

Bakteriologisk kvalitet av salat gjødsla med storfegjødsel

Randi Berland Frøseth¹⁾, Gro Johannessen²⁾, Liv Solemdal¹⁾, Jorunn Jarp²⁾, Yngvild Wasteson³⁾ og Liv Marit Rørvik^{2,3)} / randi.berland.froseth@norsok.no

¹⁾Norsk senter for økologisk landbruk, ²⁾Veterinærinstituttet,

³⁾Norges veterinærhøgskole

Samandrag

Målet med denne undersøkinga var å samanlikna den bakteriologiske kvaliteten, inkludert førekomsten av visse patogen, av økologisk dyrka salat gjødsla med ulike typar storfegjødsel. Feltforsøk med isbergsalat (*Lactuca sativa* var. Crispum, 'Iglo') vart utført i 2001 og 2002. Behandlingane var blautgjødsla, fastgjødsla, kompostert storfegjødsel og mineralgjødsla. Prøvar av jord, gjødsla, gjødsla jord, oppalsplantar, salat og dei ytre blada av salatplantane (i 2002) vart analysert for indikatorbakteriar for fekal forureining (termotolerante koliforme bakteriar (TKB) og *Escherichia coli*), *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. og *L. monocytogenes*. Det vart funne statistisk sikker forskjell mellom behandlingane i mengde TKB i gjødsla jord, men det vart ikkje funne noko forskjell i bakteriologisk kvalitet på salat ved hausting.

I 2002 vart det funne *E. coli* O157:H7 i blautgjødsla og fastgjødsla, og jord gjødsla med blautgjødsla og fastgjødsla ei veke etter gjødsling. Bakterien vart ikkje funne på salat ved hausting. Ingen prøvar i undersøkinga inneheld *Salmonella* spp. eller *L. monocytogenes*.

Resultata frå forsøket tyder på ingen forskjell i bakteriologisk kvalitet på økologisk dyrka isbergsalat gjødsla med ulike typar storfegjødsel.

Innleiing

Feces frå husdyr kan innehalde bakteriar som kan gje sjukdom hjå menneske. *E. coli* O157:H7 ("hamburgerbakterien"), *Salmonella* spp. og *Listeria monocytogenes* er eksempel på humanpatogene bakteriar som kan finnast i

tarmen hjå friske eller sjuke husdyr. Overlevingsevne til patogen i husdyrgjødsel er det gjort ein del studiar på, og forsøk har vist at *E. coli* O157:H7 kan overleve i gjødsel over eitt år (Kudva *et al.* 1998). Det er mindre kjent i kva grad overføring til produkt skjer. Det er særleg produkt som vert konsumert rå eller med liten grad av varmebehandling som kan tenkast å utgjere ein helseisiko.

Økologisk planteproduksjon vert basert på organiske gjødselslag, i hovudsak husdyrgjødsel. Det er ønskeleg at dyrking av økologiske grønsaker skjer med minimal risiko for overføring av bakteriar frå husdyrgjødsel. Det er ingen krav om spesielle handteringsmåtar for husdyrgjødsel i økologisk planteproduksjon (Debio 2003). Kompostering vert rekna som ein sikker hygieniseringsmåte dersom temperaturen i komposten er 65°C i ei veke (Anon. 2004) Controlled Microbial Composting®, også kalla CMC-metoden, er ein metode som skal gje fullstendig kompostering etter 6-8 veker (Lindström 1995). Prosessen skal vere gjennomført aerob, og tilsetjing av ein startarkultur av mikroorganismar og ferskt grøntmateriale skal vere med å gje ein god omdanning i komposten med rask temperaturauke til 55-65°C, for å halde seg slik i ei veke. CMC-metoden er lite i bruk i Noreg, men det er interesse for metoden i økologisk landbruk nasjonalt og internasjonalt. Det er nokså vanleg å bruke kompostert gjødsel i økologisk grønsakproduksjon i Noreg, men omdanningsgraden av komposten kan vere variabel.

Sjukdomsutbrot knytta til konsum av frukt og grønsaker er eit aukande internasjonalt problem (Kruse 1997), og fleire av sjukdomsutbrota kan sporast tilbake til *E. coli* O157:H7 på salat (Ackers *et al.* 1999, Hilborn *et al.* 1998). Også i Noreg finst det eksemplar på sjukdomsutbrot av patogen, *E. coli* O157:H7 og *Shigella*, knytta til konsum av salat (Kapperud *et al.* 1995, Lassen *et al.* 1999). Ingen av tilfella gjaldt økologisk salat. Smittevegane frå gjødsel til produkt kan vera fleire, og smitte kan skje under produksjon, prosessering og lagring. I dette forsøket har me valt å sjå på eventuell overføring av patogen frå gjødsel via jord til salat under økologisk dyrking. Problemstillingen er også relevant for konvensjonell produksjon av matvekstar der det vert brukt husdyrgjødsel.

Materiale og metodar

Feltforsøk vart gjennomført i 2001 (forsøk I) og 2002 (forsøk II) på Tingvoll Gard på Nordmøre. Testplanta var isbergsalat (*Lactuca sativa* var. *Crispum*, 'Iglo').

Gjødsel

Før kvart feltforsøk vart det kompostert storfegjødsel etter ein modifisert form av CMC-metoden. Då komposten vart lagt opp innheld han 86 % fastgjødsel, 10 % halm og 4 % jord, på vektbasis. Komposten vart ikkje tilsett kompost-

startar sidan han ikkje er godkjent for bruk i Noreg. Det vart heller ikkje tilsett ferskt plantemateriale sidan kompostane vart lagt opp i mars (I) og november (II). Kompostrankane vart vendt med traktor eller kompostvendar etter temperatur og CO² i ranken.

Blautgjødsla og fastgjødsla til feltforsøka vart teke rett frå gjødsellager. Fastgjødsla som vart brukt i forsøket var om lag 6 månadar, mens blautgjødsla var ferskare.

Oppal

Salatplantane vart ala opp i vekstrom. Oppalsmediet var Hagejord (Armand Fosli & Co A/S, Noreg). Det bestod av 50 % torv, 40 % kompostert gjødsla, 5 % kompostert bark og 5 % sand. Frøa vart sådd i 96-pluggs Vefibrett. Etter tre veker vart plantane gjødsla med storfeurin blanda med vatn (2000-3000 mS) på grunn av symptom på nitrongenmangel. Urinen vart samla opp direkte frå storfe, utan kontakt med feces. Gjødsla vart gjenteke tre gongar fram til utplanting. Etter 5 1/2 veke var plantane klare til utplanting.

Andre året vart oppalet gjenteke med nokre endringar. Oppalsmediet var Organisk jord (VadheimGropex AS, Noreg). Det bestod av 97 % torv, 1 % organisk gjødsla og 2 % leire. Plantane vart ikkje overgjødsla under oppalet. Utplanting vart gjort etter 5 veker.

Feltforsøk

Feltet bestod av fire forsøksledd med fire gjentak, totalt 16 forsøksruter á 13 m². Behandlingane var blautgjødsla (3,5 t/daa), fastgjødsla (4 t/daa), kompostert storfe gjødsla (3 t/daa) og mineralgjødsla (40 kg/daa) i form av Fullgjødsla[®] 25-2-6 (Norsk Hydro, Noreg). All husdyrgjødsla var frå same buskap. Rutene vart gjødsla ei veke før utplanting. Mellom rutene var det ei 1,5 m brei ugjødsla sone som vart sådd til med plengras. Rundt feltet vart det sett opp eit gjerde for å halde vekk større dyr. All ferdsel i og mellom ruter vart gjort ved steril teknikk. I kvar rute var det totalt 160 plantar. 60 plantar utgjorde hausteruta. I 2001 vart salatplantane vatna to gongar, 9 og 11 dagar etter utplanting. Vatnet var godkjent som drikkevatt. Salaten vart hausta ved normal haustetid, etter 58-64 dagar.

Prøvetaking og analysering

Det vart teke prøvar av oppalsmediet og oppalsplantane like for utplanting. Frå kvar av dei ulike behandlingane vart det teke 10 prøvar av jord før gjødsla, gjødsla, gjødsla jord og salat ved hausting. Ein prøve av salat inneheld to salathovud. Dei ytre blada av salatplanten vart teke vekk for at prøven skulle vere mest mogleg lik det salgbare produktet. Prøvane vart analysert for generell hygienisk kvalitet (indikatorbakteriar for fekal forureining, TKB og *E. coli*) etter Nordisk Metodikkomiteé for næringsmidler (NMKL), og for å

påvisa om dei patogene bakteriane *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. og *L. monocytogenes* var tilstades vart det brukt høvesvis VIDAS *E. coli* O157, VIDAS *Salmonella* og VIDAS *L. monocytogenes* (BioMerieux, Frankrike). Presumptivt positive prøvar vart konfirmert som skildra i NMKL-metodane for dei ulike patogena (Johannessen et al. 2004).

I forsøk II vart det for ledda blautgjødning og fastgjødning også teke prøvar av dei ytre blada av salatplantane som ikkje høyrer med til det salgbare produktet. Det vart også teke jordprøvar frå dei same behandlingane 7, 9, 13, 17 og 41 veker etter gjødning. Desse prøvane vart analysert for TKB, *E. coli* og *E. coli* O157:H7.

Datamaterialet vart analysert med General Linear Model frå programpakka SAS, med behandling og år som faste effektar. Skilnad er rekna som statistisk sikker når p-verdiar for type-III F-test er mindre enn 0,05.

Resultat og diskusjon

Bakteriologisk analyse av gjødning og jord

Analyseresultatata av TKB og *E. coli* i gjødning og jord er gjeve i Tabell 1. Der som ein ser dei tre organiske gjødningslagane under eitt og samanliknar med mineralgjødning finn ein ikkje statistisk sikker forskjell i TKB mellom desse. Statistisk sikker forskjell i TKB vart funne mellom ubehandla gjødning og mineralgjødning. Denne skilnaden fann ein ikkje igjen om ein såg på gjødningslag jord.

Tabell 1. Indikatorbakteriar for fekal forureining i jord, gjødning og gjødningslag jord ei veke etter gjødning (n = 10). Resultata er målt i form av termotolerante koliforme bakteriar (TKB) og *E. coli*, og er gjeve i gjennomsnittet av log₁₀ KDE (kolonidannande einingar) per g våt vekt (S.D)

Type bakt.	Jord før gjødningslag	Mineralgjødning		Kompostert gjødning		Fastgjødning		Blautgjødning		
		Gjødningslag	Gjødningslag jord	Gjødningslag	Gjødningslag jord	Gjødningslag	Gjødningslag jord	Gjødningslag	Gjødningslag jord	
I	TKB	<1	<1	3,11 (1,36)	1-1,6**	3,78*	1*	4,23 (0,48)	1,17 (1,05)	
	<i>E. coli</i>	<1	<1	2,81 (1,36)	1-1,6**	3,78*	1*	4,23 (0,48)	1,17 (1,05)	
II	TKB	2,44 (0,56)	<1	1,90 (0,73)	3,00 (1,35)	2,33 (0,33)	2,49 (1,36)	2,46 (0,31)	4,49 (0,28)	2,84 (0,42)
	<i>E. coli</i>	2,14 (0,92)	<1	1,89 (0,74)	0,77 (1,25)	2,07 (0,83)	2,49 (1,36)	2,44 (0,32)	4,49 (0,28)	2,84 (0,42)

** Fire positive prøvar, * Ein positiv prøve

Det var forventa å finne forskjell i mengde TKB og *E. coli* i kompostert gjødsel samanlikna med ubehandla storfe gjødsel. At dette ikkje var tilfelle kan skuldast at ingen av kompostane nådde høg nok temperatur til å drepe desse bakteriane. Høgaste målte temperatur i komposten til forsøk I var 60°C, og høgaste gjennomsnittstemperatur i ei veke var 56,6°C. Høgaste målte temperatur i komposten til forsøk II var 45°C, og høgaste gjennomsnittstemperatur i ei veke var 43,3°C. Mangel på kompoststartar eller, eventuelt og ferskt grøntmateriale kan vere medverkande årsak til dette. Temperaturen fall under vending og det tok lang tid for å oppnå same temperatur som før vending. I Lindström (1995) sin evaluering av CMC-metoden vert det konkludert med at prosessane i komposten tek lengre tid enn det som er førespegla.

I forsøk II vart det gjort funn av *E. coli* O157:H7 i blautgjødsel (10 av 10 prøvar) og fastgjødsel (8 av 10 prøvar) ved gjødsling, samt jord gjødsla med blautgjødsel (9 av 10 prøvar) og fastgjødsel (1 av 10 prøvar) ei veke etter gjødsling. Jordprøvar frå dei same behandlingane 7, 9, 13, 17 og 41 veker etter gjødsling var negative. Talet på TKB og *E. coli* i desse prøvane avtok til eit nesten ikkje påvisbart nivå 41 veker etter gjødsling. Reduksjon i talet på bakteriar i jord kan skuldast redusert overlevingsevne for desse i jorda i konkurranse med jordorganismar og under dei klimatiske tilhøva på staden. Funnet av *E. coli* O157:H7 var overraskande. Overvåkingsprogramma viser at førekomsten av denne bakterien i norske husdyr er låg samanlikna med andre land (Hofshagen *et al.* 2004). Ingen prøvar av jord, gjødsel eller gjødsla jord inneheld *Salmonella* spp. eller *L. monocytogenes*.

Det var statistisk sikker forskjell i talet på indikatorbakteriar i gjødsla jord mellom dei ulike åra. Klimdata frå Planteforsk sin klimadatabase (<http://lmtvweb.nlh.no/norpre/hist>) viser at i 2002 var det varmare og tørre enn i 2001.

Bakteriologisk analyse av salat

Det vart ikkje funne noko forskjell i bakteriologisk kvalitet av salat som var gjødsla med ulike typar storfe gjødsel. Indikatorbakteriar for fekal forureining (TKB og *E. coli*) på salat vart funne i liten mengde i ein prøve frå kvar av behandlingane fastgjødsel, kompostert gjødsel og mineralgjødsel (Tabell 2).

Tabell 2. Indikatorbakteriar for fekal forureining på oppalsplantar og salat ved hausting (n = 10). Resultata er målt i form av termotolerante koliforme bakteriar (TKB) og *E. coli*, og er gjevne i gjennomsnittet av \log_{10} KDE per g våt vekt (S.D)

Forsøk	Type bakteriar	Oppalsplantar	Salat gjødsla med mineralgjødsel	Salat gjødsla med kompostert gjødsel	Salat gjødsla med fastgjødsel	Salat gjødsla med blautgjødsel
I	TKB	2,58 (1,03)	<1	1,48*	1*	<1
	<i>E. coli</i>	<1	<1	1,48*	1*	<1
II	TKB	4,1*	1*	<1	<1	<1
	<i>E. coli</i>	4,1*	1*	<1	<1	<1

* Ein positiv prøve

I forsøk II vart det for ledda blautgjødsel og fastgjødsel også teke prøvar av dei ytre blada av salatplantane som ikkje høyrer med til det salgbare produktet. For ytre blad av plantar gjødsla med blautgjødsel og fastgjødsel vart det funne TKB og *E. coli* i høvesvis ein av ti prøvar (\log_{10} 1,7 KDE per g) og tre av ti prøvar (\log_{10} 1,3-3,03 KDE per g)

Nivået av indikatorbakteriar for fekal forureining på salat i dette forsøket var lågt. Dette stemmer godt overeins med det som vart funne av Loncarevic *et al.* (2004) i ei undersøking av norskprodusert økologisk salat.

Ingen prøvar av salat eller ytre blad av salat inneheld *E. coli* O157:H7, *Salmonella spp.* eller *L. monocytogenes*. Dette var ikkje overraskande sidan førekomsten av desse er låg.

Sjølv om det ikkje vart funne patogene bakteriar på salat i dette forsøket viser andre norske undersøkingar av salat og andre produkt som vert konsumert rå at det er ein viss risiko for innhald av matborne sjukdomar (Johannessen *et al.* 2002, Loncarevic *et al.* 2004). Det er derfor viktig å vere merksam på at direkte kontaminering av produkt med gjødsel eller gjødsla jord er berre to av fleire moglege smittevegar under produksjonen. Eksempel på andre smittevegar er via vatningsvatn, eller ville dyr som fuglar, smågnagarar og insekt. Kontaminering kan også tenkast å skje under innhausting, prossesering og lagring.

Konklusjon

Det vart ikkje funne noko forskjell i bakteriologisk kvalitet på salat av dei typane gjødsel som vart brukt i dette forsøket. Dette til tross for statistisk sikker forskjell mengde TKB i gjøds-la jord ved tidspunktet for planting av salat. Det kan tyde på at gjødsling med ubehandla storfe gjødsel før planting ikkje påverkar den bakteriologiske kvaliteten av økologisk dyrka salat.

Arbeidet er tidlegare publisert: Johannessen, G.S., Frøseth, R.B., Solemdal, L., Jarp, J., Wasteson, Y. & Rørvik, L.M. 2004. Influence of bovine manure as fertilizer on the bacteriological quality of organic Iceberg lettuce. *Journal of Applied Microbiology* 96:787-794.

Referansar

Anonymous. 2004. Compost – the microbial way. Soil Association, United Kingdom.

Ackers, M.-L., Mahon, B.E., Leahy, E., Goode, B., Damrow, T., Hayes, P.S., Bibb, W.F., Rice, D.H. *et al.* 1998. An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *The Journal of Infectious Diseases* 177: 1588-1593.

Debio. 2003. Regler for økologisk landbruksproduksjon. 58s.

Hilborn, E.D., Mermin, J.H., Mshar, P.A., Hadler, J.L., Voetsch, A., Wojtkunski, C., Swartz, M., Mshar, R. *et al.* 1999. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Archives of International Medicine* 159:1758-1764.

Hofshagen, M., Nygård, K., & Kruse, H. 2004. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in Norway 2003. Norwegian Zoonosis Centre. 96s.

Johannessen, G.S., Frøseth, R.B., Solemdal, L., Jarp, J., Wasteson, Y. & Rørvik, L.M. 2004. Influence of bovine manure as fertilizer on the bacteriological quality of organic Iceberg lettuce. *Journal of Applied Microbiology* 96:787-794.

Johannessen, G.S., Loncarevic, S. & Kruse, H. 2002. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *International Journal of Food Microbiology* 77:199-204.

Kapperud, G., Rørvik, L.M., Hasseltvedt, V., Høiby, E.A., Iversen, B.G., Staveland, K., Johnsen, G., Leitao, J., Herikstad, H., Andersson, Y., Langeland, G., Gondrosen, B. & Lassen, J. 1995. Outbreak of *Shigella sonnei* infection traced to imported Iceberg lettuce. *Journal of Clinical Microbiology* 33: 609-614.

Kruse, H. 1997. Epidemiologiske aspekter ved matbårne sykdommer knyttet til frukt og grønnsaker. *Norsk Veterinærtidsskrift* 109(7):413-420.

Kudva, I. T., Blanch, K. & Hovde, J. C. 1998. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 3166-3174.

Lassen, J. & Heir, E. 1999. Domestic outbreak of infection caused by Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) summer 1999. MSIS - Norwegian Surveillance System for Communicable Diseases.

Lindström, H. 1995. CMC-Compost and humus management: an evaluation of the theories and practices. Thesis for Master of Science. Department of Ecological agriculture, Wageningen Agricultural University, Wageningen. 99s.

Loncarevic, S., Johannessen, G.S. & Rørvik, L.M. 2005. Bacteriological quality of organically grown leaf lettuce in Norway. Submitted Letters of Applied Microbiology.