



Självständigt arbete (examensarbete), 15 hp, för kandidatexamen i
mat- och måltidsvetenskap
VT 2018
Fakulteten för Naturvetenskap

Framställning och vidareympning av gårdskultur

Vad skiljer en yoghurt fermenterad av
gårdens egen bakterieflora från industriell
och traditionell yoghurt?

Line Hellström

Författare

Line Hellström

Titel

Framställning och vidareympning av gårdskultur. Vad skiljer en yoghurt fermenterad av gårdens egen bakterieflora från industriell och traditionell yoghurt?

Engelsk titel

Production and inoculation of artisanal farm culture. What distinguishes a yoghurt fermented by the farm's own bacterial flora from an industrial and a traditional yoghurt?

Handledare

Caroline Lindö

Examinator

Viktoria Olsson

Sammanfattning

Bakgrund: Med industrialiseringen har de traditionella yoghurtkulturerna med en mångfald av samverkande mjölksyrabakterier fått ge plats åt de mer standardiserade. En gårdskultur framställs genom att obehandlad mjölk spontanfermenteras av gårdens egen bakterieflora och får därigenom en unik karaktär. Bakteriekulturen kan sedan ympas vidare för tillverkning av yoghurt.

Syfte: Syftet med studien är framställning och vidareympning samt sensorisk och mikrobiologisk karaktärisering av termofil gårdskultur från obehandlad mjölk. Vidareympningen avser framställning av yoghurt fermenterad av gårdens egen bakterieflora.

Metod: Gårdskulturen framställdes och ympades till yoghurt. Yoghurten undersöktes genom mikrobiologisk karaktärisering, antibiotikaresistens och sensorisk profilering samt jämfördes med industriell kultur och en traditionell heirloomkultur.

Resultat: Resultatet visade att gårdskulturen skiljde sig både mikrobiologisk och sensoriskt. Gårdskulturen innehöll stammar av enterokocker vilka inte visade på resistens mot analyserade antibiotika.

Slutsats: Det är möjligt att framställa en gårdskultur av godtagbar mikrobiologisk och sensorisk kvalitet. Gårdskulturen ger en differentierad mikrobiologisk och sensorisk karaktär i jämförelse med en industriell kultur och en traditionell heirloomkultur. Metoden kan vara riskfylld och kulturen bör analyseras med avseende på patogen tillväxt. En unik gårdsyoghurt kan vara en metod för gårdsmejerister att i sitt varumärke bygga på terroir och platsens unicitet.

Ämnesord

Gårdskultur, Yoghurt, Fermenterade mjölkprodukter, Fermenterat, Termofil syrningskultur, Mjölksyrabakterier

Author

Line Hellström

Title

Production and inoculation of artisanal farm culture. What distinguishes a yoghurt fermented by the farm's own bacterial flora from an industrial and a traditional yoghurt?

Supervisor

Caroline Lindö

Examiner

Viktoria Olsson

Abstract

Background: With industrialization, the traditional yoghurt cultures with a multitude of lactic acid bacteria had to make way for the more standardized. An artisanal farm culture is produced by raw milk spontaneously fermented by the farm's own bacterial flora and thus develops a unique character. The bacterial culture can then be inoculated for the production of yoghurt.

Purpose: The purpose of the study is to produce and inoculate as well as sensory and microbiological characterization of a thermophilic artisanal farm culture from raw milk. The inoculation relates to the production of yoghurt fermented by the farm's own bacterial flora.

Method: The artisanal farm culture was produced and inoculated into yoghurt which was assessed by microbiological characterization, antibiotic resistance, sensory profiling and then compared with industrial culture and a traditional heirloom culture.

Result: The result showed that the artisanal farm culture differed both microbiologically and with regard to sensory parameters. The farm culture contained strains of enterococci which did not show resistance to analyzed antibiotics.

Conclusion: It is possible to produce an artisanal farm culture of good microbiological and sensory quality. The artisanal farm culture provides a differentiated microbiological and sensory character in comparison to an industrial culture and a traditional heirloom culture. The method may be risky and the culture should be analyzed for pathogens. A unique farm yoghurt can be a method for artisan farm dairies to build their brand based on terroir.

Keywords

Artisanal culture, Yoghurt, Fermented dairy products, Fermented, Thermophilic starter culture, Lactic acid bacteria

Förkortningar och ordförklaringar

Bakteriofag - Virus som angriper bakterier.

CFU - Colony Forming Unit. Bakterier som bildar kolonier vid odling.

Gårdskultur - Bakteriekultur från obehandlad mjölk som spontanfermenterats.

Gårdsyoghurt - Yoghurt som ympats från gårdskultur.

Heirloomkultur - Benämning på bakteriekultur som tillverkats hantverksmässigt och är möjlig att ympa vidare i otaliga generationer genom en mångfald av bakteriestammar.

Inkubation - Termen används speciellt inom mikrobiologin, en bakteriekultur som ska odlas ympas i ett näringsmedium, varefter den placeras i ett värmeskåp eller vattenbad vid en temperatur som är optimal för tillväxt.

Kontaminant - Främmande ämne som då det förekommer i livsmedel kan utgöra en hälsorisk.

Maldi-TOF - Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight. Metod för identifiering av mikroorganism.

Mesofil - En organism vars optimumtemperatur ligger inom intervallet 20–45 °C.

Mikrobiota - Mikrober som finns på ett visst ställe utgör en mikrobiota.

Nordic AST - Nordic Committee on Antimicrobial Susceptibility Testings.

Obehandlad mjölk - Mjölk som ej pastöriserats eller homogeniserats.

Patogen - Sjukdomsframkallande, vanligen om organism som orsakar sjukdom.

Spontanfermentering - Fermentering med mikroorganismer som finns naturligt i råvaran.

Termofil - En organism som växer bäst vid temperaturer över 45 °C.

Ympa - Inokulation, metod inom mikrobiologin att till ett substrat föra ett litet antal levande mikroorganismer, som kan tillväxa i substratet.

Innehållsförteckning

Förord	6
Inledning	7
Syfte	9
Bakgrund	9
Yoghurt	9
Gårdskultur	11
Obehandlade mjölkprodukter	12
Mikrobiologiska risker	13
Material och metod	15
Tillverkning av gårdskultur	15
Tillverkning av yoghurt	15
Mikrobiologisk karaktärisering	15
Sensorisk profilering	17
Etiska överväganden	19
Resultat	19
Framställning av gårdskultur	19
Framställning av yoghurt	20
Mikrobiologisk karaktärisering	21
Sensorisk profilering	22
Diskussion	25
Gårdsyoghurt som produkt	26
Mikrobiologiska aspekter	28
Enterokocker	29
Framtida studier	32
Slutsats	33
Referenser	34
Bilaga 1. Inbjudan sensorisk profilering	40
Bilaga 2. Enkät för enskild sensorisk bedömning	41

Förord

Med ett eget intresse för mathantverk, mejeri och fermenterade produkter har projektet varit en givande resa som berört både praktiska och teoretiska bitar, vilka knutits samman under projektets gång. Jag själv har mjölkat kossan Maya och av mjölken tagit fram en egen gårdskultur som jag undersökt och analyserat in i minsta detalj. Jag vill rikta mitt största tack till min handledare Caroline Lindö som varit till stort stöd under en process med höga toppar och djupa dalar. Utan ditt stöd hade jag kört av vägen redan vecka två. Stina-Mina Ehn Börjesson har varit till enorm hjälp med den mikrobiologiska karakteriseringen. Stort tack Stina-Mina för att du ledsagat bland agar, spädningar och antibiotikalappar! Tack också till Rebecca Hessel som tålmodigt petat kolonier, pipetterat matrix och hjälpt till med identifiering av mikroorganismer. Till sist ett stort tack till Malin Kumberg på Ådala Gård som engagerat sig i det sensoriska testet och till Elin Rylander på OST & vänner i Malmö som tog emot mig och min panel med öppna armar! Also, I want to address my thanks to Kathe Kaczmarzyk who shared the renowned heirloom culture!

Line Hellström

Inledning

Att fermentera mjölk är en effektiv traditionell konserveringsmetod för att ta tillvara och förlänga hållbarheten på ett näringsrikt livsmedel. Att nämna en exakt tidpunkt när människan började med mjölkfermentering är svårt. Pederson (1971) anger dock att metoderna med säkerhet användes för 10 000 år sedan, under samma tidsperiod som människan domesticerade kor, får, getter, bufflar och kameler, vilket medförde möjlighet att nyttja mjölken som en stabil näringskälla i kosten. Tamime (2002) beskriver fermentering som en komplicerad akt där kombinationen av gammal hantverkskonst och vetenskap möts.

Inom livsmedelsgruppen fermenterad mjölk ingår en mängd olika produkter. Som exempel från vår mejerihylla här i Sverige hittar vi ost, yoghurt och filmjölk. Yoghurt fermenteras med termofila mjölksyrabakterier, vilka historiskt sett nyttjats mer i de varmare klimaterna kring Balkan, Mellanöstern, Indien och Östeuropa där yoghurt som produkt var mer frekvent vid tillverkningsmetodens begynnelse. I Norden har traditionellt de mesofila mjölksyrabakterierna nyttjats till klassikerna filmjölk och långfil (Hutkins, 2006). Enligt Jordbruksverkets officiella statistik för Sveriges livsmedelskonsumtion (JO 44 SM 1701) har totalkonsumtionen av mjölk i Sverige sedan år 1980 nära halverats, från 1 347 000 liter till 770 000 liter år 2016. Samtidigt som den totala mjölkkonsumtionen minskar, ökar istället konsumtionen av fermenterade mjölkprodukter. År 1980 uppgick konsumtionen av fermenterade mjölkprodukter till 188 990 liter, vilket ökat till 313 400 liter år 2016. I en sammanställning av statistik från International Dairy Federation rankar Tamime (2002) Sverige år 1999 som den största yoghurtkonsumenten per capita i världen.

Med industrialiseringen har de traditionella yoghurtkulturerna, med en mångfald av samverkande mjölksyrabakterier, fått ge plats åt de mer standardiserade. Rationalisering och standardisering av smak och konsistens är enligt Auclair och Accolas (1983) anledningen till att den industriella yoghurtproduktionen övergått till att använda få specifika stammar som i samverkan fermenterar mjölken till en typisk yoghurt.

En industriell yoghurt går sällan att ympa vidare mer än ett fåtal generationer, då de snäva industriella bakteriestammarna är känsliga för bakteriofager och i viss mån konkurrerande jäst och bakteriestammar. En mångfald av bakteriestammar kan ofta stå emot konkurrerande mikroorganismer och kulturens livslängd kan därmed förlängas (Tamime, 2002). Forskare från Karolinska Institutet talar i en forskningsrapport för att mångfald kan vara ett nyckelord till fungerande mikrobiota i tarmen (Hedlund, 2018). Påståendet kan relateras till yoghurten och dess framställning baserat på enfald kontra mångfald av bakteriestammar. En mångfald av bakteriestammar kan i symbios stå emot konkurrerande mikroorganismer, detta vare sig platsen är i tarmen eller yoghurten.

Traditionellt har yoghurt tillverkats hantverksmässigt i keramiska kärl där omgivningens naturliga mjölksyrabakterier fått verka för spontanfermentering. Redan vid mjölkningen är de mikroorganismer som finns på juvret, i luften, i stallmiljön och fodret viktiga för fermenteringen. Dessa naturligt förekommande bakterier som ger en mångfald av mikrober beskriver Pederson (1971) som de viktigaste beståndsdelarna vid fermentering inom den hantverksmässiga förädlingen av obehandlad mjölk. En gårdskultur framställs genom att obehandlad mjölk spontanfermenteras av gårdens egen mikroflora och får därigenom en unik karaktär. Bakteriekulturen kan sedan ympas vidare för tillverkning av yoghurt, alternativt användas som syrningskultur vid ystning. Traditionellt i Sverige är det vanligare att gårdsmejerister framställer mesofila gårdskulturer än termofila. Då dessa skiljer sig i mikrobiologisk sammansättning och därigenom i funktion och smakutveckling (Pederson 1971) är det intressant att undersöka möjligheterna till framställning av termofil gårdskultur och vidareympning till yoghurt.

Syfte

Syftet med studien är framställning och vidareympning samt sensorisk och mikrobiologisk karaktärisering av termofil gårdskultur från obehandlad mjölk. Vidareympningen avser framställning av yoghurt fermenterad av gårdens egen bakterieflora.

Utifrån syftet är följande frågeställningar uppställda:

Är det möjligt att framställa en termofil gårdskultur av godtagbar mikrobiologisk och sensorisk kvalitet från obehandlad mjölk?

Vilka är de mikrobiologiska riskerna med en spontanfermenterad termofil kultur?

Vilka mikrobiologiska och sensoriska egenskaper får gårdskulturen?

Vad skiljer en unik gårdskultur mikrobiologiskt och sensoriskt från en standardiserad industriell kultur och en traditionell heirloomkultur?

Bakgrund

Yoghurt

Yoghurt har länge ansetts vara ett hälsosamt livsmedel. Sedan 1926, när forskaren Ilya Metchnikova var den första att ge en rationell vetenskaplig förklaring till mjölksyrabakteriers förmåga att i tarmsystemet stå emot patogener, har detta bekräftats genom många studier (McGee, 2004; Pederson, 1971; Martinez, Bedani & Saad, 2015). Fortfarande idag är mjölksyrabakterier och dess påverkan på vårt immunsystem ett ämne det ständigt forskas kring. I en aktuell forskningslägesrapport diskuterar forskare från Karolinska Institutet att det finns en koppling mellan rubbningar i den mänskliga mikrobiotan och astma, allergier, diabetes, fetma och depression, men det behövs mer forskning för att förstå mekanismerna bakom detta (Hedlund, 2018). Tamime och Robinson (1999) nämner bio-yoghurt som en variant av yoghurt vilken är tillverkad med bakteriestammar med specifikt syfte för hälsofrämjande egenskaper. Till bioyoghurt räknas stammarna *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* och *Pediococcus*. Dessa stammar överlever i vår tarm och bildar där en skyddande biofilm, som stärker kroppens immunsystem genom att förhindra tillväxt av patogener.

Probiotika definieras av World Health Organisation (WHO, 2006) som levande mikroorganismer som vid tillräckligt intag tillför hälsofördelar hos värden. Angående industriellt framställda probiotiska produkter beskriver McGee:” Such product, approximations of the original fermented milks that contained an even more diverse bacterial flora, allow us to plant our inner gardens with the most companionable microbes we’re currently aware of” (McGee, 2004, s. 47). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* och *Streptococcus thermophilus* är de stammar som används mest frekvent i industriell yoghurttillverkning. Dessa stammar är specifikt selekterade för god tillväxt i mjölk. Då vårt matsmältningssystem har en helt annan miljö, med bland annat ett lägre pH-värde, överlever inte dessa stammar, till skillnad mot de probiotiska stammarna inom bio-yoghurt som istället bildar en skyddande biofilm i vår tarm (McGee, 2004; Tamime och Robinson, 1999).

Pastörisering är en nödvändig metod för yoghurttillverkning. Pastörisering introducerades 1864 av Louis Pasteur, först och främst för behandling av vin, men metoden visade sig sen också vara verksamt för att förhindra spridning av folksjukdomen tuberkulos via mjölk. Idag pastöriseras mjölk för att förhindra spridning av patogener, bland annat salmonella, listeria, EHEC och campylobacter (Gran, Wetlesen, Mutukumira, Rukure & Narvhus, 2003; Lucey, 2015; Nationalencyklopedin, u.å). Det finns olika former av pastörisering, den metod som i regel används för färsk mjölk benämns lågpastörisering. Mjölken hettas upp till +72 °C i 15 sekunder. Lågpastörisering kan även ske vid +63 °C i 30 minuter, vilket ger motsvarande effekt.

Den mjölk som skall användas till fermenterade produkter pastöriseras ofta i högre temperaturer under längre tid. Denna värmebehandling sker i 95 °C i 10 minuter (Livsmedelsverket, 2018i). Den högre temperaturen och tiden har två olika funktionsfördelar. Dels avdödas värmeresistenta bakterier vilket gör mjölken till ett sterilt tillväxtmedium för den tillsatta bakteriekulturen. Samtidigt denatureras mjölkens vassleproteiner alfa-lactalbumin och beta-lactoglobulin nästan fullständigt. I denaturerad form exponeras vassleproteinernas aminosyror vilket ökar den vattenbindande förmågan signifikant och ger en mer stabil, tjock och slät yoghurt (Hutkins, 2006).

Gårdskultur

Det finns en mängd unika fermenterade mjölkprodukter och alla dessa har fått sin karaktär från den miljö där de från början tillverkats, vilket i stor utsträckning styrs av klimat och temperatur. I Kaukasus samt Turkiet tillverkas yoghurt och i Egypten, Syrien och Palestina tillverkas leben/lebenraid. Tettmjölk och filmjölk härstammar från Skandinavien, skyr från Island, mazun från Armenien och kefir från Balkan. De karaktäristiska skillnaderna beror på vilka kärl som använts, hur djuren är utfodrade, vilken ras djuret är av, vilka bakterier som finns i luften, jorden och på människorna samt klimatet. Genom att en gårdskultur tillåts fermentera från obehandlad mjölk kommer denna få sin unika karaktär från just den plats fermenteringen skett (Pedersen, 1971).

En gårdskultur med rik flora av mjölksyrabakterier skall precis som traditionella yoghurtkulturer kunna ympas från batch till batch. Pederson (1971) beskriver hur yoghurtkulturer från medelhavsområdet tillverkades genom att en del av den sista tillverkningsbatchen användes för att ympa vidare till den nya. Bulgarien är ett av de östeuropeiska länderna där yoghurt tillverkats i många tusen år, från början genom spontanfermentering men idag enligt industriella metoder. Forskaren Kosta Katrandzhiev undersökte år 1937 yoghurtkulturer i Sofia, Bulgarien. Undersökningen visade att kulturerna från olika små mejerier skiljde sig åt i smak och mikrobiologisk sammansättning. Katrandzhiev och hans kollegor gav förslag på metoder som kunde standardisera den bulgariska yoghurten, med förslagen kom introduktionen till den storskaliga standardiserade yoghurtproduktionen i Bulgarien (Stoilova, 2013). Fortfarande idag hålls några av de traditionella bulgariska kulturerna vid liv genom ympning. Den traditionella kulturen benämns heirloom, vilket kan översättas från engelska till släktklenod/arvegods. Även traditionella heirloomkulturer från bland annat Rumänien, Turkiet och Finland florerar runt i världen och hålls vid liv. I denna studie undersöks en Heirloomkultur med ursprung från Rumänien. Kulturen är enligt överlämnaren över 100 år (personlig kommunikation, 9 april 2018).

Obehandlade mjölkprodukter

Obehandlad mjölk är ett omdiskuterat ämne. En del anser att obehandlad mjölk har hälsosamma och smakmässiga mervärden och andra anser att det är ett riskfyllt livsmedel. Syftet med pastörisering är som beskrivits avdödning av eventuella patogener på grund av kontaminering. Samtidigt som den avsiktliga avdödningen av patogena bakterier, avdödas även naturligt förekommande mjölksyrabakterier och enzymer inaktiveras. Denna behandling är vad som anses förstöra hälso- och smakfördelarna som obehandlad mjölk besitter (Lucey, 2015). En metaanalys gjord av Macdonald et al. (2011) visar att det finns studier som pekar mot att obehandlad mjölk kan ha positiv påverkan på allergier. I analysen upptäcktes flera studier där allergi minskat vid intag av obehandlad mjölk, vilket Macdonald et al. (2011) tolkar som ett samband mellan konsumtion av obehandlad mjölk och minskad förekomst av allergi. Metaanalysen visar även att konsumtion av obehandlad mjölk ofta sammanfaller med livsstil i gårdsmiljö, en miljö med naturlig mångfald av mikrober (Macdonald et al., 2011). Livsmedelsverket (2017h) bedömer att hälsoriskerna med konsumtion av opastöriserad mjölk överväger den möjliga nyttan med avseende på minskad risk för utveckling av allergi.

McGee (2004) beskriver dagens mjölk som karaktärlös, på grund av behandling som homogenisering och pastörisering samt stora mjölk tankar på tiotusentals liter samlat från många gårdar och flera tusen djur. Genom industriell behandling med förlust av naturliga enzymer och mikrober, tappar inte bara mjölken sin karaktär utan så också slutprodukterna. Pastörisering är dock en nödvändighet för de stora industrierna där mjölk samlas från många olika gårdar, då risken för kontaminering från enstaka sjuk ko till hela produktionsanläggningen är stor. Trots pastörisering finns inte någon garanti för säkerhet då mejeriprodukten alltid kan bli kontaminerad vid ett senare tillfälle. På grund av hög vattenaktivitet, god tillgång till näringsämnen och ett gynnsamt pH-värde mellan 6,4–6,6 är mjölk ett utmärkt medium för mikrobiell tillväxt (Adams, Moss & McClure, 2016). Obehandlad mjölk har på grund av den naturliga mikrobiotan en barriär mot patogener, när denna avdödas genom pastörisering finns fritt utrymme för patogener att växa till utan konkurrens (Hutkins, 2006; McGee, 2004).

Mikrobiologiska risker

På grund av mjölkens egenskaper med hög vattenaktivitet, god tillgång på näringsämnen och ett gynnsamt pH-värde, är den som sagt ett utmärkt medium för tillväxt av mikroorganismer. Mjölken kan kontamineras av både patogena och produktförstörande mikroorganismer vid mjölkningstillfället, i mjölktanken, i tankbilen på väg från bonden till mejeriet eller som tidigare beskrivits även efter pastöriseringen (Adams, Moss & McClure, 2016; Hutkins, 2006; McGee, 2004).

Enterobacteriaceae är ett släkte av tarmbakterier hos djur och människor som kan utgöra en risk inom mjölkprodukter. Inom släktet finns patogener som bland annat patogen *E. coli*, *salmonella spp.*, *Shigella spp.* och *Yersinia enterocolitica*. Andra arter inom släktet kan vara opportunistiska vilket betyder att de kan vara en risk för sjuka eller svaga individer (Adams, Moss & McClure, 2016). *E. coli* är en bakterie som naturligt finns i tarmen på djur och människor. Den vanligaste patogena *E. coli* bakterien är den shigatoxinbildande stammen (STEC) som även benämns verocytotoxinproducerande *E. coli* (VTEC) av vilka det krävs intag av relativt få bakterier för att ge sjukdom i form av allvarliga diarréer med följsjukdomar (Livsmedelsverket, 2017b; Livsmedelsverket 2017d).

Listeria monocytogenes kan ge infektion hos människor, får, nötkreatur och getter. Bakteriestammarna är miljöbakterier som finns i vår omgivning och kan kontaminera livsmedel redan i produktionsledet. Bakteriestammarna är överlevare som växer vid mycket låga temperaturer, ända ner mot 0 °C. De är sannerligen inte önskvärda i produktionslokalen då de ofta etablerar sig i utrymmen som avlopp och andra svårrengjorda utrymmen. Tillväxt kan ske vid relativt höga salthalter, lågt pH-värde samt i syrefria miljöer. *L. monocytogenes* kan vara riskfylld för immunedsatta och gravida då bakteriestammarna kan orsaka blodförgiftning och hjärnhinneinflammation. Det finns även risk för prematur födsel eller svår sjukdom hos det nyfödda barnet om modern smittats (Folkhälsomyndigheten, 2016; Livsmedelsverket, 2017f). *L. monocytogenes* dör vid pastörisering, men kan utgöra en risk i obehandlade mjölkprodukter.

Staphylococcus aureus är bakterier vi ofta kan vara bärare av utan att vara sjuka. Bakteriestammarna tillhör hudens normalflora och finns ofta kring näsa och i sår på händerna, det är därför vanligt att produkter kontamineras med *S. aureus* i produktionsledet. *S. aureus* kan även orsaka juverinflammation, både synlig och ej synlig hos kor och kan därigenom obemärkt kontaminera mjölk (Andersson, 2011). Livsmedelsverket (2017e) anger att provtagning för koagulaspositiva stafylokocker främst lämpar sig för opastöriserad mjölk på grund av risken för kontaminering från kor med juverinflammation. Det är inte alla stammar av koagulaspositiva stafylokocker som bildar enterotoxiner, vilka kan ha giftverkan i tarmen och orsaka diarré och kräkning. Livsmedelsverket nämner dock att förekomst av koagulaspositiva stafylokocker indikerar förekomst av enterotoxin och därigenom ökad risk för sjukdom. *S. aureus* har ett tillväxtoptimum vid 37 °C men kan växa från 7 till 37 °C. Enterotoxin bildas optimalt vid 40 °C men kan bildas mellan 10–45 °C. (Livsmedelsverket, 2017e) *S. aureus* och dess enterotoxiner har tillväxtoptimum kring samma inkubationstemperatur som vid yoghurttillverkning.

Enligt Livsmedelsverket (2017g) är det varje livsmedelsföretagares ansvar att endast säkra livsmedel släpps ut på marknaden. Det är kontrollmyndighetens ansvar att utföra kontroll hos livsmedelsföretagare, flera kontroller ingår i systemet bland annat den mikrobiologiska. Beroende på vilken typ av livsmedelsproduktion som sker gäller olika mikrobiologiska kontroller. Mikrobiologiska kriterier för livsmedel, EG nr 2073/2005 anger att pastöriserade mjölk- och andra pastöriserade flytande mejeriprodukter skall analyseras för *enterobacteriaceae* samt att mjölk som genomgått en mildare värmebehandling än pastörisering skall analyseras för *E.coli*.

Vilka analyser som krävs för obehandlade mejeriprodukter i allmänhet framgår inte, men ost framställd av obehandlad mjölk skall analyseras för koagulaspositiva stafylokocker samt stafylokockenterotoxin. Förordningen för mikrobiologiska kriterier anger att ätfärdiga livsmedel där *Listeria monocytogenes* kan växa till skall analyseras för detta. Ost, smör och grädde av obehandlad mjölk eller mjölk som har genomgått en mildare värmebehandling än pastörisering skall analyseras för salmonella med undantag för produkter med mycket låg vattenaktivitet.

En tolkning är sammanfattningsvis att en gårdsyoghurt skall analyseras för *enterobacteriaceae*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *salmonella*, koagulaspositiva stafylokocker samt enterotoxin (EG nr 2073/2005).

Material och metod

Tillverkning av gårdskultur

Direkt efter morgonmjölkning placerades mjölken i kyl (4°C). Inom åtta timmar inkuberades den obehandlade mjölken i 45 °C (+/- 3 °C) i en yoghurtinkubator (Severin Yoghurtmaker art. No EG 3529) i 20 timmar. Efter 20 timmars inkubation mättes pH-värde (Knick Portamess 912 pH) för att kontrollera syrningsgraden. Enklare sensorisk bedömning, genom lukt- och smakprov genomfördes av författaren. Gårdskulturen ympades vidare på samma sätt efter max en vecka i 4 °C (Se nedan, tillverkning av yoghurt).

Tillverkning av yoghurt

Tillverkning av yoghurt genomfördes enligt branschriktlinjer för hantverksmässig tillverkning av syrade mjölkprodukter (Livsmedelsverket, 2017a). Skånemejerier, Hjordnära gammaldags mjölk, fetthalt 3,7–4,3% pastöriserades vid 90 °C (+/- 5 °C) i 15 minuter. Mjölken kylades snabbt ned i vattenbad med is till 45 °C och tappades sedan på burk. Sedan tillsattes 9% syrningskultur som rördes i med sked. Mjölken med syrningskulturen placerades sedan i inkubatorn i fyra timmar. Yoghurten placerades efter inkubation i kyl (4°C). Enklare sensorisk bedömning genomfördes.

Samma framställningsmetod användes för gårdsyoghurt, industriell yoghurt och heirloom yoghurt. Industriell yoghurt ympades från Garant Ekologisk mild yoghurt naturell, fetthalt 3,8 - 4,5 %.

Mikrobiologisk karaktärisering

Den mikrobiologiska karaktäriseringen av gårdskultur, heirloomkultur samt industriell kultur genomfördes genom provtagning, spädning, odling och identifiering med hjälp av Maldi-TOF (Bruker Daltonics). En pilotodling gjordes för att träna på steril- och spädningsteknik innan aktuell odling.

Agar som användes för odling var Violet red bile glucose agar för tillväxt av *enterobacteriaceae*, M.R.S (ISO) agar för tillväxt av lactobaciller, Sabourand maltose agar för tillväxt av jäst och Tryptone glucose extract agar för generell tillväxt. Samtliga agar var av varumärke Oxoid och blandades enligt instruktioner på förpackning.

Provtagning från kulturerna gjordes med hjälp av spädningsserier. Spädningsserier som genomfördes för vardera kultur var: 1:10, 1:100, 1:1 000, 1:10 000, 1:100 000 samt 1:1 000 000. Spädningen gick till enligt följande: 9 ml 0,85 % NaCl tillsattes i varje provrör, därefter togs 1 ml kultur och tillsattes i det första spädningsröret. Sedan spädades vardera rör, i en serie av sex, med 1 ml från föregående rör. Därefter togs 1 µl prov från spädningsrören till respektive agarplatta för att sen spridas med rackla. När samtliga prov från spädningsserien spridits på respektive agarplatta inkuberades dessa i 37 °C i 48 timmar.

På varje agarplatta där tillväxt av kolonier skett plockades dessa av med en tandpetare och fördes till en specifik metallplatta för Maldi-TOF. När samtliga kolonier som differentierat sig på plattorna förts över till metallplattan tillsattes 8 µl myrsyra som fick torka, sedan applicerades 8 µl matrix (Bruker Daltonics). När matrix torkat placerades metallplattan i Maldi-TOF vilken identifierade mikroorganismerna. I de fall mikroorganismerna inte var identifierbara plockades kolonier från agarplattan på nytt för omkörning i Maldi-TOF. När identifieringen gjorts räknades bakteriekolonier på respektive platta och beräknades för varje spädning till CFU/ml.

För bestämning av antibiotikaresistens av *Enterococcus spp.* gjordes rensstrykning på Brain Heart Agar av redan identifierade bakteriekolonier. Tre kolonier av varje stam *Enterococcus faecium* respektive *Enterococcus durans* ströks rent och inkuberades i 37 °C i 48 timmar. Efter 48 timmar plockades 5–10 kolonier från varje platta och slammades upp i 1 ml 0,85 % NaCl. Från den uppslammade bakteriesuspensionen togs 50 µl till 5 ml 0,85 % NaCl. Steril bomullspinne doppades i den utspädda bakteriesuspensionen och svabbades på BD Mueller Hinton Fastidious Agar.

Sedan applicerades diskar, filterpappersbitar impregnerade med antibiotika, på respektive svabbade plattor. Plattor med antibiotikadiskar placerades sedan i 37 °C i 48 timmar. Antibiotika som testades var Ampicillin 25 µl och Vancomycin 5 µl. Efter inkubation avlästes hämningszonernas diameter avrundat till hela millimeter. Resultatet tolkades sedan enligt Nordic Committee on Antimicrobial Susceptibility Testings (Nordic AST) brytpunktstabell (Nordic AST, 2018).

För specifik analys av *L. monocytogenes* användes Listeria Selective Agar (Oxford formulation). Ren gårdsyoghurt ströks direkt på platta med hjälp av plastinös, i primär-, sekundär och tertiärstryk. Plattan inkuberades i 37 °C i 48 timmar. Avläsningen gjordes sedan genom synlig tillväxt eller ej.

Sensorisk profilering

Syftet med den sensoriska profileringen var att ta fram beskrivande smakprofiler och därigenom få en överskådlig bild av vilka attribut som karaktäriserar yoghurten och hur yoghurtkulturerna förhåller sig till varandra. Sensorisk profilering är en beskrivande metod som undersöker om det finns skillnader, vilka skillnaderna är och hur stora de är. Den sensoriska profileringen inspirerades av den standardiserade metoden Flavour Profile (Albinson, Wendin & Åström, 2013). Metoden anpassades dock för den aktuella profileringen, därav beskrivs det vidare i detalj hur testet genomfördes. För att ta fram sensoriska profiler för syrningskulturerna rekryterades en panel genom bekvämlighetsurval (Ejlertsson, 2012). Inbjudan delades på sociala medier och spreds vidare genom så kallade delningar (se bilaga 1).

Urvalet resulterade i en liten konsumentpanel på fyra personer, samtliga studerande på Gastronomiprogrammet, Högskolan Kristianstad. Därmed hade deltagarna ett intresse av livsmedel och sensorik samt hade tidigare deltagit i sensoriska tester under utbildningen. Panelen tränades inte för den sensoriska profileringen. Gruppen kände varandra, hade samarbetat tidigare och deltagarna var vana vid att uttrycka sig kring smakupplevelser.

Provningsen genomfördes i en mindre ostbutik, en stillsam miljö men med viss rörelse och ljud i bakgrunden. Kulturerna kodades slumpmässigt för att undvika identifiering av proverna innan och under provningens gång för att därigenom minimera risken att deltagarna skulle påverkas av vetskap om vilken kultur de provade. Provningsen delades upp i tre moment, ett för att ta fram individuella sensoriska attribut för respektive yoghurtkultur och ett för att sammanställa de individuella attributen till gemensamma attribut för hela panelen. I det sista momentet placerades fem sensoriska attribut på en skala från ett till tio för respektive kultur, för att tydligt få fram hur de sensoriska profilerna förhåller sig till varandra.

Först fick deltagarna individuellt provsmaka kulturerna var för sig och fylla i en enkät med alla sensoriska attribut de kunde komma på för smak/doft och konsistens (se bilaga 2). Smak och doft valdes att slås ihop då dessa är sammankopplade och påverkas av varandra i den sensoriska beskrivningen av attributen (Albinson, Wendin & Åström, 2013). Paneldeltagarna gav själva tecken när de var redo för nästa prov. Under hela provningsen fanns tillgång till vatten och smörgåsrån för att neutralisera smakerna mellan proverna. När samtliga deltagare hade smakat alla tre kulturerna gick profileringen över i nästa moment. Författaren intog roll som moderator för att leda panelen till gemensam överenskommelse om smakattribut för respektive yoghurtkultur. För varje kultur fick paneldeltagarna var och en tala om vilka attribut de skrivit ned. När alla attribut var sammanställda kategoriserades dessa efter liknande attribut för att sammanfatta panelens gemensamma beskrivning av kulturen. Som exempel beskrevs syrlighet med flera olika ord, ett gemensamt beslut togs då kring vilket syrligt attribut som bäst beskrev kulturen. I sista steg jämfördes alla slutliga kategorier för respektive kultur, från vilka det valdes ut tre gemensamma attribut för smak/doft och två för konsistens.

Sedan fick paneldeltagarna placera var och ett av de fem gemensamma attributen på en skala från ett till tio för respektive yoghurtkultur. Skalan var illustrativt placerad på bordet för att paneldeltagarna tydligt skulle kunna flytta markeringen som angav intensiteten för det sensoriska attributet fram och tillbaka tills konsensus uppnåts mellan deltagarna

Etiska överväganden

I samtliga delar av studien har hänsyn tagits till de grundläggande kraven för forskningsetik. Informations-, samtyckes-, konfidentialitets - och nyttjandekravet har genomgående behandlats (Vetenskapsrådet, 2002). Samtliga deltagare i panel för sensorisk profilering lämnade samtycke och informerades att deltagandet var frivilligt, anonymt och att resultaten enbart skulle användas i aktuell undersökning. Deltagarna delgavs information om att gravida eller immunedsatta inte tilläts delta då en av kulturerna framställdes av obehandlad mjölk.

Resultat

Framställning av gårdskultur

Sammanlagt genomfördes åtta försök för att spontanfermentera gårdskultur (se tabell 1). Två av försöken resulterade i önskade egenskaper som syrlig smak, tjock konsistens och pH mellan 4,0–4,6 (se grönmarkerat, tabell 1). Gårdskulturer som inte uppnått önskade egenskaper vid 20 timmar lämnades i inkubatorn upp till 48 timmar för att undersöka om fermentering krävde längre tid. Längre inkubation resulterade inte i fermentering.

Tabell 1. Framställning av gårdskultur

Gårdskultur	1	2	3	4	5	6	7	8
Datum	25-mars	27-mars	30-mars	04-apr	06-apr	08-apr	11-apr	18-apr
pH 20 timmar	4,4	4,8	6,4	5,0	6,4	5,0	6,4	4,5
Smak/doft	syrlig, söt, blandning av gräddfil och crème fraiche	Ej syrlig, luktar stall och fett	Varm mjölk, fett, vassle	Luktar vassle	Luktar vassle	Luktar stall och ost	Inte syrlig, luktar stall och fett	Söt, syrlig
Konsistens	Tjock, något klumpig.	Något tjock	Separerad, vattnig, lock av fett	Separerad, grynig i botten.	Separerad, grynig i botten.	klumpig	Inte tjock, lock av fett	Tjock, slät, något seg som långfil

Framställning av yoghurt

Vidareympning från gårdskultur genomfördes totalt sju gånger. Första steget av ympning av gårdskultur 1 resulterade i en seg och trådig yoghurt (se tabell 2). När sedan gårdsyoghurt 1.1 ympades vidare till gårdsyoghurt 1.1.1 förbättrades konsistensen. Smaken förändrades inte nämnvärt mellan någon av ympningsleden. Minimala skillnader i konsistensen kunde upptäckas mellan ympningsleden förutom gårdsyoghurt 1.1 som skiljde sig markant med en mycket seg konsistens. Gårdskultur 2 var något tjock men ej syrlig (se tabell 1). Denna gick trots detta att ympa vidare till en önskvärd gårdsyoghurt med krämig konsistens, syrlig smak och pH mellan 4,0–4,6 (se tabell 2. gårdsyoghurt 2.1). Samtliga vidareympningar från gårdsyoghurt resulterade i önskade egenskaper.

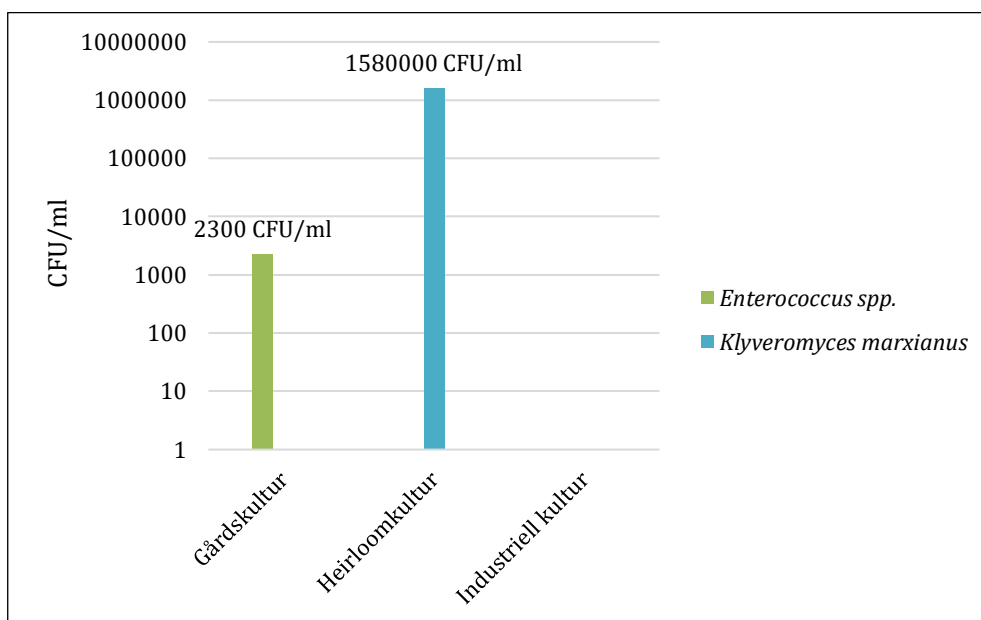
Tabell 2. Ympning av gårdskultur till gårdsyoghurt

Gårdsyoghurt	1.1	1.2	1.1.1	1.1.2	1.1.1.1	1.1.1.1.1	2.1
Ympat från gårdskultur/ gårdsyoghurt	1	1	1.1	1.1	1.1.1	1.1.1.1	2
Datum	27-mars	06-apr	06-apr	11-apr	11-apr	18-apr	06-apr
pH-värde 4 timmar	4,4	4,6	4,6	4,4	4,4	4,4	4,6
Smak/doft	Något syrlig, mest söt	Något syrlig, mer söt	Något syrlig, mer söt	Något syrlig, mer söt	Något syrlig, mer söt	Något syrlig, mer söt	Något syrlig, mer söt
Konsistens	Mycket seg som långfil	Krämig, minimalt seg, kan ana en viss strimmighet	Krämig, jämn, ej som långfil	Krämig, något ojämn i struktur	Krämig, något ojämn i struktur, strimmig	Krämig, jämn, tjock	Krämig, jämn i strukturen

Mikrobiologisk karaktärisering

Provtagning, odling och karaktärisering med hjälp av Maldi-TOF resulterade i identifiering av *Enterococcus faecium* 1200 CFU/ml och *Enterococcus durans* 1100 CFU/ml i gårdsyoghurt 1.1.1.1. Jästsvamp *Klyveromyces marxianus* 1 580 000 CFU/ml identifierades i heirloomkulturen (se figur 2). Den industriella kulturen visade ingen mikrobiell tillväxt. Analys av gårdsyoghurt 1.1.1.1 för *L. monocytogenes* visade ingen tillväxt.

Resistensbestämning för *E. durans* och *E. faecium* visade på känslighet för både Ampicillin och Vancomycin.



Figur 1. Förekomst av mikroorganismer i respektive kultur identifierade med Maldi-TOF.

Sensorisk profilering

Resultatet av den sensoriska profileringen visas i sammanställningar av panelens individuella attribut för respektive kultur (se tabell 4, tabell 5, tabell 6). I spindeldiagram redovisas hur de tre kulturernas sensoriska profiler förhåller sig till varandra samt hur panelen gemensamt placerat de fem huvudattributen (se figur 2).

Tabell 4. Sammanställning av panelens individuella sensoriska attribut för gårdskultur.

765, Gårdskultur	
Smak/doft:	Konsistens:
Mild	Inte så krämig
Inte så syrlig	Försvinner fort i munnen
Kort i smaken	Jämn, ej grymig
Aningen söt eftersmak	Lite vattnig
Känns inte så fet	Nästan seg
Mild doft	Något klumpig (mycket små)
Doft av lite solkräm	Inte så fast
Mjökig	Rinnig
Finstämd smak	Krämig
Mild ton av vanilj	Ljus
Mjuk sötma	Något "slemmig"
Rund smak, knappt syrlig alls	Fåtal klumpar
Fet, mjuk och snäll	
God	
Barn skulle gilla den	
Frisk	
Inte så fet	
Inte syrlig	
Ingen eftersmak	
Neutral doft	
Gräddig smak	
Söt	
Inte så hög syrlighet	

Tabell 5. Sammanställning av panelens individuella sensoriska attribut för industriell kultur.

959, Industriell	
Smak/doft:	Konsistens:
Syrlig smak som övergår i en mildare och mjölkig ton	Något tjockare än 765, känns fetare
Syrlig Citrustoner, med sötma, eller snarare grädde i eftersmaken långt bak i munnen.	Mjuk Fin
Frisk Framträdande yoghurtluk	Inte tjock Något klumpig, inget som känns, bara syns
Syrlig i eftersmaken	Stannar kvar i munnen, fet
Rund	Inte lika fast
Inte fet	Småkornig
Syra normal Som mild naturell yoghurt med låg fetthalt	Som filmjök Lös
Mjölkgig smak	Homogen utan klumpar

Tabell 6. Sammanställning av panelens individuella sensoriska attribut för heirloomkultur.

681, Heirloom	
Smak/doft:	Konsistens:
Jästig smak, nästan lite ostig	Grynig
Hög syra	Något tjockare, men lös utan slemmighet
Lukt: ost	Fastare och tjock i konsistensen
Svag doft	Grynigaste av de tre i utseende
Sur och starkt syrlig	Inte så fet känsla
"Sticker på tungan"	Lite klumpig
Krämig	Ej homogen
Doftar ost	
Smakar verkligen ost!	
Prästost, syra	
Gräddfil	
Ingen frukostyoghurt precis	
Äpple, Granny Smith	
Mycket syrlig smak	
Smakar "riktig", lite hö	
Doftar mycket	
Kittost/tvättad ost	
Nötig	



Figur 2. Panelens gemensamma övergripande sensoriska profilering.

Diskussion

Studien visar att det är möjligt att framställa en termofil gårdsyoghurt av godtagbar mikrobiologisk och sensorisk kvalitet från obehandlad mjölk. Resultaten tolkas som kvalitetsmässigt godtagbara genom sensorisk frånvaro av felsmaker och mikrobiologisk frånvaro av riskfyllda patogener. Vidareympningen av gårdskulturen resulterade i önskade egenskaper varje gång. Med önskade egenskaper menas som tidigare nämns krämig konsistens, syrlig smak och pH mellan 4,0–4,6. Tydligt är att spontanfermenteringen är utmaningen då endast två av åtta framställningar av gårdskulturen resulterade i önskade egenskaper (se tabell 1). Spontanfermenteringen är ett moment som kräver närvaro av levande mjölksyrabakterier, bakteriestammar som i studien visat sig ha snäva krav på tillväxtmiljö.

Kontaminering av oönskade bakterier kan också vara en möjlig förklaring till misslyckade fermenteringar då dessa tänkbart kan konkurrera ut närvarande mjölksyrabakterier. Problematiken kan även berott på brist av mjölksyrabakterier och därigenom utebliven fermentering.

Gårdsyoghurt som produkt

Den sensoriska profileringen visade att de tre yoghurtkulturerna skiljer sig i karaktär. Gårdskulturen kan sammanfattas som mild och söt i karaktären medan heirloomkulturen har en tydlig syra med fylligare smak. Den industriella kulturen kan också sammanfattas som syrlig men utan den fylliga smak heirloomkulturen innehar. De sammantagna sensoriska attributen för den industriella kulturen beskrivs inte av panelen så omfattande som de andra två kulturerna. Detta kan tolkas som att den standardiserade industriella yoghurten inte bär på lika många nyanser av smaker som de två spontanfermenterade. Yoghurtkulturerna har tillverkats med samma metod, råvara, tid och temperatur, därför bör de sensoriska differenserna i kulturerna till största del bero på skillnader i sammansättning av mjölksyrabakterier och jäst. Att olika mjölksyrabakteriers spektrum av enzymbildning påverkar smakutvecklingen visas i studien av Hannon, Kilcawley, Wilkinson, Delahunty och Beresford (2007) som undersökt mjölksyrabakteriers påverkan på smakutveckling hos ost. Studien visade att olika mjölksyrabakterier hade påverkan på utveckling av olika smakprekursorer och därigenom vilken sensorisk karaktär ostarna fick under lagringen (Hannon et al., 2007). En tränad panel i den sensoriska profileringen hade ökat studiens reliabilitet då resultaten med större sannolikhet blivit detsamma vid upprepning av undersökningen. Om panelen hade tränats med referenser hade möjligen attributen varit mer nyanserade men också mer lika paneldeltagarna emellan. I metoden för den sensoriska profileringen fanns även en risk att alla deltagare inte fick samma utrymme till uttryck av den personliga upplevelsen. Trots att författaren, med detta i åtanke tog på sig rollen som moderator och därigenom försökte få med alla paneldeltagares omdömen, kan det inte uteslutas att resultaten färgats av gruppdynamiken.

Det finns en möjlighet att om gårdskulturen i framtiden skulle ympas i lika många steg som den 100 åriga traditionella heirloomkulturen, skulle den kunna uppnå samma fylliga smak som panelen upplevde hos heirloomkulturen. Gårdskulturen som endast fick två på skalan för fyllig smak och heirloomkulturen som fick nio kan uppfattas som raka motsatser. Pederson (1971) beskriver att de spontanfermenterade traditionella kulturerna ofta blir kontaminerade med jäst. Troligtvis är det jästen i heirloomkulturen som ger den fylliga och rika smaken av ost. Intressant vore att se hur gårdskulturen kommer att förändras under årens gång när smakbildande kontaminanter trätt in och om det skulle resultera i positiva eller negativa sensoriska aspekter. Denna naturliga smakutveckling skulle dock inte vara möjlig med en industriell kultur, som på grund av känslighet för bakteriofager enbart går att ympa vidare några få generationer.

I vissa delar av världen förlitar sig fortfarande husmödrarna enligt Pederson (1971) på att mjölken skall spontanfermenteras direkt i kruset eller från kultur från en tidigare omgång fermentering. På de flesta platser är som tidigare beskrivits dessa metoder bortrationaliserade. Mjölken pastöriseras och homogeniseras, rena industriella kulturer tillsätts, inkubationen kontrolleras minutiöst vilket ger samma utfall varje gång. När odling eller tillverkning sker i ett område och produkten karaktäriseras utefter detta talar man om terroir, ett uttryck som ofta dyker upp i samband med viner, vilket även är den produktgrupp där begreppet grundats (Lagnevik, 2010). Uttrycket har fått spridning även utanför vinproduktionen och många väljer att marknadsföra sina produkter med terroir kopplat till kvalitet och karaktär. Att göra en gårdsyoghurt är ett sätt att differentiera sig och att skapa en produkt med terroir av platsens unicitet. Genom att marknadsföra mat som regional- och lokalproducerad kan en förstärkt känsla av trygghet och nostalgi skapas hos konsumenten. Studier visar att konsumenter kopplar samman regional mat med äkthet, lokal utveckling, miljövänligt och bevarande av traditioner (Heldt Cassel, 2006). Möjlighet finns att med en gårdskultur lyfta platsens unika karaktär och därigenom förmedla känsla av kvalitet och äkthet via varumärke, förpackningsdesign och berättelser för att attrahera konsumenten.

Den teoretiska delen i studien visar att obehandlad mjölk med naturligt rik bakterieflora kan ha fördelar som uppbyggnad av vår egen tarmflora. En rik bakterieflora i tarmen kan ge förbättrade funktioner som nedbrytning av laktos och positiv påverkan på allergier. Samtidigt visar den teoretiska delen att det finns patogena risker med intag av obehandlad mjölk. Genom pastörisering och förhindrad återkontaminering kan riskerna med obehandlad mjölk minimeras. Pastöriserad mjölk som ympas med en gårdskultur som innehar en mångfald av bakteriestammar kan i viss mån återfå en naturlig bakterieflora. I relation till de positiva fördelarna med en rik bakterieflora skulle en gårdskultur, som analyserats för att säkerställa att patogener inte finns närvarande, kunna ha hälsofrämjande egenskaper. För evidens kring gårdsyoghurt som hälsofrämjande produkt krävs betydligt mer omfattande studier.

Mikrobiologiska aspekter

Resultatet av den mikrobiologiska karaktäriseringen visar enbart förekomst av mjölksyrabakterierna *Enterococcus faecium* och *Enterococcus durans*. Detta kan tolkas som att gårdskulturen fermenterats enbart av stammar av *Enterococcus spp.*, dock är det känt sedan tidigare att mjölksyrabakterier är svårödlade och kräver mycket specifika förhållanden för tillväxt (Ashraf och Shah, 2011; Pederson, 1971). Selektion och tillväxtmedium specifikt anpassat för mjölksyrabakteriestammarna *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* och *Bifidobacterium spp.* redogörs i en studie av Ashraf och Shah (2011). Studien visade att samtliga mjölksyrabakterier i undersökningen krävde olika specifika agar och olika specifika tillväxtmiljöer så som pH-värde, aerob-, anaerob miljö, tid och temperatur. Maldi-TOF-metoden som använts för aktuell karaktärisering av syrningskulturer kräver odling för att möjliggöra identifiering. På grund av avsaknad av tillräckligt stor spridning i tillväxtmiljöerna kan det förklaras varför inte fler stammar av mjölksyrabakterier hittades. Den industriella kulturen visade i resultatet frånvaro av mikrobiell tillväxt trots att denna tydligt fermenterats av de tillsatta industriella yoghurtbakteriestammarna, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* och *Streptococcus thermophilus*. Som tidigare beskrivits anpassar sig *Enterococcus spp.* väl till de flesta tillväxtmiljöer och dessa är därför lättare att odla än övriga mjölksyrabakteriestammar. Trots att resultatet i denna studie visar på tillväxt av enbart *Enterococcus spp.* kan alltså andra mjölksyrabakterier vara närvarande.

Den mikrobiologiska karaktäriseringen hade kunnat anpassats ytterligare gällande tillväxtmedium och tillväxtmiljöer för mjölksyrabakterier. Kanske hade resultatet sett annorlunda ut då, med fler närvarande stammar av mjölksyrabakterier, en viktig del som med syftning på studiens frågeställningar fortfarande utgör en oklarhet. För att öka studiens reliabilitet hade det varit optimalt att göra ett replikat av den mikrobiologiska undersökningen för att säkerställa att resultaten inte beror på slumpen.

Att det är möjligt att ta fram en gårdskultur av godtagbar mikrobiologisk kvalitet är tydligt men hur kan småskaliga gårdsmejerier vara trygga med sin gårdskultur? Hutkins (2006) beskriver att generellt sett konkurrerar mjölksyrabakterier ut andra mikroorganismer och genom pH-sänkning skapas en ofördelaktig miljö för möjliga patogena konkurrenter. Viktigt att beakta är dock att en termofil kultur inkuberas i temperaturer där många patogener kan växa till, bland annat *S. aureus*. Som tidigare beskrivits kan *S. aureus* finnas i obehandlade mjölkprodukter. Om mjölken kontamineras kommer inkubering i 45 °C med stor risk resultera i oönskad tillväxt, dock är det som tidigare beskrivits inte *S. aureus* i sig som är riskfylld utan de koagulaspositiva stafylokocker som kan bilda enterotoxiner.

I en studie av Gran et al. (2003) analyserades prover av obehandlade och spontanfermenterade mjölkprodukter från småskaliga mejerier, vilka visades innehålla en mängd olika riskfyllda patogener. Det är av stor vikt att en obehandlad kultur analyseras innan den sätts i bruk för att minimera risk för sjukdom. Trots att kulturen har uppnått önskade egenskaper med pH-sänkning, syrlighet och förtjockning kan kulturen innehålla icke önskvärda bakterier. Tydliga riktlinjer för hantverksmässig tillverkning av egen gårdskultur finns inte idag, men är säkert något som skulle vara en bra hjälp för de producenter som vill differentiera sina produkter genom att använda en egen gårdskultur.

Enterokocker

Förekomst av enterokocker i gårdskulturen var förvånande och ett för författaren nytt fenomen, vilket krävde stor efterforskning för att förstå innebörden av. Enterokocker har en dubbel roll, beroende på vilka stammar som förekommer kan de fungera dels som mjölksyrabakterier och dels som patogener.

Det råder därför skilda meningar om enterokockers vara eller icke vara i fermenterade mjölkprodukter. Enterokocker är en vanlig orsak till svåra infektioner inom sjukhusvård, samtidigt ingår de i normalfloran hos vissa livsmedel, däribland fermenterade produkter och färskt kött, även grönsaker har en normalflora av enterokocker (Folkhälsomyndigheten, 2018; Hutkins, 2006; Livsmedelsverket, 2017c; Pedersen, 1971). Den patogena problematiken med enterokocker ligger främst i dess förmåga till naturlig antibiotikaresistens. Specifikt är det vancomycinresistenta enterokocker (VRE) som är det största problemet (Ortigosa et al., 2008), vilket också är anledningen till att Livsmedelsverket (2017c) beskriver att en kultur innehållandes enterokocker som skall användas som probiotika eller starterkultur nogga bör utvärderas för varje specifik stam.

Obehandlad mjölk är en huvudkälla till enterokocker och dessa mjölksyrabakterier är därmed en viktig komponent i traditionella mjölkprodukter, som ofta tillverkas av obehandlad mjölk. Stammarna av enterokocker anpassar sig väl till de flesta tillväxtmiljöer och överlever både relativt höga och låga temperaturer och pH-värde (Ortigosa et al., 2008). En studie av Nejati et al. (2014) visade att iranska hantverksmässiga mjölkprodukter innehöll stammar av enterokocker. Hela 69 % av alla 61 produkter som testades och 20 av 22 ostar innehöll enterokocker.

E. faecium och *E. faecalis* är de mest frekventa stammarna funna i ost, dock finns förutom dessa även de flesta andra stammar av enterokocker i ost och de kan ofta konkurrera ut *Lactobacilli spp.* och *Lactococci spp.* (Suzzi et al., 2000). Att enterokocker anpassar sig väl till olika miljöer och därför också har förmågan att etablera sig i tarmen kan bekräftas av Gelsomino, Vancanneyt, Cogan, och Swings (2003). Studien visar samband mellan förekomst av enterokocker i opastöriserad ost och förekomst av samma stammar i tarmfloran hos individer efter intag. Trots att enterokocker är en vanlig tarmbakterie är det inte säkert att kontaminering skett från tarmfloran. En studie av Ortigosa et al. (2008) visade att enterokocker funna i ost inte kom från djurens tarmbakterier utan snarare från kringmiljön från exempelvis mjölkningstrustning, strö, foder eller från de individer som hanterat mjölken. Enterokockerna i osten återfanns inte i djurens mikrobiota från tarmen.

Arla Foods DK lanserade år 1996 en probiotisk yoghurt vid namn Gaio som innehöll probiotikakulturen Causido, en kultur av *S. thermophilus* och *E. faecium*, vilken lanserades för att ha en kolesterolsänkande effekt. En artikel från TT (1996) i Dagens Nyheter rapporterade att lansering av yoghurten Gaio kritiserades av svenska forskare som varnade för att yoghurten kunde ha en skadlig inverkan på immunförsvaret. På vilket sätt yoghurten skulle ha en skadlig inverkan presenterades inte i artikeln. Agerholm-Larsen, Bell, Grunwald och Astrup (2000) studerade Gaio och dess påstådda kolesterolsänkande effekt. Studien gav enligt författarna starka evidens för att kombinationen *S. thermophilus* och *E. faecium* i den probiotiska yoghurten hade kortsiktig påverkan på sänkning av plasmakolesterol. Det är svårt att hitta produkter på marknaden där stammar av enterokocker finns tillsatt, trots detta visar flera studier och referenser i den teoretiska delen att enterokocker finns naturligt i vår omgivande miljö samt i obehandlade mjölkprodukter och fermenterade livsmedel. Trots att vissa stammar av enterokocker har en god probiotisk effekt kvarstår av allt att döma ett behov av försiktighet på grund av dess förmåga till antibiotikaresistens, säkerligen även dess egenskaper som opportunistiska patogener och dess virulensgener som är omdiskuterade och ännu ej klarlagda enligt Livsmedelsverket (2017c).

Studien undersöker enbart en gårdskultur från enstaka tillverkningsstillfälle och ett ympningsled av denna. Resultaten är inte generaliserbara till gårdskulturer i allmänhet då urvalet i studien är för litet. Med fler kulturer från fler gårdar, från fler tillverkningsstillfällen och fler ympningsled hade möjligen resultaten kunnat generaliseras för ökad vetskap om gårdskultur som fenomen. Fler studier krävs för ökad evidens kring gårdskultur och dess karaktär kopplat till plats.

Framtida studier

Intressant vore att i framtida studier jämföra karaktär på termofila gårdskulturer från fler gårdar både sensoriskt och mikrobiologiskt. Finns det en sensorisk skillnad och hur ser bakteriefloran ut?

Intressant vore även att undersöka hur ett ökat antal ympningar skulle påverka gårdskulturen. Hur skulle kulturen förändras över tid? Hur ofta skulle kulturen behöva startas om för att hålla önskad kvalitet och krävs då nya analyskostnader?

Att jämföra sensoriska och mikrobiologiska skillnader mellan termofil och mesofil gårdskultur vore även givande för utveckling av fenomenet gårdskultur.

Slutsats

Studien visar att det är möjligt att framställa en gårdskultur från gårdens egen bakterieflora. Vidareympning till en gårdsyoghurt gav godtagbar sensorisk och mikrobiologisk kvalitet. Gårdskulturen ger en differentierad mikrobiologisk och sensorisk karaktär i jämförelse med en industriell kultur och en traditionell heirloomkultur. Gårdskulturen resulterade i en yoghurt som bar på sensorisk karaktär av homogen och något krämig konsistens, lätt syra och hög sötma. Den mikrobiologiska karaktäriseringen visade att kulturen fermenterats av stammar av probiotiska enterokocker utan riskfylld antibiotikaresistens. Metoden med spontanfermentering kan vara riskfylld och analys av gårdskulturen är av stor vikt för kontroll av närvarande bakteriestammar. Enterokocker är vanligt förekommande i obehandlade mjölkprodukter, därför bör en gårdskultur analyseras för att utesluta risk för spridning av antibiotikaresistenta stammar. En unik gårdsyoghurt kan vara en metod för gårdsmejerister att i sitt varumärke bygga på terroir, differentiering och därigenom kunna placera en unik produkt på marknaden.

Referenser

- Adams, M.R., Moss, M.O. & McClure, P.J. (2016). Food microbiology. (4. uppl.)
Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Agerholm-Larsen, L., Bell, M. L., Grunwald, G. K. and Astrup, A. (2000). The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2000(54), 856-860. <https://search-proquest-com.ezproxy.hkr.se/docview/219656677?pq-origsite=summon>
- Akolkar, S. K., Sajgure, A. & Lele, S. S. (2005). Lactase production from *Lactobacillus acidophilus*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2005(21), 1119–1122. doi: 10.1007/s11274-005-0079-9
- Albinsson, B., Wendin, K. & Åström, A. (2013). Handbok i sensorisk analys. (Rev. utg.) Göteborg: SIK - Institutet för livsmedel och bioteknik.
- Andersson, I. (2011). Swedish Dairy association. Låga celltal – en vinst för alla. Hämtad 2018-04-25 från https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0ahUKEwim75fi_oLbAhUEWiwKHcqPA-sQFggwMAE&url=https%3A%2F%2Fwww.lrf.se%2Fglobalassets%2Fdokument%2Fom-lrf%2Fbranscher%2Flrf-mjolk%2Fforskning-special%2Fforskning_special_2011_17_systemanalys_celltal.pdf&usg=A0vVaw2bgL1IGyqfL3K4SC_dYJdc
- Ashraf, R. & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt — A review. *International Journal of Food Microbiology*, 2011(149), 194–208. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.008
- Auclair, J. & Accolas, J.P. (1983). Use of thermophilic lactic starters in the dairy industry. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* 313(43), 313-326. doi: 10.1007/BF00399506

- Bhatnagar & Aggarwal (2007). Lactose intolerance. Is common and can be diagnosed clinically and treated with simple dietary measures. *British Medical Journal* 2007(334) ,1331-1332. doi:10.1136/bmj.39252.524375.80
- Ejlertsson, G. (2012). Statistik för hälsovetenskaperna. (2., moderniserade och utök. uppl.) Lund: Studentlitteratur.
- Folkhälsomyndigheten (2016). Sjukdomsinformation om listeriainfektion. Hämtad 2018-05-21 från <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/listeriainfektion/>
- Folkhälsomyndigheten (2018). Vancomycinresistenta enterokocker. Hämtad 2018-05-19 från <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittskydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/vancomycinresistenta-enterokocker-vre/>
- Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Cogan, T. M. & Swings, J. (2003). Effect of Raw-Milk Cheese Consumption on the Enterococcal Flora of Human Feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 312–319. doi:10.1128/AEM.69.1.312-319.2003
- Gran, H. M., Wetlesen, A., Mutukumira, A. N., Rukure, G. & Narvhus, J. A. (2003). Occurrence of pathogenic bacteria in raw milk, cultured pasteurised milk and naturally soured milk produced at small-scale dairies in Zimbabwe. *Food Control* 2003(14), 539–544. doi:10.1016/S0956-7135(02)00117-2
- Hannona, J. A., Kilcawleya, K. N., Wilkinsonc, M. G., Delahuntyb, C. M. & Beresforda, T. P. (2007). Flavour precursor development in Cheddar cheese due to lactococcal starters and the presence and lysis of *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 2007(17), 316–327. doi:10.1016/j.idairyj.2006.03.001
- Hedlund, F. (2018). Hellre mångfald än enfald. Hämtad 2018-05-12 från <https://ki.se/forskning/hellre-mangfald-an-enfald>

- Heldt Cassel, S. (2006). *Regionen för finsmakare*. I A. Burstedt, C. Fredriksson & H. Jönsson (Red.), *Mat: Genealogi och gestaltning* (s. 21-34). Lund: Studentlitteratur.
- Hutkins, R.W. (2006). *Microbiology and technology of fermented foods*. (1. uppl.) Chicago: IFT Press.
- Jordbruksverket (2017). Sveriges officiella statistik - Statistiska meddelanden, Livsmedelskonsumtion och näringsinnehåll. JO 44 SM 1701. Hämtad 2018-05-12 från http://www.jordbruksverket.se/webdav/files/SJV/Amnesomraden/Statistik,%20fakta/Livsmedel/JO44SM1701/JO44SM1701_tabeller17.htm
- Kim, H. S., & Gilliland, S. E. (1983). Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *Journal of Dairy Science*, 66(5), 959–966. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(83)81887-6
- Lagnevik, M. (2010). *Absolut Terroir*. I H. Sandberg (Red.), *Skåne mat och medier* (s. 131-152). Lund: Skånes livsmedelsakademi
- Livsmedelsverket (2017a). Arbetsblad syrade mjölkprodukter. Hämtad 2018-06-10 från https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/produktion-handel-kontroll/branschriktlinjer/arbetsblad---syrade-mjolkprodukter-blad-a.pdf?t_id=1B2M2Y8AsgTpgAmY7PhCfg%3d%3d&t_q=yoghurt&t_ba3914739e3b&t_ip=80.244.71.206&t_hit.id=Livs_Common_Model_MediaTypes_DocumentFile/_4b6e9c83-4946-4335-b51e-
- Livsmedelsverket (2017b). Enterobacteriaceae. Hämtad 2018-04-25 från <https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/152/enterobacteriaceae>
- Livsmedelsverket (2017c). Enterokocker. Hämtad 2018-04-25 från <https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/153/enterokocker#Mindre%20lämpliga%20livsmedel%20att%20analysera>
- Livsmedelsverket (2017d). Escherichia coli. Hämtad 2018-04-25 från <https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/154/escherichia-coli->
- Livsmedelsverket (2017e). Koagulaspositiva stafylokocker och stafylokockenterotoxin. Hämtad 2018-04-25 från

<https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/177/koagulaspositiva-stafylokocker-och-stafylokockenterotoxin>

Livsmedelsverket (2017f). *Listeria monocytogenes*. Hämtad 2018-04-25 från

<https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/178/listeria-monocytogenes>

Livsmedelsverket (2017g). Livsmedelssäkerhet och hygien. Hämtad 2018-04-25 från

<https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/131/livsmedelssakerhet-och-hygien>

Livsmedelsverket (2017h). Opastöriserad mjölk. Hämtad 2018-04-25 från

https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/mat-och-dryck/mjolk-och-mejeriprodukter/varfor-pastoriseras-mjolken?_t_id=1B2M2Y8AsgTpgAmY7PhCfg%3d%3d&_t_q=pastorisering&_t_tags=language%3asv%2csiteid%3a67f9c486-281d-4765-ba72-ba3914739e3b&_t_ip=194.47.32.49&_t_hit.id=Livs_Common_Model_PageTypes_ArticlePage/_5f4448f0-5fb9-42aa-99eb-b95d74a924b1_sv&_t_hit.pos=4#Fördjupning

Livsmedelsverket (2018i). Pastörisering. Hämtad 2018-04-25 från

https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/mat-och-dryck/mjolk-och-mejeriprodukter/pastoriserad-mjolk?_t_id=1B2M2Y8AsgTpgAmY7PhCfg%3d%3d&_t_q=pastorisering&_t_tags=language%3asv%2csiteid%3a67f9c486-281d-4765-ba72-ba3914739e3b&_t_ip=80.244.71.89&_t_hit.id=Livs_Common_Model_PageTypes_ArticlePage/_cd12a55d-27c3-4649-a7b4-ea7c7a1be421_sv&_t_hit.pos=2

Lucey, J. A. (2015). Raw Milk Consumption Risks and Benefits. *Nutrition and Food Science* 50(4), 189-193. doi: 10.1097/NT.000000000000108

McGee, H. (2004). *On food and cooking: the science and lore of the kitchen*. New York, N.Y.: Scribner.

- Macdonald, L. E., Brett, J., Kelton, D., Majowicz, E. S., Snedreker, K. & Sargeant, J. M (2011). A Systematic Review and Meta-Analysis of the Effects of Pasteurization on Milk Vitamins, and Evidence for Raw Milk Consumption and Other Health-Related Outcomes. *Journal of Food Protection*, 74(11), 1814–1832. doi:10.4315/0362-028X.JFP-10-269
- Martinez, R. C. R., Bedani, R. & Saad, S. M. I. (2015). Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. *British Journal of Nutrition* 2015(114) 1993–2015 doi:10.1017/S0007114515003864
- Mikrobiologiska kriterier för livsmedel (EG nr 2073/2005) Hämtad på Livsmedelsverkets webbplats 2018-05-10 från <https://www.livsmedelsverket.se/om-oss/lagstiftning1/gallandelagstiftning/eg-forordning-20732005>
- Nationalencyklopedin (u.å). Pastörisering. Hämtad 2018-05-10 från: <http://www.ne.se.ezproxy.hkr.se/uppslagsverk/encyklopedi/lang/pastorisering>
- Nejati, F., Gatto, V., Castioni, A., Tebaldi, M., Babaei, M., Fracchetti, F. & Felis, G. E. (2014). Genetic diversity of enterococci from Iranian home-made artisanal dairy products. *Dairy Science & Technology* 2015(95), 151-165. doi: 10.1007/s13594-014-0193-2
- Nordic AST (2018). Nordic ASTs breakpoint tables. Hämtad 2018-05-21 från: <http://www.nordicast.org/brytpunktstabeller>
- Ortigosa, M., Irigoyen, A., Urdin M., García S., Ibañez F. C., & Torre P. (2008). Sources of enterococci in Idiazábal-type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 2008(125), 146–152. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.035
- Pederson, C.S. (1971). *Microbiology of food fermentations*. Westport, Conn.:
- Stoilova, E. (2013). From a Homemade to an Industrial Product: Manufacturing Bulgarian Yogurt. *Agricultural History; Berkeley* 87(1), 73-92. doi: 10.3098/ah.2013.87.1.73

- Suzzi, G., Caruso, M., Gardini, F., Lombardi, A., Vannini, L., Guerzoni, M. E., Andrighetto, C. & Lanorte, M.T. (2000). A survey of the enterococci isolated from an artisanal Italian goat's cheese (semicotto caprino). *Journal of applied microbiology*, 89(2), 267-274. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01120.x
- Tamime, A. Y. (2002). Fermented milks: a historical food with modern applications--a review. *European Journal of Clinical Nutrition; London*, 56(4), 2-15. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601657
- Tamime, A.Y. & Robinson, R.K. (1999). *Yoghurt: science and technology*. (2. ed.) Boca Raton, FL: CRC Press.
- TT (1996, 26 mars). Dansk yoghurt lanseras på nytt. *Dagens Nyheter*. Hämtad från <https://www.dn.se/arkiv/inrikes/dansk-yoghurt-lanseras-pa-nytt/>
- Vetenskapsrådet (2002). *Forskningsetiska principer inom humanistisk-samhällsvetenskaplig forskning* [Elektronisk resurs]. Stockholm: Vetenskapsrådet. Hämtad 19 april., 2018, från Vetenskapsrådet, <http://www.codex.vr.se/texts/HSFR.pdf>
- World Health Organization. (2006). *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. Geneva: World Health Organization.

Bilaga 1. Inbjudan sensorisk profilering

Hej,

Line Hellström heter jag och läser mitt sista år på Gastronomiprogrammet på Högskolan Kristianstad. Jag gör just nu mitt examensarbete som syftar till sensorisk och mikrobiologisk undersökning av termofila syrningskulturer. Arbetet fokuserar på yoghurtstyrning av tre olika kulturer: industriell kultur, heirloomkultur (traditionell, bredare kultur än de industriella) och unik spontanfermenterad gårdskultur. Handledare för examensarbetet är Caroline Lindö (caroline.lindo@hkr.se).

Min fråga är nu om ni vill vara med i en sensorisk panel för den kvalitativa undersökningen. Genom den sensoriska metoden Flavour Profile är syftet att panelen som består av 5-7 personer gemensamt ska ta fram smakprofiler för de olika kulturerna. Det blir ett tillfälle att fokusera smaksinnet och kanske samtidigt ta med erfarenheter från den här typen av smakprofilering. En metod som även är effektiv i marknadsföringssyfte.

Tillfället för den sensoriska undersökningen kommer att ske **18/5 kl. 11** på OST & vänner på östra Rönneholmsvägen 6 i Malmö. Ni är varmt välkomna! Det skulle betyda mycket för mig om ni vill vara en del i den sensoriska panelen.

Hör av er till mig om ni är intresserad av att delta eller om frågor dyker upp.

Med vänliga hälsningar Line Hellström

line.hellstrom0068@stud.hkr.se

070-890 00 25

Bilaga 2. Enkät för enskild sensorisk bedömning

Prov nr:.....

Bedömare nr:.....

Skriv ned alla sensoriska attribut du kan komma på.

Skölj gärna munnen med vatten och neutralisera med ett rån mellan proverna.

Smak/doft:

Konsistens: