



Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet NTNU
Institutt for bioteknologi og matvitenskap

BACHELOROPPGAVE 2021

20 studiepoeng

**Effekt av ulik dose hemmekultur og ulik lagringstemperatur mot
smørsyregjæring i økologisk ost**



utført av

Didrik Braathen

Ola Krukhaug

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

Sammendrag

Tilstedeværelse av *Clostridium* i melk spesielt på vinteren er et problem som resulterer i senesing i ost ved lagring. Dette er utfordringer som osteprodusentene møter og spesielt de som jobber med økologisk melk. Da tilsetning av nitrat eller lysozymer ikke er tillat i økologisk produksjon, kan det brukes hemmekultur.

Tilsetning av hemmekultur samt lavere lagringstemperatur for hemming av *Clostridium tyrobutyricum* er her tiltak som er prøvd ut i en kombinasjon.

Det ble foretatt 3 ystinger hvor mengde hemmekultur tilsatt i ystemelk tilsvarte 0 DCU, 10 DCU og 20 DCU. I tillegg ble halvparten av osten fra hver ysting modnet ved 10°C og den andre halvparten ble modnet ved 20°C mellom uke 1 og uke 4 inn i modningsprosessen.

Mengde anaerobe sporedannere og innhold av smørsyre i ost modnet ved 10°C var betraktelig lavere enn ost modnet ved 20°C, og det kunne ikke sees en betraktelig forskjell på innhold av anaerobe sporedannere mellom ostene tilsatt 0, 10 og 20 DCU. I tillegg ble det observert oppblåsing av ost lagret ved 20°C, samt at det var en klar lukt av smørsyre fra disse ostene.

Effekten modningstemperaturen har mot smørsyregjæring i ost var veldig stor, hvor modningstemperatur på 10°C hemmet vekst av anaerobe sporedannere betraktelig i forhold til en modningstemperatur ved 20°C. Den tilsatte hemmekulturen hadde ingen merkbar hemmende effekt mot smørsyregjæring i ost tilsatt 10 DCU og 20 DCU.

Summary

The presence of *Clostridium* in milk especially in the winter, is a major cause of spoilage in semi-hard cheeses as it results in butyric acid fermentation, also called late blowing defect (LBD) under storage. This is a challenge that cheese manufacturers often face, especially those who work with organic milk. As the addition of nitrate or lysozyme is not permitted in organic cheese manufacturing, an alternative is application of so-called protective lactic acid bacteria.

Addition of these protective lactic acid bacteria, used as a sort of inhibitor culture, in addition to using lower ripening temperatures were in this assignment tested as countermeasures to prevent this defect from happening.

There were made 3 different cheeses over three days of production, where the amount of protective lactic acid bacteria added was 0, 10 and 20 (Direct Culture Unit) DCU over the three different days. In addition to this, half of the three different cheeses were stored and ripened on 10 °C and 20 °C in the ripening stage between one and four weeks.

The amount of anaerobic spore formers and butyric acid in cheese ripened at 10 °C was considerably lower than the cheese that was ripened at 20 °C. There were however no notable differences in these levels between the cheeses that were added 0, 10 and 20 DCU of inhibitor culture. There were made sensory observations that cheese which was ripened at 20 °C had clear indications of LBD both visually and in smell.

The effects of the different ripening temperatures were very clear, where the lower ripening temperature of 10 °C inhibited the growth of anaerobic spore formers considerably in comparison to the ripening temperature of 20 °C. The added inhibitor culture had no noticeable effect on inhibiting the butyric acid fermentation in the cheese was added 10 and 20 DCU.

Forord

Denne bacheloroppgaven ble utført som en avslutning på det 3-årige studieprogrammet Matvitenskap, teknologi og bærekraft ved institutt for bioteknologi og matvitenskap ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet i Trondheim.

Arbeidet med oppgaven startet i januar 2021 og ble avsluttet i mai 2021. Studentene som har jobbet med og forfattet oppgaven er Didrik Braathen og Ola Krukhaug.

Arbeidet med oppgaven har vært omfattende og lærerikt. Semesteret og det nye året startet med et veldig hyggelig bedriftsbesøk på Galåvolden Gård på Røros, der vi fikk en god innføring i arbeidet de gjør samt innblikk i hvordan en ysteprosess utføres. Bedriftsbesøket gjorde at vi raskt fikk godt innblikk i problemstillingen i oppgaven, og motiverte oss til videre arbeid som ga en god start på året og oppgaven. Takk til Arnt Langen fra Rørosmeieriet, som la til rette for vårt besøk og til Ingulf Galåen, daglig leder og innehaver av Galåvolden gård AS, som viste oss ysteriet og lot oss observere og delta under dagens ysting.

Problemstillingen i oppgaven tar for seg hemming av smørsyregjæring i økologisk ost ved hjelp av hemmekultur og lavere modningstemperatur. Dette innebærer at gruppen har utført en ysteprosess og mange mikrobiologiske analyser samt egen eksperimentering med metoder, og dermed tilegnet seg mye kunnskap.

Vi vil rette en stor og spesiell takk til vår hovedveileder Kari Helgetun Langfoss som takk for all hjelpen og støtten vi har fått under arbeidet med bacheloroppgaven. Spesielt rundt de praktiske elementene med oppgaven har vi fått enestående oppfølging og hjelp.

Vi vil også takke våre veiledere Sunniva Hoel og Kine Husteli Kristiansen for gode tilbakemeldinger og innspill under utførelse og skriving av oppgaven. Det rettes også en takk til Trondheim Fagskole for lån av lokaler, og TINE for hjelp med eksterne analyser.

20. mai 2020

Didrik Braathen

Ola Krukhaug

Innholdsfortegnelse

1. Innledning	1
2. Teoretisk bakgrunn	3
2.1 Bakteriesporer	3
2.2 <i>Clostridium tyrobutyricum</i>	5
2.3 Senesing i ost	6
2.4 Forhindring av senesing	7
2.4.1 Forhindre kontaminasjon av ost	7
2.4.2 Forhindre germinering og vekst i ost	8
2.5 Goudaost.....	9
2.6 Ysteprosessen	9
2.6.1 Produksjon	9
2.6.2 Råstoff	12
2.6.3 Pasteurisering	13
2.6.4 Standardisering	14
2.6.5 Behandling i ystekar	14
2.6.6 Forming og pressing.....	17
2.7 Salting.....	17
2.8 Modning	18
2.9 MPN-Metode	20
3. Materialer og metoder.....	21
3.1 Ysting av Gouda.....	23
3.1.1 Rå melk og melkebehandling	23
3.1.2 Resept	23
3.1.3 Flytskjema for produksjon av ost og prøvetaking.....	24
3.2 Mikrobiologiske Analyser.....	27
3.2.1 Medietillaging	27
3.2.2 Oppdyrking av <i>Clostridium tyrobutyricum</i> inokulat	28
3.2.3 3-rørs MPN metode for påvisning av anaerobe sporer	28
3.2.4 9-rørs MPN metode for påvisning av anaerobe sporer	29
3.2.5 Prøvetaking	30
3.2.6 Kjemiske analyser.....	30
3.2.7 Analyse for innhold av smørsyre.....	31

3.2.8 pH.....	31
3.2.9 Sensorisk vurdering.....	32
4. Resultater.....	33
4.1 Analyse av rå melk	33
4.2 Mikrobiologiske analyser	34
4.2.1 Analyse for <i>Enterobacteriaceae</i>	34
4.2.2 Analyse for innhold av anaerobe sporedannere i rå melk, inokulat og inokulert ystemelk.....	34
4.2.3 Analyse for anaerobe sporedannere og innhold av smørsyre i prøver av ost.....	36
4.3 Kjemiske analyser.....	39
4.3.1 pH under ysting og modning.....	39
4.4 Observasjon av sprekk- og hulldannelse under modning.....	41
5. Diskusjon.....	44
5.1 Forsøksdesign.....	44
5.2 Vurdering av kjemiske analyser	45
5.3 Vurdering av resultat for anaerobe sporedannere og smørsyre	47
5.4 Forslag til videre arbeid	51
6. Konklusjon.....	52
7. Referanser.....	53

Vedlegg

Vedlegg 1 – Ystejournal

Vedlegg 2 – Datablad til syrekultur/brukssyre

Vedlegg 3 – Datablad til løpe

Vedlegg 4 – Datablad til Hemmekultur

Vedlegg 5 – Analysesertifikat for innhold av smørsyre

Vedlegg 6 – Omregning fra mg/Kg til mmol/Kg for smørsyre

Vedlegg 7 – FoodScan av osteprøver

Vedlegg 8 – Standardtabell for 9-rørs metode

1. Innledning

Enkelte bakterier har evnen til å danne sporer. *Clostridium* er en bakterieslekt som er i stand til å danne sporer, de er utbredt i jordsmonn og de fleste av de er obligat anaerobe og trives under anaerobe forhold. *Clostridium*-slekten viser seg å være spesielt utfordrende for lokalmatprodusenter av ost, siden de har evnen til å fermentere laktat og danne bl.a. smørsyre og hydrogengass. Dette fører til defekter som vond smak og dannelse av store sprekker og hull i osten.

Av *Clostridium*-slekten er det spesielt stor andel av *Clostridium tyrobutyricum* som germinerer og driver smørsyregjæring under modning av ost. Ettersom disse sporene kan skape problemer for osten utover i lagringstiden, er det i industrien vanlig praksis å bruke mikrofiltrering for å fjerne sporene i melken det skal ystes av. Slik prosessutstyr er det dårlig tilgjengelig på i lokalmatproduksjon, og det må nyttes alternative tiltak. Tilsetningsstoffer som lysozym og nitrat har hemmende effekt på disse sporedannende bakteriene og er mye brukt.

Lokalmatprodusenter av ost som driver gårdssystemer bruker ofte melk fra egen gård, både økologisk og ikke-økologisk. For å kunne drive økologisk osteproduksjon så tillates ikke bruk av nitrat eller lysozym. I tillegg er det mye som tyder på at problemene med høye sporetall i Norge er større i økologiske besetninger enn i konvensjonelle (Johansen et al., 2013, s. 5). Noe som mulig gjør det til en enda større utfordring for økologiske produsenter.

Et alternativ som derimot kan brukes er hemmekultur basert på melkesyrebakterier som skal kunne hemme smørsyregjæringen som foregår i ost. I tillegg er det gjort forskning på at lagringstemperaturen under modning har mye å si for smørsyregjæring, da lavere lagringstemperatur effektivt kan forhindre gassdannelse av vegetative celler i tillegg til at det kan være med på å hindre at *Clostridium tyrobutyricum* germinerer.

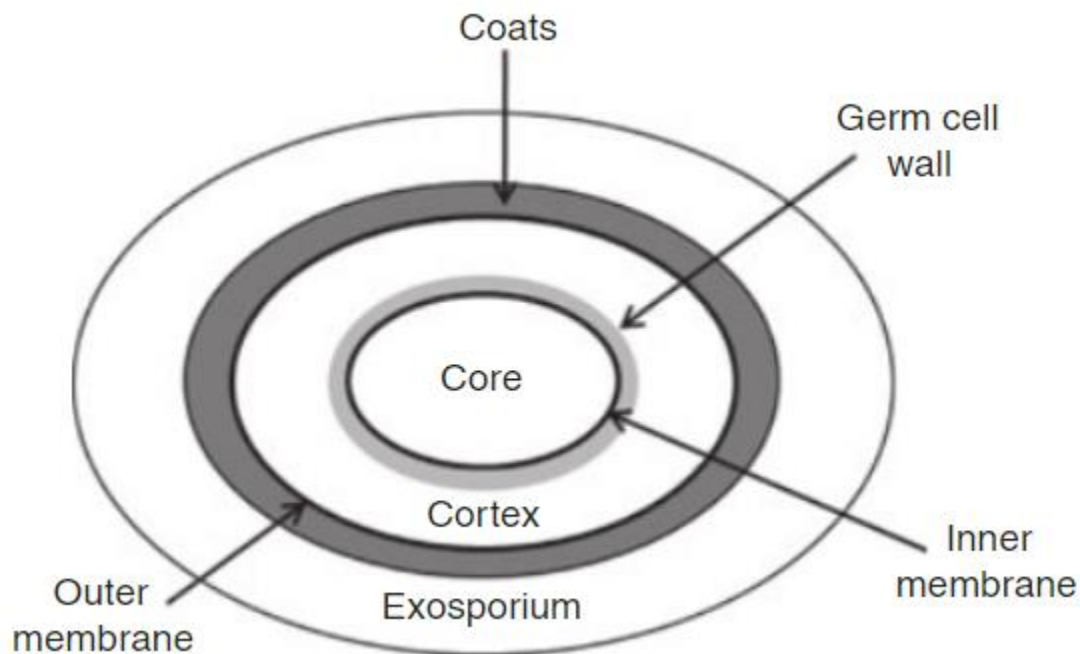
Denne problemstillingen er bakgrunnen for oppgaven, og gruppen skal gjennom prosjektet forsøke å benytte ulike doser av hemmekultur og modningstemperatur for å finne ut i hvilken grad det påvirker smørsyregjæring. Det skal benyttes tre ulike doser av hemmekultur i tre ulike

forsøk på melk som har innhold av anaerobe sporer, i tillegg til at osten skal modnes på to ulike temperaturer.

2. Teoretisk bakgrunn

2.1 Bakteriesporer

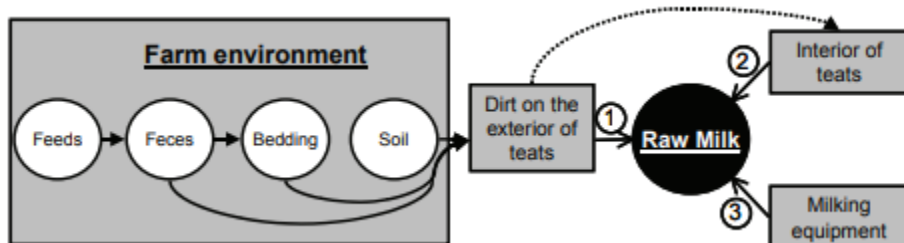
Når noen spesifikke bakterieslekter som feks. *Bacillus* eller *Clostridium* blir utsatt for stress fra omgivelsene, som mangel på nok næring, kan de danne endosporer gjennom sporulering. En endospore (videre kalt for spore) er en type sovende form av bakterien hvor kjernen er dehydrert med flere beskyttende proteinlag utenpå, vist i figur 2.1, som gjør den resistent mot veldige ugunstige forhold som høye varme, UV-stråling og høyt trykk. Når det igjen blir gunstige forhold for en spore vil den kunne vokse tilbake til en vegetativ celle gjennom prosessen germinering (Kristina, 2015, s. 51-52).



Figur 2.1: Representasjon av oppbygningen til en typisk bakteriespore (Russell, 1990, s. 487)

Sporer kan bli funnet i mange ulike miljø som i jord, støv eller vann og er problematisk med tanke på mattrygghet og matproduksjon. I meieriindustrien vil ulike arter innenfor *Bacillus* og *Clostridium* slektene bestemme holdbarheten til ulike varmebehandlede melkeprodukter. Det er derfor viktig å forhindre kontaminering av sporer gjennom hele produksjonsprosessen (te Giffel et al., 2002, s. 625).

Hovedkilden til kontaminasjon av melk for sporer regnes å være silofôr, hvor sporer av *Clostridium tyrobutyricum* står for 70% av antall bakterier (Johansen et al., 2013, s. 28). Sporene kommer for det meste fra jord hvor de følger med gresset til siloen. Kyrene vil så spise gresset fra siloen slik at sporene blir ført inn i fordøyelsen deres, for å så bli med avføringen ut igjen. Dette kan så føre til kontaminering av jurene til kua med bakteriesporer, hvor for eksempel kuen setter seg i egen avføring, som under melking vil følge med videre i prosessen. Figur 2.2 viser ulike veier som melk blir kontaminert (Carlin, 2011, s. 178-179). Mengden sporer i melk vil naturlig endre seg med årstider. Spesielt på vinteren vil melk inneholde et høyere antall sporer siden bøndene baserer seg mer på silofôr, fordi kyrene ikke har muligheten til å spise gress ute (Vissers et al., 2007).



Figur 2.2: Ulike veier rå melk kan bli kontaminert av mikroorganismer (Vissers et al., 2006).

Innhold av sporer i økologisk melk vil naturlig være høyere enn vanlig melk. Dette er fordi kostholdet til kyr som produserer økologisk melk ikke kan bestå av mer enn 40% kraftfôr, som betyr at minst 60 % av kostholdet må bestå av grovfôr (Debio, u.å). Grovfôr innebærer ferskt gress, høy, silofôr og rotvekster. Ved at kua spiser mer silofôr vil dette føre til en større tilførsel av sporer. I økologisk melkeproduksjon vil det derfor være større fokus på renslighet, og det er spesielt melkeprodusenter som bruker melkerobot som sliter med høyt sporetall i melken, p.g.a utilstrekkelig vask av jur (Lindås, 2011, s. 113).

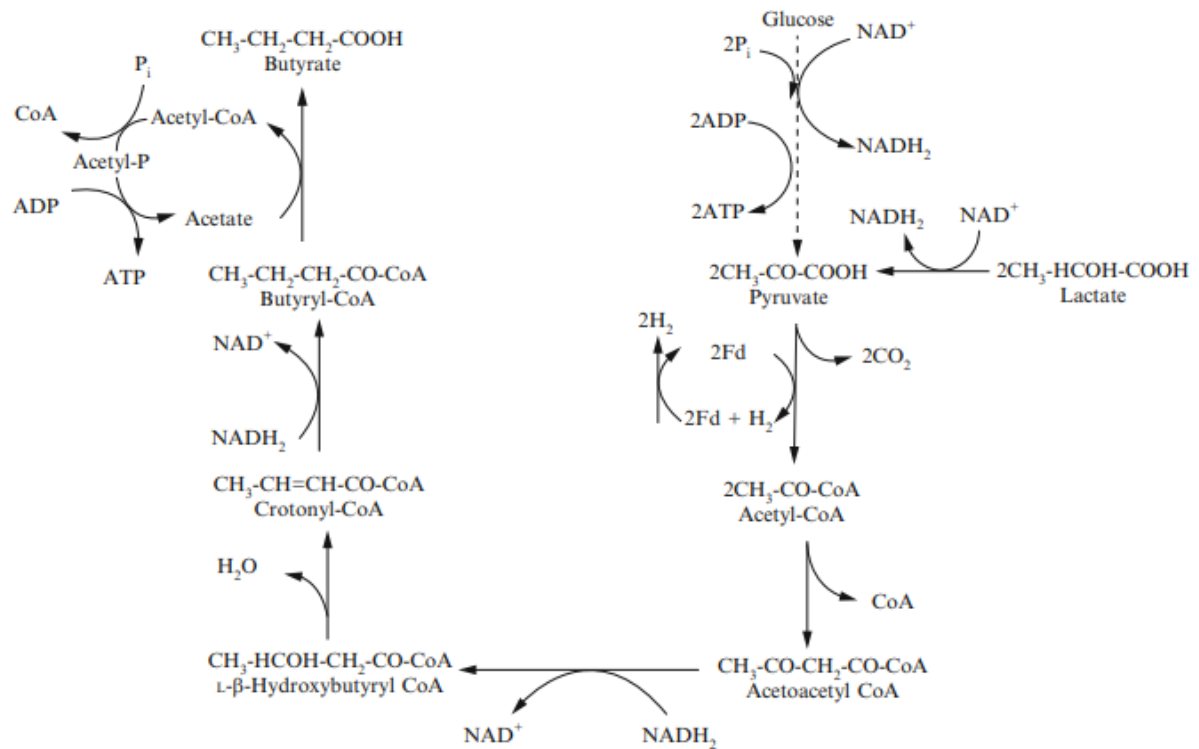
Hovedprinsippet bak silofôr er oppbevaring og sikring av mattilgang for husdyr, og dette gjøres gjennom rask pH senkning ved hjelp av melkesyrefermentering og opprettholdelse av anaerobe forhold. Kvaliteten til silofôr avhenger av konkurranse mellom ulike mikroorganismer, hvor det vanligvis er melkesyrebakterier som dominerer siloens mikroflora. Silo har evnen til å danne gunstige vekstforhold for anaerobe sporer, slik at de kan vokse opp og formere seg under

lagring (te Giffel et al., 2002, s. 625-626). Rundballer virker på samme måte som silofôr, og gjøres ved å skape anaerobe forhold ved hjelp av høyt trykk. En rundball vil derfor også være et godt medium for anaerobe sporer å vokse i (Johansen et al., 2013, s. 61).

2.2 *Clostridium tyrobutyricum*

C. tyrobutyricum er en gram positiv obligat anaerob sporedannende bakterie som er regnet som hovedgrunnen til forringelse av fast og halvfast ost som fører til ubehagelig smak og senesing av ost (D'Incecco et al., 2018, s. 134). Veksten til *C. tyrobutyricum* i ost er sterkt avhengig av modningstemperatur, tid, pH, saltinnhold, melkesyreinnhold, fuktighet og tilstedeværelse av andre bakterier (Podrzaj et al., 2020, s. 1).

Under metabolisme fermenterer *C. tyrobutyricum* melkesyre og danner smørsyre og acetat, samt hydrogengass og karbondioksid, vist i figur 2.3. Under modning i ost har det ifølge Morandi et al. (2020, s. 1-2) blitt demonstrert at en temperatur $\leq 15^{\circ}\text{C}$ er effektiv for å forhindre gassdannelse av vegetative celler, og en kombinasjon av temperatur $\leq 15^{\circ}\text{C}$, pH ≤ 5 og 2% saltinnhold eller temperatur $\leq 10^{\circ}\text{C}$ er tilstrekkelig for å forhindre germinering av *C. tyrobutyricum*. I følge Ruusunen et al. (2012, s. 1793-1795) vil en temperatur på 10°C inhibere vekst av *C. tyrobutyricum*, en temperatur på 12°C og 15°C inhibere 2 av 10 observerte stammer av *C. tyrobutyricum*, og at sporer som germinerte og dannet gass ved 13°C ikke gjorde det ved 8°C . I tillegg viste alle observerte stammer vekst ved pH 5,5-6. I følge Johansen et al. (2013, s. 29) er optimum pH for vekst til *C. tyrobutyricum* mellom 5,0 og 5,5.



Figur 2.3: Metabolisme av glukose og melkesyre av *Clostridium tyrobutyricum* med produksjon av smørresyre, acetat, karbondioksid og hydrogen gass (Fox et al., 2017, s. 405).

2.3 Senesing i ost

Smørresyredannende bakterier, som innebærer arter av *Clostridium* som: *Clostridium butyricum*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium sporogenes* og spesielt *C. tyrobutyricum*, har evnen til å danne gass og smørresyre under modning av ost gjennom smørresyregjæring, også kjent som senesing. Senesing inntreffer i faste og halvfaste ostetyper som Gouda, Comté, Emmentaler og Beaufort, og fører til store sprekker og hulldannelse i osten, samt vond lukt og bismak på grunn av smørresyre (Doyle et al., 2015, s. 82). I følge Matijasic et al. (2007, s. 160-161) er det observert senesing ved innhold av smørresyre på 0,15 g/kg, noe som tilsvarer 1,7mmol/Kg (utregning gjort i vedlegg 6). Senesing medfører et stort matsvinn og økonomisk tap for meieriindustrien. Det økonomiske tapet grunnet senesing i Grana Padano ost hvert år er estimert til å være ca. 22 millioner euro, som tilsvarer at ca. 2% av den produserte osten blir ødelagt på grunn av senesing (D'Incecco, 2017, s. 1).

Senesing forekommer hovedsakelig i lakesaltede faste og halvfaste oster, hvor årsaken er tilstedeværelse av anaerobe sporedannere som forgjærer laktat (D'Incecco et al., 2018, s. 134). Senesing kan forekomme ved et sporetall helt ned til 1 spore per 10ml ystemelk, og det er derfor viktig å forhindre at det forekommer sporer i melken, samt inhibere sporene i osten om de forekommer, noe som kan gjøres på flere måter (Klijn et al., 1995, s. 2919).

2.4 Forhindring av senesing

Det er hovedsakelig to metoder for å forhindre senesing i ost på; forhindre kontaminasjon av sporer i melk og osten, og om osten er kontaminert av ystemelken, hindre germinering og veksten til sporene i osten (Su & Ingham, 2000, s. 147-148).

2.4.1 Forhindre kontaminasjon av ost

Som tidligere nevnt er silofôr hovedkilden til kontaminasjon av sporer i melk, og er derfor et kritisk punkt i produksjonsprosessen av ost. Oppbevaring og konservering av silofôr avhenger av oppsamling av organiske syrer, hovedsakelig melkesyre, som fører til en reduksjon av pH. Siden *Clostridium* arter ikke tåler lave pH-er er det derfor viktig å kontrollere en rask senkning av pH som vil forhindre vekst av *Clostridium* i silofôr (Rammer, 2006, s. 88-89).

En annen metode å fjerne bakterier og sporer fra melk er ved bactofugering. Bactofugering (eller sentrifugering) utføres på helfet melk og baserer seg på forskjellen i massetettheten mellom melk og bakterier. Massetettheten til melk er mellom 1,028-1,038 g/mL, massetettheten til vegetative celler er mellom 1,07-1,12g/mL og massetettheten til sporer er mellom 1,30-1,32 g/mL. På grunn av den store forskjellen mellom massetettheten til melk og sporer er bactofugering ofte brukt i industrien til å skille sporer ut av melken, hvor mellom 97,4-98,7% av anaerobe sporer som *Clostridium* blir fjernet. Bactofugering vil også fjerne vegetative celler fra melken, men på grunn av mindre forskjell i massetetthet vil det være mindre effektivt enn fjerning av sporer (Gesani-Guiziu, 2010, s. 352-354).

Et alternativ til bactofugering av melk er mikrofiltrering. Mikrofiltrering benytter seg av semipermeable membraner med en porestørrelse på 0,8-1,4 μm for å filtrere melken. Membranene som blir brukt lar melken passere gjennom sammen med nesten alt kaseinet i melken, og bakteriene blir holdt igjen. Til mikrofiltrering kan det bare brukes altså skummet melk siden fettkuler i melk vil blokkere porene i membranen, og dermed redusere effektiviteten til mikrofiltreringen. Fløte må derfor først separeres fra melken og varmebehandlet for seg selv før den kan tilsettes tilbake for å standardisere mikrofiltrert melk (Fox et al., 2017, s. 117). Mikrofiltrering er veldig effektiv til å fjerne sporer i melk, hvor det har blitt observert en reduksjon mellom 99,1-99,99% av både aerobe og anaerobe sporer etter mikrofiltrering. Bactofugering og mikrofiltrering er to prosesser som har store økonomiske krav, og er derfor ikke gjennomførbart for lokalmatprodusenter (Gesau-Guiziu, 2010, s. 356, 359, 366).

2.4.2 Forhindre germinering og vekst i ost

Det er flere faktorer som påvirker germinering av sporer i ost. Som tidligere nevnt vil en kombinasjon av lav temperatur, pH lavere enn 5,0 og høyt saltinnhold inhibere ulike arter av *Clostridium*, og spesifikt *C. tyrobutyricum*, men i tillegg kan det tilsettes kjemikalier som vil ha en inhiberende effekt på sporene. Dette er kjemikalier som nitrat, lysozym, hexamethylenetetramine og polyfosfater, som er vanlige kjemikalier tilsatt under produksjon av ost (Bester & Lombard, 1990, s. 306; Oliveira et al., 2016).

En annen metode å inhibere germinering av *Clostridium* sporer på, er ved å tilsette en hemmekultur. Bakteriestammer, ofte *Lactobacillus* stammer, blir tilsatt i ystemelk slik at de vil produsere bakteriosiner som inhiberer sporene under modning av osten (Matijasic et al., 2007, s. 157-158). Det mest kjente bakteriosinen er nisin, som blir produsert av ulike stammer av *Lactobacillus lactis*. Nisin forårsaker dannelse av porer i cellemembranen til vegetative celler, som tillater frigjørelse av intracellulære og cytoplasmatiske komponenter i cellen, som videre fører til ødeleggelse av cellen. Sporer vil derfor ikke germinere ved tilgang på nisin, siden forholdene ikke er optimale (Fox et al., 2017, s. 175-176).

2.5 Goudaost

Fra Nederland sier man tradisjonelt sett at det ble laget to hovedtyper av ost: Gouda- og Edamerost. Goudaost og liknende typer er de største representantene for modnede semi-harde oster (Düsterhöft et al., 2017, s. 865).

Ifølge standarden for gouda i Codex Alimentarius er gouda en modnet fast/halv-fast ost med hvit til gul farge, med en fast tekstur som gjør den passende for kutting/skiving. Den kan ha hullsetting som varierer fra lite til mye, med maks hullstørrelse på 10 mm i diameter. Den kan produseres og selges med eller uten skorpe. Normalt sett bør osten ha modnet i 3 uker, men alternative metoder for modning kan nyttes så lenge osten får de nødvendige fysiske, biokjemiske og sensoriske egenskapene som en gouda skal få gjennom en modningsprosess. Gouda skal ha et innhold av fett i tørrstoff på minimum 30%, men det er ikke satt noen øvre grense for innholdet (Codex Standard 266-1966).

Norvegia® Original fra TINE som før i tiden vare kjent som Norsk Gouda (TINE, u.å-a) opplyses fra TINE at den har et næringsinnhold på 27 g fett, 27 g protein og 1,2 g per 100 g (TINE, u.å-b).

2.6 Ysteprosessen

Ysting av ost kan foregå på mange forskjellige måter, og de forskjellige trinnene i produksjonen vil avhenge av hvilken type ost det skal være. Videre vil de viktigste trinnene i produksjonsprosessen av goudaost beskrives. De forskjellige trinnene vil være ulike for industri- og lokalmatproduksjon ettersom hvilket utstyr som er tilgjengelig, men prinsippene bak teknologien og virkemåten vil være stort sett de samme.

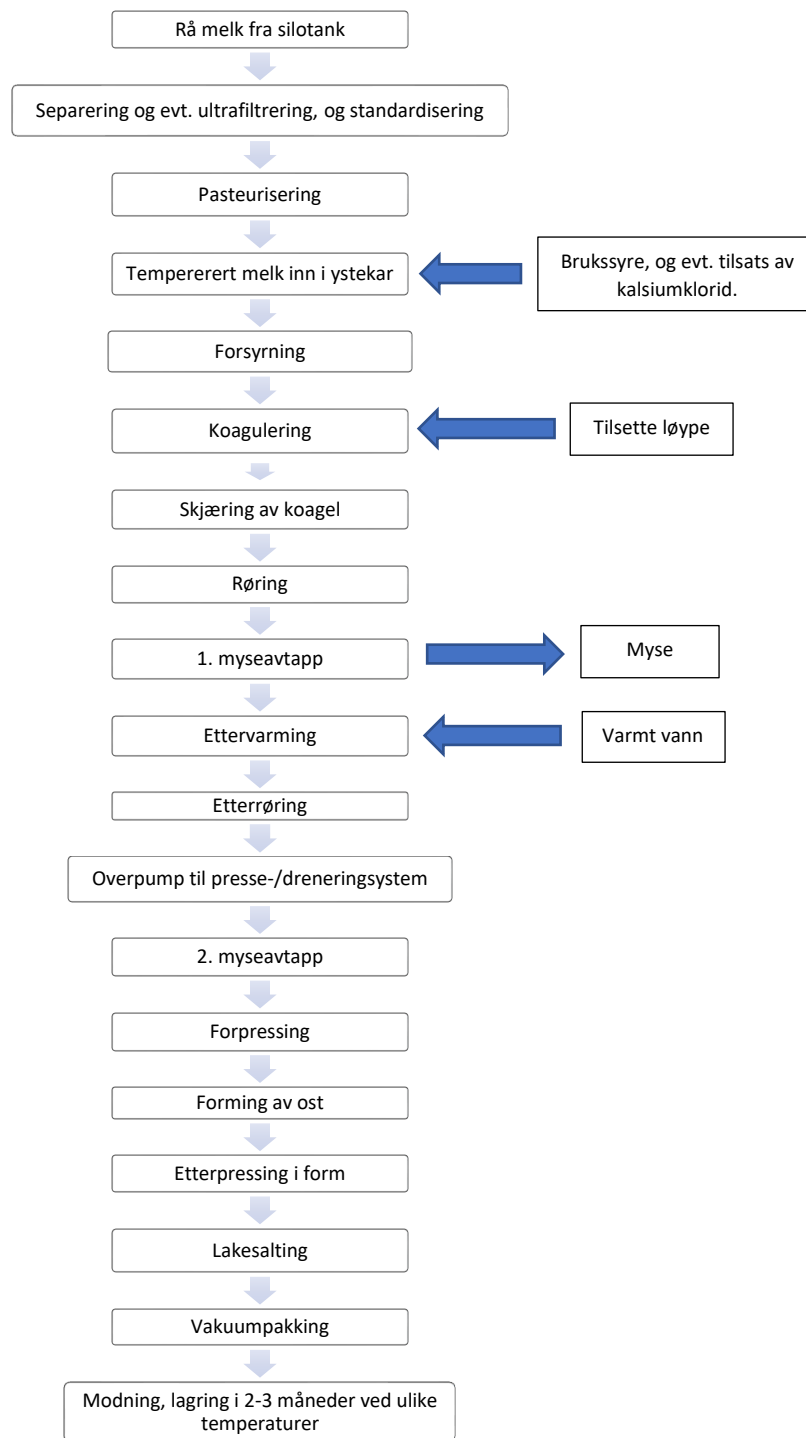
2.6.1 Produksjon

For produksjon av ost så er grunnlaget for prosessen den evnen melk har til å koagulere og bli til ostemasse, slik at den kan avgi myse (Hagenes, 2010, s. 133). Koaguleringen kan skje enten ved syring av melken eller ved løpetilsetning. Eksempel på oster der løpe er

koaguleringsmiddel er bl.a. Parmesan, Emmentaler, Norvegia og Cheddar. Eksempel på syrefelte oster er kremost, Cottage Cheese og Pultost. (Hagenes, 2010, s. 133)

På generell basis, så innebærer produksjon av alle typer forskjellig ost nokså like elementer. De forskjellige trinnene i produksjonen modifiseres for å gi osten de karakteristikkene som er ønsket (Fox et al., 2017, s. 11). Trinnene i ysteprosessen kan grovt sett deles inn i: formodning/forsyrning, koagulering av melk, skjæring av koagel, mysedrenering, forming, pressing og salting (Fox et al., 2017, s. 11; Hagenes, 2010, s. 134).

Norvegia 27% skorpefri er et eksempel på en løpefelt ost og er den mest solgte osteprodisorten i Norge, og produksjonsprosessen kan illustreres ved figur 2.4 under.



Figur 2.4: Viser flytskjema for produksjonsprosessen for framstilling av Norvegia 27% skorpefri. Figur hentet og tilpasset fra (Hagenes 2010, s.134).

2.6.2 Råstoff

Kvaliteten av enhver ost er uten tvil sterkt påvirket av kvaliteten på melken den er ystet av på mikrobiologisk, biokjemisk, sensorisk og andre nivåer (Panthi et al., 2017, s. 23). Hagenes (2010, s.135) sier at for å få et godt resultat og produkt, er det viktig at melken i utgangspunktet er av god kvalitet og har gode løpningsegenskaper. Ren lukt og smak, normal sammensetning, ingen fremmedstoffer (antibiotika eller vaskemiddelrester) og at melken generelt bør ha lavt bakterietall er også viktig (Hagenes, 2010, s. 135).

En av grunnene til at det er viktig med god bakteriologisk kvalitet på melken er at kontaminerende bakterier vil bli konsentrert i ostemassen og kan forårsake defekter i osten samt at den kan bli utrygge å spise (Fox et al., 2017, s. 13). En av faktorene som avgrenser hvor gammel melken kan være dersom man yster av rå melk, er faren for vekst av *Listeria* under kjølelagring. Hvis man yster av melk som har blitt pasteurisert tenker kanskje noen at det er lurt å samle opp en større mengde av melk før man yster. Hvis melken blir for gammel kan derimot psykotrofe organismer produsere enzymer som gir dårlig smak i osten, som ikke blir ødelagt ved pasteurisering. Etter lengre kjølelagring kan mineralbalansen endres, og ysteegenskapene til melken kan også bli dårligere (Nordbø et al., 2018, s. 229).

Bakteriell kontaminasjon er som regel en følge av kontaminasjon fra enten inne i eller på overflaten av juret, eller fra melkerobot. Mikroorganismene kan ha ulike opprinnelser, som fra mennesker, dyr, jord eller avføring, og bakteriefloraen som er i melk vil derfor variere og vil i stor grad påvirkes av hygiene. Det vil omfatte rengjøring av utstyr som brukes til melking, rengjøring av jur og jurhelse, og miljøet rundt kua (Panthi et al., 2017, s. 23). En studie fra Skeie et al. (2019, s. 1970) viste at bakteriefloraen til rå melk kontinuerlig endrer sammensetning, kanskje til og med på daglig basis. Mikrobiotaene de studerte hadde stort mangfold, og variasjonen i prøveuttakene til og med fra samme gård indikerer at kildene for kontaminasjon varierer i stor grad. I tillegg vil bakterier være tilfeldig fordelt i melken som fører til områder med ulik kontaminasjon og effekten av denne kontaminasjonen (Johansen et al., 2013, s. 37).

Kvaliteten på råstoffet har av disse grunnene stor innvirkning på den mikrobiologiske kvaliteten til produkter som det skal brukes i. Det er spesielt viktig med tanke på produkter som omfatter bruk av upasteurisert melk, men også for de som bruker pasteurisert melk (Panthi et al., 2017, s. 23).

2.6.3 Pasteurisering

Ystemelk blir vanligvis lavpasteurisert ved ca. 72 °C i 15 sekunder, såkalt High Temperature, Short Time (HTST); i lokalmatproduksjon er det mulig å gjøre en tilsvarende varmebehandling i små batcher direkte i ystekar. Hensikten med pasteurisering av melk er å sikre at den er trygg ved å drepe patogene mikroorganismer som kan eksistere i rå melk (Panthi et al., 2017, s. 42). De fleste mikroorganismer som er skadelige dør av varmebehandlingen, spesielt koliforme bakterier (som for eksempel *Escherichia coli*), muggsopp og gjærsopp. Bakteriesporer overlever derimot, og det trengs derfor andre tiltak som mikrofiltrering/baktofugering eller kjemisk inhibering for å hindre germinering og vekst av disse i ost (Hagenes, 2010, s. 135-136; Panthi et al., 2017, s. 42).

Ved pasteurisering av ystemelken oppnås det en jevnere og sikrere kvalitet på lukt, smak og tekstur. Hvis man skulle hatt kraftigere varmebehandling ville det gitt et sikrere råstoff, men gitt større forandringer i kjemiske og fysiske egenskaper. Ystemelken ville fått dårligere løpeevne, altså økt koaguleringsstid, løsere koagel, og dårligere utskilling av myse. Ved lavpasteurisering er effekten av dette minimal (Hagenes, 2010, s. s.135).

Pasteurisering inaktiverer også apatogene bakterier i melk og enzymer som kan bidra positivt i modning. Hovedargumentet til produsenter av ost laget fra upasteurisert melk er at den upasteuriserte melken utvikler mer komplekse og sterkere smak siden den har større mangfold av melkesyrebakterier som er NSLAB (Ikke-starter bakterier - non starter lactic acid bacteria). Det er estimert at ost ystet av rå melk fortsatt utgjør rundt 10% av osteproduksjon i EU (Panthi et al., 2017, s. 42).

2.6.4 Standardisering

Med standardisering menes det at ystemelken får et standardisert fettinnhold. Det skjer enten ved separering og direkte standardisering ved innblanding av skummetmelk og fløte, eller at det blandes med helmelk, skummetmelk eller fløte på tank (Hagenes, 2010, s. 136).

Forskjellige typer ost krever et visst innhold av fett i tørrstoff (F/T) for at det skal være innenfor kravene til de aktuelle sortene. Det er i tillegg to andre forhold som har betydning for innstilling av fettprosent i ystemelk; Overgangstallet for tørrstoff i melka, altså hvor mye av tørrstoffet som går over i osten og ikke forsvinner med mysa, og innhold av fettfritt tørrstoff (protein, laktose og aske) (Hagenes, 2010, s. 136).

Forholdet mellom fett og kasein er det som bestemmer forholdet mellom fett og protein i ystemelk. Avhengig av forholdet som trengs så kan det eksempelvis modifieres ved å tilsette skummetmelk eller fløte. Innholdet av tørrstoff kan derimot også økes ved å tilsette skummetmelkpulver, eller å standardisere for et høyere proteininnhold ved hjelp av ultrafiltrering. Dette vil bidra til å få bedre kontroll på F/T, og høyere osteutbytte (Fox et al., 2017, s. 13; Hagenes, 2010, s. 136).

2.6.5 Behandling i ystekar

Etter at melken har gjennomgått den behandlingen som den videre ysteprosessen krever, er det tid for å overføre ystemelken til ystekaret. Ystekar kommer i alle former og størrelser, og brukes for å få lagd ostemasse av ystemelken. Det involverer tre grunnleggende steg: Syrning, koagulering og drenering (Fox et al., 2017, s. 17).

2.6.5.1 Syrning

Når man skal produsere ost tilsettes det i de aller fleste ostesorter en starterkultur som består av nøye utvalgte melkesyrebakterier. Det brukes forskjellige slekter og arter ettersom hvilken ost man ønsker å framstille. Disse bakteriene spiller en stor rolle i ysteprosessen, blant annet ved at de fermenterer melkesukkeret laktose til melkesyre (Fox et al., 2017, s. 17; Hagenes,

2010, s. 140). Først og fremst så må kulturen som skal brukes i løyefelt ost må være tilpasset til ysteprosessen. Til kremost, mykost og halvfast ost som ikke har ettervarmingstemperatur over 36 °C, går det an å bruke kun mesofil bakteriekultur til syrning. Hvis ettervarming går over 36 °C, vil den mesofile kulturen ikke fungere like godt, og osten blir mye tryggere ved å bruke termofil syrekultur i tillegg. Termofil kultur kan og være med på å forme konsistensen på osten, ved å oppnå raskere syrning og bedre drenering, som gjør at man kan bedre unngå ettersyrning, få høyere slutt-pH og få mer elastisk konsistens (Nordbø et al., 2018, s. 230).

Fementeringen av laktose til melkesyre er viktig, ved å syrne til ønsket pH-verdi vil man fremme virkning av løpeenzymet, myseutskillelsen og at sammentrekningen av ostekornene øker (Hagenes, 2010, s. 140). Den endelige pH-en av ostemassen for de fleste harde oster finnes i intervallet 5.0- 5.3, men for bløtere oster som f.eks. tradisjonell Camembert og Brie vil det være rundt 4.6 (Fox et al., 2017, s. 19).

Syreproduksjon til riktig tid og riktig mengde er essensielt for produksjon av ost med høy kvalitet. Det har stor innvirkning på koagulering av ystemelken, styrken på sammentrekningen av ostemasse, synerese, og forhindrer også vekst av uønskede mikroorganismer (Fox et al., 2017, s. 19).

2.6.5.2 Kalsiumklorid

Et annet stoff som kan tilsettes i ystemelken er kalsiumklorid. I melk som er kjølelagret og pasteurisert kan det forekomme dårlig koagulering (dårlig ystbarhet), og at man får et løst koagel (Hagenes, 2010, s. 142; Nordbø et al., 2018, s. 235). Dårlig koagulering i fersk rå melk er også mulig. Dette kan forekomme på slutten av laktasjonen til kua, årsaken kan være dårlig mineralbalanse i melken da det er mer natrium og mindre kalsium. En annen årsak kan være overfôring, da det blir mye sitrat i melken, og sitrat binder kalsium slik at det ikke får utført rollen det skal i koaguleringen (Nordbø et al., 2018, s. 235). Løst koagel kan føre til at det ved skjæring blir mer ostestøv i mysen, større tap av fett og dårligere drenering av myse under ysting. I følge Nordbø et al. (2018, s. 235) bør det ikke brukes mer enn 7 g kalsiumklorid til 100 liter melk. Det vil hjelpe med å redusere løpningstiden og få et fastere koagel. Kalsiumklorid tilsettes og røres inn før tilsats av løpe (Hagenes, 2010, s. 142).

2.6.5.3 Løpelegging

Løpe er en blanding av enzymene kymosin og pepsin og ble tidligere framstilt kun fra kalvemager (Hagenes, 2010, s. 142). Nå fins det andre varianter som blir framstilt fra enten andre dyremager, ved hjelp av mikroorganismer eller ved hjelp av genteknologi.

Virkingen av disse enzymene er avhengig av temperatur, pH og innhold av kalsiumioner. Optimal løpningstemperatur ligger på rundt 42 °C, men vanligvis blir det brukt løpningstemperatur på ca. 30 °C. Koaguleringen vil derfor gå en del tregere, men det er av hensyn til melkesyrebakteriene at det blir brukt lavere temperatur. Siden kasein kun felles ut når det er frie kalsiumioner til stede, vil ulikt innhold av disse ionene medføre variasjon i koaguleringsstid, fasthet og myseutskillelse (Hagenes, 2010, s. 143).

pH ved løpelegging er viktig. Man må passe godt på syrningen dersom man ønsker lik ostekvalitet fra gang til gang. Selv om pH av melk varierer litt gjennom året, vil man ha pH-en ved løpeleggingen stabil. Det er derimot ikke like viktig at den er helt lik fra gang til gang i fast ost, ettersom nesten all syrningen foregår etter osten er kommet i form. Hvor sur melken er under løpelegging er derimot viktig for hvor mye løpe som blir med over i osten, som vil ha innvirkning på modning (Nordbø et al., 2018, s. 232-233).

2.6.5.4 Etter koagulering

Når løpningstiden er over og melken har koagulert ferdig, er det tid for å skjære (Hagenes, 2010, s. 145). Når ostemassen skjæres skjer det synerese, altså utskillelse av myse. Utskillelse av myse gjør at det skjer en oppkonsentrering av fett og kaseinet i melken med en faktor på så mye som 6-12 ganger avhengig av hvilken slags ost det gjelder (Fox et al., 2017, s. 20).

Skjæring foregår ofte maskinelt med roterende kniver eller manuell skjæring med trådverktøy. Det skjæres til osteterningene er i den ønskede størrelsen, siden størrelsen har innvirkning på grad av myseutskillelse og dermed vanninnhold i osten (Hagenes, 2010, s. 145). For å lage oster med høyt innhold av vann og som syrner relativt mye, kreves det større biter (Nordbø et al., 2018, s. 238). Oster med høyt tørrstoffinnhold krever finere skjært koagel (Hagenes, 2010, s. 145).

Etter skjæring kommer ettervarming og røring. Formålet med slike post-koagel operasjoner som ettervarming og røring er å øke syneresen slik at man får oppkonsentrert kasein og fett ved utskillelse av myse. Graden av synerese påvirkes av ting som innhold av kalsiumioner, kasein, pH i mysen, ettervarmingstemperatur og grad av røring. Ettervarmingstemperatur velges ut ifra vanninnholdet som ønskes i osten, for rundhullet ost vil det ofte være 37-39 °C (Fox et al., 2017, s. 20; Hagenes, 2010, s. 147).

2.6.6 Forming og pressing

Når tilstrekkelig grad av myseutskillelse fra ostemassen har skjedd, kan massen samles og formes. Når røring i ystekar er ferdig så skal ostekornene raskt samles i enten ystekar, eller andre type former der de kan presses. Her er det viktig at det ikke skjer innblanding av luft slik at osten kan formes og presses til en tett og sammenhengende masse, og at siste rest av myse skilles ut. Vanligvis benyttes det stegvis økning av trykk i pressingen, samt perforerte former for lettere drenering av myse (Hagenes, 2010, s. 151).

2.7 Salting

I Hagenes (2010, s.153) fortelles det at salting av ost er viktig for smaken og konsistensen på osten, samt for utvikling av mikroorganismene og enzymaktiviteten.

Lakesalting er den mest brukte metoden for salting av ost, og blir i de fleste moderne produksjonsanlegg lagt i saltlake ca. en time etter ferdig pressing. Lakesalting utføres hovedsakelig for å tilføre osten det saltet den trenger. Siden temperaturen på laken vanligvis ligger på 10-12 °C (Hagenes 2010, s.155) vil ostene raskt kjøles ned til <15 °C i laken, som fører til økt synerese og forhindrer vekst av uønskede mikroorganismer. Lakesalting medfører betydelig tap av vann i osten, avhengig av saltkonsentrasjon. I tillegg til konsentrasjon av salt, er konsentrasjon av kalsium i laken viktig, bl.a. pga. bedre kvalitet på skorpen. For gouda er pH på laken vanligvis mellom 4.4 – 4.6. Saltet trenger derimot bare et lite stykke inn i osten under lakesaltingen, og det blir dermed høy konsentrasjon av salt i det ytterste laget. Under lagring vil saltet trenge bedre inn i osten og fordele seg jevnt utover massen (Düsterhöft et al., 2017, s. 874; Hagenes, 2010, s. 155).

Ost som er mye saltet, har vist seg å være mindre påvirket av smørsyrebakterier enn ost med mindre salt. Tilgang på vann vil bety mye for hvilke mikroorganismer som vokser og dominerer i modningen. For mye salting er heller ikke bra, og kan ha uheldige effekter for enkelte typer ost. Hvis man eksempelvis skal ha fine propionsyrehull, kan ikke salt i vannet i osten være over 2,5 %, siden propionsyrebakteriene ikke tåler det (Nordbø et al., 2018, s. 257).

2.8 Modning

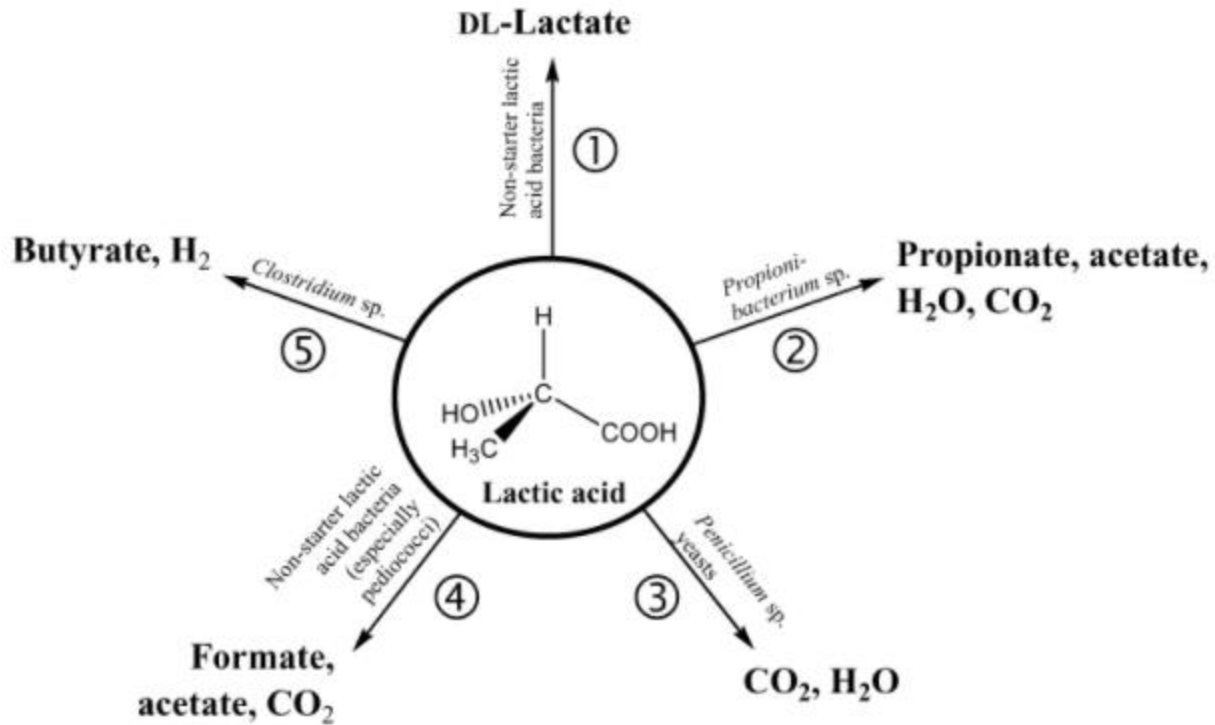
Det er under modning av ost hvor de ulike karakteristikkene som smak og tekstur av de ulike ostene utvikler seg. Modning forårsakes av den metabolske aktiviteten til levende organismer og enzymer i osten, som hovedsakelig utgjør tre biokjemiske hovedveier som utgjør biokjemien til en ost:

- 1) Metabolisme av restlaktose, og av laktat og citrat
- 2) Lipolyse og fettsyre katabolisme
- 3) Protolyse og aminosyre katabolisme

(Fox et al., 2017, s. 391)

Rask og fullstendig metabolisme av restlaktose til L-laktat under modning er essensielt for produksjon av høy kvalitets ost og blir hovedsakelig utført av starterkulturen til osten. Under produksjon av Gouda ost vil store deler av laktosen bli fjernet i mysen hvor det vil være igjen omtrent 1,4% laktose til pressing av ostemasse. Etter ca.12 timer vil laktosenivået redusere til mindre enn 0,1%, og etter lakesalting vil det være igjen udetekterbare mengder laktose (McSweeney & Fox, 2004, s. 411-412).

Laktat er et viktig substrat i flere reaksjoner under modning av ost. Blant annet kan L-laktat bli rasemisert til D-laktat av melkesyrebakterier, i tillegg til at de kan oksidere laktat til format og acetat. Laktat kan også bli nedbrutt av *C. tyrobutyricum* som fører til senesing. Sitrat blir nedbrutt av sitrat-positive stammer av som *Lactococcus*. Under sitratmetabolisme blir det produsert CO₂ som er ansvarlig for den karakteristiske hulldannelsen i Gouda ost. Ulike metabolismeveier av laktat under modning av ost blir vist i figur 2.5 (McSweeney & Fox, 2004, s. 412, 417).



Figur 2.5: Metabolismeveier for laktat under modning av ost. 1) rasemisering, 2) Metabolisme av *Propionibacterium freudenreichii* i Sveitsisk ost, 3) Oxidativ metabolisme av laktat, 4) Omdannelse til format, etanol og acetat, 5) Anaerobisk metabolisme av laktat til butyrat og hydrogengass (McSweeney & Fox, 2004, s. 413).

Lipolyse er en enzymatisk hydrolyse av triglyserider til frie fettsyrer, og mono og di-glyserider, som er essensielt for smaksutvikling i ost. Starterkulturen i osten, som ofte er melkesyrebakterier, er hovedårsaken til lipolyse under modning av ost. Videre kan det bli utført katabolisme av de frie fettsyrene, slik at det kan bli dannet estere, metylketoner, laktoner og sekundære alkoholer, som også er viktige komponenter til smaksutviklingen til osten (Thierry et al., 2017, s. 423, 427). Lipolyse under modning for Gouda ost er på et lavere nivå enn andre oster som mugg og harde italienske oster, og vil derfor ikke bidra mye til dannelse av smak (Thierry et al., 2017, s. 423).

Protolyse er fundamentalt for modning av ost, og omfatter en rekke biokjemiske reaksjoner som bryter ned kasein til peptider og aminosyrer. Protolyse lager mange stoffer som bidrar til smak og avsmaker avhengig av sammensetning av aminosyre. Smakskomponentene kommer fra frie aminosyrer og peptider, som startkulturen er sterk bidragsyter til. Protolyse i ost under modning katalyseres av proteinaser og peptidaser som stammer fra flere ulike kilder, som melk,

rester fra løpen, startkultur og ikke-startkultur bakterier. Her er rester av løpe primærkilden for protolytisk aktivitet i oster som er lagd med mesofile startkulturer og lav ettervarmingstemperatur, som f.eks. gouda (Ardö et al., 2017, s. 445).

Frie aminosyrer har også en viktig rolle når det gjelder dannelse av aroma, siden de er siden de er forløperne flyktige aromaforbindelser som produseres i en rekke katabolske reaksjoner som skjer i osten. Ammoniakk som blir produsert under disse reaksjonene bidrar til den naturlige pH økningen under modning (Ardö et al., 2017, s. 438).

Modningsprosessen til en Gouda ost varer i det minste 40 dager, slik at den karakteristiske milde smaken blir oppnådd. Dette gjøres ved at osten først modnes i 5-7 dager ved 10°C, for så å modnes ved 14-18°C i 40 dager (Bertola et al., 2000, s. 207). I følge Morandi et al. (2020, s. 8) vil en modningstemperatur på 8°C føre til en forsinket lipolyse, som fører til en lengre modningstid for å oppnå samme resultat som en modning på høyere temperatur.

2.9 MPN-Metode

En Most Probable Number (MPN) metode er en analysemetode som gir et estimat av mengde bakterier uten å telle antall celler eller kolonier. Metoden går ut på å avgjøre tilstedeværelse eller fravær av bakterier i flere påfølgende fortynninger av en prøve, slik at man kan bestemme hvilket antall bakterier prøven mest sannsynlig består av. Denne metoden kan også benyttes for å estimere antall bakteriesporer tilstede i en prøve (Alexander, 1983, s. 815-816).

For melkeprøver vil en MPN-metode gi en god indikasjon på antall sporer, men det vil være et høyt konfidensintervall siden bakterier er fordelt ulikt i prøven. For å få en mer presis analyse kan man da øke mengden av prøver med lik fortynning, som vil gi et lavere konfidensintervall (Johansen et al., 2013, s. 37).

3. Materialer og metoder

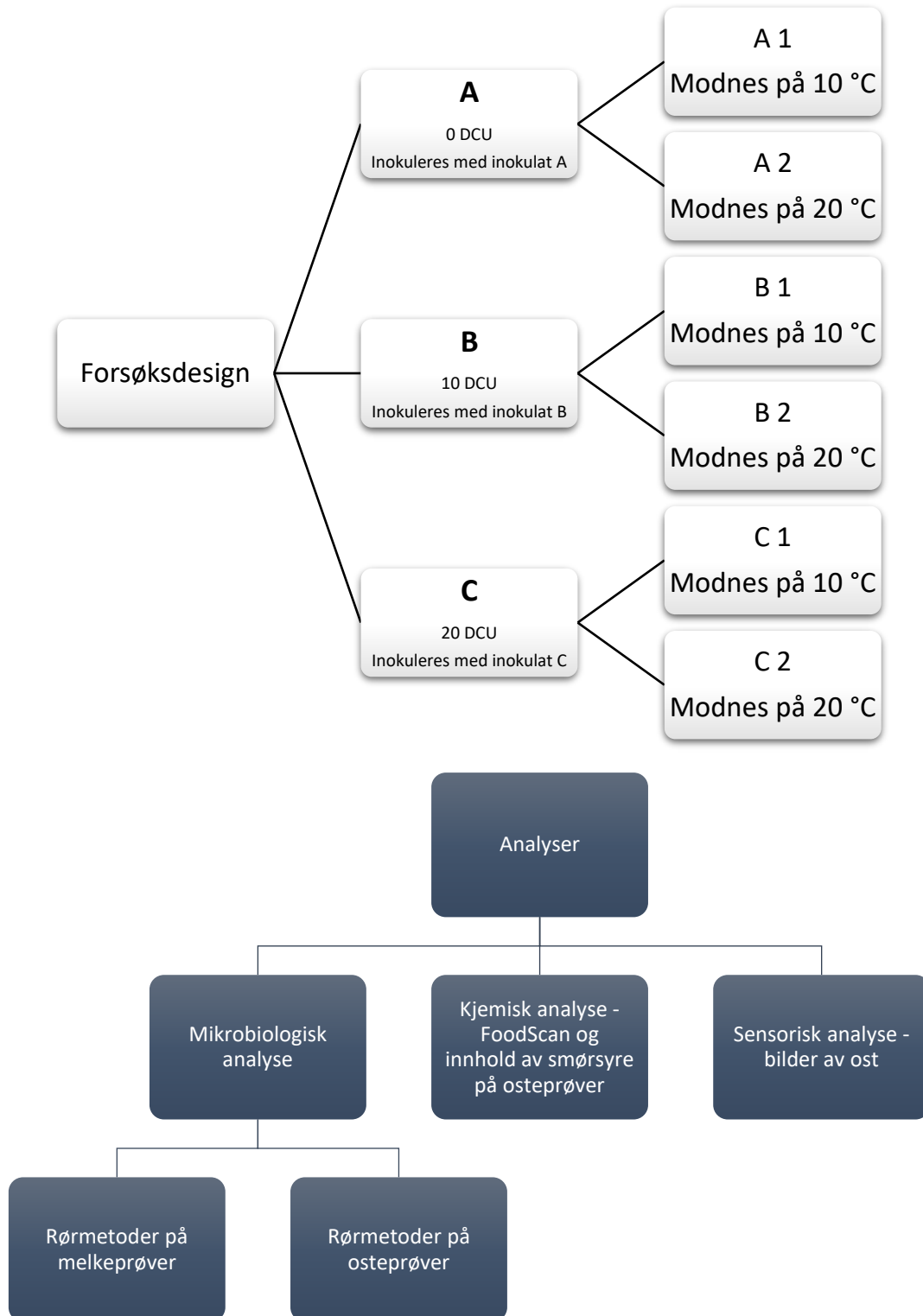
Målet med bacheloroppgaven var å finne ut hvilken effekt ulik mengde av hemmekulturen HoldBac (se vedlegg 4 for datablad) vil ha for hemming av smørsyregjæring under lagring og modning av ost som inneholder sporer fra anaerobe bakterier. I tillegg satte gruppen som mål å bruke to forskjellige modningstemperaturer for å se hvilken effekt det ville ha. For å få til dette, ble det tidlig i prosessen avgjort følgende:

- Det skulle utføres 3 paralleller med ysting av totalt 450 liter økologisk melk
- Ysting A skulle ikke tilsettes hemmekultur, B skulle tilsettes halv dose og C fikk full dose.
- Rå melk, inokulat med sporer, ystemelk og ost i de forskjellige modningstrinnene måtte analyseres for innhold av anaerobe sporer vha. rørmetoder.

Produksjonen ble gjennomført på treningsmeieriet til Trondheim fagskole i 3 runder på 3 dager, hvor det ble tilsatt hemmekultur i to av de tre batchene som skulle ystes. Benevnningen for mengde hemmekultur er gitt som (Direct Culture Unit) DCU. Databladet til hemmekulturen (vedlegg 4) opplyser at man kan tilsette 0-20 DCU av denne. Hvis dosen er angitt til å være 10 DCU, så vil det si 10 DCU per 100 L melk som er brukt. 10 DCU tilsvarer 0,9 gram av hemmekultur. Hvis 10 DCU skulle brukes i 180 L melk, tilsvarer det: $0,9 \text{ gram} * 1,8 = 1,68 \text{ gram}$ hemmekultur.

Ysting A skulle ikke tilsettes hemmekultur (0 DCU), B skulle tilsettes 10 DCU og C skulle tilsettes 20 DCU.

Selv om det var rimelig å anta at det ville være et visst innhold av sporer i melka (se kap. 2.1), ble det sikret at det skulle være innhold av *C. tyrobutyricum* ved tilsats av inokulat i ystekaret under produksjon. Forsøksdesignet vises i figur 3.1.



Figur 3.1: Forsøksdesign for ysteprosessen og hvilke analyser som ble gjort. Analyser av ost ble utført på ost etter 24 timer, 1 uke, 4 uker og 7 uker. Totalt ble det prøver siden A, B og C ble delt i to og lagret på henholdsvis 10 og 20 °C etter 1 ukes modning på 10 °C.

3.1 Ysting av Gouda

3.1.1 Rå melk og melkebehandling

I dette forsøket så ble det benyttet økologisk rå melk fra samme gård, og den ble levert til treningsmeieriet med tankbil på morgenen før første ysting skulle utføres. Der ble den lagret på tank som holdt < 4°C til melken skulle pasteuriseres ved 72 °C i 15 sekunder og pumpes over til ystemelktank.

3.1.2 Resept

Resepten og utførelsen av ystingen er basert på resept for Norvegia som er brukt ved Trondheim fagskole ved bruk av lokalet og utstyret som finnes på treningsmeieriet der. Tankmelken som ble brukt hadde fettprosent på 4,41 %, mens Norvegia 27% normalt er standardisert til 2,8 % fett. Det ble derimot brukt 30 L skummetmelk i hver runde, som ga ystemelk rundt 3,6 % i fett. Før ystingen kunne starte måtte alt utstyr som skulle brukes steames under lokk i ystekaret, og desinfiseres i klorbad. Utstyr skylles før og etter det blir lagt i badet. Innholdet i resepten er beskrevet nærmere i tabell 1, mens flytskjemaet for produksjon og prøvetaking vises i figur 3.2.

Tabell 1: Resept for de forskjellige ystingene, tatt fra ystejournal. Ysting A ble ikke tilsatt hemmekultur, B ble tilsatt 10 DCU og C ble tilsatt 20 DCU. Datablad for syrekultur, løpe og hemmekultur er lagt ved i henholdsvis vedlegg 2, 3 og 4.

	Ysting A	Ysting B	Ysting C
Liter tankmelk	150 L	150 L	120 L
Liter skummet melk	30 L	30 L	30 L
Liter ystemelk	180 L	180 L	150 L
Fett % ystemelk	3,68 %	3,68 %	3,54 %
Brukssyre	3,6 L	3,6 L	3,0 L
Kalsiumklorid	20 g	20 g	20 g
Hemmekultur	0	1,68 g (10 DCU)	2,71 g (20 DCU)
Løpe tilsatt	54 mL	54 mL	45 mL
C. t. Inokulat	5 mL (A)	5 mL (B)	5 mL (C)
Pasteurisert vann	24 L	24 L	19,5 L

3.1.3 Flytskjema for produksjon av ost og prøvetaking



Figur 3.2: Flytskjema for ysting av Gouda tilsatt *C. tyrobutyricum* med varierende dose hemmekultur, og ulike modningstemperaturer. Fargekodene står i flytskjemaet i midten på venstre side.

Nedenfor er prosesstrinnene i figur 2 nærmere beskrevet. Detaljer for alle trinnene finnes i ystejournalen.

- Melkemottak** På første dagen som det skulle ystes ble det levert 450 L økologisk rå melk. Etter mottaket ble det tatt av bulkotest av den råe melka, før den skulle videre til pasteuren.
- Pasteurisering** Melken ble pumpet over til pasteuren fra råmelkstanken, og gjennomgikk lavpasteurisering ved ca. 72 °C i 15 sekunder før den ble kjørt over på ystemelkstanken. Alle 450 L ble pasteurisert på dag 1 før den skulle brukes til ystemelk over de neste tre dagene.
- Formodning og koagulering i ystekaret** Den pasteuriserte melken overføres til ystekaret. Det måles pH. 20 g kalsiumklorid ble også tilsatt. Ved hjelp av kappa i ystekaret ble ystemelka temperert til 30 °C. Melken ble inokulert, og det ble tatt av prøve for anaerobe sporedannere av den inokulerte melken ved alle tre ystingene. Deretter ble det tilsatt brukssyre av kulturen CHN19 (vedlegg 2). Ysting B og C ble i tillegg tilsatt HoldBac hemmekultur (vedlegg 4). Melka skulle deretter stå i formodning i 40 minutter, måler pH etter denne tiden. Når formodning var ferdig, ble det satt i gang løpelegging med tilsats av 54 mL osteløype (se vedlegg 3), og lot den stå til den var tilstrekkelig koagulert (ca. 40 minutter).
- Skjæring** Om koagelet var fast nok til å begynne med skjæring ble vurdert ved å lage et snitt med kniv for så å se nærmere på massen ved å løfte den opp med den flate siden av kniven. Dersom massen var vurdert til å være fast nok, kunne skjæringen begynne. Skjæringen ble gjennomført med harpen som var på meieriet

ved å skjære i tre retninger gjennom ostemassen. Etter skjæring skulle ostemassen stå i 5 minutter.

**Forrøring,
mellomrøring,
ettervarming og
etterrøring**

Etter osten var skåret og hadde stått hen i 5 minutter, var det forrøring med langsom manuell røring i 10 minutter. Deretter ble det tappet av 90 liter myse i 1. myseavtapp. Mellomrøringen starter og varer i 10 minutter.

Deretter startet ettervarmingen som skjer ved at man oppnådde en ettervarmingstemperatur på ca. 39 °C. Det ble gjort ved å tilsette 24 L pasteurisert vann (ca. 66 °C) og varming på kappa, og ved å røre godt. Oppvarming tok rundt 10 minutter.

Ettorrøring startet fra vanntilsetningen, og tok rundt 40 minutter. Røreverket rørte kraftig under denne tiden.

Pressing av ost

Etter ferdig etterrøring startet forpressing ved at ostemassen ble flyttet over til den ene siden av karet og ble stengt av. Presseplate ble lagt på, og presset ned med 2,0 bar i 20 minutter. Deretter ble 2. myseavtapp utført, osten ble delt og lagt inn i to osteformer som skulle romme ca. 10 kg. Ostene ble lagt tilbake i karet for så å bli etterpresset ved 2,5 bar i 20 minutter, og deretter 3,0 bar i ytterligere 20 minutter. Etter pressing ble ostene tatt ut av formene.

Lakesalting

Etter pressing var ferdig ble ostene veid og deretter lagt i saltlake. Laken som ble laget hadde konsentrasjon på 19-20 °Bé, og pH på 5,75, 5,67 og 5,54 over de tre dagene. Det ble tilsatt HCL for å prøve å senke pH ytterligere ned til ca. 5,5 i løpet av perioden.

Ostene ble liggende i saltlaken i 22 timer, og ble veid på nytt etter den ble tatt ut.

Vakuumpakking

Etter oppholdet i saltlaken, ble det målt pH og gjennomført vakuumpakking og merking av alle ostene.

Lagring og modning

Det ble bestemt at batchene skulle deles i to og lagres ved to ulike temperaturer i mellomtrinnet. Først ble osten lagret på 10 °C i en uke, før de ved mellomtrinnet ble delt og lagret på henholdsvis 10 °C og 20 °C i 3 uker. Ved det siste trinnet lå alle ostene på 4 °C i 3 uker.

3.2 Mikrobiologiske Analyser

3.2.1 Medietillaging

Til forsøket ble det tillaget faste og flytende medier til oppdyrking av sporer. Det ble laget skåler av RCM-agar og BHI-agar til de fastene mediene og av flytende medier ble det tillaget BHI-buljong og RCM-buljong, samt en modifisert RCM-buljong.

RCM-agar ble laget av Reinforced Clostridial Media (Oxoid, UK) og Bacteriological Agar (Oxoid, UK) i blandingsforholdet 38 g RCM og 15 g agar-pulver i 1 liter destillert vann. BHI-agar ble laget av Brain Heart Infusion (Oxoid, UK) og Bacteriological Agar (Oxoid, UK) i blandingsforholdet 37 g BHI og 15 g agar-pulver i 1 liter destillert vann. Mediene ble deretter autoklavert i 15 min ved 121°C og platet ut på petriskåler.

RCM-buljong ble laget av 38 g Reinforced Clostridial Media (Oxoid, UK) i 1 liter destillert vann. Modifisert RCM-buljong (MRCM-buljong) ble laget til likt som RCM-buljong, hvor i tillegg det ble tilsatt 25mg/L Nøytralrødt (Afla Aesar). BHI-buljong ble laget av 37 g Brain Heart Infusion (Oxoid, UK) i 1 liter destillert vann. Medier som ikke skulle brukes til MPN-metoder ble deretter autoklavert.

3.2.2 Oppdyrking av *Clostridium tyrobutyricum* inokulat

C. tyrobutyricum inokulat ble tilsatt til ystemelken på alle tre ystedager for å sikre vekst av *C. tyrobutyricum* i osten under modning.

C. tyrobutyricum inokulat ble laget ved at en nedfrosset *C. tyrobutyricum* bakteriekultur (CCUG 48315, T) ble vekket til live igjen ved å pøde *C. tyrobutyricum* i BHI-buljong. Kulturen ble deretter inkubert anaerobt ved 37°C i 3 dager. Vekst ble bekreftet ved å observere at mediet hadde blitt grumsete/turbid. For å sikre seg at man jobber med en renkultur av *C. tyrobutyricum* ble mediet ble deretter strøket ut på RCM- og BHI agar og inkubert anaerobt i 3 dager ved 37°C, slik at enkelte kolonier av *C. tyrobutyricum* vokste fram.

Videre ble kolonier av *C. tyrobutyricum* høstet fra BHI-agar podet over i kald skummet melk som har vært kokt ved 80°C i 10 min, som videre ble tilsatt i en gitt mengde i ystemelken for hver enkelt ystedag.

3.2.3 3-rørs MPN metode for påvisning av anaerobe sporer

3-rørs metoden vi brukte er en modifisert metode og tar utgangspunkt i Tine sine styringsdokumenter hvor metoden MA 560 (u.å) ble brukt.

Metoden går ut på å bruke evnen anaerobe sporedannere har på å danne gass og fargeomslag ved hjelp av indikator slik at man kan fastsette hva slags nivå av sporer som befinner seg i melken.

Til metoden brukte vi MRCM-rør, som er reagensrør tilsatt 5 ml med MRCM-buljong. Deretter ble det tilsatt 3 ml med en blanding av vaselin (100% petrolatum) og parafin pellets (VWR Chemicals) i forholdet 2:1 i røret som ved etter stivning vil legge seg som en propp over MRCM-buljongen og danne anaerobe forhold. Etter tilsetting av MRCM og vaselin/parafin proppen ble rørene autoklavert ved 121°C i 15 min, og videre nedkjølt i romtemperatur. Deretter ble det

overført 1 ml melk til 3 paralleller av MRCM-rør som videre ble varmebehandlet i vannbad ved 80°C i 10 minutter for å drepe vegetative celler.

Etter vannbadet blir rørene nedkjølt i romtemperatur til parafin/vaselin proppen har stivnet og satt til inkubering ved 37°C i 4 dager. For å påvise positivt resultat må det være gassdannelse som blir påvist ved at vaselin/parafin proppen har blitt skjøvet opp i røret i tillegg til at MRCM-buljongen har endret farge fra rød til gul. Ved ingen endring eller om det bare er fargeendring uten gassdannelse eller omvendt vil prøven være negativ. Innhold av anaerobe sporer i melk blir angitt slik som blir vist i tabell 2:

Tabell 2: Definisjon på grad av sporer basert på antall rør for 3-rørs metoden som indikerer vekst av anaerobe sporedannere.

Grad	Mengde
Ingen	Vekst i 0 rør
Lav	Vekst i 1 rør
Middels	Vekst i 2 rør
Høy	Vekst i 3 rør

3.2.4 9-rørs MPN metode for påvisning av anaerobe sporer

9-rørs metoden vi brukte er en modifisert metode og tar utgangspunkt i Meierienes Analysebok hvor metoden MA 556 (28.06.1988) ble brukt.

Fremgangsmåten ved tillaging og inkubering av rør er lik i 9-rørs metoden som i 3-rørs metoden, hvor det er antall prøver og mengde av melk tilsatt i rørene som skiller seg ut. For metoden blir det brukt 9 MRCM rør hvor følgende mengde melk eller osteslurry, som er en blanding av ost og peptonvann i forholdet 1:10 som er stomachert i 1 min, har blitt tilsatt:

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

Resultatene ble vurdert likt som i 3-rørs metoden hvor det både må være gassdannelse i røret samtidig som det er fargeendring for at testen skal være positiv. 9-rørs metoden er en MPN metode (Most Probable Number), hvor man beregner resultatene man fikk med en standard tabell (se vedlegg 8), for å finne ut den mest sannsynlige mengden av sporer i melken.

3.2.5 Prøvetaking

Under ysteprosessen ble det tatt ut prøver av *C. tyrobutyricum* inokulat, råmelk, pasteurisert melk (til *enterobacteriaceae* test) og inokulert ystemelk til videre prøvetaking. Det ble også tatt ut prøve av ost etter 1 dag, 1 uke, 4 uker og 7 uker. Det ble også bestilt 3-rørs metode test fra Råmelkslaboratoriet ved Tine Sentrallager Heimdal av råmelken som ble levert til ysting, slik at vi kunne sammenlikne resultatene fra tine med de resultatene vi fikk.

Det ble utført 3-rørs og 9-rørs metode av *C. tyrobutyricum* inokulat, råmelk, og inokulert ystemelk, og det ble utført 9-rørs metode for alle osteprøver som ble tatt ut etter 1 dag, 1 uke, 4 uker og 7 uker. 9-rørs metoden er ikke beregnet til ost, og osten må derfor gjøres om til en osteslurry slik at det kunne løse seg i MRCM-buljong.

For å teste at pasteuriseringsprosessen var tilstrekkelig ble pasteurisert melk ble sådd ut på *enterobacteriaceae* skål (Compact Dry TC, Labolytic), hvor det ble tilsatt 1 ml melk i 2 skåler og 1 ml melk fortynnet i forholdet 1:10 med peptonvann i 2 skåler. Skålene ble inkubert i 2 dager på 37°C.

3.2.6 Kjemiske analyser

Det ble utført analyse ved bruk av Milkoscan av råmelken brukt til ysting av Tine Tunga for følgende kjemiske parametere:

- Fett
- Protein
- FPD (frysepunkt)
- Urea
- Celler

Milkoscan baserer seg på infrarød teknologi som kan analysere et bredt spekter av parametere som fett, protein, frysepunkt, urea og celler (Sánchez et al., 2007, s. 3154).

I tillegg ble det utført en bactocount av melken hvor resultatet ble oppgitt i kIBC/ml (Individual bacteria count) og en anaerob sporettest (3-rørs metode).

Osteprøver fra 1 dag, 1 uke, 4 uker og 7 uker modning ble også sendt til Tine Meieriet Sømna for foodScan for følgende parametere:

- Vann
- Protein
- Fett
- Salt
- Tørrstoff

FoodScan er en spektroskopometrisk metode som bruker Near-infrared (NIR) teknologi til å bestemme innhold av for eks. fett, protein eller vann i et produkt (Anderson & Collaborators, 2019, s. 1073).

3.2.7 Analyse for innhold av smørtsyre

Prøver av modnet ost etter 1 uke, 10 °C og 20 °C etter 4 uker og 10 °C og 20 °C etter 7 uker ble sent til Tine FOU/Måltidets Hus i Stavanger for analyse av innhold av smørtsyre med gasskromatografi. Gasskromatografi bygger på fysiske forskjeller mellom stoff, hvor en gassprøve bestående av kjent innhold blir separert i enkelte komponenter, og konsentrasjonen av de enkelte komponentene blir målt (TU, u.å).

3.2.8 pH

pH ble målt jevnlig under ysteprosessen, blant annet i ystemelk, etter formodning og ved skjæring i koagel. Det ble også målt pH i ost etter 1 dag, 1 uke, 4 uker og 7 uker modning, hvor pH ble bestemt ut av snittet til 3 målinger per ost. pH meteret ble kalibrert ved en løsning på 4 i pH og en løsning på 7 i pH hver dag før bruk, og ble skylt med avionisert vann mellom hver prøvetaking.

3.2.9 Sensorisk vurdering

Osteprøvene etter 1 dag, 1 uke, 4 uker og 7 uker modning ble uhøytidelig testet sensorisk for parameterne smak, utseende og lukt ved treningsmeieriet ved Trøndelag høyere yrkesfagskole (THYF). Osten ble kuttet slik at man fikk se en snittflate og kunne se på hulldannelse og få lukte innsiden av osten, i tillegg til at det ble tatt av biter som det ble smakt på.

4. Resultater

Dette kapittelet skal presentere resultatene som dette prosjektet har gitt. De mikrobiologiske analysene er de som vil vektlegges mest og har hatt mest betydning for arbeidet som er utført, ettersom det ble fokusert mest på MPN-rørmetodene for anaerobe sporer, som ble viktige i dette prosjektet. I tillegg vil det bli vist fram eksempel på bilder av snittflate av ost, for å kunne observere hull og sprekkdannelse.

4.1 Analyse av rå melk

Analyse av rå melk ble gjennomført av Råmelkslaboratoriet ved TINE Heimdal for å finne ut hva råstoffet som skulle brukes videre i oppgaven inneholdt. Resultatene for testen består av kjemisk analyse, totalt bakterieantall (bactocount) og innhold av anaerobe sporer. Resultatene for dette vises i tabell 3. Melken holder et lavt totalt bakterieantall, og det ble ikke påvist innhold av anaerobe sporer.

Tabell 3: Analyseresultater fra Råmelkslaboratoriet ved TINE Heimdal av økologisk rå melk brukt til ysting. Resultatene ble tilsendt på e-post fra TINE.

Uttaksdato 16/02/21	
Kjemisk analyse	
Fett	4,41
Protein	3,42
Laktose	4,68
Frysepunkt	-0,543
Urea	4,10
Celler	182
Mikrobiologisk analyse	
Bakterietall (kIBC/mL)	17
Innhold av anaerobe sporer	<u>0</u>

4.2 Mikrobiologiske analyser

Kapittel 4.2 vil inneholde størsteparten og noen av de viktigste resultatene som kom ut av arbeidet, som da gjelder mikrobiologiske analyser. Mesteparten har gruppen utført og analysert selv, mens Måltidets Hus hjalp til med analyse for innhold av smøresyre i prøver av ost.

4.2.1 Analyse for *Enterobacteriaceae*

Det ble testet for *Enterobacteriaceae* fra pasteurisert melk på skåler fra Labolytic (Compact Dry TC) ufortynnet, og i -1 fortykning. På de to ufortynnede skålene, var det lav vekst, henholdsvis 2 og 1 koloni(er), og på -1 fortykningene var det ingen vekst. Dette viser at det har vært god effekt av pasteuriseringen.

4.2.2 Analyse for innhold av anaerobe sporedannere i rå melk, inokulat og inokulert ystemelk

For analyse av anaerobe sporedannere ble det brukt modifisert 3 og 9-rørs MPN metode. Disse rørene inneholder RCM-buljong, der *Clostridium* skal ha gode vekstforhold. Rørene ble inokulert med:

- Rå melk, 1 prøve
- Inokulat (skummetmelk med innhold av *Clostridium tyrobutyricum*) A, B og C.
- Inokulert Ystemelk A, B og C som da hadde blitt tilsatt inokulat A, B og C.

Rør ble definert som positive hvis det etter 4 døgn av anaerob inkubering var gassdannelse i røret (proppen ble forflyttet) og fargeindikatoren hadde fått omslag til gult pga. syreproduksjon. Under i figur 4.1 er det eksempel på hvordan noen av resultatene så ut.



Figur 4.1: Bilde som viser eksempel på resultat fra 3-rørs og 9-rørs MPN-metode etter 4 dagers inkubering på 37 °C. Man ser tydelig gassdannelse ved at proppen har skutt opp, og fargeomslag fra rødt til gult. Rør 40 viser hvordan et negativt rør ser ut.

Tallene som viser sannsynlig innhold av anaerobe sporedannere (Most Probable Number) MPN og er beregnet ut ifra en tabell (vedlegg 8) som er gitt i metoden forsøket er basert på. I tabell 4 vises resultatene for antall sporedannere i rå melk, inokulat og inokulert ystemelk som ble brukt. I TINE sine analyser på prøven av rå melk ble det ikke påvist anaerobe sporer. I gruppen sine egne analyser av råstoff ble det heller ikke påvist ved hjelp av 3-rørs metode, mens 9-

rørsmetode viser at det var 40 sporer per 100 mL melk i råstoffet. Inokulatene A, B og C viser veldig høy konsentrasjon av sporer på 450, 1100 og 250 sporer per 100 mL melk. Den inokulerte ystemelken A, B og C viser og høyt sporeinnhold ved 150, 95 og 250.

Tabell 4: Viser tabell for resultater av MPN-metoder for de forskjellige prøvene. Nivåene i 3-rørs-metoden er angitt etter antall rør positive: 0 rør = ingen vekst, 1 rør= lav vekst, 2 = medium, 3 = høy. 9 rørs-metode viser sannsynlig antall sporer pr. 100 mL melk.

Prøveuttak	3-rørs-metode	9-rørs-metode
Økologisk rå melk	Ingen vekst	40
Inokulert Ystemelk A	Middels vekst	150
Inokulat A	Høy vekst	450
Inokulert Ystemelk B	Middels vekst	95
Inokulat B	Høy vekst	1100
Inokulert Ystemelk C	Ingen vekst	250
Inokulat C	Høy vekst	250

4.2.3 Analyse for anaerobe sporedannere og innhold av smørsyre i prøver av ost

Ettersom osten ble lagt på to ulike lagringstemperaturer først etter 1 ukes modning, ble det vurdert som at kun en prøve fra A, B og C var representativ nok for 1 ukes osteprøver.

Analyseresultat for anaerobe sporedannere og innhold av smørsyre etter 1 uke vises i tabell 5. Resultatene for viser at de tre parallellene hadde lav eller ingen forekomst av anaerobe sporer.

Analyse for innhold av smørtsyre ble utført av Måltidets Hus, og resultatene viser lavest mulig forekomst for analysene som ble utført, som var <0,8 mmol/kg. Verdiene i prøvene etter 1 uke viser altså lavt innhold av både sporer og smørtsyre.

Tabell 5: Resultater fra analyser på prøve av ost under modning. Sporer er målt i antall sporer per 100 mL osteslurry, og smørtsyre måles i mmol/kg (7 uker vil si ferdig modnet). A er prøver av ost uten hemmekultur, B er tilsatt 10 DCU og C er tilsatt 20 DCU.

Prøveuttak	Sporer 1 uke	Smørtsyre 1 uke
A	9	<0,8
B	9	<0,8
C	0	<0,8

Resultatene for sporer og innhold av smørtsyre i parallellene A1, B1, C1 (lagret på 10 °C) og A2, B2, C2 (lagret på 20 °C) vises i tabell 6, og det er generelt høyere forekomst av både sporer og smørtsyre etter 4 og 7 uker enn etter 1 uke.

A1, B1 og C1 viser en klar sammenheng for at modningstemperatur på 10 °C fører til mindre forekomst av både anaerobe sporer og smørtsyre enn i prøvene A2, B2 og C2 som er modnet på 20 °C. Videre i tabell 6 så observeres det også en sammenheng mellom at høyere antall sporedannere generelt betyr høyere forekomst av smørtsyre, i tillegg til at lavere antall sporer ser ut til å bety at det er lavere innhold av smørtsyre. Et godt eksempel er at prøve C1 viser 20 sporer per 100 mL melk og 0,12 mmol/kg smørtsyre etter 7 uker, mens C2 viser >1100 sporer og 3,35 mmol/kg.

Klare forskjeller eller sammenheng av prøvene det ble tilsatt ingen, 10 DCU og 20 DCU hemmekultur er ikke så lett å observere.

Tabell 6: Viser resultater på anaerobe sporedannere og smørtsyre i osteprøver etter 4 uker og 7 ukers lagring. A1, B1 og C1 viser ost som har vært modnet på 10 °C, mens A2, B2 og C2 viser ost som har vært modnet på 20 °C. Sporer er målt i antall sporer per 100 mL osteslurry, mens smørtsyre måles i mmol/kg. For enkelte av parallellene som det ble tatt 2 prøver av ble resultatene lagt sammen og tatt et snitt av, for å få en mer oversiktlig presentasjon av resultatene. n = 2

Prøveuttak	Sporer 4 uker	Sporer 7 uker	Smørtsyre 4 uker	Smørtsyre 7 uker
A 1 10 °C	4	45	0,08	0,13
A 2 20 °C	15	>1100	0,17	3,07
B 1 10 °C	0	15	0,10	0,12
B 2 20 °C	95	>1100	0,74	0,50
C 1 10 °C	4	20	0,11	0,12
C 2 20 °C	45	>1100	0,29	3,35

4.3 Kjemiske analyser

Alle prøvene som ble sendt inn til FoodScan for kjemisk analyse viser relativt like verdier. I tabell 7 kan man se snitt og standardavvik de ulike bestanddelene av næringsstoffer i ferdig modnet ost. Verdiene viser at prøveparallellene av ferdig ost hadde relativt likt kjemisk innhold, som verifiserer at de tre ulike ysteproessene har ført til lignende sammensetning av ost.

Tabell 7. Viser gjennomsnittlig innhold av næringsstoffer i ferdig modnede osteprøver som ble analysert for kjemisk innhold. Verdiene er gitt i g/100g. n = 6. Rådata fra FoodScan og utregning av F/T og VFFO finnes i vedlegg 7

	Gjennomsnitt av ferdig modnet ost	Standardavvik
Fett	28,8	± 0,5
Tørrstoff	57,9	± 0,6
Vann	42,1	± 0,6
Salt	1,2	± 0,2
Protein	25,4	± 0,5
Fett i tørrstoff	49,7	± 0,7
Vann i fettfri ostemasse	59,1	± 0,7

4.3.1 pH under ysting og modning

pH-verdier ble målt under ysting og gjennom modningsforløpet. Det målingene skal vise og tilføre oppgaven er at prosessen har blitt styrt riktig for å kunne se og holde kontroll på at ysteproessene har vært jevne. Forløpet ser relativt likt ut for alle parallellene, og tidsstemplingene i ystejournalen i vedlegg 1 viser at tidsforløpet har også vært nokså likt fra dag til dag.

Tabell 8: Viser pH-målingene som ble tatt under ysteprosessen og gjennomsnitt ($n = 3$) av pH utover i modningen fra prøver av ost. A er parallell uten hemmekultur, B er parallell med 10 DCU og C er parallell med 20 DCU. A1, B1 og C1 er prøver som har blitt modnet på 10 °C mens A2, B2 og C2 har blitt modnet på 20 °C.

	A		B		C	
pH i ystemelk	6,61		6,68		6,60	
pH for brukssyre	4,45		4,32		4,33	
pH etter formodning	6,43		6,39		6,39	
pH ved skjæring	6,33		6,34		6,35	
pH i ost etter 24 timer	5,01		5,00		5,03	
Forlagring 1 uke 10 °C	5,14		5,22		5,18	
	A 1	A 2	B 1	B 2	C 1	C 2
Gjæringsbu: 3 uker 10 °C eller 20 °C	5,23	5,26	5,21	5,24	5,24	5,24
Modningslager 3 uker 4 °C	5,23	5,34	5,21	5,32	5,20	5,20

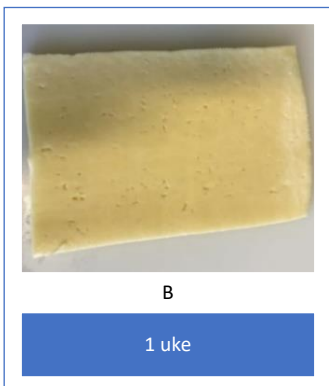
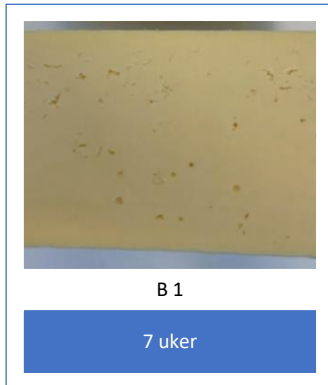
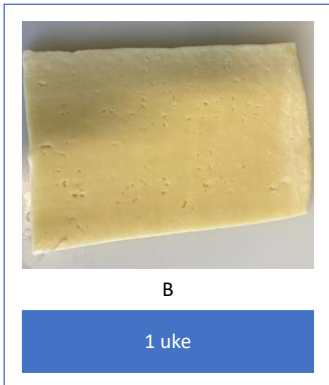
4.4 Observasjon av sprekke- og hulldannelse under modning

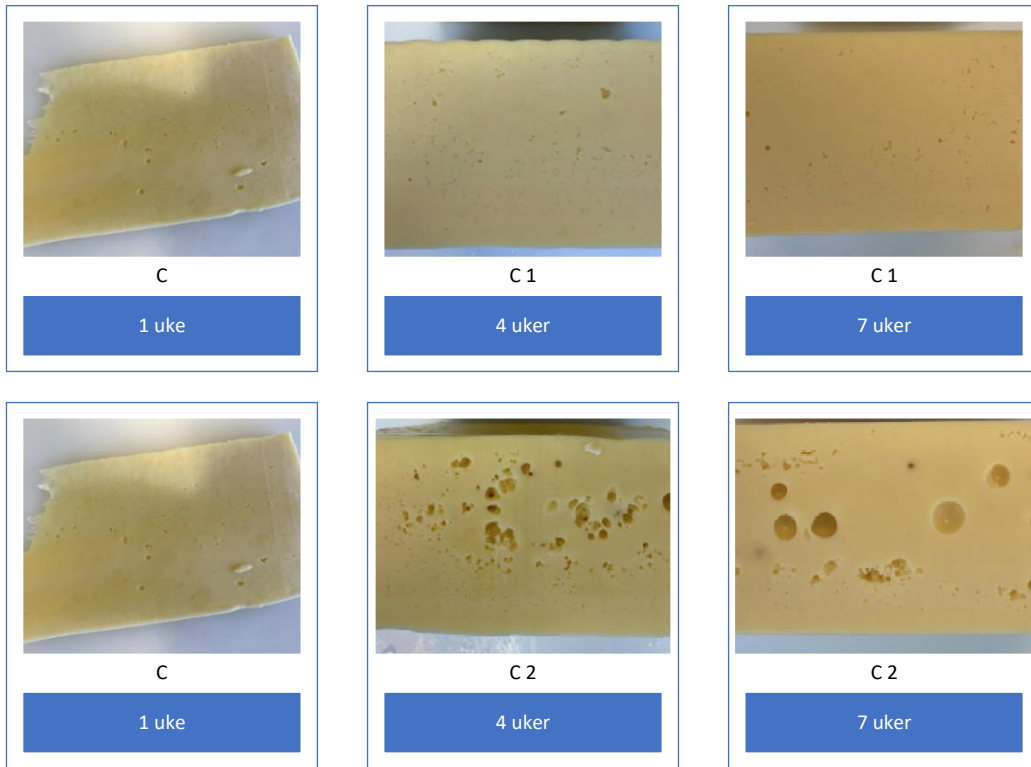
Hull og sprekkdannelser er kjennetegn på at det har foregått senesing i ost ved at det har skjedd gassdannelse inne i ost. Det ble derfor tatt ut ost av lagring og skåret opp slik at man kunne observere om slik sprekke og hulldannelse hadde forekommet i de ulike parallellene.

Det ble observert hull og sprekkdannelser i stort sett alle ostene. Det ble derimot observert stor forskjell i hvor stor grad det var, da ost som ble modnet på 20 °C viste betydelig større hull og sprekkdannelse enn de som ble modnet på 10 °C. Osten som var modnet ved 20 °C viste i tillegg antydning til oppblåsing etter 4 og 7 uker modning, samtidig som at fasongen til osten var rundere enn osten modnet ved 10 °C, som hadde spisse kanter.

En annen ting som ble observert var at disse utbruddene i veldig stor grad var lokale inne i osten, og det var forskjell på kort avstand i mange oster. Under prøvetaking etter 4 uker modning og 7 uker modning ble det i tillegg lagt merke til klar lukt av smørsyre, spesielt fra de ostene som viste klare tegn til senesing.

Figuren 4.2 under viser ikke alle bildene som ble tatt, men et representativt utvalg for å demonstrere hvordan det så ut i de ulike prøvepunktene. A er ikke tilsatt hemmekultur, mens B er tilsatt 10 DCU, og C tilsatt 20 DCU. A1, B1 og C1 ble modnet på 10 °C mens A2, B2 og C2 ble modnet på 20 °C.





Figur 4.2. Viser bilder av snittflate for A, B og C etter 1 uke, og de som ble lagret på henholdsvis 10 °C (A1, B1, C1) og 20 °C (A2, B2, C2) gjennom modningen etter 4 og 7 uker. Man ser klare forskjeller på hull og sprekkdannelse utover i lagringen for de ulike modningstemperaturene.

5. Diskusjon

5.1 Forsøksdesign

Forsøksdesignet ble utført slik det var planlagt; men i retrospekt kunne det idéelt sett vært ting som hadde blitt gjort annerledes dersom bedre utstyr, mer ressurser og bedre tid hadde vært tilgjengelig. Siden Johansen et al. (2013, s. 37) påpeker at sporene er ujevnt fordelt i melk, kunne man ved å gjøre et enda større forsøk med flere prøver av ystemelk og ost, fått et lavere konfidensintervall og et enda sikrere resultat i forhold til MPN-metodene som ble utført.

All ystemelken som skulle brukes ble pasteurisert den første dagen, og ble deretter brukt til tre ulike paralleller over tre dager. Dette gjorde at ystemelken måtte inokuleres tre ganger med tre ulike inokulater, i stedet for å gjøre det en gang med samme inokulat. Idéelt sett kunne man ystet alle tre parallellene samtidig hvis man hadde hatt tilgang på flere ystekar, men dette måtte gjøres over tre dager pga. begrensede ressurser.

Når det skal vurderes i hvilken grad hemmekulturen har motvirket smørsyregjæringen, er det noen parametere ved forsøket som gjør det vanskelig å tolke. For å kunne best mulig sett virkningen av hemmekulturen, hadde det vært gunstig med en standardisert mengde sporer i ystemelken som ble brukt. Det kunne tenkes at å fjerne sporer ved bactofugering og mikrofiltrering i forbindelse med pasteuriseringstrinnet (Gesán-Guizoiu, 2010, s. 352, 356), og deretter inokulert melken med forutbestemt mengde sporer hadde gitt et mye bedre utgangspunkt for å kunne vurdere effekten av hemmekulturen.

Det er også en utfordring at en ikke får resultater fra sporeanalyser før etter 3-4 dager, hvor da er allerede produsert. Ved å nullstille melka for sporer og deretter inokulere et kjent antall anaerobe sporer i alle batchene, ville effekten av hemmekulturen blitt mulig å måle både ved analyser av anaerobe sporedannere, mengden produksjon av smørsyre og visuelle observasjoner av hull- og sprekkdannelser.

Sammen med veileder besluttet gruppen at den beste måten å utføre prøvetaking for ost med tanke på både hemmekultur og modningstemperatur, var å ta av prøver for kjemisk- og

mikrobiologisk analyse samt observere etter hull og sprekkdannelser etter 1 dag, 1 uke, 4 uker og 7 uker. Etter 4 og 7 uker ble det tatt av flere prøver og ble gjort observasjon av flere oster enn tidligere. I følge Alvenäs (2015, s. 6) forekommer senesing først litt lenger ut i modningen og ut fra denne kunnskapen ville vi holde et ekstra godt øye med utviklingen lenger ut i modningsforløpet.

5.2 Vurdering av kjemiske analyser

Til de kjemiske analyseresultatene for osteprøvene fikk gruppen hjelp av TINE Sømna for å utføre FoodScan på disse prøvene. Ved Tine Sømna produseres både den originale Norvegia® Original (27%) og Norvegia® Fyldig (29%) fett. Vår ost ble produsert med ystemelk standardisert til 3,5-3,6 % fett og resultatene fra Foodscan viste at ferdig ost inneholdt 28,8 % fett. At kalibreringene av Foodscan er gjort på ost med lik sammensetning er gunstig for påliteligheten av resultatene.

Innvirkningen av parameterne i kjemisk innhold er ikke nødvendigvis utslagsgivende for veksten av sporer eller innhold av smørsyre. De er kanskje mer for å få bekreftelse på hvordan tilstanden til osten sine fysiske og kjemiske forhold var, slik at den har riktige verdier i forhold til produktspesifikasjonen for Goudaost og at sporene har riktig miljø å jobbe i.

Resultatene for kjemiske analyser (vist i tabell 7) har gjennomsnittlige verdier av kjemisk innhold i ferdig modnet ost. Prøvene som ble sendt inn til analyse var fra flere modningsgrader, men da verdiene viste liten variasjon mellom modningsgradene for hvert av forsøkene, A, B og C, valgte gruppen å vurdere disse verdiene som representative nok, siden det var minimal endring i verdiene i løpet av modningstiden.

Analyseresultatene fra FoodScan viser fett i tørrstoff (F/T) verdien som et snitt på 49,7 % med standardavvik på $\pm 0,7$. I henhold til Codex Alimentarius' produktspesifikasjonen satt for Gouda i Codex Standard 266-1966 er minimumsverdien for ostetypen satt til 30 % F/T. Det er derimot ingen øvre grense, så osten kan vurderes til å være godt innenfor standarden for en Gouda med en verdi på 49,7 %. Innhold av vann i fettfri ostemasse (VFFO) ligger på 59,1 % med et

standardavvik på $\pm 0,7$. I følge Bylund (2021) sin klassifikasjon av ost bør Goudaost ha $\approx 57\%$ VFFO, som vil si at verdiene fra dette prosjektet ligger nærme den klassifikasjonen. Innholdet av vann i osten vil være med å påvirke aktiviteten av mikroorganismer og generell enzymaktivitet. Innholdet av vann har ikke endret seg betraktelig gjennom modningen, og det kan tenkes at vakuumpakket skorpefri ost som gruppen har produsert, holder bedre på vannet enn varianter som er modnet med skorpe (Hagenes, 2010, s. 162-163).

pH ble målt under ysteprosessen og under modning av ost. Hensikten med å følge opp pH i dette forsøket er for å verifisere at prosessen har gått slik den skal, og at det ble produsert en ostetype som problematikken med senesing kunne forekomme i. Düsterhöft et al. (2017, s. 878) beskriver at Gouda-type ost vil redusere ned pH til 5,1-5,2 24 timer etter produksjon, for deretter å øke med rundt 0,15 under de første to ukene av modning. Etter dette vil pH endres mindre senere i modningen. Dette samsvarer greit med resultatene da f.eks. pH i parallellen A var 5,01 etter 22 timer i saltlake, 5,14 etter en uke forlagring og økte til 5,23 i ferdig modnet ost. Økningen i pH skyldes bl.a. at melkesyre blir brutt ned, som vil gjøre osten mindre sur. I tillegg vil den proteolytiske aktiviteten under modning medføre noe økning i pH selv om dette ikke er en ost som modnes veldig kraftig. pH holder seg godt innenfor området 5,0-5,5 under lagringen, som ifølge Johansen et al. (2013, s. 29) er optimalt pH-område for vekst av *Clostridium tyrobutyricum*. Utifra pH å dømme, vil osten som er produsert gi smørtsyrebakteriene gode muligheter for å vokse under lagring.

Saltkonsentrasjonen som resultatene fra FoodScan ga, viser et gjennomsnittlig saltinnhold på 1,2 g/100g med standardavvik på $\pm 0,2$. På TINE sine nettsider (TINE, u.å-b) der næringsinnholdet til Norvegia 27 % er beskrevet, så er saltkonsentrasjonen også på 1,2 g/100g. Saltkonsentrasjonen i osteparallellene er lik som i Norvegia, med forbehold om standardavviket. Lakesaltingen kan vurderes til å ha hatt god effekt.

Hagenes (2010, s. 155) sier at saltet vil trenge inn kun et lite stykke i osten under lakesalting og gi høy konsentrasjon i det ytterste laget. Under lagring vil saltet kunne fordele seg jevnere utover resten av ostemassen.

Siden det i dette forsøket ble lagd store blokker av ost på 10 kg, kan det tenkes at det tok en god stund før saltet fikk fordelt seg utover resten av ostemassen. Prøvene som ble sendt inn til analyse gjennom lagringsperioden var kun fra et lite utvalg av osten, og ofte ute i kantene. Det er mulig at dette kan ha hatt innvirkning på resultatene siden det er naturlig at konsentrasjonen av salt ville vært høyest der. For å få en mer nøyaktig verdi som representerer saltverdien i alle trinnene av lagringen og gjennom hele osten, hadde det vært hensiktsmessig med flere prøver fra ulike prøvepunkt.

Nordbø et al. (2018) skriver at ost som er mye saltet har vist seg å bli mindre påvirket av smørsyrebakterier. Det kan derfor tenkes at smørsyrebakteriene som hadde befunnet seg lengre inn i osten ikke ville ha fått eventuell påvirkning av salt før lengre inn i modningen. Morandi et al. (2020, s. 1-2) opplyser at en kombinasjon av temperatur $\leq 15^{\circ}\text{C}$, pH ≤ 5 og 2% saltinnhold vil være tilstrekkelig for å forhindre germinering av *Clostridium tyrobutyricum*, som er en del høyere enn saltkonsentrasjonen målt med FoodScan på 1,2 %. Det kan derfor antas at salt ikke har hatt stor innvirkning på hemming av smørsyrebakteriene.

5.3 Vurdering av resultat for anaerobe sporedannere og smørsyre

Resultatene for 3-rørs og 9-rørs metode til råmelk, inokulat og inokulert ystemelk for ysting A (ikke tilsatt hemmekultur), ysting B (10 DCU) og ysting C (20 DCU) viser en stor usikkerhet i forholdet mellom resultater for 3-rørs og 9-rørs metoden. Ystemelk C viser ingen vekst av anaerobe sporer for 3-rørs metode, og Inokulat C viser høy vekst for 3-rørs metode, selv om både Ystemelk C og Inokulat C ble målt til å inneholde 250 sporer/100ml. Samtidig ble det målt ingen vekst i økologisk rå melk, og middels vekst for inokulert ystemelk B for 3-rørs metoden, hvor økologisk rå melk ble målt til 40 sporer/100ml og inokulert ystemelk B ble målt til 95 sporer/100 ml ved bruk av 9-rørs metode. I følge Johansen et al. (2013, s. 37) vil bakterier være tilfeldig fordelt i melk, noe som kan forklare hvorfor resultatene fra 3-rørs metoden er så forskjellige sammenliknet med resultater fra 9-rørs metoden, siden ulik mengde sporer kan bli med to forskjellige prøver selv om begge prøvene er fra samme melk.

En annen årsak til store forskjeller når man sammenlikner 3-rørs og 9-rørs metoden kan være fordi 3-rørs metoden er mindre presis enn 9-rørs metoden. Innholdet av sporer i økologisk rå melk, gjennom 9-rørs metoden, ble målt til å være 40 sporer/100 ml, og gjennom 3-rørs metoden målt å være ingen vekst. Siden 3-rørs metoden benytter mindre antall analyser enn 9-rørs metoden, vil 3-rørs metoden naturligvis være mindre presis og sikker enn 9-rørs metoden (Johansen et al., 2013, s. 37), som er grunnen til at man kan få resultatet ingen vekst samtidig som at det er sporer til stede i melken. 40 sporer per 100ml melk er et høyt nok sporetall for at senesing kan forekomme (Klijn et al., 1995, s. 2919). Med tanke på at innholdet av sporer i økologisk rå melk var sannsynligvis nok til å kunne forårsake senesing i ost, ville det ikke vært nødvendig å tilsette inokulat i ystemelken for å framprovosere smørtsyredannelse under modning. Tilsetting av inokulatet kan føre med seg feilkilder med tanke på usikkerheten av og høy mengde sporer som blir tilsatt i ystemelken.

En annen årsak kan også være metoden som ble brukt da melkeprøvene til 3-rørs og 9-rørs metoden ble pipettert ut. En mulighet kan ha vært at melkeprøven ikke ble tilstrekkelig homogenisert godt nok før det ble pipettert ut, og at pipettespissen bare vil ta ut melk fra et spesifikt område i prøven.

Det ble observert senesing i osteprøve A2 (ost fra ysting A som er modnet ved 20°C), B2 (ost fra ysting B som er modnet ved 20°C) og C2 (ost fra ysting C som er modnet ved 20°C). Dette tilsier at sporetallet fra Inokulert ystemelk A (150 sporer/100ml), B (95 sporer/100ml) og C (250 sporer/100ml) er tilstrekkelig for at senesing skal forekomme i Gouda ost. Dette samsvarer også med teori, hvor det ifølge Klijn et al. (1995, s. 2919) kan forekomme senesing i ost når innhold av sporer er 10 sporer per 100ml melk.

Ved analyse av osteprøver lagde gruppen osteslurry som skulle utføres 9-rørs MPN metode på for å kvantifisere innholdet av sporer. Resultatene for disse ligger i tabell 5 og 6, og er beregnet ut ifra standardtabellen i vedlegg 8.

Denne metoden er opprinnelig tenkt for å brukes til prøver av melk, og ikke osteprøver slik som gruppen modifiserte den til å gjøre. Kontaminerende bakterier vil bli konsentrert i ostemassen

under ysteprosessen (Fox et al., 2017, s. 13) som teoretisk sett vil gjøre ansamlingen av anaerobe sporedannere større i osteprøvene. Noen av sporene vil sannsynligvis forsvinne ut i mysen, hvor mye er usikkert. Om fortyningen som har blitt gjort av osteprøven i peptonvann er tilstrekkelig for å gi gode resultater i denne metoden, er uvisst, siden det ikke ble funnet noen litteratur som kunne støtte opp om disse forsøkene.

Resultat fra prøver av ost modnet etter 1 uke viser at ost A (0 DCU) og ost B (10 DCU) inneholdt 9 sporer/100ml osteslurry, og ost C (20 DCU) inneholdt 0 sporer/100ml osteslurry. Forekomsten av smørsyre i ost A, B, og C etter 1 uke var alle $<0,8$ mmol/kg. I følge Matijasic (2007, s.160-161) er det observert senesing ved innhold av smørsyre ned til verdier som $1,7$ mmol/kg, som gjør denne forekomsten i ost etter en uke liten i forhold. Osten som ble modnet ved 10°C den første uken viser derfor ikke antydning til smørsyredannelse og senesing, som stemmer ifølge Ruusunen et al., (2012, s. 1795) som sier at en modningstemperatur på 10°C vil inhibere veksten til *C. tyrobutyricum*.

Podrzaj et al., (2020, s.1) sier at veksten til *C. tyrobutyricum* er sterkt avhengig av modningstemperatur og lagringstid. Dette kommer til uttrykk i resultatene av osteprøvene for antall anaerobe sporedannere og innhold av smørsyre etter 4 og 7 uker modning (utenom smørsyreinnhold i B2) for alle prøveuttak; A1 (0 DCU, modnet ved 10°C), A2 (0 DCU, modnet ved 20°C), B1 (10 DCU, modnet ved 10°C), B2 (10 DCU, modnet ved 20°C), C1 (20 DCU, modnet ved 10°C) og C2 (20 DCU, modnet ved 20°C)

Dette demonstreres ved bl.a. økt sporemengde i A1 fra 4 uker til 7 uker fra 4 sporer/100ml osteslurry til 45 sporer/100ml osteslurry og økt innhold av smørsyre hvor det var $0,08$ mmol/Kg etter 4 uker og $0,13$ mmol/Kg etter 7 uker. Økning av både sporer og smørsyre vises enda klarere i parallellene som har vært modnet på 20°C , hvor bl.a. sporetallet i A2 økte fra 15 sporer/100ml osteslurry etter 4 uker til >1100 sporer/100ml osteslurry etter 7 uker, og innhold av smørsyre økte fra $0,17$ mmol/Kg til $3,07$ mmol/Kg.

Prøve B2 viser $0,50$ mmol/kg smørsyre etter 7 uker, til tross for at den etter 7 uker inneholder >1100 sporer/100 mL osteslurry. Dette er et lavt innhold av smørsyre i forhold til antall sporer sammenlignet med prøve A2 og C2. Dette vises i A2 da sporeantallet økte fra 15 sporer/100mL

osteslurry og 0,17 mmol/kg smørsyre etter 4 uker til >1100 sporer/100mL osteslurry og 3,07 mmol/kg smørsyre etter 7 uker. Man ser også denne tendensen for C2 da antall sporer økte fra 45 til >1100 sporer/100mL osteslurry etter 4 og 7 ukers lagring, mens innholdet av smørsyre økte fra 0,29 mmol/kg til 3,35 mmol/kg i denne perioden. Dette avviket kan komme av at det er uregelmessigheter inne i osten, og kunne kanskje blitt unngått ved å sende flere prøver til analyse.

Etter 4 uker og 7 uker modning ble det observert senesing i ost A2, B2 og C2 (som kan sees i figur 4.2), både utenfra hvor osten viste klar oppblåsing og en rundere fasong enn ost A1, B1, og C1 som hadde mer definerte kanter på utsiden, men også inni osten hvor ost A2, B2 og C2 hadde en stor dannelse av hull og krater. I følge Morandi et al., (2020, s. 1-2) er en modningstemperatur $\leq 15^{\circ}\text{C}$ effektiv for å forhindre gassdannelse av vegetative celler. Som kan sees i figur 4.2, stemmer dette overens med observasjonene gjort under modning hvor det var mindre grad av gassdannelse ved modning på 10°C og det var stor grad av gassdannelse ved modning på 20°C . Lavere modningstemperatur viser seg å være effektiv til å hemme senesing.

Effekten av tilsatt hemmekultur kunne ikke bli observert under modning av de ulike ostene både for 10°C og 20°C . Som tidligere nevnt har ost A2, B2 og C2 etter 7 uker modning mer enn 1100 sporer/100ml osteslurry, og stor grad av senesing etter både 4 uker og 7 uker. Ost C2 som ble tilsatt 20 DCU har et likt sporetall som A2, som ikke ble tilsatt hemmekultur, samtidig som grad av senesing og innhold av smørsyre var litt høyere for ost C2. En mengde på 20DCU vil derfor ha liten effekt for forhindring av senesing, ved høyt sporetall, samt modning ved 20°C .

Det er derimot større sannsynlighet for at tilsatt hemmekultur har hatt en virkning mot senesing i ost B1 og C1 som er begge modnet ved 10°C , hvor både sporetall og innhold av smørsyre, har endret seg i mindre grad enn i forhold til B2 og C2, fra 4 uker modning til 7 uker modning. Hovedårsaken til den lavere utviklingen av sporer og smørsyre er mest sannsynlig modningstemperaturen som var 10°C , som blir sterkt støttet av teorien. Det kan tenkes at hemmekulturen tilsatt i ostene B1 og C1 ikke hadde like stor grad av konkurranse som B2 og C2 i form av sporetall. Siden B1 og C1 viser mindre grad av senesing, kan det ikke utelukkes at hemmekulturen har bidratt til hemming av smørsyregjæring i disse.

5.4 Forslag til videre arbeid

I dette forsøket ble det forsøkt å finne ut hvilken effekt ulike konsentrasjoner av hemmekultur vil ha for hemming av senesing i halvfast ost, samt effekten av lavere modningstemperatur mot dette. Usikkerheten av resultater og spesielt inokuleringsmetoden som ble brukt for å sikre innhold av *Clostridium tyrobutyricum* gjør det vanskelig å vurdere hvilken effekt hemmekulturen eventuelt har hatt i parallellene. Lagringstemperatur derimot hadde mer entydige resultater og har tilsynelatende hatt veldig god effekt på å hemme dannelsen av smørsyre i ost.

Forsøksdesignet og naturen av en bacheloroppgave gjorde at det var begrensning på tid og ressurser. Framstilling av ost er en ressurskrevende prosess, og modningstiden er lang. I videre arbeid for å best kunne vurdert effekt av hemmekultur i ulike doser ville det vært hensiktsmessig og eliminert mest mulig usikkerhetsparametere som kan forstyrre dette. Det vil involvere utføring av flere ystinger, for å øke antall prøveparalleller, og bedre få standardisert mengden sporer som melken blir inokulert med for å få mer standardiserte paralleller av ost tilsatt ulik dose hemmekultur.

Problematikken med senesing kan derimot ikke bare løses av denne hemmekulturen, det fins og andre hemmekulturer som brukes og det er dokumentert forskning på, som *Lactobacillus gasseri* (Matijasic et al., 2007). Andre tilsetningsstoffer kan også være aktuelle.

Til videre arbeid hadde det også vært hensiktsmessig å utvikle raskere og mer nøyaktige metoder for kvantifisering av sporer. Det hadde vært til stor nytte for lokalmatprodusenter å raskt kunne fått analysert innhold av anaerobe sporer i rå melk, og kvalitetssystemet til TINE, der bl.a. innhold av anaerobe sporedannere avgjør hvor mye bonden skal ha betalt for melken som leveres. Resultatene i oppgaven antyder at 3-rørs-metoden i noen tilfeller ikke er nøyaktig nok. Dette er med tanke på at svært små mengder sporer kan medføre senesing om produsenten ikke har utstyr og metoder for å fjerne sporene, noe som alle industriaktører gjør.

6. Konklusjon

Problemstillingen for dette forsøket var hvilken effekt ulik dose hemmekultur og ulik lagringstemperatur har mot smørtsyregjæring i økologisk ost.

Effekten modningstemperatur har mot smørtsyregjæring i ost var veldig stor, hvor en modningstemperatur på 10 °C hemmet veksten av anaerobe sporedannere og innhold av smørtsyre betraktelig, i forhold til en modningstemperatur ved 20 °C.

Den tilsatte hemmekulturen hadde ingen merkbar hemmende effekt mot smørtsyregjæring for ost som ble tilsatt 10 DCU og 20 DCU, i forhold til parallellene av ost som hadde 0 DCU.

Resultatene og observasjonene tilsier heller at lagringstemperatur er den parameteren som har utslagsgivende effekt mot smørtsyregjæring.

For å bedre kunne vurdere effekten av hemmekultur må mengde sporer i ystemelk bli standardisert for alle 3 ystingene, samt at det utføres flere forsøk som danner flere paralleller og sikrere resultat.

Det ble sett en klar sammenheng mellom antall anaerobe sporer og innhold av smørtsyre i ostene. Dette ble videre bekreftet av sensoriske observasjoner av utseende, lukt og smak gjennom ostens modningstid.

For å forhindre smørtsyregjæring i ost er det viktigste og beste tiltaket å forhindre kontaminasjon av anaerobe sporer i melk. Tilstrekkelig rengjøring av jur og spener er nok den mest effektive måten å sikre at melken ikke kontamineres, og at det ikke blir forekomst av anaerobe sporedannere i videre foredling. Valg av fôr er også noe man må ta i betraktning, samt at det går an å yste på sommertid, hvor det sannsynligvis vil være mindre forekomst av anaerobe sporer i melk.

7. Referanser

- Alexander, M. (1983). Most probable number method for microbial populations. *Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, 9, 815-820.
- Alvenäs, A. (2015). Cheeses with blowing defect.
- Anderson, S. & Collaborators. (2019). Determination of Fat, Moisture, and Protein in Meat and Meat Products by Using the FOSS FoodScan Near-Infrared Spectrophotometer with FOSS Artificial Neural Network Calibration Model and Associated Database: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 90(4), 1073-1083.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/90.4.1073>
- Ardö, Y., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Upadhyay, V. K. & Fox, P. F. (2017). Chapter 18 - Biochemistry of Cheese Ripening: Proteolysis. I P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter & D. W. Everett (Red.), *Cheese (Fourth Edition)* (s. 445-482). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00018-1>
- Bertola, N. C., Califano, A. N., Bevilacqua, A. E. & Zaritzky, N. E. (2000). Effects of ripening conditions on the texture of Gouda cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 35(2), 207-214. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00347.x>
- Bester, B. H. & Lombard, S. H. (1990). Influence of Lysozyme on Selected Bacteria Associated with Gouda Cheese. *J Food Prot*, 53(4), 306-311. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-53.4.306>
- Bylund, G. (2021). *Chapter 14 Cheese - Dairy Processing Handbook* (G. Bylund, Red.). Tetra Pak Processing Systems AB. Hentet fra <https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/chapter/cheese>. Lastet ned 17/05-2021
- Carlin, F. (2011). Origin of bacterial spores contaminating foods. *Food Microbiol*, 28(2), 177-182.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.008>
- D'Incecco, P. (2017). The late blowing defect in Grana Padano cheese: the mechanisms of milk healing through natural creaming and the effects of cheese making conditions in inducing Clostridium spore germination. https://doi.org/10.13130/p-d-incecco_phd2017-04-04

- D'Incecco, P., Pellegrino, L., Hogenboom, J. A., Cocconcelli, P. S. & Bassi, D. (2018). The late blowing defect of hard cheeses: Behaviour of cells and spores of *Clostridium tyrobutyricum* throughout the cheese manufacturing and ripening. *LWT*, 87, 134-141. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.083>
- Debio. (u.å). *Forskjeller mellom økologisk og konvensjonell produksjon*. Hentet fra <https://debio.no/forskjeller-mellom-okologisk-og-konvensjonell-produksjon>. Lastet ned 15/5-2021
- Doyle, C. J., Gleeson, D., Jordan, K., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. & Cotter, P. D. (2015). Anaerobic sporeformers and their significance with respect to milk and dairy products. *Int J Food Microbiol*, 197, 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.022>
- Düsterhöft, E.-M., Engels, W. & Huppertz, T. (2017). Chapter 34 - Gouda and Related Cheeses. I P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter & D. W. Everett (Red.), *Cheese (Fourth Edition)* (s. 865-888). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00034-X>
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed. 2017. utg.). Springer US : Imprint: Springer.
- Gesan-Guiziu, G. (2010). Removal of bacteria, spores and somatic cells from milk by centrifugation and microfiltration techniques. *Improving the Safety and Quality of Milk*, 1, 349-372. <https://doi.org/10.1533/9781845699420.4.349>
- Hagenes, K. (2010). *Produksjon av meieriprodukter* (2. utg., [bokmål/nynorsk]. utg.). Baneforl.
- Johansen, A., Stokstad, M., Randby, Å. T., Lindback, T. & Njaastad, K.-M. (2013). Sporedannende bakterier. utfordringer for mjølke kvalitet, fôr kvalitet og dyrehelse. *Bioforsk Rapport*.
- Klijn, N., Nieuwenhof, F., Hoolwerf, J. D., Van Der Waals, C. & Weerkamp, A. H. (1995). Identification of *Clostridium tyrobutyricum* as the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification. *Applied and environmental microbiology*, 61(8), 2919-2924.
- Kristina, B.-P. (2015). Bakterier i dyp søvn. *Naturen*, (2), 51-53.
- Lindås, A. (2011). utfordringer innen økologisk produksjon og kvalitet på grovfôr til mjølkeku sett fra en TINE-rådgiver. *Bioforsk FOKUS*, 6(2), 113.

- Matijasic, B., koman rajsp, M., Perko, B. & Rogelj, I. (2007). Inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in cheese by *Lactobacillus gasseri*. *International Dairy Journal*, 17, 157-166. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.01.011>
- McSweeney, P. & Fox, P. (2004). Metabolism of Residual Lactose and of Lactate and Citrate. *Cheese Chem Phys Microbiol*, 1. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80074-5](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80074-5)
- Morandi, S., Battelli, G., Silveti, T., Tringali, S., Nunziata, L., Villa, A., Acquistapace, A. & Brasca, M. (2020). Impact of salting and ripening temperatures on late blowing defect in Valtellina Casera PDO cheese. *Food Control*, 120, 107508. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107508>
- Nordbø, R., Ballhaus, M., Baudonnel, P. & Mietton, B. (2018). *Ysting*. Fagbokforl.
- Oliveira, R., Margalho, L., Nascimento, J., Costa, L. E. d., Portela, J. & Sant'Ana, A. (2016). Processed cheese contamination by spore-forming bacteria: A review of sources, routes, fate during processing and control. *Trends in Food Science & Technology*, 57. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.008>
- Panthi, R., Jordan, K., Kelly, A. & Sheehan, J. (2017). Selection and Treatment of Milk for Cheesemaking. I. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00002-8>
- Podrzaj, L., Burtscher, J., Küller, F. & Domig, K. J. (2020). Strain-Dependent Cheese Spoilage Potential of *Clostridium tyrobutyricum*. *Microorganisms*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111836>
- Rammer, C. (2006). Quality of grass silage infected with spores of *Clostridium tyrobutyricum*. *Grass and Forage Science*, 51, 88-95. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1996.tb02041.x>
- Russell, A. D. (1990). Bacterial spores and chemical sporicidal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(2), 99-119. <https://doi.org/10.1128/cmr.3.2.99>
- Ruusunen, M., Surakka, A., Korkeala, H. & Lindström, M. (2012). *Clostridium tyrobutyricum* Strains Show Wide Variation in Growth at Different NaCl, pH, and Temperature Conditions. *Journal of Food Protection*, 75(10), 1791-1795. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.Jfp-12-109>

- Sánchez, A., Sierra, D., Luengo, C., Corrales, J. C., de la Fe, C., Morales, C. T., Contreras, A. & Gonzalo, C. (2007). Evaluation of the MilkoScan FT 6000 Milk Analyzer for Determining the Freezing Point of Goat's Milk Under Different Analytical Conditions. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3153-3161. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0038>
- Skeie, S. B., Håland, M., Thorsen, I. M., Narvhus, J. & Porcellato, D. (2019). Bulk tank raw milk microbiota differs within and between farms: A moving goalpost challenging quality control. *Journal of Dairy Science*, 102(3), 1959-1971. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14083>
- Su, Y.-C. & Ingham, S. (2000). Influence of milk centrifugation, brining and ripening conditions in preventing gas formation by *Clostridium* spp. in Gouda cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 54, 147-154. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00199-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00199-3)
- te Giffel, M. C., Wagendorp, A., Herrewegh, A. & Driehuis, F. (2002). Bacterial spores in silage and raw milk. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1), 625-630. <https://doi.org/10.1023/A:1020578110353>
- Thierry, A., Collins, Y., Mukdsi, M. C., McSweeney, P., Wilkinson, M. & Spinnler, H.-E. (2017). *Lipolysis and Metabolism of Fatty Acids in Cheese*.
- TINE. (u.å-a). *Historien om Norvegia*. Hentet fra https://www.tine.no/merkevarer/norvegia/artikler/historien-om-norvegia?_key=f72e74fc-cef7-462a-aea1-a3aa7be2bdad. Lastet ned 19/05-21
- TINE. (u.å-b). *Norvegia Original*. Hentet fra https://www.tine.no/merkevarer/norvegia/produkter/norvegia?_key=57de4aed-9635-4ed3-ad7d-10cb8984c29f Lastet ned 19/05-21
- TU. (u.å). *Slik virker gasskromatograf*. Hentet fra <https://www.tu.no/artikler/slik-virker-gasskromatografen/218141>. Lastet ned 19/5-2021
- Vissers, M. M. M., Driehuis, F., Te Giffel, M. C., De Jong, P. & Lankveld, J. M. G. (2006). Improving Farm Management by Modeling the Contamination of Farm Tank Milk with Butyric Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 89(3), 850-858. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72148-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72148-8)

Vissers, M. M. M., Driehuis, F., Te Giffel, M. C., De Jong, P. & Lankveld, J. M. G. (2007).

Minimizing the Level of Butyric Acid Bacteria Spores in Farm Tank Milk. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3278-3285. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-798>

Ystejournal

Dag:	Dato:	Gruppe:	Produkt:
Ystedag 1, 2 og 3	16,17,18 /02 /21	Didrik og Ola	Gouda

PROSESS	A	B	C			
Pasteurisering (tid og temp.):	72°C 15 sek	72 °C 15 sek	72°C 15 sek			
Fullt kar kl:	11:30	9:45	9:30			
Liter ystemelk:	180 L	180 L	150 L			
Liter tankmelk:	150 L	150 L	120 L			
Liter skummetmelk:	30 L	30 L	30 L			
Fett % ystemelk:	3,68	3,68	3,54			
pH ystemelk:	6,61	6,68	6,60			
Mengde kalsiumklorid:	20 g + 5 mL inokulat (<i>Clostridium tyrobutyricum</i>)					
Formodningstemperatur	30 °C	30 °C	30 °C			
Formodningstid (kl: start-slutt):	11:57	10:15	10:06			
pH Syrekultur/brukssyre:	4,45	4,32	4,33			
Syrekultur/brukssyre:						
Hemmekultur:	0	10 DCU 1,68 g 10:12	20 DCU = 2,71 g 9:48			
pH etter formodning:	6,43	6,39	6,39			
Løpningstemperatur:	30 °C	31,2 °C	30,5 °C			
Mengde løpe tilsatt:	54 mL	54 mL	45 mL			
Løpningstid start kl.:	12:30	10:49	10:46			
Koagelfasthet/skjæring kl.:	13:08 / pH 6.33	11:45 / pH 6,34	11:42 / pH 6,35			
Størrelse ostekorn:	1 cm	1 cm	1 cm			
Forrøring kl.:	13:20	11:50	11:50			
1. myseavtapp kl:	13:35	12:00	12:00			
Mengde myse tappet av:	90 L	90 L	67 L ≈ 60 L			
Mellomrøring (start/stopp):	13:47 / 13:59	12:05 / 12:20	12:10 / 12:25			
Oppvarming (start/stopp):						
Mengde pasteurisert vann tilsatt:	24 L	24 L	19,5 L			
Temperatur i pasteurisert vann:	66 °C	62 °C	60 °C			
Temperatur i karet etter oppvarming:	39 °C	39 °C	39 °C			
Etterrøring (start/stopp):	13:47 – 14:18	12:23 – 12:53	12:24 – 12: 54			
Tilsatt salt (type og mengde):	50 kg Food grade NaCl, 900 g CaCl, + 30 mL HCl					
Forpressing, trykk og tid:	2,0 bar 20 min	2,0 bar 20 min	1,9 bar 20 min			
2. Myseavtapp kl:	14:30	13:05	13:40			
1. Etterpressing i osteformer (trykk/tid):	2,5 bar 20 min	2,5 bar 20 min	2,4 bar 20 min			
2. Etterpressing i osteformer (trykk/tid):	3,0 bar 20 min	3,0 bar 20 min	2,9 bar 20 min			
Lakesalting, temperatur:	8,8 °C	8,6 °C	8,6 °C			
Lakesalting, tid:	16:20	14:40	14:55			
Saltkonsentrasjon:	19 °Bé	20 °Bé	20 °Bé			
pH i saltlake:	5,75	5,67	5,54			
pH i ost etter 24 timer:	5,01	5,00	5,03			
Forlagring: 1 uke 10 °C	(24/02) pH 5,14	(25/02) pH 5,22	(26/02) pH 5,18			
Gjæringsbu: 3 uker 10 / 20 °C (17/03)	5,23	5,26	5,21	5,24	5,24	5,24
Modningslager: 3 uker 4 °C	5,23	5,34	5,21	5,32	5,20	5,20

Datablad til syrekultur/brukssyre



CHN-19

Product Information

Version: 5 PI EU EN 03-16-2018

Description

Mesophilic aromatic culture, type LD. The culture produces flavor and CO₂. This range provides cultures with fast acidification properties at a low inoculation rate.

Culture composition:

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

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

Storage and handling

< -18 °C / < 0 °F

Shelf life

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

Application

Usage

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

Suggested dosage

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

Recommended inoculation rate

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

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

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



CHN-19

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

Directions for Use

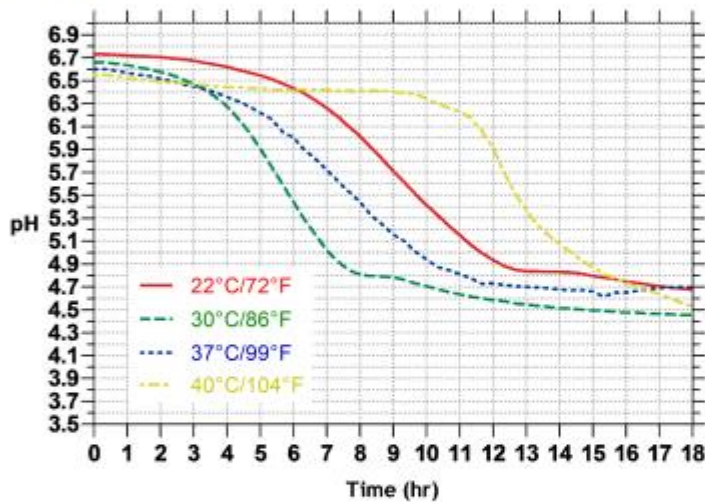
Remove cultures from the freezer just prior to use. **Do not thaw** Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly. The recommended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

Range

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

Technical Data

Acidification curve



Fermentation conditions:

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

Other Information

Sugars and organic acids:

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

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

Analytical Methods

References and analytical methods are available upon request.

www.chr-hansen.com

Page: 2 (4)

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



CHN-19

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

Dietary information

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

Legislation

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

The product is intended for use in food.

Food Safety

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

Labeling

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

Trademarks

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

Technical support

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



CHN-19

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

GMO Information

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

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

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

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

Allergen Information

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

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

Datablad til løpe



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

För användning i livsmedel.**Beskrivning**

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

Sammansætning

Enzym styrka, IMCU	180±10	IDF standard 157A:1997
Enzym styrka, modifierad Soxhlet	≥1:14500	IDF standard 157A:1997
Chymosinhold (%)	75±3	IDF standard 110B:1997
Bovint pepsinhold (%)	25±3	IDF standard 110B:1997

Tekniske data

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

Kvalitets kontroll

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

**Analyseras som stœkprov med regelbunden frekvens.

Transport

Transport av produkten kan ske utan kyltransport oavsett omgivningstemperaturen dâ den totala leveranstiden ej øverstiger 72 timmar. Nâr omgivningstemperaturen under någon del av transporten misstænks kunna øverstige 25°C og den totala transporttiden øverstiger 72 timmar fordras kyltransport.

Førvaring og hållbarhet

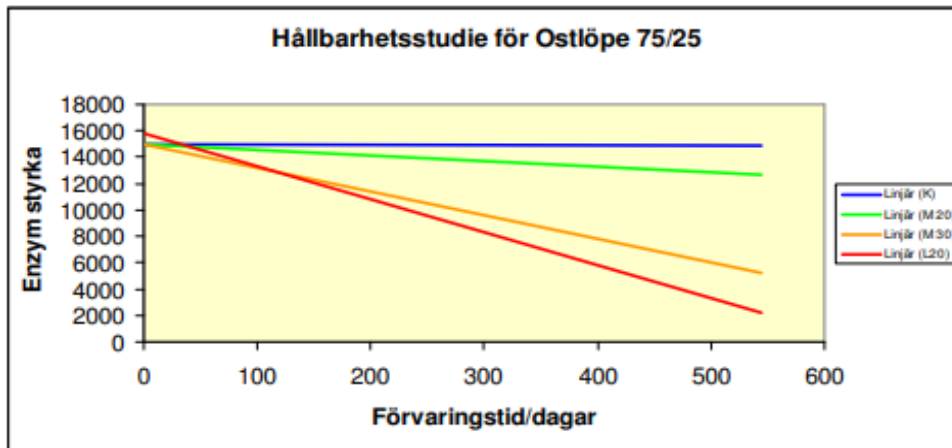
Øppnad førpackning minst till bæst førø datum (12 månader frå fyllningsdatum) ved førvaring +2° till +8°C, mœrkt. Førvaring i rumstemperatur i upp till 1 måned medfør endast en marginell minskning av styrkan og medfør ikke någon försæmring av den mikrobiologiske statusen.

Förpackning

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

Beställningsdata

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



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

Produktionsanläggning

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

Ursprung

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

Företagsuppgifter

Kemikalia AB, Lilla Västergatan 1, 274 32 Skurup.
Tel: +46 411 497 50, fax: +46 411 497 60, e-mail: info@kemikalia.se, www.kemikalia.se



Datablad til hemmekultur

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

Page 1 / 2

DANISCO

First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 206077-12.0EN

Material no. 13541063

HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU

HOLDBAC™ Protective Cultures

Description

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

Usage levels

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

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

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

Directions for use

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

Composition

Lactobacillus rhamnosus

Properties

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

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

Microbiological specifications

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

Examination of culture:

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

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

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

Storage

8 months from date of production at ≤ -18 °C

Packaging

PE, PET, Al laminated foil

Purity and legal status

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

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

Safety and handling

MSDS is available on request.

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



First you add knowledge ...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 206077-12.0EN

Material no. 13541063

HOLDBAC™ LC LYO 100 DCU

HOLDBAC™ Protective Cultures

Kosher status

Dairy Kosher

Halal status

certified by Islamic Food Council of Europe

GMO status

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

Allergens

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

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

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

Additional information

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

Analysesertifikat for innhold av smørsyre

Analysesertifikat

Side 1 av 2
 Rapportnr.: 052260
 03.05.21

Kunde:
 Per-Roger Bringsvor

Oppdragsinformasjon:
 Prosjekt:
 Bacheloroppgave NTNU - Smørsyreinnhold i ost

Prøve-ID	Beskrivelse	Prøvemerkning	Holdbarhetsdato	Prøveuttak mikrobiologi	Prøveuttak kjemi
2-21-000117-001		1 uke A			
2-21-000117-002		1 uke B			
2-21-000117-003		1 uke C			
2-21-000117-004		4 uker A 10°C			
2-21-000117-005		4 uker B 10°C			
2-21-000117-006		4 uker C 10°C			
2-21-000117-007		4 uker A 20°C			
2-21-000117-008		4 uker B 20°C			
2-21-000117-009		4 uker C 20°C			
2-21-000117-010		7 uker A 10°C			
2-21-000117-011		7 uker B 10°C			
2-21-000117-012		7 uker C 10°C			
2-21-000117-013		7 uker A 20°C			
2-21-000117-014		7 uker B 20°C			
2-21-000117-015		7 uker C 20°C			

Sample	Analysis Method Unit	Acetoin	Acetoin	Eddiksyre	Eddiksyre
		mmol/kg	%	mmol/kg	%
2-21-000117-001		<0,08	<0,01	10,1	0,61
2-21-000117-002		<0,08	<0,01	10,5	0,63
2-21-000117-003		0,09	<0,01	10,8	0,65
2-21-000117-004		<0,08	<0,01	11,8	0,71
2-21-000117-005		0,09	<0,01	12	0,72
2-21-000117-006		0,13	0,01	12,9	0,77
2-21-000117-007		<0,08	<0,01	10,8	0,65
2-21-000117-008		0,16	0,01	11,9	0,72
2-21-000117-009		0,22	0,02	12	0,72
2-21-000117-010		<0,08	<0,01	12	0,72
2-21-000117-011		0,13	0,01	11,8	0,71
2-21-000117-012		0,14	0,01	11,6	0,7
2-21-000117-013		<0,08	<0,01	11,3	0,68
2-21-000117-014		0,14	0,01	11,2	0,67
2-21-000117-015		0,11	<0,01	11,1	0,66

Sample	Analysis Method Unit	Propionsyre	Propionsyre	Smørsyre	Smørsyre
		mmol/kg	%	mmol/kg	%
2-21-000117-001		<0,08	<0,01	<0,08	<0,01

Analysesertifikat

Side 2 av 2
 Rapportnr.: 052260
 03.05.21

Sample	Analysis Method Unit	Propionsyre	Propionsyre	Smørsyre	Smørsyre
		mmol/kg	%	mmol/kg	%
2-21-000117-002		<0,08	<0,01	<0,08	<0,01
2-21-000117-003		<0,08	<0,01	<0,08	<0,01
2-21-000117-004		<0,08	<0,01	0,08	<0,01
2-21-000117-005		<0,08	<0,01	0,1	<0,01
2-21-000117-006		<0,08	<0,01	0,11	0,01
2-21-000117-007		<0,08	<0,01	0,17	0,02
2-21-000117-008		<0,08	<0,01	0,74	0,06
2-21-000117-009		<0,08	<0,01	0,29	0,03
2-21-000117-010		<0,08	<0,01	0,13	0,01
2-21-000117-011		<0,08	<0,01	0,12	0,01
2-21-000117-012		<0,08	<0,01	0,12	0,01
2-21-000117-013		0,3	0	3,07	0,27
2-21-000117-014		<0,08	<0,01	0,5	0,04
2-21-000117-015		0,3	0	3,35	0,3

Analyse	Beskrivelse	Metode
Acetoin	Acetoin	
Eddiksyre	Eddiksyre	
Propionsyre	Propionsyre	
Smørsyre	Smørsyre	

03.05.21



Asbjørg Rugland, Laboratorieingenør

Distribusjon

Per-Roger Bringsvor

Omregning fra mg/Kg til mmol/Kg for smørsyre

Molmasse til smørsyre (C₄H₈O₂): 88,11 mol/g (Pubchem, u.å)

$$n(\text{mmol}) = \frac{m(\text{mg})}{Mm\left(\frac{\text{mol}}{\text{g}}\right)}$$

0,15 g/kg smørsyre til mmol/kg:

$$n = \frac{150\text{mg}}{88,11\text{mol/g}} = 1,7\text{mmol}$$

Vedlegg 7 - Rådata fra analyse av FoodScan fra TINE Sømna

Tabell for FoodScan av ost etter 1 ukes modning: Viser resultat for FoodScan i prøve A, B og C

	A	B	C
Fett	29,1	28,1	27,3
Tørrstoff	58,3	56,1	56,0
Vann	41,7	43,9	44,0
Salt	0,8	1,5	1,6
Protein	25,9	23,8	24,3
Fett i tørrstoff	49,9	50,0	48,8
VFFO	58,8	61,0	60,5

Tabell for FoodScan av ost etter 4 ukers modning: Viser resultat for FoodScan av prøvene A1, B1, C1, A2, B2 og C2

	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Fett	28,7	29,1	28,2	29,5	28,8	27,8
Tørrstoff	57,5	57,8	57,3	59,8	58,0	57,0
Vann	42,5	42,2	42,7	40,2	42,0	43,0
Salt	0,9	0,8	1,2	1,5	1,6	1,4
Protein	25,6	25,2	25,3	26,2	25,0	24,9
Fett i tørrstoff	49,9	50,3	49,1	49,4	49,6	48,8
VFFO	59,6	59,5	59,4	57,1	59,0	59,6

Tabell for FoodScan av ost etter 7 ukers modning: Viser resultat for FoodScan av prøvene A1, B1, C1, A2, B2 og C2

	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Fett	28,2	29,3	28,7	28,8	29,3	28,2
Tørrstoff	57,4	58,4	58,6	58,2	57,7	57,0
Vann	42,7	41,6	41,4	41,9	42,3	43,0
Salt	1,4	1,2	1,4	1,2	1,0	1,0
Protein	24,9	25,5	26,0	25,8	25,2	24,8
Fett i tørrstoff	49,2	50,1	48,9	49,6	50,8	49,5
VFFO	59,4	58,8	58,0	58,8	59,8	59,9

Fett i tørrstoff regnes slik: $\frac{Fett}{100 - \text{Innhold av vann}} * 100 = \text{Fett i tørrstoff} \%$

Vann i fettfri ostemasse regnes slik: $\frac{Vann}{100 - Fett} * 100 = VFFO\%$ (Bylund, 2021)

Standardtabell for 9-rørs metode

VEDLEGG A:**Sammensetting av RCM-medium:**

Gjærekstrakt	3.0 g
"Lab-Lemco"-pulver	10.0 g
Pepton	10.0 g
Løselig stivelse	1.0 g
Dekstrose	5.0 g
Cystein hydroklorid	0.5 g
Natriumklorid	5.0 g
Natriumacetat	3.0 g
Agar	0.5 g
Destillert vann	1000 ml

pH-verdi: 6.8 +/- 0.2

VEDLEGG B:

Tabell med mest sannsynlig antall anaerobe sprodannere ut fra antall positive rør ved 9-rørs-prøven.

Antall positive rør			Mest sannsynlige antall. MPN
10 ml	1 ml	0.1 ml	pr. 100 ml melk
0	0	0	0
0	0	1	3
0	1	0	3
0	1	1	6
0	2	0	6
1	0	0	4
1	0	1	7
1	0	2	11
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
1	2	1	15
1	3	0	16
2	0	0	9
2	0	1	14
2	0	2	20
2	1	0	15
2	1	1	20
2	1	2	30
2	2	0	20
2	2	1	30
2	2	2	35
2	2	3	40
2	3	0	30
2	3	1	35
2	3	2	40
3	0	0	25
3	0	1	40
3	0	2	55
3	1	0	45
3	1	1	75
3	1	2	115
3	1	3	160
3	2	0	95
3	2	1	150
3	2	2	200
3	2	3	300
3	3	0	250
3	3	1	450
3	3	2	1100
3	3	3	>1100