

Tea Immonen

PALVELUMYYNTIPISTEIDEN
PINTAHYGIENIA JA
KALATUOTTEIDEN SÄILYVYYS

Opinnäytetyö
Ympäristötekniikan ko.


Huhtikuu 2014




MAMK

University of Applied Sciences

KUVAILULEHTI

 MAMK University of Applied Sciences	Opinnäytetyön päivämäärä 22.4.2014				
Tekijä(t) Tea Immonen	Koulutusohjelma ja suuntautuminen Ympäristötekniologian ko.				
Nimeke Palvelupisteiden pintahygienia ja kalatuotteiden säilyvyys					
Tiivistelmä <p>Lainsäädännön mukaan elintarvikealan toimija on ensisijaisesti vastuussa tuotteidensa elintarviketurvallisuudesta. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia kolmen Etelä-Savossa sijaitsevan palvelupisteen hygieenisyyttä ja kalatuotteiden säilyvyyttä. Kalatuotteiden säilyvyyttä tutkittiin sen takia, että palvelupisteillä myytävillä tuotteilla ei ole tehty säilyvyyskokeita. Lisäksi työssä käsiteltiin lainsäädännön vaatimuksia elintarvikehygieniaan liittyen.</p> <p>Jokaiselta palvelupisteeltä otettiin viisi pintapuhtausnäytettä kahdella eri menetelmällä. Lisäksi jokaiselta palvelupisteeltä otettiin kaksi elintarvikenäytettä. Elintarvikenäytteinä olivat kaksi graavisuolattua lohinäytettä, kaksi kylmäsavulohinäytettä, lohiherkku ja katkarapuherkku. Lohiherkku ja katkarapuherkku ovat majoneesipohjaisia.</p> <p>Palvelupisteiden hygieenisyyttä tutkittiin pintapuhtausnäytteillä, jotka otettiin kosketus- ja ATP-menetelmällä. Kalatuotteiden säilyvyyttä tutkittiin tiettyjen mikrobiologisten parametrien avulla. Tässä työssä käytetyt parametrit olivat aistinvarainen arvio, kokonaisbakteeripitoisuus, <i>Listeria monocytogenes</i> sekä enterobakteeripitoisuus. Näytteet tutkittiin Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriossa.</p> <p>Palvelupisteiden pintahygienia oli yleisesti ottaen hyvä. Ongelmia oli lähinnä leikkuulautojen kanssa. Myös tutkitut kalatuotteet säilyivät tutkittavien parametrien mukaan mikrobiologiselta laadultaan hyvinä viimeiseen myyntipäivään asti. Tämän opinnäytetyön tutkimuksen mukaan tutkitut kalatuotteet ovat syötäviä vielä viimeisenä myyntipäivänä.</p>					
Asiasanat (avainsanat) hygienia, kalavalmisteet, elintarvikehygienia					
Sivumäärä 30	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Kieli</td> <td style="width: 50%;">URN</td> </tr> <tr> <td>Suomi</td> <td></td> </tr> </table>	Kieli	URN	Suomi	
Kieli	URN				
Suomi					
Huomautus (huomautukset liitteistä)					
Ohjaavan opettajan nimi Tuula Kettunen	Opinnäytetyön toimeksiantaja Yritys x				

DESCRIPTION

		Date of the bachelor's thesis 22.4.2014
Author(s) Tea Immonen	Degree programme and option Environmental engineering	
Name of the bachelor's thesis Surface hygiene and preservation of fish products at the service desks		
Abstract According to legislation the responsibility of food stuff's safety is primarily under the foodstuff supplier. The purpose of this bachelor's thesis was to examine service desks' hygiene and preservation of their fish products. Preservation of the fish products was examined because the chosen service desk's has never made stability tests to their products. In addition to examinations this thesis dealt with legislation's requirements relating to food hygiene. Three service desks were chosen from Southern Savonia area. Five surface hygiene samples were taken from every service desks, with two different techniques. Additionally two fish product samples were taken from each service desk. Fish product samples were taken from two salted fish, two cold smoked fish, salmon treat and shrimp treat. Salmon treat and shrimp treat are mayonnaise -based products. Surface hygiene was examined with surface hygiene samples, which were taken with ATP-technique and touch technique. The preservation of fish products was examined with certain microbiological parameters. In this thesis, sensory evaluation, the number of microorganisms, <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>enterobacteriaceae</i> were used as parameters. Samples were analysed in the environmental laboratory of Mikkeli University of Applied Sciences. Generally speaking all of the surface hygiene samples were good. There were mainly problems with cutting boards. All the surface samples taken from cutting boards were weak. The quality of analysed fish products stayed good to expiration day according to used parameters. According to this thesis, all the examined fish products at the service desks were eatable on expiration day.		
Subject headings, (keywords) Hygiene, fish products, food hygiene		
Pages 30	Language Finnish	URN
Remarks, notes on appendices		
Tutor Tuula Kettunen	Bachelor's thesis assigned by Corporation x	

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	1
2	ELINTARVIKEHYGIENIA.....	1
2.1	Pukeutuminen	2
2.2	Käsihygienia	3
2.3	Toimintojen ja tuotteiden eriyttäminen	3
2.4	Tuotteiden säilytys- ja myyntilämpötilat	4
2.5	Pinnat ja rakenteet.....	5
3	MIKROBIEN KASVUUN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT.....	6
4	PINTAHYGIENIA	7
5	ELINTARVIKKEIDEN MIKROBIOLOGISET VAATIMUKSET.....	8
6	ELINTARVIKKEIDEN SÄILYVYYSTUTKIMUKSET.....	9
6.1	Yleistä säilyvyystutkimuksista	9
6.2	Kala- ja munatuotteista tutkittavat bakteerit.....	10
6.2.1	Listeria monocytogenes	10
6.2.2	Clostridium botulinum.....	10
6.2.3	Staphylococcus aureus	11
6.2.4	Enterobakteerit.....	11
6.2.5	Kokonaisbakteeripitoisuus.....	11
7	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS	12
7.1	Näytteenotto.....	12
7.1.1	Pintahygienianäytteet	12
7.1.2	Säilyvyyskokeiden näytteet	13
7.2	Tutkimusmenetelmät	15
7.2.1	Pintahygienianäytteet.....	15
7.2.2	Kalatuotteiden säilyvyyskokeet	16
8	TULOKSET	19
8.1	Pintahygienianäytteet.....	20
8.2	Mikrobiologiset analyysit	21
8.2.1	Kokonaisbakteeripitoisuus.....	21
8.2.2	Enterobakteerit.....	22
8.2.3	Listeria monocytogenes	23

9	TULOSTEN TULKINTA.....	24
9.1	Pintahygienianäytteet.....	24
9.2	Mikrobiologiset analyysit.....	27
10	JOHTOPÄÄTÖKSET.....	28
	LÄHTEET.....	31

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää kolmen Etelä-Savossa sijaitsevan palvelupisteiden hygieniaa pintapuhtausnäytteiden avulla. Tämän lisäksi tutkittiin, kuinka palvelupisteillä myytävien kalatuotteiden mikrobiologinen laatu muuttuu myyntiaikana.

Elintarvikelainsäädännön mukaan ensisijainen vastuu elintarvikkeiden turvallisuudesta on elintarvikealan toimijalla. Näin ollen elintarvikealan toimijoiden on kiinnitettävä riittävästi huomiota ja riittävällä huolellisuudella varmistettava, että elintarvikkeiden tuotanto-, jalostus- ja jakeluvaiheet täyttävät elintarvikelainsäädännön vaatimukset. Pääasiassa elintarviketurvallisuus varmistetaan ennaltaehkäisevästi. Elintarviketurvallisuus voidaan varmistaa hyvillä hygieniakäytännöillä, riittävällä puhdistuksella ja kiinnittämällä huomiota omavalvonnan kriittisiin pisteisiin.

Kalatuotteet ovat helposti pilaantuvia elintarvikkeita. Niiden säilyvyyteen vaikuttavat monet tekijät, mutta erityisesti säilytyslämpötila. Kypsentämättömät kalatuotteet tulee säilyttää muita elintarvikkeita viileämmässä lämpötilassa. Liian lämpimässä säilyttäminen vaarantaa tuotteiden elintarviketurvallisuuden.

Tuotteiden säilyvyyden varmistaminen myyntiajan loppuun asti on elintarvikkeen valmistajan vastuulla. Valittujen palvelumyyntipisteiden tuotteille ei ole tehty säilyvyyskokeita. Nykyiset myyntiajat on määritetty aistinvaraisen arvioinnin ja kalatuotteiden toimittajien antamien päiväyksien mukaan. Palvelupisteet haluavat varmistaa, että heidän myymänsä tuotteet ovat kuluttajille turvallisia vielä viimeisenä myyntipäivänä.

2 ELINTARVIKEHYGIENIA

Elintarvikehygienialla tarkoitetaan toimenpiteitä, joilla varmistetaan elintarvikkeiden turvallisuus, terveellisyys ja puhtaus alkutuotannosta kulutukseen saakka. Markkinoille ei saa saattaa elintarvikkeita, jotka eivät ole turvallisia. Elintarvikelain (23/2006) 7 §:n mukaan elintarvikkeiden tulee olla kemialliselta, fysikaaliselta ja mikrobiologiselta sekä terveydelliseltä laadultaan, koostumukseltaan ja muilta ominaisuuksiltaan sel-

laisia, että ne ovat ihmisravinnoksi soveltuvia, eivätkä saa aiheuttaa vaaraa ihmisen terveydelle. Elintarvikkeiden fysikaalisia vaaroja ovat paljaalla silmällä nähtäviä elintarvikkeeseen kuulumattomia vierasesineitä, kuten hiukset, pöly tai pakkausmateriaalin palat. Kemiallisia vaaroja ovat ihmiselle haitalliset kemialliset yhdisteet, jotka voivat olla elintarvikkeen luontaisia yhdisteitä, elintarvikkeeseen tarkoituksella lisättyjä yhdisteitä tai elintarvikkeeseen joutuneita vierasaineita. Esimerkiksi homemyrkyt, torjunta-ainejäämät tai jopa lisäaineet voivat olla kemiallisia vaaratekijöitä. Mikrobiologisia vaaratekijöitä ovat ihmisen terveydelle haittaa aiheuttavat mikrobit, kuten esimerkiksi salmonella. (Evira 2013a.)

Keittiötyössä ihminen on tärkein hygieniaan vaikuttava tekijä. Tämän takia elintarvikehuoneistossa työskentelevän on osattava elintarvikehygienian perusasiat. Elintarvikelain (23/2006) 27 §:n mukaan elintarvikehuoneistossa pakkaamattomia helposti pilaantuvia elintarvikkeita käsittelevällä henkilöllä on oltava Elintarviketurvallisuusviraston hyväksymä hygieniaosaamistodistus. Helposti pilaantuvia elintarvikkeita ovat elintarvikkeet, jotka koostumuksensa, rakenteensa, käsittelynsä tai muista ominaisuuksista johtuen tarjoavat mikrobeille hyvät lisääntymismahdollisuudet. Tällaisia ovat mm. liha-, kala-, ja maitotuotteet. Hygieniaosaamistodistusta ei tarvita, jos henkilö on työskennellyt vastaavissa tehtävissä yhteensä alle kolme kuukautta, jos henkilö työskentelee ainoastaan kassatehtävissä tai jos henkilö työskentelee vain valmiiden annosten tarjoilijana. Alaluvuissa 2.1 – 2.5 on kerrottu tarkemmin elintarvikehygieniaan liittyvistä toimista ja vaatimuksista.

2.1 Pukeutuminen

Elintarvikehuoneistoasetuksen (1367/2011) 17 §:n mukaan elintarvikehuoneistossa helposti pilaantuvia elintarvikkeita käsittelevällä henkilöllä tulee olla ainoastaan elintarvikehuoneistossa käytettävä riittävä suojavaatetus, johon kuuluu asianmukainen työpuku, päähine ja jalkineet. Työvaatteiden tarkoituksena on estää käsiteltävien elintarvikkeiden saastuminen. Työvaatteiden tulee olla väriltään vaaleita, jotta niiden likaantumisen huomaa. Työntekijä voi tarvittaessa käyttää työvaatteiden päällä suojaesiliinaa, joka voi olla kertakäyttöinen. Pakkaamattomien elintarvikkeiden parissa työskentelevien tulee käyttää päähinettä, joka estää hiusten joutumista elintarvikkeisiin. Pähine voi olla esimerkiksi lakki, huivi tai hilkka. Pitkät ja puolipitkät hiukset

tulee olla sidottuna. (Syyrakki & Välikylä 2013, 39.) Elintarvikelain 15 §:n mukaan henkilö, jolla on tulehtunut haava, rakennekynsi, lävistyskoru tai muita koruja, ei saa käsitellä pakkaamattomia helposti pilaantuvia elintarvikkeita, jos haavaa, rakennekynsiä tai koruja ei voi peittää suojavaatetuksella. Näiden lisäksi henkilön, joka käsittelee pakkaamattomia helposti pilaantuvia elintarvikkeita, ei ole suotavaa käyttää töissä kynsilakkaa, koska kynsilakasta voi joutua paloja elintarvikkeisiin.

2.2 Käsihygienia

Käsihygienia on tärkeä osa elintarvikehygieniaa, koska ihmisten käsissä esiintyy luonnollisesti monia mikrobeja. Myös ruokamyrkytysbakteereja esiintyy ihmisten käsissä luonnollisesti. Esimerkiksi noin puolet ihmisistä kantaa ruokamyrkytys bakteeria nimeltä *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* esiintyy ihmisten iholla, haavoissa, nielussa ja nenässä. Käsien välityksellä elintarvikkeisiin voi siirtyä myös muita kuin iholla luonnollisesti esiintyviä mikrobeja, esimerkiksi likaisilta pinnoilta. (Evira 2012a.)

Elintarviketyöntekijän tulee pestä kädet aina ennen työskentelyn aloittamista. Käsiä tulee pestä työskentelyn aikana säännöllisesti mm. eri työvaiheiden välillä, saastuneiden elintarvikkeiden käsittelyn ja muiden kuin elintarviketyöhön kuuluvien toimintojen jälkeen. Lämpökäsitelyyn ja sellaisenaan syötävään ruokaan tule ei koskaan koskea paljain käsin, koska mikrobeja ei voi koskaan poistaa ihmisten käsistä kokonaan. Elintarvikehuoneistossa on hyvä käyttää kertakäyttökäsineitä, mutta niitä käytettäessä tulee muistaa, että käsineiden on tarkoitus suojella elintarvikkeita, ei pelkästään käsiä. Käsineet tuleekin vaihtaa työtehtävien välissä, tai jos niillä kosketaan esimerkiksi ovenkahvaa. Jos elintarviketyöntekijän käsissä on haavoja, tulee hänen käyttää kertakäyttökäsineitä. (Syyrakki & Välikylä 2013, 36 – 38.)

2.3 Toimintojen ja tuotteiden eriyttäminen

Elintarvikelain (26/2006) 10 §:n mukaan elintarvikehuoneiston toiminta on järjestettävä siten, että elintarvikehuoneistossa tuotettavien, valmistettavien, säilytettävien ja käsiteltävien elintarvikkeiden turvallisuus ei vaarannu. Tämä tarkoittaa sitä, että ristikontaminaation estämiseksi elintarvikehuoneistossa tulee toimia siten, että erilaiset

toiminnot tapahtuvat joko eri aikaan päivästä tai niille on varattu omat tilat. Elintarvikehuoneiston toimintoja on tavaran vastaanotto, varastointi, valmistus, jäähdytys, säilytys sekä tarjoilu, myynti- ja lähetystoiminta. Myös raaka-aineet tulee säilyttää siten, ettei tapahdu ristikontaminaatiota. Elintarvikehuoneistoasetuksen (1367/2011) 4 §:ssä säädetään, että kypsät liha sekä raat liha- ja kalastustuotteet on pidettävä erillään toisistaan ja sellaisenaan syötävistä elintarvikkeista. Asetuksen mukaan pakkaamaton raaka siipikarjan liha tulee pitää erillään muista pakkaamattomista elintarvikkeista. Tämä tarkoittaa sitä, että suojaamattomat raaka-aineet ja kypsennetyt tuotteet ei saa olla kosketuksissa toistensa kanssa. Tämän lisäksi tuore siipikarja, kala ja liha sekä vihannekset tulee olla pitää erillään. Tuotteiden eriyttäminen tulee huomioida myös palvelutiskissä. Kypsät ja tuoreet elintarvikkeet tulee erottaa tiskissä suojalevyillä ja niitä tulee käsitellä eri välineillä. Ristikontaminaation estäminen raaka-aineiden eriyttämisellä tulee muistaa koko ajan, sekä kylmäsäilytyksessä, että käsittelyssä. (Syyrakki & Välikylä 2013, 22 – 32.)

2.4 Tuotteiden säilytys- ja myyntilämpötilat

Kaikilla mikrobeilla on tietyt lämpötilat joissa ne viihtyvät ja pystyvät lisääntymään. Mikrobin optimilämpötilat, eli lämpötilat, jossa niiden kasvu- ja lisääntymisnopeus on suurimmillaan, ovat lajikohtaisia. Yleensä mikrobin optimilämpötila on 6 °C – 60 °C. Tämän takia elintarvikkeet tulee säilyttää tarpeeksi kylmässä ja kuumentaa tarpeeksi kuumaksi. Lämmitetty ruoka tulee myös jäähdyttää tarpeeksi nopeasti, jotta ruoka on mahdollisimman vähän aikaan mikrobin optimilämpötilassa. (Evara 2013b.)

Elintarvikehuoneistoasetuksen (1367/2011) mukaan kypsät pakkaamattomat kalatuotteet on varastoinnin ja myynnin aikana säilytettävä enintään +6 °C:ssa. Tuoreet kalatuotteet on asetuksen mukaan säilytettävä 0—3 °C:ssa. Myös tuoresuolatut ja kylmäsavustetut kalatuotteet tyhjiö- ja suojakaasupakatut jalostetut kalastustuotteet on säilytettävä 0—3 °C:ssa. Asetuksen mukaan jauheliha ja jauhettu maksa tulee säilyttää enintään 4 °C:ssa. Helposti pilaantuvat maitopohjaiset tuotteet tulee säilyttää enintään 8 °C:ssa ja muut helposti pilaantuvat elintarvikkeet puolestaan enintään 6 °C:ssa. Kuumana myytävien ruokien lämpötilan on pysyttävä tarjoilun tai myynnin ajan vähintään 60 °C:ssa. Elintarvikehuoneistoasetuksen 11 §:n mukaan helposti pilaantuvien

elintarvikkeiden lämpötila voi hetkellisesti poiketa korkeintaan 3 °C:ta lämpötilavaatimuksista.

Elintarvikehygieniasetuksen (852/2004/EU) mukaan elintarvikehuoneistossa tulee olla riittävät lämpötilavalvotut käsittely- ja varastointiolosuhteet, jotta elintarvikkeet voidaan pitää sopivassa lämpötilassa. Elintarvikehuoneistot tulee myös olla suunniteltu siten, että lämpötilaa voidaan valvoa. Elintarvikehuoneiston kylmäsäilytystilojen lämpötilojen valvonta on osa omavalvontaa.

2.5 Pinnat ja rakenteet

Elintarvikehygieniasetuksen (852/2004/EU) mukaan elintarvikehuoneistojen tulee olla pohjapiirrokseltaan, suunnittelultaan, rakennustavaltaan, sijainniltaan ja kooltaan sellaisia, että ne voidaan asianmukaisesti huoltaa ja puhdistaa. Elintarvikehuoneistossa tulee myös olla riittävät tilat, jotta kaikki toiminnot voidaan suorittaa hygieenisesti. Elintarvikehuoneistossa tulee olla riittävästä käsienpesuun tarkoitettuja pesualtaita, joissa on sekä kylmä, että kuuma juokseva vesi. Käsienpesualtaat tulee sijoittaa siten, että ne ovat siellä missä niitä tarvitaan. Käsienpesualtaiden yhteydessä on oltava käsienpesuun tarkoitettua saippuaa ja kertakäyttöisiä käsipyyhkeitä.

Elintarvikehuoneiston seinä- ja lattiapinnat on oltava helposti puhdistettavat ja tarvittaessa desinfioitavat. Näin ollen elintarvikehuoneistossa on käytettävä vedenpitäviä, nestettä hylkiviä, pestäviä ja myrkyttömiä materiaaleja. Seinämateriaalin tulee olla sileää toimintojen edellyttämälle tasolle asti, koska epätasainen pinta on vaikeampi puhdistaa kuin sileä pinta. Elintarvikkeiden kanssa kosketuksissa olevat pinnat, kuten laitteiden ja välineiden pinnat, tulee olla helposti puhdistettavia ja tarvittaessa desinfioitavissa. Materiaalien tulee olla sileitä, pestäviä, ruostumattomia ja myrkyttömiä. Elintarvikkeiden kanssa kosketuksiin joutuvat pinnat tulee pitää hyvässä kunnossa. (Elintarvikehygieniasetus 852/2004/EU.)

3 MIKROBIEN KASVUUN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Tärkeimmät mikrobien kasvuun ja lisääntymiseen vaikuttavat tekijät ovat lämpö, ravinto, kosteus, happi ja happamuus. Lämpötila on ainut mikrobien kasvuun vaikuttava tekijä, johon on helppo vaikuttaa. Tämän takia elintarvikelainsäädännössä on säädetty elintarvikkeille tietyt säilytys-, myynti- ja tarjoilulämpötilat. Lainsäädännössä säädetty lämpötilat on esitetty kappaleessa 2.4. (Evira 2013b.)

Mikrobit tarvitsevat aina tietyn määrän kosteutta. Mikrobit kasvavat ja lisääntyvät huomattavasti kuivissa elintarvikkeissa. Tämän takia kuivaaminen on yksi säilöntämenetelmistä. Myös suolan ja sokerin käyttö säilöntämenetelmänä perustuu siihen, että mikrobit tarvitsevat kosteutta. Tämä johtuu siitä, että mikrobien kasvu ja lisääntyminen eivät riipu elintarvikkeen kokonaisvesipitoisuudesta, vaan elintarvikkeessa olevan vapaan veden määrästä, eli veden aktiivisuudesta (a_w). Elintarvikkeessa olevaan veteen liuenneet kemialliset aineet, kuten suola ja sokeri, vähentävät vapaan veden määrää. Useimmat ruokamyrkytysbakteerit ja elintarvikkeita pilaavat mikrobit vaativat lisääntymiseen yli 0,90 vesiaktiivisuutta, kun puhtaan veden vesiaktiivisuus on 1,0. Homeet voivat lisääntyä vielä 0,80 vesiaktiivisuudessa. (Evira 2013b.)

Mikrobit voidaan jakaa aerobisiin, anaerobisiin ja fakultatiivisesti anaerobisiin mikrobeihin. Aerobiset mikrobit tarvitsevat happea, anaerobiset mikrobit viihtyvät hapettomissa oloissa ja fakultatiivisesti anaerobiset pystyvät lisääntymään sekä hapettomissa, että hapellisissa olosuhteissa. Suurin osa mikrobeista on aerobisia. Monet ruokamyrkytysbakteerit ovat kuitenkin fakultatiivisesti anaerobisia ja esimerkiksi *Clostridium*-suvun bakteerit ovat anaerobisia. Vakuumpakkausten ja suojakaasujen käyttö perustuu siihen, että elintarvikkeen ympäristöön luodaan hapeton tila. Tämä on tehokas keino vähentää aerobisten pilaajamikrobien kasvua elintarvikkeessa. Vakuumi- ja suojakaasupakkausten säilyttäminen liian lämpimässä voi aiheuttaa hapettomia ja vähähappisia olosuhteita sietävien pilaajamikrobien tai ruokamyrkytyksiä aiheuttavien mikrobien lisääntymisen elintarvikkeessa. (Evira 2013b.)

Useimmat mikrobit viihtyvät neutraaleissa olosuhteissa (pH 6,6 – 7,5). Harvat mikrobit kasvavat, jos ympäristön happamuus on alle 4. Suurin osa elintarvikkeista on happamuudeltaan neutraaleja. Hedelmät, mehut, etikka ja viinit ovat happamia, jonka

vuoksi ne säilyvät muita elintarvikkeita paremmin. Hedelmien, mehujen, etikan ja viinien pilaajana toimivat lähinnä homeet. Homeisiin elintarvikkeiden happamuus ei vaikuta. (Evira 2013b.)

4 PINTAHYGIENIA

Pinta- ja puhtausnäytteitä otetaan siivouksen tason tarkistamiseksi ja siivousvälineiden ja laitteistojen kunnon ja toimivuuden seuraamiseksi. Näytteitä tulisi ottaa säännöllisesti eri pinnoilta, työvälineistä, laitteista, astioista, leikkuulaudoilta sekä myös henkilökunnan käsistä. (Evira 2012b.) Pintapuhtausnäytteitä voidaan ottaa erilaisilla menetelmillä. Voidaan käyttää kosketusmenetelmälajoja, epäsuoria menetelmiä, indikaattoritestejä tai vanutuppomenetelmää. Näytteet tulee ottaa puhdistetuilta pinnoilta työpäivän alussa. (Rahkio ym. 2013, 6.)

Kosketusmenetelmät perustuvat siihen, että bakteereille suotuisa kasvatusalusta, eli elatusaine, painetaan tutkittavaa pintaa vasten, jolloin bakteerit leviävät elatusaineelle. Tämän jälkeen kasvatusalustaa kasvatetaan tietty aika, jonka jälkeen bakteeripesäkkeet voidaan laskea alustalta. Elatusaineen tulee koskea kokonaan näytteenä olevaan pintaan, jotta saadaan edustava näytä. Tämän takia kosketusmenetelmät sopivat parhaiten tasaisille pinnoille. Kontaktimaljoilla voi tutkia joko kokonaisbakteeripitoisuutta tai jonkun tietyn bakteerin esiintymistä pinnalla. (Rahkio ym. 2013, 17 – 18.)

Indikaattoritestit eivät mittaa mikrobien määrää, vaan pinnoilla olevan lian määrää. Testin tulos näkyy värireaktiona, jonka nopeus ja voimakkuus ovat verrannollisia pinnalla olevan lian määrään. Indikaattoritestit ovat joko proteiinijäämätestejä tai glukoo-si/laktoosijäämätestejä. Nimensä mukaan proteiinijäämätestit reagoivat pinnalle jääneeseen proteiiniin ja glukoosi/laktoosijäämätestit reagoivat glukoosi- ja laktoosipitoiseen likaan. Kun käytetään indikaattoritestejä, tulee testi valita sen mukaan, millaista likaa pinnoilla voi olla. Proteiinijäämiä voi jäädä pinnalle, jos siinä käsitellään lihaa, kalaa tai maitoa. Glukoosi- tai laktoosipitoista likaa voi esiintyä pinnoilla joilla käsitellään hedelmiä, vihanneksia, mehuja tai maitotuotteita. (Rahkio ym. 2013, 16 – 17.)

ATP-testaus, eli luminometria, perustuu valon mittaamiseen. Luminometrin avulla elävissä soluissa oleva adenosiinitrifosfaatti (ATP) muutetaan valoksi. Syntyvän valon määrä on suoraan verrannollinen näytteessä olevan ATP:n määrään, joka kertoo näytteessä olevan soluperäisen lian määrän. Yleisimmin ATP-testeillä mitataan kokonais-ATP:ta, joka ei kerro mitä mikrobeja pinnalla kasvaa. (Rahkio ym. 2013, 13 – 16.)

5 ELINTARVIKKEIDEN MIKROBIOLOGISET VAATIMUKSET

Mikrobiologisella vaatimuksella määritetään tuotteen, elintarvike-erän tai prosessin hyväksyttävyyden, joka perustuu tiettyjen mikrobien pitoisuuteen tuotteessa tai prosessissa. Euroopan komissio on säätänyt asetuksen elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista 2073/2005/EU. Tätä asetusta kutsutaan mikrobikriteeriasetuksiksi. Asetus koskee toimijoita jotka valmistavat, myyvät, kuljettavat, jakelevat ja tarjoilevat tai ottavat ulkomailta vastaan elintarvikkeita, joille on mikrobikriteeriasetuksessa säädetty mikrobiologiset vaatimukset. Asetuksen mikrobiologiset vaatimukset tulee täyttyä myös tuotteen viimeisenä käyttöpäivänä. (Mikrobikriteeriasetus 2073/2005/EU.)

Mikrobiologiset vaatimukset koostuvat mikrobista, elintarvikeluokasta, analyysimenetelmästä ja elintarvikeketjun kohdasta. Vaatimukset voidaan jakaa elintarvikkeen turvallisuutta koskeviin vaatimuksiin ja prosessin hygieniää koskeviin vaatimuksiin sen mukaan, onko tuote saatettu jo markkinoille. (Evara 2009a, 12.) Elintarvikkeen turvallisuutta koskevia vaatimuksia sovelletaan markkinoille saatettuihin tuotteisiin ja prosessin hygieniää koskevat vaatimukset osoittavat tuotantoprosessin hygieenisen toimivuuden. Prosessin hygieenisyyttä koskevissa vaatimuksissa elintarvikkeelle asetetaan viitteellinen kontaminaatioarvo, joka ei saa ylittyä. (Mikrobikriteeriasetus 2073/2005/EU.)

Elintarvikelain (23/2006) 20 §:n mukaan toimijoiden tulee laatia omavalvontasuunnitelma, jossa kuvataan toiminnan kriittiset pisteet, joissa elintarvikkeeseen voi liittyä terveysvaara. Toimijoiden tulee omavalvontasuunnitelman yhteydessä laatia myös näytteenotto- ja tutkimussuunnitelma. Näytteenottosuunnitelmassa määritellään näytteenottotiheys ja näytteistä tehtävät tutkimukset. Näytteitä otetaan prosessihygienian ja elintarvikehygieenisten vaatimusten sekä elintarvikehuoneiston ja laitteistojen puh-

tauden varmistamiseksi. Vähittäismyynti ja tarjoilupaikeissa näytteenotto painottuu pintapuhtausnäytteisiin. Elintarvikenäytteitä on otettava, jos yritykset valmistavat tai käsittelevät helposti pilaantuvia elintarvikkeita. Helposti pilaantuvia elintarvikkeita ovat mm. kalat, munavalmisteet, maitovalmisteet, lihavalmisteet ja pilkotut kasvikset. Näin ollen myös salaattien valmistaminen ja sämpylöiden täyttäminen ovat helposti pilaantuvien elintarvikkeiden käsittelyä. (Evira 2009a, 8 – 11.)

6 ELINTARVIKKEIDEN SÄILYVYYSTUTKIMUKSET

6.1 Yleistä säilyvyystutkimuksista

Elintarvikkeiden säilyvyysaika vaihtelee huomattavasti eri tuotteiden välillä. Tämän takia tuotteille ei ole määritetty tiettyjä säilyvyysaikoja, vaan elintarvikkeen säilyvyyden varmistaminen myyntiajan loppuun asti on elintarvikkeen valmistajan vastuulla. Elintarvikkeen säilyvyyden varmistamiseksi tehdään säilyvyystutkimuksia. Tutkimuksiin tulee sisältyä mikrobiologisten tutkimusten lisäksi aistinvaraista arviointia ja fyysikaalis-kemiallisia tutkimuksia, kuten elintarvikkeen pH ja suolapitoisuus. Tutkimuksissa tulee ottaa huomioon elintarvikkeen varastointi- ja tuotanto-olosuhteet sekä aiottu myyntiaika. (Evira 2009, 10 – 11.)

Elintarviketeollisuusliitto ry:n, Päivittäistavarakauppa ry:n ja Suomen Kalakauppialiitto ry:n Helposti pilaantuvien pakattujen kalojen ja kalajalosteiden säilyvyysmerkinnät ja säilyvyyden varmistaminen –julkaisussa (2009) suositellaan pakattujen kalatuotteiden säilyvyystutkimuksissa tutkittavaksi *Listeria monocytogenes*- ja *Clostridium botulinum* -bakteerien kasvuedellytyksiä. (Elintarviketeollisuusliitto ry ym. 2009, 3.) Tämän lisäksi Evira suosittelee, että kylmäsavustetuista ja graavisuolatuista kalatuotteista tutkitaan *Staphylococcus aureus*, enterobakteerit, ja kokonaisbakteeripitoisuus. Eviran mukaan munatuotteista olisi hyvä tutkia *Staphylococcus aureus*, enterobakteerit, salmonella ja kokonaisbakteeripitoisuus. (Evira 2002, 14 – 16.) Alaluvuissa 6.1 – 6.5 on kerrottu tarkemmin bakteereista, joita suositellaan tutkittavaksi kala- ja munatuotteiden säilyvyystutkimuksissa.

6.2 Kala- ja munatuotteista tutkittavat bakteerit

6.2.1 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes kuuluu listeria-sukuun. Listeria-sukuun kuuluu *Listeria monocytogenesin* lisäksi viisi muuta bakteerilajia. *Listeria monocytogenes* on listeria-suvun ainoa ihmisille vaarallinen laji. *Listeria monocytogenes* on ympäristön yleinen bakteeri. Sitä esiintyy mm. maaperässä, eläinten ulosteissa, vesissä ja jätevesissä. Elintarvikkeita, joissa *listeria monocytogenesiä* esiintyy, ovat maito, liha, kala, vihannekset sekä niistä valmistetut tuotteet. Erityisesti riskielintarvikkeita ovat pitkään säilyvät sellaisenaan syötävät tuotteet, kuten tyhjiöpakatut kalatuotteet. *Listeria monocytogenes* tartunnat eivät ole kovin yleisiä, mutta sitäkin vaarallisempia. Listerioosin kuolleisuus on 20 – 40 %. (Korkeala 2007, 58 – 62.) Listerioosi voi ilmetä vastustuskyvyltään heikentyneellä henkilöllä aivokalvontulehduksena tai verenmyrkytyksenä. Terveellä henkilöllä *Listeria monocytogenes* voi aiheuttaa normaaleja ruokamyrkytysoireita, kuten vatsakipuja, pahoinvointia, ripulia ja kuumetta. (Korkeala 2007, 58 – 62.)

Listeria monocytogenes säilyy poikkeuksellisen hyvin ääriolosuhteissa. *Listeria monocytogenes* säilyykin hyvin elintarvikkeiden valmistustiloissa, mutta tuhoutuu 72 °C:ssa. Elintarviketeollisuuden kannalta ongelmallista on myös se, että *Listeria monocytogenes* pystyy lisääntymään jääkaappilämpötilassa. (Evara 2010, 56.) *Listeria monocytogenesin* hyvän säilymisen vuoksi toimintojen eriyttäminen on tärkeä osa *Listeria monocytogenesin* torjuntaa. Toimintojen eriyttämisen lisäksi hygieeniset työtavat ja säännöllinen laitteiden ja pintojen pesu on tärkeää. (Korkeala 2007, 58 – 62.)

6.2.2 *Clostridium botulinum*

Clostridium botulinum on yleinen maabakteeri. *Clostridium botulinum* koostuu monista bakteerilajeista jotka tuottavat botulinumtoksiinia. *Clostridium botulinum* –kannat jaetaan ominaisuuksien mukaan neljään eri ryhmään. *Clostridium botulinum* leviää maaperästä eläinten suolistoon ja kuolleen eläimen raadosta *Clostridium botulinum* voi levitä muihin eläimiin. Osa *Clostridium botulinum* –kannoista esiintyy vesien pohjasedimenteissä, josta ne leviävät kalojen suolistoon ja siitä edelleen toisiin kaloihin ja kaloja syöviin eläimiin ja ihmisiin. *Clostridium botulinum* kasvaa vain hapetto-

missa olosuhteissa. *Clostridium botulinum* voi siis kasvaa esimerkiksi säilykkeissä ja tyhjiöpakatuissa tuotteissa. *Clostridium botulinum* ja sen itiöt tuhoutuvat autokaalvi-kuumennuksessa. (Korkeala 2007, 38 – 46.)

6.2.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus leviää elintarvikkeisiin yleensä ihmisten kautta. *Staphylococcus aureus* esiintyy monen ihmisen nenässä, iholla ja suussa luonostaan. Kontaminaatio voi tapahtua esimerkiksi yskimisen, aivastamisen tai huonon käsihygienian takia. *Staphylococcus aureus* pystyy kasvamaan sekä hapettomissa, että hapellisissa olosuhteissa. *Staphylococcus aureuksen* estämisessä on tärkeää muistaa hygieeniset työtavat. Tämän lisäksi on tärkeää huolehtia oikeista säilytys-, tarjoilu- ja myyntilämpötiloista.

6.2.4 Enterobakteerit

Enterobakteerit ovat yleisiä ympäristöbakteereita, joita esiintyy esimerkiksi ulosteissa ja maaperässä. Enterobakteereihin kuuluu myös ruokamyrkytysbakteereja, kuten salmonellat ja *Escherichia coli*. Enterobakteerit kuolevat ruokaa kuumennettaessa. Tämän vuoksi kypsässä ja hygieenisesti käsitellyssä ruoassa ei esiinny enterobakteereja. Kypsään ruokaan enterobakteerit joutuvat yleensä elintarvikkeen käsittelijän huonon käsihygienian tai muun käsittelyhygienian takia. Liian korkeat säilytyslämpötilat ja riittämätön jäähdytys edesauttavat enterobakteerien lisääntymistä. (Karreinen 2012, 6.)

6.2.5 Kokonaisbakteeripitoisuus

Elintarvikkeen kokonaisbakteeripitoisuus kertoo näytteessä olevien bakteerien, homeiden ja hiivojen kokonaismäärän. Kokonaisbakteeripitoisuutta tutkittaessa ei saada tietää mitä mikrobeja näytteessä on. Kokonaisbakteeripitoisuus kuvaa siis elintarvikkeen mikrobiologista yleislaatuja. Elintarvikkeiden vanheneminen ja väärässä lämpötilassa säilyttäminen lisää elintarvikkeen kokonaisbakteeripitoisuutta. Myös elintarvikkeiden epähygieeninen käsittely lisää elintarvikkeen kokonaisbakteeripitoisuutta. (Borgström 2013, 8)

7 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

Tämän opinnäytetyön tutkimuskohteena oli kolme Etelä-Savossa sijaitsevaa palvelupistettä. Palvelupisteistä kaksi sijaitsi Mikkelissä ja yksi Savonlinnassa. Kaikilla palvelupisteillä on myynnissä raakoja ja kypsiä liha- ja kalatuotteita sekä täytettyjä leipiä. Mikkelissä sijaitsevilla palvelupisteillä valmistetaan itse majoneesipohjaisia lisukkeita. Tarkoituksena oli tutkia palvelupisteiden hygieenisyyttä ja kalatuotteiden säilyvyyttä.

7.1 Näytteenotto

Tutkimusta varten palvelupisteiltä otettiin pintahygienianäytteitä ja elintarvikenäytteitä. Näytteet otettiin helmikuun ja maaliskuun 2014 aikana. Elintarvikenäytteet otettiin kalatuotteista ja majoneesipohjaisista lisukkeista.

7.1.1 Pintahygienianäytteet

Pintahygienianäytteiden ottopaikoiksi valittiin palvelupisteiden omavalvontasuunnitelman mukaiset näytteenottopaikat, jotka ovat vaaka, pöytäpinnat, leikkuulaudat ja astiat. Näytteet otettiin pinnoilta, joissa on käsitelty kalaa ja tämän lisäksi tiskiltä ja kalavaa'alta. Näytteet otettiin aamulla, samaan aikaan kun ensimmäinen työntekijä saapui töihin. Pintahygienianäytteet otettiin palvelupisteeltä yksi 5.3.2014, palvelupisteeltä kaksi 18.2.2014 ja palvelupisteeltä kolme 19.2.2014.

Jokaisesta kohteesta otettiin viisi näytettä kosketusmenetelmällä sekä viisi näytettä ATP-menetelmällä. Molemmilla menetelmillä otettiin näytteet samoista välineistä ja samoilta pinnoilta. ATP-menetelmässä käytettiin SystemSURE Plus-luminometria ja Ultrsnap-näytteenottotikkuja. Näytteenotto suoritettiin Net-Foodlab Oy:n Pikaohje hygiene SystemSUREPlus-luminometrille -ohjeen mukaisesti (Net-Foodlab Oy 2013). Ennen näytteenottoa Ultrsnap-näytteenottotikkua ravistettiin muutaman sekunnin ajan, jotta näytteenottotikku oli varmasti kostea. Tämän jälkeen näytteenottotikku otettiin pois kotelosta ja sillä siveltiin 10 x 10 cm alue kahteen suuntaan. Tämän jälkeen näytteenottotikku laitettiin takaisin koteloon ja vapautettiin reagenssit tikun yläpäästä. Tämän jälkeen näytteenottotikkua ravistettiin viiden sekunnin ajan ennen lu-

minometriin laittamista. Jos luminometrin ilmoittama tulos oli huono, otettiin heti uusintanäyte samalta pinnalta, hiukan eri kohdasta. Näytettä otettaessa käytettiin kertakäyttökäsineitä.

Kosketusmenetelmän näytteet otettiin Hygicult-kontaktiveyillä. Kontaktilevyn kosketuspinta painettiin 3 – 5 sekunniksi näytteenottopintaa vasten. Yhdellä Hygicult-kontaktiveyillä otettiin kaksi näytettä samasta pinnasta, hiukan eri kohdilta. Näytteenoton aikana käytettiin kertakäyttökäsineitä.

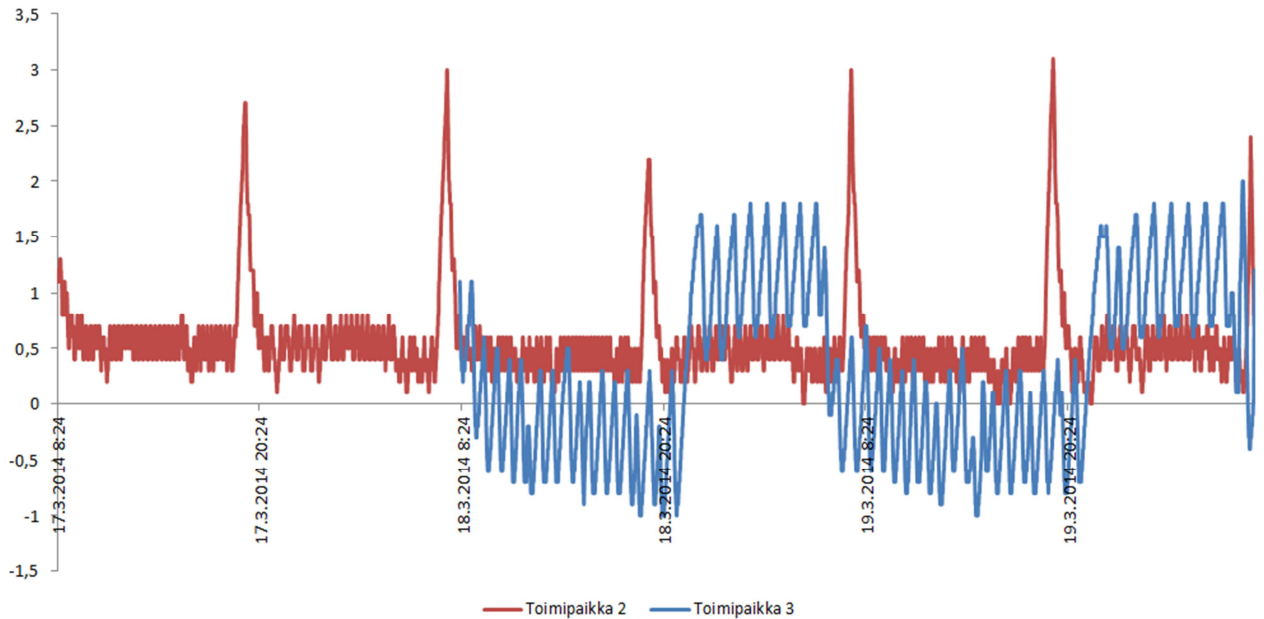
7.1.2 Säilyvyyskokeiden näytteet

Mikrobiologisten analyysien näytteet otettiin kalatuotteista ja majoneesipohjaisista lisukkeista. Jokaiselta palvelupisteeltä otettiin kaksi näytettä. Kaksi näytteistä oli majoneesipohjaisista lisukkeista ja neljä näytettä kalatuotteista. Majoneesipohjaiset lisukkeet olivat katkarapuherkku ja lohimerkku. Majoneesipohjaiset lisukkeet olivat palvelupisteillä valmistettuja. Katkarapuherkkuun kuuluu katkaravut, majoneesi ja ananas, kun taas lohimerkkuun kuuluu kylmäsavulohi, kurkkumajoneesi ja raejuusto. Näiden lisäksi otettiin kaksi kylmäsavulohinäytettä ja kaksi graavilohinäytettä. Palvelupisteillä myytävät graavi- ja kylmäsavulohet tulevat palvelupisteille tyhjiöpakkauksissa.

Käytännön syistä ensimmäisen palvelupisteen näytteet haettiin edellisenä päivänä. Tällöin otettiin pakkauksessa olevaa kylmäsavu- ja graavikalaa. Pakkaukset avattiin ensimmäisenä tutkimuspäivänä ja ne säilytettiin Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriossa, näytteille tarkoitettussa jääkaapissa. Näytteet säilytettiin kuljetuksen ajan kylmälaukussa, jossa oli myös jäätä. Ensimmäisen yön ajan näytteitä säilytettiin kylmälaukussa jäiden kanssa, jonka jälkeen ne siirrettiin Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratorion jääkaappiin. Kylmälaukun ilman lämpötila pysyi kuljetuksen ja säilytyksen ajan alle 2 °C:een.

Muut näytteet otettiin palvelumyyntipisteestä palvelumyyntipisteen työntekijän toimesta. Näytteet otettiin palvelupisteen välineillä ja palvelupisteen muovisiin rasioihin. Viimeisen myyntipäivän näyte jätettiin palvelupisteen kalakylmiöön odottamaan viimeistä myyntipäivää. Näytteiden kanssa kalakylmiöön jätettiin myös Ebro EBI 20 –

loggeri, joka ohjelmoitiin mittaamaan lämpötila minuutin välein. Toimipaikkojen kalakylmiöiden lämpötilat vaihtelivat $-1 - +3,0$ °C:een välillä. Kuvassa 1 on esitetty palvelupisteiden 2 ja 3 lämpötilan vaihtelu 17.3 – 21.3. Palvelupisteeltä 3 haettiin ensimmäiset näytteet 18.3., joten heidän kalakylmiön lämpötilan mittaus alkoi vasta silloin.



KUVA 1. Toimipaikkojen 2 ja 3 kalakylmiöiden lämpötilan vaihtelu

Palvelupisteiden tuotteiden myyntiaika vaihtelee tuotteen mukaan. Eri palvelupisteillä samojen tuotteiden myyntiajat vaihtelivat. Taulukossa 1 on esitetty tutkittujen tuotteiden ensimmäiset ja viimeiset myyntipäivät, sekä alkuperäisten pakkauksien mukaiset tuotteiden viimeiset myyntipäivät. Ensimmäiseltä palvelupisteeltä otetut näytteet koostettiin kahden eri pakkauksen kaloista, koska yhdessä pakkauksessa oli liian vähän näytettä. Erehdyksissä pakkaukset olivat eri eristä. Lisäksi toisen graavilohipakkauksen viimeinen käyttöpäivä sattui viimeistä käyttöpäivää seuraavaksi päiväksi. Taulukossa 1 lohiherkun kohdalla oleva viimeinen käyttöpäivä on siihen käytetyn lohien viimeinen käyttöpäivä. Katkarapujen viimeistä käyttöpäivää ei katsottu, koska katkarapuherkkuun käytetään pakastettuja katkarapuja.

TAULUKKO 1. Näytteiden ensimmäinen ja viimeinen myyntipäivä, sekä viimeinen käyttöpäivä

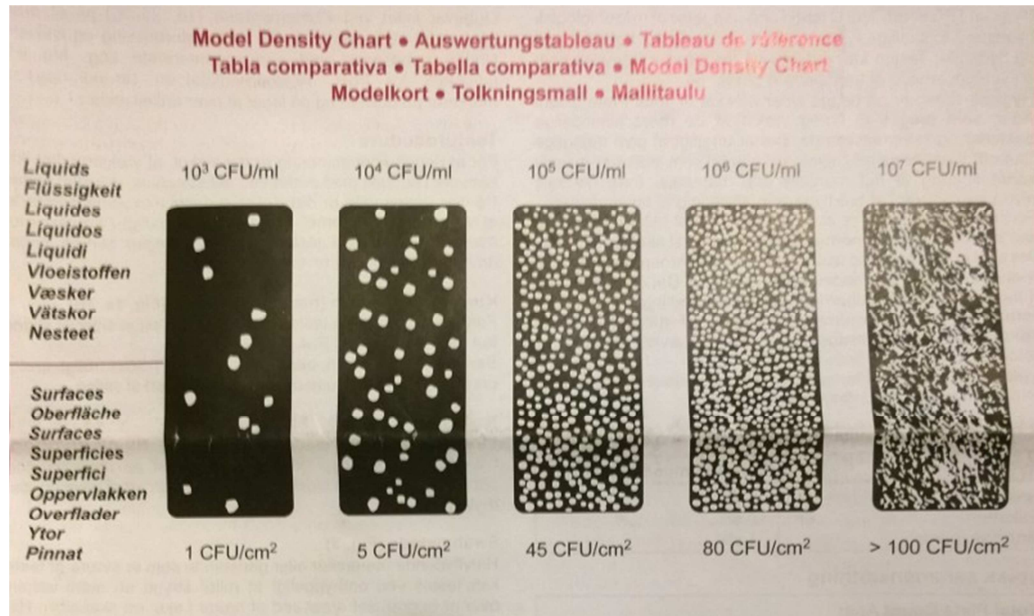
Näyte	Ensimmäinen myyntipäivä	Viimeinen myyntipäivä	Viimeinen käyttöpäivä
Graavilohi, Puruveden savukala	10.3.2014	13.3.2014	19.3.2014
			12.3.2014
Kylmäsavustettu kirjohifile, Puruveden savukala	10.3.2014	13.3.2014	19.3.2014
			26.3.2014
Graavilohi, Finnish freshfish (Norja)	17.3.2014	20.3.2014	25.3.2014
Kylmäsavulohi, Kuopion kalatuote	18.3.1014	20.3.2014	25.3.2014
Lohiherkku	18.3.2013	20.3.2014	25.3.2014
Katkarapuherkku	17.3.1014	20.3.2014	Päiväystä ei katsottu

7.2 Tutkimusmenetelmät

7.2.1 Pintahygienianäytteet

Tässä työssä pintahygienian mittaamiseen käytettiin kosketusmenetelmää ja ATP-menetelmää. ATP-menetelmä on pikamenetelmä, mikä tarkoittaa, että siitä saadaan tulos heti näytteenoton yhteydessä. Kosketusmenetelmänä käytettiin kaupallisia Hygicult-kontaktilevyjä. Hygicult-kontaktilevyihin on valettu molemmille puolille TPC-agar, joka painetaan näytepintaa vasten. Yhdellä Hygicult-kontaktilevyllä voi ottaa kaksi näytettä. Hygicult-kontaktilevyjen kasvatuslämpötilaksi valittiin huoneenlämpö (22 °C), joten näytteenoton jälkeen kontaktilevyjä inkuboitiin viisi vuorokautta ennen tulosten lukua. Hygicult-kontaktilevyjen tulokset luetaan vertaamalla levyillä olevien mikrobipesäkkeiden kasvutiheyttä Hygicult-kontaktilevyjen käyttöohjeessa olevaan mallitauluun. Kuvassa 2 on esitetty Hygicult-kontaktilevyjen käyttöohjeesta löytyvä mallitaulu, johon Hygicult-kontaktilevyjä verrattiin. Mallilevyn yläpuolella oleva pi-

toisuus kuvaa näytteen mikrobipitoisuutta, jos näyte on otettu nesteestä. Tässä työssä käytettiin mallilevyn alapuolella olevaa pitoisuutta, koska näyte otettiin pinnalta.



KUVA 2. Hygicult-kontaktilevyn mallitaulu (Immonen 2014)

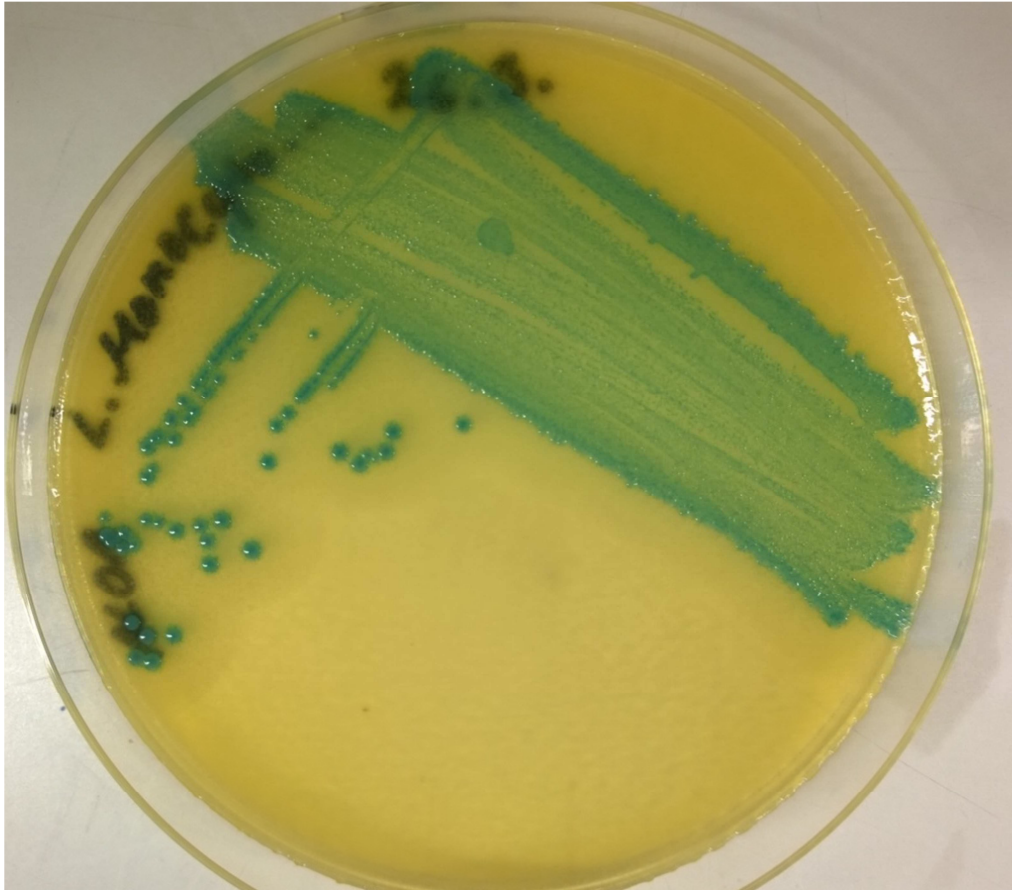
7.2.2 Kalatuotteiden säilyvyyskokeet

Elintarvikenäytteistä tutkittiin aistinvarainen arvio, kokonaisbakteeripitoisuus, enterobakteerit sekä *Listeria monocytogenes*. Näytteitä tutkittiin sekä ensimmäisenä, että viimeisenä myyntipäivänä. Näytteet tutkittiin Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriossa opinnäytetyön tekijän toimesta.

Aistinvaraisessa arvioinnissa ei käytetty standardia. Aistinvaraisesti näytteistä arvioitiin haju ja ulkonäkö. Kokonaisbakteeripitoisuus määritettiin standardin ISO 4833 mukaan. Enterobakteeripitoisuus määritettiin NMKL:n menetelmän No: 144/2000 mukaan. *Listeria monocytogenes* määritettiin standardien ISO 11290-1:1996 ja ISO 12290-2:1998 mukaan. Standardia ISO 11290-1:1996 käytettiin *Listeria monocytogenes* osoittamiseen näytteestä. Standardia 12290-2:1998 käytettiin puolestaan *Listeria monocytogenes* -pitoisuuden selvittämiseen. Standardista 12290-2:1998 poikettiin sen verran, että Eviran 3477/2-menetelmäohjeen mukaan ensilaimennokseen käytettiin peptonisuolaliuosta, eikä puskuroitua peptonivettä (Evira 2009b).

Enterobakteeripitoisuuden, kokonaisbakteeripitoisuuden ja *Listeria monocytogenes* lukumäärän määrittämisessä näytteestä tehtiin laimennoksia, jotka viljeltiin agar-maljoille. Maljoja kasvatettiin standardin mukainen aika. Tämän jälkeen maljoilla kasvavat pesäkkeet laskettiin. Enterobakteeripitoisuuden, ja kokonaisbakteeripitoisuuden määrittämisessä käytettiin maljavalutekniikkaa, kun taas *Listeria monocytogenes* lukumäärän määrittämiseen käytettiin pintasiirrostusta. Maljavalussa näytettä pipetoidaan petrimaljalle, jonka jälkeen näytteen päälle valetaan agar. Pintasiirrostuksessa näytettä pipetoidaan jo valmiiksi valetun agarin pinnalle, johon se levitetään esimerkiksi kolmiosauvan avulla. Enterobakteeripitoisuuden määrittämisessä käytettiin VRBGA-agaria, kokonaisbakteeripitoisuuden määrittämisessä PCA-agaria ja *Listeria monocytogenes* määrittämisessä LMBA- ja ALOA-maljoja.

Listeria monocytogenes osoittamisen periaate on, että näyte rikastetaan kaksivaiheisesti, ja esirikaste sekä rikaste viljellään maljoille ja inkuboidaan. Tämän jälkeen varmistetaan, ovatko maljoilla kasvavat pesäkkeet *Listeria monocytogenes* pesäkkeitä. Työssä käytettiin LMBA- ja ALOA-maljoja. *Listeria monocytogenes* pesäkkeet varmistettiin vertaamalla niitä puhtaaseen kantaan ja API-testillä. Varmistaminen oli vaikeaa, koska *Listeria monocytogenes* -määrittäystä ei ole aiemmin tehty Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriossa. Varmistusta varten viljeltiin *Listeria monocytogenes* puhdaskanta määrittämisessä tarvittaville agareille (ALOA ja LMBA), jotta nähtiin, millaisina pesäkkeinä *Listeria monocytogenes* kasvaa näillä agareilla. Kuvassa 3 on esitetty *Listeria monocytogenes* puhdas kanta ALOA-agarilla.



KUVA 3. *Listeria monocytogenes* ALOA-agarilla (Immonen 2014)

API-testinä käytettiin API Staph –testiä, joka on tarkoitettu staphylokokkien ja enterobakteerien tunnistamiseen. Olemassa on myös API-testi, joka on tarkoitettu listerioiden tunnistamiseen, API Listeria, mutta sellaista ei ollut saatavissa. API-testin toimintaperiaate on, että bakteerin tuottamat entsyymit ja aineenvaihduntatuotteet muuttavat testiliuskan taskuissa olevien reagenssien värin. API-testiä varten näytteistä ja puhtaasta kannasta tehtiin puhdasviljelmät PCA-agarille. Bakteerimassaa sekoitettiin testin mukana tulleeseen liuokseen. Tämän jälkeen liuosta pipetoitiin API-testin taskuihin ja kahteen taskuun lisättiin mineraaliöljyä ohjeen mukaan. Testiliuskat inkuboitiin 37 °C:ssa noin 24 tuntia. Inkuboinnin jälkeen taskuihin lisättiin reagensseja ja annettiin niiden vaikuttaa 10 minuuttia. Tämän jälkeen näytteiden ja puhtaan kannan värireaktioita verrattiin toisiinsa. Kuvassa 4 on esitetty miltä *Listeria monocytogenes*in puhdaskanta näyttää API Staph-testiliuskalla.



KUVA 4. *Listeria monocytogenes* puhdaskanta API Staph-testiliuskalla (Immonen 2014)

API-testi perustuu bakteerien entsyymeihin ja aineenvaihduntatuotteisiin. Sama bakteeri aiheuttaa API-testiliuskassa samanlaisen reaktion. Näin ollen, jos API-testi näytti jollekin pesäkkeelle eri reaktiota kuin *Listeria monocytogenes* puhtaalle kannalle, ei pesäke ollut *Listeria monocytogenesiä*. Jos näyte aiheutti saman värireaktion, kuin *Listeria monocytogenes* ei silti voi varmasti sanoa, että kyseessä oli *Listeria monocytogenes*.

8 TULOKSET

Tässä luvussa on esitetty pintahygienia tulokset sekä kalatuotteiden mikrobiologiset tulokset. Pintahygienianäytteiden ja mikrobiologisten näytteiden tulokset on esitetty eri luvuissa. Tulosten koostamisessa käytettiin apuna Microsoft Office Excel 2010 –ohjelmistoa. Kaikkien mikrobiologisten tulosten laskemisessa ja merkitsemisessä käytettiin Eviran Mikrobiologisten tulosten laskeminen –toimintaohjetta (Evira 2011).

8.1 Pintahygienianäytteet

Taulukossa 2 on esitetty tätä opinnäytetyötä varten otetut ATP-menetelmän ja Hygicult-kontaktilevyjen avulla saadut tulokset. Taulukossa esitetyt ATP-menetelmällä otetut tulokset, jotka ovat yli 50 RLU, ovat kahden näytteenottokerran keskiarvoja. Taulukossa on myös esitetty suluissa millaisesta materiaalista astiat on valmistettu, tai mitä elintarviketta leikkuulaudalla käsitellään. Kaikki leikkuulaudat olivat muovisia.

TAULUKKO 2. Pintahygienianäytteiden tulokset

Palvelupiste	Näytteenottokohde	ATP (RLU)	Hygicult (pmy/cm ²)
Palvelupiste 1	Vaaka	46	<1
	Tiski	30	<1
	Astia (metallinen)	0	<1
	Leikkuulauta (kala)	216	<1
	Leikkuulauta (kala)	690	<1
Palvelupiste 2	Vaaka	12	Homekasvustoa
	Tiski	5	<1
	Leikkuulauta (kala)	133	<1
	Leikkuulauta (kala)	115	<1
	Astia (muovinen)	4	<1
Palvelupiste 3	Vaaka	127	45
	Tiski	114	5
	Astia (metallinen, kala)	16	<1
	Leikkuulauta (savukala)	394	<1
	Leikkuulauta (leikkele)	192	<1

Hygicult-kontaktilevyllä otetut tulokset olivat suurimmaksi osaksi alle 1 pmy/cm². Ainoastaan kolmannen palvelupisteen vaa'asta ja tiskistä tuli suurempi tulos. Hygicult-menetelmän raja-arvot on esitetty taulukossa 3. ATP-menetelmän tuloksissa oli suurempaa vaihtelua. Tulokset vaihtelivat välillä 0 – 785 RLU. Huonoimmat tulokset tulivat leikkuulaudoista. Lumninometrin valmistajan ohjeen mukaan ATP-

menetelmän tulos astioille ja leikkuulaudoille tulisi olla alle 30 RLU. ATP-menetelmän ja Hygicult-kontaktilevyjen numeroarvoja ei voi suoraan verrata toisiinsa, vaan niitä tulee tarkastella raja-arvojen kautta.

TAULUKKO 3. Hygicult-kontaktilevyn keittiöiden pintahygienian raja-arvot (Rahkio ym. 2013, 37)

Hyvä	<2 pmy/cm ²
Välttävä	2 – 10 pmy/cm ²
Huono	>10 pmy/cm ²

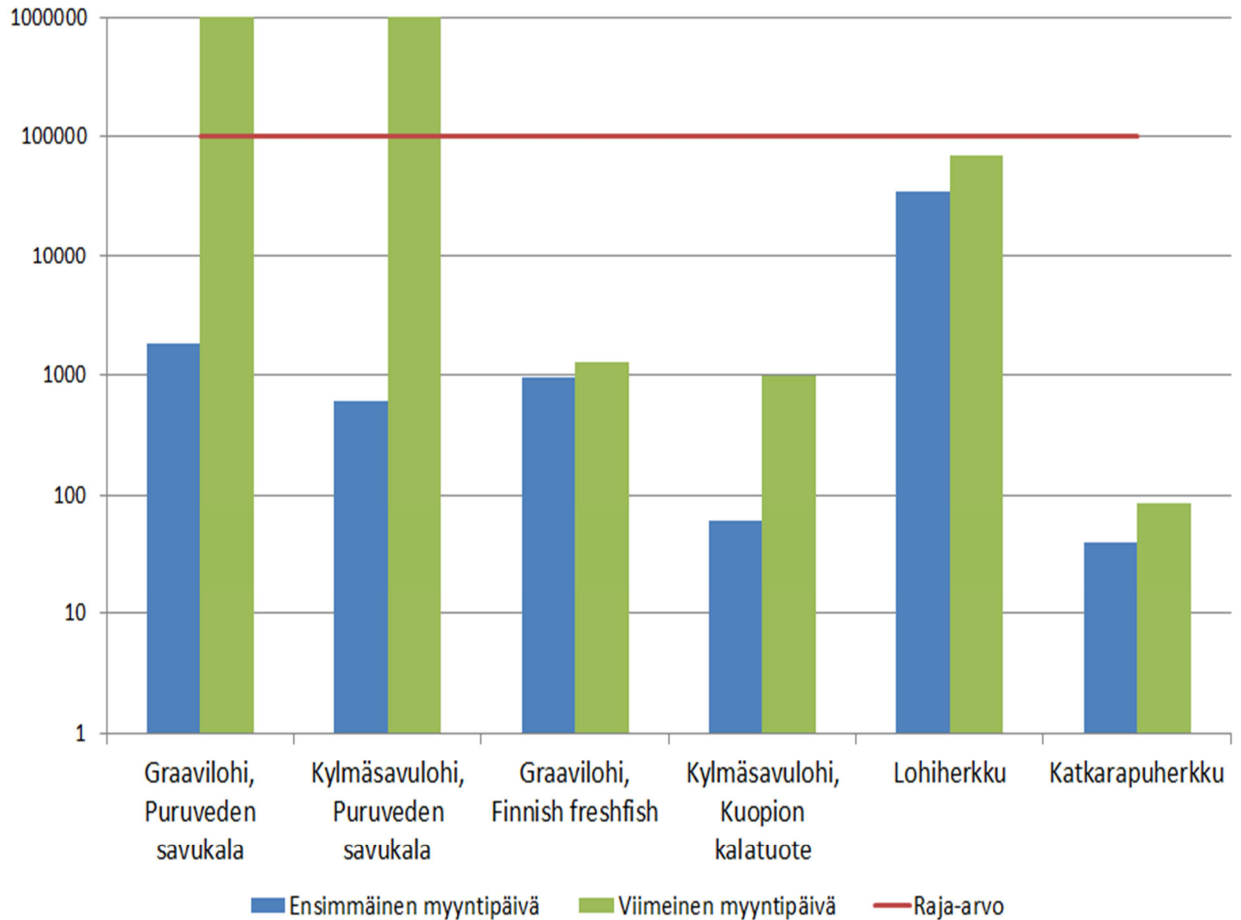
8.2 Mikrobiologiset analyysit

Ennen mikrobiologisten analyysien aloittamista, näytteet tutkittiin aistinvaraisesti. Aistinvaraisen arvion mukaan suurin osa tuotteista oli moitteettomia sekä ensimmäisenä, että viimeisenä käyttöpäivänä. Ainostaan Puruveden savukalan graavilohen, jonka pakkauksen viimeinen käyttöpäivä oli 19.3.2014, liha oli vaaleaa viimeisenä myyntipäivänä. Yhdessä näytteessä ei havaittu vierasta hajua.

8.2.1 Kokonaisbakteeripitoisuus

Kuvassa 5 on esitetty näytteiden kokonaisbakteeripitoisuudet ensimmäisenä ja viimeisenä myyntipäivänä logaritmiasteikolla. Kuvassa on esitetty punaisella viivalla Eviran asettama ohje-arvo tyhjiöpakatuille graavi- ja kylmäsavulohille. Eviran asettama ohje-arvo on 100 000 pmy/g (Evira 2002, 34). Näytteiden kokonaisbakteeripitoisuus ei saisi ylittää tätä arvoa.

Kokonaisbakteeripitoisuuden määrittämistä varten näytteistä tehtiin laimennokset 10^{-1} – 10^{-5} . Puruveden savukalan viimeisen myyntipäivän näytteiden suurimman laimennoksen malja oli täynnä pesäkkeitä, joten niitä ei voitu laskea. Näin ollen Puruveden savukalan näytteiden kokonaisbakteeripitoisuus oli yli 30 000 000 pmy/g. Katkarapuherkun ensimmäisen myyntipäivän kokonaisbakteeripitoisuus oli alle 40 pmy/g, mikä on kuvassa 5 esitetty 40 pmy/g.



KUVA 5. Näytteiden kokonaisbakteeripitoisuudet ensimmäisenä ja viimeisenä myyntipäivänä

8.2.2 Enterobakteerit

Taulukossa 4 on esitetty näytteiden enterobakteeripitoisuudet tuotteiden ensimmäisenä ja viimeisenä myyntipäivänä. Näytteiden enterobakteeripitoisuudet olivat hyvin pieniä, alle 40 pmy/g. Suurin osa näytteiden enterobakteeripitoisuudesta jäi alle määrittämissä rajan, joka on 10 pmy/g. Elintarvikenäytteiden enterobakteeripitoisuutta voidaan pitää hyvänä, jos se on alle 100 pmy/g (Evira 2002, 34).

TAULUKKO 4. Näytteiden enterobakteeripitoisuudet

Näyte	Enterobakteeripitoisuus ensimmäisenä myyntipäivänä (pmy/g)	Enterobakteeripitoisuus viimeisenä myyntipäivänä (pmy/g)
Graavilohi, Puruveden savukala	< 10	< 10
Kylmäsavustettu kirjolohifile, Puruveden savukala	< 10	Todettu, < 40
Graavilohi, Finnish fresh-fish (Norja)	< 10	< 10
Kylmäsavulohi, Kuopion kalatuote	< 10	< 10
Lohiherkku	< 10	< 10
Katkarapuherkku	< 10	< 10

8.2.3 *Listeria monocytogenes*

Taulukossa 5 on esitetty tutkittujen näytteiden *Listeria monocytogenes* –pitoisuudet näytteiden ensimmäisenä ja viimeisenä myyntipäivänä. Näytteiden *Listeria monocytogenes* –pitoisuudet olivat hyvin pieniä. Puruveden savukalan kylmäsavulohessa, lohiherkussa ja katkarapuherkussa ei todettu *Listeria monocytogenes*ä ollenkaan. Euroopan Unionin komissio on mikrobikriteeriasetuksessa (2073/2005) määrittänyt, että sellaisenaan syötävien tuotteiden *Listeria monocytogenes* -pitoisuus ei saa myyntiaikana ylittää arvoa 100 pmy/g. Kaikkien näytteiden *Listeria monocytogenes* –pitoisuus jäi tämän alle. Imeväisille tarkoitettujen, sellaisenaan syötävien elintarvikkeiden *Listeria monocytogenes* –pitoisuuden raja-arvo on ei todettu/25g.

TAULUKKO 5. Näytteiden *Listeria monocytogenes* -pitoisuudet

Näyte	Ensimmäinen myyntipäivä	Viimeinen myyntipäivä
Graavilohi, Puruveden savukala	Todettu, < 10 pmy/g	Todettu, < 10 pmy/g
Kylmäsavustettu kirjolohi-file, Puruveden savukala	Ei todettu	Ei todettu
Graavilohi, Finnish fresh-fish (Norjalainen lohi)	Ei todettu	Todettu, < 10 pmy/g
Kylmäsavulohi, Kuopion kalatuote	Todettu, < 10 pmy/g	Todettu, < 10 pmy/g
Lohiherkku	Ei todettu	Ei todettu
Katkarapuherkku	Ei todettu	Ei todettu

9 TULOSTEN TULKINTA

Tässä luvussa on avattu tutkimuksessa saatuja tuloksia. Pintahygienianäytteiden ja mikrobiologisten analyysien tulokset on esitetty eri kappaleissa. Tuloksia tarkastellessa tulee ottaa huomioon opinnäytetyön tekijän kokenemattomuus näytteenotossa ja laboratorioanalyyseissa.

9.1 Pintahygienianäytteet

ATP-menetelmä antoi kaikkien toimipaikkojen leikkuulaudoille selvästi huonon tuloksen. Huonot tulokset eivät tulleet yllätyksenä, koska leikkuulaudat olivat kuluneita, joissain paikoissa todella kuluneita (kuva 6). Eräässä toimipaikassa tuoreille kaloille käytettävä valkoinen leikkuulauta oli värjäytynyt harmaaksi, mikä tarkoittaa, että leikkuulaudan pinta on niin kulunut, ettei se enää puhdistu pesukoneessa. Tästä leikkuulaudasta ei otettu näytettä, koska voidaan suoraan sanoa, että kyseinen leikkuulauta ei täytä lainsäädännön vaatimuksia.



KUVA 6. Erään palvelupisteen leikkuulaudan pinta (Immonen 2014)

ATP-menetelmällä ja Hygiculteilla otetut testit korreloivat toisiaan hyvin muuten paitsi leikkuulautojen kohdalla. ATP-näytteenottotikuilla näytteen saa otettua paremmin myös naarmujen pohjalta, jonne Hygicult-kontaktilevyn agarpinta ei yllä. Kuluneiden leikkuulautojen naarmujen pohjalle jää helposti likaa, joka ei lähde pois pesussa. Tämä lika on hyvä kasvualusta mikrobeille. Tämän takia leikkuulaudat tulee hioa tai vaihtaa tarpeeksi usein. Valituilla palvelupisteillä käytetään pintahygienianäytteiden ottoon proteiinijäämätestejä. Erään työntekijän mukaan leikkuulaudat käytetään hionnassa, kun proteiinijäämätestien tulokset huononevat. Kuten kosketusmenetelmällä, proteiinijäämätesteilläkään ei saa otettua näytettä hyvin leikkuulautojen naarmujen pohjalta.

Toisen palvelupisteen kalavaa'asta otettua kosketusmenetelmä näytettä ei voitu tulkit-
ta. Tämä johtui siitä, että Hygicult-kontaktilevyn agarpintaa peitti homekasvusto. Ho-
mekasvusto oli levinnyt koko kontaktilevylle, myös levyn toiselle puolelle. Kuvassa 7
on esitetty kalavaa'an Hygicult-näyte. Kalavaa'an ATP-menetelmällä otetun näytteen
mukaan kalavaa'an pintahygienia oli hyvä.



KUVA 7. Palvelupisteen 2 kalavaa'an Hygicult-näyte (Immonen 2014)

Kolmannen palvelupisteen kalavaa'an pintahygieniatulos oli huono. Tämä kalavaaka
oli ainoa, jossa oli muovinen päällyys. Muovisen päällisen ja vaa'an väli oli silminnä-
hen likainen (kuva 8.) Työntekijöiden mukaan vaa'an puhdistus kuuluu siivousyrytyk-
selle. He eivät kuitenkaan tiedäneet puhdistetaanko vaaka vain suojuksen päältä, vai
myös vaa'an ja päällisen välistä. Muiden palvelupisteiden vaa'at olivat ruostumatonta
terästä. Muovi on ruostumatonta terästä huokoisempaa ja pehmeämpää materiaalia,
joten se on vaikeampi puhdistaa kuin ruostumaton teräs.

Kolmannen palvelupisteen tiskin pintahygieniatulos oli ATP-menetelmän mukaan
huono ja Hygicult-kontaktilevyjen mukaan välttävä. Jos välttäviä tuloksia tulee jatku-
vasti, tulee toimipaikassa ryhtyä toimenpiteisiin pintahygienian parantamiseksi. Koska
ATP-menetelmä näytti huonoa tulosta, olisi hyvä käydä yhdessä siivousyrytyksen
kanssa läpi, mistä huono tulos voi johtua ja millä tavalla tulosta voitaisiin parantaa.
Tiskin pintahygienianäyte otettiin läheltä kalavaakaa, jonka pintahygienia oli huono.
Kalavaa'an pintahygienian parantaminen voi parantaa myös tiskin pintahygieniaa.



KUVA 8. Palvelupisteen 3 vaa'an päällä oleva muovinen suojus (Immonen 2014)

9.2 Mikrobiologiset analyysit

Puruveden savukalan graavilohen ja kylmäsavulohen kokonaisbakteeripitoisuus viimeisenä myyntipäivänä oli paljon suurempi kuin Eviran asettama ohje-arvo (Evira 2002, 34). Tämän suuren ohje-arvon ylityksen selittää kuitenkin se, että Puruveden savukalan näytteitä säilytettiin liian lämpimässä. Puruveden savukalan näytteet säilytettiin Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratorion jääkaapissa, jonka lämpötila oli noin 5 °C:ta, vaikka kalatuotteet tulisi säilyttää 0 – 3 °C:ssa. Jääkaapin lämpötilaa ei saatu alemmas, ja ongelma ilmeni vasta, kun näytteitä laitettiin jääkaappiin. Graavilohen kokonaisbakteeripitoisuuteen vaikuttaa varmasti myös se, että Puruveden savukalan toisen graavilohipakkauksen viimeinen käyttöpäivä oli näytteiden tutkimista edeltävänä päivänä. Muiden näytteiden kokonaisbakteeripitoisuudet pysyivät Eviran asettaman ohje-arvon alapuolella.

Tämän tutkimuksen näytteistä ainoastaan yhdessä todettiin enterobakteereja. Tämä näyte oli Puruveden savukalan kylmäsavustettu kirjolohifile, Tämän näytteen enterobakteeripitoisuus oli hyvin pieni, joten näytteen enterobakteerien raja-arvo ei ylittynyt. Muissa näytteissä enterobakteereja ei todettu, joten niiden enterobakteeripitoisuus on alle 10 pmy/g, joka on menetelmän määrittäysraja.

Listeria monocytogenes –bakteeria todettiin 50 %:ssa näytteistä. Kaikkien näytteiden *Listeria monocytogenes* –pitoisuus oli kuitenkin todella alhainen. *Listeria monocytogenes* –pitoisuusudet näytteissä jäi alle analyysin määrittämissä rajat, joka on 10 pmy/g. Lainsäädännön asettama raja-arvo *Listeria monocytogenes*ille on 100 pmy/g. Tutkittujen näytteiden *Listeria monocytogenes* –pitoisuus jäi reilusti raja-arvon alapuolelle.

10 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tutkittujen palvelupisteiden pintahygienia oli suurimmaksi osaksi hyvä, joitain poikkeuksia lukuun ottamatta. Palvelupisteiden leikkuulautojen pintahygienia oli huono. Kaikkien palvelupisteiden tutkitut leikkuulaudat olisi hyvä vaihtaa uusiin tai käyttää hiottavana. Jatkossa olisi myös hyvä kiinnittää enemmän huomiota leikkuulautojen kuntoon, vaikka proteiinijäämät testit näyttäisivät vielä hyvää tulosta. Leikkuulautojen lisäksi kolmannen palvelupisteen kalavaaka ja tiski olivat pintahygienialtaan huonoja. Kalavaa’an päällä oli muovinen suojuus, jonka alla oli selvästi likaa. Muoviset kalavaa’an päälliset olisi hyvä poistaa, koska pintahygienianäytteet osoittivat, että muovinen päällyys vaa’assa ei ole hygieeninen. Muilla palvelupisteillä vaa’at olivat ilman suojaa, ja niiden pintahygienianäytteet olivat moitteettomia. Jatkossa olisi suotavaa että pintahygieniaa aina välillä tarkasteltaisiin muillakin menetelmillä, kuin proteiinijäämätesteillä. Tämän voisi suorittaa esimerkiksi pistokoemaisesti. ATP-menetelmä on tähän hyvä, koska se on nopea menetelmä ja toimeksiantajalla on mahdollisuus sen käyttöön.

Tämän tutkimuksen mukaan tutkittujen ja oikeassa lämpötilassa säilytettyjen tuotteiden hygieeninen laatu pysyy tutkittujen parametrien mukaan hyvänä koko myyntiajan. Ensimmäisen palvelupisteen näytteiden säilyvyyskokeet epäonnistuivat, koska näytteitä säilytettiin liian korkeassa lämpötilassa. Tämä kuitenkin osoittaa sen, miten tärkeää on säilyttää elintarvikkeet oikeissa lämpötiloissa. Puruveden savukalan näytteet säilytettiin vain 2 °C:ta lämpimämmässä, kuin lainsäädäntö sallii, mutta silti kolmen päivän jälkeen kokonaisbakteeripitoisuus oli yli 30-kertainen Eviran asettamaan ohje-arvoon nähden.

Näytteiden *Listeria monocytogenesin* varmistaminen ei ollut ohjeiden mukaan tehty, eikä se ollut tarpeeksi laaja, joten sen oikeellisuus on kyseenalaistettava. *Listeria monocytogenesin* analyyseissä käytettiin ALOA- ja LMBA-maljoja. ALOA- ja LMBA-maljoilla kasvaa muitakin *Listeria*-suvun bakteereja kuin *Listeria monocytogenesiä*. *Listeria monocytogenesin* tunnistaminen maljoilta oli hankalaa. *Listeria monocytogenesin* määrittystä ei ole aiemmin tehty Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriossa, joten henkilökuntakaan ei osannut tunnistaa *Listeria monocytogenesia* muista *Listeria*-suvun bakteereista. *Listeria monocytogenesiä* yritettiin tunnistaa vertaamalla näytteitä puhtaaseen kantaan ja API-testeillä. Käytännön syistä *Listeria monocytogenesin* puhdaskanta viljeltiin maljoille vasta sen jälkeen kun näytteet oli analysoitu. Näin ollen näytteiden maljoja ei voitu verrata puhtaaseen kantaan heti, vaan niitä säilytettiin jääkaapissa puhtaan kannan viljelyyn asti. Jääkaapissa ollessa pesäkkeiden ulkonäkö hieman muuttui. Jääkaapissa säilytetyiltä näytemaljoilta valittiin kuitenkin aina noin kaksi pesäkettä, joista tehtiin puhtasviljelmä ALOA-agarille samaan aikaan kuin *Listeria monocytogenesin* puhtas kanta viljeltiin. Näin vertailulla saatiin parempi tulos, kuin sillä että olisi verrattu jääkaapissa olleita maljoja suoraan puhtaaseen kantaan. Näytteiden listeriapesäkkeistä valittiin aina 1 – 3 pesäkettä, joista puhtasviljelmät tehtiin. Eviran ohjeen mukaan jokaiselta maljalta olisi hyvä varmistaa aina viisi *Listeria monocytogenesiksi* epäiltyä pesäkettä, tai jos maljalla kasvaa alle viisi pesäkettä, kaikki pesäkkeet.

Kaikista näytteistä kuuden näytteen puhtasviljelmän pesäkkeet muistutti *Listeria monocytogenesin* pesäkkeitä. Näistä pesäkkeistä lohiherkku-näytteen pesäkkeet olivat hieman erinäköisiä muihin verrattuna. Muut pesäkkeet olivat silmämääräisesti arvioituna samannäköisiä. Näin ollen lohiherkku-näyte ja Finnish fresfishin graavilohinäyte valittiin varmennettavaksi API-testillä. Käytetyt API-testit eivät olleet tarkoitettu listerian tunnistamiseen. Lohiherkku-näytteen aiheuttama värireaktio API-testiliuskalla oli erilainen kuin *Listeria monocytogenesin* aiheuttama värireaktio, joten todettiin, että lohiherkussa ei ollut *Listeria monocytogenesiä*.

Vaikka *Listeria monocytogenesin* varmistaminen ei ollut ohjeiden mukaan tehty, näytteissä esiintyvien *Listeria*-suvun bakteerien pitoisuus oli ottaen niin alhainen, ettei tuotteiden tulisi aiheuttaa *Listeria monocytogenesin* osalta terveyshaittaa riskiryhmään kuulumattomille henkilöille.

Tässä työssä suoritettut säilyvyyskokeet eivät muutenkaan olleet kovin laajat. Tässä työssä tutkittujen parametrien lisäksi, majoneesipohjaisista lisukkeista olisi hyvä tutkia *Staphylococcus aureus* ja salmonella. Graavisuolatuista ja kylmäsavukalasta kannattaisi myös tutkia *Staphylococcus aureus* ja *Clostridium botulinum*. Mikkelin ammattikorkeakoulun ympäristölaboratorio ei myöskään ole Eviran hyväksymä elintarvikelaboratorio, jossa säilyvyyskokeet tulisi suorittaa. Säilyvyyskokeita tulisi myös tehdä useammasta kuin yhdestä erästä ja tutkimukset olisi hyvä tehdä uudelleen tietyin väliajoin. Tässä työssä suoritettut analyysit antavat kuitenkin suuntaa sille, että palvelusteiden tuotteet säilyvät hyvin viimeiseen myyntipäivään asti.

LÄHTEET

Borgström, Outi 2013. Myymälöiden palvelumyynnissä olevien sellaisenaan syötävien elintarvikkeiden mikrobiologinen laatu Helsingissä vuosina 2010 ja 2011. http://www.hel.fi/hel2/ymk/julkaisut/2013/julkaisu_05_13_net.pdf PDF-dokumentti. Ei päivitystietoja. Luettu 9.3.2014.

Elintarvikehuoneistoasetus 1367/2011. WWW-dokumentti. <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2011/20111367#Lid171042>. Ei päivitystietoja. Luettu 9.3.2014.

Elintarvikehygieniasäätöjen 852/2004/EU. WWW-dokumentti. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0852:20081028:FI:PDF>. Ei päivitystietoja. Luettu 26.3.2014.

Elintarvikelaki 26/2006. WWW-dokumentti. <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2006/20060023>. Ei päivitystietoja. Luettu 2.3.2014.

Elintarviketeollisuusliitto ry, Päivittäistavarakauppa ry & Suomen Kalakauppiasliitto ry 2009. Helposti pilaantuvien pakattujen kalojen ja kalajalosteiden säilyvyysmerkinä ja säilyvyyden varmistaminen. PDF-dokumentti. <http://www.etl.fi/www/fi/julkaisut/Julkaisut/Kalan-silyvyysuositus-09lop.pdf> Päivitetty 23.11.2009. Luettu 17.2.2014.

Evira 2013a. Elintarvikkeiden riski- ja vaaratekijät. WWW-dokumentti. <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarvikkeiden+riski-+ja+vaaratekijat/>. Päivitetty 22.04.2013. Luettu 26.3.2014.

Evira 2013b. Yleistä mikrobeista. WWW-dokumentti. <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarvikkeiden+riski-+ja+vaaratekijat/mikrobiologiset+vaaratekijat/yleista+mikrobeista/>. Päivitetty 4.9.2013. Luettu 9.3.2014.

Evira 2012a. Käsihygieniasäätöjen. WWW-dokumentti. <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/henkilokohdainen+hygieniasaattot/kasihygieniasaattot/>. Päivitetty 15.06.2012. Luettu 15.3.2014.

Evira 2011. Mikrobiologisten tulosten laskeminen. WWW-dokumentti. http://www.evira.fi/files/attachments/fi/evira/lomakkeet_ja_ohjeet/elintarvikkeet/elintarvike_ja_rehututkimus/mibi/lab_703_v3_mikrobiologisten_tulosten_laskeminen.pdf Päivitetty 13.9.2011. Luettu 13.3.2014.

Evira 2012b. Puhdistuksen riittävyyden arviointi. WWW-dokumentti. <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/puhtaanapito+puhdistuksen+riittavyyden+arviointi>. Päivitetty 30.5.2012. Luettu 30.12.2013.

Evira 2010. Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaarat. WWW-dokumentti. <http://www.evira.fi/portal/fi/tietoa+evirasta/julkaisut/?a=view&productId=122>. Ei päivitystietoja. Luettu 17.2.2014.

Evira 2009a. Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaatimukset, komission asetuksen (EY) No 2073/2005 soveltaminen: ohje elintarvikealan toimijoille. PDF-dokumentti. <http://www.evira.fi/portal/fi/tietoa+evirasta/julkaisut/?a=view&productId=124>.

Evira 2009b. *Listeria monocytogenes* –bakteerin määrittäminen. Pesäkelaskentatekniikka. PDF-dokumentti. http://www.evira.fi/files/attachments/fi/evira/lomakkeet_ja_ohjeet/elintarvikkeet/elintarvike_ja_rehututkimus/evira3477_v2_listeria_monoc_maaritt_pesakelaskpdf.pdf. Ei päivitystietoja. Luettu 24.2.2014.

Evira 2002. Elintarvikkeiden mikrobiologiset tutkimukset. Helsinki: Elintarvikevirasto

Immonen, Tea 2014. Kuvamateriaali Helmikuu 2014 – Huhtikuu 2014. Insinööriopiskelija. Mikkeli.

ISO 11290-1. 1996. Microbiology of food and animal feedinf stuff – horizontal methods for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method. Geneve: International Organization for Standardization.

ISO 12290-2. 1998. Microbiology of food and animal feedinf stuff – horizontal methods for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 2: enumeration method. Geneve: International Organization for Standardization.

ISO 4833. 2003. Microbiology of food and animal feedinf stuff – horizontal methods for the enumeration of microorganisms – colony-count technique at 30 °C. 3rd edition. Geneve: International Organization for Standardization.

Karreinen, Anni 2012. Grillikioskit ja niissä myytävien elintarvikkeiden mikrobiologinen laatu Helsingissä 2011. Helsinki: Kopio Niini Oy.

Korkeala, Hannu (toim.) 2007. Elintarvikehygieniä: ympäristöhygieniä, elintarvike- ja ympäristötoksikologia. Helsinki: WSOY.

Mikrobikriteeriasetus 2073/2005/EU. WWW-dokumentti <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:FI:PDF>. Ei päivitystietoja. Luettu 9.1.2014.

Netfoodlab Oy 2013. Pikaohje hygiene SystemSUREPlus-luminometrille PDF-dokumentti. http://www.netfood.fi/images/stories/files/Pikaohje_%20SystemSURE_Plus_1.5.pdf. Ei päivitystietoja. Luettu 17.2.2014

NMKL No. 144. 2000. *Enterobacteriaceae*: määrittäminen elintarvikkeista ja rehuista. Toinen painos. Oslo: Pohjoismainen elintarvikkeiden metodiikkakomitea.

Rahkio, Marjatta, Suontamo, Tuula, Syyrakki, Sara, Teirmaa, Sanna, Virtalaine, Tuomas & Välikylä, Tapio 2013. Pintahygieniaopas. Pori: Suomen ympäristö- ja terveystieteiden tutkimuskeskus Oy.

Syyrakki, Sara & Välikylä, Tapio 2013. Hygieniaopas. Pori: Suomen ympäristö- ja terveysalan kustannus Oy.