

NORGES LANDBRUKSHØGSKOLE

MEIERIINSTITUTTET

---

OSTEN SOM MILJØ FOR MIKROORGANISMENE

VED

A. H. STRAND

---

ÅS-NLH, 1980

NORGES LANDBRUKSHØGSKOLE

MEIERIINSTITUTTET

---

OSTEN SOM MILJØ FOR MIKROORGANISMENE

VED

A. H. STRAND

---

ÅS-NLH, 1980

	Side
1. <u>INNLEDNING</u> .....	1
2. <u>TILGANG PÅ NÆRINGSSTOFFER</u> <u>OG VEKSTFAKTORER</u> .....	2
2.1. VANNET .....	3
2.2. SURHETSGRADEN .....	7
2.3. SALTINNHALDET .....	7
2.4. TILGANG PÅ OKSYGEN .....	8
2.5. TEMPERATUREN .....	9
2.6. ANDRE FAKTORER .....	11
3. <u>MIKROORGANISMER AV BETYDNING</u> <u>VED FREMSTILLING AV OST</u> .....	12
3.1. MIKROORGANISMER SOM BRUKES SYSTEMATISK VED FREMSTILLING AV OST .....	16
3.1.1. <u>MELKESYREBAKTERIER</u> .....	16
3.1.1.1. STREPTOKOKKER .....	18
3.1.1.2. LACTOBASILLER .....	23
3.1.2. <u>PROPIONSYREBAKTERIER</u> .....	29
3.1.3. <u>RØDKITTKULTURER</u> .....	32
3.1.4. <u>MUGGKULTURER</u> .....	34
3.1.5. <u>GJÆRKULTURER</u> .....	37
3.2. MIKROORGANISMER SOM SPONTANT ELLER MER SPORADISK FOREKOMMER I OST .....	39
3.2.1. <u>BAKTERIER</u> .....	39
3.2.1.1. STREPTOKOKKER .....	39
3.2.1.2. MIKROKOKKER .....	41
3.2.1.3. MIKROBAKTERIER .....	42
3.2.1.4. SPOREDANNENDE BAKTERIER .....	42
3.2.1.5. ENTEROBAKTERIER .....	45
3.2.1.6. PSYKROTROFE BAKTERIER .....	48
3.2.2. <u>MUGG OG GJÆR</u> .....	50

	Side
3.3. TOKSINDANNENDE ELLER PATOGENE MIKROORGANISMER	
I OST .....	51
3.3.1. <u>BAKTERIER</u> .....	51
3.3.1.1. STREPTOKOKKER .....	51
3.3.1.2. STAFYLOKOKKER .....	51
3.3.1.3. SPOREDANNENDE BAKTERIER.....	54
3.3.1.3. ENTEROBAKTERIER.....	56
3.3.1.5. BRUCELLA .....	59 b
3.3.1.6. CORYNEBAKTERIER.....	60
3.3.1.7. TUBERKULOSEBAKTERIER.....	61
3.3.1.8. CAMPYLOBACTER .....	62
3.3.2. <u>MUGG</u> .....	63
3.3.3. <u>VIRUS</u> .....	79

## 1. I N N L E D N I N G

Når kaseinet i ystemelka felles med syre eller med løpe, dannes det et gel. De utfelte kaseinpartiklene danner strukturelementet i dette gelet. Vannet, med oppløst laktose og salter, er dels mekaniske innesluttet i hulrom og kapillarer, dels kjemisk bundet til hydrofile komponenter i gelet. Kjemisk bundet vann kan ikke tjene som oppløsningsmiddel for sukker eller salter. Det kan ikke fryse eller fjernes ved trykk.

Fettkuler, kolloide salter, mikroorganismer og enzymer blir innesluttet i kaseinet når dette koagulerer og vil i alt vesentlig gå over i osten, mens størstedelen av mysa med oppløst sukker og salter vil fjernes under ystingen.

Mengdeforholdet mellom myse og ostestoff vil variere med ostetypen og ostens fettinnhold. Magre oster inneholder mere myse enn fete oster, bløte oster mere enn de faste.

*Vanninnhold* Vanninnholdet i Emmentaler etter pressing og forming vil f.eks. være ca 40%, i helfet Gouda ca 45%, i Nøkkelost K 20, ca 55% og i Camembert ca 57%.

*Mikro-  
org* Ostekornene og den ferske osten vil ha den samme gelstruktur som den koagulerte ystemelken. Mikroorganismene som ble innesluttet i gelet vil vokse ut og danne kolonier i osten. Størrelsen av koloniene kan bli opp til 40-50  $\mu$  i diameter. Avstanden mellom dem vil være av samme størrelsesorden. Veksten av koloniene begrenses av tilgangen på næringsstoffer.

Når en betrakter vekstvilkårene for mikroorganismene i ost og i andre næringsmidler, har en lett for å bare tenke på de midlere fysiske og kjemiske egenskapene i materialet. Dette ville være korrekt dersom materialet var fullstendig homogent, hvilket ikke er tilfelle. Det vil i det minste være små variasjoner i miljøbetingelsene i lokale områder i materialet. Selv i en beholder med vann vil vekstbetingelsene for mikroorganismene være forskjellige i beholderens indre, i grenseflatene mellom vann og luft, og i kontaktflaten vann - beholdervegg. Mikroorganismenes

ringe størrelse og mediets heterogene karakter gjør at livsbetingelsene i de lokale områder i materialet (mikromiljøet) vil være avgjørende for om mikroorganismene vil kunne vokse eller dø, eller om veksten vil bli rask eller langsom. Arten og omfanget av de biokjemiske omdannelsene, som eventuelt finnes sted, vil vise en tilsvarende variasjon. Mens de midlere miljøbetingelsene (makromiljøet) kan være utilfredsstillende for celledormingen, kan likevel forholdene i områder, i kontakt med <sup>mikro</sup> cella ligge tilrette for vekst og biokjemisk aktivitet. <sup>miljøet</sup>

Osten er et heterogent medium, spesielt i fersk tilstand. Det kan være store variasjoner i slike viktige miljøfaktorer som vanninnhold, surhetsgrad, redokspotensial og saltkonsentrasjon i de lokale områdene i en og samme ost. Dette vil gi seg utslag i mikrofloraens sammensetning og i arten og omfanget av de stoffomsetninger som skjer under ostens modning.

## 2. TILGANG PÅ NÆRINGSSTOFFER OG VEKSTFAKTORER

Ost og andre melkeprodukter inneholder tilstrekkelig med næringsstoffer til å underholde formeringen av de mikroorganismer som har betydning innen meieriindustrien. Dårlig cellevekst skyldes som regel andre forhold enn mangelfull tilgang på næringsstoffer.

I ost vil en alltid ha en blandet mikroflora, som vil variere i sin sammensetning med de kulturer som er anvendt under ystingen og den flora som er tilført med melken og med den tilfeldige <sup>flora</sup> infeksjon. Reaksjonsproduktene fra en gruppe mikroorganismer kan <sup>antagelig</sup> stimulere eller hemme utviklingen av en annen gruppe. Mange organismer, som er viktige i ystingen, forgjærer ikke laktose eller er relativt dårlige laktoseforgjærere. (P.shermanii, L.citrovorum, B.linens er eksempler på slike). Noen av disse <sup>Syntese</sup>

Ørorganismerne kan nytte melkesyre eller andre organiske syrer, som er dannet av andre organismer, til energi-kilde, eller de kan også nytte spaltingsprodukter fra protein og fett.

I de faste og halvfaste ostene omdannes melkesukkeret til melkesyre i løpet av noen få dager. Dette begrenser utvalget av mikroorganismer som kan utvikles i osten under modningen, til slike som kan nytte lactat eller proteinspaltingsprodukter som C-kilde og energikilde. Propionsyrebakterier, anaerobe sporedannere gjær og mugg er de viktigste grupper av slike organismer.

I surmelksoster og bløte oster vil det ta lengre tid før alt melkesukret er forbrukt. Men i disse ostene er gjerne surhetsgraden så høg at bare de mest syretolerante mikroorganismerne kan gjøre seg nytte av denne næringskomponenten.

## 2.1. VANNET

Cellenes stoffskifteprosesser kan bare foregå i nærvær av vann. Næringsstoffene er oppløst i vannet og transporteres til cellene med vannet. Avfallsproduktene fra stoffskifteprosessene fjernes også med vannet. Dessuten er vann en aktiv reaktant i mange av de kjemiske reaksjoner som finner sted i cellen.

Vann som er bundet til protein og andre hydrofile komponenter, eller som er kjemisk bundet som hydratvann, er ikke tilgjengelig for mikroorganismerne. Det er bare næringsmediets innhold av fritt vann, dvs. vannaktiviteten, som har betydning for cellenes funksjoner.

Vannaktivitet ( $A_w$ ) er definert med uttrykket:

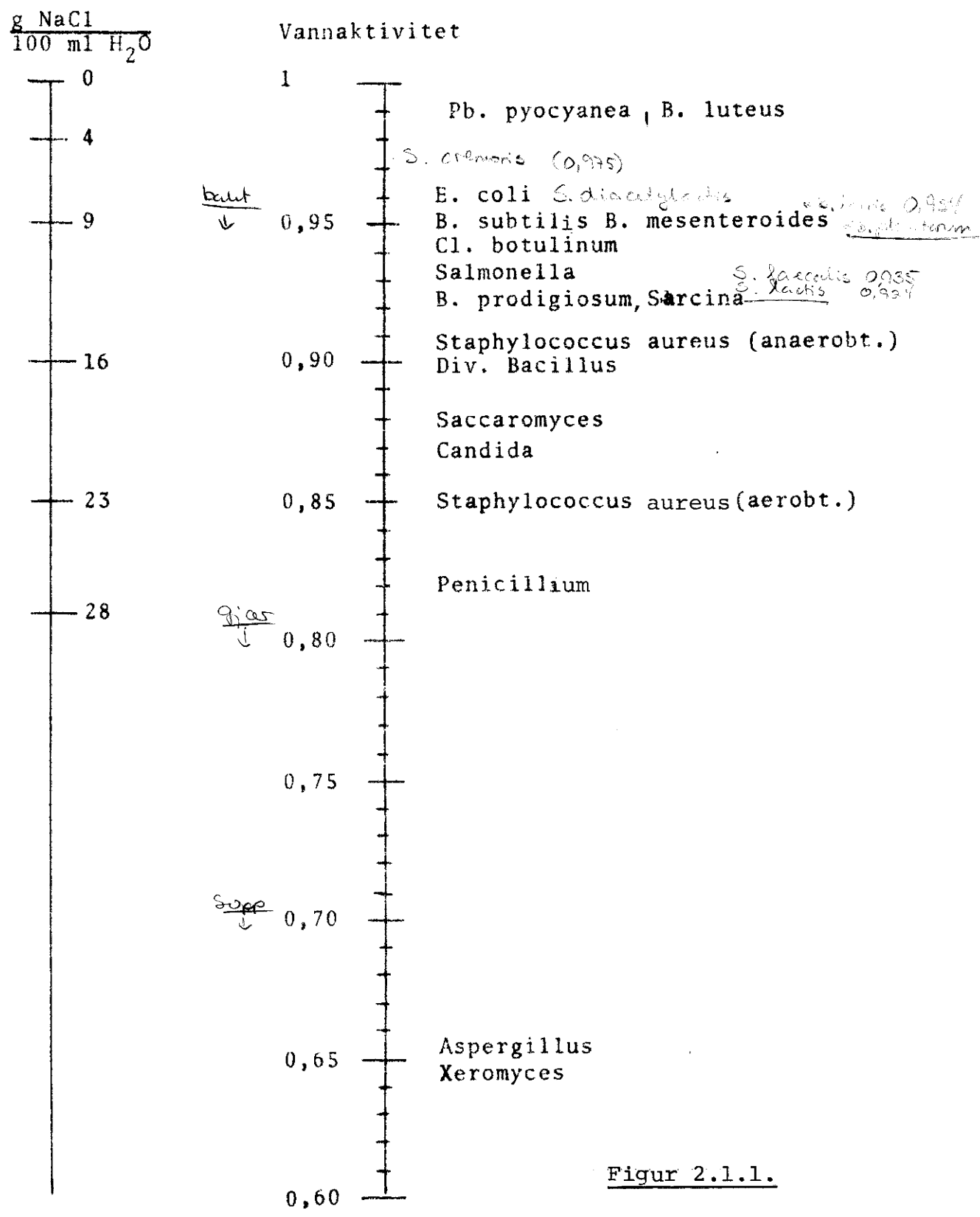
$$A_w = P/P_o$$

$P_o$  - vanndamptrykket av rent vann ved temperatur  $t$

$p$  - " " næringsmediet "

Kvotienten  $P/P_o$  er den relative fuktighet i atmosfæren i umiddelbar kontakt med og i likevekt med mediet. Det relative vann-damptrykk har matematisk sammenheng med systemets osmotiske trykk.

VANNAKTIVITET VED FORSKJELLIGE SALTKONSENTRASJONER I VANN OG DET MINIMALE KRAV TIL VANNAKTIVITET FOR ENDEL MIKROORGANISMER  
 Etter konservindustriens oppslagsbok s. 98, 3. utg. 1969.



Figur 2.1.1.



Min vakt: 0,95  
gjær: 0,80  
Mugg: 0,70

De fleste bakterier, gjær og mugg vil ikke vokse dersom vannaktiviteten er mindre enn henholdsvis 0,95, 0,80 og 0,70 for de tre nevnte gruppene. STREIT et al (1979) har undersøkt hvordan vannaktiviteten påvirker veksten av følgende bakterier:

STREIT: S.lactis	> 0.924	GUDKOV: S. cremoris	> 0.975
S.thermophilus		S. lactis	d.s.
Lb.lactis	> 0.954	S. diacetylactis	> 0.960
Lb.helveticus		Lb. plantarum	> 0.950
P.shermanii		S. faecalis	> 0.935

For samtlige mikroorganismer lå den laveste grenseverdi for vekst mellom  $A_w$  0,924 (S.lactis) og 0,954 (Lb.lactis) (med glyserol i mediet). Halofile bakterier og sakkarofil gjær og mugg vil også vokse ved lavere vannaktiviteter. (Figur 2.1.1.).

Vannaktiviteter i endel oster er vist i tabell 2.1.1.

Tilgangen på fritt vann er ingen minimumsfaktor for veksten av mikroorganismene i osten. Men de biologiske prosessene vil gå raskere og mere fullstendig når vannaktiviteten er høy enn når den er lav.

I bløte oster vil modningsprosessen gå raskere enn i faste oster, og osten blir mindre holdbar.

En bløt ost som Camembert er salgsmoden i løpet av ca 14 dager og holdbarheten er svært begrenset, mens de faste ostene, som Emmentaler krever en modningstid på ca ½ år. Rivosten har modningstid på 2 år og en holdbarhet på enda flere år. Vanninnholdet er derfor et viktig kjennetegn på ostens egenskaper og på dens holdbarhet.

Ost klassifiseres også etter vanninnhold i fettfri ost.

Bløte	oster har	68 - 73%	vann i	fettfri	ost
Halvbløte	" "	62 - 68%	" "	" "	" "
Halvfaste	" "	55 - 62%	" "	" "	" "
Faste	" "	47 - 55%	" "	" "	" "
Rivoster	" "	< 47%	" "	" "	" "

Tabell 2.1.1. Etter HESKESTAD (1977) Vanninnhold og vannaktivitet i endel norske oster.

Ostetype	% vann i ost	$A_w$
Norvegia F 45+, skorpefri	41,65	0,959
Norvegia H 30+, skorpefri	47,32	0,957
Jarlsberg F 45+ med skorpe	38,36	0,956
Tilsiter F 45+	41,09	0,948
Nøkkel F 45+, skorpefri	43,79	0,954
Nøkkel H 30+ med skorpe	40,00	0,933
St. Paulin F 45+	40,81	0,981
Kvit geitost H 30+	47,81	0,965
Normanna F 50+	45,93	0,925
Norzola	45,49	0,942
Gamalost	46,30	0,900
Gamalost (Synnøve Finden)	49,28	0,928
Pultost (Løten)	51,79	0,936
Pultost (Skarp-Ola)	68,79	0,967
Pultost (Synnøve Finden)	56,35	0,897
Camembert F 45+	52,68	0,988
Camembert F 45+ (Blaker)	49,97	0,995
<u>Smeltoster</u>		
Jarlsberg (smørbar)	59,08	0,991
Primula	59,59	0,987
Taffel (type Sveitser)	47,69	0,964
<u>Brunoster</u>		
Gudbrandsdalsost G 35+	19,38	0,899
Halvfeit fløtemysost H 20+	20,86	0,887
Prim	28,76	0,896

Oster > 40% vann

$A_w = 1 - 0,033 \cdot M$  (Molar salt i ostens vannfase)

HESKESTAD, R.. Hovedoppgave, N.L.H., 1977.

GEURTS et al (1974) fant at kasein og parakasein kunne binde ca 0,55 g H<sub>2</sub>O pr gram (Hydratisert kasein ). I melkeprodukter ligger en langt under denne grensen. I ost fant f.f. at det bare var bundet ca 0,10 - 0,15 g H<sub>2</sub>O pr gram protein og dette var knapt avhengig av salt- og surhetsgrad i osten. Kontaktflaten mellom kasein og vann i melk ble beregnet til 1200m<sup>2</sup>/g i ost til 800m<sup>2</sup>/g.

## 2.2. SURHETSGRADEN

Faste og halvfaste løpeoster har gjerne en pH på 5,0 - 5,4 og surmelksoster og mugg oster en pH på ca 4,7 i fersk tilstand. Hydrogen-joneaktiviteten er derfor tilstrekkelig høy til å stoppe eller hemme utviklingen av en syreømfintlig mikroflora. Melkesyren vil forbrukes eller nøytraliseres under modningen og pH vil stige. Dette vil legge forholdene bedre tilrette for aerobe og anaerobe forråtnelsesbakterier. Men med et normalt syrningsforløp og modningsforløp vil en slik flora ikke ha muligheter for å utvikles i osten. Surhetsgraden har stor praktisk betydning for en normal utvikling av propionsyrebakteriene i Jarlsbergost.

## 2.3. SALTINNHALDET

Saltinnholdet i osten varierer fra 0% i Gammelost, 1 - 1,5% i ost av Emmertalertypen til 4 - 5% i ost av Roqueforttypen. Saltinnholdet i ostens vann vil variere fra 3 - 5% i faste løpeoster til 8 - 9% i muggost av Roqueforttypen. Endel analyseverdier for salt i ost og ostens vann er vist i tabell 2.3.1. Dette er saltkonsentrasjoner som har sterk innflytelse på utviklingen av ostemodningsbakterier som melkesyrebakteriene og propionsyrebakteriene, men som har mindre betydning for salttolerante organismer som mugg og gjær.

Saltet synes å ha en spesifikk kjemisk effekt ved siden av sin effekt på oppløsningens osmotiske trykk. Enterokokkene kan vokse i nærvær av 6,5% salt, men de øvrige streptokokkene vokser ikke ved denne saltkonsentrasjonen. Forskjellen i salttoleranse nyttes som kriterium for klassifikkasjon av streptokokkene. DILANYAN (1971) undersøkte veksten av 36

---

GEURTS, et al, 1974. Wet. Milk Dairy Journal 28(1):46

DILANYAN, Z. 1971. Dairy Science Abstracts, Vol. 34(3):226, 1972

lokale stammer av melkesyrebakterier ved saltkonsentrasjoner på 2-3-4 og 5% NaCl i substratet.

12 stammer lactobasiller tålte bare 2%, mens 8 stammer av lactis/cremoris vokste normalt ved 4-5% NaCl. For sterkt saltete oster er det viktig å nytte salttoleranse stammer i kulturen. Saltingsgraden og saltingsmåten er et av de mest effektive ystningstekniske hjelpemidler en har til å kunne kontrollere utviklingen av ønskede og uønskede mikroorganismer i osten.

Tabell 2.3.1. Analysert saltinnhold i ost fra øvelsene.

	%NaCl	%NaCl i ostens vann
Gouda F45	1,51	3,53
Nøkkel	1,86	4,17
Cheddar	1,85	5,07
Normanna	3,19	7,51
Tilsiter	2,15	5,14
St.Paulin	1,66	3,75
Sveitser	1,04	2,86
Liten Sveitser	1,18	2,96
Jarlsberg	1,28	3,09

#### 2.4. TILGANGEN PÅ OKSYGEN <sup>NØ!</sup>

Den nødvendige energi for cellenes livsfunksjoner skaffes til veie ved biologiske redoksprosesser. Reaksjonsprodukter oppstår som følge av slike prosesser. Tilgangen på oksygen er en av de viktigste faktorer for cellenes formering og livskraft. Mikroorganismene inndeles som kjent i fire grupper etter deres behov for oksygen, nemlig: 1) aerobe, 2) mikroaerofile og 3) fakultativt- og 4) obligate anaerobe organismer.

I det indre av de faste løpeostene er miljøet på det nærmeste anaerobt. Dette begrenser i høg grad utvalget av mikroorganismer som har mulighet for å komme til utvikling i det indre av slike oster. Aerobe organismer har bare utviklingsbetingelser på ostens overflate, men kan også komme til utvikling inne i

oster med tilstrekkelig åpen struktur. Strukturen i ostemassen er en viktig faktor for hvilken mikroflora som skal kunne utvikle seg i ostens indre partier.

Mikroorganismens produksjon av fargestoffer påvirkes ofte av oksygentilgangen. Knapp tilgang på oksygen nedsetter fargeproduksjonen. I Normannaost med for tett struktur vil f.eks. muggmycelet gjerne tape den friske blågrønne fargen.

## 2.5. TEMPERATUREN

Hastigheten av en kjemisk reaksjon øker vanligvis med en faktor på ca 2 for en økning i temperaturen på  $10^{\circ}\text{C}$  ( $Q_{10}=2$ ). Alle stoffomsetninger som har tilknytning til cellenes livsfunksjoner går derfor med større hastighet når temperaturen heves. De prosesser som fører til denaturering og oppsplitting av celledstrukturer øker også i hastighet med temperaturen. Temperaturkoeffisienten for slike prosesser varierer mye og  $Q_{10}$ -verdier på 1000 og mer er observert ved denaturering av protein. Cellenes syntetiske aktivitet vil derfor tape i forhold til denatureringsprosessen. Det vil alltid være en optimal temperatur der den maksimale hastighet i syntesen av cellematerialet står i balanse med destruksjonsprosessene.

Den optimale temperatur for celleformering er forskjellig for de forskjellige mikroorganismer. Dette gir grunnlag for klassifisering i psykrofile, psykrotrofe, mesofile og termofile organismer (figur 2.5.1.).

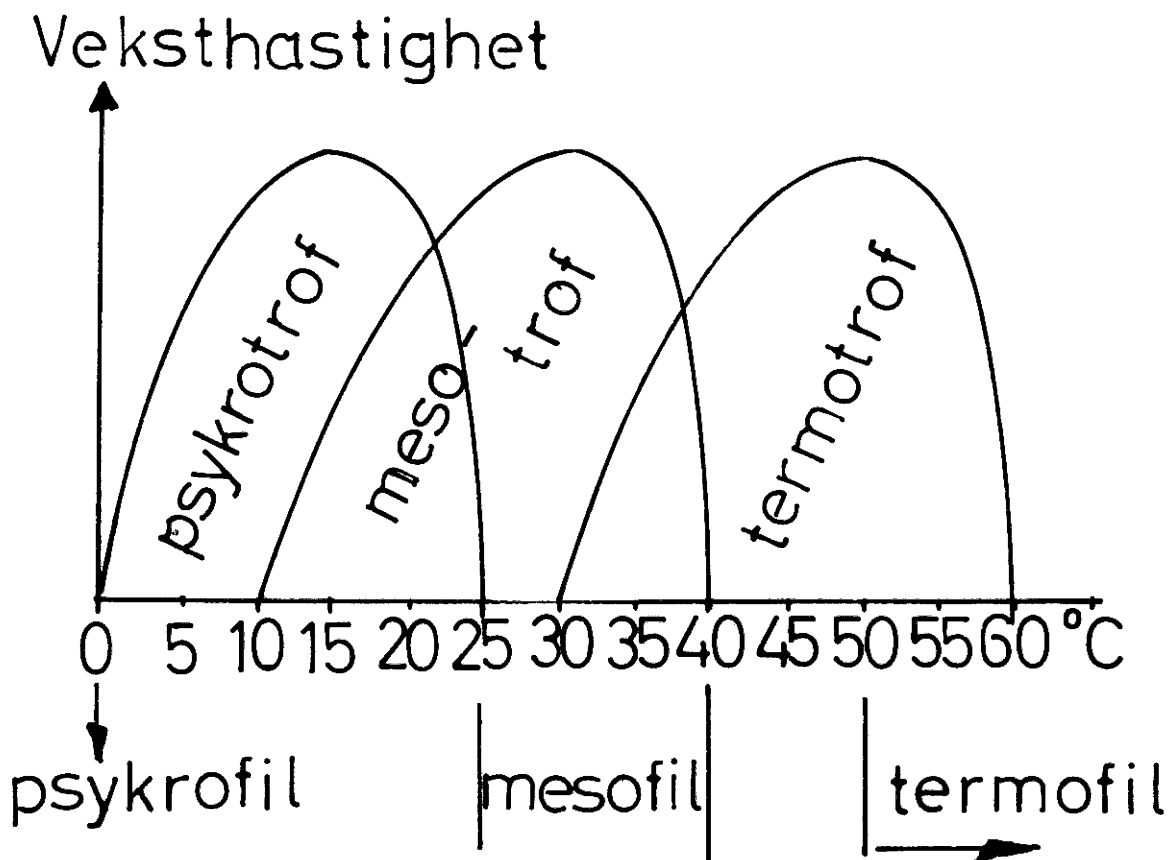
I et medium som ost, der en har en blandet mikroflora, vil ystemelkens og ostens temperaturhistorie ha en avgjørende innflytelse på mikrofloraens sammensetning og utviklingssekvensen i populasjonene med tiden. De stoffomsetningene som blir et resultat av denne utviklingen vil påvirkes tilsvarende.

Den opprinnelige mikroflora i ystemelken vil ha en vesentlig innflytelse på utviklingen. I pasteurisert melk vil dette i alt vesentlig være melkesyrebakterier som er tilført via syrekulturen. Dette er mesofile organismer med optimumstemperaturer ved  $30-40^{\circ}\text{C}$  som vil ha gode utviklingsbetingelser i ost som etter-

varmes til moderate temperaturer, men hvor bare de mest termofile innen gruppen vil være brukbare i ost som blir ettervarmet til høgre temperaturer, som f.eks. Emmentalerost.

Under modningen vil temperaturen for de fleste ostetyper ligge i området 5 - 20°C.

Forsøk på å korte inn modningstiden ved å nytte høyere temperaturer har i de fleste tilfelle vært mislykket. Mange organismer som er årsak til kvalitetsfeil, har optimaltemperaturer ved 37 - 40°C. Disse har lettere for å komme til utvikling dersom modningstemperaturen blir for høg. Modningsprosessen blir vanskeligere å kontrollere og frekvensen av kvalitetsfeil vil øke dersom en bruker for høg temperatur på gjæringsbu. Fettutskillelse kan oppstå og en får også større frekvens av bitter ost ifølge STADHOUDERS.



Figur 2.5.1. Klassifisering av mikroorganismer etter temperaturområdet for vekst.

Høgtmolekylære fettsyrer som oljesyre, i form av estere eller salter, stimulerer veksten til forskjellige mikroorganismer, særlig melkesyrestreptokokkene og lactobasillene, mens de lavtmolekylære fettsyrene hemmer formeringen av flere bakterier, også melkesyrebakteriene.

Det synes å være flere virkningsmekanismer for dette. Virkningen på overflatespenningen er én effekt.

Lengere fettsyrer og da spesielt umettete, har også vist seg å ha en stimulerende effekt på fosfor<sup>3</sup>yleringen under glykolysen.

I harsk melk og i harsk ost vil melkesyregjæringen bli hemmet, men normalt vil ikke de frie lavtmolekylære fettsyrer være noen viktig årsak til syrningssvikt i ystingen.

Bakteriociner produsert av mer tilfeldig og uspesifikk flora i melken, eller ved reinfeksjoner under ystingen vil også kunne påvirke modningsorganismene.

Faktorer som antibiotika, vaskemidler og desinfeksjonsmidler kan komme over i melken i større eller mindre konsentrasjoner og gi seg utslag i en sterkere eller svakere syrningssvikt under ostens fremstilling. Osten blir dermed et utmerket medium for organismer som fører til utpregete kvalitetsfeil.

Metalljoner som  $\text{Cu}^{++}$  blir ofte tilført osten med melk og vann som har vært i kontakt med metallisk kobber. I små konsentrasjoner har kobberjonene en utpreget hemmingseffekt mot mange organismer. Større konsentrasjoner virker innaktiverende som alle andre tunge metalljoner. KIERMEIER & KYREIN, 1971, fant et kopperinnhold i Emmentalerost på 1,9 mg/kg for ost ystet i stålkar og 37,4 mg/kg i ost ystet i kopperkar.

Ostens egenskaper som vekstmiljø for mikroorganismene er ikke fastlagt ved bare én av de faktorer som er nevnt, men er et resultat av flere faktorkombinasjoner.

En ost med pH 5,3 kan lett mislykkes om saltinnholdet er lavt eller modningstemperaturen er høy. Osten kan også bli vellykket om antallet av anaerobe sporer i ystemlken er lavt, men den kan ese dersom sporetallet blir høyere, selv om saltinnholdet og surhetsgraden i osten er normal.

### 3. MIKROORGANISMER AV BETYDNING VED FREMSTILLING AV OST

Når man skal gi en oversikt over (de forskjellige) mikroorganismer, er det vanlig å følge en eller annen systematisk inndeling, som f.eks. den alment kjente amerikanske Bergey's manual. Innen denne systematikken, gjøres det imidlertid til stadighet visse endringer av tildels vesentlig karakter, f.eks. med hensyn til slektenes familietilknytning. Videre skjer det en reduksjon av antall artsbetegnelser etter hvert som kunnskapsmassen om de enkelte mikroorganismer øker. Nye kriterier gir grunnlag for annen systematisering enn tidligere, osv. Dette kan være nokså forvirrende hvis man tidligere har lært seg en bestemt inndeling av mikroorganismene. I den oversikt som her skal gis, skal en imidlertid ikke befatte seg særlig mye med systematikken, da en forutsetter at dette er gjennomgått tidligere. Når det gjelder de enkelte slekter, synes det som slektsnavnene i de aller fleste tilfeller har fått sine endelige betegnelser.

De slektene som i denne sammenheng har størst betydning, er satt opp i tabell 3.1. etter den inndeling som er brukt i siste utgave av Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1974.

I anvendt mikrobiologi eller industriell mikrobiologi, om man vil, kan det være fristende å gruppere de forskjellige mikroorganismer etter deres teknologiske betydning.

For produktet ost vil det således være tre hovedkilder for den aktuelle mikroflora:

1. Mikroorganismer som holdes i renkulturer og systematisk anvendes som tilsetning til ystemelken eller osten ved ysting av forskjellige osteslag.
2. De mikroorganismer som har sin opprinnelse i melkens "normale" flora og derfor i en viss utstrekning vil gjenfinnes i ystemelken (avhengig av forbehandling).



3. Mer unormale mikroorganismer som kan være toksinproduserende, er sterkt produktødeleggende og/eller sykdomsfremkallende og derfor er høyst uønskete i produktet, men som kan forekomme på grunn av infeksjoner på forskjellige trinn i fremstillingsprosessen, f.eks. på grunn av dårlig hygiene.

Et klart skille mellom 2) og 3) kan i visse tilfeller være vanskelig.

Det finnes neppe noen som kan gi en fullstendig beskrivelse av hva som er en "normal" flora i leverandørmelken, og det kan jo diskuteres om det i det heletatt er forsvarlig å bruke et slikt uttrykk. Her vil det finnes store variasjoner som følge av helsetilstand, foring, hygieniske forhold i fjøs og melkestue, samt lagringsbetingelser og hente-frekvens.

Likevel vil det med visse forutsetninger, f.eks. friske dyr, en tilfredsstillende fjøshygiene og med et bestemt leveringssystem osv. måtte foreventes at et visst utvalg av mikroorganismer, delvis avhengig av stedelige forhold, vil kunne forekomme i melken i større og mindre grad.

Alt etter lagringsforholdene vil spørsmålet om dominans av visse grupper mikroorganismer også være aktuelt, slik som for "tankmelk". Det er alment akseptert at overgang fra spannløse leveranse til tankmelk har medført en sterk dominans av den såkalte psykrotrofe flora i tankmelken.

I eldre meieriteknologisk litteratur ble gjerne betegnelsen "ekte" melkesyrebakterier brukt på streptokokker og laktobasiller med relativt ren melkesyregjæring, mens mere heterofermentative laktoseforgjærende mikroorganismer i melken ble kalt "uekte" melkesyrebakterier.

Innen første gruppe har en da først og fremst streptokokkene i lactisgruppen og diverse laktobasiller. *(Lactobolus)*

De såkalte "uekte" melkesyrebakteriene vil først og fremst bestå av de koliforme bakterier, mikrokokker, peptokokker og mikrobakterier.

Forråtnelsesbakterier ble brukt som en fellesbetegnelse på mikroorganismer med sterke proteolytiske egenskaper, da først og fremst om gramnegative jord- og vannbakterier, så som *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Proteus* og *Flavobacterium*, men også om de protolytiske artene av *Bacillus* og *Clostridium*. Betegnelsen "ekte smørtsyrebakterier" ble brukt om *Clostridier* som ikke hydrolyserte kaseinet, men dannet smørtsyre ved forgjæring av laktose eller laktat.

Til melkens normale flora må en også inkludere en rekke gjær- og muggarter, kanskje først og fremst *Geotricum candidum* eller *Oidium lactis*, som er lett å iakta på rømmelaget ved hensettelse av upasteurisert melk ved romtemperatur.

I tillegg til bakterier, mugg og gjær vil også melken måtte inneholde andre typer av mikroorganismer, så som virus, da først og fremst i form av den "normale" mikrofloras bakteriofager.

I hvilken grad den aktuelle flora i leverandørmelken vil kunne ha betydning for ystemelkens mikroflora, vil i sterk grad være bestemt av de enkelte mikroorganismers varmetoleranse, da det i Norge ikke fremstilles ost av upasteurisert melk. Om en mikroorganisme er pasteuriseringsoverlevende eller ikke blir derfor en egenskap som det er viktig å merke seg. Ved svikt i pasteuriseringen kan det likevel forekomme mikroorganismer i ystemelken som ikke skal være tilstede i pasteurisert melk.

Tabell 3.1.Klasse I. Bakterier (Bergeys del 2-17).Del 7. Gram-negative aerobe staver og kokkerFam.I. Pseudomonadaceae

Slekt I. Pseudomonas

Slekter med usikker familietilknytning:

Alcaligenes og Brucella.

Del 8. Gram-negative, facultativt aerobe staverFam.I. Enterobacteriaceae

Slekt I. Escherichia

" IV. Salmonella

" V. Shigella

" VI. Klebsiella

" VII. Enterobacter

" IX. Serratia

" X. Proteus

" XI. Yersinia.

Slekter med usikker familietilknytning:

Chromobacterium og Flavobacterium.

Del 14. Gram-positive kokkerFam.I. Micrococcaceae

Slekt I. Micrococcus

" II. Staphylococcus

Fam.II. StreptococcaceaeSlekt I. Streptococcus *Lactococcus*

" II. Leuconostoc

" III. Pediococcus

Fam.III. Peptococcaceae

Slekt IV. Sarcina

Del 15. Endo-sporedannende kokker og staverFam. I. Bacillaceae

Slekt I. Bacillus

" III. Clostridium

Del 16. Gram-positive, asporogene staverFam. I. Lactobacillaceae

Slekt I. Lactobacillus

Del 17. Actinomycetes og beslektete organismer.Fam. I. Propionibacteriaceae

Slekt I. Propionibacterium

Dessuten Coryneforme grupper av bakterier

Corynebacterium, Arthrobacter, Brevibacterium,

Microbacterium.

(Videre har man her hele ordenen Actinomycetales (med Mycobacterium

### 3.1. MIKROORGANISMER SOM BRUKES SYSTEMATISK VED OSTEFREMSTILLING

#### 3.1.1. MELKESYREBAKTERIER

Ostemodningens første fase er melkesyregjæringen. Under ystingen ligger temperaturen innenfor de grenser hvor melkesyrebakterier utvikler seg med stor hastighet. Det er disse som innleder melkesyregjæringen i alle osteslag.

De viktigste artene her hører til de såkalte "ekte" melkesyrebakterier som nå systematisk hører inn under gruppene asporogene staver og kokker, nærmere bestemt lactobaciller og streptokokker.

Melkesyren har flere viktige funksjoner:

1. *koagulat* Understøtter løpeenzymets virkning og fremmer koaglets kontraksjon og myseavgivelse.
2. *dominerer* Hemmer utviklingen av en uønsket mikroflora under ystingen og ostens modning.
3. *viskositet* Har sterk innflytelse på ostens konsistens og tekstur.
4. *enzym* Har stor betydning for de enzymatiske prosessene som finner sted under ostens modning.

Foruten å omdanne melkesukkeret til melkesyre, tilfører melkesyrebakteriene osten viktige enzymer som har direkte betydning for modningsprosessene. Spesielt gjelder dette proteolytiske enzymer (proteinaser og peptidaser) i mindre grad lipolytiske enzym, som frigjøres når cellene dør og autolyserer (endo-enzymer).

Melkesyremengden og tidspunktet for melkesyregjæringen under ystingen vil ha stor innflytelse på egenskapene til osten. Disse faktorene kan kontrolleres ved arten og mengden av de anvendte mikroorganismer og ved hjelp av ystingsteknikken.

*Valg:* Valg av syrekulturer vil hovedsakelig være bestemt av den *temp. v. etas* temperaturen som nyttes ved ettervarmingen av ostemassen. For de fleste osteslag nytter en den vanlige blandingskulturen, når osten ikke ettervarmes (30 - 23°C) eller når den ettervarmes til 38 - 40°C.

Den aller vanligste kulturen som nyttes ved ostelaging, er den samme kombinerte meieribrukssyrevekkeren som også nyttes i smørproduksjonen og til vanlig kulturmelk. Denne kulturen er såvidt detaljert behandlet tidligere at man her bare minner om at: Mikrofloraen i denne kulturen vanligvis består av en blanding av forskjellige stammer av Sc.lactis, Sc.cremoris, Sc.diacetylactis og Leuconostoc cremoris. DL-kul

Når det gjelder aromabakteriene kan kulturen inneholde Sc. diacetylactis (D-syrer) eller bare Leuconostoc cremoris (L-syre) eller en blanding av disse to artene (DL-syre).

Kravene til denne kulturen er likevel noe annet for ystingsformål enn for smør og kulturmelk. Selve aromadannelsen spiller her mindre rolle. På den andre siden må ikke de endoenzymene som de respektive stammene besitter gi bitre smaks-komponenter ved nedbrytingen av kaseinet. En høvelig CO<sub>2</sub>-produksjon er også viktig.

For enkelte osteslag, f.eks. Cheddar nytter en fortrinnsvis kulturer som er fri for gassprodusenter. Forskjellige andre melkesyrebakterier som Sc.thermophilus, Lb.helveticus, Lb. bulgaricus, Lb.lactis blir brukt ved ysting av forskjellige oster av Emmentaler-typen.

For oster som ettervarmes til 40 - 53°C vil det være nødvendig å nytte termofile melkesyrebakterier. Sc.thermophilus kombinert med laktobaciller som L.helveticus, L.bulgaricus eller L. lactis er da vanlig nyttet.

Ettervarmes osten til middels høye temperaturer som 40 - 45°C vil en kunne nytte en blanding av Sc.thermophilus og Sc.lactis/Sc.cremoris kulturer. Den første produserer melkesyre i den tiden ostemassen holder den høye temperaturen og Sc.lactis blir igjen aktiv når temperaturen synker til ca 38°C.

Melkesyrebakteriene når normalt det maksimale antall på det tidspunkt da alt melkesukkeret er omdannet til melkesyre og osten har nådd den maksimale surhet. For de faste løpeostene vil dette skje i løpet av 24 - 48 timer. I de bløte ostene vil melkesukkerinnholdet være så høyt at den maksimale surhet nåes før alt sukkeret er omsatt til melkesyre. Melkesyregjæringen stoppes på grunn av den høye melkesyrekonsentrasjon.

Nesten alle melkesyrebakterier har evne til å hydrolysere kasein. Streptokokkenes spaltningsevne er svak og variabel. En unntakelse er Sc.liquefaciens som er en meget kraftig proteinsplater. Den gir osten en bitter smak. Laktobasillene er som regel sterkere proteinsplaltere enn streptokokkene. Flere danner også mere melkesyre.

### 3.1.1.1. STREPTOKOKKER *LACTOCOCCER.*

Differensieringen av streptokokker skjer vanligvis på grunnlag av de kriterier som er satt opp i tabell 3.1.1.1.1.

Innen slekten streptococcus er det lactisgruppens organismer som er de hyppigste anvendte syrningsorganismer.

Lactis-gruppens alminnelige biokjemiske egenskaper er vist i tabell 3.1.1.1.1.

En god melkekultur danner 0,8 - 1,0% melkesyre, (L(+)), i løpet av 18 timer når den inkuberes ved 20 - 21°C. pH vil da være 4,2 - 4,5.

*opt* Optimumstemperaturen ligger ved ca 30°C. Veksten er hemmet ved 40°C og opphører ved 45°C.

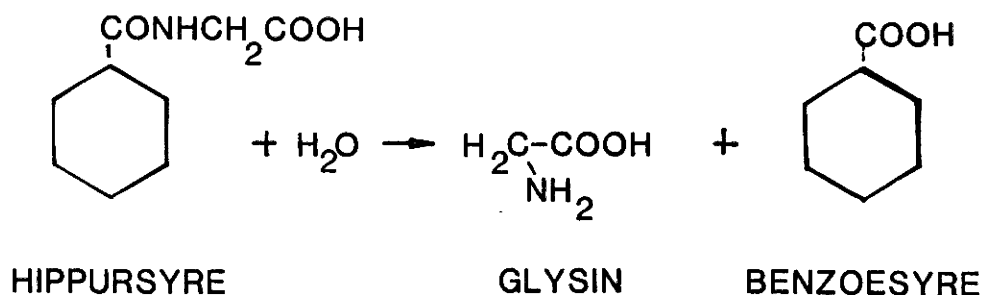
Veksten er hemmet ved 4% NaCl og den vokser ikke ved 6,5% NaCl. De er gram-positive, katalase negative, homofermentative organismer. I lakmusmelk reduseres fargestoffet før melken koagulerer.

De overlever ikke 63°C i 30 min og forekommer derfor ikke i pasteurisert melk uten ved reinfeksjon.

Det er store variasjoner i biokjemiske karakteregenskaper mellom forskjellige stammer og varieteter av disse organismene. Noen er raske syredannere, andre er langsomme. Noen produserer mindre syre enn andre. Deres proteolytiske aktivitet er svak og variabel. Noen danner spaltningsprodukter som gir osten bitter smak, andre mere eller mindre utpregete smaksfeil. Sc. var. diacetylactis. forgjærer sitronsyren svært raskt. Den får derved betydning for hullsetningen ved den CO<sub>2</sub>-gass som dannes ved gjæringen. Kulturer som domineres av Sc. diacetylactis kan lett gi teksturfeil i ost p.g.a. et for tidlig stort gasstrykk.



I skummetmelk-kulturer av *Sc.lactis*, hydrolyserer proteinet og konsentrasjonen av aminosyre og peptider øker. Økning er sterk-est i den logaritmiske vekstfase. Nitrogen-spaltningsproduktene dannes øyensynlig raskere enn de forbrukes av organismen. *Sc.lactis* har en varierende evne til å spalte hippursyre til benzoesyre og aminoeddiksyre (glycin) figur 3.1.1.1.1.



Figur 3.1.1.1.1.

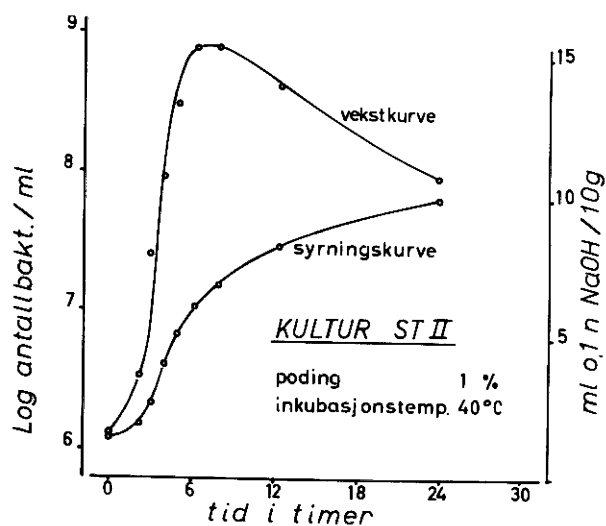
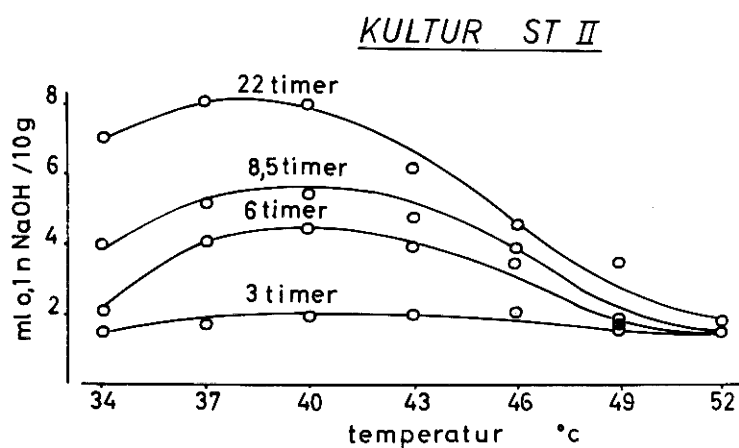
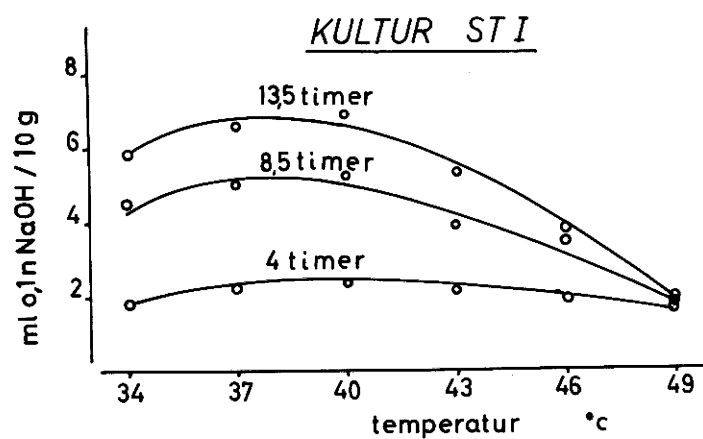
Utenom lactisgruppens streptokokker er det *Sc.thermophilus* fra viridansgruppen og *Sc.faecium* (durans) fra enterkokk-gruppen som nyttes i form av renkultur.

*Sc.thermophilus* er den viktigste organisme her. Den er vanlig nyttet som syrningsorganisme i ost som ettervarmes til høye temperaturer og den nyttes også til fremstilling av forskjellige surmelksdrikker, som Yoghurt.

*Sc.thermophilus* er ikke egentlig en termofil organisme da optimumstemperaturen ligger omkring 40°C. Den vokser ikke ved 53°C. *Sc.thermophilus* hemmes av så små mengder antibiotica som 0,01 enheter penicillin eller 5 mikrogram streptomycin pr ml melk. De forskjellige stammer viser store variasjoner i syrningsaktivitet. Normalt er *Sc.thermophilus* en rask syredanner, men den danner ikke store mengder melkesyre. (Figur 3.1.1.1.2.).

Modersyren av *Sc.thermophilus* inkuberes vanlig ved 37°C i steril melk. Syrningen avbrytes når melken koagulerer og kulturen kjøles til 15°C. Sterk kjøling virker uheldig på kulturens aktivitet. Kulturer som podes med hinnegjør (*Mycoderma*) beholder sin aktivitet over et lengere tidsrom enn kulturer som dyrkes uten hinnegjør. For slike kulturer vil podning 1 til 2 ganger pr. uke være tilfredsstillende. En *Sc.thermophilus*-kultur med maksimal aktivitet vil ha en titer på 30 - 32°SH når den holdes på skummetmelk og 13 - 15°SH i myse.





*S. thermophilus*

Figur 3.1.1.1.2. Temperaturens effekt på syredannelsen for to forskjellige stammer av S.thermophilus, samt syrnings- og vekstkurve ved optimaltemperatur for kultur II.

Organismene i viridans-gruppen vokser ikke ved 10°C eller i nærvær av 4% NaCl eller 0,1% metylenblått. De spalter ikke hippursyre eller gelatin og danner ikke NH<sub>3</sub> fra arginin.

Streptococcus faecium, tidligere kalt durans, hører som sagt til enterokokkene, men skiller seg fra de øvrige artene i denne gruppen ved at den vokser ved en noe høyere temperatur (50°C) og ved at den normalt ikke forgjærer citrat. Evnen til dekarboksylering av tyrosin varierer.

På grunn av sin gode temperatur- og salttoleranse blir stammer av S. faecium av og til nyttet som renkultur med ysting av Cheddarost. <sup>??</sup>

Leuconostoc cremoris tilføres osten gjennom syrekulturen. De er heterofermentative, gram positive, katalase negative streptokokker.

Leuconostoc vokser dårlig i melk og produserer sjelden så mye melkesyre at melken koagulerer. I blandingskultur med Sc. lactis og Sc. cremoris vokser den godt. I osten vil den forgjære sitronsyren til diacetyl, acetoin 2,3-butylenglykol, eddiksyre og CO<sub>2</sub>.

Leuconostoc cremoris vil gjennom sin produksjon av CO<sub>2</sub> ha betydning for hullsetningen i storhullet ost.

Da Leuconostoc er mer syretolerant enn Sc. lactis og Sc. cremoris vil den ved konstant oversyrning kunne anrikes i blandingskulturen. Dette kan gi seg utslag i en nedsatt syrningsaktivitet og en øket produksjon av CO<sub>2</sub> i fersk ost.

Leuconostoc cremoris har en svak og varierende evne til å hydrolysere kasein. Intracellulære proteinaser og -peptidaser som frigjøres ved cellenes autolyse, vil ha innflytelse på proteinomsetningen under ostens modning. En for sterk utvikling av citratforgjærende mikroorganismer i osten vil være uheldig både for ostens smak såvel som for dens tekstur. I tette oster som Cheddar er Leuconostoc uønsket. I de fleste tilfeller nyttes rene lactis-cremoris-kulturer ved fremstillingen av slike oster.

*opt* Leuconostoc vokser best ved 25 - 30°C. De vokser langsommere ved 8°C og slett ikke ved 45°C.

De forskjellige stammer viser store ulikheter når det gjelder omfanget og arten av de biokjemiske omdannelser som de er årsak til under modningen.

### 3.1.1.2. LACTOBASILLER

Lactobasillene er gram positive, katalase negative, ikke spore-dannede stavformede melkesyre bakterier. De er ubevegelige, reduserer ikke nitrat og danner ikke fargestoffer, med unntak av Lb. plantarum var. rudensis.

Lactobasillene har komplekse krav til næringsemner og vekst-faktorer. (Tabell 3.1.1.2.1.).

Melkesyrestreptokokkene vil vanligvis skaffe til veie vekst-faktorer som stimulerer veksten av lactobasillene. Disse vil få en sterk vekst under siste del av ystingen og i osten under formingen og pressingen.

Syntetiske næringsmidler må inneholde aminosyrer, peptider, vitaminer og fettsyrer dersom de skal kunne vokse. De er mikro-aerofile og vokser best i en atmosfære av CO<sub>2</sub> eller under anerober forhold. Energien for vekst skaffer de tilveie gjennom en anaerob omsetning av karbohydrater.

Lactobasillene klassifiseres i to grupper etter de reaksjons-produkter som dannes ved gjæringen. De homofermentative (tabell 3.1.1.2.2) danner nesten bare ren melkesyre ved for-gjæring av karbohydrater. De heterofermentative (Betabakteriene) (tabell 3.1.1.2.3) danner en blanding av reaksjonsprodukter som hovedsakelig består av melkesyre, eddiksyre, alkohol og CO<sub>2</sub>.

Lactobasillene kan videre klassifiseres i to grupper etter deres evne til å vokse ved 15°C (Orla-Jensen). Alle "Strepto-bakteriene" vokser ved denne temperaturen, mens Thermobakteriene ikke vokser her.

Lactobasillene har generelt sterkere proteolytisk evne enn streptokokkene i ost. Ved gammabestråling av Lb. bulgaricus har SINGH & RANGANATHAN, 1979, fremstilt mutanter med betydelig forøket proteolytisk aktivitet. PIATKIEWICZ & OBERMANN, 1978, behandlet en stamme av Lb. casei med UV-bestråling og med Nitroso guanidin og fant mutanter med forøket proteolytisk aktivitet.

---

SINGH, J, RANGANATHAN, B. (1979): Milchwissenschaft 34(5):288-289.

PIATKIEWICZ & OBERMANN, 1978. Acta Alimentaria Polonica 4 (2)217

Tabell 3.1.1.2.1. LACTOBASILLENES BEHOV FOR VEKSTFAKTOER.  
 Data fra Porosa et al (1959) og Franklin & Sharpe (1964).

	Folin- syre	Nikotin- syre eller niacin	Pyrid- oksal	Pibo- flavin	Thia- min	Thy- midin	Vitamin B 12	Phanto- tensyre
Lb. helveticus	-	+	+	+	-	-	-	
Lb. jughurti	-	+	+	+	-	-	-	
Lb. bulgaricus	-	+	-	+	-	-	-	
Lb. lactis	-	+	-	+	-	-	±	
Lb. acidophilus	+	+	-	+	-	-	±	
Lb. leichmannii	+	+	-	+	-	-	+	
Lb. delbrueckii	-	+	-	+	-	+	-	
Lb. salivarius	+	+	-	+	-	-	-	
Homofementatlye								
Lb. casei	+	+	+	+	-	-	-	+
Lb. casei var. rahnncus	+	+	+	+	-	-	-	+
Lb. casei var. alactosus	+	+	+	+	-	-	-	+
Lb. plantarum	-	+	-	±	-	-	-	+
Heteroferment.								
Lb. fermenti	-	+	-	+	+	-	-	+
Lb. buchneri	+	+	-	+	+	-	-	+
Lb. brevis	+	+	±	±	+	-	-	+
Lb. cellobiosus	-	+	-	-	+	-	-	
Lb. viridescens		+	-	+	+	-	-	+

Tabell 3.1.1.2.2.

BIOKJEMISKE EGENSKAPER FOR DE HOMOFERMENTATIVE LACTOBASILLENE  
Data fra Rogosa (1955), Rogosa & Sharpe (1959) og Kundrat (1958).

Differensiering: Orla-Jensen	Art	Vekst						Syre i melk		NH <sub>3</sub> fra arginin	Gass fra glukose	For-gjæring av lactose	Sero-logisk gruppe
		°C		NaCl		Etter		% Konfig.					
		15	45	48	2%	4%	6%		8%				
Thermobacterium	Lb. helveticus	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	A	
	Lb. jughurti	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	A	
	Lb. bulgaricus	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	E	
	Lb. lactis	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	E	
	Lb. acidophilus	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+		
	Lb. leichmannii	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+		
	Lb. delbrueckii	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+		
	Lb. salivarius	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+		
Streptobacterium	Lb. casei	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	BC	
	Lb. plantarium	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	D	
	Lb. casei var. rahnosus	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	C	
	Lb. casei var. alactosus	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	BC	

+ = variabel. De fleste +

± = "- De fleste -

Tabell 3.1.1.2.2.

BICKJEMISKE EGENSKAPER FOR DE HETEROFERMENTATIVE LACTOBASILLENE

Data fra Rogosa (1953), Rogosa & Sharpe (1959), Deibel & Niven (1959), Langston & Bouma (1960), Franklin & Sharpe (1964).

Differensiering: Orla-Jensen	Art	vekst						Svre i melk		NH <sub>3</sub> fra arginin	Gass fra glukose	Forfjæring av lactose	Serologisk gruppe
		° C		NaCl		Etter		%	Konfig.				
		15	45	2%	6%	8%	30 min/60°C						
Beta-bacterium	Lb. fermenti	-	+	-	+	-	+	-	0-0,3	DL	+	E	
	Lb. buchneri	+	+	-	+	-	-	-	0-0,3	DL	+	E	
	Lb. brevis	+	-	-	+	-	-	-	0-1,2	DL	-	E	
	Lb. cellobiosus	-	-	-	-	-	-	-	0	DL	+	-	
	Lb. viridescens	+	-	-	+	-	-	-	0	DL	-	S	

+ = variabel. De fleste +

- = variabel. De fleste -

I melk kan lactobasillene danne opp til 3% melkesyre. Deres toleranse mot NaCl er variabel. Normalt er "Streptobakteriene" mere salt-tolerante enn "Thermobakteriene".

Lactobasillene vil alltid kunne isoleres fra ost, selv i ostesorter som ikke har gjennomgått noen modningsprosess. I ost ystet av upasteurisert melk utgjør de en vesentlig del av mikrofloraen under den siste fase av modningsprosessen, mens streptokokkene fra blandingskulturen vil dominere i første del av modningsfasen.

Lb.casei er vanlig i ost ystet av upast. melk. Den vokser godt i melk og danner opp til 1,5% melkesyre. Enkelte stammer vil vokse ved 5,5% NaCl. Den vokser både ved 10° og 40°C med optimum omkring 30°C. Noen få stammer overlever pasteurisering til 63°C i 30 min., men ingen overlever 60°C i 90 min.

Lb.casei er ofte nyttet som testorganisme ved kvantitativ bestemmelse av vitaminer og aminosyrer. Den må tilføres en rekke slike vekstfaktorer om den skal kunne vokse i syntetiske næringsmidler.

EL SODA et al, 1978, har isolert og renset en dipeptidase, en aminopeptidase og en carboksyptidase fra cellefrie ekstrakt av Lb.casei (NCDO-151).

Optimal pH og temperatur for de tre peptidasene var henholdsvis 7,6 , 6,5 og 7,2 (pH) og 30 , 45 og 40 (°C).

EDTA virket sterkt inhiberende på enzymene som imidlertid kunne reaktiveres med  $CO^{++}$  og  $Mn^{++}$ .

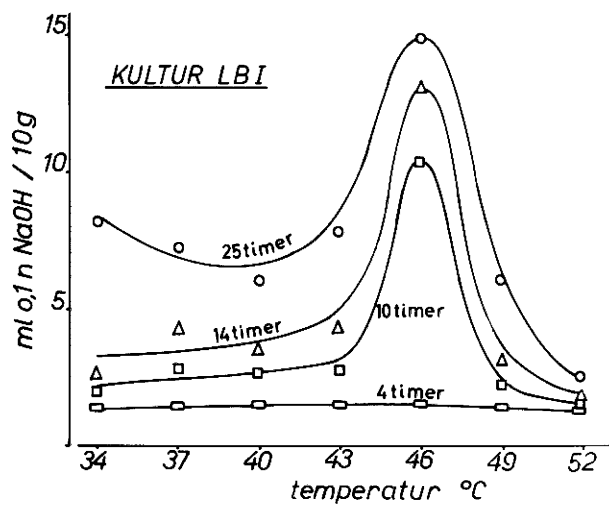
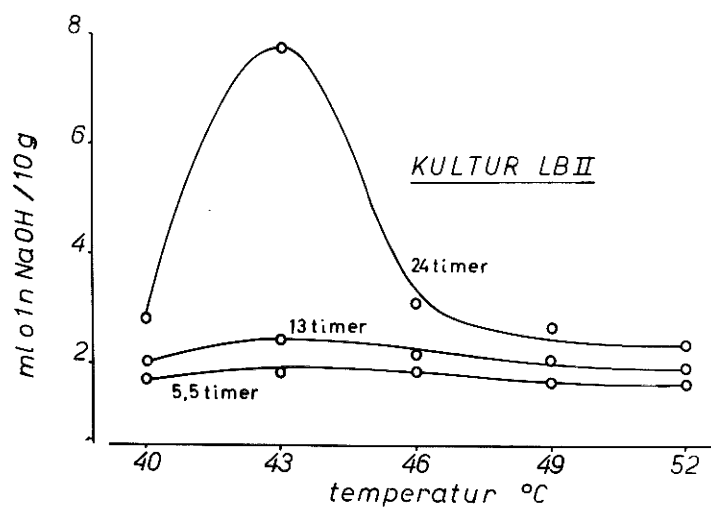
Lb.thermophilus er en termofil organisme med optimums-temperatur over 50°C og maksimums-temperatur over 60°C.

Lb.helveticus har optimum ved 40 - 45°C. Den kan vokse ved 48°C. } Emmu

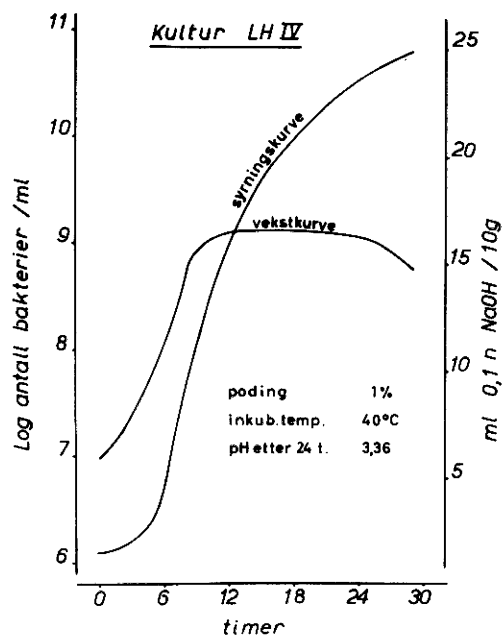
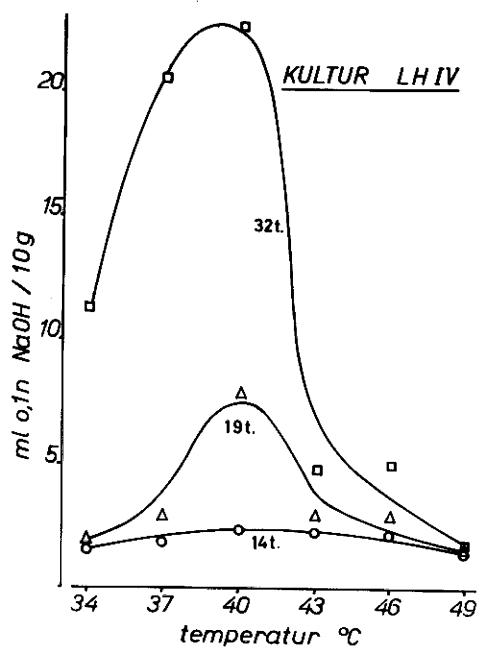
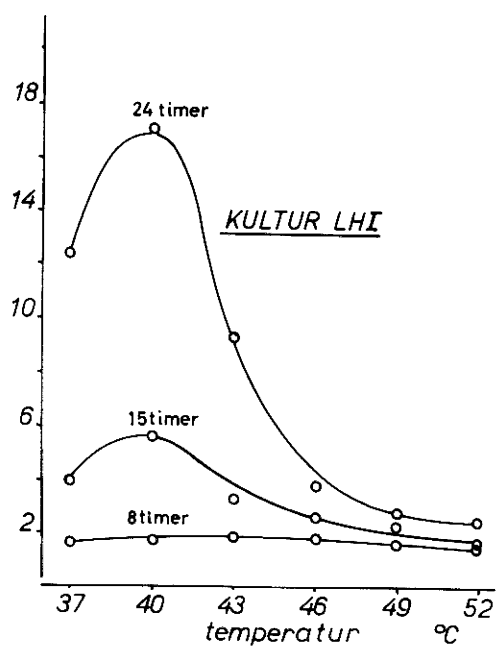
L.helveticus nyttes som komponent i syrekulturen ved ysting av ost av Emmentaler-typen. Kulturer av Lb.bulgaricus og Lb.lactis er også brukt ved ysting av disse oste-typene.

Temperaturområde for "vekst" er vist i figur 3.1.1.2.1.

De heterofermentative lactobasillene er ofte påvist i Cheddar-ost. På grunn av sen produksjon av  $CO_2$  fra karbohydrater vil de kunne gi årsak til feil i oster med storhullet tekstur.



ml 0,1n NaOH / 10g



Lb. helveticus.

Figur 3.1.1.2.1. Temperaturens effekt på syredannelsen hos to stammer Lb. bulgaricus og to stammer Lb. helveticus, samt syrnings- og vekstkurve for Lb. helveticus kultur IV.



## 3.1.2. PROPIONSYREBAKTERIER

COCCOBACILLAR

Enkelte arter av propionsyrebakterier nyttes som kultur til Jarlsbergost og oster av Emmentalertypen.

Propionsyrebakteriene ble første gang isolert fra Emmentalerost. I melk forekommer de i bare lite antall, 50 - 100 km/ml. (80 - 3500/ml i dansk melk ifølge LIND, 1944).

I vomma hos drøvtyggerne forekommer de i et stort antall, og vil derfor være en naturlig komponent av mikrofloraen i fjøset. De spiller en betydelig rolle i drøvtyggenes ernæring gjennom deres syntese av vekstfaktorer og essensielle fettsyrer.

CARINI et al, 1972, undersøkte seks stammer av propionsyrebakterier med hensyn på proteolytisk aktivitet samt evne til diacetylproduksjon. Alle ga en uspesifikk lipolyse. Ettersom fett hydrolyserte, ble det også syntetisert visse fettsyrer, særlig kaprinsyre i større mengder, enn forekomst i fett. Ved siden av propionsyre og eddiksyre ble det produsert n- og iso smørsyre, og n- og isovaleriansyre. Det var ingen proteolytisk aktivitet på kasein.

I følge Bergey's Manual er propionsyrebakteriene klassifisert i åtte forskjellige arter. (Tabell 3.1.2.1.) En art har tre underarter. Klassifiseringen er basert på bakterienes evne til å forgjære karbohydrater, samt endel andre biokjemiske reaksjoner. De fleste arter er katalase aktive. Karbohydrater, laktater og polyalkoholer og visse aminosyrer forgjæres til propionsyre, eddiksyre og CO<sub>2</sub>. Evnen til å forgjære melkesyre gjør at de ofte blir biologiske etterfølgere etter en flora av melkesyrebakterier.

Propionsyrebakteriene er ekstremt mikroaerofile. De drepes ikke ved tilgang på oksygen, som de obligate anaerobe bakteriene, men de vokser dårlig eller slett ikke med tilgang på O<sub>2</sub>. Under aerobe vilkår danner de varierende morfologiske former som klubbelignende eller forgrenede staver. Celleformen er mere ensartet under anaerobe forhold. Celleformen vil da være kokkelignende i nøytralt miljø og den vil vanligvis være stavformet i surt miljø. De er gram-positive.

CARINI et al, 1972. Sci.Tec.Latt.-Casear, 22 (5) 335.

desam navnet  
COCCOBACILLAR

Tabell 3.1.2.1. Gjeldende artsbetegnelser for propionibakterium.

- 
1. *P. freudenreichii*. <sup>subsp. *Shermanii*(x)</sup> Tidligere *Shermanii*. *subsp. freudenreichii*  
Kilder: Ost og meieriprodukter.
  2. *P. thoenii* (*rubrum*)  
Kilder: Meieriprodukter.
  3. *P. acidipropionici* (*pentosaceum* og *arabinosum*)  
Kilder: Meieriprodukter.
  4. *P. jensenii* (*petersonii*, *-technicum*, *-raffinoseaceum* og *zeae*)  
Kilder: Meieriprodukter, silo og tilfeldige infeksjoner.
  5. *P. avidum*. Tidligere *Corynebacterium avidum* og *Mycobacterium A*.  
Kilder: Hjerne, blod, sår, byller og skitt.
  6. *P. acnes* (*Corynebacterium acnes*)  
Kilder: Hud, sår, blod og tarminnhold. <sup>← vises</sup>
  7. *P. lymphophilum* (*Corynebacterium* og *Mycobacterium*)  
Kilder: Lymfekjertler ved Hodkins sykdom.
  8. *P. granulosum* (*Corynebacterium granulosum*)  
Kilder: Tarminnhold og byller.

Propionsyrebakteriene har optimumstemperatur ved 30° C og vokser i temperaturområde 15 - 45° C. De er ømfintlige for syre og salt. De vokser dårlig ved pH 5,0, pH-optimum for vekst ligger omkring 7,0. Veksten er fullstendig opphørt når NaCl konsentrasjonen er 10 % og de vokser dårlig eller slett ikke ved en saltkonsentrasjon på 5 %. I surt miljø er propionsyrebakteriene så sterkt hemmet av melkesyren at saltet gir lite tillegg i hemningseffekten. Saltets hemningseffekt kommer klarere tilsyne etterhvert som pH øker. Propionsyrebakteriene hemmes også av tunge metalljoner som Cu<sup>++</sup>. I Emmentalerost er aktiviteten vesentlig hemmet ved en kopperkonsentrasjon på 18 ppm.

Propionsyrebakteriene hemmes vanligvis av nisin, men det finnes også nisinressistente stammer. PEDZIWIŁK, 1975, har således nyttet en nisinressistent stamme av *P. shermanii* til ysting.

Immunglobuliner i melken (kolostrum) virker sterkt hemmende på *P. shermanii*.

Propionsyrebakteriene vokser dårlig i melk. Veksten stimuleres vesentlig ved tilførsel av gjærekstrakt. Pantotensyre og biotin er nødvendige vekstfaktorer for alle arter og veksten stimuleres av thiamin.

SCHWAB, 1972, fant at ved nærvær av fakultativt anaerobe stafylokokker ble nølefasen i veksten av propionsyrebakterier forkortet, celletall og stoffskifteprodukter økt. Stimulerings-effekten ble antatt å skyldes økt produksjon av eddik-, isovaleriansyre. Schwab fant ingen effekt av obligat aerobe mikrokokker.

ROCZNIAKOWA et al, 1974, fant at mikrokokker og stafylokokker virket synergistisk med propionsyrebakterier, noe som bl.a. førte til en større B-12-produksjon, (Cobalamin).

JAKUBZYK et al, 1976, testet én nisinfølsom og én nisinufølsom stamme av Propionibacterium freudenreichii var. shermanii i nærvær av Cl. tyrobutyricum, E. coli, A. aerogenes og mikrokokk-stammer. Begge kulturer ble hemmet i CO<sub>2</sub>-produksjonen av samtlige mikroorganismer. Sterkest hemningseffekt viste Cl. tyrobutyricum-stammen. Andre forskere har registrert en stimulering av CO<sub>2</sub>-produksjonen ved nærvær av smørsyrebakterier.

P. freudenreichii var. shermanii og P. jensenii er blitt nyttet som kulturkomponenter ved ysting av ost av emmentaler-typen. Gjennom sin forgjæring av laktat til flyktige syrer og CO<sub>2</sub> spiller disse organismene en vesentlig rolle under modningen av disse ostesortene. De får direkte innflytelse både på ostens smak og hullsetning.

Propionsyrebakteriene kan delvis overleve vanlig lavpasteurisering. De kan derfor forekomme i osten selv om det ikke er tilført propionsyrekultur under ystingen.

---

SCHWAB, H. & V. Oehn, 1970: D. S. A. 32 (11) 718.

ROCZNIAKOWA, B. et al, 1974: XIX. Intern Milchw. Kongr. 1 D:422-423.

JAKUBZYK, E. et al, 1976: Rozn. Inst. Przem. Mleczarskiego 18 (2): 21-27.

THOME & LINDGREN, 1948, undersøkte temperaturfølsomheten hos ti stammer av propionsyrebakterier, isolert fra Härr-gårdsost. Med en holdertid på 16 sekunder ble én stamme drept ved 70° C, to ved 72° C, to ved 73° C, fire ved 75° C og én ved 78° C.

Når osten er kommet på modningslageret, som har en temperatur på 18- 25° C, vil veksten komme igang på nytt og bakteriene vil bli den dominerende flora i osten. Oster av denne type saltes i lake eller de tørresaltes. Det tar derfor tid før saltet har diffundert fra ostens overflate til de indre partier og nådd en konsentrasjon som hemmer bakterieaktiviteten i vesentlig grad. Opphopingen av reaksjonsprodukter og av salt vil etterhvert gjøre miljøet mer ugunstig og føre til at veksten opphører. Osten inneholder da hundre millioner til en milliard kim/g (tabell 3.1.2.2.).

Tabell 3.1.2.2. Antall propionsyrebakterier i Jarlsbergost fra forsøksmeieriet (9 oster analysert).

	Middel (pr. gram)	Variasjon
Etter pressing	196 . 10 <sup>5</sup>	(12-38) . 10 <sup>6</sup>
" saltlake	200 . 10 <sup>5</sup>	( 8-44) . 10 <sup>6</sup>
" gjæringsbu	505 . 10 <sup>6</sup>	47.10 <sup>6</sup> - 15.10 <sup>8</sup>
" kjølelager	503 . 10 <sup>6</sup>	66.10 <sup>6</sup> - 18.10 <sup>8</sup>

En god renkultur av P. shermanii inneholder 3 - 9 milliarder kim/ml. P. rubrum og P. thoeni danner brune fargestoffer som kan være årsak til fargefeil i osten. P. shermanii kan også være årsak til misfarging ved forekomst av kopperoksydert fett (Schwab 1970). Propionsyrebakterienes kolonier på natriumlaktatagar er hvite, lys gule til orange. De mørkere fargenyansene kommer til syne under aerobe forhold.

THOME , K. E. & LINDGREN, B. 1948: Meddelande nr. 23 från Statens Mejeriförsök.

### 3.1.3. RØDKITT-KULTUR

I overflaten av de kittmodnete ostene, som f.eks. Tilsiter, Port Salut, m.v. spiller Brevibacterium linens en viktig rolle under modningsprosessen.

Denne organismen podes på kittmodnete oster, men kommer også til utvikling av seg selv på ostens overflate etter at melkesyren er nøytralisert eller forbrukt av gjær og mikrokokker.

Brevibakteriene er gram positive, ubevegelige kortstaver. De forekommer vanlig i meieriprodukter, spesielt i overflaten av kittmodnet ost. Bakteriene danner gule, orange eller røde fargestoffer. De drepes ved vanlig lavpsteuring.

Slekten omfatter to arter som er viktig i ystingsteknisk henseende, nemlig B.linens (ønsket) og B.erythrogenes (uønsket). Den karakteristiske smaken som man har i oster som Tilsiter, Port Salut og Ridderost skyldes B.linens.

B.linens har optimumstemperatur omkring 20°C med et temperatur-område for vekst på 8 - 37°C. Den vokser ikke ved 45°C. I lakmusmelk skjer forandringene langsomt.

Melken blir alkalisk i løpet av 6 - 7 døgn (21°C). Peptonisering av kaseinet kan observeres etter ca 10 døgn.

B.linens er sterkt aerob, syreømtfintlig, men meget salttolerant. Den vokser godt ved en saltkonsentrasjon på 15% og ved pH 9,8. Den vokser ikke når mediets pH er lavere enn 5,0.

B.linens kommer til utvikling på overflaten av osten etter at melkesyren er redusert til et nivå som favoriserer celleveksten.

Gjær og mikrokokker kommer først til utvikling på osteoverflaten. De forbruker melkesyren og danner dessuten vekstfaktorer som stimulerer veksten av B.linens.

ADES & CONE (1969) sammenliknet proteolysen i Trappist-ost ystet konvensjonelt med ost som ble aseptisk behandlet,

saltvisket med alkalisk lake, som hevet pH til 6,5 på overflaten, og dessuten påført gjærekstrakt som vekstfaktorer før poding med to kommersielle stammer av B.linens.

Proteolysen, målt i frie aminosyrer, var likevel høyere i kontrollosten.

B.linens smelter gelatin, hydrolyserer kasein, men spalter ikke fett. T.S. har påvist lipolytisk aktivitet hos *Brevibacterium linum*.

Under sin vekst på osteoverflaten danner den proteolytiske enzymer som diffunderer inn i osten.

FOISSY (1978) har bl.a. isolert og rensert en aminopeptidase fra B.linens (ATCC 9174). Enzymet ble aktivert av  $\text{Co}^{++}$ , mens tunge metaller, metall kompleksdannere, reduksjonsmidler og hydrofobe substanser bl.a. virket inhiberende.

På TGEA danner bakterien kremfargede kolonier. Fargen skifter til brun eller brun-rød når platen påvirkes av lys.

Pigmentet skifter til intenst karmin-rødt når det behandles med 5 n NaOH eller 5 n KOH, lakse-rødt med iseddik, murstens-rødt med anilin og skifter fra grønt til blått med 85% fosforsyre.

B.erythrogenes danner et rødt til rød-fiolett fargestoff når den vokser på lakmusmelk eller på ost. Pigmentet er uopløselig i alkohol, kloroform og benzol.

Bakterien har optimumstemperatur ved 28 - 35°C, men har ellers tilsvarende biokjemiske egenskaper som B.linens.

Bakterien forårsaker rød-fiolett misfarging og dårlig smak på kittmodnet ost. Den er vidt utbredt i naturen og har vært isolert fra vann, melk og ost. På ostelagret kan denne skape store problemer dersom den først får innpass.

---

FOISSY, H. 1978: Z. Lebensm. Untersuchung und -Forschung  
166(3): 164-166.

#### 3.1.4. MUGGKULTURER

Av muggsopp er det forskjellige arter av *Penicillium* og *Mucor* som har fått anvendelse i form av renkulturer.

Det er *P.roqueforti* og *P.camemberti* som gir årsak til de karakteristiske kvalitetsegenskapene i henholdsvis Roquefort og Camembert. *M.mucedo* og *M.rasemosus* har tilsvarende innflytelse på kvalitetsegenskapen i Gammelost.

Muggsoppene er sterkt aerobe organismer. De vokser innenfor vide grenser av pH, osmotisk trykk og temperatur.

Ifølge KUNZ & SINGER (1979) vokste *P.camemberti* i pH-onrådet 3,0 - 9,5. Sterkeste myceldannelse skjer i nøytralt miljø, mens optimum for konidiedannelse var pH 4,5.

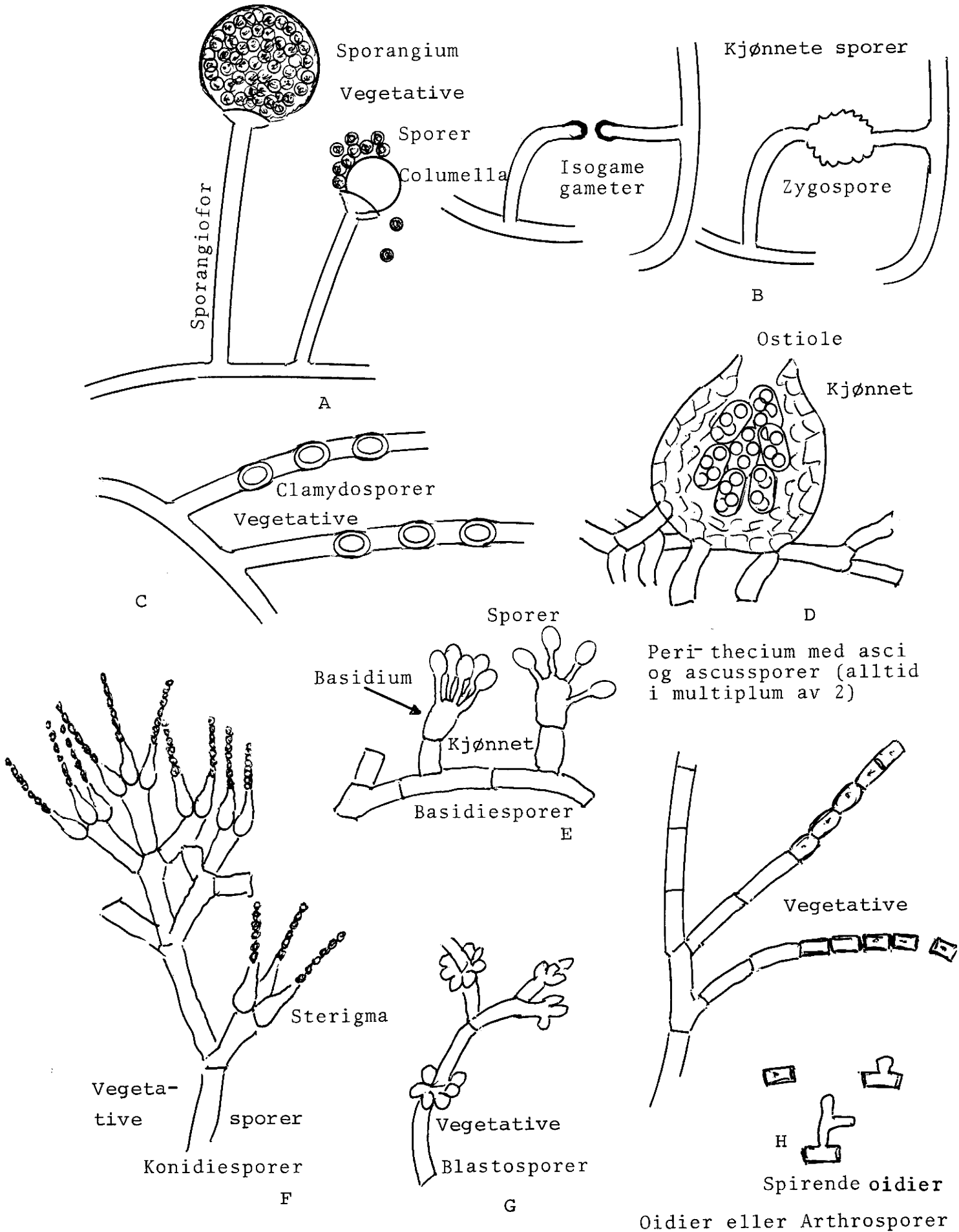
Optimumstemperaturen for vekst vil variere for de forskjellige artene, jfr. figur 3.3.2.6. Optimumstemperaturen for vekst synes for de fleste artene å ligge omkring 30°C. De arter som er av størst interesse for meieriindustrien vokser godt ved 20 - 25°C. Generelt vokser muggsoppene dårlig eller slett ikke når den relative fuktighet er lavere enn 70%.

På faste substrater har koloniene enten et grått ull-lignende utseende eller de er gule, grønne, brune eller svarte fra pigmenter i mycelet eller i det enorme antall sporer som foreligger.

*Alternaria*, *Cladosporium* og *Hormodendron* har svart mycel. *Penicillium* (F), *Aspergillus*, *Rhizopus* og *Mucor* (A) har fargeløst mycel, men sporene er generelt farget grønne eller sorte. Forskjellige sporeformer er vist i figur 3.1.4.1.

Hos *Geotrichum candidum* (H) er hverken sporene eller mycelet farget.

Muggsoppene drepes lett ved vanlig pasteurisering, men de er motstandsdyktige mot uttørring og forholdsvis motstandsdyktig mot ultrafiolett lys. Sporene spres lett i luft. Melken og melkeproduktene infiseres først og fremst gjennom luften og ved dårlig rengjorte redskaper.



Figur 3.1.4.1.



Tabell 3.1.4.1. SYSTEMATISK PLASSERING AV ENDEL AKTUELLE MUGGSOPPER

FUNCI	
RIKE	
AVDELING	EUMYCOTA
UNDER- AVDELING	MYXOMYCOTA
KLASSE	DEUTEROMYCOTINA
ORDEN	HYPHOMYCETES
FAMILIE	HYPHOMYCETALES
SLEKT	MONILLIACEAE
ARTER	GEOTRICHUM MONILIA TORULA
	G. candidum M. candida T. persoon
	BASIDIOMYCOTINA
	ASCOMYCOTINA
	MASTIGOMYCOTINA
	ZYGOMYCOTINA
	ZYGOMYCETES
	MUCORALES
	MUCORACEAE
	MUCOR
	RHIZOPUS
	M. mucedo M. racemosus M. corticulus R. nigricans
	S. cerevisiae S. fragilis S. major taette S. minor taette
	SACCAROMYCES
	SACCAROMYCETACEAE
	ENDOMYCETALES
	HEMIASCOMYCETES
	PLECTOMYCETES
	EUROTIALES
	EUROTIACEAE
	CRYPTOCOCCALES
	CRYPTOCOCCACEAE
	MONILLIACEAE
	CANDIDA
	C. rugosa C. krusei C. lipolytica
	PENICILLIUM ASPERGILLUS
	P. camemberti P. roqueforti A. flavus A. glaucum A. niger

Generelt er muggsoppene sterke fett- og proteinspaltere. De fleste artene oksyderer de lavmolekylære fettsyrene til metylketoner.

Kaseinet nedbrytes til vannoppløselige N-forbindelser. Aminosyrene deamineres og dekarboksyleres. Det dannes betydelige mengder  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  og isofettsyrer.

NB! *Geotrichum candidum* oksyderer ikke fettsyrene.

Enkelte arter er viktige modningsorganismer i mange halvfaste og bløte ostesorter.

Muggen vokser godt i det sure miljøet i den ferske ostemassen. Den nyttiggjør seg både melkesukkeret og melkesyren. Mugghyfene trenger inn i osten og skiller ut lipolytiske og proteolytiske enzymer.

Da muggsoppene er sterkt aerobe må de ostesortene som modnes ved hjelp av mugg enten gjøres lave, slik at de får en stor overflate i forhold til volumet, (Camembert, Brie), eller de formes på en slik måte at de får en åpen struktur (Gammelost) eller de må prikkes (Normanna).

P.roqueforti er den viktigste modningsorganisme i Roquefort og Normanna. Konidiesporene (F) er blågrønne. Dette gir osten en tiltalende blågrønn marmorering. P.roqueforti er meget salttolerant. Den har mindre behov for oksygen enn de fleste muggsoppene. Dette gjør at soppen blir den dominerende flora i osten og gir osten dens særpreg med hensyn til smak, konsistens og utseende.

P.roqueforti eller varieteter av denne muggsoppen har tilsvarende betydning for kvalitetsegenskapene til Stilton og Gorgonzola.

P.camemberti er den viktigste modningsorganisme i Camembert og Brie. Muggmycelet er fargeløst, men sporene er grå til blågrønne. Muggen utvikles på overflaten av osten, men veksten kommer ikke skikkelig i gang før gjær og Geotrichum candidum har forbrukt noe av melkesyren og trolig også har dannet vekstfaktorer som stimulerer muggveksten.

P.camemberti har større behov for oksygen og den er mer følsom

følsom

for endringer i miljøfaktorene enn P.roqueforti.

Forskjellige arter av *Monilia* er modningfaktor på Pont l' Eveque.

Forskjellige *Mucor*-arter er viktige modningsorganismer i Gammelost. *Mucor mucedo*, *Mucor rasemosus* og *Rhizopus nigricans* er de artene som forekommer vanligst. Under formingen pakkes osten slik at den får en åpen struktur. Osten podes med renkulturer og muggmycelet vokser gjennom hele osten.

Kaseinet brytes ned til vannløselige N-forbindelser. Enkelte aminosyrer deamineres og dekarboksyleres til  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  og isofettsyrer.

### 3.1.5 GJÆRKULTURER

En har foran vært inne på at visse typer av gjær har betydning for tilrettelegging av miljøet på kittmodnete oster. Renkulturer av gjær til dette formål kjennes imidlertid ikke. Derimot er det vist, SIVERTSEN et al (1977), at gjærarten *Candida rugosa* er av grunnleggende betydning ved fremstilling av Pultost og renkultur av denne kan fås fra Meieriinstituttet.

Gjær generelt vokser godt i temperaturområdet 25 - 40°C. De fleste artene tåler høy surhetsgrad og stort osmotisk trykk. De kan derfor vokse i produkter som er sterkt saltet. Gjær drepes lett ved vanlig pasteurisering.

De fleste gjærtypene er aerobe,<sup>?</sup> men enkelte arter kan vokse med sparsom tilgang på oksygen.

Karbohydrater forgjæres til alkohol og  $\text{CO}_2$  og  $\text{H}_2\text{O}$ , men bare få arter forgjærer laktose. Mange arter oksyderer organiske syrer til  $\text{CO}_2$  og  $\text{H}_2\text{O}$ . De enkelte gjærtyper viser forskjellig evne til å hydrolysere fett og protein.

Generelt dannes ikke ekstra-cellulære proteolytiske enzymer, men endo- enzymer frigjøres når cellene dør og autolyserer. *Candida lipolytica* har vært brukt for å få en viss fettspalting i ost. Pultostgjær er både proteolytisk og lipolytisk.

Podet på dekstroseagar dannes gjerne pseudomycel med Blastosporer (G) (figur 3.1.4.1.), men det er store variasjoner i myceldannelsen.

Såkalt Hinnegjær (*Mycoderma*) danner en film på flytende substrater. De er obligate aerobe og oksyderer melkesyre til  $\text{CO}_2$  og  $\text{H}_2\text{O}$ . Slik Hinnegjær (*Candida krusei*) kan dyrkes sammen med laktobasiller og *Sc.thermophilus* i renkulturer som nyttes ved ysting av Emmentalerost. Gjæren oksyderer melkesyra, reduserer oksygentrykket og produserer vekstfaktorer. Melkesyrebakteriene kan derved f.eks. holdes aktive med bare to podinger pr. uke istedet for ompodning hver dag. Generelt kan gjær alltid isoleres fra osteoverflaten. Den har betydning for ostemodningen ved at den reduserer surhetsgraden i overflaten og ved at den produserer vekstfaktorer som stimulerer veksten av den etterfølgende mikroflora.

### 3.2. MIKROORGANISMER SOM SPONTANT ELLER MER SPORADISK FOREKOMMER I OST

Langt den største delen av melkens mikroorganismer innesluttet i koaglet og går over i osten når kaseinet felles.

Flere grupper av melkens mikroorganismer vil her være representert og det vil alltid foreligge en kompleks mikroflora i osten. Hvilken betydning de enkelte arter og varieteter har for de forskjellige osteslag er imidlertid ikke detaljert kjent.

Følgende mikroorganismer kan i allefall mer og mindre regelmessig påtreffes i ost:

#### 3.2.1. BAKTERIER

##### 3.2.1.1. STREPTOKOKKER

En har foran behandlet de artene av *Streptococcus* som systematisk anvendes ved ysting.

Ved korrekt pasteurisering av ystemelken er det bare enterokokkene som har mulighet til å komme over i osten.

Som gruppe vokser enterokokkene både ved 10 og 45°C. De overlever pasteurisering til 63°C i 30 min og vokser ved pH 9,6. De tolererer 6,5% NaCl eller 0,1% metyleblått. De danner NH<sub>3</sub> fra arginin og har en varierende evne til å spalte hippursyre. Sc.faecalis var. liquefaciens er den eneste som spalter gelatin. (Jfr. tabell 3.1.1.1.1.).

Sc.faecium og Sc.faecalis var. zymogenes er Beta-hemolytiske streptokokker, men de er ikke betraktet som patogene organismer for mennesker.<sup>x)</sup> De lar seg bl.a. skille serologisk fra den patogene Sc.pyogenes i Lancefield gruppe A. Enterokokkene er i gruppe D. *Sc.pyogenes* drepes lett ved vanlig pasteurisering.

Det hersker en del forvirring ved klassifikasjonen av enterokokkene. S.bovis forekommer også oppført under Viridansgruppen, men hører serologisk ~~inn~~ under gruppe D.

Sc.faecalis var.liquefaciens er en kraftig proteolytisk organisme. Den gir osten en sterk bitter smak. Da den overlever vanlig pasteurisering kan den være plagsom i

osteproduksjoen, dersom den forekommer i melken i nevneverdige konsentrasjoner.

CHANDER et al (1979) har renfremstilt en lipase fra S. faecalis. De viste at enzymaktiviteten til lipasene ble hemmet av natriumlaurylsulfat, EDTA,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{AgNO}_3$  og metallene sink, kopper og litium, mens kalsium og magnesium, kobolt, natrium, jern og mangansalter virket stimulerende på lipaseaktiviteten.

Enterokokkene kan forekomme i osten i forholdsvis store mengder. Sc. faecalis synes å være den mest vanlige av disse organismene. Den vokser ved  $47^\circ\text{C}$ , men ikke ved  $50^\circ\text{C}$ , er relativt sterk syredanner (pH 4,6 - 4,1 i buljong). Produserer  $\text{CO}_2$  bl.a. ved forgjæring av citrat. De fleste stammer dekarboksylerer tyrosin og kan dermed være årsak til tyramin i osten. BOTTONE et al (1971) har funnet et bakteriocin hos S. faecalis var. zymogenes med spesifikk virkning på andre mikroorganismer. Bacteriocinet var særlig aktivt mot Diplococcus pneumonia, men uvirksomt mot tre stammer av B. cereus. Varmebehandling i 20 min ved  $80^\circ\text{C}$  inaktiverte bacteriocinet.

I 1978 ble det ved en rekke ysterier i Nederland observert Goudaost med sterk gassutvikling og dårlig smak. Årsaken viste seg å være varmeresistente streptokokker som utviklet seg i regenerativavdelingen i enkelte pasteurere med lang driftstid. I ett plateapparat med 89% regenerativ effekt økte innholdet av streptokokker i løpet av 8 timer til ca  $10^6$ /ml, (HUP et al, 1979).

---

CHANDER et al, 1979: Milchwissenschaft 34(9):546

BOTTONE et al, 1971: App. Microbiology 22(2):200

HUP et al, 1979. Zuivelzicht, 71 (46) 1014.

### 3.2.1.2. MIKROKOKKER

Mikrokokkene (slekt I i *Micrococcus*) er aerobe og katalase-positive kokker som deler seg i 2 eller 3 plan. De vokser godt ved 22°C og mange har optimumstemperatur ved 30 - 31°C. Overflateveksten på faste substrater er god og mange danner pigmenter som er uløselige i vann.

I meieriindustrien er dårlig rengjorte melkeredskaper den viktigste infeksjonskilde.

Mikrokokkene er meget varmeresistente og de vil overleve vanlig lav-pasteurisering. Mange arter er meget resistente mot NaCl.

I osten vil mikrokokkene lett komme til utvikling på overflaten. Under de nærmest anaerobe forhold i det indre av faste løpeoster, vil de dø etter kort tid. Men deres endo- og ekto-enzymer vil være aktive.

Micrococcus freudenreichii, Micrococcus varians og Micrococcus caseolyticus er blitt isolert fra Cheddar, Roquefort og forskjellige andre ostesorter. Deres betydning for modningen er noe usikker da ystingsforsøk hvor ystemelken eller osten er blitt tilsatt store mengder mikrokokker i form av selekterte renkulturer, har gitt svært variable resultater.

Micrococcus caseolyticus er aktivt acido-proteolytisk i melk. De fleste mikrokokker smelter gelatin, om enn langsomt.

Av betydning i forbindelse med osteproduksjonen er at flere stammer av mikrokokker synes å besitte enzymet nisinase (RALHAN et al, 1978). Bruk av nisinproduserende streptokokker i ystingen eller tilsetning av nisin til f.eks. smeltost for å motvirke smørtsyresing kan derfor bli illusorisk ved tilstedeværelse av nisinaseproduserende mikrokokker.

### 3.2.1.3. MIKROBAKTERIER

Mikrobakteriene er små, aerobe gram-positive, katalase-positive ubevegelige stavformede bakterier. De forekommer vanlig i melk, melkeprodukter og melkeredskaper. De hører med til de mest varmeresistente av de ikke sporedannende bakteriene. Det er to arter av slekten *Microbacterium* nemlig: *M.lacticum* og *M.flavum*. Den sist nevnte organismen synes å være sjeldent påvist.

NB!

*M.lacticum* overlever pasteurisering til 80 - 85°C i 10 min. Den har optimumstemperatur for vekst omkring 30°C. Den vokser godt på overflaten av næringsmediet, men danner sjelden så mye melkesyre at melken koagulerer.

På grunn av sin sterke varmeresistens kan den forekomme i stort antall i pasteurisert melk. Den kan lett påvises ved at pasteurisert melk spres på proteose-pepton-glukose-agar og platene inkuberes ved 30°C i 3 døgn. De vokser dårlig ved 35°C og vil ikke kunne påvises om en nytter denne inkubasjonstemperaturen.

Mikrobakteriene synes å ha liten betydning for ostens kvalitetsegenskaper.

NB!

### 3.2.1.4. SPOREDANNEDE BAKTERIER

Familien Bacillaceae omfatter slektene *Bacillus* (aerob) og *Clostridium* (anaerob). På grunn av de er sporedannende vil de alltid finnes i pasteurisert melk dersom leverandørmelken har et visst innhold av disse bakteriene.

Bacillus

Organismene i slekten *Bacillus* er aerobe, katalase-positive og vanligvis betraktet som gram-positive. De fleste er bevegelige ved peritriche flageller. Sporene er i alminnelighet meget varmeresistente. De fleste artene hydrolyserer gelatin og kasein. De frigjør NH<sub>3</sub> fra aminosyrer.

Karbohydrater forgjærer til organiske syrer, ofte med gassdannelse.

All melk vil trolig være infisert med sporene av disse organismene. Da de er aerobe og forholdsvis ømtfintlig for syre, vil de ikke komme til utvikling i de fleste ostene når syreutviklingen under ystingen har vært normal.



De vil neppe forårsake kvalitetsfeil i slike ostesorter, selv om ystemelken podes med store cellemengder.

NB ! Også arter av Bacillus inneholder enzymet nisinase og kan således oppheve hemningseffekten av nisin.

Bac.polymyxa og Bac.macerans danner gass ved forgjæring av karbohydrater. Bac.polymyxa har vært påvist som årsak til tidlig esning av faste løpeoster. Feilen kan bare forekomme ved syrningssvikt under ystingen.

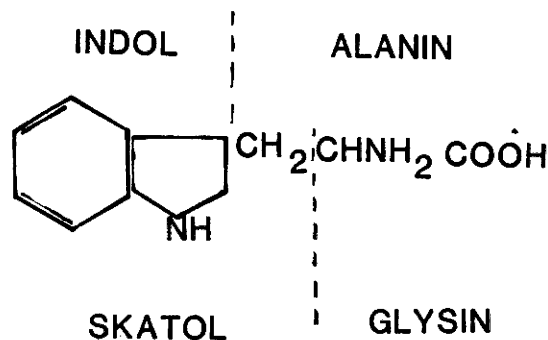
Bacillene er rene forråtnelsesbakterier som er absolutt uønsket i melk og meieriprodukter.

*Clostridium*

Slekten Clostridium omfatter obligate anaerobe stavbakterier.

Cellene dør ved tilgang på oksygen. De fleste er katalase-negative, bevegelige og vanligvis gram-positive. Mange arter forgjærer karbohydrater til organiske syrer, nøytrale organiske forbindelser og store mengder CO<sub>2</sub> og H<sub>2</sub>-gass. Andre arter angriper fortrinsvis protein med en dyptgående nedbrytning til ren forråtnelse. Det dannes NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S, CH<sub>3</sub>SH, skatol og indol (figur 3.2.1.4.1.).

### TRYPTOFAN



Figur 3.2.1.4.1.

Clostridiene forekommer vanlig i jord, gjødsel, surfôr og i dyrenes tarmkanal. De vil etablere seg som en normal flora i fjøset, spesielt i fjøs hvor det føres med surfôr.

Forgjæringen av karbohydrater går ofte med stor intensitet (Stormy fermentation). De store gassmengdene, spesielt av H<sub>2</sub>, fører til esning. I mange tilfelle vil osten bli fullstendig sprengt.

I melk forekommer clostridiene normalt i lite antall. Men sporene overlever pasteuriseringen av ystemelken og de vil komme til utvikling i osten om miljøet er gunstig. De artene som kan nytte laktat som C-kilde er særlig farlige ved produksjon av de faste løpeostene med storhullet tekstur. Graden av kvalitetsfeil som gassdannelsen medfører vil variere med gassmengden, gjæringens intensitet og med ostemassens elastisitet. Feilen kan variere fra uren og reven hullsetning, svampet tekstur til fullstendig oppreven ost. Som gruppe er Clostridiene forholdsvis ømfintlig for syre og for salt. Spiringen av sporene synes å hemmes av lavere saltkonsentrasjoner enn celleveksten. Deres optimumstemperatur er forholdsvis høy sammenlignet med de normale ostemodningsbakteriene. Normalt er miljøet i osten ikke alt for gunstig for deres utvikling.

Det beste botemiddel mot kvalitetsfeil forårsaket av clostridiene er å sørge for at de ikke infiserer melken. Dette krever et godt renhold hos melkeprodusentene og i meieriet. Surfør av dårlig kvalitet vil alltid gi sterkt infisert ystemelk. I enkelte land er det forbudt å nytte surfør når melken skal nyttes til produksjon av Emmentalerost.

I osten kan en hemme utviklingen av de anaerobe sporedannere ved å sørge for en aktiv melkesyregjæring under ystingen og i osten, ved tilsetning av nitrat til ystemelken, bakterifugering av ystemelken og en tilfredsstillende salting av osten.

Nisin hemmer clostridiene. Men forsøk med bruk av nisinproduserende syrekulturer har hittil ikke svart til forventningene. Det har vist seg at kulturens evne til å produsere nisin er vanskelig å holde ved like. Anvendelsen av slike kulturer fører derfor med seg vansker i praksis. En rekke mikroorganismer fører også enzymet nisinase som inaktiverer nisin.

På grunn av den omfattende omsetning av proteinet, vil est ost gjerne ha sterke smaksfeil ved siden av feil i hullsetningen.

I følge finske forsøk, HAKKARAINEN, (1980), er følgende arter den viktigste årsak til smørsyre- gjæring i faste oster.

Samme? → Cl.tyrobutyricum  
Cl.sporegenes,  
Cl.bifermentans og  
→ Cl.lutyricum.

der de to førstnevnte er farligst og sistnevnte sjelden forekommer.

Cl.lentoputrescens har vært rapportert som årsak til råtne partier med typisk fecal lukt i Emmentalerost (stinkers). Feilen opptrer bare i ost hvor det har vært syringssvikt under ystingen. Bakteriene er syreømfintlig og vokser ikke ved pH 5,7.

Flere Clostridiearter er patogene for mennesker og dyr, noe en skal komme tilbake til senere.

### 3.2.1.5. ENTEROBAKTERIER

Innen den store familien Enterobacteriaceae har slektene Escherichia, Klebsiella og Enterobacter en spesiell interesse da de vanligvis kan påvises i upasteurisert melk. I kvalitetskontrollen nyttes de som indikatororganismer på re-infeksjon etter at melken er pasteurisert. De er dermed en indikator på det alminnelige renholdet i bedriften. Bakteriene er en alminnelig komponent i mikrofloraen i fjøset. De viktigste infeksjonskilder i ysteriet er usterile redskaper..

Slektene Escherichia og Enterobacter har bevegelige celler utstyrt med pritrache cilier, mens slekten Klebsiella er ubevegelig. Cellene er gram-negative, korte staver. De koliforme bakterier er vidt utbredt i naturen og forekommer dessuten i mage-tarmkanalen hos dyr og mennesker. Coli-bakteriene vokser godt i melk. De har optimumstemperatur ved 37°C og med et vekstområde fra 2,5° - 45°C. De drepes ved vanlig lavpasteurisering. Laktose og andre karbohydrater for-gjæres til melkesyre, ravesyre, etanol, CO<sub>2</sub> og H<sub>2</sub>. Normalt danner E.coli, CO<sub>2</sub> og H<sub>2</sub>-gass i forholdet 1:1.

E.coli er svakt proteolytisk når det ikke er forgjærbart sukker tilstede i mediet. Det dannes indol og skatol fra aminosyren tryptofan (figur 3.2.1.4.1.). Klebsiella og Enterobacter danner normalt ikke disse stoffene.

E.coli er forholdsvis tolerant mot syre, og vokser godt ved de temperaturer som anvendes ved ystingen av de fleste oste-sortene. De kommer lett til utvikling i osten så lenge det finnes forgjærbart sukker, dvs. i løpet av de 2 - 3 første døgn når det gjelder de faste løpeostene. I de bløte ostene vil det være forgjærbart sukker i lengere tid. Surhetsgraden og saltinnholdet i disse ostene vil som regel gjøre forholdene mere ugunstig for bakterienes vekst og formering. Koli-aerogenes-gjæringen fører med seg en mere eller mindre sterk utvikling av H<sub>2</sub>-gass, mens osten står i press eller ligger i saltlaken. Uren eller reven hullsetning, småpipet, svampet tekstur, eventuelt esning vil være de typiske feil i hullsetning som følger med en slik feilgjæring. Kolibakteriene fører dessuten et helt arsenal av ekto- og endoenzymer som blant annet kan føre til meget dyptgående omdannelser av protein og aminosyrer med dannelse av rene forråtnelsesprodukter.

Dette kan gi mere eller mindre utpregede smaksfeil.

Koli-bakteriene vil normalt avta i antall under ostens modning og lagring (tabell 3.2.1.5.1.). Miljøet blir ugunstig på grunn av mangel på forgjærbart sukker. Organismens salttoleranse er variabel. Noen varieteter er forholdsvis salttolerante, (kan forekomme i lakekummen, mens andre er mere følsom.

Tabell 3.2.1.5.1. Innholdet av coliforme bakterier i 4 Jarlsbergoster med massiv infeksjon.

Kim pr. gram ost	Ost nr.			
	1	2	3	4
Ut av presse	450	1000	2600	3300
Etter saltlakning	23000	12000	20000	190000
Etter gjæringsbu	1200	9500	5600	960000
Etter kjølelagring	160	20	580	2900

Slektene Serratia og Proteus innen familien Enterobacteriaceae omfatter arter som er typisk produktødeleggende ved dyptgående omdannelser av produktet, ofte med dannelse av fargestoffer.

Serratia er aerobe, gram-negative, bevegelige kortstaver. De danner karakteristiske røde pigmenter som er løselig i alkohol, men lite løselig i vann.

De smelter gelatin, koagulerer melk og koaglet oppløses. Karbohydrater forgjæres til organiske syrer, acetoin og 2,3,-butylenglykol.

Serratia marcescens (vidunderblod-bakterien, Bacterium prodigiosum) er en sterk fett- og proteinspalter. Den danner det røde pigmentet prodigiosin som synes å være en blanding av forskjellige fargestoffer.  $H_2S$  dannes fra de svovelholdige aminosyrene.

Bakterien, som er en ren forråtnelsesbakterie, er uønsket i meieriindustrien. Den kan gi årsak til fargefeil og smaksfeil dersom den kommer til utvikling i produktene. Bakterien har liten betydning i forbindelse med de faste ostene, men kan være årsak til kvalitetsfeil i slike oster som Pultost og Cottage cheese.

Proteusslekten er bevegelige, gram-negative kortstaver. De smelter gelatin og deaminerer og dekarboksylerer forskjellige aminosyrer.  $H_2S$  dannes fra de svovelholdige aminosyrene. De er rene forråtnelsesbakterier, som imidlertid sjelden kommer til utvikling i ost eller meieriprodukter.

### 3.2.1.6. PSYKROTROFE BAKTERIER

Dette er bakterier som ikke er direkte psy<sup>k</sup>rofile, men som har mulighet til å utvikle seg ved lav temperatur. Flere av de mikroorganismene som er omtalt foran vil således kunne regnes til denne gruppen.

Slekten *Pseudomonas* har imidlertid vist seg å være den helt dominerende innen denne floraen, i allefall for melk, ved siden av slektene *Alcaligenes* og *Flavobacterium* (tabell 3.2.1.6.1.)

Tabell 3.2.1.6.1. Psykrotrofe slekter (etter LITT, 1974).

---

<u>Achromobakter</u>	<u>Flavobacterium</u>
Aerobacter	Klebsiella
Aeromonas	Micrococcus
Alcaligenes	<u>Pseudomonas</u>
Arthrobacter	Proteus
Bacillus	Rhodococcus
Clostridium	Serratia
Corynebacterium	Streptococcus
Escherichia	Vibrio

Disse bakteriene forekommer vanlig i jord, fersk-vann og saltvann og infiserer meieriproduktene gjennom dårlig vann og dårlig rengjorte redskaper og utstyr.

Bakteriene i de nevnte slektene er gram-negative, bevegelige til ubevegelige, aerobe stavbakterier. *Pseudomonas* har polare flageller. Den danner vannoppløselige blå-grønne til brunaktige fleureserende fargestoffer. Rosa, lilla og gule fargestoffer forekommer også.

*Alcaligenes* har fargeløse kolonier, men *Flavobakteriene* danner gule til orange kolonier og fargestoffene er uoppløselig i vann.

Normalt er disse bakteriene forholdsvis ømfintlig for syre og salt. Mange av artene er sterke fett- og proteinspaltere. De deaminerer og dekarboksylerer aminosyrene og smelter gelatin. Organismene er rene forråtnelsesbakterier som er uønsket i meieriindustrien.

### 3.2.2. MUGG OG GJÆR

De artene som forekommer mest vanlig i melk og meieriprodukter, er *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Candida*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria* og *Geotrichum candidum*. Av disse er det bare enkelte selekterte stammer av *Penicillium* og *Mucor* samt *Candida* som har positiv anvendelse som renkulturer i osteproduksjonen.

*Geotrichum candidum* kan ha betydning som modningsorganisme for enkelte ostesorter som Pultost og Camembert.

*Geotrichum candidum* er den mest vanlig forekommende muggsopp i melk og melkeprodukter. Den er en aktiv fettspalter og proteinspalter, men oksyderer ikke fettsyrene til metylketoner. Soppen utvikles lett på overflaten av ost og fløte. Sporene er hygroskopiske og overflaten blir slimet. En for sterk utvikling av muggen fører til for omfattende nedbrytning av kaseinet. Som nevnt er *Geotrichum candidum* trolig av betydning for modningen av Pultost, Camembert og Brie.

Når en ser bort fra de få muggartene som er av betydning som ostemodningsorganismer, er muggsopp i sin alminnelighet å betrakte som banale ostefordere og er derfor uønsket. Mugginfeksjoner på ostelagrene gir årsak til fargefeil og andre skorpefeil. Kampen mot mugginfeksjoner er det vanskeligste problem en har under ostens modning, lagring og distribusjon.

VAKTIG!  
Nisin i PULT

### 3.3. TOKSINDANNENDE ELLER PATOGENE MIKROORGANISMER I OST

Når det gjelder næringsmiddelbårne infeksjoner og intoksikasjoner generelt, henvises til Yndestad's forelesninger i kurset NT-3.

#### 3.3.1. BAKTERIER

##### 3.3.1.1. STREPTOKOKKER

Streptokokkene i den pyogene (gruppe B) er menneske-patogene eller dyrepatogene. De fremkaller skarlagensfeber, halsbetennelse, byller og betennelse med pussdannelse. De fleste er Beta-hemolytiske. De vokser ikke ved 10° eller 45°C eller i nærvær av 6,5% NaCl, 0,1% metylenblått eller ved pH 9,6. De danner ikke NH<sub>3</sub> fra arginin (tabell 3.1.1.1.1.).

Sc.pyogenes er både menneskepatogen og dyrepatogen (jurbetennelse) Sc.agalactia forårsaker jurbetennelse hos storfe, men synes ikke være patogen overfor mennesker.

De pyogene organismene kan bli tilført melken fra syke dyr eller fra mennesker. De ødelegges ved vanlig lavpasteurisering, men kan forekomme i ost av rå eller underpasteurisert melk.

Det er velkjent at gruppe D-streptokokkene (enterokokkene) kan være årsak til høgt innhold av tyramin og histamin i osten.

Det foreligger også indikasjoner på at enkelte stammer av S.faecalis kan være årsak til intoksikasjoner (YNDESTAD, 1979).

##### 3.3.1.2. STAFYLOKOKKER

Den vanligste form for matforgiftning generelt i vår del av verden, skyldes stafylokokker.

De koagulase-positive artene fra staphylococcus danner varme-stabile toksiner som gir årsak til matforgiftninger med kvalme og diaré. Organismene kan også forårsake ondartede betennelser. De forekommer på huden, hudkjertler og i nese- og munnslimhinnen hos mennesker og dyr.



De toksinproduserende artene kommer over i melk og meieriprodukter fra infiserte jurkjertler, infisert utstyr eller fra humane smittebærere. De forekommer derfor relativt hyppig i ost. På grunn av høy salttoleranse og evne til å vokse under anaerobe forhold får de gode vekstbetingelser i ost. Organismene kan vokse under anaerobe forhold når det er tilgang på et forgjærbart kullhydrat, ellers aerobt.

De toksinproduserende artene er som regel meget resistente mot NaCl og vokser godt ved en saltkonsentrasjon på 10%.  $A_w=0,86$ .

Staffylokokkene drepes lett ved lavpasteurisering, mens enterotoksinet ikke inaktiviseres. Dette toksinet er så varmostabilt at det tåler koking. Stabiliteten er imidlertid påvirket av surhetsgrad, saltinnhold og hvilket næringsmiddel det er tale om.

Enterotoksin A er mer varmostabilt ved pH 6,0 enn ved pH 4,5-5,5, mens enterotoksin D er mer stabil ved lav pH (TATINI, 1976).

Staphylococcus aureus (gul stafylokokk) forårsaker betennelser i huden, i benmargen, halsbetennelse, urininfeksjoner og jurbetennelse hos storfe. Organismen er pyogen (pusdanner) og danner gule kolonier på fast substrat. Den danner også plasma koagulase (et enzym som koagulerer blodplasma) og er Beta-hemolytisk på blodagar. Gule stafylokokker er ofte resistente mot antibiotika og sulfon-amider. De er ofte et problem ved sykehusene da de er årsak til postoperative infeksjoner.

Veksten er optimal ved 37°C, men vokser helt ned til 10°C.

Stafylokokker rapporteres stadig oftere som årsak til mastitt og i United Kingdom er denne organismen ansvarlig for omkring 50% av alle tilfeller av mastitt. Selv om ikke klinisk mastitt foreligger, finner en stafylokokker i melka (Nederland). En må derfor regne med at melka til stadighet kan være infisert med stafylokokker.

---

TATINI, 1976: S. Food Protection 39(6):43

SEAMAN & WOODBINE, 1977, har undersøkt en rekke faktorer vedrørende vekst av stafylokokker i ost. PH viste seg å ha en avgjørende innflytelse. I infisert ost økte celletallet dersom pH var høyere enn 5.0, mens det under pH 5.0 avtok. Ettervarming til 52°C i 13 minutter hindret formering av stafylokokker i osten. Stafylokokkinholdet avtok raskere i vanlig skorpeost enn i filmforpakket vare.

FITZ & OWENS, 1978, analyserte 70 prøver av innkjøpt Cheddarost fra 20 forskjellige forhandlere over en tremåneders periode. Humane stafylokokker kunne ikke påvises, mens *S. aureus* av bovin type og *Sc. faecalis* kunne regelmessig påvises. Innholdet av *S. aureus* varierte mellom 200 til 25000/g ost. Alle isolerte stammer var lett lipolytiske, eggeplomme-negative og beta-hemolytiske.

NAGIUB et al, 1979, podet ystemelk med *S. aureus* til 10000 celler pr. ml ved ysting av egyptisk Ras - ost. I tre dagers gammel ferskost hadde osten et innhold på ca 100 celler pr. g ost, som så avtok suksessivt til osten var *S. aureus* - negativ etter 38 døgn.

---

SEAMAN & WOODBINE, 1977. Butterwart & Co. Ltd. London s.139.  
FITZ & OWENS, 1978. Process Biochemistry 13 (12) 2  
NAGIUB et al, 1979. Archiv Lebensmittelhygiene 30 (6) 197.

Om man ikke kan påvise mikroorganismer i suspekt ost kan den likevel inneholde toksinet, mens påvisning av et visst antall stafylokokker i osten, på den andre siden, ikke behøver å medføre et tilsvarende enterotoksininnhold.

STADHOUDERS et al (1978) fant at 1% tilsetning av en 24 timers syrekultur til ystemelka var nødvendig for å påvirke utviklingen av Stafylokokkus aureus. Ved negativt redokspotensial kunne ingen utvikling av S-aureus forekomme.

### 3.3.1.3. SPOREDANNENDE BAKTERIER

Familien Bacillaceae omfatter som foran nevnt slektene Bacillus og Clostridium.

Bacillus cereus er som kjent blitt litt av et problem for enkelte konsummelkmeierier som årsak til den såkalte søt-koagulering av melka, men en kjenner ikke til intoksikasjoner på grunn av dette. Enterotoksinet er svært lite varmestabilt (50°C/30 min). I ost har de aerobe basillene relativt dårlige utviklingsbetingelser og en kjenner ikke til at ost har vært årsak til B.cereusintoksikasjon.

Intoksikasjoner er kjent fra London i 1971 der det var 40 tilfeller ved fortæring av kokt ris i kinarestauranter (GILBERT & TAYLOR, 1974).

B.cereus vokser i pH området 4,9 til 9,3 og det optimale temperaturområde 30-37°C, men psykrotrofe stammer finnes også ifølge HUTCHINSON (1978). Inkubasjonstiden før symptomene oppkast og diaré melder seg, kan for enkelte stammer være 1-5 timer, for andre stammer 8-16 timer. Vanligvis er symptomene over i løpet av 24 timer.

---

GILBERT & TAYLOR, 1974: IAMS-symposium, KIEL

STADHOUDERS, J. et al, 1978: Netherlands Milk and Dairy J.  
32(3/4):193-203.

De anaerobe Clostridier har her vesentlig bedre vekstbetingelser (jfr. smørсыregjering i ost). En må derfor også anta at de toksinproduserende artene Cl. perfringens og Cl. botulinum m.fl. vil kunne være potensielle årsaker til intoksikasjoner fra ost. EL-BASSIONY, 1979, undersøkte 163 prøver av melkeprodukter deriblant to typer av ost innkjøpt på by-markedet i Egypt- for forekomst av Cl. perfringens. 20% av den ene ostetypen og 30% av den andre typen viste positive prøver med et innhold på 40-60 km/g på SPS-agar og 170-140 km/g på TSN-agar. (SPS:Sulfitt-polymyxin-sulfadiazin, TSN: Trypton-sulfitt-neomysin)

Cl.perfringens kan skilles i fem serologiske grupper (A -E). 1) Hos mennesker er gruppe A den hyppigste årsaken til matforgiftninger når denne inneholder mer enn  $10^6$  km/g. Etter 8-16 timer gir enterotoksinet magesmerter og diaré. Toksinet har en molvekt på 34000 - 36000 med isoelektrisk punkt pH 4.3. Det inaktiveres av visse proteolytiske enzymer og ved temperaturer over  $60^{\circ}\text{C}$ .

Botulinumtoksinet, et av de mest giftige toksiner en kjenner, har oftest forekommet i røkte og saltede næringsmidler og i hermetikk. Rapporter om botulinum-intoksikasjoner fra ost er få og usikre. KOSIKOWSKI, 1971, har rapportert ett tilfelle av botulisme etter konsum av smelteost i USA, og GILLIES et al, 1974 og KAUF et al 1974 mener å ha registrert botulinumtoksin type B på fransk Brie, men ingen bakteriesporer kunne påvises.

BILLON et al, 1980, ystet bløt ost av melk som var infisert med 1500 sporer av Cl. botulinum type B og med Cl. ghoni. Ostene ble lagret ved henholdsvis 4, 12 og  $20^{\circ}\text{C}$  med 90 - 92% Rf i 11 uker, men ingen toksindannelse kunne registreres. Ved å infisere små-mattene som osten lå på med 1000 sporer/cm<sup>2</sup> kunne en etter 7 uker ved  $12^{\circ}\text{C}$  finne toksin i osteskorpene, men ikke i ostens indre. En måned etter den maksimalt registrerte toksinmengde (ved ca 11 uker) kunne en ikke lengre påvise toksinet.

Eksperimentelt er det vist at smelteost kan være et potensielt medium for Clostridier og at både sporer og toksin kan holde seg stabile i osten etter lengre lagring (KARIM & GRECZ, 1972).

KAUTTER et al, 1979, infiserte forskjellige smelteosttyper med 24000 sporer av Cl. botulinum type A og B. Etter inkubasjon i 50 døgn ved  $35^{\circ}\text{C}$  kunne toksinet registreres.

---

1)KATSARAT & HILDEBRANDT, 1979. Fleischwirtschaft 59(7)952

NOBUMASA et al, 1979, infiserte smelteost med 1000 sporer/g ost , men fant at gass og toksinproduksjon var avhengig av vanninnholdet og type smeltesalt som ble anvendt. Smeltesalter med høyt citratinnhold ga bedre utviklingsbetingelser for toksinproduksjon enn smeltesalter på fosfatbasis. For sistnevnte kunne det ikke påvises hverken gass eller toksindannelse når vanninnholdet i osten var lavere enn 54%.

- 
- GILLIES, G. et al, 1974: Bull. Acad. Vet. Fr. 47, 165.  
KAUF et al, 1974: Schweiz. Med. Wochenschr. 104,677.  
KOSIKOWSKI, F.V., 1977: Cheese and Fermented Milk Foods,  
2nd. Ed, The Author , Ann Arbor Mich.  
EL-BASSIONY, 1979. J. Food Protection 43(7) 536.  
KATSARAT & HILDEBRANDT, 1979. Fleischwirtschaft 59(7) 954  
KAUTTER et al, 1979. J. Food Protection 42(10)784.  
NOBUMASA et al, 1979. J. Food Protection 42(10)787  
BILLON et al, 1980. Le Lait 60 (597) 329

Innen familien Enterobacteriaceae er det som kjent en rekke slekter med arter som gir årsak til næringsmiddelbårne infeksjoner, de fleste innen slekten Salmonella, men også innen slektene Escherichia, Shigella og Yersinia.

Salmonella er bevegelige til ubevegelige, gram negative, aerobe stavbakterier. De forgjærer vanligvis ikke lactose eller sakkarose. De er patogene for varmblodige dyr og for mennesker. 7

S.typhi og S.paratyphi er spesifikk humanpatogene og forårsaker tyfus og paratufus A og B hos mennesker. Andre arter forårsaker tarmbetennelser (Salmonelloser) med lignende symptomer som de som er karakteristisk for toksinene fra Staphylococcus aureus, men det tar lengere tid før symptomene manifesteres (12 - 30 timer). (Staphylococcus-forgiftningene er akutte og har gjerne en varighet av et døgnns tid).

Salomonellose har vært påvist ved konsum av infisert ost. Pultost og Gammelost synes her i landet å være de ostetypene som mest alminnelig har vært involvert i sykdomstilfellene. Salomonella hvittingfoss ble påvist som årsak til infeksjon gjennom pultost fra Hvittingfoss.

Salomonella-bakteriene ødelegges ved vanlig lavpasteurisering. Melk og meieriprodukter infiseres gjennom dårlig rengjorte redskaper og utstyr og gjennom friske smittebærere.

En rekke diagnostiske media og antisera nyttes for å påvise og identifisere Salomonella-artene.

Fra utlander foreligger en rekke rapporter på næringsmiddelbårne infeksjoner med Salomonella, der ost har vært mistenkt som årsak (FABIAN , 1947 ). Salomonella typhimutium er påvist i Colby-ost (WRIGHT 1945, TUCKER 1947). Samme organisme var årsak til 12 tilfeller Salomonellose ved konsum av Cottage cheese (BASARD et al 1964). Salomonella heidelberg ble funnet i Cheddarost som var årsak til en rekke sykdomstilfeller i Colorado, USA, 1976. (White & Custer, 1976).

FABIAN, F.W., 1947: Am. J. Public Health. 37,987.

WRIGHT, P. A. 1945: Bull. Kentucky Dept. Health. 18,492.

TUCKER, C.B. et al, 1946: J.Am.Med.Ass. 113,1119.

BASARD, I.P. et al, 1964: Microbiol. Parazitol Epidemiol, 9,543.

WHITE, L.H. & CUSTER, E.W. 1976: J. Milk Food Technol. 39,328.

Det er vist at *S.typhi* overlever i Cheddarost i ti måneder ved ca 5°C og i tre måneder ved ca 15°C. (CAMPBELL & GIBBARA 1944). *Salmonella* kan utvikle seg godt under ystingen dersom syrningen går tregt, men også ved normal syrningshastighet er det vist at fire generasjoner kan oppstå natten over (REAMER et al, 1974).

I oster som syrnes til en pH på 4,55 i ferskosten synes ikke *Salmonella* ha muligheter til å vokse.

Overlevingsgraden i Samsø var større ved 10-12°C enn ved 16-20°C (BRUHN et al, 1960). Selv om de aktuelle overleveringstider varierer sterkt med ostetype, infeksjonsgrad etc., vil en måtte regne med at organismen vil være tilstede i konsum-moden ost.

Enteropatogene stammer av *Escherichia coli* har i den senere tid vært påvist som årsak til gastro-enteritis og der Camembert og Brie har vært infeksjonskildene (PARK et al, 1974).

*E.coli* 0124 har i disse tilfeller vært isolert fra osten og og pasientene.

O-Serotypen av *E.coli* synes også å være årsak til mastitt. Av 279 isolater ved klinisk mastitt fant LINTON et al (1979) 67 *E.coli*. Da antallet coliforme bakterier vanligvis reduseres sterkt i faste løpeoster under lagringen er det trolig størst sjanse for at bløte oster med kort modningstid vil være de mest potensielle infeksjonskilder.

*Klebsiella pneumoniae* har ifølge GROOTENHUIS 1979, vært påvist som årsak til mastitt.

Når det gjelder *Shigella* er denne organismen ikke involert i bovine infeksjoner og få rapporter foreligger om humaninfeksjon via ost. Ett tilfelle av infeksjon med *S.somei* fra ost er beskrevet av RUBINSTEIN (1964).

---

CAMPBELL, A. G. & GIBBARA, J. 1944: Can. J. Public Health, 35:158.

LINTON, A. H. et al 1979: J. of Applied Bacteriology 46:585-590.

BRUHN., P.A. et al 1960: Beretn. Forsøgsm. Kbh. 124,1.

PARK, C.E., TODD, E. C.D., PURVIS, U. & LAIDLEY, R., 1974. Lsncet 1.

RUBINSTEIN, s.S., 1964: Presse med., 72, 2115.

GROTENHUIS, G. 1979. Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 104(22)888

Shigella-arter ble også påvist som infeksjonskilde ved konsum av en saumelksost i Tsjekkoslovakia i 1974 (GURYCA 1975). Osten var infisert under produksjonen, fra humane kilder. I gresk surmelksost er det vist at S.somei kan overleve fra 24-92 døgn. (TZANNETIS & PAPAVALASSILIOU, 1975). Infeksjonsdosen er som kjent svært liten når det gjelder Shigella.

Yersinia enterocolitica er en art av Yersinia (tidligere Pasturella) som i løpet av en kort periode i den senere tid har vært registrert som årsak til akutte gastroenteritis.

Organismen kan isoleres fra faeces blod urin, byller, etc. hos personer som ikke viser infeksjonssymtomer (latente smittebærere). Den biotype/serotype (0:3) som oftest er årsak til sykdom hos mennesker, kan sikrest påvises fra gris, mens andre typer av Yersinia enterocolitica isolert fra andre dyrearter skjeldnere synes være forbundet med sykdom hos mennesker (SCHIMANN & TOMA, 1978).

Vannbårne Yersiniainfeksjoner synes også være av en noe annen type enn de som kan isoleres fra mennesker. I Canada har man påvist Yersinia cuterocol fra pasteurisert melk i 1975 og ved tilfeller av Yersinosis i 1976 ble organismene isolert fra rå melk. Fra sjokolademelk som var årsak til sykdomsutbrudd hos konsumentene, kunne en i USA påvise den samme Y.enterocolitica (serotype 0:8) både fra melken og pasientene (BLACK et al 1978).

SCHIMANN & TOMA (1978) undersøkte 131 råmelksprøver med fire forskjellige anrikningsmetoder og kunne påvise Yersinia enterocolitica i 42 prøver. Serotype 0:5 var dominerende, men en fant også en rekke atypiske varianter som ikke gav kliniske tilfeller. Noe liknende resultater fant HUGHES (1979) for australsk melk. CHAKRABORTY et al (1978) synes å ha påvist Yersinia (Pasturella) multocida som årsak til mastitt.

GURYCA, V., 1975: Veterinarstvi, 25, 361.

TZANNETIS, S. E. & PAPAVALASSILIOU, J., 1975: Alimenta, 14, 87.

SCHIMANN, D.A. TOMA, S. 1978: Applied and Environmental Microbiology 35(1):54-58.

BLACK, R.E. et al, 1978: New England J. Med. 298,76.

CHAKRABORTY, A. K. et al. 1978: Veterinary Record 103,313.

HUGHES, D. 1979: J. of Applied Bacteriology 46: 125-130



Melk er et godt vekstmedium for *Yersinia* og organismen vokser godt ved lave temperaturer (kjøletemperatur).

Organismen ødelegges lett ved pasteurisering. Selv om en ikke kjenner til dokumenterte tilfeller av ostebårne Yersiniose er det meget sannsynlig at ost ystet av upasteurisert melk eller pasteurisert melk reinfisert fra humane smittebærere, vil kunne fungere som bærer og infeksjonskilde.

SCHIEMANN, 1978, påviste *Yersinia enterocolitica* i leverandør-melk fra et distrikt i sør Ontario, USA. Det ble ystet ost av upasteurisert melk med sikte på oppfølging av denne floraen i osten. I ferskosten var innholdet av *Yersinia* bare halvparten av melkens innhold. Oster som var *Yersinia*-positive etter 4 ukers lagring var negative etter 8 uker. Ingen salgsmodne oster var *Yersinia*-positive.

MOUSTAFA et al, 1983, fant at *Yersinia enterocolitica* podet i ystemelk til Colby-ost økte ca 1000 x under ystingen, til ca  $10^6$  CFU/g ostemasse, men gikk så gradvis tilbake. To forskjellige stammer av *Y. enterocolitica* ble anvendt. Ost infisert med den ene stammen var *Yersinia* negativ etter 7 ukers lagring ved  $3^{\circ}\text{C}$ , mens det i den andre ystingen med den andre stammen etter 8 uker fremdeles var 200 CFU/g ost.

Enterotoksinet fra *Yersinia enterocolitica* har stor likhet med enterotoksinet fra *E.coli* ifølge ROBINS-BROWNE, et al 1979.

+ gutteorname: jmf. Indestad.

---

SCHIEMANN, 1978. App. Environmental Microbiol. 36 (2) 274.  
 ROBINS-BROWNE et al, 1979. Infection and Immunity 25 (2) 680.  
 MOUSTAFA et al, 1983. J. Food Protection 46 (4) 318.

### 3.3.1.5. BRUCELLA.

Slekten *Brucella* fra familien *Pseudomonadaceae* omfatter seks nærbeslektete arter, *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* og *B. canis*. Alle er Gramnegative, ubevegelige korte staver eller kokker, enkeltvis eller i korte kjeder. Danner ikke sporer, flageller eller kapsler. De er strikt aerobe og har relativt komplekse næringskrav. Flere aminosyrer, thiamin, biotin, niacin og magnesium er essensielle vekstfaktorer. Tilsetning av blod øker veksten. Optimaltemperaturen for vekst er ca 37°C, men vokser mellom 20 og 40°C ved pH 6.6 - 7.4 . Alle er katalase - positive.

Nesten alle artene er patogene for mennesker eller dyr. De infiserer kjønnsorganer, melkekjertlet, luftveier og tarmkanaler.

*B. abortus* forekommer fortrinnsvis hos storfe, *B. melitensis* hos geit og *B. suis* hos svin. Alle tre artene er patogene for mennesker og fremkaller abort og kalvekastingsfeber (Brucellose).

Smitten kan overføres gjennom huden eller gjennom fordøyelseskanalen, f. eks. ved konsum av upasteurisert melk.

*B. melitensis* er årsak til den såkalte maltafeberen eller middelhavsfeberen. Dette er en langvarig febril lidelse som ofte spres gjennom geitmelk.

Ost ystet av upasteurisert melk må forventes å være en potensiell infeksjonskilde selv om konkrete rapporter synes å mangle.

### 3.3.1.6. CORYNEBAKTERIER

Corynebakteriene er vanligvis ubevegelige stavbakterier som lever som parasitter eller patogener på dyr, mennesker eller planter. De er normalt gram positive, aerobe til mikroaerofile. De er påvist i jord og i meieriprodukter. Corynebakterier drepes ved lavpasteurisering.

Innen slekten Corynebakterium er følgende arter av interesse:

C.diphtheria eller difteribasillen, <sup>som</sup> danner et giftig eksotoksin som forårsaker difteri hos mennesker. Toksinet går over i blodet og skader forskjellige nervesystemer.

C.pyogenes er blitt påvist i forbindelse med jurbetennelse.

Organismene blir overført til melken fra syke dyr eller gjennom friske smittebærere. De kan forekomme i ost ystet av rå melk. Normalt vil de gå til grunne i osten i løpet av kortere eller lengere tid.

C.bovis kan av og til bli isolert fra melk i forholdsvis stort antall. Den er vanligvis ikke patogen, Men VALE & SCOTT (1977) beskriver seks nyere tilfeller av C. bovis - infeksjoner som førte til forskjellige lidelser. Infeksjonene førte til ett dødsfall.

### 3.3.1.7. TUBERKULOSEBAKTERIER

Artene under ordenen Actinomycetales består av celler som ofte har tendens til å danne forgreninger. Enkelte arter danner sporer (oidier, konidier eller sporangiesporer). Hos enkelte arter er cellene syrefaste.

Slekten *Mycobacterium* omfatter syrefaste ubevegelige stavformede celler som ikke danner mycel. De er gram-positive. *Mycobacterium tuberculosis* var.hominis og var.bovis fremkaller tuberkulose. Begge artene er patogene både for mennesker og storfe, men var.bovis er sterkere patogen for storfe enn den humane type.

Bakteriene er meget motstandsdyktig mot ugunstige miljøfaktorer som f.eks. uttørring. De er de mest varmeresistente av de ikke spordannende patogene bakterier som kan forekomme i melk og melkeprodukter. De tid- og temperaturkombinasjoner som vanlig nyttes ved pasteurisering av melken er fastlagt slik at de med sikkerhet skal være letale for disse bakteriene.

Organismene forekommer derfor ikke i melk som er forskriftsmessig pasteurisert uten å være tilført melken eller produktene etter pasteuriseringen.

De menneskepatogene organismene kan tilføres melka og melkeproduktene fra syke dyr eller fra humane smittebærere. Osten er som regel et ugunstig miljø for disse organismene og de vil gå til grunne i løpet av kortere eller lengere tid. Enkelte land har derfor bestemmelser om at ost som er ystet av upasteurisert melk skal lagres en viss tid før den markedsføres. I U.S.A. er lagringstiden satt til minimum 60 døgn.

Det kreves omfattende og kompliserte undersøkelser i laboratoriet for å påvise tuberkulose-bakteriene i melk og melkeprodukter.

### 3.3.1.8. CAMPYLOBACTER:

Campylobacter tilhører Bergey's gruppe 6, spiral og kurveformete bakterier.

Slekten Campylobacter består av små, bøyde, Gram negative staver som er mikroaerofile til anaerobe. De tilhører familien Spirillaceae. Enkølte arter er patogene for mennesker og dyr.

C. fetus subsp. jejuni forårsaker magesmerter, diare og feber hos mennesker.

Ved konsum av upasteurisert melk er det i 1978 - 79 rapportert om Campylobacterenteritis både fra England og USA, men en kjenner hittil ingen tilfeller av slik infeksjon fra ost.

EHLERS et al, 1982 har podet ystemelk til Cheddarost med inntil  $10^6$  C. fetus sp. jejuni-celler pr ml melk. Bakterien kunne imidlertid ikke påvises i 30 - 60 døgns gammel ost.

Ved poding av ystemelk til Cottage cheese kunne organismen ikke påvises hverken i osten eller mysa etter ettervarmingen av osten ved  $55^{\circ}\text{C}$  i 30 min.

## 3.3.2. MUGG

Endel muggtyper produserer varmestabile stoffer som er toksiske for vertebrater, de såkalte mykotoksiner, som regulære metaboliske komponenter. Det har i den senere tid blitt beskrevet over 100 slike mykotoksiner. (REISS, 1976). Blant disse er kanskje de såkalte aflatoksiner best kjent og med sterkest toksisk virkning.

Aspergillus flavus og Aspergillus parasiticus er de to mest kjente aflatoksinproduserende artene, men også en rekke andre arter av samme slekt, så som A.oryzae, A.aceuari, A.ostium, A.niger, A.ochraceus, A.ventii, A.glaucum og A.ruber kan være toksinproduserende. Sporeformer for Aspergillus-flavus, -ochraceus, -versicolor og Penicillium islandicum er vist i figur 3.3.2.1

Ifølge WALSER & KLEINSCHROTH, 1979, kan arter av Aspergillus også være årsak til Mastitt. Det beskrives 6 slike tilfeller som tildels forløp akutt og de lot seg ikke behandle med antimycetika.

Det er vist at aflatoksiner fører til endringer i kromosomene både hos dyr og planter. I følge TONG MAN ONG (1975) vil denne mutageneffekten bestå selv etter en varmebehandling av toksinet i 30 minutter ved 120°C.

De viktigste mykotoksinene er Aflatoksiner, Ochratoksin A, Sterigmatocystin, Patulin, Penicillinsyre og Zearalenon.

Strukturformlene for Aflatoksinene er vist i figur 3.3.2.2. Aflatoksinene betraktes som de sterkeste naturlige kreftfremkallende stoffer som kjennes. B<sub>1</sub> har høyeste toksitet, men ellers er toksisiteten noe forskjellig overfor de forskjellige dyreslag.

---

REISS, J. 1976: *Zeitung für Ernährungswissenschaft* 15: 168-176

TONG-MAN ONG, 1975: *Mutation* 32: 35-53.

WALSER & KLEINSCHROTH, 1979. *B&M Tierärztliche Wochenschrift* 92 (7) 129.

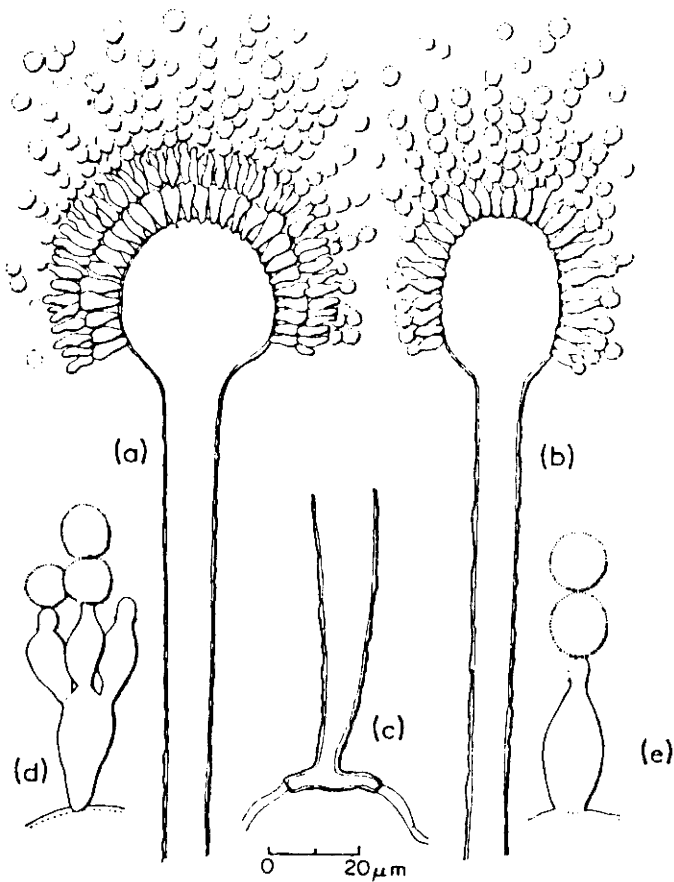


Figure A. *Aspergillus flavus* Link  
 (a) Sporing head with biseriata phialides.  
 (b) Sporing head with uniseriate phialides.  
 (c) Base of conidiophore.  
 (d) Detail of biseriata phialides.  
 (e) Detail of isolated phialide

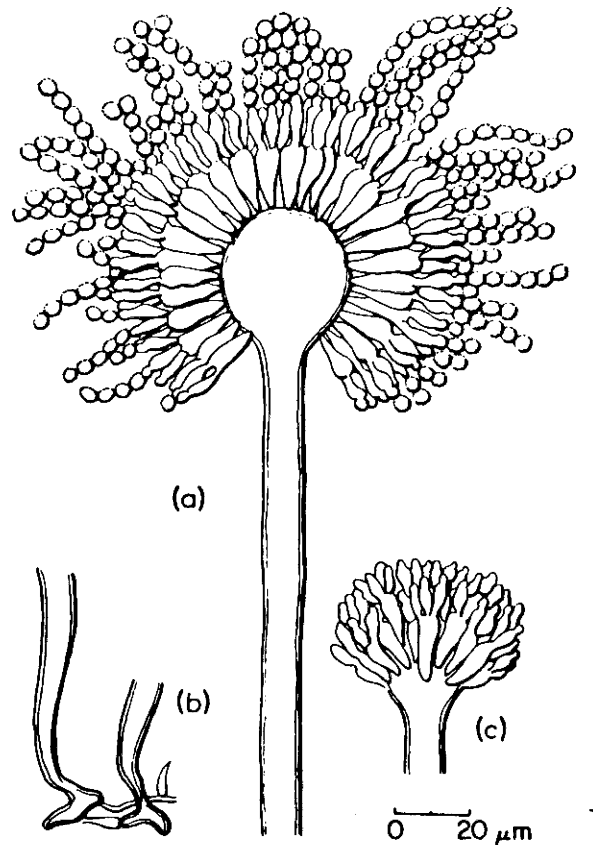


Figure B. *Aspergillus ochraceus* (a) Conidial head.  
 (b) Base of conidiophore. (c) Young conidial head in profile (after Pelhâte)

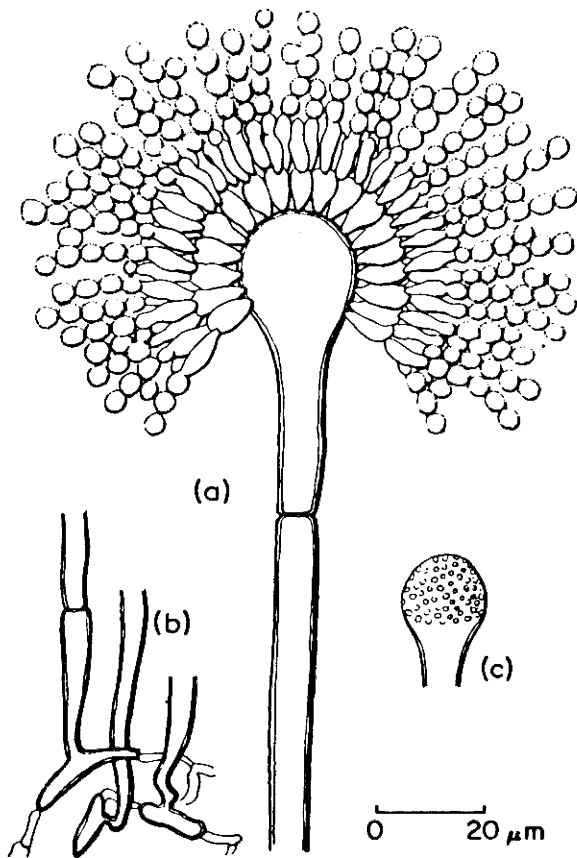


Figure C. *Aspergillus versicolor* (a) Conidial head.  
 (b) Base of conidiophores. (c) Top of conidial head before the development of phialides (after Pelhâte)

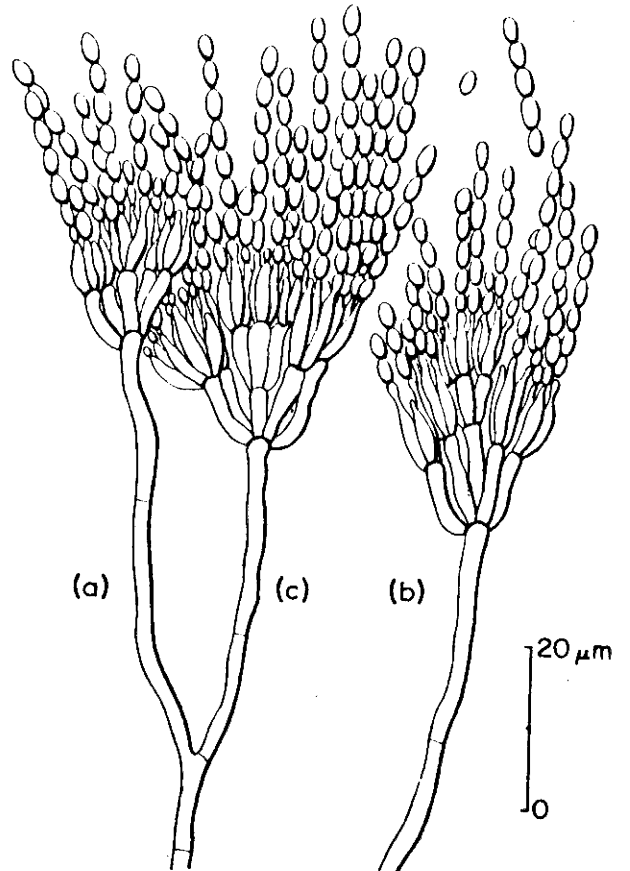


Figure D. *Penicillium islandicum* - Conidial head.  
 (a) A single verticil of metulae. (b) After having formed a primary verticil of metulae the axis has proliferated to form a second verticil of metulae, much shorter than the first. (c) The same as (b) but the verticil is more dense.

Relativt liten toleranse mot aflatoksiner har dyr som hund, hare, kalkun, andunger, kylling - embryo og regnbueørret, mens kyllinger, mink, ku, kalv, gris og aper er noe mer resistente. Sau og mus hører med til dyr som tåler relativt store mengder aflatoksiner.

Testet på andunger er den letale dose av de respektive aflatoksiner i mg pr. kg kroppsvekt:

$B_1$  - 0,36

$B_2$  - 1,7

$G_1$  - 0,8

$G_2$  - 2,5

$M_1$  - 0,8

$M_2$  - 3,1 (etter IDF, F-doc. 30, 1974)

Parasiticol - 0,25

Aspertoxin - 0,7

De vanligste symptomer er skader på leveren av forskjellig art. Det høye antall tilfeller av leverkreft hos Bantunegrer i Afrika antas å skyldes stort konsum av aflatoksinholdig mat.

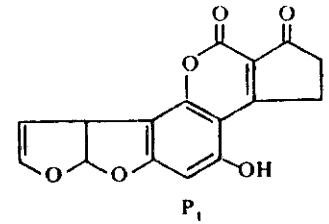
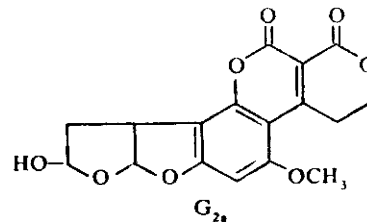
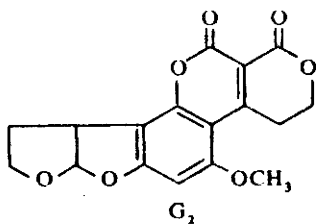
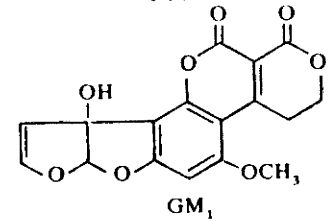
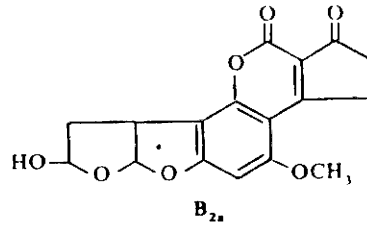
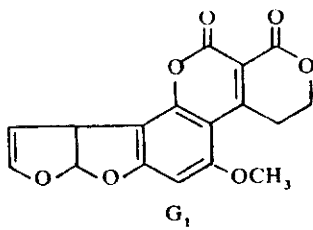
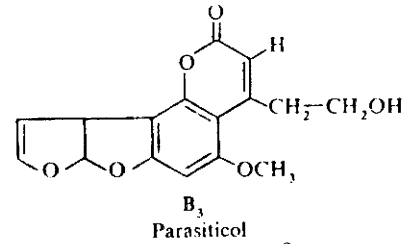
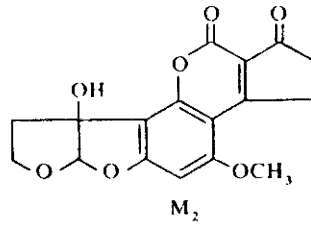
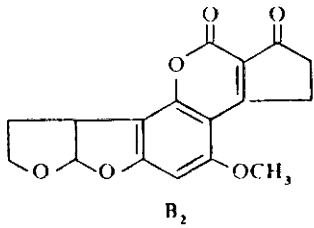
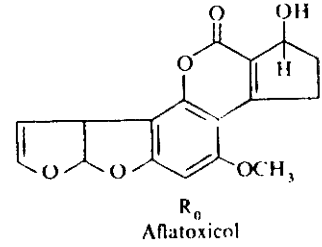
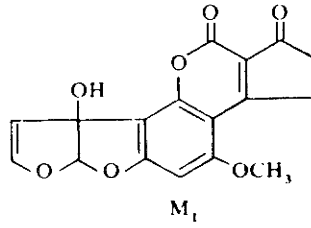
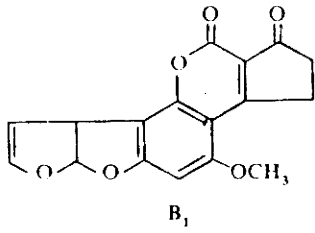
Undersøkelse av 3000 prøver av næringsmidler i Tailand viste god korrelasjon mellom tilfeller av leversykdommer og Aflatoxin i prøvene. (ENGEL, 1976).

I varme- og fuktige strøk har de toksinproduserende artene vanligvis gode vekstbetingelser.

Den aktuelle produksjon av toksinet er imidlertid avhengig av en rekke faktorer, kanskje først og fremst av temperatur og relativ fuktighet, men også av lys, ventilasjon, substrat-egenskaper konkurransemessigvekst av andre mikroorganismer osv.



Kraftige kraft fra hall ande stoff.  
 kraftigst.  
 ↓



Figur 3.3.2.2. Strukturformler for Aflatoksiner

Hvilke toksinmengder kan en så vente å finne i melk og melkeprodukter ?

POLZHOFER (1977) undersøkte en rekke meieriprodukter i tidsrommet september 1972 til desember 1974 for mykotoxiner. Bare Aflatoxin ble funnet.

Tabell 3.3.2.1. Aflatoksinmengder i endel meieriprodukter.

	%positive prøver	µg/kg	
		middel	maksimum
Melk	45	0,07	0,33
Melkepulver	73	0,50	2,00
Yoghurt	82	0,20	0,47
Ferskost	34	0,23	0,51
Camembert	51	0,31	0,73
Faste oster	75	0,43	1,3
Smeltost	40	0,26	0,55

Det var ingen distriktsvise variasjoner i prøvene, men en tydelig årstidsvariasjon. 70% av prøvene var positive på vintermelk (nov.-mai), mens bare 20% var positive på sommermelk (juni-oktober).

KIERMEIER et al (1977) undersøkte i Bayern 419 prøver av leverandørmelk i tidsrommet mars - april med hensyn på Alfatoxin M-1. Av 61 positive prøver kunne en i 41 tilfelle påvise Alfatoxin B i formidlene. 19% av prøvene var positive og hadde et innhold på mellom 0,02 og 0,54 , middel 0,21 µg/kg.

Det viser seg at med inntak av Aflatoxin B i kua blir dette omsatt til type M, som skilles ut i melken. Dersom kyr får Aflatoxin minker melkemengden. Omlag 1% av konsumert Aflatoxin gjenfinnes i melken (etter 12-24 timer og 3-4 dager etter inntak).

POLZHOFER , Zeitschrift für Lebensmittel-Unters. und Fors.163(3)  
KIERMEIER et al, 1977: Zeits. für Lebens.-Unters. und Fors.

Ifølge BRANDEL, 1976, blir fra 0.3 til 2% av formidlenes innhold overført til melken.

Ved fremstilling av tørrmelk kan da Aflatoxininnholdet konsent-  
reres opp med inntil 8 ganger.

KIERMEIER et al (1977) undersøkte også eventuell overgang i ost fra slik melk. Av 197 prøver var 69% positive, fra spor til 0,23 µg/kg, middel 0,09 µg/kg.

Disse fant at det ved ystingen av aflatoxinholdig melk fikk en anrikning i osten med fra 3,2 til 3,7 ganger melkens innhold. BRACKETT & MARTH, 1982, fant en faktor på 8.1 ved ysting av Mozzarellaost.

EGMOND et al (1977) laget ost og Yoghurt av melk som inneholdt fra 1,52 til 1,72 µg M<sub>1</sub> pr kg (fra kyr foret med B<sub>1</sub>). Hverken pasteurisering eller sterilisering av melken påvirket innholdet av M<sub>1</sub>. Innholdet av M<sub>1</sub> i Goudaost var 7 - 8 µg/kg og avtok ikke ved seks måneders lagring.

SUTIC & BANINA (1979) har vist at aflatoksin påvirker både morfologiske og fysiologiske egenskaper hos melkesyrebakterier. Syrningsaktiviteten hos Lb.helveticus økte, mens den avtok for Lb.casei. I Yoghurtkultur med 15-50 g/ml aflatoksin AB, ble syrningstiden økt med 90-105 min.

---

BRACKETT & MARTH, 1982. J. Food Protection, 45 (7) 597

BRANDEL, 1976.

KIERMEIER et al, 1977: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch.164(2):87-91.

EGMOND et al 1977: Archives de l'Institut Pasteur de Tunis 54(3-

SUTIC, M. & BANINA, A., 1979: Mljekarstvo 29(5): 106-111

Ved ysting av Aflatoksinholdig melk vil dette mycotoksinet gjenfinnes i osten. En annen mulig kilde kan være vegetasjon av toksinproduserende muger direkte på osten.

For om mulig å kunne demonstrere dette har en rekke forskere utført modellforsøk med poding av ost eller ostemasse med forskjellige typer av muger, dels isolert fra vanlig handelsvare av ost, men også testet forskjellige stammer av kulturmuger for eventuell toksinproduksjon på ost.

Slike forsøk har vist at det er svært vanskelig å påvise Aflatoksin i slik podet ost selv når det er god vekst av kjente toksinproduserende arter. Bare ved unormalt høye lagringstemperaturer har en kunnet påvise aflatoksiner i mindre mengder ved slike forsøk. Dersom de samme kulturene derimot dyrkes på sukkerholdig materiale dannes toksinene med letthet.

Sukkerets betydning for toksinproduksjon er godt demonstrert i et forsøk av ABDOLLAH & BUCHANAN, 1981, med A. parasiticus. Kulturene ble først dyrket opp i et sukkerfritt peptonmedium hvor ingen toksinproduksjon skjedde, og deretter tilsatt en rekke forskjellige karbohydrater. Aflatoksinproduksjon ble da induert av: Ribose, Xylose, Glukose, Fruktose, Sorbose, Mannose, Galaktose, Maltose, Sukrose, Raffinose samt Glyserol.

Syntese av aflatoksin ble ikke induert av: Laktose, Laktat, Natriumpyrovat, Oljesyre, Citronsyre eller Natriumacetat.

Det er også vist at laktat er uegnet som substrat for aflatoksin-syntese med A. flavus. (ORTH, 1976).

Selv om forsøk har vist at enkelte muggetyper kan produsere Aflatoxin under vekst på produsert ost under spesielle forhold, synes ikke dette være den hyppigste årsak til de påviste mengder i osten. Oppmerksomheten må nok i like stor grad rettes mot foret som kua får. Da det har vist seg at det er jordnøtter som vanligvis er kilden for toksinet, skal det maksimum nyttes 15% jordnøttmel i kraftforet og melet må ikke inneholde mer enn 0,6 mg Aflatoxin pr. kg. FAO har fastsatt det høyeste innhold av Aflatoxin i formidler til 50 µg/kg. I Norge er det ikke tillatt å anvende jordnøtter som kraftforbestanddel.

---

ABDOLLAHI & BUCHANAN, 1981. J. Food Protection, 46, 633.

ORTH, 1976.

Det er utviklet metoder til å redusere Aflatoxin-innholdet ved tilsetning av visse amoniakkderivater, f.eks. amoniumacetat, -propionat eller -isobutytrat. Disse binder seg til A og reduserer giftvirkningen. Dette skjer raskt ved pH 7-8. Glutation inaktiverer patulin og penicillinsyre. 50-100-150 µg Aflatoxin ble inaktivert og testet på hønsebry, larver og *B.subtilis* (LIEU & BULLERMAN, 1978).

Laktoperoksydase omdanner Aflatoxinet. Under innvirkning av peroksydase blir Aflatoxin B<sub>1</sub> omdannet til B<sub>2a</sub>-typen (DOYLE & MARTH, 1978).

MARTH & DOYLE (1979) har også undersøkt stabiliteten av Aflatoxin under forskjellige betingelser (Syre, lut, oksydasjonsmidler, varme, bestråling, o.s.v.). Mikrobiologisk nedbryting av toksinet diskuteres også.

Antiserum mot Aflatoxin M<sub>1</sub> er fremstilt av HARDER & CHU, 1979.

Det er ikke registrert aflatoksiner i norsk melk ifølge YNDESTAD.

Sterigmatocystin er i likhet med aflatoksinene et furanderivat. Strukturformel for Sterigmatocystin er vist i fig.3.3.2.3. Den toksiske effekten av Sterigmatocystin er omtrent som for Aflatoksin B<sub>1</sub>. Letaldosene varierer fra 32 mg pr kg kroppsvekt for aper til 800 mg/kg for mus.

Sterigmatocystin produseres av en rekke Aspergillus-arter samt av Bipolaris sorokiniana, Drechslera sp. og Penicillium luteum.

Ifølge NORTHOLT et al, 1979, har det vært påvist små mengder Sterigmatocystin i osteskorpene på oster sterkt mugøbefengt av Aspergillus versicolor. Toksinet ble bare påvist i inntil 10 mm dybde i mengder fra 5 til 600 mikrogram/kg.

Ochratoksinene er en annen gruppe av mycotoksiner bygget opp av isocumarin og fenylalanin. Minst 9 varianter av Ochratoksiner er kjent, men bare Ochratoksin A synes å ha reell betydning som kontaminant i næringsmidler. Toksisiteten for Ochratoksin A synes å ligge noe mellom den for aflatoksiner og Sterigmatocystin. Letale doser varierer mellom 0.2 til 54 mg/kg for forskjellige dyreslag.

Strukturformelen for Ochratoksin A er vist i figur 3.3.2.3. I følge DAVIS, 1981, er Ochratoksin A en normal metabolitt hos følgende arter: Aspergillus ochraceus, A. alliaceus, A. petrakii, A. sclerotiorum, A. sulphureus, Penicillium viridicatum, P. commune, P. cyclopium, P. palitans, A. purpurescens og P. variable.

Zearalenon er et østrogen som bl.a. har virkning på kjønnsdrift. Dette kan gi såkalt hyperøstrogeneri hos svin med bl.a. abort til følge.

Zearalenon er en naturlig metabolitt hos Fusarium roseum, F. tricinctum, F. oxysporum og F. moniliforme. Muggen har lett for å utvikle seg på bygg og mais under lagring.

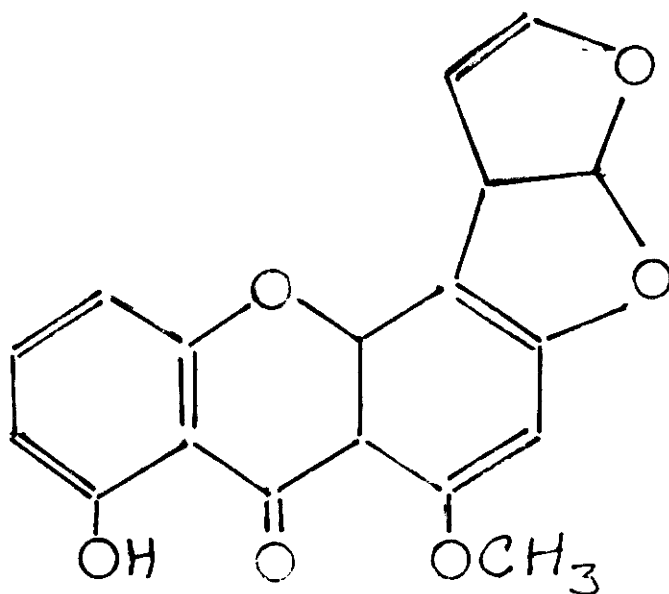
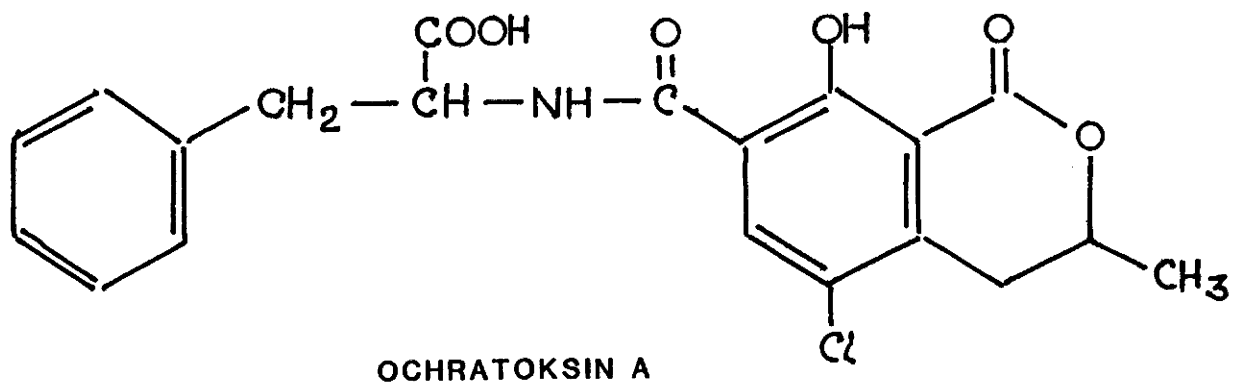
SHREEVE et al, 1979, foret voksne Jersey-kyr med bl.a. konsentrerte rasjoner av zearalenon 7 - 11 uker før slakting.

De fant ingen åpenbar effekt på melkeytelsen og metabolitten kunne ikke påvises hverken i melk, urin, serum, muskler, lever eller nyrer.

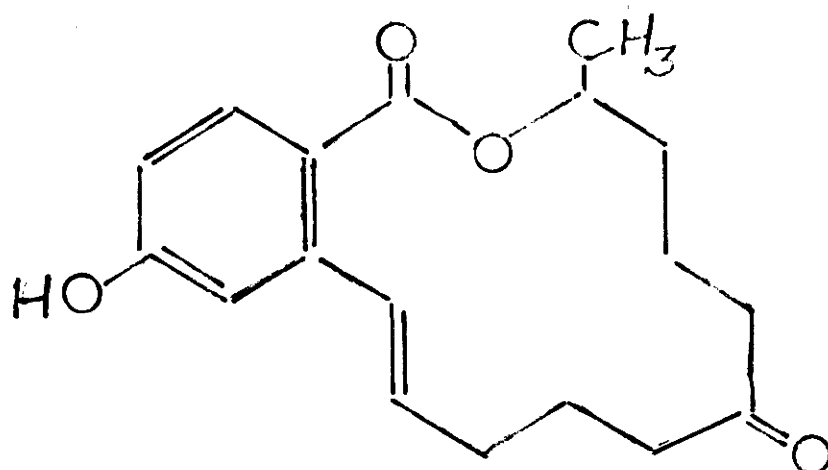
---

DAVIS, 1981. J. Food Protection, 44(9) 712.

SHREEVE et al, 1979. Food and Cosmetics Toxicology, 17 (2) 151

Sterigmatocystin

Asp. flavus



Zearalenone

Penicillinsyre, Patulin og Citrinin representerer en mer ustabil gruppe av mycotoksiner.

Strukturformlene for disse er vist i figur 3.3.2.<sup>4</sup>.

De to førstnevnte metabolittene produseres av en rekke Aspergillus og Penicilliumarter, mens sistnevnte bare produseres av P. citrinum ifølge SCOTT, 1981.

Patulin har vært påvist i store mengder i bl. a. epleaft, men synes å ha liten mulighet til å kunne dannes i et medium som ost. I likhet med aflatoksinene synes tilstedeværelsen av lett omsettbare sukkerarter å være en betingelse for syntesen av toksinene. I produkter med høyt proteininnhold og lavt karbohydratinnhold er betingelsene for dannelsen av disse stoffene svært dårlig. Eventuelt dannet patulin vil dessuten bli inaktivert i proteinholdig materiale som ost og kjøtt.

NORTHOLT et al, 1979, podet Goudaost med P. cyclopium og dyrket denne under forskjellige betingelser. Selv i mugkolonier med diameter på 30 mm kunne det ikke påvises penicillinsyre.

Ifølge ENGEL & PROKOPEK, 1980, kunne det ikke påvises hverken patulin eller penisillinsyre i ost som var fremstilt med stammer av P. roqueforti som hadde evnen til å produsere disse stoffene i sukkerholdig medium.

Stabiliteten av Citrinin er også svært dårlig, slik at sannsynligheten for dette stoffet ~~kan forekomme~~ i ost er liten.

Det samme kan sies om det såkalte PR-toksinet og de beslektede Eremofortiner A-B-C-D. Strukturformelen for disse metabolittene er vist i figur 3.3.2.5.

PR-toksinet viser seg å inhibere protein- og nukleinsyresyntesen og gi mutagene effekter, mens eremofortinene hverken er toksiske eller mutagene. Dyrket i sukkerholdig materiale synes de fleste stammer av P. roqueforti å kunne produsere disse metabolittene, men er ikke funnet i blåmugost.

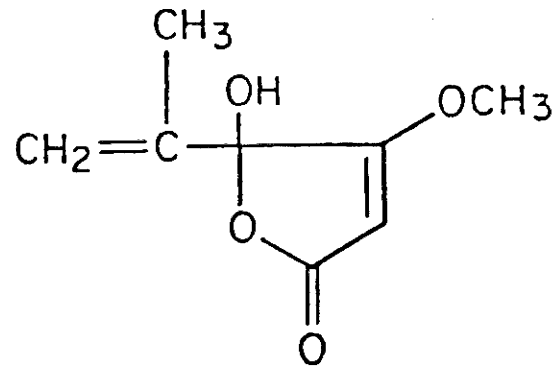
Pr-toksinet reagerer lett med ammoniumforbindelser til den langt mindre toksiske iminforbindelsen som også er ustabil.

NORTHOLT et al, 1979. J. Food Protection 42 (6) 476.

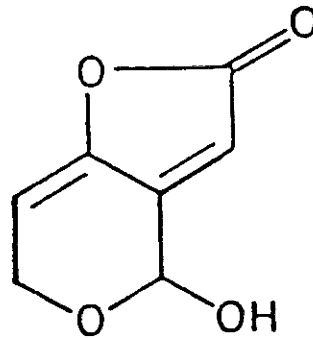
ENGEL & PROKOPEK, 1980. Milchwissenschaft 35 (4) 218.

SCOTT, 1981. J. Food Protection 44 (9) 702.

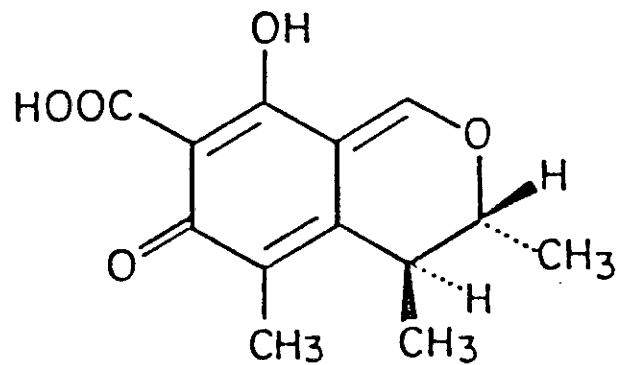




PENICILLINSYRE

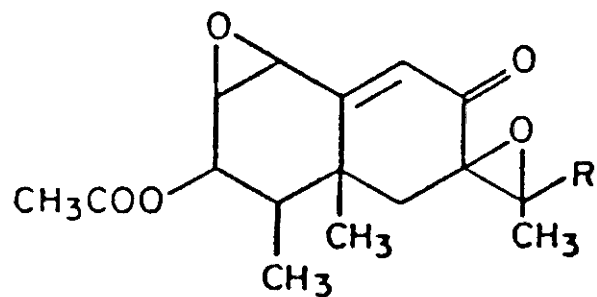


PATULIN

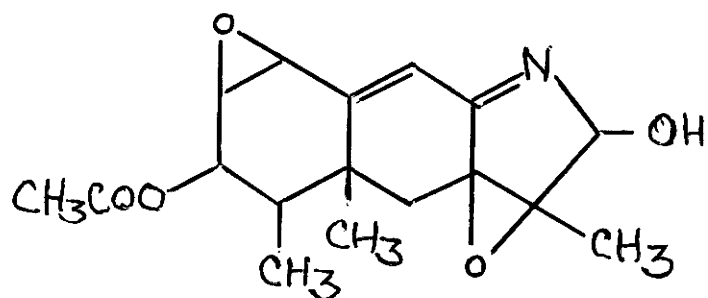


CITRININ

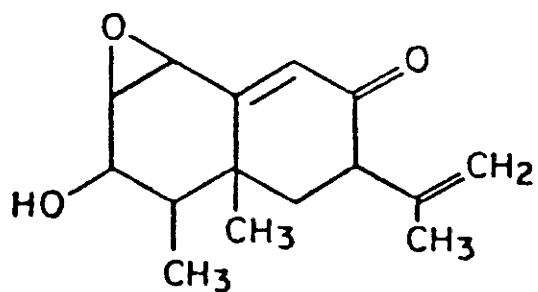
Figur 3.3.2.4.



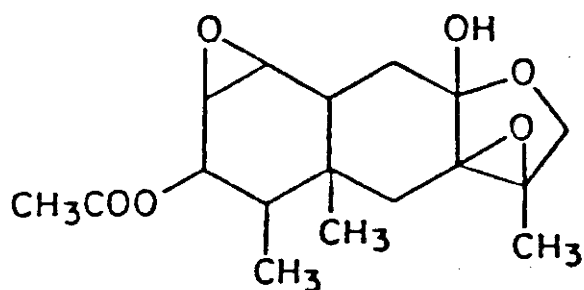
PR TOXIN (R=CHO)  
 EREMOFORTIN A (R=CH<sub>3</sub>)  
 EREMOFORTIN C (R=CH<sub>2</sub>OH)



PR-imin



EREMOFORTIN B



EREMOFORTIN D

Figur 3.3.2.5.

Tre forskjellige typer av metabolitter som kan produseres av kulturmuçø, også i ost, er alkaloidene Roquefortin<sub>A-D</sub>, Mycofenolsyre og Cyklopiazonsyre. Strukturformlene for disse er vist i figur 3.3.2.6.

Roquefortin og Mycofenolsyren produseres bl.a. av P. roqueforti mens Cyclopiazonsyren produseres av P. camemberti (samt flere Aspergillusarter).

Roquefortin A har vært isolert fra Roquefort i konsentrasjoner på 0,2-3,6 mg/kg ost.

I kultur ble toksinproduksjonen (ROQC) sterkt øket når temperaturen ble øket til 30°C. En fikk et utbytte på 30 mg rent toxin pr. liter kultur.

Roquefortin er mindre toksisk enn PR-toksinet. SCHOCH et al, 1984, kunne ikke finne noen mutagen effekt av Roquefortin ved den såkalte Ames-test ( en serie mikrobielle testsystemer).

I følge KOPP & REHM, 1979 (App. Microbiology and Biotechn. (6): 397.) virker Roquefortin veksthemmende på endel gram-positive mikroorganismer, mens veksten av gramnegative mikroorganismer ikke påvirkes.

Mycofenolsyren er egentlig ikke ansett som et potent mycotoksin, men mer som et antibioticum (bl.a. brukt mot psoriasis).

I en større undersøkelse av LAFONT, et al. 1979 av 100 oster av tysk, fransk, engelsk og italiensk opprinnelse med hensyn på Mycofenol-syre var 38 av ostene positive, de fleste av typen fransk Roquefort (84%).

Cyklopiazonsyren er akutt toksisk mot rotter med letaldoser på 36 mg/kg for hunner og 63 mg/kg for hanner (SCOTT, 1981).

BARS, 1979: (App. Environmental Microbiology 38(6): 1052)) har funnet at Penicillium camemberti Thom produserer mykotoksinet Cyclopiazon-syre (isolater fra 20 kommersielt produserte oster). På osten forekom toksinet i skorpen fra 0,05 til 1,5 µg/g ost i 11 av 20 oster. Når muggen ble dyrket på kunstig substrat var toksinproduksjonen sterkt avhengig av miljøparametrene (medium, temp. inkubasjonstid osv.).

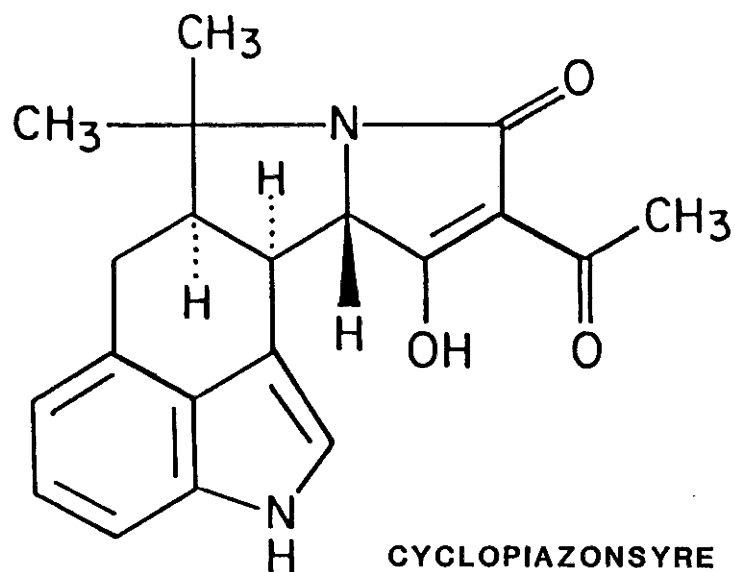
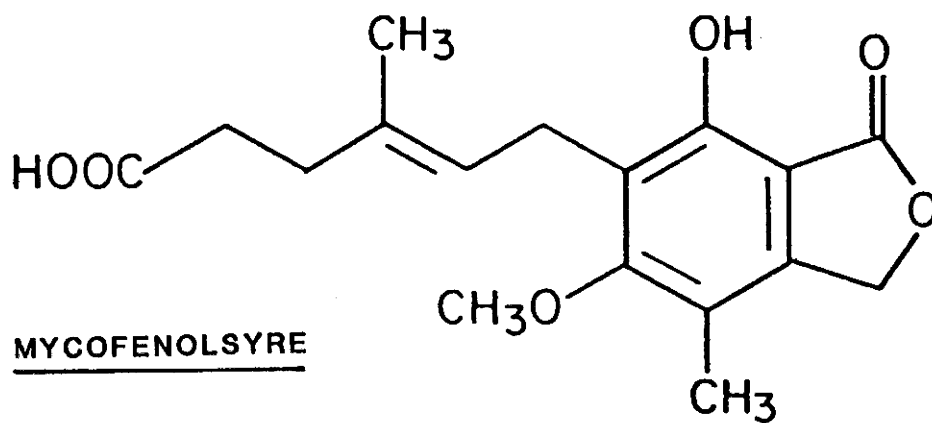
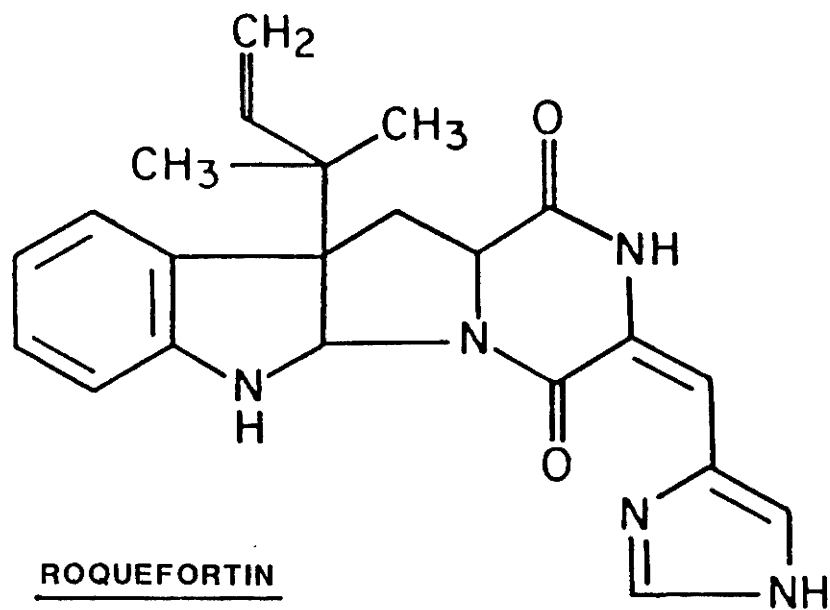


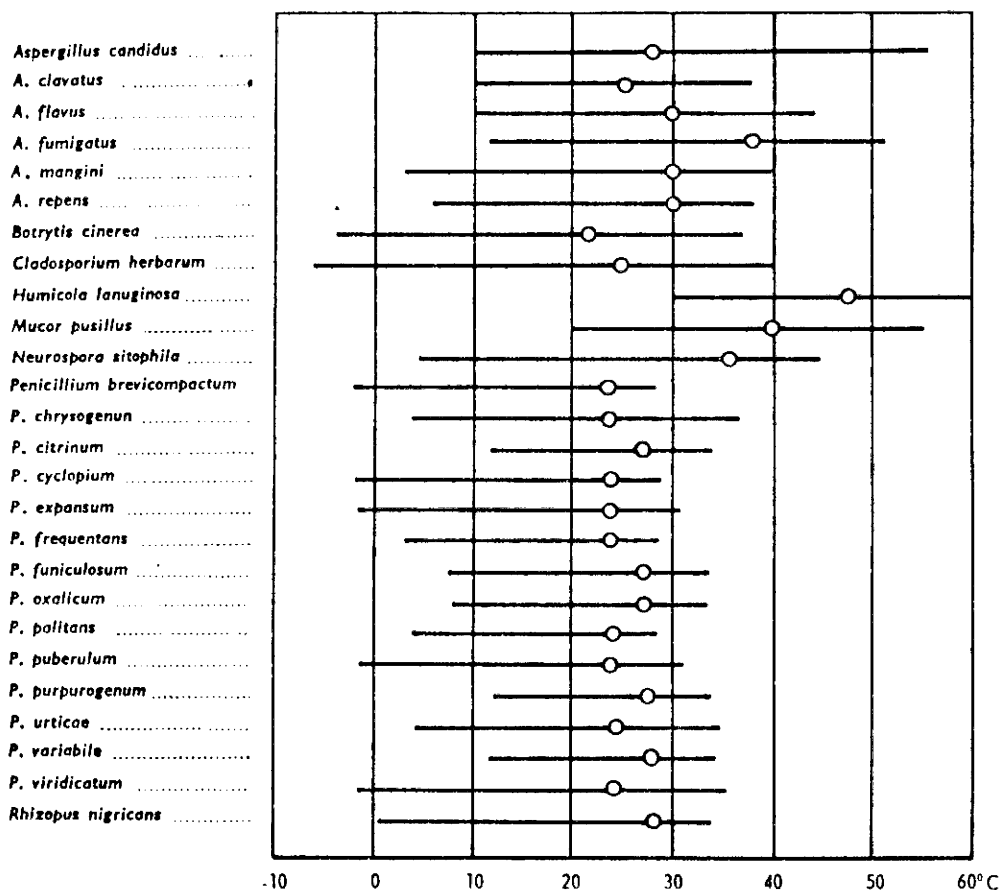
Figure 3.3.2.6.

Både dannelsen av Roquefortin og Cyclopiazonsyre skjer lettere ved høy enn ved lav inkubasjonstemperatur.

Produksjonen av Cyclopiazonsyre synes å være en stammespesifikk egenskap slik at det er mulig å selektere ut negative eller svaktproduserende stammer.

SCHOCH et al, 1984, fant små mengder Cyclopiazonsyre i 3 av 13 innkjøpte kvitmuggoster fra Sveits og Frankrike. Det ble imidlertid påvist små mengder Roquefortin i samtlige 20 innkjøpte blåmuggoster fra 0.2 til 2.3 mg/kg ost.

Det er konkludert med at de funne mengder er så små at det må ansees som harmløse ernæringsmessig sett.



Minimum and maximum temperatures for the growth of a number of moulds from food commodities, based on the results of several authors (etter Moreau 1979).

Figur 3.3.2.7.

### 3.3.3. VIRUS.

Få sikre data foreligger om virusinfeksjoner via melkeprodukter. Årsaken til dette er at en mangler relevante metoder til mer systematiske undersøkelser på dette område.

I en litteraturgjennomgang fra 1916 til 1975 fant KEFFORD et al, 1979, at 14 sikre tilfeller av virusinfeksjoner med alvorlige humane sykdommer til følge kunne tilskrives melkeprodukter. Av disse var det 12 tilfeller av poliomyelitt.

Andre vira av human type kan selvsagt også bli tilført via fødevarer, (eks. influensa-, kusma-, mesling-virus etc.) men melkeprodukter vil neppe være noen typisk kilde for disse lidelsene. Mer sannsynlig er det at melk kan være infisert med vira av bovin type som vanligvis har liten eller ingen anslagskraft på mennesker. Noen vira har dessuten anslagskraft både på mennesker og dyr. Munn og klovsykeviruset er spesifikt for storfe, mens både dyr og mennesker kan være verter for hepatitt-, herpes- og polyppvira. Selv om det er vist at infiserte dyr skiller ut vedkommende virus i melk, vil denne melken normalt bli utspedd med melk fra friske dyr (virus formerer seg ikke i melk) og det aktuelle virusinnhold vil bli sterkt fortennet. Humanpatogene virus som f.eks. poliovirus og leukemivirus inaktiveres ved vanlig lavpasteurisering av melk, som har vært infisert i forsøksøyemed (KASTLI, 1968), mens man i naturlig infisert melk har funnet en liten aktivitet etter vanlig pasteurisering, noe avhengig av infeksjonsgraden (BLACKWELL & HYDE, 1976).

For inaktivering av munn- og klovsykeviruset med varme, har også melkens pH vist seg å ha betydning. SELLERS (1969) fant at selv ved så lav temperatur som 4°C ble viruset inaktivert etter 30 minutter, dersom pH var så lav som 5,5. Ved 72°C og pH 6,7 var inakti-

- 
- DOYLE, M.P., MARTH, E.H. 1978: Zeitschrift für Leb.-Unters 166 (5)  
MARTH, E.H., DOYLE, M.P. 1979: Food Technology 33(1):81-87.  
BLACKWELL R.F., SELLERS, R.F. 1969: Br. Vet. J. 125:163.  
KASTLI, P. 1968: Schweizer Arch. Tierheilk 110:89.  
BLACKWELL, J.H. 1978: J. Dairy Res. 45. In Press.  
KEFFORD, B., BORLAND, R., SINCLAIR, A.J. 1979. Aust. J. Dairy Techn. 34, 102.

veringstiden 17 minutter, men hele 55 minutter ved pH 7.5.

BLACKWELL, 1978, fant imidlertid at munn og klovsykeviruset var aktivt i smørolje laget av infisert melk selv etter 45 dagers lagring ved 4°C når pH var 5.4.

Det er også vist at dette viruset kan beholde aktiviteten i relativt lang tid i oster som har så lav pH som 5,0 i ferskosten. For Cheddarost ystet av upasteurisert, naturlig infisert melk, fant en således aktivt virus etter 60 døgns lagring, men ikke etter 120 døgn. For Camembert fant en på samme måte aktivt virus etter 21 døgn, men ikke etter 35 døgn (CLIVER, 1973, BLACKWELL 1975).

Ved termisering av ystemelken (67°C i 10 sek.) fant en aktiv virus i Cheddarost under pressing, mens ingen aktivitet etter 30 døgns lagring. Da virus i motsetning til de fleste patogene bakterier er antatt å kunne gi infeksjon i meget små doser, vil ost, laget av upasteurisert melk, måtte betraktes som en potensiell infeksjonskilde.

UHT-behandling av melk inaktiverer munn- og klovsykevirus med sikkerhet ifølge CUNCLIFFE et al (1979).

---

CLIVER, D.O. 1973: J. Dairy Sci. 56 : 1329

BLACKWELL, J.H. 1975: J. Dairy Sci. 58:784

CUNCLIFFE et al 1979: J. of Food Protection 42 (2) : 135-137

