

Frida Haugdahl Humstad

Vekst av *Listeria innocua* i fast, kittmodnet ost.

En undersøkelse av vekst og overlevelse av *Listeria innocua* i en fast, kittmodnet ost gitt dens fysiokjemiske endringer gjennom modningstiden, samt småskalaprodusenters forståelse og håndtering av regelverket for tilstedeværelse av *Listeria spp.*

Masteroppgave i Mat og teknologi

Veileder: Kari Helgetun Langfoss og Lisbeth Mehli

Mai 2020

Frida Haugdahl Humstad

Vekst av *Listeria innocua* i fast, kittmodnet ost.

En undersøkelse av vekst og overlevelse av *Listeria innocua* i en fast, kittmodnet ost gitt dens fysiokjemiske endringer gjennom modningstiden, samt småskalaprodusenters forståelse og håndtering av regelverket for tilstedeværelse av *Listeria spp.*



Masteroppgave i Mat og teknologi
Veileder: Kari Helgetun Langfoss og Lisbeth Mehli
Mai 2020

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

Sammendrag

Hovedmålet med oppgaven er å etablere kunnskap om småskalaproduisert fast, kittmodnet ost «*Tilsiter*-type» sett i forhold til aktuelt regelverk og forskrifter, og undersøke om dens fysiokjemiske endringer gjennom modningstiden gav mulighet for vekst og overlevelse av *Listeria spp.*

Arbeidet med masteroppgaven ble gjennomført i samarbeid med Norsk Gardsost og to lokale ysteri hvorav det ene var råvareleverandør. Det andre hadde en mer omfattende rolle med bedriftsbesøk og overlevering av ysteprotokoll så det ble mulig å gjenskape ysteprosessen i prosesslaboratoriet ved NTNU i liten skala.

Ved bedriftsbesøket ble ysteprosessen av en fast *Tilsiter*-type ost observert. I etterkant av besøket ble det ystet fire oster fordelt på to dager med pasteurisert og upasteurisert melk i hvert sitt ystekar. Ved første ystedag ble kontrollostene ystet av pasteurisert og upasteurisert melk. Kun den pasteuriserte osten ble tatt med videre i forsøket. Ved andre ystedag ble *Listeria innocua* inokulert i ystemelken før løypetilsetting. Det ble gjennomført mikrobiologiske analyser på prøver fra ysteprosessene, og av ostenes skorper og ostemasse gjennom modningsforløpet med uttak etter 3, 7, 11 og 15 uker. De mikrobiologiske analysene ble utført ved utsåingsmetoden for detektering av *L. innocua*, koliforme, psykrotrofe og mesofile bakterier.

På bakgrunn av de gjennomførte mikrobiologiske analysene kan det ses en tendens til at antall kde/g *L. innocua* reduseres gjennom modningsforløpet av fast, kittmodnet ost. Grunnet en noe høyere inokuleringsmengde enn ønsket, kan det ikke vurderes om nivået av *L. innocua* ville kommet under grenseverdien 100 kde/g ved utløp av produktets holdbarhetstid. Samtidig antas det at ostens vannaktivitet var grunn i reduksjonen. Det ble sendt osteprøver for kjemiske analyser i FoodScan™ ved TINE SA, avd. Verdal, pH og a_w ble målt på patogenlaboratoriet ved NTNU. Basert på resultatene fra disse analysene vurderes det at forsøksosten kan klassifiseres som en ekstra hard, fet *Tilsiter*-type, mens referanseosten klassifiseres som en fast, fet ost. Begge er løypekoagulert med både overflatemodning og indre bakteriell modning.

Det var ønskelig å få innblikk i småskalaprodusentenes forståelse og håndtering av regelverket for analyse av *L. monocytogenes*. Dette da det finnes to ulike grenseverdier å forholde seg til hva gjelder tilstedeværelse av *L. monocytogenes*: «fravær i 25 gram, mens produktet er i virksomhetens besittelse», eller «ikke over 100 kde/g *L. monocytogenes* ved utløp av holdbarhetstiden». Det ble utarbeidet en spørreundersøkelse som ble sendt ut til medlemmene av Norsk Gardsost. Spørreundersøkelsens besvarelser viste at småskalaprodusentene har varierende rutiner for hvilken grenseverdi for tilstedeværelse av *L. monocytogenes* ysteriet forholder seg til. De fleste forholder seg til grenseverdien «fravær i 25 gram, mens produktet er i virksomhetens besittelse». Dersom bedriftene hadde fått gjennomført belastningsstudier av produkter, og fått resultater som tilsier at produktet ikke vil overskride grenseverdien på 100 kde/g *L. monocytogenes* ved holdbarhetstidens utløp, kunne den andre grenseverdien blitt benyttet. Samtidig er det svært utfordrende å gjennomføre belastningsstudier på alle produkter i praksis, og småskalaproduksjonen er en aktiv prosess og endringer kan forekomme. Belastningsstudier er kun gjeldende om produktets resept ikke endres.

Abstract

The aim of this study was to acquire knowledge about small-scale production of a hard, smear-ripened cheese (Tilsit) and investigate whether changes in its physiochemical properties allowed for survival and growth of *Listeria*.

Another object of the study was to highlight challenges experienced by small-scale cheese producers related to regulations, and how to determine the threshold limit values of *Listeria monocytogenes* in their products, given the limited batch sizes. A questionnaire was developed and sent out to small-scale cheese factories in Norway.

A small-scale production of a Tilsit cheese was performed at NTNU, based on the cheese-making protocol from a local small-scale cheese-making factory, and raw milk from another local producer. A visit to the local factory allowed for close observation of the cheese-making process.

In the experimental production, four cheeses were made, of which two were based on pasteurized milk and two non-pasteurized milk. One of each was inoculated with *Listeria innocua*, a method chosen to ensure an even distribution throughout the product. The control was the pasteurized, non-inoculated cheese.

Microbiological analyses were performed and showed a decrease in *Listeria innocua* levels throughout the ripening of the cheese, assumedly caused by the water activity. Cheese samples were chemically tested in a FoodScan™ at TINE SA, Verdal, whilst pH and a_w were measured at NTNU.

The cheeses produced contained less water, yet more salt, dry matter and fat than the reference cheese, due to excessive drying. Upon inspection, the produced cheese and the reference cheese were both classified as a Tilsit-type, with the latter being a softer cheese.

The regulations require testing for *Listeria monocytogenes* in 5 samples of a batch, but the size of a batch is not specified. This makes it challenging for the producer to determine the actual size of a test batch, and the questionnaire showed that sampling routines vary amongst the small-scale producers. The major challenge is to acquire a sufficient amount of data, based on small batch sizes, to determine the threshold limit value.

Forord

Denne oppgaven er skrevet som en del av en toårig masterutdanning i Mat og Teknologi ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU), institutt for bioteknologi og matvitenskap. Det praktiske arbeidet ble utført på prosess- og patogenlaboratoriet ved NTNU Kalvskinnet høsten 2019 og våren 2020.

To lokale gårdsysteri har bidratt med melk til prosjektet og tatt meg vel imot på bedriftsbesøk, for å lære om en type *Tilsiter*-ost. Kontakten med ysteren har vært svært viktig underveis i arbeidet. Tusen takk for samarbeid, tålmodighet og engasjement - dette har vært helt avgjørende for mitt arbeid.

Det er mange mennesker jeg vil takke for tid, støtte og veiledning de siste ni månedene. Først og fremst vil jeg rette en stor takk til min hovedveileder, Universitetslektor Kari Helgetun Langfoss, for engasjement, planlegging, veiledning, gjennomføring og god oppfølging under arbeidet med oppgaven. Jeg vil også rette en stor takk til biveileder, Førsteamanuensis Lisbeth Mehli, for hjelp til den praktiske gjennomføringen av mikrobiologiske analyser, faglig innspill, veiledning og konstruktive tilbakemeldinger. Tusen takk for hjelpen.

Tusen takk Merethe Landrø, for svar på alle spørsmål.

Jeg vil også takke innehaver av Grindal Ysteri og ystefaglig veileder ved Kompetansenavet Vest, Ragnhild Nordbø for god hjelp til formulering av oppgaven, distribuering av spørreundersøkelsen og for at du besvarte mine spørsmål. En stor takk rettes også til Anna Eline Engum Bruvoll, Petter Alstad og Monica Berge Heggem ved TINE SA, avd. Verdal og avd. Tunga for utførelse av analyser i FoodScan™. Takk til Anne Kathrine Streitlien for kalibrering av vannaktivitetsmåler. Takk til Anna Georgieva Gancheva Lødeng for at du la til rette for mitt prosjekt på patogenlaboratoriet.

Til slutt vil jeg takke familien for gjennomlesing og korrektur. Takk til pappa som produserte modningsfjølene. Takk til samboer Lars, mamma, pappa, Anne-Lise og Kamilla for all hjelp, tålmodighet og støtte denne perioden. Takk til Amalie for mange heia-rop og tips, og takk til Ingrid for mange fine stunder på master-rommet.

Arbeidet med oppgaven har gitt meg et stort læringsutbytte på flere områder. Det har vært en givende prosess som jeg vil ta med meg videre og dra nytte av.

Innholdsfortegnelse

1 Innledning	1
2 Teori	2
2.1 Melk som råstoff	2
2.1.1 Melkesyntese	2
2.1.2 Melkens sammensetning	3
2.2 Mikroorganismer i rå melk	7
2.2.1 <i>Listeria</i> spp.	9
2.3 Kilder til kontaminering av melk	11
2.3.1 Melkeproduksjon	11
2.3.2 Ysteriet	11
2.3.3 Hygiene	12
2.4 Ysteprosessen	13
2.4.1 Forbehandling av ystemelk	13
2.4.2 Ysteegenskaper	13
2.4.3 Kjølelagring	14
2.4.4 Pasteurisering	15
2.4.5 Syrekultur og formodning	17
2.4.6 Løype og koagulering	19
2.4.7 Skjæring	19
2.4.8 Ettervarming	20
2.4.9 Drenering og pressing	20
2.4.10 Salting	21
2.4.11 Modning	21
2.5 Klassifisering av ost	24
2.5.1 Klassifisering av ost etter fasthet og fettinnhold	26
2.6 Lovverk og Matforvaltningen	27
2.6.1 Mattilsynet	29
2.7 Belastningsstudier	31
2.8 Spørreundersøkelse som metode	33
3 Materialer og metoder	34
3.1 Flytskjema	34
3.2 Ysting av halvfast ost ved lokalt ysteri – «Referanseost»	35
3.2.1 Ysting av referanseost	35
3.3 Vekst og overlevelse av <i>Listeria innocua</i> i fast, kittmodnet ost	36
3.3.1 Inokuleringsstammer	36
3.3.2 Tillaging av inokulat – <i>Listeria innocua</i>	36
3.3.3 Bestemmelse av kolonitall for <i>Listeria innocua</i> i inokulert ystemelk	36
3.4 Ysting uten og med inokulering	37
3.4.1 Inokulering av ystemelk	38
3.4.2 Tillaging av kittlake	38
3.4.3 Tillaging av saltlake	39
3.4.4 Uttak av prøver til mikrobiologiske analyser under og etter ysting	39
3.4.5 Måling av pH under og etter ysting	39
3.5 Mikrobiologiske analyser av ystemelk og ost	40
3.5.1 Uttak av osteprøver	40
3.5.1 Tillaging av peptonvann	41
3.5.2 Kvantifisering av <i>Listeria innocua</i>	41
3.5.3 Kvantifisering av koliforme bakterier	42

3.5.4 Kvantifisering av psykrotrofe og mesofile bakterier	43
3.6 Kjemiske analyser	44
3.6.1 FoodScan™ Dairy Analyser	44
3.6.2 Vannaktivitetsmåling	44
3.6.3 pH-målinger	44
3.7 Småskalaprodusenters utfordringer knyttet til <i>Listeria monocytogenes</i>	44
4 Resultater.....	45
4.1 Mikrobiologiske analyser	45
4.1.1 <i>Listeria innocua</i>	45
4.1.2 Koliforme bakterier.....	47
4.1.3 Psykrotrofe bakterier.....	48
4.1.4 Mesofile bakterier	51
4.2 Fysio-kjemiske analyser	54
4.2.1 Vannaktivitet	54
4.2.2 pH-målinger	55
4.2.3 FoodScan™.....	56
4.2.4 Klassifisering av ost.....	57
4.3 Belyse småskalaprodusenters hverdag med utfordringer knyttet til <i>Listeria monocytogenes</i>	58
4.3.1 Produksjonsinformasjon	58
4.3.2 Hygiene og kvalitet	61
4.3.3 Regelverk.....	65
5 Diskusjon	68
5.1 Produksjon av ost	68
5.2 Klassifisering av ost	71
5.3 Vekst og overlevelse av <i>Listeria innocua</i> i fast kittmodnet ost.....	71
5.4 Småskalaprodusenters utfordringer knyttet til <i>Listeria monocytogenes</i>	74
6 Konklusjon	76
7 Videre arbeid	77
Litteraturliste.....	78

Figurliste

Figur 1: Sjematisk snitt gjennom en micelle.....	5
Figur 2: Prosesstrinn for produksjon av løypekoagulert ost	13
Figur 3: Vekst ved ulike temperaturer av psykrofile, mesofile og termofile bakterier..	18
Figur 4: Mangfoldet av ost.	25
Figur 5: Flytskjema over ysteprosessen av referanseost (avsnitt 3.2.1) og oster som beskrives i avsnitt 3.4.....	34
Figur 6: Oversikt over gjennomføring av fortynningsrekke og utsåing på innstøpt og overflatespredt agar.	40
Figur 7: Vekst av <i>Listeria innocua</i> på Brilliance Listeria Agar..	41
Figur 8: Vekst av koliforme bakterier på Violet Red Bile Glucose Agar..	42
Figur 9: Vekst av psykrotrofe bakterier på Plate Count Agar..	43
Figur 10: <i>Listeria innocua</i> i inokulert melk og osteprøver gjennom modningsforløpet.	46
Figur 11: Koliforme bakterier i osteprøver gjennom modningsforløpet.	47
Figur 12: Utvikling av psykrotrofe bakterier gjennom ystedag 1 og 2.	48
Figur 13: Psykrotrofe bakterier i osteprøver gjennom modningsforløpet.	49
Figur 14: Psykrotrofe bakterier i kittlaker fra uttak 0 og 1.	50
Figur 15: Utvikling av mesofile bakterier gjennom ystedag 1 og 2.....	51
Figur 16: Mesofile bakterier i osteprøver gjennom modningsforløpet	52
Figur 17: Mesofile bakterier i kittlaker fra uttak 0 og 1.....	53
Figur 18: Oversikt over ostenes utvikling i vannaktivitet ved uttak 1-4..	54
Figur 19: Oversikt over ostenes pH-utvikling under ysting og modning..	55
Figur 20: Oversikt over prosentvis andel av produsenter med ulik produksjonsmengde.	58
Figur 21: Oversikt over besvarelser for hvilke oster ysteriene produserer.....	58
Figur 22: Oversikt over antall besvarelser på spørsmål om ystemelken pasteuriseres og hvilken tid/temperatur-kombinasjon som benyttes.....	59
Figur 23: Oversikt over prosentvis andel av produsenter som benytter kittlake ved modning.....	59
Figur 24: Oversikt over besvarelser for hvilket materiale modningsfjøl er laget av.	60
Figur 25: Oversikt over prosentvis andel av hvor ofte det blir tatt hygieneprøver i besvarerens ysteri.....	61
Figur 26: Oversikt over besvarelser for hvilke mikroorganismer hygieneprøver blir analysert for.	61
Figur 27: Oversikt over besvarelser for spørsmål om bedriften har fått hjelp til å utarbeide prøvetakingsplan.....	62
Figur 28: Oversikt over antall besvarelser på spørsmål om hvor ofte det blir tatt prøve av produkt.....	62
Figur 29: Oversikt over besvarelser for spørsmål om bedriften har fått påvist <i>Listeria monocytogenes</i> i ysteriet.....	64
Figur 30: Oversikt over besvarelser for spørsmål om bedriften har fått påvist <i>Listeria monocytogenes</i> i sluttprodukt.	64
Figur 31: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hvilken grenseverdi for tilstedeværelse av <i>Listeria monocytogenes</i> bedriften følger.....	65
Figur 32: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hva bedriften tar prøve av til analyse av <i>Listeria monocytogenes</i> ..	65
Figur 33: Oversikt over antall besvarelser på spørsmål om bedriften har vurdert om <i>Listeria monocytogenes</i> kan vokse i produkt.	66
Figur 34: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hvor ofte Mattilsynet utfører tilsyn.	66
Figur 35: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hvor ofte Mattilsynet utfører tilsyn.	67

Tabelliste

Tabell 1: Oversikt over gjennomsnittlig innhold i norsk melk.....	3
Tabell 2: Ulike tid/temperatur-kombinasjoner for pasteurisering.....	15
Tabell 3: Klassifisering av ost basert på vanninnhold (Vann i fettfri ostemasse/VFFO) og på fettinnhold (Fett i tørrstoff/F/TS).	26
Tabell 4: Eksempler på oster klassifisert med fett i tørrstoff (F/TS) og vann i fettfri ostemasse (VFFO) med tilhørende informasjon om ostenes opphav og fasthet.	26
Tabell 5: Oversikt over de tre ulike næringsmiddelkategoriene med forklaring.	27
Tabell 6: Grenseverdi for næringsmiddelkategoriene, samt ledd der kriteriet anvendes	27
Tabell 7: Oversikt over koder brukt ved benevning av prøver og skåler under uttak (0-4) med tilhørende kodeforklaring.	34
Tabell 8: Oversikt over resultater for ost ystet av pasteurisert melk på ystedag 1 – kontrolløst fra FoodScan™ gjennom modningsforløpet.	56
Tabell 9: Oversikt over resultater for ost ystet av pasteurisert, inokulert melk på ystedag 2 fra FoodScan™ gjennom modningsforløpet.	56
Tabell 10: Oversikt over resultater for ost ystet av upasteurisert, inokulert melk på ystedag 2 fra FoodScan™ gjennom modningsforløpet.....	56
Tabell 11: Oversikt over resultater for referanseost fra FoodScan™.....	57
Tabell 12: Ostenes vann i fettfri ostemasse (VFFO) og fett i tørrstoff (F/TS).	57
Tabell 13: Ostenes bestemte fasthet og fettklasse.	57
Tabell 14: Oversikt over besvarelser samlet som annet i figur 28 fra spørsmål om hvor ofte det blir tatt prøver av produkt.	63
Tabell 15: Besvarelser for spørsmål hvor mange oster det tas prøve av og hvordan prøveuttak mellom produksjons-batcher fordeles.....	63

1 Innledning

I oktober 2007 var en økologisk camembert-ost årsak til et nasjonalt utbrudd av sykdommen Listeriose. Under dette utbruddet ble i alt 21 personer diagnostisert som følge av å ha spist den infiserte osten. Ved Rikshospitalet/Radiumhospitalet i Oslo ble 19 pasienter smittet, og 5 av de smittede døde. Osten som utgjorde smitteskilden var pasteurisert og ble produsert ved et gårdsysteri i Trøndelag. I tillegg ble den solgt på lokale markeder i Midt-Norge. *Listeria monocytogenes* ble funnet i saltlaken. Dette utbruddet understreker viktigheten av å ha kontroll med *Listeria monocytogenes* ved produksjon av ost (Folkehelseinstituttet, 2009; Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 136).

Ost er et spiseklart produkt som det stilles strenge krav til når det gjelder tilstedeværelse av mikroorganismer, blant annet *L. monocytogenes*. Småskalaprodusenter skal selv vurdere om *L. monocytogenes* kan vokse i produktene deres og det kreves dokumentasjon på denne vurderingen. På grunn av dette har det blitt et økende behov for prøvetaking av blant annet *L. monocytogenes* og sykehushendelsen indikerer at ikke alle har tilstrekkelige rutiner på dette.

For å kartlegge vekst av *L. monocytogenes* kan det utføres belastningsstudier.

Målet med oppgaven er å etablere kunnskap om småskalaprodusert fast, kittmodnet ost «Tilsiter-type» sett i forhold til aktuelt regelverk og forskrifter, og undersøke om dens fysiokjemiske endringer gjennom modningstiden gav mulighet for vekst og overlevelse av *Listeria spp.*

Delmål:

1. Få økt kunnskap om produksjon av småskalaprodusert kittmodnet fast ost ved å gjennomføre bedriftsbesøk ved et lokalt ysteri og observere ysting av «referanseost» for å produsere oster med lik karakter.
2. Etablere produksjon av halvfast overflatemodnet ost av pasteurisert og upasteurisert melk
 - a. Vurdere ostenes fysiokjemiske egenskaper for å klassifisere ostene i forhold til delmål 1.
 - b. Vurdere eventuell overlevelse og vekst av *L. innocua* i inokulert pasteurisert og upasteurisert ost sammenlignet med ikke-inokulert pasteurisert ost.
3. Belyse småskalaprodusenters utfordringer knyttet til *Listeria monocytogenes* ved å gjennomføre en spørreundersøkelse.

Rapporten vil være av verdi for småskalaprodusenter i Norge, som ønsker å forbedre egne rutiner og som ønsker å tilegne seg mer kunnskap om og eventuelt begynne med produksjon av ost, samt andre som ønsker informasjon om temaet.

2 Teori

2.1 Melk som råstoff

2.1.1 Melkesyntese

Melkeproduksjon settes i gang av hormoner ved kalving, og de fem første dagene etter kalving produseres kolostrum (råmelk). Etter fire til fem dager vil melken oppnå normal sammensetning og kan leveres til meieri (Breines mfl., 2002 s. 132). Etter kalving vil kyr normalt sett produsere melk i 300-320 dager, og denne perioden kalles laktasjonsperiode. Mot slutten av laktasjonsperioden reduseres melkemengden som resultat av at kua forbereder seg til ny kalving (Geno SA, 2017). Bonden vil gradvis redusere tilgangen på kraftfôr og til slutt slutte å melke kua. Kyr er vanligvis tørrlagt i omtrent to måneder, og denne perioden kalles sinperioden (Opplysningskontoret for meieriprodukter, u.å.-b).

Melkingsintervall, fôring, helsetilstand og vannopptak påvirker kyrs avdrått (melkemengde) og melkens sammensetning. Avdrått varierer også mellom individer og raser. For at kyr skal ha evne til å produsere mye melk med god kvalitet er de avhengig av en tilpasset fôrrasjon (Hagenes, 2010 s. 25). Kyrs fôrinntak består vanligvis av grovfôr og kraftfôr. Kvaliteten og fordelingen mellom disse har stor innvirkning på innhold av fett og protein. I vommen finnes vommikrober (protozoer og sopp) og enzymer, som bryter ned fôret til mindre fraksjoner og danner flyktige fettsyrer som avfallsstoff. Riktig sammensetning av næringsstoffer i fôret er viktig for at vommikrobene skal være så effektive som mulig og opprettholde et stabilt pH-nivå (Sonnesen, 2000 s. 93). Videre er fiber av stor viktighet for å opprettholde normal vomfunksjon og drøvtyggeraktivitet (Nyhus, u.å.). Vommikrobene bryter ned cellulose og stivelse, og i prosessen dannes det eddiksyre og propionsyre. (Schei, 2020 s. 23) (Sonnesen, 2000 s. 94 og 150). Eddiksyre og propionsyre er korte fettsyrer som sammen danner lengre fettsyrer, som videre omdannes til melkefett. For å oppnå høy syntese av fett i juret er høyt innhold av eddiksyre og smørsyre avgjørende. Disse fettsyrene blir gjort tilgjengelige ved fordøyelse av grovfôr. Stort opptak av kraftfôr vil øke mengden propionsyre, og mengden eddiksyre og smørsyre vil gå ned. Dette reduserer evnen til fettdannelse (Nyhus, u.å.).

Silo, høy og kraftfôr gjør at melk produsert i vintermånedene inneholder mer mettet fett sammenlignet med melk produsert i sommermånedene med kyr på beite (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 25). Ungt beitegras inneholder relativt lite fiber, samt mye sukker og protein som kan skape problemer i vommen. Inntak av ungt beitegras gjør at vommen tilføres store mengder lettomsstelige næringsstoffer, lite fiber og struktur, som gjør at det lett kan oppstå redusert pH i vom, løs avføring, redusert fôropptak og fall i ytelse og fettprosent i melk (Trøen, 2018). Fett spiller en viktig rolle i ysteprosessen. Fett i ostemassen virker som tettemiddel så mysen ikke dreneres ut. Ost ystet av fet melk har høyere vanninnhold enn ost ystet av magrere melk med samme ysteprosess, og blir med dette mykere. Dersom forholdet mellom fett og protein i melken endres kan dette rettes opp ved å separere noe av ystemelken, eller tilsette fløte. Å opprettholde stabilt *vann i fettfri ost* (VFFO) er viktig for å oppnå jevn ostekvalitet. Småskalaprodusenter yster vanligvis med melken slik den er, men erfarne ystere kan gjøre justeringer (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 229). En annen tilpasning ystere kan gjøre er å produsere ulike oster

av vintermelk og sommermelk. Stavanger ysteri produserer muggoster av vintermelk og fastere oster av sommermelk (Colonialen.no, 2018). Også Grindal Ysteri har en egen ost som er kalt «Seterost», som kun produseres på setra (Grindal Ysteri, 2014). Variasjoner i fôr og sesonger må følges opp for å oppnå ønsket resultat, men disse variasjonene er noe av sjarmen med småskala osteproduksjon.

Kyrs jurhelse påvirker også melkemengde og -kvalitet, og *celletall* er en indikator på jurhelse. Begrepet celletall beskriver antall jurceller (vevs- og epitelceller) og hvite blodlegemer i melken (Breines mfl., 2002 s. 157), og angis som antall celler per milliliter melk (Opplysningskontoret for meieriprodukter, u.å.-a). Eldre kyr har generelt høyere celletall enn yngre kyr. Celler fra juret løsner eller slites av gjennom laktasjonen, og i økende grad ved feilaktig melking eller i råmelks- og sinmelksperioden (Breines mfl., 2002 s. 158). Økt celletall kan også komme av brunst, nedsatt helsetilstand og dersom juret utsettes for større fysiske påkjenninger. Ved bakteriell infeksjon eller fysisk påkjenning vil kuas immunforsvar mobilisere hvite blodlegemer for å begrense og bekjempe belastningen. Dette vil medføre celletallsøkning (Whist, 2015).

Mastitt, eller jurbetennelse, er en betennelsesreaksjon i juret. Reaksjonen er ofte et resultat av bakteriell invasjon, men fysiske påkjenninger kan også forårsake mastitt (Animalia, 2018). Klinisk mastitt gir tydelige forandringer i melken, ved at konsistensen endres og melken ser ut som rømmegrøt eller *cottage cheese*. Ved alvorlig mastitt kan kyr få feber og andre sykdomstegn (Østerås og Lystad, 2001a). som er vanlige i forbindelse med mastitt er blant annet *Staphylococcus aureus* og *Escherichia coli* (Vitenskapskomiteen for mattrygghet, 2006 s. 9-10). *E. coli* kan være utfordrende å holde på et akseptabelt nivå, da bakterien utskilles i store mengder gjennom avføring og er allestedsværende i fjøs (Burvenich mfl., 2003). Også *Listeria monocytogenes* kan være årsak til mastitt (Jensen mfl., 1996).

2.1.2 Melkens sammensetning

Melk er sammensatt av flere komponenter: vann, fett, laktose, protein, mineraler, organiske syrer og flere andre stoffer. Tabell 1 viser gjennomsnittlig sammensetning i melk.

Tabell 1: Oversikt over gjennomsnittlig innhold i norsk melk (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 17).

Komponent	Prosentandel
Vann	86,9 %
Fett	4,2 %
Laktose	4,7 %
Protein	3,4 %
Hvorav kasein	2,8 %
Mineraler	0,7 %
Tørrstoff	13,1

Vann i melk er frittflytende eller bundet. Bundet vann er festet til myseprotein, kasein, fettpartikler og salter (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 18). β -kaseinet er hydrofobt og danner hulrom/lommer inne i kaseinmicellen hvor vannet befinner seg til en viss grad (Dalglish og Corredig, 2012).

Laktose (melkesukker) består av galaktose og glukose. Melkens innhold av laktose reduseres utover laktasjonen. Dette på grunn av at melkesukker reduserer det osmotiske trykket i juret. Noe av reduksjonen blir kompensert av økt saltinnhold, og dette er ikke fordelaktig for ysting. Laktosens viktigste funksjon er å være næring for melkesyrebakteriene. Melkesyrebakteriene fermenterer laktose og sluttproduktet er melkesyre som syrner melk eller ost. Andre syrer og aromastoffer blir også produsert (se avsnitt 2.5.5) (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 28).

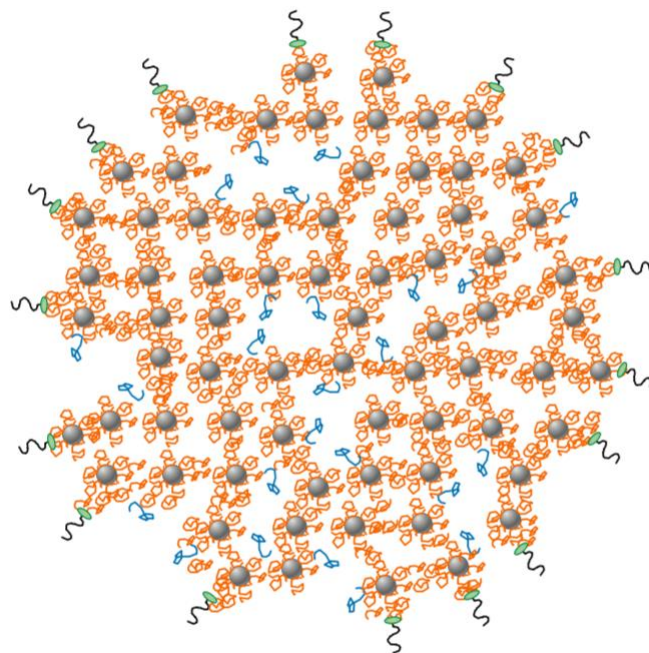
Melkens fettinnhold påvirker smak og konsistens på foredlede melkeprodukt, samt hvordan melken reagerer under ysting (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 23). Melkefett ligger beskyttet i fettkuler i melken. I fettkulene er melkefettet strukturert som triglyserider. Fettkulene er beskyttet av en membran bestående av fosfolipider og proteiner (Fox mfl., 2017b s. 84). Lipidfraksjonen av membranen står for nesten 30% av membranmaterialet, og den består av fosfolipider (25%), cerebrosider (3%) og kolesterol (2%). Kjernen i melkefettkulene består hovedsakelig av triglyserider, omtrent 98%, og små mengder diglyserider og en mengde monoglyserider (Conte mfl., 2017 s. 20).

Hard håndtering ved eksempelvis pumping og omrøring i melketanken kan ødelegge membranen. Dette vil føre til dannelse av frie fettsyrer. Det samme skjer om melka fryser på grunn av iskrystaller som punkterer membranen, eller ved kraftig omrøring under pasteurisering. Dersom en observerer fettperler på melkens overflate er det tegn på at membranene har blitt ødelagt. Membranenes styrke kan påvirkes av energimetningen i fôret. Ved lav energimetning kan membranene bli svake. Dersom membranene ødelegges vil enzymer i melken spalte fettsyrene fra triglyseridet. Dette vil føre til at det dannes frie fettsyrer som gir melken smaksfeil. Frie fettsyrer er ønsket i modnet ost, men dersom denne spaltningen inntreffer for tidlig i prosessen kan ost få et uønsket smaksbilde (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 23).

Proteiner består av aminosyrer og proteiner kan deles i grupper etter hvilken funksjon de utgjør. Enzymer er proteiner som står for oppbygging og nedbryting av næringsstoffer og strukturer. Enzymer spiller en stor rolle i melkeforedling. I løype finnes mange enzymer som koagulerer melk, og mikroorganismene i melka og syrekulturen produserer enzymer som er viktige ved produksjon av melkesyre og ved nedbryting av ostemassen i modningsprosessen. Enzymers nedbrytende evne er viktig i osteproduksjon da de spalter næringsstoffmolekyler til mindre molekyler som danner smak og som endrer ostens konsistens. Av naturlig tilstedeværende proteaser fra melk kan plasmin trekkes frem som det enzymet som har størst betydning for modning (mer om plasmin i del 2.4.11) (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 18-19).

Melkeprotein deles i to grupper: Kasein og myseprotein. Kasein er det proteinet som felles ut ved dets isoelektriske punkt (pH 4,6 ved 20 °C). Kasein er den delen av proteinet i melk som danner ostemasse. Kaseinet felles ut ved enten løypekoagulering eller syrekoagulering. I melk er kaseinet gruppert i små klynger som kalles miceller. Figur 1 viser micellers oppbygging. Micellene består av tre typer kasein: α_{s1} , α_{s2} , β og κ . α -kasein og β -kasein oppnår en sterk binding og utgjør micellenes hydrofobe kjerne.

Micellen er porøs og inneholder mye vann på grunn av hydrofobt β -kasein som danner lommer i strukturen. β -kasein og CCP (kolloidalt kalsiumfosfat) diffunderer inn og ut av micellen (Dalglish og Corredig, 2012). κ -kasein har dårligere bindingsevne og orienterer seg rundt micellene (Panthi mfl., 2017). κ -kaseinet avgrensner micellene og er negativt ladet og støter andre miceller bort (Dalglish og Corredig, 2012). De viktigste myseproteinene er β -laktoglobulin og α -laktalbumin (Taterka og Castillo, 2018). Globulære myseprotein er syre- og løypetolerante og felles ikke ut som kaseinet. De er derimot ikke varmetolerante. Ved oppvarming vil myseprotein omorganiseres og kobles sammen. Ved temperaturbehandling rundt 70 °C vil myseproteinene binde seg til kaseinet i melken. Dette påvirker kaseinets koaguleringssegenskaper (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 18). α - og β -kaseinene er festet til, og forbinder kalsiumfosfat-nanoklustere (mer om kalsiumfosfat i neste avsnitt). Noe β -kasein binder seg hydrofobisk til andre kaseiner og kan fjernes ved nedkjøling. κ -kaseinet og halene plasserer seg på de ytterste delene av micellens overflate (se Figur 1).



Figur 1: Sjematisk snitt gjennom en micelle som viser vannområdene i strukturen. α - og β -kaseinene (oransje) er festet til og forbinder kalsiumfosfat-nanokluster (grå kuler). Noe β -kasein (blått) binder seg hydrofobisk til andre kaseiner og kan fjernes ved nedkjøling. κ -kaseinet (grønt) og halene (svart) er på de ytterste delene av overflaten. De hvite lommene i micellen inneholder myse/vann. Ikke tegnet i målestokk, og størrelsene på vannkanalene er overdrevet for klarhet (Dalglish og Corredig, 2012).

I melk finnes flere mineraler, hvor kalsium er den mest omtalte. Mineralene i melk blir ofte omtalt som aske. Dette kommer av at når mineralinnhold i melk skal analyseres brennes alt organisk materiale og asken som ligger tilbake utgjør mineralene. I ysteteknologi spiller kalsium en viktig rolle, da ostens konsistens påvirkes av mengde kalsium melken inneholder. Høyt innhold av kalsium gir seig og elastisk ost, lavt innhold gir myk og smørbar ost. Mesteparten av kaseinet er bundet til micellene og det resterende kaseinet er løst i vann. I løypekoagulering spiller kalsium en viktig rolle. Fritt kalsium binder micellene sammen. Dette gir struktur og fasthet i koagelet. Kalsiumet, i form av kolloidalt kalsiumfosfat, som er bundet til micellene bidrar til sammentrekning av kasein. Ved kjølelagring vil forholdet mellom bundet og fritt kalsium endres. Les mer om dette i avsnitt 2.4.3 om kjølelagring. (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 22)

Melkens sammensetning vil variere fra individ til individ, mellom raser, laktasjonsstadium, fôring, årstidsvariasjoner og helsetilstand (Fox mfl., 2017a s. 623; Hagenes, 2010 s. 8). På grunn av store sammensatte variasjoner bør melk fra kyr i de tidlige eller sene stadiene av laktasjon, og de som lider av mastitt, ikke brukes til osteproduksjon (Fox mfl., 2017a s. 623). For eksempel produserer storferasen Jersey melk som holder høyere innhold av fett (6-7 %) enn Norsk Rødt Fe (3,5-4 %) (Fox mfl., 2017b s. 80).

I melkeproduksjon kan driften legges opp etter ulike kalvingsmønstre, spredd kalving eller konsentrert kalving. I produksjoner med spredd kalving holdes melkeproduksjonen stabil hele året. Ved konsentrert kalving legges driften opp til at kyrne kalver innenfor en viss periode høst eller vår (Breines mfl., 2002 s. 323). Konsentrert kalving gir likt laktasjonsstadium for alle kyr, hvilket kan gi variasjoner i ostens sammensetning og kvalitet gjennom laktasjonen. I perioden etter kalving vil alle kyr produsere råmelk, og på slutten av laktasjonen vil alle kyr produsere melk som ikke er egnet for ysting (Hagenes, 2010 s. 25).

2.2 Mikroorganismer i rå melk

Melk har høyt næringsinnhold, kompleks biokjemisk sammensetning og høy vannaktivitet og er derfor et godt medium for vekst og beskyttelse av både normalflora og patogene bakterier for mennesker og dyr. Enkelte humanpatogene bakterier som *Campylobacter spp.*, *Brucella spp.* og *Mycobacterium spp.* formerer seg ikke eller i liten grad i melk og virus formerer seg ikke. Temperatur er avgjørende for vekst i melk. En rekke patogene bakterier lar seg kun hemme av konkurrerende mikroorganismer, metabolske produkter og lav temperatur. De fleste bakterier i melk formerer seg i løpet av en halv time ved 30 °C. Ved lave temperaturer er det noen få bakteriegrupper som kan vokse. Ved eksempelvis 5 °C er det kun psykrotrofe bakterier innen genus *Pseudomonas* som har kort generasjonstid á ca 4 timer, og *Listeria spp.* kan vokse ved 4 °C. Å kjøle ned melk og å opprettholde lav temperatur ved lagring er svært viktig for å hindre vekst av normalflora som kan degradere og til slutt ødelegge melk, samt for å hindre oppformering av jur- og humanpatogene bakterier (Mørk mfl., 2003 s. 20).

For gruppering av mikroorganismer kan flere betingelser benyttes. Krav til tilstedeværelse av oksygen er en betingelse. Begrepet «aerobe mikroorganismer» omfavner mikroorganismer som kan vokse med tilgang på oksygen. (Madigan mfl., 2015 s. 193) Temperaturkrav og mikroorganismers optimaltemperatur er en annen betingelse for gruppering. Basert på temperaturkrav kan mikroorganismer deles inn i fire grupper: psykrofile, mesofile, termofile og hypertermofile mikroorganismer (Granum, 2015b s. 46; Madigan mfl., 2015 s. 184)

Mesofile bakterier er en gruppe som omfatter flere patogene bakterier, blant annet *Escherichia coli* (Madigan mfl., 2015 s. 184). Disse bakteriene har optimumstemperatur for vekst ved 20-40 °C. Psykrotrofe bakterier er en undergruppe av psykrofile bakterier med optimumstemperatur mellom 20 og 30 °C (Walstra mfl., 2006 s. 184). Både i rå og pasteurisert melk vil psykrotrofe bakterier dominere (Quigley mfl., 2013).

Mikrofloraen i rå melk og upasteurisert ost utgjør flere funksjoner, både ønskede og uønskede. Da melk er et utmerket vekstmedium kan rå melk inneholde flere humanpatogene mikroorganismer. Mikroorganismene kan stamme fra juret og omkringliggende omgivelser. *Listeria monocytogenes*, enterotoksinproduserende stammer av *Escherichia coli* (eks *E. coli* O157 H7), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia enterocolitica* og *Bacillus cereus* anses å være de viktigste humanpatogene bakteriene med melkebåren smitte (Fox mfl., 2017a s. 618).

Bacillus cereus

Bakterien *Bacillus cereus* er sporedannende og kjent for å skape problemer i meieriindustrien (Granum, 2015a s. 152). Dersom *Bacillus cereus* danner sporer vil sporene overleve pasteurisering og vil ikke ha konkurranse fra andre bakterie i etterkant av varmebehandlingen (Thorsen, 2017). Typen av *B. cereus* som ofte forbindes med melk og meieriprodukter har evne til å produsere toksiner i tarm ved konsum og forårsake diaré (Veterinærinstituttet, 2011). Bakteriens naturlige reservoar er jord, og kan overføres til juret når kyr er på beite (Haug, 2018).

Campylobacter spp.

Slekten *Campylobacter* spp. er vanligste årsak til akutt diaré sykdom i Norge (Kapperud, 2015 s. 65). De mest omtalte patogene artene er *C. jejuni* og *C. coli* (Madigan mfl., 2015 s. 942). Fjærkre er rapportert til å være den ledende kilden til human campylobacteriose, og drøvtyggere er ansvarlige for det nest høyeste antallet *C. jejuni*-infeksjoner. På gårder kan storfe infisert med *Campylobacter* spre bakterier, hvilket øker risikoen for infeksjon av andre dyr eller mennesker ved forurensning av miljøet. Derfor, hvis et forurensede gårdsmiljøet ikke blir administrert ordentlig, kan *Campylobacter* spres i avføringen fra storfe og lett overføres til mennesker gjennom meieriprodukter som upasteurisert melk (An mfl., 2018). Av de patogene artene er *C. jejuni* oftest årsak til diaré hos mennesker (Vitenskapskomiteen for mattrygghet, 2006 s. 12).

Koliforme bakterier

Begrepet «koliforme bakterier» er definert på ulike vis, og betyr «bakterier som stammer fra tarm» etter det latinske ordet *colon* (tykktarm) (Lund, 2012). Begrepet brukes om aerobe eller fakultativ anaerobe (kan leve uten oksygen), gram-negative, ikke sporedannende staver som fermenterer laktose. Fermenteringen resulterer i gass og syreproduksjon innen 48 timer ved 35 °C. Psykrotolerante koliforme bakterier som har evne til å vokse ved kjøleskapstemperatur er spesielt utfordrende i meieriindustrien da dette kan resultere i degradering av produktet på grunn av fett- og proteinspaltende enzymer. Koliforme bakterier kan benyttes som indikatorbakterier for fekal forurensning (Masiello mfl., 2016). Både patogene og apatogene bakterier kan kategoriseres som koliforme (Lund, 2012).

Ønskede iboende bakterier

Mugg, gjær og bakterier fra melken er med på å modne ost. Mengden av de ulike mikroorganismene kan variere mye. Melk fra et friskt jur som bare har vært i kontakt med renvasket rustfritt stål, har som regel lavt innhold av mikroorganismer. Om syrekulturen dyrkes fram i upasteurisert melk i stedet for pasteurisert melk, vil de lokale melkesyrebakteriene få mulighet til å få ta større del av syrekulturen og dermed sette mer preg på osten. Stedegne mikroorganismer vil alltid etablere seg i et ysterimiljø, også ved pasteurisert produksjon. Melkesyrebakterier vil normalt sett dominere, spesielt laktobasiller som eksempelvis kommer fra utstyr som ikke er fullstendig desinfisert vil vokse fram under modning. Dette gjør at oster ystet på ulike ysteri skiller seg fra hverandre til tross for at ostene er ystet etter samme oppskrift og med lik kultur. Bakterier er vanligvis tilstede på overflater, og det er direkte kontakt mellom melk/ost og ikke desinfiserte overflater som gir poding. Mikrofloraen som etableres på modningslageret er en viktig faktor for å oppnå vellykket modning. Å oppnå en jevn og balansert mikroflora er tidkrevende, og det tar ofte opp mot et år. Når mikrofloraen er etablert på modningslageret vil dette kunne sikre jevn modningskvalitet (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 74).

2.2.1 *Listeria* spp.

Slekten *Listeria* består av femten forskjellige arter *Listeria*, hvor to av femten er patogene (Granum, 2015a). *Listeria monocytogenes* er patogen for mennesker, og *Listeria ivanovii* er patogen hos dyr.

L. monocytogenes er en fakultativ anaerob (kan vokse uten oksygen, og kan leve i nærvær av oksygen) (Rocourt og Buchrieser, 2007 s. 10), gram positiv, ikke sporedannende stavformet bakterie (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575). Bakteriens diameter er 0,5 µm og lengde 1-2 µm (Rocourt og Buchrieser, 2007 s. 9). Et av bakteriens grunnleggende vekstbehov er karbohydrater. *Listeria monocytogenes* har evnen til å danne biofilm og er derfor motstandsdyktig mot vaskemidler, desinfiseringsmidler og mekanisk påkjenning (Hunt mfl., 2018). Bakterien er også svært tilpasningsdyktig og har stort toleranse-spekter hva gjelder temperatur, pH, oksygen og salt. Dersom vilkårene er optimale har bakterien evne til å vokse ved temperaturer mellom 0,4 og 45 °C (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575), og er klassifisert som psykrotolerant. Optimumstemperaturen ligger mellom 30 og 37 °C (Chan og Wiedmann, 2008). *Listeria monocytogenes* kan også vokse ved vannaktivitet ved lavest 0,90 og ved pH 4,0-10. Det har blitt observert at bakterien kan vokse ved saltkonsentrasjoner rundt 10 % og overleve i saltkonsentrasjoner opp til 26 % (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575; Fox mfl., 2017b s. 690; Lado og Yousef, 2007 s. 169 og 171). *Listeria monocytogenes* vokser optimalt ved a_w 0,97 (Fox mfl., 2017b s. 171). At bakterien er fakultativ anaerob gjør at den vokser godt i vakuumpakkede produkter og ved modifisert atmosfære. *L. monocytogenes* overlever ikke pasteurisering, og varmebehandling i 30 min ved minimum 62,8 °C, eller tilsvarende tid/temperatur kombinasjon, skal være tilstrekkelig for å inaktiver bakterien (Kornacki og Gurtler, 2007 s. 750).

Kontaminering av prosesserte meieriprodukter skjer mest sannsynlig etter pasteurisering med kontaminasjon fra omgivelsene inkludert utstyr, benker, gulv, avløp, frysere, prosesseringsrom, gulvmatter, fotbad m.m. En studie viser at prosesseringsanlegg i tilknytning til gårdsbruk har en signifikant høyere forekomst av *Listeria*-kontaminasjon sammenlignet med prosesseringsanlegg som ikke har et gårdsbruk på stedet (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575).

Faren for at varmebehandlede produkter blir rekontaminert av produksjonsmiljøet etter varmebehandling er betydelig. Ved rekontaminering har bakterien gode forhold for vekst på grunn av at konkurransen fra andre bakterier er redusert.

L. monocytogenes finnes naturlig i en rekke ulike miljøer (Chan og Wiedmann, 2008), og på grunn av dette kan bakterien med enkelhet overføres fra bakteriens naturlige habitat til næringsmidler for menneskelig konsum. Dette antas å være årsaken til at *L. monocytogenes* kan finnes i en rekke ulike næringsmidler, slik som melkeprodukter, kjøttprodukter, sjømat, egg og grønnsaker (Datta, 2003 s. 107). Prosessene næringsmidler går gjennom ved produksjon må være under streng overvåking for å ha kontroll på nivået av *L. monocytogenes* i produktet. Gode råvarer og å unngå rekontaminering er avgjørende for å produsere trygge næringsmidler.

Listeriose

Listeria monocytogenes kan forårsake sykdommen listeriose. Friske mennesker kan innta små mengder *L. monocytogenes* uten å bli syke, vanligvis asymptomatisk eller influensalignende sykdomsbilde. Bakterien kan gi alvorlig sykdom hos fostre, nyfødte, eldre og immunsvekkede personer (Folkehelseinstituttet, 2010).

Bakterien har vært kjent som menneskelig patogen siden tidlig 1920 tallet, men det ble oppdaget at bakterien spres via næringsmidler først på 1980 tallet (Painter og Slutsker, 2007). I dag skyldes nesten alle listeriosetilfeller smitte gjennom næringsmidler (Milillo mfl., 2012; Painter og Slutsker, 2007).

Bakterien finnes naturlig i mage-tarmsystemet hos friske mennesker uten at den skaper symptomer på sykdom. Infektiv dose som trengs for å bli syk hos et friskt menneske er relativt høyt, men varierer fra person til person, hvor virulent bakterien er og hvilken sammensetning den kontaminerte maten har. Det antas at det trengs 10^5 - 10^6 kde/g (kolonidannende enhet) per servering for at et friskt menneske skal utvikle listeriose (Chan og Wiedmann, 2008). *L. monocytogenes* skaper typisk symptomer som oppkast og diare, men det kan også oppstå hjernehinnebetennelse, blodforgiftning og dødfødsel (Allerberger, 2007 s. 31). De fleste tilfeller av listeriose fører til sykehusinnleggelse, og *Listeria monocytogenes* er den tredje hyppigste årsaken til bakteriell hjernehinnebetennelse (Brouwer mfl., 2006). Gravide er mer utsatt for sykdommen grunnet endringer i immunforsvaret gjennom svangerskapet (Digitale, 2017). Dersom gravide utvikler listeriose kan dette føre til tap av foster, dødfødsel, for tidlig fødsel og infeksjon hos den nyfødte (Painter og Slutsker, 2007 s. 87).

2.3 Kilder til kontaminering av melk

Ved produksjon av ost er det viktig å bruke melk av god kvalitet og å gjennomføre ysteprosessen på en slik måte at det unngås kontaminering. Kvalitet er avgjørende i fra bås til bord. Kontaminering kan skje i mange trinn fra melking til ferdig produkt.

2.3.1 Melkeproduksjon

I fjøsmiljø vil avføring, strø, fôr, vann og jord utgjøre kilder til mikroorganismer (Østerås og Lystad, 2001b). Optimal ventilasjon i fjøsbygningen vil holde luftfuktigheten nede, men dersom avføring, smuss og støv kombineres med høy luftfuktighet vil forholdene for vekst av mikroorganismer være svært gode. Fokus på renhold, hygiene og tørre omgivelser er avgjørende for å hindre overføring av bakterier til juret, og hemme vekst av mikroorganismer (Østerås og Lystad, 2001b).

Melk fra et friskt jur er tilnærmet steril ved sekresjon, men ved mastittinfeksjon (jurbetennelse) kan melken bli kontaminert med bakterier allerede i juret. Optimalt sett er melkeprosessen et lukket system mellom spenen og spenekoppen. Ved påsett og avtaking av spenekoppene kan det derimot skje kontaminering (Delaval, 2018 s. 76). Kyr tilbringer mye tid i fjøsets liggebåser. Dersom spenekoppene settes på unøyaktig under melking kan partikler fra juret bli med melken videre i rørsystemet. Slik krysskontaminering kan føre til høyere bakterietall (O'Sullivan og Cotte, 2017 s. 26). For å redusere mengden partikler som fester seg til juret bør båsene holdes rene og jurets hår trimmes (Delaval, 2010 s. 146). Tørre spener og kortklipt hår på juret gir en betydelig reduksjon i antall bakterier på spener og i tankmelken (Breines mfl., 2002; Mørk mfl., 2003 s. 21). God hygiene ved melking er essensielt for å produsere melk med god kvalitet og lave bakterietall (O'Sullivan og Cotte, 2017 s. 26). Renhold av melkingsutstyr er også et avgjørende virkemiddel for å unngå kontaminering (Østerås og Lystad, 2001b).

Etter melking er det en forutsetning at melk gjennomgår rask nedkjøling til en lav og stabil lagringstemperatur for å ivareta melkens kvalitet. Etter melking blir melk vanligvis transportert i rørsystem til en melketank. Tanken er rustfri, har automatisk styrt kjøleaggregat og innebygd røreverk. Å kontrollere melketankes kjøle- og rørefunksjoner er viktig for å ha kontroll med temperatur og røring. Dette for å unngå at melken fryses eller blir pisket av røreverket (Hagenes, 2010 s. 23). Smittepress kan forhindres på ulike måter gjennom produksjonen av melk. God fôr kvalitet, frisk besetning, gode rutiner for bruk av smittesluse, hurtig nedkjøling av melken og velfungerende melketank, er faktorer som kan redusere risiko (Mattilsynet 2014b).

2.3.2 Ysteriet

Overføring til ysteriet kan gjennomføres på flere måter. Dersom ysteriet er i tilknytning til fjøset kan melken overføres via rørsystem med en pumpemekanisme som pumper melken til ystekaret. Dersom ysteriet ikke er i tilknytning til fjøset må melken transporteres. Ved Stavanger Ysteri blir melken transportert fra melkeprodusenten i en liten melketank, før melken blir pumpet inn i ysteriet via et hull i veggen ved hjelp av et slangesystem (Stavanger Ysteri, 2018). TINE SA er også behjelpelig med transport av melk (Medlem.tine.no, 2014). I prosessen ved overføring av melk til ysteri er renhold avgjørende for å opprettholde melkens kvalitet, da kontaminering kan skje ved lagring og transport (Thorsen, 2017). Ved ufullstendig eller ikke tilstrekkelig pasteurisering vil bakterier kunne overleve og bli med videre i ysteprosessen. Det er derfor viktig å overvåke temperatur og tid for pasteuriseringen. Nedkjølingstid etter pasteurisering er

også viktig for å redusere risiko for vekst dersom det blir tilført uønskede mikroorganismer eller at pasteuriseringen ikke var tilstrekkelig (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 93).

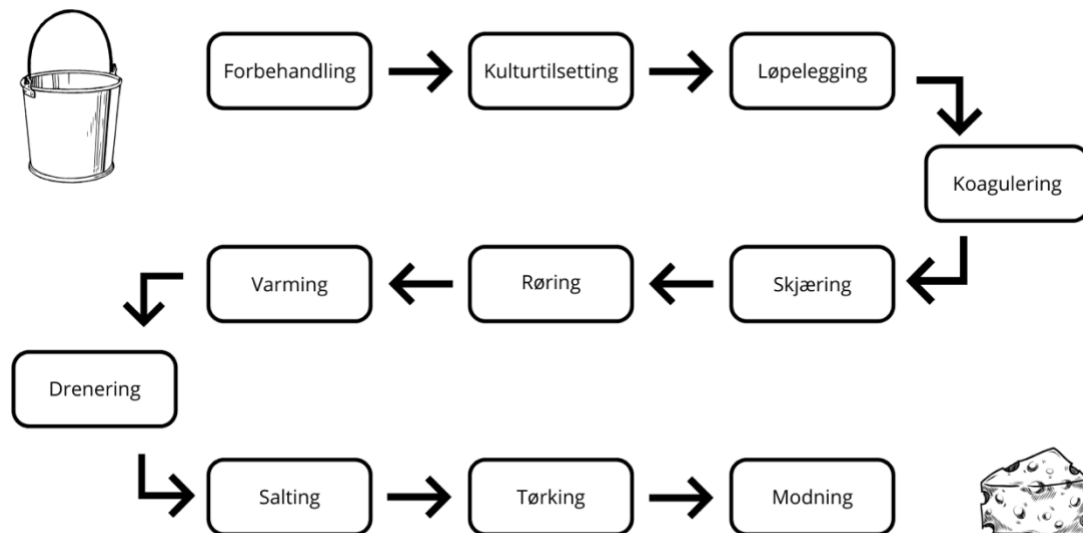
Ved modning blir oster plassert i rom med tilpasset temperatur og luftfuktighet. Underlaget som vanligvis blir brukt av småskalaprodusenter er fjøler av treverk, ofte gran (ses mer om modningsfjøler i avsnitt 2.4.11 Modning). Videre må modningsrommet kontrolleres for å opprettholde gode modningsforhold. Ved deling av osten kan det benyttes ulike redskaper. Fellesnevneren for alle redskaper er at de har potensiale til å føre smitte mellom oster. Renhold mellom økter med oppdeling kan hindre eventuell smitte mellom ulike partier og tilføring av uønskede bakterier fra omgivelsene (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 124).

2.3.3 Hygiene

Ved småskala osteproduksjon er personalet en aktiv del av prosessen. Erfaring er viktig for å kunne produsere lik ost ved hver produksjon. Hjelpemidler som termometer og pH-meter trengs for å kontrollere disse parameterne under produksjon, men ostekornene må observeres og gjerne undersøkes for hånd for å kontrollere tekstur. Det er derfor viktig med god personlig hygiene for å unngå kontaminering. Utstyret som brukes i ysteprosessen, inkludert termometer og pH-meter, må være rent for å sikre at det ikke tilføres mikroorganismer og rester av vaskemidler (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 114 og 124).

2.4 Ysteprosessen

Ved produksjon av løypekoagulerte oster finnes det flere fellestrekk. Et generelt flytskjema for produksjon av løypekoagulert ost er fremstilt i figur 2.



Figur 2: Prosesstrinn for produksjon av løypekoagulert ost (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 223)

2.4.1 Forbehandling av ystemelk

Forbehandling av ystemelk varierer. Hvilken forbehandling som benyttes kan bestemmes basert på melkens kvalitet. Fersk melk kan brukes direkte etter melking. Melken vil være temperert, men det kan være behov for noe oppvarming dersom melkens temperatur har sunket under ønsket nivå for optimal formodning. Dette avhenger av hvilken syrekultur som benyttes, men normalt ligger temperaturen rundt 30 grader. Dette for å oppnå gode løypevilkår. Dersom melk gjennomgår nedkjøling etter melking, eksempelvis ved oppsamling av melk fra flere melkinger, er oppvarming nødvendig for å oppnå ønsket temperatur før syrekulturen tilsettes. I prosesser for produksjon av pasteurisert ost gjennomgår ystemelken pasteurisering før melken kjøles ned til ønsket temperatur.

2.4.2 Ysteegenskaper

For å få gode ysteresultater er melkens opprinnelige kvalitet viktig. Melk ment for ysting bør ha gode løypeegenskaper, ren lukt og smak, normal sammensetning og ingen tilstedeværelse av fremmedstoffer som for eksempel antibiotika eller vaskemiddelrester. Lavt innhold av bakterier og celletall er avgjørende (Hagenes, 2010 s. 135). God jurhelse er en viktig faktor for å oppnå gode ysteresultater. Forskriftene stiller krav til analyse av celle- og bakterietall i melk som skal gå til foredling. Ved leveranse til meieri vil meieriet gjennomføre disse analysene. Det gjennomføres fra tid til annen sporeprøver for å ha kontroll med dette (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 115-117). Resultater fra slike analyser kan gi grunnlag for om det bør innføres tiltak for sporefjerning, ved eksempelvis å bruke lysozym. Det tas seks melkeprøver per år av hver enkelt ku som analyseres for blant annet celletall (Rådgiver S Teveldal, TINE Rådgivning pers. med. 2018). Resultatene fra disse analysene kan brukes som støtte til å følge med på melkekvaliteten i egen produksjon.

2.4.3 Kjølelagring

Ved ysting av tradisjonelle oster blir det den dag i dag ofte ystet etter hver melking, uten nedkjøling. Denne ystefrekvensen er fordelaktig hva gjelder kvalitet, men den er arbeidskrevende. Å samle opp melk fra flere melkinger for å yste større mengder melk lar seg gjøre med kjølelagring. Ved upasteurisert produksjon anbefales det å bruke dagsfersk melk for å unngå uønsket vekst av mikroorganismer. Ved pasteurisert produksjon kan produsenten velge å lagre melken noe lenger, men pasteurisert ost oppnår bedre kvalitet dersom det brukes fersk melk (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 91). Ved levering av melk til TINE SA er det satt en frist for henting av melk. Henting skal ha blitt gjennomført innen 80 timer fra første melking. Dersom melken ikke er hentet innen fristen skal melkeprodusenten tømme og rengjøre tanken (Medlem.tine.no, 2016).

Melk endres ved nedkjøling og lagring. Kaseinet blir påvirket ved at kalsium løses opp. β -kasein har en tendens til å lekke ut under kjølelagring da det er β -kaseinet som er dårligst bundet i micellene (se kapittel 2.1.2 og figur 1). Fersk kumelk inneholder 4-5 % fritt kasein, som kan øke til 10 % ved kjølelagring i en til to dager. Ved temperering av ystemelken (30 °C) er β -kaseinet dissosiert inn i kaseinmicellene. Ved pH-senking i formodning og videre i prosessen vil kalsium trekke ut av kaseinmicellene, og desto lavere pH jo mere forsvinner med mysen. Det oppnås likevekt i saltbalansen med CCP, fritt kalsium og pH (H⁺). Ysteegenskapene blir dårligere når kalsium og β -kasein er løst fra micellene. og resulterer i at fnokketiden forlenges, koagelet oppnår ikke ønsket fasthet og dreneringsevnen reduseres. Oppvarming og pasteurisering motvirker dette til en viss grad da noe av kalsiumet og β -kaseinet trekker inn i micellene igjen og oppnår sin opprinnelige plass. For at kalsiumet og β -kaseinet skal oppnå opprinnelige posisjon må melken holdes varm like lenge som den har vært nedkjølt, men dette lar seg ikke gjøre i praksis (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 91)

Om melk lagres ved lave temperaturer endres melkens mikroflora. Mikroorganismer som trives ved lave temperaturer, som er skadelige, får et fortrinn sammenlignet med den ønskede mikrofloraen som ikke trives. Melkens normalflora, og andre nyttige mikroorganismer i miljøet som kan bidra positivt til syring og modning, blir svekket av kjølelagring. Under ysting vil bakteriene ha lavere veksthastighet og dermed ha en mindre innvirkning på utvikling av smak, konsistens og særpreg i ost under modning (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 92).

Psykrotrofe mikroorganismer får en oppblomstring under kjølelagring (Fox mfl., 2017b s. 109). Veksten er lav i begynnelsen og er temperaturavhengig. Bakterier innenfor arten *Pseudomonas* er de mest tallrike og relevante psykrotrofe bakteriene i melk.

Pseudomonas tredobles på 24 timer om melken holdes ved 4 °C. Ved høyere temperatur, eksempelvis 8 °C, vil bakterien tidobles i løpet av 24 timer. For å hemme vekst bør melken gjennomgå rask nedkjøling etter melking og holdes lagret under 4 °C (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 92; Walstra mfl., 2006 s. 118-119). *Pseudomonas* produserer ekstracellulære eller intracellulære proteaser, lipaser og fosfolipaser som er motstandsdyktige mot pasteurisering og som kan bidra til osteforringelse. Disse proteinasene kan stimulere til frigjøring av plasmin fra kaseinmicellene i mysefraksjonen, hvilket påvirker smak og strukturutvikling i ost. Enzymet plasmin finnes i rå melk og kommer fra høyt celletall og som nevnt ved vekst av psykrotrofe bakterier. Proteinase kan også hydrolysere α - og β -kasein, spesielt når β -kasein er separert fra kaseinmicellene. Dette resulterer i redusert osteutbytte og kan også påvirke tilgjengeligheten av løype til k-kasein som kan påvirke melkens koagulasjonsegenskaper. Lipaser spalter fett under lagring av melk og danner frie

fettsyrer som kan gi et uønsket smaksbilde og redusert osteutbytte (Panthi mfl., 2017 s. 29). Denne virkningen kan forsterkes dersom melken ikke behandles riktig under lagring (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 91). Fosfolipaser fra psykrotrofe bakterier kan hydrolysere fosfolipider. Lipaser av psykrotrofe bakterier festes til fettpartikler og blir igjen i osten under modning. Lipasene fremmer hydrolyse av triglyserider, hvilket resulterer i økte fettsyrenivåer med tilhørende harsk og/eller usmak i modnet ost (Panthi mfl., 2017 s. 29). Ved nedbryting av fett i ost ved modning dannes det CO₂, hvilket senker pH (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 72-73).

2.4.4 Pasteurisering

Pasteurisering er en varmebehandling som dreper majoriteten av alle vegetative patogene bakterier som er til stede i rå melk (O'Sullivan og Cotte, 2017 s. 306; Walstra mfl., 2006 s. 14 og 244). Begrepet pasteurisering kommer fra den franske kjemikeren og bakteriologen Louis Pasteur, som oppdaget at vin kunne varmebehandles for å forebygge forringelse (Madigan m.fl. s. 38-39 og 196). Enkelte varmetolerante organismer (eksempelvis sporedannende *Bacillus cereus* og *Clostridium* spp.), kan overleve pasteurisering (Early, 2012 s. 423). Rå melk kan inneholde flere patogene mikroorganismer, blant annet *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* og *Mycobacterium bovis* (Vitenskapskomiteen for mattrygghet, 2006 s. 9-13). *M. bovis* forårsaker zoonotisk tuberkulose hos storfe som kan smitte til mennesker via næringsmidler (Rørvik, 2015) Sykdommen storfetuberkulose ble utryddet i 1963 i Norge, med unntak av to utbrudd i storfebesetninger i 1985 og 1986. Avgjørende tiltak som bidro til bekjempelse av storfetuberkulose var systematisk testing av storfe, innføring av kjøttkontroll og pasteurisering av melk (Veterinærinstituttet, u.å.). *Mycobacterium bovis* er en svært varmetolerant vegetativ patogen bakterie, og pasteurisering ved 72 °C i 15 sek vil inaktivere bakterien (Fox mfl., 2017b s. 113-114).

Hensikten med pasteurisering er å gjøre melk trygg for konsum ved å inaktivere vegetative patogene bakterier, samt å øke holdbarhet ved å redusere antall forringende bakterier (Macdonald mfl., 2011; Walstra mfl., 2006 s. 225). Ved kommersiell produksjon i Norge benyttes vanligvis en kombinasjon av temperatur og tid på 72 °C i 15 sekunder (Animaliehygieneforskriften, 2008 Kap. 2; Vitenskapskomiteen for mat og miljø, 2015). Pasteurisering kan oppnås ved andre tid/temperatur-kombinasjoner som tilsvarende 72 °C i 15 sekunder. Ulike kombinasjoner er illustrert i Tabell 2. For melk ved høyere fettinnhold (eksempelvis fløte) eller høyt tørrstoffinnhold må temperaturene økes med 3 °C (Lucey, 2015).

Tabell 2: Ulike tid/temperatur-kombinasjoner for pasteurisering (Lucey, 2015).

Temperatur	Tid
63 °C	30 min
72 °C	15 sek
89 °C	1,0 sek
90 °C	0,5 sek
94 °C	0,1 sek
96 °C	0,05 sek
100 °C	0,01 sek

Melk inneholder komplekse proteiner, lipider, karbohydrater, salter, vitaminer og enzymer, og endres lite ved høye temperaturbehandlinger, sammenlignet med andre næringsmidler (Fox mfl., 2015 s. 345-346). Melk inneholder små konsentrasjoner av flere vitaminer, og vitaminenes næringsverdi endres ikke i nevneverdig grad som følge av pasteurisering. Dette med unntak av vitamin B, som reduseres signifikant av pasteurisering hva gjelder konsentrasjon (Macdonald mfl., 2011).

Varmestabiliteten til melk påvirkes av pH, vanligvis med et maksimum ved den naturlige pH-verdien til melk (pH 6,7) og et minimum ved en pH på omtrent 6,9. Imidlertid er ustabiliteten til melk ved varmebehandling ikke bare forårsaket av micellene, men av denaturering av myseproteinene og deres interaksjon med micellene, så vel som forandringer i kalsiumbalansen. Myseproteiner er lite varmetolerante og dersom de blir utsatt for høye temperaturer kan de endres og bindes til kaseinet i melken. Ved temperaturer over 100 °C forekommer oppløsning av kolloidalt kalsiumfosfat og kalsiumutfelling som en funksjon av pH.

I nærvær av myseproteiner blir overflaten på micellene modifisert under oppvarming. Dette på grunn av bindingen av myseproteiner med κ -kasein. Ved temperaturer over ca. 70 °C denaturerer β -lactoglobulin myseproteiner og begynner å samles. Ved lavere pH (for eksempel pH 6,3) er det en økende binding av myseprotein til micellene (Dalglish og Corredig, 2012).

Dersom denne bindingen oppstår, vil myseproteinene binde vann og ett gram myseprotein bundet til kasein binder 2,3-2,7 gram vann. Dette resulterer i høyere vanninnhold i ferdig ost om det ikke utføres kompensierende tiltak i løpet av ystingen. Myseproteiner med binding til kasein reduserer løypens adgang og det oppnås dårligere koaguleringssegenskaper (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 95). pH i rå melk er omtrent 6,6-6,8, og kan øke noe som følge av pasteurisering. Melk har også relativt god bufferkapasitet (Walstra mfl., 2006 s. 160-162 og 227). Noe av det oppløste kalsiumet binder seg til micellene under oppvarming, men ved pasteurisering vil noe av kalsiumet felle ut som melkestein. Dette kalsiumet er tungt oppløst og har ingen virkning på koaguleringen. Når denne utfellingen skjer blir det frigjort syre, hvilket påvirker melkens pH etter pasteurisering. pH reduseres ned mot 6,4 (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 96).

Melk inneholder omtrent 60 enzymer som er naturlig tilstede (Fox mfl., 2017a s. 622). Ved varmebehandling blir mange enzymer inaktivert (Walstra mfl., 2006 s. 227). Enzymenes struktur endres slik at funksjonene ikke oppnås og dette påvirker ostens modningsprosess. Enzymet lipase blir tilnærmet fullstendig destruert av pasteurisering og nedbryting av fett reduseres. Proteinase kathepsin D inaktiveres av varmebehandling (ved 70 °C i 10 min) (Walstra mfl., 2006 s. 421). Plasmin er det viktigste enzymet for proteinspalting. Enzymet blir delvis destruert ved pasteurisering (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 96). Plasminaktiviteten tiltar ved økt melkeproduksjon, av kyrs alder, mastitt (jurbetennelse) og virkningen av dette enzymet kan føre til et svakt koagel med dårlige synereseegenskaper (lav myseutskillelse). Konsekvensene er redusert utbytte av ost og et høyt vanninnhold (Fox mfl., 2017a s. 622).

Sporefjerning

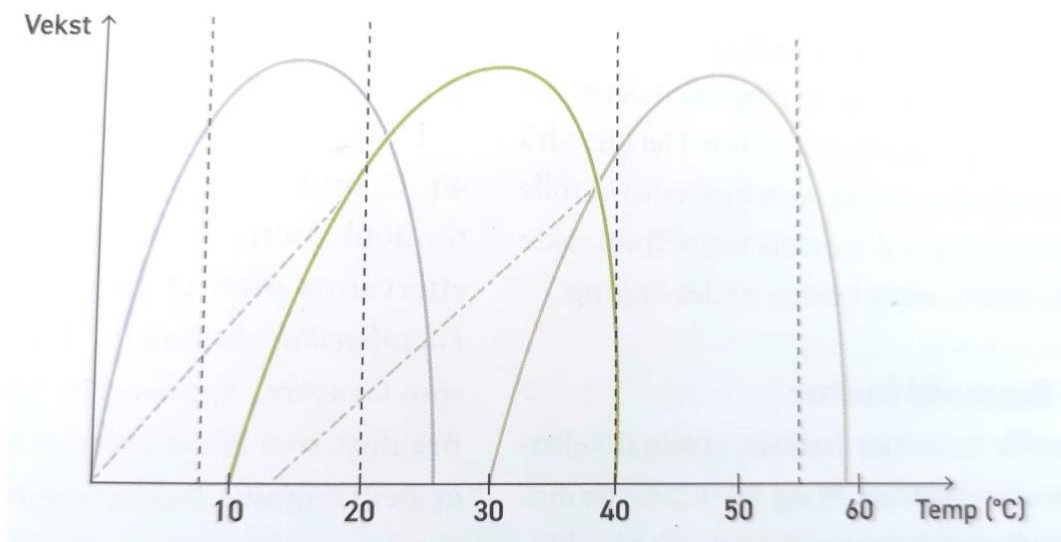
Sponene fra smørsyrebakterier i rå melk ødelegges ikke ved pasteurisering. For å unngå uønsket gassdannelse i ost under modningstiden var det tidligere vanlig å tilsette salpeter, som etter omdannelse til nitritt virker hemmende på smørsyrebakterier. Grunnet forbrukerkrav har denne trenden endret seg. En annen mulighet er å tilsette lysozym, eller ved å benytte baktofugering. Baktofugering gjør det mulig å fjerne opp til 96 % av sporene. Prosessen kan gjennomføres flere ganger, og ved dobbel baktofugering er det mulig å fjerne opp til 99 % av sporene. Dersom melk gjennomgår baktofugering kan mengden salpeter eller lysozym reduseres, eller helt unngås. For å oppnå ytterligere fjerning av sporer, kan det mikrofiltrering benyttes. I denne prosessen er det mulig å fjerne opp til 99,5 % av sporene (Kristensen, 2008 s. 33).

Kalsiumklorid

For å oppnå gode koaguleringssegenskaper er riktige nivåer av Ca-ioner viktig. Ved for lave nivåer kan det føre til at koagelet ikke oppnår ønsket fasthet og resulterer i stort tap av kasein og fett ved skjæring (Walstra mfl., 2006 s. 211). Mellom 5-20 g kalsiumklorid per 100 liter melk er ønskelig for å oppnå god koaguleringsstid og tilstrekkelig fasthet i koagelet. Ved å tilsette kalsiumklorid kan mengde løype reduseres da kalsiumklorid støtter løypens funksjon. Ved å tilsette for store mengder kalsiumklorid kan koagelet oppnå for hard konsistens og det kan bli vanskelig å skjære (Tetra Pak, 2020 kap. 14).

2.4.5 Syrekultur og formodning

Ved produksjon av ost er syrekulturen (også kalt starterkultur) en viktig faktor. Syrekulturen har tre hovedoppgaver: produsere av melkesyre for å fremme løypens funksjon, bryte ned protein og fett under modning og eventuelt produsere karbondioksid for hullsetting. Reduksjon av pH ved syreproduksjon er viktig for å danne et stabilt koagel og for utskillelse av myse. Videre frigjøres salter av kalsium og fosfor som øker ostemassens fasthet. Ved koagulering samles bakterieceller i koagelet. Kulturens syreproduksjon bidrar til å undertrykke overlevende bakterier fra pasteurisering eller rekontaminering av bakterier, som enten trenger laktose eller ikke tåler melkesyre. Melkesyreproduksjonen avtar når ostens laktose er brukt opp (Tetra Pak, 2020). Melkesyrebakterier er genetisk forskjellige, men vanlige kjennetegn av denne gruppen bakterier er at de er gram-positive, ikke sporedannende, anarobe aerotolerante. De fermenterer sukre med melkesyre som hovedprodukt. Kulturene som brukes til osteproduksjon kan deles i to grupper: Mesofile og termofile kulturer (primære syrekulturer). Det kan også benyttes sekundære kulturer. Primære syrekulturer som benyttes til ysting består vanligvis av stammer av *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* og *Lactobacillus* (Walstra mfl., 2006 s. 387). Syrekulturer velges med utgangspunkt i hvilke temperaturer som skal brukes i ysteprosessen, og hvilken type ost som skal produseres.



Figur 3: Vekst ved ulike temperaturer av psykrofile (blå kurve), mesofile (grønn kurve) og termofile (brun kurve) bakterier. De stiplede linjene viser at noen bakterier i gruppene også er i stand til å vokse ved lavere temperaturer (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 45).

Mesofile kulturer vokser mellom 10 og 40 °C (se figur 3), har en optimumstemperatur rundt 30 °C (Fox mfl., 2017a s. 627), og brukes for produksjon av eksempelvis Gouda og Camembert (O'Sullivan og Cotte, 2017 s. 306). Mesofile kulturer består i hovedsak av *Lactococcus lactis* og/eller *Leuconostoc*. Mesofile melkesyrebakterier deles inn i homofermentative og heterofermentative. Homofermentative melkesyrebakterier produseres i hovedsak melkesyre av laktose. Heterofermentative melkesyrebakterier, som ved tilstedeværelse av *Leuconostoc*, vil produsere CO₂, aromastoff og eddiksyre i tillegg til melkesyre av laktose. I kombinasjon med homofermentative melkesyrebakterier blir en slik kultur kalt DL-kultur. Diacetyl tilfører en rund nøttesmak (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 45).

Termofile kulturer vokser mellom 30 og i underkant av 60 °C (se figur 3), har en optimumstemperatur rundt 42 °C (Fox mfl., 2017a s. 627), og brukes for eksempel ved produksjon av Grana (O'Sullivan og Cotte, 2017 s. 306). Termofile kulturer består av to eller flere arter, *Streptococcus thermophilus* og/eller *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* eller *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* (Fox mfl., 2017b s. 122).

Sekundære kulturer tilsettes for å skape en gitt smak eller tekstur og det er vanligvis kulturens enzymer som gir disse egenskapene (Tetra Pak, 2020). I noen oster brukes for eksempel brevibakterier og korynebakterier i overflatemodnede oster, propionsyrebakterier for *Emmental* og mugg for *Brie* og *Camembert*. Enkelte melkesyrebakterier produserer eksempelvis acetaldehyd, eddiksyre og diacetyl som er viktig ved smaksutvikling i produkter som cottage cheese og yoghurt (Fox mfl., 2017b s. 122).

Lysozym

Lysozym er et enzym som ekstraherer polysakkarider fra celleveggen i bakterieceller og skaper en delvis oppløsning av celleveggen og resulterer ofte i lysering. Melk inneholder 0-2 mg per liter naturlig, men mengden er for lav til å ha en effektiv virkning (Walstra mfl., 2006 s. 88-89). Lysozym er følsom for varme, og ødelegges delvis ved pasteurisering. Lysozym bør derfor tilsettes etter pasteurisering, og før løypetilsetning for å oppnå god fordeling i ystemelken. Lysozym fremstilles av eggehvite (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 95 og 119), og er en effektiv hemmer av vekst av gram-positive bakterier og anaerobe sporedannere. Dersom melken inneholder sporer fra eksempelvis smørsyrebakterier kan disse sporene germinere og skape uønsket gassdannelse i ost under modning (Helland, 2020). Lysozym følger kaseinet og mindre enn 1 % av den tilsatte mengden går tapt med mysen (Kristensen, 2008 s. 52).

2.4.6 Løype og koagulering

Etter formodning tilsettes løype. Løype har evnen til å skille ut kasein i melk (koagulering). Løypekoagulering kan deles i tre faser: hydrolysefasen, koaguleringsfasen og herdefasen. I hydrolysefasen spiller kaseinet i melken en viktig rolle. Kaseinet i melk deles inn i fire grupper: α -, β -, γ - og κ -kasein (Hauge og Ore, u.å.). I melk som holder normal pH har kaseinmolekylene negativ ladning. κ -kaseinet har en negativt ladet del som stikker ut som hår, eller haler, på molekylene. Hårene kalles også glykomakropeptider (GMP). Halene på κ -kaseinet gjør at kaseinmolekylene i melken frastøter hverandre (Opplysningskontoret for meieriprodukter, 2020). Løype inneholder to proteaser (enzymmer som spalter protein): kymosin og pepsin (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 19). Kymosin og pepsin kutter κ -kaseinets haler og i denne prosessen tapes 4-5 % av kaseinet i mysen. Reaksjonen med kutting av haler er hydrolysefasen. Når den negative ladningen oppløses vil micellene miste evnen til å frastøte hverandre. Koaguleringsfasen inntreder ved at kaseinet begynner å trekke mot hverandre og melken får en tykkere, kornete konsistens (som surmelk). Korneddannelsen kalles *fnokking*, og tiden fra løypen tilsettes til fnokking kalles *fnokketiden*. Kaseinet fortsetter å trekke sammen og videre inntreder herdefasen. I denne fasen samles kaseinet og danner en stor masse, eller nettverk. Prosessen er kjent som koagulering (Fox mfl., 2017b s. 186; Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 19).

2.4.7 Skjæring

Etter koagulering skjæres ostemassen. Ostekornenes størrelse påvirker utskillelse av vann fra kaseinmicellene (synerese) og drenering av myse. For oster med lavt vanninnhold skjæres koagelet i små ostekorn og for oster med høyt vanninnhold skjæres det i større ostekorn. Fettpartikler skilles ut under skjæring og fettutskillelsen tiltar ved finere skjæring. Like etter skjæring vil ostekornene gjennomgå synerese. (Fox mfl., 2017a s. 629). Synerese påvirkes av ostemassens sammensetning, og dette er en viktig årsak til å standardisere sammensetningen av ostemelken. Høyt fettinnhold forårsaker dårlig synerese, fordi fett egentlig er et inert fyllstoff i gelen. Å øke proteininnholdet, opp til en viss verdi, fremmer synerese. Dersom proteininnholdet er for høyt, blir koagelet for fast og har dårlig synerese (Fox mfl., 2017b s. 233). Omfanget av synerese fremmes av høy konsentrasjon av kalsium. Synerese fremmes ved å redusere pH i ostemassepertiklene (Guinee mfl., 2002).

2.4.8 Ettervarming

Ettervarming gjøres med hensikt i å regulere ostens tørrstoffinnhold. Ettervarming av ostekorn utføres etter skjæring. Tørrstoffinnholdet påvirkes av intensitet ved røring og ettervarmingstemperatur. Tørrstoffinnholdet varierer hos ulike oster og bløte oster skal ha lavt tørrstoffinnhold. Slike oster røres lite og koagelet gjennomgår ikke ettervarming. Halvfaste og faste oster skal ha høyere tørrstoffinnhold og gjennomgår kraftigere røring og ettervarmes til 38-40 °C for halvfaste oster, og til 50-55 °C for faste oster i omlag 30-40 minutter. Hvor lang ettervarmingstid som trengs baseres på erfaring og hvilken ost som skal produseres. Ved ettervarming kan avtapping av myse for å redusere ostens innhold av laktose være fordelaktig da dette vil regulere dannelse av melkesyre og ostens slutt-pH (Statens Næringsmiddeltilsyn, 2003 s. 39).

De fleste bakterier trives ved 37 °C og ved ettervarming påvirkes bakteriene til å trives dårligere. Patogene bakterier hemmes betydelig ved ettervarming ved 53 °C i 45 minutter (Bachmann og Spahr, 1995). Hemmingen skjer trolig av at enkelte av cellens proteinholdige komponenter denaturerer og bakteriecellen ødelegges. Ved ysting benyttes ofte en sammensatt syrningskultur bestående av mesofile og termofile bakterier. De mesofile bakteriene vil også påvirkes av en slik ettervarmingstemperatur (Statens Næringsmiddeltilsyn, 2003 s. 40).

2.4.9 Drenering og pressing

På et tidspunkt i fremstillingsprosessen (f.eks. like etter koagulering for Camembert, etter tilberedning til Emmental eller etter surgjøring for Cheddar) blir ostemassene overført til former med karakteristisk form og størrelse. Hovedformålet med å overføre ostekornene til en osteform er å la ostemassen danne en sammenhengende masse. Ostemasser med høy fuktighet vil samles lett under egen vekt, men det kreves pressing for ost med lav fuktighet (Fox mfl., 2017b s. 246). Fastere oster blir vanligvis presset i osteformene med nett for god drenering. Dette resulterer i at ostene synker fint sammen og oppnår glatt overflate som gjør videre stell enklere. I tillegg til å skape glatt overflate vil pressing føre til at myse som ligger mellom ostekorn blir presset ut. Mysen som befinner seg inne i ostekornene blir ikke påvirket av press, men blir frigjort med synerese og syrning. Press bli omtalt som g/cm² og varierer ut fra hvilken ost som produseres (fra 0,5 kg per ost til 1,5 tonn for store, faste oster) (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 248). Det er viktig at ostemassene er varme under pressing, spesielt for ostemasse med lite fuktighet for å oppnå god drenering og synerese (Fox mfl., 2017b s. 246). God temperatur gir rask syrning, som er viktig hva gjelder trygghet i osten. Temperaturen i ysteriet må tilpasses for å få riktig temperatur i osten ved drenering, dette er spesielt viktig ved produksjon av små oster da de lettere taper temperatur. Osteformer med tykke vegger bevarer også temperaturen godt. Også vending av ost påvirker mysedrenering og ostens slutt-pH (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 249).

2.4.10 Salting

Salt bidrar til smaksdannelse, fremmer synerese og forsinker bakterielle prosesser ved modning av ost. Salting av ostemasse trekker ut fuktighet ved osmose og spalting av proteiner. Det osmotiske trykket kan ses på som dannelse av sug på ostens overflate som trekker fuktighet ut. Vann trekkes ut som resulterer i lavere nivå av tilgjengelig vann for mikrobiell vekst. Vanligvis ligger saltinnholdet i ost mellom 0,5 - 2,0 %. Dette gjelder ikke for eksempelvis blåmuggost som vanligvis holder et saltinnhold mellom 3 - 7 %. Ved salting byttes kalsium med natrium i kaseinet hvilket resulterer i en jevnere konsistens (Tetra Pak, 2020 kap. 14).

Mettet saltlake blir benyttet for salting av ost. Ved salting vil noe av ostens myse trekkes ut og det er derfor nødvendig å ha kontroll med konsentrasjonen for å sikre trygge betingelser for salting.

Ved salting vil noe fuktighet trekke ut av ostene og overføre myseproteiner, melkesyre og mineraler til saltlaken, og erstatter kalsiumioner i osten som diffunderer ut med mysen til en viss grad. Ved tillaging av saltlake må dette tas i betraktning og ved bruk bør saltlaken testes jevnlig for dens sammensetning og temperatur. Salt og vann blir blandet og pH-verdi bør justeres ved tillaging. Justering av pH kan gjøres med spiselig syre til pH 4,6 - 4,8 for å oppnå lavere verdi enn pH hos ferdig ost. Det bør også tilsettes kalsiumklorid (CaCl_2) til et kalsiuminnhold på 0,1-0,2 %, dette for å unngå slimete osteskorpe da natrium bindes til kaseinet og natriumkaseinet sveller til en slimete masse i saltlaken (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 253).

2.4.11 Modning

Når ostemassen er nylig ystet har den en gummiaktig konsistens. Man kan da nyte osten som den er, eller legge den til modning. I modningsprosessen gjennomgår ost mange prosesser av mikrobiologisk, biokjemisk og fysisk betydning. De biokjemiske endringene som oppstår under modning kan grupperes i primære hendelser som inkluderer metabolisme av resterende laktose og laktat og sitrat, lipolyse og proteolyse. Disse prosessene påvirker laktose, protein og fett og er det som danner den karakteristiske smaken, lukten, konsistensen og teksturen for hver enkelt ostetype. Modningsprosessen skjer ved hjelp av enzymer og mikroorganismer inne i ostemassen og på ostens overflate. Selve modningstiden varierer fra noen dager til flere måneder - avhengig av ostetype. For å oppnå vellykket modning, må osten lagres under gitte betingelser. Fuktighet og riktig temperatur er spesielt viktige faktorer for å sikre ønsket resultat (Hagenes, 2010 s. 157). Ved produksjon av ost vil kontroll og regulering av melkesyrebakterienes utvikling være avgjørende og teknikkene som er utviklet for å produsere ulike typer ost er alltid rettet mot dette. Ved god kontroll er det mulig å påvirke graden og hastigheten av melkesyrebakterienes laktoseforbruk (Tetra Pak, 2020 kap 14).

Nedbryting av protein, proteolyse, ansees som den mest komplekse nedbrytingsmekanismen under modning ost. Under lagring og modning vil mikroorganismer og enzymer fra melken, løypen, startkultur og annen mikroflora bidra til proteolyse. Produktene av nedbrutte proteinene bidrar mye til smak, men også til strukturendringer som hardhet, elastisitet, klebrighet. Omfanget av slike endringer på grunn av proteolyse varierer fra lite (f.eks. Mozzarella) til mye (f.eks. blåmuggoster). (Fox mfl., 2017b s. 414-428).

Enzymet plasmin kan spalte alle kaseiner, men virker spesielt godt på α_{s2} - og β -kaseiner. Proteolyse forårsaket av plasmin kan gi ønskede endringer i smak og aroma, men kan også gi en bitter, uønsket smak til produktet. Plasmin har et pH-optimum rundt 7,5 (Fox mfl., 2017b s. 420-421).

Også melkesyrebakterier har en proteolytisk funksjon. Til tross for å være svakt proteolytiske har de evnen til å spalte noen proteiner og et stort utvalg peptider. Melkesyrebakterier forgjærer laktose og er avhengige av det for å vokse, så mengde laktose som ikke har gått ut med mysen vil derfor ha direkte innvirkning på hvor mye proteinnedbrytning, forårsaket av melkesyrebakterier, som vil skje i osten. *Lactococcus* og termofile *Lactobacillus* kan være med i en startkultur, men dør raskt etter at ostemassen er dannet. Da vil enzymene fra disse cellene være fritt i massen og kunne bidra til nedbrytning (Fox mfl., 2017b s. 421-423).

Etter at melkesyrebakteriene har lysert kan det vokse frem en sekundær mikroflora i osten. Opprinnelig vokste denne floraen frem som et resultat av ytre faktorer, som pH, relativ fuktighet, temperatur og vannaktivitet (Fox mfl., 2017b s. 428). Ved produksjon av ost på kommersielt nivå er det derimot vanlig å tilsette en sekundærkultur under ysting for å fremme et ønsket resultat, eksempelvis ved å tilsette *Penicillium roqueforti* eller *P. camemberti* for å fremme vekst av mugg.

I modningsprosessen blir fett spaltet, og glyserol og ulike fettsyrer frigjøres. Korte fettsyrer har sterk lukt og smak, og bidrar til den karakteristiske aromaen hos muggoster. I hardere oster, som Norvegia og Jarlsberg, skjer ikke spalting av fett i særlig stor grad, men lipolysen er fortsatt en sterk bidragsyter til smak og munnfølelse (Fox mfl., 2017b s. 406).

Temperatur

Modningsprosessene påvirkes av temperatur og går forttere desto høyere temperatur osten modnes ved. Ved for høy temperatur står osten i fare for å utvikle skarp eller besk smak og primærproteolysen skjer raskere. I primærproteolysen blir proteinene brutt ned til peptider. Dette påvirker ostens konsistens ved at den blir myk og smidig, men det oppnås ikke dannelse av aminosyrer for god smak. Ved lavere modningstemperatur trengs lengre modningstid så enzymene for spalting av fett og proteiner får tid til å gjennomføre spaltingen. På grunn av dette oppnår man mer smaksdannelse (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 72).

Fuktighet

For å oppnå god utvikling av overflateflora må modningslageret holde tilstrekkelig fuktighet. Utviklingen av kitt, hvitmugg, blåmugg, gråmugg og «villmugg» avhenger av at modningslageret holder en luftfuktighet over 90 %. Også ostens indre avhenger av høy luftfuktighet ved modning. Ved for lav luftfuktighet vil osten tørke ut, hvilket påvirker konsistens. Den blir tørrere og utviklingen av smak går saktere da modningsenzymene har dårlig tilgang på fukt (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 73).

Underlag

Ved modning kan det benyttes flere typer underlag som ostene legges på: rister av stål og plastikk, eller flater av plastikk eller tre. Fjøl av gran er vanlig. Gran har god evne til å ta opp og gi fra seg vann, og bidrar til å holde klimaet i modningslageret stabilt. Gran holder pH rundt 5,2 som er nær løypeosters pH. Modningsfjølene skal helst ikke være høvlet da ru overflate gir bedre forhold for biofilmdannelse og bedre lufttilgang. Høvla modningsfjøl kan føre til at osteskorpene klistrer seg til overflaten. Oster som blir lagt til modning bruker samme fjøl gjennom hele modningsforløpet. Mellom hver ost er det viktig å kontrollere fjølene. Dersom det har oppstått uønsket vekst av mikroorganismer eller mugg må det ikke føres videre til neste ost som skal modne på fjølen. Rengjøring vil være nødvendig. Når ostene plasseres på modningsfjølene må fjølene holde 40-45 % fukt. Nyproduserte og nyvaskede fjøl må derfor ikke brukes da de holder for høy fuktighet. For tørre modningsfjøl trekker fukt ut av osten og gjør at mugg trives bedre enn eksempelvis kitt (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 259).

Overflatebehandlinger

Kitt er en blanding av ulike komponenter og består oftest av bakterier, gjær og melkesopp. Konsistensen på denne blandingen kan være fra rennende til tykk og den kan også bestå av andre tilsetninger som salt, øl og likører. Kittlaken påføres ostens overflate i modningen og frekvensen for påføring kan variere fra en til to ganger i løpet av modningstiden, til flere ganger i uken i flere uker. Kittet danner etterhvert skorpe på osten og denne skorpa kan være opp til 1 cm tykk. Hensikten med å påføre kitt er å tilføre osten smak og aroma gjennom enzymdannelse. Utviklingen av smak og aroma bestemmes av mikroorganismene som blir dominerende og dette avgjøres av hvilken pH osten holder, ostens tørrstoffinnhold, modningsrommets temperatur og luftfuktighet, hvor ofte kittblanding blir smurt på og hvilken blanding osten vaskes med. Med mange faktorer som spiller inn på resultatet kan man oppnå store forskjeller i smaksbildet (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 83).

Modningslengde

På generell basis sies det at patogene bakterier dør ut i løpet av modningstiden. Desto lengre ostene modnes vil sannsynligheten for forekomst av patogene bakterier reduseres. Bachmann & Sphar (1995) påviste ikke patogene bakterier i faste oster etter 7 dager. For halvfaste oster ble det derimot påvist *L. monocytogenes* etter 90 dagers lagring, og de fleste andre patogene bakterier ble ikke påvist etter 60 dagers modning. For fast og halvfast ost er modning i minst 60 dager en barriere for patogene bakterier, da de dør ut i løpet av denne perioden (Mattilsynet, 2009).

2.5 Klassifisering av ost

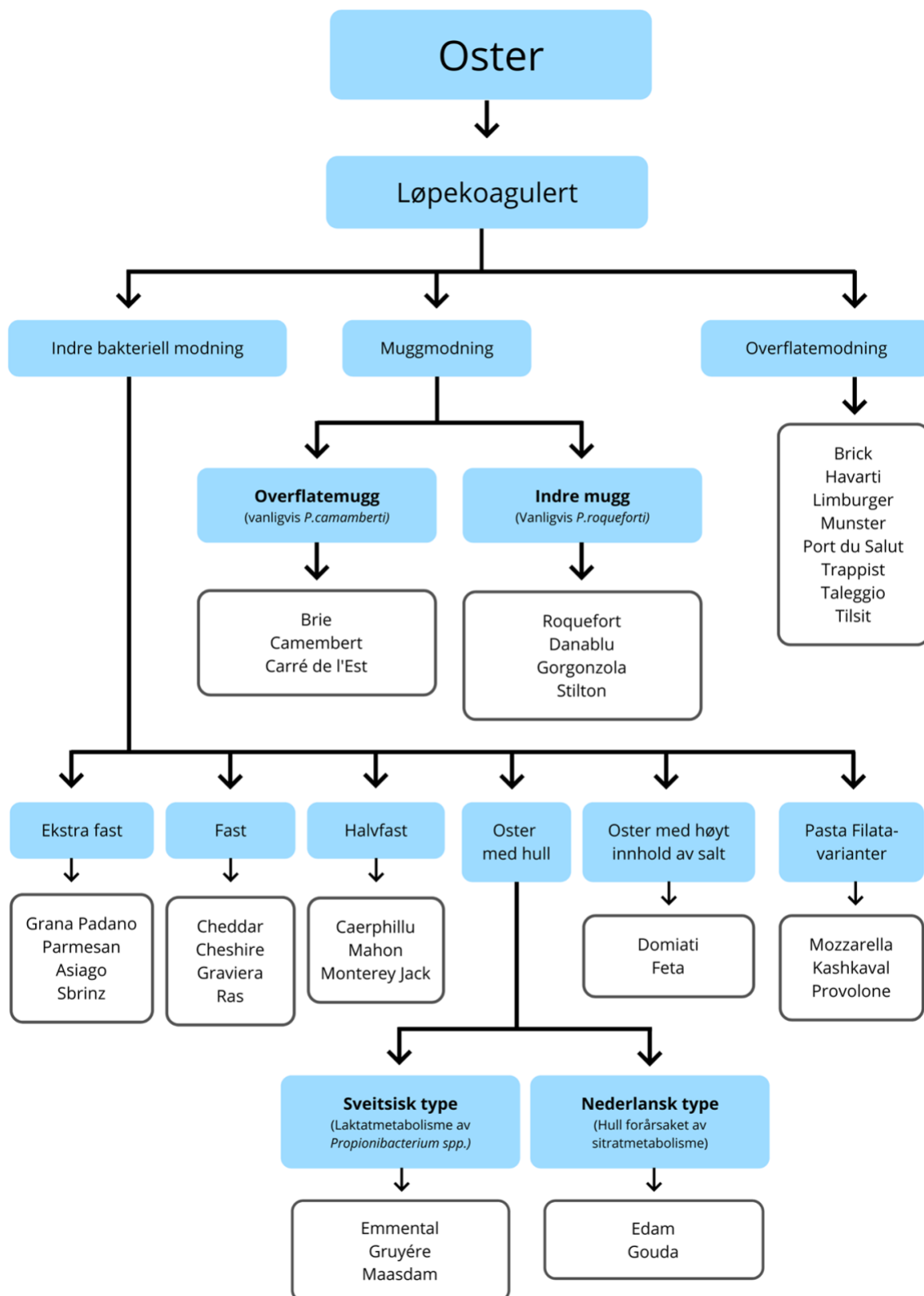
Ost blir klassifisert på mange måter. Eksempelvis opererer TINE SA med 11 ulike klasser: *Blåmuggost*, *Brunost*, *Chevre*, *Hvitmuggost*, *Hvitost*, *Kittmodnet ost*, *Kremost*, *Norsk tradisjonssost*, *Prim*, *Revet ost* og *Smøreost* (Meieriet, u.å.). Butikkjeden Meny opererer med 7 (Meny, u.å.).

Ost har blitt klassifisert i 13 «superfamilier» (se figur 4). I dette arbeid ble det ikke skilt mellom ulike melkeproduserende dyr og derfor er ikke klassifiseringen helt tilfredsstillende. For enkelhets skyld kan de viktigste ostefamiliene diskuteres ved bruk av denne ordningen (Figur 4). Modnede oster produseres med løypekoagulering, og utgjør omtrent 75 % av verdens totale osteproduksjon. Variasjonen av løypekoagulerte oster er stor og de er videre inndelt basert på type modningsaktører (primære- og sekundære syrekulturer) og/eller karakteristisk teknologi.

Den mest varierte gruppen av løypekoagulerte oster kalles «indre bakteriell modning», og inkluderer i hovedsak faste og halvfaste oster. Benevnelsen «indre bakteriell modning» kan være misvisende da naturlig tilstede melkeenzymmer spiller en viktig rolle i modningsprosessen av disse ostene. Gruppen deles videre inn etter fasthet (Ekstra fast, fast, halvfast osv.) og hullsetting. Gruppen inkluderer også oster som modner i saltlake (*Feta* og *Domiat*) og varianter av *Pasta Filata*, som gjennomgår strekking i varmt vann som strukturerer ostemassen før salting (Fox mfl., 2017b s. 29-30).

Gruppen «Muggmodning» deles inn etter om oster danner overflatemugg eller indre mugg. For oster med vekst av overflatemugg er modningen preget av veksten av *Penicillium camemberti*. For muggoster med indre muggdannelse ("blå" oster) vokser *P. roqueforti* i ostemassens sprekker. Gruppen «Overflatemodning» består av oster som er preget av at det skjer en utvikling av en kompleks mikroflora på ostens overflate. Mikrofloraen består av gjær ved modningens start og senere av bakterier.

Ost kan også kategoriseres som en krysning mellom grupper. Eksempelvis er osten *Gruyère* klassifisert som en ost i gruppen «indre bakteriell modning», men det er en variant med hull som er preget av veksten av en overflatemikroflora. Osten *Tilsiter* er en overflatemodnet ost som også preges av bakterielle- og enzymatiske prosesser under modning. Noen oster klassifiseres som overflatemodnet (f.eks. *Havarti* og *Port du Salut*), men er ofte produsert uten overflateflora og er derfor, i virkeligheten, myke indre bakterielt modnede varianter (Fox mfl., 2017b s. 31). Denne typen ost kan ha ulik fasthet etter produksjonsmetode. Oversikten i Figur 4 er et nyttig verktøy for klassifisering, og presenterer mangfoldet av ost.



Figur 4: Mangfoldet av ost. Ostersorter klassifiseres i «superfamilier» basert på koaguleringsmetode og er videre gruppert etter type modningsaktører (primære- og sekundære syrekulturer) og/eller karakteristisk teknologi. Modifisering av figur 3.1 (Fox mfl., 2017b s. 30).

2.5.1 Klassifisering av ost etter fasthet og fettinnhold

Som grunnlag for beskrivelse og klassifisering av ost kan flere faktorer vektlegges. Produksjonsmåte, næringsinnhold og smak er faktorer som spiller inn, og klassifiseringen påvirkes av målgruppen for produktet. Om forbrukeren er opptatt av fettinnhold, fasthet, smak, lagringstid eller bruksområde vil dette kunne påvirke formidlingen av ostens egenskaper. Som produsent er det vanlig å kategorisere ost etter produksjonsmetode og dette må kommuniseres på en presis måte. Ved salg må ost ha en varebenevnelse. Tabell 3 viser eksempler på benevnelser som kan benyttes basert på vanninnhold (Vann i fettfri ostemasse/VFFO) og fettinnhold (Fett i tørrstoff/F/TS) (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 15).

Tabell 3: Klassifisering av ost basert på vanninnhold (Vann i fettfri ostemasse/VFFO) og på fettinnhold (Fett i tørrstoff/F/TS). (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 15; Tetra Pak, 2020 kap. 14)

Benevnelse	VFFO %
Ekstra fast	<51 / <41 (Tetra Pak, 2020 kap. 14)
Fast	49-56
Halvfast	54-63
Halvmyk	61-69
Myk	>67
Benevnelse	F/TS %
Ekstra fet	>60
Fet	45-60
Halvfet	25-45
Mager	10-25
Ekstra mager	<10

For å beregne verdiene for VFFO og F/TS benyttes følgende formler:

$$VFFO = \frac{Vanninnhold}{Total\ vekt\ av\ ost - fettinnhold} * 100 \quad F/TS = \frac{Fettinnhold}{Total\ vekt\ av\ ost - vanninnhold} * 100$$

Benevnelserne i Tabell 3 gir grunnlag for å klassifisere ost etter ostegruppene i Figur 4. Eksempler på oster med tilhørende *fett i tørrstoff* og *vann i fettfri ostemasse* er presentert i Tabell 4.

Tabell 4: Eksempler på oster klassifisert med fett i tørrstoff (F/TS) og vann i fettfri ostemasse (VFFO) med tilhørende informasjon om ostenes opphav og fasthet (Tetra Pak, 2020 kap. 14).

Type	Opphav	F/TS	VFFO	Fasthet
<i>Parmesan</i>	I	35+	≈40 %	Ekstra fast
<i>Grana</i>	I	35+	≈41 %	Ekstra fast
<i>Emmenthal</i>	CH	45+	≈ 52 %	Fast
<i>Gruyère</i>	F	45+	≈ 52,5 %	Fast
<i>Cheddar</i>	UK	50+	≈ 55 %	Fast / halvfast
<i>Gouda</i>	NL	45+	≈ 57 %	Halvfast
<i>Tilsiter</i>	D	45+	≈ 57 %	Halvfast
<i>Havarti</i>	DK	45+	≈ 59 %	Halvfast
<i>Blue cheese</i>	DK, F, S etc.	50+	≈ 61 %	Halvfast / halvmyk
<i>Brie</i>	F	45+	≈ 68 %	Halvmyk
<i>Cottage cheese</i>	USA	>10	< 69 %	Myk

2.6 Lovverk og Matforvaltningen

Forordning (EF) nr. 2073/2005 av Næringsmiddelhygieneforskriften setter krav til grenseverdier av *Listeria monocytogenes* i spiseklare (Ready-to-eat) produkter. Spiseklare produkter kan konsumeres uten ytterligere oppvarming og forordningen skiller mellom spiseklar mat der bakterien kan vokse og der den ikke kan vokse. Kravene til forebygging gjelder produsenter av alle typer spiseklar mat, ikke bare risikoprodukter (Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010). Typiske eksempler på spiseklare næringsmidler er kjøttpålegg, salatkjøtt fra kylling, røkt, gravet og raket fisk, fiskepudding, ost, smør, frukt og grønnsaker (Fjetland, 2016).

Grenseverdier for tilstedeværelse av *Listeria monocytogenes* er fastsatt basert på hvilken næringsmiddelkategori produktet tilhører.

Tabell 5: Oversikt over de tre ulike næringsmiddelkategoriene med forklaring.

Kategori	Kriterier
1	næringsmidler beregnet på spedbarn, og til medisinsk formål
2	næringsmidler hvor <i>Listeria monocytogenes</i> kan vokse
3	næringsmidler hvor <i>Listeria monocytogenes</i> ikke kan vokse

For å avgjøre om lovgivningen gjelder et produkt, er det viktig å vurdere produktet og behandlingen produktet vil gjennomgå. Produsenten er pålagt å vurdere hvilken kategori (Tabell 5) sine produkt(er) tilhører. Vurderingen skal komme fram i bedriftens internkontroll med redegjøring for vurdering i en fareanalyse. Hvis *L. monocytogenes* har evnen til å vokse i produktet, vil det tilhøre kategorien som tilsier at det er utrygt for menneskelig konsum, og det trengs derfor en spesiell lovgiving på dette (Fjetland, 2016).

Å avgjøre om produktet faller inn under kategori 2 eller 3 kan være utfordrende, men næringsmidler som har en holdbarhetstid på under 5 dager, holder en pH-verdi ≤ 4.4 og a_w (vannaktivitet) ≤ 0.92 , og produkter som holder pH-verdi ≤ 5.0 og $a_w \leq 0.94$ er ansett å tilhøre kategorien for spiseklare produkter der *L. monocytogenes* ikke har evnen til å vokse (kategori 3) (Fjetland, 2016). Innenfor de ulike kategoriene er det fastsatt grenseverdier for *L. monocytogenes* (Tabell 6).

Tabell 6: Grenseverdi for næringsmiddelkategoriene, samt ledd der kriteriet anvendes (Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010)

Kategori	Kriterier	Grense-verdi	Ledd der kriteriet anvendes
1	Spedbarn/ medisinske formål	Fravær i 25 g	Produkter som omsettes innen holdbarhetstiden utløper
2	<i>Listeria</i> kan vokse	100 kde/g	Produkter som omsettes innen holdbarhetstiden utløper
		Fravær i 25 g	Mens næringsmiddelet fortsatt er under umiddelbar kontroll hos den driftsansvarlige for næringsmiddelforetaket som har framstilt det
3	<i>Listeria</i> kan ikke vokse	100 kde/g	Produkter som omsettes innen holdbarhetstiden utløper

For produkter som inngår i kategori 2 er det fastsatt to ulike grenseverdier:

1. 100 kde/g: gjelder dersom virksomheten kan dokumentere at produktet ikke vil overskride grenseverdien på 100 kde/g *L. monocytogenes* ved holdbarhetstidens utløp. Virksomheten kan underveis i prosessen fastsette foreløpige grenseverdier som er tilstrekkelig lave til å kunne garantere at grenseverdien på 100 kde/g ikke vil overskrides når holdbarhetstiden utløper (Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010).
2. Fravær i 25 g: gjelder dersom virksomheten ikke kan dokumentere at produktet ikke vil overskride grenseverdien på 100 kde/g *L. monocytogenes* ved holdbarhetstidens utløp. Denne grenseverdien gjelder mens produktet er i virksomhetens besittelse. Dersom det tas en prøve av et produkt på markedet, skal grenseverdien ikke overstige 100 kde/g i løpet av holdbarhetstiden (Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010).

Før produktet forlater produksjonslokalet skal fem enheter testes. Ved testing skal 25 g analyseres for hver av de fem enhetene og *L. monocytogenes* skal ikke påvises. For produkter som har blitt distribuert skal det utføres fem prøver av produktet, og *L. monocytogenes* skal ikke overstige 100 kde/g ved utgangen av holdbarhetstiden. Alle prøveenheter skal tas av samme parti

Et parti er definert i Næringsmiddelhygieneforskriften, Kommisjonsforordning (EF) nr. 2073/2005 slik:

«en gruppe eller en serie identifiserbare produkter som er framstilt i en gitt prosess under tilnærmet like forhold og produsert på et gitt sted innenfor en bestemt produksjonsperiode.»

(Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010)

I USA er det innført nulltoleranse for tilstedeværelse av *L. monocytogenes* i næringsmidler. Det er det ikke i Europa. Denne vurderingen er gjort på bakgrunn av at *Listeria monocytogenes* finnes naturlig i en rekke miljøer og den høye dosen som trengs for å bli syk av patogenet. Grenseverdien satt av EU er ansett som trygg (Skjerdal mfl., 2016 s. 2). Dersom nulltoleranse hadde vært bestemt i EU kunne dette resultert i et høyt antall tilbakekallinger fra markedet som følger av *L. monocytogenes*, basert på mulige farer som ikke nødvendigvis hadde resultert i sykdom (Løvdal, 2015).

2.6.1 Mattilsynet

På 1950-tallet ble det påbudt å pasteurisere melk i Norge (Mattilsynet, 2013b). I forbindelse med EØS-avtalen fra 1994 ble det norske forbudet mot å lage ost fra upasteurisert melk opphevet, og en rekke småskala osteprodusenter begynte etter hvert produksjon av upasteuriserte oster for å oppnå et sterkere og mer variert smaksbilde i sluttproduktet (Gravdal, 2011).

Ved oppstart av osteproduksjon må produsenten registreres, søke om godkjenning hos Mattilsynet og registrere produksjonens vannkilde. Nyetablerte næringsmiddelbedrifter skal registreres slik at Mattilsynet kan vurdere hvilke tilsyn og tiltak som er nødvendig, basert på kunnskap om hver enkelt bedrift. Det er ikke tillatt å produsere melkeprodukter for omsetning før bedriften oppfyller kravene som stilles til produksjonen og er godkjent. I en oppstartsfase kan Mattilsynet tildele en midlertidig godkjenning fram til bedriften får på plass det som kreves av infrastruktur og utstyr. Ved tildeling av midlertidig godkjenning må bedriften kunne vise at produksjonen er trygg. Når den midlertidige godkjenningen utløper må bedriften søke om alminnelig godkjenning og godkjennes for å produsere produkter for omsetning. Ved driftsendringer må Mattilsynet varsles (Mattilsynet, 2013a).

I alle produksjoner hvor næringsmidler inngår må bedriften følge regelverk hva gjelder emballasje og merking. Det skal også utarbeides en fareanalyse og internkontroll for å oppfylle næringsmiddelovgivningen. I arbeidet med fareanalysen kan HACCP-prinsippet benyttes. HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) er en fareanalyse og risikovurdering spesielt tilpasset næringsmiddelindustrien (Mattilsynet, u.å.). Fareanalysen skal kartlegge prosesstrinn og eventuelle kritiske styringspunkt, holde oversikt for hvilke tiltak som iverksettes dersom avvik oppstår og hvordan avvik skal håndteres. Kritiske styringspunkter for biologiske, kjemiske og fysiske farer skal vurderes og dokumenteres. Som en del av fareanalysen skal de ulike punktene loggføres og dokumenteres for å skape sporbarhet i prosessen. Internkontroll samler bedriftens rutiner med hensikt i å sikre at regelverket overholdes. Eksempler på slike rutiner er renhold, personlig hygiene, temperaturmålinger og avviksbehandling (Mattilsynet, u.å.). Virksomheten skal vurdere om *Listeria monocytogenes* kan vokse i produkt. Denne vurderingen skal inngå i virksomhetens fareanalyse.

Krav om etablering av internkontroll gjelder alle virksomheter som produserer, pakker lagrer eller omsetter næringsmidler. Kravet gjelder ikke for primærprodusenter. (Internkontrollforskriften for næringsmidler, 1995 § 2) Internkontrollen skal tilpasses virksomhetens behov, aktivitet, risikoforhold og størrelse. Internkontrollen skal inneholde hvilke krav bedriften må forholde seg til i næringsmiddelovgivningen, arbeidsrutiner, ansvarsfordeling, rutiner for avviksbehandling, plan for systematisk gjennomgang av internkontrollen, rutiner for tilstrekkelig kompetanse med mer. (Internkontrollforskriften for næringsmidler, 1995 § 5) Det forutsetter også god kunnskap om råstoff og hygiene, spesielt hva gjelder risikofaktorer for sykdomsfremkallende bakterier. Internkontrollen skal sikre kontinuerlig arbeid med fokus på å hindre tilfeldigheter. Det kreves ledelse og synliggjøring overfor ansatte og omgivelser av at ansvar og rutiner utføres i henhold til lovbestemte krav. Internkontrollen bør revideres og arbeidet kontrolleres for å kartlegge om internkontrollen blir fulgt (Mattilsynet, 2012).

Godkjenning som produsent krever tilfredsstillende internkontroll og gode produksjonslokaler (Melkeforskriften, 1995, sist endret 12. september 2005, § 23 og § 25). Forskriften berører alle bedrifter, uansett størrelse, hva gjelder internkontroll og krav til produksjonslokaler. Mattilsynet er ansvarlig for å føre tilsyn med bedrifters internkontrollsystem (Internkontrollforskriften for næringsmidler, 1995 § 6). Utforming og oppfølging av internkontroll kan føles tyngende og komplisert for mange småskalaprodusenter, og prøveuttak med dyre analyser kan være en økonomisk belastning (R. Nordbø, Kompetansenavet Vest, pers. med. 2019). Mikrobiologiske prøver må analyseres av akkrediterte laboratorier. Høsten 2019 ble det inngått et samarbeid mellom TINE SA og Norsk Gardsost om levering av en lang rekke tjenester. En av disse tjenestene TINE SA tilbyr er å hjelpe medlemmene av Norsk Gardsost med oppfølging av produktkvalitet (Medlem.tine.no, 2019).

2.7 Belastningsstudier

Som tidligere nevnt skal virksomheten gjøre en vurdering av om *Listeria* kan vokse i produktet. Denne vurderingen skal inngå i internkontrollen. Virksomheten skal, der det er relevant og nødvendig, undersøke om produktene de produserer overholder trygghetskriteriene frem til holdbarhetstiden utløper.

For å avgjøre om *Listeria monocytogenes* kan vokse i et produkt, må produktets egenskaper vurderes. Vurderingen skal omfatte produktets fysiokjemiske egenskaper og det skal legges til grunne vitenskapelig litteratur og forskningsdata om vekst- og overlevelsesegenskaper for *L. monocytogenes*. Dersom vurderingen gir tilstrekkelig bevis for at *L. monocytogenes* ikke kan vokse i produktet, er det ikke behov for nærmere undersøkelser (Fjetland, 2016).

I spiseklare produkter hvor *L. monocytogenes* kan vokse er det behov for nærmere undersøkelser. Dersom grenseverdien på 100 kde/g innen holdbarhetstidens utløp skal benyttes, skal bakteriens vekst i holdbarhetstiden dokumenteres. Hvis ikke skal grenseverdien *Fravær i 25 g* mens næringsmiddelet er i virksomhetens besittelse, overholdes (Fjetland, 2016; Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010).

Dokumentasjonen skal baseres på undersøkelser som kan omfatte prediktive, matematiske modeller og/eller holdbarhetsstudier (lagringsstudier og belastningsstudier).

Belastningsstudier kan utføres på følgende tre måter:

- med naturlig kontaminerte prøver
- med inokulerte prøver
- med datamodeller som beregner og antar veksten ut fra produktkarakteristikk

Naturlig kontaminerte prøver

Produkter som er naturlig kontaminert med *L. monocytogenes* ved produksjon er det beste utgangspunktet for belastningsstudier. Dette fordi forholdet mellom *L. monocytogenes* og andre bakterier, konserveringsmidler o.l. er korrekt. Eventuelle hemmende effekter fra produktet blir derfor påvist på en representativ måte. Ulempen med slike prøver er at antall *L. monocytogenes* fra start er ukjent, fordi analysemetodene ikke er nøyaktige nok for lave antall *Listeria* (Skjerdal mfl., 2016).

Inokulerte prøver

Forsøk med inokulerte prøver fokuserer på vekst av *L. monocytogenes* mer enn på sluttkonsentrasjon. Forsøk er ofte designet slik at man får fram et verst tenkelig tilfelle under så realistiske betingelser som mulig. Det brukes en blanding av flere stammer *L. monocytogenes* som er funnet på lignende produkter tidligere og som har rask veksthastighet. Stammene dyrkes opp på forhånd i lik temperatur som produktet, så veksten starter like etter inokulering. For å få målbare data, tilføres det ca 100 bakterier per gram ved starten av forsøket. Ulempen med å inokulere prøver er at stammens vekst i noen tilfeller overestimeres. Det kan skyldes at stammen i de naturlig kontaminerte prøvene vokser saktere enn de som tilføres, at *L. monocytogenes* som løsner fra overflater og utstyr i bedriften noen ganger trenger en nølefasen før de begynner å vokse i produktet, og/eller at den hemmende effekten av konserveringsmidler og bakgrunnsflora i produktet blir mindre jo flere *L. monocytogenes*

de har å «kjempe mot». For mange produkter er det imidlertid bare snakk om små forskjeller mellom de to framgangsmåtene. Et viktigere unntak er produkter som har noe melkesyrebakterier i bakgrunnsfloraen, der er det observert store forskjeller (Skjerdal mfl., 2016).

Mikrobiologiske belastningsstudier er et verktøy som tar sikte på å simulere atferden til patogener, eller ødeleggende mikroorganismer, på en matvare under prosessering og distribusjon under de gitte lagrings- og håndteringsforholdene. De består i laboratoriebaserede studier der næringsmidlet er kunstig forurenset med en kjent opprinnelig konsentrasjon av målmikroorganismen. En mikrobiologisk belastningsstudie kan brukes til å bestemme om et næringsmiddel støtter veksten av sykdomsfremkallende mikroorganismer eller som ytelseskriterium for en prosess som er ment å gi en dødelig effekt. Det er verdt å gjennomføre utfordringsstudier på spiseklare næringsmidler når deres prosessering og lagring ikke garanterer å forhindre vekst av mikroorganismen i løpet av den angitte holdbarheten. Den økte etterspørselen etter minimalt behandlet spiseklar mat gir en spesiell oppmerksomhet i definisjonen av holdbarheten. Spiseklare næringsmidler er generelt preget av mild varmebehandling, minimal konserveringsmiddelkonsentrasjon i resepten og lagring ved kjøletemperaturer. Dette kan være utilstrekkelig for å drepe eller forhindre vekst av en viktig patogen mikroorganisme som *L. monocytogenes* (Peck, 2006). Videre økes risikoen for listeriose assosiert med spiseklar mat ved den alltid mer utvidede holdbarheten som kreves av markedet, noe som gir *L. monocytogenes* mulighet til å vokse til nivåer som overskrider grensen som er fastsatt av helsemyndighetene. Definisjonen av holdbarheten til spiseklare næringsmidler bør være basert på studier som har som mål å vurdere *L. monocytogenes* evne til å vokse eller overleve i produktet under forventet lagringsforhold i hele holdbarhetstiden. Holdbarhetsstudier, som vurderer veksten av *L. monocytogenes* i naturlig forurenset mat, kan også tilføres. Selv om det er mer realistisk, er ulempene ved holdbarhetsstudier at tolkningen av resultatene kompliseres av sannsynligheten for å teste forurensede matprøver (som avhenger av forekomsten av forurensningen), det lave nivået og ujevn fordeling av den første forurensningen. Belastningsstudier tillater å vite det innledende forurensningsnivået og trenger lavere prøverenheter for å trekke konklusjoner. Resultatene er imidlertid bare gyldige for næringsmidler og for de spesielle forholdene som er testet. Hvis det oppstår noen vesentlig endring i produktformuleringen eller i prosessen, bør studien gjentas (Spanu mfl., 2014).

En rekke faktorer bør tas i betraktning ved utforming av belastningsstudier. Studiens varighet skal minimum være lik holdbarhetstiden for produktet og analysene skal utføres samme dag som inokuleringen og ved holdbarhetstidens slutt. Det skal gjennomføres et tilstrekkelig antall mellomliggende prøvetakingsintervaller (minst 4-5) over tid. Ideelt sett bør analysene gå utover holdbarhetstiden (1,5 ganger holdbarheten) for å simulere muligheten for at produktet blir konsumert utover den tildelte holdbarhetstiden. Ved hvert prøvetakingsintervall (uttak) bør minimum 3 inokulerte testenheter analyseres. Å øke antallet testede enheter ved hvert uttak vil øke tilliten til studien. Sammen med inokulerte testenheter, bør et antall kontrollenheter analyseres ved hvert uttak. Kontrollenheter er representert av uinokulerte enheter som brukes til å oppdage nivået av naturlig forurensning med *L. monocytogenes*, bakgrunnsfloraen og produktets fysiokjemiske egenskaper. Bestemmelsen av bakgrunnsflora er essensiell for å evaluere mulig samhandling som kan påvirke veksten av *L. monocytogenes*. Produktets fysiokjemiske egenskaper (dvs. a_w , fuktighet, saltinnhold, pH, konserveringsmidler,

gasskonsentrasjoner i modifisert atmosfæreemballasje, osv.) bør overvåkes gjennom holdbarheten for å ta hensyn til faktorer som kan påvirke veksten eller inaktiveringshastigheten til *L. monocytogenes*. Doble- eller tredoble prøvenheter (paralleller) bør testes ved hvert intervallpunkt. Studien bør ideelt sett gjentas i tre uavhengige studier ved bruk av tre forskjellige partier av samme produkt slik at produktvariasjon blir vurdert (Spanu mfl., 2014)

Det er anbefalt at inokulatet består av flere stammer i en belastningsstudie (EURL Lm, 2014), og i utgangspunktet mikrobielle stammer som har opprinnelse i det produktet som skal analyseres (Spanu mfl., 2014).

Listeria innocua som erstatning til *Listeria monocytogenes*

Både *Listeria monocytogenes* og *Listeria innocua* er begge stammer som deler samme naturlige miljø og kan bli isolert fra mange ulike typer næringsmiddel. Både *L. monocytogenes* og *L. innocua* kan bli påvist i myk, modnet ost av kumelk (Liu mfl., 2009). I en studie utført av Hammer mfl. (2017) ble to ulike stammer av *Listeria innocua* (som surrogat for *Listeria monocytogenes*) analysert under produksjon og modning av osten Gruyère (klassifisert som en intern bakteriemodnet variant med hull, men den er også preget overflatemikroflora) (Fox mfl., 2017b s. 31). Tre ysteprosesser ble gjennomført; en uten inokulering og to med inokulering av en stamme i hver ysteprosess. *Listeria innocua* ble tilsatt ystemelken ved nivåer av 10^5 kde/ml. Etter skjæring ble ostekorn og myse varmet til 56 °C i løpet av 30 minutter, og ettervarmet i 20 minutter. I løpet av de første 24 timene falt antallet kolonidannende enheter til et nivå under 10^2 kde/g. Den høye ettervarmingstemperaturen bidro til en distinkt reduksjon av *Listeria*, da denne temperaturen er selektiv for mikrobiell flora og hemmer vekst av uønskede mikroorganismer (Hammer mfl., 2017).

2.8 Spørreundersøkelse som metode

Spørreskjema er en mye brukt forskningsmetode. Det er mulig å fange «det store bildet» relativt raskt og oppnå et stort antall besvarelser. En spørreundersøkelse er et veldefinert og godt skrevet sett spørsmål som en deltager blir bedt om å besvare. Å utforme et spørreskjema (liste over spørsmål) kan gå fort, men å gjennomføre en godt planlagt, gyldig spørreundersøkelse krever mye arbeid. Spørsmålene må være godt formulert og testet. Innsamlet data fra spørreundersøkelser kan ofte være misvisende eller feilaktig, fordi utformingen av spørsmålene og gjennomføringen har vært feilaktig (Børsting, u.å.).

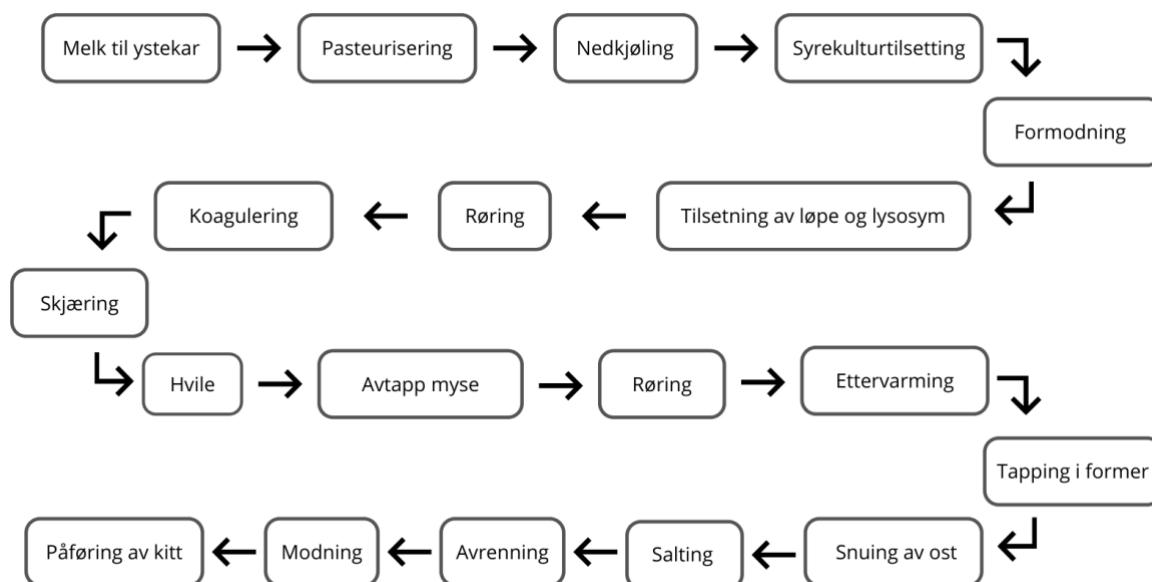
I et kvantitativt forskningsopplegg samles det inn informasjon som lar seg tallfeste eller uttrykke i tallform. Egenskaper som produksjonsmengde og antall ansatte, for eksempel er tall i utgangspunktet. Men også en egenskap som for eksempel kjønn kan la seg uttrykke gjennom tall. Kvinner kan ha verdien 1 og menn verdien 2.

I et kvalitativt forskningsopplegg samles det inn informasjon som ikke lar seg tallfeste på lik måte som ved kvantitative forskningsopplegg. For eksempel informasjon om hvordan produsenter forholder seg til regelverk. I større forskningsprosjekter er det ikke uvanlig å kombinere metodene (Andersen, 2019).

3 Materialer og metoder

Under arbeid med denne rapporten ble det gjennomført et bedriftsbesøk hos et lokalt ysteri, produksjon av ost med og uten inokulering, mikrobiologiske analyser av ystemelken, mikrobiologiske og kjemiske analyser gjennom ostenes modningstid og en spørreundersøkelse. Se Tabell 7 for oversikt over koder brukt ved benevning av prøver og skåler under uttak (0-4) med tilhørende kodeforklaring.

3.1 Flytskjema



Figur 5: Flytskjema over ysteprosessen av referanseost (avsnitt 3.2.1) og oster som beskrives i avsnitt 3.4

Tabell 7: Oversikt over koder brukt ved benevning av prøver og skåler under uttak (0-4) med tilhørende kodeforklaring.

Koder	Kodeforklaring
Uttak 0	
FM	Fersk melk
PM	Pasteurisert melk
MP	Myse pasteurisert
MUP	Myse upasteurisert
K	Kitt
24tP	24 timers pasteurisert ost, usaltet
24tUP	24 timers upasteurisert ost, usaltet
InnP	Inokulert pasteurisert melk, før løypetilsetning
InnUP	Inokulert upasteurisert melk, før løypetilsetning
Uttak 1-4	
Y1	Ystedag 1 (ost uten inokulering)
Y2	Ystedag 2 (ost med inokulering)
Y1Pa	Osteskorpe, pasteurisert ost fra Y1
Y1Pb	Ostemasse, pasteurisert ost fra Y1
KY1P	Kittlake for pasteurisert ost fra Y1
Y2Pa	Osteskorpe, pasteurisert ost fra Y2
Y2Pb	Ostemasse, pasteurisert ost fra Y2
KY2P	Kittlake for pasteurisert ost fra Y2
Y2UPa	Osteskorpe, upasteurisert ost fra Y2
Y2UPb	Ostemasse, upasteurisert ost fra Y2
KY2UP	Kittlake for upasteurisert ost fra Y2

3.2 Ysting av halvfast ost ved lokalt ysteri – «Referanseost»

Det ble avlagt besøk hos et lokalt ysteri høsten 2019 hvor ysteprosessen for «Referanseost» ble observert og en omvisning i ysteriet med tilhørende rom ble gjennomført. I etterkant av besøket ble referanseostens ysteprotokoll overlevert og brukt som utgangspunkt for ysteprotokoll for ysting uten og med inokulering, videre kalt ystedag 1 (Y1) og ystedag 2 (Y2) (se Vedlegg 1). Referanseostens ysteprotokoll ble brukt for utforming av prosessens flytskjema (Figur 5). Ved modningsuttak 4 ble et ostestykke av referanseosten sendt til analyse ved FoodScan™ for å få grunnlag for sammenligning med ostene produsert for dette arbeidet (Y1P, Y2P og Y2UP). Det ble også målt pH og vannaktivitet.

Referanseostens veier omtrent 3 kg etter ysting, modnes i 3-6 måneder, og fra produksjonsdato er holdbarhetstiden satt 7 måneder fram i tid.

3.2.1 Ysting av referanseost

«Referanseosten» ble ystet etter fremgangsmåten i flytskjema (Figur 5).

720 liter melk ble pumpet fra fjøsets melketank til ysteriets ystekar. Melken gjennomgikk pasteurisering (63 °C i 30 minutter) og deretter nedkjøling (ned til 38 °C) før syrekulturen (Sacco mt 092) ble tilsatt. Ystemelken formodnet i omtrent 30 minutter, før pH ble kontrollert. Da ønsket pH var oppnådd ble ystekarets røreverk satt i gang, løype og lysozym (PLA LYO 2D, ripening mix) tilsatt og røringen ble holdt i gang til tilsetningene var tilstrekkelig rørt inn i ystemelken. Videre ble røreverket fjernet og ystemelken stoppet ved hjelp av et flatstål. Melken koagulerte i omtrent 1 time. Deretter ble koagelet manuelt sjekket og godkjent. Ostemassen ble skåret med en osteharpe som ble ført gjennom koagelet gjentatte ganger til hele massen var oppdelt i små ostekorn. Videre ble mysen og ostekornene rørt i noen minutter før ystekaret fikk stå urørt til ostekornene hadde sunket til ystekarets bunn. 15 L myse per 100 L melk ble tappet av ystekaret. Røreverket ble startet og ettervarmingen ble satt i gang ved at 21 L vann per 100 L melk som holdt 70 °C ble tilført over 20 minutter med kontinuerlig røring og manuell kontroll av ostekornene for å unngå sammenklistring. Etter godkjenning av ostekornenes konsistens ble ostekorn og myse overført til osteformer. Ostenett ble plassert på toppen av ostene og en ostevekt á 8 kg ble lagt på hver ost. Videre ble ostene snudd tre ganger i løpet av fire timer. Etter 24 timer ble pH målt og ostene ble lagt i saltlake og overflaten ble strødd med salt. Etter 12 timer ble ostene snudd i saltlaken. Etter totalt 24 timer salting ble ostene lagt til avrenning i 1-2 døgn. Videre ble ostene lagt til modning på modningsfjøl av gran i et modningsrom som holder 11 °C. Etter 2-3 dager ble første påføring av kittlake gjennomført.

3.3 Vekst og overlevelse av *Listeria innocua* i fast, kittmodnet ost.

3.3.1 Inokuleringsstammer

I dette arbeidet ble det benyttet *Listeria innocua* som surrogatorganisme i stedet for *Listeria monocytogenes*, da *L. innocua* har vist seg å ha lignende vekst og overlevelsesegenskaper som *L. monocytogenes*. *L. innocua* fra ost var ikke tilgjengelig. I denne studien ble det derfor benyttet en blanding av *L. innocua* (CCUG 15527) og to stammer (*L. innocua* 198a og 198d) fra et lakselakteri. Stammene ble identifisert som *L. innocua* på Gen III Biolog og med 16S sekvensering i en tidligere masteroppgave ved NTNU (Bremvåg, 2019).

3.3.2 Tillaging av inokulat – *Listeria innocua*

Fryste kulturer av ulike *L. innocua* stammer ble oppformert to ganger på BHIA (24 t, 37 °C) for å sikre rene kulturer. Kulturene ble overført til BHI og dyrket opp i 24 t ved 12 °C for tilpassing av kulturene til lagringstemperatur for osten som skulle inokuleres. Cellene ble sentrifugert ved 5000 rpm i 10 min (Hammer mfl., 2017). Fortynninger ble utført i peptonvann (Pepton 1,0 g/L, Oxoid LP0034 Pepton og salt 8,5 g/L, VWR AnalaR NORMAPUR Sodium Chloride) og absorbans ble målt ved 600nm til ønsket absorbans, OD 0,3 tilsvarer $6,0 \cdot 10^6$ kde/ml (Locatelli mfl., 2017).

De tre kulturene ble blandet i samme volum, fortynnet og OD 600 nm av bakterieblandingene ble målt til 0,156 noe som tilsvarte omtrent $2 \cdot 10^6$ kde/ml. Ønsket kimtall i inokuleringen var 100-1000 kde/ml, hvilket tilsvarte 1 ml av den fortynnede løsningen i 400 L melk.

3.3.3 Bestemmelse av kolonitall for *Listeria innocua* i inokulert ystemelk

For å bestemme kolonitallet for inokulatet, ble 1 ml av inokulatet fortynnet til 10^{-8} i peptonvann. Fire plater med Briliance Listeria Agar ble tilsatt 0,1 ml fra fortynningstrinn -4 til -7 med overflatespredning. Etter inkubering ved 37 °C i 48 timer ble skålene avlest.

3.4 Ysting uten og med inokulering

I overkant av 80 liter kumelk ble hentet hos et lokalt ysteri som produserer upasteuriserte oster. Melken ble fraktet i 30 liters beholdere av rustfritt stål til prosesslaboratoriet hvor den ble satt på kjølerom som holdt omlag 3 °C. Det ble gjennomført mikrobiologiske analyser for å utelukke tilstedeværelse av *Listeria* spp. Etter 48 timer ble melken godkjent. Melken ble delt så 40 liter ble brukt første ystedag (Y1) og de resterende 40 ble brukt andre ystedag (Y2).

Ysteprosessene ble utført tilnærmet lik referanseostens prosess (se figur 5). Det ble gjort endringer for å tilpasse prosessen til utstyr tilgjengelig ved prosesslaboratoriet ved NTNU. Forkortelsene brukt representerer pasteurisert og upasteurisert ved ystedag én og ystedag to. Det ble produsert fire oster etter lik ysteprotokoll (vedlegg x), med unntak av at Y2P og Y2UP ble inokulert med *Listeria innocua* før løypetilsetning. I etterkant av ysting ble det gjennomført mikrobiologiske analyser på prøver tatt ut i løpet av ysteprosessen. Det ble påvist et falsk positivt resultat på Brilliance Listeria Agar for Y1UP, og det ble besluttet å avslutte videre analyser på denne osten.

Pasteuriseringen ble gjennomført i kasseroller på stekeplate med manuell omrøring og temperaturkontroll. Melken ble holdt ved minimum 63 °C i 30 minutter før nedkjøling. Kasserollen ble plassert i isbad og melken ble rørt for å sikre jevn nedkjøling. Melken for upasteurisert prosess ble varmet opp i kasserolle med jevn omrøring og temperaturkontroll likt som ved pasteurisering. Den upasteuriserte prosesslinjen fraviker flytskjema (Figur 5). Den pasteuriserte melken ble overført til ystekar 1 og den upasteuriserte melken ble overført til ystekar 2. Videre ble det tilsatt syrekultur (Sacco Lyofast MT 092 FET – blanding av mesofile og termofile bakterier) og kalsiumklorid (CaCl₂). Å tilsette kalsiumklorid fraviker prosessen i flytskjema, men det ble valgt å tilsette CaCl₂ da ystemelken hadde stått kjølig i to dager. Ystekarene som ble brukt hadde ikke tilhørende lokk, så det ble brukt plastfolie for å sikre at kontaminering ikke ble tilført. Ystemelken gjennomgikk ulik formodning (syrningstid); Y1P = 1 t og 7 min, Y1UP = 20 min. Lysozym (PLA LYO 2D, ripening mix) og løype (Scandirenn Rennet 75/25, 180 IMCU) ble tilsatt og rørt ut i melken for å oppnå jevn fordeling. Melkens bevegelser ble stoppet opp ved hjelp av røreverktøyet. Koaguleringstiden varierte noe mellom ystekarene så etter 45 minutter til 1 time ble koagelet sjekket ved å la en kniv kutte gjennom koagelet og deretter stikke kniven på tvers av snittlinjen ned i snittets startpunkt og løfte opp koagelet så det delte seg i snittflaten. Dette ble gjort flere steder i ystekaret for å sjekke at koagelet var av lik kvalitet. Da koaguleringen ble godkjent begynte skjæringen. Harpen ble manuelt ført gjennom koagelet gjentatte ganger til hele massen var oppdelt. Da riktig kornstørrelse var oppnådd fikk ystekaret stå i ro i omtrent 5 minutter slik at ostekornene skulle falle til ro i bunnen av ystekaret. Deretter ble 3 liter (15 liter per 100 liter melk) av mysen tappet ut av ystekaret. Ystekarets innhold ble rørt og ettervarmingen ble satt i gang ved at det ble tilsatt damp i ystekarenes vegger for å øke temperaturen. Ved kontinuerlig røring ble 4,2 liter (21 liter per 100 liter melk) vann ved 65 °C tilsatt. Denne prosessen fortsatte til mysen og ostekornene holdt 40 grader. Temperaturen ble opprettholdt i 45 minutter ved å tilføre damp i veggene ved behov med kontinuerlig røring for å oppnå jevn temperatur i hele ystekaret. Mot slutten av ettervarmingstiden ble ostekornene undersøkt for tekstur og evne til å holde sammen ved å bli trykt sammen i håndflaten. For å bli godkjent måtte ostekornene ha noe fast konsistens og falle fra hverandre etter å bli trykt sammen.

Da ostekornene ble godkjent ble det benyttet et litermål for å overføre ostemasse med myse over i osteformene. Osteformer (25 cm i diameter), runde ostematter og vekter (å 8 kg) var til låns fra ysteriet hvor referanseosten blir produsert. Røreredskapet ble benyttet for å fordele ostekornene jevnt i formene ved ujevnheter. Formene var satt opp med ostematte i underkant av formene. Da alle ostekorn var fordelt i formene ble en rund ostematte brukt for å få ostekorn som var festet i osteformenes vegger ned i formene. Den runde ostematten ble videre lagt på toppen av ostemassen og en rund vekt på omlag 9 kg ble plassert opp på de runde ostemattene. Ostene ble snudd ved å løfte ostene med formene og snudd slik at ostene ble ført i motsatt ende av osteformene. Dette for å unngå at osten mistet form ved uttak fra formene. Den runde ostematten ble alltid liggende på topp med vekten over seg etter snuing. Ostene ble snudd tre ganger og vekten ble tatt av etter 3,5 time ved siste snuing.

Neste dag ble ostene tatt ut av osteformene. Det ble tatt bilder av ostene, vekten ble målt og prøvemateriell til FoodScan™ og mikrobiologiske analyser ble tatt ut og lagt i små vakuumposer. Det ble målt pH. Videre ble ostene lagt i saltlake og et tynt lag salt ble strødd på siden av ostene som vendte opp. Etter tolv timer ble ostene snudd i laken og saltlaget ble gjentatt. Saltlaken holdt 12 °C og var plassert i modningsskap for å opprettholde temperaturen gjennom hele salteprosessen. Ostene ble tatt ut av saltlaken etter 24 timer og lagt til avrenning på ostematte. Etter 2 dager ble ostene plassert på modningsfjølør laget av gran og satt i modningsskap som holdt 11 °C på prosesslaboratoriet ved NTNU. Kittlaken ble påført første gang tre dager etter at ostene ble plassert i modningsskapet. For informasjon om tillaging av kittlake, se avsnitt 3.4.2.

Andre ystedag (Y2) ble gjennomført likt som Y1, med unntak av at ystemelken ble inokulert med *Listeria innocua* før løypetilsetting. For informasjon om inokulering av ystemelk, se avsnitt 3.3.1. Ystemelken gjennomgikk ulik formodningstid for å oppnå ønsket pH; Y2P = 45 min og Y2UP = 30 min. Da ostemassen og mysen ble overført til osteformene ble mysen samlet opp for å unngå at inokulatet kontaminerte prosesslaboratoriet og arbeidet ble gjort med stort fokus på å minimere spredning. Da ostene ble lagt til modning ble de plassert på modningsfjølør i et kjøleskap som holdt 11 °C på patogenlaboratoriet ved NTNU.

3.4.1 Inokulering av ystemelk

Ved ysting av inokulert ost (Y2P og Y2UP) ble inokulatet tilsatt før løypen. Det ble tilsatt 2 ml inokulat i hvert ystekar, og ystemelken ble godt rørt. Mengden som ble tilsatt ble valgt for å sikre tellbare petriskåler ved avlesning etter mikrobiologiske analyser. For å oppnå målbare resultater ble *L. innocua* tilsatt til ystemelken ved relativt høye nivåer på 10⁵ kde/ml.

3.4.2 Tillaging av kittlake

Kittlake ble tillaget ved å koke 1 liter vann blandet med 150 gram NaCl. Videre ble laken avkjølt til 15 °C og ¼ ts kittkultur (PLA LYO 2 D – Ripening Mix) ble tilsatt og blandet godt ut i saltlaken. Blandingsforholdet tilsvarer at saltlaken holdt 15 % salt. Kittlaken ble deretter fordelt i 4 bøtter så hver ost hadde sin tilhørende kittlake. Kittlaken ble påført første gang tre dager etter at ostene ble plassert i modningsskapet. Videre ble kittlaken påført tre dager per uke i tre uker før frekvensen ble redusert. Fra kittlakene først ble tatt i bruk til uttak 1 hadde kittlakene blitt brukt 7 ganger til påføring. Kittlakene ble ikke analysert ved uttak 2 da ny lake ble produsert like før analysedag. Ved uttak 3 ble

kittlakene (batch to) analysert etter å ha blitt brukt 3 ganger til påføring. Ved påføring ble ostene tatt ut av modningsskapet og lagt på aluminiumsfolie. Det ble benyttet svamp som påføringsverktøy, dette for å kunne autoklavere brukt utstyr (inkludert aluminiumsfolie).

3.4.3 Tillaging av saltlake

Vann (5 L) ble kokt opp og NaCl (3 kg) ble tilsatt og rørt ut. Kaldt vann (5 L) ble tilsatt, og da temperaturen i væsken hadde sunket til omtrent 20 °C ble det tilsatt kalsiumklorid (17 g). Videre ble det tilsatt melkesyre (1,5 ml) for å senke pH til 5,2 (lik pH som 24 timers ost). Saltlaken ble satt til temperering i modningsskapet på prosesslaboratoriet som holdt 12 °C for å oppnå lik temperatur for ostens modning.

3.4.4 Uttak av prøver til mikrobiologiske analyser under og etter ysting

Det ble tatt prøver underveis i ysteprosessene (Y1 og Y2) og etter. Før oppstart ble det tatt ut prøve av den ferske melken, denne prøven ble kodet som FM. Videre i prosessen ble prøven av den pasteuriserte melken kodet som PM. Det ble ikke tatt ut prøve av den upasteuriserte ystemelken da den ble ansett som lik FM. Etter at inokulatet ble tilsatt ved ysting av Y2P og Y2UP ble det tatt ut prøver av den inokulerte melken. Disse prøvene ble kodet som InnP (inokulert Pasteurisert) og InnUP (inokulert upasteurisert). Før mysen ble tappet av ble det tatt ut prøver som ble kodet som MP (myse pasteurisert) og MUP (myse upasteuriser). Da ostene ble tatt ut av osteformene etter 24 timer ble det tatt ut prøver som ble kodet som 24tP (24 t pasteurisert) og 24tUP (24 t upasteurisert). Etter tillaging av kittlaken ble det tatt ut prøver som ble kodet som K (kitt).

3.4.5 Måling av pH under og etter ysting

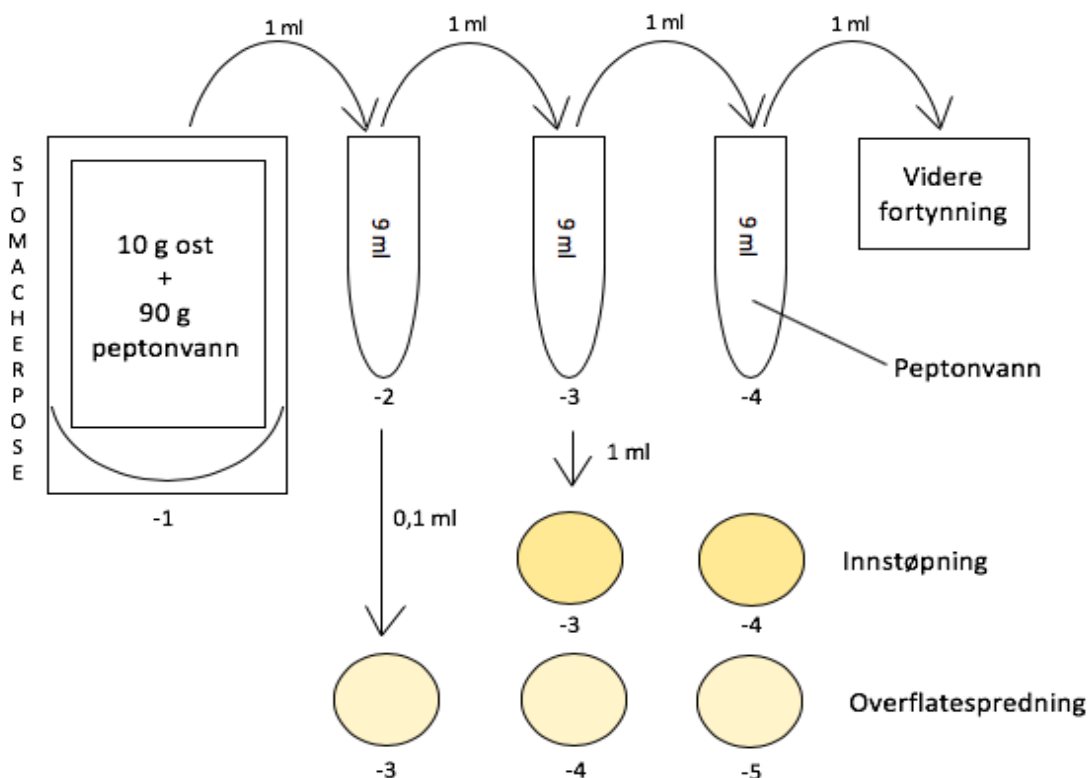
Underveis i ysteprosessene ble pH målt ved flere prosesstrinn ved å benytte pH-meter Testo 206. pH-meteret ble kalibrert før hver målingssekvens. Ved oppstart ble ystemelken målt for å ha melkens startverdi. Videre ble melkens pH målt etter formodning for å kontrollere at ønsket pH var oppnådd. Neste måling ble gjort av koagelet og deretter ble mysens pH målt ved endt ettervarming. Da ostene ble tatt ut av osteformene etter 24 timer ble ostenes pH målt for å få ostenes sluttverdi etter ysting.

3.5 Mikrobiologiske analyser av ystemelk og ost

3.5.1 Uttak av osteprøver

Ved modningsuttak ble det tatt ut osteprøver i form av et «kakestykke». Fra hver av ostene ble minimum 100 gram tatt av til analyse i FoodScan™ Dairy Analyzer ved TINE SA, avd. Verdal og 50-100 gram til mikrobiologiske og kjemiske analyser. Osteprøvene ble tatt ut ved bruk av kniv og de ble lagt i små vakuumposer. Osteprøvene til FoodScan™ ble vakuumert og merket. Prøver til mikrobiologiske analyser av Y1P ble bragt over til patogenlaboratoriet etter uttak, og tilsvarende prøver av Y2P og Y2UP ble tatt ut på patogenlaboratoriet, hvor de mikrobiologiske analysene for alle osteprøver ble utført.

Ved mikrobiologiske analyser ble det benyttet skalpell for å skjære av 10 g prøve som ble overført til en stomacherpose. Det ble målt opp to prøver per ost hvor prøve markert med "a" besto av skorpe og prøve "b" besto av ostemasse fra ostens senter. Dette for å se eventuelle mikrobiologiske forskjeller mellom ostenes skorpe og ostenes indre. Videre ble stomacherposene tilsatt 90 g peptonvann og plassert i stomacheren for å blande prøvematerialet med peptonvannet. En fortynningsserie ble laget for hver prøve ved at 1 ml av væsken fra stomacherposene ble overført til et fortynningsrør med 9 ml peptonvann (Figur 6). Deretter ble fortynningsrøret blandet i en vortex mikser for å blande fortynningen og for å unngå sammenklumping av bakterieceller. Prøvene ble fortynnet til 10^{-9} , før utsåing ble gjort. Det ble utført kun en utsåing per prøve på de ulike agarene. Ved utsåing på overflatespredde petriskåler ble det pipettert 0,1 ml på agarens overflate. Dette tilsvarer en fortynning. En mer utfyllende beskrivelse presenteres i Figur 6.



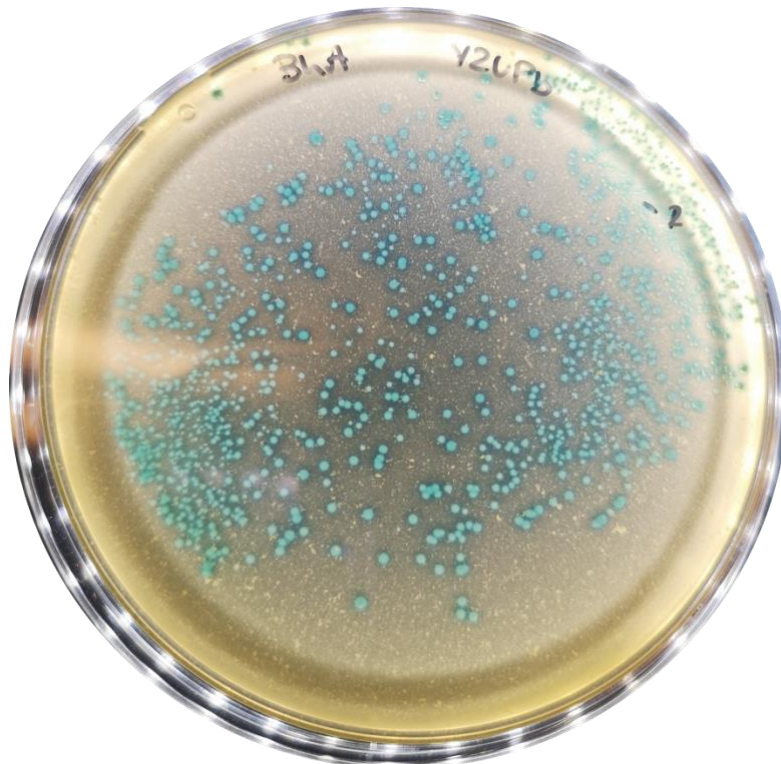
Figur 6: Oversikt over gjennomføring av fortynningsrekke og utsåing på innstøpt og overflatespredt agar.

3.5.1 Tillaging av peptonvann

For tillaging av peptonvann ble pepton (1,0 g/L, Oxoid LP0034 Pepton) og salt (8,5 g/L, VWR AnalaR NORMAPUR Sodium Chloride) målt opp, overført til scottflasker og blandet med avionisert vann. Videre ble flaskene autoklavert og avkjølt før bruk.

3.5.2 Kvantifisering av *Listeria innocua*

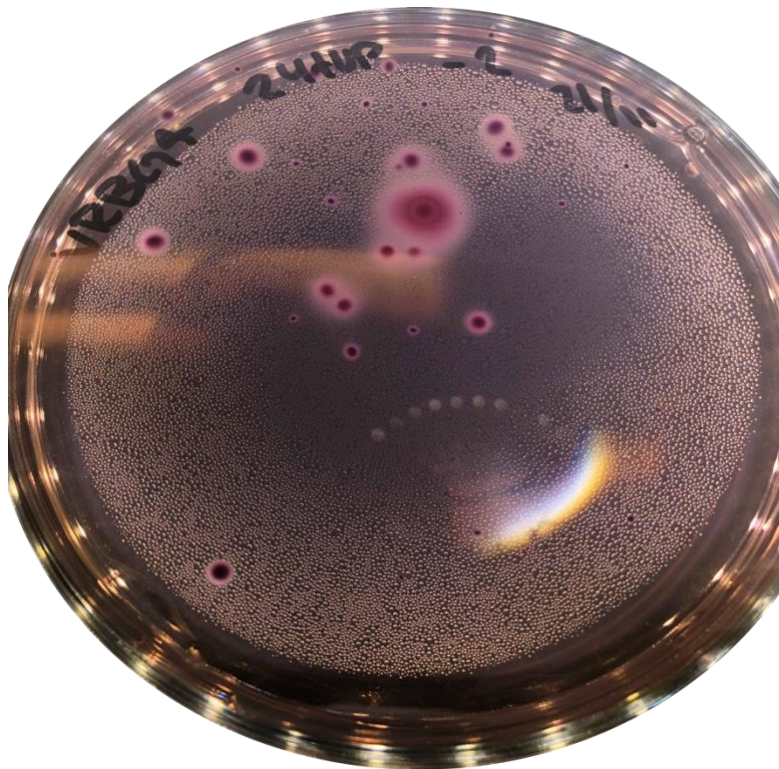
Samtlige prøver ble analysert for totalt kimtall av *Listeria innocua*, etter NMKL-metode nr. 136, utg. 5 (NMKL, 2010). Agar (33,6 g, Oxoid CM1080 Brilliance Listeria Agar) ble tilmålt, blandet med avionisert vann (480 ml) i scottflasker og autoklavert. Etter temperering i vannbad ved 50 °C ble supplementer (en ampulle, Oxoid SR0228E Brilliance Listeria Agar Differential Supplement og en ampulle tilsatt 2 ml autoklavert avionisert vann, Oxoid SR0227E Brilliance Listeria Agar Selective Supplement) aseptisk tilsatt og blandet med agaren. Videre ble agaren fordelt i petriskåler i avtrekkskap og satt til stivning og tørking. Ved utsåing ble 0,1 ml av fortynningsvæsken overført til petriskålene fra planlagte fortynningsrør (se Vedlegg 2, Tabell 1 for hvilke fortynninger som ble benyttet ved hvert uttak) og strøket utover. Petriskålene ble inkubert ved 37 °C ± 1 °C i 48 ± 4 timer med avlesning ved 24 timer og 48 timer. Klart blå, runde kolonier ble avlest (Figur 7).



Figur 7: Vekst av *Listeria innocua* på Brilliance Listeria Agar. *Listeria monocytogenes* vises som blå-grønne kolonier med et sirkulært svakt hvitt felt rundt koloniene. *Listeria innocua* vises som blå-grønne kolonier uten svakt hvitt felt (Thermo Fisher Scientific - Oxoid Microbiology Products, u.å.-a).

3.5.3 Kvantifisering av koliforme bakterier

Prøver ble analysert for total kimtall av *Enterobacteriaceae*, etter NMKL-metode nr. 144, utg. 3 (NMKL, 2005). Agar (38,5 g/L, Oxoid CM1082 Violet Red Bile Glucose Agar) ble tilmålt, blandet med avionisert vann autoklavert og videre temperert i vannbad ved 50 °C. Ved utsåing ble 1 ml av fortynningsvæsken overført til petriskålene fra planlagte fortynningsrør (se Vedlegg 2, Tabell 2 for hvilke fortynninger som ble benyttet ved hvert uttak). 15 ml agar ble tilført skålene og fortynningsvæsken ble blandet med agaren ved å bevege skålene i sirkulære bevegelser. Da agaren hadde stivnet ble det tilført 5 ml av samme agar som topplag. Da agaren igjen hadde stivnet ble skålene inkubert ved 37 °C ± 1°C i 24 ± 2 timer. Klare lilla kolonier ble avlest (Figur 8).



Figur 8: Vekst av koliforme bakterier på Violet Red Bile Glucose Agar. Kolonier skal være rosa/lilla med eller uten halo (Thermo Fisher Scientific - Oxoid Microbiology Products, u.å.-c).

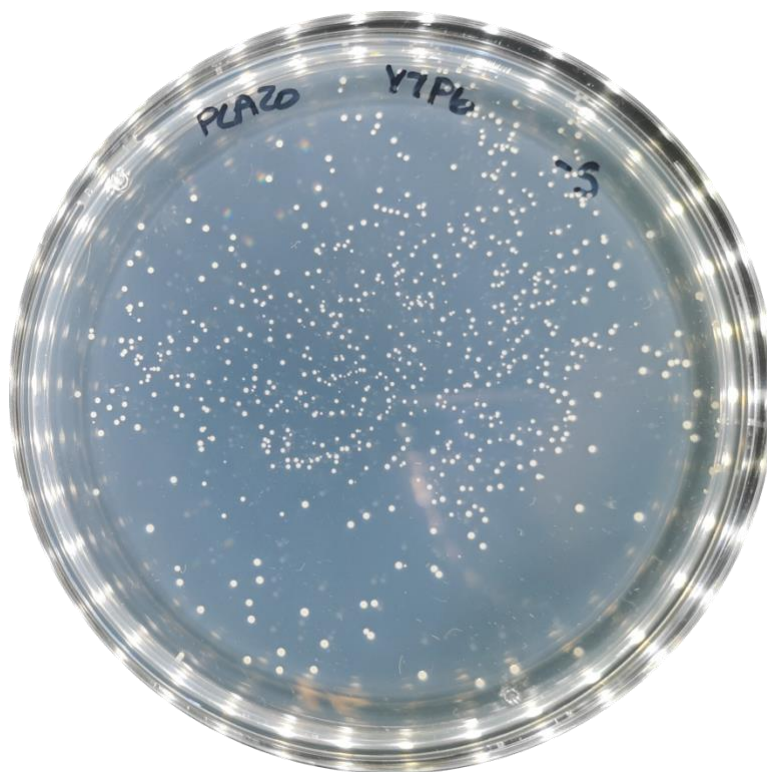
3.5.4 Kvantifisering av psykrotrofe og mesofile bakterier

Samtlige prøver ble analysert for totalt kimtall av aerobe mikroorganismer, etter NMKL-metode nr. 86, utg. 5 (NMKL, 2013). Agaren ble delt i to hvor halvparten ble benyttet ved utstøping av skåler til overflatespredning (PCA20) og resterende brukt til innstøping (PCA30).

Agar (17,5 g/L, Oxoid CM0325 Plate Count Agar) ble tilmålt, tilsatt skummetmelkpulver (1 g/L), blandet med avionisert vann, kokt med omrøring, fordelt i flasker og autoklavert. Etter autoklaving ble flaskene satt til videre temperering i vannbad ved 50 °C. Videre ble agar for PCA20 aseptisk fordelt i petriskåler og satt til stivning og tørking. I forkant av utsåing ble resterende agar smeltet i autoklav og satt til temperering i vannbad.

For overflatespredning (PCA20) ble 0,1 ml av fortynningsvæsken overført til petriskålene fra planlagte fortynningsrør (se Vedlegg 2, Tabell 3 for hvilke fortynninger som ble benyttet ved hvert uttak) og strøket utover. Da fortynningsvæsken hadde trukket inn i agaren ble skålene plassert i romtemperatur (omtrent 20 °C) i 72 ± 6 timer for å fremme vekst av psykrotrofe mikroorganismer. Det var ikke tilgjengelig inkuberskap som holdt 20 °C. Rommets temperatur ble kontrollert hver dag fra utsåing til avlesning for å sikre jevn temperatur.

For innstøping (PCA30) ble 1 ml av fortynningsvæskene overført til petriskåler fra planlagte fortynningsrør (se Vedlegg 2, Tabell 4 for hvilke fortynninger som ble benyttet ved hvert uttak) og 20 ml agar ble tilført. Fortynningsvæsken ble blandet med agaren ved å bevege skålene i sirkulære bevegelser før skålene fikk stivne. Videre ble skålene flyttet til inkubatorskap som holdt 30 °C i 72 ± 6 timer for å fremme vekst av mesofile, aerobe mikroorganismer. Ved endt inkubasjon ble alle skåler telt. Etter normal praksis ved Institutt for bioteknologi og matvitenskap ved NTNU ble petriskåler med <250 kolonier benyttet ved beregning av resultater. Melkehvite kolonier ble avlest (Figur 9).



Figur 9: Vekst av psykrotrofe bakterier på Plate Count Agar. Halmfargede/melkehvite kolonier skal telles (Thermo Fisher Scientific - Oxoid Microbiology Products, u.å.-b).

3.6 Kjemiske analyser

For å få informasjon om ostenes sammensetning ble flere kjemiske analyser gjennomført. Verdier for innhold av fett, salt, vann og tørrstoff, samt ostenes vannaktivitet og pH gir mulighet for å sammenligne ostene og bestemme hvilken kategori ostene klassifiseres som.

3.6.1 FoodScan™ Dairy Analyzer

FoodScan™ Dairy Analyzer er en kjemisk analysemetode som ble gjennomført av laboratoriepersonell ved TINE Verdal. Prøvemateriell blir fordelt i en skål og analysen gir resultater for innhold av salt, vann, tørrstoff og fett. FoodScan™ Dairy Analyzer er et raskt, nøyaktig og brukervennlig instrument for rutinemessig analyse av ost, mysepulver, smør og yoghurt. Ved hjelp av NIR (nær infrarød) overføringsteknologi måles en rekke parametere med minimale prøveforberedelse og gir resultater på bare 50 sekunder (Foss Analytics, 2013). Etter at osteprøvene var analysert ble det oversendt informasjon (per e-post) om prosentvis innhold av salt, vann, fett og tørrstoff.

3.6.2 Vannaktivitetsmåling

Vannaktivitet ble målt ved alle modningsuttak. Vannaktivitetsmåleren (Aqua Lab, CX-2) ble kalibrert før første måling, og rent vann ble analysert før alle uttak som kontroll. Tilhørende beger ble fylt med ostemasse og analysert minimum tre ganger for å kunne kalkulere prøvenes gjennomsnitt.

3.6.3 pH-målinger

For å ha kontroll på ysteprosessen ble pH målt gjennom og etter ysteprosessen med sju målinger ved å benytte pH-meter Testo 206. Videre ble pH målt ved hvert modningsuttak. pH-meteret ble kalibrert før hver måling og det ble gjennomført minimum tre målinger for å kunne kalkulere et gjennomsnitt. Ved modningsuttak 4 ble osteprøvene analysert ved å måle pH i skorpen og ostemassen for å undersøke forskjeller i ostemassen.

3.7 Småskalaprodusenters utfordringer knyttet til *Listeria monocytogenes*

For å bli bedre kjent med Norges småskalaprodusenter ble det utformet en spørreundersøkelse med spørsmål om bedriften, produksjonen, rutiner ved prøvetaking og spørsmål til hvordan regelverk etterleves. Spørreundersøkelsen hadde til formål å belyse småskalaprodusenters utfordringer knyttet til *L. monocytogenes*. Liste over spørreundersøkelsens spørsmål finnes i Vedlegg 3. Spørsmålene ble utarbeidet med veiledning fra Ragnhild Nordbø og spørreundersøkelsen ble distribuert til medlemmene av Norsk Gardsost av henne. Det ble registrert 24 besvarelser hvilket resulterte i et bredt spekter av besvarelser. Undersøkelsen ble utformet i spørreundersøkelsesverktøyet som tilbys i «Google Disk» og besvarelsene er anonymisert. Resultatene er hentet ned som filer fra verktøyet.

4 Resultater

4.1 Mikrobiologiske analyser

Resultatene fra analysering av *L. innocua* på 24timers upasteurisert ost fra ystedag 1 (24tUP fra Y1) viste log 2,90 kde/g. Dette la grunnlag for at denne osten ble utelatt fra videre testing, fordi oster fra Y1 ikke skulle inneholde *Listeria*. I etterkant ble det diskutert at koloniene som vokste fram på agar ikke hadde karakteristikk som forventes av *Listeria innocua*. Det ble antatt at koloniene kunne være *Mycobacterium*. Denne vurderingen ble gjort etter at osten hadde blitt autoklavert, hvilket gjorde videre analyse umulig.

4.1.1 *Listeria innocua*

Kolonitall for *Listeria innocua* i inokulert ystemelk

Etter inkubering ved 37 °C i 48 timer viste kolonitallene $3,73 \times 10^7$ kde/ml (log 7,57 kde/ml) for inokulatet. Ved kolonitelling av den pasteuriserte inokulerte ystemelken var kolonitallene $2,28 \times 10^4$ kde/ml (log 4,36 kde/ml) og $3,27 \times 10^4$ kde/ml (log 4,51 kde/ml) for den upasteuriserte inokulerte melken. (2 ml inokulat blandet med 20 kg ystemelk).

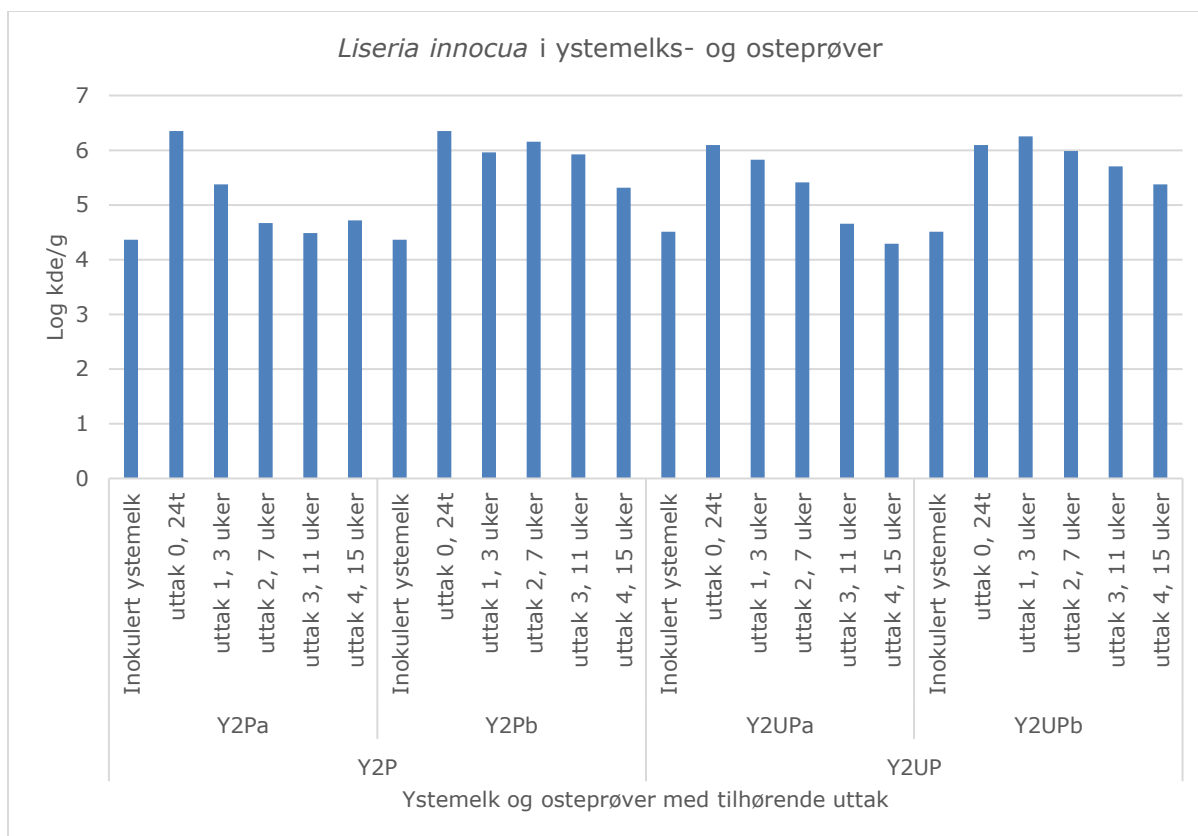
Ystemelk og osteprøver

Utvikling av *Listeria innocua* i inokulert ystemelken og osteprøvene er presentert i Figur 10. Det ble ikke påvist *Listeria innocua* i prøver kodet FM og PM fra Y1 og Y2.

Resultatene for InnP fra Y2 viste log 4,36 kde/ml, og viste for InnUP fra Y2 log 4,51 kde/ml. I Figur 10 vil InnP og InnUP bli presentert med like verdier i fremstillingen av både skorpe og ostemasse. Det ble ikke påvist *Listeria innocua* i mysen fra Y1 (MP og MUP). I MP fra Y2 ble det påvist log 3,27 kde/ml og log 3,31 kde/ml fra MUP.

Osteprøvene fra Y1 viste ingen vekst. For prøver av ost Y2P viser resultatene log 6,35 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y2Pa) viser log 5,37 kde/g og resultatene for ostemassen (Y2Pb) viser log 5,96 kde/g. For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 4,67 kde/g og log 5,93 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 4,49 kde/g for skorpen og log 5,92 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 4,72 kde/g for skorpen og log 5,31 kde/g for ostemassen. Fra uttak 0 til uttak 4 gjennomgikk skorpen en reduksjon av *Listeria innocua* tilsvarende log 0,63 kde/g. Fra uttak 0 til uttak 4 gjennomgikk ostemassen en økning av *Listeria innocua* underveis i modningsforløpet, men oppnådde en total reduksjon tilsvarende log 0,04 kde/g.

For prøver av ost Y2UP viser resultatene log 6,09 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y2UPa) viser log 5,82 kde/g og log 6,25 kde/g for ostemassen (Y2UPb). For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 5,41 kde/g og log 5,99 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 4,65 kde/g for skorpen og log 5,70 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 4,28 kde/g for skorpen og log 5,37 kde/g for ostemassen. Fra uttak 0 til uttak 4 gjennomgikk skorpen en reduksjon av *Listeria innocua* tilsvarende log 0,44 kde/g. Fra uttak 0 til uttak 4 gjennomgikk ostemassen en reduksjon tilsvarende log 0,44 kde/g. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 1.



Figur 10: *Listeria innocua* i inokulert melk og osteprøver gjennom modningsforløpet (uttak 0 – uttak 4). Kode Y2P indikerer ost ystet ved ystedag 2 med pasteurisert inokulert melk. Y2Pa er koden for ostens skorpe, Y2Pb er koden for ostens indre masse. Kode Y2UP indikerer ost ystet på ystedag 2 med upasteurisert inokulert melk. Y2UPa og Y2UPb har lik betydning som forklart ovenfor, men med prøvemateriale fra ost ystet med upasteurisert inokulert melk.

Kittlaker

Kittlaken viste ingen vekst før den ble brukt til påføring (uttak 0). Kittlaken brukt på ost Y1P viste ingen vekst gjennom modningstiden. Resultatene fra uttak 1 for kittlake KY2P viser log 4,04 kde/ml og resultatene for kittlake KY2UP viser log 2,86 kde/g. Mellom modningsuttak 1 og 2 ble første batch kittlake brukt opp ved påføring. Det ble derfor laget ny kittlake, men ved modningsuttak 2 hadde den nye kittlaken blitt brukt til påføring to ganger. Det ble derfor antatt at laken hadde blitt brukt så få ganger at eventuell kontaminering med *Listeria innocua* ikke ville gi utslag ved avlesning. Ved modningsuttak 3 ble kittlakene inkludert ved utsåing og resultatene viste log 1,48 kde/ml i kittlake KY2UP og log 0 kde/ml i KY2P. Ved uttak 4 ble det ikke påvist *Listeria innocua* i kittlakene. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 1.

4.1.2 Koliforme bakterier

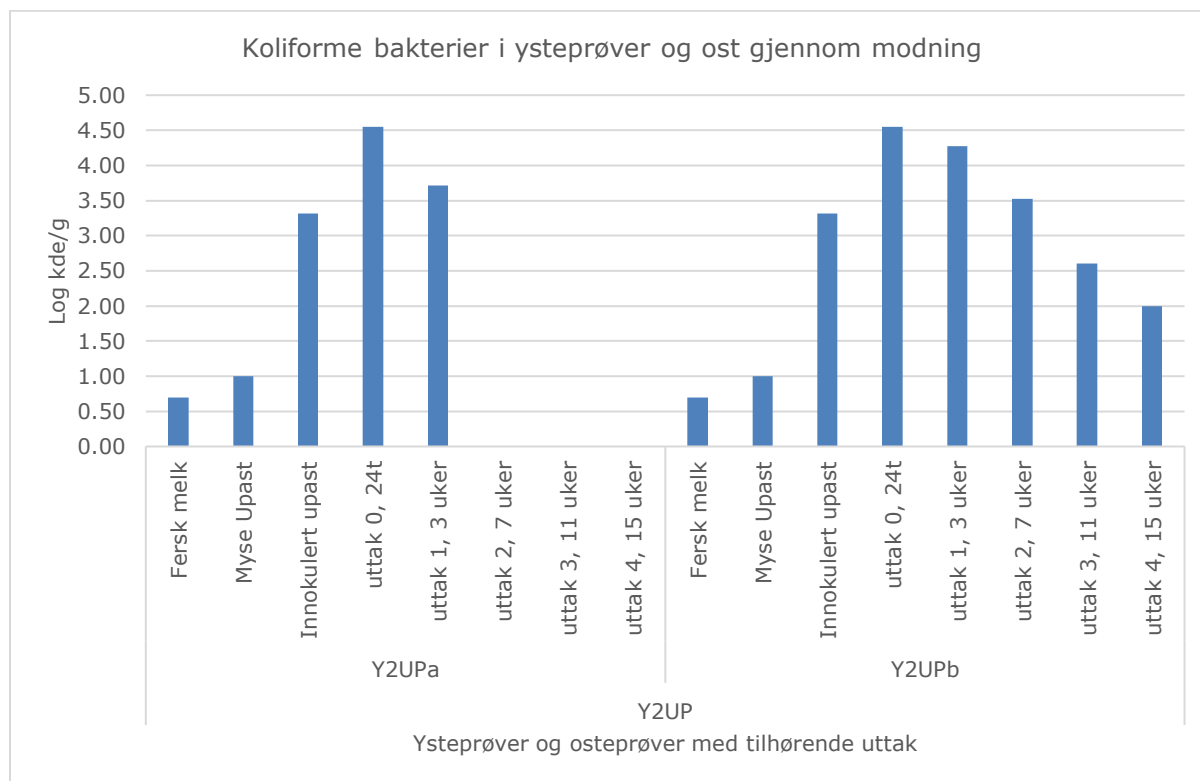
Utvikling av koliforme bakterier fra ysteprøver og osteprøver er presentert i Figur 11. Ystemelken, også kalt fersk melk (FM), ble analysert i forkant av ystedag 1 og 2 og har dermed lik verdi i Figur 11, her log 0,70 kde/ml.

Upasteurisert myse fra ystedag 2 (MUP) ble analysert og gjelder for hele osten (skorpe og ostemasse) og gir lik verdi i Figur 11, her log 1 kde/ml. Upasteurisert, innokulert melk fra ystedag 2 ble analysert en gang og gir lik verdi i Figur 11, her log 3,32 kde/ml.

Osteprøver fra 24timers ost (uttak 0) gjennomgikk kun en analyse. Det ble ikke delt i prøver fra skorpe og ostemasse, og har dermed lik verdi i Figur 11, her log 4,55 kde/g. Det ble ikke påvist koliforme bakterier i PM, MP og MUP fra Y1. Resultater for 24timers upasteurisert ost (24tUP) fra Y1 viste log 3,18 kde/g.

Det ble ikke påvist koliforme bakterier i PM, InnP, MP og 24tP i prøver fra Y1. Resultater for upasteurisert innokulert melk (InnUP) fra Y2 viste log 3,32 kde/ml. Det ble ikke detektert koliforme bakterier i prøver fra ost Y1P og Y2P. Resultater fra 24timers upasteurisert ost fra Y1 viste log 4,18 kde/g. I skorpen fra ost Y2UP (Y2UPa) viste resultatene log 3,71 kde/g ved uttak 1. Ved uttak 2, 3 og 4 ble det ikke påvist koliforme bakterier i skorpen fra ost Y2UP. I ostemassen fra ost Y2UP (Y2UPb) viste resultatene log 4,55 kde/g ved uttak 0, log 4,28 kde/g ved uttak 1, log 3,52 kde/g ved uttak 2, log 2,60 kde/g ved uttak 3 og log 2 kde/g ved uttak 4.

Ostemassen fra ost Y2UP hadde størst tilstedeværelse av koliforme bakterier gjennom modningstiden. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 2.



Figur 11: Koliforme bakterier i osteprøver gjennom modningsforløpet (uttak 0 – uttak 4). Kode Y2UP indikerer ost ystet ved ystedag 2 med upasteurisert melk. Y2UPa er koden for ostens skorpe, Y2UPb er koden for ostens indre masse (begge med prøvemateriale fra ost ystet med upasteurisert melk).

Kittlaker

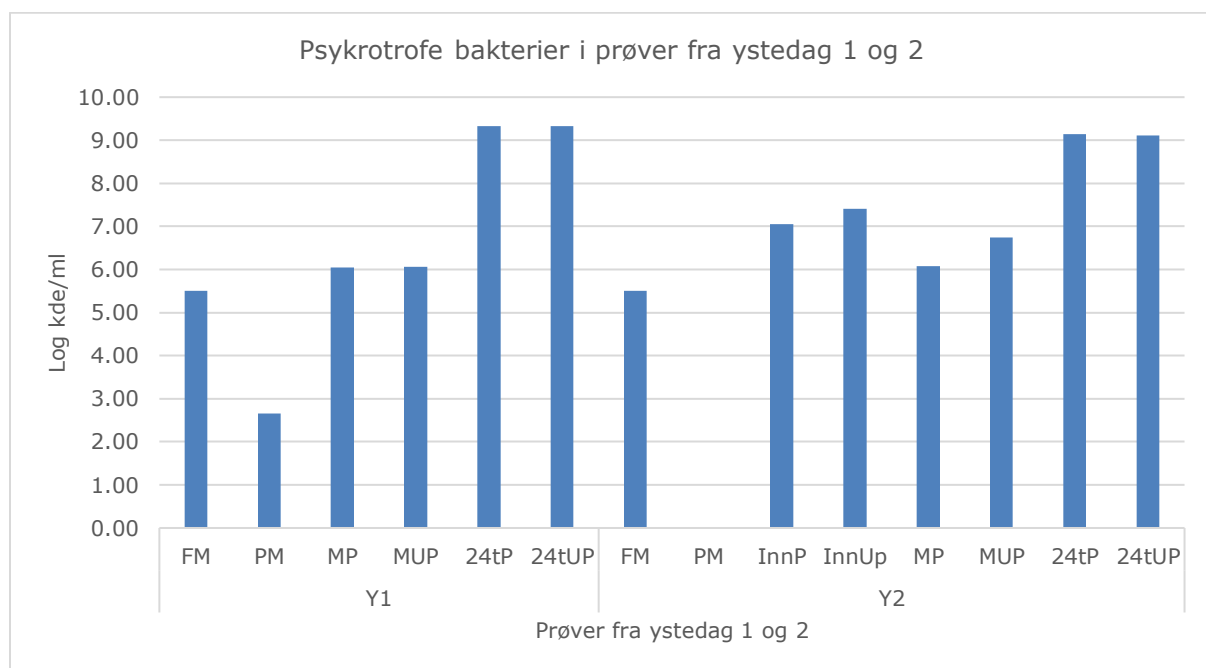
Ved analyse av kittlakene (uttak 0 og 1) ble det ikke påvist koliforme bakterier. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 2.

4.1.3 Psykrotrofe bakterier

Prøver fra ystedag 1 og 2

Utvikling av psykrotrofe bakterier under ysting er presentert i Figur 12. Ystemelken, også kalt fersk melk (FM), ble analysert i forkant av ystedag 1 og 2 og har dermed lik verdi, her log 5,50 kde/ml. For prøver fra ystedag 1 viste resultatene for prøve kodet PM (pasteurisert melk) log 2,66 kde/ml. Prøvene av mysen (MP og MUP) viste omtrent like verdier, med log 6,05 kde/ml (MP) og log 6,06 kde/ml (MUP). Resultatene fra 24tP og 24tUP fra Y1 viste log 9,32 kde/g.

For prøver fra ystedag 2 viste resultatene for prøve kodet FM (fersk melk) log 5,50 kde/ml. Den pasteuriserte melken (PM) viste resultatene log 0 kde/ml. Resultatene for den pasteuriserte inokulert melken fra Y2 (InnP) viste log 7,04 kde/ml, og viste for den upasteuriserte inokulerte melken fra Y2 (InnUP) log 7,41 kde/ml. I mysen fra Y2 ble det påvist log 6,08 kde/ml (MP) og log 6,74 kde/ml (MUP). Resultatene for 24tP fra Y2 viste log 9,15 kde/g og log 9,12 kde/g fra 24tUP ved Y2. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 3.



Figur 12: Utvikling av psykrotrofe bakterier gjennom ystedag 1 og 2. Kode FM indikerer fersk melk, PM indikerer pasteurisert melk, InnP indikerer pasteurisert inokulert melk, InnUP indikerer upasteurisert inokulert melk. Kode MP indikerer pasteurisert myse, MUP indikerer upasteurisert myse, K indikerer kittlaken (batch 1). Kode 24tP indikerer 24timers pasteurisert ost og 24tUP indikerer 24timers upasteurisert ost.

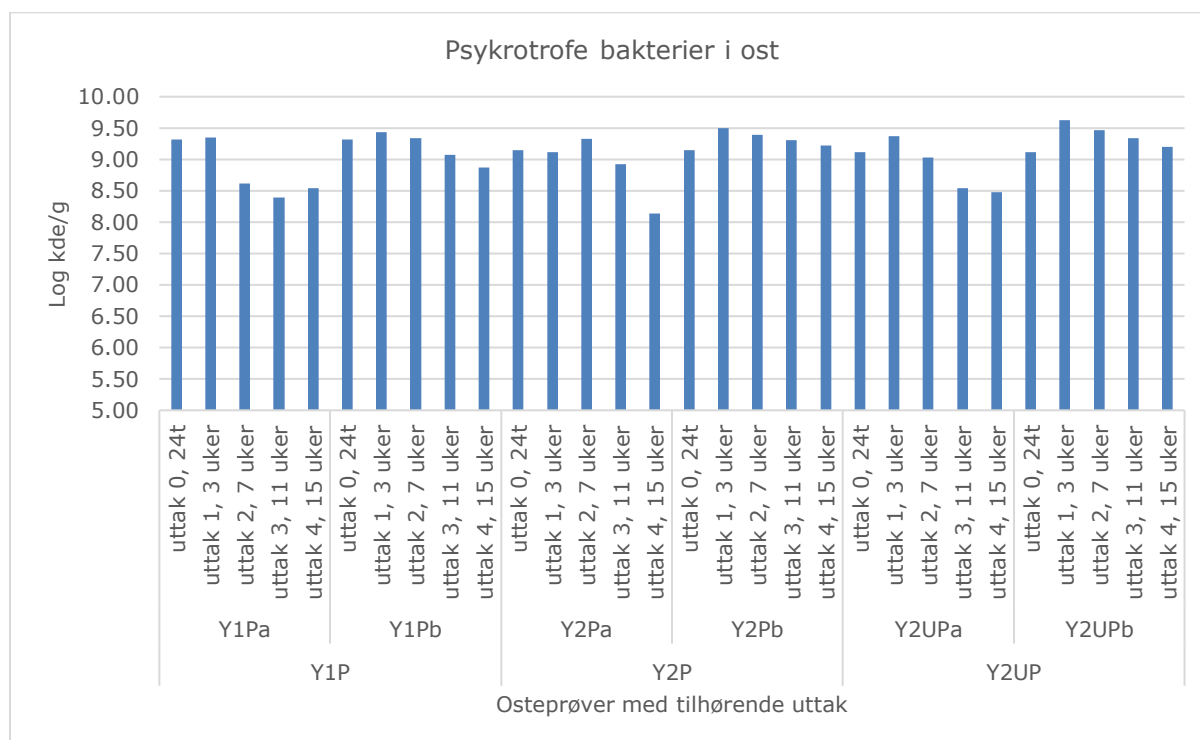
Osteprøver

Utvikling av psykrotrofe bakterier i osteprøvene er presentert i Figur 13.

For prøver av ost Y1P viser resultatene log 9,32 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y1Pa) viser log 9,35 kde/g og resultatene for ostemassen (Y1Pb) viser log 9,44 kde/g. For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 8,62 kde/g og log 9,34 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 8,39 kde/g for skorpen og log 9,08 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 8,54 kde/g for skorpen og log 8,87 kde/g for ostemassen. For prøver av ost Y1UP viser resultatene log 9,32 kde/g ved uttak 0.

For prøver av ost Y2P viser resultatene log 9,15 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y2Pa) viser log 9,11 kde/g og log 9,50 kde/g for ostemassen (Y2Pb). For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 9,33 kde/g og log 9,39 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 8,93 kde/g for skorpen og log 9,31 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 8,13 kde/g for skorpen og log 9,23 kde/g for ostemassen.

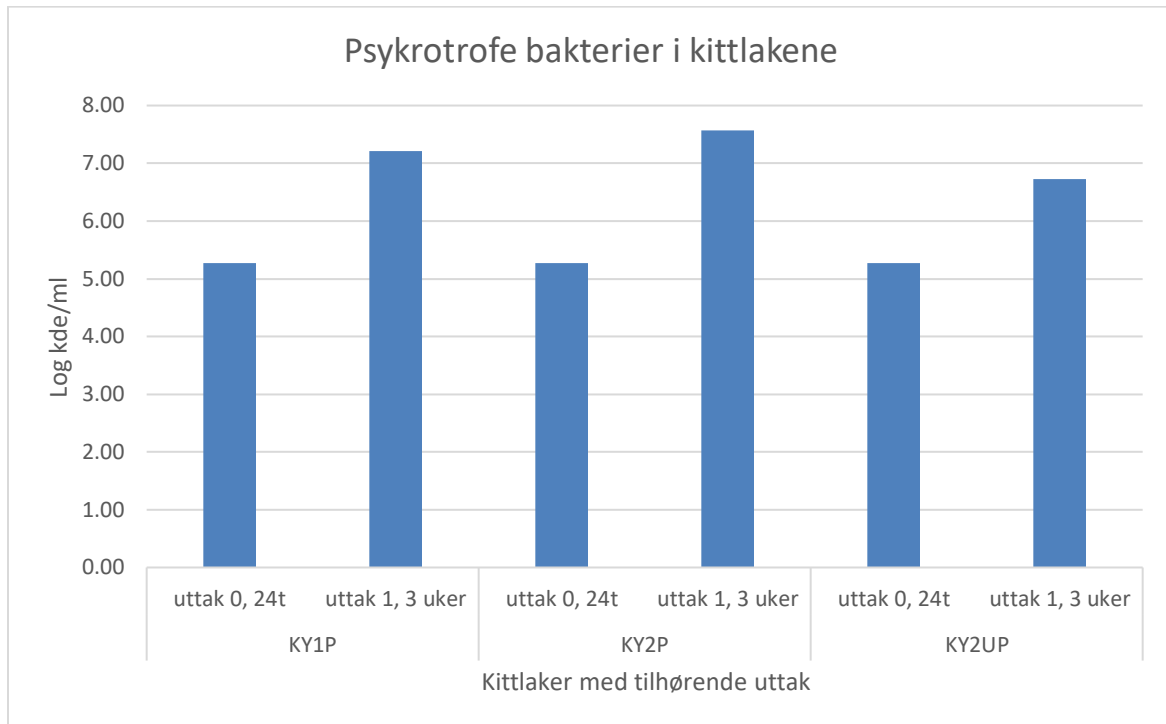
For prøver av ost Y2UP viser resultatene log 9,12 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y2UPa) viser log 9,37 kde/g og log 9,62 kde/g for ostemassen (Y2UPb). For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 9,03 kde/g og log 9,46 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 8,54 kde/g for skorpen og log 9,34 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 8,48 kde/g for skorpen og log 9,20 kde/g for ostemassen. Resultatene viser at veksten økte fra uttak 0 til uttak 1 i alle osteprøver. Videre utover modningstiden ble antall psykrotrofe bakterier gradvis redusert. Ostemassen fra alle tre oster viste større vekst av psykrotrofe bakterier sammenlignet med skorpen. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 3.



Figur 13: Psykrotrofe bakterier i osteprøver gjennom modningsforløpet (uttak 0 – uttak 4). Kode Y1P indikerer ost ystet ved ystedag 1 med pasteurisert melk. Y1Pa er koden for ostens skorpe, Y1Pb er koden for ostens indre masse. Kode Y2P indikerer ost ystet ved ystedag 2 med pasteurisert inokulert melk. Y2Pa og Y2Pb har lik betydning som forklart ovenfor, men med prøvemateriale fra ost ystet ved ystedag 2. Kode Y2UP indikerer ost ystet på ystedag 2 med upasteurisert imelk. Y2UPa og Y2UPb har lik betydning som forklart ovenfor, men med prøvemateriale fra ost ystet ved ystedag 2 med upasteurisert melk.

Kittlaker

Utvikling av psykrotrofe bakterier i kittlakene er presentert i Figur 14. Kittlaken ble analysert som én prøve ved uttak 0 og viste log 5,27 kde/ml. Ved uttak 1 viste kittlaken brukt på ost Y1P (KY1P) log 7,21 kde/ml, kittlaken brukt på ost Y2P (KY1P) log 7,57 kde/ml og kittlaken brukt på ost Y2UP (KY2UP) log 6,73 kde/ml. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 3.



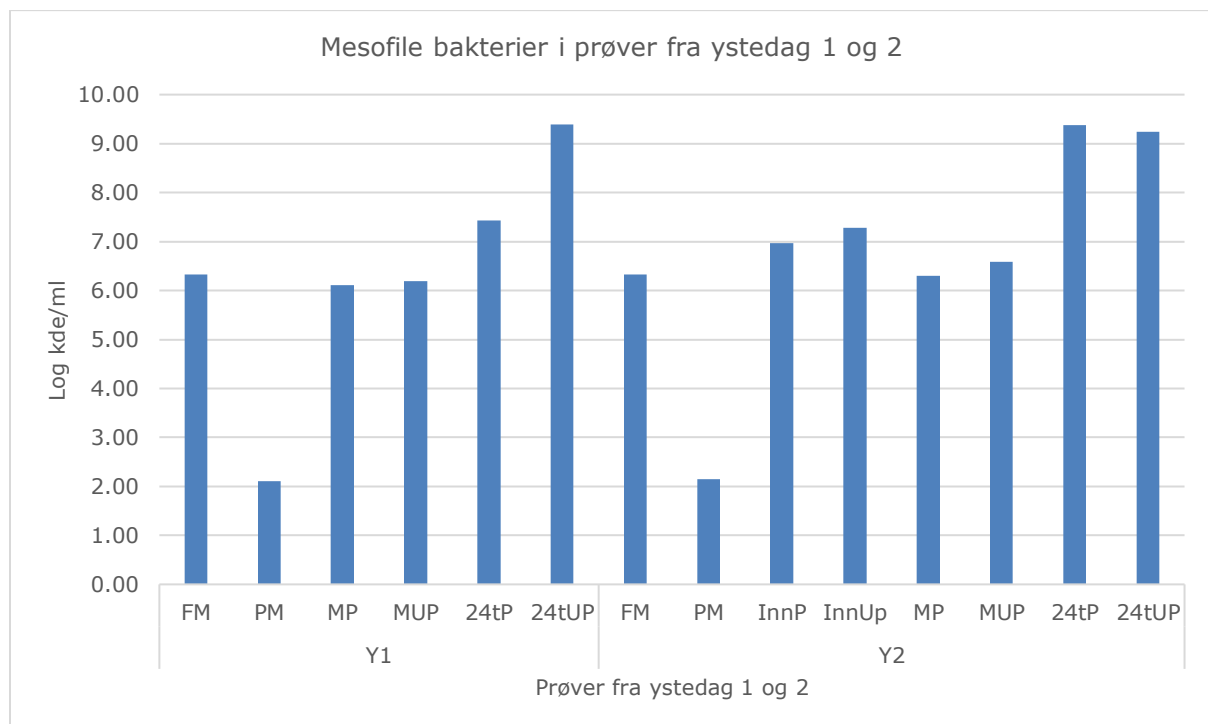
Figur 14: Psykrotrofe bakterier i kittlaker fra uttak 0 og 1. Kode KY1P indikerer kittlake benyttet på pasteurisert ost ystet ved ystedag 1. Kode KY2P indikerer kittlake benyttet på pasteurisert ost ystet ved ystedag 2. Kode KY2UP indikerer kittlake benyttet på upasteurisert ost ystet ved ystedag 2.

4.1.4 Mesofile bakterier

Prøver fra ystedag 1 og 2

Utvikling av mesofile bakterier under ysting er presentert i Figur 15. Ystemelken, også kalt fersk melk (FM), ble analysert i forkant av ystedag 1 og 2 og har dermed lik verdi, her log 6,33 kde. For prøver fra ystedag 1 viste resultatene for prøve kodet PM (pasteurisert melk) log 2,10 kde/ml. Prøvene av mysen fra Y1 viste log 6,11 kde/ml (MP) og log 6,19 kde/ml (MUP). Resultatene fra 24tP viste log 7,43 kde/g og log 9,39 kde/g for 24tUP fra Y1.

For prøver fra ystedag 2 viste resultatene for prøve kodet PM (pasteurisert melk) log 2,15 kde/ml. Resultatene for den pasteuriserte inokulert melken fra Y2 (InnP) viste log 6,97 kde/ml, og viste for den upasteuriserte inokulerte melken fra Y2 (InnUP) log 7,27 kde/ml. I mysen fra Y2 ble det påvist log 6,30 kde/ml (MP) og log 6,59 kde/ml (MUP). Resultatene for 24tP fra Y2 viste log 9,38 kde/g og log 9,24 kde/g fra 24tUP ved Y2. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 4.



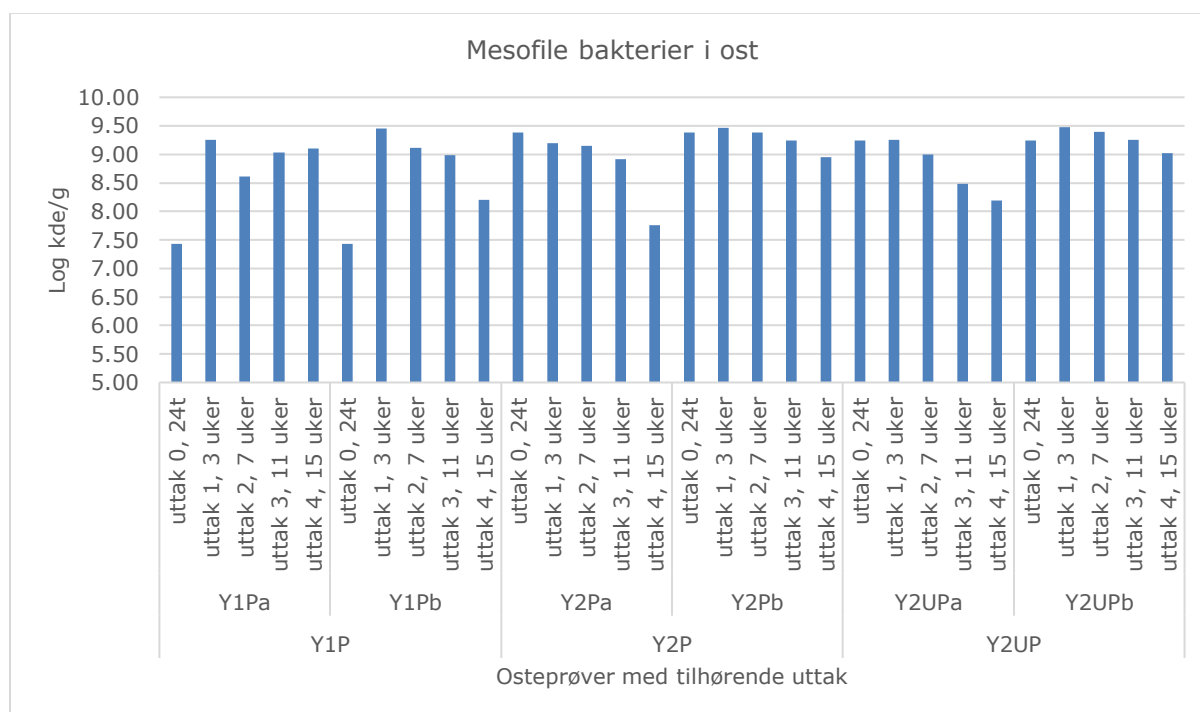
Figur 15: Utvikling av mesofile bakterier gjennom ystedag 1 og 2. Kode FM indikerer fersk melk, PM indikerer pasteurisert melk, InnP indikerer pasteurisert inokulert melk, InnUP indikerer upasteurisert inokulert melk. Kode MP indikerer pasteurisert myse, MUP indikerer upasteurisert myse, K indikerer kittlaken (batch 1). Kode 24tP indikerer 24timers pasteurisert ost og 24tUP indikerer 24timers upasteurisert ost.

Osteprøver

Utvikling av mesofile bakterier i osteprøvene er presentert i Figur 16.

For prøver av ost Y1P viser resultatene log 7,43 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y1Pa) viser log 9,26 kde/g og resultatene for ostemassen (Y1Pb) viser log 9,45 kde/g. For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 8,61 kde/g og log 9,12 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 9,03 kde/g for skorpen og log 8,98 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 9,11 kde/g for skorpen og log 8,21 kde/g for ostemassen. For prøver av ost Y1UP viser resultatene log 8,39 kde/g ved uttak 0. Videre analyse ble ikke gjennomført (se avsnitt 4.1.1.1 for forklaring).

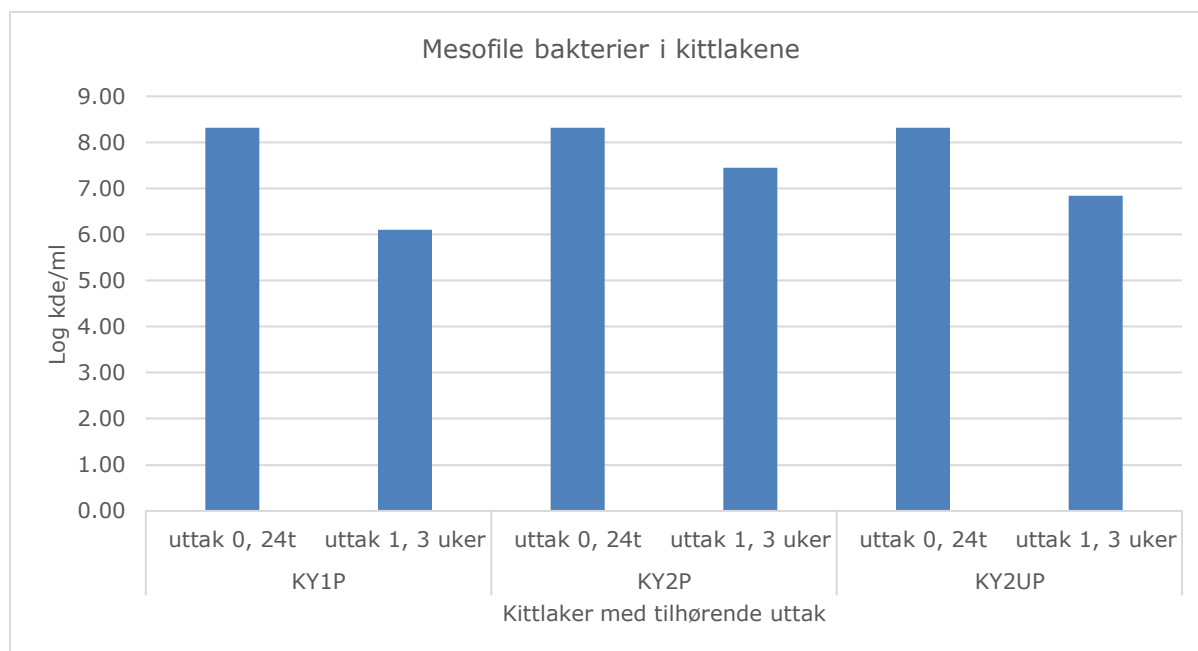
For prøver av ost Y2P viser resultatene log 9,38 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y2Pa) viser log 9,20 kde/g og log 9,46 kde/g for ostemassen (Y2Pb). For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 9,15 kde/g og log 9,39 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 8,91 kde/g for skorpen og log 9,24 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 7,75 kde/g for skorpen og log 8,95 kde/g for ostemassen. For prøver av ost Y2UP viser resultatene log 9,24 kde/g ved uttak 0. Resultatene fra uttak 1 for skorpen (Y2UPa) viser log 9,26 kde/g og log 9,48 kde/g for ostemassen (Y2UPb). For uttak 2 viser resultatene for skorpen log 8,99 kde/g og log 9,39 kde/g for ostemassen. Resultatene fra uttak 3 viser log 8,48 kde/g for skorpen og log 9,25 kde/g for ostemassen. For uttak 4 viser resultatene log 8,19 kde/g for skorpen og log 9,02 kde/g for ostemassen. Resultatene viser at veksten økte fra uttak 0 til uttak 1 i alle osteprøver. Videre utover modningstiden ble antall mesofile bakterier gradvis redusert. Ostemassen fra alle tre oster viste noe større vekst av mesofile bakterier sammenlignet med skorpen. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 4.



Figur 16: Mesofile bakterier i osteprøver gjennom modningsforløpet (uttak 0 – uttak 4). Kode Y1P indikerer ost ystet ved ystedag 1 med pasteurisert melk. Y1Pa er koden for ostens skorpe, Y1Pb er koden for ostens indre masse. Kode Y2P indikerer ost ystet ved yste dag 2 med pasteurisert melk. Y2Pa og Y2Pb har lik betydning som forklart ovenfor, men med prøvemateriale fra ost ystet ved ystedag 2. Kode Y2UP indikerer ost ystet på ystedag 2 med upasteurisert imelk. Y2UPa og Y2UPb har lik betydning som forklart ovenfor, men med prøvemateriale fra ost ystet ved ystedag 2 med upasteurisert melk.

Kittlaker

Utvikling av mesofile bakterier i kittlakene er presentert i Figur 17. Kittlaken ble analysert som én prøve ved uttak 0 og viste log 8,31 kde/ml. Ved uttak 1 viste kittlaken brukt på ost Y1P (KY1P) log 6,10 kde/ml, kittlaken brukt på ost Y2P (KY1P) log 7,45 kde/ml og kittlaken brukt på ost Y2UP (KY2UP) log 6,84 kde/ml. Rådata er presentert i Vedlegg 2, Tabell 4.



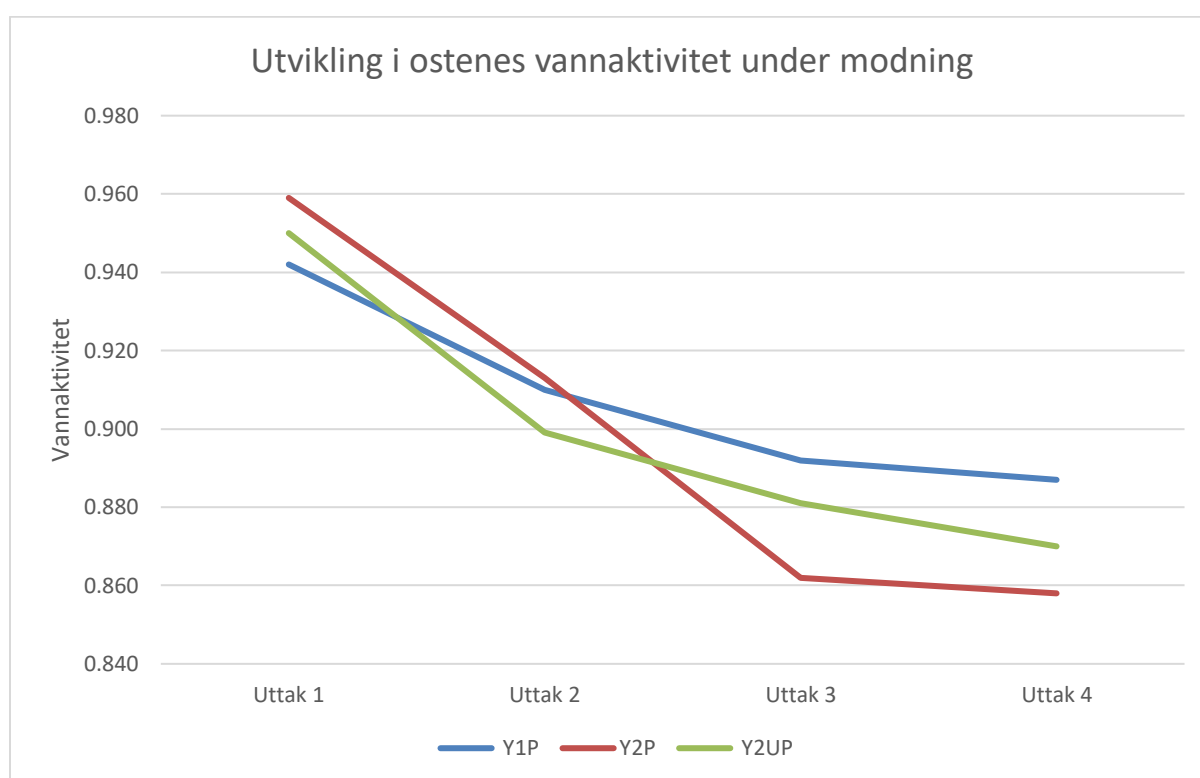
Figur 17: Mesofile bakterier i kittlaker fra uttak 0 og 1. Kode KY1P indikerer kittlake benyttet på pasteurisert ost ystet ved ystedag 1. Kode KY2P indikerer kittlake benyttet på pasteurisert ost ystet ved ystedag 2. Kode KY2UP indikerer kittlake benyttet på upasteurisert ost ystet ved ystedag 2.

4.2 Fysiokjemiske analyser

4.2.1 Vannaktivitet

Osternes utvikling i vannaktivitet (a_w) under modning er presentert i Figur 18. Vannaktiviteten varierte mellom ostene ved hver måling. Ved uttak 1 var laveste detekterte verdi 0,942 (Y1P) og høyeste detekterte verdi 0,959 (Y2P). Ved uttak 2 var laveste detekterte verdi 0,899 (Y2UP) og høyeste detekterte verdi 0,913 (Y2P). Ved uttak 3 var laveste detekterte verdi 0,862 (Y2P) og høyeste detekterte verdi 0,892 (Y1P). Ved uttak 4 var laveste detekterte verdi 0,858 (Y2P) og høyeste detekterte verdi 0,887 (Y1P).

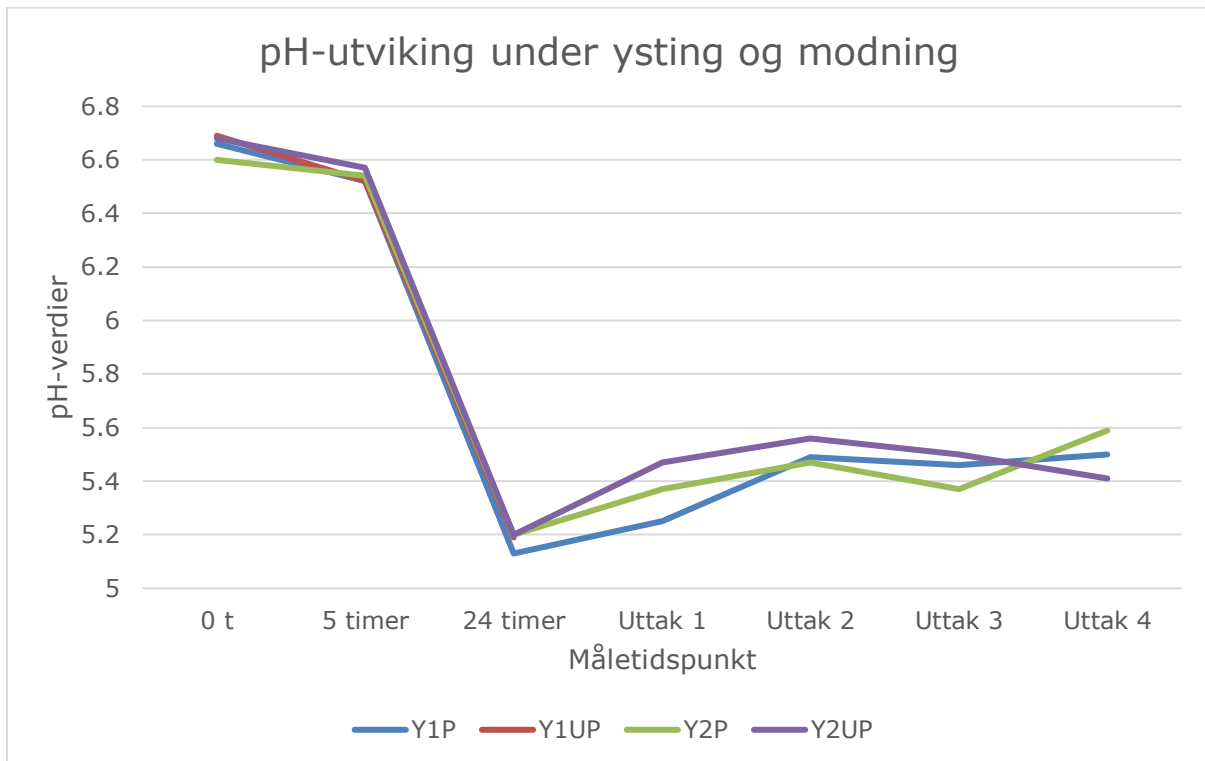
For ost Y1P viste vannaktivitetsmålingene en reduksjon i a_w på 0,055 fra uttak 1 til uttak 4. Gjennom modningstiden viste vannaktivitetsmålingene av Y2P en reduksjon i a_w 0,101 fra uttak 1 til uttak 4. For ost Y2UP viste vannaktivitetsmålingene en reduksjon i a_w på 0,08 fra uttak 1 til uttak 4.



Figur 18: Oversikt over osternes utvikling i vannaktivitet ved uttak 1-4. Den røde linjen viser utvikling i ost Y2P, den grønne linjen viser utviklingen i ost Y2UP og den blå linjen viser utviklingen i ost Y1P.

4.2.2 pH-målinger

Osternes pH-utvikling under ysting og modning er presentert i Figur 19. Ved oppstart varierte verdiene mellom 6,60 og 6,69. Verdiene holdt seg stabile fram til fem timer ut i ystingen. Etter fem timer hadde verdiene for alle ostene blitt redusert til pH 6,52-5,57. Etter 24 timer viste laveste pH 5,13 (Y1P) og høyeste pH 5,20 (Y2P og Y2UP). Ved uttak 1 varierte verdiene mellom 5,25 og 5,47. Ved uttak 2 hadde verdiene steget og utlignet seg noe, med verdier mellom 5,49 og 5,56. Ved uttak 3 hadde osternes pH-verdier sunket med verdier mellom 5,37 og 5,5. Ved uttak 4 hadde pH-verdien for ost Y1P økt til 5,5, pH-verdien for ost Y2P økt til 5,59 og pH-verdien for ost Y2UP sunket til 5,41.



Figur 19: Oversikt over osternes pH-utvikling under ysting og modning. Den røde linjen viser utvikling i ost Y1UP, den grønne linjen viser utviklingen i ost Y2P, den blå linjen viser utviklingen i ost Y1P og den lilla linjen viser utvikling i ost Y2UP. Punktene i y-aksen er satt etter målingstidspunkt under ysteprosessene. Ost Y1UP inngikk ikke i videre testing etter måling «24 timer».

4.2.3 FoodScan™

Resultater fra FoodScan™ for ost Y1P er presentert i Tabell 8. Ostens fettprosent økte fra 26,19 % ved uttak 1 til 34,47 % ved uttak 4. Ostens tørrstoffprosent økte fra 50,8 % ved uttak 1 til 72,55 % ved uttak 4. Ostens vannprosent sank fra 48,81 % ved uttak 1 til 26,63 % ved uttak 4. Ostens saltinnhold økte fra 0,29 % ved uttak 1 til 3,66 % ved uttak 4.

Tabell 8: Oversikt over resultater for ost ystet av pasteurisert melk på ystedag 1 – kontrollost fra FoodScan™ gjennom modningsforløpet.

Y1P	Start	Uttak 1	Uttak 2	Uttak 3	Uttak 4
Fett	26,19	30,18	32,35	33,57	34,47
Tørrstoff	50,8	61,1	66,28	69,73	72,55
Vann	48,81	38,08	32,9	29,45	26,63
Salt	0,29	3	3,26	3,57	3,66

Resultater fra FoodScan™ for ost Y2P er presentert i Tabell 9. Ostens fettprosent økte fra 27,7 % ved uttak 1 til 36,74 % ved uttak 4. Ostens tørrstoffprosent økte fra 50,94 % ved uttak 1 til 73,84 % ved uttak 4. Ostens vannprosent sank fra 48,67 % ved uttak 1 til 25,34 % ved uttak 4. Ostens saltinnhold økte fra 0,52 % ved uttak 1 til 3,61 % ved uttak 4.

Tabell 9: Oversikt over resultater for ost ystet av pasteurisert, inokulert melk på ystedag 2 fra FoodScan™ gjennom modningsforløpet.

Y2P	Start	Uttak 1	Uttak 2	Uttak 3	Uttak 4
Fett	27,7	32,53	34,35	37,45	36,72
Tørrstoff	50,94	62,15	66,23	74,05	73,84
Vann	48,67	37,03	32,95	25,13	25,34
Salt	0,52	3,21	3,3	3,71	3,61

Resultater fra FoodScan™ for ost Y2UP er presentert i Tabell 10. Ostens fettprosent økte fra 24,7 % ved uttak 1 til 36,72 % ved uttak 4. Ostens tørrstoffprosent økte fra 50,94 % ved uttak 1 til 73,84 % ved uttak 4. Ostens vannprosent sank fra 48,67 % ved uttak 1 til 25,34 % ved uttak 4. Ostens saltinnhold økte fra 0,3 % ved uttak 1 til 3,61 % ved uttak 4.

Tabell 10: Oversikt over resultater for ost ystet av upasteurisert, inokulert melk på ystedag 2 fra FoodScan™ gjennom modningsforløpet.

Y2UP	Start	Uttak 1	Uttak 2	Uttak 3	Uttak 4
Fett	24,7	28,78	30,05	32,36	36,72
Tørrstoff	50,94	62,13	66,31	73	73,84
Vann	48,67	37,05	32,87	26,18	25,34
Salt	0,3	2,9	3,14	3,27	3,61

Resultater fra FoodScan™ for referanseosten er presentert i Tabell 11. Ostens fettprosent ble analysert til å være 35,26 %. Ostens tørrstoffprosent ble analysert til å være 66,2 %. Ostens vannprosent ble analysert til å være 32,98 % og ostens saltinnhold ble analysert til å være 2,08 %.

Tabell 11: Oversikt over resultater for referanseost fra FoodScan™.

Referanseost			
Fett	Tørrstoff	Vann	Salt
35,26	66,2	32,98	2,08

4.2.4 Klassifisering av ost

Resultater fra analyse ved FoodScan™ for uttak 4 er brukt for beregning av ostenes VFFO (Vann i fettfri ostemasse) og F/TS (Fett i tørrstoff) (se Tabell 12).

Tabell 12: Ostenes vann i fettfri ostemasse (VFFO) og fett i tørrstoff (F/TS).

	Referanseost	Y1P	Y2P	Y2UP
VFFO	50,94	40,64	40,04	37,29
F/TS	52,61	46,98	49,18	43,11

Verdiene i Tabell 12 ble videre brukt for bestemmelse av ostenes fasthet og fettklasse (Tabell 13). Referanseosten kan kategoriseres som en fast, fet kittmodnet ost. Forsøksostene kan kategoriseres som ekstra faste, fete kittmodnede oster.

Tabell 13: Ostenes bestemte fasthet og fettklasse.

Ost	Benevnelse, fasthet	Benevnelse, fettklasse
Referanseost	Fast	Fet
Y1P	Ekstra fast	Fet
Y2P	Ekstra fast	Fet
Y2UP	Ekstra fast	Fet

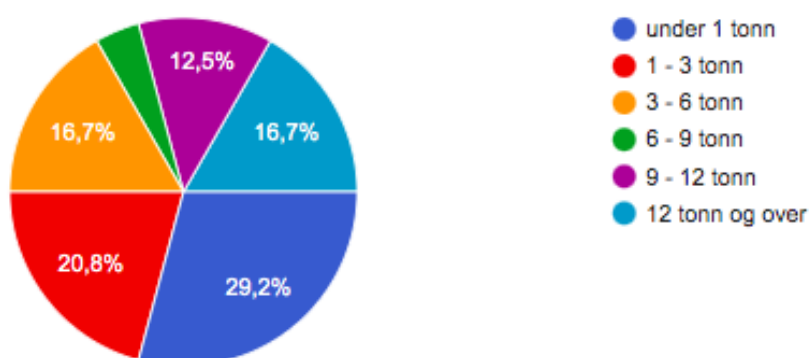
Forsøksostene klassifiseres som ekstra faste, fete oster. Referanseosten klassifiseres som fast, fet ost.

4.3 Belyse småskalaprodusenters hverdag med utfordringer knyttet til *Listeria monocytogenes*

Spørreundersøkelsen ble delt i tre; Produksjonsinformasjon, hygiene og kvalitet og regelverk. Nedenfor vil de mest relevante resultatene fremstilles. For fullstendig spørsmålsliste, se Vedlegg 3. I figurene som fremstilles i dette delkapitlet varierer det noe hvor mange svar er registrert. Antall registrerte svar per spørsmål er indikert i figurtekst, angitt som (N=x).

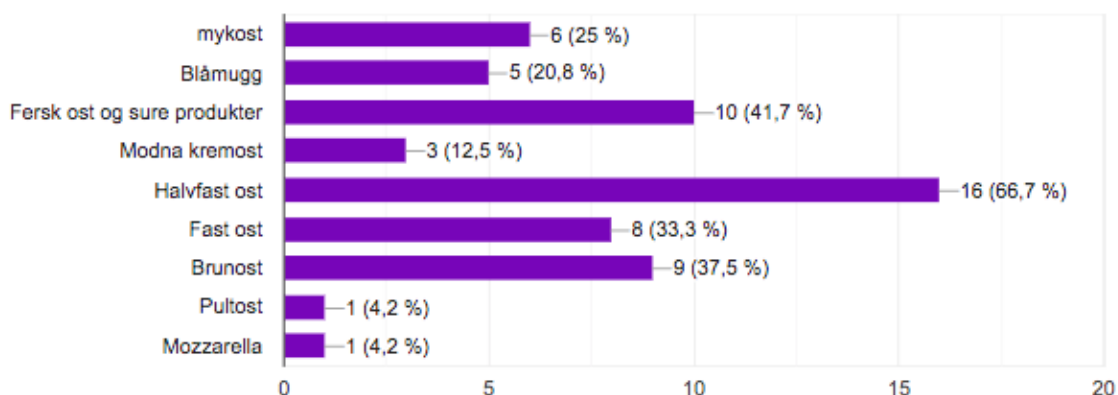
4.3.1 Produksjonsinformasjon

Resultater for spørsmål om produksjonsmengde er illustrert i Figur 20. Besvarelsene viser at 29,2 % av osteproducentene som deltok i spørreundersøkelsen produserer under 1 tonn ost per år. 16,7 % av osteproducentene produserer 12 tonn eller mer. Det viser et stort spekter i størrelsen av ysteriene som legger grunnlag for besvarelsene.



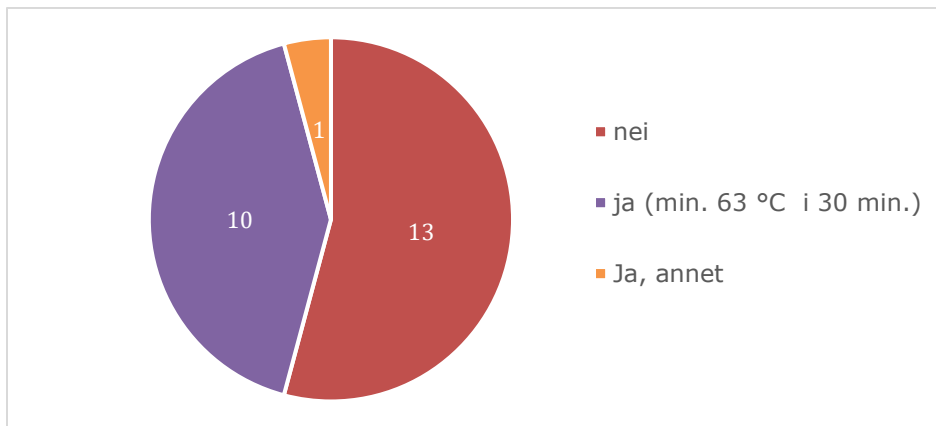
Figur 20: Oversikt over prosentvis andel av produsenter med ulik produksjonsmengde (N=24).

Resultater for spørsmål om hvilke oster ysteriet produserer er illustrert i Figur 21. Den vanligste ostegruppen er halvfast ost med 16 besvarelses. Pultost og Mozzarella blir det produsert minst av.



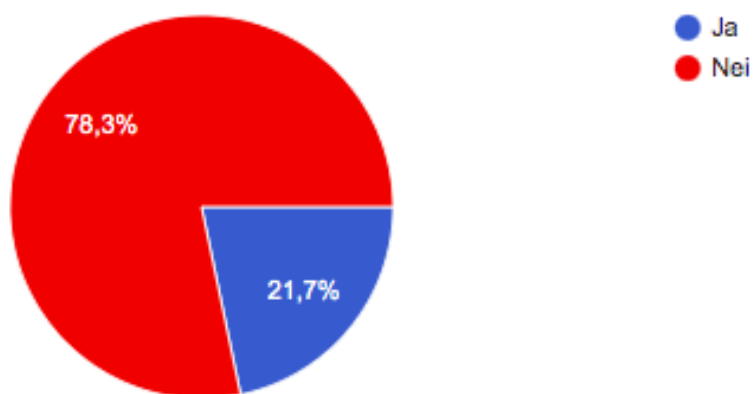
Figur 21: Oversikt over besvarelses for hvilke oster ysteriene produserer (N=24).

Resultater for spørsmål om ystemelken pasteuriseres og eventuelt hvilken tid/temperatur-kombinasjon er illustrert i Figur 22. Besvarelsene viser at 13 ysteri ikke pasteuriserer ystemelken før produksjon, og at 10 ysteri pasteuriserer ystemelken ved minimum 63 °C i 30 minutter før produksjon. Ett ysteri pasteuriserer ystemelken ved høyere temperatur og kortere tid.



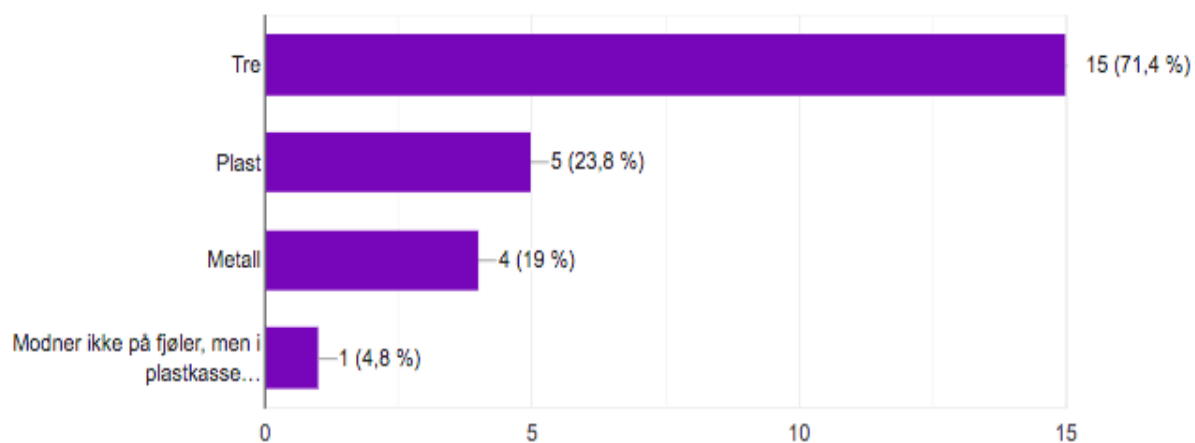
Figur 22: Oversikt over antall besvarelser på spørsmål om ystemelken pasteuriseres og hvilken tid/temperatur-kombinasjon som benyttes (N=24).

Resultater for spørsmål om det benyttes kittlake ved modning er illustrert i Figur 23. Besvarelsene viser at det blir benyttet kittlake av 5 (21,7 %) produsenter.



Figur 23: Oversikt over prosentvis andel av produsenter som benytter kittlake ved modning (N=23).

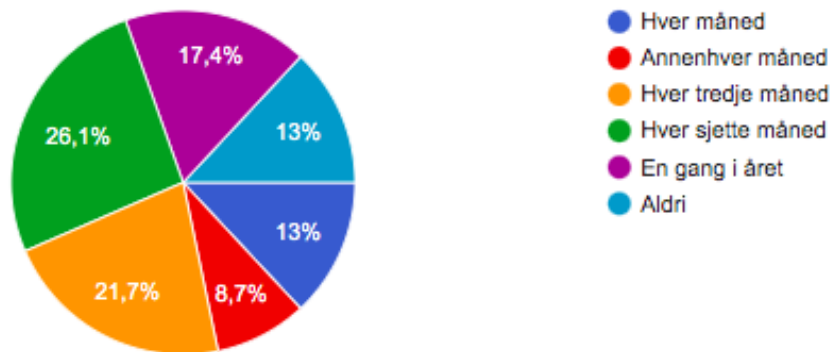
Resultater for spørsmål om hvilket materiale modningsfjøl er ysteriet bruker er laget av er illustrert i Figur 24. Det vanligste materialet som benyttes er tre, med 15 besvarelser sammenlignet med 5 for plast og 4 for metall.



Figur 24: Oversikt over besvarelser for hvilket materiale modningsfjøl er laget av (N=21).

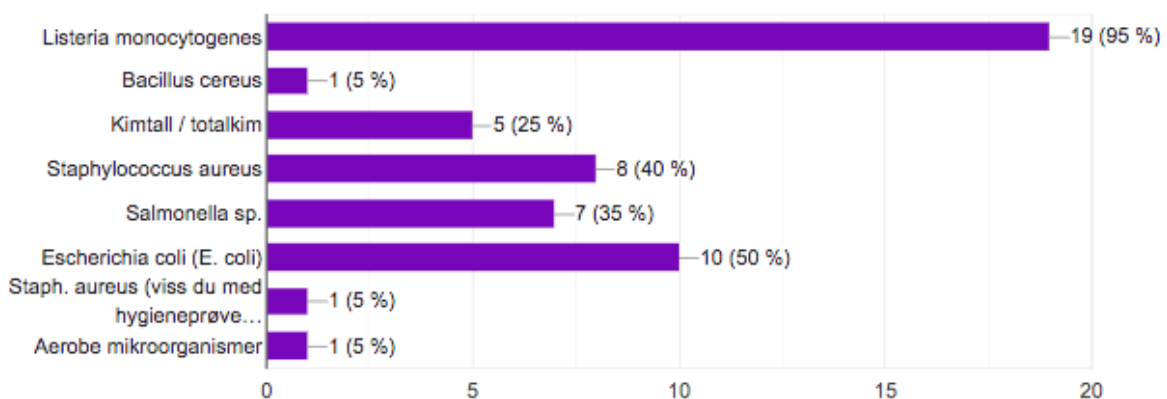
4.3.2 Hygiene og kvalitet

Resultater for spørsmål om hvor ofte det tas hygieneprøver i ysteriet er illustrert i Figur 25. Vanligste intervall er hver sjettede måned med 26,1 %. Tre (13 %) av besvarelsene viser at det aldri blir tatt hygieneprøver i ysteriet. Videre viser resterende besvarelser at hyppigheten varierer.



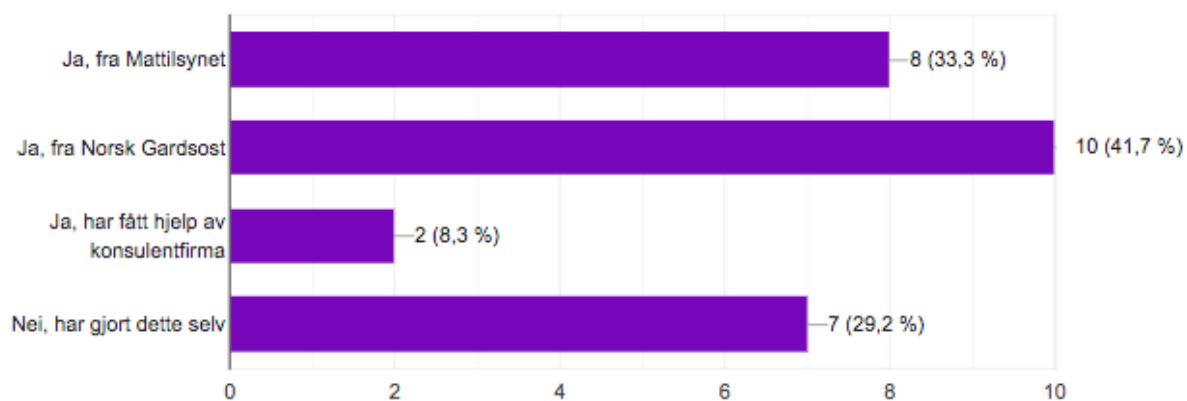
Figur 25: Oversikt over prosentvis andel av hvor ofte det blir tatt hygieneprøver i besvarerens ysteri (N=23).

Resultater for spørsmål om hvilke mikroorganismer hygieneprøver (prøver av miljø) blir analysert for etter uttak er illustrert i Figur 26. Av 20 besvarelser svarte 19 at det ble analysert for *Listeria monocytogenes*. Videre er også analyse av *Escherichia coli* (10 svar) og *Staphylococcus aureus* (8 svar) vanlig.



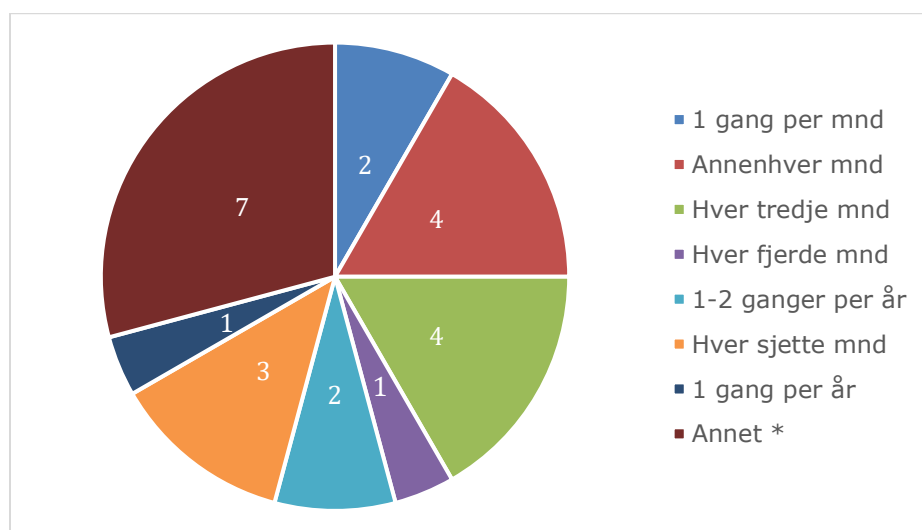
Figur 26: Oversikt over besvarelser for hvilke mikroorganismer hygieneprøver blir analysert for (N=20).

Resultater for spørsmål om bedriften har fått hjelp til utarbeiding av prøvetakingsplan er illustrert i Figur 27. Hos 10 ysteri har Norsk Gardsost veiledet dette arbeidet. Mattilsynet har veiledet 8 ysteri. 7 ysteri har utarbeidet prøvetakingsplan på egenhånd.



Figur 27: Oversikt over besvarelser for spørsmål om bedriften har fått hjelp til å utarbeide prøvetakingsplan (N=24).

Resultater for spørsmål om hvor ofte det blir tatt prøve av produkt er illustrert i Figur 28. To besvarelser viser prøvetaking av produkt hver måned gjennom året. Fire besvarelser viser prøvetaking av produkt annenhver måned gjennom året. Fire besvarelser viser prøvetaking av produkt hver tredje måned. En besvarelser viser prøvetaking av produkt hver fjerde måned. Tre besvarelser viser prøvetaking av produkt hver sjettemåned. To besvarelser viser prøvetaking en til to ganger per år. En besvarelse viser prøvetaking av produkt en gang i året. Syv besvarelser er samlet under «annet», og besvarelsene er presentert i Tabell 14.



Figur 28: Oversikt over antall besvarelser på spørsmål om hvor ofte det blir tatt prøve av produkt (N=24). Besvarelser samlet som annet er presentert i tabell 14.

Tabell 14: Oversikt over besvarelser samlet som annet i figur 28 fra spørsmål om hvor ofte det blir tatt prøver av produkt.

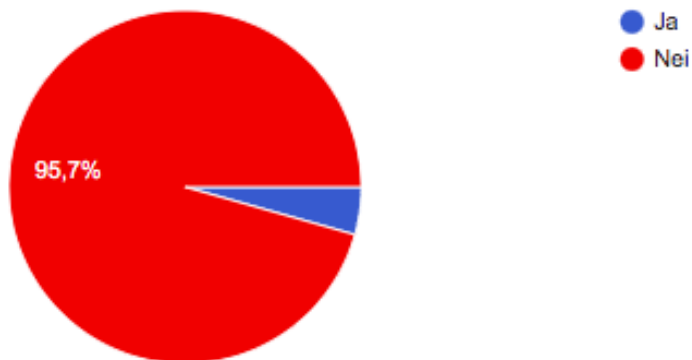
Antall	Besvarelser
1	ulikt avhengig av produkt. (melk, fersk ost, ferdig modna ost, rømme, smør)
2	2x per sesong per produkt
3	Mjølkk: fersk ystemjølkk 2g/veke Ost: ein ost 24 timar gamal 4 g/veke eller oftare (st. aur), E. coli 1g/anna kvar veke, <i>Listeria</i> samleprøve av tre ostar 2g/år
4	1 g per måned i produksjon
5	2 ganger i sesongen
6	1 gong per måned (men vi har berre produksjon i 2 månadar, på stølen)
7	Hol ysteri må svare på dese spørsmåla

Resultater for spørsmål hvor mange oster det tas prøve av og hvordan prøveuttak mellom produksjons-batcher fordeles er illustrert i Tabell 15. Besvarelsene varierer fra 300 g av en ost, til 1 ost per batch.

Tabell 15: Besvarelser for spørsmål hvor mange oster det tas prøve av og hvordan prøveuttak mellom produksjons-batcher fordeles.

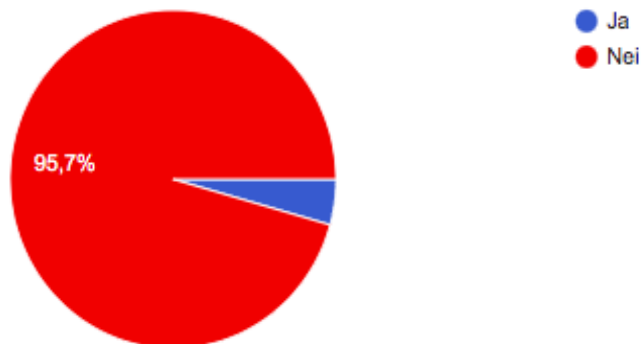
(N)	Besvarelser
1	2. - en gang pr mnd av 1 dag ost. Sameprøver av ferdig modna ost 2 gg i året
2	4
3	To oster to prøver i året
4	Salgsmoden pultost er samleprøve av 5 ystinger
5	Ferskosten er ikkje modna, så her er det ein prøve frå ein vilkårleg batch.
6	Det tas ut to oster av hver produksjon til prøvetaking. En leveres inn til analyse, den andre oppbevarer vi i tilfelle det er behov for ny analyse.
7	Me fordeler analysene ut over året, så dei gir mest mogleg representativt resultat
8	3 ostar frå ulike batchar
9	en ost
10	Ca 4
11	tek prøve av ystemjølkk, av 1 fastost, 1 ferskost og 1 fetaost
12	Tas samleprøve av fem oster
13	Alle 4 ostetyper
14	Tar ut fra 3 oster ung ost og tre oster gammel
15	Camembert tas det prøve av 5 oster hver gang, utover det vurderer vi etter hvor mange batcher vi lager.
16	sender inn 2-300 g av en ost
17	det tas prøve av 1 ost
18	1 ost i fra hver batch.
19	5 oster fra samme produksjon
20	1

Resultater for spørsmål om bedriften har fått påvist funn av *Listeria monocytogenes* i ysteriet er illustrert i Figur 29. Her viser kun en besvarelse at det har blitt påvist positive analyser.



Figur 29: Oversikt over besvarelser for spørsmål om bedriften har fått påvist *Listeria monocytogenes* i ysteriet (N=23).

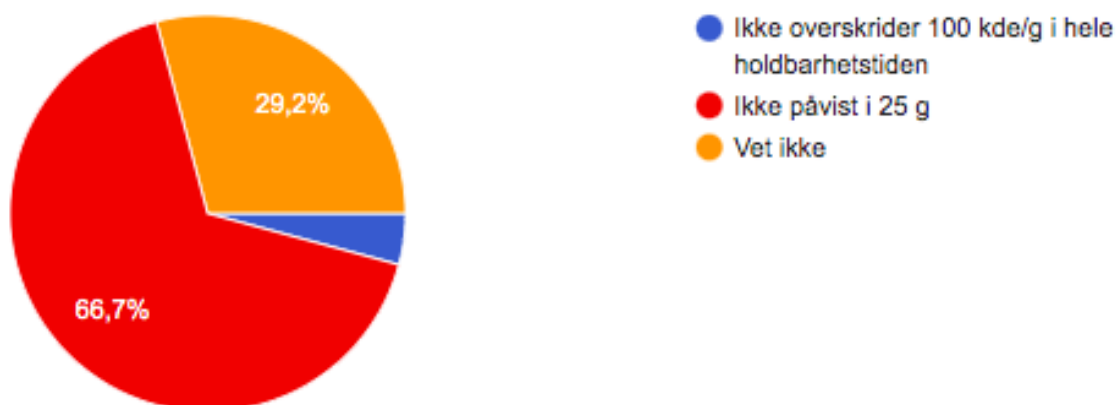
Resultater for spørsmål om bedriften har fått påvist funn av *Listeria monocytogenes* i sluttprodukt er illustrert i Figur 30. Her viser kun en besvarelse at det har blitt påvist positive analyser.



Figur 30: Oversikt over besvarelser for spørsmål om bedriften har fått påvist *Listeria monocytogenes* i sluttprodukt (N=23).

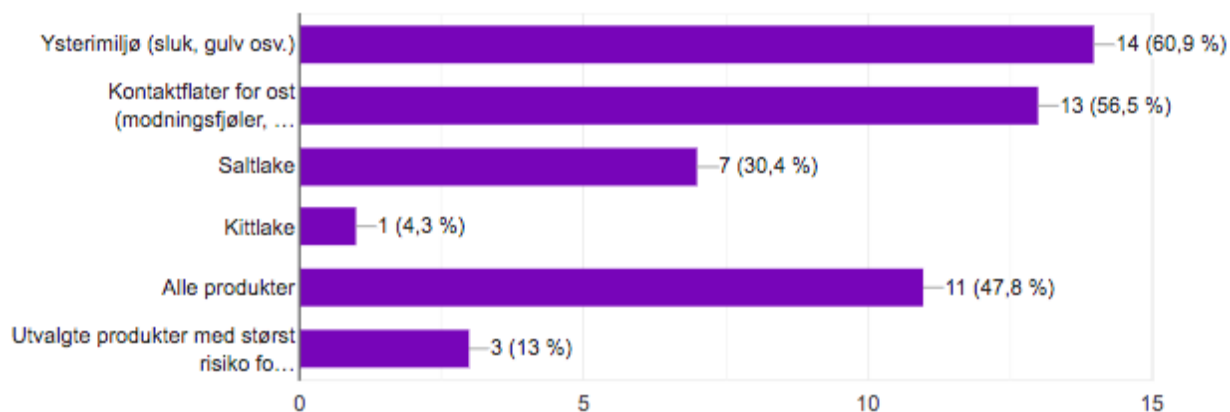
4.3.3 Regelverk

Resultater for spørsmål om hvilken grense for tilstedeværelse av *Listeria monocytogenes* bedriften følger er illustrert i Figur 31. 16 bedrifter (66,7 %) forholder seg til grenseverdien «Ikke påvist i 25 gram», 1 bedrift (4,2 %) forholder seg til grenseverdien «ikke overskrider 100 kde/g i hele holdbarhetstiden» og 7 bedrifter (29,2 %) vet ikke hvilken grenseverdi de forholder seg til.



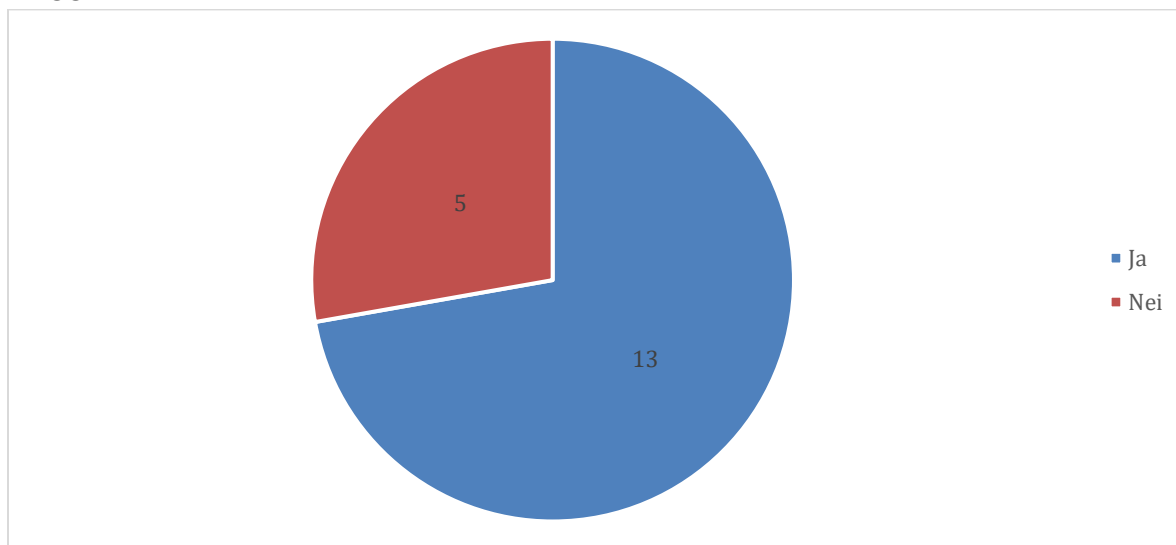
Figur 31: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hvilken grenseverdi for tilstedeværelse av *Listeria monocytogenes* bedriften følger (N=24).

Resultater for spørsmål om hva bedriften tar prøve av til analyse av *Listeria monocytogenes* er illustrert i Figur 32. Ystermiljø (14), kontaktflater for ost (13) og alle produkter (11) er hyppigst besvart. Kittlake blir testet hos ett av fem ysteri som benytter kittlake ved modning.



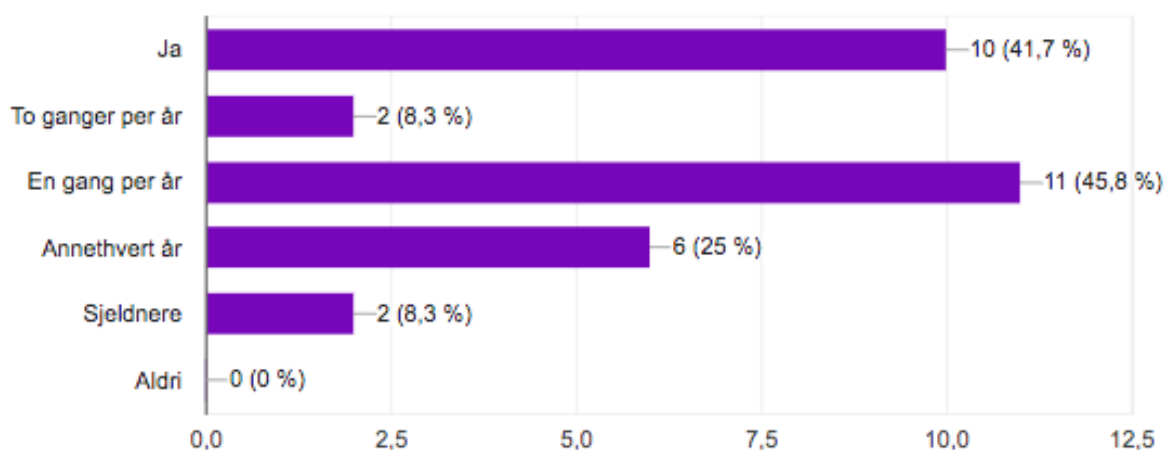
Figur 32: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hva bedriften tar prøve av til analyse av *Listeria monocytogenes*. (N=23).

Resultater for spørsmål om bedriften har vurdert om *Listeria monocytogenes* kan vokse i ulike produkt og eventuelt hvordan er illustrert i Figur 33. 5 ysteri har ikke vurdert om *L. monocytogenes* kan vokse i produkt. 13 ysteri har vurdert om *L. monocytogenes* kan vokse i produkt. Flere bedrifter presiserte at vurderingen kommer frem i bedriftens HACCP.



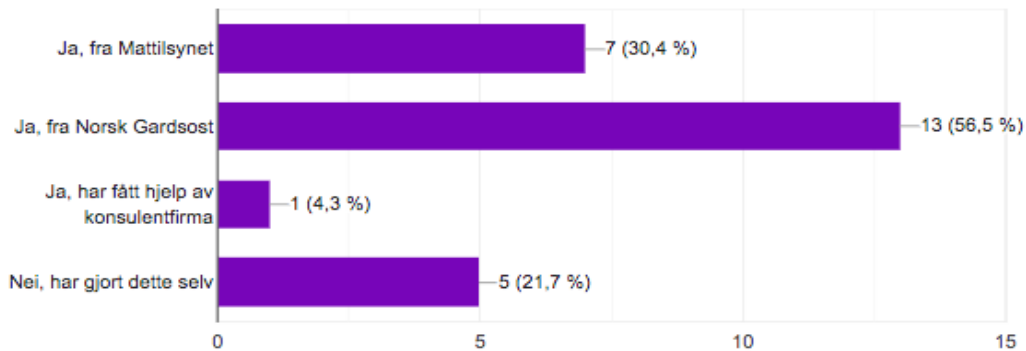
Figur 33: Oversikt over antall besvarelser på spørsmål om bedriften har vurdert om *Listeria monocytogenes* kan vokse i produkt (N=18).

Resultater for spørsmål om Mattilsynets tilsynsfrekvens er illustrert i Figur 34. Frekvensen varierer. Ved to ysteri utfører Mattilsynet tilsyn to ganger per år. 11 besvarelser viser at Mattilsynet utfører tilsyn én gang per år. Ved seks ysteri utfører Mattilsynet tilsyn annethvert år, og ved to ysteri utføres det tilsyn sjeldnere enn annethvert år.



Figur 34: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hvor ofte Mattilsynet utfører tilsyn (N=24).

Resultater for spørsmål om bedriften har fått hjelp til utforming av fareanalyse (HACCP) er illustrert i Figur 35. Norsk Gardsost har assistert 13 ysteri i dette arbeidet. Hos 7 ysteri har Mattilsynet veiledet dette arbeidet. 5 ysteri har utført fareanalysen på egenhånd. Antallet besvarelser samsvarer ikke med antall svar hvilket viser at enkelte ysteri har benyttet seg av flere metoder for utarbeidelse av fareanalyse.



Figur 35: Oversikt over besvarelser for spørsmål om hvor ofte Mattilsynet utfører tilsyn (N=23).

5 Diskusjon

5.1 Produksjon av ost

Ysteprosessene i dette arbeidet ble utført med utgangspunkt i ysteprosessen av referanseosten. Ved bedriftsbesøket ble det benyttet 720 liter melk til ysting. Ysteprosessen resulterte i 21 oster på omtrent 3 kg. Det ble ikke benyttet kalsiumklorid. Ved ysting av oster i dette arbeide (Y1P, Y1UP, Y2P og Y2UP) ble det benyttet 20 liter i hver ysteprosess, hvilket resulterte i fire oster som veide mellom 2,5 og 3 kg.

Erfaring

Erfaring er viktig ved produksjon av ost. Bedriftsbesøket var avgjørende for å få opparbeidet noe forkunnskap om ulike parametere ved ysteprosessen fordi kandidaten ikke har ystet denne type ost tidligere. Ved ysting av referanseosten var det stort fokus på ostekornenes størrelse og utvikling under ettervarming. Ved ystedag 1 og 2 ble det forsøkt å etterligne prosessen. Ostekornene ble manuelt kontrollert i ettervarmingen med fokus på konsistens og sammenklistring, med mål om å oppnå samme resultat som ved ystingen av referanseosten. Likevel kan manglende erfaring bidra til at ystere vil vurdere ulikt, og dermed få ulikt resultat. Kornene kan ha fått for kraftig sammentrekning, eller for svak.

Røring

En av faktorene som kan gi variasjon mellom referanseosten og forsøksostene er røring av ostemassen. Ved bruk av automatisk røreverk kan ysteren gjøre klar løype, måle temperatur og pH, samt andre forberedelser, samtidig som ystekarets røreverk holdes i gang, og dette antas å gi en mer kontrollert prosess. Ysteprosessen av kontrollostene og de inokulerte ostene ble utført manuelt, ved at melken ble rørt for hånd. Det var derfor ikke mulig å ha kontinuerlig røring i enkelte trinn, eksempelvis hvor pH ble målt. Det ble fokusert på å holde kontinuerlig røring under ettervarming, men da det ble tilsatt damp i ystekarenes vegger måtte røreverktøyet legges til side ved montering av slangene fra dampkjelen. For å unngå at ostekornene som hadde kontakt med ystekarets vegger skulle få for høy temperatur, ble det rørt når dampen fylte veggene. Det ble oppnådd god konsistens på ostekornene, uten sammenklumping, som igjen tyder på tilstrekkelig ettervarming, og det taler for at den manuelle røringen var tilstrekkelig.

Kalsiumklorid

Ved produksjon av referanseosten ble det ikke tilsatt kalsiumklorid. Dette fordi de ystet av dagsfersk melk. Ved ysting av forsøksostene ble det tilsatt kalsiumklorid da ystemelk hadde stått lagret i 3-4 dager fra melking til ysting. Kaseinet i melk endres ved nedkjøling og lagring (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 91). Det ble vurdert dithen at det kunne være nødvendig å tilsett CaCl_2 for å oppnå gode koaguleringssegenskaper (Walstra mfl., 2006 s. 211).

Lysozym

Det ble tilsatt lysozym ved ysting av referanseosten, og dette ble kopiert ved ystedag 1 og 2. Lysozym er følsom for varme, og ødelegges delvis ved pasteurisering (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 95 og 119) og er en effektiv hemmer av vekst av gram-positive bakterier og anaerobe sporedannere. Sporer kan gi uønsket gassdannelse i ost (Helland, 2020). Under modning ble det ikke observert gassdannelse - ostene hadde ikke utviklet hull, og bulet ikke. Det ble ikke utført analyser for smørsyrebakterier i ferskmelken, så det er ikke mulig å fastslå om det var smørsyrebakterier i ystemelken. Lysozym ble tilsatt som en sikkerhet for å unngå gassdannelse under modning.

Drenering og pressing

Da ostene ble tatt ut av formene ble det tatt ut prøver for analyse, ble det mulig å undersøke ostemassens indre. Ostemassen viste seg å være homogen, med få hulrom. Det antas derfor at ostemassen samlet seg godt ved drenering og pressing i osteformene. Siden dette stadiet av referanseosten ikke er kjent er det ikke mulig å si om det er identisk.

Uttørking

Resultatene viser at ostene ble mer uttørket enn ønsket, hvilket resulterte i høyere innhold av salt, fett og tørrstoff enn referanseosten. Ostene ble lagret i to forskjellige skap, ett vanlig kjøleskap og et modningsskap plassert i to ulike laboratorier. Etter ysting hadde ostene tilnærmet likt vanninnhold. Ostene lagret i kjøleskap hadde større vannuttap enn osten lagret i modningsskap. Dette kan skyldes at kjølevæsken i kjøleskap har lavere temperatur og trekker ut mer fukt enn modningsskap ment for modning av ost (R. Nordbø, Kompetansenavet Vest, pers. med. 2020). I ysteriet hvor referanseosten produseres ligger flere titalls oster i samme modningsrom. Ostene vaskes daglig med kittlake og saltlaken oppbevares i samme rom. Det antas at rommets luftfuktighet opprettholdes av at det modnes store mengder ost i samme rom og at det tilføres fukt når nye oster plasseres i modningsrommet. Dette resulterer i at ostenes vanninnhold kan opprettholdes bedre. Kittlaken vil bidra til at det trekkes vann ut av ostene gjennom osmose. Men modningsskapene kan også ha hatt påvirkning på uttørkingen.

En annen faktor som kan ha hatt uttørkende virkning er modningsfjølene. Modningsfjølene som ble benyttet var laget av gran. I møte med Ragnhild Nordbø ble jeg informert om at modningsfjøler bør fuktet før ost plasseres på dem, da de trekker til seg fuktighet (R. Nordbø, Kompetansenavet Vest, pers. med. 2020). Denne informasjonen ble ikke ervervet før ostene hadde modnet i to måneder. Modningsfjølene ble ikke fuktet før bruk, og det antas derfor at fjølene hadde uttørkende effekt på luftfuktigheten i skapene og vanninnholdet i ostene.

Ettervarmingens effekt på vekst av *Listeria innocua*

Den høye ettervarmingstemperaturen på 56 °C i studien utført av Hammer m.fl (2017) bidro til en distinkt reduksjon av *Listeria*. Ved ysting av forsøksostene ble ostekorn og myse varmet til 40 °C. Dersom vilkårene er optimale har bakterien evne til å vokse ved temperaturer opp til 45 °C (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575). Resultatene fra mikrobiologiske analyser for prøver av inokulert ystemelk og inokulert 24-timers ost (se Figur 10) viser at antall kde/g økte betraktelig mellom disse prøvene. Det vurderes derfor at ettervarmingstemperaturen var for lav til å regne denne prosessen som en barriere for vekst i de inokulerte ostene.

Utvikling av kittlag på skorpe

Utvikling av overflateflora som kitt, hvitmugg, blåmugg, gråmugg og «villmugg» krever at modningslageret holder en luftfuktighet på over 90 % (Nordbø og Ballhaus, 2018 s. 73). I forsøket ble luftfuktigheten i modningsskapene ikke kontrollert. Ostene utviklet skorpe på samme måte som referanseosten, men der denne hadde en tydelig oransjefarget skorpe, hadde forsøksostene bare antydning til oransje farge i skorpens ujevnheter, noe som tyder på minimal utvikling av kittlag. Det er rimelig å anta at utviklingen av kittlag ble redusert på grunn av lav luftfuktighet i modningsskapet og kjøleskapet, og at tilførselen av fukt ved påføring av kittlake ikke var tilstrekkelig til at kittlaget utviklet seg likt referanseostens. Samtidig antas det at kittlaget har utviklet seg noe, dette med bakgrunn i ostens smak. Referanseostens smak var sterkt påvirket av kittdannelse, og ved smaking av Y1P ble det gjenkjent like smaksreferanser i forsøksosten, noe som tyder på at denne også har en viss kitt-dannelse, til tross for at det ikke var synlig ved visuell kontroll.

Vekst av *Listeria innocua* i kittlaker

Det har blitt observert at *Listeria* spp. kan vokse ved saltkonsentrasjoner rundt 10 % og overleve i saltkonsentrasjoner opp til 26 % (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575). Kittlaken brukt ved påføring gjennom modningstiden inneholdt 15 % salt. Det ble ikke påvist *Listeria innocua* i kittlake benyttet for påføring av pasteurisert ost fra ystedag 1 ved modningsuttakene. Resultatene fra analyse av *Listeria innocua* i kittlakene viste ingen vekst i Y2P og Log 1,47 kde/g i KY2UP. Videre ble det ikke påvist *Listeria innocua* i kittlakene ved uttak 4.

Resultatene viser at kittlakene fra batch to ble kontaminert i mindre grad enn batch én. Batch én ble brukt på umodnet ost og det ble observert at små ostepartikler løsnet fra ostens overflate, og fulgte med svampen til kittlakebeholderen. Ved bruk av batch to ble det ikke observert ostepartikler på svampen. Dette antas å skyldes at osten på dette tidspunktet hadde dannet skorpe. Trolig kan kittlake enklere kontamineres ved påføring på umoden ost da skorpen ikke har utviklet seg. Valg av påføringsverktøy kan også ha innvirkning på kontamineringsgrad fordi skureeffekten vil påvirke mengde ostepartikler som løsner. Ved påføring av kittlake på referanseosten ble det brukt en korthåret børste. Det kan også brukes pensel.

5.2 Klassifisering av ost

Gitt kriteriene i Tabell 3 vil forsøksostene klassifiseres som ekstra faste, fete oster. Kombinert med informasjon fra Figur 4 om koaguleringsmetode og modningsbetingelser, kan de videre klassifiseres som løypekoagulerte oster med både overflatemodning og indre bakteriell modning.

Basert på kriterium 1 (*vann i fettfri ostemasse*) kan forsøksostene sammenlignes med ostene *Parmesan* og *Grana*, mens kriterium 2 (*fett i tørrstoff*) antyder at osten er for fet til å ha samme benevnelse som disse ostene. Basert på kriterium 2 kan ostene heller sammenlignes med ostene *Emmental*, *Gruyère*, *Gouda*, *Tilsiter* og *Havarti*.

Gitt det første kriteriet, kan ostene klassifiseres som eksempelvis fete *Parmesan*-oster, men ser man på det andre kriteriet kan ostene heller klassifiseres som ekstra harde *Tilsitere*. *Parmesan* og *Grana* er ikke overflatemodnede oster, det samme gjelder *Emmental* og *Gouda*, og forsøksosten ligner dermed ikke disse. Ostene *Gruyère* og *Tilsiter* er begge overflatemodnede, på samme måte som forsøksosten, men *Gruyère* er en variant med hull som er preget av veksten av en overflatemikroflora, noe som ikke harmonerer med forsøksosten.

Det vurderes dermed at forsøksosten kan klassifiseres som en ekstra hard, fet *Tilsiter*-type, mens referanseosten klassifiseres som en fast, fet ost (Tabell 13). Begge er løypekoagulert med både overflatemodning og indre bakteriell modning (Figur 4). Denne forskjellen baseres på forskjeller i hardhet grunnet uttørking som tidligere diskutert.

5.3 Vekst og overlevelse av *Listeria innocua* i fast kittmodnet ost.

Belastningsstudien ble utført som en modifisert studie.

Det ble valgt å utføre belastningsstudien ved å inokulere ystemelken. Dette valget baseres på muligheten for kontaminering fra utstyr, forurensede tilsetninger og lignende. Å inokulere ystemelken gjorde det mulig å undersøke vekst i både osteskorpene og ostemassen, med jevn fordeling av bakterier. Ved inokulering på ferdig produkt antas det at inokulatet ikke spres i hele produktet, og at det ved analysing kan bli utfordrende å få et representativt uttak av analysemateriell. Studien i dette arbeidet er designet slik at et verst tenkelig tilfelle fremstilles, under så realistiske betingelser som mulig.

Studiens varighet og tidspunkt for analyse

I en belastningsstudie skal varigheten minimum være lik holdbarhetstiden for produktet og analysene skal utføres samme dag som inokuleringen og ved holdbarhetstidens slutt (Spanu mfl., 2014). Studien varte i underkant av 4 måneder. Referanseostens modnes i 3-6 måneder, og fra produksjonsdato er holdbarhetstiden satt 7 måneder fram i tid. For å oppnå et mer nøyaktig bilde av utviklingen av *L. innocua* burde analysene fortsatt til utgangen av holdbarhetstiden, og gjerne lenger for å undersøke videre utvikling. Dette lot seg ikke gjøre av hensyn til lengden på masterstudiet. Likevel har de utførte analysene gitt et bilde på utviklingen av *L. innocua* fra ysting til 15 uker ut i modningen.

Antall testenheter ved analyse

Ved hvert prøvetakingsintervall (uttak) bør minimum 3 inokulerte testenheter analyseres (Spanu mfl., 2014). Dette lot seg ikke gjøre i denne studien da et av ysteprosessenes formål var å etterligne referanseosten. Referanseosten er en ost som veier omtrent 3 kg etter ysting. For å oppnå denne størrelsen trengs det 30 liter melk. Råvareleverandøren hadde ikke mulighet til å avse mer melk enn de 80 literne som ble benyttet til ystingen. Videre er ystekarene som prosesslaboratoriet ved NTNU er utstyrt med ikke store nok til å yste med mer enn 40 liter melk i hver omgang. For å oppnå flere testenheter hadde det derfor vært nødvendig å gjennomføre flere ysteforsøk. Dette hadde vært fordelaktig for å oppnå bedre datagrunnlag og øke tilliten til studien, men samtidig kunne dette ført til ulikheter mellom de ulike ysteprosessene med tanke på vanninnhold, pH, a_w osv.

Kontrollenheter

Sammen med inokulerte testenheter, bør et antall kontrollenheter analyseres ved hvert prøveintervall (Spanu mfl., 2014). Det ble ystet to kontrollenheter, en pasteurisert og en upasteurisert, uten inokulering. Ved analyse på Brilliance Listeria Agar av den upasteuriserte osten ble det påvist vekst, og det ble antatt at koloniene var *Listeria monocytogenes*. Kontrollenheter skal representere ikke-inokulerte enheter som brukes til å oppdage nivået av naturlig forurensning med *L. monocytogenes*, bakgrunnsmikroflora og produktets fysiokjemiske egenskaper. Veksten la grunnlag for at den upasteuriserte kontrollosten (fra ystedag 1) ble utelatt fra videre testing. I etterkant ble det diskutert at koloniene som vokste fram på agar ikke hadde karakteristikk som forventes av *Listeria monocytogenes*. Det ble antatt at koloniene kunne være *Mycobacterium*. Denne vurderingen ble gjort etter at osten hadde blitt autoklavert, hvilket gjorde videre analyse umulig. På en side kan denne beslutningen ha blitt tatt for raskt, men samtidig skulle ostene fra ystedag 1 modnes på prosesslaboratoriet. Da det ble antatt at veksten skyldes *Listeria monocytogenes* var det ikke ønskelig å modne osten i lokaler som ikke er tiltenkt patogene bakterier, i fare for kontaminering av miljøet. Sammenligning mellom upasteurisert ost (med og uten inokulering) lar seg ikke gjøre, og pasteurisert ost fra ystedag 1 utgjør derfor kontrollenheten i dette forsøket.

Paralleller ved analyse

Doble- eller tredoble prøveenheter (paralleller) bør testes ved hvert intervallpunkt (Spanu mfl., 2014). Ved utsåing ble det ikke utført paralleller, grunnet tidsmessige hensyn. Om dette hadde blitt gjort kunne det blitt framlagt standardavvik og sikret mer nøyaktige resultater. De mikrobiologiske analysene var svært tidkrevende, og for å gjennomføre flere paralleller, med flere testenheter, ville det blitt nødvendig å gjennomføre analysene over flere dager per uttak. Dette antas å kunne gi usikkerhet i resultatene, men samtidig ville datagrunnlaget blitt større.

Vannaktivitet og vekst av *Listeria innocua*.

Osternes tørking resulterte i redusert vanninnhold og dermed lavere vannaktivitet. Det ble ikke målt vannaktivitet på 24 timers ost grunnet at det ikke var tilgjengelig måleinstrument på dette tidspunktet. Dette gir ikke mulighet for å se utviklingen fra modningens start. Resultatene viser reduksjon i a_w i ostene fra uttak 1-4.

Listeria spp. kan vokse ved vannaktivitet ved lavest 0,90 og optimalt ved a_w 0,97 (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575; Fox mfl., 2017b s. 690; Lado og Yousef, 2007 s. 169 og 171). Ost Y1P viste ingen vekst av *Listeria innocua* gjennom hele modningstiden, hvilket antyder at det ikke ble tilført bakterier.

Ost Y2P hadde potensiale for vekst fram til uttak 2. Ved uttak 3 viste resultatene at antall kde/g hadde blitt redusert for både skorpe og ostemasse. Det antas at dette har sammenheng med uttørking, men samtidig kan flere faktorer ha påvirket vekst, som for eksempel saltinnhold.

Vannaktivitetsmålingene av ost Y2UP ved uttak 2 viste vannaktivitet like under grenseverdien for vekst av *Listeria spp.* Fra uttak 0 til uttak 1 viste resultatene vekst av *Listeria* i både skorpen og ostemassen. Videre utover modningstiden viste resultatene at antall kde/g hadde blitt redusert i både skorpe og ostemasse. Det vurderes dithen at reduksjon i vanninnhold hadde innvirkning på reduksjonen av antall kde/g *Listeria innocua* i ostene under modning.

pH og vekst av *Listeria innocua*

Listeria spp. kan vokse ved pH mellom 4,0 og 10 (D'Amico og Donnelly, 2017 s. 575; Fox mfl., 2017b s. 690; Lado og Yousef, 2007 s. 169 og 171). Under ysting ble høyeste pH målt til 6,84 og laveste pH ble målt til 5,13. Alle målinger lå altså innenfor vekstområdet for *Listeria spp.* Også gjennom modningstiden lå pH i ostene Y1P, Y2P og Y2UP innenfor vekstområdet. Referanseostens pH-verdier viser at hele ostemassen lå innenfor vekstområdet for *Listeria spp.*, ut fra målinger like under skorpen, 5 cm fra skorpen mot midten, og ved ostens senter. Basert på resultatene, har ikke pH påvirket veksten av *Listeria*.

5.4 Småskalaprodusenters utfordringer knyttet til *Listeria monocytogenes*

Spørreundersøkelsen ble utarbeidet i samarbeid med Ragnhild Nordbø i Norsk Gardsost. Det er umulig å få bekreftelse på om spørsmålene er forstått riktig ved slike undersøkelser, i motsetning til ved intervju der intervjuobjektet kan stille spørsmål til intervjueren ved uklarheter. Det antas derfor at spørsmålene kan ha blitt tolket ulikt fra ysteri til ysteri. Variasjon kan også skyldes antall ansatte, og hvem som har besvart undersøkelsen. Dersom besvarelsen ble utført av en ansatt uten innføring i eksempelvis grenseverdier, eller rutiner for uttak av hygieneprøver, kan besvarelsen ha blitt fylt ut med informasjon som ikke samsvarer med ysteriets rutiner. Dette er ikke mulig å ettergå.

Et eksempel som også underbygger teorien om at ulike respondenter har tolket spørsmålene ulikt, er spørsmålet om hvor mange ansatte ysteriet har. Her kan ysteri med én yster ha besvart dette spørsmålet på flere måter. Tre besvarelser viser null ansatte og fem besvarelser viser én ansatt. Usikkerheten ligger i om den som besvarer undersøkelsen er ysteren og svarer 1 ansatt til tross for at man selv ikke er lønnstaker, eller om vedkommende har en person ansatt i tillegg til seg selv.

På spørsmål om hvilken grenseverdi for tilstedeværelse av *Listeria monocytogenes* bedriften forholder seg til, svarte sju ysteri «vet ikke». Av disse produserer fem ysterier halvfast og/eller fast ost. Av de fem produserer to ysteri under ett tonn ost per år, og disse ysteriene pasteuriserer ikke melken. Det ene av disse ysteriene analyserer ikke hygieneprøver for *Listeria monocytogenes*. Det samme ysteriet tar ut hygieneprøver og produktprøver hver måned. Det andre ysteriet tar ut hygieneprøver hver sjette måned og produktprøver en gang i året. Ett ysteri produserer 9-12 tonn ost per år, og disse pasteuriserer ystemelken før ysting. Hygieneprøver blir tatt hver sjette måned, og prøvene blir analysert for *Listeria monocytogenes*, totalkim og *Salmonella* spp.

Av ysteriene som svarte «vet ikke» på spørsmål om hvilken grenseverdi de forholder seg til, vurderes det at ysteriene med høyest produksjon har fastsatt flest barrierer i sin produksjon for å unngå vekst av *L. monocytogenes*, eks pasteurisering osv. Ysteriene med lavest produksjon har færrest antall barrierer. Dersom det skulle blitt påvist *L. monocytogenes* i noen av disse ysteriene vurderes det at det har større konsekvenser om dette inntreffer hos ysteriet med høyest produksjon, enn hos ysteriet med lavest produksjon, fordi hos et ysteri med stor produksjon vil et større antall ost nå ut til forbruker enn dersom det samme skjer i et ysteri med mindre produksjon. Samtidig er tilstedeværelse av *L. monocytogenes* i ost en stor risiko, og grenseverdiene må opprettholdes uansett produksjonsmengde.

For å avgjøre om *Listeria monocytogenes* kan vokse i et produkt, må produktets egenskaper vurderes (Fjetland, 2016). Dersom osten holder verdier som tilsier at *L. monocytogenes* kan vokse kan en belastningsstudie gi bedriften dokumentasjon som bekrefter eller avkrefter dette.

16 ysterier forholder seg til grenseverdien «fravær i 25 gram, mens produktet er i virksomhetens besittelse». Denne grenseverdien gjelder dersom virksomheten ikke kan dokumentere at produktet ikke vil overskride grenseverdien på 100 kde/g ved holdbarhetstidens utløp (Næringsmiddelhygieneforskriften, 2010). Det antas derfor at denne grensen benyttes grunnet manglende dokumentasjon. Grenseverdien (fravær i 25

gram, mens produktet er i virksomhetens besittelse) er strengere enn den andre (ikke overstige 100 kde/g) fordi det kreves at det ikke påvises *Listeria monocytogenes* i produktene. Videre krever regelverket at det skal analyseres 5 enheter av samme parti. I møte med Ragnhild Nordbø ble det diskutert hvordan en skal definere «ett parti», og det framkom at dette kan være vanskelig for småskalaprodusenter (R. Nordbø, Kompetansenavet Vest, pers. med. 2020). Hos et ysteri som eksempelvis produserer ost av 50 liter melk per dag, vil det, avhengig av ostenes størrelse, kunne bli vanskelig å avse 5 enheter til analyse. Dersom det ystes like store oster som det ble i dette arbeidet vil utbytte bli 2 oster a 2,5 kg per dag. Det blir derfor umulig å fastsette ett parti til å være en produksjonsdag. Som Tabell 15 illustrerer er det stor variasjon i hvor mange oster som tas ut til analyse, og dette kan ha sammenheng med produksjonsvolum. Å definere hvor lang en produksjonsperiode som ett parti skal utgjøre, vil derfor måtte tilpasses hvert enkelt ysteri, basert på produksjonsvolum og andre variabler som antall ansatte, turnus, forhold på gården, m.m.

6 Konklusjon

Forsøksostene oppnådde lavere innhold av vann, og høyere innhold av salt, tørrstoff og fett sammenlignet med referanseosten. Basert på forsøksostenes fysiokjemiske egenskap kan ostene klassifiseres ulikt. Det vurderes at forsøksosten kan klassifiseres som en ekstra hard, fet *Tilsiter*-type, mens referanseosten klassifiseres som en fast, fet ost. Begge er løypekoagulert med både overflatemodning og indre bakteriell modning.

På bakgrunn av de gjennomførte mikrobiologiske analysene kan det ses en tendens til at antall kde/g *Listeria innocua* reduseres gjennom modningsforløpet av fast, kittmodnet ost. Studien i dette arbeidet er designet slik at et verst tenkelig tilfelle fremstilles, under så realistiske betingelser som mulig. Grunnet en noe høyere inokuleringsmengde enn ønsket, kan det ikke vurderes om nivået av *Listeria innocua* ville kommet under grenseverdien 100 kde/g ved utløp av produktets holdbarhetstid. Samtidig antas det at ostens vannaktivitet var grunn i reduksjonen.

Småskalaprodusentene som besvarte spørreundersøkelsen hadde varierende rutiner for hvilken grenseverdi for tilstedeværelse av *Listeria monocytogenes* ysteriet forholder seg til. De fleste forholder seg til grenseverdien «fravær i 25 gram, mens produktet er i virksomhetens besittelse». Det antas at dette er på grunn av at ysteriene ikke kan dokumentere at produktet ikke vil overskride grenseverdien på 100 kde/g ved holdbarhetstidens utløp. Dersom bedriften hadde fått gjennomført en belastningsstudie av produkter, og fått resultater som tilsier at produktet ikke vil overskride grenseverdien på 100 kde/g *L. monocytogenes* ved holdbarhetstidens utløp, kunne den andre grenseverdien blitt benyttet. Samtidig er det svært utfordrende å gjennomføre belastningsstudier på alle produkter i praksis, men produksjonen er en aktiv prosess og endringer kan forekomme. Belastningsstudier er kun gjeldende om produktets resept ikke endres.

7 Videre arbeid

Underveis i arbeidet med oppgaven har det oppstått flere idéer for videre arbeid.

Et nytt belastningsforsøk med tilstrekkelig antall prøveenheter av både kontrollenheter og inokulerte enheter med prøvetakingsintervall ut produktets holdbarhetstid, og gjerne utover holdbarhetstiden. Med paralleller ved utsåing, med egnede modningsforhold for å redusere osters fordamping, med lavere mengde inokulat og med inokulat bestående av stammer tidligere påvist i ost eller andre meieriprodukter. Dette antas å kunne gi større forståelse og grunnlag for vekst og overlevelse av *Listeria spp.* i denne type ost.

Vider kan undersøkelser på nedbrytingsprosesser i ost med fokus på enzymaktivitet være aktuelt.

Videre analyser på overlevelse og vekt av *Listeria innocua/Listeria monocytogenes* i kittlake, med fokus på saltkonsentrasjon.

Litteraturliste

- Allerberger F. (2007). *Listeria*. I S Simjee (Ed.), *Foodborne Diseases*. Totowa, NJ: Humana Press.
- An J.-U., Ho H., Kim J., Kim W.-H., Kim J., Lee S., Mun S.-H., Guk J.-H., Hong S. og Cho S. (2018). *Dairy Cattle, a Potential Reservoir of Human Campylobacteriosis: Epidemiological and Molecular Characterization of From Cattle Farms*. *Frontiers in microbiology*, 9, 3136. doi:10.3389/fmicb.2018.03136
- Andersen G. (2019). Valg av forskningsmetode. Hentet fra <https://ndla.no/nb/subjects/subject:19/topic:1:195989/topic:1:195829/resource:1:56937>. Lastet ned 21.05.2020
- Animalia. (2018). Jurhelse - Jurbetennelse (mastitt) betyr betennelse/infeksjon i juret. Hentet fra <https://www.animalia.no/no/Dyr/storfe/jurhelse/>. Lastet ned 19.05.2020
- Animaliehygieneforskriften. (2008). *Forskrift om særlige hygieneregler for næringsmidler av animalsk opprinnelse* (FOR-2008-12-22-1624). Hentet fra <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1624>
- Bachmann H.P. og Spahr U. (1995). The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheeses made from raw milk. *The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheeses made from raw milk*(3), 476-483.
- Breines D., Folgerø B.F., Grøva L., Haug I., Mo M., Røe M., Solberg A., Strøm T. og Storfe T. (2002). *Fôring og stell av storfe* (Vol. 1). Oslo: GAN Forlag AS.
- Bremvåg M. (2019). *Forekomst av Listeria spp. i et nyetablert prosesseringsanlegg for laks - Vekst av Listeria monocytogenes og Listeria innocua på rustfritt stål, alene og i interaksjon med fire andre bakterieisolater*. (Mastergradsavhandling ved NTNU). Retrieved from <https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/handle/11250/2616835>
- Brouwer M.C., van de Beek D., Heckenberg S.G.B., Spanjaard L. og de Gans J. (2006). Community-acquired *Listeria monocytogenes* meningitis in adults. *Clinical infectious diseases*, 43(10), 1233-1238. doi:10.1086/508462
- Burvenich C., Van Merris V., Mehrzad J., Diez - Fraile A. og Duchateau L. (2003). Severity of E-coli mastitis is mainly determined by cow factors. *VETERINARY RESEARCH*, 34(5). doi:10.1051/vetres:2003023
- Børsting J. (u.å.). METODER FOR DATAINNSAMLING: SPØRREUNDERSØKELSER, INTERVJU & FOKUSGRUPPER. Hentet fra https://www.uio.no/studier/emner/matnat/ifi/INF2260/h17/timeplan/chapter_5_8-norsk.pdf. Lastet ned 21.05.2020
- Chan Y.C. og Wiedmann M. (2008). *Physiology and Genetics of Listeria Monocytogenes Survival and Growth at Cold Temperatures*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(3), 237-253. doi:10.1080/10408390701856272

- Colonialen.no. (2018). STAVANGER YSTERI – NORGES ENESTE BY-YSTERI! Hentet fra <https://colonialen.no/stavanger-ysteri-norges-eneste-by-ysteri/>. Lastet ned 26.04.2020
- Conte G., Serra A. og Mele M. (2017). Dairy Cow Breeding and Feeding on the Milk Fatty Acid Pattern. I R R Watson, R J Collier, og V R Preedy (Eds.), *Nutrients in Dairy and Their Implications for Health and Disease*: Elsevier Inc.
- D'Amico D.J. og Donnelly C.W. (2017). *Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese*. I P L H McSweeney, P F Fox, P D Cotter, og D W Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4 ed., Vol. 1: United Kingdom: Academic Press.
- Dalgleish D.G. og Corredig M. (2012). The Structure of the Casein Micelle of Milk and Its Changes During Processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 449-467. doi:10.1146/annurev-food-022811-101214
- Datta A.R. (2003). *Listeria monocytogenes*. I M D Miliotis og J W Bier (Eds.), *International Handbook of Foodborne Pathogens*: Marcel Dekker, Inc.
- Delaval. (2010). Instruksjonsbok - DeLaval frivillig melkingsystem VMS 2010. Hentet fra http://www3.delaval.com/ImageVaultFiles/id_25398/cf_5/VMS_2010-NOR.PDF. Lastet ned 13.05.2020
- Delaval. (2018). Landbrukskatalogen 2018. Hentet fra <https://www.delaval.com/no/om-delaval/no/kataloger/>. Lastet ned 13.05.2020
- Digitale E. (2017). Immune system changes during pregnancy are precisely timed. Hentet fra <https://med.stanford.edu/news/all-news/2017/09/immune-system-changes-during-pregnancy-are-precisely-timed.html>. Lastet ned 24.05.2020
- Early R. (2012). *Dairy products and milk-based food ingredients*. I D Baines og R Seal (Eds.), *Natural food additives, ingredients and flavourings*: Woodhead Publishing Limited.
- EURL Lm. (2014). European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*. TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Utg. 3.
- Fjetland O. (2016). *Tilsyn med Listeria monocytogenes i spiseferdige næringsmidler – Kommisjonsforordning (EF) 2073/2005 om mikrobiologiske kriterier*. (2016/119837). Hentet fra <https://sjomatnorge.no/wp-content/uploads/2016/06/Retningslinje-Tilsyn-med-Listeria-monocytogenes-i-spiseferdige-n%C3%A6ringsmidler.pdf>
- Folkehelseinstituttet. (2009). Utbrudd av listeriose i Norge. Hentet fra <https://www.fhi.no/sv/utbrudd/oversikt-over-storre-utbrudd/utbrudd-av-listeriose-i-norge/>. Lastet ned 25.05.2020
- Folkehelseinstituttet. (2010). Listeriose - veileder for helsepersonell. Hentet fra <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/listeriose---veileder-for-helsepers/>. Lastet ned 15.05.2020
- Foss Analytics. (2013). *FoodScan for Dairy* Hentet fra https://www.fossanalytics.com/-/media/files/documents/brochuresanddatasheets/products/foodscan-dairy-analyser/foodscan_dairy_solution_brochure_gb.pdf Lastet ned 03.03.2020

- Fox P.F., Cogan T.M. og Guinee T.P. (2017a). Factors That Affect the Quality of Cheese. I P L H McSweeney, P F Fox, P D Cotter, og D W Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4 ed., Vol. 1: United Kingdom: Academic Press.
- Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M. og McSweeney P.L.H. (2017b). *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed. 2017 ed.). Boston, MA: Boston, MA: Springer US.
- Fox P.F., Uniacke-Lowe T., McSweeney P.L.H. og O'Mahony J.A. (2015). *Dairy Chemistry and Biochemistry* (2nd ed. 2015 ed.): Cham: Springer International Publishing.
- Geno SA. (2017). Karakteristikk hos NRF. Hentet fra <https://www.geno.no/Start/Geno-Avler-for-bedre-liv/om-nrf-kua/Karakteristikk-hos-NRF/>. Lastet ned 15.05.2020
- Granum P.E. (2015a). Bacillus cereus og andre Bacillus-arter. I P E Granum (Ed.), *Matforgiftning: Smitte gjennom mat og vann* Vol. 4: Cappelen Damm AS.
- Granum P.E. (2015b). Vekst, kontroll og drap. I P E Granum (Ed.), *Matforgiftning: Smitte gjennom mat og vann* Vol. 4: Cappelen Damm AS.
- Gravdal T. (2011). Budeie i kamp. Hentet fra <https://morgenbladet.no/aktuelt/2011/06/budeie-i-kamp>. Lastet ned 26.05.2020
- Grindal Ysteri. (2014). Produkt - Seterost. Hentet fra <http://grindalysteri.no/>. Lastet ned 26.04.2020
- Guinee T.P., Feeney E.P., Auty M.A.E. og Fox P.F. (2002). *Effect of pH and Calcium Concentration on Some Textural and Functional Properties of Mozzarella Cheese. Journal of Dairy Science*, 85(7), 1655-1669. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74238-0
- Hagenes K. (2010). *Produksjon av meieriprodukter*. Oslo: Baneforlaget.
- Hammer P., Bockelmann W. og Hoffmann W. (2017). Fate of Listeria innocua during production and ripening of smeared hard cheese made from raw milk. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 7846-7856. doi:10.3168/jds.2017-12823
- Haug I. (2018). Slik unngår du Bacillus cereus i sommermelka. Hentet fra <https://medlem.tine.no/fagprat/mj%C3%B8lkekvalitet/slik-unng%C3%A5r-du-bacillus-cereus-i-sommermelka%281%29>. Lastet ned 10.05.2020
- Hauge J.G. og Ore S. (u.å.). Kasein. Hentet fra <https://snl.no/kasein>. Lastet ned 04.05.2020
- Helland S. (2020). Smørsyresporer i fôret kan forebygges. Hentet fra <https://landbruksnytt.no/eurofins/article/smoersyresporer-i-foret-kan-forebygges>. Lastet ned 17.05.2020
- Hunt K., Blanc M., Álvarez-Ordóñez A., Jordan K. og Hunt K. (2018). Challenge Studies to Determine the Ability of Foods to Support the Growth of Listeria monocytogenes. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 7(4). doi:10.3390/pathogens7040080
- Internkontrollforskriften for næringsmidler. (1995). *Forskrift om internkontroll for å oppfylle næringsmiddellovgivningen*. (FOR-1994-12-15-1187). Hentet fra <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/1994-12-15-1187>

- Jensen N., Aarestrup F., Jensen J. og Wegener H.C. (1996). *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *Int. J. Food Microbiol.*, 32(1-2), 209-216.
- Kapperud G. (2015). *Campylobacter*. I P E Granum (Ed.), *Matforgiftning: smitte gjennom mat og vann* Vol. 4: Cappelen Damm AS.
- Kornacki J.K. og Gurtler J.B. (2007). Incidence and Control of *Listeria* in Food Processing Facilities. I E T Ryser og E H Marth (Eds.), *Listeria, Listeriosis and Food Safety* 3 ed.: CRC Press.
- Kristensen J.M.B. (2008). *Osteteknologi* (Vol. 3). Odense: Erhvervsskolernes Forlag.
- Lado B.H. og Yousef A. (2007). Characteristica of *Listeria monocytogenes* Important to Food Processors. I E T Ryser og E H Marth (Eds.), *Listeria, Listeriosis and Food Safety* 3. ed.: CRC Press.
- Liu S., Puri V.M. og Demirci A. (2009). Evaluation of *Listeria innocua* as a suitable indicator for replacing *Listeria monocytogenes* during ripening of Camembert cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(1), 29-35. doi:10.1111/j.1365-2621.2007.01629.x
- Locatelli A., Lewis M.A. og Rothrock M.J. (2017). The Distribution of *Listeria* in Pasture-Raised Broiler Farm Soils Is Potentially Related to University of Vermont Medium Enrichment Bias toward *Listeria innocua* over *Listeria monocytogenes*. *Frontiers in Veterinary Science*, 4. doi:10.3389/fvets.2017.00227
- Lucey A.J. (2015). Raw Milk Consumption: Risks and Benefits. *Nutrition Today*, 50(4), 189-193. doi:10.1097/NT.000000000000108
- Lund V. (2012). *Mikrobiologiske drikkevannsanalyser - hva forteller de?* Hentet fra <https://www.fhi.no/ml/drikkevann/nasjonalt-vannvakt/mikrobiologiske-drikkevannsanalyser>. Lastet ned 16.04.2020
- Løvdaal T. (2015). The microbiology of cold smoked salmon. *Food Control*, 54, 360-373. doi:10.1016/j.foodcont.2015.02.025
- Macdonald L.E., Brett J., Kelton D., Majowicz S.E., Snedeker K., Sargeant J.M. og Macdonald L.E. (2011). A systematic review and meta-analysis of the effects of pasteurization on milk vitamins, and evidence for raw milk consumption and other health-related outcomes. *Journal of food protection*, 74(11), 1814-1832. doi:10.4315/0362-028X.JFP-10-269
- Madigan M.T., Martinko J.M., Bender K.S., Buckley D.H. og Stahl D.A. (2015). *Brock biology of microorganisms* (14th ed., Global ed. ed.). Harlow: Pearson.
- Masiello S.N., Martin N.H., Trmčić A., Wiedmann M. og Boor K.J. (2016). Identification and characterization of psychrotolerant coliform bacteria isolated from pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 130-140. doi:10.3168/jds.2015-9728
- Mattilsynet. (2009). TILSYNSVERKTØY FOR SMÅSKALA MELKEVIRKSOMHETER. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/produksjon_av_mat/melk_og_meieriprodukter/tilsynsverktoy_for_tilsyn_med_smaaskala_melkevirkosomheter.5439/binary/Tilsynsverkt%C3%B8y%20for%20tilsyn%20med%20sm%C3%A5skala%20melkevirkosomheter. Lastet ned 28.05.20

- Mattilsynet. (2012). *Internkontroll*. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/matservering/internkontroll.142 Lastet ned 18.01.2020
- Mattilsynet. (2013a). Registrering eller godkjenning av meieri. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/produksjon_av_mat/melk_og_meieriprodukter/registrering_eller_godkjenning_av_meieri.5088. Lastet ned 28.04.2020
- Mattilsynet. (2013b). Rå melk bør varmebehandles. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/produksjon_av_mat/melk_og_meieriprodukter/raa_melk_bor_varmebehandles.10218. Lastet ned 26.05.2020
- Mattilsynet. (u.å.). Rutiner for trygg mat - En innføring i internkontroll og HACCP. Hentet fra https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/rutiner_for_trygg_mat_en_innforing_i_internkontroll_og_haccp.12389/binary/Rutiner%20for%20trygg%20mat%20-%20En%20innf%C3%B8ring%20i%20internkontroll%20og%20HACCP. Lastet ned 28.04.2020
- Medlem.tine.no. (2014). Tine Råvare. Hentet fra <https://medlem.tine.no/om-oss/tine-ravare>. Lastet ned 14.05.2020
- Medlem.tine.no. (2016). Regler for gårdsvei, mjølkerom og fjøs hos TINEs mjølkeprodusenter Hentet fra https://medlem.tine.no/praktisk-informasjon/tines-regelverk/_attachment/373852?_ts=1520cd5e015. Lastet ned 14.05.2020
- Medlem.tine.no. (2019). TINE bistår landets småskalaprodusenter. Hentet fra <https://medlem.tine.no/aktuelt/nyheter/nyheter/tine-bist%C3%A5r-landets-sm%C3%A5skalaprodusenter>. Lastet ned 27.04.2020
- Meieriet T. (u.å.). Ost. Hentet fra <https://www.tine.no/produkter/ost>. Lastet ned 06.05.2020
- Melkeforskriften. (1995, sist endret 12. september 2005). *Forskrift om produksjon og omsetning mv. av rå melk, varmebehandlet melk og melkebaserte produkter*. (FOR-1995-06-30-636). Hentet fra <https://lovdata.no/pro/#document/SFO/forskrift/1995-06-30-636>
- Meny. (u.å.). Alt om de syv ostefamiliene. Hentet fra <https://meny.no/opskrifter/ost/om-ost/Ostefamiliene/>. Lastet ned 06.05.2020
- Milillo S.R., Friedly E.C., Saldivar J.C., Muthaiyan A., O'Bryan C., Crandall P.G., Johnson M.G. og Ricke S.C. (2012). *A Review of the Ecology, Genomics, and Stress Response of Listeria innocua and Listeria monocytogenes*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(8), 712-725. doi:10.1080/10408398.2010.507909
- Mørk T., Bergsjø B., Sviland S. og Kvitle B. (2003). *Humanpatogene bakterier i tankmelk fra ku og geit* Retrieved from Veterinærinstituttet:
- NMKL. (2005). Nordisk Metodikkomité for næringsmidler. *Enterobacteriaceae*. Utg. 5, Nr. 144.
- NMKL. (2010). Nordisk Metodikkomité for næringsmidler. *Listeria monocytogenes*. Utg. 5, Nr. 136.
- NMKL. (2013). Nordisk Metodikkomité for næringsmidler. *Aerobe mikroorganismer*. Utg. 5, Nr. 86.

- Nordbø R. og Ballhaus M. (2018). *Ysting* (Vol. 1). Bergen: Fagbokforlaget.
- Nyhus L.T. (u.å.). Tanker om fett - Nøkkelen til høyt fettinnhold i mjølka er høgt grovfôropptak, godt vommiljø og lykkelige mikrober. Hentet fra https://www.buskap.no/journal/2018/8/m-1951/Tanker_om_fett. Lastet ned 24.04.2020
- Næringsmiddelhygieneforskriften. (2010). *Forskrift om næringsmiddelhygiene*. (FOR-2008-12-22-1623). Hentet fra <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2008-12-22-1623>
- O'Sullivan O. og Cotte P.D. (2017). Microbiota of Raw Milk and Raw Milk Cheeses. I P L H McSweeney, P F Fox, P D Cotter, og D W Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4 ed., Vol. 1: United Kingdom: Academic Press.
- Opplysningskontoret for meieriprodukter. (2020). Løpefelling. Hentet fra <https://www.melk.no/Meierileksikon/Produksjonsprosesser2/Loepfelling>. Lastet ned 04.05.2020
- Opplysningskontoret for meieriprodukter. (u.å.-a). Hvordan kan melkens celletall fortelle noe om melkens kvalitet? Hentet fra <https://www.melk.no/Melkekilden/Mattrygghet/Kvalitet/Hvordan-kan-melkens-celletal-fortelle-noe-om-melkens-kvalitet>. Lastet ned 19.05.2020
- Opplysningskontoret for meieriprodukter. (u.å.-b). Rutiner for melking - Får kuer en pause fra melkingen? Hentet fra <https://www.melk.no/Melkekilden/Melkekua/Rutiner-for-melking/Faar-kuer-en-pause-fra-melkingen>. Lastet ned 15.05.2020
- Painter J. og Slutsker L. (2007). Listeriosis in Humans I E T Ryser og E H Marth (Eds.), *Listeria, listeriosis, and food safety* 3rd ed. ed. Boca Raton, Fla: CRC Press.
- Panthi R.R., Jordan K.N., Kelly A.L. og Sheehan J.J.D. (2017). Selection and Treatment of Milk for Cheesemaking. I P L H McSweeney, P F Fox, P D Cotter, og D W Everett (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* 4 ed., Vol. 1: United Kingdom: Academic Press.
- Peck M.W. (2006). Clostridium botulinum and the safety of minimally heated, chilled foods: an emerging issue? *Journal of Applied Microbiology*, 101(3), 556-570. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02987.x
- Quigley L., McCarthy R., O'Sullivan O., Beresford T.P., Fitzgerald G.F., Ross R.P., Stanton C. og Cotter P.D. (2013). The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 4928-4937. doi:10.3168/jds.2013-6688
- Rocourt J. og Buchrieser C. (2007). The Genus Listeria and Listeria monocytogenes: Phylogenetic Position, Taxonomy, and Identification. I E T Ryser og E H Marth (Eds.), *Listeria, Listeriosis and Food Safety* 3 ed.: CRC Press.
- Rørvik L.M. (2015). Andre gram-positive bakterier. I P E Granum (Ed.), *Matforgiftning: Smitte gjennom mat og vann* Vol. 4: Cappelen Damm Akademisk.
- Schei I. (2020). FØRING FOR AUKA FEITTPROSENT I MJØLKA. I *Buskap* Vol. 1 - 2020.
- Skjerdal T., Moen L.H. og Pettersen K.S. (2016). *Belastningsstudier - et verktøy for håndtering av Listeriarisiko i spiseferdige produkter*. (4-2016).

- Veterinærinstituttet. Hentet fra https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2016/veileder-listeria/_attachment/download/68d31513-1f72-4961-a5d4-bde0eead9083:24fbbc89e34f31310676e8cb3fce425700cee174/2016_4_Belastningsstudier%20Listeriarisiko%20i%20spiseklare%20produkter.pdf
- Sonnesen S. (2000). *Husdyrenes ernæringsfysiologi* (Vol. 2.). Vejlby Landbrugsskole: Landbrugsforlaget
- Spanu C., Scarano C., Ibba M., Pala C., Spanu V. og De Santis E.P.L. (2014). Microbiological Challenge Testing for in Ready-to-Eat Food: A Practical Approach. *Italian journal of food safety*, 3(4), 4518. doi:10.4081/ijfs.2014.4518
- Statens Næringsmiddeltilsyn. (2003). *Kartlegging av alternative barrierer for produksjon av melkebaserte produkter produsert av ikke-varmebehandlet melk - En meieriteknologisk utredning*. (Arbeidsrapport 2, 2003). SNT
- Stavanger Ysteri (Producer). (2018). Milk delivery. [Bilde] Retrieved from <https://www.facebook.com/stavangerysteri/photos/a.1295068220521534/2388225197872492/?type=3&theater>
- Taterka H. og Castillo M. (2018). Analysis of the preferential mechanisms of denaturation of whey protein variants as a function of temperature and pH for the development of an optical sensor. *International Journal of Dairy Technology*, 71(1), 226-235. doi:10.1111/1471-0307.12348
- Tetra Pak. (2020). *Dairy Processing Handbook*. Hentet fra <https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/> Lastet ned 14.12.2019
- Thermo Fisher Scientific - Oxoid Microbiology Products. (u.å.-a). Dehydrated Culture Media - BRILLIANCE LISTERIA AGAR BASE. Hentet fra http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1080&cat=&c=UK&lang=EN. Lastet ned 25.05.2020
- Thermo Fisher Scientific - Oxoid Microbiology Products. (u.å.-b). Dehydrated Culture Media - PLATE COUNT AGAR. Hentet fra http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0325&c=UK&lang=EN. Lastet ned 25.05.2020
- Thermo Fisher Scientific - Oxoid Microbiology Products. (u.å.-c). Dehydrated Culture Media - VIOLET RED BILE GLUCOSE (VRBG) AGAR (ISO). Hentet fra http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM1082+&c=UK&lang=EN. Lastet ned 25.05.2020
- Thorsen I.M.H. (2017). *Kartlegging av mikrobiota i melk fra gårdstank til utgått holdbarhet i standardisert helmelk*. (Mastergradsavhandling). Norges miljø- og biovitenskapelige universitet NMBU,
- Trøen G. (2018). Valg av kraftfôr på beite - hvordan opprettholde en høy fettprosent? Hentet fra <https://www.norgesfor.no/aktuelt2/valg-av-kraftfor-pa-beite---hvordan-oppretholde-en-hoy-fettprosent/>. Lastet ned 26.04.2020
- Veterinærinstituttet. (2011). *Bacillus cereus*. Hentet fra https://www.matportalen.no/matsmitte_og_hygiene/tema/smittestoffer/bacillus_cereus. Lastet ned 10.05.2020

- Veterinærinstituttet. (u.å.). Tuberkulose. Hentet fra <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/tuberkulose>. Lastet ned 15.05.2020
- Vitenskapskomiteen for mat og miljø. (2015). Risikoen ved å drikke rå melk (upasteurisert melk). Hentet fra <https://vkm.no/efsa/omefsa/nyheter/efsanyheter/risikoenvedadrikkeramelkupasteurisertmelk.5.2375207615dac0245aefb4.html>. Lastet ned 26.05.2020
- Vitenskapskomiteen for mattrygghet. (2006). *A qualitative assessment of the risks of transmission of microorganisms to humans resulting from the consumption of raw milk and raw cream in Norway*. (2006:10). Hentet fra <https://vkm.no/download/18.d44969415d027c43cf1f75a/1500301248650/dc6299d064.pdf>
- Walstra P., Wouters J.T.M. og Geurts T.J. (2006). *Dairy science and technology* (Vol. 2): Taylor & Francis Group.
- Whist A.C. (2015). Nyinfeksjonsnivået - få kontroll på celletallet. Hentet fra <https://medlem.tine.no/fagprat/helse/nyinfeksjonsniv%C3%A5et-f%C3%A5-kontroll-p%C3%A5-celletallet>. Lastet ned 19.05.2020
- Østerås O. og Lystad M.L. (2001a) Jurhelse. Helsetjenesten for storfe, TINE Norske Meierier. s. 1-8.
- Østerås O. og Lystad M.L. (2001b) Mastitt og forebygging. Helsetjenesten for storfe, TINE Norske Meierier. s. 1-8.

Vedleggsliste

Vedlegg 1: Ystejournal for Tilsiter-produksjon

Vedlegg 2: Rådata fra mikrobiologiske analyser

Vedlegg 3: Spørreskjema

Vedlegg 1: Ystejournal for Tilsiter-produksjon

Tabell 1: Ystejournal for produksjon av pasteurisert og upasteurisert ost, med og uten inokulering.

PROSESS	Y1P	Y1UP	Y2P	Y2UP
Dato	19.11.19	19.11.19	20.11.19	20.11.19
Dag 1:			Inokulert	Inokulert
Fullt kar kl.:	8:45	14:30	10:40	11:55
Liter ystemelk:	20 L	20 L	20 L	20 L
Fett % ystemelk:	4,06 %	4,06 %	4,06 %	4,06 %
pH ystemelk:	6,66	6,69	6,60	6,69
PAST START Kl:	9:15	-	11:15	-
PAST SLUTT Kl:	9:50	-	11:50	-
pH etter pasteurisering:	6,84	6,57	6,56	6,61
SYRNING				
Mengde brukssyre:	0,1973	0,1978	0,1926	0,1947
kalsiumklorid: 0,2/ L melk	4 g	4 g	4 g	4 g
Syrningstemperatur: 32 °C	33 °C	33 °C	33 °C	33 °C
Formodning: Start kl.:	10:25	14:55	12:40	12:40
Formodning: Slutt kl.: 40 min	11:18	15:15		
pH etter formodning: pH 6,5	6,58	6,52	6,52	6,57
Lysozym: 0,02 gram p L	0,4 g	0,4 g	0,4 g	0,4 g
KOAGULERING			Inokulum tilsatt	Inokulum tilsatt
Løpningstemperatur:	32 °C	32 °C	32 °C	32 °C
Mengde løpe: 0,3 ml/ L melk	6 ml	6 ml	6 ml	6 ml
Koagulering startet kl.:	11:25	15:20	13:35	13:35
Koagulering slutt kl.: 1-1,5 time	12:30	16:13	14:30	14:20
SKJÆRING				
Start skjæring kl: 32 °C 10 min	30 °C	31 °C	32 °C	32 °C
Start og slutt røring kl.:	12:35-12:48	16:15-16:28	14:35-14:50	14:40-14:55
Mål pH i koagelet:	6,52	6,53	6,50	6,54
Hvile: 4-5 min	ok	ok	ok	ok
ETTERVARMING				
Avtapp, myse: 0,15 L/L melk	3 L	3 L	3 L	3 L
Opp til 40 °C med vann 70 °C	pH 6,53	pH 6,53	pH 6,51	pH 6,54
21 L vann/100 L melk	4,2 L 70 °C	4,2 L 70 °C	4,2 L 70 °C	4,2 L 70 °C
Tidspunkt/grader	13:15/ 41 °C	16:40/ 40 °C	15:20/ 40 °C	15:20/ 41 °C
Tidspunkt/grader	13:45/ 40 °C	17:10/ 41 °C	15:50/ 42 °C	15:50/ 40 °C
pH etter ettervarming:	6,52	6,52	6,54	6,57
Fyll i former - Antall: 2	14:00	17:15	16:00	16:00
SNUING				
Snuing etter 60 min	15:20	18:15	17:00	17:00
Snuing etter 180 min	16:50	20:15	19:00	19:00
Lodd tas av	17:30	20:45	22:00	22:00
Dag 2 – snu ost:				
pH etter 24 t: ønskelig 5 -5,2	5,13	5,19	5,2	5,2
Ostene legges i saltlake:	11:00	11:00	11:45	11:45
Snus i laken	21:00	21:00	21:00	21:00
Avrenning 24 timer	ok	ok	ok	ok
Ostene til modning på 13 °C	211110	211119	221119	221119
Ostens vekt, 24 timer	2,8166 kg	2,8432 kg	3,06 kg	2,581 kg

Vedlegg 2: Rådata fra mikrobiologiske analyser

Tabell 1: Rådata fra mikrobiologiske analyser på Briliance Listeria Agar ved uttak 0 – 4.

BLA – Brilliance Listeria Agar, inkubert ved 37 °C										
Uttak	Prøve	Fortynninger							Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7		
Uttak 0 Y1	PM	0	0	0	0	0	-	-	0	0
	MP	0	0	0	0	0	-	-	0	0
	MUP	10	1	0	0	0	-	-	1,00 x 10 ₂	2,00
	24tP	-	0	0	0	0	0	-	0	0
	24tUP	-	78	10	1	0	0	-	8,02 x 10 ₃	3,90
Uttak 0 Y2	PM	0	0	0	0	0	-	-	0	0
	MP	183	20	0	0	0	-	-	1,85 x 10 ₃	3,27
	MUP	182	40	5	1	0	-	-	2,05 x 10 ₃	3,31
	InnP	-	213	38	2	0	0	-	2,28 x 10 ₄	4,36
	InnUP	-	259	32	4	0	0	-	3,27 x 10 ₄	4,51
	K	0	0	0	0	0	-	-	0	0
	24tUP	-	-	-	221	26	3	0	2,25 x 10 ₆	6,35
	24tUP	-	-	-	130	5	3	0	1,24 x 10 ₆	6,09
Uttak 1	Prøve	Fortynninger							Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7		
	Y1Pa	-	-	-	0	0	0	0	0	0
	Y1Pb	-	-	-	0	0	0	0	0	0
	KY1P	-	0	0	0	0	-	-	0	0
	Y2Pa	-	-	-	21	5	0	0	2,36 x 10 ₅	5,37
	Y2Pb	-	-	-	88	12	0	0	9,09 x 10 ₅	5,96
	KY2P	-	106	15	1	0	-	-	1,10 x 10 ₄	4,04
	Y2UPa	-	-	-	66	7	0	0	6,64 x 10 ₅	5,83
Y2UPb	-	-	-	179	15	2	0	1,77 x 10 ₆	6,25	
KY2UP	-	7	1	0	0	-	-	7,27 x 10 ₂	2,86	
Uttak 2	Prøve	Fortynninger							Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7		
	Y1Pa	-	-	0	0	0	0	-	0	0
	Y1Pb	-	-	0	0	0	0	-	0	0
	Y2Pa	-	-	48	4	0	0	-	4,73 x 10 ₄	4,67
	Y2Pb	-	-	over	142	15	2	-	1,43 x 10 ₆	6,16
Y2UPa	-	-	257	22	4	1	-	2,56 x 10 ₅	5,41	
Y2UPb	-	-	-	91	15	2	0	9,74 x 10 ₅	5,99	
Uttak 3	Prøve	Fortynninger							Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7		
	Y1Pa	-	-	0	0	0	0	-	0	0
	Y1Pb	-	-	0	0	0	0	-	0	0
	KY1P	0	0	0	0	-	-	-	0	0
	Y2Pa	-	-	32	2	0	0	-	3,09 x 10 ₄	4,49
	Y2Pb	-	-	over	85	6	0	-	8,27 x 10 ₅	5,92
	KY2P	0	0	0	0	-	-	-	0	0
	Y2UPa	-	-	41	8	1	0	-	4,50 x 10 ₄	4,65
Y2UPb	-	-	over	47	7	1	-	4,95 x 10 ₅	5,7	
KY2UP	3	0	0	0	-	-	-	3,00 x 10 ₁	1,48	
Uttak 4	Prøve	Fortynninger							Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7		
	Y1Pa	-	0	0	0	0	-	-	0	0
	Y1Pb	-	0	0	0	0	-	-	0	0
	KY1P	0	0	0	0	-	-	-	0	0
	Y2Pa	-	over	54	4	0	-	-	5,27 x 10 ₄	4,72
	Y2Pb	-	over	205	21	2	-	-	2,05 x 10 ₅	5,31
	KY2P	0	0	0	0	-	-	-	0	0
	Y2UPa	-	193	21	1	0	-	-	1,94 x 10 ₄	4,29
Y2UPb	-	over	232	26	2	-	-	2,34 x 10 ₅	5,35	
KY2UP	0	0	0	0	-	-	-	0	0	

Tabell 2: Rådata fra mikrobiologiske analyser på Violet Red Bile Glucose Agar ved uttak 0 – 4.

VRBGA – Violet Red Bile Glucose Agar, inkubert ved 37 °C								
Uttak	Prøve	Fortynninger					Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1-	-2	-3	-4	-5		
Uttak 0 Y1	PM	0	0	0	0	0	0	0
	MP	0	0	0	0	0	0	0
	MUP	-	0	0	0	0	0	0
	24tP	-	-	0	0	0	0	0
	24tUP	-	-	15	0	0	1,50 x 10 ⁴	4,18
Uttak 0 Y2	PM	0	0	0	-	-	0	0
	MP	0	0	0	-	-	0	0
	MUP	1	0	0	-	-	1,00 x 10 ¹	1
	InnP	-	0	0	0	-	0	0
	InnUP	-	22	1	0	-	2,09 x 10 ³	3,32
	K	0	0	0	-	-	0	0
	24tUP	-	-	35	4	0	3,55 x 10 ⁴	4,55
Uttak 1	Prøve	Fortynninger					Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5		
	Y1Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y1Pb	-	0	0	0	0	0	0
	KY1P	0	0	0	0	-	0	0
	Y2Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pb	-	0	0	0	0	0	0
	KY2P	0	0	0	0	-	0	0
	Y2UPa	-	50	5	2	0	5,14 x 10 ³	3,71
Y2UPb	-	197	12	1	0	1,89 x 10 ⁴	4,28	
KY2UP	0	0	0	0	-	0	0	
Uttak 2	Prøve	Fortynninger					Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5		
	Y1Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y1Pb	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pb	-	0	0	0	0	0	0
	Y2UPa	-	0	0	0	0	0	0
Y2UPb	-	32	2	3	0	3,33 x 10 ³	3,52	
Uttak 3	Prøve	Fortynninger					Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5		
	Y1Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y1Pb	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pb	-	0	0	0	0	0	0
	Y2UPa	-	0	0	0	0	0	0
Y2UPb	-	4	0	0	0	4,00 x 10 ²	2,60	
Uttak 4	Prøve	Fortynninger					Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5		
	Y1Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y1Pb	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pa	-	0	0	0	0	0	0
	Y2Pb	-	0	0	0	0	0	0
	Y2UPa	-	0	0	0	0	0	0
Y2UPb	-	1	0	0	0	1,00 x 10 ²	2	

Tabell 3: Rådata fra mikrobiologiske analyser på Plate Count Agar, inkubert ved 20 °C, ved uttak 0 – 4.

PCA20 – Plate Count Agar, inkubert ved 20 °C											
Uttak	Prøve	Fortynninger								Kde/g Eks.	Log kde/g
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9		
Uttak 0 Y1	PM	4	1	0	0	-	-	-	-	4,55 x 10 ₂	2,66
	MP	over	over	116	8	-	-	-	-	1,13 x 10 ₆	6,05
	MUP	-	-	112	14	1	1	0	-	1,15 x 10 ₆	6,06
	24tP	-	-	-	-	Over	211	19	0	2,09 x 10 ₉	9,32
	24tUP	-	-	-	-	over	202	27	4	2,10 x 10 ₉	9,32
Uttak 0 Y2	PM	0	0	0	0	0	-	-	-	0	0
	MP	-	over	over	120	13	-	-	-	1,21 x 10 ₆	6,08
	MUP	-	-	over	over	58	2	0	-	5,45 x 10 ₆	6,74
	InnP	-	-	over	over	109	13	0	-	1,11 x 10 ₇	7,04
	InnUP	-	over	over	over	246	39	-	-	2,59 x 10 ₇	7,41
	K	-	over	186	18	0	-	-	-	1,85 x 10 ₅	5,27
	24tP	-	-	-	over	over	over	over	14	1,40 x 10 ₉	9,15
	24tUP	-	-	-	over	over	over	131	13	1,31 x 10 ₉	9,12
Uttak 1	Prøve	Fortynninger								Kde/g	Log kde/g
		-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10		
	Y1Pa	-	-	over	228	20	2	-	-	2,25 x 10 ₉	9,35
	Y1Pb	-	-	over	over	27	3	-	-	2,73 x 10 ₉	9,44
	KY1P	over	over	162	16	-	-	-	-	1,62 x 10 ₇	7,21
	Y2Pa	-	-	over	130	12	2	-	-	1,30 x 10 ₉	9,11
	Y2Pb	-	-	over	over	33	2	-	-	3,18 x 10 ₉	9,50
	KY2P	over	over	over	37	-	-	-	-	3,70 x 10 ₇	7,57
	Y2UPa	-	-	over	over	24	2	-	-	2,36 x 10 ₉	9,37
	Y2UPb	-	-	over	over	43	3	-	-	4,18 x 10 ₉	9,62
KY2UP	over	over	54	5	-	-	-	-	5,36 x 10 ₆	6,73	
Uttak 2	Prøve	Fortynninger								Kde/g	Log kde/g
		-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10		
	Y1Pa	-	-	-	35	4	1	6	-	4,14 x 10 ₈	8,62
	Y1Pb	-	-	-	183	40	14	4	-	2,17 x 10 ₉	9,34
	Y2Pa	-	-	-	199	19	16	1	-	2,12 x 10 ₉	9,33
	Y2Pb	-	-	-	249	20	2	0	-	2,44 x 10 ₉	9,39
	Y2UPa	-	-	-	107	12	1	0	-	1,08 x 10 ₉	9,03
Y2UPb	-	-	-	over	30	2	0	-	2,91 x 10 ₉	9,46	
Uttak 3	Prøve	Fortynninger								Kde/g	Log kde/g
		-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10		
	Y1Pa	-	-	-	22	5	0	0	-	2,45 x 10 ₈	8,39
	Y1Pb	-	-	-	126	5	1	0	-	1,19 x 10 ₉	9,08
	Y2Pa	-	-	-	83	10	0	0	-	8,45 x 10 ₈	8,93
	Y2Pb	-	-	-	206	18	2	0	-	2,04 x 10 ₉	9,31
Y2UPa	-	-	-	35	3	0	0	-	3,45 x 10 ₈	8,54	
Y2UPb	-	-	-	221	19	2	0	-	2,18 x 10 ₉	9,34	
Uttak 4	Prøve	Fortynninger								Kde/g	Log kde/g
		-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10		
	Y1Pa	-	-	over	34	4	0	-	-	3,45 x 10 ₈	8,54
	Y1Pb	-	-	over	72	10	1	-	-	7,48 x 10 ₈	8,87
	Y2Pa	-	-	136	14	1	0	-	-	1,36 x 10 ₈	8,13
	Y2Pb	-	-	Over	165	21	1	-	-	1,68 x 10 ₉	9,23
Y2UPa	-	-	over	30	3	0	-	-	3,00 x 10 ₈	8,48	
Y2UPb	-	-	over	157	18	2	-	-	1,59 x 10 ₉	9,20	

Tabell 4: Rådata fra mikrobiologiske analyser på Plate Count Agar, inkubert ved 30 °C, ved uttak 0 – 4

PCA30 – Plate Count Agar, inkubert ved 30 °C											
Uttak	Prøve	Fortynninger								Kde/g Eks.	Log kde/g
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8		
Uttak 0 Y1	PM	12	1	1	0	0	-	-	-	1,26 x 10 ²	2,10
	MP	over	over	over	over	13	-	-	-	1,30 x 10 ⁶	6,11
	MUP	-	over	over	141	22	7	-	-	1,53 x 10 ⁶	6,19
	24tP	-	-	over	over	over	27	-	-	2,70 x 10 ⁷	7,43
	24tUP	-	-	-	over	over	over	247	-	2,47 x 10 ⁹	9,39
Uttak 0 Y2	PM	14	0	0	0	-	-	-	-	1,40 x 10 ²	2,15
	MP	over	over	over	201	-	-	-	-	2,01 x 10 ⁶	6,30
	MUP	-	Over	Over	Over	39	-	-	-	3,90 x 10 ⁶	6,59
	InnP	-	Over	Over	Over	93	-	-	-	9,30 x 10 ⁶	6,97
	InnUP	-	Over	Over	Over	188	-	-	-	1,88 x 10 ⁷	7,27
	K	-	Over	Over	Over	Over	211	16	-	2,06 x 10 ⁸	8,31
	24tP	-	-	Over	Over	Over	over	243	22	2,41 x 10 ⁹	9,38
	24tUP	-	-	over	Over	over	over	178	13	1,74 x 10 ⁹	9,24
Uttak 1	Prøve	Fortynninger								Kde/g Eks.	Log kde/g
		-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12		
	Y1Pa	over	181	19	0	0	-	-	-	1,82 x 10 ⁹	9,26
	Y1Pb	over	over	27	4	0	-	-	-	2,82 x 10 ⁹	9,45
	KY1P	121	13	2	0	0	-	-	-	1,25 x 10 ⁶	6,10
	Y2Pa	over	159	14	0	0	-	-	-	1,57 x 10 ⁹	9,20
	Y2Pb	over	over	28	2	2	-	-	-	2,88 x 10 ⁹	9,46
	KY2P	over	29	2	0	0	-	-	-	2,82 x 10 ⁷	7,45
	Y2UPa	over	191	10	1	0	-	-	-	1,82 x 10 ⁹	9,26
Y2UPb	over	over	27	6	0	-	-	-	3,00 x 10 ⁹	9,48	
KY2UP	66	9	1	0	0	-	-	-	6,85 x 10 ⁶	6,84	
Uttak 2	Prøve	Fortynninger								Kde/g Eks.	Log kde/g
		-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12		
	Y1Pa	-	42	3	0	0	-	-	-	4,09 x 10 ⁸	8,61
	Y1Pb	-	127	14	4	0	-	-	-	1,31 x 10 ⁹	9,12
	Y2Pa	-	142	13	1	0	-	-	-	1,41 x 10 ⁹	9,15
	Y2Pb	-	over	19	7	1	-	-	-	2,43 x 10 ⁹	9,39
	Y2UPa	-	98	9	2	0	-	-	-	9,82 x 10 ⁸	8,99
Y2UPb	-	over	23	4	0	-	-	-	2,45 x 10 ⁹	9,39	
Uttak 3	Prøve	Fortynninger								Kde/g Eks.	Log kde/g
		-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12		
	Y1Pa	-	109	10	1	0	-	-	-	1,08 x 10 ⁹	9,03
	Y1Pb	-	98	7	2	0	-	-	-	9,64 x 10 ⁸	8,98
	Y2Pa	-	81	8	2	0	-	-	-	8,20 x 10 ⁸	8,91
	Y2Pb	-	178	13	1	0	-	-	-	1,73 x 10 ⁹	9,24
Y2UPa	-	31	2	0	0	-	-	-	3,00 x 10 ⁸	8,48	
Y2UPb	-	180	17	2	0	-	-	-	1,79 x 10 ⁹	9,25	
Uttak 4	Prøve	Fortynninger								Kde/g Eks.	Log kde/g
		-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	12		
	Y1Pa	over	126	15	1	-	-	-	-	1,28 x 10 ⁹	9,11
	Y1Pb	155	22	1	0	-	-	-	-	1,60 x 10 ⁸	8,21
	Y2Pa	56	5	2	0	-	-	-	-	5,68 x 10 ⁷	7,75
	Y2Pb	Over	88	11	0	-	-	-	-	9,00 x 10 ⁸	8,95
Y2UPa	151	17	3	0	-	-	-	-	1,54 x 10 ⁸	8,19	
Y2UPb	over	99	15	1	-	-	-	-	1,04 x 10 ⁹	9,02	

Vedlegg 3: Spørreskjema

Spørsmål fra spørreundersøkelse sendt til medlemmer av Norsk Gardsost.

1. * Produksjonsmengde (tonn per år)
2. Hvor mange ansatte har ditt ysteri?
3. * Hvilke oster produserer ditt ysteri?
4. * Pasteuriseres melken før ysting? Hvis ja: ved hvilken tid/temperatur-kombinasjon?
5. Hvor mange modningsrom har ditt ysteri? og hvilke(n) temperaturer(er) holder det/disse?
6. Nevn én modningsost som vurderes som mest risikoutsatt med tanke på vekst av Listeria: hvor lenge ligger osten på modningsrom? Skriv gjerne hvor lenge på ulike modningsrom dersom ysteriet har flere rom for modning.
7. * Brukes det kitt-lake ved modning?
8. Hvis ja - hvilken kultur brukes? og hvordan blandes kitt-laken?
9. Om ditt ysteri produserer kittmodnet ost: hvor lenge ligger osten på modningsrom? Skriv gjerne hvor lenge på ulike modningsrom dersom ysteriet har flere rom for modning.
10. Brukes det andre tilsetninger? Eks. øl, krydder osv. Beskriv hvilke.
11. * Hvilket materiale er modningsfjølér laget av?
12. * Hvor ofte tas det hygienepøver i ysteriet?
13. * Etter uttak av hygienepøver, hvilke mikroorganismer analyseres det for?
14. * Har bedriften fått hjelp til å utarbeide prøvetakingsplan?
15. * Hvor ofte blir det tatt prøver av produkt?
16. * Ref forrige spm: Hvor mange oster tas det prøve av? Og hvordan fordeles prøveuttak mellom produksjons-batcher?
17. * Har det blitt påvist funn av Listeria monocytogenes i ysteriet?
18. * Har det blitt påvist funn av Listeria monocytogenes i sluttprodukt?
19. Mottar ditt ysteri melk fra ekstern leverandør for å oppå ønsket produksjon?
20. Hvis ja: mottar du informasjon om melkens kvalitet ved mottak? eventuelt hvilken?
21. Leverer du melk til meieri?
22. Ved bruk av melk fra egen besetning: Sendes det melkeprøver fra hvert enkelt dyr til analyse?
23. Hvis ja på forrige spørsmål: Finner du resultatene fra disse analysene hjelpsomme til å ha kontroll på melkekvalitet?
24. * Hvilken av de to grensene for tilstedeværelse av Listeria følger bedriften?
25. * Hva tar du prøve av når du tar prøve til analyse av Listeria?
26. * Har bedriften vurdert om listeria kan vokse i ulike produkt? eventuelt hvordan?
27. * Gjennomfører Mattilsynet tilsyn? Hvor ofte?
28. * Har bedriften fått hjelp til utforming av fareanalyse (HACCP)?

*= Resultater fra spørsmålene er presentert i delkapittel 4.3.

