

Heminläggning av grönsaker – en riskvärdering



Denna titel kan laddas ner från: [Livsmedelsverkets sida för att beställa eller ladda ner material](#).

Citera gärna Livsmedelsverkets texter, men glöm inte att uppge källan. Bilder, fotografier och illustrationer är skyddade av upphovsrätten. Det innebär att du måste ha upphovsmannens tillstånd att använda dem.

© Livsmedelsverket, 2021.

Författare:

Karin Nyberg och Jonas Toljander.

Rekommenderad citering:

Livsmedelsverket. Nyberg, K, Toljander, J. 2021. L 2021 nr 16: Heminläggning av grönsaker – en riskvärdering. Livsmedelsverkets rapportserie. Uppsala.

L 2021 nr 16

ISSN 1104-7089

Omslag: Livsmedelsverket

Inlaga: Ange fotograf för bilder i rapporten

Förord

Detta är en riskvärderingsrapport om mikrobiologiska risker med hemgjorda grönsaksinläggningar. Rapporten har tagits fram på beställning av Livsmedelsverkets avdelning för Hållbara matvanor och besvarar frågor om hemgjorda ättiks- och oljeinläggningar av grönsaker, rotsaker och örter. Mer specifikt besvaras frågor som rör risken för tillväxt av *Clostridium botulinum*, vars toxin vid konsumtion kan orsaka botulism, en ovanlig men mycket allvarligt sjukdom. Rapporten kommer att användas vid Livsmedelsverket för att ta fram råd om inläggning av grönsaker i hemmet. Rapporten är uppdelad i faroidentifiering, farokaraktärisering, exponeringsuppskattning och riskkaraktärisering.

Ansvariga för rapportens innehåll är Karin Nyberg och Jonas Toljander, mikrobiologer och riskvärderare på Risk- och nyttovärderingsavdelningen. Rapporten har granskats av Melle Säv-Söderbergh och Roland Lindqvist, båda vid Risk- och nyttovärderingsavdelningen.

Per Bergman, Avdelningschef, juli 2021

Risk- och nyttovärderingsavdelningen,

Livsmedelsverket

Innehåll

Förord.....	3
Sammanfattning.....	7
Summary	8
Home canning of vegetables – a risk assessment.....	8
Bakgrund	9
Metod.....	10
Faroidentifiering.....	11
Clostridium botulinum och botulinumtoxin.....	11
Andra möjliga faror	12
Förekomst av Clostridium botulinum i miljön.....	13
Utbrott av botulism.....	13
Farokarakterisering	15
Exponeringsuppskattning.....	16
Prevalens och halter av Clostridium botulinum på råa grönsaker och svamp.....	16
Tillväxt av Clostridium botulinum	16
Tvätt och ansning av grönsaker före inläggning.....	18
Inaktivering – upphettning.....	18
Tryckkokning	18
Kokkonservering.....	18
Andra upphettningmetoder	18
Tillväxtbegränsning – kylförvaring	19
Tillväxtbegränsning – tillsats av surgörande medel	20
Sänkning av pH genom tillsats av ättiksprit och vinäger	20
Sänkning av pH vid oljeinläggning	21
Tillväxtbegränsning – sänkning av vattenaktivitet	22
Saltning.....	22
Socker	23
Torkning.....	23
Riskkaraktärisering och svar på frågor	24
Referenser	28

Sammanfattning

Konservering genom inläggning är ett sätt att förlänga hållbarheten på grönsaker och minska svinnet. Det kan också leda till att mer grönsaker konsumeras och detta är önskvärt både för hälsan och för miljön. Att grönsaker läggs in betyder att man förvarar dem i en lag, vanligen i en lufttät glasburk. Den här riskvärderingsrapporten tar upp mikrobiologiska faror med ättiksinläggningar och oljeinläggningar. Den främsta faran som är förknippad med inlagda grönsaker är bakterien *Clostridium botulinum* vars toxin (gift) orsakar den sällsynta men allvarliga sjukdomen botulism. Det uppträffas ständigt nya recept, men det är viktigt att man använder väl beprövade metoder och inte ändrar recepten på ett sådant sätt att bakterier kan utvecklas och livsmedlet blir farligt att konsumera.

Det finns två olika typer av *Clostridium botulinum* vars toxin kan orsaka botulism hos människa, proteolytisk respektive icke-proteolytisk. Dessa tillväxer och bildar toxin under lite olika miljöbetingelser. Såväl proteolytisk som icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* kan förekomma i jord och därmed också på grönsaker. Det är vanligt att kokning eller sterilisering av grönsaksinläggningar rekommenderas. För fullständig avdödning krävs då höga temperaturer alternativt lång tids kokning. Om inläggningen inte steriliseras krävs tillsats av tillväxthämmande mikrobiologiska barriärer för att hindra att sporer från *Clostridium botulinum* gror och börjar bilda toxin.

I ättiksinläggningar fungerar ättika, socker och salt som tillväxthämmande mikrobiologiska barriärer mot *Clostridium botulinum*. Även kylförvaring kan fungera som en tillväxthämmande barriär. Om bara en barriär används måste minst ett av följande kriterier uppfyllas för att inläggningen ska vara säker: Surhetsgraden (pH) bör vara under 4,6, eller salthalten vara mer än 10 %, eller sockerhalten vara 44–50 % *i hela livsmedlet* för att hindra tillväxt av båda typerna av *Clostridium botulinum*. Mängden syra, salt eller socker kan under vissa förutsättningar minskas om två eller flera av dessa barriärer används i kombination. Men det kan vara svårt att bedöma vilka koncentrationer som resulterar i en säker produkt. Utbyte mellan grönsakerna och själva lagen kan göra att pH, salt- eller sockerhalt inte blir som förväntat i den färdiga produkten. Det går att använda andra surgörare än ättiksprit, exempelvis vinäger. Om man använder vinäger i stället för ättiksprit i lagen måste man ta hänsyn till att vinäger inte är lika sur som ättika. För att minska sannolikheten för tillväxt används ofta flera barriärer tillsammans.

Vid oljebaserade hemgjorda inläggningar används oftast inga ingredienser som kan motverka bakterietillväxt. Hemgjorda inläggningar av grönsaker eller örter i olja har därför mycket kort hållbarhet. Oljan motverkar inte tillväxt av *Clostridium botulinum* utan medför i stället förhållanden som kan gynna tillväxt och bildande av toxin. I rumstemperatur växer såväl proteolytisk som icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* mycket snabbt. *Clostridium botulinum* kan inte tillväxa om oljeinläggningar förvaras i kylskåp vid högst 3 °C, förutsatt att kylskåpet håller den temperaturen hela tiden. Det kan emellertid vara svårt att kontrollera kylskåpstemperaturen.

Summary

Home canning of vegetables – a risk assessment

Home canning is a method of extending the shelf life of vegetables and is positive from a sustainability perspective. It can also increase the consumption of vegetables, which is desirable for both health and the environment. Canning is usually done by pickling and storing the vegetables in an airtight glass jar. New recipes constantly emerge; however, in order to prevent growth of the bacterium *Clostridium botulinum* and the formation of its dangerous botulinum toxin, it is important to use well-established and tested methods and not modify recipes in such a way that the food becomes unsafe to eat.

There are two different types of *Clostridium botulinum* that can produce toxins that cause botulism in humans, proteolytic and non-proteolytic. These two types grow and form toxins under slightly different environmental conditions. Both proteolytic and non-proteolytic *Clostridium botulinum* can be found in soil and therefore also on vegetables. Boiling or heat sterilisation (pressure canning) of the cans are commonly used methods to prevent the growth of spoilage microorganisms or pathogens. To inactivate *Clostridium botulinum* in home canned vegetables this needs to be done at high temperatures. If such sterilisation is not done, microbial barriers that inhibit the germination of *Clostridium botulinum* spores and the production of toxin is needed.

Vinegar, salt and sugar are common preservatives in pickled vegetables. Cold storage is also considered a barrier for bacterial growth. In this report critical limits of individual parameters that must be met to completely prevent *Clostridium botulinum* spores from germinating and growing/forming toxins are described. To completely prevent growth of both types of *Clostridium botulinum* at least one of these criteria must be met: either pH should be below 4.6, or the salinity should be more than 10 %, or the sugar content should be 44-50 % *throughout the entire food product*. Sub-inhibitory concentrations of salt, sugar or acid, used in combination, may also inhibit growth of *Clostridium botulinum*. However it can be difficult to assess and control which concentrations to use and still produce a safe product. Vegetables generally have a high pH, and exchange between the vegetables and the pickle solution may alter the pH, salt or sugar concentration in the finished product. Consideration must also be taken when using wine vinegar or sherry vinegar, which have lower acidity than regular vinegar. To reduce the likelihood of *Clostridium botulinum* growth, several barriers are often used together.

When preparing vegetables in oil, or oil infusions of herbs, growth inhibiting ingredients are usually not added. Homemade oil infusions therefore have a very short shelf life. The oil does not inhibit the growth of *Clostridium botulinum* but rather presents conditions that can benefit growth and formation of botulinum toxins. At room temperature, both proteolytic and non-proteolytic *Clostridium botulinum* grow very quickly. *Clostridium botulinum* cannot grow if homemade vegetables in oil and oil infusions are kept in the refrigerator at a maximum of 3 °C, provided that the refrigerator maintains that temperature at all times. However, refrigerator temperature can be difficult to control.

N.B. The title of the publication is translated from Swedish, however no full version of the publication has been produced in English.

Bakgrund

Vid tiden för grönsaksskörden inkommer ofta frågor till Livsmedelsverket om hur hemgjorda ättiksinläggningar och oljeinläggningar av grönsaker och örter ska göras för att inte orsaka botulism. Det finns många varianter av recept att bedöma och ta ställning till. I recepten för sura inläggningar ingår ättikssprit eller vinäger av olika slag i varierande mängd. I oljerecepten ingår ofta örtekryddor och grönsaker. Olika grönsaker har olika pH-värden vilket kan påverka sannolikheten för mikrobiologisk tillväxt.

Livsmedelsverket har tidigare inte gjort någon riskvärdering av grönsaksinläggningar och det finns därför inget råd om grönsaksinläggningar mer än att Livsmedelsverket vid frågor svarar att oljeinläggningar bör förvaras i kylskåp. En riskvärdering om sillinläggning, gravning och hemkonservering finns publicerad (Nyberg, 2017). I det underlaget ingick dock inget om andra typer av grönsaksinläggningar såsom hemgjorda ättiks- och oljeinläggningar.

Övergripande frågeställning:

Avdelningen för hållbara matvanor behöver ett vetenskapligt underlag om ättiks- och oljeinläggningar av grönsaker, rotsaker och örter.

Specifika frågor som ska besvaras:

- 1) *Ättiksinläggningar.* Vilka olika koncentrationer av ättiksyra, salt och socker förhindrar att botulinum-sporer av den typ som finns på grönsaker gro och tillväxer i den färdiga grönsaks-/rotsaksinläggningen? Omvandla ättiksyran till ättikssprit (12%). Utgå från att de färdiga inläggningarna ska kunna förvaras i rumstemperatur, åtminstone fram tills att de öppnas, och sedan i kylskåp.
 - a) Finns det skillnader med avseende på möjligheten för tillväxt mellan olika grönsaker och rotsaker? I så fall rangordna dessa.
 - b) Hur påverkas tillväxtmöjligheten om ättiksspriten byts ut mot till exempel sherryvinäger?
 - c) Finns det några andra sjukdomsframkallande mikroorganismer än *Clostridium botulinum* som kan utgöra en fara i ättiksinläggningar? I så fall, vilka och på vilket sätt?
- 2) *Oljeinläggningar.* Hur förhindrar man att botulinum-sporer gro och sen förökar sig i färdiga produkter av grönsaker och örter inlagda i olja?
 - a) Finns det skillnader med avseende på möjligheten för tillväxt mellan olika grönsaker och örter? I så fall rangordna dessa.
 - b) Eftersom kylskåpstemperaturer varierar mellan hushåll, ange tillväxtmöjligheterna för de olika pH-vattenaktivitetskombinationerna vid 8, 10, 12 och 20 °C.
 - c) Finns det några andra sjukdomsframkallande mikroorganismer än *Clostridium botulinum* som kan utgöra en fara i oljeinläggningar? I så fall, vilka och på vilket sätt?

Metod

För att besvara frågorna söktes litteratur i flera databaser. Söksträngarna är dokumenterade i Tabell 1. Utöver litteratursökningarna har referenser och källor i tidigare riskvärderingsrapport om inläggning, gravning, syring och konservering använts (Nyberg, 2017). Riktade sökningar gjordes också efter information på utländska myndigheters hemsidor. En användbar källa har varit den omfattande och detaljerade manualen om konservering av livsmedel, inklusive grönsaker, som publicerats av U.S. Department of Agriculture (USDA, 2015). Denna har använts för att inhämta information om olika metoder för hemkonservering av grönsaker, grönsakers pH, tider för värmesterilisering, m.m.

Tabell 1. Litteratursökningar som gjordes för att hitta information om inläggning av grönsaker, utbrott av botulism, samt förekomst av *C. botulinum* i miljön. Sökträffarna överlappar mellan flera av söksträngarna.

Databas	Datum	Information söktes om	Söksträng	Sökträffar	Urval
FSTA	2021-04-08	Oljeinläggningar och botulism	(vegetabl* OR herb* OR mushroom*) AND (botulinum OR botulism) AND "in oil"	21	14
PubMed	2021-04-08	Oljeinläggningar och botulism	(vegetabl* OR herb* OR mushroom*) AND (botulinum OR botulism) AND "in oil"	1	1
Google scholar	2021-03-09	Oljeinläggningar och botulism	home canned vegetables in oil acidification	n/a	0 ¹
PubMed	2021-02-16	Grönsaksinläggningar och botulism	(vegetabl* OR herb* OR mushroom*) AND (botulinum OR botulism) AND (pickles OR pickled OR acidification)	8	1 ²
PubMed	2021-02-25	Utbrott av botulism, samt litteraturöversikter på ämnet från 2010 och senare	Botulinum AND food AND outbreak AND review (2010-)	38	5
FSTA	2021-06-10	Utbrott orsakade av andra faror än <i>C. botulinum</i>	outbreak AND (canned OR canning) AND vegetabl* AND home	5	0
PubMed	2021-06-10	Utbrott orsakade av andra faror än <i>C. botulinum</i>	outbreak AND (canned OR canning) AND vegetabl* AND home	12	0
PubMed	2021-05-06	Förekomst av <i>C. botulinum</i> i miljön	botulinum AND environment AND (reservoir OR Sweden)	26	3
FSTA	2021-06-10	Förekomst av <i>C. botulinum</i> på råa grönsaker	prevalence AND "Clostridium botulinum" AND vegetabl*	22	2
PubMed	2021-06-10	Förekomst av <i>C. botulinum</i> på råa grönsaker	prevalence AND "Clostridium botulinum" AND vegetabl*	19	2

¹ Antalet sökträffar var för många för att gå igenom, men genomgång av de första sidorna av sökträffar gav inga ytterligare relevanta som inte redan hittats genom PubMed och FSTA.

² En relevant men mycket gammal referens som i slutändan inte användes (Ito et al 1976).

Faroidentifiering

Clostridium botulinum och botulinumtoxin

Den främsta faran som är kopplad till inlagda grönsaker är botulinumtoxin. Botulinumtoxin produceras främst av bakterier inom arten *Clostridium botulinum*. Det är framförallt oljeinlagda grönsaker som är en riskprodukt för bildande av botulinumtoxin då alla av fyra kritiska moment är uppfyllda (Nummer et al., 2011): (1) det kan finnas sporer av *Clostridium botulinum* på grönsakerna; (2) oljeinläggningen skapar en anaerob miljö; (3) grönsaker har ett pH som inte hämmar *Clostridium botulinum*; samt (4) grönsaker har en vattenaktivitet som gynnar tillväxt av *Clostridium botulinum*.

Clostridium botulinum är en gram-positiv, anaerob och sporbildande bakterie som förekommer naturligt i jord och bottensediment samt i tarmen hos fisk och däggdjur (McLauchlin and Grant, 2007, Ihekweba et al., 2016). *Clostridium botulinum* består av fyra fylogenetiskt olika serotyper (typ I-IV) som förenas genom sin förmåga att bilda botulinumtoxin. Botulinumtoxin är mycket potenta nervgifter som kan orsaka sjukdomen botulism hos såväl människor som djur. Sjukdomen botulism brukar delas upp i klassisk botulism, sårbotulism och spädbarnsbotulism. Klassisk botulism är den typ av botulism som orsakas av förgiftning av botulinumtoxin som bildats i livsmedel. Utan behandling kan botulism vara en dödlig sjukdom, då den i sin allvarligaste form kan leda till att andningsmuskulaturen förlamas.

Botulinumtoxin bildas när bakterierna befinner sig i en gynnsam miljö och kan tillväxa (Lindström et al., 2006). Det finns sju olika botulinumtoxin (A-G), men det är botulinumtoxin A, B, E och F som orsakar förgiftning hos människor (Tabell 2). Dessa botulinumtoxin produceras av *Clostridium botulinum* typ I och typ II (Adams and Moss, 2008, Collins and East, 1998, Ihekweba et al., 2016). *Clostridium botulinum* typ I består av proteolytiska stammar som bildar botulinumtoxin A, B och F, antingen enskilt eller i par-kombinationerna AB, AF, och BF. Proteolytiska stammar har tillväxtoptimum vid cirka 37 °C och producerar mycket värmetåligena sporer. *Clostridium botulinum* typ II består av icke-proteolytiska stammar som bildar botulinumtoxin B, E eller F, har tillväxtoptimum vid lägre temperaturer än 30 °C och producerar mindre värmetåligena sporer. Icke-proteolytiska *Clostridium botulinum* är känsligare för salt än proteolytiska stammar, och hämmas vid en koncentration på 5% natriumklorid jämfört med 10% för proteolytiska stammar (Doyle and Glass, 2010, Adams and Moss, 2008, Ihekweba et al., 2016). Proteolytiska *Clostridium botulinum* kan inte tillväxa vid temperaturer lägre än 10 °C medan icke-proteolytiska *Clostridium botulinum* kan växa vid temperaturer ner till 2,5-3 °C (Lindström et al., 2006, Ihekweba et al., 2016).

Det finns också ett par andra arter inom *Clostridium*-släktet som kan producera botulinumtoxin (Ihekweba et al., 2016); *Clostridium butyricum*, som kan producera botulinumtoxin typ E (Hill et al., 2007, McCroskey et al., 1986), och *Clostridium baratii*, som kan producera botulinumtoxin typ F (Hall et al., 1985, Hill et al., 2007). Liksom *Clostridium botulinum* kan dessa arter finnas i jord och sediment (Hill et al., 2007, Ihekweba et al., 2016). *Clostridium sporogenes* är en art som inte går att särskilja från proteolytisk *Clostridium botulinum* genom traditionell odlingsmetodik (Adams and Moss, 2008). Vissa stammar av *Clostridium sporogenes* kan också bilda botulinumtoxin.

Tabell 2. Tillväxtbegränsande faktorer och temperatur för inaktivering av sporer för Clostridium botulinum typ I och II samt C. baratii och C. butyricum som också kan producera botulinumtoxin. Referenser: Ihekwa et al. (2016) samt Adams och Moss (2008).

	Proteolytisk ^a C. botulinum (typ I)	Icke-proteolytisk C. botulinum (typ II)	C. baratii	C. butyricum
Neurotoxin som bildas	A, B, F	B, E, F	F	E
Optimal temp för tillväxt (°C)	37-42	25-30	30-45	30-37
Minimum temp för tillväxt ^b (°C)	10-12	3	10-15	12
Minimum pH för tillväxt ^b	4,6	5,0	us	4,8
Minimum vattenaktivitet för tillväxt ^{b, c}	0,94/0,93	0,97/0,94	us	us
NaCl konc som kraftigt hämmar tillväxt (%)	10	5	us	us
Värmetolerans för sporer (minuter)	D _{121°C} = 0,21	D _{82,2°C} = 2,4, D _{80°C} = 0,6-3,3	us	D _{100°C} < 0,1

us = uppgift saknas

^a Inkluderar även en del stammar av Clostridium sporogenes

^b Förutsätter att förhållanden i övrigt är optimala för tillväxt

^c Vattenaktivitetens första värde är baserat på försök med NaCl och det andra på försök med glycerol

Andra möjliga faror

Andra möjliga faror kan vara sjukdomsframkallande mikroorganismer som hamnat på grönsaker genom fekal förorening samt problem med förskämningsoorganismer, jäst och mögel (Evancho et al., 2009). Sporbildande termofila bakterier och sporer från värmeresistenta mögelsvampar kan tillväxa i inläggningar även efter värmebehandling (Evancho et al., 2009). Sporbildande termofila bakterier utgör ingen hälsorisk, men kan förstöra livsmedlet. En del mögelsvampar kan producera mykotoxiner eller andra metaboliter som kan utgöra en hälsorisk (Evancho et al., 2009). Det är också tänkbart att lektiner, exempelvis i vissa bönor, skulle kunna utgöra en fara ifall livsmedlet inte upphettas tillräckligt vid inläggning eller före konsumtion.

I våra litteratursökningar påträffades inga publikationer om sjukdomsfall eller utbrott kopplade till grönsaksinläggningar förutom botulism. Det är möjligt men, så vitt vi kan utröna, inte vanligt att otäta eller skadade inläggningskärl som kontaminerats vid förvaring eller hantering orsakar matförgiftning. Evencho et al. (2009) skriver att även om incidenter med livsmedelsburna sjukdomar i samband med kontaminering efter konserveringprocessen har inträffat tidigare, verkar det vara mindre vanligt idag. Evancho et al (2009) refererar en äldre litteraturgenomgång av Stersky et al. (1980) av matförgiftningar mellan åren 1921 och 1979 till följd av att framförallt metallkonserver varit otäta eller skadade och därmed blivit kontaminerade efter konserveringen. Mikrobiologiska faror som nämns är stafylokokk-enterotoxin och Salmonella av olika typer. Litteraturgenomgången av Stersky et al. (1980) omfattar inte bara vegetabilier och många av orsakerna till kontaminering som nämns är knappast relevanta idag – som exempel nämns utbrott av tyfoidfieber som orsakats av att otäta metallkonserver kylts i en flod som var förorenad med avloppsvatten.

Förekomst av Clostridium botulinum i miljön

Clostridium botulinum påvisas ofta i jord och bottensediment, men vilka stammar som är vanligast förekommande samt i vilken mängd bakterien förekommer tycks variera beroende på geografiskt läge (Espelund and Klaveness, 2014, McLauchlin and Grant, 2007). Överblicksbilden försvåras av att Clostridium botulinum ofta klassificeras efter producerad toxintyp, framförallt i äldre litteratur, samt att antalet studier är relativt få och att flera har anrikat bakterierna vid en temperatur som inte är optimal för alla typer av Clostridium botulinum (McLauchlin and Grant, 2007). I Europa rapporteras främst förekomst av toxintyp A och B från terrestra miljöer och typ B och E från akvatiska miljöer (Espelund and Klaveness, 2014, McLauchlin and Grant, 2007). Från terrestra miljöer har en sporhalt rapporterats på mellan 2-2500 MPN (most probable number) per kg jord (McLauchlin and Grant, 2007). Från Danmark rapporteras, i en tidig studie, att Clostridium botulinum typ B var vanligast förekommande i terrestra miljöer och typ E i akvatiska miljöer (Huss, 1980). Två svenska studier har påvisat icke-proteolytisk Clostridium botulinum toxintyp B i såväl gris- som nötfeces (Dahlenborg et al., 2003, Dahlenborg et al., 2001). I studien på gris påvisades Clostridium botulinum toxintyp B i 62% av proven och i studien på nöt påvisades Clostridium botulinum toxintyp B i 70% av proven. I nötfeces rapporterades en spormängd på 3 sporer per kg feces.

Utbrott av botulism

I Sverige har vi haft cirka 30 fall av botulism sedan 1969, varav spädbarnsbotulism har varit den vanligaste formen (Fohm, 2021, Dryselius, 2021). Inget av fallen har orsakats av grönsaker, istället är det fisk i de flesta fall och kött i några fall som varit smittkällan för de fall som inte varit spädbarnsbotulism. I 9 av de 30 fallen finns toxintypen dokumenterad: Fyra av typ E, som alla orsakats av fisk; två av typ A, som orsakats av blodkorv; samt tre av typ B, där smittkälla okänd respektive dadlar angetts som smittkälla (Dryselius, 2021).

Enligt en systematisk översiktsartikel finns 197 utbrott av livsmedelsburen botulism beskrivna i engelskspråkig litteratur mellan 1920-2014 (Fleck-Derderian et al., 2018). Nedan redovisad information kommer från denna översiktsartikel. De 197 utbrotten har ett medianvärde på 3 fall per utbrott, med en spridning på 2-97 fall per utbrott. Av dessa skedde majoriteten (55%) i USA, 15% i Canada och 13% i Europa. I 70% (n=138) av utbrotten finns en punktkälla för smitta identifierad, och av dessa var det vanligaste livsmedlet (n=83, 42%) hemkonserverad mat. Övriga kategorier var hemtillverkade men inte konserverade livsmedel och industriellt tillverkade livsmedel, som stod för cirka 25% av utbrotten vardera. I 6% av utbrotten har inget livsmedel angetts. Det toxin som var vanligast var typ A (34%) följt av typ B (16%) och typ E (17%) samt F (1%). I 64 (33%) av utbrotten är toxintypen okänd. Oljeinlagda grönsaker och örter har varit inblandade i en rad utbrott, varav de allra flesta av dessa har orsakats av hemgjorda inläggningar (Nummer et al., 2011). I utbrotten har bland annat paprika, vitlök, svamp och aubergine utpekats.

Eftersom det är toxinerna som är i fokus vid utbrottsutredningar, snarare än vilken bakterie som producerat toxinet, saknas det information om det är proteolytiska eller icke-proteolytiska Clostridium botulinum som producerat toxinerna. Denna information hade varit av intresse för toxinerna av typ B och F som kan produceras av både proteolytisk och icke-proteolytisk Clostridium botulinum. Men de olika egenskaperna hos dessa grupper av Clostridium botulinum medför att de kan kopplas samman med olika livsmedelstyper. Proteolytisk Clostridium botulinum, som karaktäriseras av mycket

värmetoleranta sporer, kopplas ofta samman med otillräcklig eller misslyckad värmekonservering av kött eller grönsaker, inte sällan vid hemkonservering (Lindström et al., 2006, Novak et al., 2008). Icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*, som kan tillväxa i kylskåpstemperatur, kopplas ofta samman med produkter som tillverkas med ingen eller endast mild värmebehandling, är hermetiskt (gastät) förpackade och har lång hållbarhet (Lindström et al., 2006, Novak et al., 2008).

Farokarakterisering

Botulinumtoxiner är mycket potenta nervgifter med en dödlig dos som uppskattats till 30-100 ng (Ihekweba et al., 2016). De tidiga symtomen på botulism är lika oavsett vilken toxintyp som orsakat förgiftningen (Lindström et al., 2006, McLauchlin and Grant, 2007). Dessa inkluderar illamående, kräkningar, mag-tarmproblem och allmän sjukdomskänsla med yrsel, trötthet, samt muntorrhet. Symtom uppkommer generellt efter 18-36 timmar efter intag av kontaminerat livsmedel, men kan variera från 6 timmar upp till 10 dagar. Vidare kan neurologiska symtom uppkomma såsom ögonmuskelförlamning, synstörningar, dubbelseende, svårighet att svälja och talsvårigheter. Efterhand kan andningsförlamning uppkomma. Utan behandling kan botulism ha ett dödligt förlopp. På global nivå har botulism en dödlighet på 5-10%. Symtomens allvarlighet beror främst på vilken mängd toxin som livsmedlet innehåller. Det kan också variera med toxintyp, då toxintyp A visats orsaka fler fall av förlamning av andningsmuskulaturen (Fleck-Derderian et al., 2018).

Exponeringsuppskattning

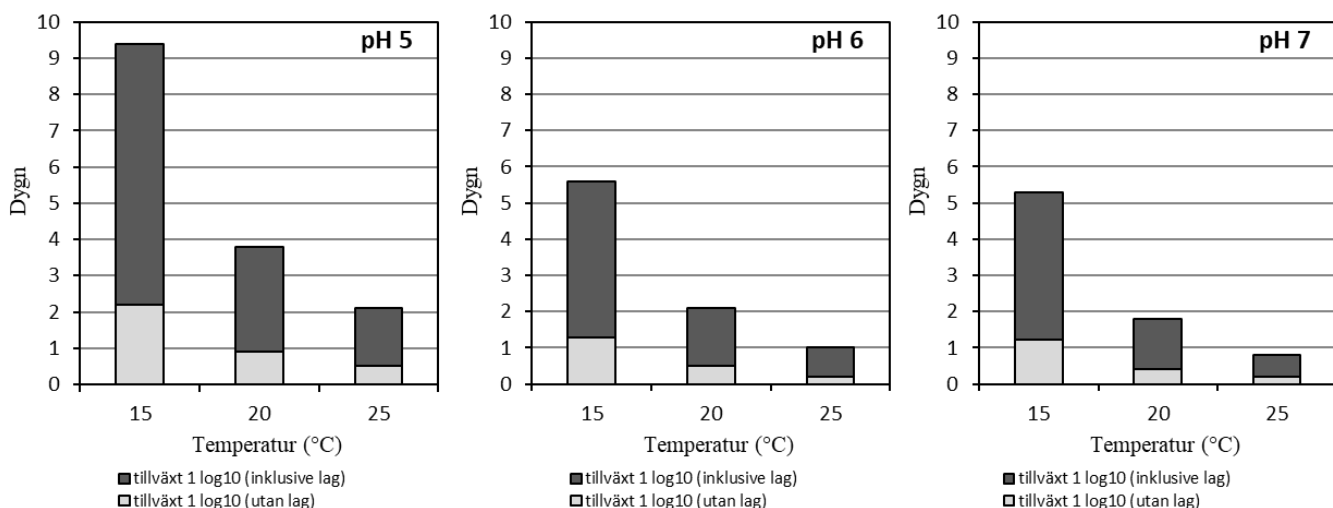
Prevalens och halter av Clostridium botulinum på råa grönsaker och svamp

Det tycks inte finnas så många studier om prevalens och halter av Clostridium botulinum-sporer på råa grönsaker. I en fransk studie påvisades genen för botulinumtoxin typ B i 0,8% (1/128) och 0,5% (1/188) av prover från råa morötter respektive haricot verts (gröna bönor, brytbönor) (Sevenier et al., 2012). Studien undersökte förekomst av endast en typ av toxin och metoden som användes selekterade dessutom för icke-proteolytiska Clostridium botulinum och det är därför svårt att säga något om totala prevalensen av Clostridium botulinum på grönsakerna som analyserades. I en kinesisk studie uppskattades sporhalterna av proteolytiska respektive icke-proteolytiska Clostridium botulinum på två olika matsvampar (Malakar et al., 2013). Sporhalten av proteolytisk Clostridium botulinum på Lentinula elodes (Shiitake) uppskattades vara i genomsnitt 1500 sporer per kg. Sporhalten av proteolytisk och icke-proteolytisk Clostridium botulinum på Auricularia auricula (Judasöra) uppskattades vara i genomsnitt 550 respektive 350 sporer per kg svamp. Dessa få studier ger inte tillräcklig information för att dra slutsatser om prevalens och halter av Clostridium botulinum på grönsaker.

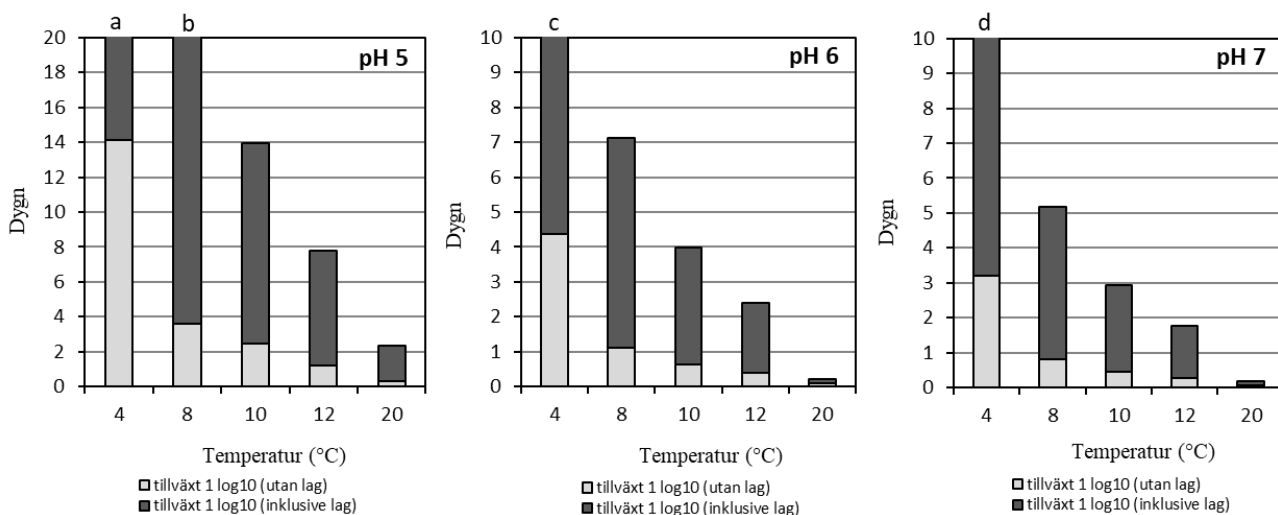
Tillväxt av Clostridium botulinum

Om viabla sporer av Clostridium botulinum finns på grönsaker i en inläggning kan den syrefattiga miljö som uppkommer medföra att groningen, följt av tillväxt och toxinbildning kan ske. Till skillnad mot de flesta frukter och bär är grönsaker och svamp inte tillräckligt sura för att i sig säkerställa att tillväxt av Clostridium botulinum inte sker. I Figur 1 och 2 visas beräknad tid för en förökning på tio gånger (1 log₁₀-enhet) under anaeroba förhållanden för proteolytisk (Figur 1) och icke-proteolytisk (Figur 2) Clostridium botulinum i livsmedel utifrån tillväxtmodeller i ComBase (ComBase, 2021). Tillväxten har beräknats vid olika förvaringstemperaturer och vid tre olika pH-värden. Modellerna är baserade på försök under annars optimala förhållanden i odlingsmedium.

Resultaten visar att tillväxten påskyndas och lagtiden, det vill säga tiden innan bakterierna kommer igång med sin tillväxt, blir kortare med ökad temperatur. För proteolytisk Clostridium botulinum, som kan växa ner till 10 °C, finns endast tillväxtmodeller från 15 °C i ComBase. Vid 15 °C tar det från 1-2 dygn för 1 log tillväxt, men det kan ta ca 4-7 dygn innan tillväxten kommer igång. Vid 20 °C går det betydligt snabbare, då 1 log tillväxt kan ta ca 9-22 timmar och tiden innan tillväxt påbörjas är på ca 1,5-3 dygn. Ju högre pH desto kortare tid. Icke-proteolytisk Clostridium botulinum, som kan växa ner till 3,3 °C, kan vid 4 °C tillväxa med 1 log efter 3-14 dagar efter en lagfas på 17-75 dygn. Vid 20 °C går det mycket snabbare för tillväxt av icke-proteolytisk Clostridium botulinum. Då kan 1 log i tillväxt ta från 2-7 timmar och tiden innan tillväxt påbörjas är på 2 timmar upp till 3 dygn beroende på pH.



Figur 1. Tid till 10 gångers ökning ($1 \log_{10}$) vid anaerob tillväxt av proteolytisk *Clostridium botulinum* vid pH 5-7, med och utan lagfas, vid olika temperaturer. Övriga parametrar är en salthalt på 0,5% ($a_w=0,997$). Data från ComBase (2021).



Figur 2. Tid till 10 gångers ökning ($1 \log_{10}$) vid anaerob tillväxt av icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* vid pH 5-7, med och utan lagfas, vid olika temperaturer. Övriga parametrar är en salthalt på 0,5% ($a_w=0,997$). Observera skillnaden i y-axelns skala mellan de olika pH-värdena. Pga. stora skillnader i tillväxttid har lagfas-tiden beskrivits vid låga temperaturer. Den totala tillväxttiden inklusive lagfas är: a=74 dygn, b=19 dygn, c=22 dygn och d=17 dygn. Data från ComBase (2021).

För att hämma tillväxt av *Clostridium botulinum* och bildandet av botulinumtoxin krävs att en eller flera mikrobiologiska barriärer tillämpas. Exempel på barriärer är tillsats av surgörande medel (för att sänka pH), torkning av grönsak före inläggning, tillsats av salt eller socker (för att sänka vattenaktiviteten), upphettning med eller utan övertryck (för att avdöda bakterier och dess sporer) samt förvaring i frys eller kyl (för att minska möjligheten för tillväxt). Slutproduktens säkerhet ökar genom att tillämpa flera barriärer. Även om effekten av de enskilda barriärerna var för sig kan vara otillräcklig för att fullständigt hämma tillväxt och toxinbildning, så kan den sammanlagda effekten av flera barriärer i vissa fall göra det (Elliott and Schaffner, 2001).

Tvätt och ansning av grönsaker före inläggning

Sjukdomsframkallande mikroorganismer, inklusive sporer av *Clostridium botulinum*, kan förekomma i jord och således också på ytan av grönsaker och andra livsmedel som kommit i kontakt med jord. Det är svårt att helt få bort bakterier, jästsvampar och mögelsvampar från ytan av grönsaker. Tvätt av grönsakerna minskar antalet mikroorganismer på ytan till viss del, medan skalning avlägsnar en större andel av mikroorganismerna (USDA, 2015). Liksom *Clostridium botulinum* så bildar en del andra bakterier och mögelsvampar sporer som kan överleva trots värmebehandling av grönsaksinläggningen, t.ex. olika sporbildande termofila bakterier och sporer från värmeresistenta mögelsvampar (Evancho et al., 2009). Sannolikheten för att sporer ska finnas kvar på ytan av grönsakerna minskar efter tvätt och framförallt skalning av grönsakerna. Förvällning/blanchering av grönsakerna kan också bidra till att reducera antalet av många typer av mikroorganismer. Skadade eller angripna grönsaker bör inte användas då olika förskämningorganismer kan följa med och medföra att kvaliteten eller hållbarheten på grönsaksinläggningen försämras (Evancho et al., 2009).

Inaktivering – upphettning

Tryckkokning

För livsmedel med icke tillväxtbegränsande pH (pH > 4,6), såsom grönsaker (Tabell 3), krävs sterilisering med tryckkokare för att förstöra sporer av *Clostridium botulinum*. Detta är särskilt viktigt om ytterligare barriärer inte tillämpas. USAs jordbruksdepartement (USDA) anger att livsmedel med pH över 4,6 behöver upphettas till 115–121°C under 20-100 minuter (USDA, 2015). Tiden kan variera mellan olika livsmedel, hur tätt packade grönsakerna är i behållarna, behållarnas storlek, och om ytterligare mikrobiologiska barriärer (t.ex. syra) används. Vid tryckkokning kan man utgå från antingen förvällda eller råa grönsaker som läggs i burkar som därefter placeras i en tryckkokare. När råa grönsaker används kommer det ofta med mer luft, vilket både kan orsaka att grönsakerna missfärgas efter en tid och att hållbarheten försämras. Tryckkokning kan emellertid påverka både textur och smak på livsmedlet (Nummer et al., 2011).

Kokkonservering

Ett annat sätt att värmekonservera grönsaker är genom kokkonservering, där konserverna kokas i en vanlig gryta med lock. I USDas manual rekommenderas att grönsakerna förvälls innan de läggs i burkar och kokas, för att grönsakerna ska krympa ihop (USDA, 2015). På så vis får det plats mer i burken samtidigt som oönskad luft försvinner. Den tid som behövs för att säkert förstöra *Clostridium botulinum* genom kokkonservering är mycket lång, 7 till 11 timmar (USDA, 2015). Vid kokkonservering av grönsaker bör därför ytterligare tillväxthämmande barriärer tillämpas.

Andra upphettningmetoder

Eftersom många örter och grönsaker som läggs in i olja, exempelvis vitlöksklyftor, förlorar textur och smak om de skulle tryckkokas görs detta i regel inte. Om inga ytterligare mikrobiologiska barriärer används har de därför en kort hållbarhet. I en litteraturöversikt av Nummer et al (2011) nämns alternativa upphettningmetoder som förekommer i recept som omfattar att sjuda örter i olja. Med kokpunkter över 121 °C kan de flesta oljor upphettas tillräckligt för att alla typer av *Clostridium*

botulinum ska avdödas, men detta tillvägagångssätt har enligt författarna inte validerats vetenskapligt. Det är inte heller klart om uppvärmning av olja till temperaturer över 100 °C skulle koka bort all fukt som finns i grönsakerna eller örterna och därmed förhindra tillväxt av *Clostridium botulinum*. Utbrott av botulism kopplade till (otillräckligt) upphettade oljeinläggningar har förekommit (Morse et al., 1990). Ytterligare studier behövs därför innan metoder för uppvärmning av örter eller grönsaker i olja rekommenderas.

USDA avråder från andra sätt att konservera med hjälp av upphettning, såsom att värma burkarna i en gryta utan lock, konservera i en vanlig ugn, i mikrovågsugnen, i diskmaskinen eller genom ångkokning, då dessa inte resulterar i tillräcklig inaktivering eller för att tiden som krävs för att uppnå tillräcklig inaktivering är osäker.

Tillväxtbegränsning – kylförvaring

Att förvara inlagda grönsaker vid en temperatur lägre än 10 °C förhindrar tillväxt av proteolytisk *Clostridium botulinum*, men det krävs en temperatur på 3 °C eller lägre för att förhindra tillväxt av icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*. Även om det är proteolytisk *Clostridium botulinum* som vanligtvis kopplats samman med botulism orsakad av inlagda grönsaker går det inte att utesluta att icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* kan finnas i produkten.

Det finns flera studier som indikerar att konsumenters kylskåpstemperaturer inte alltid håller tillräckligt låg temperatur för att möjliggöra fullständig tillväxtbegränsning av *Clostridium botulinum* (EFSA, 2020, Marklinder and Eriksson, 2015, Marklinder et al., 2004, Nummer et al., 2011). Dessutom visade en undersökning att många konsumenter inte kontrollerar temperaturen i sina kylskåp (KFS, 2011). I en svensk intervjuundersökning från 2011 visste bara 60% av de tillfrågade vad de hade för temperatur i kylskåpet (KFS, 2011). Majoriteten av dessa (60%) angav att de hade över 5 °C i sina kylskåp och nära hälften att de hade 7-8 °C i sina kylskåp. I en undersökning om kylskåpstemperatur i amerikanska hem hade drygt 27% av kylskåpen en temperatur över 5 °C och i 1,4% av kylskåpen var temperaturen högre än 10,5 °C (Audits International, 1999). En sammanställning av olika Europeiska studier på kylskåpstemperaturer visar att 71-93% av de undersökta kylskåpen hade en temperatur över 5 °C och så många som 7-51% rapporterar en temperatur över 10 °C (EFSA, 2020). I två svenska studier rapporteras dels medelvärden mellan 6,2-7,4 °C på livsmedel i kylskåp (Marklinder et al., 2004) samt medeltemperaturer i kylskåp mellan 4,8-7,5 °C (Marklinder and Eriksson, 2015).

Nummer et al. (2011) citerar olika studier som tagit fram rekommendationer för kylförvaring av grönsaksinläggningar utan ytterligare barriärer. Slutsatsen som Nummer et al. (2011) presenterar är att enbart förvaring i kylskåp är en otillräcklig/osäker barriär för *Clostridium botulinum*, särskilt avseende hemgjorda oljeinläggningar där barriärer för att sänka pH och vattenaktivitet saknas. Vidare dras slutsatsen att oljeinläggningar som förvarats i kylskåp mer än 4 dagar inte är säkra att konsumera och att frysning är den allra säkraste metoden för att undvika bildandet av botulinumtoxin i oljeinläggningar och då behövs inga ytterligare barriärer.

Tillväxtbegränsning – tillsats av surgörande medel

Clostridium botulinum tillväxer inte vid pH-värden under 4,6 (proteolytiska stammar) alternativt 5,0 (icke-proteolytiska stammar). Olika livsmedel har olika pH-värde och grönsaker har generellt sett ett pH som tillåter tillväxt av *Clostridium botulinum* (Tabell 3). För att uppnå ett pH-värde som hämmar tillväxt behöver därför ett surgörande medel tillsättas. Exempel på surgörande medel som är vanliga i heminläggningar är ättiksprit eller vinäger.

Tomat är en grönsak som befinner sig på gränsen för att tillåta tillväxt av *Clostridium botulinum*, med pH-värden som kan ligga mellan 4,3-4,9. Enligt USDA bör därför även tomat behandlas som övriga grönsaker (USDA, 2015).

Tabell 3. Sammanställning över rapporterade pH-värden för ett urval av olika grönsaker (FDA, 2021).

Grönsak	pH	Grönsak	pH
Tomat	4,3-4,9	Blomkål	5,6
Paprika	4,7-5,5	Purjolök	5,6-6,2
Pumpa	5,0-5,5	Selleri	5,7-6,0
Gurka	5,1-5,8	Morot	5,9-6,4
Kål	5,2-6,8	Majs	5,9-7,3
Rödbeta	5,3-5,7	Brysselkål	6,0-6,3
Lök	5,3-5,9	Sparris	6,0-6,7
Aubergine	5,5-6,5	Svamp	6,0-6,7
Bönor	5,3-6,6	Avokado	6,3-6,6
Kronärtskocka	5,5-6,0	Broccoli	6,3-6,9

Sänkning av pH genom tillsats av ättiksprit och vinäger

Ättika eller ättiksyra är en koncentrerad syra (99,8%). För livsmedelsbruk finns svagare lösningar av ättika, utspädd med vatten, vilket kallas för ättiksprit (vanligen 12% ättiksyra). En annan vanlig surgörare är vinäger, som bildas genom att etanolen i vin oxiderar till ättiksyra. Beroende på vinägersort och märke kan koncentrationen ättiksyra variera. Några vanliga märken, som går att köpa i svenska butiker, av vitvinsvinäger (Druvans, Zeta) har en koncentration på 6% och sherryvinäger (Solera 77, Maille) har en koncentration på 7%.

Tabell 4 visar en teoretisk beräkning av hur av olika koncentrationer av ättiksyra, ättiksprit och vinäger påverkar pH i en vattenlösning. För dessa beräkningar har först utvalda koncentrationer av ättiksyra i vatten (ml/100ml) omvandlats till en koncentration uttryckt i mol/L (molmassa för ättiksyra = 60,05 g/mol). Därefter har pH beräknats genom Formel (1), i vilken syrakonstanten (K_a) för ättiksyra = $1,8 \times 10^{-5}$.

Formel (1):
$$\text{pH} = -\log_{10}(\sqrt{K_a \times (\text{mol/L})})$$

Tabell 4. Teoretiskt beräknade pH-värden i en vattenlösning efter tillsats av olika volymer (ml) surgörare med olika koncentration, såsom ättiksyra (99,8%), ättiksprit (12%) eller vinäger (6%).

Ättiksyra 99,8% (ml surgörare/100ml)	ättiksprit 12% (ml surgörare /100ml)	Vinäger 6% (ml surgörare /100ml)	pH
0,1	0,4	0,8	3,4
0,25	2,1	4,2	3,1
0,5	4,2	8,4	2,9
1	8,3	16,6	2,8
2	16,6	33,2	2,6
3	25	50	2,5
4	33,3	66,6	2,5

Som referens till beräkningarna i Tabell 4 kan anges att en traditionell 1-2-3 lag (ättiksprit-socker-vatten) med 1 del ättiksprit (12%) av totalt 6 delar total-volym innehåller 16,6 volymprocent (1/6) ättikssprit. Enligt Tabell 4 ger denna koncentration ett pH-värde på 2,6. Om man endast räknar på volymen ättiksprit och vatten innehåller en 1-2-3 lag 25% volymprocent (1/4) ättikssprit, vilket ger ett beräknat pH på 2,5. Oavsett hur man räknar ger denna tillsats av ättiksprit (12%) en god marginal upp till pH-gränsen för tillväxt av *Clostridium botulinum* (pH<4,5). Om ättiksprit ersätts med 6-procentig vinäger bör mängden vinäger dubblas jämfört med 12-procentig ättiksprit samtidigt som mängden vatten minskar med samma mängd (som vinägern ökar) för att uppnå samma effekt på pH som en tillsats av ättiksprit (Tabell 4).

En begränsning med de beräknade pH-värdena är att de inte säger något om hur exempelvis de grönsaker som läggs in påverkar pH-värdet i inläggningen eller vilken förändring av pH som eventuellt sker över tid. Det kan vara så att de grönsaker som läggs har en buffrande effekt på lagen och således höjer pH-värdet i inläggningen, och det skulle också kunna ske en gradvis ökning av pH över tid. Det är också möjligt att pH-värdet, och den eventuella effekt som grönsakerna har på detta, skiljer sig beroende på om det är en tomat, med hög syrahalt, eller en grönsak med ett pH på över 6 som läggs in. Tyvärr har inga vetenskapliga studier undersökt hur olika grönsaker påverkar pH i ättiksinläggning av grönsaker hittats. Till skillnad mot exempelvis sill, som saltas före inläggning, är grönsakerna ofta obehandlade (utöver eventuell kokning). Tillsats av tillräckliga mängder av ättika blir således en ännu viktigare barriär. Detta är extra viktigt om produkten inte ska konsumeras relativt direkt eller om inga andra tillväxthämmande barriärer tillämpas.

Sänkning av pH vid oljeinläggning

Eftersom det inte går att blanda ättika med olja så går det inte att surgöra oljeinläggningar på samma sätt som vattenbaserade ättiksinläggningar. I kommersiell livsmedelsproduktion sker surgörning av grönsaker eller örter genom att livsmedlet surgörs före tillsats av olja. Nummer et al. (2011) rapporterade inga vetenskapliga studier om surgörande av oljeinläggningar i hemmet under säkra förhållanden. Kommersiella surgörare, såsom citronsyra och fosforsyra, kan också vara svåra att få tag på för vanliga konsumenter och metoden är krånglig och osäker att tillämpa i hemmet. Nummer et al (2011) rekommenderade därför inte den metoden till oljeinläggning i hemmet.

Sedan publiceringen av litteraturöversikten av Nummer et al. (2011) har åtminstone en vetenskaplig studie publicerats om en hemanpassad metod (Abo et al., 2014). I denna studie lät författarna nedsänka hackad vitlök, basilika, oregano eller rosmarin i en 3% lösning av citronsyra³ under en 24 timmar före inläggning i olja. För att få en god säkerhetsmarginal var målsättningen att sänka pH till 4,2 i vitlöksklyftorna och i örterna. I en pilotstudie med hela vitlöksklyftor sänktes pH endast till 4,5-4,6, men i hackad vitlök sänktes pH från 6,0-6,4 till 3,7 eller lägre med denna metod. I örterna sänktes pH från 6,3-6,7 till 2,8-4,1. Abo et al. (2014) angav emellertid inga säkra förvaringstider vid olika temperaturer för oljeinfusionerna.

Tillväxtbegränsning – sänkning av vattenaktivitet

Grönsaker innehåller mycket tillgängligt vatten, med uppmätta vattenaktiviteter på mellan 0,980-0,998 (Chirife and Fontan, 1982). Det är nivåer som stödjer tillväxt av såväl proteolytisk som icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*. Proteolytisk *Clostridium botulinum* kan växa ner till en vattenaktivitet på 0,93 och icke-proteolytisk till 0,94. Vattenaktiviteten i en inläggning sänks vanligtvis genom tillsats av salt eller socker, eller genom torkning av grönsakerna före inläggning. Vid kommersiell tillverkning är en vattenaktivitet på 0,85 ett riktvärde för livsmedel med pH högre än 4,6 (FAO, 2021). Om vattenaktiviteten för sådana livsmedel överskrider 0,85 krävs oftast värmesterilisering för att kommersiella producenter ska kunna garantera en säker produkt.

Saltning

Vanligt hushållssalt, eller koksalt, består av natriumklorid och har ofta flera funktioner i matlagning. Salt är en utmärkt smakförstärkare, men har också en påverkan på livsmedlets textur samt fungerar som ett konserveringsmedel (Doyle and Glass, 2010, Sleator and Hill, 2007). Salt i rätt koncentration hämmar såväl sjukdomsframkallande bakterier som förskämningsorganismer (Doyle and Glass, 2010, Sofos, 1984). Den hämmande effekt som salt har på sjukdomsframkallande bakterier härleds främst till sänkning av vattenaktiviteten (Sofos, 1984). Mineralsalt är ett samlingsbegrepp på salt där mängden natriumklorid minskats och istället ersatts med andra saltämnen, varav kaliumklorid är vanligast.

I vattenlösningar ger natriumklorid och kaliumklorid upphov till snarlik påverkan på vattenaktiviteten när de tillsätts med avseende på jonstyrka, det vill säga att samma mängd mol per liter vatten tillsätts (Barbut et al., 1986, Boziaris et al., 2007, Lenzi et al., 1975). Kaliumklorid har en högre molmassa än natriumklorid, vilket innebär att det behövs en större mängd (fler gram) kaliumklorid än natriumklorid för att uppnå samma sänkning av vattenaktiviteten. Denna ökning motsvarar ca 30% (27,5%) på viktsbasis. I Tabell 5 visas den ungefärliga mängd av natriumklorid alternativt kaliumklorid som krävs för att uppnå olika vattenaktiviteter.

³ Citronsyralösningens pH angavs inte i artikeln men blir, enligt våra egna beräkningar, runt pH 2.

Tabell 5. Ett urval av vattenaktiviteter och den ungefärliga mängd natriumklorid (NaCl) och kaliumklorid (KCl) som krävs för att uppnå dessa vattenaktiviteter i en vattenlösning (CDC, 1997, Fontana, 2008).

Vattenaktivitet	NaCl (% w/w)	KCl (% w/w)
0,998	<0,5	<0,65
0,997	0,5	0,65
0,994	1	1,3
0,970	5	6,5
0,955	7	9
0,940	9,5	12
0,930	11	14

Proteolytisk *Clostridium botulinum* är salttålig och kan tillväxa upp till en tillsats på 10% NaCl, medan icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* endast kan tillväxa upp till en tillsats på 5% NaCl (Tabell 2). Dessa koncentrationer NaCl motsvarar en vattenaktivitet på 0,94 för proteolytisk och 0,97 för icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* (Tabell 5). På grund av bakteriens salttålighet krävs det ofta ytterligare barriärer för att undvika tillväxt av *Clostridium botulinum*.

Socker

Tillsats av socker till livsmedel fungerar, liksom salt, hämmande på förskämning- och sjukdomsframkallande mikroorganismer genom sockrets förmåga att binda vatten och sänka vattenaktiviteten. Det krävs dock högre mängd tillsatt socker för att uppnå motsvarande sänkning av vattenaktivitet som för salt. För att uppnå en vattenaktivitet på 0,94 i en vattenlösning, vilket är gränsen för tillväxt av proteolytisk *Clostridium botulinum*, krävs mellan 50-44% vanligt strösocker (CDC, 1997). För att uppnå en vattenaktivitet på 0,97 i en vattenlösning, vilket är gränsen för tillväxt av icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*, krävs cirka 30% socker (CDC, 1997).

Torkning

Användning av torkade snarare än färska grönsaker och örter i olja anges ibland som ett sätt att möjliggöra förvaring av oljeinläggningar vid rumstemperatur (OSU, 2015, Nummer et al., 2011). Det kan exempelvis röra sig om soltorkade tomater eller torkade örter som ingår i olika oljeinfusioner eller pesto. Genom att torka grönsakerna sänks mängden tillgängligt vatten vilket hämmar tillväxt av *Clostridium botulinum*. Det kan emellertid vara svårt att kontrollera om tillräcklig mängd fukt har avlägsnats från produkten (Nummer et al., 2011). Eftersom vatten bildar droppar i olja kan även mycket små mängder vara tillräckliga för att möjliggöra mikrobiell tillväxt (Ciafardini and Zullo, 2002) och toxinbildning (Solomon and Kautter, 1988).

Viktigt att komma ihåg är att oljeinlagda örter och grönsaker som produceras kommersiellt har behandlats med ett eller flera surgörande eller konserverande ämnen som ytterligare mikrobiologisk barriär (Nummer et al., 2011). Att surgöra torkade ingredienser i askorbinsyra eller citronsyra innan de läggs i olja kan minska risken för att *Clostridium botulinum* tillväxer. Det saknas emellertid vetenskapligt underlag som beskriver procedurer att tillämpa detta på ett säkert sätt i hemmet.

Riskkaraktärisering och svar på frågor

Specifika frågor som ska besvaras:

1. *Fråga - Ättiksinläggningar.* Vilka olika koncentrationer av ättiksyra, salt och socker förhindrar att botulinum-sporer av den typ som finns på grönsaker gro och tillväxer i den färdiga grönsaks-/rotsaksinläggningen? Omvandla ättiksyran till ättikssprit (12%). Utgå från att de färdiga inläggningarna ska kunna förvaras i rumstemperatur åtminstone fram tills att de öppnas och sedan i kylskåp.
 - a. Finns det skillnader med avseende på möjligheten för tillväxt mellan olika grönsaker och rotsaker? I så fall rangordna dessa.
 - b. Hur påverkas tillväxtmöjligheten om ättiksspriten byts ut mot till exempel sherryvinäger?
 - c. Finns det några andra sjukdomsframkallande mikroorganismer än Clostridium botulinum som kan utgöra en fara i ättiksinläggningar? I så fall, vilka och på vilket sätt?

Svar:

Litteraturen beskriver enskilda gränser som behöver uppnås för att fullständigt hindra sporer av Clostridium botulinum att gro och tillväxa/bilda toxin, under förutsättning att övriga parametrar är optimala för tillväxt. Såväl proteolytisk som icke-proteolytisk Clostridium botulinum kan finnas i jord och därmed också på grönsaker. Det två grupperna av Clostridium botulinum har dock olika gränser för att förhindra tillväxt och toxinbildning, varav en viktig skillnad är att proteolytiska Clostridium botulinum inte kan växa vid temperaturer under 10 °C medan icke-proteolytisk Clostridium botulinum kan växa ner till 3 °C. För en produkt som ska förvaras i rumstemperatur behöver man således ta hänsyn till såväl proteolytisk som icke-proteolytisk Clostridium botulinum.

När det gäller tillsats av ättika (surgörare), salt och socker hämmar de Clostridium botulinum genom att de sänker pH respektive vattenaktiviteten i livsmedlet. De enskilda gränserna för tillväxthämning är för proteolytisk Clostridium botulinum ett pH under 4,6, en salttillsats på mer än 10% eller 44-50% socker. För icke-proteolytisk gäller ett pH under 5, en salttillsats på mer än 5% eller 30% socker. Tillsats av mindre mängder ättika, salt eller socker än att dessa gränsvärden uppnås ger inte fullständig hämning men gör så att tillväxt och toxinbildning tar långre tid. För att säkerställa att livsmedlet inte är gynnsam för tillväxt av Clostridium botulinum rekommenderas att flera barriärer används tillsammans. En kombination av barriärer, till exempel att kombinera ett sänkt pH med en sänkt vattenaktivitet, medför att fullständig tillväxthämning kan uppnås utan lika mycket tillsats av syra, salt eller socker som om endast en barriär tillämpats. Det är dock svårt att ge exakta exempel på sådana koncentrationer ättika i kombination med salt eller socker som tillsammans ger fullständig tillväxthämning.

Svårigheten i att ange alternativa mängder av exempelvis syra är att det inte är så lätt att mäta effekten som tillsatsen har på livsmedlet i hemmiljön. Det krävs till exempel inte mycket tillsats av ättiksprit för att uppnå ett teoretiskt (beräknat) pH på under 4,6 i en vätskelösning. Men beräknade pH-värden tar inte hänsyn till den eventuella påverkan som det livsmedel som läggs in har på pH-värdet av inläggningsvätskan eller om det sker någon gradvis pH-ökning över tid i inläggningen. Eftersom faran med botulinumtoxin är så allvarlig kan det därför vara motiverat att ha en säkerhetsmarginal vid användning av tillväxthämmande barriärerna. Detta är såklart extra viktigt om produkten ska förvaras i rumstemperatur och inte konsumeras relativt direkt.

- a. Olika grönsaker har olika pH och tabeller över dessa finns presenterade i denna riskvärdering. Denna visar att pH också kan variera mellan olika sorter av samma grönsak. Tomat är en grönsak som innehåller mycket syra, i vilken pH kan ligga på 4,3-4,9. Andra grönsaker kan ligga på ett pH mellan 6 och 7. Det är tänkbart att grönsakens syrahalt kan påverka hur mycket ättika som behöver tillsättas för att nå ner till ett pH som förhindrar tillväxt av *Clostridium botulinum*. Det har dock inte påvisats några studier som undersökt hur av olika sorters grönsaker, med olika pH, påverkar effekten av tillsatt ättika på pH i inläggningar.
 - b. Olika sorters vinäger skiljer sig i syrahalt, det vill säga koncentration ättika. Generellt sett så är vinäger en svagare surgörare än ättiksprit, med en koncentration runt 6-7%. Om vinäger ska användas istället för ättiksprit är det viktigt att veta aktuell koncentration, vilken ska finnas angivet på flaskan. Om vinägern är på 6% kan mängden dubblas för att uppnå samma effekt på pH som 12-procentig ättiksprit. Är vinägern starkare behöver inte lika mycket tillsättas och om vinägern är svagare kan lite mer behövas. För att få rätt slutkoncentration bör mängden övrig vätska minskas med samma mängd som vinägern ökas, så den totala mängden vätska blir den samma.
 - c. Inga publikationer har hittats om sjukdomsfall eller utbrott orsakade av andra faror än botulinumtoxin. Generellt är de tillväxthämmande åtgärderna för *Clostridium botulinum* också tillräckliga för att minska risken för andra faror i grönsaksinläggningar. Det är möjligt, men så vitt vi kan utröna inte vanligt, att otäta eller skadade inläggningskärl kan bli kontaminerade vid förvaring eller hantering efter det att inläggningen genomförts och därmed orsaka sjukdom hos konsumenten. Grönsaksinläggningar som ser, luktar eller smakar på ett oväntat sätt bör betraktas som potentiellt hälsofarliga. Vid mögeltillväxt bör Livsmedelsverkets råd om mögel på livsmedel tillämpas.
2. *Fråga - Oljeinläggningar.* Hur förhindrar man att botulinum-sporer gror och sen förökar sig i färdiga produkter av grönsaker och örter inlagda i olja?
- a. Finns det skillnader med avseende på möjligheten för tillväxt mellan olika grönsaker och örter? I så fall rangordna dessa.
 - b. Eftersom kylskåpstemperaturer varierar mellan hushåll, ange tillväxtmöjligheterna för de olika pH-vattenaktivitetskombinationerna vid 8, 10, 12 och 20 °C.
 - c. Finns det några andra sjukdomsframkallande mikroorganismer än *Clostridium botulinum* som kan utgöra en fara i oljeinläggningar? I så fall, vilka och på vilket sätt?

Svar:

Det vetenskapliga underlaget om hemanpassade metoder för oljeinläggning av örter och grönsaker är mycket begränsat. Det finns enstaka publikationer om säker hemanpassad oljeinläggning men underlaget är för litet för att dra säkra slutsatser. Metoder som används vid kommersiell produktion av oljeinläggningar är svåra att tillämpa i hemmet så att det blir en säker produkt med avseende på *Clostridium botulinum*, såvida man inte förvarar oljeinläggningen i frysen. Så länge inläggningen är fryst så kan inte *Clostridium botulinum* tillväxa och bilda toxiner. Enbart kylförvaring ger begränsad hållbarhet, högst fyra dagar har rekommenderats av andra studier, därefter ansågs inte livsmedlet säkert. Oljan i sig är inte en mikrobiologisk barriär, utan syftet med oljan är att begränsa tillförsel av syre, vilket genom kemiska reaktioner annars skulle leda till att grönsakerna missfärgas eller på annat sätt försämras i kvalitet. Inläggningar av grönsaker eller örter i olja medför i själva verket flera förhållanden som tillåter bildandet av botulinumtoxin: aenerob miljö, ett pH högre än 4,6 samt en vattenaktivitet över 0,935.

- a. Det är större sannolikhet att mikroorganismer kan förorena en inläggning av grönsaker och örter som varit i kontakt med jord ifall grönsakerna eller örterna inte ansats och rengjorts tillräckligt. Eftersom de flesta grönsaker och örter har ett pH över 4,6 så är typen av grönsak eller ört av mindre betydelse för risken. Det som är avgörande är istället tillämpandet av mikrobiologiska barriärer (sänkning av vattenaktivitet och pH och upphettning av oljeinläggningen) och hur oljeinläggningen sedan förvaras.
- b. Det går inte enkelt svara på frågan om tillväxt vid olika kombinationer av pH, vattenaktivitet och olika kylskåpstemperatur. Kombinationer av pH och vattenaktivitet är unika för varje sorts grönsak och kan också påverkas av övriga parametrar i inläggningsmetoden. En sådan jämförelse skulle därför bli teoretisk och inte så användbar i praktiken.

Vattenaktiviteten i färska grönsaker varierar mellan 0,982-0,997 (Chirife and Fontan, 1982), det vill säga högre än 0,935, som är den nedre gränsen för tillväxt av *Clostridium botulinum*. Även i torkade grönsaker kan det finnas kvar fukt i form av vätskefickor eller som små droppar av vatten på ytan, vilket kan möjliggöra tillväxt av *Clostridium botulinum* i oljeinläggningar.

Eftersom en tillräckligt låg vattenaktivitet i hela livsmedlet inte går att garantera vid oljeinläggning så valdes för jämförelsen en vattenaktivitet av 0,997, vilket ligger nära den vattenaktivitet som många vanliga grönsaker har och som kan sägas motsvara ett worst-case-scenario med avseende på vattenaktivitet.

I rumstemperatur (20 °C) växer såväl proteolytisk som icke-proteolytisk *Clostridium botulinum* mycket snabbt. Om vattenaktiviteten är optimal kan 1 log i tillväxt ske på 9-22 timmar för proteolytisk och 2-7 timmar för icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*. Tiden innan tillväxt påbörjas (lagfasen) kan variera mellan 1,5-3 dygn för proteolytisk och 2 timmar till 3 dygn för icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*.

Placeras oljeinläggningen i kylskåp förhindras tillväxt av proteolytisk *Clostridium botulinum*. Men eftersom man inte kan vara säker på att inläggningen inte innehåller icke-proteolytisk *Clostridium botulinum*, som kan växa ner till 3 °C, är inte kylförvaring en garant för en säker produkt.

- c. Vi har inte påträffat några publikationer vare sig om förekomst av andra faror eller om utbrott orsakade av andra faror kopplat till oljeinläggningar. I teorin kan sjukdomsframkallande mikroorganismer som på ett eller annat sätt hamnat på grönsaken genom fekal förorening kunna utgöra en risk om grönsakerna inte ansats, tvättats och/eller värmebehandlats tillräckligt före inläggningen.

Referenser

- ABO, B., BEVAN, J., GREENWAY, S., HEALY, B., MCCURDY, S. M., PEUTZ, J. & WITTMAN, G. 2014. Acidification of garlic and herbs for consumer preparation of infused oils. *Food Protection Trends*, 247-257.
- ADAMS, M. & MOSS, M. 2008. *Food microbiology*, Cambridge, The Royal Society of Chemistry.
- AUDITS INTERNATIONAL 1999. Audits/FDA Temperature Databases. <http://www.foodrisk.org/>.
- BARBUT, S., TANAKA, N. & MAURER, A. J. 1986. Effects of varying levels of chloride salts on *Clostridium Botulinum* toxin production in turkey frankfurters. *Journal of Food Science*, 51, 1129-1131.
- BOZIARIS, I. S., SKANDAMIS, P. N., ANASTASIADI, M. & NYCHAS, G. J. E. 2007. Effect of NaCl and KCl on fate and growth/no growth interfaces of *Listeria monocytogenes* Scott A at different pH and nisin concentrations. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 796-805.
- CDC 1997. Water activity of sucrose and NaCl solutions. *Food Safety Bulletin*, 3.
- CHIRIFE, J. & FONTAN, C. 1982. Water activity of fresh foods. *Journal of Food Science*, 47, 661-663.
- CIAFARDINI, G. & ZULLO, B. A. 2002. Survival of micro-organisms in extra virgin olive oil during storage. *Food Microbiology*, 19, 105-109.
- COLLINS & EAST 1998. Phylogeny and taxonomy of the food-borne pathogen *Clostridium botulinum* and its neurotoxins. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 5-17.
- COMBASE 2021. A Web Resource for Quantitative and Predictive Food Microbiology. <https://www.combase.cc/>.
- DAHLENBORG, M., BORCH, E. & RÅDSTRÖM, P. 2001. Development of a combined selection and enrichment PCR procedure for *Clostridium botulinum* Types B, E, and F and its use to determine prevalence in fecal samples from slaughtered pigs. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 4781-4788.
- DAHLENBORG, M., BORCH, E. & RÅDSTRÖM, P. 2003. Prevalence of *Clostridium botulinum* types B, E and F in faecal samples from Swedish cattle. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 105-110.
- DOYLE, M. E. & GLASS, K. A. 2010. Sodium Reduction and Its Effect on Food Safety, Food Quality, and Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 44-56.
- DRYSELIUS, R. 2021. Personlig kommentar 2021-03-15, Svenska utbrott av botulism.
- EFSA 2020. EFSA Panel on Biological Hazards. Guidance on date marking and related food information: part 1 (date marking). *EFSA Journal*, 18, 6306.
- ELLIOTT, P. H. & SCHAFFNER, D. W. 2001. Germination, Growth, and Toxin Production of Nonproteolytic *Clostridium botulinum* as Affected by Multiple Barriers. *Journal of Food Science*, 66, 575-579.
- ESPELUND, M. & KLAIVENESS, D. 2014. Botulism outbreaks in natural environments – an update. *Frontiers in Microbiology*, 5.
- EVANCHO, G., TORTORELLI, S. & SCOTT, V. 2009. Microbiological spoilage of canned foods. In: DOYLE, M. & SPERBER, W. (eds.) *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. Springer Science+Business Media.
- FAO 2021. CODE OF HYGIENIC PRACTICE FOR LOW AND ACIDIFIED LOW ACID CANNED FOODS (CAC/RCP 23-1979).
- FDA. 2021. *Approximate pH of Selected Foods* [Online]. Available: <https://foodsafety.wisc.edu/> [Accessed jan-april 2021].
- FLECK-DERDERIAN, S., SHANKAR, M., RAO, A. K., CHATHAM-STEPHENS, K., ADJEI, S., SOBEL, J., MELTZER, M. I., MEANEY-DELMAN, D. & PILLAI, S. K. 2018. The epidemiology of foodborne botulism outbreaks: A systematic review. *Clinical Infectious Diseases*, 66, S73-S81.
- FOHM 2021. Sjukdomsinformation om botulism. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>, 2021-03-15.
- FONTANA, A. J. 2008. Appendix B: Water activity of unsaturated salt solutions at 25°C. *Water Activity in Foods*. Blackwell Publishing Ltd.
- HALL, J. D., MCCROSKEY, L. M., PINCOMB, B. J. & HATHEWAY, C. L. 1985. Isolation of an organism resembling *Clostridium barati* which produces type F botulinum toxin from an infant with botulism. *Journal of Clinical Microbiology*, 21, 654-655.
- HILL, K. K., SMITH, T. J., HELMA, C. H., TICKNOR, L. O., FOLEY, B. T., SVENSSON, R. T., BROWN, J. L., JOHNSON, E. A., SMITH, L. A., OKINAKA, R. T., JACKSON, P. J. & MARKS, J. D. 2007. Genetic Diversity among Botulinum Neurotoxin-Producing Clostridial Strains. *Journal of Bacteriology*, 189, 818-832.

- HUSS, H. H. 1980. Distribution of *Clostridium botulinum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 764-9.
- IHEKWABA, A. E. C., MURA, I., MALAKAR, P. K., WALSHAW, J., PECK, M. W. & BARKER, G. C. 2016. New elements to consider when modeling the hazards associated with botulinum neurotoxin in food. *Journal of Bacteriology*, 198, 204-211.
- KFS 2011. Konsumentföreningen Stockholm. Temperatur i hushållens kylskåp. Enkätundersökning.
- LENZI, F., TRAN, T.-T. & TENG, T.-T. 1975. The Water-activity of supersaturated aqueous solutions of NaCl, KCl, and K₂SO₄ at 25°C. *Canadian Journal of Chemistry*, 53, 3133-3140.
- LINDSTRÖM, M., KIVINIEMI, K. & KORKEALA, H. 2006. Hazard and control of group II (non-proteolytic) *Clostridium botulinum* in modern food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 108, 92-104.
- MALAKAR, P. K., PLOWMAN, J., ALDUS, C. F., XING, Z., ZHAO, Y. & PECK, M. W. 2013. Detection limit of *Clostridium botulinum* spores in dried mushroom samples sourced from China. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 72-76.
- MARKLINDER, I. & ERIKSSON, M. K. 2015. Best-before date – food storage temperatures recorded by Swedish students. *British Food Journal*, 117, 1764-1776.
- MARKLINDER, I., LINDBLAD, M., ERIKSSON, L., FINNISON, A. & LINDQVIST, R. 2004. Home storage temperatures and consumer handling of refrigerated foods in Sweden. *Journal of Food Protection*, 67, 2570-2577.
- MCCROSKEY, L. M., HATHEWAY, C. L., FENICIA, L., PASOLINI, B. & AURELI, P. 1986. Characterization of an organism that produces type E botulinum toxin but which resembles *Clostridium butyricum* from the feces of an infant with type E botulism. *Journal of Clinical Microbiology*, 23, 201-202.
- MCLAUCHLIN, J. & GRANT, K. 2007. *Clostridium botulinum* and *Clostridium perfringens*. In: SIMJEE, S. (ed.) *Foodborne Diseases*. Totowa, NJ: Humana Press Inc.
- MORSE, D. L., PICKARD, L. K., GUZEWICH, J. J., DEVINE, B. D. & SHAYEGANI, M. 1990. Garlic-in-oil associated botulism: episode leads to product modification. *Am J Public Health*, 80, 1372-3.
- NOVAK, J., PECK, M., JUNEJA, V. & JOHNSON, E. 2008. *Clostridium botulinum* and *Clostridium perfringens*. In: FRATAMICO, P., BHUNIA, A. & SMITH, J. (eds.) *Foodborne pathogens* Norfolk, UK: Caister Academic Press.
- NUMMER, B. A., SCHAFFNER, D. W., FRASER, A. M. & ANDRESS, E. L. 2011. Current food safety issues of home-prepared vegetables and herbs stored in oil. *Food Protection Trends*, 336-342.
- NYBERG, K. 2017. Inläggning, gravning, syrning och konservering - Riskvärderingsrapport. *Livsmedelsverkets rapportserie*, 2017:8 del 2.
- OSU 2015. Herbs and vegetables in oil (SP 50-701). In: SERVICE, O. S. U. E. (ed.).
- SEVENIER, V., DELANNOY, S., ANDRÉ, S., FACH, P. & REMIZE, F. 2012. Prevalence of *Clostridium botulinum* and thermophilic heat-resistant spores in raw carrots and green beans used in French canning industry. *Int J Food Microbiol*, 155, 263-8.
- SLEATOR, R. D. & HILL, C. 2007. Food reformulations for improved health: A potential risk for microbial food safety? *Medical Hypotheses*, 69, 1323-1324.
- SOFOS, J. N. 1984. Antimicrobial effects of sodium and other ions in foods: a review. *Journal of Food Safety*, 6, 45-78.
- SOLOMON, H. M. & KAUTTER, D. A. 1988. Outgrowth and toxin production by *Clostridium botulinum* in bottled chopped garlic. *Journal of Food Protection*, 862-865.
- USDA 2015. Complete guide to home canning. *United States Department of Agriculture, Agriculture Information Bulletin* No. 539.

Denna rapport är ett vetenskapligt underlag om hemgjorda inläggningar av grönsaker och örter. Rapporten besvarar frågor om hur hemgjorda grönsaksinläggningar i ättika eller olja bör beredas och förvaras för att vara säkra med avseende på tillväxt av bakterien *Clostridium botulinum*, vars toxin orsakar den sällsynta men allvarliga sjukdomen botulism. Rapporten är skriven på förfrågan från avdelningen Hållbara matvanor som behöver detta underlag för att kunna ge råd till konsumenter om säker inläggning av grönsaker i det egna köket.

Livsmedelsverket är Sveriges expert- och centrala kontrollmyndighet på livsmedelsområdet. Vi arbetar för säker mat och bra dricksvatten, att ingen konsument ska bli lurad om vad maten innehåller och för bra matvanor. Det är vårt recept på matglädje.