter smittet med *Listeria* slik at nivået av nisin på laksen varierte i området 0,05-10 ppm nisin i henhold til vekt av laksebit (ca. 10 g).

#### *Behandling med bakteriofager (PhageGuard - Listex):*

Phageguard-Listex (Microcos, Nederland) ble fortynnet i fysiologisk saltvann slik at tilsatt nivå til *Listeria*-smittet laksebit ble  $5 \times 10^7$  plakkdannende enheter (pfu)/cm<sup>2</sup> når 20ul ble tilsatt per laksebit.

### Kombinerne behandlinger for økt kontroll med *Listeria*

Kombinasjoner av behandlinger ble valgt for å undersøke om slike behandlinger kunne bidra til økt kontroll med *Listeria* eller om synergieffekter kunne oppnås ved å kombinere behandlinger og dermed ha potensial for økt kost-nytte effekt.

Kombinerne behandlinger som ble testet var:

1. Røkt laks:
  - Verdad som ingrediens kombinert med graden av røyking (mild vs. hard røykeprosess)
  - Verdad som ingrediens kombinert med UVC-behandling
  - Verdad som ingrediens kombinert med nisin
  - Verdad som ingrediens kombinert med bakteriofager
2. Rå laks:
  - Verdad brukt til skylling/dypp av laks kombinert med nisin
  - Verdad brukt til skylling/dypp av laks kombinert med bakteriofager

Kombinerne behandlinger av røkt laks: Det ble først produsert røkt laks med Verdad og med ulik grad av røyking. Etter smitte med *Listeria*, ble laksen deretter behandlet med UVC, nisin eller bakteriofager før den ble vakuumpakket og lagret (beskrevet over). Reduksjon og veksthemming av *Listeria* på laksen i lagringsperioden ble bestemt. Kontroll-laks inkluderte røkt laks uten innhold av Verdad, og kun eksponert for enkeltbehandlinger.

## Analyser

### Mikrobiologiske analyser

Uttak til mikrobiologiske analyser ble gjort ved dag 0 (smittedag) og flere ganger i lagringsperioden på 12-19 dager for rå laks og 29 dager for røkt laks. Ved uttak ble lagrede biter tilsatt peptonvann, stomacket og platet ut på næringsmedium før inkubering:

- Bestemmelse av *L. monocytogenes*: Utplating på Rapid L'mono, inkubering 37 °C, 24-48 timer
- Bestemmelse av total kim: Utplating på Long and Hammer medium (rå laks) og blodskåler (røkt laks), inkubering 15 °C, 5 dager

Bakteriesammensetning: Fra utvalgte prøver ble ca. 10 ml stomacherløsning pelletert ved sentrifugering og lagret -20 °C inntil DNA-isolering for dyrkingsuavhengig bestemmelse av bakteriesammensetningen i prøvene (bakteriesamfunnsanalyse). Bakteriesammensetning ble bestemt ved delvis 16S rDNA-sekvensering ved bruk av MiSeq.

### Fysio-kjemiske analyser

Fysio-kjemiske analyser av laksen (pH, vannaktivitet, salt, acetat, laktat) ble gjennomført på Nofima eller ved eksternt laboratorium. Beregning av utbytte etter salting (før røyking) og etter røyking på røkt filet ble beregnet etter veiing av rå filet (råvare) og tilsvarende filet før og etter røyking.

### *Bakteriesamfunnsanalyser på behandlet og ubehandlet røkt og rå laks*

På et utvalg av lakseprøver ble sammensetningen av mikrobiotaen i laksen bestemt ved endt lagringstid. På røkt laks ble det undersøkt hvordan Verdad, røykegrad og sukker påvirket den relative sammensetningen av bakteriefloraen på laksen. På rå laks ble det undersøkt om bakteriesammensetningen i laks behandlet med Verdad og nisin var annerledes enn i ubehandlet kontroll-laks. Analysene ble gjennomført etter DNA-isolering direkte fra lakseprøver etterfulgt av PCR med barkedete primere rettet mot universelt 16S rDNA og påfølgende DNA-sekvensering og analyser. Dette ga en oversikt over relative nivåer av ulike bakterier på slektsnivå i laks behandlet med ulike teknologier.

### *Forbrukertester og sensorisk tester på laks*

Det er vesentlig å avklare at teknologier som gir effekt mot *Listeria* ikke påvirker sensoriske egenskaper til den behandlede laksen negativt. For utvalgte teknologier/behandlinger ble det derfor gjennomført forbrukertester og sensoriske analyser på behandlet laks. Det ble gjennomført forbrukertest og sensoriske analyser på UV-behandlet røkt laks da UV-lys har blitt rapportert å kunne gi uønskede endringer i smak og aroma på ubehandlet kjøtt relatert til oksidasjon av fett. Det ble i tillegg gjennomført forbrukertest på røkt laks med salter av organiske syrer (Opti.Form) og fermentat (Verdad) som ingrediens samt sensoriske analyser på både rå og kokt produkt av Verdad-behandlet rå laks. De sensoriske analysene ble gjennomført av trente sensoriske dommere ved Nofima, Ås. Hensikten med forbrukerundersøkelsene var å påvise om forbrukere ville merke forskjeller i smak og kvalitet mellom behandlet og ubehandlet laks. I de sensoriske analysene ble Nofimas sensoriske panel benyttet for å avdekke sensoriske forskjeller i behandlet og ubehandlet laks.

### *Røkt laks: UV-behandling*

*Forbrukerundersøkelse.* Røkt laks ble mottatt fra ekstern produsent og oppbevart kjølig (4 °C) inntil behandling med UV-lys 2-3 dager etter produksjon. Biter av røkt laks ble behandlet med to doser UVC (7,5 og 50 mJ/cm<sup>2</sup>) og to doser puls UV (1xHøy og 1xLav). Individuelle biter ble UV-behandlet på skinnsiden og filetsiden. Behandlet og ubehandlet laks (kontroll) ble vakuumpakket og lagret i 15 dager ved 4 °C. Laksebitene (uslicet) ble presentert hver forbruker (totalt 40 stk) som vurderte laksen basert på to spørsmål:

1) Hvordan vurderer du kvaliteten på denne laksen (skala 1-9)?

2) Ville du brukt denne laksen i et måltid? Vurderingene var basert på lukt og utseende. Smaking av laksen ble ikke foretatt.

*Sensoriske analyser.* Uslicet, røkt laks ble mottatt vakuumpakket fra ekstern produsent og oppbevart kjølig (4 °C) inntil behandling med UV-lys 2-3 dager etter produksjon. Biter av røkt laks ble behandlet med tre doser UVC (7,5, 50 og 100 mJ/cm<sup>2</sup>). Behandlet og ubehandlet laks (kontroll) ble vakuumpakket og lagret i 20 dager ved 4 °C. Behandlingene ble gjennomført slik at ulike deler av fileten (front-, hale-, midtparti) fikk samme behandling og ble inkludert i den sensoriske testen. På analysedagen ble laksen slicet manuelt og servert deltagerne i panelet (11 deltagere). Laksen ble anonymisert ved bruk av koder. Det sensoriske panelet ble kalibrert gjennom en innledende test hvor de ble trent i bruk av valgte egenskaper og intensiteten av disse. Egenskaper som ble inkludert i den beskrivende testen var lukt (syrlig, sjø, fisk, røyk, emmen, harsk), farge (tone, styrke, hvithet), smak (syrlig, salt, bitter, sjø, fisk, røyk, emmen, harsk), tekstur (hardhet, saftighet, seighet).

#### *Røkt laks: Salter av organiske syrer/fermentater som ingrediens*

*Forbrukerundersøkelse.* Røkt laks med Verdad og Opti.Form samt kontroll-laks uten Verdad/Opti.Form ble produsert i Nofimas prosesshall jfr. prosedyre gitt over. Slicer av fire typer røkt laks (med 1 og 2 % Verdad, 3% Opti.Form og kontroll-laks uten Verdad/Opti.Form) ble servert. Forbrukerne (50 respondenter) smakte på laksen og rangerte hver prøve på en skala fra 1-9 med hensyn til hvor godt de likte laksen (Tabell. 3.1). I tillegg ble forskjeller mellom laks med og uten Verdad eller Opti.Form vurdert basert på utvalgte parametere knyttet smak, utseende, aroma og tekstur.

#### *Rå og kokt laks: Salter av organiske syrer/fermentater*

*Sensoriske analyser.* Rå lakseloin (Midloin) ble mottatt fersk og vakuumpakket 2 dager etter slakt fra produsent. All laks mottatt ved Nofima ble preparert under hygieniske forhold i Nofimas prosesshall. Loin ble behandlet i løsninger med Verdad som beskrevet over samt kontroller uten behandling. Laksen ble vakuumpakket og etter 5 dagers lagring ved 4°C ble sensoriske analyser gjennomført på rå laks på halvparten av partiet. Den andre halvdel av partiet med tilsvarende loiner ble fryst ved -40 °C og brukt i senere sensoriske analyser på kokt laks.

