

TOIDU SÄILIMISAJA MÄÄRAMINE

I osa





Euroopa Maaelu Arengu
Põllumajandusfond:
Euroopa investeringud
maapiirkondadesse

Autorid: Mati Roasto, Katrin Laikoja
Fotod: Mati Roasto

Täname: Toomas Kramarenko, Ingrid Vesmes, Elsa Peipman, Heneli Lamp, Marika Urke, Jaana Oona, Kristi Kadak, Edward-Tuudor Sooba, Tiiu Rand, Jelena Sögel, Kairi Sisask, Kersti Ehandi

Maaeluministeeriumi ning Põllumajanduse Registrite ja Informatsiooni Ameti (PRIA) tellimisel koostanud Eesti Maaülikooli toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool.
Varalised õigused kuuluvad materjali tellijale.
Kõik autoriõigused on kaitstud.

Teadmussiirde pikaajaline programm toiduohutuse valdkonnas viiakse läbi “Eesti maaelu arengukava 2014–2020” raames ning seda rahastatakse Euroopa Maaelu Arengu Põllumajandusfondist (EAFRD).

ISBN 978-9949-629-11-4 (pdf, võrguväljaanne)
ISBN 978-9949-629-10-7 (kogu teos)

Tartu, 2017

Käsiraamat: Toidu säilimisaja määramine, esimene osa

Käesolev dokument on välja töötatud selleks, et tutvustada toidu säilimisaegade määramise põhimõtteid ning meetodeid. Antakse ülevaade toidus mikroorganismide kasvu mõjutavatest teguritest ning jahetemperatuuridel säilitatavate valmistoitude mikrobioloogilistest ohtudest. Dokumentis on kirjeldatud kehtivast seadusandlusest tulenevaid nõudeid ning kriteeriume või erinevate kirjandusallikate toiduohutuse juhendväärtusi. Juhend ei ole ette nähtud kehtiva seadusandluse detailseks tutvustamiseks.

Käesoleva juhendi näol ei ole tegemist õiguslikult siduva dokumendiga, mistõttu dokumendi esitaja ei võta vastutust info puudumise või vääriti tõlgendamise suhtes.

Sisukord

Mõisted.....	6
Sissejuhatus	9
1. Toidu säilimisaeg	10
2. Toidu minimaalse säilimisaja ning tarvitamise tähtpäev.....	10
2.1. Minimaalse säilimisaja tähtpäev.....	11
2.2. Tarvitamise tähtpäev	11
3. Toidu säilimisaja määramine.....	12
3.1. Säilimisaja määramise etapid	13
3.2. Säilimisaja määramine liittoitudele	16
3.3. Kestvuskatsete teostamise meetodid	16
3.3.1 Otsene meetod	17
3.3.2 Challenge-test.....	17
3.3.3 Matemaatiline prognoosmudel	18
3.4. Analüüside sagedus kestvuskatse jooksul	18
3.5. Uuritavad partiid ning proovide arv	19
4. Toidu riknemine ja säilimisega mõjutavad tegurid.....	20
4.1. Temperatuur	21
4.2. Hapnikutarve	24
4.3. pH.....	24
4.3.1. Hapendamine.....	26
4.3.2. Marineerimine	26
4.4. Redokspotentsiaal.....	27
4.5. Vee aktiivsus	27
4.6. Suitsutamine	29
4.7. Lisaained	29
4.8. Kontrollitud keskkond ja gaasikeskkonda (MAP) pakendamine	31
4.9. Füüsikaline/bioloogiline struktuur.....	31
5. Jahutatud (valmis)toitude mikrobioloogilised ohud.....	33
5.1. <i>Listeria monocytogenes</i> ohjemeetmed	33
5.2. <i>Clostridium botulinum</i> 'i ohjemeetmed.....	33
5.3. <i>Yersinia enterocolitica</i> ohjemeetmed	35
5.4. <i>Bacillus cereus</i> 'e ohjemeetmed.....	35

6. Toidu külmutamine ning selle mõju toidu kvaliteedile ja ohutusele	36
Kokkuvõte	37
LISA 1. Valmistoitude kestvuskatsed <i>Listeria monocytogenes</i> 'e suhtes	38
Kasutatud kirjandus	42

Mõisted

Esinduslik (representatiivne) proov

Proov, milles on säilinud selle partii omadused, millest proov on võetud. Eelkõige on tegemist lihtsa juhusliku valimiga, mille korral partii igal eri osal on sama tõenäosus valimit moodustada.

Hea hügieenitava

Kõikide seadusest tulenevate nõuete ja kohustuste täitmine ning teaduslikel teadmistel põhinevate hügieenieeskirjade kohaldamine, et saavutada toidu töötlemisprotsessis ja turule viimisel toidu ohutus.

Kestvuskatse

Toidu valmistaja või pakendaja poolt planeeritud ning laboratooriumis läbiviidud analüüsitegevused, mille tulemuste põhjal määratakse toidu säilitamislõuded, sealhulgas toidu säilimisaeg ja säilitamistingimused, hinnates toidu ohutust ning toidu vastavust teistele (nt kvaliteedi) nõuetele.

Kiirestiriknev toit

Toit, mis oma koostise tõttu on soodne keskkond toidu riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvuks ja paljunemiseks.

Mikrobioloogiline kriteerium

Kriteerium, millega määratakse kindlaks toote, toiduainepartii või protsessi vastuvõetavus, mis põhineb mikroorganismide puudumisel, olemasolul või arvil, nende toksiinide või metaboliitide kogusel massi-, mahu-, pindala- või partii ühiku kohta.

Mikroorganismid

Mikroorganismid on bakterid, viirused, pärmseened, hallitusseened, vetikad, parasiitalgloomad, mikroskoopilised parasitaar-ussnugilised ning nende toksiinid ja metaboliidid.

Nullpäev

Valmistamise või pakendamise kuupäev.

Ohuanalüüsi ja kriitiliste kontrollpunktide süsteem (HACCP)

Süsteem, millega tuvastatakse, hinnatakse ja kontrollitakse toiduohutuse jaoks olulisi ohtusid. Kriitiline kontrollpunkt on etapp, mille käigus on võimalik teha kontrolli ja mis on oluline toidu ohutust ähvardava mõjuri tõkestamise või kõrvaldamise või vastuvõetavale tasemele vähendamise seisukohalt.

Partii

Ühesuguse nimetuse ja ühesuguste omadustega ning ühesugustel tingimustel toodetud, valmistatud või pakendatud toidukogus.

pH

ehk vesinikeksponent on negatiivne logaritmi vesilahuse vesinikioonide kontsentratsioonist. pH skaala arvuline väärtus näitab, kas lahus on neutraalne (pH 7), happeline (alla 7) või aluseline (üle 7).

Proov

Kogum, mis koosneb ühest või mitmest ühikust või teatavast kogusest, mis on valitud erinevatel viisidel üldkogumist või aine olulisest kogusest ning mille eesmärk on anda teavet uuritava üldkogumi või aine teatavate omaduste kohta ning mille alusel saab teha otsuse asjaomase üldkogumi või aine kohta või protsessi kohta, mille tulemusel üldkogum või aine saadi.

Protsessi hügieenikriteerium

Kriteerium, millega määratakse kindlaks tootmisprotsessi vastuvõetav toimimine. Kõnealust kriteeriumi ei kohaldata turuleviidud toodete puhul. Sellega kehtestatakse näitlik saastumisväärtus, mille ületamisel on vaja võtta parandusmeetmeid protsessi hügieeni säilitamiseks kooskõlas toidualaste õigusnormidega.

Spoor

Endospoor ehk püsirakk, mis on vastupidav erinevate keskkonna mõjurite suhtes, nt toitainete nappus, ebasoodne temperatuur jms.

Säilimisaja lõpp

Toidukäitleja määratud säilimisaja viimane päev, mida väljendatakse „kõlblik kuni” või „parim enne” kuupäevaga tootel.

Toiduohutuskriteerium

Kriteerium, millega määratakse kindlaks toote või toiduainepartii vastuvõetavus ja mida kohaldatakse turuleviidavate toodete suhtes.

Toidukäitleja

Füüsiline või juriidiline isik, kelle ülesandeks on tagada toidualaste õigusnormide nõuete täitmine tema kontrollitavas toidukäitlemisettevõttes.

Toidu käitlemine

On tegevus toidu tootmise, töötlemise ja turustamise etappides, kaasa arvatud import, alates toidu esmatootmisest kuni selle hoiustamise, transpordi, müügi või lõpptarbijale tarnimiseni.

Valideerimine

Protsess või uuring, millega tõendatakse, et meetod või protsess on vastuvõetav kavandatud eesmärgi saavutamiseks, samuti tõendite hankimine HACCP kava elementide tõhususe kohta.

Valmistoit

Toit, mille tootja või valmistaja on ette näinud vahetult inimtoiduks kasutamiseks, ilma et seda oleks mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vastuvõetava piirini vähendamiseks vaja kuumutada või muul viisil töödelda.

Vee aktiivsus (a_w)

Mõiste tähistab sidumata ja kättesaadavat vett toidus ja ei ole sama tähendusega, kui toidu veesisaldus. Vesi toidus, mis ei ole muude molekulidega seotud, võib toetada mikroobide/mikroorganismide kasvu. Vee aktiivsuse skaala on 0 kuni 1,0 (puhas vesi), kuid enamasti jääb vee aktiivsus toitudes vahemikku 0,2 (väga kuivad toidud) kuni 0,99 (niiske toortoit).

Verifitseerimine

Valideerimisuringus katsete abil tõendamine, et kasutaja rakendab ettenähtud meetodit või protsessi selle kirjelduse kohaselt. Samuti meetodite, menetluste, katsete ja muude hindamisvõtete kohaldamine lisaks seirele, mida viiakse läbi HACCP kava täitmise kindlakstegemiseks.

Sissejuhatus

Käesolev juhend annab ülevaate toidu säilimisaja määramise põhimõtetest ning kestvuskatsete läbiviimise erinevatest etappidest. Juhendis selgitatakse toidu säilimisaja määramisega seonduvaid mõisteid, seadusandlust ning toidu säilimisajaga mõjutavaid seismisi ja väliseid tegureid

Paljudele toidugruppidele ei ole õigusaktides kehtestatud toiduohutuse ja protsessi hügieenikriteeriume ega toidu säilitamiskriteeriume. Sellisel juhul tuleb need kehtestada toidukäitlejal. Siinkohal on oluline, et toidu säilimisajade määramisel tuleb pöörata tähelepanu toidu ohutuse tagamisele, kuid oluline on ka toidu kvaliteet. Tavapärast on need kaks omavahel tihedalt seotud, kuid mitte alati. Seega seistakse kestvuskatsete planeerimisel sageli valikute ees: kas säilimisaja määramisel arvestada pigem toidupatogeenide ja/või rikkumist põhjustavate mikroorganismide kasvudünaamikat või hoopiski toidu sensoorseid omadusi.

Vastutus toidu säilimisajade nõuetekohasuse tõendamise ees lasub toidukäitlejal. Sellest tingituna peab toidukäitleja esmalt välja selgitama (planeeritava) toidu koostise, pH, veeaktiivsuse, pakendamiseviisi, säilitamistingimused jm, mis mõjutavad toidu ohutust ja kvaliteeti, sealhulgas ka toidu säilimist. Mõnedes toitudes toimuvad säilimisaja kestel muutused pigem kvaliteedinäitajate osas, nt toitainete kontsentratsiooni ja/või toidu värvuse muutused. Teistes toitudes omavad olulisust toiduohutuse näitajad, nt *Listeria monocytogenes*'e kasv, mistõttu valed säilitamistingimused ja/või liiga optimistlikult kehtestatud säilimisajad võivad põhjustada otseselt riski tarbijate tervisele.

Seadusandlusega ning juhenddokumentidega ei ole võimalik katta kõiki erinevaid toitusid ainuüksi juba seetõttu, et need on oma koostiselt, töötlemis- ning kasutamistingimustelt ja pakendamiseviisilt erinevad. Piisab ühe olulise toidu koostisosa, nt keedusoola sisalduse vähendamise või mõne toidu sünteetilise lisaaine asendamisest mõne taimse lisandi vastu, et muuta oluliselt nii toidu säilimisajaga kui ohutust. Erinevate toodete retseptuure on tuhandeid ning seega on võimatu ning ebaratsionaalne seadusandlusega kehtestada kõikidele erinevatele toitudele konkreetseid toiduohutuse ja kvaliteedi kriteeriume. Samas on toidu säilitamistingimused ning -ajad toiduohutuse vaieldamatu osa, mille eest vastutab toidu tootja ning ametlike kriteeriumide puudumisel tuleb need ettevõtte enesekontrolli tegevuste raames välja töötada ja kehtestada. Samuti on ettevõtte kohustuseks säilitamistingimuste ning toiduohutuse kriteeriumide kehtivuse tõendamine.

Riiklik järelevalve kontrollib perioodiliselt ettevõtte enesekontrolliprogrammi dokumentide õigsust ning vajadusel teeb ettekirjutisi seadusandlusega ning ettevõtte enesekontrolli dokumentides kehtestatud korra nõuetele vastavusse viimiseks. Otsuste tegemisel lähtub järelevalveametnik kehtivast seadusandlusest ning üldistest toiduohutuse tagamise põhimõtetest ja teadmistest.

1. Toidu säilimisaeg

Toidu säilimisaeg on sageli kasutatud mõiste, mida saab erinevalt mõista ja käsitleda. Mõningaid näiteid toidu säilimisaja definitsiooni käsitlestest leiab Barbosa jt. (2002) ning Dominic Man (2015) poolt avaldatud materjalidest. Eeltoodud autorid on toidu säilimisaega defineerinud järgnevalt:

"Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul etteantud temperatuuril (ning vajadusel ka etteantud hoiu- ja veotingimustel ehk säilitamistingimustel) säilitab toit mikrobioloogilise ning keemilise ohutuse ning muudele nõuetele vastavuse".

"Toidu säilimisaeg on aeg, mille jooksul toidu kvaliteet muutub aktsepteeritavast mitteaktsepteeritavaks".

"Toidu säilimisaeg on "parim enne" või "kõlblik kuni" kuupäevale eelnenud periood, kusjuures "parim enne" ehk toidu minimaalne säilimisaja tähtpäev peegeldab pigem toidu kvaliteeti ning "kõlblik kuni" pigem toidu ohutust".

"Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille möödudes, rakendades ettenähtud säilitamistingimusi, muutub toidu ohutus ja -kvaliteet aktsepteeritavast mitte aktsepteeritavaks ehk ajaperiood, mille möödudes toit muutub inimtoiduks kasutuskõlbmatuks".

Suurbritannia Toidu Teaduse ja Tehnoloogia Instituut (*Institute of Food Science and Technology*) määratleb toidu säilimisaega järgnevalt: „Toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul toit:

- 1) on ohutu;
- 2) säilitab soovitud sensoorsed, keemilised, füüsikalised, mikrobioloogilised ja funktsionaalsed omadused;
- 3) kus asjakohane, säilitades toitu ettenähtud säilitamistingimustes, vastab toidu märgistusel deklareeritud toitainelisele kooslusele“ (IFST, 1993).

Esitatud definitsioonidest lähtuvalt võib järeldada, et **toidu säilimisaeg on ajaperiood, mille jooksul, rakendades määratletud säilitamistingimusi, püsib toit ohutu, säilitab soovitud kvaliteediomadused ja on inimtoiduks kasutuskõlblik.**

Toidu mikrobioloogiliste kriteeriumite määramises (ELT, 2005) on toidu säilimisaega käsitletud kõlblikkusajana, mis on ajavahemik kuni toidu tarvitamise tähtpäevani või minimaalse säilimisaja tähtpäevani.

Kõik esitatud säilimisaja definitsioonid on tõesed, kuid erineva rõhuasetuse ja ulatusega. Oluline on mõista, et enamiku toitude puhul on säilimisaja määramisel esmatähtis lähtuda toiduohutusest. Samas on toitusid, mis jõuavad kvaliteedi minetada enne seda, kui toiduohutuse kriteeriumid saavad ületatud või ka toitusid, mis on koostisest tingituna kaua säilivad mistõttu säilimisaja määramisel omavad tähtsust pigem kvaliteedi, nt värvuse, konsistentsi ning toitainete sisalduse muutused ajas.

2. Toidu minimaalse säilimisaja ning tarvitamise tähtpäev

Vastavalt toiduseadusele määrab toidukaitleja (-tootja, töötleja, sh valmistaja, või pakendaja) kestvuskatsete alusel toidu säilitamiskõlblikkused, sealhulgas toidu minimaalse säilimisaja või tarvitamise tähtpäeva ning säilitamistingimused, hinnates toidu ohutust ning toidu vastavust teistele nõuetele, nt kvaliteedinõuetele.

"Toidu minimaalse säilimisaja tähtpäev" on tähtpäev, milleni nõuetekohase säilitamise korral säilivad toidu spetsiifilised omadused. Toitude puhul, mis mikrobioloogiliselt kiiresti riknevad ning võivad seetõttu lühikese ajaga muutuda inimtoiduks kõlbmatuks (edaspidi: *kiiresti riknev toit*), tuleb minimaalse säilimisaja tähtpäev asendada toidu tarvitamise tähtpäevaga. Pärast

tarvitamise tähtpäeva ei loeta toitu enam ohutuks. Kui toitu tuleb säilitada ja/või kasutada eritingimustes, märgitakse need tingimused pakendile. Toidu nõuetekohaseks säilitamiseks või kasutamiseks pärast pakendi avamist märgitakse vajaduse korral säilitamise tingimused ja/või tarbimise tähtaeg.

2.1. Minimaalse säilimisaja tähtpäev

Minimaalse säilimisaja tähtpäev märgitakse järgnevalt:

tähtpäeva ees on sõnad "Parim enne", kui tähtpäev sisaldab päeva ning muudel juhtudel "Parim enne lõppu". Eelnimetatud sõnadega kaasneb tähtpäev või viide tähtpäeva asukohale märgistusel. Vajaduse korral järgneb eelmainitud andmetele säilitamistingimuste kirjeldus, mida tuleb järgida, et toode nimetatud aja jooksul säiliks. Tähtpäev koosneb päevast, kuust ja võimalusel aastast kodeerimata kujul samas järjekorras. Toitude puhul, mis ei säili üle kolme kuu, piisab päeva ja kuu märkimisest. Toitude puhul, mille säilimisaeg on üle kolme kuu, kuid mitte üle 18 kuu, piisab kuu ja aasta märkimisest. Toitude puhul, mille säilimisaeg on üle 18 kuu, piisab aasta märkimisest (ELT, 2011).

Minimaalset säilimisaega ei ole vaja märkida järgmiste toitude puhul (ELT, 2011):

- koorimata, tükeldamata või muul samalaadsel viisil töötlemata marjad, puu- ja köögiviljad, sealhulgas kartulid ja seemned; see erand ei kehti idandatavate seemnete ja kaunviljajaidudega samalaadsete toodete suhtes;
- veinid, liköörveinid, vahuveinid, aromatiseeritud veinid ja sarnased tooted, mis on saadud muudest puuviljadest kui viinamarjad;
- joogid, mille etanoolisisaldus on vähemalt 10 mahuprotsenti;
- liht- ja valikpargaritooted, mille koostise järgi võib eeldada, et neid tarbitakse 24 tunni jooksul pärast valmistamist;
- äädikas;
- keedusool;
- tahke suhkur;
- kondiitritooted, mis koosnevad peaaegu ainult maitsestatud ja/või värvitud suhkrutest;
- närimiskummid ja samalaadsed tooted.

2.2. Tarvitamise tähtpäev

Toidu tarvitamise tähtpäev esitatakse järgnevalt:

Tarvitamise tähtpäevale eelnevad sõnad "kõlblik kuni" ning nimetatud sõnadega kaasneb tähtpäev või viide tähtpäeva asukohale märgistusel. Neile andmetele järgneb säilitamistingimuste kirjeldus, mida tuleb järgida. Tähtpäev koosneb päevast, kuust ja võimalusel aastast kodeerimata kujul samas järjekorras. Kui müügipakendis toode koosneb kahest või enamast eelnevalt pakendatud ühikust, mis sisaldavad sama koguse sama toodet, soovime märkida tarvitamise tähtpäeva iga üksiku toote pakendile.

Eeltoodu selgitas, kuidas tuleb tarbijatele esitada toidu säilimisajaga seonduvat teavet toidu märgistamisel. Samas võib mõningatel juhtudel tekkida olukord, kus ei osata otsustada, kas on tegemist kiiresti rikneva toiduga või mitte, kas kasutada "kõlblik kuni" või "parim enne" sõnapaari? Järgnevalt on kirjeldatud mõned näited, mis on abiks vastavate otsuste tegemisel.

Näide 1

Toidu koostis soodustab säilimisaja jooksul nii patogeenide kasvu kui ka toidu riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu, kuid patogeenide arvukus saavutab inimese tervisele ohtliku taseme enne kui toit jõuab tajutatavalt rikneda.

Sellisel juhul tuleb märgistusel kasutada "kõlblik kuni" ehk toidu tarvitamise tähtpäeva.

Näide 2

Toidu koostis soodustab säilimisaja jooksul nii patogeenide kui toidu riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu, kuid toit läheb tajutavalt riknema enne kui patogeenide arvukus saavutab inimese tervisele ohtliku taseme.

Mürgistusel võib olla sobilik kasutada "parim enne" ehk toidu minimaalse säilimisaja tähtpäeva. "Parim enne" on antud stsenaariumit arvestades sobilik kasutada juhtudel, mil toit ei rikne kiiresti. Kiirestirikneva toidu puhul tuleb mürgistusel esitada tarvitamise tähtpäev ("kõlblik kuni").

Näide 3

Patogeenid võivad toidus väikese tõenäosusega esineda, kuid nende arvukus on väga madal (inimese tervisele ohutu tase) ning nad ei ole võimelised toidus paljunema. Toidu riknemist põhjustavad mikroorganismid võivad toidus kasvada tasemeni, mis põhjustab toidu tajutava riknemise või toit rikneb keemiliste reaktsioonide, nt rääsumise tagajärjel.

Sobiv on kasutada "parim enne" ehk toidu minimaalse säilimisaja tähtpäeva.

3. Toidu säilimisaja määramine

Toidu säilimisaeg määratakse kestvuskatsete alusel. Kestvuskatsete tegemisel tuleb arvestada statistiliseks töötlemiseks piisava arvu partiide analüüsidesse kaasamisega. Toit peab kogu kõlblikkusaja jooksul vastama nii mikrobioloogilistele, keemilistele kui ka muudele toidule kehtestatud nõuetele. Toidu nõuetekohasust hinnatakse proovi organoleptiliste, füüsikaliste, keemiliste, mikrobioloogiliste näitajate järgi. Eeltoodu mõistmine on säilitamisaegade määramisel oluline, sest annab meile teada, et toidu säilimisaegade määramisel tuleb laboratoorsete analüüside valikul teha otsuseid, mis lähtuvad toidu koostisosadest, toidu pakendamisest, toidu säilitamise tingimustest ning ka teistest toidu ohutust ja toidu riknemist mõjutavatest teguritest. Uuritavate näitajate valikust ning nende kombinatsioonist sõltub kestvuskatsete mõttekus ning lõppkokkuvõttes toidule kehtestatud säilimisaja õigsus.

Toidu säilimisaja määramisel tuleb esmalt tutvuda erialase kirjandusega (juhenddokumendid, õppekirjandus ning kehtiv seadusandlus) ja pidada vajadusel nõu erinevate ekspertidega, nt teadusasutused, laboratooriumid, järelevalveasutused, toiduohutuse konsultandid. Enne toote säilimisaja määramist ehk kestvuskatsete teostamist on vaja kindlustada tootmisprotsessi stabiilsus ehk tõestada, et suudetakse tagada samade omadustega, nt happesus, niiskusesisaldus jms, toidu tootmine. Stabiilsus tagatakse siis, kui toiduainete käitlemisel rakendatakse järjepidevalt õigeid töövõtteid, järgitakse ettevõtte HACCP-plaani ning nõuetekohasuse tõendamise meetoditega on tõestatud, et toiduohutuse süsteem (nt HACCP) on efektiivne. Enesekontrollisüsteemi nõuete- ja kasutuskohasus on stabiilse säilimisaja eeltingimus.

Kestvuskatsed viiakse läbi toiduga, mille koostis ning töötlemis-, pakendamise- ning säilitamistingimused on määratletud.

Eesti tavapraktikas keskendutakse toidu säilimisaegade määramisel enamasti toidu mikrobioloogilistele analüüsidele. Samas, eelnevate kogemuste ning seadusandlusest tulenevate kriteeriumide puudumisel on toidukäitlejatel endil suhteliselt raske määratleda, milliste mikroorganismide suhtes tuleks toitu analüüsida ning millised on konkreetse toiduga seonduvad toiduohutuse kriteeriumid. Sellisel juhul oleks mõttekas kestvuskatsetele eelnevalt teostada, nn eelkatsed, kus juba ettevõttes selgitatakse välja, millise aja jooksul etteantud säilitamistingimusi järgides läheb toit sensoorselt tajutavalt (lõhn, maitse, välimus) riknema. Viimane ei ole toidu säilimisaja määramise aluseks, kuid võimaldab toidukäitlejal hinnata toidu säilimise ligikaudset aega. Saades teada toidu riknemisele vahetult eelnevate päevade mikroorganismide arvukuse toidus, tekib ettekujutus võimalikest säilimisaja määramise aluseks

olevatest mikrobioloogilistest kriteeriumitest. Eelkatsete põhjal saab toidukäitleja teada toidu prognoositava säilimisaja, mis võetakse aluseks ametlike kestvuskatsete planeerimisel. Toidu säilimisaja määramisel tuleb toidukäitlejal mõelda võimalikele külmaahela rikkumistele, nt kehtestatud säilitamistemperatuuri lühiajalisele kõikumisele. Kui viimasega arvestada, siis tuleb kestvuskatsed planeerida nii, et paralleelselt läbi viidavates katseseeriates rakendatakse nii kehtestatavat säilitamistemperatuuri kui ka sellest paar kraadi kõrgemat. Viimane imiteerib külmaahela lühiajalise rikkumise võimalikku mõju konkreetse toidu säilimisele. Järgnevalt käsitletakse toidu säilimisaja määramist etappide viisi loogilises järjekorras. Juhul, kui toidukäitlejal on sarnaste toodete kestvuskatsete planeerimise ja läbiviimisega juba eelnevad kogemused, siis võib säilimisaja määramise tegevuste nimekiri olla alltoodust lühem.

3.1. Säilimisaja määramise etapid

Säilimisaja määramisel:

Koosta detailne tootekirjeldus, mis sisaldab vähemalt järgmisi andmeid:

- 1) toidu nimetus;
- 2) valmistoodet ja selle koostisosi iseloomustavad näitajad k.a. koostisosade, sh liitkoostisosade nimekiri ning iga koostisosa kirjeldus;
- 3) kasutatavad tehnoloogilised võtted ning seonduvad töötlemisparameetrid, eelkõige need, mis on olulised toidu ohutuse seisukohast;
- 4) toiduohutuse ja kvaliteedi kontrollimise meetmed ja parameetrid;
- 5) toidu pakendamine ning pakendite spetsifikatsioonid;
- 6) toidualase teabe esitamise kirjeldus k.a. säilimisaja esitamine;
- 7) säilitamistingimused k.a. veol ja müügil;
- 8) kasutusjuhised;
- 9) toidu mikrobioloogiline kirjeldus k.a. piirväärtused;
- 10) seadusandlusest tulenevad muud nõuded.

Sõltuvalt toidust võib andmeid olla rohkem.

Selgita välja toidu võimalikud riknemis- ja/või kvaliteedi kaotamise viisid ning toiduohutust mõjutavad näitajad.

Toidu ohutust/ohutikkust ja/või riknemist võivad põhjustada mikrobioloogilised, keemilised ja füüsikalised mõjurid. Toidu riknemist ning säilimisega mõjutavad nii tootest (kasutatavad toorained ning toote koostis; vee aktiivsus, pH, hapniku olemasolu ning kasutatavad toidu lisaained k.a. konservandid) kui toidu käitlemisest tingitud näitajad (töötlemine, pakendamine, säilitamine jt.). Kvaliteedi langemine võib olla tingitud niiskuse suurenemisest või kaotusest, toidu värvi ja lõhna muutustest ning toitainete kaost.

Määratle, milline toidu riknemisviis on kõige olulisem ja millised muutused ilmnevad esimesena.

Üks riknemisviis, nt mikrobioloogiline riknemine võib domineerida toidu keemilise riknemise (nt rääsumine) üle. Toidu säilimine, arvestades toidu kvaliteeti ja -ohutust, on alati erinev. Säilimisaja määramisel on oluline, kumb neist on lühem, ehk juhul, kui toidu ohutuse kriteerium saab ületatud esimesena, siis määratakse säilimisaja toidu ohutuse kriteeriumite järgi. Juhul, kui toidu kvaliteedi kriteeriumid saavutavad vastuvõetamatu taseme enne, kui toiduohutuse kriteeriumid saavad ületatud, siis võetakse säilimisaja määramisel arvesse toidu kvaliteedi kriteeriume.

Ohuanalüüsiga selgita välja konkreetse toiduga seonduvad olulised bioloogilised, keemilised ja füüsikalised ohud ning nende mõju toidu säilimisele.

Määratle, millistel tingimustel (ka temperatuuril) tuleb toitu vedada ning säilitada.

Arvesta seadusandlusest tulenevate nõuetega, nt kui tegemist on valmistoiduga, milles *L. monocytogenes*'e kasv on võimalik, siis tuleb kestvuskatsete tegemisel määrata ka patogeeni arvukus. Oluline on mõista, et turuleviidav toit peab olema ohutu inimese tervisele (RT, 2016). Säilitamistingimuste määratlemisel arvesta, et tooraineid, koostisosi (sh liitkoostisosi), pooltooteid ja lõpptooteid, milles võivad paljuneda patogeensed mikroobid või tekkida toksiinid, ei tohi hoida temperatuuril, mis võib põhjustada ohtu inimese tervisele. Külmaahelat ei tohi katkestada. Siiski on lubatud ettenähtud temperatuurist kõrvalekaldumine piiratud ajaks, kui see on vajalik käsitsemisest tulenevatel asjaoludel toidu valmistamiseks, veoks, hoidmiseks, väljapanemiseks ja serveerimiseks, tingimusel, et see ei põhjusta riski inimese tervisele (ELT, 2004).

Kestvuskatsete läbiviimise planeerimisel määratle toote oletuslik säilimisaeg ning kirjelda hindamismeetodeid, millega kinnitatakse eelnevalt püstitatud säilimisaja õigsust.

Esmalt mõtesta läbi proovivõtukava ning leia vastused järgmistele küsimustele:

- Millised laboratoorsete analüüside liigid (mikrobioloogilised, keemilised, sensoorsed) oleksid õigustatud?
- Millised on kehtivad (ka varem kehtinud) või uueks eesmärgiks seatud (nt katse-eksitus meetodi alusel) piirnormid?
- Kui suur peaks olema uuritavate partiide arv ja partiide tootmise aeg: kevad, suvi, sügis, talv? Märkus: tavaliselt valitakse aastaag, mis võib enim probleeme põhjustada, nt suvi.
- Kui mitu proovi võtta ühest toidupartiist ning kui mitu erinevat partiid on vaja kestvuskatsesse kaasata? Märkus: tavaliselt tuleb proove partiist võtta vähemalt kolmes eksemplaris, kuid valmistoitudele kehtib, nt *L. monocytogenes*'e suhtes uurimiseks reeglina viie osaproovi reegel.
- Kas lasta analüüsida kõik toidu proovid (nn osaproovid) eraldi või lasta teostada koondproovide analüüs? Märkus: kui seadusandlus seda ei sätesta, siis on see analüüsi tellija otsustada.
- Kas oleks vaja teostada katsed ka toote avatud pakenditega, jäljendades toidu säilimist kaupluse müügiletis või kodus külmkapis pärast pakendi avamist?

Juhul, kui eeltoodud küsimustele on vastatud, siis **teosta kestvuskatsed**.

Kestvuskatsete ajal tuleb tooteid säilitada määratletud säilitamistingimustel. Seadusandlusele vastavalt tuleb säilitamisnõuded määrata eraldi iga toidu kohta või samalaadsetele koostis-, pakendi-, valmistamis- ja pakendamisenõuetele ning tehnilises kirjelduses toodud muudele nõuetele vastava toidugrupi kohta.

Tavapäraselt rakendatakse järgmisi säilitamistingimusi (Man, 2002):

- külmutatud toidud: -18 °C või madalam temperatuur (suhteline niiskus on ligi 100%);
- jahutatud toidud: 0 °C kuni $+5\text{ °C}$ (maksimaalselt $+8\text{ °C}$ ning suhteline niiskus väga kõrge);
- temperatuur $+20\text{ °C}$, suhteline niiskus 75%;
- troopiline temperatuur: $+38\text{ °C}$, suhteline niiskus 90%.

Tuleks mõelda ka mõningatele säilitamistingimuste varieeruvustele, mis reeglina tähendab paralleelkatseid ning seega ettevõttele suuremat rahalist kulu:

- optimaalsed tingimused – kõige soovitatavamad säilitamistingimused (ideaaltemperatuur, nt +5 °C koos külmaketi katkematusena). Sellistes tingimustes säilitatuna saadakse kõige pikemad säilimisajad;
- tüüpilised või keskmised tingimused – säilitamistingimused, mis on toidule kõige reaalsemad, arvestades toidu transporti ja turustamist (nt +5 °C kuni +6 °C koos lühiajaliste temperatuuri kõikumistega). Tavapärast saadakse nende andmete alusel säilimisaeg, mis on nii tootjale kui ka tarbijale vastuvõetav;
- halvima stsenaariumi tingimused – keskmistest säilitamistingimustest erinevad temperatuurid, nt. jahesäilitamisel +6 °C asemel +8 °C. Sellistel tingimustel kestvuskatsete teostamine annab lühema säilimisaja.

Säilitamistingimuste määramise kõrval on oluline ka pakendamistingimustega arvestamine, nt sama toode jaepakendis või hulgi pakendis. Viimane avatakse müügiletis, seega kestvuskatsete tegemisel tuleb imiteerida müügitingimusi ning arvestada võimalusega, et pakend avatakse juba esimesel säilimispäeval. Sel puhul tuleb arvestada tarbijatele lisainfo andmise vajadusega, nt säilimisaeg pakendi avamisel. Samuti eeldab see vastavate kestvuskatsete läbiviimist.

Pärast kestvuskatsete tulemuste selgumist vii läbi analüüsitulemuste põhjalik analüüs.

Juhul, kui tulemuste analüüsimisest lähtuv info on piisav ning ootuspärane, siis **kehtesta säilimisajad ning alusta toote turustamisega.**

Juhul, kui kestvuskatsete tulemused ei ole ootuspärased, nt ei ole toidukäitleja rahul säilimisaja pikkusega, siis tuleb muuta toote koostist (retseptuuri) ja/või tehnoloogiliste etappide parameetreid (nt teostada kuumtöötlemine kõrgematel temperatuuridel, alandada pH-d, muuta toidus kasutatavate lisaainete kontsentratsioone) ning teostada seejärel uued kestvuskatsed.

Kestvuskatsete tulemuste alusel määra toote säilimisaeg.

Mõttele puhveraja jätmise võimalusele, sest kestvuskatsed teostatakse enamasti ideaaltingimustes, kus külmaahela rikkumised on välistatud. Igapäevased turustamistingimused ei pruugi külmaketi katkematus tagada ning isegi lühiajalised külmaketi katkestamised mõjutavad toidu säilimisega, reeglina selle lühenemise suunas. Kui toidukäitleja poolt esitatud toiduohutuse ja/või -kvaliteedi kriteeriumid ületati laboratooriumis näiteks kümnenädal kestvuskatsepäeval, siis puhverajaga koos võiks säilimisaeg olla maksimaalselt üheksa päeva. Eeltoodu on vaid näide ning puhveraja nõuet otseselt seadusandlusest ei tulene.

Kui teed kestvuskatsetid mitme katseseeria ja tulemused on varieeruvad, siis tuleb leida erinevuste põhjused, teha vajalikud korrektsioonid ning teostada säilimisaja määramiseks uus katseseeria.

Tõenda kehtestatud säilimisajade nõuetekohasust pikema aja perioodi vältel.

Pea meeles, et tootmis- ja töötlemistingimuste, pakendamise ning toote koostise muutuste järgselt tuleb teostada uued kestvuskatsed.

Tõsiselt tuleb suhtuda enne säilimisaja lõppu esinevate tooteprobleemidega seonduvatesse tarbijakaebustesse. Lisaks tüüp-probleemide identifitseerimisele võivad kaebused viidata säilimisaja ümberhindamise vajadusele.

Säilita oma ettevõttes igast tootepartiist mõned tooteproovid ettenähtud säilitamistingimustes, et tarbija(te) kaebuste korral tõestada toodete nõuetekohasust ja tõendada, kas antud probleem on tingitud toidu käitlemisest ettevõttes või mitte.

Registreeri ning säilita kõik andmed, mis seonduvad toidu säilimisaja määramisega, olgu selleks laboratoorsete analüüside vastused, tarbijate kaebused või probleemide lahendamise seonduv.

Säilimisaja määramisega seonduvatest dokumentidest peaks reeglina selguma:

- millise tootega on kestvuskatsed tehtud (toote iseloomustus, pakend, netokaal, koostis, jms.)?
- millistele allikatele tuginedes on kestvuskatsed tehtud?
- milliste mikrobioloogiliste ja/või keemiliste näitajate suhtes analüüsid teostati?
- millised olid näitajatele kehtestatud kriteeriumid ning mis oli kriteeriumite valiku aluseks?
- millised analüüsimetoodikaid kasutati?
- milline laboratoorium teostas analüüsid?
- milline oli analüüside arv, kusjuures kui mitut partiid uuriti ning kui mitut (osa)proovi partii ulatuses uuriti?
- milline oli analüüside sagedus kestvuskatse jooksul ehk mis etapil analüüsid teostati (nt kestvuskatse alguses, keskel, lõpus või mõnel muul nende vahepealsel etapil)?
- millistel säilitamistemperatuuridel on kestvuskatse jooksul proove säilitatud ning mis on vastavate säilitamistemperatuuride aluseks?
- millisel aastaajal on kestvuskatsed teostatud (koos valiku põhjendusega)?
- millised olid analüüsitulemused (esitada katseprotokollide kujul)?
- millised on järeldused ja otsused tehtud kestvuskatsete kohta?
- milline on edasine tõendamissagedus (koos põhjendusega)?

Peatüki koostamisel kasutati mitmeid kirjandusallikaid, nt NFSA (2005), NZG (2014), Dominic Man (2015).

3.2. Säilimisaja määramine liittoitudele

Juhul, kui tegemist on toiduga, mis koosneb kahest või enamast erinevast toidust, nt jogurt marjakastmekihiga või pakendatud valmiseined, tuleb säilimisaja määramisel võtta arvesse iga toidu säilimisaega eraldi. Säilimisaeg ei tohiks ületada lühimat väärtust, ehk kui säilimisajaks on määratud jogurtil kaks nädalat ning moosil 6 nädalat, siis sellele toidule kehtestatud säilimisaeg peab olema kaks nädalat.

Näited:

- kui jogurti valmistamisel kasutatakse moosi, mille säilimisaeg on 6 nädalat, kuid ostmise ajal on sellest möödunud juba 5 nädalat, siis moosi säilimisaeg lõppeb juba nädala pärast, seega tuleb eeltoodud näidet arvestades jogurti säilimisajaks arvestada vaid 7 päeva;
- juustu pakenduskeskusesse saabub juust, millele tootja on kestvuskatsetega määranud säilimisajaks 4 kuud, kuid pakkekeskus on omapoolsete kestvuskatsetega nende poolt viilutatud ja pakendatud sama tootja juustudele säilimisajaks määranud 3 kuud, sest pikema säilimisaja järgi puudub pakendajal vajadus (juust tarbitakse ära kahe kuu jooksul). Kolm kuud viilutatud ja pakendatud juustu säilimisajana ei pruugi aga kehtida sellisel juhul, kui juustu valmistaja saadab pakkekeskusesse pakendamiseks eelnevalt juba 2 kuud valmistaja laos säilitatud juustupartii. Juustu viilutamine ning pakendamine võib mõjuda säilimisajale kas positiivselt või negatiivselt ning seda mõju saab hinnata vaid objektiivsete kestvuskatsetega, mille eeltingimuseks, antud näidet arvestades, on tegeliku säilimisaja välja selgitamine.

3.3. Kestvuskatsete teostamise meetodid

Kestvuskatsete tegemisel kasutatakse enamasti otseseid meetodeid ehk toidu säilimisaeg määratakse kestvuskatsete alusel.

3.3.1 Otsene meetod

Otseste meetoditega (nt tavapärased mikrobioloogilised uuringud) teostatavad toidu kestvuskatsed võimaldavad määrata mikroobide kasvu tavapärastes tingimustes toidus juhul, kui toitu säilitatakse kindlaksmääratud säilitamiskoostudeid järgides ehk ettenähtud säilitamistingimustes.

Mõningatel juhtudel võib tekkida vajadus kaudsete meetodite kasutamise järele, milleks on *challenge*-testid ja/või ennustus- ehk prognoosimudelid.

3.3.2 Challenge-test

Challenge-testi ehk "väljakutse"-testi kasutatakse teatud toitude/toodete ohutuse ja säilimisaja määramiseks, hinnates konkreetsele toidule spetsiifiliste ning tooraines võimalikult esinevate patogeeni kasvu ja/või nende poolt toksiinide tootmise võimekust. Katse käigus viiakse kindel kogus uuritavat patogeeni toitu ning etteantud temperatuuri ning aja vältel hinnatakse patogeeni kasvupotentsiaali (δ). Seega, *Challenge*-testiga on võimalik määrata, kas patogeeni (id) võivad konkreetsetes toidus eluvõimelistena püsida ja/või kasvada (paljunedada) ning kui kiiresti nad toidus paljunevad (kasvupotentsiaali määramine). *Challenge*-testi on võimalik kasutada ka kehtestatud säilimisaja valideerimise eesmärgil hindamiseks toiduohutust säilimisajal ning pärast säilimisaja ületamist. Toidu säilimisaja valideerimine (kasutuskohasuse tõendamine) on igasuguste tõendite hankimine ja nende dokumenteerimine, millega tõendatakse, et kehtestatud säilimisaja on tõene ja, et toit on kuni säilimisaja lõpuni ohutu ja/või kvaliteetne (FSAI, 2017).

Challenge-testi läbi viimisel tuleb arvestada, et:

- toit peab olema sama, mida müüakse tarbijale;
- toitu viidavate patogeeni arv peab olema kooskõlas uuringu eesmärgiga, nt kui valmistoit saastatakse vähesel hulgal mingi toidupatogeeni, siis kas vastav patogeeni on säilimisaja vältel võimeline kasvama toidus inimese tervisele ohtliku tasemeni? Seda infot saab arvesse võtta "kõlblik kuni" tähtpäeva määramisel;
- bakterite toitu külvamise meetod peaks peegeldama toidu saastumise tavapäraseid viise, nt viilutatud toodete puhul toidu saastumine viilutaja kaudu/vahendusel, ehk bakterid kantakse viilutatud toote pinnale;
- tahtlikult laboratooriumi tingimustes kontamineeritud toit tuleb seejärel pakendada ning pakend sulgeda jälgendades toidu tavapärasest pakendamist ja jaekaubandusmüügi viisi;
- säilitamistemperatuurid peavad matkima toote tavapäraseid säilitamistingimusi, kuid soovitatav oleks paralleelselt säilitada mõned proovid ka temperatuuridel, mis jälgendavad tarbija võimalikke temperatuurirežiimide rikkumisi;
- toitude puhul, milledes võivad kasvada olulisel määral rikkumist põhjustavad mikroorganismid, võiks määrata ka nende arvukuse katseseeria jooksul, kuna toiduainete rikkumist põhjustavate mikroorganismide kasv võib oluliselt mõjutada patogeeni kasvu toidus;
- kõik *challenge*-testi teostamise detailid tuleb dokumenteerida.

Märkus: *challenge*-teste on suutelised läbi viima vaid vastavat kompetentsi omavad laboratooriumid, nt Veterinaar- ja Toidulaboratoorium.

Võrreldes *challenge*-testidega on tavapärased kestvuskatsed toidu ohutuse ning rikkumise iseloomustamiseks realistlikumad.

3.3.3 Matemaatiline prognoosmudel

Matemaatiliste prognoosmudelite koostamise aluseks on laboratoorsete mikrobioloogiliste analüüside teel saadud andmed ning arvutitarkvara, mis võimaldab graafiliselt kirjeldada mikroorganismide kasvu dünaamikat rakendades erinevaid seesmiste ja väliste tegurite kombinatsioone. Seega, on mudelite lähteandmeteks tavaliselt asjaomase toote füüsikalised ja keemilised näitajad: pH, vee aktiivsus, soolasisaldus, säilitusainete kontsentratsioon, säilitamistingimused jms. Teised lähteandmed on seotud uuritava mikroorganismi kasvutingimustega. Kuigi prognoosmudelid on viimasel ajal teinud läbi suure arenguhüppe, eeldab nende kasutamine mudelite tööpõhimõtete põhjalikku tundmist ning nende puudustega arvestamist, seetõttu on nende kasutamine mõneti komplitseeritud ning modelleerimise teel saadud tulemusi ei saa otseselt kasutusele võtta toidu säilimisaegade kehtestamisel. Pigem on tegemist kasuliku eelinfoga, mis annab teada, kuidas ühe või teise toote koostisosa ja/või tootmis- ning töötlemisparameetri muutmine võib mõjuda uuritavate mikroorganismide kasvule. Kasutusel on nii riknemist põhjustavate mikroorganismide kui ka patogeenidepõhised, nn "ennustava mikrobioloogia" mudelid. Mudelite valideerimine toimub reeglina konventsionaalsete mikrobioloogiliste analüüsidesega.

Antud hetkel saab prognoosmudeleid edukalt kasutada uute toodete välja töötamisel (või toodetavate toitude koostise muutmisel) toidu koostise mõju hindamiseks toidu ohutusele ja riknemisele. Samuti saab välja selgitada toidu koostise modifitseerimise mõju sihtmärkmikroorganismide kasvule, näiteks kuidas mõjutab soola- või suhkrusisalduse muutmine *L. monocytogenes*'e kasvupotentsiaali toidus ja/või toote prognoositavat säilimisaega.

Seega, ennustava mikrobioloogia mudelite kasutamine ei suuda veel asenda laboratoorseid analüüse ega kogenenud mikrobioloogide poolt antavaid hinnanguid. Olemasolevate prognoosmudelite peamisteks puudusteks on:

- olulise informatsiooni puudumine, nt riknemise valdkond ning riknemismäär;
- enamik mudelitest on välja töötatud laboratooriumi kontrollitud tingimustes, kasutades spetsiaalseid toitekeskkondi (laboratoorsed söötmeid), kuid komplekssetes toidumaatriksites (nt. liitoidud) need ennustused sageli ei toimi;
- erinevate mikroorganismide koostoimeid ei võeta arvesse;
- ei arvestata lag-faasi (mikroorganismide kohanemisfaasi), sest enamasti hinnatakse keskkonnategurite mõju spetsiifilise mikroorganismi maksimaalsele kasvumäärale. Lag-faasi ignoreerimine põhjustab aga säilimisaja alahindamist;
- enamik mudelitest on valideeritud kindlate temperatuuride järgi ning temperatuurirežiimide võimalikke kõikumisi ei ole valideerimisel arvestatud.

Prognoosmudelite väljatöötamine ning arendamine toimub aga pidevalt ning tulevik töötab olla helge. Suure tõenäosusega suudetakse välja töötada ka selliseid mudeleid, mis tulevikus suudavad konkureerida laboratoorsete ehk konventsionaalsete kestvuskatsete täpsusega. Viimane sõltub suuresti mudelite sisendparameetrite mitmekülsusest ja kvaliteedist.

3.4. Analüüside sagedus kestvuskatse jooksul

Kestvuskatse teostamise detailse plaani (partiide ja nende proovide arv, analüüside sagedus ja ajastus, uuritavad toiduohutuse ja/või kvaliteedi näitajad) koostab ning esitab analüüsilaborile toidukäitleja.

Säilimisaja määramiseks tuleb analüüsida mitut (vähemalt kolme) toidupartiid. Mitme partii uuringud on vajalikud partiide varieeruvuse kindlaks tegemiseks, sest toidu säilimisaega mõjutavad nii toidu koostisosade kvaliteet, tootmishügieen ning ka teised muutujad. Samuti on vajalik ühest partiist mitme (osa)proovi uurimine. Osaproovide arv peab minimaalselt olema kolm, kui seadusandluses pole kehtestatud teisti, nt nõuab mikrobioloogiliste kriteeriumide

määrus valmistoitutes *L. monocytogenes*'e tuvastamiseks ja/või arvukuse määramiseks vähemalt viie osaproovi analüüsimist (ELT, 2005).

Mõningaid mõõndusi uuritavate partiide ning osaproovide arvus võib teha olukorras, kus toitu toodetakse väikestes kogustes (nt väiketootmine) ning prognoositavad toidu säilimisajad ei ole pikad, kuid toiduohutus peab olema tagatud.

Analüüside sagedus kestvuskatse ajal sõltub toidu omadustest ning riknemise kiirusest. Kiirestirikneva toidu korral (lühike säilimisaeg) on mõttekas toitu analüüsida iga päev või harvadel juhtudel isegi teatud tundide järel. Kindlasti oleks mõttekas analüüsid teostada säilimisaja esimesel päeval (nn nullpäev) ja prognoositaval "kõlblik kuni" päeval.

Pika säilimisajaga toitude säilimisaegade määramisel oleneb see prognoositava säilimisaja pikkusest, kuid enamasti 1—2 korda nädalas, kusjuures soovitatavalt toidu säilimisaja alguses (nullpäev) ning kindlasti prognoositaval viimasel säilimispäeval. Mõttekas oleks analüüside arvukust tõsta toidu oletusliku tarvitamise tähtpäeva lähenedes. Juhul, kui toit ei ole prognoositud viimasel säilimispäeval veel riknenud, tuleb kestvuskatset jätkata. Kestvuskatse lõpetamiseks piisab kehtestatud kriteeriumi(de) ületamisest. Need reeglid tuleb analüüse teostava laboratooriumiga kestvuskatsete teostamisele eelnevalt kokku leppida.

3.5. Uuritavad partiid ning proovide arv

Kui toidule või selle grupele on kehtestatud nõuded õigusaktis, tuleb neist kindlasti juhinduda. Enamasti võetakse proovide arvu määramisel arvesse õigusaktides kehtestatud nõudeid, ettevõtte varasemaid kogemusi sarnaste toodete säilimisaegade määramisel ning statistilise miinimumi nõuet.

Mikroorganismid jaotuvad toidus ebaühtlaselt ning üksikproovi analüüsimine ei peegelda toidu tegelikku ohutust ning kvaliteeti. Eeltoodu kehtib lisaks mikrobioloogilistele näitajatele ka toidu sensorsete ja keemiliste näitajate korral.

Kestvuskatseid võiks teostada erinevatel aastaegadel. Üksnes külmal perioodil (talvel), kui külmaketi rikkumisi võib vähem esineda, teostatud kestvuskatsed võivad põhjustada liiga optimistlike säilimisaegade kehtestamist; üksnes soojal aastaajal teostatud kestvuskatsete põhjal võidakse kehtestada põhjendamatu lühikesed säilimisajad. Kui erinevatel aastaegadel teostatavad uuringud ei ole analüüside mahukuse tõttu ratsionaalsed, siis teostatakse kestvuskatsed kõige kriitilisemal aastaajal ehk reeglina aastaajal, mil külmaketi ja/või muid nõuete rikkumisi tuleb kõige sagedamini ette.

Mõne toiduainetööstuse jaoks on probleemiks tootearendusega seonduvad ajapiirangud, eriti stabiilsete ehk pika säilimisajaga (nt pikem kui 12 kuud) toitude puhul, sest ajaperiood säilimisaja määramise analüüside teostamiseks võib olla väga pikk. Näiteks on paljude kuumsteriliseeritud konservide säilimisajaks kuni kaks aastat. Viimase eeltingimuseks on aga see, et termilise töötlemise käigus tuleb hävitada kõik patogeensed ning enam kui 99% kõikidest mikroorganismidest. Sellises olukorras, kus tegemist on prognoositavalt pika säilimisajaga toodetega, millele soovitakse määrata objektiivset säilimisaega, võib mõelda "kiirendatud" uuringute (inglise keeles *accelerated tests*) läbiviimisest, kus toidukäitleja laseb kestvuskatsed teostada kõrgendatud säilitamistemperatuuridel, nt tavapärase toatemperatuuri (+20 °C) asemel märkimisväärselt kõrgemate (nt +50 °C) temperatuuride juures. See kiirendab oluliselt riknemisprotsessi kulgu ning võimaldab tootjal suhteliselt mõistliku aja jooksul saada olulist informatsiooni toidus toimuvatest riknemisprotsessidest, mida omakorda saab arvestada säilimisaegade kehtestamisel. Sellegipoolest on eeltoodu mõttekas vaid juhtudel, kus toidu riknemismuster (riknemist põhjustavate mikroorganismide kooslus) üksnes kõrgendatud temperatuuridest tingituna oluliselt ei muutu. Antud näide puudutab vaid mõningaid tootjaid

ning on õigustatud vaid juhtudel, kus eri(temperatuuri)tingimustes teostatud kestva katsete tulemusi osatakse säilimisaja määratlemisel objektiivselt kasutada.

4. Toidu riknemine ja säilimisega mõjutavad tegurid

Toidu riknemine on reeglina tingitud või mõjutatud:

- 1) toorainetest (kvaliteet, säilitamistingimused);
- 2) toidu valmistamisest/töötlemisviisist (kasutatavad koostisosad ning nende koostmõju mõjutab otseselt mikroorganismide liigilist kooslust ning nende arvukust, see omakorda säilimisega);
- 3) toidu veeaktiivsusest ehk toidus olevast vabast vee kogusest, mida mikroorganismid saavad kasutada (veeaktiivsust saab vähendada suhkrute ja soolade ning teiste ainete lisamisega toidule);
- 4) pH-st ehk toidu happelisuse ja aluselise määra – mõjutab otseselt seda, millised mikroorganismide liigid on võimelised eluvõimelisena püsima ja/või paljunema toidus, nt värske kala säilimisega on lühikene, kuid äädikamarinaadis kala säilib märkimisväärselt kauem;
- 5) hapniku olemasolust või puudumisest nt vaakumisse pakendamine (VP) või gaasikeskkonda pakendamine (MAP, *modified atmosphere packaging*). VP ja MAP võib oluliselt pikendada teatud toitude säilimisega;
- 6) toidu lisaainetest, pakendamisest ning toidu säilitamistingimustest, st temperatuur, aeg, õhuniiskus jne

Toidu riknemist saab selgitada ühe või rohkema järgnevalt nimetatud mehhanismi kaudu (Man, 2004):

- niiskuse ja/või veeauru ülekannet, mis põhjustab niiskuse sisalduse suurenemist või vähenemist toidus;
- hapniku, lõhnade ja maitsete ülekannet toidule;
- valgusest (päevavalgus või tehisvalgus) tingitud muutused;
- keemilised ja/või biokeemilised muutused;
- mikrobioloogilised muutused;
- teised mehhanismid või muutused, mis põhjustavad toidu kvaliteedi halvenemist kas ühe või mitme eelmainitud teguri tõttu, nt kahjuritest tingitud pakendikahjustused;
- temperatuurist, mis on kõige olulisem keskkonnategur ning mõjutab kõiki eelmainitud mehhanisme.

Mikroorganismide paljunemine toiduainetes sõltub temperatuurist, ajast, niiskusest, keskkonna pH-st, hapniku juurdepääsust toidule, toidu keemilisest koostisest, mikroorganismide arvukusest tooraines ja paljudest teistest teguritest, millest kõige olulisemad klassifitseeritakse kahte kategooriasse: seesmised ja välised (Hajmeer ja Cliver, 2002). Selleks, et vältida või maksimaalselt vähendada toidus patogeensete ja/või riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu, tuleb toidu seesmiseid ja väliseid tegureid ning nende toimet mikroorganismidele hästi tunda.

Seesmised tegurid on toidule iseloomulikud omadused nagu pH, niiskuse sisaldus, toitaineline koostis, mikrofloora, mikroobide kasvu pidurdavad toidu koostisosad, bioloogiline struktuur ja redokspotentsiaal (oksüdatsiooni vähendamispotentsiaal).

Välised tegurid on pigem tootmiskeskkonnast tulenevad omadused ja tegurid, mis mõjutavad mikroorganismide kasvu. Erinevalt seesmistest teguritest saab väliseid tegureid kergesti muuta.

Väliseks teguriteks on nt temperatuur (tootmisprotsessis, ladustamisel, transpordil ja müügiprotsessis) ja suhteline niiskus (FSAI, 2017). Mikroobide kasv sõltub nii füüsilistest (temperatuur, kiirgus, pH, gaasiline keskkond, veetustumine, osmootne rõhk) kui ka keemilistest mõjuteguritest (mikroobide toitumisvõimalused, toidus kasutatavad lisaained jms.). Mikroobide vastupidavus mitmesugustele füüsilistele teguritele on erinev. Nii on igale mikroobiliigile iseloomulikud vaid temale omased optimaalsed kasvutingimused. Samal ajal tuleb arvestada mikroobide suurt kohanemisvõimet erisuguste tingimustega, mis raskendab omakorda kontrolli nende kasvu üle.

Tabelis 1 tutvustatakse lähemalt keskkonnategureid, mis mõjutavad mikroobide kasvu toidus kõige enam (Hajmeer ja Cliver, 2002).

Tabel 1. Toidu seesmistest ja välistest teguritest* näiteid (Jay jt., 2005)

Seesmistest	Välised
pH	Temperatuur (töötlemisel, säilitamisel, transportimisel ja müümisel)*
Vee aktiivsus (a_w)**	Pakendamine**
Redokspotentsiaal (E_h)	Gaasiline koostis
Loomulikud looduslikud barjäärid	Suhteline niiskus
Toitaineline koostis	Toidu töötlemisviis
Antimikroobsed ühendid	Head tootmis- ja hügieenitavad
Mikrofloora	Ladustamine ning levitamine
Koostisosade mikrobioloogiline kvaliteet	Tarbimisviis
Toidu koostis	HACCP menetlused
Toidu koostis ja struktuur	Varasemad tootekohased andmed

*toidus mikroorganismide kasvu mõjutavad tegurid

**enamike toidu tootjate jaoks on kõige olulisemateks toidus mikroorganismide kasvu mõjutavateks teguriteks pH, vee aktiivsus, säilitamistemperatuur ja toidu pakendamisviis

4.1. Temperatuur

Temperatuuril on mikroorganismide elutegevuses väga suur tähtsus. Enamik baktereid ja seeni kasvavad hästi toatemperatuuril (+20 °C). Temperatuuril alla +8 °C ja üle +65 °C (Hajmeer ja Cliver, 2002) enamike mikroorganismide paljunemine küll katkeb, kuid nad ei hävi täielikult. Temperatuuri vajaduse ja taluvuse järgi jaotatakse mikroorganismid nelja kategooriasse: termofiilid, mesofiilid, psührofiilid ja psührotroofid. Termofiilid vajavad kasvuks kõrgeid temperatuure, mesofiilid kasvavad hästi inimese kehatemperatuurile sarnasel temperatuuril. Psührofiilid vajavad kasvuks madalaid temperatuure ning sarnaselt psührofiilidele kasvavad ka psührotroofid külmkapi temperatuuridel, kuid aeglasemini võrreldes nende optimaalse kasvutemperatuuriga.

Järgnevalt on esitatud mikroorganismide klassifitseerimine vastavalt nende kasvutemperatuuridele.

Tabel 2. Mikroorganismide grupeerimine vastavalt kasvutemperatuuridele

Kategooria	Temperatuurivahemik (°C)	Optimum temperatuur (°C)	Näiteid mikroobidest
Termofiilid	50-75	65	<i>Bacillus</i> spp., <i>Clostridium</i> spp.
Mesofiilid	10-45	37	<i>Escherichia coli</i> , pärmid
Psührofiilid	0-15	8	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus</i> spp.
Psührotroofid	0-35	21	<i>Listeria</i> spp., <i>Yersinia</i> spp., <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> , pärmid

Ennetamiseks enamike toidupatogeenide kasvu ning toidu riknemise vältimiseks tuleb toitu säilitada nn "ohutsoonist" (temperatuurid +4 °C kuni +60 °C) väljaspool (Hajmeer ja Cliver, 2002). Ohutsooni on erinevad kirjanduse allikad käsitlenud erinevalt, kuid põhimõte on selles, et ohutsooni jääv temperatuurivahemik võimaldab mikroorganismide kasvu. Enamik patogeene kuulub mesofiilide ja psührotroofide kategooriasse. Suhteliselt madalatel temperatuuridel on võimelised kasvama nt *Salmonella typhimurium* (+6,2 °C), *Staphylococcus aureus* (+6,7 °C), *Bacillus* spp. (+7,0 °C), *Vibrio parahaemolyticus* (+5,0 °C) ning mitmed toiduainete riknemist põhjustava mikrofloora esindajad (Jay, 2000b). Eeltoodust tingituna on esitatud ka väga konservatiivne ohutsooni temperatuurivahemik +4 °C kuni +60 °C (Hajmeer ja Cliver, 2002). Siiski, enamike bakteriaalsete mikroorganismide kasv on võimalik vaid temperatuuridel +8 °C kuni +60 °C.

Psührofiilsed ja psührotroofsed mikroorganismid põhjustavad madalatel temperatuuridel säilitatavate toiduainete riknemist. Psührotroofsetest mikroorganismid, mida sagedamini toidust leitakse, kuuluvad enamik perekondadesse *Pseudomonas* ja *Enterococcus*. Nad kasvavad hästi külmkapi temperatuuridel ning põhjustavad liha, kala, munade ning teiste madalatel temperatuuridel säilitatavate toitade riknemist. Madalatel temperatuuridele kasvavad hästi ka mõned hallitusseened nagu *Aspergillus*, *Cladosporium* ja *Thamnidium*, mis võivad kasvada nii munades, lihas kui ka puuviljades.

Mõnede mikroorganismide elutegevuseks sobilik temperatuur jääb vahemikku +50 °C kuni +75 °C. Selliseid mikroobe nimetatakse soojalembesteks ehk termofiilseteks. Kõige olulisemad termofiilsed mikroorganismid kuuluvad perekondadesse *Bacillus* ja *Clostridium*. Kuigi vaid vähesed antud perekondadesse kuuluvad bakteritüved on termofiilid, omavad nad siiski väga olulist tähtsust konservtoidu tootjatele, sest termofiilsed bakteriliigid võivad põhjustada konservtoodete riknemist (Jay, 2000a). On ka mikroorganisme, kes on võimelised kasvama nii vahemikus 0 °C kuni +30 °C või isegi sellest väljaspool, nt *Enterococcus faecalis*.

Teatud bakterite liigid moodustavad spore ehk püsirakke, mis on kõrgetele temperatuuridele väga vastupidavad. Näiteks võib tuua *Clostridium botulinum*'i spoorid, mis hävinevad temperatuuril +120 °C 10 kuni 20 minuti jooksul.

Mikroorganismide hävitamisel on oluline eelkõige temperatuuri ja aja kombinatsioon. Näiteks *Escherichia coli* hävib temperatuuril +65 °C ühe minuti jooksul, temperatuuril +75 °C aga juba kahe kuni kolme sekundiga. Temperatuuri füsioloogiline toime mikroobide kasvule on suurel määral seotud temperatuuri otsese mõjuga mikroobi ensümaatilise aparati aktiivsusele. Madalatel temperatuuridel ensümaatiline aktiivsus väheneb ja sellega kaasneb mikroobide kasvukiiruse langus. Madalatel temperatuuridel muutuvad aga sellise struktuuriga membraanid vahajaks ja kaotavad ainete läbilaskefunktsiooni, mistõttu ei ole rakkude paljunemine võimalik. Selle vältimiseks on neis tingimustes kasvavatel bakteritel membraanides suurem eelkõige küllastumata rasvhapete hulk. Membraansete erinevuste tõttu on prokarüooidid (eeltuumsed

rakud) võimelised kasvama palju kõrgematel temperatuuridel kui eukarüiidid (organismid, kelle rakud on päristuumset tüüpi).

Temperatuuri, millel mikroobirakkude kasvukiirus on suurim, nimetatakse optimaalseks (vt tabel 3). Mikroobid saavad kasvada maksimum- ja miinimumtemperatuuri vahelises piirkonnas. Siinjuures oleks otstarbekas rõhutada, et ka külmalembeste mikroobide kasvu madalamaks temperatuuripiiriks on vee külmumistemperatuur, s.o puhtal veel 0 °C ja mereveel -2,5 °C. Kuigi madal temperatuur takistab mikroobide kasvu, ei pruugi see mikroobidele surmavalt toimida. Seda on võimalik kasutada mikroobitüvede külmsäilitamisel. Nimelt lisatakse laboratooriumides mikroobide kasvukeskkonda vee külmumistemperatuuri alandavaid reaktiive, nagu glütserool (lõppkontsentratsioon mitte alla 10%). Viimased takistavad rakus suurte jääkristallide moodustumist ja lubavad mikroobikultuure säilitada väga madalatel temperatuuridel (-80 °C või alla selle). Säilitamise temperatuuri mõju säilimisaja pikkusele illustreerib modelleerimise teel saadud tulemus, kus olid loodud tingimused külmalembese *Yersinia enterocolitica* kasvamiseks. Kui kalandustoote säilimisajaks jääs (0 °C) leiti 14 päeva, siis +2 °C juures oli säilimisaeg 10 päeva, +4 °C juures oli säilimisaeg 7 päeva ning +6 °C juures vaid 5 päeva (EFSA, 2015). Kuna tegemist on modelleerimise teel saadud tulemusega, siis ei ole seda võimalik üldistada kõikidele kalatoodetele.

Osa mikroobe on aga võimelised taluma kõrgeid temperatuure. Neid nimetatakse termoresistentseteks ja siia kuuluvad üldjuhul spoores moodustavad liigid.

Patogeenide kasvu vältimiseks tuleb tagada toidu säilitamine temperatuuril +6 °C või alla selle või temperatuuril üle +63 °C. Enamik toidumürgistust põhjustavatest bakteritest on mesofiilid ning paljunevad seetõttu toatemperatuuridel säilitavas toidus, küll aga ei kasva nad külmkapi temperatuuridel säilitatavas toidus (+2 °C kuni +6 °C). Sügavkülmutatud toidus (-18 °C või madalamad temperatuurid) mikroorganismid ei paljune, ehkki võivad säilitada eluvõime ja hakata toidu sulatamisel paljunema. Toidupatogeenidest, kes on võimelised madalatel temperatuuridel kasvama on tuntumad *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* ja *Bacillus cereus*’e teatud tüved.

Osa baktereid (nt *Bacillus* spp. piimas ja piimatoodetes) on võimelised tekitama spoores, mis kaitsevad neid ebasoodsate keskkonnatingimuste eest nagu kõrge temperatuur, kuivamine ja desinfitseerimine. Spoorid on puhkeseisundis ning nad ei paljune. Kui uuesti tekivad soodsad kasvutingimused, tekib spoorist vegetatiivne rakk, mis seejärel hakkab soodsates tingimustes kasvama ja paljunema. Kui viimasel juhul on tegemist nt *Clostridium perfringens*’ga, siis lisandub bakterite arvukuse tõusule toidus ka toksiinide tootmine, mis põhjustab toidu saastumise ning toksiinidega saastunud toidu tarbijate haigestumise.

Toidu säilitamistemperatuuri valikul tuleb mõningatel juhtudel arvestada ka toidu kvaliteediga. Kuigi enamasti soovitakse toitu säilitada külmkapi temperatuuridel, siis mõningate toitade puhul seda siiski teha ei tasu, nt banaanide säilitamiseks sobib paremini +13 °C kuni +17 °C ning enamike töötlemata aedviljade säilitamiseks on parim +10 °C. Kuigi temperatuur on toiduainete säilitamisel kõige olulisem parameeter, tuleb oluliseks pidada ka suhtelist õhuniiskust ning gaaside olemasolu või puudumist, nt CO₂ ja O₃.

Tabel 3. Patogeenide kasvu mõjutavad tegurid*

Bakter	Minimaalne kasvutemperatuur, °C	Optimaalne kasvutemperatuur, °C	pH vahemik kasvuks	Minimaalne veeaktiivsus kasvuks
<i>Salmonella</i> ssp	5	35-43	4,5-9,0	0,94
VTEC	6-7	35-42	4,4-10	0,95
<i>L. monocytogenes</i>	-1	30-47	4,4-9,4	0,92
<i>Y. enterocolitica</i>	-2	28-29	4,2-10	0,96

*EFSA 2014

4.2. Hapnikutarve

Üks mikroobide kasvu oluliselt mõjutav keskkonnategur on hapnik. Molekulaarne hapnik on hädavajalik ühtede mikroobide elutegevuseks, kuid toimib mürgise gaasina teistele mikroobidele. Hapnik on toksiline neile mikroobidele, kes ei suuda elimineerida hapnikust moodustuvaid toksilisi hapnikuvorme. Toksiliste hapnikuvormide neutraliseerimiseks funktsioneerivad mikroobirakkudes mitmesugused ensüümid, nt katalaas, peroksidaas jt.

Vastavalt sellele, kuidas bakterid reageerivad hapnikule, jaotatakse mikroobid rühmadesse:

- aeroobid – mikroorganismid, kes vajavad elutegevuseks hapnikku;
- fakultatiivsed anaeroobid – siia kuuluvad mikroorganismid kasvavad ka hapniku puudusel, lülitades ümber kas käärimisele või anaeroobsele hingamisele. Parim kasv on siiski aeroobsetes tingimustes;
- anaeroobid – kasvavad ainult hapnikuvabas keskkonnas;
- aerotolerantsed anaeroobid – kasvavad eelistatult anaeroobsetes tingimustes ja hapnik ei avalda neile pärssivat toimet;
- mikroaerofiilid – on aeroobid, kuid kasvavad madalamatel hapnikukontsentratsioonidel (2–10%), kui see on õhus (20%).

Eeltooduga saab arvestada toidu säilimisaegade planeerimisel. Toidu säilimisaja planeerimisel, kus eesmärgiks on võimalikult pikad toidu säilimisajad, on vajalik, et tootjad oleksid teadlikud nende toodete riknemist põhjustavatest mikroobide liikidest. Teades konkreetsete toodete mikrobioloogilist tausta, on võimalik toitu pakendada viisil, mis pärsib mikroorganismide kasvu. Kui toidus domineerivad anaeroobid, siis oleks mõttekas kasutada aeroobset pakendamiskeskonda. Kui toidus domineerivad aeroobid, siis oleks mõttekas toit pakendada hapnikuvabasse keskkonda, nt vaakumpakendisse. Toidus esinevate fakultatiivsete anaeroobide kasvu pidurdamiseks on mõttekas kasutada gaasikeskkonda pakendamist, mis võib pikendada toidu säilivust mõne päeva kuni mitme nädala võrra.

4.3. pH

pH-l on logaritmiline skaala, mis tähendab, et selle muutumine ühe ühiku võrra tähendab kümme korda happelisemat või vähem happelisemat keskkonda ehk pH 6 on kümme korda happelisem kui pH 7. Tuleb teada, et pH 7 on neutraalne, pH vähem kui 7 on happeline ning pH suurem kui 7 on leeliseline keskkond. Mikroorganismide arenemisele avaldab keskkonna reaktsioon suurt mõju. Tugevalt happelises keskkonnas (pH alla 4,0) on enamiku mikroorganismide areng praktiliselt võimatu. Happelist keskkonda taluvad aga piim- ja äädikhappebakterid ning pärm- ja hallitusseened. Enamik mikroobe kasvab hästi keskkonnas pH 5,5–8,0, kuid esineb ka ekstreemsetes tingimustes, s.o väga happelises (pH 1–5,5) ja väga aluselises (pH 8,5–11,5) keskkonnas kasvavaid mikroobe. Neid nimetatakse vastavalt neutrofiilideks, atsidofiilideks ja alkalifiilideks. Õnneks ekstreemsetes tingimustes kasvavad mikroorganismid põhjustavad toiduainete riknemist vaid harvadel juhtudel. Enamik baktereid on neutrofiilid, samal ajal kui mikroseedid eelistavad kergelt happelisi tingimusi (pH 4–6). Optimaalne kasvu pH kajastab rakke ümbritseva keskkonna pH-d. Kuigi üldjuhul kasvavad mikroobid küllalt suurel pH vahemikus (pH 1,5 kuni pH 11,0), on nende kasv erinevatel pH väärtustel küllaltki erinev. Bakterid kasvavad vahemikus pH 4,4 kuni pH 9,0. Pärmid ja hallitused kasvavad paremini happelises keskkonnas (pH vahemikus 1,5 kuni 8,5 pärmidel ning pH 1,5 kuni pH 11,0 hallitustel, Hajmeer ja Cliver, 2002). Viimasest tingituna võib järeldada, et pärmid ja hallitused põhjustavad tugevalt happeliste toitade (nt tomatid ja tsitrusviljad) riknemise ning bakterid eelkõige neutraalsele pH-le lähedaste toitade (nt liha ja köögiviljad) riknemise. Väga oluliseks pH väärtuseks toidu ohutuse seisukohalt on pH 4,5, millest

madalamate pH-de juures ei ole *Clostridium botulinum* enam võimeline kasvama (Hajmeer ja Cliver, 2002).

Järsud pH kõikumised mõjuvad mikroobidele surmavalt, lõhkudes ära plasmamembraanid või pärssides raku ensümaatilisi reaktsioone. Bakter sureb, kui rakusisene pH langeb alla pH 5. Vaatamata sellele, et pH keskkond kõigub suurtes piirides, on rakusisene pH üsna stabiilne ja lähedane neutraalsele. Selle eest vastutab tsütoplasma membraan, mis on suhteliselt läbimatu prootonitele ja nende ülejääk paisatakse rakust välja. Mikroobid peavad tihti kohanema väliskeskkonna muutustega. Nad muudavad ka ise oma ainevahetus produktidega keskkonna pH-d. Kuna enamik toiduainetest on nõrgalt happelised või neutraalsed ($\text{pH} \leq 7$), on mikroorganismide areng neis suhteliselt soodne. Toiduainete marineerimine ja hapendamine pidurdab enamiku mikroorganismide (eriti bakterite) kasvu. Tugevaim konserveeriv toime on äädik- ja piimhappel.

Tabelis 4 on esitatud mõnede mikroorganismide pH miinimumid ja maksimumid juhul, kui teised kasvutingimused on optimaalsed (Jay, 2000a; Roasto jt., 2011).

Tabel 4. Mõnede mikroorganismide kasvu pH miinimumid ja maksimumid

Mikroorganism	pH miinimum	pH maksimum
<i>Pseudomonas</i> spp.	5,6	8,0
<i>Clostridium perfringens</i>	5,5	8,5
<i>Bacillus cereus</i>	5,0	8,8
<i>Vibrio cholerae</i>	5,0	9,6
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp E	5,0	9,0
<i>Shigella sonnei</i>	4,9	9,3
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	4,9	9,0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	11,0
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	9,0
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp A ja B	4,5	9,0
<i>Escherichia coli</i>	4,4	9,0
<i>Proteus vulgaris</i>	4,4	9,2
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,4	9,4
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4,2	9,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	10,0
<i>Salmonella</i>	3,8	9,5
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,4	7,2
<i>Saccharomyces</i> spp.	2,1	9,0
<i>Aspergillus flavus</i>	2,0	11,0

Tabelis 5 on toodud mõnede toitude pH väärtused, mida saab seostada eelnevas tabelis esitatud mikroorganismide kasvu miinimum ja maksimum pH-ga (Jay, 2000a; Roasto jt., 2011).

Tabel 5. Toitude ligikaudsed pH väärtused

Aed- ja juurvili	pH
Aeduba	6,0-5,0
Spargel	5,8-5,4
Brokoli	6,0-5,2
Kapsas	5,4-5,2
Porgand	5,8-5,2
Hernes	6,5-5,8
Kartul	6,0-5,4
Kõrvits	5,5-4,8
Spinat	5,8-4,8
Konserveeritud köögivili	6,5-5,4
Tomat	4,5-4,0

Puuviljad, marjad	pH
Õun	3,9-3,1
Banaan	5,1-4,5
Mustikas	3,4-3,2
Kirss	4,0-3,2
Viinamari	4,0-3,0
Greip	3,4-2,9
Sidrun	2,6-2,2
Roheline sidrun	2,4-2,3
Sidruni mahl	2,2-2,0
Apelsin	4,0-3,3
Virsik	4,2-3,3
Maasikas	3,9-3,0
Muskumelon	6,5-6,2
Muud toidud	pH
Söögisooda	≥8,0
Puhas joogivesi	7,0-7,0
Värske muna	7,8-7,0
Munavalge	7,6-9,0
Krevetid	7,0-6,8
Merekarbid ning austrid	6,5-4,8
Piim	6,6-6,3
Või	6,4-6,1
Kanakints	6,7-6,4
Enamik kalaliikidest (värske kala)	6,8-6,6
Lõhe, tursk	6,5-6,1
Tuunikala	6,1-5,2
Maksavorst	6,4-5,9
Sealiha	6,2-5,6
Veiseliha	6,0-5,4
Veise hakkliha	6,2-5,1
Sink	6,1-5,9
Värske linnuliha	6,2-5,8
Salaami vorst	5,4-4,5
Leib	5,8-5,3
Sojakaste	4,8-4,6
Äädikas	2,5-2,0

4.3.1. Hapendamise

Hapendamiseks nimetatakse puu- ja köögiviljade töötlemise protsessi, mille käigus piimhappebakterite elutegevuse tulemusena tooraines sisalduv suhkur kääratakse piimhappeks, tänu millele toote pH langeb, mis omakorda hoiab toodet riknemise eest. Terminit „hapendamine“ kasutatakse põhiliselt kapsa puhul, sest kurkide ja tomatite puhul kasutatakse terminit „soolamine“. Kõik nimetatud toidud konserveeritakse piimhappelise kääramise teel. Peaaegu kõiki köögivilju saab piimhappebakterite toimel kääritada, kuna nad sisaldavad suhkruid ja on seega väga head substraadid piimhappebakterite kasvuks ja arenguks.

4.3.2. Marineerimine

Enamik mikroobe kasvab hästi keskkonnas pH 5,5 kuni pH 8,0 (neutrofiilid), kuid esineb ka nn ekstremiste, s.o väga happelises (pH 1,0 kuni pH 5,5) ja väga aluselises (pH 8,5 kuni pH 11,5) keskkonnas kasvavaid mikroobe. Enamik baktereid on neutrofiilid, samal ajal kui mikroseened eelistavad kergelt happelisi tingimusi (pH 4 kuni pH 6). Eelnevalt sai mainitud, et bakter sureb, kui rakusisene pH langeb alla 5. Marineerimise säilitav toime põhineb sellel, et enamik mikroorganisme, eriti roiskumist põhjustavad mikroobid, ei arene happelises keskkonnas. Laialdaselt kasutatavaks konserveerivaks ühendiks on äädikhape, mille sisaldus

erinevates marinaadides kõigub 0,6% kuni 1,2%-ni. Peale happe sisaldab marinaad soola, suhkrut, mitmesuguseid maitsetaimi ja vürtse. Marinaadi lisatav keedusool soodustab marineeritavate toiduainete säilimist ja selle mõjul püsib paremini ka toiduainete loomulik värvus. Suhkrut lisatakse äädika teravalt hapu maitse pehendamiseks. Vürtsid ja maitseained annavad marineeritavatele toiduainetele aroomi ja maitse, kuid oluline on ka mikroorganismide arengu pärssimine, mis on tingitud neis leiduvatest eeterlikest õlidest. Marineeritud toodete säilimise pikendamiseks tuleb happe konserveerivat toimet täiendada toodete pastöriseerimisega hermeetilises taaras.

4.4. Redokspotentsiaal

Redokspotentsiaal ehk oksüdatsioonipotentsiaal on keemilise elemendi või ühendi tendents liita elektrone ja seetõttu redutseeruda. Igal elemendil/ühendil on temale omane redokspotentsiaal, kusjuures mida positiivsem ehk suurem on elemendi/ühendi redokspotentsiaal, seda kõrgem on tema afiinsus elektronide suhtes ehk võime redutseeruda. Redokspotentsiaali mõõdetakse tavaliselt millivoltides. Redokspotentsiaali standardväärtuseks loetakse kokkuleppeliselt standardvesinikelektroodi väärtust, mis võrdsustatakse väärtusega 0,00 mV. Seetõttu mingi ühendi redokspotentsiaal on suhteline väärtus – võrdlus standardvesinikelektroodiga. Nagu eelnevalt mainitud, näitab toidu redokspotentsiaal (E_h), kas toidul on tendents omandada elektrone ehk saada redutseeritud, või loovutada elektrone ehk saada oksüdeeritud. Toidu redokspotentsiaal sõltub hapniku kontsentratsioonist keskkonnas ja selle toidule ligipääsemisest, näitks toidu tihedusest, sest see mõjutab otseselt hapniku läbimisvõimet. Toidu pH langusel ühe ühiku võrra tõuseb redokspotentsiaal +58 mV võrra.

Tabelis 6 ja 7 on esitatud mõnede mikroorganismide ning toitade redokspotentsiaali määrad (Roasto jt., 2011).

Tabel 6. Mikroorganismide redokspotentsiaal

Mikroorganism	Redokspotentsiaal, mV	Seos hapnikuga
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+500 kuni +100	obligatoorne aeroob
<i>Staphylococcus aureus</i>	+200 kuni -230	fakultatiivne anaeroob
<i>Proteus vulgaris</i>	+150 kuni -600	fakultatiivne anaeroob
<i>Clostridium paraputrificum</i>	-30 kuni -500	obligatoorne anaeroob
<i>Clostridium perfringens</i>	+216 kuni -230	aerotolerantne anaeroob

Tabel 7. Mõnede toitade redokspotentsiaal

Toit	Redokspotentsiaal, mV
Munad	+500
Greibimahl	+400
Puuviljamahlad	+300 kuni +400
Konserveeritud toidud	-130 kuni -550
Toorpiim	+200
Hakkliha	+200
Toores tükiliha (seest)	-200
Konserveeritud liha	-150

4.5. Vee aktiivsus

Et mikroorganismid võiksid omastada toitaineid, peab keskkond sisaldama teatud hulga niiskust. Mikroorganismid ammutavad vett ümbritsevast keskkonnast. Vee olemasolu ei tähenda veel seda, et mikroorganismid saavad seda vabalt kasutada. Vesi võib olla seotud veeslahustunud ühenditega, nagu soolad (NaCl, KCl), suhkrud, mitmealuselised alkoholid, happed ja alused, või on toimunud vee imendumine pindadesse. Toiduainetes olev vesi on osaliselt seotud toidu koostiscomponentidega, valgu, tärklise, soola, suhkruga jne. Seotud vett ei saa mikroobid kasutada, sest neile on kättesaadav vaid vaba vesi. Näiteks, kui suhkru

kontsentratsioon toidus on tõstetud teatud tasemeni, seotakse kogu toidus olev vesi suhkruga. See omakorda piirab vee vähesuse tõttu mikroorganismide kasvu ning vee aktiivsus väheneb. Mida madalam on vee aktiivsus, seda kauem toode säilib. Lahustuvate ainete lisamine vähendab vee kontsentratsiooni ja lahustuv aine muudab teatud määral vee struktuuri. Vee aktiivsus (a_w) on suhtarv, mis leitakse, jagades toidu kohal oleva veeauru osarõhu destilleeritud veeauru rõhuga samal temperatuuril. Destilleeritud vee aktiivsus a_w on 1,00 ja veemolekule üldse mittesisaldava toidu vee aktiivsus a_w on 0,00. Toidu vee aktiivsus ei ole samane nähtus toidu niiskusesisaldusega. Paljudel toitudel võib olla sarnane niiskusesisaldus, kuid täiesti erinev vee aktiivsus. Keskmise niiskusesisaldusega toodetes on vee aktiivsus 0,6 või alla selle. Toiduainete pikemaajaliseks säilitamiseks peaks vee aktiivsus olema vahemikus 0,65–0,75. Tabelis 8 ja 9 on esitatud mõnede mikroorganismide ja toitude vee aktiivsuse näitajad (Jay, 2000a; Scott jt., 2001).

Tabel 8. Mõnede mikroobirühmade ja toidupatogeenide kasvu minimaalsed vee aktiivsuse väärtused

Grupp	Minimaalne vee aktiivsus (a_w)
Enamik riknemist põhjustavatest bakteritest	0,90
Enamik riknemist põhjustavatest pärmidest	0,88
Enamik riknemist põhjustavatest hallitustest	0,80
Mikroorganismide liigid	
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,98
<i>Campylobacter coli</i>	
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp E	0,97
<i>Vibrio cholerae</i>	0,97
<i>Pseudomonas</i> spp.	0,97
<i>Shigella sonnei</i>	0,96
<i>Vibrio vulnificus</i>	0,96
<i>Escherichia coli</i>	0,95
<i>Bacillus subtilis</i>	0,95
<i>Salmonella</i>	0,94
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,94
<i>Clostridium botulinum</i> tüüp A ja B	0,94
<i>Bacillus cereus</i>	0,93
<i>Clostridium perfringens</i>	0,93
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Aspergillus flavus</i>	0,78
<i>Aspergillus candidus</i>	0,75
<i>Xeromyces bisporus</i>	0,61

Üldiselt kasvavad aeroobsed mikroorganismid madalama vee aktiivsuse juures paremini võrreldes anaeroobidega. Vee aktiivsuse langemisel katkeb kõigepealt bakterite areng, siis enamiku pärmseente ja alles seejärel hallitusseente areng.

Tabel 9. Mõnede toiduainete vee aktiivsuse väärtused

Toit	Vee aktiivsus (a_w)
Värske piim	$\geq 0,98$
Värske kala	0,99
Toores liha k.a linnuliha	0,98
Värsked aedviljad	$\geq 0,98$
Maksavorst	0,98–0,96
Toores peekon	0,96–0,82
Salaami tüüpi vorstid	0,94–0,72
Kõvad juustud	0,91–0,80
Riis, oad, herned	0,87–0,80

Marmelaad	0,80–0,75
Tugevalt soolatud kala	0,80–0,70
Kuivatatud liha	≥0,65
Kuivatatud puuviljad, moosid ning jahud	0,85–0,60
Šokolaad, mesi	0,61–0,42
Kuivatatud vürtsid	0,5–0,2
Munapulber, piimapulber	0,40–0,25
Sojakaste	0,70–0,80
Punase karri pasta	0,83
Kohvipulber, lahustuva kohvi pulber	≤0,20

4.6. Suitsutamine

Peamiselt kasutatakse suitsu selle konserveeriva toime tõttu. Suits sisaldab üle 200 ühendi, millest peamised on fenoolid jt aromaatsed ühendid, orgaanilised happed, orgaanilised alused, süsivesinikud, süsivesikud. Suitsutatud toodete parem säilimine on tingitud bakteritsiidse toimega komponentide sisaldusest ehk kõrge keemistemperatuuriga hapete ja fenoolide sisaldusest. Toote konserveerimise seisukohalt on tähtis ka selle kuivatamine, samuti keedusoola kontsentratsiooni suurendamine, toidu niiskusesisalduse vähenemine ning kuumsuitsutamisel ka kõrgete temperatuuride mõju. Bakterite ellujäämine sõltub suitsu temperatuurist ja tihedusest ning toote niiskusesisaldusest, kusjuures õhu niiskusesisaldusel on väike mõju. Hõreda suitsuga suitsutamine +30 °C juures ei avalda märgatavat mõju toote bakteriaalse saastatuse vähendamisele, kuid tiheda suitsuga suitsutamine madalal temperatuuril (+13 °C) vähendab bakterite arvukust tootes. Suitsutamisel +60 °C juures vähendavad nii hõre kui ka tihe suits bakterite üldarvu kuni 0,01%-ni (Soidla jt., 2004). Kõige tugevam bakterite vastane mõju on fenoolidel ja karboksüülhapetel, mis kahjustavad enamikku spoore mittemoodustavaid baktereid. Suitsu mõju suhtes on palju resistentsemad hallitusseened, eriti soodsa õhutemperatuuri ja niiskusesisalduse tingimustes. Suitsu bakteritsiidne mõju avaldub eelkõige toote välispinnal umbes 5 mm ulatuses, mis on enamasti piisav selleks, et ära hoida väliskeskkonnast pärit bakterite ja hallitusseentega saastumist. Pärsitud on eelkõige gram-negatiivsete bakterite, mikrokokkide, stafülokokkide ning pärm- ja hallitusseente areng. Vähetundlikud on bakterite spoorid, pediokokid, streptokokid, *Leuconostoc* spp. ja laktobatsillid.

Toidu suitsutamisel tuleb lisaks mikrobioloogilise ohu minimeerimisega silmas pidada ka võimalike kantserogeensete ühendite teket. Puidu mittetäieliku põlemise tagajärjel võib moodustuda sadu eri liike polütsüklilisi aromaatsed süsivesinikke (PAH), mis ladestuvad suitsutamise käigus suitsutatava toote pinnale. Kuna PAHd omavad inimorganismile kantserogeenset toimet, on väga oluline jälgida ja kontrollida suitsutamise seotud protsesse. Toidu ohutu tarbimise eesmärgil on toidus leiduvatele PAHdele kehtestatud piirnormid (ELT, 2006).

4.7. Lisaained

„Toidu lisaaine – aine, mida olenemata selle toiteväärtusest ei kasutata tavaliselt iseseisva toiduna või toidule iseloomuliku koostisainena ja mille tahtlik tehnoloogilisel eesmärgil lisamine toidule selle tootmisel, töötlemisel, valmistamisel, käitlemisel, pakendamisel, transpordil või ladustamisel viib või võib põhjendatud oletusel viia selleni, et lisaaine ise või tema kõrvalsaadused muutuvad otseselt või kaudselt selliste toitude koostisosaks“ (ET, 2008). Tänapäeva toiduainete tehnoloogia on enamasti mõeldamatu lisaaineteta, sest lisaainete kasutamine võimaldab pakkuda tarbijatele suuremat tootevalikut. Enamasti kasutatakse lisaaineid toiduomaduste parandamiseks, toiteväärtuse säilitamiseks, kuid ka toiduohutuse tagamiseks. Lisaainete kasutamise vajadus sõltub toidu tootmisviisist, kasutatavatest

koostisosadest, toidu väljanägemisest, pakendamisviisist, vajadusest kaitsta toitu kahjulike bakterite eest, nõutavast säilimisajast jms.

Lisaaaineid võib päritolust tulenevalt tinglikult jagada looduslikeks, loodusidentseteks ning sünteetilisteks (TAI, 2017).

Looduslikud lisaaained on toidust eraldatud ained, näiteks tardaine pektiin (E 440) puuviljadest, toiduvärvid peedipunane (E 162) peedist ja paprikaekstrakt (E 160c) paprikast.

Loodusidentsed ained on sünteesi teel saadud ained, millel leidub analoog ka looduses, näiteks antioksidant askorbiinhape (E 300) või säilitusained sorbiinhape (E 200) ja bensoehape (E 210). Looduslike ja loodusidentsete lisaaainete vahe seisneb selles, et looduslikud lisaaained eraldatakse looduslikust materjalist ning loodusidentsed lisaaained saadakse sünteesi teel.

Sünteesi teel saadud ained, millel looduses analoogi ei ole, näiteks asotoiduvärvid.

Lisaainetel on E number, mis tähendab, et lisaaaine on läbinud ohutuse hinnangud ning Euroopa Liidus heaks kiidetud. Toidu lisaaained kuuluvad toote koostisesse ja need tuleb esitada toidu pakendil oleval koostisosade loetelus. Lisaaaine nimi või E number tuleb esitada koos rühmanimetusega nt. säilitusaine sorbiinhape või säilitusaine E 200.

Vaatamata lisaaainete kasutamise rängele normeerimisele võib siiski esineda ka oht, et neid on toodetes lubatust suuremates kogustes nt valesti koostatud retseptidest tingituna. Lisaaainete ja ka muude ainete ohtudest rääkides on oluline aine kogus. Lisaaaineid lubatakse toitu lisada inimese tervisele ohutuks hinnatud kogustes. Selleks määratletakse loomkatsete tulemusena kõigepealt NOAEL kogus, mis on aine kontsentratsioon, mille korral ei ilmne täheldatavat kahjulikku toimet sihtorganismile. NOAEL-i kogusest tuletatakse inimese tervisele ohutu kogus ADI, mis on NOAEL-i kogusest vähemalt 100 korda madalam. Lisaaainetele määratud ADI väärtus näitab aine kogust, mida võib ööpäevas kogu eluea jooksul ohutult tarbida, arvestatuna kehakaalu kilogrammi kohta (TAI, 2017).

Toiduainetetööstuses kasutatavad tuntumad lisaaainete rühmad on:

- 1) säilitusained;
- 2) toiduvärvid;
- 3) sünteetilised magusained, emulgaatorid, stabilisaatorid ja paksendajad;
- 4) antioksidandid;
- 5) teised lisaaained (lõhna- ja maitsetugevdajad, happesuse regulaatorid, paakumisvastased ained, vahutamistvastased ained, mahuained, emulgeerivad soolad, tardained, vahustusained jne).

Säilitusained

Näitena võiks tuua säilitusained naatriumnitriti (E 250) ja naatriumnitraadi (E 251). Lihasaaduste kvaliteedi stabiilsus ja mikrobioloogiline ohutus tagatakse põhiliselt nitritsoola lisamisega, kuid nitriti bakteritsiidset toimet ei tohiks üle hinnata. Oluline on nitritsoolade kasutamine eelkõige sellistes lihatoodetes, milles *Clostridium botulinum* ei saa kuumtöötlemisega inaktiveeritud, nagu toorvorstid ja teised vähese kuumtöötlemisega lihatooted. Mõnedes lihatoodetes nitrit inaktiveeritakse sõltuvalt toote koostisest, näiteks suure rauasisaldusega toodetes tekib raua ja nitriti kompleks, mistõttu nitriti *C. botulinum*'i vastane toime verivorstides on väike. Mõnedel tingimustel võivad tekkida nitritite ja amiinide vaheliste reaktsioonide tulemusena kantserogeensed nitrosoamiinid. Juhul, kui lihasaadustele lisatakse valmistamise käigus fermentatsiooni esile kutsuvaid bakterikultuure, on nitrosoamiini sisaldus valmistootes reeglina väiksem.

Jookides sageli kasutatavad säilitusained on sorbiin- ja bensoehape ja nende soolad. Sorbiin- ja bensoehapet leidub looduslikult jõhvikates, pohlades ja pihlakamarjades. Oma heade antiseptiliste omaduste tõttu on üsna levinud säilitusained E 220 vääveldioksiid (SO_2) ja sulfitid (E 221 - E 228), mida kasutakse laialdaselt näiteks kuivatatud puuviljade säilitamiseks, aga ka

värskete lauaviinamarjade ja kooritud kartulite puhul. Mõned säilitusained võivad organismi ülitundlikkuse korral põhjustada tervisehäireid. Vääveldioksiid ja sulfitid on kantud allergiat põhjustada võivate ainete loetellu, seetõttu on nende ühendite märgistamine kohustuslik ka alkoholsete jookide, sh veinide puhul. Sulfitid ja vääveldioksiid takistavad hallitusseente, pärmide ja aeroobsete bakterite arengut, väiksem on nende mõju anaeroobsele mikrofloorale (Kiis jt., 2000).

4.8. Kontrollitud keskkond ja gaasikeskkonda (MAP) pakendamine

Kontrollitud keskkonnas säilitamisel (nt puuviljade säilitamisel) muudetakse keskkonna koostist säilitamise ajal. Liha ja lihasaaduste puhul kasutatakse sageli gaasikeskkonda pakendamist, kus pakendis olevat keskkonda säilimise jooksul ei muudeta. MAP gaaside segu koosneb tavaliselt tüüpilistest õhus sisalduvatest gaasidest: süsinikdioksiidist (CO_2), lämmastikust (N_2) ja hapnikust (O_2). Alternatiivina võib kasutada gaaside segus ka lämmastikoksiidi (NO), argooni (Ar) või vesinikku (H_2). Koostada tuleb gaaside segu, mis on toidule sobiv. MAP tehnoloogias kasutatakse kõige sagedamini süsinikdioksiidi, mida ei talu enamik aeroobsetest mikroobidest ja hallitusseentest. Lämmastikku kasutatakse peamiselt hapniku asendamiseks, et vältida oksüdeerumist. Hapnikutase peab olema võimalikult madal hoidmaks ära aeroobide arengut ja oksüdatsiooni esinemist. Samas aitab hapnik säilitada liha punast värvust ja on vajalik puu- ja köögiviljade "hingamise" kindlustamiseks.

Mikroorganismide kasvu toidus mõjutavad eelnevalt kirjeldatule lisaks veel mitmed teised tegurid. Olulist mikroobide kasvu pidurdavat toimet võivad avaldada toiduainetes esinevad looduslikud ja toitu lisatavad antibakteriaalsed ühendid, mikroorganismide koosmõju k.a. konkurentsi efekt, toiduainete külmutamine, kuumutamine ja kuivatamine, erinevate konservantide (sorbiin-, bensoe-, propioon-, väävlishape jt), eeterlike õlide ja taimsete antibiootikumide (nt fütontsiidide) kasutamine, mebraanfiltratsioon, kõrgsurvepressi meetod (HPP, *High Pressure Processing*) ja pulseeriv elektriväli ning mõned teised tehnoloogiad, mille rakendamine aitab muuta toitu mikrobioloogiliselt ohutuks ja/või pikendada toidu säilimisaega.

4.9. Füüsikaline/bioloogiline struktuur

Tegemist on toidule omase struktuuriga, mis säilitab toidu füüsilise terviklikkuse. Selliste struktuuride näiteks on pähkli-, muna- ning puu- ja juurviljade koored, looma nahk jne. Niikaua, kuni sellised looduslikud struktuurid on terviklikud, ei võimalda nad mikroorganismide poolset koloniseerimist ning pidurdavad seeläbi oluliselt toiduainete riknemist. Vigastatud koorega puu- ja juurviljad lähevad oluliselt kiiremini riknema kui terve koorega viljad. Munad, mille väline koor ja membraanid on terved, mis on hoitud õige temperatuuri ja niiskuse juures, välistavad praktiliselt igasuguse mikrofloora sisenemise. Kala ja liha kattev nahk välistab liha saastumise ning seeläbi pidurdab oluliselt ka liha riknemist. Eelnimetatud looduslikke struktuur-barjääre, mis välistavad või pidurdavad toiduainete riknemist, tuleks säilitada niikaua kui võimalik (Jay, 2000a).

Käesoleva peatüki kokkuvõttena on tabelis 10 esitatud toiduohutuse seisukohalt oluliste toidupatogeenide kasvu iseloomustavad omadused ning seonduvad toidud.

Tabel 10. Olulisemate toidupatogeenide kasvu iseloomustavad omadused (FSAI, 2017)

Patogeen	Temp (°C)	pH	Vee aktiivsus (a _w)	Sool (%)	Gaasiline keskkond	Enamasti seonduvad toidud
	KV* Min (Optimum) Max		KV Min	KV Max	KV	
<i>Salmonella</i> spp.	5 (35-43) 47	3,8 (7-7,5) 9,5	0,94	4	Fakultatiivne	Munad, lihad, pastöriseerimata piimatooted, idandid, puu- ja köögiviljad, šokolaad, väikelaste kuivsegud, maitsetaimed, vürtsid
<i>Clostridium botulinum</i> (proteolüütiline)	10 (35-40) 42	<4,6 (7) 8	>0,94	10	Anaeroobne	Konservtoided, vaakumisse ning MAP-i pakendatud tooted kus hapniku sisaldus on madal
<i>Clostridium botulinum</i> (mitte-proteolüütiline)	3 (28-30) 35	<5,0 (7) 8	>0,97	5	Anaeroobne	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 (40-45) 48	4 (7-8) 9,6	0,83	10	Fakultatiivne	Munad, linnuliha, lihad, piimatooted, kondiitritooted, salatid, võileivad jms.
<i>Campylobacter</i> spp.	32 (42-43) 45	4,9 (6,5-7,5) 9	>0,98	1,5	Mikroaerofiilne	Linnuliha, pastöriseerimata piim ja piimatooted
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1,3 (25-37) 42	4,2 (7,2) 9,6	0,94	7	Fakultatiivne	Värske liha (eriti sealih), pastöriseerimata piim ja piimatooted
<i>Listeria monocytogenes</i>	-1,5 (30-37) 45	4,2 (7) 9,5	0,90	12	Fakultatiivne	Jahutatud valmistoidud
<i>Clostridium perfringens</i>	10 (43-47) 50	5,5 (7,2) 9	0,93	6	Anaeroobne	Küpsetatud lihad, lihakastmed, supid
STEC ja VTEC (<i>E. coli</i>)	6,5 (30-40) 45	3,6 (6-7) 9	0,95	>6,5	Fakultatiivne	Liha k.a. linnuliha, pastöriseerimata piimatooted ning õunamahl, idandid, juurvilja salatid, puhastamata joogivesi
<i>Bacillus cereus</i>	4 (30-40) 55	4,3 (6-7) 9,3	0,93	7,5	Fakultatiivne	Kuumtöödeldud riis, maitseained, vastündinute vedeljoogid
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5 (37) 43	4,8 (7,8-8,6) 11	0,94	8	Fakultatiivne	Kala ja koorikloomad
<i>Cronobacter</i> spp.	5,5 (39,4) 45	3,89 (5-9) AP**	0,2	9,1	Fakultatiivne	Väikelaste kuivsegud, imikute toidud, jätkupiimasegud

*KV, kasvu võimaldav

**AP, andmed puuduvad

5. Jahutatud (valmis)toitude mikrobioloogilised ohud

Valmistoit on toit, mida tootja või valmistaja on kavandanud otsetarbimiseks ja mis ei vaja kuumtöötlemist või muul viisil töötlemist asjaomaste mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vähendamiseks vastuvõetava piirini (ELT, 2005). Jahutatud valmistoitudes võivad kasvada, isegi temperatuuril alla +5 °C külmatolerantsed ehk psührotroofsed toidupatogeensed nagu *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* ning *Yersinia enterocolitica*. Mainitud bakteriliikidest on spore võimelised moodustama *Bacillus cereus* ja *Clostridium botulinum*.

Kui kasvõi mõned neist bakteritest või nende spooridest elavad üle toidu kuumtöötlemise või lisanduvad toitu töötlemisjärgselt, nt pakendamisel, võivad nad toidu jahesäilitamisel kasvada inimese tervisele ohtlike määradeni või toota inimese tervisele ohtlikke toksine.

5.1. *Listeria monocytogenes* ohjemeetmed

Kuigi listerioosi haigusjuhtumite arv EL-is ei ole kõrge, on haigustekitaja üks ohtlikumaid, kuna surmaga lõppevate haigusjuhtude määr oli EL-is aastal 2015 koguni 17,7% (EFSA, 2016). Listerioos on eriti ohtlik riskirühmadesse kuuluvatele inimestele nagu väikelapsed, rasedad, vanurid ning immuunpuudulikkusega inimesed. Riskirühmadesse mittekuuluvad inimesed võivad haigestuda mitte-invasiivsesse listerioosi, mis põhjustab mao-sooletrakti põletikke, mille tagajärjed ei ole tavapäraselt eluohtlikud. Enamik listerioosi haiguspuhangutest on põhjustatud pika säilimisajaga (säilimisaeg üle kümne päeva) valmistoitude, eelkõige liha- ja kalatoodete tarbimisest, mis omakorda on seotud *L. monocytogenes*'e võimega kasvada madalatel temperatuuridel nii vaakumisse kui gaasikeskkonda pakendatud valmistoitudes (Stephan jt, 2015). *L. monocytogenes* on looduskeskkonnas laialdaselt esinev bakter, mistõttu võib ta toitu sattuda saastunud toorainetest ja/või saastunud pindade vahendusel, nt valmistoodete viilutamisel ja pakendamisel. *L. monocytogenes* vajab oma kasvuks niisket keskkonda ning on võimeline niisketil pindadel kergesti moodustama biokirmet (kaitsva kihiga ümbritsetud mikroorganismide kooslus). Eriti oluline on vältida toitude kuumtöötlemise järgset saastumist, mistõttu peavad toiduga kokku puutuvad pinnad olema patogeenvabad (NZG, 2014). Samas on *L. monocytogenes* tundlik enamike kuumtöötlemisel kasutatavate temperatuuri ja aja kombinatsioonide suhtes, nt pastöriseerimine hävitab selle haigustekitaja kergesti. Vältida tuleb saastunud tooraine kasutamist, nt niiske ilmaga korjatud liiga mullased köögiviljad võivad sisaldada arvukalt listeriaid.

Mõnikord on õigustatud toorainetele spetsifikatsioonide kehtestamine, mis nõuavad *L. monocytogenes*'e puudumist tooraines.

L. monocytogenes ei ole enamikel juhtudel võimeline kasvama kui pH on alla 4,4 ning vee aktiivsus alla 0,92. Samuti saab tema kasvu vältida kombineerides erinevate tõketega, nt pH 5,0 kombinatsioonis vee aktiivsusega <0,94.

L. monocytogenes võib kasvada nii õhu puudusel kui olemasolul, kuid mitte keskkonnas, kus süsinikdioksiidi tase on 100%.

L. monocytogenes ei talu konkureerivat mikrofloorat ehk ei talu piimhappebakterid ega teisi fermenteerivaid mikroorganisme, mistõttu fermenteeritud toitudes ei ole ta reeglina suuteline kasvama inimese tervisele ohtlike määradeni. Samuti ei kasva ta siis, kui toidus on rohkelt toidu riknemist põhjustavat mikrofloorat, nt pseudomonasid ja piimhappebakterid.

5.2. *Clostridium botulinum* i ohjemeetmed

Clostridium botulinum toodab termoresistentseid spore, mis võivad vastu pidada pastöriseerimise ning teistele toidu kuumtöötlemise temperatuuridele. Probleemiks on eelkõige

pika säilimisajaga toidud, kus haigustekitaja võib soodsatest kasvuteguritest ning temperatuurirežiimide rikkumisest tingituna kasvada (NZSA, 2005). Kuumtöötlemisele järgnev vaakumpakendamine või gaasikeskkonda pakendamine avaldab toksiini tootmisele väiksemat mõju. Peamised tegurid on säilitamise temperatuur ja aeg. Haigustekitaja võib toidus toota inimese tervisele väga ohtlikku toksiini. Juhul, kui toitu on sattunud *C. botulinum*'i spoorid ning toidu seesmised ja välised tegurid võimaldavad vegetatiivsete rakkude teket, siis muutub toit inimese tervisele potentsiaalselt ohtlikuks. *C. botulinum*'i spoorid võivad esineda toitudes, mida korjatakse maapinnalt või püütakse veekogudest, mis on spooridega saastunud ning võivad kasvukeskkonna saastumisest tingituna toitu sattuda. Kuna bakter esineb sageli mullas, siis seondub ta ka taimset päritolu toidu toormega. Haigustekitajat on sageli isoleeritud saastunud veekogudest püütud kaladelt ning teistelt mereandidelt (NZG, 2014). Üksnes spooridega toidu saastumine ei kujuta iseenesest probleemi, kuid kui tingimused võimaldavad *C. botulinum*'i kasvu ja toksiinide produtseerimist, siis on reeglina tagajärjeks toidust tingitud botulism. Botulism lõppeb väga sageli surmaga (~8% haigusjuhtumitest) ning 80% botulismi haigestunutest vajab intensiivravi.

Järgnevalt on esitatud mõned näited toitudest, mis on põhjustanud botulismi haiguspuhanguid:

Tabel 11. Botulismi haiguspuhanguid põhjustanud toitude näited

Toidu kategooria	Haiguspuhanguid põhjustanud toidud
Konserveeritud köögiviljad	küüslauk õlis, marineeritud seemned, conserveeritud tomatid ja piprad, tomatimahl, oliivid õlis, röstitud baklažaan õlis, päikesekuivatatud tomatid õlis, oliivipasta ehk tapenaad
Köögiviljad	ahjukartulid, hautatud sibul, korma kaste
Pakendatud puuviljad	pirnid, aprikoosid, virsikud
Kala ja mereannid	toores kala ja mereannid, vaakumisse pakendatud kalatooted, suitsutatud kala, conserveeritud kala ja mereannid, kuivatatud soolakala ehk vobla (koos sisikonnaga kuivatatud)
Liha ja lihatooted	lisanditega töödeldud lihatooted, lihakonservid, fermenteeritud lihatooted, pirukad, pasteedid
Piim ja piimatooted	Mascarpone juust, pähkliipüree lisandiga jogurt

***C. botulinum*'i ohu minimeerimine:**

Kõige olulisemaks ohu minimeerimise meetmeks on heade (tootmis)hügieenitingimuste tagamine ning toidu valmistamiseks kasutatavate toorainete maksimaalse puhtuse tagamine.

Oluline on vähese happesusega toitude korralik kuumtöötlemine, sõltuvalt toidus esineda võivatest haigustekitaja tüvedest kas kolm minutit +121 °C juures või kümme minutit +90 °C juures.

Tavaliselt ei kasva *C. botulinum* toitudes, mille pH on madalam kui 5,0, samas võib see tingida vegetatiivsetest rakkudest spooride moodustumise. Minimaalne vee aktiivsus *C. botulinum*'i kasvuks on 0,97 ning tema kasvu pärssiv minimaalne soolakontsentratsioon veefaasis on 3,5%. Seega saab *C. botulinum*'it ohjata eelkõige madala pH ja/või veeaktiivsusega, samuti mõnede toidu lisaainete (nitritsool) kasutamise ja kasvu pärssivate säilitamistemperatuuride rakendamisega. *C. botulinum*'i toksiin hävib +80 °C juures 10 minutisel kuumutamisel (EFSA, 2005). Lihakonservide säilitamisel kombineeritakse kuumtöötlemist ning soola ja nitriti

lisamist. Nitrit ja nitraat on eelkõige efektiivsed kombineerituna madala pH ning fermentatsiooni mikrofloora kasutamiseks. *C. botulinum* ei kasva temperatuuridel alla +3 °C ning sügavkülmutatuna säilitatud toodetes. *C. botulinum* kasvab vaid keskkonnas, kus hapnik puudub (anaeroobne keskkond), nt suletud pakendites, millest õhk on eemaldatud (nt vaakumisse pakendamine), toitudes, mis on pakendatud õlisse või konserveerituna pakendites, milledest õhk on eemaldatud. Seega, haigustekitaja ei kasva õhurikkas keskkonnas, mistõttu on tema kasvu võimalik vältida ka toidu pakendamisega modifitseeritud atmosfääri, kus kasutatakse kõrgeid hapniku- või süsinikdioksiidikontsentratsioone.

Pakendatud toodete pastöriseerimine ei hävita *C. botulinum*'i spoores, sest kuumtöötlemine on võimeline hävitama vaid vegetatiivseid bakteri rakke.

Inimesele patogeensed *C. botulinum*'i tüübid jagunevad kahte gruppi (NZSA, 2005):

Grupp 1: proteolüütilised tüved, mis toodavad A, B ja F-tüüpi neurotoksiini:

- võimeline kasvama vaakumisse pakendatud toodetes;
- minimaalne kasvu võimaldav pH 4,6;
- minimaalne kasvu võimaldav vee aktiivsus 0,94;
- minimaalne kasvutemperatuur +10 °C;
- arvukuse kümnekordne vähendamine (1 log vähendamine) +121 °C juures 0,2 minutit;
- soovituslik kuumtöötlemine 3 minutit +121 °C juures.

Grupp 2: mitte-proteolüütilised tüved, mis toodavad B, E ja F neurotoksiini

- võimeline kasvama vaakumisse pakendatud toodetes;
- minimaalne kasvu võimaldav pH 4,7;
- minimaalne kasvu võimaldav vee aktiivsus 0,97;
- minimaalne kasvutemperatuur +3,3 °C;
- arvukuse kümnekordne vähendamine (1 log vähendamine) +90 °C juures 1,1 minutit;
- soovituslik kuumtöötlemine 10 minutit +90 °C juures.

5.3. *Yersinia enterocolitica* ohjemeetmed

Patogeen seondub enamike põllumajandusloomadega ning sellest tingituna võib saastunud olla nii sea-, veise-, lamba- kui ka linnuliha. *Y. enterocolitica* pesitseb nt sigade tonsillides, mistõttu tuleb sellega arvestada sigade algtöötlemisel tapamajades.

Juhul, kui taimede niisutamiseks kasutatakse looduslike veekogude vett või väetamiseks loomade saastunud sõnnikut, siis võib kergesti saastuda ka taimne toit, mistõttu on tarbimisele eelnevalt oluline taimse toidutoorme hoolikas loputamine puhta joogiveega.

Y. enterocolitica ei kasva toitudes, mille pH on alla 4,2 ning vee aktiivsus alla 0,96.

Y. enterocolitica on nõrk konkurentsmikrofloora esindaja, nt ei talu piimhappebakterid ning muud fermentatsioonifloora.

Kuumtöötlemine, s.h pastöriseerimine hävitab haigustekitaja. Lihatoodete kuivatamine ning fermenteerimine pärsib oluliselt *Yersinia enterocolitica* kasvu. Samuti on jersiiniad tundlikud enamike toidus kasutatavate säilitusainete suhtes, kuid teaduslikku materjali selle kohta on seni avaldatud väga vähe. *Y. enterocolitica* talub kõrgeid soola- (>7%) ning nitraatide ja nitritite kontsentratsioone ning on suhteliselt happe- ja leeliseterantne (kasvuvõimeline vahemikus pH 4kuni pH 10).

Y. enterocolitica haiguspuhanguid on seostatud ka saastunud joogivee tarbimisega.

5.4. *Bacillus cereus*'e ohjemeetmed

Bacillus cereus on keskkonnas laialdaselt levinud ning seondub eelkõige toidu toorainetega.

Enim on probleeme põhjustanud tärkliiserikkad teraviljatoidud ning piimapõhised toidud.

Kuivades toidumaatriksites püsivad spoorid kaua eluvõimelistena.

Toitudes, mis seonduvad *B. cereus* saastumisega, tuleb tagada võimalikult madal haigustekitaja arvukus. Nii spoorid kui vegetatiivsed bakterirakud hävinevad kuumtöötlemise käigus, kuid spooride hävitamine eeldab kõrgendatud temperatuuride kasutamist. Kui seesmised ja välised tegurid võimaldavad toidus vegetatiivsete rakkude kasvu, siis toimub reeglina ka toksiinide tootmine. Toksiinid on kõrgetele temperatuuridele vastupidavad.

B. cereus ei kasva toitudes, mille pH on alla 4,5 ning vee aktiivsus alla 0,91. Bakter võib kasvada nii õhu olemasolul kui puudusel, kuid toksiinide tootmine toimub vaid hapniku olemasolul. Ohu ennetamiseks on oluline toidu nõuetekohane kuumsäilitamine või kuumtöödeldud toitude kiire mahajahutamine. Rangelt tuleb kinni pidada toidu kuumtöötlemise ja jahutamise režiimidest. Ainult mõned üksikud *B. cereus*'e tüved on võimelised kasvama jahetemperatuuril. Vegetatiivsete rakkude kasvu on võimalik pidurdada enamike toidu säilitusainetega nt sorbaatide ja bensoaatidega. Sarnaselt listeriatega ja jersiiniatega on *B. cereus* võimeline moodustama tootmispindadele biokirmit. Seega, sobivad pesu- ja desoainteteks sellised kemikaalid, mis on võimelised lõhustama biokirmit, nt peräädikhappel põhinevad pesu- ja desoained.

6. Toidu külmutamine ning selle mõju toidu kvaliteedile ja ohutusele

Külmutamine on üks lihtsamaid, kiiremaid ja kindlmaid toidu säilitamise viise. Tekstuuri, lõhna ja maitse ning enamike toitainete paremaks säilimiseks on soovitatav võimalikult kiire toidu külmutamine. Õigesti läbiviidud külmutamiseelne toidu töötlemine, külmutusprotsess ja külmutatult säilitamine tagavad toidukvaliteedi minimaalse alanemise, oluliselt pidurdavad toidu rääsumine ning täielikult peatub mikroorganismide kasv. Toidu kvaliteedi tagamiseks on mõttekas toidu sügavkülmsäilitamine alla -18 °C temperatuuridel. Temperatuuril ligikaudu (miinus) -40 °C võib toit säilitada kvaliteedi isegi aastate jooksul.

Tabel 12. Töötlemisviisist tulenev vitamiinide ja mineraalainete protsentuaalne vähenemine võrreldes algse sisaldusega tooraines

Vitamiinid või mineraalained	Külmutamine	Kuivatamine	Keetmine	Keetmine + kurnamine
Vitamiinid				
Vitamiin A	5	50	25	35
Vitamiin C	30	80	50	75
Vitamiin B1 ehk tiamiin	5	30	55	70
Vitamiin B2 ehk riboflaviin	0	10	25	45
Vitamiin B3 ehk niatsiin	0	10	40	55
Vitamiin B6	0	10	50	65
Vitamiin B9 ehk folaat	5	50	70	75
Vitamiin B12 ehk kobalamiin	0	0	45	50
Mineraalained				
Kaltsium	5	0	20	25
Raud	0	0	35	40
Magneesium	0	0	25	40
Fosfor	0	0	25	35
Kaalium	10	0	30	70
Naatrium	0	0	25	55
Tsink	0	0	25	25
Vask	10	0	40	45

*USDA, 2003

Enamikku sügavkülmutatud toite võib kuumtöödelda kohe, kuid linnurümp ja suuremad lihatükid tuleb enne kuumtöötlemist täielikult üles sulatada. Kui liha ei ole täielikult sulanud, siis kuumtöötlemisel jätkub liha keskosa sulamine ning toidu kuumtöötlemise temperatuur ei ole piisav võimalike haigussetekitajate hävimiseks. Sulatamine peab toimuma aeglaselt, et

mahlad jõuaksid kudedesse tagasi imbuda. Külmutatud toidu sulatamiseks ei sobi selle jätmise toatemperatuurile, sest sulamine toimub sellisel juhul ebaühtlaselt, nt on toidu pealmise kihi temperatuur mikroobide kasvuks soodsas vahemikus, kuid keskelt on toit veel üles sulamata. Sulatamiseks tuleb toit asetada sügavkülmast külmiku jaheseksiooni +2 °C kuni +6 °C juurde ning jälgida, et toit oleks piisavalt muust toidust eraldatud, vältimaks ristsaastumist. Sulanud/sulatatud toit tuleb kohe kuumutada (keetmine, küpsetamine) või tarbida (nt marjad). Toidu sulatamiseks sobib ka sulatamisfunktsiooniga mikrolaineahi, kuid sulatav toiduportsjon ei tohi olla liiga suur. Kuna toitu võivad tekkida mikroobide paljunemiseks soodsa temperatuuriga alad, tuleb mikrolaineahjus sulatatud toit samuti koheselt toiduks valmistada (korralikult kuumutada nt kuumtöötlemata kala) või koheselt tarbida (nt marjad). Sulanud toitu ei külmutata uuesti.

Toidu külmutamise mõjust nii toidu toitainelisele kvaliteedile kui ka toidu ohutusele on avaldatud peatükk raamatus *Handbook of Food Chemistry* (Püssa, 2015). Tuleb mees pidada, et toidu (sügav)külmutamine ei hävita kogu mikroorganismide populatsiooni ning seetõttu võivad külmutatud toidus säilida ka toidupatogeene. Viimasest tingituna on väga oluline järgida toidu sulatamise temperatuure (soovitavalt jahetemperatuuridel), portsjonite suurusi ning tagada sulamisjärgselt toidu nõuetekohane kuumutamine.

Kokkuvõte

Ettevõtte, kes soovib oma tooteid edukalt turustada, ei saa endale lubada toidu säilimisaegadega seonduvaid probleeme. Toidukäitleja esmakohustuseks on tagada toiduohutus ning tarbijate eeldustele vastav toidu kvaliteet. Säilimisaegade määramisel tuleb reeglina arvestada nii toiduohutuse kui kvaliteedi kriteeriumitega, kusjuures sageli tuleb toidu tootjal vastavad kriteeriumid ise välja töötada.

Toidu säilimisaeg tuleb määrata toidu/toote väljatöötamisstaadiumis, kuna säilimisaeg on üks toidu olulisemaid parameetreid, mis esitatakse nii toote spetsifikatsioonil teisele toidukäitlejale kui ka toidualase teabe osana toidupakendil tarbijale.

Toidu säilimisaja määramise edukus sõltub kokkuvõttes järgmistest teguritest:

- toidu ohutuse tagamise kindlusest;
- oluliste kvaliteedi näitajate määramise oskusest;
- toidu kvaliteedi halvenemise ja/või riknemise viiside mõistmisest;
- toidu säilimisaja määramise võimekuse olemasolust rakendades kas otseseid või kaudseid (nt ennustusmudelid) säilimisaja meetodeid või kombineerituna mõlemaid;
- laboratoorsete analüüside tulemuste interpreteerimise oskusest.

Tootjad peaksid pakendi disainimisel arvestama sellega, et tarbijate jaoks oleks oluline info hõlpsasti leitav, kergesti loetav ning mõistetav.

Ohutu ning stabiilse kvaliteediga toidu tootmine ning turustamine sisaldab hoolikalt planeeritud ja seejärel läbiviidud kestvuskatseid ning tõstab toidu tootja usaldusväarsust tarbijate silmis.

LISA 1. Valmistoitude kestvuskatsed *Listeria monocytogenes*'e suhtes

Toidukäitlejad peavad kindlustama, et toit on kogu säilimisaja jooksul ohutu. Erilist tähelepanu tuleb pöörata valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* on võimeline säilitama eluvõime ning toidus kasvama. Valmistoit on toit, mida tootja või valmistaja on kavandanud otsetarbimiseks ja mis ei vaja kuumtöötlemist või muul viisil töötlemist asjaomaste mikroorganismide tõhusaks kõrvaldamiseks või nende taseme vähendamiseks vastuvõetava piirini.

L. monocytogenes't peetakse töödeldud jahutatud toitade puhul üheks kõige ohtlikumaks toidupatogeenuks, kuna ta on võimeline kasvama madalatel temperatuuridel, nt on *L. monocytogenes*'e kasvu alumine piirmäär, sõltuvalt toidust, -1,5 °C kuni +3 °C.

Seega on toitude säilimisaja määramisel oluline arvestada sellega, kas toit kui keskkond on võimeline soodustama *L. monocytogenes*'e kasvu või mitte. Toidu valmistaja peab laboratoorsete katsetega määrama toidu füüsikalise-keemilised omadused, nt toidu pH, vee aktiivsus, soolasisaldus, säilitusainete kontsentratsioonid jms, mis otseselt mõjutavad listeriae kasvu toidus. Kahjuks ei ole *L. monocytogenes*'e kasvu osas lihtsaid reegleid, kuna tema kasvu mõjutavad nii eelmainitud tegurid, kui ka nende koosmõju.

Potentsiaalset ohtu tarbijate tervisele – eelkõige riskirühma esindajatele – kujutavad toidud, kus *L. monocytogenes*'e arv toidu ühe grammi või milliliitri kohta ületab 100 bakterit (Hächler jt, 2013), mistõttu on Euroopa Liidus valmistoidule kehtestatud toiduohutuse kriteeriumid.

Vastavalt toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumite määrusele (ELT, 2005) rakendatakse *L. monocytogenes* suhtes toiduohutuse kriteeriume kolmele valmistoidu kategooriale:

1. Valmistoidud, mis on ettenähtud väikelastele ja spetsiaalsed meditsiiniliseks otstarbeks valmistoidud. *L. monocytogenes*'t ei tohi esineda 25 grammis (n=10, c=0) kogu säilimisaja jooksul.
2. Teistele valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* **ei paljune**, kehtib reegel *L. monocytogenes*'e arvukus ühes grammis valmistoidus ei või ületada 100 pmü-d kogu toidu säilimisaja jooksul (n=5, c=0).
3. Valmistoitudele, milles *L. monocytogenes* **võib paljuned**a, kehtib nõue, et *L. monocytogenes*'t ei tohi esineda 25 g-s tootes (n=5, c=0) selle valmistamise lõpus, võttes proovi ettevõttes või selle laost ehk enne toidu toidukäitleja vahetu kontrolli alt väljumist. Juhul, kui valmistaja **suudab pädevale asutusele tõendada**, et kogu säilimisaja jooksul kriteerium 100 pmü/g ei saa ületatud (kuid samas on tegemist tootega, milles *L. monocytogenes* võib paljuned)a, kehtib nõue, *L. monocytogenes*'e arvukus ühes grammis valmistoidus ei või ületada 100 pmü-d kogu toidu säilimisaja jooksul (n=5, c=0).

Selgitus: n = proovi moodustavate ühikute arv; c = proovi nende ühikute arv, mille väärtused jäävad näitajate/piirmäärade m ja M vahele.

Kriteeriumitele vastavuse korraline kontroll ei ole tavaasjaoludel vajalik järgmiste valmistoitade puhul:

- *L. monocytogenes*'e kõrvaldamiseks kuumtöödeldud või muul viisil töödeldud valmistoidud, kui saastumine ei ole pärast töötlemist võimalik nt lõpp-pakendis kuumtöödeldud toidud;
- värske, lõikumata ja töötlemata köögi- ja puuvili, v.a. idandatud seemned;
- leib, küpsised ja muud sellised (toidu)tooted;
- pudeli- või pakendiveed, karastusjoogid, õlu, siider, vein, kanged alkohoolsed joogid ja muud sellised tooted;

- suhkur, mesi, kakao ja šokolaaditooted ning muud kondiitritooted;
- söögisool.

Reeglina *L. monocytogenes* ei paljune järgnevalt esitatud pH ja vee aktiivsuse (a_w) näitajate juures:

- $\text{pH} \leq 4,4$ või vee aktiivsus $a_w \leq 0,92$;
- $\text{pH} \leq 5,0$ ja vee aktiivsus $a_w \leq 0,94$.

Tooteid säilimisajaga alla 5 päeva peetakse automaatselt sellesse rühma kuuluvaks.

Teised tooteliigid võivad sellesse rühma kuuluda juhul, kui see on teaduslikult põhjendatud, nt kaitsva mikrofloora olemasolu toidus, mis ei võimalda *L. monocytogenes* bakteritel toidus kasvada, külmutatud toidud jms. Nendele toodetele rakendub kriteerium *L. monocytogenes* arvukus ühes grammis tootes ei või ületada 100 pmü/g-s kogu toidu säilimisaja jooksul ($n=5$, $c=0$). Toiduohutus tuleb tagada HACCP-il ja/või headel hügieenitavadel põhineval tootmisprotsessi kontrolliga ning seire keskendub fikseeritud kriitilistele kontrollpunktidele, nagu mikroorganismide kasvu mõjutavad seismised mõjurid, koostisosade saastumistasemed jms. Samuti tuleb kriteeriumi kontrollil rakendada enesekontrollisüsteemi tõendamistegevusi (verifitseerimine).

Juhul, kui teie valmistoidud ei vasta eelkirjeldatule, tuleb teostada:

- kestvuskatsed, et hinnata *L. monocytogenes*'e kasvu loomulikul teel saastunud toidus ettenähtavates tingimustes (EC/DG SANCO, 2008);
- *challenge*-test vastavuses Euroopa Liidu *L. monocytogenes*'e referentlaboratooriumi tehnilisele juhenddokumendile (EURL, 2014). Viimane eeldab laboratoorseid katseid, et uurida tootesse inokuleeritud (tahtlik kontamineerimine) *L. monocytogenes*'e võimet tootes erinevates eeldavates säilitamistingimustes kasvada või ellu jääda. Erinevate säilitamistingimuste all mõeldakse eeldavates jaotamis-, ladustamis- ja kasutamistingimustes rakendatavaid säilitamistemperatuure, nt $+8$ °C (tootmistasand), $+12$ °C (jaemüük) ning $+12$ °C (tarbija poolne toidu säilitamine) ja -ajaperioode;
- matemaatilise prognoosmudeli kasutamine tõendamaks *L. monocytogenes*'e kasvu puudumist toidus.

Kui seda ei tehta, siis:

- toodet ei saa turustada, kuna puudub kindlus toidu ohutuse tagamise osas;
- käitleja peab kindlustama, et *L. monocytogenes* on tootmiskeskkonnas hävitatud ja tootmine toimub vastavalt HACCP põhimõtetele;
- kehtib piirmäär *L. monocytogenes* "puudub 25 grammis tootes" enne toote turustamist.

Enamasti on Eesti toidukäitlejatel peamiselt suurest rahalisest kulust tingituna väga raske teostada *L. monocytogenes*'e kestvuskatsed vastavalt eelviidatud juhenddokumendile (EC/DG SANCO, 2008), mistõttu on nad kehtestanud oma valmistoidule nõude, et *L. monocytogenes*'t ei tohi esineda 25 g-s tootes ($n=5$, $c=0$) selle valmistamise lõpus (nn nullpäev, säilimisaja algus), võttes proovid ettevõttes või selle laost ehk enne toidu väljumist toidukäitleja vahetu kontrolli alt.

L. monocytogenes'e kasvu loomulikul teel saastunud toidus ettenähtavates säilitamistingimustes on võimalik hinnata järgnevalt:

- toidus tuleb määrata *L. monocytogenes*'e arvukus (loendamise meetod);
- kõik analüüsid tuleb teha "kõlblik kuni" kuupäeval ehk toidu säilimisaja viimasel päeval;

- toitu tuleb *L. monocytogenes*'e arvukuse suhtes uurida nii suvel kui talvel toodetud partiidest;
- nii suvel kui talvel tuleb uurida vähemalt 3 partiid ning igast partiist tuleb analüüsida 5 osaproovi nii säilimisaja alguses (n=5) kui säilimisaja viimasel päeval (n=5);
- osaproovid peavad olema esinduslikud ehk osaproovid tuleb võtta juhusliku valimina, mille korral partii igal eri osal on sama tõenäosus valimit moodustada;
- üks proov koosneb 5 osaproovist (n=5);
- osaproov on näiteks üks vorstilatt, pakk viinereid, pakk viilutatud soolakala, karp salatit, hallitusjuust jms.
- kui toitu turustatakse nii viilutatult kui viilutamata, tuleb proovid võtta viilutatud tootest, mis on pakendatult viisil nagu seda müügi pakutakse.

Tabel 1. Kestvuskatsete skeem *L. monocytogenes* arvukuse määramiseks valmistooidetes

Aastaaeg	Uuritavad partiid ning partii kohta analüüsitavate proovide arv						Kokku
	*Partii 1		Partii 2		Partii 3		
	A	L	A	L	A	L	
Suvi	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	6 (n=30)
Talv	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	1 (n=5)	6 (n=30)
Kokku	4 (n=20)		4 (n=20)		4 (n=20)		12 (n=60)

*Partii on ühesuguse nimetuse ja ühesuguste omadustega ning ühesugustel tingimustel toodetud, valmistatud või pakendatud toidukogus

A, säilimisaja alguses uuritavate proovide ja osaproovide arv

L, säilimisaja lõpus uuritavate proovide ja osaproovide arv

Sel viisil võetud (osa)proovide analüüsitulemusi loetakse mitterahuldavaks, kui *L. monocytogenes*'e arvukus on ületanud 100 pmü/g tootes ükskõik millises (osa)proovis.

Olukorras, kus kõik uuritava toote osaproovid 60-st osutuvad kriteeriumile (<100 pmü/g) vastavaks, eksisteerib statistiline tõenäosus, et 0% kuni 5,9% (95% usaldusvahemik) partiiühikutest ei vasta toiduohutuse kriteeriumile (EURL, 2014). Seda juhul, kui kehtestatud säilitamistemperatuurid on tagatud. Usaldusväarsuse tase suureneb koos analüüsitud proovide arvu suurenemisega. Mida rohkem tooteühikuid on kontrollitud, seda usaldusväärsemaks muutub kõlblikkusaja uuring.

Kestvuskatsete järgselt toimub toiduohutuse kriteeriumi mitte ületamise tõendamine (verifitseerimine) vastavalt ettevõtte enesekontrolli raames kehtestatud korrale ning sagedusele. Lähtuda tuleb toidu mikrobioloogiliste kriteeriumite määruse (ELT, 2005) nõuetest ning *L. monocytogenes*'e arvukuse määramise ehk loendamise uuringud tuleb teostada toote säilimisaja lõpus.

Tootele tuleb teostada uued kestvuskatsed *L. monocytogenes*'e arvukuse määramiseks uue töötlemisprotsessi väljatöötamisel või töötlemisprotsessi muutmisel, toote koostisosade või pakendamisviisi olulisel muutmisel jms juhtudel.

Seadusandlus kehtestab, et arvukuse kriteeriumi ei saa rakendada imikute valmistoitudele ning valmistoitudele meditsiiniliseks eriotstarbeks, mistõttu kehtib nendele piirmäär "puudub 25 grammis tootes (n = 10; c = 0)". Kriteeriumi kohaldatakse kõlblikkusajal turule viidud toodetele.

Järgnevalt on esitatud mõned *L. monocytogenes*'e kasvu iseloomustavad näitajad:

- *L. monocytogenes* kasvab nii aeroobses (hapniku olemasolul) kui anaeroobses keskkonnas (nt vaakumisse pakendatud valmistoidus, kus hapnik on keskkonnast eemaldatud);
- minimaalne kasvu võimaldav pH 4,2;
- minimaalne kasvu võimaldav vee aktiivsus (a_w) 0,90;
- minimaalne kasvutemperatuur on -1,5 °C;
- arvu kümnekordse vähendamise väärtused erinevatel temperatuuridel: $D_{60\text{ °C}}$, 5-10 minutit ning: $D_{70\text{ °C}}$, ligikaudu 10 sekundit.

D-väärtus on aeg (aja pikkus), mis kulub antud temperatuuril vähendamaks konkreetse mikroobipopulatsiooni arvukust 90% ulatuses ehk ühe log ühiku võrra).

Toidu säilimisaegade määramisel tuleb erilist tähelepanu pöörata toitudele, mis:

- 1) soodustavad *L. monocytogenes*'e kasvu;
- 2) müüakse valmistoitadena, mis ei vaja enne tarbimist kuumtöötlemist;
- 3) säilitatakse külmkapi temperatuuridel pikka aega (enam kui 10 päeva).

Aitamaks otsustada, kas tegemist on *L. monocytogenes*'e kasvu soodustava tootega, tuleb oma tootele ja selle töötlemisele mõeldes vastata järgmistele küsimustele:

- 1) kas *L. monocytogenes* võib esineda toorainetes?
- 2) kas patogeen hävitatakse mõne (toidu)töötlemisetapi käigus?
- 3) kas *L. monocytogenes*'e olemasolul on võimalik teha kasv lõpptootes?
- 4) kas tootel on pikk säilimisaeg?
- 5) kas tarbija peab enne toidu tarbimist kasutama toidu valmistamisviisi, mis hävitab haigustekitaja?

L. monocytogenes'e kasvu suhtes kõrge riskiga toitudeks arvatakse nt kuumtöödeldud lihatooted, viinerid ja muud vorstid, mis ei vaja enne tarbimist kuumtöötlemist, pasteedid ja lihamäärded, suitsutatud mereannid, toorpiim, kõrge rasvasisaldusega piimatooted ning toorpiimast valmistatud pehmed lühikese valmimisajaga juustud (FDA/CFSSAN, 2003; NZSA, 2005).

L. monocytogenes võib kasvada ühe log ühiku võrra (arvukuse kümnekordne tõus) erinevates valmistoidudes temperatuuril +4 °C kuni +12 °C järgnevalt:

- külmsuitsu kalatoodetes 43,2 tunni jooksul;
- koorikloomadest valmistoidudes 48 tunni jooksul;
- vaakumisse pakendatud kuumtöödeldud lihatoodetes 48 tunni jooksul.

L. monocytogenes'e kasvu suhtes kõrge riskiga valmistoitude säilimisaegade määramisel arvesta, kas saad rakendada kasvõi ühte järgnevatest ohje meetmetest:

- toidu pakendamisejärgne kuumtöötlemine, mis hävitab *L. monocytogenes*'e;
- *L. monocytogenes*'e kasvu võimaldavate toitude saastumise ennetamine;
- *L. monocytogenes*'e arvu ohtlikku tõusu välistava säilimisaja kehtestamine (lühem säilimisaeg);
- *L. monocytogenes*'e kasvu välistamine, lisades toitu mikroobide kasvu pärssivaid toidu lisaaineid või pakendades toidu modifitseeritud atmosfääri, mille CO₂ sisaldus on 100%;
- andes toidualase teabe esitamisega (nt pakendil) tarbijatele teada, et enne toidu tarbimist tuleb seda korralikult kuumutada;
- andes toidualase teabe esitamisega (nt pakendil) riskirühmadele teada, et tegemist on riskirühmadele (nt rasedad) tarbimiseks mittesobiliku tootega.

Kasutatud kirjandus

- A Guidance Document. How to Determine the Shelf Life of Food. New Zealand Government. Ministry for Primary Industries, 2014, pp. 1-34.
- Barbosa, A., Bremner, A., Coolum, M., Vaz-Pires, P. 2002. The meaning of shelf-life. Raamatus: Safety and quality issues in fish processing (Toimetaja: H. Allan Bremner), Woodhead Publishing Limited, lk. 173-219.
- David Kilcast, Persis Subramaniam (Eds.) Food and beverage stability and shelf life. Woodhead Publishing Limited, 2011, pp. 849.
- Dominic Man, C.M. 2015. Introduction to shelf life of foods – frequently asked questions. Raamatus: Shelf Life. Second Edition (Toimetaja: C.M. Dominic Man). John Wiley & Sons, Ltd., lk. 1-40.
- EC/DG SANCO. 2008. Guidance Document on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, Under Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November on microbiological criteria for foodstuffs. SANCO/1628/2008 ver. 9.3 (26.11.2008).
- EFSA, European Food Safety Authority. 2014. Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat. Part 1 (meat of domestic ungulates). EFSA Journal 2014;12(3):3601.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2015. Scientific and technical assistance on the evaluation of the temperature to be applied to pre-packed fishery products at retail level. EFSA Journal 2015; 13(7):4162.
- EFSA, European Food Safety Authority. 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 2016, 14(12), p. 4634.
- ELT, Euroopa Liidu Teataja. 2002. Euroopa Parlamendi ja Nõukogu Määrus (EÜ) nr. 178/2002, 28. jaanuar 2002, toidualaste õigusnormide üldised põhimõtted ja nõuded. Teabeallikat kasutatud: 03.04.2017.
- ELT, Euroopa Liidu Teataja. 2004. Euroopa Parlamendi ja Nõukogu Määrus (EL) nr. 852/2004, 29. aprill 2004, toiduainete hügieeni kohta. Teabeallikat kasutatud: 03.04.2017.
- ELT, Euroopa Liidu Teataja. 2005. Komisjoni Määrus (EÜ) nr 2073/2005, 15. november 2005, toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumite kohta. ELT L 338. Teabeallikat kasutatud: 16.09.2017.
- ELT, Euroopa Liidu Teataja. 2006. Komisjoni Määrus (EÜ) nr 1881/2006, 19. detsember 2006, millega sätestatakse teatavate saasteainete piirnormid toiduainetes. ELT L 364. Teabeallikat kasutatud: 16.09.2017.
- ELT, Euroopa Liidu Teataja. 2008. Euroopa Parlamendi ja Nõukogu Määrus (EÜ) nr 1333/2008, 16. detsember 2008, toidu lisaainete kohta. ELT L 354/16. Teabeallikat kasutatud: 16.09.2017.
- ELT, Euroopa Liidu Teataja. 2011. Euroopa Parlamendi ja Nõukogu Määrus (EL) nr 1169/2011, 25. oktoober 2011, toidualase teabe esitamine tarbijatele. L 304/18. Teabeallikat kasutatud: 03.04.2017.
- EURL, European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*. 2014. EURL *Lm* Technical Guidance Document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods.
- FDA/CFSAN. 2003. Quantitative assessment of relative risk to public health from *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. FDA/Center for Food Safety and Applied Nutrition, USDA/Food Safety and Inspection Service, Centers for Disease Control and Prevention.
- FSAI, Food Safety Authority of Ireland. 2017. Validation of Product Shelf-Life, Revision 3, pp. 50.

- Hajmeer, M.N., Cliver, D.O. 2012. Microbiology of Food Preservation and Sanitation. Raamatus: Foodborne Diseases. Second Edition (Toimetajad: Dean O. Cliver ja Hans P. Riemann). Food Science and Technology, International Series. Academic Press. An imprint of Elsevier Science, lk. 331-352.
- Hächler, H., Marti, G., Giannini, P., Lehner, A., Jost, M., Beck, J., Weiss, F., Bally, B., Jermini, M., Stephan, R., Baumgartner, A. Outbreak of listeriosis due to imported cooked ham, Switzerland 2011. Eurosurveillance, 2013, 18, pp. 1-5.
- IFST. 1993. Shelf Life of Foods Guidelines for its Determination and Prediction, Institute of Food Science and Technology (UK) London.
- Jay, J.M. 2000a. Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. Raamatus: Modern Food Microbiology. Sixth edition (Toimetaja: James M. Jay). An Aspen Publication. lk. 35-56.
- Jay, J.M. 2000b. Low-temperature food preservation and characteristics of psychotrophic microorganisms. Raamatus: Modern Food Microbiology. Sixth edition (Toimetaja: James M. Jay). An Aspen Publication. lk. 323-339.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Intrinsic and Extrinsic Parameters of Foods that Affect Microbial Growth. Raamatus: Modern Food Microbiology. Seventh edition (Toimetajad: J.M. Jay, M.J. Loessner ja D.A. Golden). New York: Springer Science & Business Med Inc., lk. 39-60.
- Kiis, A., Reinik, M., Ilmoja, K., Kaart, K. 2000. Sulfitite ja SO₂ seire toiduainetes. Agraarteadus, XII(4), 311-317.
- Komisjoni Määrus (EÜ) nr 2073/2005, 15. november 2005, toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumite kohta. Teabeallikat kasutatud: 03.04.2017.
- Man, D. 2002. Shelf life. Food Industry Briefing Series, Blackwell Science, Oxford.
- Man, C.M.D. 2004. Shelf-life testing. Raamatus: Understanding and measuring the shelf-life of food (Toimetaja: R. Steele). Woodhead Publishing Limited. Lk. 340-356.
- NZSA, New Zealand Food Safety Authority. 2005. A guide to calculating the shelf life of foods. ISBN: 0-478-07865-X, lk. 1-29.
- NZG, New Zealand Government. Ministry for Primary Industries. 2014. How to determine the shelf life of food. 22 July 2014, lk. 1-34.
- Püssa, T. 2015. Nutritional and toxicological aspects of the chemical changes of food components and nutrients during freezing. Raamatus: Handbook of Food Chemistry (Toimetajad: Peter Chi Keung Cheung ja Bhavbhuti M. Mehta). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag Berlin, ISBN 978-3-642-41609-5 (Online), ISBN 978-3-642-36604-8, lk. 1-23.
- Roasto, M., Meremäe, K., Elas, P., Elias, T., Elias, A. 2011. Mikroorganismide kasvu mõjutavad tegurid. Raamatus Toiduainetööstuse tootmishügieen (Koostajad: Mati Roasto, Marko Breivel ja Priit Dreimann), Halo kirjastus, lk. 161-172.
- RT, Riigi Teataja. Põllumajandusministri määrus nr. 66. Toidu säilitamisnõuded. RTL 2009, 85, 1237. Teabeallikat kasutatud: 07.05.2017.
- RT, Riigi Teataja. Põllumajandusministri määrus nr. 105. Kestvuskatsete tegemise kord. RT I, 25.11.2014, 25. Teabeallikat kasutatud: 07.05.2017.
- RT, Riigi Teataja. Toiduseadus. RT I, 15.06.2016, 4. Teabeallikat kasutatud: 07.05.2017
- Scott, V.N., Clavero, R.S., Troller, J.A. 2001. Measurement of water activity (a_w), acidity, and brix. Raamatus: Microbiological examination of foods. Fourth edition (Toimetajad: Frances Pouch Downes ja Keith Ito). American Public Health Association. lk. 649-657.
- Soidla, R., Elias, P., Mahla, T. Suitsutamine. R. Raamatus: Toiduainete konserveerimise ja säilitamise alused (Toimetajad: R. Soidla, P. Elias ja T. Mahla). Halo Kirjastus 2004, lk. 88-90.
- Stephan, R., Althaus, D., Kiefer, S., Lehner, A., Hatz, C., Schmutz, C., Jost, M., Gerber, N.,

Baumgartner, A., Hächler, H., Mäusezahl-Feuz, M. Foodborne transmission of *Listeria monocytogenes* via ready-to-eat salad: A nationwide outbreak in Switzerland, 2013-2014. Food Control, 2015, 57, pp. 14-17.

TAI, Tervise Arengu Instituut. 2017. Eesti toitumis- ja liikumissoovitused 2015. Puffet Invest OÜ, ISBN 978-9949-461-77-6 (pdf).

USDA, 2003. Table of Nutrient Retention Factors.
<http://nutritiondata.self.com/topics/processing>