



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och jordbruks-
vetenskap

Mikrobiotiskt flöde från mjölk till ost, baserat på pastöriserad och opastöriserad mjölk

Microbiota flow from milk to cheese, based on pasteurized and non-pasteurized milk

Sara Samuelsson

Självständigt arbete • 15 hp

Agronomprogrammet - livsmedel

Molekylära vetenskaper, 2018:29

Uppsala 2018

Mikrobiotiskt flöde från mjölk till ost, baserat på pastöriserad och opastöriserad mjölk

Microbiota flow from milk to cheese, based on pasteurized and non-pasteurized milk

Sara Samuelsson

Handledare: Monika Johansson, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för molekylära vetenskaper

Bitr. handledare: Jennifer Sundman, Mattas Gårdsmejeri, Åland

Examinator: Jana Pickova, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för molekylära vetenskaper

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i livsmedelsvetenskap - kandidatarbete

Kursansvarig inst.: Institutionen för molekylära vetenskaper

Kurskod: EX0669

Program/utbildning: Agronomprogrammet - livsmedel

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2018

Serietitel: Molekylära vetenskaper

Delnummer i serien: 2018:29

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Opastöriserad ost, gårdsmejeri, mikrobiota, MALDI ToF MS

Sammanfattning

Denna studie är gjord i samarbete med Mattas gårdsmejeri som ligger beläget i Sund på Åland. Mjölk, ostmassa och lagrad vitmögeloost, både pastöriserad och opastöriserad från samma mjölkbatch insamlades från mejeriet. Dessa mejeriprodukter undersöktes med avseende på dess mikrobiota. Parametrarna som undersöktes var mängden totala antal bakterier och stafylokockerbakterier. Dessa bakterier samt mjölksyrabakterier identifierades sedan i Maldi ToF MS. Även en pH-mätning av ostmassan under och efter ystningen utfördes.

Den pastöriserade ostmassan visade sig ha cirka 10^1 cfu ml^{-1} -enheter lägre bakteriehalt jämfört med den opastöriserade ostmassan. Den pastöriserade mjölken hade 10^2 cfu ml^{-1} -enheter lägre bakteriehalt jämfört med den opastöriserade mjölken. Den pastöriserade och den opastöriserade ostmassan hade ungefär samma pH-sänkning på 1,4 enheter ett dygn efter ystningen. Efter att vitmögeloosten lagrats i fyra veckor hade bakteriehalten sjunkit med 10^2 cfu ml^{-1} -enheter för den opastöriserade osten medan den pastöriserade osten hade sjunkit med 10^3 cfu ml^{-1} -enheter.

Bakterierna som identifierades i den pastöriserade ostmassan var *Stafylokokker warneri*, *Stafylokokker pasteuri*, *Stafylokokker epidermidid*, *Leunostoc pseudomesenteroides* och *Leunostoc mesenteroides*. I den opastöriserad ostmassan hittades *Stafylokokker warneri*, *Stafylokokker chromogenes*, *Proteus mirabilis* och *Leunostoc pseudomesenteroides*. I den opastöriserade mjölken från kyltank så identifierades *Stafylokokker warneri*, *Stafylokokker chromogenes*, *Aerococcus viridans* och *Rhodotorula mucilaginosa*. Slutligen så hittades endast *Stafylokokker aureus* och *Leuconostoc pseudomesenteroides* i den fyra veckor lagrade vitmögeloosten.

Nyckelord: Opastöriserad ost, gårdsmejeri, mikrobiota, MALDI ToF MS

Abstract

This study was conducted in collaboration with Mattas dairy farm, located in Sund on Åland islands. Milk, curd and matured white mould cheese, both pasteurized and unpasteurized from the same milk batch were collected from the dairy. These dairy products were examined for its microbiota. The parameters investigated were the amount of total bacteria and *Staphylococcus* bacteria. These bacteria as well as lactic acid bacteria were then identified in Maldi ToF MS. A pH measurement of the curd during and after the curdling was also performed.

The pasteurized curd was found to have approximately 10^1 cfu ml⁻¹ units lower bacterial content compared with the unpasteurized curd. The pasteurized milk had 10^2 cfu ml⁻¹ units lower bacterial content compared with the unpasteurized milk. The pasteurized and unpasteurized curd had approximately the same pH decrease of 1.4 units one day after the curdling. After the white mould cheese was stored for four weeks the bacterial content decreased with 10^2 cfu ml⁻¹ units for the unpasteurized cheese while the pasteurized cheese had fallen with 10^3 cfu ml⁻¹ units.

The bacteria identified in the pasteurized curd were *Stafylococcus warneri*, *Stafylococci pasteurii*, *Stafylococcus epidermidid*, *Leunostoc pseudomesenteroides* and *Leunostoc mesenteroides*. In the unpasteurized curd, *Stafylococcus warneri*, *Stafylococcus chromogenes*, *Proteus mirabilis* and *Leunostoc pseudomesenteroides* were found. In the unpasteurized milk from the cooling tank, *Stafylococcus warneri*, *Stafylococcus chromogenes*, *Aerococcus viridans* and *Rhodotorula mucilaginosa* were identified. Finally, only *Stafylococcus aureus* and *Leuconostoc pseudomesenteroides* were found in the four-week-old white mould cheese.

Keyword: unpasteurized cheese, dairy farm, microbiota, MALDI ToF MS

Innehållsförteckning

1	Inledning	9
1.1	Syfte	10
1.2	Metod	10
2	Ost	11
2.1	Svensk osthistoria	11
2.2	Opastöriserade ostars fördelar och nackdelar	12
2.3	Mjölakens beståndsdelar och koagulering	13
2.4	Bakteriologiska faror i ost	14
	2.4.1 Staphylococcus aureus	14
	2.4.2 Listeria monocytogenes	15
	2.4.3 Salmonella	15
	2.4.4 Escherichia coli	16
2.5	Mikrobiologiska analyser och gårdsmejerier	17
2.6	Bakteriologiska riktlinjer från EU-kommissionen	18
2.7	Önskade mikroorganismer	18
3	Material och metoder	20
3.1	Insamling och transport	20
3.2	Provberedning och analys	21
3.3	Pastöriserad och opastöriserad osttillverkning	21
4	Resultat	23
4.1	Pastöriserad samt opastöriserad mjölk och ostmassa från ystning	23
4.2	Pastöriserad samt opastöriserad vitmögelseost lagrad i fyra veckor	25
5	Diskussion	27
6	Slutsats	30
7	Referenslista	31

1 Inledning

Ostutvecklingen är den process av livsmedel efter vin som visar upp störst mångfald (Engelmann, 2009). Enligt många finsmakare så är den ost med högst klass tillverkad på opastöriserad mjölk. Utan pastöriseringen behåller osten sin unika bakteriekultur och därmed sin naturliga och säregna utveckling som leder till en mognad av smaken. Detta kan man inte uppnå med pastöriserade ostar i lika stor utsträckning. Den franska tidskriften *Grands Seigneurs du Fromage* uttrycker den pastöriserade ostens mjölk som ”*Pastöriserad mjölk är död mjölk och av död mjölk kan man inte göra levande ost*”.

I Sverige har det tidigare varit tillåtet att sälja opastöriserad mjölk till konsument ”i liten skala” från mjölgårdar (Livsmedelsverket, 2017). Från och med 1 september 2016 ändrades dock dessa regler och det är nu godkänt att sälja opastöriserad mjölk upp till 70 liter i veckan om en registrering hos länsstyrelsen skett innan. Förutom dessa krav så ska även den som köper mjölken få skriftlig information om riskerna med opastöriserad mjölk samt hur mjölken ska hanteras när man tagit hem den. Försäljning av opastöriserad ost är däremot inte alls lika strikt. Har gården en godkänd HACCP-plan och har fått ett godkännande av livsmedelsmyndigheten för tillverkning av opastöriserad ost så är det fritt fram för försäljning.

Den opastöriserade osttillverkningen kräver en djupare förståelse för hur viktigt det är att hålla hela kedjan från mjölk till ost hygienisk. Finns inte kunskapen om hur mjölken och dess bakterier kan påverka den opastöriserade osten så är risken större att kedjan bryts och produkten blir riskabel att äta. Att endast ägna sig åt en pastöriserad osttillverkning är och andra sidan är inte i det långa loppet lika utmanande för producenten och dess verksamhet.

Småproducenter idag lyssnar allt mer på den ökade efterfrågan av närproducerade mathantverk. En liten producent kan i större utsträckning uppfylla kundernas behov på ett helt annat sätt än de stora industrierna. Enligt en undersökning gjord av

livsmedelsföretagen 2017, en bransch- och arbetsgivarorganisation för livsmedelsföretagen i Sverige så anser 85 % av Sveriges befolkning att det är viktigt att deras mat och dryck är svensk. 52 % av dem väljer att handla ekologiskt. I och med den stora efterfrågan lönar det sig därför för småproducenter att utveckla nya, unika och kvalitetsmässiga ostprodukter.

1.1 Syfte

Syftet med denna studie var att ta reda på hur det mikrobiologiska flödet från mjölk till ost från samma mjölkbatch baserat på pastöriserad och opastöriserad mjölk såg ut. De mikrobiologiska riktlinjerna gällande opastöriserade ostar i Sverige studerades och den bakomliggande kulturen angående de svenska gårdsmejerierna och osttillverkningen betraktades.

1.2 Metod

För att ta reda på syftet med detta arbete så krävdes en del mjölk och ostmaterial. Detta erhöles från Mattas Gårdsmejeri i Sund på Åland. Arbetet innehöll ungefär 75 % litteraturstudier och 25 % laborativt arbete. Det litterära arbetet har till största del inneburit insamlande av given fakta. Framförallt från tidigare använda kursböcker, publicerad forskning men även genom artiklar från bland annat Eldrimner. Det laborativa arbetet bestod av två faser. Först en uppodling av mikrobiota i mjölk och ost som följdes upp av Maldi-Tofanalyser för att artbestämma de förekommande organismerna. Även en pH-mätning under och efter ystningen genomfördes.

2 Ost

Ostillverkningen sägs komma från den forntida arabiska öknen (IDFA, 2018). Enligt gamla krönikor nämns en sägen som är daterad för redan 4000 år sedan. Det sägs att osten kom till av en slump när en arabisk köpman skulle korsa öknen med en stor mängd mjölk. Transporten av mjölken skedde i en torkad fårmage. Kombinationen av värmen från öknen, omblandningen vid transporten och den gamla löpen från fårmagen gjorde att osten började koagulera. När köpmannen behövde stilla sin hunger under natten smakade han på ostmassan som visade sig ha en delikat smak.

Till Europa kom osten något senare genom resenärer från Asien (IDFA, 2018). Det romerska riket sägs ha legat i framkant och även spridit osten till bland annat England. Fram till 1800-talet var det dock endast ett arbete som de enskilda gårdarna ägnade sig åt. I USA först år 1851 etablerade sig den första riktiga ostfabriken i Oneida County i New York.

2.1 Svensk osthistoria

I Sverige har ostkulturen sedan länge varit djupt rotad, redan år 1895 fanns det 1793 stycken mejerier (Berglund, 2010). Ett drygt sekel senare, år 2010 har vi endast 26 mejerier kvar i Sverige. Förutom de 26 stora industrimejerierna så finns det idag ungefär 110 stycken gårdsmejerier som hjälper till att föra det svenska mathantverket framåt. Det var viktigt att ha en utbildning i ryggen från någon av landets mejeriskolor. Idag är det många som istället lär sig på egen hand via information på internet och kurser från bland annat Eldrimner. Tidigare användes stora ystgrytor i mejerierna, dessa kunde ofta rymma upp till 1000 liter mjölk som man för hand fick röra om i. Det var även vanligt att man pressade ostarna med hjälp av hävstänger och stenar. I dagens moderna mejeri används istället utrustning med hydraulik och ystkar med maskinell omrörning. Istället för plastformar

som idag används var det vanligt med träformar med ställås. När det inte fanns kylrum för lagring av osten som i dagens samhälle användes istället källare i anslutning till mejeriet med en temperatur på cirka 12°C.

Våra mest älskade och klassiska ostar i Sverige känner nog de flesta till. De största favoriterna är Västerbottenost, Herrgårdsost, Prästost, Svecia, Greve, Hushållsost och Gräddost (Berglund, 2010). Västerbottenosten har sedan 1869 varit i produktion i Burträsk. Osten är av samma karaktär som Västgötaost men eftervärmningen av ostkornen pågår längre och osten görs större. Det var mejerskan Eleonora Lindström som skapade osten i Gammelbyns mejeri i Burträsk. Herrgårdsost har sitt ursprung från greven Eric Ruuth i Skåne som lät den tillverkas redan på 1700-talet (Arla-Foods, 2017). Han ville få en svensk variant av Emmentalerost med fina runda hål och en kraftig smak med toner av nötter. Prästosten är liksom Herrgårdsosten daterad till 1700-talet (Berglund, 2010). Den uppkom genom att sockenbönder kom med tionde av mjölk eller ostmassa till ostmötena som hölls på prästgårdarna. Detta utvecklades till så kallade plockostar och Prästosten fick sin uppkomst. Svecia har fått sitt namn efter Sverige på latin, Suecia (Arla-Foods, 2017). Den härstammar redan från medeltiden och år 1997 fick den som den första och hittills enda osten i Sverige, skyddad geografisk beteckning enligt EU:s förordning om geografiskt skydd. Greve är en relativt ung klassisk ost med uppkomst år 1963 av Svenska Mejeriernas Riksförbund (Berglund, 2010). Den är inspirerad av osttillverkningen i norska Jarlsberg. Under tillverkningen används propionsyrakultur för att åstadkomma en liknande smak och textur som Emmentalerostar har. Hushållsost är en av våra mest klassiska ostar som har flera hundra års tradition i ryggen. Det är en bondost som har blivit kallad Hushållsost sedan 1800-talet. Det är från Hushållsosten en annan folkkär klassiker har utvecklats, Gräddosten.

2.2 Opastöriserade ostars fördelar och nackdelar

Allt eftersom att avelsarbete, koraser, utfodring, mjölkning, kylning, proteinhalt, fetthalt, fettsyror, aminosyror, syrakulturer och utrustning har förändrats så har även ostarnas smak och historia gjort det (Berglund, 2010). I och med att den svenska ostkulturen går framåt så faller det sig naturligt att även produktionen av ost gör det. Framför allt små gårdsmejerister och mathantverkare är intresserade av att utveckla sina produkter för att få fram mer unika, komplexa och sensoriskt intressanta smaker. Ett sett att göra detta är att utveckla sin produktion från pastöriserade ostar till opastöriserade. Det är dock inte alltid att den opastöriserade osten bara för med sig positiva egenskaper. Dålig hygien under processen kan i

värsta fall leda både till magsjuka och listerios (Backlund, 2010). Syftet med att gå vidare till opastöriserade ostar är på grund av att osten utvecklar sin sensoriska karaktär. Målet är dock fortfarande att osten skall behålla sin hygieniska kvalitet. Den opastöriserade mjölken innehåller en enorm mängd mikroorganismer, både önskade och oönskade. Majoriteten av mikroorganismerna som hittas i den obehandlade mjölken är dock goda och ger både en mångfald sensoriskt men har även en positiv inverkan på människans hälsa. Genom att behandla mjölken på rätt sätt från juver till färdiglagrad ost kan man styra mångfalden av mikroorganismer och gynna de önskade. Detta görs bland annat genom att hela kedjan från gård till mejeri håller bra hygien. Även rätt starterkultur sätter karaktär på mikrobiotan i den framtida osten. Under pastörisering tar man bort alla patogena mikroorganismer men även de önskade organismerna så som naturliga mjölksyrabakterier. Detta resulterar i en produkt som inte alls ger samma unika och komplexa smak som kännetecknar gårdens karaktär.

2.3 Mjölakens beståndsdelar och koagulering

Ostens slutgiltiga karaktär är direkt kopplad till råvarans kvalitet. Komjolk består av ungefär 87 % vatten, 3,6 % fett, 3,2 % protein, 4,7 % laktos, 0,6 % mineraler och 0,3 % vitaminer ((US), 1988). Rasen, åldern, laktationsfasen, mjölkningsintervall, medicinering och antal laktationer påverkar mjölakens sammansättning. Fettet i mjölken består till största del utav triglycerider, bestående av långkedjiga och kortkedjiga fettsyror. Proteinerna i mjölken bildas från aminosyrorna som kommer från kons blodomlopp. Laktosen bildas från galaktosen och glukosen i mjölkcellen. Precis som med proteinerna så kommer även salter, mineraler och vitaminer från blodet.

Proteinerna i mjölken är uppdelade i kaseiner (80 %) och vassleproteiner (20 %) ((US), 1988). Kaseinerna är rundformade miceller, de har en storlek på 0,02 till 0,04 μm i diameter med ett hydrofobt inre och en hydrofil negativt laddat k-kasein på utsidan. Vassleproteinerna är värmekänsliga globulära proteiner. Dessa kan ses som ”skinnet” på ytan av mjölken vid uppkokning.

Mjölakens koagulering kan antingen ske med hjälp av enzymer eller syra (Sapieja, 2015). Den enzymatiska koaguleringen sker med hjälp av löpe som utvinns från kalvens mage. Löpe består huvudsakligen av chymosin och pepsin, dessa enzymer spjälkar de hydrofila och negativt laddade k-kaseinerna på micellens yta (Hallén, u.d.). Efter spjälkningen av k-kasein förloras glykomakropeptider (GMP) i vasslen. När en tillräcklig mängd av k-kaseinerna på micellens yta spjälkas av så sker

en spontan reaktion där kaseinmicellen aggregerar med andra miceller. Det bildas ett koagel som också kallas för ostmassa och är basen för den framtida osten. Om man bryter koaglet separeras vasslen från ostmassan, en process som är känd som synerges. Vasslen som avlägsnas innehåller den mesta av laktosen samt de flesta vattenlösliga vassleproteinerna och vitaminerna. Kvar blir ostmassan med fett, kaseiner och kalcium.

2.4 Bakteriologiska faror i ost

2.4.1 Staphylococcus aureus

Introduktion

Vaughan och Sternberg, två forskare i Michigan sägs ha undersökt den första matförgiftningen orsakad av stafylokocker redan år 1884 (Hennekinne, et al., 2012). Detta troddes komma från ostar som var kontaminerade med bakterien. Några år efter detta, 1914 bevisade Barber, en annan forskare att konsumtion av mastitmjölk kunde leda till matförgiftning på grund av stafylokockerbakterier (Adams & Moss, 2008). Enterotoxinet som vi idag känner till som det som orsakar matförgiftningen upptäcktes år 1930 av Dack.

Organismen och dess egenskaper

Vi känner idag till 27 arter och 7 underarter av släktet stafylokocker (Adams & Moss, 2008). Enterotoxinproduktionen och därmed matförgiftningsegenskaperna är främst förknippad med *staphylococcus aureus*. *S. aureus* är en grampositiv sfärisk bakterie med en diameter på cirka 1 µm i diameter. Bakterien är katalaspositiv, fakultativt aerob och oxidasnegativ. Den är mesofil och värmeresistent med ett tillväxttemperaturintervall mellan 7 och 48°C där optimumet ligger på 37°C. Den naturliga miljön där man ofta hittar *S. aureus* är på huden hos varmblodiga djur.

Association med livsmedel

Matförgiftning orsakad av *S. aureus* upptäcks ofta redan 2-4 timmar efter förtäring, den korta inkubationstiden är ett resultat av toxinerna bakterien producerar i livsmedlet (Adams & Moss, 2008). Mindre än 1 µg av rent toxin har visat sig leda till matförgiftning. En mängd på över 10⁶ g⁻¹ bakterier krävs för att de ska kunna producera den mängd toxin som krävs för insjuknande. Toxinet är värmestabilt och resistent mot magens proteaser på grund av dess kompakta struktur. Kräk-

ningar, illamående, diarré och magkramper är vanliga symptom som ofta uppkommer efter förtäring av ett kontaminerat livsmedel.

2.4.2 *Listeria monocytogenes*

Introduktion

Listeria monocytogenes är den enda av sex kända bakterier inom genuset *Listeria* som har en sjukdomsframkallande inverkan på människor (Adams & Moss, 2008). Den beskrevs för första gången år 1926 då den visade sig ge in infektion hos kani- ner i laboratoriemiljö. Denna bakterie orsakar framförallt två sjukdomar, meningoencefalit hos vuxna idisslare samt en visceral form som är vanligare hos unga idisslare. Meningoencefalit angriper hjärnan medan den visceral typen an- griper organen i kroppen. Denna typ av infektion orsakad av *L. monocytogenes* kallas även i vardaglig mun för listerios.

Organismen och dess egenskaper

L. monocytogenes är en gram- och katalaspositiv, fakultativ anaerob, oxidasnega- tiv och icke sporformande bakterie (Adams & Moss, 2008). Den är ungefär 0,5 – 2 µm och formad som en kockoid stav. Vid en temperatur runt 25°C kan den även producera flageller för att förflytta sig med. *L. monocytogenes* växer i temperaturer från 0 - 42°C med ett optimum runt 30°C. Under 5°C växer den dock extremt långsamt.

Association med livsmedel

L. monocytogenes har hittats i bland annat salt- och färskvatten, avloppsslam, jord och ensilage (Adams & Moss, 2008). Förutom i naturen så hittas den även ibland hos opastöriserade och pastöriserade mjölkprodukter samt mjuka ostar. I flera studier från Europa, USA och Australasien så ligger den totala förekomsten av *L. monocytogenes* i opastöriserad mjök på cirka 2,2 %. Epidemier orsakade av listeria i ostar eller mjölk härrör oftast från nötlisterios. För att bakterien ska kunna orsaka någon infektion i den mänskliga kroppen krävs en stor infektionsdos på upp emot 10³ cfu g⁻¹. Det kan vara svårt att spåra bakteriekällan eftersom att inkubat- ionstiden kan variera från ett upp till 90 dygn. Symptomen hittas ofta hos gravida kvinnor och människor med nedsatt immunförsvar och kan liknas vid allt från mild influensa till meningit.

2.4.3 *Salmonella*

Introduktion

De första arterna av *Salmonella* upptäcktes redan på 1880-talet men det var inte förens 20 år senare som genuset *Salmonella* skapades (Adams & Moss, 2008). Idag är *Salmonella* en av de vanligaste bakterierna som orsakar livsmedelsburen magsjuka i världen. År 1989 var det ungefär 50 av 100 000 invånare i Europa som insjuknade i salmonella gastroenterit.

Organismen och dess egenskaper

Salmonella tillhör familjen Enterobacteriaceae, de är icke sporformande stavar, gramnegativa, katalaspositiva, fakultativt anaeroba, oxidasnegativa och till viss del motila med deras peritrika flageller (Adams & Moss, 2008). Tillväxten hos bakterierna har observerats från 5°C upp till 47°C med ett optimum på 37°C. Bakterierna är värmekänsliga och klarar därför inte av en pastörisering speciellt bra.

Association med livsmedel

Salmonella hittas ofta i mag-tarmkanalen hos flera olika djur ofta utan att något synligt symptom uppvisas (Adams & Moss, 2008). Spridningen sker ofta via faeces till vatten, mark, växter och därmed andra livsmedel och djur. En infektionsdos på 10^5 cfu g⁻¹ krävs för insjuknande (Folkhälsomyndigheten, 2016). De kliniska symptomen som salmonella orsakar är uppdelat i enteriter och systemiska sjukdomar (Adams & Moss, 2008). Enteriter inkluderar de gastrointestinala infektionerna som både kan inkludera bärande av bakterien som inte ger symptom samt den vanligaste typen som är svår diarré. *S. Enteritidis* och *S. Typhimurium* är de två vanligaste salmonellasorterna som orsakar denna typ av sjukdom. Inkubationstiden är mellan sex till 48 timmar och de vanligaste symptomen är mild feber, illamående, kräkningar, magsmärtor och diarré i upp till en vecka. Den andra formen är en systemisk sjukdom då salmonellabakterien, ofta *S. Typhi* och *S. Paratyphi* A, B och C spridit sig systemiskt via blodet och kan där med ge en bakteriemi med sepsis och möjligen en organpåverkan. Typhoid feber som är en sorts systemisk sjukdom har en inkubationstid mellan tre till 56 dagar och karaktäriseras av feber och en diarré som liknas vid ärtsoppa.

2.4.4 Escherichia coli

Introduktion

Isolerades redan 1885 från barns faeces och har sedan dess blivit en av de mest välförstådda frilevande organismerna (Adams & Moss, 2008). *E. coli* är utbredd i både människans och andra varmblodiga djurs mag-tarmkanal där det är den mest dominerande fakultativa anaeroben. Bakterien räknas som en opportunistisk patogen på grund av att den generellt är harmlös men även kan orsaka sjukdomar som

urinvägsinfektioner, sepsis och lunginflammation hos människor med nedsatt immunförsvar.

Organismen och dess egenskaper

Fram till 1982 klassificerades *E. coli* till tre olika diarréproducerande stammar (Adams & Moss, 2008). Detta baserat på deras virulensegenskaper. Enteropatogen *E.coli* (EPEC), enteroinasiv *E. coli* (EIEC) och enterotoxigenisk *E.coli* (ETEC). Från 1982 har nu även enterohaemorrhagisk *E. coli* (EHEC) som är associerad med serotyp O157:H7 blivit känd. Den har blivit ihopkopplad med ett antal utbrott av haemorrhagisk kolit och hemolytiskt uremiskt syndrom där livsmedel som opastöriserad mjölk, undertillagat kött och färskvaror varit inblandade.

E.coli tillhör familjen Enterobacteriaceae, den är oxidas- och gramnegativ, katalaspositiv, icke sporformande stav och fermentativ bakterie (Adams & Moss, 2008). Dock kan bakterien skilja sig från andra medlemmar i Enterobacteriaceae-familjen på grund av dess förmåga att fermentera socker. De olika typerna av diarréproducerande *E.coli* bakterierna har skilda patogeneser och kliniska egenskaper. Symptomerna kan skilja sig allt ifrån diarré till livshotande hemolytiskt ueramiskt syndrom och trombotisk trombocytopenisk purpura.

Association med livsmedel

Infektionen av EPEC, EITEC och ETEC har visat sig till största del komma från fekal kontamination till vattenförsörjning och från felaktig livsmedelshantering (Adams & Moss, 2008). Utbrott av EHEC serotyp O157:H7 involverar till största del opastöriserad mjölk samt undertillagat kött. En infektionsdos på ett tiotal bakterier har visat sig i vissa fall orsaka sjukdom (Svenungsson, 2017). Nötkreatur har visat sig vara en källa till O157:H7 infektioner och vid en studie i Storbritannien kunde bakterien isoleras i 0,9 – 8,2 % av alla friska nötdjur i landet (Adams & Moss, 2008).

2.5 Mikrobiologiska analyser och gårdsmejerier

Eftersom att små gårdsmejerier inte har tillgång till stora laboratorier med avancerad utrustning så använder dem istället beprövade ”hemmabruksmetoder”. Detta ska ge en indikation på hur kvalitén på mjölken är (Åkermo, 2018). En metod som används kallas laktofermentation. Detta går ut på att förvara nymjölkad mjölk i ett litet inkubationsskåp som håller en temperatur på 37°C under 24 timmar. Mjölken placeras i en ren transparent plastburk med lock. Om det efter 8 timmar bildats gasbubblor och locket svällt är det en indikation på bakterien *E.*

coli. Om mjölken efter 24 timmar börjat ”flocka/skikta” sig är det tecken på närvaro av bakterien *Bacillus*. Om den efter 24 timmar inte gjort något av ovan, luktar syrligt och har koagulerat till fast koagel så är det ett tecken på bra hygien och mycket mjölksyrabakterier. Har mjölken inte koagulerat och luktar sött så är det en indikation på att det inte finns så mycket mjölksyrabakterier närvarande, vilket måste kompenseras vid ystningen. Det är dock viktigt att påpeka att ett test som detta inte indikerar innehåll av varken *S. aureus* och *Listeria* som är två vanliga bakteriologiska faror vid osttillverkning.

2.6 Bakteriologiska riktlinjer från EU-kommissionen

För att skydda konsumenterna från att livsmedel som inte är säkra att konsumera kommer ut på marknaden så finns det en livsmedelslagstiftning. Denna lagstiftning är nästan helt utarbetad av EU och återfinns därför i bland i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 178/2002 som är ett av de mest grundläggande regelverken inom livsmedelslagstiftning.

De bakteriologiska riktlinjer som Svenska livsmedelsföretagare måste förhålla sig till hittas istället i EU kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 om mikrobiologiska kriterier för livsmedel. Tabell 1 är sammanställd utifrån denna förordning.

Tabell 1. Beskriver det cfu/g-värde där innehåll i given mejeriprodukt över medelvärdet räknas som otillfredsställande enligt EU kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005

	Opastöriserad mjölkprodukt	Pastöriserad mjölkprodukt
<i>E. coli</i>	100 cfu/g	1000 cfu/g
Koagulaspositiva stafylokocker	10 ⁵ cfu/g	1000 cfu/g
<i>Salmonella</i>	Fritt i 25 g	Information saknas
<i>Enterobacteriaceae</i>	Information saknas	5 cfu/ml

2.7 Önskade mikroorganismer

Mjölksyrabakterier

Mjölksyrabakterier (LAB, lactic acid bacteria) har ingen strikt taxonomisk signifikans som är vanligt för andra bakterier (Adams & Moss, 2008). Dock har dem några gemensamma egenskaper så som att de är grampositiva, katalas- och oxididasnegativa, syretoleranta anaerober och icke sporformande kocker eller stavar. Bakteriernas cellulära energi är härledd från fermenteringen av kolhydrater för att

producera mjölksyra. LAB kan vara antingen homofermentatorer eller heterofermentatorer. Homofermentatorer producerar laktat som en ensam produkt från fermentationen av laktos medan heterofermentatorer producerar ekvimolära mängder laktat, etanol/acetat och koldioxid från laktos. Dessa två kan lätt särskiljas i laboratoriet genom att titta på förmågan att producera koldioxid i glukosinnehållande medier för heterofermentatorerna.

Mjölksyrabakterier är kända för sina antimikrobiella egenskaper (Adams & Moss, 2008). Mjölksyrabildandet är den viktigaste produktionen för upprätthållandet av de inhiberande tillväxtfaktorerna, detta på grund av sänkningen av pH:t. Andra faktorer som påverkar inhiberingen av tillväxten av oönskade organismer är produktionen av bakteriociner, organiska syror, etanol, väteperoxid, diacetyl, dess låga redoxpotential och utarmning av näringsämnen. På grund av dessa egenskaper används ofta mjölksyrabakterier som en variant av konserveringsmedel. Vanliga livsmedel som innehåller mjölksyrabakterier är ostar av olika slag, yoghurt, surkål, isterband och kimchi. Förutom de antimikrobiella egenskaperna så har de även visat en positiv påverkan på vår mänskliga hälsa. Mjölksyrabakterierna har visat sig vara till vår fördel med bland annat en nutritionell förbättring av vårt födointag, inhibering av enteriska patogener, stimulering av immunsystemet, anticanceraktivitet, lindring av förstoppning/diarré och hypokolesterolemisk verkan.

3 Material och metoder

Denna studie är som tidigare nämnts gjord i samarbete med Mattas gårdsmejeri, ett litet familjeföretag som ligger beläget i Sund på Åland. Gården har för tillfället fyra mjölkande kor av raserna jersey, ayshire, nordfinsk boskap och västfinsk boskap. Under studien valdes det att analysera både pastöriserad och opastöriserad ost från en och samma mjölkbatch. Osten som tillverkades var av typen vitmöglöst.

Under ystdagen provtogs följande ostingredienser: pastöriserad mjölk lagrad i kyltank 36 timmar (1), opastöriserad mjölk lagrad i kyltank 36 timmar (2), pastöriserad färsk ostmassa (3) samt opastöriserad färsk ostmassa (4).

Efter lagring av osten i fyra veckor provtogs ostmassa från den pastöriserade (5) samt den opastöriserade osten (6).

Efter tre dygn från provtagningarna sattes de sex olika proverna på agarplattor och analyserades med avseende på totala antal bakterier, stafylokocker och mjölksyrabakterier efter inkubering.

3.1 Insamling och transport

Under ystdagen provtogs cirka 100 gram av de fyra olika ostingredienserna, 1, 2, 3 och 4. Dessa placerades i sterila plastburkar och förvarades i högst fem grader fram till analysdagen tre dygn senare. Eftersom att mejeriet ligger på Åland och analysen genomfördes på Sveriges lantbruksuniversitetet i Uppsala så användes väl isolerade frysboxar och isklampar vid transporten över Östersjön.

Analysen för både pastöriserad- och opastöriserad ost upprepades efter fyra veckors lagring.

3.2 Provberedning och analys

Tre olika media från märket Oxoid användes för identifiering av organismer i ost och mjölkproven, se tabell 2. Medierna bereddes, gjöts in på plattor och inkuberas med de olika proven enligt Oxoids anvisningar.

Tabell 2. Media, inkuberingstid samt temperatur och selektiv organism för varje media som använts för mjölk och ostproven.

Medium	Inkubering	Selektiv organism
MRS agar (De Man, Rogosa and Sharpe agar)	Anaerobt 30°C, 48 h	Mjölksyrabakterier
MS agar (Mannitol Salt agar)	Aerobt 37°C, 36 h	Stafylokokker
TS agar (Tryptic soy agar)	Aerobt 37°C, 24 h	Totala antal bakterier

100 µl av prov 1 och 2 spreds ut med hjälp av en steril rackla på de tre olika agar-sorterna (se tabell 2) för erhållning av spädning 1:10.

Prov 3, 4, 5 och 6 späddes 1:10 med NaCl lösning och homogeniserades med en Stomacher 400 Circulator 60 sekunder innan 100 µl spreds ut med hjälp av en steril rackla på de tre olika agarsorterna (se tabell 2) för erhållning av spädning 1:100.

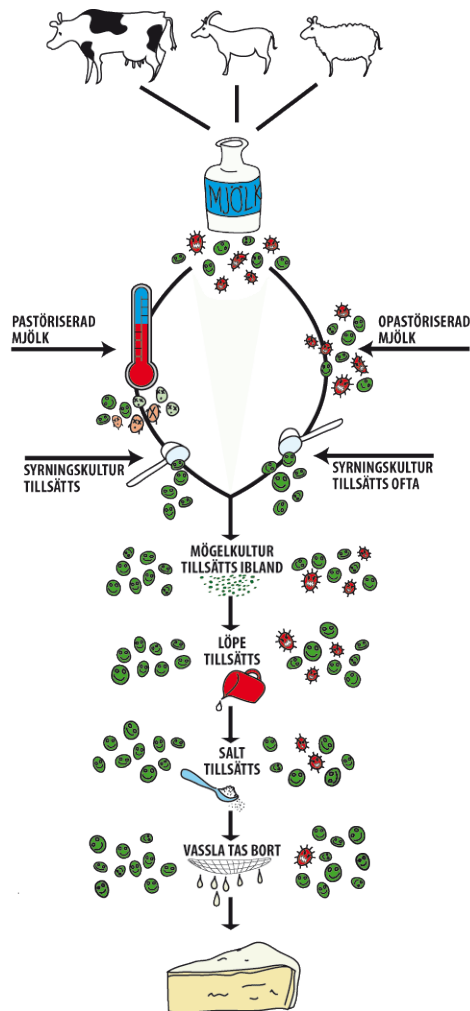
3.3 Pastöriserad och opastöriserad osttillverkning

Tillvägagångssätt pastöriserad vitmögelost:

Första steget vid tillverkning av pastöriserad vitmögelost är en lågpastörisering. Mjölken värms upp till 72°C under 15 sekunder. Därefter sker en nedkylning till 32°C. En inokulering av ystmjölken är det tredje steget i processen. Mesofil och termofil syrningskultur samt *Penicillium candidum* och *Geothricum candidum* tillsätts. Därefter får syrakulturen acklimatisera sig i 60 minuter. Löpläggning sker efter acklimatiseringen, då tillsätts cirka 30 ml löpe/100 kg mjölk. Under 60 minuter efter löplägningen får mjölken koagulera och därefter bryts koaglet till 10-12 mm stora ostkorn. En omrörning för att krympa ostkornen sker i cirka 30 minuter och därefter formas ostmassan i ostkorgar. Dränering och vändning av osten tre gånger under ett dygn i cirka 30 grader med hög luftfuktighet. När osten dränerats klart sker en torrsaltning och därefter får den ligga i rumstemperatur ytterligare ett dygn. När alla steg är klara lagras osten 6-8 veckor i kylrum med en temperatur på 12-14°C. Vändning av ostarna under lagringstiden sker varannan dag. En illustration på osttillverkningen hittas vid figur 1.

Tillvägagångssätt opastöriserad vitmögelost:

Den opastöriserade osten gjordes på samma sätt som den pastöriserade men lågpastöriseringen uteblev. Istället värmdes mjölken upp till 32°C och därefter startade inokuleringen av ystmjölken. En illustration på osttillverkningen hittas vid figur 1.



Figur 1. Osttillverkning. (Illustration: Kicki Edgren Nyborg, Råd&Rön)

4 Resultat

Den pastöriserade samt opastöriserade ostmassan och mjölken från ystdagen analyserades med avseende på stafylokocker (mannitol salt agar), totala antal bakterier (tryptic soy agar) samt mjölksyrabakterier (De Man, Rogosa and Sharpe agar). Efter plattsättning och inkubering på mannitol salt agar samt tryptic soy agar erhöles ett cfu/ml (colony-forming unit per ml) värde, se resultat i tabell 3.

4.1 Pastöriserad samt opastöriserad mjölk och ostmassa från ystning

Tabell 3. Antal stafylokockerbakterier samt totala antal bakterier (cfu/ml) i opastöriserad vs. pastöriserad mjölk från kyltank samt opastöriserad vs. pastöriserad ostmassa

Prov	Stafylokocker (cfu/ml)	Totala antal bakterier (cfu/ml)
Opast. mjölk från kyltank	$4,6 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
Past. mjölk från kyltank	<10	<10
Opast. ostmassa	$2,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$
Past. ostmassa	$2,6 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$

Ett pH-värde uppmättes under ystdagen innan ostmassan hade tagits ur ystkärlet och formats. Ytterligare ett pH-värde uppmättes cirka 24 timmar senare efter dränering. Dessa värden erhålls i tabell 4.

Tabell 4. pH-värden på opastöriserad samt pastöriserad ostmassa tagna med 24 timmars mellanrum under ystningsdagen innan formning samt en dag efter ystningen

Osttyp	pH
Opastöriserad färsk ostmassa (innan formning)	6,32
Opastöriserad ostmassa (en dag efter ystning)	4,95
Pastöriserad färsk ostmassa (innan formning)	6,27
Pastöriserad ostmassa (en dag efter ystning)	4,82

Genom Maldi-ToFanalyser på kolonierna efter inkubering av pastöriserad samt opastöriserad ostmassa och mjölk erhöles resultaten i tabell 5 – 13. Tabell 5 – 7 anger identifierad bakterieflora för prover inkuberade på mannitol salt agar, tabell 8 – 10 på tryptic soy agar och tabell 10 – 13 på De Man, Rogosa and Sharpe agar.

Tabell 5. Identifierad bakterieflora på mannitol salt agar från pastöriserad ostmassa

Bakterieart	%
<i>Stafylokokker warneri</i>	37,5
<i>Stafylokokker pasteuri</i>	37,5
<i>Stafylokokker epidermidid</i>	15

Tabell 6. Identifierad bakterieflora på mannitol salt agar från opastöriserad ostmassa

Bakterieart	%
<i>Stafylokokker warneri</i>	62,5
Okänd	25
<i>Stafylokokker chromogenes</i>	12,5

Tabell 7. Identifierad bakterieflora på mannitol salt agar från opastöriserad mjölk från kyltank

Bakterieart	%
<i>Stafylokokker warneri</i>	62,5
<i>Stafylokokker chromogenes</i>	25
<i>Aerococcus viridans</i>	12,5

Tabell 8. Identifierad bakterieflora på tryptic soy agar från pastöriserad ostmassa

Bakterieart	%
<i>Stafylokokker warneri</i>	75
<i>Stafylokokker pasteuri</i>	25

Tabell 9. Identifierad bakterieflora på tryptic soy agar från opastöriserad ostmassa

Bakterieart	%
<i>Proteus mirabilis</i>	Okänt

Tabell 10. Identifierad bakterieflora på tryptic soy agar från opastöriserad mjölk från kyltank

Bakterieart	%
<i>Stafylokokker warneri</i>	87,5
<i>Stafylokokker chromogenes</i>	12,5

Tabell 11. Identifierad bakterieflora på De Man, Rogosa and Sharpe agar från pastöriserad ostmassa

Bakterieart	%
<i>Leunostoc pseudomesenteroides</i>	87,5
<i>Leunostoc mesenteroides</i>	12,5

Tabell 12. Identifierad bakterieflora på De Man, Rogosa and Sharpe agar från opastöriserad ostmassa

Bakterieart	%
<i>Leunostoc pseudomesenteroides</i>	100

Tabell 13. Identifierad bakterieflora på De Man, Rogosa and Sharpe agar från opastöriserad mjölk från kyltank

Bakterieart	%
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	75
Okänd	25

4.2 Pastöriserad samt opastöriserad vitmögelost lagrad i fyra veckor

Den pastöriserade samt opastöriserade fyra veckor lagrade vitmögelisten analyserades med avseende på stafylokocker (mannitol salt agar), totala antal bakterier (tryptic soy agar) samt mjölksyrabakterier (De Man, Rogosa and Sharpe agar). Efter plattsättning och inkubering på mannitol salt agar samt tryptic soy agar erhöles ett cfu/ml (colony-forming unit per ml) värde, se resultat i tabell 14.

Tabell 14. Antal stafylokockerbakterier samt totala antal bakterier (cfu/ml) i opastöriserad vs. pastöriserad lagrad (4 veckor) vitmögelost

Prov	Stafylokocker (cfu/ml)	Totala antal bakterier (cfu/ml)
Opast. lagrad ost	<100	2,0x10 ²
Past. lagrad ost	<100	<100

Genom Maldi-ToFanalyser på kolonierna efter inkubering av opastöriserad samt pastöriserad fyra veckors lagrad vitmögelost erhöles resultaten i tabell 15 – 17. Tabell 15 anger identifierad bakterieflora på inkuberad tryptic soy agar och tabell 16 - 17 på De Man, Rogosa and Sharpe agar.

Tabell 15. Identifierad bakterieflora på tryptic soy agar från opastöriserad lagrad vitmögelost

Bakterieart	%
<i>Stafylokokker aureus</i>	100

Tabell 16. Identifierad bakterieflora på De Man, Rogosa and Sharpe agar från opastöriserad lagrad vitmögelost

Bakterieart	%
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	100

Tabell 17. Identifierad bakterieflora på De Man, Rogosa and Sharpe agar från pastöriserad lagrad vitmögelost

Bakterieart	%
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	100

5 Diskussion

Kontrollen av patogena mikroorganismer i osttillverkning blir allt mer viktig i dagens samhälle. Dels på grund av att vi idag har bättre koll på vad för sjukdomar dessa bakterier kan orsaka men även på grund av att tekniken för identifiering av bakterierna blivit bättre.

En provtagning av pastöriserad och opastöriserad ostmassa samt mjölk gjordes från ystdagen. En provtagning av pastöriserad och opastöriserad vitmögelost gjordes efter fyra veckors lagring. Mjölksproduktanalysen gjordes på tre olika sätt;

1. Uppodling av bakterier på mannitol salt agar samt tryptic soy agar för koloniräkning och identifiering i Maldi-Tof MS.
2. Uppodling av bakterier på De Man, Rogosa and Sharpe agar för identifiering i Maldi-Tof MS.
3. pH-mätning av ostmassa under ystning och dagen efter ystning.

I tabell 3 som innehåller resultatet från punkt ett i mjölksproduktanalysen hittades $2,3 \times 10^4$ cfu/ml stafylokockerbakterier samt $1,7 \times 10^4$ cfu/ml totala antal bakterier från den opastöriserade ostmassan. Vidare hade den pastöriserade ostmassan ett värde på $2,6 \times 10^3$ cfu/ml stafylokockerbakterier samt $3,0 \times 10^3$ cfu/ml totala antal bakterier. Antal cfu/ml i den opastöriserade mjölken var $4,6 \times 10^2$ stafylokockerbakterier samt $3,0 \times 10^2$ totala antal bakterier.

Samma analys fast för den fyra veckor lagrade vitmögelosten erhöles i tabell 14. Den opastöriserade lagrade osten hade <100 cfu/ml stafylokockerbakterier samt $2,0 \times 10^2$ cfu/ml totala antal bakterier. Vidare hade den pastöriserade lagrade osten <100 cfu/ml stafylokockerbakterier samt <100 cfu/ml totala antal bakterier.

Jämförs nu den opastöriserade vitmögelostmassan från ystdagen med den fyra veckor lagrade opastöriserade vitmögelosten så ser vi en stor skillnad. Bakteriehäl-

ten har gått ner hela 10^2 cfu/ml-enheter av att ha lagrats. En potentiell förklaring till detta hittar vi i tabell 4. Under ystdagen togs ett pH-värde på den färska opastöriserade samt pastöriserade ostmassan. Dagen efter togs ett till pH-värde när ostmassan hade dränerats i 24 timmar efter ystningen. Både den opastöriserade och den pastöriserade ostmassan sjönk med ungefär 1,4 pH-enheter. Detta är en indikation på att de önskade mjölksyrabakterierna har förökat sig och konkurrerat ut de andra oönskade mikroorganismerna.

En annan potentiell förklaring till varför mikroorganismerna har minskat i mängd är på grund av den syrefattiga miljön som bidrar under lagring i ostarna. Mjölksyrabakterier är som tidigare nämnts anaeroba och trivs därför bra i den syrefattiga miljön.

Från avsnitt 2.4 ”Bakteriologiska faror i ost” vet vi att det krävs en infektionsdos på upp emot 10^3 cfu g^{-1} bakterier för att bli sjuk av *L. monocytogenes* medan de för *S. aureus* krävs runt 10^6 cfu g^{-1} bakterier. Även salmonella kräver en hög infektionsdos på 10^5 cfu g^{-1} för insjuknande medan vid en infektion av *EHEC* så krävs det så lite som ett tiotal bakterier för att få symptom. Jämför vi dessa siffror med de som erhöles i tabell 3 så ser vi att det endast är *L. monocytogenes* samt *EHEC* som potentiellt skulle kunna vara en fara. Detta på grund av att den totala mängden bakterier överstiger 10^3 cfu g^{-1} för pastöriserad och opastöriserad ostmassa. Genom kontroll av bakteriefloran via Maldi ToF analysen så vet vi att ingen av dessa två bakteriearter hittades i ostarna.

För att *S. aureus* ska kunna producera den mängd toxin som krävs vid insjuknande så behövs en bakteriemängd på 10^6 cfu g^{-1} . Dessa mängder kom ingen av ostarna upp i och därför räknas ostarna som tjanliga att äta trots att den koagulaspositiva *S. aureus* hittades i den opastöriserade lagrade vitmögelosten, se tabell 15. De övriga fyra identifierade stafylokockerarterna är klassificerade som koagulasnegativa. I EU kommissionens förordning (EG) nr 2073/2005 står det att i en opastöriserad mjölkprodukt får det inte finnas mer än 10^5 koagulaspositiva stafylokocker. Mängden som hittades i den opastöriserade lagrade vitmögelosten låg på $2,0 \times 10^2$ vilket är 10^3 -enheter från gränsvärdet och osten räknas därför som tjanlig.

Resultaten var nästan helt tillfredställande. Något som dock gav ett missvisande resultat syns i tabell 9 där organismen *Proteus mirabilis*, en så kallad svärmarbakterie och la sig som ett ”täcke” över agarytan. På grund av detta kunde endast denna bakterie identifieras under analysen på tryptic soy agar från opastöriserad ostmassa i Maldi ToF MS.

Under analysen av mjölken, ostmassan och den lagrade osten i Maldi ToF MS togs åtta kolonier till utseendet så olika som möjligt från varje agarplatta. Under analysen visade det sig i vissa fall, till exempel i tabell 6, att en del av de utvalda kolonierna inte fanns med i organismdatabanken från Maldi ToF MS maskinen. Detta kan ge ett missvisande resultat eftersom att i detta fall hela 25 % av den okända potentiellt farliga bakterien fanns tillgänglig på mannitol salt agarplattan från den opastöriserade ostmassan.

6 Slutsats

Syftet med denna studie var att ta reda på hur det mikrobiologiska flödet från mjölk till ost baserat på pastöriserad och opastöriserad mjölk såg ut. Resultatet i detta arbete ger svar på syftet och frågeställningen. Det kan vara till nytta då diskussioner angående den mikrobiologiska floran i mjölken hos ett mejeri studeras. Ett högt antal totala antal bakterier i början av processen behöver inte indikera att även den färdiglagraade osten har ett högt värde. Slutsatsen är att genom att följa mjölkens flöde, både den pastöriserade och den opastöriserade så kan man se att halten bakterier från mjölken minskar när pH:t sjunker och osten lagras.

7 Referenslista/References

- National Research Council. (1988). *Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace*. Washington (DC): National Academies Press (US).
- Åkermo, K. (2018). Mathantverksskurs med inriktning på mejeriprodukter. Sund, Åland.
- Adams, M., & Moss, M. (2008). *Food Microbiology* (3:e upplagan uppl.). The Royal Society of Chemistry.
- Arla-Foods. (2017). *Arla*. Tillgänglig: <https://www.arla.se/produkter/arla-ko/arla-ko-ost/herrgard/> den 7 April 2018
- Arla-Foods. (2017). *Arla*. Tillgänglig: <https://www.arla.se/produkter/arla-ko/arla-ko-ost/svecia/> den 7 April 2018
- Backlund, I. (2010). *Eldrimner*. Tillgänglig: http://www.eldrimner.com/core/files/NB4_2010_opastoriserad.pdf den 19 April 2018
- Berglund, A. (2010). Svensk osthistoria - Björn Sigbjörn. *Eldrimner*.
- Engelmann, B. (2009). *Finsmakarens handbok om ost*. Berlin: Tandem Verlag GmbH.
- Folkhälsomyndigheten. (2016). *Sjukdomsinformation om salmonellainfektion*. Folkhälsomyndigheten. Tillgänglig: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/smittydd-beredskap/smittsamma-sjukdomar/salmonellainfektion/> den 19 April 2018
- Goos, A., & Mucchiano, D. (u.d.). *Lunds Tekniska Högskola*. Tillgänglig: http://www.vattenhallen.lth.se/fileadmin/vattenhallen/images/mediconalley/postrar_bme_student/Maldi-Tof_LL.pdf den 18 April 2018
- Hallén, E. (u.d.) *Svårkoagulerad mjölk - karakterisering och effekter på ostutbytet*. Journal of Dairy Research.
- Hennekinne, J.-A., De Buyser, M.-L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation*. Tillgänglig: <https://academic.oup.com/femsre/article/36/4/815/520403> den 05 April 2018
- IDFA. (2018). *International Dairy Foods Association*. Tillgänglig: <http://www.idfa.org/news-views/media-kits/cheese/history-of-cheese> den 10 April 2018
- Livsmedelsverket. (2017). *Opastöriserad mjölk*. Livsmedelsverket.

Sapieja, A. (2015). *Mejeriprocessernas påverkan på mjölkens komponenter*. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.

Svenungsson, B. (2017). *EHEC, Enterohemorragiska E. coli*. Stockholm: Internetmedicin.