



NTNU - Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

BACHELOROPPGAVE 2020

20 studiepoeng

**HEMMING AV SMØRSYREGJÆRING I ØKOLOGISK HVITOST VED BRUK AV  
HEMMEKULTUR, ALENE ELLER I KOMBINASJON MED SALT**



utført av

Berit Elvestad  
Ludvig Holthe Holm  
Stine Sundseth Bjørnsvik

Dette arbeidet er gjennomført som ledd i bachelorutdanningen i matteknologi ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU. Bruk av rapportens innhold skjer på eget ansvar.

## Sammendrag

Bakgrunnen for bacheloroppgaven var å hemme smørсыregjæring i økologisk hvitost uten å påvirke ostens smak, modning og konsistens gjennom å benytte hemmekultur, alene eller i kombinasjon med salt. En god del av arbeidet relatert til oppgaven ble gjort i samarbeid med en annen bachelorgruppe som så på effekten av å hemme smørсыregjæring med kun tilsats av salt.

Det ble foretatt ystinger i fire runder som resulterte i totalt sju oster med ulike tilsetninger. To av ostene ble tilsatt omtrentlig lik mengde hemmekultur, to ble tilsatt ulik mengde salt, og én ost hadde en kombinasjon av hemmekultur og salt. To av ostene var kontrolloster uten tilsetning. Da analyser ikke kunne påvise *Clostridium tyrobutyricum* i én av ysterundene ble ystemelka inokulert med bakterien i siste ysterunde. Alle ostene gjennomgikk ellers lik ysteprosess og modningsforløp. Etter fullført modning ble det gjennomført sensorisk analyse. Det ble foretatt mikrobiologiske prøver under ystingen, samt pH-målinger under hele prosessen. Flere analyser ble foretatt av eksterne aktører, som kjemisk analyse av smørсыremengde. Noe av det mikrobiologiske arbeidet gruppen skulle foreta måtte utgå grunnet situasjonen rundt Covid-19.

Alle oster har smørсыrenivå langt over vanlig verdi for goudaost ved analyse av modnet ost. Begge ostene som var tilsatt kun salt viste redusert smørсыre sammenlignet med kontrollostene. Osten med høyest innhold av tilsatt salt hadde lavest innhold av smørсыre av alle ostene, men saltet hadde påvirket modningsprosessen i stor grad. Ostene ystet med hemmekultur hadde ulik mengde smørсыre selv om de ble tilsatt like mye hemmekultur. Også i ysterunder hvor det ikke var påvist anaerobe sporedannere hadde modnet ost smørсыregjæring. Osten som var tilsatt både salt og hemmekultur viste redusert smørсыregjæring i modnet ost sammenlignet med kontrollost. Ingen av ostene scoret særlig høyt på sensorisk analyse da osten med høyeste poeng fikk 2,2 av 5 mulige.

Selv om mengde smørсыre var for høy var det er en indikasjon på at en kombinasjon av hemmekultur og salt hemmer smørсыregjæring i goudaost. Denne osten scorer også nest best under sensorisk analyse så man antar at ostens smak, modning og konsistens ikke ble påvirket i for stor grad.

## Abstract

The background for this bachelor's thesis was to inhibit butyric acid fermentation in ecological Swiss/Gouda type of cheese without causing change in the taste, ripening and consistency of the cheese by using protective culture, alone or in combination with salt. An amount of work related to the thesis was done in cooperation with another bachelor group that looked at the effect of inhibiting butyric acid fermentation with the use of salt only.

The cheesemaking was done in four rounds that resulted in a total amount of seven cheeses. Two of the cheeses had a similar amount of protective culture added, two of the cheeses were added a different amount of salt and one cheese got a combination of protective culture and salt. Two of the cheeses were used as reference as they were not added salt or protective culture. Since analyzes gave a negative result for *Clostridium tyrobutyricum* at one of the cheesemaking rounds the bacteria was inoculated in the cheese milk at the last round of cheesemaking. Other than that, the cheeses had an equal way of production and ripening. When the ripening was completed the matured cheeses went through a sensory analysis. During production there were taken microbiological samples, and pH measurements were taken during the whole process from start to mature cheese. Several of the analyzes, like analyzing the amount of butyric acid in ripened cheese, were undertaken by an external part. Some of the microbiological work the group had planned to do could not be completed as of the situation regarding Covid-19.

Each of the cheeses had a high amount of butyric acid in ripened cheese compared to normal Gouda cheese. Both cheeses that were added only salt showed reduced butyric acid level compared to the reference cheeses. The cheese with the highest amount of added salt had the lowest levels of butyric acid, but the salt had affected the ripening process largely. The cheeses with added protective culture had less butyric acid in mature cheese than the reference cheeses. None of the cheeses got a high score at the sensory analysis, as the cheese with the highest score got 2,2 out of 5 possible points.

Even though the amount of butyric acid present there was an indication that a combination of protective culture and salt inhibit butyric acid fermentation in Gouda cheeses. This cheese also got the second highest score at the sensory analysis, so it is presumed that the taste, ripening and consistency of the cheese is not affected largely.

## Forord

Dette er et bachelorgradarbeid ved studieprogrammet matteknologi ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap på Norges teknisk- naturvitenskapelige universitet, NTNU. Arbeidet med denne bacheloroppgaven har foregått i en periode på 18 uker, med oppstart i uke 3 2020 og avslutning i uke 21 2020. Forfatterne av oppgaven er Berit Elvestad, Ludvig Holthe Holm og Stine Sundseth Bjørnsvik.

Oppgaven tar for seg temaet hemming av anaerobe sporedannere i økologisk ost. Problemstillingen gikk ut på å finne en mengde hemmekultur eller en kombinasjon av hemmekultur og salt som gjør at man hemmer smørsyregjæring tilstrekkelig uten at ostens konsistens, smak og modning endres.

Vi vil rette en stor takk til vår hovedveileder Kari Helgetun Langfoss for meget god hjelp under bachelorperioden. Vi vil også rette en takk til Trondheim fagskole for leie av treningsmeieri og utstyr, og spesielt Kirsti Hagenes og Anette Israelsen Dybvik for deltagelse ved sensorisk analyse av ostene. TINE har vært svært behjelpelig med både kjemiske, mikrobiologiske og sensoriske analyser, og vi vil få takke Torlaug Berg, Linda Helander, Petter Alstad, Randi Einarsen, Per Roger Bringsvor, Bente Serigstad og Tone Galstad for god hjelp, organisering og utføring av analyser.

19. mai 2020

Berit Elvestad

Ludvig Holthe Holm

Stine Sundseth Bjørnsvik

# Innholdsfortegnelse

<b>1.</b>	<b>INNLEDNING .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>TEORI.....</b>	<b>2</b>
2.1	TEORI OM BAKTERIESPORER, <i>CLOSTRIDIUM TYROBUTYRICUM</i> .....	2
2.2	HVOR KOMMER SPORENE FRA?.....	3
2.3	SENESING I OST.....	4
2.4	HEMMING .....	7
2.4.1	<i>Tilsetning av nitrat</i> .....	7
2.4.2	<i>Tilsetning av lysozym</i> .....	7
2.4.3	<i>Tilsetning av salt</i> .....	8
2.4.4	<i>Baktofugering</i> .....	8
2.4.5	<i>Mikrofiltrering</i> .....	9
2.4.6	<i>Hemmekultur</i> .....	9
2.5	TEORI OM HEMMEKULTUR .....	10
2.6	DIAGNOSTIKK OG ANALYSEMETODER.....	11
2.6.1	<i>Mikrobiologiske analyser</i> .....	11
2.6.2	<i>Kjemiske analyser</i> .....	12
2.7	PRODUKTBESKRIVELSE AV GOUDAOST .....	14
2.7.1	<i>Forskjeller mellom industriell- og småskalaprodusert gouda</i> .....	14
2.8	YSTEPROSESSEN .....	15
2.8.1	<i>Grunntrekk i produksjon av løpefelt, ettervarmet ost</i> .....	15
2.8.2	<i>Valg av melk</i> .....	16
2.8.3	<i>Pasteurisering</i> .....	17
2.8.4	<i>Standardisering</i> .....	18
2.8.5	<i>Formodning</i> .....	19
2.8.6	<i>Fra melk til ostemasse</i> .....	21
2.8.7	<i>Forming og pressing</i> .....	23
2.8.8	<i>Salting</i> .....	24
2.9	MODNING .....	24
2.9.1	<i>Glykolyse av restlaktose og katabolisme av sitronsyre og laktat</i> .....	25
2.9.2	<i>Lipolyse og katabolisme av frie fettsyrer</i> .....	26
2.9.3	<i>Proteolyse og katabolisme av aminosyrer</i> .....	27
2.9.4	<i>Mikrofloraens forandring under modning</i> .....	27
2.9.5	<i>Emballasjens betydning for modningsutviklingen</i> .....	28
2.10	OSTENS KONSISTENS.....	28
2.11	SENSORISK ANALYSE AV GOUDAOST .....	29
2.11.1	<i>Kvalitetskontroll i industrien</i> .....	30
<b>3.</b>	<b>MATERIAL OG METODE .....</b>	<b>31</b>
3.1	FORSØKSDESIGN .....	31
3.2	YSTEPROSESSEN .....	32
3.3	MIKROBIOLOGISKE ANALYSER .....	37
3.3.1	<i>Prøvetaking under ysteprosessen</i> .....	37
3.3.2	<i>Anaerobe sporedannere</i> .....	37
3.4	KJEMISKE ANALYSER.....	41
3.4.1	<i>Analyse av smørtsyre</i> .....	41
3.5	PH.....	42
3.6	SENSORISK ANALYSE .....	42
3.7	OPPDYRNING OG INOKULERING MED <i>CLOSTRIDIUM TYROBUTYRICUM</i> .....	43
<b>4.</b>	<b>RESULTATER.....</b>	<b>44</b>
4.1	MIKROBIOLOGISKE ANALYSER .....	44

4.1.1	<i>Analyseresultat for anaerobe sporedannere</i> .....	44
4.1.2	<i>Analyseresultat for råmelk, pasteurisert melk og myse</i> .....	45
4.2	KJEMISKE ANALYSER.....	46
4.2.1	<i>Fett i tørrstoff</i> .....	46
4.2.2	<i>Salt</i> .....	47
4.2.3	<i>Vann i fettfri ostemasse</i> .....	48
4.3	PH-MÅLINGER.....	49
4.3.1	<i>pH under ysteprosessen</i> .....	49
4.3.2	<i>pH under modning</i> .....	50
4.4	SENSORISKE ANALYSER.....	51
4.5	ANALYSE AV MENGDE SMØRSYRE.....	51
4.6	BILDER AV OSTENS INDRE UNDER MODNING.....	53
<b>5.</b>	<b>VURDERING</b> .....	<b>55</b>
5.1	YSTEPROSESSEN.....	55
5.1.1	<i>Produksjonsdesign</i> .....	55
5.2	MIKROBIOLOGISKE ANALYSER.....	56
5.2.1	<i>Anaerobe sporedannere</i> .....	56
5.2.2	<i>Analyseresultat for råmelk, pasteurisert melk og myse</i> .....	57
5.3	KJEMISKE ANALYSER.....	58
5.3.1	<i>Fett i tørrstoff</i> .....	58
5.3.2	<i>Salt</i> .....	59
5.3.3	<i>Vann i fettfri ostemasse</i> .....	60
5.4	PH-MÅLINGER.....	60
5.4.1	<i>pH under ysteprosessen</i> .....	60
5.4.2	<i>pH under modningen</i> .....	61
5.5	SENSORISKE ANALYSER.....	62
5.6	ANALYSE AV MENGDE SMØRSYRE OG EFFEKT AV HEMMEKULTUR.....	62
5.7	UTVIKLING UNDER MODNING.....	64
5.8	OPPSUMMERING.....	65
5.9	FORSLAG TIL VIDERE ARBEID.....	66
<b>6.</b>	<b>KONKLUSJON</b> .....	<b>67</b>
<b>7.</b>	<b>REFERANSER</b> .....	<b>69</b>

## 7 VEDLEGG:

Vedlegg 1: Ystejournal

Vedlegg 2: Datablad for syrekultur

Vedlegg 3: Datablad for hemmekultur

Vedlegg 4: Datablad for løpe

Vedlegg 5: Mikrobiologiske analyser

Vedlegg 6: Kjemiske analyser

Vedlegg 7: Sensorisk analyse

Vedlegg 8: Ost under modning

Forsidebildet illustrerer ost 1A etter 21 dagers modning. (Foto: Elvestad Berit)

## 1. Innledning

Ved modning og lagring blir halvaste og faste oster ofte utsatt for noe som kalles smørсыregjæring, eller senesing. Dette skyldes at anaerobe sporer i *Clostridium*-slekta ved fermentering av laktat danner smørсыre, eddiksyre og hydrogen (H<sub>2</sub>), noe som fører til at det dannes sprekker og vond smak i osten.

Bakgrunnen for denne bacheloroppgaven er å finne en ystingsprosess som kan hindre at sporer av bakterien *Clostridium tyrobutyricum* germinerer og produserer smørсыre under modning av økologisk goudaost. I meieriindustrien i Norge er det vanlig å benytte baktofugering eller mikrofiltrering for å fjerne sporene fra ystemelka. Dette er ressurskrevende og kostbare prosesser, så i småskalaproduksjon bruker man gjerne isteden tilsetningsstoffer som nitrat eller lysozym som har en hemmende effekt på disse bakteriene. I økologisk osteproduksjon er disse tilsetningsstoffene derimot ikke tillatt å bruke. Problemstillingen som dannet grunnlaget for denne bacheloroppgaven var et ønske fra Ragnhild Nordbø via Norsk Gardsost, da dette er en reell utfordring spesielt hos økologiske småskalaprodusenter.

Gruppen skal forsøke å benytte en hemmekultur samt en kombinasjon av hemmekultur og salt for å forhindre bakterien i å vokse opp i osten. Målet er å finne en mengde og kombinasjon som gjør at man hemmer smørсыregjæring tilstrekkelig uten at ostens konsistens, smak og modning endres. Det ble besluttet å se nærmere på *Lactobacillus rhamnosus* som hemmekultur da dette var et ønske fra norske økologiske osteprodusenter i småskala. Tilgang på *L. rhamnosus* i Norge og gunstig pris er viktige faktorer her.

Ystingene ble utført sammen med en annen bachelorgruppe (heretter omtalt som Jøndal og Gjestad (2020)), som så på effekten av kun salt for å forhindre oppblomstring av bakterien i osten. Mye av arbeidet med bacheloroppgaven, både praktisk og teoretisk, har derfor vært et samarbeid mellom gruppene.

På grunn av situasjonen som oppstod som følge av Covid-19, fikk ikke gruppen gjennomført hele bacheloroppgaven som planlagt. Ystingene ble fullført, men mye laboratoriearbeid måtte avlyses. Kvantifisering av *C. tyrobutyricum* i ystemelk utgikk helt. Analyser av mengde

smørtsyre i ostene gjennomført av TINE ble derfor meget viktig for å vurdere effekten av de ulike tiltakene.

## 2. Teori

### 2.1 Teori om bakteriesporer, *Clostridium tyrobutyricum*

Noen bakterier har den evnen at de kan danne sporer. Dette er som oftest encellede organismer som frigjøres fra mororganismen, og dannes typisk som en hvileform eller som en formeringscelle (Tønjum 2020b). Dannelsen skjer ved at mororganismen starter transkripsjon av sporuleringsgener i stedet for å gå inn i vanlig celledeling. Sporene tåler ytre stress meget godt, da de som oftest er dehydrerte og arvestoffet er beskyttet av spesielle proteiner. Dette gjør at de fleste sporene fint kan overleve varmebehandlingsprosesser som pasteurisering. Når sporene oppfatter at det er tilstrekkelig næring til stede, kan de vokse ut til en vegetativ celle i en prosess kalt germinering. (Granum 2015 s. 41-42)

*Clostridium* er en bakterieslekt som har evne til å danne sporer, og de finnes vidt utbredt i blant annet jord og tarm (Tønjum 2020a). De er grampositive, og de fleste er obligat anaerobe, selv om toleransen for oksygen kan variere noe. Slekten får vanligvis energi fra gjæring av organiske forbindelser som karbohydrater og proteiner. Når det er snakk om smørсыregjæring i ost, er det stort sett artene *C. sporogenes*, *C. butyricum* og *C. tyrobutyricum* som dominerer. (Pahlow m.fl. 2003 s. 19)

Av disse tre artene er *C. tyrobutyricum* den aller viktigste, og utgjør omtrent 70 prosent av de smørсыregjærende bakterieartene i melk (Johansen m.fl. 2013 s. 28). *C. tyrobutyricum* har som oftest peritrik flagellering, og forekommer vanligvis enten enkeltvis eller i par. Sporene den danner har oval form. *C. tyrobutyricum* kan skilles fra andre nærslektede arter ved sin manglende evne til å fermentere laktose, maltose og salicin. (Ivy og Wiedmann 2014 s. 468) I tillegg har *C. tyrobutyricum* egenskapen at den kan fermentere melkesyre ved pH helt ned mot 4,2 (Pahlow m.fl. 2003 s. 21).

*C. tyrobutyricum* regnes som apatogen for mennesker og dyr, men spiller en viktig rolle i forhold til fôr- og melke kvalitet. Ved forhold med lav pH, utnytter bakterien melkesyren og omsetter den til smørсыre, H<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub> i sin metabolisme. (Johansen m.fl. 2013 s. 29)



## 2.2 Hvor kommer sporene fra?

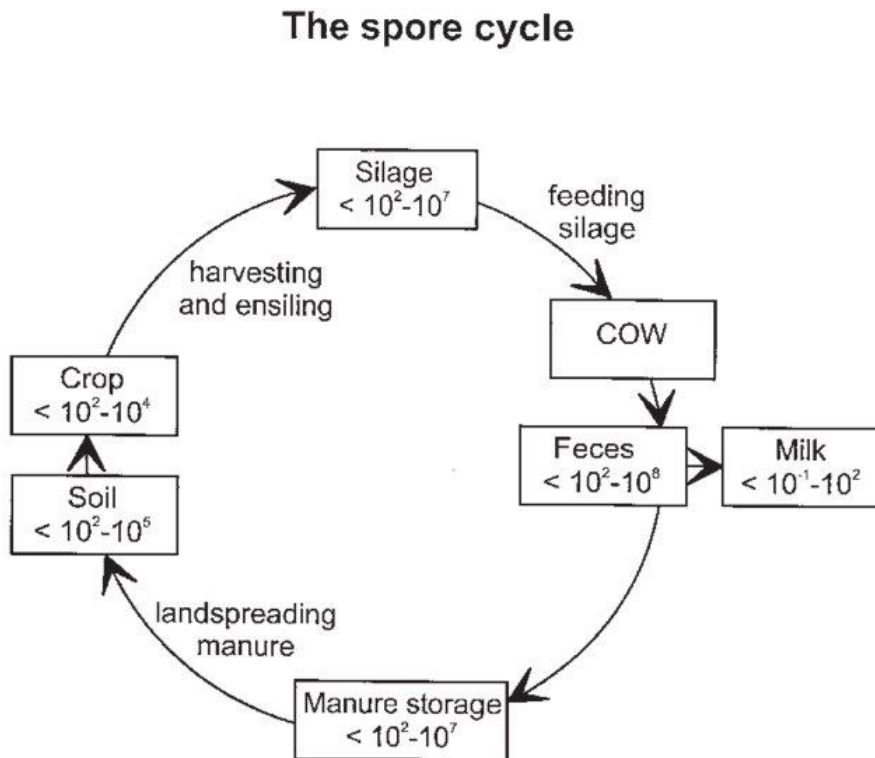
For å få en forståelse for hvordan sporene kommer i melka, er det naturlig å gå tilbake for å kartlegge hvor sporene kommer fra. *Clostridium*-bakterier finnes naturlig i jorda, der de har viktige arbeidsoppgaver i nedbrytningsprosesser. Slik vil det også naturlig finnes bakterier og sporer nederst på gressstengelen. Når gresset skal høstes, vil det derfor først og fremst være viktig å ikke kutte stengelen for langt ned, men la 10-12 centimeter stå igjen. Likevel vil gresset under høsting bli liggende en periode på gressmarka for å tørke etter slåing, og i denne perioden er sjansen for kontaminering fra jorda stor. Gresset kan i tillegg kontamineres med sporene i sin vei opp fra jorda under spiring, og sporene kan da feste seg og være til stede under hele framveksten. I tillegg kan hardt regn eller vind spre sporer fra jord eller husdyrgjødsel til plantene. (Johansen m.fl. 2013; Wiik 2018)

Dersom fôret inneholder sporer, vil disse kunne passere gjennom hele fordøyelsen til kua og oppformerer i feces. Også strømateriale brukt i fjøset og jordrester fra beiteområder kan inneholde sporer. Derfra skjer forurensingen til melka stort sett i form av kontaminasjon fra jur, spener eller melkemaskin. Tilstrekkelig vasking av jur og god hygiene under melking er derfor svært viktig. (Wiik 2018; Johansen m.fl. 2013 s. 47)

Høye sporeantall forekommer oftere hos gårder med automatiske melkesystemer kontra de med tradisjonelle melkesystemer. Årsaken til dette kan være flere, men en teori kan være at det er vanskelig å tilpasse vasking av juret individuelt ved automatiske melkesystemer. I tillegg er det lange rørgater med store dimensjoner som ofte gir utfordring i forhold til vask. (Haug og Rønningen 2010 s. 63-64).

Det har vist seg at det er mer sporer i økologisk melk sammenlignet med konvensjonell melk. Analyser av sporeinnhold gjort av TINE viser for eksempel at andel økologiske melkeleveranser med høyt sporeinnhold lå på mellom 14,6 og 16,3 prosent fra 2008 til 2010, mens tilsvarende andeler i den totale melkeleveransen lå på mellom 7,4 og 8,8 prosent. Grunnen til at sporeantallet er så mye høyere hos økologiske produsenter er uvisst, men en teori kan være begrensningen på å benytte maksimalt 40 prosent kraftfôr i fôrrasjonen på tørrstoffbasis. Dermed må en større andel av fôret bestå av grovfôr, og det er jo nettopp her sporeproblematikken oppstår. (Lindås 2011 s. 113)

I figur 1 kan man se syklusen til sporene fra fôr, via feces til melka og tilbake til jord og fôr.



**Figur 1** Clostridium-sporenes syklus fra silo til ku, videre til feces, ut på jord og tilbake til silo (Pahlow m.fl. 2003 s. 28)

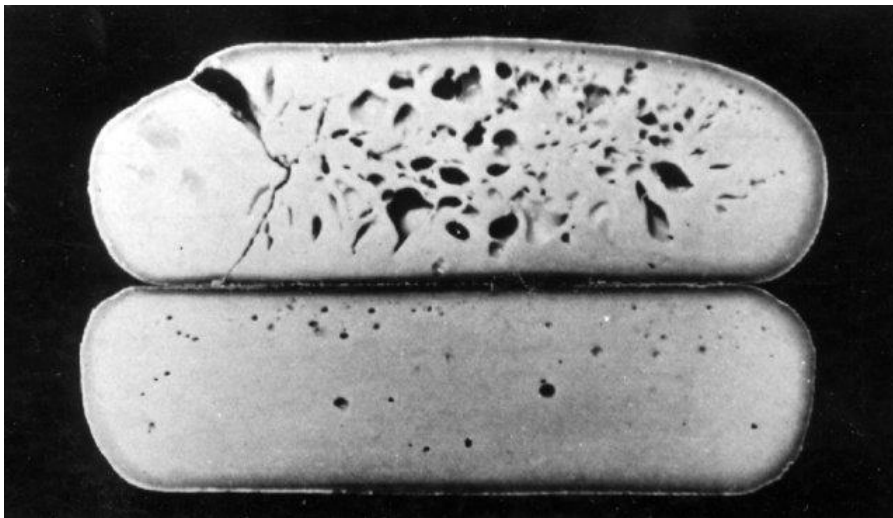
Når melka ankommer meieriet og går gjennom pasteuriseringen, overlever sporene. Dermed er også konkurransen i form av andre bakterier borte, og sporene kan germinere og formere seg når forholdene ligger til rette for det (Wiik 2018). Studier har vist at *C. tyrobutyricum* vokser i temperaturområdet mellom 12-43 °C, men optimumstemperaturen ligger på mellom 30-37 °C. For at bakterien skal kunne vokse, bør pH ligge mellom 5 og 7,5. Bakterien tåler en natriumkloridkonsentrasjon på inntil 3 prosent. (Ruusunen m.fl. 2012 s. 1793; Johansen m.fl. 2013 s. 16, 29)

### 2.3 Senesing i ost

Når melk som inneholder sporer benyttes til produksjon av harde eller halvharde oster som gouda, parmesan og emmentaler, vil sporene kunne forårsake «senesing» i osten. Antall sporer som tolereres før osten blir utsatt for senesing, varierer blant annet med behandlingen melken gjennomgår før osteproduksjon, bruk av tilsetningsstoffer for å hemme bakteriesporene, og med hvilken type ost som skal produseres. Eksempelvis krever parmesan og emmentaler svært lavt sporeantall før senesing blir et problem i osten. Derfor er fôring

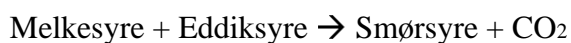
med silo der sporeantallet antas å være høyt forbudt i enkelte produksjonsområder i Italia, Sveits og Bayern der disse ostetyperne produseres. Ved produksjon av cheddar er senesing sjeldent et problem, da den ferske osten blandes med salt som hemmer bakterieveksten. (Pahlow m.fl. 2003 s. 26) Klijn m.fl. (1995 s. 2919) skriver at det er viktig at melk som skal benyttes til å produsere goudaost inneholder mindre enn 1 spore per 100 ml melk for å unngå senesing (Klijn m.fl. 1995 s. 2919). En svært liten sporemengde er altså nok til å forårsake smørsyregjæring i osten.

Senesing er et resultat av at sporedannende bakterier som *C. tyrobutyricum* danner gass. Dette skjer ved at sporene germinerer når forholdene er optimale, og går over til vegetative celler. De vegetative cellene bryter ned laktat, og det blir dannet eddiksyre, smørsyre, CO<sub>2</sub> og H<sub>2</sub>. Dette fører til at det dannes sprekker og hull i osten, samtidig som det blir en ubehagelig smak. (D'Incecco m.fl. 2017 s. 134) På grunn av at det i denne prosessen dannes smørsyre som forårsaker den dårlige lukten og smaken, kalles dette gjerne også for smørsyregjæring. Eksempel på sprekkdannelse i ost kan ses i figur 2.



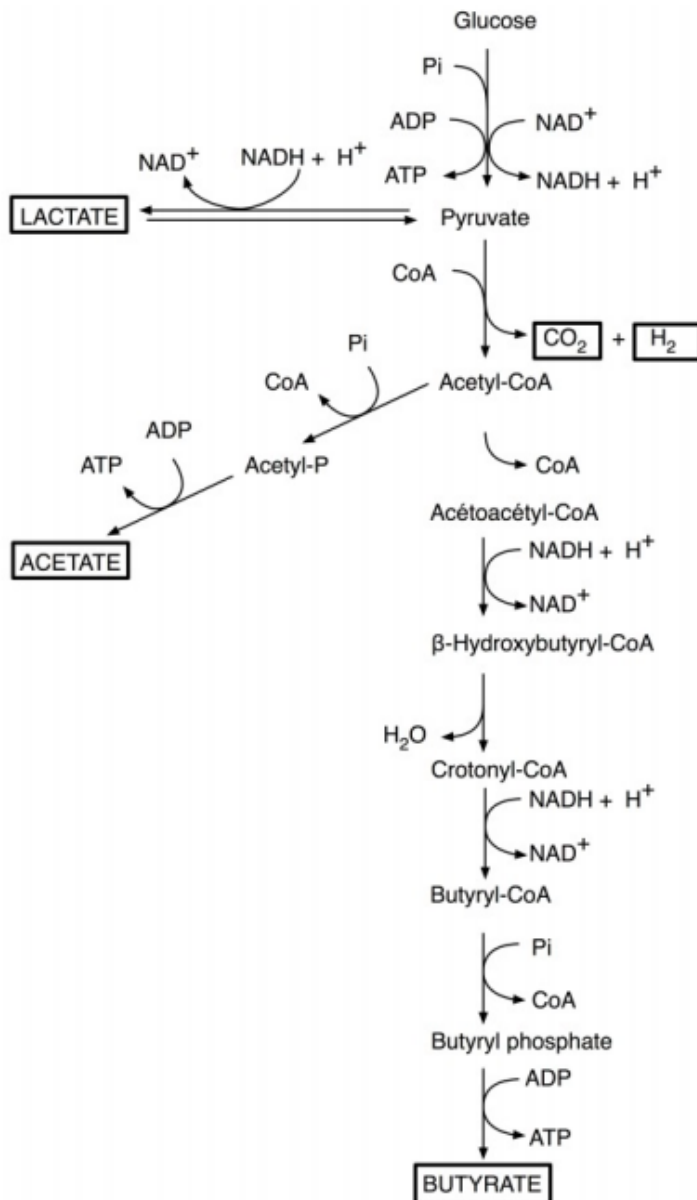
Figur 2 Senesing i ost (Pahlow m.fl. 2003 s. 26)

I nedbrytingen av melkesyre blir det dannet eddiksyre, men for å få dannet smørsyre trenger man i tillegg eddiksyre. Derfor kan smørsyregjæringen forårsaket av *C. tyrobutyricum* beskrives gjennom to koblede biokjemiske reaksjoner:



Den andre reaksjonen er energigivende, da det dannes adenosintrifosfat (ATP). Støkiometrisk kreves det to deler melkesyre for å danne en del smørtsyre. (Pahlow m.fl. 2003 s. 22)

Nedbrytingsmekanismen av glukose og laktat (melkesyre) til acetat (eddiksyre) og byturat (smørtsyre) kan ses i figur 3.



**Figur 3** Produksjon av smørtsyre, eddiksyre, CO<sub>2</sub> og H<sub>2</sub> av *C. tyrobutyricum* vha. glukose. (Drouin og Lafrenière 2012 s. 377)

## 2.4 Hemming

Det finnes flere metoder for å hemme smørsyregjæring i ost. Som nevnt tidligere, benytter meieriindustrien i Norge seg av baktofugering eller mikrofiltrering for å fjerne sporene fra ystemelka før ystingen begynner. Alternativt kan man tilsette nitrat eller lysozym til ystemelka, som da vil virke hemmende på veksten av smørsyrebakteriene. I økologisk produksjon er det dermed ikke tillatt å benytte nitrat eller lysozym, og ofte er teknikker som baktofugering og mikrofiltrering for kostbart. Da kan hemming ved hjelp av hemmekultur eller salt være alternativ.

### 2.4.1 Tilsetting av nitrat

Ved tradisjonell fremstilling av goudaost er det vanlig å benytte nitrat for å hemme smørsyregjæring og dermed senesing. Nitrat tilsettes i mysen, og mesteparten forsvinner dermed også ut igjen ved myseavtapp. Nitrat hemmer både smørsyrebakteriene og koliforme bakterier. Under modningen blir nitrattet i osten redusert til nitritt som diffunderer gjennom cellemembranen og fører til blokkering av enzymets dehydrogenase, og på denne måten hindrer germinering av sporer (Schneider og Pischetsrieder 2013 s. 772). Bruken er omdiskutert da nitrittet kan reagere med aminosyrer og danne nitrosamin, som er sett i sammenheng med kreft. Dette har gjort at meieriindustrien har gått mer og mer bort fra å bruke nitrat i osteproduksjon. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 118)

Ved økologisk produksjon er det ikke tillatt å tilsette nitrat til osten (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 119). For å kunne benytte tilsetningsstoffer ved produksjon av økologiske næringsmidler, må behovet dokumenteres, og kun dersom andre godkjente alternativer ikke finnes (Økologiforskriften 2017 Forordning 837/2007 Kapittel 4 Artikkel 19-21).

### 2.4.2 Tilsetting av lysozym

Lysozymer er enzymer som svekker eller dreper enkelte bakterier ved å spalte karbohydrat som finnes i disse bakterienes cellevegg (Stensland 2019). Ved å tilsette lysozym i ystemelken før den koagulerer, vil dette kunne hemme senesing. Lysozymene binder seg til kaseinet og forblir på den måten aktivt gjennom modningen av osten. Lysozymene lyserer celleveggen til den vegetative formen av *C. tyrobutyricum*, og ødelegger dermed bakterien før den rekker å virke negativt inn på ostens modning. (Majdik 2013 s. 262)

Lysozym kan brukes som et alternativ til nitrat. Lysozym brukt i ost er fremstilt fra eggehvite, og med tanke på allergener må osten derfor merkes tydelig med dette. Det er ikke tillatt å benytte lysozym i økologisk osteproduksjon. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 119; Økologiforskriften 2017 Forordning 837/2007 Kapittel 4 Artikkel 19-21)

#### 2.4.3 Tilsetting av salt

Siden de vegetative cellene går til grunne ved pasteurisering av ystemelken, er det sporene som kan forårsake senesing i osten. Ved å etablere forhold under ystingen og i den ferske osten som reduserer muligheten for germinering, vil man kunne hindre esingen. Tilsetting av salt er et eksempel på dette. Sporene er i seg selv svært salttolerante, men selv ved svært lave saltkonsentrasjoner vil man kunne hindre sporene i å germinere til vegetative celler. Tilsetter man salt under ysteprosessen, for eksempel til mysen, vil man derfor kunne hemme smørsyrebakterienes vekst og aktivitet i osten. Ved å tilsette salt i myse påvirkes også melkesyrebakterienes vekst og evne til å danne melkesyre. Slik endres også ostens pH og vannbindingsevne. Salting av ost kun i saltlake er ikke tilstrekkelig da det tar en stund for saltet å diffundere inn mot kjernen av osten, og på denne tiden vil sporene ha rukket å germinere. (Abrahamsen m.fl. 2006 s. 58; Düsterhöft m.fl. 2017 s. 884)

En rekke ystingsforsøk gjennomført på 1960-tallet for å optimalisere ysteteknikken for Jarlsberg-ost så på effekten av salttilsetning i mysen. Forsøkene viste at saltinnholdet i moden ost øker lineært med nivået av salting i mysen. Ved høyere saltinnhold går nedbrytingen av protein saktere, og dermed vil også modningen gå langsommere. Sterk salting i mysen viste seg å virke uheldig på smak og konsistens på moden ost dersom pH var lav, men gav en positiv smak på ost med høyere pH. (Abrahamsen m.fl. 2006 s. 63)

#### 2.4.4 Baktofugering

Baktofugering, eller supersentrifugering, ble utviklet på begynnelsen av 1960-tallet for å redusere bakterieinnholdet i melk. Prinsippet går ut på at bakterienes spesifikke vekt er større enn melkens tyngste bestanddeler, og dermed kan man skille ut bakteriene ved hjelp av sentrifugalkrefter. Ved optimale driftsbetingelser kan baktofugering redusere melkens totale bakterieinnhold med omtrent 90 prosent. Sporer fra sporedannende bakterier som *C.*

*tyrobutyricum* er tyngre enn bakterier, og man oppnår dermed en reduksjon av sporeinnholdet i melka på 99 prosent. (Abrahamsen m.fl. 2006 s. 73, 75)

#### 2.4.5 Mikrofiltrering

Mikrofiltrering er en teknikk der man separerer en væske ved hjelp av en semipermeabel membran. Ved separering sitter man igjen med to deler, der den ene delen passerer membranen (permeat), mens den andre delen holdes igjen (retentat). (Rosenberg 1995 s.12-13)

Ved å bruke en svært liten porestørrelse (0,8-1,4  $\mu\text{m}$ ) vil bakterier og sporer bli igjen i retentatet. Mikrofiltrering vil kunne fjerne 99 prosent av bakteriene i melka. Siden melkens fettkuler har størrelse på mellom 1-10  $\mu\text{m}$ , må fløten separeres fra melka før den filtreres. Dersom man skal standardisere melken med fløte, må fløten varmebehandles for seg selv før den blandes med den mikrofiltrerte melka. (SNT 2003 s. 38, 72)

Mikrofiltrering benyttes i meieriindustrien for å bedre holdbarhet på konsummelk, men også for å redusere forekomst av sporedannende bakterier i ost. Mikrofiltreringsanlegg er imidlertid relativt kostbart, og retentatet vil i tillegg føre til dårlig melkeutnyttelse og høyt svinn. (SNT 2003 s. 73)

#### 2.4.6 Hemmekultur

Hemmekultur er definert som levende mikroorganismer som bevisst er tilsatt i mat for å kontrollere bakteriell status uten å endre dens teknologiske og sensoriske kvalitet (Said m.fl. 2019). Hemmekultur består av utvalgte melkesyrebakterier som hindrer vekst av patogene mikroorganismer og forringelsesbakterier (Young m.fl. 2011). Å benytte melkesyrebakterier som konserveringsmiddel i mat er en anerkjent metode. Melkesyrebakterier har antimikrobiell effekt ved å hindre matbårne patogener og forringelsesbakterier gjennom å produsere ødeleggende syrer og bakteriosiner. (Hammami m.fl. 2019) Hemmekultur er nærmere beskrevet under punkt 2.5.

## 2.5 Teori om hemmekultur

Konsumenter har de siste årene blitt mer bevisste på tilsetningsstoffer i mat, og da særlig kjemiske konserveringsmidler. Samtidig er konsumentene kvalitetsbevisste og opptatt av lang holdbarhet på maten de kjøper. For å forhindre mikrobiell vekst som forringer produktet har det vært økende fokus på å benytte melkesyrebakterier (Desmazeaud 1996 s. 133).

Melkesyrebakterier kan fungere som hemmekultur ved at de motvirker vekst av patogene mikroorganismer eller forringelsesmikroorganismer i mat, og de regnes samtidig som trygge for konsum (Young og O'Sullivan 2011 s. 168). Disse melkesyrebakteriene produserer bakteriosiner som allerede finnes naturlig i mat. Tilsetning av bakteriosiner, enten i ren form eller som bakteriosinproduserende melkesyrebakterier, er blitt brukt i meieriindustrien i lengre tid. Dette er et godt alternativ til kjemiske konserveringsmidler da disse melkesyrebakteriene og deres bakteriosiner ikke utgjør noen helserisiko og fordøyes lett hos mennesker. Det er vanlig å tilsette disse i matvarer som yoghurt, melk og ost. (Silva m.fl. 2018)

Det er mulig å benytte seg av hemmekulturer for å hindre oppblomstring av sporer fra bakterier som *C. tyrobutyricum*. Vekst og germinering av sporer kan hindres av bakteriosiner. Bakteriosiner defineres som proteiner eller proteinkomplekser som produseres av en bakterie som fører til hemming eller drap av en annen bakterie. (Desmazeaud 1996 s. 133, 141) Blant de mest vanlige hemmekulturene for konsum finner man *Lactobacillus*-arter som *L. casei* og *L. rhamnosus* (Davidson m.fl. 2015 s. 11). *L. rhamnosus* produserer bakteriosiner som hindrer flere grampositive bakterier som blant annet *Clostridium*-arter. Det er særlig sett en effekt mot *C. tyrobutyricum*. Dette er testet i oster som emmental og gouda. *L. rhamnosus* kan fungere som en effektiv erstatning for nitrat i goudaost. (Chamba og Irlinger 2004 s. 202)

Det mest kjente bakteriosinet som benyttes er nisin som produseres av *Lactococcus lactis*. Dens målgruppe er grampositive bakterier som *C. tyrobutyricum* og den angriper ved å bryte ned cytoplasmamembranen på målbakterien. Den danner ionekanaler eller porer som fører til effusjon av cellemateriale slik at cellens pH-gradient og membranpotensial blir ødelagt og hindrer cellens funksjon. Når det gjelder sporer av grampositive bakterier forhindrer nisin ettergerminering, altså at vekst og formering av vegetative celler ikke kan skje. Nisin er kjent for å ha en god effekt på smørсыregjæring i ost. (Young og O'Sullivan 2011 s. 161)



I tillegg til bakteriosiner kan hemmekulturer ha antimikrobiell effekt gjennom å utkonkurrere andre bakterier ved å produsere organiske syrer, og ved å først benytte tilgjengelig oksygen og næring. De gjennomgår også en prosess kalt «quorum sensing» som betyr at de kan føle miljøet de er i og justere videre forløp etter nye utfordringer dette miljøet gir. (Young og O'Sullivan 2011 s. 168)

For å få god effekt av hemmekultur er det viktig at det ikke er for høyt antall av sporer tilstede i melka. Dersom det er mulig å holde antall sporer lavt med andre tiltak så er tilsetning av *Lactobacillus*-arter en god ekstra sikkerhet under produksjon for å hindre klostridier. (Ardö og Vogensen 2005 s. 12)

## 2.6 Diagnostikk og analysemetoder

### 2.6.1 Mikrobiologiske analyser

God mikrobiologisk prøvetaking og analyse er nødvendig for å sikre en ost som er trygg å spise, og at ysteprosessen har foregått på best mulig måte. Mikrobiologisk analyse av ost kan deles inn i tre: (a) analyse av tilsatte melkesyrebakterier og deres utvikling, (b) analyse og kontrollering av kvalitetsforringende organismer som for eksempel anaerobe sporer og bakteriofager, og (c) kontroll av patogene bakterier som kan være sykdomsfremkallende. Patogene bakterier og forringelsesorganismer kan bli tilført gjennom hele ysteprosessen, og det er viktig med god produksjonshygiene. Man kan analysere ferdig ost, men vel så viktig er analyse underveis i ysteprosessen, av utstyr og produksjonsmiljø, samt råmelk og pasteurisert systemelk. Analyse av sluttprodukt og underveis i ysteprosessen kan vise om HACCP-systemet fungerer som det skal. (Neaves og Williams 2010 s. 408-409)

Ved analyse av sluttprodukt og underveis i ysteprosessen vil man kunne sjekke om god hygiene- og produksjonspraksis blir overholdt, og at ingenting krysskontamineres av produksjonspersonell (Granum 2015 s. 299, 303-304). Et godt mål på god hygiene- og produksjonspraksis er å analysere for Enterobacteriaceae, som kan fungere som en god indikatorbakterie for oster ystet med pasteurisert melk (Neaves og Williams 2010 s. 403). Totalkim kan brukes som et godt mål på generelt nivå av bakterieinnhold i råmelk og som kvalitetskontroll etter pasteurisering (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 116).

### 2.6.1.1 Analyser for anaerobe sporedannere

Det finnes flere ulike metoder å benytte for diagnostikk av anaerobe sporedannere i melk. Most Probable Number (MPN-metoden) benyttes i dag av TINE for kvalitetsbestemmelse av leverandørprøver. Når man benytter denne metoden, fordeles prøvene i rør, og man leser av for vekst/ikke vekst. Man kan benytte ulike vekstmedium i rørene, for eksempel RCM som favoriserer klostridier. Prøvene kan også varmebehandles før inokulering for å eliminere vegetative celler. Deretter tettes rørene med parafinpropp, og dersom det dannes gass vil proppen presses opp i løpet av inkuberingen. Prøven regnes da som positiv. Antall positive rør leses av mot en tabell, og man kan på den måten anslå mest sannsynlig antall bakterier. Ulikt antall rør benyttes til denne metoden, hvorav 3-, 9- og 12-rørsmetoden er de vanligste. (Johansen m.fl. 2013 s. 35-39)

For å kunne bestemme et mer eksakt antall sporer i melkeprøvene, kan filtreringsmetoder benyttes. Da benyttes mellom 10-100 gram melk som først varmebehandles for å eliminere vegetative celler. Etter varmebehandling må prøvene forbehandles slik at man får finfordelt fett og protein, så dette ikke tetter igjen filteret. Prøvene filtreres, og inkuberes deretter anaerobt på RCM-skåler. *Clostridium*-sporer kan deretter leses av i stereomikroskop. (Ekelund m.fl. 2003 s. 2, 6)

### 2.6.2 Kjemiske analyser

Kjemiske analyser av ost er ikke særlig vanlig i småskalaproduksjon, men kan være til stor hjelp for å få bedre styring på modningsprosessen. Ved å måle tørrstoff, fett og vanninnhold kan man regne seg frem til verdier man kan tilpasse modningen etter. Vanninnhold kan også måles, og gir en god pekepinn på hvor fort modningen vil foregå. (Nordbø og Ballhaus 2018 s 152)

Kjemiske analyser kan foretas på flere måter, både instrumentelle og kjemiske. Felles for metodene er viktigheten av å få tatt ut prøver på korrekt måte, og fra riktig sted i osten. Type prøvetaking avhenger av osteform og type ost. For lakesaltede oster anbefales kutting som metode, og prøvested og mengde må tenkes nøye gjennom. Det anbefales å analysere flere paralleller for best mulig resultat. Analysemetodene er regulert gjennom ulike ISO-standarder, og det finnes mange ulike alternativer. Tidligere var de instrumentelle metodene basert på massespektrometri og kromatografi, men dagens mest moderne løsning er basert på såkalt

Fourier-transform infrarød (FTIR) spektroskopi. Et eksempel på et slikt instrument er FOSS NIRSystems (FoodScan). FTIR spektroskopi overvåker vibrasjonene til ulike molekyler under infrarødt lys, og kan analysere for fett, tørrstoff, vanninnhold, laktose og andre mindre kjente forbindelser. (Subramanian og Rodriguez-Saona 2010 s. 168-169, 196-197)

#### 2.6.2.1 Analyse av smørsyre

Smørsyren som dannes av *C. tyrobutyricum* er en kortkjedet, fri fettsyre, og måling av denne og andre frie fettsyrer kan gjøres på flere måter. Den vanligste metoden er basert på bruken av gasskromatografi med flammeionisasjonsdetektor (FID). (Kilcawley 2010 s 431, 440)

Analyser av frie fettsyrer som smørsyre kan være vanskelig da de bare utgjør en liten andel av det totale melkefettet, og det kan være utfordrende å skille de fra vanlige triglyserider før analysering. Før analysen med gasskromatograf kan foretas må fettsyrene gjennom ulike forberedende prosedyrer, som oftest ekstrahering og esterifisering (Fuente og Juárez 2010 s. 221). Ekstraheringen av fettsyrene fra eksempelvis ostemasse gjøres som regel med oppløsning i eter (Thierry m.fl. 2017 s. 437).

Før fettsyrene som er ekstrahert i eter kan kvantifiseres i gasskromatografen, bør de esterifiseres. Under esterifiseringen blir fettsyrene derivatisert, det vil si at de blir mindre polare, og mer flyktige. Dette gjør at de blir lettere å analysere. Ved esterifiseringen benyttes det syre, base eller ester som reagens, og de frie fettsyrene blir omgjort til fettsyremetylestere. (Fuente og Juárez 2010 s. 212-213, 221) En del prosedyrer benytter ikke esterifisering, men analyserer direkte på gasskromatograf (Thierry m.fl. 2017 s. 437).

Etter ekstrahering og eventuell omgjøring til fettsyremetylestere er det klart for analyse. Gasskromatografer med flammeionisasjonsdetektor fungerer ved hjelp av en bæregass, ofte hydrogen eller nitrogen, som transporterer den ekstraherte prøven. I flammeionisasjonsdetektoren føres prøven og bæregassen gjennom en flamme, og komponentene i prøven forbrennes. Det dannes så ioner som plukkes opp av en detektor for videre analysering. Hver ulike komponent har sin spesifikke signatur. (Klee 2012 s. 317-320) Etter analysen sammenlignes prøveresultatene med en intern standard, og man kan identifisere hvilke komponenter som var tilstede i den ekstraherte prøven (Kilcawley 2010 s. 441).

## 2.7 Produktbeskrivelse av goudaost

Gouda beskrives som ostetype i Codex Alimentarius. Ifølge standarden er gouda en modnet, fast/semi-fast ost, med alt fra nesten hvit til gul farge. Fettinnhold i tørrstoffet skal være minimum 30 prosent, men har ingen øvre grense. Teksturen skal være såpass fast at osten kan skives uten problemer. Hullsettingen kan variere fra lite til mye, med maksimal hullstørrelse på 10 millimeter i diameter. Osten kan selges med eller uten skorpe, og modningsperioden bør være minimum 3 uker. Det er også tillatt med modningsfremmende enzymer for å forkorte modningsperioden. (Codex Stand. 266-1966)

Nordbø og Ballhaus (2018 s. 321) beskriver gouda som en ost som skiller seg fra andre løpefelte oster ved at den ystes med ettervarming under løping, røring og kutting av ostemassen. Den økte temperaturen fører til bedre drenering av ostemassen, og man får en hardere ost, gjerne med pH over 5,0. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 321) Ettervarming er beskrevet nærmere i kapittel 2.8.6.2.

### 2.7.1 Forskjeller mellom industriell- og småskalaprodusert gouda

Den svært generelle standarden for gouda i Codex Alimentarius åpner for mange ulike ostevarianter, og spesielt kan man dra et skille mellom industriell- og småskalaprodusert gouda. De ulike næringene baserer seg på de samme teknologiske prinsippene under ysting, men tilvirkningsmåten varierer mye. Begrensede muligheter for innkjøp av automatisert utstyr gir stor forskjell i utførelse gjennom hele ysteprosessen, og det brukes mer manuelle og tradisjonelle metoder i småskalanæringen. (Fox m.fl. 2017 s. 706) Industrien har naturligvis et større fokus på høye volum, inntjening og effektivitet, og velger gjerne modningsmetoder som går raskere enn småskalaproducentene, som i tillegg kanskje har begrensninger innen lagringsforhold. Industrien benytter seg gjerne av modning i plastfolie, som gir en skorpefri ost, og en mer effektiv og kostnadsbesparende produksjon (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 874). Småskalanæringen har derimot bedre tilgang på fersk melk, og har muligheten til å lage ostevarianter med upasteurisert melk, noe som ikke er særlig vanlig i industriproduksjon (Fox m.fl. 2017 s. 15; Qvenild 2011 s. 52).

I tillegg til modning i plastfolie kan man modne gouda ved såkalt «coating». Overflaten sprayes med et belegg som er fukt- og gasspermeabelt, og sammen med kontrollert luftfuktighet og konveksjon får man en hard skorpe. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 874-875) Naturlig modning med tørket skorpe er også vanlig for tradisjonell gouda, hvor overflaten vaskes med eddik for å unngå mugg (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 332). I figur 4 og 5 under, kan man se eksempler på naturlig modning og modning i folie.



**Figur 4.** Naturlig, langtidsmodnet gouda. (Tölzer Kasladen 2020)



**Figur 5.** Industriell gouda modnet i store blokker i plastfilm (Royal A-ware 2020)

## 2.8 Ysteprosessen

Hensikten med dette kapittelet er å kort beskrive de mest elementære trinn i tilvirkningsmåten av løpefelte ettervarmede oster som gouda, slik at beskrivelsene i materiale og metode, samt resultater kan sees i en helhetlig sammenheng. De ulike trinnene i ysteprosessen forklares ved å redegjøre for hensikt og virkemåte. Prosessen er beskrivende både for produksjon i småskala og storindustri, da begge næringene benytter seg av mange av de samme teknologiske prinsippene i ystinga.

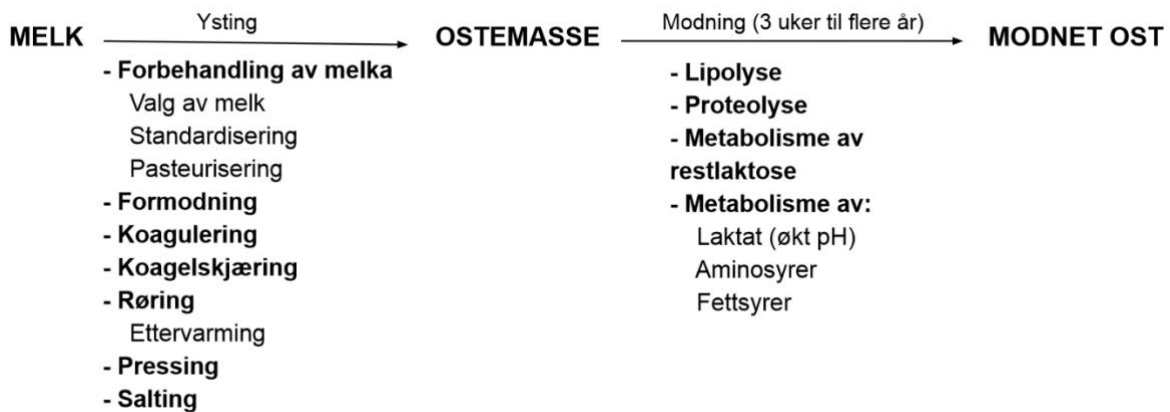
### 2.8.1 Grunntrekk i produksjon av løpefelt, ettervarmet ost

Produksjonen av løpekoagulerte, ettervarmede oster som gouda kan deles inn i de to fasene ysting og modning, som begge består av flere ulike prosesser.

I ystefasen inngår de operasjonene som foregår de første 24 timene, selv om prosesser som salting og dehydrering kan foregå over en lengre tidsperiode enn dette. Ysteprosessen kan variere noe mellom de ulike ettervarmede ostetypene, men de følgende trinnene regnes som

felles: formodning, koagulering, dehydrering (koagelkutting, ettervarming, røring, pressing, salting, eller andre prosesser som sørger for synerese), myseavtapping, forming og pressing, og salting. (Fox og McSweeney 2017 s. 10)

En oversikt over grunntrekkene i produksjon av løpekoagulerte, ettervarmede oster kan sees i figur 6.



*Figur 6. Grunntrekk i produksjon av løpefelt, ettervarmet ost. Laget med utgangspunkt i opplysninger fra Fox og McSweeney (2017 s.10)*

Osteproduksjon baserer seg på oppkonsentrering av fett og kasein i melka, som en følge av dehydreringsprosesser. Graden av dehydreringen avhenger av tidligere nevnte operasjoner, sammen med den kjemiske komposisjonen til melka. Modningen og de biokjemiske endringene som finner sted etter ysting styres av vanninnhold, salt, pH, og valg av bakteriekultur. Disse parameterne bestemmer tekstur, aroma og smak på den ferdige osten. (Fox og McSweeney 2017 s. 10-11) Ysteprosessen har med andre ord mye å si for egenskapene til det endelige produktet.

### 2.8.2 Valg av melk

Ysteprosessen starter med valg av melk med høy mikrobiologisk, biokjemisk og sensorisk kvalitet. Ostekvaliteten påvirkes i stor grad av råmelkas kjemiske kvalitet og sammensetning, og vil variere naturlig med produksjonsdyrets rase, helsestatus, fôringsregime og punkt i laktasjonsperioden. Melk fra kyr som er tidlig eller sent i laktasjonsperioden bør unngås, og somatisk celletall benyttes som mål på melkekvaliteten. Ostens endelige sammensetning blir særlig påvirket av melkas innhold av fett, protein, kalsium og pH.

Melkas mikrobiologiske kvalitet er naturligvis også viktig for ostekvaliteten, spesielt med tanke på mattrygghet og lagringsstabilitet. I juret holder melka en temperatur på 38,5 °C, en ypperlig temperatur for mange bakterier. Med mindre juret er infisert er melka derimot steril, og kontaminering med bakterier skjer først under eller etter melking. (Fox og McSweeney 2017 s. 13, 105)

Råmelk er et utmerket vekstsubstrat for mange ulike forringelsesorganismer og patogene bakterier, i tillegg til anaerobe sporedannere som *C. tyrobutyricum*. Melka er utsatt for kontaminasjon av bakterier og sporer på flere trinn underveis mot ystekaret, og kontroll av disse trinnene er viktig for å oppnå god mattrygghet og kvalitet. Melk med lavt innhold av anaerobe sporedannere bør velges for å unngå smørsyrefermentering og esing av osten utover i lagringen. (Panthi m.fl. 2017 s. 23, 27)

Foruten *C. tyrobutyricum* og andre sporedannere er de mest vanlige forringelsesorganismene psykotrofe bakterier som *Pseudomonas*, som evner å vokse selv under 7 °C (Fox m.fl. 2017 s. 105). De vanligste patogene bakterier som kan vokse i, eller kontaminere råmelk er *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* og *Salmonella ssp.* (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 133-139). Noen sporedannere kan også være patogene, som *Bacillus spp.* og ulike *Clostridium*-arter. Man bør i tillegg være på vakt ovenfor shigatoksinproduserende *E. coli* (STEC). (Panthi m.fl. 2017 s. 23)

### 2.8.3 Pasteurisering

Før ystingen kan begynne må melka pasteuriseres. Fellows (2009 s. 381-382) definerer pasteurisering som en mild varmebehandling hvis formål er å fjerne patogene bakterier, forringelsesorganismer og inaktivere uønskede enzymatiske reaksjoner. For ystemelk er det vanlig med såkalt HTST-behandling (high temperature – short time), hvor melka varmes til 71,8 °C med holdetid på 15 sekunder. Ved denne temperaturen dør både patogene bakterier og forringelsesorganismer. Etter pasteurisering kjøles melka raskt til 3-4 °C. Ved HTST-behandling er det lite tap av sensoriske kvaliteter som smak og aroma, og næringskvaliteten blir lite påvirket. (Fellows 2009 s. 381-382)

De viktigste patogene bakteriene som inaktiveres under pasteurisering er STEC, *L. monocytogenes* og *S. aureus* (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 868). *Brucella abortis* og

*Mycobacterium tuberculosis* er andre sykdomsfremkallende bakterier som drepes (Fellows 2009 s. 382). Sporer av *C. tyrobutyricum* dør ikke under pasteuriseringen, og må fjernes på andre vis - som beskrevet i kapittel 2.4 – for å unngå smørsyregjæring underveis i modningen. Andre forringelsesorganismer som propionsyrebakterier og naturlig tilstedeværende melkesyrebakterier drepes derimot av normal HTST-pasteurisering. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 868)

Pasteuriseringen inaktiverer også enzymer naturlig til stede i melk, som lipase, men ikke bakteriologiske enzymer produsert av psykotrofe bakterier under kjølelagring. Det er med andre ord viktig å pasteurisere melk som skal brukes til ysting raskt etter mottak, for å unngå uønsket enzymatisk aktivitet utover i ostemodningen. For ystemelk må man i tillegg unngå for høye temperaturer under pasteurisering, da dette kan føre til dårligere ysteegenskaper på grunn av denaturerte myseprotein eller inaktivering av ønskede enzymer. De denaturerte myseproteinene fester seg til kaseinmicellene, og hindrer de delvis fra å aggregere under løpingen. Dette fører til et svakere koagel, som vil bruke lang tid på å dannes. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 868)

#### 2.8.4 Standardisering

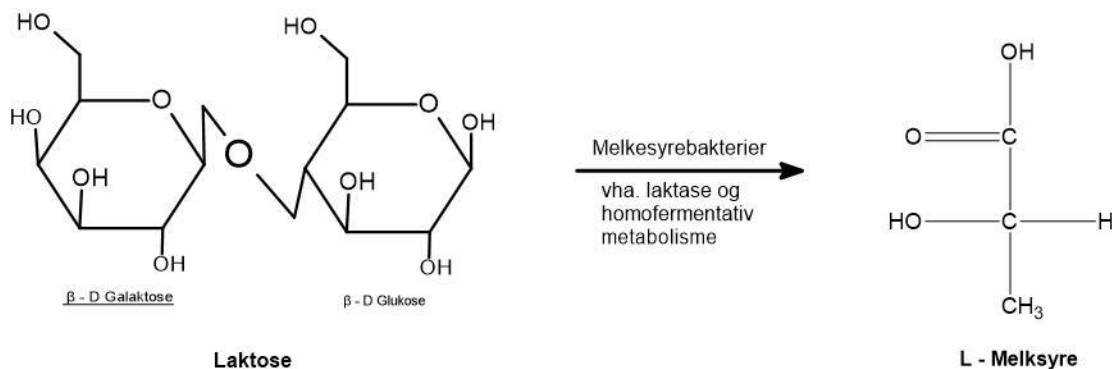
Etter pasteurisering er neste trinn i produksjonen av gouda standardisering av ystemelka. Dette gjøres for å oppnå riktig fettinnhold i den ferdige osten, og foregår som regel med blanding av fløte og skummetmelk ved hjelp av separering. Det er forholdet mellom kasein og fett som bestemmer hvordan innholdet av fett i tørrstoff blir, og forholdet mellom disse stoffene kan endres på flere måter. Tilsetning av fløte eller skummetmelk er som nevnt det vanligste, men man kan også øke innholdet av tørrstoff ved å tilsette ekstra proteiner i form av kasein eller skummetmelkpulver. Dette vil øke osteutbyttet betraktelig. (Fox m.fl. 2017 s. 13)

Ulike ostetyper har forskjellig mengde fett i tørrstoff, hvis grensenivåer ofte er regulert i «Codex Alimentarius». For gouda er det som nevnt tidligere en oppgitt nedre grenseverdi på 30 prosent fett i tørrstoff, mens det ikke finnes noe øvre grense. (Codex Stand. 266-1966) Nordbø og Ballhaus (2018 s. 322) sier at ettervarmede oster som gouda ofte lages på fettredusert melk, men at det også finnes fetere varianter laget på helfet melk som ikke standardiseres. Ost ystet på fettredusert melk får økt drenering, og dermed en mer gummiaktig konsistens sammenlignet med ost ystet av helfet melk. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 322)



### 2.8.5 Formodning

Før tilsetning av løpe og koagulering av ostemassen er det vanlig å la ystemelka gjennomgå formodning. I denne prosessen senker tilsatte melkesyrebakterier pH i ystemelka, ved å produsere melkesyre fra laktose. (Fox m.fl. 2017 s. 17) En enkel skjematisk oversikt over denne prosessen kan sees i figur 7.



**Figur 7.** Produksjon av melkesyre. Figuren er laget med utgangspunkt i opplysninger fra Coultate (2016 s. 24, 197)

Syrningen fortsetter etter formodningen også, og pågår i størst grad frem til rundt 24 timer. Først når nivået av laktose er lavt nok stopper prosessen på grunn av at melkesyrebakteriene går tom for tilgjengelig næring. (Fox og McSweeney 2017 s. 12)

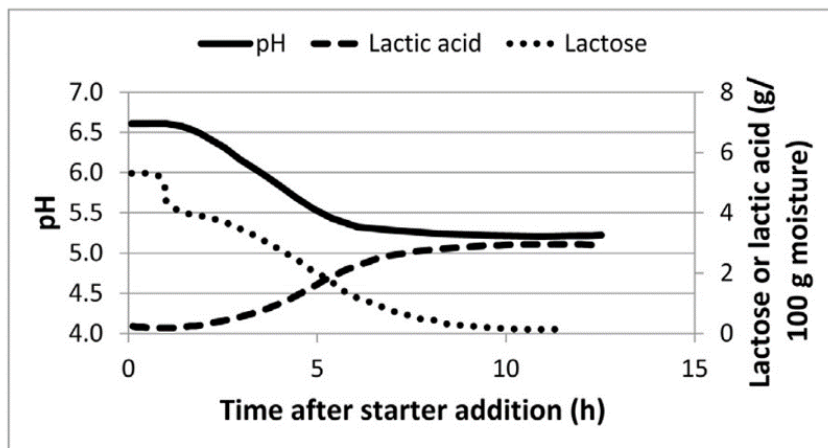
Ifølge Düsterhöft m.fl. (2017 s. 869-870) er hovedhensikten med å la osten synes å sikre en ost med lav mikrobiologisk aktivitet, som gir god matvaretrygghet og lang holdbarhet.

Dette sikres gjennom følgende trinn:

- 1. Rask fermentering av nesten all laktose.** Sørger for lite tilgjengelig næring for bakterier.
- 2. Produksjon av melkesyre og små mengder eddiksyre.** I ostens vannfase er det 3 prosent melkesyre til stede, hvorav 4-7 prosent av denne finnes i udisosiert form, og pH senkes til 5,1-5,2. Dette hindrer uønsket mikrobiologisk aktivitet.
- 3. Redusering av redokspotensiale i osten** til -140 til 150 mV, ved 5,2 i pH. Dette hindrer mikrobiologisk aktivitet.

Alle disse trinnene hindrer uønskede mikroorganismer i å vokse i osten. Saltinnhold og eventuell beskyttende skorpe bidrar også med å stoppe bakterievekst, gjennom henholdsvis senkning av vannaktivitet og etablering av fysisk barriere. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 869-870)

I figur 8, under, kan man se utviklingen av melkesyreproduksjon og restlaktose etter tilsetning av startkultur.



**Figur 8.** Melkesyreproduksjon under ysting av goudaost, som en funksjon av tid etter tilsetning av startkultur. Tilsetning av vann til ettervarming ved 45 min, start av pressing ved 2t og 30min, og start av lakesalting ved 5t og 45 min. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 871)

Figuren viser hvordan pH i melka synker gradvis etter tilsetning av startkultur. Før formodning ligger melka rundt 6,6 og den synker relativt sakte den første timen etter syrningsstart. Ved 45 minutter tilsettes oppvarmet vann til ettervarming, og man får et fall i laktosenivået. Når pressingen begynner ved 2 timer og 30 minutter starter pH å synke noe raskere. pH stabiliserer seg utover i lakesaltingen, og holder seg på rundt 5,2-5,3 før den etter hvert vil øke noe utover i modningen. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 871)

I tillegg til å sikre lav mikrobiologisk aktivitet, påvirker også melkesyreproduksjon og pH flere teknologiske aspekter ved osten:

- Koaguleringsaktivitet, som øker i takt med synkende pH
- Denaturering og bevaring av løpestoffer i ostemassen, som kan føre til økt proteolyse under modning.
- Koagelstyrke, som øker i takt med synkende pH og påvirker osteutbytte.

- Koagelsynerese som kontrollerer ostens vanninnhold og dermed styrer enzymatisk og mikrobiologisk aktivitet under modning.
- Graden av formodning bestemmer mengden av oppløst kalsiumfosfat, som igjen styrer kaseinets evne til proteolyse under modning.

(Fox m.fl. 2017 s. 19, 218)

I tillegg til melkesyre produserer melkesyrebakteriene også andre stoffer, som er viktige for utvikling av smak og aroma i gouda. Sammensetningen av bakteriene i startkulturen bestemmer hvilke produkter som produseres. I gouda er det vanlig med bruk av mesofil kultur, som kan benyttes helt opp mot 39 °C under ettervarmingen. Det kan benyttes direktekultur (DVS) eller brukssyre, hvor fordyrket brukssyre gir raskere syring og bedre vern mot uønskede bakterier. Fordyrket kultur kan derimot gi for kraftig formodning, noe som ikke er ønsket for ettervarmede oster som gouda. Ønskes en ost med lite hullsetting benyttes homofermentativ kultur, mens man ved ønske om noe mer hull kan benytte heterofermentativ kultur med mer gassproduksjon. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 323)

Vanlig kombinasjon av bakterier i startkultur for gouda er syreproduserende *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* og *L. cremoris*, citrat-fermenterende og CO<sub>2</sub>-produserende *Leuconostoc lactis* (L-kultur), *L. lactis* var. *lactis biovar diacetylactis* (D-kultur), eller *L. lactis diacetylactis* og *Leuconostoc*-arter (DL-kultur). (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 870)

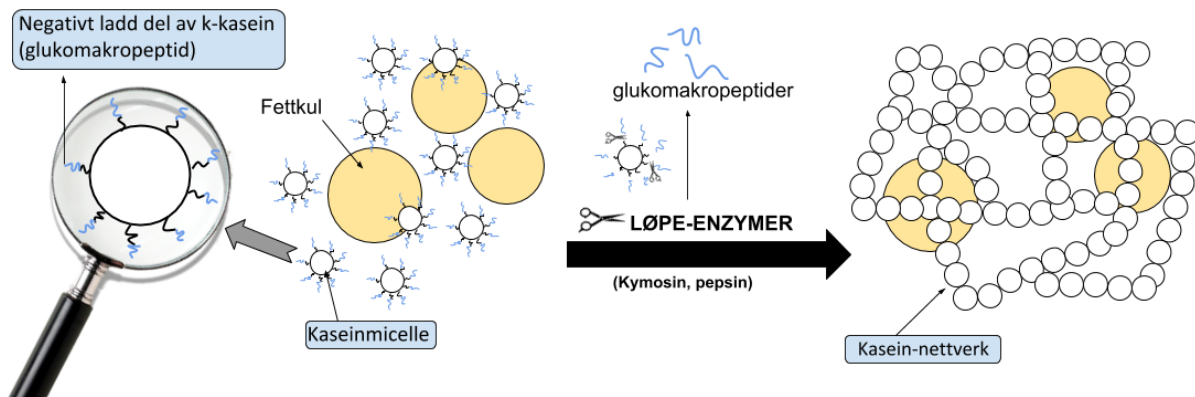
## 2.8.6 Fra melk til ostemasse

### 2.8.6.1 Løpelegging

Etter formodningen skal osten løpelegges. Det er i denne karakteristiske prosessen kaseinmicellene i melka koagulerer og danner et proteinnettverk som holder på melkefettet. (Fox og Mcsweeney, 2017 s. 14)

Løpen kan være av animalsk eller mikrobiell opprinnelse, og består hovedsakelig av enzymet kymosin, og en liten andel pepsin. Det er viktig at man ved løping lar koagelet bli sterkt nok, hvis ikke vil man få stort tap av finstøvet ostemasse og fett ut i mysen. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 871-872) Under løpingen spalter enzymene av kaseinmicellenes hydrofile, negativt ladde bestanddel av k-kaseinet (kappakasein). Det er kappakaseinets hydrofile ende, kalt

glukomakropeptid, som gjør at kaseinmicellene frastøter hverandre og ikke automatisk danner koagel. Ved avspaltning av glukomakropeptidene forsvinner de ut i melkeserumet, og kaseinmicellene mister overflateladningen og klumper seg sammen i et tredimensjonalt nettverk. (Jaros og Rohm 2017 s. 53) Prosessen er forsøkt illustrert i figur 9.



**Figur 9.** Løpens virkning på kaseinmicellen: fjerning av overflateladning og dannelse av kasein-nettverk. Laget med utgangspunkt i opplysninger fra Jaros og Rohm (2017 s. 53) og Düsterhoft m.fl. (2017 s. 871-872)

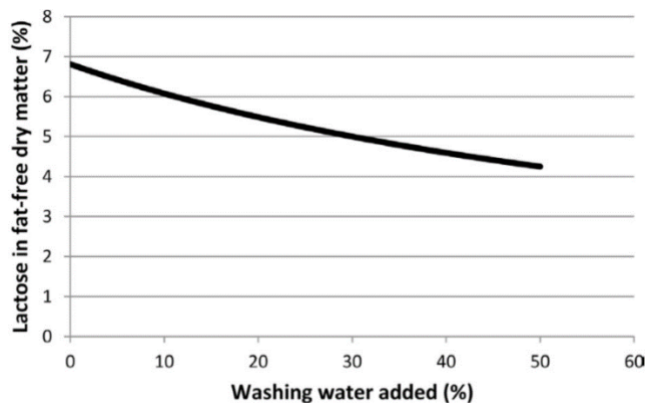
Mengden av kalsium i ystemelka har mye å si for hvor sterkt koagel som dannes. Kalsiumet fungerer som bindemiddel mellom micellene ved aggregering etter løpetilsetning. Kalsiumet er bundet i kaseinmicellene, og kan til en viss grad felles ut ved langvarig kjølelagring. Gammel melk med dårlig ysteegenskaper på grunn av stor andel løst kalsium kan dermed forbedres ved å tilsette kalsiumklorid. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 22)

#### 2.8.6.2 Kutting av koagel, ettervarming og røring

Når koagelet har herdet tilstrekkelig skal det kuttes i passende terninger, ettervarmes og røres. Koagelkuttingen og den påfølgende røringen og ettervarmingen gjøres for å fremme synerese, og påvirkes av pH, melkesammensetning, mengde  $\text{Ca}^{2+}$ , temperatur og grad av røring. Under syneresen slipper ostemassen myse, og man får en oppkonsentrering av fett og kasein. (Fox m.fl. 2017 s. 20)

Ostemassen kuttes i terninger, og for goudaost er det vanlig med terningsstørrelse på 8-15 mm. Størrelsen på osteterningene har stor innvirkning på ostens endelige vanninnhold – desto mindre terninger, desto større grad av synerese finner sted, og man får en ost med mindre vanninnhold. Etter kutting og røring lar man ostemassen hvile, før man tapper av 40-45

prosent av mysen, og øker temperaturen opp til 38 °C gjennom tilsetning av varmt vann. Denne prosessen er unik for gouda og andre ettervarmede oster. Den økte temperaturen fører til kraftigere synerese, og gjør at osten ikke syrner for mye under modningen ved å vaske ut laktose fra ostemassen. Dette er viktig for at melkesyrebakteriene ikke skal ha for mye tilgjengelig næring videre i modningen. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 872-873) Effekten av mengde tilsatt vaskevann på nivået av restlaktose kan sees i figur 10.



**Figur 10.** Effekten av mengden vann til ettervarming på nivået av restlaktose i fettfritt tørrstoff i Gouda (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 873)

Temperaturen under ettervarmingen kan økes noe høyere enn 38 °C, noe som vil føre til økt synerese. For høy temperatur kan derimot inhibere den mesofile startkulturen. Røringen foregår helt til ostemassen har gjennomgått en tilfredsstillende mengde synerese og utvasking av laktose. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 872-873)

#### 2.8.7 Forming og pressing

Etter ostemassen har gjennomgått tilstrekkelig synerese skal osten dreneres for siste rest av myse. Dette kan foregå i selve ystekaret i småskalaproduksjon, eller i store sylindere i industriell skala. En kort forpressing finner som regel sted under eller etter dette siste myseavtappet. Etter forpressingen er det vanlig å legge goudaosten i egne former, hvor den presses videre. Mengde trykk varierer mellom produsentene, men trykket under den siste pressingen er som regel rundt 0,2-0,3 kg/cm<sup>2</sup> for goudaost. Trykket økes gradvis gjennom tre eller fire steg. Hovedhensikten med pressingen er å oppnå ønsket form på osten, samt å få «lukket» skorpen. Dette gjør at osten ikke så lett blir kontaminert med mikroorganismer, og osten blir mer mekanisk stabil. (Düsterhöft m.fl. 2017 s.873-874)

### 2.8.8 Salting

Etter osten er presset skal den saltet. Dette er ifølge Guinee og Fox (2017 s. 317) viktig for å oppnå ønsket smak og aroma, og det inhiberer også vekst av uønskede bakterier (Guinee og Fox 2017 s. 317). Sammen med pH, vannaktivitet og redokspotensiale er salting en viktig parameter for å sikre god mikrobiologisk kvalitet. Ettervarmede oster kan både lakesaltes og tørrsaltes, men det er lakesalting som er mest vanlig. Fordeler med lakesalting er at osten raskt blir nedkjølt, og som et resultat av dette stopper syneresen. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 874)

Ved lakesalting trenger saltet inn i osten, og myse trekkes ut. Mysemengden som diffunderer ut av osten er rundt det dobbelte av saltmengden som trekker inn, og osten får mindre vanninnhold. Osteskorpen blir raskt mettet med salt, og saltet vil diffundere innover i osten underveis i modningen. Saltopptaket øker med bevegelse i saltlaken, surere ost, høyere temperatur, samt stor overflate i forhold til volum på osten. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 251) Laken bør inneholde noe kalsium for å unngå dårlig kvalitet på skorpen, gjerne rundt 0,15 prosent kalsium med en lakestyrke på 19 prosent. pH i laken bør ligge rundt 4,4-4,6. Saltingstiden varierer med lakestyrke og ostestørrelse. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 874)

### 2.9 Modning

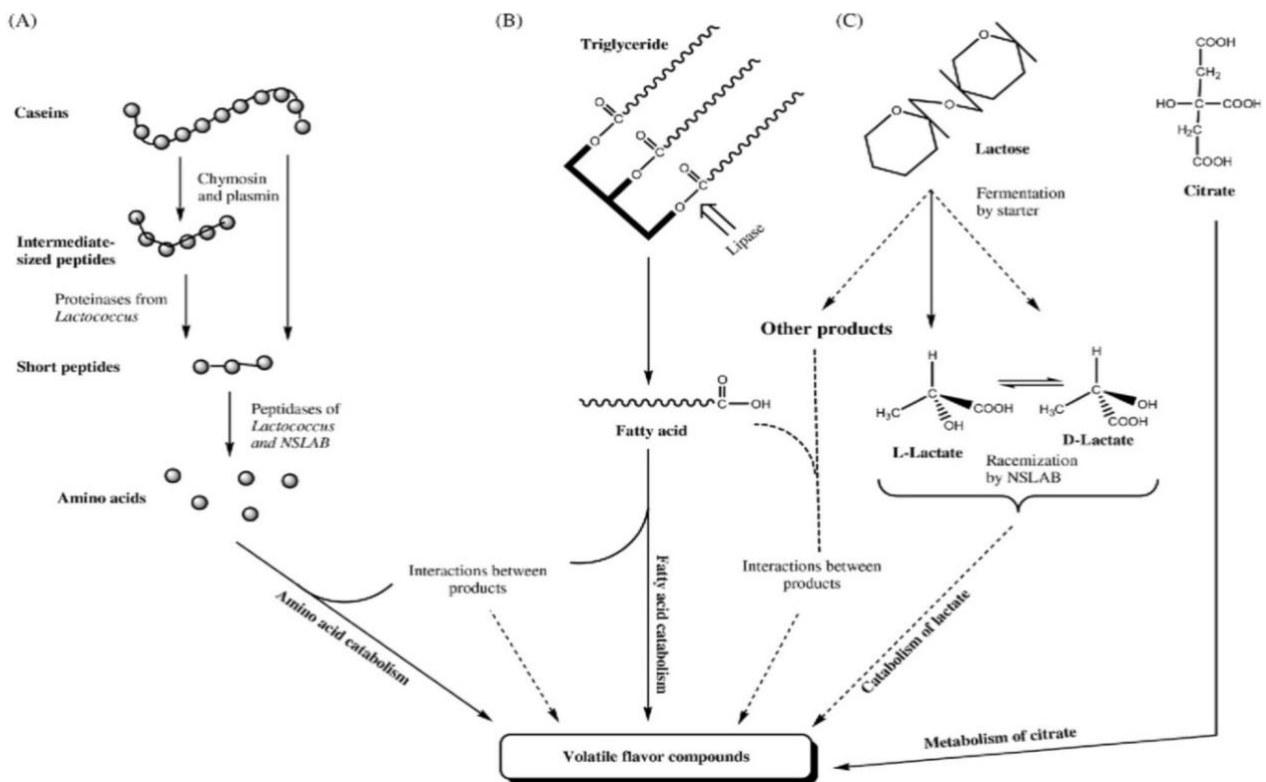
Under modningen utvikles goudaostens karakteristiske smak, aroma og tekstur. Umiddelbart etter ysting er osten ganske smakløs og gummiaktig. I løpet av modningen produseres ulike flyktige smakskomponenter i biokjemiske reaksjoner. Disse biokjemiske reaksjonene finner sted ved hjelp av enzymer fra melk og bakterier, og foregår også under metabolismen til startkulturen og ikke-tilsatte melkesyrebakterier naturlig tilstede i melka (NSLAB).

De biokjemiske reaksjonene deles vanligvis inn i tre:

- 1) Glykolyse av restlaktose, katabolisme av laktat og sitronsyre
- 2) Lipolyse og katabolisme av frie fettsyrer
- 3) Proteolyse og katabolisme av aminosyrer

(McSweeney 2017 s. 379)

En oversikt over de biokjemiske reaksjonene som foregår under modningen kan sees i figur 11.

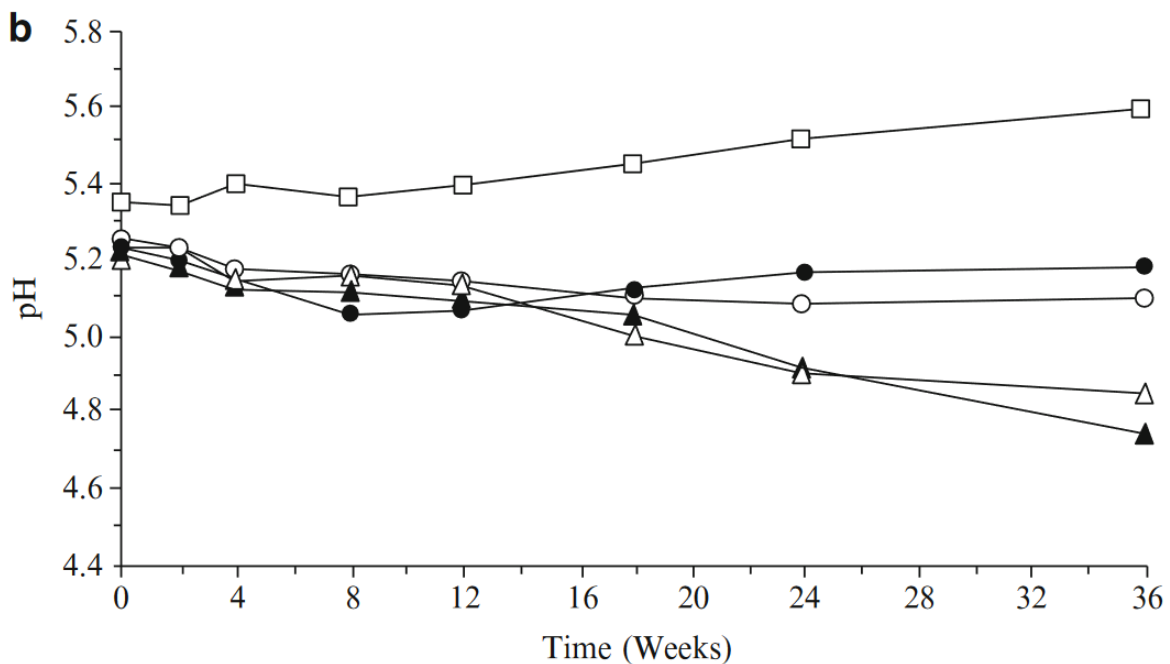


Figur 11. Oversikt over biokjemiske reaksjoner under ostemodning. (McSweeney 2017 s. 380)

### 2.9.1 Glykolyse av restlaktose og katabolisme av sitronsyre og laktat

Under glykolyse av restlaktose produseres melkesyre av startkulturen. pH i osten synker, og man får en surere ost. Melkesyren blir videre omgjort til laktat i den siste delen av glykolysen av enkelte melkesyrebakterier. Det dannede laktatet blir så i varierende grad nyttiggjort via katabole reaksjoner av NSLAB, som produserer CO<sub>2</sub> og acetat. Man får da en økning i pH. Laktatet kan også utnyttes av *C. tyrobutyricum* til produksjon av smørsyre, CO<sub>2</sub> og H<sub>2</sub> som fører til esing av osten. Spesielt H<sub>2</sub> har høy løselighet og fører til mye esing. (McSweeney 2017 s. 379) Startkulturene brukt til ysting av gouda er i tillegg kapable til katabolisme av sitronsyre. Katabolismen av sitronsyren gir sluttprodukter som diacetyl, acetoin, butanediol og acetaldehyd. Diacetyl har særlig stor innvirkning på smaksprofilen til ung gouda. (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 879)

Fox og McSweeney (2017 s. 397) viste hvordan syrningsforløpet i oster som gouda med modifiserte nivåer av laktose ser ut. En illustrasjon over syrningsforløpet utover i lagring kan sees i figur 12, hvor gouda er representert med åpen firkant. Syrningen i de første 24 timene av produksjonsprosessen kommer ikke godt frem her, men kan sees i kapittel 2.8.5 om formodning.



**Figur 12.** Forandringer i pH til ost laget av ostemassee med modifiserte nivåer av laktose. Kontroll (åpen sirkel), 35 % myseerstattet (åpen firkant), vasket ostemassee (fylt, svart sirkel), laktoseberiket (6,4 % laktose: åpent triangel og 8,4 % laktose: fylt triangel) (Fox og McSweeney 2017 s. 397)

### 2.9.2 Lipolyse og katabolisme av frie fettsyrer

De viktigste smakskomponentene med opprinnelse i fett kommer fra dannelse og katabolisme av frie fettsyrer. Dette skal imidlertid ikke forekomme i særlig stor grad i gouda, hvis ikke osten få en skarp, harsk såpesmak. De lipolytiske enzymene kommer i stor grad fra rester etter løpen, men de kan også stamme fra startkulturen eller ikke-tilsatte melkesyrebakterier, selv om dette ikke er særlig vanlig. (Düsterhøft m.fl. 2017 s. 882)

Det lipolytiske enzymet lipase som er naturlig forekommende i melk, inaktiveres normalt under pasteurisering, og vil kun ha effekt i råmelksoster. Under lipolyse omdannes triglyserider til frie fettsyrer, glyserol samt mono- og diglycerid. Disse kan videre omgjøres til



smakskomponenter som metylketoner, laktoner, aldehyder og sekundæralkoholer. Alle disse aromaene er fruktige og florale. (Thierry m.fl. 2017 s. 423)

### 2.9.3 Proteolyse og katabolisme av aminosyrer

I denne proteolytiske prosessen brytes kaseinnettverket ned av proteinaser og peptidaser, og osteteksturen forandres. I gouda hvor det brukes mesofile kulturer stammer protein- og peptidasene som oftest fra rester etter løpen. Noe nedbrytningsaktivitet kan også stamme fra startkulturen eller ikke-tilsatte melkesyrebakterier (NSLAB). (Ardö m.fl. 2017 s. 445)

Proteolysen gjør at osten får en mykere tekstur, og det produseres samtidig viktige smakskomponenter når proteinene brytes ned til peptider og aminosyrer. Endringer i forholdet mellom kasein og løst kalsium gjør også osten mykere, og gir dårligere vannbindingsevne og forandringer i pH. (McSweeney 2017 s. 379) Man får samtidig lavere vannaktivitet ( $a_w$ ) ved opptak av vannmolekyler, og en høyere vannbindingsevne på grunn av frigjorte aminogruupper og ioniserte karboksylsyrer under hydrolyse av peptidbindinger. De viktigste smakskomponentene kommer fra peptider og frie aminosyrer som gir både søt, salt, syrlig og bitter smak. De frie aminosyrene bidrar dessuten i stor grad til utviklingen av aroma gjennom at de er forløpere til flyktige aromaforbindelser og brukes i katabolske reaksjoner av melkesyrebakterier i osten. De frie aminosyrene fungerer som forløpere i melkesyrebakterienes metabolisme, og stimulerer bakteriene i osten til å produsere mye flyktige aromastoffer. (Ardö m.fl. 2017 s. 445)

### 2.9.4 Mikrofloraens forandring under modning

Ifølge Kolakowski m.fl. (2012 s. 179) forandrer mikrofloraen i gouda seg betraktelig under modning, noe som ble dokumentert i en studie hvor man overvåket bakteriesammensetningen underveis og etter 12 ukers modning. Her fant man ut at mengden melkesyrebakterier fra startkulturen var på topp ved omkring fire uker, og utgjorde ca. 90 prosent av den totale mikrofloraen i osten. Etter fire uker og videre var det det NSLAB og ulike gjærstammer som dominerte mikrofloraen. Ved 12 uker utgjorde NSLAB over 90 prosent av mikrofloraen. Størsteparten av NSLAB bestod av vancomycin-tolerante, homo- og heterofermentative arter av *Lactobacillus spp.* (Kolakowski m.fl. 2012 s. 179)

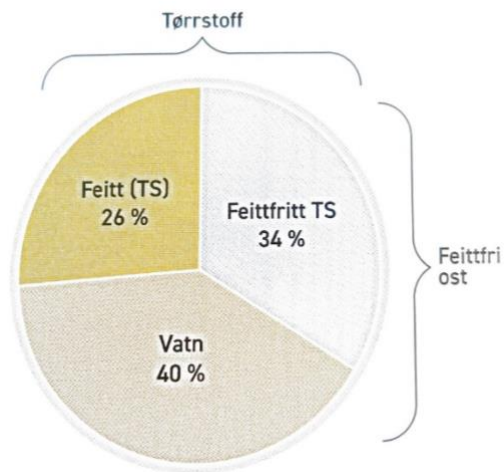
### 2.9.5 Emballasjens betydning for modningsutviklingen

Emballeringen har mye å si for goudaens utvikling under modning. I tillegg er den viktig for å hindre vekst av mikroorganismer på overflaten av osten, da dette er svært uønsket i goudaoster. Særlig vekst av mugg som kan produsere mykotoksiner må unngås. I tidligere tider var det vanlig å presse osten slik at den fikk en tykk og hardfør skorpe, og gni osten med tørt osteklede og linfrølje. Dette gjøres imidlertid ikke i moderne industriell produksjon, og de to vanligste måtene å emballere osten før modning nå til dags er med såkalt naturlig modning, med pustende emballasje, eller med plastfolie. Plastfolie har veldig lav gass- og fuktpermeabilitet, og metoden som benytter slik emballering krever lite ettersyn og ressursbruk sammenlignet med naturlig modnet ost. Modning i plastfolie benyttes gjerne for storskalaproduksjon, hvor store rektangulære goudablokker vakuumpakkes i plast og modnes, som regel ved temperaturer  $< 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Etter modning kan blokkene kuttes i mindre stykker for konsumsalg. Modningstiden for vakuumpakket gouda er som regel kortere enn naturlig modnet ost, ofte kan osten være klar for salg allerede etter én måned. Dette er fordi fuktinnholdet forblir høyt, gjerne rundt 40-42 prosent. Den korte modningstiden og lave modningstemperaturen, kombinert med type startkultur og anaerobe forhold i overflaten gir ofte gouda modnet i plast en litt flat smak. Dette kan motvirkes med modning i korte perioder på temperaturer rundt  $14\text{ }^{\circ}\text{C}$ . For høy og langvarig temperatur kan gi ost med dårlig smak og klebrig, myk konsistens. Ved modning i plastfolie bør en benytte mesofil kultur med lite  $\text{CO}_2$ -produksjon, hvis ikke kan man oppleve vakuumslipp. (Düsterhøft m.fl. 2017 s. 876)

### 2.10 Ostens konsistens

I storskalaproduksjon av goudaost standardiseres vanligvis ystemelka for å få riktig protein- og fettbalanse. Dette gir en mer forutsigbar ysteprosess og modning, og man vil ende opp med et mer konsistent produkt. I småskalaproduksjon er ikke dette vanlig, hvor man gjerne yster på helfet, ikke-standardisert melk. Den helfete melka gjør at mysa holdes bedre tilbake i ostemassen på grunn av at fettene virker som et «tettermiddel», og mysa ikke får drenert på best mulig vis. Da får man en mykere ost, både på grunn av høyt vann- og fettinnhold. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 72; Panthi m.fl. 2017 s. 32) Mysa som holdes tilbake på grunn av det høye fettinnholdet inneholder laktose og gir større ettersyrning og kortere holdbarhet enn ost laget på melk med mindre fett (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 228).

Vann i fettfri ostemasse (VFFO) er en parameter som har mye å si for ostens konsistens. VFFO er et godt mål på hvor tilgjengelig vannet er under modning, siden vann ikke kan bindes til fett. Ofte kan det være en bedre indikator på holdbarhet og kvalitet å regne seg fram til VFFO, sammenlignet med å måle ordinært vanninnhold, siden denne verdien sier noe om hvor mye vann som faktisk er tilgjengelig. Hvis man har to oster med samme vanninnhold, men ulikt fettinnhold, vil altså den mykeste osten være den med mest fett, siden den har mindre tørrstoff til å binde vannet. Det er ønskelig å få VFFO så stabil som mulig for å få et konsistent ysterresultat. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 72, 73, 154, 228) Eksempel på sammensetning av en ost kan sees i figur 13.



**Figur 13.** Eksempel på sammensetning i ost. Mengde vann i VFFO er  $40/(34+40) = 54 \%$ . (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 73)

### 2.11 Sensorisk analyse av goudaost

For å vite at produktene man produserer er av god kvalitet, er det viktig å ha kunnskap om smak, lukt og utseende. Når man smaker på en ost, bruker man mange ulike sanser.

Førsteintrykket registreres av øynene. Her vurderes farge, struktur og overflate, og man danner ofte allerede her et bilde av hvordan man ser for seg at produktet vil smake. Videre registreres lukt og aroma. Lukt og aroma blir frigjort som mange ulike kjemiske molekyler, og blir oppfattet av reseptorer i nesen. Når man skal skildre en lukt, sammenligner man den gjerne med andre kjente lukter. Eksempelvis kan man i ost kjenne lukt av kokt melk, surmelk eller smør. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 155, 158)

Til vanlig omtaler man gjerne «smak» som en kombinasjon av både smak, lukt og aroma. I sensorikken omfatter smak derimot kun det man kjenner med tungen. Tungen har minst fem smaksløker, som gjør en i stand til å smake både søtt, salt, surt, bittert og umami (Bergslien 2015 s. 36). I godt moden hvitost kan søtsmaken komme tydelig frem, mens i ferske oster kjenner man gjerne sursmak. Sursmaken kommer gjerne fra melkesyre og eddiksyre, men også smak av smørsyre kan komme frem dersom smørsyrebakterier har vært tilstede under modningen. Ost som er umoden eller for lite saltet, kan gjerne smake bittert eller beskt. Denne smaken kan i tillegg komme frem dersom osten har blitt ettersyrnet for lite. Når proteinene er fullstendig brutt ned til aminosyren glutamat, er det gjerne umamismaken som kommer frem, og denne øker gjerne ved lang lagring. Saltsmaken er den eneste som blir tilsatt osten. Slik kan man også ha ganske god kontroll med hvor fremtredende denne skal være i det ferdige produktet. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 156-157)

Konsistensen på osten er også viktig. Denne kan vurderes både med hendene og med munnen. Man kjenner på overflaten, og hvordan osten oppfører seg i munnen mens man tygger. Noen oster klister seg gjerne til tunge og gane, mens andre glir lett gjennom munnen og ned i svelget. (Nordbø og Ballhaus 2018 s. 155-156)

### *2.11.1 Kvalitetskontroll i industrien*

De fleste næringsmidler har en produktspesifikasjon med opplysninger som ingredienssammensetning, næringsinnhold og sensoriske normer. De sensoriske normene beskriver gjerne hvordan produktet bør være, samt toleransegrenser for variasjon. Når man utfører en sensorisk analyse under kvalitetskontrollen bedømmer man hvordan produktet er i forhold til normen, og beskriver hva som eventuelt gjør at produktet ikke er ideelt. Det er viktig at de som skal bedømme produktet har god trening, for å vite hva som holder mål eller ei. (Kraggerud og Valle 2015 s. 154-155)

Kvalitetskontrollen hos en næringsmiddelbedrift utføres gjerne på flere steg under prosessen. Allerede ved mottak av varer bør kvaliteten på råvarene vurderes. Dette gjør at man kan ha god kontroll og produsere produkter av jevn og god kvalitet. Ved mottak av melk bør melka både luktes og smakes på. Også under prosessen vil det være fordelaktig at man smaker på og kontrollerer produktet, slik at man vet ut produksjonen er lik fra gang til gang. Når produktet

er ferdig, bør kvaliteten kontrolleres under hele holdbarheten, for å sikre at smaken og konsistensen er rett helt til utløpsdato. (Kraggerud og Valle 2015 s. 155)

I næringsmidlerbedrifter er det ofte egne ansatte som har ansvar for sensorisk kvalitetskontroll. Produktene blir ofte vurdert mot skalaer, og for meieriprodukter er gjerne ISO 22935-1:2009 standard brukt. Denne har skala 1-5, og skal angi om produktet svarer til produktspesifikasjonen, samt eventuelle avvik. Det er ofte utarbeidet lister med vanlige feil produktet kan ha, såkalt feilnomenklatur. Bedriftene må ha klart definerte grenser for hva som er akseptert som «salgbart». (Kraggerud og Valle 2015 s. 156-157, 228)

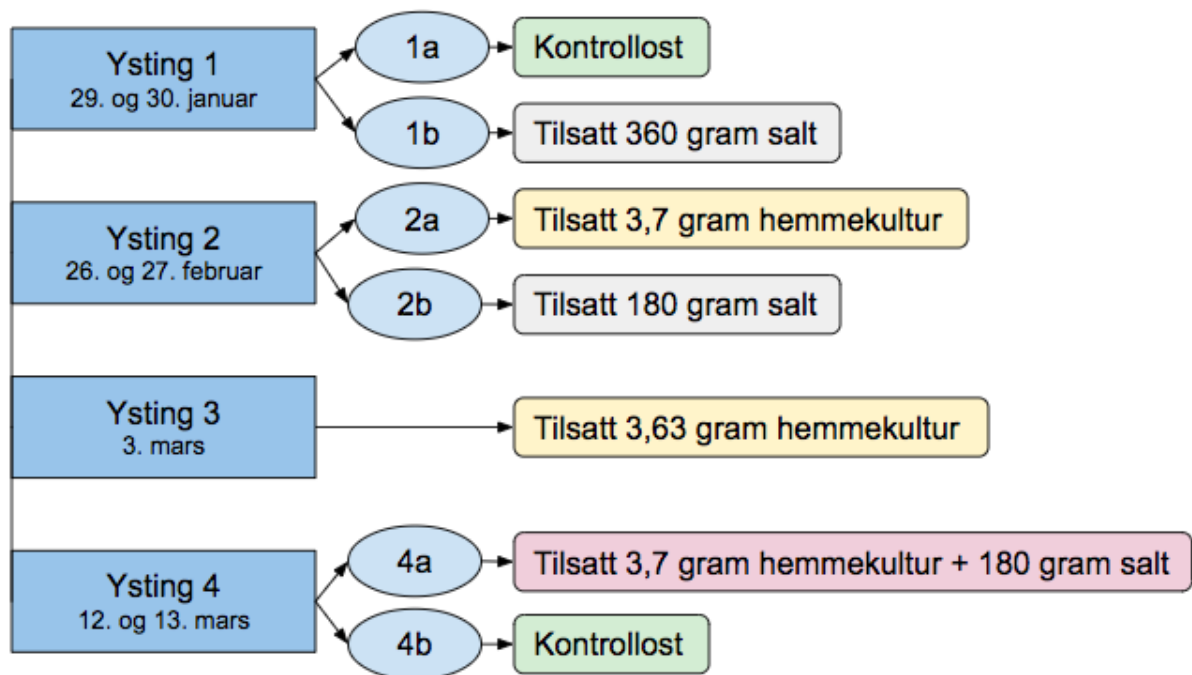
### 3. Material og metode

#### 3.1 Forsøksdesign

Siden målet med denne bacheloroppgaven var å finne en måte å hemme smørsyredannende bakterier i osten, ble forsøket delt i to:

- Gruppen så på effekt av kun hemmekultur, samt en kombinasjon av hemmekultur og salt
- Jøndal og Gjestad (2020) så på salt tilsatt i ystekaret under etterrøring

I tillegg ble det ystet to omganger med kontrolløst for å ha et sammenligningsgrunnlag. Det ble gjennomført fire runder med ysting ved treningsmeieriet på Trondheim fagskole. Ysting 1, 2 og 4 ble delt i to ulike forsøk og derfor ystet over to dager, mens ysting 3 ble gjennomført samme dag. Oversikt over forsøksdesign kan sees i figur 14.



Figur 14. Forsøksdesign for ysteprosessen

Råmelksprøve ble analysert ved hjelp av MilkoScan og BactoCount hos TINE Meieriet Tunga og TINE Melke kvalitet og Service, Råmelkslaboratoriet. I tillegg ble en prøve av hver ost ved 24 timer, 20/21 dager samt 5 uker sendt til kjemisk analyse hos TINE Meieriet Verdal og TINE Meieriet Sømna. Gruppen analysert selv prøver fra råmelk, ystemelk og myse for Enterobacteriaceae og totalmikroorganismetall. Det var også planlagt å utføre rør- og filtreringsmetode for kvantifisering av anaerobe sporedannere i råmelk, ystemelk, myse og ferdig ost, men på grunn av Covid-19-restriksjoner kunne ikke dette gjennomføres. Via TINE fikk gruppen laget en avtale med Måltidets Hus om å analysere osteprøve tatt ut ved 20/21 dager og osteprøve tatt ut ved sensorisk analyse for smørreinnhold.

### 3.2 Ysteprosessen

Det ble levert økologisk råmelk fra TINE i fire runder til treningsmeieriet tilhørende fagskolen på Byåsen. Etter mottak ble det tatt ut råmelksprøver, før melka gjennomgikk pasteurisering. Pasteuren på treningsmeieriet er av typen «APV - Duo Safety T4», og tilfredsstillende dagens krav til slik type anlegg. Etter pasteuriseringen ble ystekaret fylt med omtrent 200 liter melk og varmet opp under omrøring til melka hadde en temperatur på rundt 30 °C. Det ble målt pH og tatt prøver av ystemelka. 4 liter brukssyre og 30 gram kalsiumklorid ble tilsatt, og ny pH ble målt etter 40 minutter formodning. Brukssyren ble

laget dagen før ysting ved hjelp av en viskubator av typen «Wiesby KONSTANT - type 2/4-5». Dette er et lite, termostatstyrt vannbad, som kan benyttes til oppvarming og nedkjøling av melk i fem liter store beholdere. For å lage brukssyren ble tre liter TINE skummetmelk pasteurisert og avkjølt, før én teskje med frysetørket CHN-19 brukssyrekultur ble tilsatt. Etter poding ble kulturen stående for fermentering ved 21 °C i omtrent 20 timer, til pH målte rundt 4,5. Datablad for CHN-19 kan ses i vedlegg 2.

Etter ferdig formodning ble det rørt inn 60 ml osteløpe av typen Rennet 75/25 180 IMCU/ml (bestilt fra Kemikalia). Datablad for osteløpe kan ses i vedlegg 4. Løpinga foregikk i omtrent 30-40 minutter før det ble vurdert om koagelet var klart for skjæring. Etter gjennomført skjæring fikk ostemassen hvile i 5 minutter før forrøring i 10 minutter. 90 liter myse ble så tappet av. Mellomrøring foregikk deretter i 10 minutter, og under røringa ble 26 liter pasteurisert vann med temperatur på omtrent 55 °C tilsatt. Massen ble så varmet opp til 39 °C og holdt ved denne temperaturen i omtrent 10 minutter. Eterrøring fra vanntilsetting foregikk i omtrent 40 minutter med kraftig røring.

Etter røringa ble ostemassen presset mot ene enden av ystekaret, og forpresset i 20 minutter ved 2 bars trykk før andre myseavtapp. Det ble tatt ut prøve og målt pH av mysen før andre avtapp. Presset ble tatt av, og osteklossen ble delt i to. Kantene ble skjært fine, og hver ostekloss ble lagt i form. Ostene ble presset videre i 20 minutter ved 2,5 bar og 20 minutter ved 3 bar.

Når pressingen var ferdig ble ostene tatt forsiktig ut av formen og lagt over i klargjort saltlake. Saltlaken ble laget med 50 kilo salt på 200 liter vann. I tillegg ble det tilsatt 1 kilo CaCl<sub>2</sub>. Laken skulle ha en pH på 5,2-5,3 og over 20 °Be. For å justere dette, ble det tilsatt saltsyre (HCl, 10 prosent). Etter 22 timer i saltlake, ble osten tatt opp. Vekt på ost før og etter saltlake ble notert, og det ble målt pH. 10 kilos osteblokker ble delt i fire biter og vakuumpakket i poser merket med produksjonsdato og ysteforsøk.

Osten ble så lagt til lagring og modning. Ferdigpakket ost ble lagt i modningsskap ved 10-12 °C i 11-12 dager for forlagring. Etter det ble osten flyttet over i modningsskap (gjæringsbu) ved 18-19 °C i 23-24 dager, for så å legges til videre modning i kjøleskap ved 4 °C frem til sensorisk analyse 27. april.

På ysterunde 2A og ysterunde 3 ble det tilsatt hemmekultur i ystemelka. Det ble veid opp riktig antall gram fra en frysetørket kultur, Holdbac LC LYO 100 DCU (se vedlegg 3), og denne ble så blandet ut i en kopp med litt melk for å få løst opp klumpene skikkelig, før den ble tilsatt resten av ystemelka samtidig med brukssyra. Mengden ble regnet ut fra databladet med anbefaling for «semi-hard cheeses». Det ble tatt utgangspunkt i den høyeste doseringen, og gruppen kom da frem til en mengde på mellom 3,6 og 3,7 gram per 200 liter ystemelk.

På ysterunde 1B og ysterunde 2B ble det tilsatt salt til mysen. Dette ble tilsatt under etterrøringa etter første myseavtapp. I ysterunde 1B ble det tilsatt 360 gram salt, og i ysterunde 2B 180 gram.

Det ble for hver ysterunde ført en ystejournal med blant annet tidspunkt for tilsetning, mengde tilsetning og pH-målinger. Disse kan ses i vedlegg 1. En illustrasjon over de ulike trinnene i ysteprosessen kan ses i figur 15, og flytskjema over ysteprosessen kan ses i figur 16.



## OVERSIKT OVER YSTEPROSESSEN



Fylling i ystekar, oppvarming til 30 °C og formodning. Tilsats av kalsiumklorid og evt. hemmekultur



Løpelegging og skjæring av ostemasse etter ca. 40 minutter



Forpressing med gjenværende myse



1. myseavtapp, ettervarming og for-, mellom- og etterrøring. Tilsats av evt. ekstra salt.



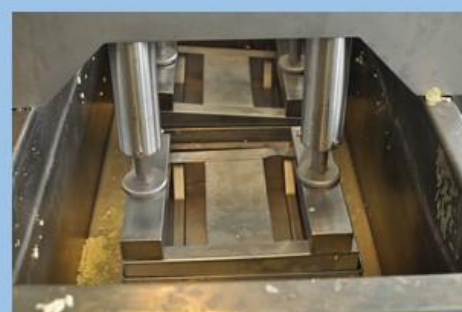
2. myseavtapp og kutting av goudablokk i to biter



Ostene legges i hver sin form for etterpressing



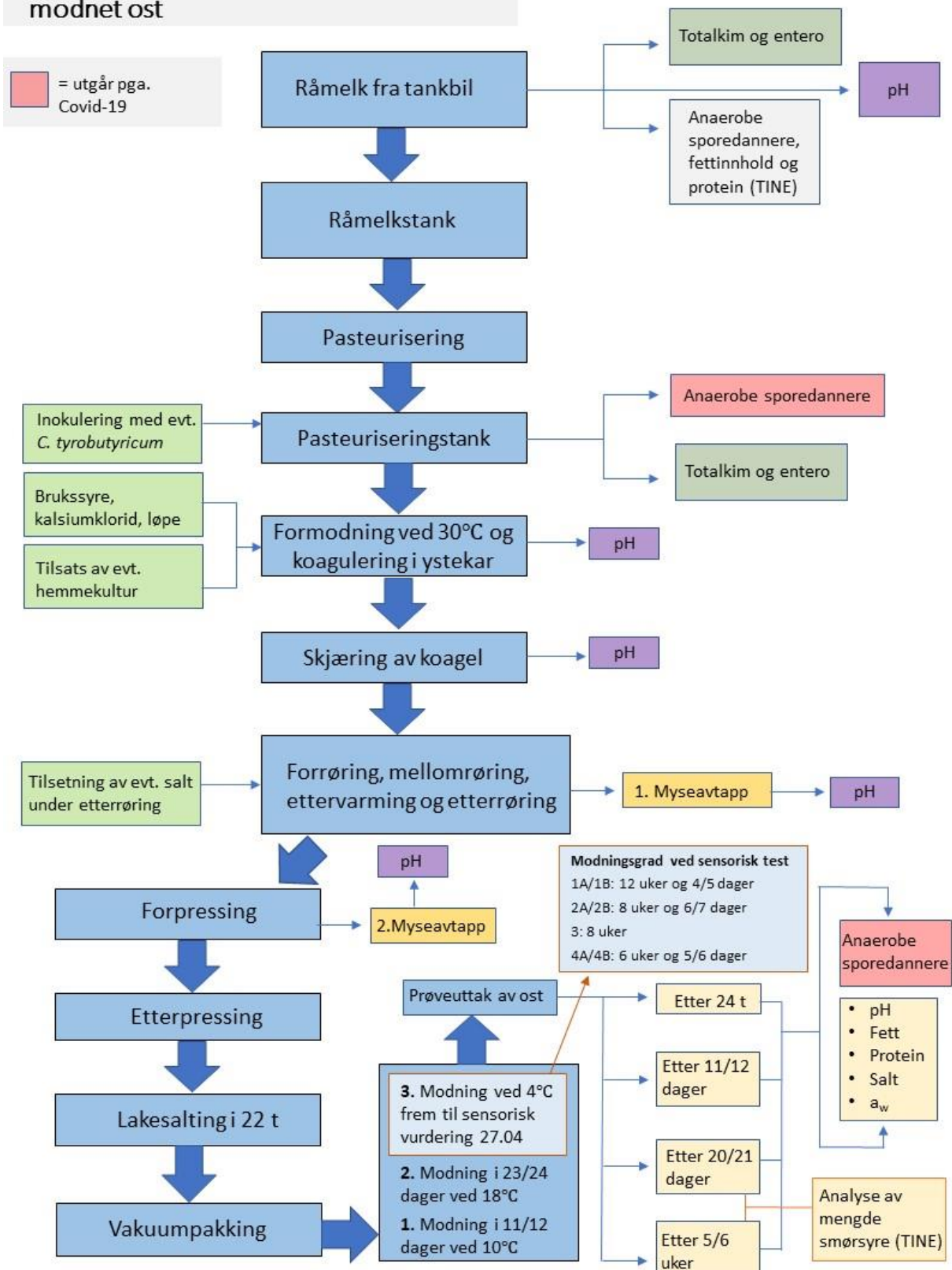
Lakesalting i 22 timer



Etterpressing i 40 min, med endelig trykk på 3,5 bar

**Figur 15.** Oversikt over ysteprosessen.

## Flytskjema for ysting og prøveuttak av modnet ost



Figur 16. Flytskjema over ysteprosessen med oversikt over prøveuttak.

### 3.3 Mikrobiologiske analyser

#### 3.3.1 Prøvetaking under ysteprosessen

For å kontrollere melke kvalitet og hygiene under ysteprosessen, ble det tatt ut prøver av råmelk, pasteurisert melk og myse for mikrobiologiske prøver. Disse prøvene ble fortynnet i peptonvann og sådd ut for kontroll av Enterobacteriaceae og totalkim. Analysene fra ysterunde 1A og 1B ble fortynnet med egenprodusert peptonvann, mens resten av analysene ble fortynnet i ferdige fortynningsrør bestilt av veileder fra Labolytic. Antall fortynninger for hver prøve kan ses i vedlegg 5 side 1. Etter fortynning ble prøvene blandet godt sammen, og 1 milliliter prøve ble pipettert over på ferdig dehydrerte agarskåler. Compact DRY ETB ble benyttet for analyse av Enterobacteriaceae, og Compact DRY TC ble benyttet for analyse av totalkim. Skålene ble bestilt av veileder fra Labolytic. ETB-skåler ble inkubert ved 37 °C i 24 timer, mens TC-skåler ble inkubert ved 30 °C i 48 timer før avlesning.

I tillegg ble det bestilt ekstra prøvetaking av råmelka fra TINE for hver levering med bakterietelling på BactoCount. Denne bakterietellingen viser totalt antall individuelle bakterietellinger per milliliter (IBC/ml) (Angelidis 2015 s. 31).

##### 3.3.1.1 Utrekning av kimtall

Ved utregning av kimtall fra egne forsøk ble det regnet med veid gjennomsnitt, det vil si at utregningen inkluderer kolonitall fra flere fortynninger. Vanlig anvendt regel er at kolonitall mellom 25 og 250 benyttes, men ved bruk av veid gjennomsnitt er det bare vanlig å forholde seg til den øvre grenseverdien. Det vil si at alle skåler med kolonitall lik eller lavere enn 250, og høyere enn 0 ble tatt med i utregningen. Denne fremgangsmåten gir større kolonitall i beregningen og dermed mer pålitelig svar. (NTNU 2018 s. 6-9)

#### 3.3.2 Anaerobe sporedannere

Det ble tatt ut prøver av råmelk, ystemelk, myse og ost under modning for analyse av anaerobe sporedannere. Disse skulle analyseres både ved hjelp av filtreringsmetode og rørmetode. Siden mye av bacheloroppgaven foregikk i samarbeid med en annen gruppe, var tanken at den ene gruppen skulle utføre filtreringsmetoden, mens den andre gruppen skulle utføre rørmetoden. På grunn av stengte campus i forbindelse med Covid-19, kunne dessverre

ikke disse analysene gjennomføres. Prosedyren beskrevet nedenfor er derfor en forklaring på hvordan gruppene planla å gjennomføre analysene.

### 3.3.2.1 Filtreringsmetoden

Fremgangsmåten for filtreringsmetoden som beskrevet under er hentet fra Svensk Mjölök sin rapport «Filtrering av mjölök för analys av *Bacillus cereus*-sporer och *Clostridium tyrobutyricum*-sporer» (Ekelund m.fl. 2003), men er tilpasset noe for å passe utstyret som er tilgjengelig ved mikrobiologilaboratoriet ved NTNU.

For å kartlegge antall sporer i melken, må den først varmebehandles for å drepe de vegetative cellene. I industrien benyttes stort sett MPN-metoden for å få en indikasjon på hvor høyt sporeantall som er i melken. Ved å benytte filtreringsmetoden kan man derimot få en mer nøyaktig verdi. Filtreringsmetoden er noe mer arbeidskrevende, da den krever mer forbehandling av melka for å fordele fett og proteinene slik at de ikke tetter filteret.

Ved filtreringsmetoden tar man ut mellom 10-100 gram prøve som varmebehandles til 72 °C og holdes der i 5 minutter. Man kan velge ut en prøvemengde mellom 10 og 100 gram avhengig av forventet sporeinnhold. Dersom man velger en prøvemengde under 100 gram, må prøven spes ut med avionisert vann. Om fryste prøver benyttes, må disse tines forsiktig slik at temperaturen ikke overskrider 10 °C, da sporene vil begynne å germinere ved denne temperaturen og dermed vil dø under varmebehandlingen.

For å bryte ned kaseinmicellene i prøven, tilsettes trypsinløsning. Denne løsningen består av 0,5 gram trypsin blandet med 25 ml trisbuffer. Trypsinløsningen må være sterilisert før den tilsettes prøven, og dette gjøres ved å filtrere blandingen gjennom et sterilfilter.

Fettcellene må også løses opp før filtrering. Dette gjøres ved å tilsette 100 ml steril 1 prosent tritonløsning til hver prøve. 10 gram triton i 1000 ml avionisert vann gir 1 prosent løsning. Løsningen autoklavers ved 121 °C i 15 minutter. Etter at både trypsin- og tritonløsning er tilsatt prøven, settes den i vannbad ved 55 °C i 15 minutter. Imens monteres filtreringsutstyret, og det gjøres klart for selve filtreringen.

Filtreringsutstyret steriliseres ved hjelp av flambering. Filterholderen med membranfilter settes på sugeflasken, og sug monteres ved hjelp av vannkran. Trakten monteres så på filterholderen, før prøven helles i. Ved hjelp av suget fra vannkranen dras prøven gjennom filteret, og 100 ml sterilt vann filtreres etter slik at triton- og trypsinrester vaskes bort. Deretter løftes filter over på RCM-plater med D-cykloserin, og inkuberes anaerobt ved 37 °C ( $\pm 1$  °C) i 72 timer ( $\pm 3$  timer).

Etter inkubering telles antall kolonier mellom 1-200 cfu/filter. Koloniene skal være svakt gulaktige eller hvite, og dersom man er i tvil kan man se på koloniene i mikroskop eller renstryke på nye RCM-plater og inkubere videre.

### 3.3.2.2 3-rørsmetoden

Frengangsmåten for 3-rørsmetoden som er beskrevet her er hentet fra Meierienes analysebok, metode MA 560 (Anaerobe sporer i leverandørmelk og lassprøve fra gårdstankbilen. Forenklet MPN-metode) (TINE u.å.).

Prinsippet for metoden er å se på de anaerobe sporedannernes evne til å danne gass og gi fargeomslag. For å finne ut dette, benyttes et modifisert RCM-substrat i et MRCM-rør forseglet med en parafinpropp. Prøven skal analyseres senest 36 timer fra prøveuttak, og skal ha vært lagret på mellom -0,2 til 4 °C. 1 ml melk overføres til tre forskjellige MRCM-rør ved hjelp av pipette. Rørene varmebehandles ved 80 °C i 10 minutter for å drepe vegetative celler.

Etter oppvarming avkjøles rørene i vannbad til 20-25 °C. Det er viktig at avkjølingstiden ikke overskrider 5 minutter, og at vannstanden ikke er høyere enn melkenivået i rørene. Rørene inkuberes deretter ved 37 °C ( $\pm 1$  °C) i fire døgn.

Når rørene tas ut av skapet etter fire døgn, registreres antall positive rør. Rørene regnes som positive om parafinproppen er blitt presset oppover i røret på grunn av gassdannelse. I tillegg skal fargen på mediet ha skiftet farge fra rødt til gult. Rør der det har skjedd et fargeomslag men ingen gassdannelse, regnes ikke som positive. Innholdet av sporer i melkeprøven angis etter gradering vist i tabell 1:

**Tabell 1** Gradering av antall sporer

Grad av sporer i melka	Positive rør
Ingen	0
Lav	1
Middels	2
Høy	3

### 3.3.2.3 9-rørsmetoden

Fremgangsmåten for 9-rørsmetoden som beskrives her er hentet fra Meierienes analysebok, metode MA 556 (Anaerobe sporedannere (clostridier) i råmelk og ystemelk, 9-rørs-prøve med RCM) (TINE 1988).

Prinsippet for rørmetoden er at man heller en bestemt mengde melk i et sterilt kulturrør tilsatt vekstmedium for anaerobe sporedannere. Melken varmebehandles for å drepe vegetative bakterier som er til stede, men sporene overlever. Når prøven avkjøles, dannes det en parafin/vaselinpropp slik at det blir anaerobe forhold i prøven. Eventuelle spirer vil da kunne spire, og siden disse danner gass vil proppen presses oppover.

For å benytte rørmetoden for deteksjon av anaerobe sporer, må man først klargjøre rørene. Dette gjøres ved å blande vaselin og parafin i forhold 2:1, og fylle 2-3 ml av dette i hvert rør. Videre lages RCM-buljong, og 5 ml av denne fylles også i rørene. Alle rørene dekkes med aluminiumsfolie og autoklaveres ved 121 °C i 15-20 minutter.

Ni ferdig autoklaverte og avkjølte reagensrør plasseres i et stativ. Ved hjelp av steril pipette, overføres prøve til rørene etter følgende metode:

- 3 rør med 10 ml melk
- 3 rør med 1 ml melk
- 3 rør med 0,1 ml melk

Rørene settes i vannbad og varmebehandles til 80 °C, og holdes der i tre minutter. Etter varmebehandlingen avkjøles prøven i romtemperatur, og settes deretter i inkubatorskap ved 37 °C i tre døgn.

Etter inkubering noteres antall positive rør. Rørene regnes som positive når proppen er blitt presset opp i røret på grunn av gassdannelse. Mest sannsynlig antall sporer (MPN – most probable number) leses ut fra standard tabell, og antallet oppgis som «mest sannsynlig antall sporer pr. 100 ml melk».

### 3.4 Kjemiske analyser

Råmelklaboratoriet i TINE Melkevalitet og Service analyserte råmelken for en rekke kjemiske parametere:

- Fett
- Protein
- Laktose
- Frysepunkt (FPD)
- Urea
- FFA (frie fettsyrer)

I tillegg ble osten analysert flere ganger i løpet av modningen: etter 24 timer, 20/21 dager samt etter omtrent 5 uker. Ostene fra ysterunde 1A og 1B ble analysert hos TINE Meieriet Verdal, mens resten av ostene ble sendt til TINE Meieriet Sømna for analyse. De fleste ostene ble fryst før sending. Dette ble gjort slik at man kunne sende flere oster til analyse hos TINE Sømna samtidig. Både TINE Meieriet Verdal og TINE Meieriet Sømna utførte den kjemiske analysen ved hjelp av Foss FoodScan Dairy Analyzer. Her ble det analysert for fett, tørrstoff, protein samt saltinnhold.

#### 3.4.1 Analyse av smørtsyre

Analyse for mengde smørtsyre i ostene ble utført av Måltidets hus i Stavanger med avtale via TINE. Ostene ble analysert med en intern metode, basert på bestemmelse av flyktige syrer i meieriprodukter. Syrene i osten ekstraheres i eter, hvorpå eterfasen blir analysert ved hjelp av gaskromatograf (Agilent 7890B), på en kapillærkolonne (DB-FFAP Agilent, 30 m i.d. 0,32 mm, film 0,24 µm) med FID-detektor. Valeriansyre, acetoin, eddiksyre, propionsyre og smørtsyre ble benyttet som standard under analysen, mens en kjent mengde valeriansyre ble tilsatt prøvene som indre standard. (Bente Serigstad TINE SA 2020 pers. med.).

### 3.5 pH

pH ble målt med pH-meter (Testo 206-pH1). Det ble målt pH flere ganger i løpet av ysteprosessen, blant annet av ystemelk, syrekultur, koagel, myse og saltlake. Før dagens oppstart ble pH-meter kalibrert mot buffer på pH 4 og 7. I tillegg ble det målt pH i ost etter 24 timer, 11/12 dager, 20/21 dager samt etter 5/6 uker. Ved pH-måling i ost ble osten delt i to, og målingene ble utført i midten av osten. Her ble det målt tre paralleller og regnet gjennomsnitt av disse.

### 3.6 Sensorisk analyse

Den sensoriske vurderingen av osten ble gjennomført 27. april ved treningsmeieriet på fagskolen. Fremgangsmåten for analysen var hentet fra internt dokument fra TINE i Meierienes Analysehåndbok (MA 440), med noen endringer (TINE 2018). Her gis hver ost poeng på skala 1-5, der 5 er best. Dersom poeng settes lavere enn 4, må dette begrunnes med en anmerkning i henhold til feilnomenklatur for småhullet ost (se vedlegg 7, side 1-6). Anmerkningene beskriver feilene som finnes på osteprøven.

Hver osteprøve ble delt opp i små biter (ca. 1 x 1 cm), og lagt på papptallerken ved siden av en halv ost slik at dommerne kunne studere indre og ytre utseende. Hver dommer fikk i tillegg med seg hver sin ostehøvel, slik at de kunne skjære en skive av osten for å vurdere konsistens. I tillegg til de syv osteprøvene, satte gruppen frem TINE Norvegia Fyldig og TINE Gräddost som dommerne kunne bruke som kalibrering før og underveis i smakingen. Det var også spyttekopp og vann tilgjengelig for hver dommer.

Gruppen hadde på forhånd bestemt seg for at ostene skulle bedømmes etter indre og ytre utseende, konsistens, lukt og smak, slik at det ble gitt poeng for hvert av disse parameterne, med trekk for anmerkninger. Dette ble satt opp i eget skjema for bedømmelse, se vedlegg 7 side 7. Et eksempel på ferdig utfylt skjema kan ses i vedlegg 7, side 8.

Den sensoriske analysen ble gjennomført i samarbeid med Jøndal og Gjestad (2020), og i



tillegg ble lærere fra fagskolen invitert som dommere, slik at det til sammen ble syv bedømmelser. Ingen av dommerne var trente. Dommerne var inne for å smake på osten i to omganger, og rullerte til de hadde smakt på alle prøvene.

Etter at alle dommerne hadde satt poeng, gikk gruppen gjennom alle bedømmingene og satte ett hovedpoeng for hver ost. Dette poenget tilsvarte laveste poeng av de gitte poengene, da osten ikke kan få bedre poeng enn sin dårligste egenskap. Deretter ble det regnet ut gjennomsnitt fra alle hovedpoengene til hver osteprøve.

### 3.7 Oppdyrking og inokulering med *Clostridium Tyrobutyricum*

*C. tyrobutyricum* ble oppdyrket og tilsatt ystemelka i ysterunde 4A og 4B. Se flytskjema i figur 16 for podetidspunkt i ysteprosessen.

Prosessen beskrevet under ble utført av veileder og avdelingsingeniør ved NTNU, på grunn av Covid-19, og beskrivelsen er derfor basert på personlig meddelelse. Oppdyrking av *C. tyrobutyricum* foregikk ved at frysetørket bakteriekultur ble vekket til live i både BHI-buljong (Brain Heart Infusion) og RCM-buljong (Reinforced Clostridial Medium). Begge mediene ble benyttet for å sikre vekst, og for å sjekke hvilket medium som egnet seg best til oppdyrking. Podet RCM-/BHI-buljong ble inkubert anaerobt ved 37 °C i 2-3 døgn, til uklar/tåkete vekst ble observert. Buljongen ble videre podet over til petriskåler med RCM og BHI. Skålene ble så inkubert ved 37 °C i 2-3 døgn, før enkeltkolonier ble strøket ut på skåler med RCM. Ved å vekke den frysetørrede kulturen til live i buljong, for så å pode den ut på petriskåler får man vekst av enkeltolonier. På denne måten vet man at man jobber med en renkultur av *C. tyrobutyricum*, som man videre kan pode ystemelka med. Kari Helgetun Langfoss og Anna Lødeng NTNU 2020 pers. med.).

Etter inkubering under samme betingelser som tidligere ble enkeltkolonier av renkulturen podet over i pasteurisert, nedkjølt skummetmelk. Skummetmelken med *C. tyrobutyricum* ble satt i kjøleskap, og 10 milliliter ble tilsatt den ferdig pasteuriserte ystemelken neste dag. Ystemelken ble benyttet til ysting av ost 4A og 4B. Samtidig som 10 milliliter ble tilsatt ystemelken, ble det sådd ut prøve på tre RCM-skåler for å kontrollere mengden. Én milliliter ble sådd ut på to skåler RCM uten fortykning, mens én milliliter ble fortyknet med ni milliliter peptonvann og sådd ut på én skål RCM. Disse ble inkubert ved 37 °C i 3 døgn før avlesning.

## 4. Resultater

### 4.1 Mikrobiologiske analyser

Ved levering av melk til Treningsmeieriet, tok tankbilen ut prøve av råmelken.

Én av bakterieprøvene som ble tatt ble levert til analyse på TINE Meieriet Tunga for analyse, mens de tre andre ble analysert ved Råmelkslaboratoriet i TINE Melke kvalitet og Service, for analyse av både kjemiske og mikrobiologiske parametere. TINE analyserte i tillegg prøvene for anaerobe sporedannere ved hjelp av 3-rørsmetoden.

Gruppen tok også mikrobiologiske analyser (Enterobacteriaceae og total kim) under ysteprosessen. Både råmelk, ystemelk og myse ble analysert for å kontrollere melkekvalitet, at pasteuriseringen ble tilfredsstillende, samt at ysteprosessen ble gjennomført på en hygienisk måte.

#### 4.1.1 Analyseresultat for anaerobe sporedannere

##### 4.1.1.1 Analyseresultat fra TINE

Tabell 2 viser resultat av anaerobe sporedannere analysert av TINE ved hjelp av 3-rørsmetoden.

**Tabell 2.** Analyseresultat fra TINE for anaerobe sporedannere i råmelk brukt til ysting. Metode benyttet er Weizlers 3-rørsmetode, beskrevet i kapittel 3.3.4.2.

Dato mottak	Brukt i forsøk nr.	Antall positive rør	Sporenivå
28. januar	1A/1B	3	Høy
25. februar	2A/2B	0	Ingen
3. mars	3	3	Høy
12. mars	4A/4B	1	Lav

Første og tredje ysting hadde høy grad av anaerobe sporer i melken, mens fjerde ysting hadde lav grad. I andre ysting ble det ikke påvist noen anaerobe sporer i melkeprøven.

#### 4.1.1.2 Analyseresultat fra RCM-skåler

Samtidig som ystemelken for ysterunde 4 ble podet med oppdyrket *C. tyrobutyricum*, ble det sådd ut tre prøver på RCM-skåler, to skåler uten fortykning og én skål med fortykning -1. Skålene ble inkubert ved 37 °C i 3 døgn før avlesning, og resultatet viste overgrodd på alle tre skålene, se vedlegg 5, side 5.

#### 4.1.2 Analyseresultat for råmelk, pasteurisert melk og myse

Det ble tatt mikrobiologisk analyse av råmelk, ystemelk og myse under ysteprosessen. Av råmelken og ystemelken ble det tatt prøve for Enterobacteriaceae og totalkim, mens det av mysen ble analysert for kun Enterobacteriaceae. Resultater for kimtallsberegning kan ses under i tabell. Kolonitall og kimtallsutregning kan ses i vedlegg 5, side 2-4. Antall paralleller og fortykninger kan ses i vedlegg 5, side 1.

**Tabell 3.** Mikrobiologiske analyser for råmelk, pasteurisert melk og myse

Forsøk	RÅMELK			PAST.MELK			MYSE	
	Dato mottak	Kimtall Entero	Kimtall Totalkim	Dato past.	Kimtall Entero	Kimtall Totalkim	Dato ystet	Kimtall Entero
1A	28. jan	<10 kde/ml	46 kde/ml	29. jan	<10 kde/ml	1,2 x 10 <sup>3</sup>	29. jan	<10 kde/ml
1B	28. jan	<10 kde/ml	46 kde/ml	29. jan	<10 kde/ml	1,2 x 10 <sup>3</sup>	30. jan	<10 kde/ml
2A	25. feb	<10 kde/ml	2,0 x 10 <sup>3</sup>	26. feb	< 10 kde/ml	30 kde/ml	26. feb	<10 kde/ml
2B	25. feb	<10 kde/ml	2,0 x 10 <sup>3</sup>	26. feb	<10 kde/ml	32 kde/ml	27. feb	<10 kde/ml
3	03. mar	<10 kde/ml	1,5 x 10 <sup>3</sup>	03.mar	<10 kde/ml	59 kde/ml	03.mar	<10 kde/ml
4A	12. mar	<10 kde/ml	4,2 x 10 <sup>2</sup>	12. mar	<10 kde/ml	23 kde/ml	12. mar	10 kde/ml

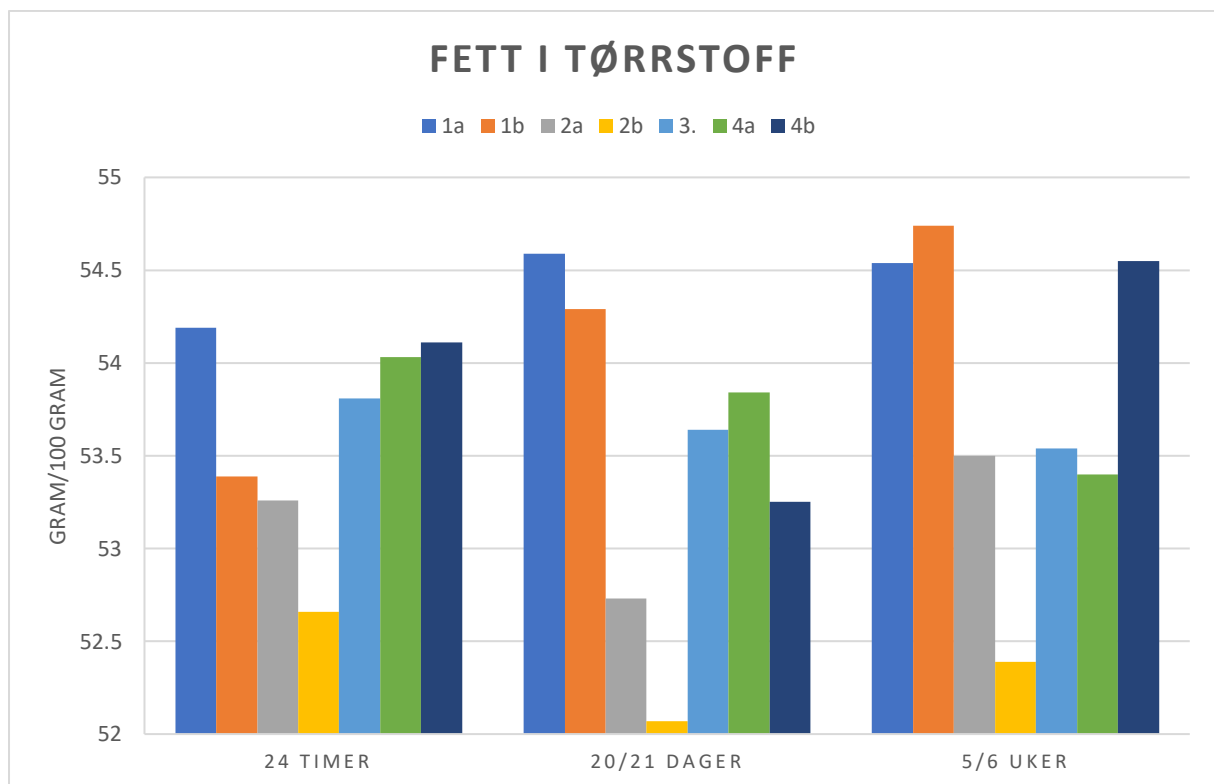
<b>4B</b>	12. mar	<10 kde/ml	4,2 x 10 <sup>2</sup>	12. mar	<10 kde/ml	36 kde/ml	13. mar	23 kde/ml
-----------	---------	------------	-----------------------	---------	------------	-----------	---------	-----------

## 4.2 Kjemiske analyser

Det ble tatt av prøve av osten etter 24 timer, 11/12 dager og 5/6 uker for kjemisk analyse. De to første prøvene ble analysert av FoodScan ved TINE Verdal, mens resten av prøvene ble fryst ned og sendt samlet i to omganger til TINE Sømna for FoodScan-analyse. FoodScan gav direkte resultater på fett, tørrstoff, salt og protein. Rådata for alle kjemiske analyser kan ses i vedlegg 6, side 1.

### 4.2.1 Fett i tørrstoff

Utrekning av fett i tørrstoff er gjort med bakgrunn i resultatene fra FoodScan, og er utført ved å dele fett på tørrstoff. Rådata kan ses i vedlegg 6, side 1. I figur 17 sammenlignes mengden fett i tørrstoff i de ulike ostene ved ulik modningsgrad.

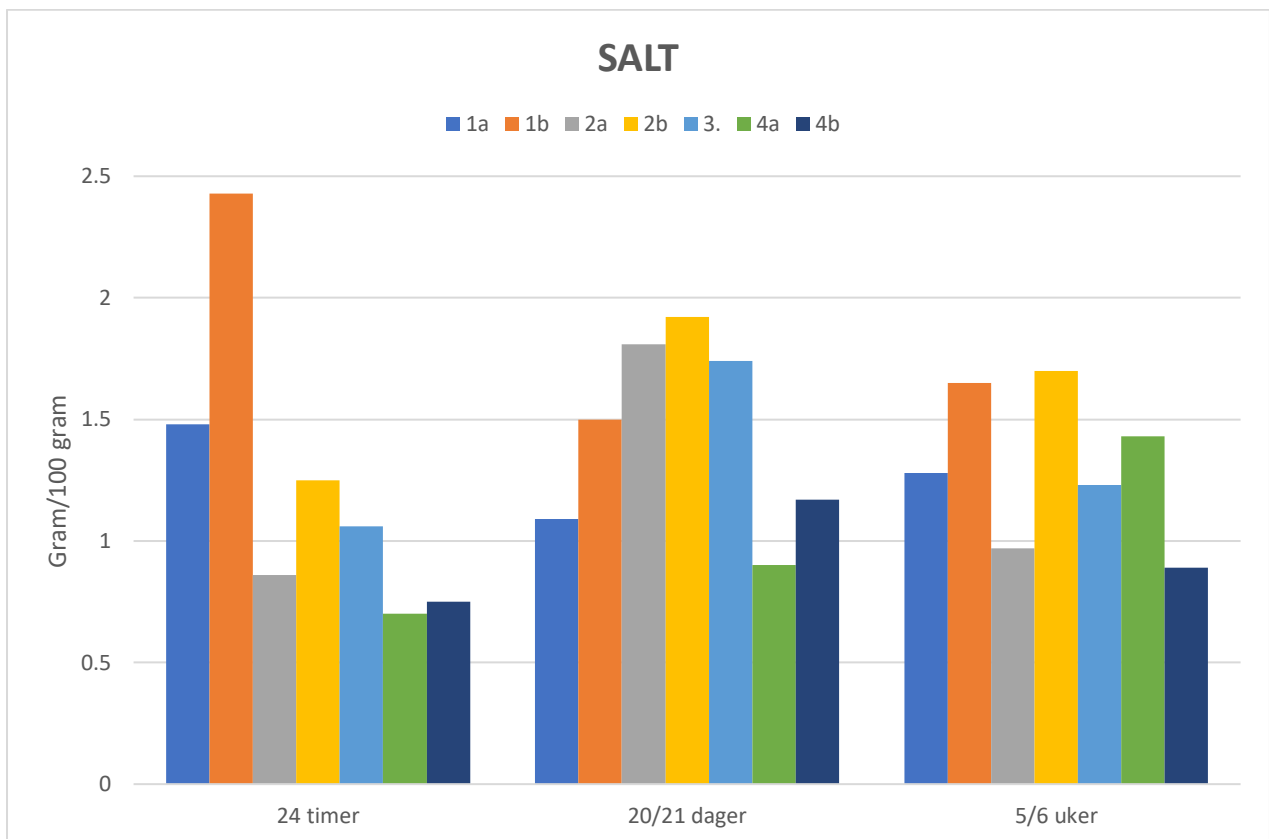


**Figur 47.** Fett i tørrstoff under modning. Prøvetidspunkt ved 24 timer, 20/21 dager og 5/6 uker. 1A: kontrolløst. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt. 3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrolløst.

Ut fra grafen kan man se at fett i tørrstoff varierer mye mellom de ulike ystingene, samt utover i modningsprosessen. Ost 2B (gul), ystet med 180 gram salt, er tydelig lavest.

#### 4.2.2 Salt

Saltmengden ble analysert ved hjelp av FoodScan. I figur 18 sammenlignes saltmengden i de ulike ostene ved ulik modningstid.

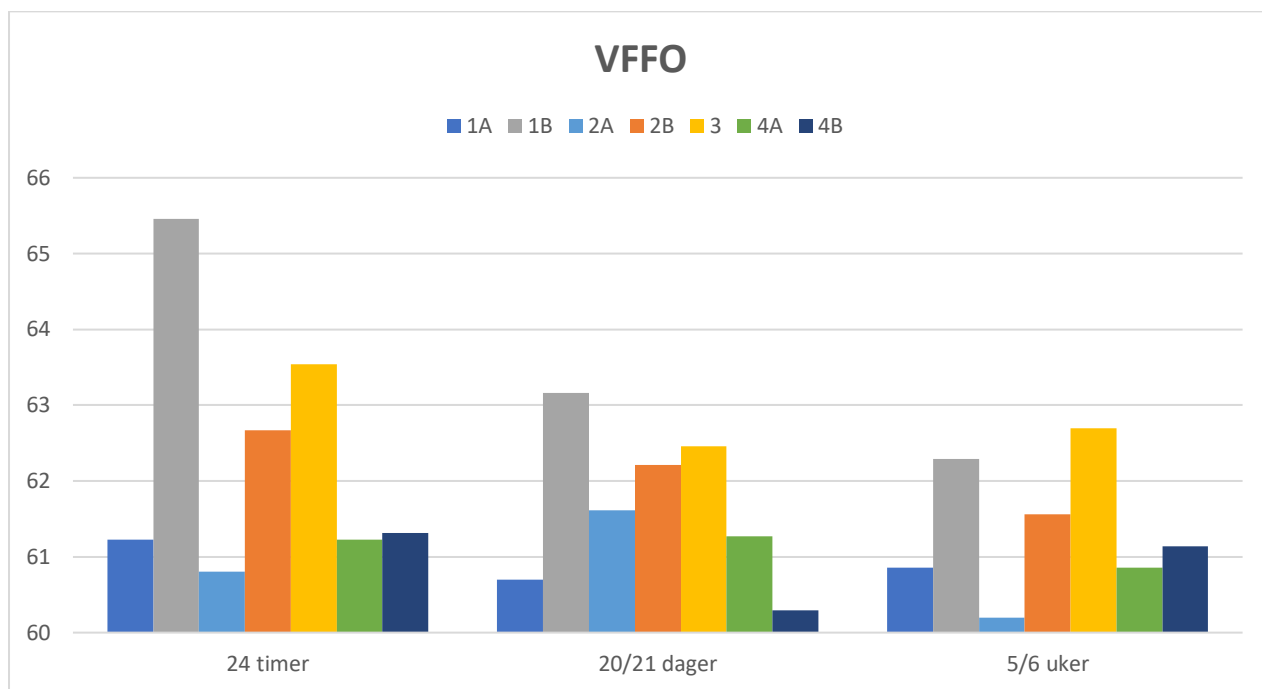


**Figur 18.** Saltmengde under modning. Prøvetidspunkt ved 24 timer, 20/21 dager og 5/6 uker. 1A: kontrolløst. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt. 3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrolløst.

I fersk ost (24 timer), er det tydelig at ost 1B (tilsatt 360 gram salt) er saltest, men utover i modningen ser man at dette jevner seg ut. Senere i modningen er det ost 2B (tilsatt 180 gram salt) som inneholder mest salt i kjemisk analyse. Ost 4A er også tilsatt 180 gram salt i tillegg til hemmekultur. I denne osten kan man se at saltinnholdet er lavt ved 24 timer, men øker gradvis utover i modningen.

#### 4.2.3 Vann i fettfri ostemasse

Ut fra rådata av FoodScan-målinger, ble det regnet ut vann i fettfri ostemasse. Utregningen kan ses i vedlegg 6, side 2. Resultatene er fremvist ved hjelp av stolpediagram i figur 19.



**Figur 19.** Vann i fettfri ostemasse under modning. Prøvetidspunkt ved 24 timer, 20/21 dager og 5/6 uker.

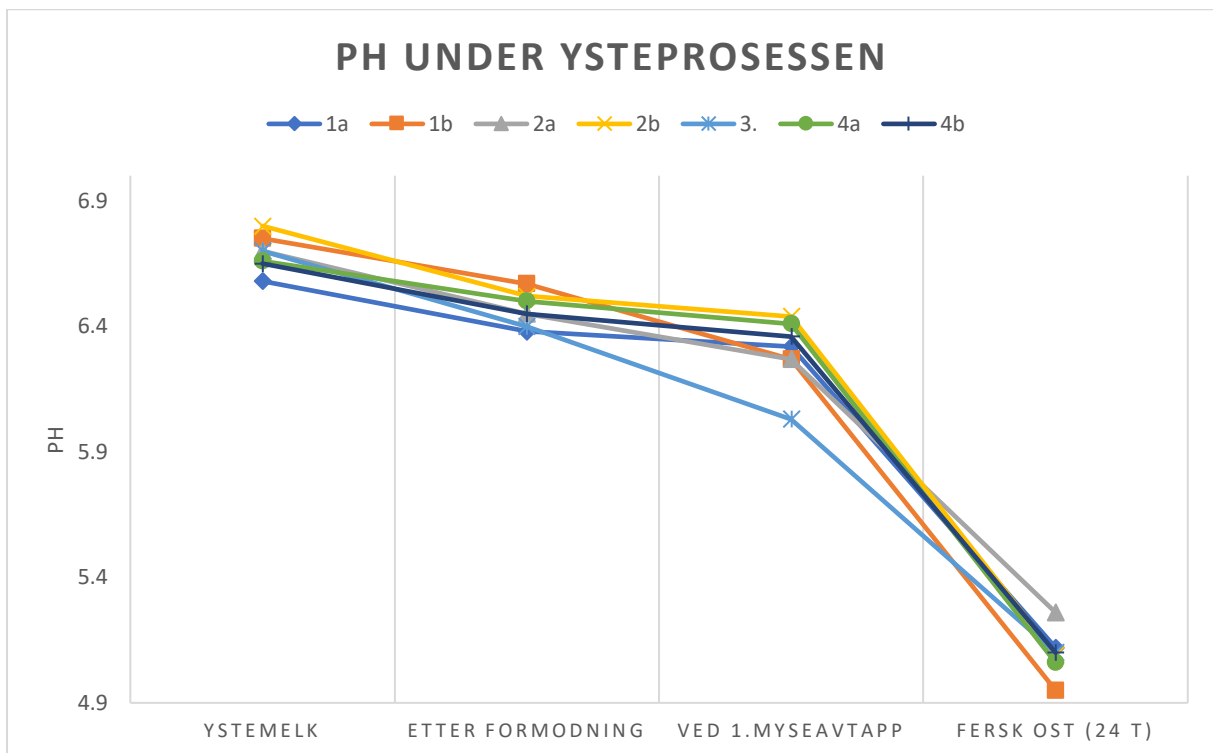
1A: kontrollost. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt. 3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrollost.

Ut fra grafen kan man tydelig se at ost 1B (tilsatt 360 gram salt) har høyest andel vann i fettfri ostemasse etter 24 timer. Etter 5/6 uker er det ost 3 (tilsatt hemmekultur) som ligger høyest. VFFO varierer en del mellom alle ostene.

## 4.3 pH-målinger

### 4.3.1 pH under ysteprosessen

Grafen i figur 20 viser pH målt av ystemelk, etter formodningen, ved første myseavtapp og av fersk ost (24 timer) for hver ysterunde.



**Figur 50.** pH under ysteprosessen. Måletidspunkt ved start (ystemelk), etter formodning, ved første myseavtapp og i 24-timersost.

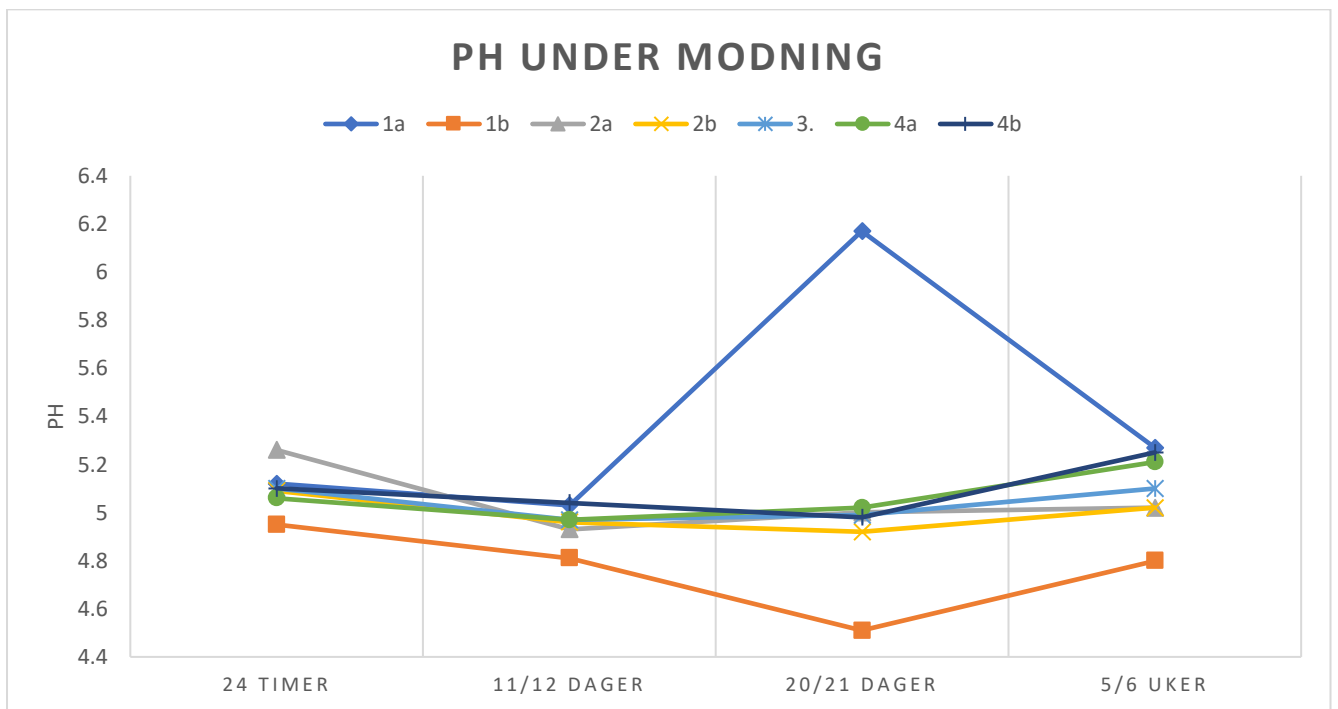
1A: kontrollost. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt. 3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrollost.

Resultatene viser at pH under ysteprosessen var forholdsvis lik for alle de ulike ostene. Ost 3 hadde noe lavere pH ved første myseavtapp, der pH var så lav som 6,03.

Ost tilsatt salt (1B, 2B og 4A) hadde et større pH-fall under lagesaltingen. Fra første myseavtapp til pH-måling av 24-timersost hadde disse ostene henholdsvis 1,32 (1B), 1,34 (2B) og 1,35 (4A) i pH-fall, mens resterende oster hadde et fall på mellom 1,01 og 1,26.

#### 4.3.2 pH under modning

Under modningen ble pH målt av fersk ost (24 timer), etter 11/12 dager, etter 20/21 dager og etter 5/6 uker. Resultatet kan ses i figur 21.



**Figur 21.** pH under modning. Målt i 24-timersost, etter 11/12 dager, etter 20/21 dager og etter 5/6 uker.

1A: kontrollost. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt. 3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrollost.

Resultatene av pH-målingene viser at de fleste ostene er ganske jevne utover i modningen, med unntak av ost 1B som ligger jevnt noe lavere sammenlignet med de andre. Ost 1A viser et hopp i pH etter 20/21-dager.



#### 4.4 Sensoriske analyser

Etter at den sensoriske bedømmelsen var gjennomført, ble det regnet ut snittpoeng av alle hovedpoengene til de ulike dommerne. Tabell 4 viser hovedpoeng på ostene, og utregnet snitt. Alle resultatene fra bedømmelsen kan ses i vedlegg 7, side 9-10.

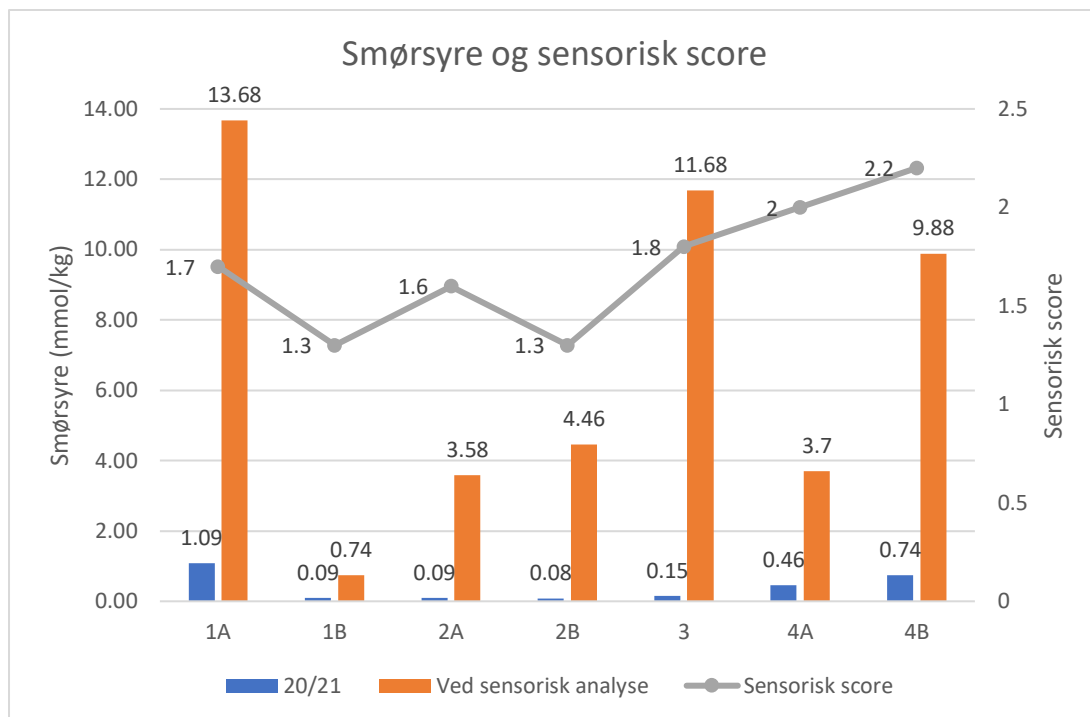
**Tabell 4.** Hovedpoeng og utregnet gjennomsnitt fra sensorisk bedømmelse.

	Dommer 1	Dommer 2	Dommer 3	Dommer 4	Dommer 5	Dommer 6	Snitt
1A	2	2	1	2	1	2	1,7
1B	2	2	1	1	1	1	1,3
2A	2,5	2	1	1	1	2	1,6
2B	3	1	1	1	1	1	1,3
3	2	2	2	2	1	2	1,8
4A	3	2	3	1	1	2	2,0
4B	3	2	3	2	1	2	2,2

På en poengskala fra 1-5 kan man se at alle ostene fikk forholdsvis lave poeng. Osten med best poeng, 4B, fikk poeng 2,2, tett fulgt av ost 4A med 2,0 poeng.

#### 4.5 Analyse av mengde smørtsyre

Etter at den planlagte kartleggingen av *C. tyrobutyricum* på laboratoriet ved NTNU ble avlyst på grunn av Covid-19, fikk gruppen via TINE hjelp fra Måltidets Hus til å analysere for mengde smørtsyre i utvalgte oster. Det ble besluttet å sende prøver av ostene fra midt i modningen (20/21 dager), samt en prøve av hver ost tatt ut ved sensorisk analyse. Analysesertifikat med smørtsyremengder kan ses i vedlegg 6, side 3-5. I figur 22 er smørtsyremengdene fremstilt ved hjelp av stolpediagram, og sett i sammenheng med sensorisk score.



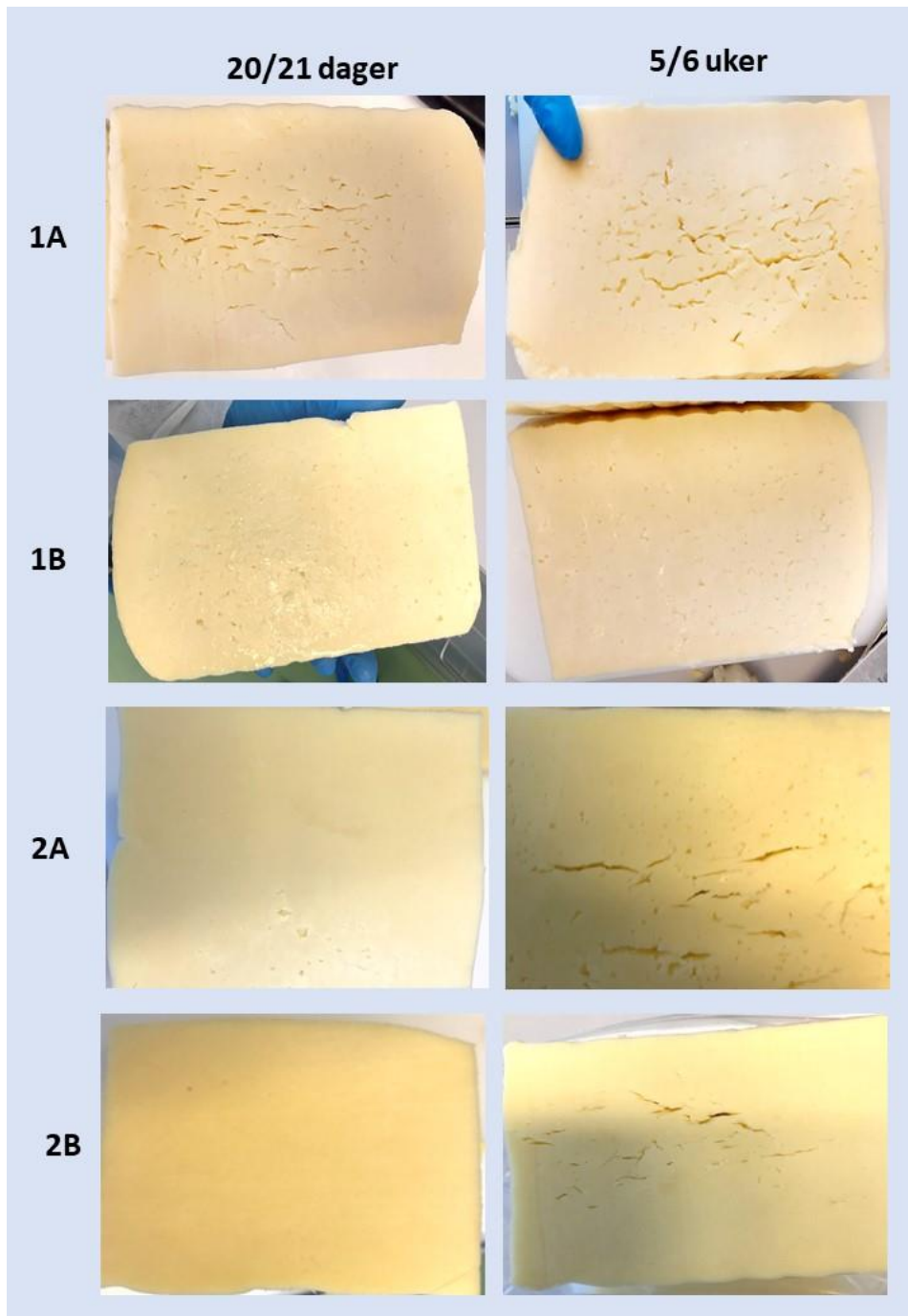
**Figur 22.** Analyse av mengde smørtsyre (mmol/kg) i ostene etter 20/21 dager og ved sensorisk bedømmelse. Resultater (hovedpoeng) fra sensorisk analyse er illustrert med grå linje.

1A: kontrollost. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt. 3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrollost.

Resultatene viser at kontrollostene (1A og 4B) har mye smørtsyre både ved måling etter 20/21 dager og ved sensorisk bedømmelse. I ost 1B (tilsatt 360 gram salt) er det svært liten mengde smørtsyre på begge målingene, mens i ost 2B (tilsatt 180 gram salt) øker mengden smørtsyre en god del frem til måling ved sensorisk analyse. Ost 2A og 3 ble ystet med tilsetning av hemmekultur, mens ost 4A ble ystet med en kombinasjon av hemmekultur og 180 gram salt. Man kan også se at ost 4A og 4B, som ble inkludert med *C. tyrobutyricum*, hadde høyere smørtsyreinhold enn de fleste andre ostene ved 20/21 dager.

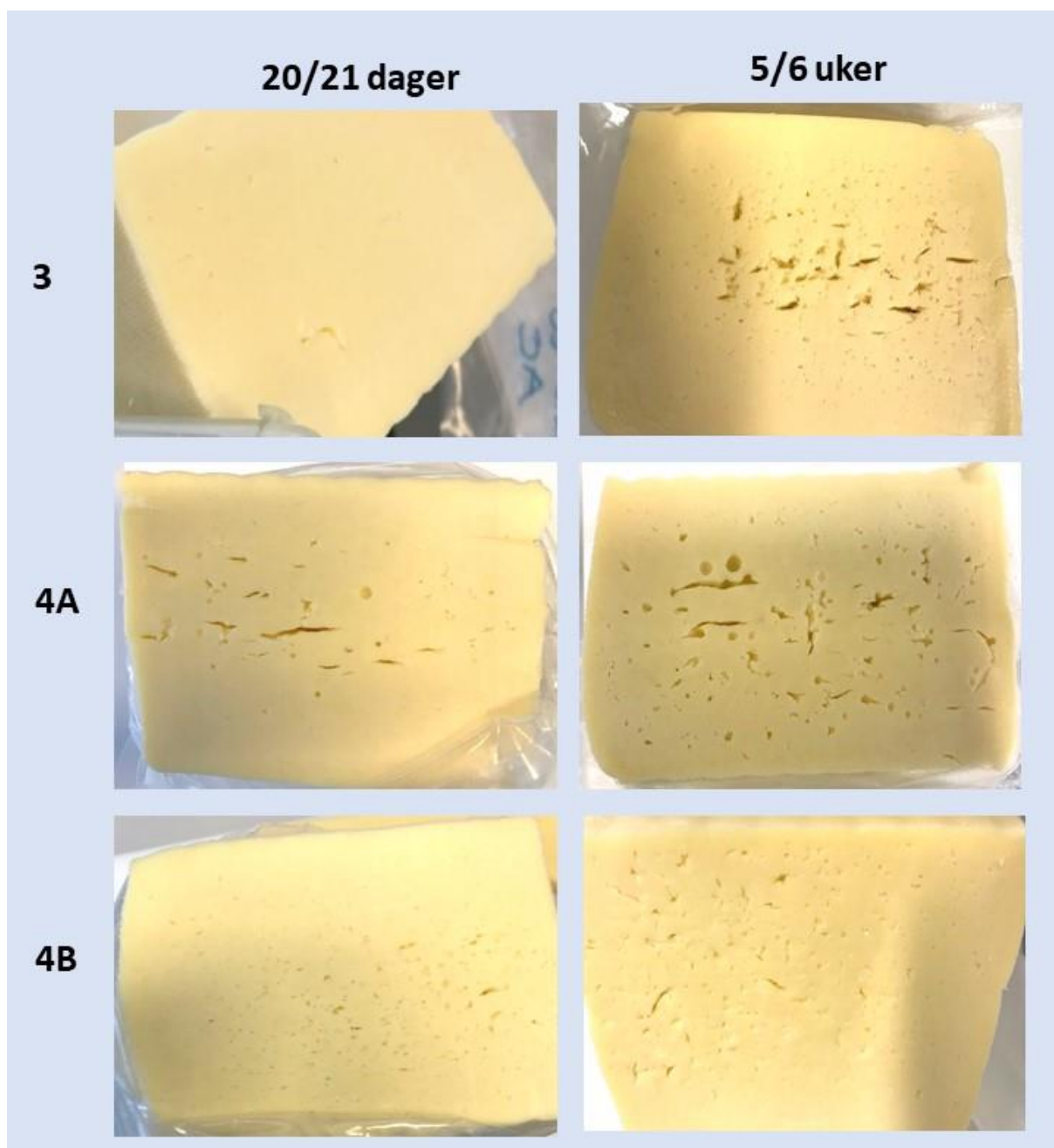
#### 4.6 Bilder av ostens indre under modning

Osternes indre utseende ble fotografert under modningen ved 24 timer, 11/12 dager, 20/21 dager og 5/6 uker. Under vises en fremstilling av osternes snittflate ved 20/21 dager og 5/6 uker. I figur 23 vises resultater for ost 1A, 1B, 2A, 2B, i figur 24 vises resultater for ost 3, 4A og 4B. Fotografier for alle tidspunkt under modning kan sees i vedlegg 8.



**Figur 23.** Snittflate for ost 1A, 1B, 2A og 2B ved 20/21 dager og 5/6 uker.

1A: kontrollost. 1B: tilsatt 360 g salt. 2A: tilsatt 3,7 g hemmekultur. 2B: tilsatt 180 g salt.



**Figur 24.** Snittflate for ost 3, 4A og 4B ved 20/21 dager og 5/6 uker.  
3: tilsatt 3,63 g hemmekultur. 4A: tilsatt 3,7 g hemmekultur og 180 g salt. 4B: kontrollost.

## 5. Vurdering

### 5.1 Ysteprosessen

#### 5.1.1 Produksjonsdesign

Det kunne med fordel vært laget en produksjonsdesign med flere kontrolloster, ideelt sett én kontrollost for hver ysting. På denne måten hadde det vært lettere å sammenligne de ulike ostene, og vite hvilke parametere som førte til de observerte endringene. Tidsbruk og ysteutstyr gjorde at dette ikke var mulig. I figur 14 sees en oversikt over produksjonsdesignen som ble brukt.

Man burde også ideelt sett ha standardisert sporemengden i ystemelka, og på denne måten fått mer standardiserte forsøk. Ystemelken kunne ha blitt fjernet for sporer ved hjelp av bakteriofugering eller mikrofiltrering, før den hadde blitt tilført en bestemt mengde *C. tyrobutyricum*. Dette har ikke vært mulig å gjennomføre med tilgjengelig ysteutstyr. Som vist i tabell 2 varierer sporeinnholdet i råmelka mye mellom ysterundene. Det varierende sporeinnholdet og det lave antall kontrolloster gjør det vanskelig å sammenligne ostene med hverandre, og gir lite pålitelige, vanskelig tolkbare resultater. Det hadde også gitt et bedre sammenligningsgrunnlag dersom man hadde fått utført det planlagte laboratoriearbeidet med å kvantifisere antall sporer tilstede i ystemelken.

Utfordringer med å gjennomføre ystingen på helt lik måte hver gang kan også være opphav til problemer med sammenligning og vurdering. Man har ved eksempelvis varierende temperatur og tid mellom ystingene ikke helt kontroll på om det er tilsatt av hemmekultur og salt, eller om det er andre parameter under ystingen som fører til endringer i sammensetning, tekstur, aroma, smak eller esing.

Både ysterunde 1B og 2B ble ystet med kun tilsatt av salt. Etter å ha tilsatt 360 gram salt i ysterunde 1B, kunne man allerede tidlig i modningen fastslå at denne osten ble alt for salt, og det ble derfor besluttet å yste en runde til med halve mengden salt for å sammenligne.

Ysterunde 2A og 3 ble tilsatt omtrent samme mengde hemmekultur. Grunnen til dette, var at resultatene av råmelksanalyse fra TINE på andre ysterunde viste null positive på anaerobe

sporedannere. Dermed ønsket gruppen å yste en runde til med hemmekultur for å kontrollere virkningen denne har i ystemelk med høyt sporeinnhold. Mengden hemmekultur som ble benyttet ble valgt etter anbefalinger gitt i tilhørende datablad. Kanskje kan en økning i mengde hemmekultur gi mer beskyttende effekt.

Planen var at det skulle tas prøver utover i modningsforløpet etter 12 dager, 21 dager og av ferdig modnet ost. Etter resepten som ble benyttet for Gouda, skulle osten ha ligget totalt syv uker til modning. Dette ble vanskelig å gjennomføre, da ostene produsert i fjerde ysterunde ikke ville ha blitt ferdig modnet i tide til innleveringsfrist. Det ble derfor besluttet å se på alle ostene etter omtrent fem uker for å få et godt sammenligningsgrunnlag. For å begrense avlesningsmengden i helger og ferier, bestemte gruppen seg for at prøvene kunne tas ved 11/12 dager, 20/21 dager og etter 5/6 uker.

## 5.2 Mikrobiologiske analyser

### 5.2.1 Anaerobe sporedannere

Opprinnelig var det ikke ansett som nødvendig å pøde ystemelka med *C. tyrobutyricum* da melka normalt sett skulle hatt mye sporer til stede på grunn av årstid, robotmelking og økologisk drift (se kapittel 2.2) Da analyseresultatene for anaerobe sporedannere (vist i tabell 2) fra TINE viste null tilstedeværelse for råmelka i ysterunde 2A og 2B, ble det satt i gang oppdyrking av *C. tyrobutyricum* likevel, slik at man var sikker på å ha sporer til stede i den siste ystingen.

*C. tyrobutyricum* ble podet i pasteurisert og avkjølt skummet melk, og 10 milliliter av denne blandingen ble tilsatt ystemelken neste dag. Gruppen hadde planlagt å pasteurisere blandingen rett før tilsats i ystemelka for å eliminere vegetative celler, men dette ble glemt. Dermed er det usikkert om det var kun sporer som ble tilsatt ystemelken, da sporene i løpet av tiden fra poding dagen i forveien kunne ha germinert til vegetative celler.

Samtidig som ystemelken ble tilsatt oppdyrket *C. tyrobutyricum*, ble det også sådd ut på tre skåler RCM for å kunne anslå nivået som ble tilsatt. Alle de tre skålene ble overgrodd, både ved  $10^{-0}$  og  $10^{-1}$ , så det var vanskelig å anslå noe nivå. Her kunne man med fordel ha laget flere fortyngninger.

Det kunne vært gunstig å nøyaktig vite hvilken mengde kolonidannende enheter som ble tilsatt ystemelka. Dette kunne man ha kvantifisert gjennom måling av turbiditet ved hjelp av spektrofotometer (Sutton 2011 s. 46-49). Her kunne også de planlagte analysene av 3- og 9-rørsmetode samt filtreringsmetode vært interessant å sett på for å sammenligne innholdet av sporer i ystemelka fra ysterunde til ysterunde.

#### 5.2.2 Analyseresultat for råmelk, pasteurisert melk og myse

I tabell 3 kan man se at de mikrobiologiske resultatene fra første ysterunde viste at ystemelken (pasteurisert) hadde høyere tall på totalkim enn råmelk (upasteurisert). Grunnen til dette er uviss, men en teori kan være at prøvene har blitt byttet om. Det kan også være mulig at noe var galt med pasteuren, at den for eksempel ikke var godt nok vasket slik at melken var blitt kontaminert.

Av den pasteuriserte melken ble det tatt prøve hver ystedag (to ystedager for ysterunde 1, 2 og 4). Her kan man se på resultatet at målingene er ganske jevne på de to dagene, selv om ystemelka benyttet i B-ostene hadde stått en dag ekstra på tank.

Næringsmiddelhygieneforskriften fastslår grenseverdier for Enterobacteriaceae i pasteurisert melk. Dette kravet gjelder ikke for produkter som er beregnet på videre foredling, men siden det ikke ble foretatt noen mikrobiologisk analyse av Enterobacteriaceae på ferdig ost, ble det likevel valgt å benytte denne grensen for å få en indikasjon. Grensen fastsatt i næringsmiddelhygieneforskriften sier at det ikke skal være mer enn 10 kde/ml (Næringsmiddelhygieneforskriften 2008 Forordning 2073/2005 Vedlegg 1 Kapittel 2 Punkt 2.2). Kimtallsberegning av Enterobacteriaceae på pasteurisert melk hadde ingen påviste på noen av ysterundene.

Det ble også tatt prøve av mysen ved andre myseavtapp for utsåing av Enterobacteriaceae. Dette ble gjort for å kontrollere hygien under ysteprosessen, da det benyttes mye utstyr for pressing av osten i karet samt at man må bruke hendene nede i ostemassen for å få utstyret på plass. Kimtallsberegning viste at ysting 2B hadde 6 kde/ml, mens ysting 4B hadde 23 kde/ml. Ysting 4B var altså noe høy.

Prøvetaking og kimtallsberegning for hver prøve ble noe misvisende, da det ikke ble fastslått på hvilken måte og med hvor mange paralleller og fortynninger man skulle benytte på hver prøve. På ysterunde 1 laget gruppen peptonvann og fortynnet selv, mens på resten av prøvetakingen ble det benyttet ferdig tillaget rør med 9 milliliter peptonvann fra Labolytic. Det ble også utført ulik praksis på antall paralleller og antall fortynninger for de ulike mikrobiologiske prøvene, slik at for noen prøver er det kun én parallell av hver fortynning, og disse resultatene vil dermed ha større måleusikkerhet. Antall paralleller og fortynninger av hver prøve kan ses i vedlegg 5, side 1, mens resultater kan ses i vedlegg 5, side 2.

### 5.3 Kjemiske analyser

Alle kjemiske analyser er utført ved hjelp av FoodScan hos TINE. Analysene for 24-timersost på ysterunde 1A og 1B ble analysert på FoodScan hos TINE Meieriet Verdal, mens resten av analysene ble tatt på FoodScan hos TINE Meieriet Sømna. Analysene tatt på TINE Meieriet Sømna hadde også vært fryst i mellomtiden. Det kan tenkes at det vil være variasjoner i forhold til kalibrering av maskinen og valgt program for analyse av ostene som kan utgjøre unøyaktigheter i måleresultatene. Det ble sendt med kun én parallell av hver prøve, så gruppen antar at det kun er gjort én måling av hver prøve. Dette vil gi en viss måleusikkerhet. Resultatet vil i tillegg variere ut fra hvor på osten prøven er tatt ut, om det er på kant eller i senter.

#### 5.3.1 Fett i tørrstoff

I målingene vist i figur 17 ser man at mengde fett i tørrstoff (F/T) varierer en del i de ulike ostene.

Ost 1A har en økning i mengde F/T ved 21 dager kontra start før den synker svakt igjen mot 5 uker. 1A har høyest verdi av alle ostene for F/T i både 24 timers ost og ved 21 dager. I ost 1B øker mengden gjennom modningen. Denne osten har høyest verdi av alle ostene ved 5 ukers modning. Både ost 2A, 2B og 4B har en lavere verdi ved 21 dagers modning i forhold til 24 timer og 5 uker. Ost 2B lå lavest i verdi av alle ostene gjennom hele modningsforløpet. I både ost 3 og 4A er mengden høyest ved 24 timer og synker underveis under modningen.



Ostene hadde mengde fett i tørrstoff etter 5 ukers modning mellom 52,39-54,74 prosent. For goudaost er det satt en minimumsverdi på 30 prosent. Det er ingen øvre grense for mengde fett i tørrstoff i goudaost. (Codex Stand. 266-1966) Ostene er med andre ord godt innenfor minimumsverdien for mengde fett i tørrstoff.

Melka ostene er ystet med høy fettprosent da den ikke er standardisert, og man får derfor et forhøyet fettnivå sammenliknet med en vanlig goudaost.

### 5.3.2 Salt

Ut fra resultatene for måling av salt ved hjelp av FoodScan (vist i figur 18), kan man se at ostene som var tilsatt kun hemmekultur (2A og 3) hadde ganske jevnt saltinnhold i modningen, med en økning av salt på måling 20/21 dager, og en nedgang igjen etter 5/6 uker. Kontrollost 4B følger samme mønster, så disse resultatene kan gi en indikasjon på at hemmekultur ikke påvirker saltutviklingen i osten i særlig grad. Dette støtter opp opplysningen gitt på databladet til hemmekulturen, der det står at den er svært salttolerant. Kontrollost 1A avviker noe fra denne teorien, da målingen ved 20/21 dager ligger noe lavere sammenliknet med fersk ost og modnet ost, men her kan det også være variasjoner på grunn av målefeil.

Om man ser de to ostene som er tilsatt kun salt, kan man se at ost 1B har et tydelig høyest saltinnhold i fersk ost sammenliknet med ost 2B, men at ost 2B har et høyere saltinnhold enn ost 1B lengre ut i modningen. Underveis i modningen kunne man observere at spesielt ost 1B hadde sluppet ut mye væske i vakuumposen. Dette kan være en mulig forklaring på hvorfor saltmengden synker såpass mye ved måling etter 20/21-dager. Ost 4A med tilsetning av både hemmekultur og salt hadde lavt saltinnhold etter 24 timer, men får en økning utover i modningen. Alle ostene med salttilsetning har etter 5/6 uker en forholdsvis lik saltmengde.

Teorien sier at dersom osten har et høyt saltinnhold, så vil nedbryting av protein gå saktere, og man får dermed en langsommere modning, se kapittel 2.4.3 i teoridel. For å kontrollere dette, kunne det ha vært interessant om man hadde hatt hyppigere målinger for å se trenden i ost tilsatt salt i forhold til kontrollost.

### 5.3.3 Vann i fettfri ostemasse

Som vist i figur 19 ser man at alle ostene ligger forholdsvis nært hverandre i andel VFFO. Det er likevel litt forskjell, som kan indikere at det har vært litt variasjoner i ysteteknikk mellom de ulike batchene. Forskjellene i VFFO kan i størst grad tilskrives ulik saltmengde, eller naturlig variasjon i ystemelkas sammensetning, et problem som er vanlig for småskalaprodusenter som ikke standardiserer melka før bruk. Man kan tydelig se ved 24 timer at ostene med tilsatt salt ligger høyt i VFFO, noe som antageligvis skyldes saltets evne til å binde vann. VFFO hos ostene med tilsatt salt synker utover i modningen, muligens på grunn av vanntap og dermed økende mengde fettfritt tørrstoff, som binder vann og reduserer VFFO. Se nærmere beskrivelse i kapittel 2.10. Ost nummer 3 er også høy i VFFO, som kan virke noe rart siden det ikke er tilsatt salt.

Det kan tenkes at ostene med høyest VFFO har bedre forhold for germinering av sporer på grunn av mer tilgjengelig vann, og dermed økt dannelse av smørsyre, og esing tidligere i modningen. Dette gjelder ikke for ostene med tilsatt salt, som har høy VFFO, men likevel lite tilgjengelig vann på grunn av saltets evne til å senke vannaktiviteten. Høy VFFO vil dermed for ostene uten salt, som type 3, øke muligheten for bråmodning og utvikling av bitter- og smørsyresmak. Dette gjenspeiles i de sensoriske resultatene, hvor ost 3 har fått anmerkninger for å være både bitter, besk og ha smak av smørsyre (se vedlegg 7, side 8). Om man ser på resultatene fra smørsyreanalysen (tabell 22), ser man også der at smørsyremengden er høy på ost 3.

## 5.4 pH-målinger

### 5.4.1 pH under ysteprosessen

Ut fra grafen som viser pH under ysteprosessen, kan man se at pH er forholdsvis lik for alle ostene på de forskjellige måletidspunktene. Dette viser til at ysteteknikken fra ysting til ysting er ganske lik. Dette var et forventet resultat, da man tilpasser ysteprosessen ut fra pH-målingene man gjør underveis (eksempel lengde på formodning).

Ost tilsatt salt (1B, 2B og 4A) hadde et høyere pH-fall fra første myseavtapp til måling i fersk ost sammenlignet med de resterende ostene (se figur 20).

Under ysting 3 kan man se at pH målt ved første myseavtapp var noe lavere sammenlignet med de andre ystingene. Formodningstiden på denne ystingen var ikke lengre enn hos de andre ystingene, så det er uvisst hva dette avviket skyldes. Gruppen var ikke tilstede under ysterunde 3 da det var studenter fra Yrkesfaglærerutdanningen som ystet, så en teori kan være at målingen er gjort på annen måte eller på ulikt tidspunkt.

Hvordan konsistensen til osten blir etter salting er svært pH-avhengig. Samtidig som at en lav pH ( $< 5$ ) fører til en hard ost, vil en ost med høy pH ( $> 5,8$ ) være svært myk og kan miste formen under modningen. Dette kommer av at noen deler av kalsiumet er løst bundet til kaseinet, og ved salting er det disse som bindes. Ved en høy pH er det mer kalsium i kaseinet, og på grunn av dette vil også mer natrium bindes til kaseinkomplekset. Dermed blir osten myk. Når pH ligger mellom 5,2-5,6 vil det være nok  $\text{Ca}^{2+}$  og  $\text{H}^{++}$ -ioner i kaseinkomplekset til å binde nok  $\text{Na}^+$ , og konsistensen blir god. (Tetra Pak 2015 Kap. 14) Om man ser på pH-måling av ostene før de ble lagt i saltlake, er pH høy på samtlige. Dette ville i teorien ført til at alle ostene skulle blitt harde. Under den sensoriske bedømmelsen hadde ost 1A, 1B, 4A og 4B fått anmerkning fra et par av dommerne om at de var harde.

#### 5.4.2 pH under modningen

Etter 24 timer vil en vanlig goudaost ha pH på mellom 5,1-5,2 (Düsterhöft m.fl. 2017 s. 878). Om man ser på figur 21 kan man se at samtlige oster unntatt 1B, 2B og 4A lå innenfor dette pH-området. 1B, 2B og 4A var alle blitt tilsatt salt under ystingen. Ost 1B lå noe lavere i pH under hele modningen, mens 2B og 4A jevner seg senere ut sammen med de andre ostene. Ost 1B var ystet med 360 gram salt. Under ysteprosessen forsvinner det meste av mysen og tar dermed med seg laktosen. Når man tilsetter salt til mysen, vil mysen bindes til osten. Dette fører til en økt restlaktose. Laktosen brytes videre ned til laktat (melkesyre), noe som fører til at osten blir surere og får en lavere pH (se kapittel 2.8.5 i teori).

Resultatene av pH-målinger utover i modningen, viser at de fleste ostene er ganske jevne utover i modningsforløpet, med et lite pH-fall frem til 11/12-dagers modning, for så å øke videre i modningen. Økningen i pH skyldes at melkesyre og proteiner brytes ned under modningen, slik at det blir mindre syrer igjen i osten.

Man kan se at ost 1A gjør et hopp i pH opp til 6,17 etter 20/21 dager. Det er usikkert hva dette skyldes, men her ble det målt kun én parallell, så mest trolig kan dette være en målefeil. På alle de andre pH-målingene ble det målt tre paralleller og tatt gjennomsnitt ut fra dette. Det kan også være utslagsgivende for resultatet hvor i osten pH er målt, spesielt når det bare ble målt én parallell.

## 5.5 Sensoriske analyser

På en poengskala fra 1-5, der 5 er best, kan man se at det var ingen av ostene som ble spesielt godt likt av dommerne. Det var i utgangspunktet 7 bedømmelser av ostene under den sensoriske analysen, men på grunn av at den ene bedømmelsen kun var delvis utfylt, valgte gruppen å forkaste denne. Grunnlaget for resultatene er derfor regnet ut fra de seks resterende bedømmelsene. Det var også noen av bedømmelseskjemaene der det var mangler i utfyllingen. Eksempelvis ble det gitt poeng lavere enn 4 uten å sette anmerkning. Dette skyldes nok at det ble gitt for dårlig forklaring i forkant av bedømmelsen, samtidig som noen av dommerne hadde dårlig tid.

Alle ostene unntatt 4A og 4B fikk snittpoeng under 2 (se tabell 4). Ost fra ysterunde 4 hadde lavt sporeinnhold ifølge 3-rørsmetoden analysert av TINE, men var i tillegg blitt inokulert med *C. tyrobutyricum* før ysting. Hvor mye sporer melken inneholdt ved ysting fikk ikke gruppen tatt noen måling av siden det planlagte laboratoriearbeidet ble avlyst. Dyrking av *C. tyrobutyricum*-suspensjonen sådd ut på RCM-skåler tydet imidlertid på et høyt innhold, da alle de tre skålene var overgrodd ved alle fortyninger.

Den sensoriske analysen ble utført på oster av ulik modningsgrad, men man kan anta at det var liten forskjell mellom ostene, da alle var blitt lagret ved 4 °C også etter 5/6 ukers modning. Den kjølige lagringen har antageligvis hindret ostene fra å modne videre i stor grad.

## 5.6 Analyse av mengde smørsyre og effekt av hemmekultur

Analyseresultater fra Måltidets hus viser at kontrollostene (ost 1A og 4B) har høy mengde smørsyre målt av modnet ost (prøveuttak samme dag som sensorisk analyse av osten). I ostene tilsatt kun salt (1B og 2B) er mengden smørsyre noe redusert sammenlignet med

kontrollostene. I ost 1B, tilsatt 360 gram salt, er mengden smørtsyre til stede i modnet ost 0,74 mmol/kg. Dette er den laveste smørtsyremengden blant alle ostene. Til sammenligning er smørtsyremengde i en vanlig goudatype ost på under 0,3 mmol/kg (Bente Serigstad TINE SA 2020 pers. med.).

I ostene tilsatt hemmekultur (2A og 3) kan man se at mengde smørtsyre målt i moden ost er svært ulik, selv om mengde hemmekultur tilsatt var omtrent helt lik. Dette har mest sannsynlig sammenheng med sporeantallet i råmelken, da det i melk benyttet til ysterunde 2 ikke ble påvist noen sporer (vekst i 0 av 3 rør), mens det i melken benyttet til ysterunde 3 ble påvist høy grad av sporer (vekst i 3 av 3 rør). Selv om analysen av råmelken for ysterunde 2 viste at det ikke var noen påviste sporer, kan man se at det likevel er en smørtsyremengde over naturlig innhold (0,3 mmol/kg for gouda-type ost) til stede i ost 2A og 2B (modnet ost). Muligens er ikke 3-rørsmetoden sensitiv nok, slik at det kan være noen sporer til stede i melken uten at det gir gassdannelse nok til en positiv prøve. Man kan dermed se at det ikke skal så mange sporer til før det gir et stort utslag i modnet ost, og dette stemmer godt med teorien som hevder at det ikke skal mer til enn 1 spore per 10 ml melk for å forårsake smørtsyregjæring (Klijn m.fl. 1995 s. 2919).

Melken benyttet til ysting av ost 4A og 4B ble inokulert med *C. tyrobutyricum* for å være sikker på at det skulle være sporer tilstede. På disse ostene kan man se at smørtsyreinholdet er forholdsvis høyt allerede ved 20/21 dagers modning. Etter 20/21 dager har osten vært modnet ved 18-19 °C i omtrent 10 dager. En mulig forklaring på hvorfor smørtsyreinholdet øker såpass tidlig i disse ostene, kan være at gruppen glemte å pasteurisere suspensjonen som ble tilsatt ystemelken, og at det dermed kan være vegetative celler tilstede som umiddelbart begynner prosessen med å produsere smørtsyre.

I ost 4A ble det tilsatt en kombinasjon av hemmekultur (3,7 gram) og salt (180 gram). Mengden smørtsyre målt ved sensorisk analyse var her 3,7 mmol/kg. Sammenlignet med ost 4B (kontrollost, 9,88 mmol/kg smørtsyre) som var ystet av melk fra samme levering og antatt lik mengde tilsatt sporer, kan man se at smørtsyremengden i ost 4A er betydelig redusert. Man kan dermed anta at kombinasjonen som var benyttet, gav et hemmende utslag på smørtsyregjæringen i osten.

Smørtsyreinholdet i ostene kan sammenlignes med tidligere utførte forsøk for når sprekkdannelse og esing normalt oppstår i modningen. I forsøk gjort av Matijasic m.fl. (2005 s.160-161) brukes en hemmekultur av typen *Lactobacillus gasseri*, og osten testes for mengde smørtsyre ved 0, 2, 4, 6 og 8 ukers modning. Forsøket konkluderer med at mengde smørtsyre kan brukes som en indikasjon på begynnende esing og sprekkdannelse, og at den kritiske grensen for smørtsyre ligger på 1,7 mmol/kg (Matijasic m.fl. 2005 s. 160-161). Dette nivået av smørtsyre ligger alle ostene våre godt under ved 20/21 dager, men ost 1A (kontroll), 4A (med hemmekultur og 180 gram salt) og 4B (kontroll) har alle likevel en viss sprekkdannelse. Prøve tatt ut ved sensorisk bedømmelse viser at alle ostene, unntatt ost 1B (med 360 gram salt), langt over 1,7 mmol/kg smørtsyre, og viser tydelige tegn på sprekkdannelse. Dette stemmer godt overens med den kritiske grensen presentert av Matijasic m.fl. (2005 s.160-161). Omregning av verdier for kritisk grense av smørtsyre fra Matijasic m.fl. (2005 s. 160-161), fra g/kg til mmol/kg for sammenligning med våre verdier, kan ses i vedlegg 6, side 6.

## 5.7 Utvikling under modning

Som man kan se i figur 22 og 23 viser de fleste ostene ingen tegn til sprekkdannelse før 20/21 dager eller 5 uker ut i modningen. I ost 1A (kontroll) oppstår esing allerede ved 20/21 dager, mens 1B (med 360 gram salt) ikke blir utsatt for sprekkdannelse. Den store mengden salt ser ut til å ha hemmet smørsyredannelsen, men har forstyrret modningsprosessen i stor grad. Osten oppleves tørr, og er blek og hard under den sensoriske testen. Ost 1A har som nevnt lavt innhold av smørtsyre ved 20/21 dager, men har likevel sprekkdannelse (se figur 24). Dette viser at det ikke nødvendigvis er produsert store mengder smørtsyre selv om osten har begynnende sprekkdannelse, noe som stemmer overens med funnene til Matijasic m.fl (2005 s. 160-161).

I ost 2A (med hemmekultur) og ost 2B (med 180 gram salt) oppstår esing først ved 5 uker, men i mindre grad i ost 2B med salt. Smørsyrenivået er også lavt i disse. Analyser fra TINE tilsa at det ikke var sporer til stede i melka brukt i ysterunde 2, men den oppståtte esingen kan være tegn på at analysemetoden som benyttes hos TINE ikke er sensitiv nok. Her ville det ha vært til stor hjelp å ha fått gjennomført kvantifiseringen av *C. tyrobutyricum* i ystemelken ved hjelp av både 9-rørs- og filtreringsmetoden slik planen var før situasjonen rundt Covid-19 umuliggjorde dette. Slik kunne man sammenlignet sporeinnholdet med 3-rørsmetoden utført av TINE, og i tillegg fått sammenlignet smørtsyreinhold i ostende med kvantitativt innhold

av *C. tyrobutyricum*. Ost 2B er ikke like preget av saltmengden som ost 1B med 360 gram salt. Saltmengden er likevel ikke stor nok til å hemme smørsyregjæringen fullstendig.

Ostene med hemmekultur opplever alle sprekkdannelse. I ost 2A med hemmekultur, og 3 med hemmekultur, skjer ikke dette før ved 5 uker, men for ost 4A med hemmekultur og salt eser osten allerede ved 20/21 dager. Det kan se ut som om esingen er utsatt noe i ost 2A og 3, men med ingen påviste sporer i ystemelken brukt i forsøk 2A er det vanskelig å konkludere med at hemmekulturen er med på å utsette esingen.

Ost 4A med hemmekultur og salt i kombinasjon var tilsatt ekstra sporer, kanskje kan dette være grunnen til esing allerede ved 20/21 dager. Matijasic m.fl. (2005 s. 161) fant i sine forsøk ut at esingen i enkelte av ostene begynte allerede etter to ukers modning, og at etter fire uker var alle ostene oppblåst (Matijasic m.fl. 2005 s.161). Smørsyrenivået er likevel lavt til tross for sprekkdannelsen, og er et mulig tegn om at *C. tyrobutyricum* har blitt noe hemmet. Med normale sporeforhold, altså uten ekstra tilsatte sporer, kan det tenkes at esingen hadde skjedd noe lengre ut i modningen.

Kontrollost 4B har noe mindre sprekkdannelse og esing enn 4A med hemmekultur og salt, og skårer også 0,2 poeng bedre på den sensoriske analysen. Hvorfor kontrollost 4B har mindre sprekkdannelse og esing strider mot det som var forventet, og grunnen er ikke kjent. Inokuleringen med *C. tyrobutyricum* ble gjort i 400 liter kjølelagret ystemelk, og ost 4A ble ystet samme dag mens kontrollost 4B ble produsert dagen etter inokulering. En mulig teori kan være at det ble en ujevn fordeling av sporer og vegetative celler i ystemelken. I tillegg ble det benyttet omtrent fem liter mer ystemelk på ysterunde 4A kontra 4B.

## 5.8 Oppsummering

Ysteteknikk har forsøkene forløpt bra, med relativt lik pH og syrningsforløp under ysting. Resultatene for VFFO beregnet ut fra FoodScan viser noe variasjon, og dette kan indikere en viss forskjell i ysteteknikk mellom batchene. Høy VFFO gir muligens økt mulighet for germinering av sporer, noe som teoretisk skulle gi utslag i høyere nivå av smørsyre. Dette er ikke en sammenheng som med sikkerhet kan observeres.

Resultatene for smørtsyre og sensorisk analyse viser at flere av ostene med høyt innhold av smørtsyre blir godt likt av dommerne, deriblant ost 4B (kontroll) og ost 3 (med hemmekultur) (se figur 24). Ost 4A (med hemmekultur og 180 gram salt) er nest best likt av ostene, og har i tillegg tredje lavest innhold av smørtsyre ved sensorisk analyse. Ost 1B (med 360 gram salt) har lavt smørtsyreinhold, men likes minst av alle ostene. Dette kommer nok av at saltet har påvirket ysteprosessen i stor grad, og gjort osten blek og tørr. Osten slapp mye myse under lagring, og mulig har noe av kalsiumet gått tapt her. Dette er beskrevet nærmere i kapittel 5.4.1.

Ost 2A (med hemmekultur) har det nest laveste innholdet av smørtsyre av alle ostene, men er en av de tre dårligst likte ostene. Man skulle tro at ostene med lavest smørtsyre skulle bli best likt, med unntak av 1B (med 360 gram salt). Dette er derimot ikke tilfellet, og man kan altså se en trend hvor flere av ostene med høyt innhold av smørtsyre blir likt. De sprikende resultatene mellom sensorisk analyse og smørtsyrenivå kan være en konsekvens av et utrent dommerpanel, med et lavt antall dommere.

Dersom man kun ser på analyse av smørtsyre kan man derimot se en indikasjon på at kombinasjonen av hemmekultur og salt hadde en hemmende effekt på smørtsyrebakterienes aktivitet.

## 5.9 Forslag til videre arbeid

Ut ifra våre resultater med det antall oster som ble analysert ved ulik modningsgrad, kunne man se at kombinasjonen av salt og hemmekultur hadde en hemmende effekt på dannelsen av smørtsyre i osten. Siden det kun ble gjort ett forsøk med denne kombinasjonen ble det vanskelig å finne en slik mengde og kombinasjon at hemmingen ble tilstrekkelig.

Utprøving av ulike mengder og kombinasjoner av hemmekultur og salt burde jobbes mer med i videre forskning.

Bacheloroppgaven hadde en begrensning på tid, og perioden er kort for forsøk hvor modning av ost inngår som et viktig ledd. Det er også knyttet store kostnader til å produsere ost, og det ble derfor bare mulig å yste i syv runder. Disse syv rundene ble fordelt på to grupper, og det ble dermed begrensning på mulighetene for å prøve ut mange ulike mengder og kombinasjoner. Planen fra starten var i dele ystekaret i to under hver ysting slik at man til



sammen hadde fått 14 ysterunder. Da kunne man i tillegg ystet en kontrollost for hver runde, slik at man hadde hatt et godt sammenligningsgrunnlag. Det ble ikke praktisk gjennomførbart å dele ystekaret i to, da skilleveggen ikke var tett nok og bruk av annet utstyr ble vanskeliggjort. Ulikt sporeinnhold i melka og forskjeller i ysteteknikk fra gang til gang gir unøyaktige resultater. Dette viser hvor store utfordringene er for småskalaprodusenter, der sporeinnholdet i melka varierer fra gang til gang, og man ikke har mulighet til å standardisere melka for å sikre en jevn VFFO.

Som nevnt tidligere hadde det også vært hensiktsmessig og standardisert sporeinnholdet i melka for hver gang for å ha fått mer nøyaktighet i resultatene. Planen for denne oppgaven var å kvantifisere sporeinnholdet i ystemelken slik at man hadde en mengde å gå ut fra for hver ysterunde, men på grunn av restriksjoner grunnet Covid-19 ble ikke dette gjennomførbart. Dette hadde gjort det lettere å vurdere resultatene.

I tillegg ble det utført litt ulik praksis i forhold til mikrobiologiske analyser og pH-målinger. Her burde det vært avklart bedre på forhånd antall fortyninger og paralleller for mikrobiologiske analyser og paralleller og prøvested for pH-målinger, slik at man fikk mest mulig standardiserte målinger.

Resultatene fra den sensoriske analysen spriket litt i forhold til resultatet av mengde smørtsyre i ostene. Det optimale hadde vært å utføre den sensoriske analysen med trente dommere, som er vant til å oppdage smørtsyresmak. På grunn av Covid-19 lot ikke dette seg gjennomføre for dette forsøket.

## 6. Konklusjon

Problemstillingen gikk ut på å finne en mengde hemmekultur eller kombinasjon av hemmekultur og salt som gjør at man hemmer smørtsyregjæring tilstrekkelig uten at ostens smak, modning og konsistens endres.

Ulikt sporeinnhold i de ulike leveringene av ystemelken gjorde det vanskelig å konkludere med om hemmekultur har god effekt alene. Analyse av smørsyremengde viser at ost 3 som var tilsatt kun hemmekultur har det nest høyeste nivået av smørtsyre ved sensorisk analyse.

I ysting 2 ble det ikke påvist sporer av *C. tyrobutyricum* i råmelk analysert med 3-rørsmetoden, men sprekkdannelse oppsto likevel i begge ostene, i tillegg til smørtsyredannelse. Dette kan være en indikasjon på at 3-rørsmetoden er for lite sensitiv, og at esing kan oppstå selv med negative prøvesvar. Likevel var smørtsyremengden i ost 2A med hemmekultur og 2B med 180 gram salt lavere enn mengden i de andre ostene.

Sammenligning av smørtsyreinnhold og sprekkdannelse i ostene viser at det kan forekomme sprekkdannelse selv ved lave verdier av smørtsyre. Ingen av ostene har sprekkdannelse før ved 20/21 dager ut i modningen, og noen først ved uke 5/6. Dette tydeliggjør problemet med ost som eser sent i lagringen.

Resultatene for mengde smørtsyre i modnet ost gav en indikasjon på at å tilsette en kombinasjon av hemmekultur og salt, slik det ble gjort i ost 4A, fører til en hemming av smørtsyregjøring i goudaost. Ost 4A fikk i tillegg nest best poeng under sensorisk analyse, så man kan anta at ostens smak, modning og konsistens ikke ble endret i for stor grad. Mengde smørtsyre i den modnede osten tilsatt kombinasjonen av hemmekultur og salt var likevel over naturlig innhold i goudatype oster.

## 7. Referanser

- Abrahamsen RK, Byre O, Steinsholt K og Strand AH (2006) *Jarlsbergosten: Historie og utvikling* 1. utg. Tun Forlag ISBN 82-529-3056-5
- Angelidis AS (2015) *The Microbiology of Raw Milk* I: Papademas P (red.) *Dairy Microbiology: A practical approach* CRC Press Taylor & Francis Group ISBN 978-1-4822-9867-3
- Ardö Y, McSweeney PLH, Magboul AAA, Upadhyah VK, Fox P (2017) *Biochemistry of Cheese Ripening: Proteolysis Overview* I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Ardö Y og Vogensen FK (2005) *Afslutningsrapport: Hæmning af klostridier i ost og ensilage ved brug av antimikrobielle kulturer med bakterier som forekommer naturligt i danske oste* Mejeribrugets ForskningsFond Rapport nr. 2005-72
- Bergslien H (2015) *Sansene* I: Sensorisk studiegruppe *Sensorikk: måling med menneskelige sanser* 3. utg. Kopinor pensum ISBN 9788213030762
- Chamba JF og Irlinger F (2004) *Secondary and Adjunct Cultures* I: Fox P, McSweeney P, Cogan T og Guinee T (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* Volume 1 3. utg. Academic Press ISBN 978-00-805-009-35
- Codex Alimentarius Standard: 266-1966 *Standard for Gouda*  
[[http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B266-1966%252FCXS\\_266e.pdf](http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B266-1966%252FCXS_266e.pdf)] [Lastet ned 150320]
- Coultate T (2016) *Food – The Chemistry of Its Components* 6. utgave The Royal Society of London ISBN 978-1-84973-880-4
- D`Incecco P, Pellegrino L, Hogenboom JA, Cocconcelli PS og Bassi D (2017) *The late blowing defect of hard cheeses: Behavior of cells and spores of Clostridium tyrobutyricum throughout the cheese manufacturing and ripening* I: Singh RK (red.) *LWT Food Science and Technology* Volume 87
- Davidson PM, Cekmer HB, Monu EA og Techathuvanan C (2015) *The use of natural antimicrobials in food: An overview* I: Taylor TM (red.) *Handbook of Natural*

- Antimicrobials for Food Safety and Quality* Woodhead Publishing ISBN 978-1-78242-034-7
- Desmazeaud M (1996) *Growth Inhibitors of Lactic Acid Bacteria* I: Cogan TM og Accolas J-P (red.) *Dairy Starter Cultures* VCH Publishers Inc. ISBN 1-56081-628-7
- Droiun P og Lafrenière C (2012) *Clostridial Spores in Animal Feeds and Milk* I: Chaiyabutr N (red.) *Milk Production: An Up-to-date overview of animal nutrition, management and health* Intech ISBN 978-953-51-5322-1
- Düsterhöft EM, Engels W, Huppertz T (2017) *Gouda and Related Cheeses* I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Ekelund K, Ogura H, Ollermark I, Monthán A, Christiansson A, Svensson B (2003) *Filtrering av mjölk för analys av Bacillus cereus-sporer og Clostridium tyrobutyricum-sporer* Svensk Mjölks Forskningsrapport nr. 7024-1
- Fellows PJ (2009) *Food Processing Technology – Principles and Practice* 3. utg. Woodhead Publishing Limited ISBN 978-1-84569-216-2
- Fox PF og McSweeney PLH (2017) *Cheese: An Overview* I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Fox PF, Guinee TP, Cogan TM og McSweeney PLH (2017) *Fundamentals of Cheese Science* 2. utg. Springer ISBN 978-1-4899-7681
- Fuente MA og Juárez M (2010) *Fatty Acids* I: Nollet LML og Fidel T (red.) *Handbook of Dairy Food Analysis* CRC-Press ISBN: 978-1-4200-4631-1
- Guinee TP, Fox PF (2017) *Salt in Cheese, Chemical and Biological Aspects* I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Granum PE (2015) *Matforgiftning: smitte gjennom mat og vann* 4. utg. Cappelen Damm ISBN 978-82-02-47788-2
- Hammami R, Fliss I og Corsetti A (2019) *Editorial: Application of Protective Cultures and Bacteriocins for Food Biopreservation* [frontiersin.org] [<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01561/full>] [Lastet ned 250420]
- Haug I og Rønningen O (2010) *Større besetninger og AMS byr på utfordringer når det gjelder melke kvaliteten* Buskap 3/2010 s. 62-64

- Ivy RA og Wiedmann M (2014) *Clostridium tyrobutyricum* I: Batt CA og Tortorello ML (red.) *Encyclopedia of Food Microbiology* 2. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-0-12-384733-1
- Jaros D, Rohm H (2017) *Rennets: Applied Aspects* I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Johansen A, Stokstad M, Randby ÅT, Lindbäck T, Njaastad KM (2013) *Sporedannende bakterier* Bioforsk rapport Vol. 8 Nr. 22/2013
- Klijn N, Nieuwenhof FFJ, Hoolwef JD, van der Waals CB og Weerkamp AH (2015) *Identification of Clostridium tyrobutyricum as the Causative Agent of Late Blowing in Cheese by Species-Specific PCR Amplification* Applied and Environmental microbiology Vol. 62, No. 8
- Kilcawley K (2010) *Determination of Lipolysis* I: Nollet LML og Fidel T (red.) *Handbook of Dairy Food Analysis* CRC-Press ISBN: 978-1-4200-4631-1
- Klee MS (2012) *Detectors* I: Poole C (red.) *Gas Chromatography* 1. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-0-12-385540-4
- Kolakowski P, Podolak R, Kowalska M (2012) *Microbial Profile of Gouda Cheese During Ripening in Two Independent Chambers – a Short Report* Polish Journal of Food and Nutritional Sciences Volume 62 No. 3 s. 179 – 184
- Kraggerud H og Valle E (2015) *Kvalitetskontroll* I: Sensorisk studiegruppe *Sensorikk: måling med menneskelige sanser* 3. utg. Kopinor pensum ISBN 9788213030762
- Lindås A (2011) *Utfordringer innen økologisk produksjon og kvalitet på grovfôr til mjølkeku sett fra en TINE-rådgiver* Bioforsk FOKUS 6(2) s. 113
- Majdik A (2013) *Studies Regarding the Importance of Milk Bactofugation in Obtaining Gouda Cheese with Spices* Surviving Geology & Mining Ecology Management (SGEM) s. 261-264
- Matijasic BB, Rajsp MK, Perko B og Rogelj I (2005) *Inhibition of Clostridium tyrobutyricum in cheese by Lactobacillus gasserii* International Dairy Journal 17 (2007) s. 157-166
- McSweeney PLH (2017) *Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview* I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Neaves P og Williams AP (2010) *Microbiological Surveillance and Controlling in Cheese Manufacture* I: Law BA og Tamime AY (red.) *Technology of Cheesemaking* Blackwell Publishing ISBN: 978-1-405-18298-0

- Nordbø R og Ballhaus M (2018) *Ysting* Fagbokforlaget ISBN 978-82-11-02618-7
- NTNU (2018) *TMAT1007 - Laboratoriekurs i matmikrobiologi, -kjemi, og -teknologi 1. studieår Vår 2018* Laboratoriehefte for matmikrobiologi *Platespredning og resultatpresentasjon* NTNU Studieprogram for matteknologi
- Næringsmiddelhygieneforskriften (2008) FOR-2008-12-22-1623 *Forskrift om næringsmiddelhygiene*
- Pahlow G, Muck RE, Driehuis F, Elferink SJWHO og Spoelstra SF (2003) *Microbiology of Ensiling I: Buxton DR, Muck RE og Harrison JH (red.) Silage Science and Technology* American Society of Agronomy ISBN 978-0-8911-81514
- Panthi RR, Jordan KN, Kelly AL, Sheehan JJ (2017) *Selection and Treatment of Milk for Cheesemaking I: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- Qvenill S (2011) *Småskala osteproduksjon – Analyse av suksessfaktorer* Masteroppgave Institutt for økonomi og ressursforvaltning Universitetet for miljø- og biovitenskap
- Rosenberg M (1995) *Current and future applications for membrane processes in dairy industry I: Finglad P (red.) Trends in Food Science & Technology* Volume 6 s. 12-19
- Royal A-ware (2020) *Gouda Foil-Ripened Cheese*  
[<https://www.royal-aware.com/en/product-range/cheese/products>] [Lastet ned 280320]
- Ruusunen M, Surakka A, Korkeala H og Lindström M (2012) *Clostridium tyrobutyricum Strains Show Wide Variation in Growth at Different NaCl, pH, and Temperature Conditions* Journal of Food Protection, Vol. 75, No. 10 International Association of Food Protection
- Said LB, Gaudreau H, Daillare L, Tessier M og Fliss I (2019) *Bioprotective Culture: A New Generation of Food Additives for the Preservation of Food Quality and Safety* Industrial Biotechnology Volume 15 No. 3
- Schneider N og Pischetsrieder M (2013) *Lysozyme allergen in cheese and potential impact on health I: Preedy VR, Watson RR, Patel VB (red.) Handbook of cheese in health: production, nutrition and medical sciences* Wageningen Academic Publishers ISBN 978-90-8686-211-5
- Silva CCG, Silva SPM og Ribeiro SC (2018) *Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation* Frontiers in microbiology Volume 9 Artikkel 594

- SNT (2003) *Kartlegging av alternative barrierer for produksjon av melkebaserte produkter av ikke-varmebehandlet melk: en meieriteknologisk utredning* Statens Næringsmiddeltilsyn SNT Arbeidsrapport 2 ISSN 1503-2345
- Stensland GA (2019) *Lysozym* I Store medisinske leksikon [sml.snl.no] [<https://sml.snl.no/lysozym>] [Lastet ned 010420]
- Subramanian A og Rodriguez-Saona L (2010) *Chemical and Instrumental Approaches to Cheese Analysis I*: Taylor SL (red.) *Advances in Food and Nutrition Research* Vol. 59 Academic Press ISBN: 9780123809421
- Sutton S (2011) *Measurement of Microbial Cells by Optical Density*, Winter 2011, Journal of Validation Technology
- Tetra Pak (2015) *Dairy Processing Handbook* Kapittel 14 [<https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/chapter/cheese>] [Lastet ned 060520]
- Thierry A, Collins YFC, Mukdsi MCA, McSweeney PLH, Wilkinson MG, Spinnler HE (2017) *Lipolysis and Metabolism of Fatty Acids in Cheese I*: McSweeney PLH, Fox PF, Cotter PD og Everett DW (red.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4. utg. Elsevier Ltd. ISBN 978-1-4899-7681
- TINE SA (1988) *Anaerobe sporedannere (clostridier) i leverandørmelk og ystemelk, 9-rørs-prøve med RCM* Meierienes analysebok MA 556
- TINE SA (2018) *Sensorisk analyse av kvalitet ved hjelp av poengbedømmelse* TINE Styringsdokument MA 440
- TINE SA (u.å.) *Anaerobe sporer i leverandørmelk og lassprøve fra gårdsbilen. Forenklet MPN-metode* TINE Styringsdokument MA 560
- Tölzer Kasladen (2020) *Gouda alt* [<https://www.toelzer-kasladen.de/kaese/schnittkaese/gouda-alt>] [Lastet ned 030420]
- Tønjum T (2020a) *Clostridium* I Store medisinske leksikon [sml.snl.no] [<https://sml.snl.no/Clostridium>] [Lastet ned 220220]
- Tønjum T (2020b) *Sporer* I Store medisinske leksikon [sml.snl.no] [<https://sml.snl.no/sporer>] [Lastet ned 180220]
- Young NWG og O'Sullivan GR (2011) *The influence of ingredients on product stability and shelf life I*: Kilcast D og Subramaniam P (red.) *Food and Beverage Stability and Shelf Life* Woodhead Publishing ISBN 978-1-84569-701-3
- Wiik J (2018) *Hvordan unngå sporer i grovføret* [okologisklandbruk.nlr.no] [<https://okologisklandbruk.nlr.no/fagartikler/hvordan-unngaa-sporer-i-grovforet/>] [Lastet ned 180220]

*Økologiforskriften (2017) FOR-2017-03-18-355 Forskrift om økologisk produksjon og merking av økologiske landbruksprodukter, akvakulturprodukter, næringsmidler og fôr*



## Vedlegg 1 - Ystejournaler

Ysterunde 1		
Prosess	DAG/DATO	
	Onsdag 29.01.20 (1A)	Torsdag 30.01.20 (1B)
Fullt kar (kl.)	09:50	09:00
Liter ystemelk	200 liter	200 liter (2,9 °C, pH 6,84 på tank fra dagen før)
Fett% ystemelk	Får verdi fra TINE	Får verdi fra TINE
pH ystemelk	6,58	6,75
Mengde kalsiumklorid	20 g	20 g
Formodningstemperatur	30 °C	30 °C
Formodningstid (start-slutt)	10:20 – 11:05	09:45 – 10:40
Syrekultur (type)	CHN19	CHN19
Syrekultur (pH)	4,6	4,58
Syrekultur (podetidspunkt)	11:50 (kultur til neste dag)	-
Hemmekultur	-	-
pH etter formodning	6,38	6,57
Løpningstemperatur	31,0 °C	20 °C
Mengde løpe tilsatt	60 ml	60 ml
Løpningstid (start-slutt)	11:11 – 12:05	10:40 – 12:06
Koagelfasthet/skjæring (kl.)	12:05/Nokså fast, kunne vært litt fastere	12:06/ Litt svakt koagel, brukte lang tid
Størrelse ostekorn	1 x 1 cm	1 x 1 cm
Forrøring (kl.)	12:12 (10 min)	12:15 (10 min)
1.myseavtapp (kl.)	12:30 (pH: 6,32)	12:30 (pH: 6,27)
Mengde myse tappet av	90 L	90 L
Mellomrøring (start-stopp)	12:30 – 12:40	12:25 – 12:35
Oppvarming (start-stopp)	12:42 – 12:53	12:37 – 12:45
Mengde pasteurisert vann tilsatt	26 L	26 L
Temperatur i pasteurisert vann	57 °C	55 °C
Temp. i karet etter oppvarming	38 °C	37,8 °C
Etterrøring (start-stopp)	12:55 – 13:45(50 min)	12:45 – 13:25 (50 min)
Tilsatt salt (type/mengde)	-	360 g (tilsatt kl. 13:00, 15L myse tappet av før salttilsetning)
Forpressing (trykk og tid)	2,0 bar, 20 min. (pH: 5,98)	2 bar, 20 min. (pH: 6,03)
2.myseavtapp (kl.)	14:05 (pH: 5,8)	13:47 (pH 6,03)
1.Etterpressing i osteformer (trykk og tid)	2,5 bar, kl. 14:35 (20min)	2,5 bar, kl. 14:00 (20 min)
2. Etterpressing i osteformer (trykk/tid)	3 bar, kl. 14:55 (20min)	3 bar, kl. 14:23 (20min)
Lakesalting, temperatur	7,4 °C	10,4 °C
Lakesalting, tid	15:30	15:00
Saltkonsentrasjon	20 ° BE	22 ° BE
pH i saltlake	5,49	5,57
pH i ost etter 24t	A: 5,13 B: 5,11	4,95

Ysterunde 2		
Prosess	Dag/dato	
	Onsdag 26.02.20 (2A)	Torsdag 27.02.20 (2B)
Pasteurisering (tid-temp)		4,2 °C i pasteurisert tank
Fullt kar (kl.)	10:50	9:35
Liter ystemelk	190 liter	195 liter
pH ystemelk	6,7	6,8
Mengde kalsiumklorid	30 gram	30 gram
Formodningstemperatur	30 °C	31.3 °C
Formodningstid (start-slutt)	11:20 → 12:00	9:55 → 10:25
Syrekultur (type)	CHN19	CHN19
Syrekultur (pH)	4,4	4,56
Syrekultur (podetidspunkt)	9:36 (25.februar)	11:30 (26.februar)
Hemmekultur, type og mengde	Holdbac, 3,7 gram. 9:35	-
pH etter formodning	6,45	6,52
Løpningstemperatur	31,1 °C	31,2 °C
Mengde løpe tilsatt	60 ml	60 ml
Løpningstid (start-slutt)	12:05 → 12:38	10:30 → 11:15
Koagelfasthet/skjæring (kl.)	12:38	11:15
pH ved koagelfasthet	6,42; 28,4 °C	6,4; 30,2°C
Størrelse ostekorn	1 x 1 cm	1 x 1 cm
Forrøring (kl.)	12:50 (10 minutt)	11:25 (10 minutt)
1.myseavtapp (kl. og pH)	13:00; pH 6,27	11:40; pH 6,44
Mengde myse tappet av	90 liter	90 liter
Mellomrøring (start-stopp)	13:05 → 13:15	11:45 → 11:55
Oppvarming (start-stopp)	13:15 → 13:25	11:55 → 12:05
Mengde past. vann tilsatt	26 liter	26 liter
Temperatur i pasteurisert vann	58 °C	58 °C
Temp. i karet etter oppvarming	39 °C	-
Etterrøring (start-stopp)	13:15 → 13:55	12:05 → 12:50
Tilsatt salt (type/mengde)	-	180 gram; 30 l myseavtapp
Forpressing (trykk og tid)	2 bar, 20 min. (14:10→14:30)	2 bar, 20 min. (12:55→13:15)
2.myseavtapp (kl. og pH)	14:30; pH 6,05	13:15; pH 6,08
1.Etterpressing i osteformer (trykk og tid)	2,5 bar, 20 min. (14:55→15:15)	2,5 bar, 20 min. (13:25→13:45)
2. Etterpressing i osteformer (trykk/tid)	3,5 bar, 20 min. (15:15→15:35)	3,5 bar, 20 min. (13:45→14:10)
Lakesalting, temperatur	9,6 °C	
Lakesalting, tid	22 timer (til 27.2 kl. 13:50)	22 timer (til 28.2 kl. 12:30)
Saltkonsentrasjon	20 °Be	19 °Be
pH i saltlake	?	5,4
pH i ost etter 24t	5,26	5,09
Vekt ost A	10,9 kg → 11,1 kg ???	14,2 kg → 12,1 kg
Vekt ost B	10,7 kg → 11,1 kg ???	13,9 kg → 11,5 kg

<b>Ysterunde 3</b>	
<b>Prosess</b>	<b>Dag/dato</b>
	<b>Tirsdag 03.03.20</b>
Fullt kar (kl.)	9:52
Liter ystemelk	190 liter
Fett% ystemelk	Ca 4 %
pH ystemelk	6,7
Mengde kalsiumklorid	30 gram
Formodningstemperatur	30 °C
Formodningstid (start-slutt)	10:20 → 10:50
Syrekultur (type)	CHN19
Syrekultur (pH)	
Syrekultur (podetidspunkt)	11:30 (2.mars)
Hemmekultur, type og mengde	Holdbac, 3,63 gram
pH etter formodning	6,4
Løpningstemperatur	30,4 °C
Mengde løpe tilsatt	60 ml
Løpningstid (start-slutt)	40 minutt
Koagelfasthet/skjæring (kl.)	11:40
Størrelse ostekorn	1 x 1 cm
Forrøring (kl.)	11:52 → 12:02
1.myseavtapp (kl. og pH)	12:03; pH 6,03
Mengde myse tappet av	90 liter
Mellomrøring (start-stopp)	12:05 → 12:15
Oppvarming (start-stopp)	12:15 → 12:30
Mengde past. vann tilsatt	26 liter
Temperatur i pasteurisert vann	60 °C
Temp. i karet etter oppvarming	39 °C
Etterrøring (start-stopp)	12:32 → 13:12
Tilsatt salt (type/mengde)	-
Forpressing (trykk og tid)	2 bar. 13:20 → 13:40 (20 minutt)
2.myseavtapp (kl. og pH)	13:40
1.Etterpressing i osteformer (trykk og tid)	2,5 bar. 13:55 → 14:15 (20 minutt)
2. Etterpressing i osteformer (trykk/tid)	3,5 bar. 14:15 → 14:35 (20 minutt)
Lakesalting, temperatur	8,7 °C
Lakesalting, tid	22 timer
Saltkonsentrasjon	20 °Be
pH i saltlake	-
pH i ost etter 24t	5,1
Vekt ost A	11,8 kg
Vekt ost B	11,6 kg

Ysterunde 4		
Prosess	Dag/dato	
	Torsdag 12.03.20 (4A)	Fredag 13.03.20 (4B)
Inokulering <i>C. tyrobutyricum</i>	10 ml i past. tank	
Fullt kar (kl.)	11:37	9:15
Liter ystemelk	200 liter	195 liter
pH ystemelk	6,66	6,65
Mengde kalsiumklorid	30 gram	30 gram
Formodningstemperatur	30 °C	30 °C
Formodningstid (start-slutt)	12:00 -	9:32 -
Syrekultur (type)	CHN19	CHN19
Syrekultur (pH)	4,5	4,49
Syrekultur (podetidspunkt)	12:00 (11.3)	
Hemmekultur, type og mengde	Holdbac, 3,67 gram	-
pH etter formodning	6,5	6,45
Løpningstemperatur	30 °C	30,8 °C
Mengde løpe tilsatt	60 ml	60 ml
Løpningstid (start-slutt)	12:13 → 13:00	10:05 → 10:50
Koagelfasthet/skjæring (kl.)	13:00	10:55
pH ved koagelfasthet	6,42	
Størrelse ostekorn	1 x 1 cm	1 x 1 cm
Forrøring (kl.)	13:15	11:00
1.myseavtapp (kl. og pH)	13:30; pH 6,41	11:15 pH 6,36
Mengde myse tappet av	90 liter	90 liter
Mellomrøring (start-stopp)	13:30 → 13:48	11:22
Oppvarming (start-stopp)	13:37 → 13:47	11:22
Mengde past. vann tilsatt	26 liter	26 liter
Temperatur i pasteurisert vann	56 °C	56,2 °C
Temp. i karet etter oppvarming	39 °C	40 °C
Etterrøring (start-stopp)	13:48 -	11:30 -
Tilsatt salt (type/mengde)	180 gram	-
Forpressing (trykk og tid)	2 bar, 20 min. 14:45→15:05	2 bar, 20 min. 12:25→12:43
2.myseavtapp (kl. og pH)	15:05; pH 6,13	12:43; pH 6,08
1.Etterpressing i osteformer (trykk og tid)	2,5 bar, 20 min. 15:20→15:40	2,5 bar, 20 min. 12:55→13:15
2. Etterpressing i osteformer (trykk/tid)	3,5 bar, 20 min. 15:40→16:00	3,5 bar, 20 min. 13:15→13:55
Lakesalting, temperatur	10,4 °C	
Lakesalting, tid	22 timer (opp 14.00 13/3)	22 timer
Saltkonsentrasjon	22 °Be	20 °Be
pH i saltlake	5,6	5,66
pH i ost etter 24t	5,06	5,10
Vekt ost A	11,9	12,3 → 12,3
Vekt ost B	12,4	12,0 → 12,0

## Vedlegg 2 - Datablad for syrekultur

**CHN-19****Product Information**

Version: 5 PI EU EN 03-16-2018

**Description**

Mesophilic aromatic culture, type LD. The culture produces flavor and CO<sub>2</sub>. This range provides cultures with fast acidification properties at a low inoculation rate.

**Culture composition:**

Lactococcus lactis subsp. cremoris  
 Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis  
 Lactococcus lactis subsp. lactis  
 Leuconostoc

<b>Material No:</b>	713582	<b>Color:</b>	Off-white to slightly reddish or brown
<b>Size</b>	30X50 U	<b>Format:</b>	FD-DVS
<b>Type</b>	Pouch(es) in box	<b>Form:</b>	Granulate

**Storage and handling**

&lt; -18 °C / &lt; 0 °F

**Shelf life**

At least 24 months from date of manufacture when stored according to recommendations.  
 At +5°C (41°F) the shelf life is at least 6 weeks.

**Application****Usage**

The culture is primarily used in the manufacturing of Continental semi-hard cheese varieties with eyes, e.g. Gouda, Edam, Leerdam and Havarti.

**Suggested dosage**

As a principal rule 1000 U of freeze-dried DVS cultures will correspond to 100 l of active bulk starter. However, specific usage rates should be determined experimentally before a new application.

**Recommended inoculation rate**

<b>Amount of milk to be inoculated</b>	500 U 130 gal	2,000 U 520 gal	5,000 U 1,300 gal	10,000 U 2,600 gal
<b>Amount of DVS culture</b>	50 U	200 U	500 U	1,000 U

Designed for optimal performance, the composition and recommended inoculation rate for this culture were carefully developed by use of unique microbial strains, advanced biotechnological principles and more than 140 years of accumulated experience from the dairy industry.

Warning: Applying lower than recommended inoculation rate may cause undesired variation in product quality, lower production efficiency, product yield losses, potential fermentation failures and an increased risk of bacteriophage attacks.



## CHN-19

Product Information  
Version: 5 PI EU EN 03-16-2018

### Directions for Use

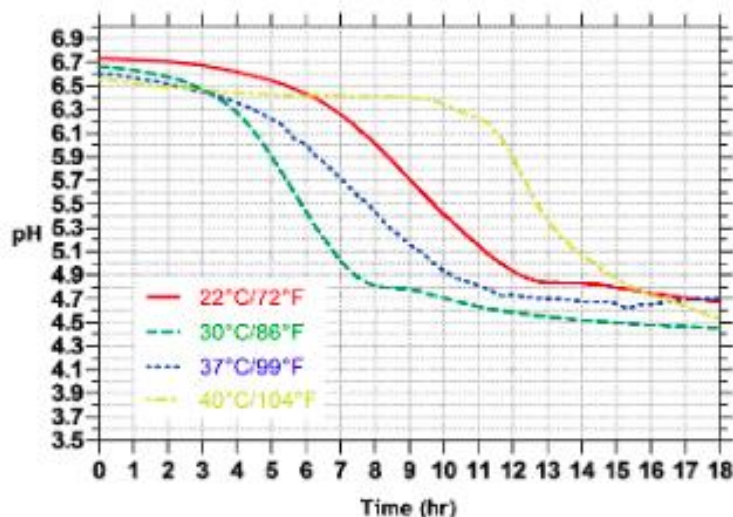
Remove cultures from the freezer just prior to use. Do not thaw. Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly. The recommended incubation temperature is dependent on the application in which the culture is used. For more information on specific applications see our technical brochures and suggested recipes.

### Range

Cultures in this series include CHN-11 and CHN-19 (frozen and freeze-dried) and B-11 and CHN-120 (frozen).

### Technical Data

#### Acidification curve



Fermentation conditions:  
Lab milk 9.5 % T.S.: 100°C/30 min  
Inoculation: 500U/5000L

#### Other Information

##### Sugars and organic acids:

The residual content of sugars and organic acids (mg/g) in the cheese whey are listed below. Samples have been inoculated at the temperature profile and analyzed on HPLC (High Pressure Liquid Chromatography).

- Citrate: 1.7 mg/g
- Lactose: 34.2 mg/g
- Glucose: 0.0 mg/g
- Galactose: 4.1 mg/g
- Lactate: 8.6 mg/g
- Acetic acid: 0.0 mg/g

#### Analytical Methods

References and analytical methods are available upon request.

[www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)

Page: 2 (4)

The information contained herein is to the best of our knowledge and belief, true and accurate and the product(s) mentioned herein do(es) not infringe the intellectual property rights of any third party. The product(s) may be covered by pending or issued patents, registered or unregistered trademarks, or similar intellectual property rights. All rights reserved.



## CHN-19

Product Information  
Version: 5 PI EU EN 03-16-2018

### Dietary information

Kosher:	Kosher Dairy Excl. Passover
Halal:	Certified
VLOG:	Conform

### Legislation

Chr. Hansen's cultures comply with the general requirements on food safety laid down in Regulation 178/2002/EC. Lactic acid bacteria are generally recognized as safe and can be used in food, however, for specific applications we recommend to consult national legislation.

The product is intended for use in food.

### Food Safety

No guarantee of food safety is implied or inferred should this product be used in applications other than those stated in the Usage section. Should you wish to use this product in another application, please contact your Chr. Hansen representative for assistance.

### Labeling

Suggested labeling "lactic acid culture" or "starter culture", however, as legislation may vary, please consult national legislation.

### Trademarks

Product names, names of concepts, logos, brands and other trademarks referred to in this document, whether or not appearing in large print, bold or with the ® or TM symbol are the property of Chr. Hansen A/S or an affiliate thereof or used under license. Trademarks appearing in this document may not be registered in your country, even if they are marked with an ®.

### Technical support

Chr. Hansen's Application and Product Development Laboratories and personnel are available if you need further information.



## CHN-19

Product information

Version: 5 PI EU EN 03-16-2018

### GMO Information

In accordance with the legislation in the European Union\* CHN-19 does not contain GMOs and does not contain GM labeled raw materials\*\*. In accordance with European legislation on labeling of final food products\*\* we can inform that the use of CHN-19 does not trigger a GM labeling of the final food product. Chr. Hansen's position on GMO can be found on: [www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)

\* Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms with later amendments, and repealing Council Directive 90/220/EEC.

\*\* Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed with later amendments.

Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labeling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms amending Directive 2001/18/EC, and with later amendments.

### Allergen Information

List of common allergens in accordance with the US Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004 (FALCPA) and EU Regulation 1169/2011/EC with later amendments	Present as an ingredient in the product
Cereals containing gluten* and products thereof	No
Crustaceans and products thereof	No
Eggs and products thereof	No
Fish and products thereof	No
Peanuts and products thereof	No
Soybeans and products thereof	No
Milk and products thereof (including lactose)	Yes
Nuts* and products thereof	No
<b>List of allergens in accordance with EU Regulation 1169/2011/EC only</b>	
Celery and products thereof	No
Mustard and products thereof	No
Sesame seeds and products thereof	No
Lupine and products thereof	No
Mollusks and products thereof	No
Sulphur dioxide and sulphites (added) at concentrations of more than 10 mg/kg or 10 mg/litre expressed as SO <sub>2</sub>	No

\* Please consult the EU Regulation 1169/2011 Annex II for a legal definition of common allergens, see European Union law at: [www.eur-lex.europa.eu](http://www.eur-lex.europa.eu)



## Vedlegg 3 - Datablad for hemmekultur

CULTURES DIVISION  
 food.protection@danisco.com  
 www.danisco.com

Page 1 / 2

**DANISCO**

First you add knowledge...

**PRODUCT DESCRIPTION - PD 206077-12.0EN**

**Material no. 13541063**

**HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU**

HOLDBAC™ Protective Cultures

**Description**

Freeze-dried starter culture  
 Licenser: Valio, Finland  
 Thermophilic single strain culture

**Usage levels**

Product	Dose
semi-hard cheese	5 - 20 DCU / 100 l of vat milk
Emmental	5 - 20 DCU / 100 l of vat milk

The quantities of inoculation indicated result from experiences. They have to be adjusted to bacterial content and technology. We cannot guarantee the inhibiting effect of the culture by all means. Supplement cultures may be required depending on technology, fat content and product properties desired.

We do not accept any liability in case of undue application.

**Directions for use**

Disinfect opening area with ethanol (approx. 70 %) before opening package. Cut open and add culture to process milk under aseptic conditions.

**Composition**

Lactobacillus rhamnosus

**Properties**

Homofermentative protective culture with very slow acidification. HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU forms lactic acid of the L(+) type and decomposes small quantities of citrate to diacetyl and acetoin. It is very resistant to salt.

As proved, this culture inhibits growth and activity of undesired microorganisms in a biological way (depending on strain and species), e.g. leuconostoc, heterofermentative lactobacilli and enterococci.

**Microbiological specifications**

Microbiological quality control - standard values and methods [UM-]

Examination of culture:

Cell count  $\geq 2.0E+10$  / DCU [UM-009]

non-lactic acid bacteria	< 100 / g [UM-030]
enterobacteriaceae	< 1 / g [UM-031]
yeasts and moulds	< 10 / g [UM-017]
enterococci	< 10 / g [UM-033]
Staphylococcus aureus	< 1 / g [UM-034]
clostridia spores	< 10 / g [UM-037]
Bacillus cereus*	< 10 / g [UM-041]
salmonellae*	neg. / 25 g [UM-038]
listeria*	neg. / 25 g [UM-039]

\* not necessarily examined for each lot, but ensured by HACCP system as well as by plant and personnel hygiene.

**Storage**

8 months from date of production at  $\leq -18$  °C

**Packaging**

PE, PET, Al laminated foil

**Purity and legal status**

HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU meets the specification laid down by the EU legislation.

Label food regulations should always be consulted concerning the status of this product, as legislation regarding its use in food may vary from country to country.

**Safety and handling**

MSDS is available on request.

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.



First you add knowledge ...

**PRODUCT DESCRIPTION - PD 206077-12.0EN**

**Material no. 13541063**

**HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU**

HOLDBAC™ Protective Cultures

**Kosher status**

Dairy Kosher

**Halal status**

certified by Islamic Food Council of Europe

**GMO status**

HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU does not consist of, nor contains, nor is produced from genetically modified organisms according to the definitions of Regulation (EC) 1829/2003 and Regulation (EC) 1830/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003.

**Allergens**

Below table indicates the presence of the following allergens and products thereof:

Yes	No	Allergens	Description of components
	X	wheat	
	X	other cereals containing gluten	
	X	crustacean shellfish	
	X	eggs	
	X	fish	
	X	peanuts	
	X	soybeans	
X		milk (including lactose)	used as fermentation nutrient*
	X	nuts	
	X	celery	
	X	mustard	
	X	sesame seeds	
	X	sulphur dioxide and sulphites (> 10 mg/kg)	
	X	lupin	
	X	molluscs	

\* used as fermentation nutrient. Danisco has determined that fermentation nutrients are outside the scope of US and EU food allergen labelling requirements. Local regulation has always to be consulted as allergen labelling requirements may vary from country to country.

**Additional information**

The values indicated in this document correspond to results from standardized laboratory tests. They should be considered as guidelines. In practice, other values are expected depending on the type of product and technology. Due to advances in technology and continuous product improvement it may be necessary to change standard values in the future.

## Vedlegg 4 – Datablad for løpe



**PRODUKTSPECIFIKATION**  
**Ostløpe 75/25, IMCU 180**  
**(1:15000 SU)**  
**(Standard)**

**För användning i livsmedel.****Beskrivning**

Vid ostproduksjon er mjølkens koagulering en grunnleggjande reaksjon. Koagulering erhålls genom syring og tillsats av ostløpe. Ostløpe er per definisjon ett ekstrakt frå den fjærde magen hos idisslare innehållande ett eller flera enzymer med mer eller mindre spesifikk førmåga att koagulera mjølk. Spesielt enzymet Chymosin men åven enzymet Bovint Pepsin har høg spesifikk førmåga att bryta ned kappa-kasein så att ett koagel bildas. Kemikalias ostløpe innehåller blandningar av Chymosin (EC 3.4.23.4) og Bovint Pepsin (EC 3.4.23.1). Såvål enzymsammansætningene som styrken (enzymaktiviteten) er standardiserade. Enzymernas allmånne proteolys påverkar åven utvecklingen av smak, arom og tekstur under ostens lagring (mogning). Kemikalias standardiserade flytande ostløpepreparat framstålles gjennom vatteneksrasjon av løpmagar frå kalv og/eller større nøtboskap.

**Sammansætning**

Enzym styrka, IMCU	180±10	IDF standard 157A:1997
Enzym styrka, modifiserad Soxhlet	≥1:14500	IDF standard 157A:1997
Chymosinhalt (%)	75±3	IDF standard 110B:1997
Bovin pepsinhalt (%)	25±3	IDF standard 110B:1997

**Tekniske data**

Allergener	Innehåller inga substanser upptagna i EU:s offisielle tidning, L308/18 (25.11.2003) bilaga IIIa, øver kjnda allergener.
GMO	Produkten er ikke mårkningspliktig enligt EU:s GMO-førordninger 1829/2003 og 1830/2003.
Tungmetaller	As <3 mg/kg, Pb <5 mg/kg, Hg <0,5 mg/kg, Cd <0,5 mg/kg.
BSE	Råvara endast frå lårder tilhørande GBR nivå 1, 2 og 3. Råvara frå lårder tilhørande GBR nivå 3 er gjennom analys fri frå BSE.
Løsningsmedel	Vatten.
Konserveringsmedel	Natriumklorid, ca 17,3-19,3 %. Natriumbensoat (E211), ≤0,5 %.
pH	5,65-5,95
Densitet ved 20°C	1,135-1,145 kg/liter.
Doft	Svag doft av kumminolja.
Utseende	Svagt brunfårgad, lårfflytande våtska.

**Kvalitets kontroll**

Salttolerante bakterier	≤100 cfu/ml	Kemikalia 4.06.350
Jåst og møygel	≤10 cfu/ml	Kemikalia 4.06.356
Koliforma bakterier	≤1 cfu/ml	Kemikalia 4.06.345
Smørsyrabildande klostridier	≤1 cfu/ml	Kemikalia 4.06.346
Salmonella**	Neg i 25 g	Kemikalia 4.06.347
Listeria**	Neg i 25 g	Kemikalia 4.06.354

\*\*Analyseras som stickprov med regelbunden frekvens.

**Transport**

Transport av produktene kan ske utan kyltransport øavsett omgivingstemperaturen då den totale leveranstiden ej øverstiger 72 timmar. Når omgivingstemperaturen under någon del av transporten misstånks kunna øverstige 25°C og den totale transporttiden øverstiger 72 timmar fordras kyltransport.

**Førvaring og hållbarhet**

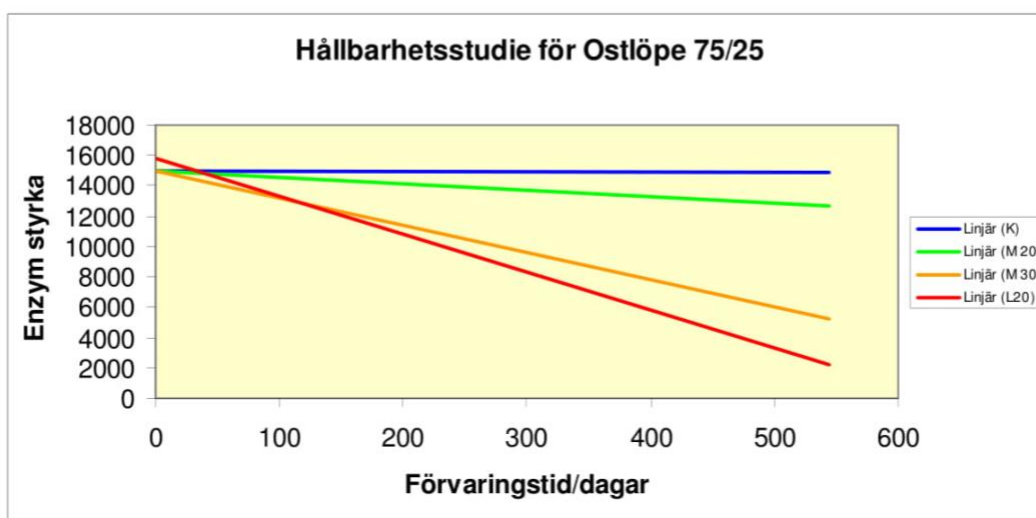
Øppnad førpackning minst till båst førre datum (12 månader frå fyllningsdatum) ved førvaring +2° till +8°C, mårkt. Førvaring i rumstemperatur i upp till 1 månad medfør endast en marginell minskning av styrken og medfør ikke någon försåmring av den mikrobiologiske statusen.

### Förpackning

Förpackningsmaterialet uppfyller de övergripande kraven enligt Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1935/2004 och de mer specifika kraven i Kommissionens förordning (EG) nr 10/2011 för plastmaterial som kommer i kontakt med livsmedel.

### Beställningsdata

Artikel nr	917515-0001	917515-0005	917515-0020	917515-0028
Förpacknings storlek	1 liter plast flaska	5 liter plast dunk	20 kg bag in box	28 kg plast dunk
Artikel nr	917515-0228	917515-0560	917515-1000	917515-1140
Förpacknings storlek	228 kg plast fat	560 kg retur plast container	1000 kg plast container	1140 kg plast container



- K - - kylförvaring 2-8°C, mörkt.
- M20 - - förvaring vid 20°C, mörkt.
- M30 - - förvaring vid 30°C, mörkt.
- L20 - - förvaring vid rumstemperatur, ljusst.

### Produktionsanläggning

Godkänd enligt artikel 4 i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 853/2004.

### Ursprung

Löpmagar används med ursprung från Nya Zeeland, Australien, Sverige och övriga EU, Norge, Canada, Brasilien samt Uruguay. Ursprunget kan variera mellan olika tillverkningsbatcher. Godkända länder och anläggningar för import regleras av EU och Statens Livsmedelsverk, Uppsala.

### Företagsuppgifter

Kemikalia AB, Lilla Västergatan 1, 274 32 Skurup.  
Tel: +46 411 497 50, fax: +46 411 497 60, e-mail: [info@kemikalia.se](mailto:info@kemikalia.se), [www.kemikalia.se](http://www.kemikalia.se)



## Vedlegg 5 - Mikrobiologiske analyser

**Tabell 1:** Oversikt over fortynninger benyttet i mikrobiologiske analyser av råmelk, ystemelk og myse

Produksjon:	Prøve:	Enterobacteriaceae:	Totalkim:
Ysting 1a – 29. januar	Råmelk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Pasteurisert melk	2 x 10 <sup>-1</sup>	2 x 10 <sup>-1</sup>
	Myse	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	-
Ysting 1b – 30. januar	Råmelk	Samme som for 29.1.	Samme som for 29.1.
	Pasteurisert melk	2 x 10 <sup>-1</sup>	2 x 10 <sup>-1</sup>
	Myse	-	-
Ysting 2a – 26. februar	Råmelk	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>
	Pasteurisert melk	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>
	Myse	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	-
Ysting 2b – 27. februar	Råmelk	Samme som for 26.2.	Samme som for 26.2.
	Pasteurisert melk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Myse	2 x (10 <sup>0</sup> , 10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	-
Ysting 3 – 3. mars	Råmelk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Pasteurisert melk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Myse	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	-
Ysting 4a – 12. mars	Råmelk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Pasteurisert melk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Myse	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	-
Ysting 4b – 13. mars	Råmelk	Samme som for 12.3.	Samme som for 12.3.
	Pasteurisert melk	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	2 x (10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> )
	Myse	2 x (10 <sup>0</sup> , 10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-2</sup> )	-

Tabell 2: Kolonitall for mikrobiologiske analyser

Forsøk	RÅMELK						PASTEURISERT MELK					MYSE		
	Kolonitall Entero			Kolonitall Totalkim			Enterobacteriaceae (kolonitall)		Totalkim (kolonitall)			Kolonitall Entero		
	10-1	10-2	10-3	10-1	10-2	10-3	10-1	10-2	10-1	10-2	10-3	10-0	10-1	10-2
<b>1A</b>	0	0	0	6 + 2	2 + 0	0 + 0	0	0	120 + 120	-	-	-	0	0
<b>1B</b>	0	0	0	6 + 2	2 + 0	0 + 0	0	0	120 + 120	-	-	-	0	0
<b>2A</b>	0	0	0	191	23	3	0	0	3	0	0	-	0	0
<b>2B</b>	0	0	0	191	23	3	0	0	2 + 1	1 + 0	3 + 0	5 + 2	4 + 2	0
<b>3</b>	0 + 1	0	-	146	17 + 18	2 + 0	0	0	5	0	1	-	0	0
<b>4A</b>	0	0	0	45 + 37	4 + 6	1 + 0	0	0	2 + 0	3 + 0	0 + 0	-	1	0
<b>4B</b>	0	0	0	45 + 3	4 + 6	1 + 0	0	0	1 + 0	0 + 6	1 + 0	25 + 24	1	0

## UTREGNINGER KIMTALL FOR RÅMELK, PASTEURISERT MELK OG MYSE

### Råmelk – Enterobacteriaceae

$$\frac{0,5}{1,0 \times 10^{-1}} = 5 \text{ kde/ml}$$

### Råmelk – totalkim

28. januar

$$\frac{4 + 1}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2}} = 46 \text{ kde/ml}$$

25. februar

$$\frac{191 + 23 + 3}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2} + 1,0 \times 10^{-3}} = 2,0 \times 10^3$$

3. mars

$$\frac{146 + 17,5 + 1}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2} + 1,0 \times 10^{-3}} = 1,5 \times 10^3$$

12. mars

$$\frac{41 + 5 + 0,5}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2} + 1,0 \times 10^{-3}} = 4,2 \times 10^2$$

### Totalkim pasteurisert melk

1A

$$\frac{120}{1,0 \times 10^{-1}} = 1,2 \times 10^3$$

1B

$$\frac{120}{1,0 \times 10^{-1}} = 1,2 \times 10^3$$

2A

$$\frac{3}{1,0 \times 10^{-1}} = 30 \text{ kde/ml}$$

2B

$$\frac{1,5 + 0,5 + 1,5}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2} + 1,0 \times 10^{-3}} = 32 \text{ kde/ml}$$

3

$$\frac{5 + 1}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-3}} = 59 \text{ kde/ml}$$

4A

$$\frac{1 + 1,5}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2}} = 23 \text{ kde/ml}$$

4B

$$\frac{0,5 + 3 + 0,5}{1,0 \times 10^{-1} + 1,0 \times 10^{-2} + 1,0 \times 10^{-3}} = 36 \text{ kde/ml}$$

**Myse**

2B

$$\frac{3,5 + 3}{1,0 \times 10^{-0} + 1,0 \times 10^{-1}} = 6 \text{ kde/ml}$$

4A

$$\frac{1}{1,0 \times 10^{-1}} = 10 \text{ kde/ml}$$

4B

$$\frac{24,5 + 1}{1,0 \times 10^{-0} + 1,0 \times 10^{-1}} = 23 \text{ kde/ml}$$



*Tabell 3: Resultat for utsåing av C. tyrobutyricum dyrket på RCM-skåler ved poding av ystemelk.*

Dato sådd ut:	Dato avlest:	10 <sub>0</sub>	10 <sub>0</sub>	10 <sub>-1</sub>
12.mars	15.mars	>300	>300	>200

## Vedlegg 6 - Kjemiske analyser:

**RÅDATA, ANALYSE UTFØRT MED FOODSCAN (TINE)**

Tabell 1: Kjemisk resultat ost 1A (kontroll)

Ost 1A					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	31,44	58,02	1,48	23,19	54,19
<b>21 d</b>	32,08	58,77	1,09	23,22	54,59
<b>5 u</b>	31,96	58,59	1,28	23,10	54,54

Tabell 2: Kjemisk resultat ost 1B (tilsatt 360 g salt)

Ost 1B					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	28,35	53,10	2,43	20,66	53,39
<b>21 d</b>	30,43	56,06	1,50	21,53	54,29
<b>5 u</b>	31,32	57,22	1,65	21,76	54,74

Tabell 3: Kjemisk resultat ost 2A (tilsatt 3,7 g hemmekultur)

Ost 2A					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	30,78	57,97	0,86	23,49	53,26
<b>21 d</b>	29,99	56,87	1,81	22,05	52,73
<b>5 u</b>	31,41	58,71	0,97	23,88	53,50

Tabell 4: Kjemisk resultat ost 2B (tilsatt 180 g salt)

Ost 2B					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	29,34	55,72	1,25	22,32	52,66
<b>21 d</b>	29,10	55,89	1,92	21,74	52,07
<b>5 u</b>	29,73	56,74	1,70	22,41	52,39

Tabell 5: Kjemisk resultat ost 3 (tilsatt 3,63 g hemmekultur)

Ost 3					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	29,81	55,40	1,06	21,87	53,81
<b>21 d</b>	30,29	56,46	1,74	21,62	53,64
<b>5 u</b>	20,06	56,15	1,23	21,84	53,54

Tabell 6: Kjemisk resultat ost 4A (tilsatt 3,63 g hemmekultur + 180 gram salt)

Ost 4A					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	31,31	57,94	0,70	23,53	54,03
<b>21 d</b>	31,12	57,80	0,90	23,21	53,84
<b>5 u</b>	30,96	57,98	1,43	22,88	53,40

Tabell 7: Kjemisk resultat ost 4B (kontroll)

Ost 4B					
	Fett (g/100g)	Tørrstoff (g/100g)	Salt (g/100g)	Protein (g/100g)	Fett/ts (g/100g)
<b>24 t</b>	31,33	57,9	0,75	23,38	54,11
<b>21 d</b>	31,15	58,49	1,17	23,33	53,25
<b>5 u</b>	31,8	58,3	0,89	23,46	54,55

## UTREGNING AV VANN I FETTFRI OSTEMASSE, VFFO

Tabell 8: Kjemisk resultat av fett og tørrstoff, utregnet verdi av FFT%, vann%, FFO og VFFO% for alle oster ved 24 timer

24 timer						
	Fett	Tørrstoff	FFT%	Vann%	FFO	VFFO%
1A	31,44	58,02	26,58	41,98	68,56	61,23
1B	28,35	53,10	24,75	46,90	71,65	65,46
2A	30,87	57,97	27,10	42,03	69,13	60,80
2B	29,34	55,72	26,38	44,28	70,66	62,67
3	29,81	55,40	25,59	44,60	70,19	63,54
4A	31,31	57,94	26,63	42,06	68,69	61,23
4B	31,33	57,90	26,57	42,10	68,67	61,31

Tabell 9: Kjemisk resultat av fett og tørrstoff, utregnet verdi av FFT%, vann%, FFO og VFFO% for alle oster ved 20/21 dager

20/21 dager						
	Fett	Tørrstoff	FFT%	Vann%	FFO	VFFO%
1A	32,08	58,77	26,69	41,23	67,92	60,70
1B	30,43	56,06	25,63	43,94	69,57	63,16
2A	29,99	56,87	26,88	43,13	70,01	61,61
2B	29,10	55,89	26,79	44,11	70,90	62,21
3	30,29	56,46	26,17	43,54	69,71	62,46
4A	31,12	57,80	26,68	42,20	68,88	61,27
4B	31,15	58,49	27,34	41,51	68,85	60,29

Tabell 10: Kjemisk resultat av fett og tørrstoff, utregnet verdi av FFT%, vann%, FFO og VFFO% for alle oster ved 5/6 uker

5/6 uker						
	Fett	Tørrstoff	FFT%	Vann%	FFO	VFFO%
1A	31,96	58,59	26,63	41,41	68,04	60,86
1B	31,32	57,22	25,90	42,78	68,68	62,29
2A	31,41	58,71	27,30	41,29	68,59	60,20
2B	29,73	56,74	27,01	43,26	70,27	61,56
3	30,06	56,15	26,09	43,85	69,94	62,70
4A	30,96	57,98	27,02	42,02	69,04	60,86
4B	31,80	58,30	26,50	41,70	68,20	61,14

Formler for utregning av VFFO%:

VFFO% = vann% / FFO (fettfri ost).

FFO = FFT% (fettfritt tørrstoff) + vann%

FFT% = TS (tørrstoff) – F (fett)

Samtlige formler er hentet fra boka «Ysting» av Nordbø og Ballhaus (2018) s. 153.

# ANALYSESERTIFIKAT SMØRSYREINNHOLD

## Analysesertifikat

Side 1 av 3  
Rapportnr.: 028852  
11.05.20

---

Kunde:  
Per-Roger Bringsvor

Oppdragsinformasjon:  
Prosjekt:  
Smørsyreinnhold - Bacheloroppgave NTNU

---

## Analysesertifikat

Side 2 av 3  
 Rapportnr.: 028852  
 11.05.20

Prøve-ID	Beskrivelse	Prøvemerkning	Laget dato	Prøveuttak mikrobiologi	Prøveuttak kjemi
2-20-000005-001		21 dager 29.01.20 Forsøk 1	05.05.20 09:20		
2-20-000005-002		21 dager 30.01.20 Forsøk 2	05.05.20 09:20		
2-20-000005-003		21 dager 26.02.20 2A	05.05.20 09:20		
2-20-000005-004		21 dager 27.02.20 2B	05.05.20 09:20		
2-20-000005-005		21 dager 03.03.20 3A	05.05.20 09:20		
2-20-000005-006		21 dager 12.03.20	05.05.20 09:20		
2-20-000005-007		21 dager 13.03.20	05.05.20 09:20		
2-20-000005-008		Modenost 27.04.20 1A	05.05.20 09:20		
2-20-000005-009		Modenost 27.04.20 1B	05.05.20 09:20		
2-20-000005-010		Modenost 27.04.20 2A	05.05.20 09:20		
2-20-000005-011		Modenost 27.04.20 2B	05.05.20 09:20		
2-20-000005-012		Modenost 27.04.20 3	05.05.20 09:20		
2-20-000005-013		Modenost 27.04.20 4A	05.05.20 09:20		
2-20-000005-014		Modenost 27.04.20 4B	05.05.20 09:20		

Analyse	Method-ID	Enhet	2-20-000005-001	2-20-000005-002	2-20-000005-003	2-20-000005-004
Acetoin		mmol/kg	0,24	0,13	1,75	1,44
Acetoin		‰	0,02	0,01	0,15	0,13
Eddiksyre		mmol/kg	10,18	10,18	8,47	8,68
Eddiksyre		‰	0,61	0,61	0,51	0,52
Propionsyre		mmol/kg	0,16	<0,08	<0,08	<0,08
Propionsyre		‰	0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Smørsyre		mmol/kg	1,95	0,09	0,09	0,08
Smørsyre		‰	0,17	<0,01	<0,01	<0,01

Analyse	Method-ID	Enhet	2-20-000005-005	2-20-000005-006	2-20-000005-007	2-20-000005-008
Acetoin		mmol/kg	1,44	1,72	0,21	<0,08
Acetoin		‰	0,13	0,15	0,02	<0,01
Eddiksyre		mmol/kg	12,2	11,4	11,39	8,16
Eddiksyre		‰	0,73	0,68	0,68	0,49
Propionsyre		mmol/kg	<0,08	<0,08	<0,08	3,06
Propionsyre		‰	<0,01	<0,01	<0,01	0,23
Smørsyre		mmol/kg	0,15	0,46	0,74	13,68
Smørsyre		‰	0,01	0,04	0,07	1,21

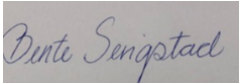
Analyse	Method-ID	Enhet	2-20-000005-009	2-20-000005-010	2-20-000005-011	2-20-000005-012
Acetoin		mmol/kg	<0,08	0,49	<0,08	0,18
Acetoin		‰	<0,01	0,04	<0,01	0,02
Eddiksyre		mmol/kg	10,67	10,67	10,29	8,78
Eddiksyre		‰	0,64	0,64	0,62	0,53
Propionsyre		mmol/kg	0,14	0,51	0,67	2,16
Propionsyre		‰	0,01	0,04	0,05	0,16
Smørsyre		mmol/kg	0,74	3,58	4,46	11,68
Smørsyre		‰	0,06	0,32	0,39	1,03

Analyse	Method-ID	Enhet	2-20-000005-013	2-20-000005-014
Acetoin		mmol/kg	0,91	<0,08
Acetoin		‰	0,08	<0,01
Eddiksyre		mmol/kg	10,09	8,04
Eddiksyre		‰	0,61	0,48
Propionsyre		mmol/kg	0,68	1,9
Propionsyre		‰	0,05	0,14
Smørsyre		mmol/kg	3,7	9,88
Smørsyre		‰	0,33	0,87

## Analysesertifikat

Side 3 av 3  
Rapportnr.: 028852  
11.05.20

---

Analyse	Beskrivelse	Metode
Acetoin Eddiksyre Propionsyre Smørsyre	Acetoin Eddiksyre Propionsyre Smørsyre	
11.05.20	 Bente Serigstad , Laboratorieingenør	
Distribusjon	Per-Roger Bringsvor	

---

**OMREGNING AV SMØRSYREMENGDE FRA MG/KG TIL MMOL/KG**

Utrekning av molmasse for smørsyre:  $C_4H_8O_2$

$$C_4H_8O_2 = (12,011 \times 4) + (1,0079 \times 8) + (15,999 \times 2) = 88,1052 \text{ mol/g}$$

Matijaic m.fl (2005 s. 161) viser til at smørsyremengder helt ned til 0,15 g/kg førte til esing i ost, og for å finne ut hva dette tilsvarer i mmol, må følgende formel benyttes:

$$n \text{ (mmol)} = \frac{m \text{ (mg)}}{Mm \text{ (molmasse)}}$$

$$n = \frac{150 \text{ mg}}{88,1052 \text{ mol/g}} = 1,7 \text{ mmol}$$

## Vedlegg 7 - Sensorisk analyse

**FEILNOMENKLATUR**

 <b>Kvalitet- sikring</b>	<b>Produktspesifikasjon - feilnomenklatur</b> (Godkjent av Rolf Heskestad 16.01.2020)	
	Nr: <b>F1034</b>	Versjon: <b>7</b> Erstatte: 09.12.2016
	Navn: Småhullet ost	Forfatter: Cathrine Rabben
	Prod.gruppe: Hvitost	Dokumenteier: Rolf Heskestad
		Godkjent dato: 16.01.2020
		Godkjent av: Rolf Heskestad


**FEILNOMENKLATUR**

## MERKANTIL KVALITET

Poengskala (1-5 poeng)

Anm. nr	Anmerking	1	2	3	4	5
	<b>Etikett</b>					
400	Feil etikett	X	X			
401	Feil plassert etikett		X	X		
402	Skjev etikett			X	X	
403	Etikett feil vei			X	X	
404	Skrukket etikett			X	X	
405	Skitten etikett			X		
406	Feil farge etikett			X	X	
	<b>Merking</b>					
420	Manglende merking		X			
421	Ukorrekt merking		X	X		
422	Utydelig merking		X	X		
423	Skjev dekor		X	X		
427	Fargefeil på dekor		X	X		
428	Fargeavsmitting			X		
430	Feil produktmengde	X				
431	Uleselig/utydelig printertrykk		X	X		
432	Uleselig/utydelig fortrykk/strekkode		X	X		
433	Mangler/feil holdbarhetsdato	X	X	X		
434	Mangler/feil strekkode	X	X			
435	Mangler/feil lotkode (pakkested etc)		X	X		
436	Forskjøvet printerlinje			X		
437	Forskjøvet fortrykk/strekkode			X		



	Emballasje					
464	Vanskelig å åpne	X	X	X	X	
469	Skadet		X	X		
470	Tilsølet		X	X		
471	Skjev emballasje			X		
472	Rynket side		X	X		
473	Emballasjefeil (andre)		X	X		
474	Ballonert, utbuling		X	X		
475	Produktvedheng emballasje			X	X	
476	Utgått gass	X	X			
477	Utgått vakuum	X	X			
478	Dårlig sveis		X	X		
479	Produkt i sveis		X	X		
480	Mye film		X	X		
481	Delaminert emballasje		X	X		

## YTRE UTSEENDE

Dekker feil vedrørende emballasje og feil som avdekkes etter at film/foilie er tatt av.

(Før det er foretatt noe inngrep i selve produktet).

Poengskala (1-5 poeng)

Anm. nr	Anmerknning	1	2	3	4	5
38	Høy		X	X		
39	Lav		X	X		
40	Runde hjørner			X	X	
43	Ujevn overflate		X	X		
44	Segen		X	X		
45	Skjev		X	X		
48	Buet			X		
50	Mugg	X	X			
52	Annen overflatevekst	X	X			
53	Voks flasser		X	X		
54	Sprukken voks / film		X	X		
55	Blæret voks		X	X		
56	Ujevn voks		X	X		
57	Misfarget voks		X	X		
58	Voks avfarger		X	X		
60	Åpen overflate		X	X		
62	Utterret		X	X		
68	Fuktig overflate			X		
69	Sleip		X	X		
70	Skjoldet overflate		X	X		
73	Misfarget overflate		X	X		
74	Flekket overflate		X	X		
75	Hvitt belegg		X	X		
78	Oppløst overflate		X	X		
80	Ukorrekt stabling		X	X		
81	Skivene kleber		X	X		
89	Feil skivetykkelse		X	X		
90	Skivene er skadet		X	X		
91	Mellomleggsplast er feilplassert		X	X		

**INDRE UTSEENDE**

Dekker feil vedrørende utseende som synes etter:  
- osten er delt over

Poengskala (1-5 poeng)

Anm. nr	Anmerkning	1	2	3	4	5
110	Misfarget		X	X		
111	Fremmedpartikler	X				
121	Ujevn hullsetting			X	X	
122	Pipet rand		X	X	X	
123	Pipet parti		X	X	X	
124	Pipet		X			
125	Uren hullsetting		X	X	X	
126	Reven rand		X			
127	Sprekker		X	X		
128	Est	X	X			
129	Deformert hullsetting		X	X		
130	Åpen			X	X	
131	Tett			X		
132	Få hull			X		
133	Mange hull			X	X	
134	Store hull		X	X		
135	Små hull			X	X	
137	Tykk skorpe			X		
138	Skjoldet		X	X		
141	Flekket		X	X		
142	Marmorert		X	X		
143	Hvite prikker			X		
144	Lys rand			X	X	

## KONSISTENS

Poengskala (1-5 poeng)

Anm. nr	Anmerkning	1	2	3	4	5
208	Grynet		X	X		
210	Melen			X	X	
212	Løs		X	X		
214	Deiget			X	X	
218	Tungtløselig			X		
219	Ujevn konsistens		X	X		
222	Fast		X	X		
223	Kort		X	X		
224	Tørr		X	X		

## LUKT OG SMAK

Poengskala (1-5 poeng)

Anm. nr	Anmerknng	1	2	3	4	5
300	Sur		X	X		
303	Besk		X	X		
304	Bitter		X			
305	Uren	X	X	X		
306	Kvalm	X	X			
310	Bismak	X	X	X		
311	Gjærsmak		X	X		
312	Muggsmak		X			
313	Maltsmak		X	X	X	
317	Smørsyre	X	X			
318	Førsmak		X	X		
319	Kjemikaliesmak	X	X			
321	Oksydert		X	X		
323	Harsk	X				
324	MMP-smak	X	X			
325	Salt			X	X	
326	Lite salt			X	X	
329	Utypisk smak			X		
330	Kraftig smak			X	X	
331	Lite smak			X	X	
374	Svovellukt/-smak		X	X		

## Endret siden forrige utgave

Pkt 89, 90, 91 tilført etter ønske fra pakkeriene

Endringer i versjon 6:

Lagt inn mulighet for å gi 2 poeng hvis osten er for lav eller for høy.

Endringer i versjon 5:

Lagt inn hvem som skal varsles ved endringer.

Endringer i versjon 4:

Ny anmerknng: 374 Svovellukt/-smak

Endringer i versjon 3:

Anmerknng for grævugg er fjernet. Ny anmerknng: 78 Oppløst overflate

Følgende kvalitetsnormer benytter denne feilnomenklatur:



## BEDØMMELSESSKJEMA FOR SENSORISK ANALYSE EKSEMPEL PÅ FERDIG UTFYLT

Bedømmelse av økologisk gouda 27.04.20 med vedlagt nomenklatur. Navn dommer: 5

Dato ysting	Ytre utseende (Anm.nr. 38-91)	Poeng 1-5	Indre utseende (Anm.nr. 110-144)	Poeng 1-5	Konsistens (Anm.nr. 208-224)	Poeng 1-5	Lakt og smak (Anm.nr. 300-374)	Poeng 1-5
<b>1 A</b> 29.01	70	2	127 133	2	214	3	310 317	1
<b>1 B</b> 30.01	70	3	126 124 133	1	208 223 224	1	303 304 300	1
<b>2 A</b> 26.02	70	3	127 133 124	2	223 212	2	317 306 300	1
<b>2 B</b> 27.02	70	3	127 133 124	2	214 210	1	317	1
<b>3</b> 03.03	70	3	127	1	214 210	2	303 304 317	2
<b>4 A</b> 12.03	70	3	127 125	1	214	3	317	2
<b>4 B</b> 13.03	70	2	127	1	214	3	317 305 318	1

**RESULTAT FRA SENSORISK ANALYSE - POENG**

## DOMMER 1

	Ytre utseende	Indre utseende	Konsistens	Lukt og smak	Hovedpoeng
1A	4	3	4	2	2
1B	4	2	4	2	2
2A	4	2,5	4	4	2,5
2B	4	3	4	3	3
3	4	2,5	3	2	2
4A	4	3	4	4	3
4B	4	3	4	4	3

## DOMMER 2

	Ytre utseende	Indre utseende	Konsistens	Lukt og smak	Hovedpoeng
1A	3	2	3	2	2
1B	3	2	2	2	2
2A	3	2	3	2	2
2B	3	2	3	1	1
3	2	2	3	2	2
4A	2	2	2	2	2
4B	2	2	2	2	2

## DOMMER 3

	Ytre utseende	Indre utseende	Konsistens	Lukt og smak	Hovedpoeng
1A	-	1	-	1	1
1B	2	1	-	1	1
2A	-	1	-	1	1
2B	-	1	-		1
3	3	2	-	3	2
4A	4	3	-	4	3
4B	4	3	-	4	3

## DOMMER 4

	Ytre utseende	Indre utseende	Konsistens	Lukt og smak	Hovedpoeng
1A	3	3	3	2	2
1B	2	3	2	1	1
2A	3	2	2	1	1
2B	2	3	2	1	1
3	3	2	3	2	2
4A	3	2	2	1	1
4B	3	2	4	2	2



## DOMMER 5

	Ytre utseende	Indre utseende	Konsistens	Lukt og smak	Hovedpoeng
1A	2	2	3	1	1
1B	3	1	1	1	1
2A	3	2	2	1	1
2B	3	2	1	1	1
3	3	1	2	2	1
4A	3	1	3	2	1
4B	2	1	3	1	1

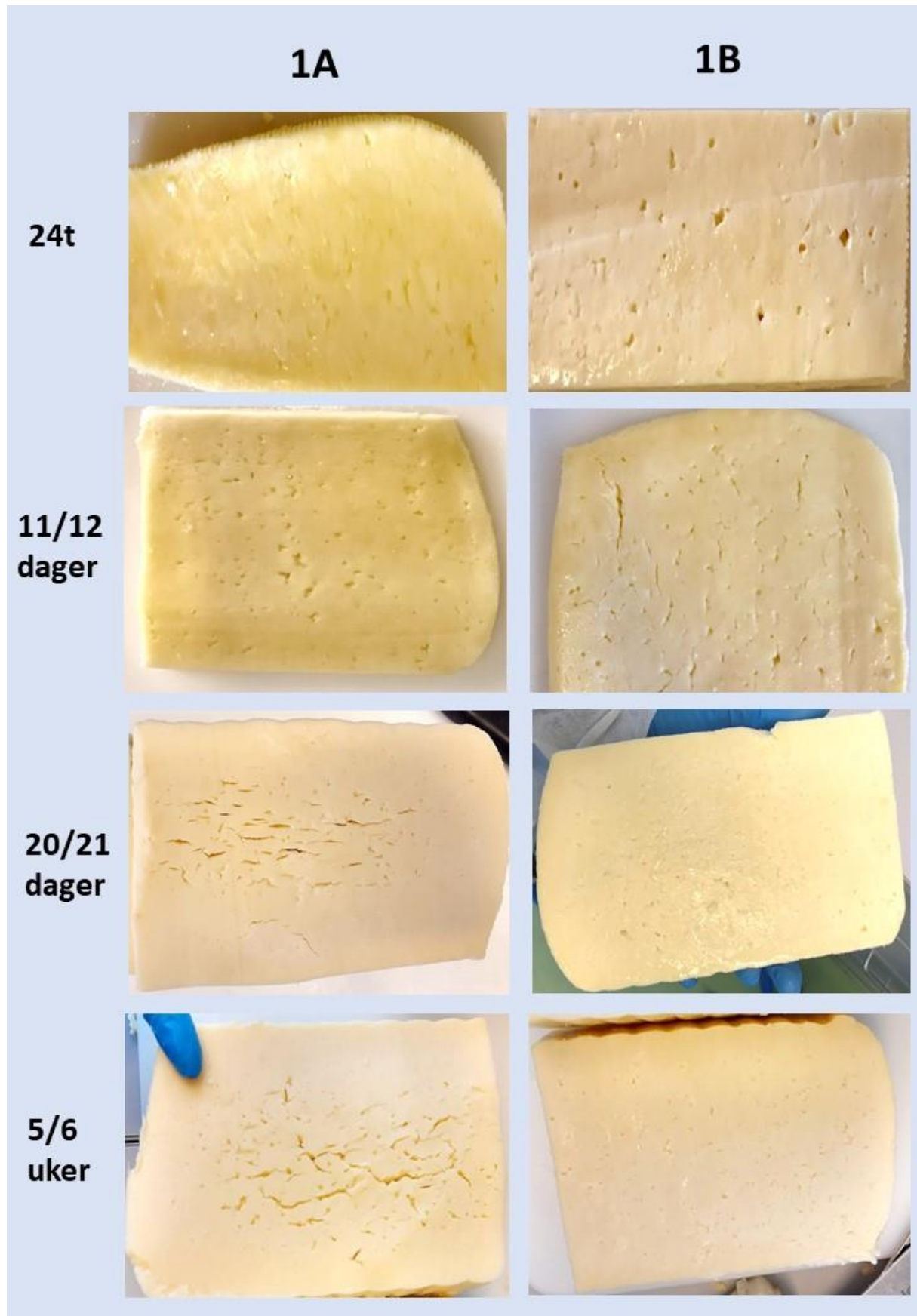
## DOMMER 6

	Ytre utseende	Indre utseende	Konsistens	Lukt og smak	Hovedpoeng
1A	-	-	2	3	2
1B	-	-	-	1	1
2A	-	-	3	2	2
2B	-	-	2	1	1
3	-	-	2	3	2
4A	-	-	4	2	2
4B	-	-	2	3	2

## GJENNOMSNITT AV HOVEDPOENG

	Dommer 1	Dommer 2	Dommer 3	Dommer 4	Dommer 5	Dommer 6	Snitt
1A	2	2	1	2	1	2	1,7
1B	2	2	1	1	1	1	1,3
2A	2,5	2	1	1	1	2	1,6
2B	3	1	1	1	1	1	1,3
3	2	2	2	2	1	2	1,8
4A	3	2	3	1	1	2	2
4B	3	2	3	2	1	2	2,2

Vedlegg 8 - Bilder av ost under modning



**2A**

**2B**

**24t**



**11/12  
dager**



**20/21  
dager**



**5/6  
uker**



**3**

**24t**



**11/12  
dager**



**20/21  
dager**



**5/6  
uker**



