

---

# **Hapanteen ja hapatehäiriöiden vaikutus Oltermanni-juuston valmistuksessa**



Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö

Bio- ja elintarviketekniikka

Visamäki 3.5.2011

Timo Hilonen



Bio- ja elintarviketekniikka  
Hämeenlinna

Työn nimi                      Hapatteen ja hapatehäiriöiden vaikutus Oltermanni-juuston valmistuksessa

Tekijä                              Timo Hilonen

Ohjaava opettaja              Matti Tapaila

Hyväksytty                      \_\_\_\_\_.\_\_\_\_\_.20\_\_\_\_

Hyväksyjä

## VISAMÄKI

Bio- ja elintarviketekniikka  
Meijeriteknologia

---

<b>Tekijä</b>	Timo Hilonen	<b>Vuosi</b> 2011
<b>Työn nimi</b>	Hapatteen ja hapatehäiriöiden vaikutus Oltermanni-juuston valmistuksessa	

---

## TIIVISTELMÄ

Kypsyttävien juustojen valmistuksessa happaneminen ja sen hallinta ovat oleellisessa osassa halutun lopputuotteen saavuttamiseksi, ja ilman niitä koko valmistusprosessin hallitseminen on vaikeaa.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli löytää Valio Oy:n Haapaveden tehtaalta juustonvalmistusprosessista tekijöitä, joiden avulla happanemisprosessia olisi helpompi hallita. Työn pääpainona oli määrittää käyttöhapatteelle arvo, jolla hapatteen toimintaa voitaisiin ennakoida, ja jonka perusteella kyettäisiin tekemään muutoksia prosessiparametreihin happanemisprosessin hallitsemiseksi. Työn teoriatausta kerättiin alan kirjallisuudesta, Juustontuotanto-opintojaksolla jaetusta opintomateriaalista ja siellä opetetuista asioista sekä alan asiantuntijoilta. Työssä käytetyt tutkimusmenetelmät pohjautuvat teoriaan ja jo käytössä oleviin menetelmiin.

Työn tavoitteet saavutettiin hyvin. Työn perusteella otettiin käyttöön aktiivisuuskoe, jonka avulla hapatteen aktiivisuus on tiedossa ennen sen käyttöönottoa. Aktiivisuuskokeen avulla voidaan ennakoida aktiivisuudeltaan heikompien hapatteiden vaikutusta lopputuotteeseen ja prosessin kulkuun. Muiden happanemisprosessiin vaikuttavien tekijöiden osalta tutkittiin bakteriofaageja, joista prosessissa oli viitteitä. Faagimäärityksissä saatiin suuntaa antavaa tietoa faagien estotason nykytilasta. Hapatteiden toiminnan edistämiseksi ja faagien ehkäisemiseksi testattiin myös varahapattetta ja sen soveltuvuutta prosessiin.

Jatkossa aktiivisuuskokeelle voidaan mahdollisesti luoda tarkat rajat, joiden avulla happanemista voidaan tarkasti hallita. Faagien ehkäisemiseksi ja siten tasaisemman happanemisen edistämiseksi hapatteiden vuorottelua tulisi harkita. Lisäksi riittävien välipesujen määrittäminen tulisi tehdä tarkkaan, jotta pystytään näiltä osin edistämään happanemista ja optimoimaan tarvittavat pesut. Aktiivisuuskokeen kehittäminen ja käyttäminen happanemisprosessin hallinnassa olisi alalla uutta, jolla voitaisiin saavuttaa hyviä lopputuloksia happanemisen osalta.

**Avainsanat** Happaneminen, hapate, aktiivisuus, bakteriofaagi

**Sivut** 45 s, + liitteet 8 s.

VISAMÄKI

Degree Programme in Biotechnology and food engineering

Dairy technology

---

<b>Author</b>	Timo Hilonen	<b>Year</b> 2011
<b>Subject of Bachelor's thesis</b>	Effect of Starter Culture and Acidification Disturbance in the Oltermanni Cheese Making Process	

---

ABSTRACT

In the manufacture of matured cheese, the acidification and its control play an essential role in reaching the desired final product. Without them the control of the whole process is really hard to reach.

The purpose of this thesis was to find the factors that affect acidification and which can be used to control the acidification process in cheese making. The main aim was to define a value to the starter culture that can be used to estimate the function of the culture, and to make changes in process parameters to control the acidification process. This thesis was commissioned by Valio Oy, Haapavesi Plant. The theory was collected from dairy and cheese literature, lecture notes of cheese making course and experts in the dairy industry. The research method was based on the theory and existing methods.

On the basis of the results of the study an activity test was introduced. This shows the activity of the starter culture before it is used. With this test the effects of cultures with a weak activity on the final product and process can be foreseen and inhibited. Other factors affecting the acidification process that were examined were bacteriophages, of which there were signs in the process. The results of phage determination give suggestive information about the current status of phage. In addition, a new substitute starter and its suitability to the process was tested, in order to improve the function of the starter culture and to inhibit phages.

In the future, detailed limits can be created for the activity test, which helps the accurate control of the acidification. The rotation of starter cultures should be considered to inhibit phages and thereby improve the acidification. It is also very important to determine right cleaning practices to optimize them and thereby improve the acidification. Developing and using the activity test to control acidification process with accurate limits will give good results in the acidification and will bring something new to the dairy industry.

**Keywords** Acidification, starter culture, activity, bacteriophage

**Pages** 45 p + appendices 8 p.

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	1
1.1	Toimeksiantaja .....	1
1.2	Tietotausta ja kokeellinen osio.....	1
2	OLTERMANNI-JUUSTON VALMISTUSPROSESSI .....	2
2.1	Maidon esikäsittelyt .....	2
2.1.1	Separointi ja vakiointi.....	2
2.1.2	Lämpökäsittelyt ja baktofugointi.....	2
2.2	Keittovaihe .....	2
2.2.1	Maidon otto .....	3
2.2.2	Juoksettaminen .....	3
2.2.3	Paloittelu eli leikkaus .....	4
2.2.4	Heran poisto.....	4
2.2.5	Sekoittaminen eli hämmennys.....	4
2.2.6	Vesilisäys ja jälkilämmitys .....	4
2.2.7	Massanlasku .....	5
2.3	Muottaus- ja puristusvaihe .....	5
2.3.1	Muottaus .....	5
2.3.2	Tunnelointi .....	5
2.4	Suolaus .....	6
2.5	Pakkaus.....	6
2.6	Kypsytyt.....	6
3	HAPATTEEN VAIKUTUS JUUSTONVALMISTUSPROSESSISSA .....	7
3.1	Hapate.....	7
3.1.1	Metabolia ja jaottelu .....	8
3.1.2	Aktiivisuus.....	10
3.1.3	Käyttöhapatteen valmistus, ja sen vaikutus aktiivisuuteen .....	11
3.1.4	Lisäysmäärä.....	13
3.2	Hapatteen valinta.....	14
4	HAPATEHÄIRIÖIDEN VAIKUTUS HAPPANEMISEEN .....	16
4.1	Bakteriofaagit .....	16
4.1.1	Morfologia.....	17
4.1.2	Faagien lisääntyminen .....	17
4.1.3	Bakteriofaagien ehkäiseminen.....	19
5	HAPPANEMISEN VAIKUTUKSET PROSESSISSA JA TUOTTEESSA.....	21
5.1	Koostumus ja rakenne .....	21
5.1.1	Suolautuminen.....	22
5.1.2	Hajoamisreaktiot kypsytyksessä.....	23
6	HAPATTEEN JA HAPATEHÄIRIÖIDEN TUTKIMINEN HAAPAVEDEN TEHTAALLA .....	24
6.1	Työn tavoite.....	24

6.1.1	Lähtökohdat .....	24
6.2	Menetelmät ja määritykset .....	27
6.2.1	Aktiivisuuskoe .....	27
6.2.2	Faagitestit .....	28
6.2.3	Uuden varahapanteen testaus .....	29
7	TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU .....	30
7.1	Aktiivisuuskoe .....	30
7.2	Aktiivisuuskokeen tulosten tilastollinen tarkastelu .....	32
7.2.1	1. linja .....	32
7.2.2	2. linja .....	32
7.3	Faagitestit .....	33
7.3.1	Faagiauditointi .....	33
7.3.2	Faagitestit kattiloista .....	34
7.4	Varahapate .....	37
7.4.1	Aktiivisuus .....	37
7.4.2	Estotekijät .....	37
8	POHDINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET .....	40
	LÄHTEET .....	44

Liite 1 Aktiivisuuskoe hapatteesta

Liite 2 Faagimääritys (perustuu pH:n muutokseen)

## 1 JOHDANTO

Juuston happaneminen ja sen hallinta ovat juustonvalmistusprosessin kannalta tärkeimpiä tekijöitä onnistuneen ja tasalaatuisen lopputuotteen saavuttamiseksi. Happanemisprosessiin vaikuttavat erittäin monet tekijät juustonvalmistusprosessissa. Optimaalisessa tilanteessa kyettäisiin hallitsemaan kaikkia niin systeemistä johtuvia kuin systeemin ulkopuolelta tulevia tekijöitä ja vaihtelun lähteitä, jotka vaikuttavat juuston happanemiseen. Nykytietämyksellä tämä ei vielä ole kuitenkaan mahdollista. Juustonvalmistuksessa ollaan tekemisissä elävien maitohappobakteerien kanssa, joten niiden kohtalainenkin tunteminen vaatii äärimmäisen tarkkaa ja pitkäaikaista tutkimustyötä happanemisprosessin parissa.

### 1.1 Toimeksiantaja

Työn toimeksiantaja Valio Oy, Haapavesi valmistaa Oltermanni-juustoa, jonka kysynnän kasvu ja suuremmat tuotantomäärät vaativat myös prosessilta yhä enemmän ja enemmän. Happanemisenhallinnan tärkeys on ollut viime aikoina suuressa roolissa Haapaveden tehtaalla, ja sen kehittäminen on erittäin tärkeää nykyhetken ja erityisesti tulevaisuuden kannalta.

Tästä syystä opinnäytetyössä pyrittiin löytämään ja tutkimaan menetelmiä ja toimenpiteitä, joilla happanemisenhallintaa voitaisiin kehittää Haapaveden tehtaalla. Työn tavoitteena oli selvittää hapatteen toimivuus ja vaihtelu eri käyttöhapate-erien välillä sekä lisäksi tutkia mahdollisten hapatehäiriöiden, erityisesti bakteriofaagien, vaikutusta happanemisprosessiin.

### 1.2 Tietotausta ja kokeellinen osio

Työn teoriaosiossa käydään läpi Oltermanni-juuston valmistusprosessi lyhyesti, hapatteen ja happanemishäiriöiden, erityisesti bakteriofaagien, vaikutus happanemiseen sekä happanemisen vaikutus lopputuotteeseen.

Kokeellisessa osiossa tutkitaan hapatteen toimivuutta ja tehoa, bakteriofaagien vaikutusta happanemisprosessiin ja uuden varahapatteen soveltuvuutta prosessiin.

## 2 OLTERMANNI-JUUSTON VALMISTUSPROSESSI

### 2.1 Maidon esikäsitteilyt

Juustonvalmistuksessa käytettävä maidolle tulee suorittaa riittävät esikäsitteilyt, jotta halutun lopputuotteen saavuttaminen on mahdollista.

#### 2.1.1 Separointi ja vakiointi

Juustomaidon prosessointi meijerillä aloitetaan separoimalla raakamaito, jolloin siitä erotetaan keskipakovoiman avulla maidon rasvaosa eli kerma ja rasvaton osa eli kurri. Lähes aina teollisessa juustonvalmistusprosessissa separoinnin jälkeen maito vakioidaan. Oltermanni-juuston valmistuksessa käytettävälle juustomaidolle suoritetaan vakiointi rasvan ja proteiinin suhteen. Vakioinnilla säädetään juuston kuiva-aineen rasvapitoisuutta (KAR). Juustonvalmistuksessa on yleistymässä vakiointitapa, jolla valmistetaan niin sanottua ideaalimaitoa juustonvalmistukseen. Tässä juustomaito vakioitaisiin paitsi rasvan ja proteiinin niin myös laktoosin suhteen. Näin maito pysyisi näiltä osin tasalaatuisena jokaisena päivänä, ja prosessi olisi siten helpommin hallittavissa. (Tapaila 2005, 44.)

#### 2.1.2 Lämpökäsittelyt ja baktofugointi

Vakioitu juustomaito lämpökäsitellään prosessin ja tuotteen edellyttämällä tavalla. Lämpökäsittelyn pääasiallisena tarkoituksena on turvata lopputuotteen elintarvikehygieeninen laatu tuhoamalla juustonvalmistuksen kannalta haitallisia mikrobeja. Samalla se edistää hyötymikrobien kasvua luomalla niille hyvät ja puhtaat kasvuolosuhteet. Lisäksi lämpökäsittely lisää saantoa heraproteiinien ja kaseiinien muodostaman yhteissaostuman vuoksi. Oltermanni-juuston valmistuksessa käytetään kahta lämpökäsittelyä: pastörintia ja korkeapastörintia. (Kristensen 1999, 21.)

Pääosa juustomaidoista pastöroidaan, jolloin maito kuumennetaan vähintään 71,7 °C:een lämpötilaan, vähintään 15 sekunnin ajaksi. Käytännössä pastörinti suoritetaan usein noin 72 – 73 °C:ssa, noin 15 – 20 sekuntia. (Kristensen 1999, 21.) Korkeapastörinti sen sijaan voidaan suorittaa esimerkiksi 95 °C:een lämpötilassa 15 sekunnin ajan.

Lämpökäsittelyn lisäksi maidon mikrobiologisen laadun parantamiseksi on otettu käyttöön baktofugointi, joka on mikrobien mekaaninen vähentämisprosessi. Baktofugointi perustuu bakteereiden ja itiöiden separointiin maidosta. Baktofugoinnin tärkein tehtävä on poistaa maidon voihiappobakteerien itiöitä. Baktofugointi suoritetaan normaalisti noin 60 °C:ssa. (Kristensen 1999, 27-28.)

### 2.2 Keittovaihe

Esikäsitelty juustomaito on valmis prosessoitavaksi. Prosessointi alkaa juustonvalmistuksen keittovaiheella, joka voidaan jakaa esivalmistukseen



ja jälkivalmistukseen. Varsinainen esivalmistus alkaa juoksetteen lisäyksestä juustomaidon joukkoon, mutta ennen tätä vaihetta täytyy suorittaa juustomaidon ja muiden lisäysten siirto juustokattilaan. Esivalmistus kattaa kaikki toimenpiteet juoksetteen lisäyksestä jälkilämmitykseen ja/tai vesilisäykseen. Vesilisäyksen ja/tai jälkilämmityksen jälkeinen jälkivalmistusvaihe kestää aina rakeiston erotukseen herasta asti.

### 2.2.1 Maidon otto

Valmistusprosessi alkaa maidon otolla. Tässä vaiheessa määräraha halutun lämpöistä juustomaitoa annostellaan juustokattilaan. Maidon lämpötila määräytyy pitkälti juustossa käytettävän juoksetuslämpötilan perusteella. Maidon siirron aikana sen joukkoon, suoraan maitovirtaan, lisätään kalsiumkloridia ja hapatetta. (Kärki 2007.)

Kalsiumkloridi ( $\text{CaCl}_2$ ) on yleisesti juuston valmistuksessa käytetty apuaine, jolla voidaan kompensoida pastöroinnin vaikutus maidon liukoisen kalsiumpitoisuuden osalta. Kalsiumkloridin tärkeämpi tehtävä on kuitenkin juustomaidon pH:n laskeminen eli happamuuden lisääminen, jolla on osaltaan vaikutusta juoksettuman laatuun ja rakenteeseen. (Tapaila 2010b.)

Oltermanni-juuston valmistuksessa hapatellisäys tapahtuu kalsiumkloridilisäyksen päätyttyä. Hapatteen tärkein tehtävä on happamuuden lisääminen juustomaidossa, rakeistossa ja itse juustossa. Happamuuden lisääntyminen ja hapatteen toiminta tulisi tasaisen prosessin saavuttamiseksi olla halutunlaista valmistuskerrasta toiseen, mikä nykyaikaisessa valmistusprosessissa vaatii paljon sekä prosessilta että hapatteelta. Lisäksi hapatebakteerien tehtävänä on tuottaa suuri osa juuston aromista ja flavorista, suojata tuotannon aikana haitallisilta mikro-organismeilta sekä edistää juoksettumista ja synereesiä. (Tapaila 2010a.)

Hapate- ja juoksettelisäyksen välistä aikaa kutsutaan juustomaidon esikypsytykseksi. Esikypsytyksen aikana maitohappobakteerit alkavat tuottaa maitohappoa juustomaitoon. Tämä esikypsytysvaihe on yksi tehokkaimista keinoista vaikuttaa käytettävissä olevan laktoosin käymisaikaan ja happanemiseen, mutta samalla saatetaan luoda mahdollisille bakteriofaageille otolliset olosuhteet lisääntyä juustonvalmistuksen kannalta haitalliselle tasolle. (Tapaila 2010b; 2010c.)

### 2.2.2 Juoksettaminen

Kun maito ja tarvittavat lisäaineet ovat kattilassa, aloitetaan juuston varsinainen esivalmistus. Esivalmistus alkaa juoksetteen lisäämisestä juustomaidon joukkoon eli juustomaidon saostamisella.

Juoksetteen määrä mitataan tarkasti ja laimennetaan ennen käyttöä kylmään veteen. Juoksete annostellaan kattilaan tasaisesti, minkä jälkeen kattilamaitoa sekoitetaan muutaman minuutin ajan tehokkaasti. Näin varmistetaan juoksetteen tasainen jakautuminen maidon joukkoon. Juoksetteen

sekoittamisen jälkeen kaikki liike kattilassa pysäytetään. Juoksetteen ja kalsiumkloridin määrää säädellään siten, että sopiva juoksettuma saadaan aikaan halutussa ajassa. (Kammerlehner 1986, 72, 75.)

### 2.2.3 Paloittelu eli leikkaus

Oikean juoksettumisajan määrittäminen on tärkeimpiä hetkiä juuston valmistuksessa. Juoksettumisaika on aika, joka kuluu juoksetteen lisäyksestä, siihen hetkeen kun saostumaa aletaan leikata eli rakeiston teko aloitetaan. (Kammerlehner 1986, 75-76.)

Rakeiston teossa saostuma leikataan hellävaraisesti, mahdollisimman tasakokoisiksi, kuutionmuotoisiksi rakeiksi, jotka myöhemmin valmistuksen aikana muotoutuvat epäsäännöllisen pyöreiksi partikkeleiksi. (Kristensen 1999, 107.)

### 2.2.4 Heran poisto

Leikkauksen jälkeen rakeista alkaa erottua heraa, jonka ulkonäön perusteella voidaan arvioida prosessin onnistumista. Heran ollessa kirkasta ja vaaleankeltaista ovat juuston valmistuksen ominaisuudet hyvät ja leikkausajankohta ja rakeiston teko on sujunut halutulla tavalla. Kun taas heran ollessa vaaleaa ja maitomaista voi juustomaidossa olla ongelmia, leikkausprosessi on jollakin tavoin epäonnistunut tai aloitettu liian aikaisin tai happaneminen on ollut heikkoa. (Tapaila 2010b.)

Valmistusprosessissa rakeiston teon jälkeen rakeisto-heraseokselle suoritetaan heran poisto, jolla on tärkeä merkitys juuston valmistuksessa. Heran poistolla pyritään vähentämään lisättävän veden määrää ja lämmitysenergian käyttöä. (Kärki 2007.) Se helpottaa rakeistoheraseoksen kanssa työkentelyä, ja sen määrällä voidaan vaikuttaa rakeistoon kohdistuvaan mekaaniseen paineeseen ja synereesiin. Synereesin myötä voidaan vaikuttaa rasvattoman kuiva-aineen, erityisesti laktoosin, erottumiseen rakeistosta sekä rasvattoman osan vesipitoisuuden ja happamuuden säätöön. (Kristensen 1999, 108; Tapaila 2010b.)

### 2.2.5 Sekoittaminen eli hämmennys

Heran poiston jälkeen aloitetaan rakeiston hämmennys, joka on tärkeitä vaiheita puolikovien juustojen valmistuksessa. Hämmennyksen tehtävä on estää rakeita tarttumasta kiinni toisiinsa. Kiinni tarttuneista rakeista heran irtoaminen on heikompaa. Hera-rakeistoseosta täytyy sekoittaa aina siihen saakka kunnes se siirretään muotteihin. (Kammerlehner 1986, 87-88.)

### 2.2.6 Vesilisäys ja jälkilämmitys

Heran poiston jälkeen suoritetaan vesilisäys, jolla laimennetaan juustoon jäävän maitosokerin eli laktoosin ja muiden vesiliukoisten ainesten pitoisuutta. Suuren vesilisäyksen vaikutuksesta juusto kypsyy nopeammin, sen

maku on mieto ja säilyvyys on lyhyempi. Kun taas pienellä vesilisäyksellä tai sen kokonaan pois jättämisellä saadaan hapan juusto joka kypsyy hitaasti. Näin ollen juustossa on voimakas maku ja hyvä säilyvyys. Vesilisäystä käytetään samalla myös juustorakeiston lämpötilan säätöön. (Kärki 2007.)

### 2.2.7 Massanlasku

Oltermanni-juuston valmistuksessa käytetään jatkuvatoimista muotituslaitteistoa, joten massanlasku kattiloista tapahtuu bufferiin eli välisäiliöön. Bufferissa useiden kattiloiden massat sekoittuvat keskenään.

Massanlasku ei suoranaisesti lopeta juuston keittovaihetta, koska juustorakeisto on edelleen samassa seoksessa heran kanssa, ja olosuhteet bufferissa ovat lähestulkoon samat kuin kattilassa. Tämä välivaihe on siis vielä juustorakeiston niin sanottua jälkihämmennysaikaa. Varsinainen keittovaihe päättyy vasta rakeiston erottuessa herasta eli muottausvaiheessa.

### 2.3 Muottaus- ja puristusvaihe

Murukoloisia juustoja, kuten Oltermanni-juustoa valmistettaessa täytyy rakeiden yhteenliittymistä vaikeuttaa jollakin tavoin. Siirrettäessä rakeistoa muotteihin tulisi heraa olla mahdollisimman vähän läsnä, jolloin rakeet eivät tartu toisiinsa yhtä tiiviiksi massaksi kuin heran alla puristettaessa. Näin juustoon saadaan jäämään haluttuja rakoja ja käytäviä, jotka luovat murukolojuustojen rakenteen. (Kammerlehner 1986, 107.)

#### 2.3.1 Muottaus

Muottausvaiheessa juustorakeisto erotetaan herasta ja siirretään juustomuotteihin. Muotissa juustorakeistosta poistuu suuri määrä heraa, ja rakeet kiinnittyvät toisiinsa, muodostaen ns. tuorejuuston. Muoteissa on suuri määrä reikiä, jotta heran poistuminen muoteista olisi vapaata ja tehokasta. (Kammerlehner 1986, 103.)

Muoteilla on kolme tärkeää tehtävää: luoda kullekin juustolle ominainen muoto, sallia ja edistää heran poistumista ja muodostaa juustoon haluttu pinta tai kuori. (Kammerlehner 1986, 103-104.)

#### 2.3.2 Tunnelointi

Tunneloinnin aikana tapahtuu juuston varsinainen puristuminen, ja se saavuttaa sille määritellyn muotonsa. Puristus tapahtuu pelkästään painovoimaa ja juuston omaa painoa käyttäen. Tunneloinnissa juusto pyritään pitämään tasaisissa olosuhteissa (lämpötila, kosteus ja aika) koko vaiheen ajan. (Tapaila 2010e.)

Juuston puristus voidaan jakaa kahteen vaiheeseen:

1. puristusheran poistaminen
2. juuston muotoilu, pinnan sulkeutuminen ja kuoren muodostuminen

Tunneloinnin aikana juustomuotteja käännellään aika-ajoin tasaisen puristumisen ja hyvän heran erotuksen saavuttamiseksi. Lämpötilan puristustilassa tulisi olla koko puristusvaiheen ajan sopiva, koska liian korkea tai matala lämpötila heikentää juuston happanemista ja hidastaa heran poistumista. (Tapaila 2010e.)

### 2.4 Suolaus

Muottauksen ja puristuksen jälkeen, kun suurin osa laktoosista on fermentoitu, juustot upotetaan halutun suolapitoisuuden omaavaan suolaveteen tietyksi ajaksi. Viimeistään suolausvaiheessa juuston tulisi saavuttaa sille ominainen minimi-pH, jolloin laktoosi on fermentoitu loppuun. (Kristensen 1999, 137.) Ennen suolausta suoritettava pH:n mittaus on usein juustojen happanemisen tärkein ohjauspiste. (Kärki 2007.)

Suolaus on olennainen osa juuston valmistusprosessia. Suola on merkittävä ainesosa säilymisen, flavorin, koostumuksen, kypsymisen, pinnanmuodostuksen ja jopa juuston muodon kannalta. Oltermanni juustot suolataan suolavesisuolauksella. Puolikoville juustoille käytetään yleensä 18 – 21 prosentista ja pehmeille 16 – 20 prosentista suolavettä. (Tapaila 2010d; Kammerlehner 1986, 131.) Suolausaika on riippuvainen valmistettavasta tuotetyypistä.

### 2.5 Pakkaus

Suolauksen jälkeen juusto valutetaan, leikataan ja pakataan kuluttajapakkauksiin. Pakkausvaiheessa juuston pH tarkastetaan, ja sen minimi-pH tulisi olla saavutettu ennen pakkaamista.

### 2.6 Kypsytytys

Kypsytettävien juoksetejuustojen aistinvaraiset ominaisuudet ovat vielä varsin olemattomia heti valmistuksen ja suolauksen jälkeen. Kypsymisen edetessä syntyy kullekin juustotyyppille ominaiset aistinvaraiset ominaisuudet, kuten maku- ja hajuaromit ja oikeanlainen koostumus ja suutuntuma. Nämä ominaisuudet riippuvat pitkälti käytetyistä valmistusmenetelmistä, kypsytystilojen kosteus- ja lämpötilasuhteista ja juustojen käsitteilyistä kaikissa eri vaiheissa. (Kammerlehner 1986, 142.)

### 3 HAPATTEEN VAIKUTUS JUUSTONVALMISTUSPROSESSISSA

Hapate on oleellinen osa kypsytettävien juustojen valmistusta, ja sen toiminnalla on erittäin suuri merkitys juuston valmistusprosessissa. Nykyaikaiset suhteellisen nopeat ja toistuvat valmistusprosessit vaativat rinnalleen toimivan hapatteen, jotta prosessi saadaan onnistumaan halutulla tavalla. Usein kuitenkin kohdataan tuntemattomasta syystä aiheutuvaa hapatteen heikkoa toimintaa tai happanemishäiriöitä, jotka vaikuttavat heikentävästi juuston happanemiseen prosessissa ja siten lopputuotteen laadunhallintaan.

Yleisesti hapatteen heikkoa toimintaa pyritään selittämään faagien toiminnalla, mutta nykyaikaisessa valmistusprosessissa tämä on huomattavasti harvinaisempaa, ja siksi hapatteen toimimattomuuden syitä täytyy tutkia myös itse hapatteesta ja sen valmistuksesta. Lisäksi hapatteen toiminnan puutteellisuus voi johtua itse tuotannon erheistä tai siitä ettei johtopäätöksiä ole tehty oikein perustein kun esimerkiksi pH-mittarin antamat tulokset eivät ole luotettavia. Nämä asiat tulee olla kunnossa, jotta varsinaista hapatteen toimimattomuutta voidaan alkaa tutkia. (Champagne, Lange, Blais, & Goulet 1992, 309.)

Oltermanni-juuston valmistuksessa käytetään mesofiilihapatteita, joten teoria hapatteiden osalta pohjautuu pitkälti niihin.

#### 3.1 Hapate

Hapate on maitohappobakteereista koostuva mikrobiviljelmä, jolla saadaan aikaiseksi hapatetuille tuotteille tyypilliset ja halutunlaiset ominaisuudet, kuten happamuus, aromi, rakenne, koostumus ja säilyvyys. Hapatteen tärkeimmät tehtävät juustonvalmistuksessa ovat tuottaa käymisen avulla maidon laktoosista maitohappoa ja vaikuttaa osaltansa juuston aistinvaraisiin ominaisuuksiin muun muassa vapauttamalla entsyymejä kypsymisvaiheeseen. (Fox 1993, 193; Leporanta, Huuonen, Lampi, Kärki, Manninen & Saxelin 1989, 1-1; Eck 1987, 108.) Lisäksi hapatteen lisäys juustomaitoon laskee pH:ta, jolloin juoksetuminen nopeutuu ja tehostuu. (Eck 1987, 65.)

Kaikki edellä mainitut hapatteen ominaisuudet vaikuttavat merkittävästi lopputuotteeseen. Esimerkiksi hapatteen muodostama maitohapon taso ja määrä määrittävät osaltaan poistuneen veden määrän, minimi-pH:n ja jäännöslaktoosin määrän rakeistossa, jolla vuorostaan on suuri vaikutus kypsymiseen ja lopputuotteen flavoriin. (Fox, Fuquay & Roginski 2002, 269.)

Juustonvalmistuksessa käytetään eri lämpötiloissa optimaalisesti toimivia hapatteita, joita ovat mesofiili- ja termofiilihapatteet. Oltermanni-juuston valmistuksessa käytetään mesofiilihapatteita, jotka ovat yleisesti käytössä puolikovilla juustoilla.

Määrittelemättömän mesofiilihapatteen (*Lactococcus lactis ssp.*) tyypillinen optimi lämpötila on noin 30 °C:tta ja se kykenee tuottamaan maito-

happoa vielä 38 – 40 °C:een lämpötilassa. Jotkin kannat, erityisesti *Lc. lactis ssp. cremoris* ovat lämpöherkempiä kuin toiset, ja tämä täytyy ottaa huomioon oikeaa hapatetta valittaessa. (Fox ym. 2002, 263.)

### 3.1.1 Metabolia ja jaottelu

Maitohappobakteerit ovat gram-positiivisia, morfologisesti ja fysiologisesti kohtalaisen heterogeenisiä mikro-organismeja, jotka luokitellaan niiden suuren maitohapon tuottomäärän mukaan. Maitohappo tuotetaan niiden hiilihydraattiaineenvaihdunnalla eli maitohappokäymisellä, joka voi olla joko homo- tai heterofermentatiivisista (kuva 1). (Eck 1987, 108.)

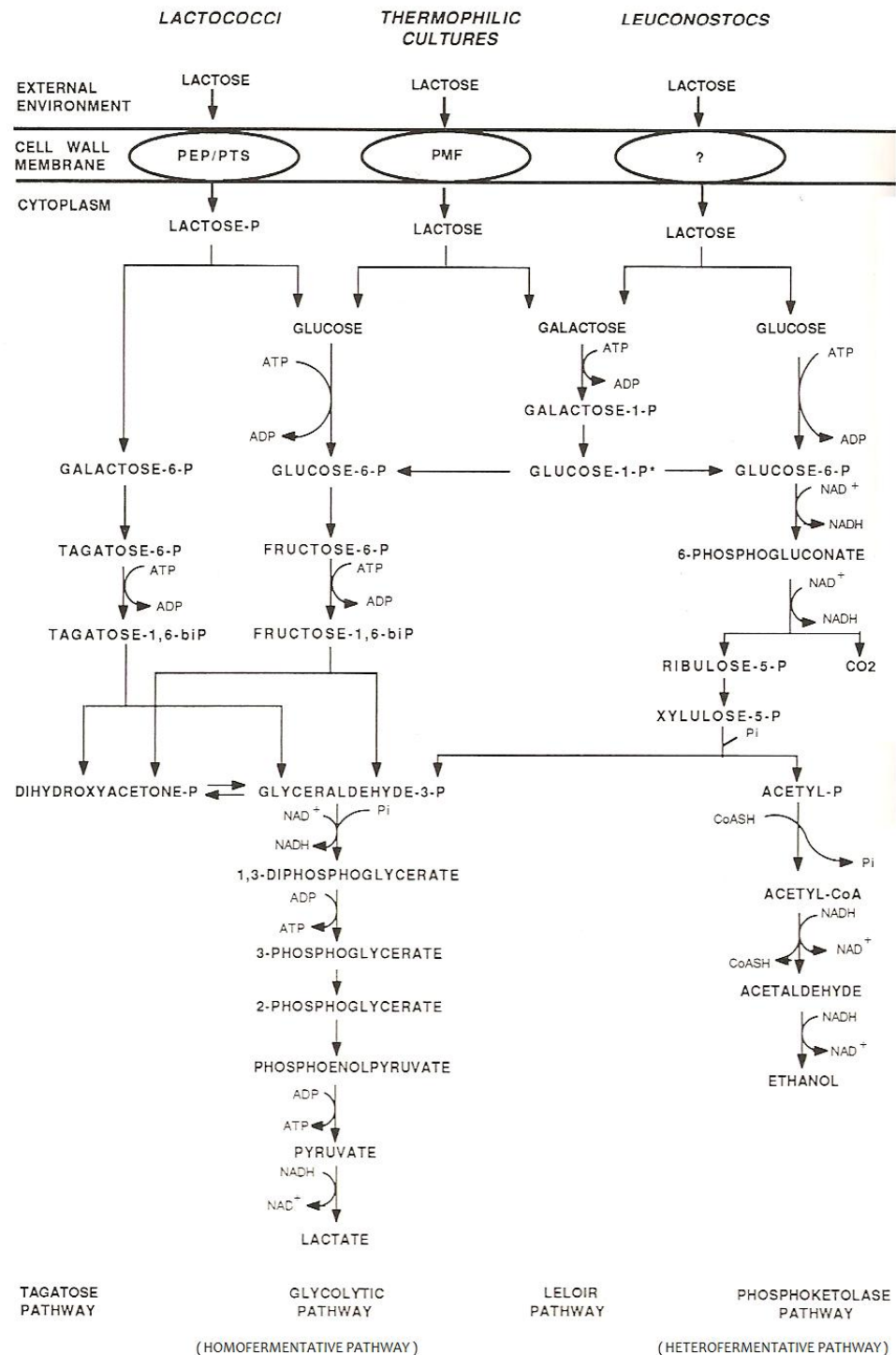
Maitohappobakteerit voidaan jakaa homo- ja heterofermentatiivisiin maitohappobakteereihin sekä homofermentatiivisiin arominmuodostajiin. Homofermentatiiviset maitohappobakteerit tuottavat laktoosista lähes ainoastaan maitohappoa ja ne kykenevät tuottamaan yhdestä moolista glukosia 1,8 moolia maitohappoa. (Eck 1987, 109.) Homofermentatiivisia maitohappobakteereita ovat muun muassa *Lactococcus lactis subspecies lactis ja cremoris* sekä *Lactobacillus helveticus* (Tapaila 2010a).

Homofermentatiiviset arominmuodostajat tuottavat maitohapon lisäksi muista aineosasisista, kuten sitraatista ja valkuaisesta, juuston valmistuksen kannalta tärkeitä yhdisteitä, erityisesti diasetyyliä. Homofermentatiivisia arominmuodostajia ovat *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar Diacetylactis* ja *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, joista jälkimmäinen tuottaa diasetyyliä kuitenkin vain tietyissä määrin. (Tapaila 2010a.)

Heterofermentatiiviset maitohappobakteerit, kuten *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris*, tuottavat laktoosista maitohapon lisäksi kohtalaisen määrän muita yhdisteitä, muun muassa aromeja. Ne kykenevät tuottamaan yhdestä glukosimoolista noin yhden moolin maitohappoa ja kohtalaisen määrän hiilidioksidia, etanolia ja etikkahappoa. (Eck 1987, 109.) Arominmuodostajat eivät itsessään tuota riittävästi maitohappoa, mutta vaativat kasvuun happamat olosuhteet sekä erilaisia aminohappoja, peptidejä, hiilihydraatteja ja vitamiineja (Väistö 2010).

Kuten aikaisemmin mainittiin homofermentatiivisessa maitohappokäymisessä (laktokokki) lopputuotteena laktoosista syntyy ainoastaan laktaattia (maitohapon suola). Kuvasta 1. nähdään, että laktokokit kuljettavat laktoosin membraanin läpi soluun fosfotranferaasisysteemin (PTS) avulla. Samanaikaisesti tapahtuu laktoosin fosforylaatio, jolloin se alkaa kertyä soluun laktoosifosfaattina. Tämän jälkeen fosfo- $\beta$ -galaktosidaasi hydrolysoi laktoosifosfaatin galaktoosi-6-fosfaatiksi ja glukosiksi. Laktokokeilla galaktoosi-6-fosfaatti kulkee tagatoosi-reitin kautta, jossa se ensin isomeroituu tagatoosi-6-fosfaatiksi ja sitten fosforyloituu tagatoosi-1,6-difosfaatiksi. Tagatoosi-1,6-difosfaatti jakautuu dihydroksiasetonifosfaatiksi ja aldolaasin avulla glyserlaldehydi-3-fosfaatiksi. Nämä kaksi triosifosfaattia voivat muuttua toisikseen. Samaan aikaan glukosia kulkee glykolyyttistä reittiä ja fosforyloituu hexokinaasin avulla glukosifosfaatiksi, joka tämän jälkeen isomeroituu fruktoosi-6-fosfaatiksi. Fruktoosi-6-fosfaatti fosforyloituu fruktoosi-1,6-difosfaatiksi ja jakautuu myös

dihydroksiasetonifosfaatiksi ja glyserlaldehydi-3-fosfaatiksi. Glyserlaldehydi-3-fosfaatti jatkaa glykolyyttistä reittiä pitkin aina pyruvaatiksi, joka pelkistyy laktaatiksi eli maitohapon suolaksi. (Fox 1993, 203; Hutkins 2001, 211-213; Väistö 2010.)



Kuva 1 Homo- ja heterofermentatiivinen maitohappokäyminen (Fox 1993, 204.)

Heterofermentatiivisessa maitohappokäymisessä (leukonostokki) laktoosi kuljetetaan solun sisään laktoosipermeaasin avulla, jolloin ei tapahdu kemiallista muuntelua. Tämän jälkeen solun sisällä β-galaktosidaasi hydro-

lysoi laktoosin glukoosiksi ja galaktoosiksi. Tuotettu galaktoosi hajotetaan Leloir-reittiä pitkin, jossa galaktoosi fosforyloituu galaktoosi-1-fosfaatiksi ja muuttuu glukoosi-1-fosfaatiksi. Glukoosi-1-fosfaatti syötetään glykolyttiseen reittiin, jolloin siitä muodostuu pyruvaatin kautta laktaattia. Laktoosista hydrolysoitu glukoosi kulkee fosfoketolaasireittiä (heterofermentatiivinen maitohappokäyminen) pitkin. Siinä glukoosi fosforyloituu glukoosi-6-fosfaatiksi ja hapettuu 6-fosfoglukonaatiksi, joka edelleen ribuloosi-5-fosfaatiksi ja hiilidioksidiksi (CO<sub>2</sub>). Ribuloosi-5-fosfaatti muutetaan ksyloosi-5-fosfaatiksi ja siitä edelleen glyserlaldehydi-3-fosfaatiksi ja asetyylifosfaatiksi. Näistä ensimmäinen jatkaa glykolyyttistä reittiä pitkin laktaatiksi ja jälkimmäinen muuttuu reaktioiden kautta asetaatiksi ja etanoliksi. (Fox 1993, 204-205; Hutkins 2001, 208-211 ; Väistö 2010.)

Yleisesti käytettäviä juustohapatteita ovat 0-, L-, D- ja LD-hapatteet (taulukko 1), jotka koostuvat erilaisista maitohappobakteereista. 0-hapate sisältää ainoastaan haponmuodostajia (*Lactococcus lactis ssp. lactis* ja *Lactococcus lactis ssp. cremoris*) ja kaikki sen kannat ovat tunnettuja, kun taas muut hapatteet sisältävät haponmuodostajien lisäksi eri arominmuodostajakantoja. L-hapate sisältää *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremorista* ja D-hapate *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactista*. LD-hapate sen sijaan sisältää sekä D- että L-hapatteen arominmuodostajia. (Tapaila 2010a; Kärki 2010a.)

LD-hapatteesta haponmuodostajia on noin 67 – 75 % ja loput 25 – 33 % arominmuodostajia. LD-hapatteet sisältävät kantoja 20 – 40 eri bakteerilajista eli niiden kantakoostumus on osittain täysin tuntematon. Yleensä yli 20 % bakteeristosta on *Lc. lactis ssp. lactis biovar diacetylactis*:sta ja alle 10 % *Leuconostoc*-suvun bakteereja. (Kärki 2010a.)

Taulukko 1 0-, L-, D- ja LD-hapatteet

	0	L	D	LD
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	X	X	X	X
<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	X	X	X	X
<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris</i>		X		X
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis</i>			X	X

### 3.1.2 Aktiivisuus

Hapatteen aktiivisuus mittaa maitohappobakteerien määrää ja niiden tehoa prosessissa. Aktiivisuus voidaan määrittää happamuuden muutoksena tiettyissä olosuhteissa. (Kristensen 1999, 74.)

Aktiivisuuden tulee olla riittävä, jotta prosessi kykenee tuottamaan haluttua lopputuotetta sille asetettujen vaatimusten pohjalta. Sen tulisi pysyä samalla tasolla päivästä toiseen, jotta juuston valmistusprosessi voitaisiin pitää tasaisena, ja happanemishallinta prosessin osalta olisi mahdollista. Nykyaikaisessa juuston valmistusprosessissa laktoosin fermentaation on tapahduttava suhteellisen nopeasti ja tasaisesti. Tasainen haponmuodostus vaikuttaa suuresti synereesiin ja juuston vesipitoisuuden hallintaan, ja näin ollen suuresti lopputuotteen laatuun. (Tapaila 2010c.)



Selkeät aktiivisuuden vaihtelut näkyvät välittömästi prosessissa. Myös liian korkea aktiivisuus voi vaikuttaa lopputuotteen makuun tuoden siihen liiallista kitkeryyttä, mikäli hapatteen aminopeptidaasi aktiivisuus ei ole riittävän korkea. (Tapaila 2010c; Fox ym. 2002, 262.)

Hapatteen aktiivisuuteen voivat vaikuttaa hyvin monet eri tekijät aina hapateympistä ja kasvatusalustasta hapatteen jäädytykseen saakka. Käyttöhapatteen valmistuksen kaikki vaiheet voivat merkittävästi vaikuttaa hapatteen aktiivisuuteen. (Champagne ym. 1992, 309.)

Jotkin hapatteen aktiivisuuteen vaikuttavat tekijät voivat näyttää faagien aikaansaannokselta, mutta ovat kuitenkin itse prosessin aiheuttamia muutoksia. Hapatteen liika happamuus (< 4,3; mesofiilit), riittämätön jäädytys (> 10 °C, mesofiilit) ja happaman hapatteen liian pitkä säilytys (> 48 h) voivat aiheuttaa viivästynyttä haponmuodostusta tai hapatteen osittaista tuhoutumista. (Champagne ym. 1992, 10.)

Prosessissa toiminta voi näkyä asteittaisessa aktiivisuuden laskussa tuotannon aikana, kun käytetään samaa hapatesäiliötä. Vaikutukset muistuttavat faagikontaminaatiota, mutta johtuvat saman solumäärän lisäyksestä, joista osa on kuitenkin enenevässä määrin vaurioituneita tai kuolleita. (Champagne ym. 1992, 10.)

Lisäksi hapatteen aktiivisuuteen mahdollisesti vaikuttava tekijä on hapatesäiliön riittämätön sekoitus. Tämä voi aiheuttaa heroittumista, jolloin säiliön pohjalla oleva hapate voi sisältää enemmän soluja kun säiliön pinnalla oleva. Myös tällainen toiminta voi näkyä vähitellen heikkenevänä happanemisena tuotannon edetessä samaa hapatesäiliötä käytettäessä. (Champagne ym. 1992, 10.)

### 3.1.3 Käyttöhapatteen valmistus, ja sen vaikutus aktiivisuuteen

Juustonvalmistuksessa käytetään pääasiassa käyttöhapateympistä valmistettavaa käyttöhapatetta tai suoraan juustokattilaan lisättävää tuoteymppiä.

Käyttöhapatteen kasvatusalustana käytetään pastöroitua, rasvattomasta maitojauheesta valmistettua ennastemaitoa tai kuorittua maitoa, jonka tulee olla erittäin puhdasta ja korkealaatuista. Kasvatussäiliönä käytettävän tankin tulee olla puhdas ja hyvin huuhdeltu desinfiointiaineista, koska myös desinfiointiaineiden on osoitettu häiritsevän maitohappobakteerien kasvua. (Champagne ym. 1992, 311.)

Hapatteen valmistuksen alussa maitojauheesta valmistettavan kasvatusalustan kuiva-ainepitoisuus tulee säätää tasolle 11 – 12 %, ± 0,5 % tarkkuudella. Maidossa, jonka kuiva-ainepitoisuus on alhainen, hapatteen solupitoisuus jää pienemmäksi, jolloin myös hapatteen aktiivisuus on heikompi. Liian korkea kuiva-ainepitoisuus taas tuottaa korkeamman solupitoisuuden, mutta tällöin korkeampi osmoottinen paine voi muuttaa kantojen suhteita hapatteessa. Kuiva-ainepitoisuuden paikkaansa pitävyys tuli tarkastaa satunnaisesti tai vähintään ongelmatapauksien ilmetessä. (Champagne ym. 1992, 311.)

Kasvatusalustana toimiva maito lämpökäsitellään. Tankissa suoritettavat lämpökäsittelyt suoritetaan 85 – 95 °C:een lämpötilassa 30 – 60 minuutin ajan. Ei ole tiedossa täsmällistä lämpötila-aikayhdistelmää, jolla saavutettaisiin hapatteelle paras aktiivisuus, johtuen muun muassa erilaisista jäähdytys ja lämmönostoaajoista eri hapate-erien välillä. Lämpökäsittely on kuitenkin oltava riittävän tehokas, jotta alustasta saadaan tuhottua patogeeniset mikrobit ja bakteriofaagit, inaktivoitua haitalliset mikroorganismit ja maidon luontaisia bakteerien kasvua estäviä aineita sekä parannettua valmiin hapatteen rakennetta. (Champagne ym. 1992, 311.) Tässä lämpökäsittelyssä maidon ominaisuudet haluttujen bakteerien kasvatusalustana paranevat.

Lämpökäsittelyn jälkeen hapate jäädytetään haluttuun kypsytyslämpötilaan, joka mesofiilihapatteilla on pääasiassa 18 – 22 °C:ta. Kypsytyslämpötilalla voidaan suuresti vaikuttaa valmistettavan hapatteen ominaisuuksiin, kantojen suhteisiin ja happanemisnopeuteen (taulukko 2). Siispä on aina oltava varma lämpötila mittauksen toimivuudesta. Jos kypsytysajossa on yhtäkkiä suuria eroja, voidaan epäillä lämpötilamittareiden toimivuutta, koska jo 1 – 3 °C:en poikkeama normaaliin voi vaikuttaa suuresti kypsymiseen. (Kristensen 1999, 71.)

Taulukko 2 Hapatteen muutokset eri kypsytyolosuhteissa (Kristensen 1999, 71.)

Lämpötila	Vaikutus/huomioitavaa
22 °C	Pienempi siirrostusmäärä (n. 0,5 %) Enemmän <i>Lc. diacetylactista</i> Voimakkaampi (punainen) väri kreatiinitestissä Hiilidioksidin tuotto: aikaisempi ja voimakkaampi
21 °C	Enemmän aromia
20 °C	↑
19 °C	Siirrostusmäärä n. 1 % Väri (punainen) kreatiinitestissä: 2 -3 Hiilidioksidin tuotto: suhteellisen aikaisin ja keskinkertainen Aromin muodostus: keskinkertainen
18,5 °C	↓
18 °C	Suurempi siirrostusmäärä (n. 2 %) Vähemmän aromibakteereita Erytisen vähän <i>Lc. diacetylactista</i> Heikompi väri (punainen) kreatiinitestissä Hiilidioksidin tuotto: myöhäisempi ja hitaampi Vähemmän aromia Vähemmän hapatteen muodostajia

Lähde: Danish government Research Institute for Dairy Industry

Jäähdytyksen jälkeen suoritetaan hapateympin siirrostus. Siirrostusmäärällä on vaikutusta kasvatusaikaan ja maitohappobakteerien kantatasapainoon. Mesofiilisten maitohappobakteerien generoitumisaika eli aika, jonka kuluessa solupopulaatio kaksinkertaistuu, on 21 °C:ssa 2 tuntia ja 20 minuuttia. Jos siirrostusmäärä on puolet normaalista, voidaan olettaa generoitumisajan olevan kaksinkertainen samassa lämpötilassa, eli 4 tuntia 40 minuuttia. Pieni siirrostusmäärä suosii heikommin happoa sietäviä kantoja, koska silloin pH pysyy kauemmin korkeammalla tasolla. (Champagne ym. 1992, 314.)

Kasvatusaika on riippuvainen hapatteen happamuudesta. Jokaiselle hapatteelle on olemassa spesifikaation mukainen tavoitehappamuus, jonka hapatteen tulisi kypsymisen aikana saavuttaa. Mesofiilihapatteilla, joiden kasvatus on suoritettu 12 % kuiva-aineisessa maidossa, on suositeltava jäähdytyksen jälkeinen tavoitehappamuus pH 4,6 – 4,8 (36 – 40 °SH). Jos happamuus menee yli 44 °SH, tulisi hapate käyttää 3 tunnin sisällä. Hapattumuuden (pH) kontrollointi on todennäköisesti tehokkain väline kantojen suhteita säädettäessä. (Champagne ym. 1992, 315.)

Koska happamuus on hapatteen tärkein ominaisuus, olisi happamuuden mittauksen oltava luotettava. Tämän varmistamiseksi tulisi käyttää tuoreita puskuriliuoksia ja huolehtia erityisesti mittauselektrodin kunnosta. (Champagne ym. 1992, 315.)

Hapatteen säilyvyyden ja liiallisen hapanemisen estämiseksi hapate on jäähdytettävä. Mesofiilihapatteet eivät enää juurikaan kasva alle 10 °C:een lämpötilassa, mutta säilyvyyden parantamiseksi olisi hyvä jäähdyttää hapate vähintään 4 °C:een. Kypsän hapatteen jäähdytys tulisi suorittaa vähintään 40 minuutissa. (Champagne ym. 1992, 315.)

### 3.1.4 Lisäysmäärä

Hapatelisäysmäärä määrittää maitohappobakteerien määrän juustomaidossa, ja näin ollen vaikuttaa erittäin paljon juuston hapanemisprosessiin. Käyttöhapatetta lisättäessä, lisätään maitohappobakteerien määrää ja myös maitohapon määrää juustomaidossa, jolloin maidon pH laskee. Tämän tuloksena myös juuston minimi-pH on alhaisempi. (Kristensen 1999, 83.) Hapatteen lisäysmäärää nostamalla voidaan siis tehostaa juuston hapanemisprosessia.

Käyttöhapatetta lisätään keskimäärin 0,5 – 1,5 % kattilamaitomäärästä. 0,3 – 0,4 % lisäysmääriä pidetään alarajana kiinteitä juustoja valmistettaessa. Näiden määrien alle mentäessä voi juuston koostumuksesta tulla sitkeä. Hapatemäärä tulee suhteuttaa juustomaidon ja juuston haponmuodostus aikaan. (Kristensen 1999, 83-84.)

Hapatteen lisäysmäärän muutokset eivät saa olla liian suuria (>0,25 %). Hapatemäärän kaksinkertaistaminen aiheuttaa merkittäviä muutoksia tuorejuustoon, nopean pH:n ja kalsiumpitoisuuden laskun myötä. (Tapaila 2010c) Rakeistosta erottuva hera on happamampaa, jolloin se liuottaa kaseiinin sitoutunutta kalsiumia. Liukenevan kalsiumin mukana poistuu

myös puskurina toimivaa fosfaattia, jolloin juuston rakenne jää helposti lyhyeksi, ja juustosta tulee liian hapan. (Kristensen 1999, 83.)

Hapatteen lisäysmäärät ovat riippuvaisia tehtävästä tuotteesta eli hapatteen % -osuus maitomäärästä ei ole sama kaikilla tuotteilla, johtuen siitä, että kaikilla tuotteilla on omat happanemisprofiilinsa ja valmistus spesifikaatiot.

### 3.2 Hapatteen valinta

Hapatteen valinta on riippuvainen tuotteen asettamista vaatimuksista, ja sen tulee täyttää prosessin tärkeimmät vaatimukset mahdollisimman hyvin. Prosessiin on vaikea ja lähes mahdotonta valita täydellistä hapatetta, jolla saavutettaisiin kaikki halutut ominaisuudet. Yleisesti ottaen samankaltaiset hapatteet sisältävät samoja hapatebakteereja, mutta kannat ja suhteet ovat erilaiset, joten lopputuotteen ominaisuudet mahdollisesti eroavat toisistaan. Tämän vuoksi samoja hapatebakteereja sisältävät hapatteet voivat toimia täysin eri tavalla.

Jokaisen juustohapatteen tärkein tehtävä on hapon muodostus, mutta myös muilla hapatteen ominaisuuksilla on tärkeä vaikutus juuston ominaisuuksiin. Kaikkien juustojen valmistuksessa hapatteella tulee olla oikea mikrobiologinen koostumus, joka saa aikaan kullekin juustolle tyypilliset biokemialliset ominaisuudet. (Fox ym. 2002, 264.)

Määrittelemättömän sekahapatteen toimittajalla on usein valittavissa erilaisia hapatteita, joilla kaikilla voi olla erilaiset ominaisuudet tehokkuuden, flavorin muodostuksen tai faagiresistenttisuuden osalta. Prosessiin voidaan valita tieytyille faageille resistenttejä hapatteita kypsytämällä sekahapate kyseisten faagien läsnä ollessa. Vain faagiesistantit kannat selviävät, mutta hapatteen koostumus ja ominaisuudet voivat olla erilaiset kuin alkuperäisen, jolloin sen soveltuvuus juuston valmistukseen voi muuttua. (Fox ym. 2002, 266.)

Määritettyjen kantojen sekahapatteista on mahdollista selvittää, mitkä kannat faagit ovat infektoineet. Tämä tunnettu kanta voidaan korvata juustonvalmistuksen kannalta samanlaiset ominaisuudet omaavalla kannalla, jolla on erilainen faagiherkkyys. Vaihtoehtoisesti voidaan valita kannan luonnollinen muunnos, joka on resistentti kyseistä faagia vastaan. Muunnoksen soveltuvuus tulee tarkistaa, jotta voidaan olla varmoja niiden toimivuudesta prosessissa. (Fox ym. 2002, 266.)

Monikantahapatteisiin pyritään valitsemaan bakteerikantoja, jotka ovat faagiresistantteja tai herkkiä eri faageille. Tässä tapauksessa yhdenlainen faagi ei kykene tuhoamaan koko hapatebakteeripopulaatiota, vaan ainoastaan osan, jolloin tämä näkyy vain hapatteen aktiivisuuden tai aromintuoton alenemisena. (Leporanta ym. 1989, 8-1; Fox 1993, 232.) Tämä on valmistusprosessin kannalta parempi vaihtoehto.

Ennen kuin hapate otetaan käyttöön tehtaassa, tulisi tutkia sen faagiherkkyys tehtaassa vallitseville faageille. Lisäksi tulisi varmistua siitä, mitkä

käytössä olleet hapatekannat ovat mahdollisesti infektoituneet faageista, jotka voivat infektoida käytettäviä hapatekantoja. Ideaalitilanteessa ei tulisi käyttää kahta hapatekantaa, jotka ovat faagiherkkiä samalle faagikannalle, mutta tällaisen tilanteen saavuttaminen on usein hankalaa. (Fox ym. 2002, 266.)

## 4 HAPATEHÄIRIÖIDEN VAIKUTUS HAPPANEMISEEN

Hapatehäiriö on tilanne, jossa itse hapatteen valmistus on epäonnistunut tai lopputuotteen ominaisuudet eivät hapatteen epänormaalin toiminnan vuoksi ole tavoitteen mukaiset. Hapatehäiriössä hapatteen toiminta hidastuu, loppuu kokonaan tai suuntautuu väärin. Hapatehäiriön voi aiheuttaa muun muassa muutokset maidon koostumuksessa, joita aiheuttavat utare-tulehdus ja vuodenaikaisvaihtelut tai erilaiset estotekijät:

- bakteriofaagit
- antibiootit
- pesuainejäämät
- agglutiniinit
- liuennut happi
- vapaat rasvahapot
- inhiboivat mikrobit
- bakteriosiinit
- laktoperoksidaasientsyymi  
(Manninen 2008a.)

Juustonvalmistuksessa yleisin hapatehäiriötä aiheuttava tekijä on bakteriofaagi, joka myös Haapaveden tehtaalla oli todennäköisin syy happanemisprosessin väärin suuntautumiseen kesken tuotantopäivän.

### 4.1 Bakteriofaagit

Virukset, jotka lisääntyvät infektoimalla bakteereja tunnetaan bakteriofaageina. Juustonvalmistus prosessin kannalta suurimpia ongelmia happanemisessa aiheuttavat bakteriofaagit, jotka lysiinin avulla hajottavat maitohappobakteerien soluja, estäen siten hapon tuottoa. (Fox 1993, 232.)

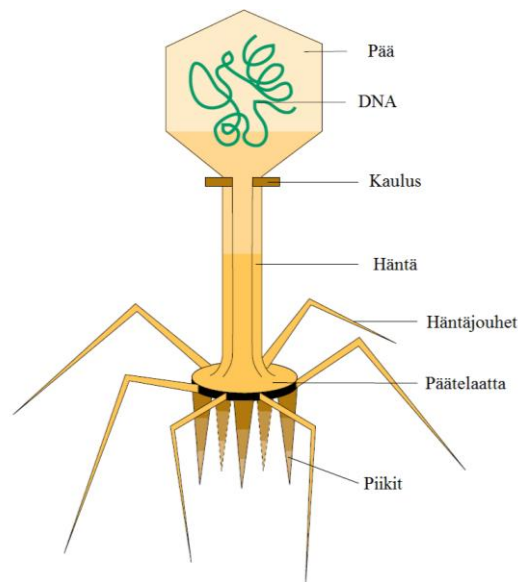
Bakteriofaageja esiintyy kaikkialla meijerien tuotantotiloissa ja ympäristössä. Ne ovat ilmassa kulkeutuvia bakteerien viruksia, jotka aiheuttavat happanemishäiriötä lisääntymällä voimakkaasti, ja tuhoamalla hapatteen sisältämiä isäntäbakteereja. Myös juuston valmistuksessa käytetty maito voi sisältää faageja, jotka eivät tuhoudu pastöroinnissa. Faagit voivat kulkeutua tehtaaseen myös faagikontaminoituneiden hapatteiden tai temperaatin faagin sisältävien lysogeenisien hapatekantojen mukana. (Fox ym. 2002, 265.)

Ilman tehokkaita ehkäisykeinoja tai faagin ollessa erityisen virulentti, saman faagiherkkyuden omaavan hapatteen käyttö voi aiheuttaa faagitason nousun tehtaassa. Infektio, joka johtuu infektoituneiden solujen kuolemista, johtaa hapatteen laskeneeseen maitohaponmuodostukseen, joka voi aiheuttaa pidentyneen fermentointiajan tai tekee juuston halutun pH-arvon ja kosteustason saavuttamisen vaikeaksi. Hyvin raju infektio johtaa ”kuolleisiin” kattiloihin, joissa haponmuodostus on hyvin vähäistä, ja juustonvalmistus täytyy niiltä osin lopettaa. (Fox ym. 2002, 266.)

Käytettäessä hapatteita, jotka sisältävät sekoituksia eri bakteerikannoista ja/tai lajeista, on todennäköistä, että kaikki kannat ja lajit eivät infektoitu tehtaassa esiintyvistä faageista, ja täysin kuolleita kattiloita ei näin ollen esiinny. Joka tapauksessa yhden tai useamman hapatekannan kuoleminen heikentää hapatteen hapontuottokykyä, ja voi myös muuttaa hapatteen metabolistaa tasapainoa aiheuttaen muutoksia juuston ominaisuuksissa. Jotkin hapatekannat kantavat luonnostaan geneettisiä tekijöitä, jotka alentavat niiden faagi-infektoitumisen riskiä. (Fox ym. 2002, 266.)

### 4.1.1 Morfologia

Bakteriofaagit jaetaan morfotyypeihin niiden muodon, nukleiinihapposisällön ja erityispiirteiden perusteella. Niillä ei ole omaa aineenvaihduntaa, ja ne pystyvät lisääntymään vain elävissä bakteerisoluihin. Bakteriofaagit ovat hyvin spesifisiä isäntäbakteerin suhteen eli pystyvät kiinnittymään ja lisääntymään vain bakteereissa, jotka omaavat sopivan pintarakenteen. (Leporanta ym. 1989, 8-1; Fox 1993, 232.)



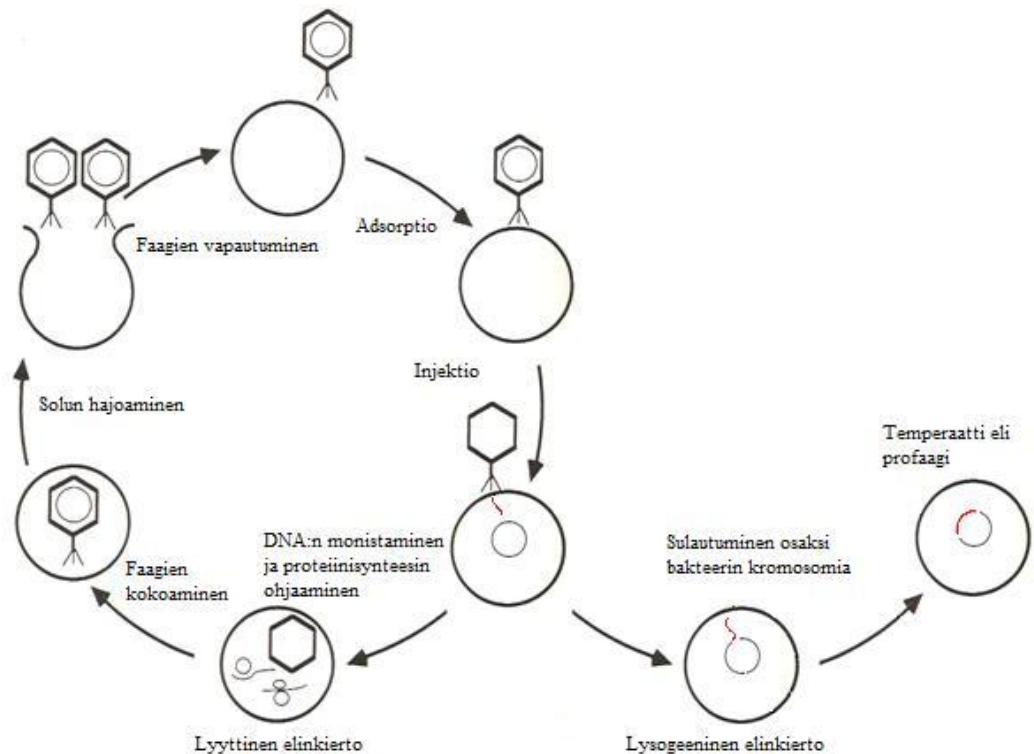
Kuva 2 Bakteriofaagin (T2) rakenne (Bylund 2003, 62.)

### 4.1.2 Faagien lisääntyminen

Faageilla on olemassa kaksi erilaista lisääntymisreittiä, lyttinen ja lysogeeninen elinkierto. Hapatehäiriöitä aiheuttaa ainoastaan lyttinen elinkierto, jossa virulentti faagi lisääntyy isäntäbakteerissa ja tuhoaa sen. Temperaatit eli lauhkeat faagit sen sijaan kykenevät sekä lyttiseen että lysogeeniseen elinkiertoon. Lysogeeninen elinkierto ei suoranaisesti aiheuta ongelmia happanemisessa, vaan siinä bakteriofaagin genomi integroituu isäntäbakteerin genomiin eli temperaatti faagi sulautuu osaksi isäntäbakteerin kromosomia. Bakteerien lisääntyessä myös bakteriofaagin genomi kopioituu uusiin bakteereihin. Bakteerin genomiin integroitunutta faagia sanotaan profaagiksi ja bakteereita, jotka sisältävät profaagin lysogeeniksi. (Salkinoja-Salonen 2001, 344.)

Faagin elinkierto (kuva 3) alkaa sen adsorboituessa eli kiinnittyessä bakteerin spesifiseen pintarakenteeseen, jonka jälkeen faagi injektioi perintöaineksen bakteerisoluun. Tämän jälkeen, muutaman minuutin kuluttua, alkaa joko lyyttinen tai lysogeeninen elinkierto. (Fox 1993, 233.)

Lyyttisen elinkierron alussa virulentti faagi monistaa DNA:nsa bakteerisoluun ja ohjaa proteiinisynteesin tuottamaan omia proteiinejaan, jonka jälkeen faagien osien muodostuminen alkaa. 45 – 60 minuutin kuluttua tästä faagi on tuottanut keskimäärin 34 uutta elinkykyistä faagipartikkelia, jotka vapautuvat niiden tuottaman lysiinin hajottaessa soluseinän ja tuhoessa isäntäbakteerin. (Leporanta ym. 1989, 8-2; Fox 1993, 233-234.)



Kuva 3 Faagien lyyttinen ja lysogeeninen elinkierto (Fox 1993, 234.)

Faagien lysogeeninen elinkierto on yleisempää hapatteissa, koska useat hapatekannat ovat itsessään lysogeenisiä eli sisältävät temperaatin faagin. Temperaatit faagit eivät normaalisti aiheuta häiriötä bakteerien jakautumisessa tai niiden hapon muodostuksessa, vaan ainoastaan sulautuvat osaksi bakteerin kromosomia. (Leporanta ym. 1989, 8-2)

Joissakin tapauksissa voi kuitenkin tapahtua temperaattien faagien vapautumista, jolloin sen elinkierto muuttuu lyyttiseksi, ja faagit lisääntyvät isäntäbakteerissa ja tuhoavat sen. Vapautuvat temperaatit faagitkaat eivät normaalisti aiheuta häiriötä hapannemisessä, mutta voivat yhtäaikaaisesti vapautuessaan aiheuttaa esimerkiksi aktiivisuuden heikkenemistä. Temperaatit faagit eivät tule esille tavallisissa faagitesteissä, joten niiden tutkiminen ja tunnistaminen on todella vaikeaa. (Leporanta ym. 1989, 8-2)



Perinteisesti faagipitoisuudet tuotannossa lisääntyvät tuotantopäivän edetessä. (Manninen 2008a.)

### 4.1.3 Bakteriofaagien ehkäiseminen

Faagiongelmaa ei usein havaita ennen kuin on jo liian myöhäistä, joten on tärkeää tuntea faagi-infektion mahdolliset lähteet sekä toimenpiteet, joilla faagivaaraa voidaan torjua. Tärkeimmässä roolissa faagi-infektion ehkäisemiseksi ovat erilaiset pesut, hygienia, hapatteiden käyttö ja prosessitekniset ratkaisut.

Prosessissa voi esiintyä pieniä määriä faageja ilman, että ne aiheuttavat ongelmia tuotannossa. Erityisesti silloin, jos prosessissa käytetään riittäviä kattiloiden ja putkistojen puhdistuskäsittelyjä kattiloiden täyttöjen välillä, ja aikaisempien kattiloiden herat eivät pääse kontaminoimaan uudelleen täytettyjä kattiloita, eivät pienet faagimäärät aiheuta ongelmia. (Fox ym. 2002, 265-266.)

Lähtökohtana on, että käytetty hapate on täysin faagivapaata, joka on tärkeimpiä puolustuskeinoja faagien aiheuttamalle happanemisen hidastumiselle kattilavaiheen aikana. Hapate on kuitenkin aina altis faagi-infektioille valmistusprosessin aikana. On selvää, että vaaditaan suhteellisen korkeita faagipitoisuuksia, jotta tällainen aiheuttaa ongelmia tuotannossa. (Mullan 2003.)

Juustoheraa, joka voi sisältää suuria pitoisuuksia bakteriofaageja, pidetään ensisijaisena faagi-infektion lähteenä juustonvalmistusprosessissa. Hera voi joutua kosketuksiin juustonvalmistuslaitteiden kanssa joko suoraan tai pisaroina tai kulkeutua ilman välityksellä heran käsittelyssä mahdollisesti syntyvän sumun kautta. Jos hera sisältää suuren määrän faageja, esimerkiksi 100 – 1010 pmy/ml, voi meijerin ilmassa olla riittävä määrä faageja kontaminoimaan juustomaidon tai käytettävät välineet. (Mullan 2003) Näitä kontaminaation lähteitä voidaan ehkäistä riittävillä kiertopesuilla ja hygienialla, jolloin inaktivoidaan mahdollisesti esiintyvät faagit. (Fox ym. 2002, 265-266.)

Jatkuvasti samaa hapatetta käytettäessä luodaan faageille ideaaliset olosuhteet lisääntyä haitalliselle tasolle. Yleisin käytetty menetelmä tämän ehkäisemiseksi on hapatteiden vuorottelu, jossa käytetään faagiherkkydeltään erilaisia hapatteita. (Fox ym. 2002, 266.) Sekahapatteet koostuvat kannoista, jotka ovat herkkiä eri faageille ja ovat jo luonnostaan vähemmän alttiita faageille. Kun sekahapate joutuu faagihyökkäyksen kohteeksi, se palautuu nopeasti ennalleen faagiresistenttien kantojen avulla. Tästä syystä hapatteiden vuorottelua (vaihtoa) ei sekahapatteilla suoriteta niin usein kuin yksikantahapatteilla. Kuitenkin sekahapatteet, jotka ovat kasvatettu aseptisesti laboratoriossa, ovat luonnostaan alttiita faageille. (Fox 1993, 239-240.) Hapatteen vuorottelussa jokaista hapatetta käytetään vain hetken aikaa, jolloin faagitasot pysyvät suhteellisen matalalla, eivätkä aiheuta ongelmia prosessissa. Säännöllinen pesujärjestelmä laskee faagitasot riittävän alhaiseksi ennen hapatteen seuraavaa käyttökertaa, jolloin ha-

patteiden vuorottelu mahdollistaa varmemman tuotannon faagien osalta. (Fox ym. 2002, 266.)

Esikypsytyksen ajan lyhentäminen tai poistaminen on myös hyödyllinen tapa faagien kontrolloimisessa. Toisin sanoen juoksetteen lisäys yhtä aikaa faagivapaan hapatteen kanssa suojaa hapatetta faagihyökkäykseltä. Suojausvaikutus on suureksi osaksi mekaaninen, koska hapatessolut jäävät ansaan tai immobilisoituvat suojaavaan geeliverkostoon eli saostumaan. Tämä suojaava geeli ehkäisee faagien liikkumista ja teatralisesti hidastaa faagi-infektion tapahtumista ja mahdollisesti edesauttaa valmistusprosessin etenemistä normaalisti. (Fox 1993, 243; Mullan 2003.)

Lisäksi erilaiset tekniset ratkaisut ja kuumennuskäsittelyt pienentävät mahdollisen faagi-infektion riskiä. Nykyaikaisimmissa juustoloissa käytetään ilmansuodatusjärjestelmiä, jotka estävät ilman kautta kulkeutuvien faagien pääsyn tehtaaseen. Näin ehkäistään myös eri osastoilta mahdollisesti leviävät faagit. (Fox ym. 2002, 265-266.)

Erilaiset kuumennuskäsittelyt heikentävät ja estävät bakteriofaagien toimintaa. Kuumennus 65 – 70 °C:een ja pastörinti (72 °C/15 s) heikentävät faagien toimintaa, mutta niiden tuhoamiseksi ja inaktivoimiseksi tulee käyttää korkeampaa 90 – 95 °C:een lämpötilaa. Tämä tulee huomioida juustovalmistuksessa, koska juustomaidot käsitellään useimmiten alhaisemmissa lämpötiloissa, eivätkä näin raakamaidon mukana tulleet faagit kokonaan tuhoudu lämpökäsittelyssä. Lisäksi hapate-alustat tulee käsitellä vähintään 90 °C:ssa 20 minuuttia, jotta voidaan olla varmoja faagien inaktivoitumisesta. (Fox 1993, 240; Manninen 2008b.)

## 5 HAPPANEMISEN VAIKUTUKSET PROSESSISSA JA TUOTTEESSA

Happanemisella on erittäin tärkeä merkitys juuston valmistusprosessissa ja erityisesti lopputuotteessa. Happaneminen näkyy monella tavalla lopputuotteen koostumuksessa ja ominaisuuksissa. Tästä syystä tavoitteen mukainen happaneminen on erittäin tärkeää halutunlaisen lopputuotteen saavuttamiseksi.

### 5.1 Koostumus ja rakenne

Juuston koostumuksesta puhuttaessa, on tärkeää erottaa juuston kiinteys ja elastisuus toisistaan. Molemmat tekijät määrittävät juuston koostumusta, mutta ovat kuitenkin toisistaan täysin riippumattomia. Usein kuitenkin vaikutettaessa juuston kiinteyteen vaikutetaan myös juuston elastisuuteen. Koostumuksen riippuvuus kiinteydestä ja elastisuudesta on esitetty taulukossa 3. (Tapaila 2010c.)

Taulukko 3 Juuston koostumus (Kristensen 1999, 92.)

Kiinteys +	Elastisuus =	Koostumus
Suuri	Suuri	Kova, kumimainen
	Keskinkertainen	Kova
	Pieni	Kova, lyhyt (hauras)
Keskinkertainen	Suuri	Kumimainen
	Keskinkertainen	Normaali
	Pieni	Lyhyt
Pieni	Suuri	Pehmeä, sitkeä (vetelä)
	Keskinkertainen	Pehmeä
	Pieni	Pehmeä, lyhyt (tahmea)

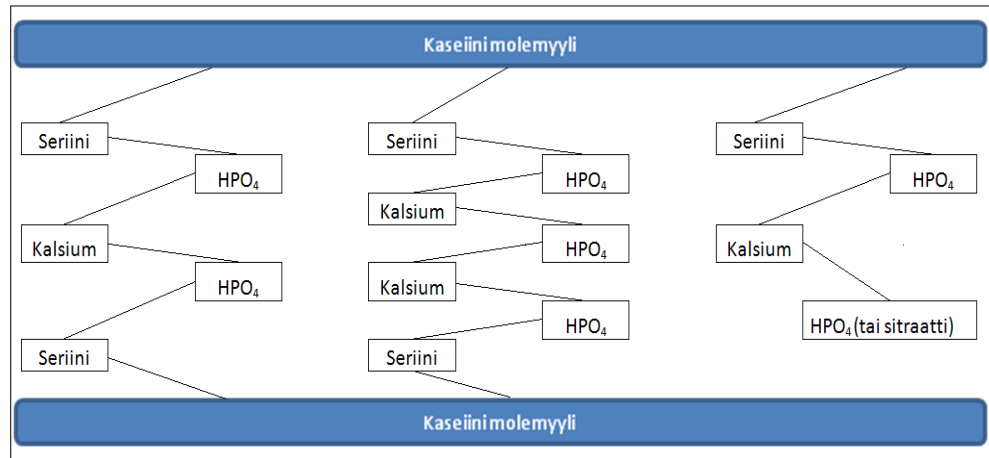
Lähde: E. Waagner Nielsen, the Royal Veterinary and Agricultural University of Denmark

Kiinteiden ja nestemäisten yhdisteiden väliset suhteet määrittävät juuston kiinteyden, kun taas juuston elastisuuden määrittää juustossa olevien molekyyliäidosten määrät ja voimakkuudet. Happaneminen voi vaikuttaa molempiin tekijöihin eli sen toiminnalla on vaikutusta juuston koostumukseen. (Kristensen 1999, 92.)

Hapatteen toiminnan myötä fermentoitunut maitohappo edistää heran erottumista, joka vaikuttaa suuresti juuston kiinteyteen. Jos heran erottuminen on tehokasta, tulee juustosta kiinteämpi ja päinvastoin. Maitohappo myös liuottaa juuston rakenteessa olevaa kalsiumia, joka poistuu tehokkaammin erottuvan heran mukana. Liukeneva kalsium muokkaa siis juustossa olevien molekyyliäidosten määrää ja voimakkuuksia ja vaikuttaa suuresti juuston elastisuuteen. (Kristensen 1999, 92.)

Kalsiumin tehtävä juuston rakenteessa on sitoa kaseiinimolekyylejä toisiinsa, jolloin juuston rakenteesta on mahdollista saada halutunlainen. Kal-

siumin poistuessa rakenteesta kaseiinimolekyylien väliset sidokset purkautuvat, ja juuston rakenne haurastuu (kuva 3). (Eck 1987, 65.) Happaman heran mukana poistuu myös muita puskuriyhdisteitä, kuten fosfaattia.



Kuva 4 Kaseiinimolekyylien väliset poikittaissidokset (Kristensen 1999, 93.)

Lisäksi hapatteen toiminnalla on suuri merkitys juuston ominaisuuksiin, kuten makuun, hajuun, aromiin ja flavoriin. (Kristensen 1999, 65.)

### 5.1.1 Suolautuminen

Suolan imeytyminen juustoon ja kulkeutuminen juuston sisäosiin noudattavat diffuusion lakeja. Juuston siirtyessä suolaveteen alkaa juuston heraosaan siirtyä suolaa proteiiniosan muodostaman puoliläpäisevän kerroksen kautta. Heraosan suolapitoisuus on alhaisempi kuin suolaveden, jolloin samalla heraa kulkeutuu juustosta suolaveteen. (Kammerlehner 1986, 135.)

Suola voi kertyä vain juuston vesiosaan, koska proteiinirunko ja sisällä oleva rasva estävät suolan siirtymistä itse juustoon. Juuston rasvattoman osan vesipitoisuus (ROV) määrittää sen, kuinka nopeasti suola imeytyy juustoon, ja kuinka nopeasti heraa poistuu. Myös juuston koko kasvaa hieman suolauksen alkuvaiheessa vähäisen osmoottisen paineen johdosta, joka näkyy muun muassa juuston ulkopinnan kaareutumisena. Suolauksessa juuston vesipitoisuus laskee, ja kuiva-ainepitoisuus taas nousee. (Kammerlehner 1986, 135.)

Happanemisella on oma roolinsa juuston suolautumisessa. Jos heikon happanemisen johdosta juuston ROV jää normaalia korkeammalle, suola imeytyy juuston nopeammin, ja samalla suolausajalla juustosta tulee ylisuolainen. Toisaalta happamampi juusto suolautuu nopeammin, jolloin liian tehokas happaneminen voi myös aiheuttaa ylisuolaisen juuston. (Kristensen 1999, 138.) Suolauksenkin osalta juuston happanemisen tulisi siis olla hallinnassa.

### 5.1.2 Hajoamisreaktiot kypsytyksessä

Juusto on maitotuote, joka syntyy mikrobitoiminnan seurauksena. Kypsyminen on siis erittäin monimutkainen biokemiallinen prosessi, jossa keskeisimmässä osassa ovat erilaiset mikro-organismit. Näin ollen yhdessä grammassa juustoa on yleisesti miljoonia mikrobeja, joista suurin osa on maitohappobakteereja. Juuston kypsyminen vaatii läsnä olevaksi suuren määrän aktiivisia mikrobeja, jotka toimivat juuri vaaditulla hetkellä. (Kammerlehner 1986, 142.)

Tästä syystä hapanteella on tärkeä rooli juuston kypsymisessä. Maitohappobakteerien sisältämät proteolyttiset entsyymit hajottavat nimensä mukaisesti maidon valkuaista ja näin kypsyttävät juustoa. Juuston kypsyminen ei etene halutulla tavalla ilman riittävää mikrobitoimintaa hapanteen osalta.

## 6 HAPATTEEN JA HAPATEHÄIRIÖIDEN TUTKIMINEN HAAPAVEDEN TEHTAALLA

### 6.1 Työn tavoite

Työn tavoitteena oli löytää Haapaveden tehtaalta juustonvalmistusprosessista happanemiseen pääasiallisesti vaikuttavia tekijöitä, joiden avulla happanemisprosessia olisi helpompi hallita. Yhtenä tavoitteena oli määrittää käyttöhapatteelle jonkinlainen arvo, jolla hapatteen toimintaa voitaisiin ennakoida, ja jonka perusteella kyettäisiin tekemään muutoksia prosessi-parametreihin happanemisen edistämiseksi.

Happanemisiongelmiä tehtaalla ei ollut päivittäin. Tästä syystä pyrittiin löytämään mahdollisia tekijöitä, jotka satunnaisesti aiheuttavat ongelmia hapatteen toiminnassa.

#### 6.1.1 Lähtökohdat

Ongelmia tehtaalla oli happanemisessa siinä määrin, että jonain päivinä hapatteen toiminta tai jokin muu syy esti happanemisprosessia etenemästä halutulla tavalla. Näiden tilanteiden ennakointi oli lähes mahdotonta, ja tilanteeseen pystyttiin reagoimaan hitaasti ja usein liian myöhään.

Ongelmat happanemisessa näkyivät prosessissa monella tavalla, kuten ROV:in ja juuston painon vaihteluna. Kuten teoriaosasta käy ilmi, happaneminen ja sitä kautta ROV:in muutokset voivat aiheuttaa suuria muutoksia lopputuotteessa muun muassa suolautumisen osalta. Heikko happanemien voi esimerkiksi tuottaa liian korkean ROV:in omaavan tuotteen, joka on ylisuolautunut. Painon vaihtelu sen sijaan aiheutti ongelmia tasapainotuotteiden valmistuksessa.

Yhtenä lähtökohtana oli, että käyttöhapatteen tiedettiin olevan faagitonta, joka osaltansa ohjasi kokeiden suunnittelua.

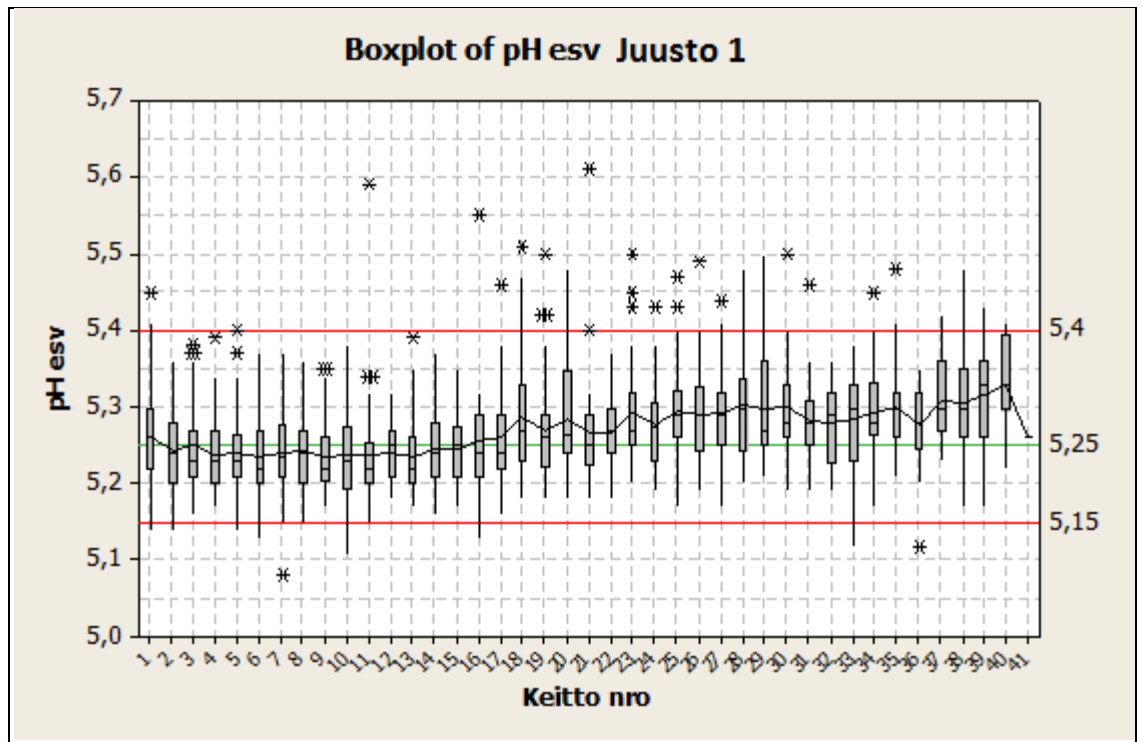
Kuvaajissa (kuvio 1-4) on kuvattu Haapaveden neljän päätuotteen eli Juusto 1, Juusto 2, Juusto 3 ja Juusto 4:n pH-arvot ennen suolavettä (pH esv) keittonumeroon nähden (Keitto nro). Keittonumero kertoo, monesko tuotantopäivän kattila on kyseessä. pH-mittaukset ovat prosessinohjaajien päivittäin mittaamia tuorejuuston pH-arvoja ennen suolavesisuolausta. Ne ovat mitattu 1.1.2010 ja 1.6.2010 välisenä aikana.

Mittauksia on analysoitu yhteensä:

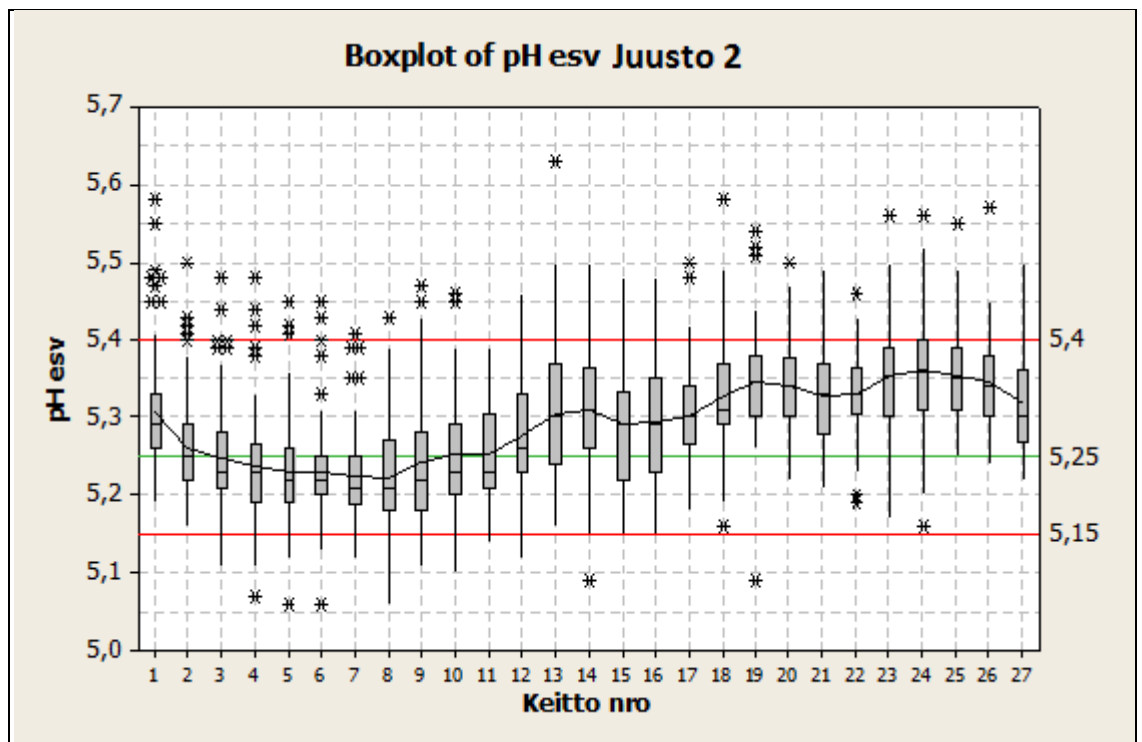
- Juusto 1: 1287 kpl
- Juusto 2: 1573 kpl
- Juusto 3: 846 kpl
- Juusto 4: 1145 kpl

Tuloksista ei ole poistettu poikkeavia tuloksia, koska niiden analysoinnin tarkoituksena oli olla suuntaa antava, ja osoittaa tapahtuuko tuotantopäivän aikana merkittävää muutosta juuston pH-arvossa. Vihreä viiva kuvaa-

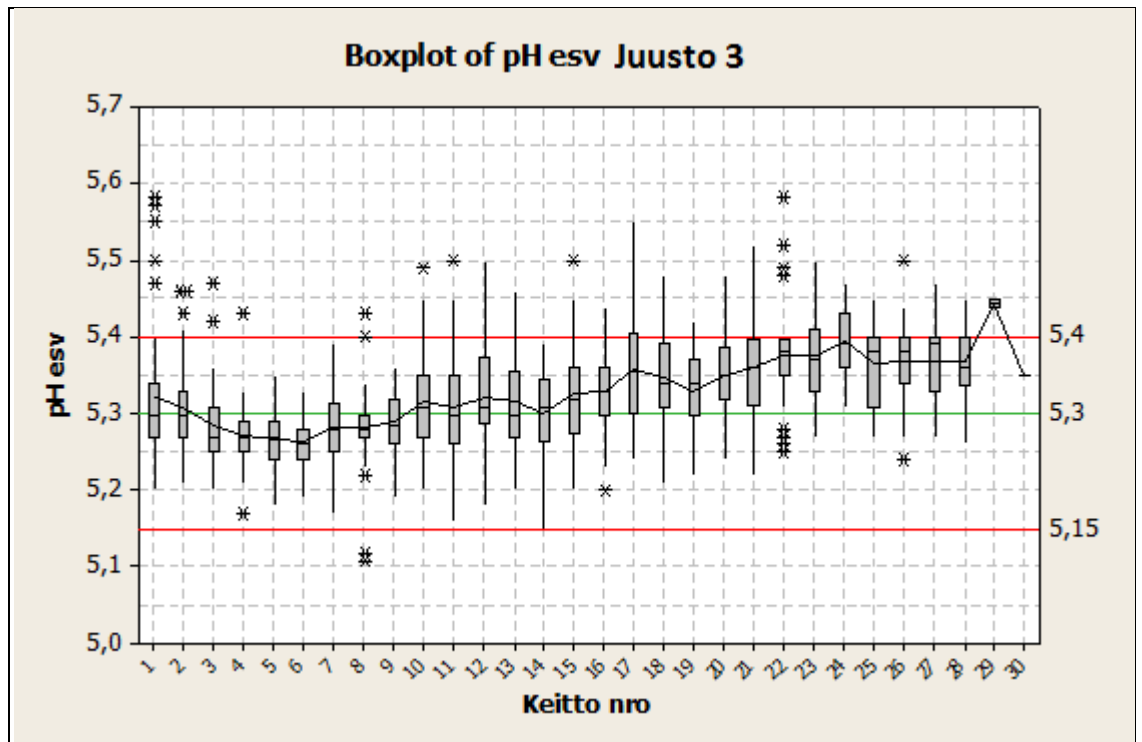
jissa kertoo kyseisen juuston tavoite pH:n ennen suolavettä ja musta viiva kuvaa pH keskiarvoa kyseisen kattilanumeron kohdalla.



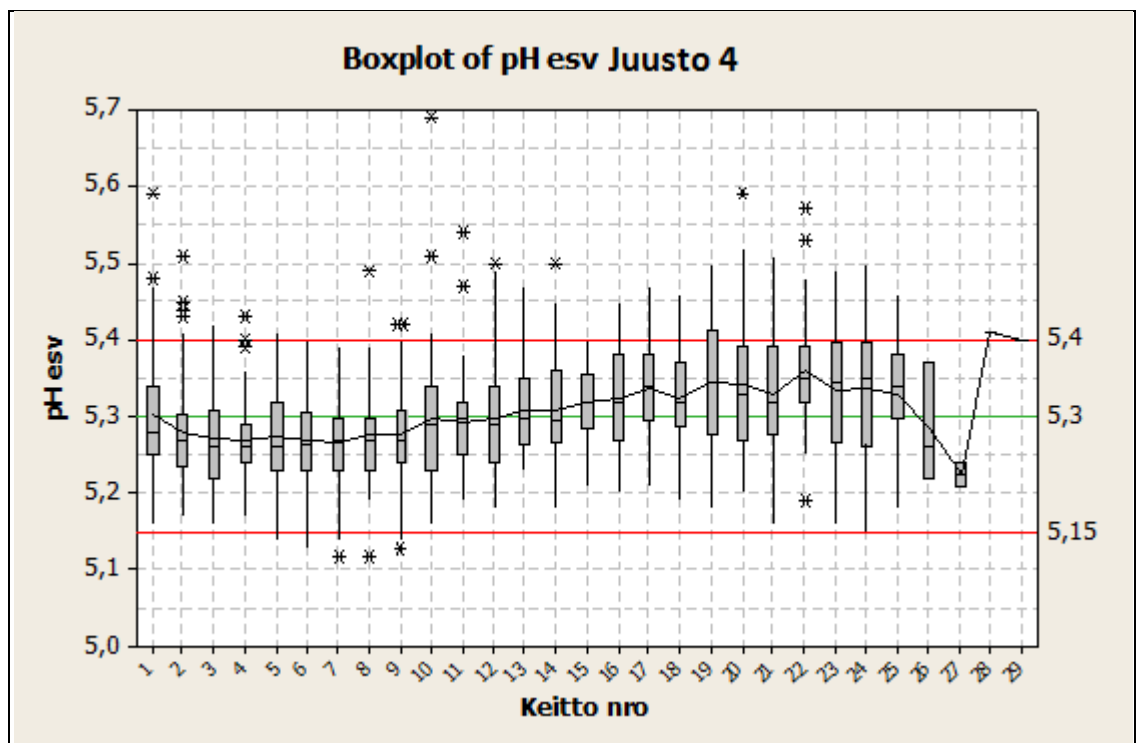
Kuvio 1 pH ennen suolavettä Juusto 1



Kuvio 2 pH ennen suolavettä Juusto 2



Kuvio 3 pH ennen suolavettä Juusto 3



Kuvio 4 pH ennen suolavettä Juusto 4

Kuvaajien (kuvio 1-4) perusteella nähdään selkeästi, kuinka jokaisen tuotteen kohdalla juuston pH-arvot ennen suolavettä nousevat päivän edetessä. Nämä kuvaajat esittävät noin viiden kuukauden jaksoa, joten joidenkin päivänä nousu päivän lopussa on huomattavasti korkeampi kuin kuvaajat



osoittavat. Vastaavasti toiset päivät taas ovat parempia pH:n nousun osalta.

Tuotantopäivän aikana juustokattilat likaantuvat, ja niiden faagikontaminaation riski kasvaa. Jos kattiloita ei tuotantopäivän aikana pestä, voivat faagipitoisuudet jossakin vaiheessa päivää nousta niin suuriksi, että ne alkavat hidastaa ja heikentää happanemista.

### 6.2 Menetelmät ja määritykset

Työssä lähdettiin liikkeelle prosessin kulun mukaisesti tärkeimmistä happanemiseen vaikuttavasta tekijästä eli itse hapatteesta. Hapatteen toimintaa pyritään nykyään ennakoimaan erilaisilla kokeilla. Yksi käytössä oleva ja yleistyvä hapatteen toimintaa kuvaava koe on aktiivisuuskoe, jonka avulla myös Haapavedellä hapatteen toimintaa lähdettiin selvittämään.

Lisäksi tutkittiin yleisimmin happanemista estäviä tekijöitä eli bakteriofaageja, joista prosessissa oli viitteitä juuston pH:n noustessa päivän edessä. Faagitesteissä tutkittiin muun muassa koko juustonvalmistusprosessin yleistä faagitasoa sekä kattiloiden ja eri pesujen vaikutuksia faagipitoisuuksien osalta.

Lisäksi päähapatteelle testattiin varahapatetta, jota tarvittaessa voitaisiin käyttää päähapatteen tilalla. Varahapatteesta selvitettiin sen aktiivisuus verrattuna päähapatteeseen sekä prosessin mahdolliset estoteijät hapatetta vastaan eli hapatteen faagiherkkyys, jotka myös teorian mukaan tulisi tutkia ennen uuden hapatteen käyttöönottoa.

#### 6.2.1 Aktiivisuuskoe

Hapatteen toimintaa pyrittiin selvittämään aktiivisuuskokeilla. Valion omaan faagimääritysohjeeseen sisältyy erillinen aktiivisuuskoe, jonka suorittaminen onnistuu ongelmitta laboratorio olosuhteissa. Koska itse faagimääritystä ei suoriteta jokaisena tuotanto päivänä, eivätkä hapatteet valmistu aina samaan aikaan, tämän aktiivisuuskokeen suorittaminen jokaisesta hapate-erästä ei ollut mahdollista. Lisäksi koe olisi ollut vaikea opettaa koko juustonvalmistusosaston henkilöstölle.

Aluksi suoritettiin aktiivisuuskokeita yksittäisistä hapatteista, joiden tulosten perusteella pyrittiin saamaan viitteitä siitä onko hapatteen aktiivisuudessa vaihtelua. Näiden tulosten viitatessa aktiivisuuden vaihteluun, osastolle pyrittiin löytämään helppokäyttöinen aktiivisuuskoe, jonka pystyisivät suorittamaan kaikki juustonvalmistus henkilöstöön kuuluvat.

Käyttöön valittiin yksinkertainen testi, joka pystyttiin suorittamaan välittömästi hapatteen valmistuttua. Testin suunnittelussa pyrittiin siihen, ettei eri henkilöiden tehdessä koetta synny tuloksissa suuria eroja henkilöiden välille. Testin ohjeistus on esitetty liitteessä 1.

Testiä varten tuotantotiloihin rakennettiin pieni laboratorio, jossa testi pystyttiin suorittamaan. Näin ollen testi pystytään tekemään heti hapatteen valmistuttua, ja tulos on käytettävissä ennen hapatteen käyttöönottoa.

### 6.2.2 Faagitesti

Faagitestien perusteella pyritään selvittämään juustolassa vallitsevat faagitasot, ja määrittämään niiden vaikutus happanemiseen. Aikaisemmin esitettyjen kuvaajien (kuvio 1-4) perusteella voidaan epäillä mahdollista faagikontaminaatiota, jonka vaikutus näkyy tuotteiden happanemisessa.

Valiolla on käytössä oma faagimääritysohjeensa, joka on esitetty liitteessä 2. Kaikki faagitestit suoritettiin kyseisen ohjeen mukaisesti. Faagitestien osalta työssä suoritettiin lähes koko prosessin kattava faagiauditointi sekä kattiloista tehtäviä erilaisia faagitestejä.

Faagitestejä tehtiin pääasiassa käyttöhapatteista ja kattiloiden laskuheroista päivän eri vaiheissa. Säännöllisiä, laboratorion tekemiä faagitestejä tehtiin kolme (3) kertaa viikossa molempien linjojen päivän viimeisistä kattiloista. Näitä tuloksia tutkimalla sai myös viitteitä mahdollisista faagiongelmista prosessissa.

Faagiauditointi on Valion sisäinen auditointi, jolla pyritään selvittämään raakamaidosta laskuheraan vallitsevat faagipitoisuudet, ja niiden vaikutukset kaikkiin käytössä oleviin hapatteisiin. Faagiauditointi tehtiin Valion faagimääritysohjeen (liite 2) mukaan, mutta näytteistä ei tehty laimennoksia (B-2 ja B-4), vaan pelkästään B-0, eikä testissä käytetty kuumennettua näytettä.

Faagiauditoinnin näytteet otettiin: raakamaidosta, vakiomaidosta, juustomaidosta, kattilamaidosta ennen hapatelisäystä ja laskuherasta. Auditointi suoritettiin kolmena päivänä, jotka eivät auditointiohjeen mukaan saaneet olla peräkkäisiä. Hapatteita oli käytössä viisi (5): päähapate, varahapatteet ja lisähapatteet.

Kattiloiden faagitesteillä pyrittiin selvittämään kattiloissa olevat faagipitoisuudet ja niissä tapahtuvat muutokset päivän aikana. Pääasiassa kattiloiden faagipitoisuuksia testattiin kahdella eri periaatteella, joista ensimmäinen oli erot kattiloiden välillä, ja toinen oli päivän mittaa tapahtuvat muutokset.

Kattiloiden välisiä eroja testattiin ottamalla näytteet jokaisen kattilan viimeisestä laskuherasta, ja tekemällä tästä näytteestä Valion ohjeen (liite 2) mukainen faagimääritys.

Päivän mittaa tapahtuvia muutoksia testattiin ottamalla näytteitä kolmesta eri kattilasta, joille tehtiin tuotannon puolella välissä erilaiset toimenpiteet. Ensimmäiselle kattilalle ei suoritettu tuotannon puolella välissä min-käänlaista pesua, toiselle kattilalle suoritettiin desinfiointi ja kolmannelle kattilalle suoritettiin happopesu. Näytteet otettiin jokaisen (neljän) kierroksen laskuheroista, ja ne testattiin Valion faagimääritys ohjeen (liite 2)

mukaisesti. Tällä testillä pyrittiin selvittämään, mikä käsittely kattiloille olisi riittävä, jotta faagitaso saataisiin pidettyä koko tuotantopäivän ajan hallussa, eikä se aiheuttaisi ongelmia muun muassa juuston happanemises-  
sa.

Näiden faagitestien suorittaminen keksittiin vasta loppu ajasta, joten testi-  
en toistot jäivät toistaiseksi tekemättä. Näin ollen nämä faagitestit eivät ole  
tilastollisesti merkitseviä, mutta niiden toistaminen voi auttaa mahdollisten  
faagiongelmiin paikantamisessa. Lisäksi testeistä saa suuntaa antavaa tie-  
toa erilaisten pesujen vaikutuksesta faageihin.

### 6.2.3 Uuden varahapatteen testaus

Päähapatteella tulisi olla käytettävissä ns. varahapate, joka voitaisiin ottaa  
käyttöön päähapatteen toiminnan hidastuttua tai loputtua, muun muassa  
estotekijöiden tason noustessa liian korkeaksi kyseistä hapatetta vastaan.  
Varahapatteen tulee olla eri faagiryhmää kuin päähapate, jolloin samat  
faagiryhmät eivät vaikuta molempien hapatteiden toimintaan.

Mahdollisesti käyttöön otettavalle uudelle varahapatteelle suoritettiin  
suuntaa antavia testejä, joilla voitiin selvittää sen sopivuus prosessiin ja  
Oltermanni-juuston valmistukseen. Varahapatteen koostumus on päähapa-  
patteen kaltainen, joten sen ominaisuuksia pystyttiin pitämään lähestul-  
koon vastaavina. Näin ollen varahapatteesta testattiin sen aktiivisuutta ver-  
rattuna käytössä olevaan käyttöhapatteeseen, ja tutkittiin prosessin mah-  
dolliset estotekijät kyseistä hapatetta vastaan. Aktiivisuuden perusteella  
selvitettiin hapatteen lisäysmäärät, ja kyettiin hieman ennakoimaan sen  
happanemisprofiilia prosessissa.

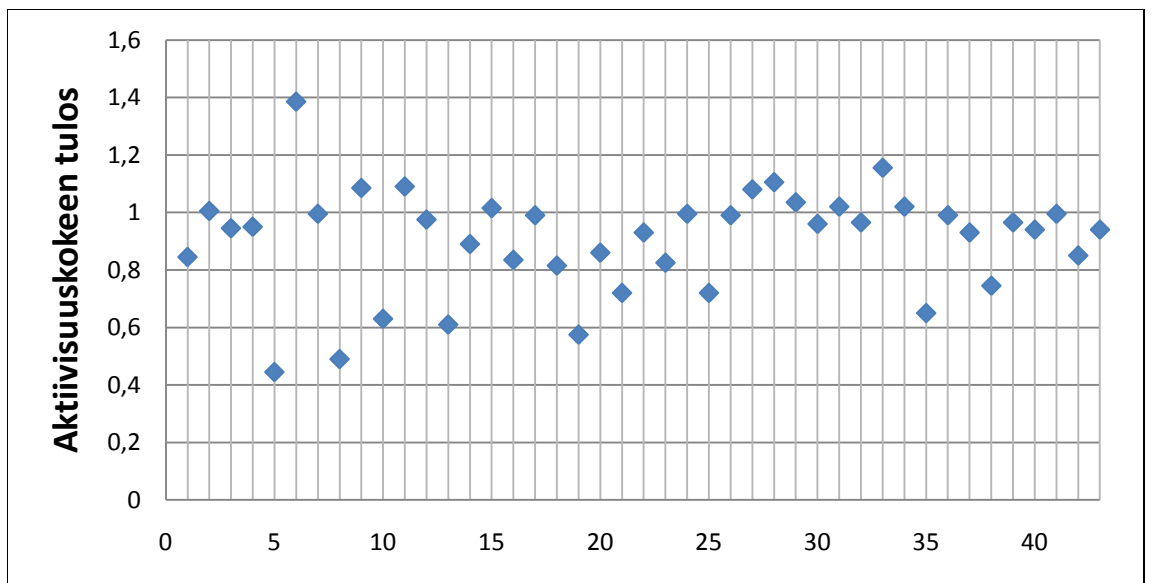
Varahapatetta valmistettiin 800 litraa ja varsinaista käyttöhapatetta hieman  
suurempi määrä. Molempiin hapatteisiin lisättiin samassa suhteessa hapa-  
teymppiä, jotta kypsytyso prosessi olisi mahdollisimman tasalaatuinen ja  
samankaltainen. Hapatteiden valmistuttua, molemmille hapatteille suori-  
tettiin vastaavat testit.

## 7 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

### 7.1 Aktiivisuuskoe

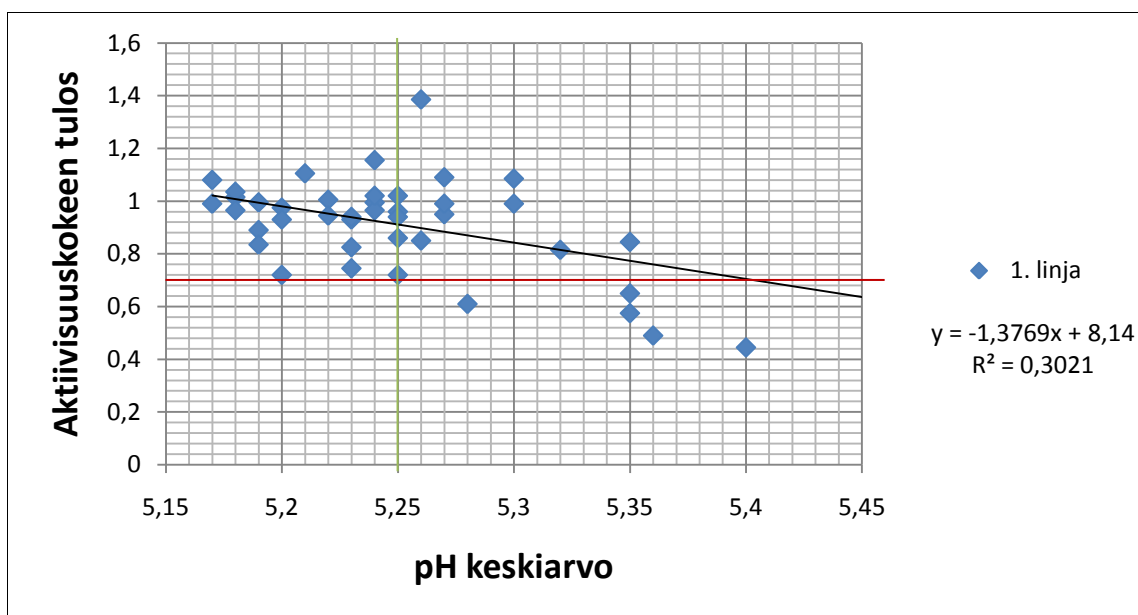
Aktiivisuuskokeen tulosten tarkastelussa käytettiin jokaisesta hapatteesta tehtyä aktiivisuuskokeen tulosta ja sitä hapatetta vastaavaa pH-keskiarvoa. pH-keskiarvosta poistettiin normaalista selvästi poikkeavat tulokset, joita olivat pitkät keitot (yli 15 min), normaalia suuremmat hapatelisäysmäärät (>1 %) ja muut merkittävät poikkeukset normaalista.

Tuloksissa on kuvattu 1. linjalta 42 ja 2. linjalta 43 tulosta aikaväliltä 22.7.2010 – 1.9.2010. 1. linjan tavoite pH ennen suolavettä on 5,25 ja 2. linjan 5,30. Aktiivisuuskokeen tulos tarkoittaa kokeen alku pH:n ja loppu pH:n erotusta.



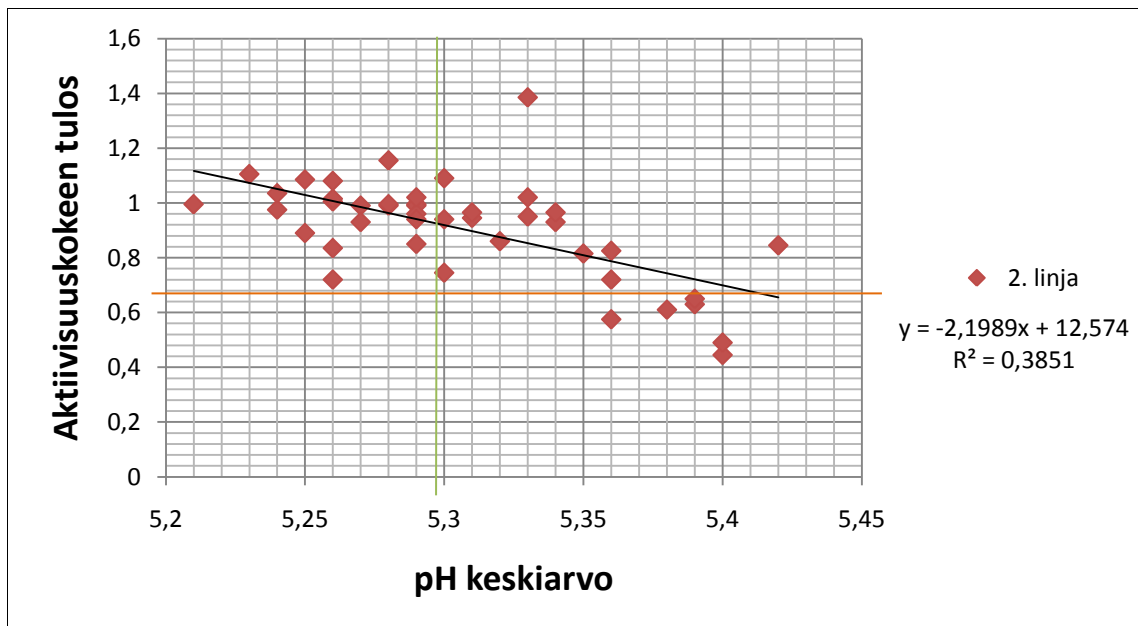
Kuvio 5 Aktiivisuuskokeen tulokset (N=43)

Kuviossa 5 on kuvattuna 43 aktiivisuuskokeen tulosta. Kuvioista nähdään, että hapanteen aktiivisuudessa oli vaihtelua. Aktiivisuuskokeen tulosten keskiarvo oli 0,906 ja keskihajonta 0,183, joka osoittaa myös vaihtelun hapanteiden välillä. Aktiivisuuden vaihtelut eivät teoriaosion mukaan luo optimaalista tilannetta happanemisenhallinnalle.



Kuvio 6 1. linja: aktiivisuus suhteessa pH-keskiarvoon

1. linjan kuvaajasta (kuvio 6) on nähtävissä, että hapatteen aktiivisuuskokeen tuloksen ollessa vähintään 0,7 olivat juuston pH-keskiarvot pääosin alle 5,30, ja hajonta tavoitearvon 5,25 molemmin puolin. Kun taas tuloksen ollessa alle 0,7 olivat juuston pH-keskiarvot pääosin nousseet yli 5,30. Yhdelläkään kerralla, jolloin aktiivisuuskokeen tulos oli alle 0,7 ei saavutettu pH-keskiarvolla juuston pH tavoitetta 5,25.



Kuvio 7 2. linja: aktiivisuus suhteessa pH-keskiarvoon

2. linjan kuvaajasta (kuvio 7) on myös nähtävissä, että hapatteen aktiivisuuskokeen tuloksen ollessa vähintään 0,7 olivat juuston pH-keskiarvot pääosin alle 5,35, ja hajonta tavoitearvon 5,30 molemmin puolin, joskin hieman enemmän tavoitteen alle. Kun taas tuloksen ollessa alle 0,7 olivat juuston pH-keskiarvot nousseet yli 5,35. Yhdelläkään kerralla, jolloin ak-

tiivisuuskokeen tulos oli alle 0,7 ei saavutettu pH-keskiarvolla juuston pH tavoitetta 5,30.

Näiden tulosten perusteella pääteltiin juuston happamuuden olevan liian matalalla aktiivisuuskokeen tuloksen ollessa 0,7 tai alhaisempi. Niinpä juustonvalmistus osastolle ohjeistettiin hapatemäärän nosto hapatteen aktiivisuuskokeen tuloksen ollessa  $\leq 0,7$ .

## 7.2 Aktiivisuuskokeen tulosten tilastollinen tarkastelu

### 7.2.1 1. linja

Korrelaatiokerroin  $r = -0,5496$                        $R^2 = 0,3021 = 30,21 \%$   
Otoskoko  $n = 42$

Pearsonin korrelaatiokertoimen kriittinen arvo ( $n=40$ ) yksisuuntaisessa testissä 0,05 % merkitsevyystasolla on 0,501.

Korrelaatiokertoimen arvo oli negatiivinen, joten muuttujat X ja Y muuttuivat vastakkaisiin suuntiin eli X:n arvon kasvaessa Y:n arvo pieneni. Tässä tapauksessa tämä oli tarkoituksen mukaista, koska hapatteen aktiivisuuden laskiessa juuston pH-keskiarvon tuli nousta.

Selitysasteen ollessa 30,21 % voidaan päätellä aktiivisuuden muutoksien selittävän 30,21 %:a pH:n muutoksista. Koska juuston happaneminen riippuu myös todella monista muista tekijöistä, voidaan tämän olettaa olevan merkittävä selitysaste aktiivisuuden osalta.

Tarkastellaan korrelaatiokertoimen merkitsevyyttä.

Lasketaan testisuure t, seuraavalla kaavalla:

$$t = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{-0,5496\sqrt{42-2}}{\sqrt{1-(-0,5496)^2}} = -4,1607$$

Jos riskitasoksi valitaan 0,01 %, t-jakauman taulukosta saadaan yksisuuntaisen testin kriittiseksi arvoksi 4,094. Koska laskettu testisuureen itseisarvo on yli kriittisen arvon  $4,161 > 4,094$ , voidaan edellä olevan perusteella osoittaa, että aktiivisuuden ja pH keskiarvon välillä vallitsee tilastollinen yhteys. Johtopäätöksen erehtymisriski on 0,01 %. Tulos on tilastollisesti erittäin merkitsevä.

### 7.2.2 2. linja

Korrelaatiokerroin  $r = -0,6205$                        $R^2 = 0,3851 = 38,51 \%$   
Otoskoko  $n = 43$

Pearsonin korrelaatiokertoimen kriittinen arvo ( $n=40$ ) yksisuuntaisessa testissä 0,05 % merkitsevyystasolla on 0,501.

Korrelaatiokertoimen arvo on negatiivinen, joten muuttujat X ja Y muuttuvat vastakkaisiin suuntiin eli X:n arvon kasvaessa Y:n arvo pienenee. Tässä tapauksessa tämä on tarkoituksen mukaista, koska hapateen aktiivisuuden laskiessa juuston pH-keskiarvon tulisi nousta.

Selitysasteen ollessa 38,51 % voidaan päätellä aktiivisuuden muutoksien selittävän 38,51 %:a pH:n muutoksista. Koska juuston happaneminen riippuu myös todella monista muista tekijöistä, voidaan tämän olettaa olevan merkittävä selitysaste aktiivisuuden osalta.

Lasketaan testisuure t, seuraavalla kaavalla:

$$t = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{-0,6205\sqrt{43-2}}{\sqrt{1-(-0,6205)^2}} = -5,0670$$

Jos riskitasoksi valitaan 0,01 %, t-jakauman taulukosta saadaan yksisuuntaisen testin kriittiseksi arvoksi 4,094. Koska laskettu testisuureen itseisarvo on yli kriittisen arvon,  $5,067 > 4,094$ , voidaan edellä olevan perusteella osoittaa, että aktiivisuuden ja pH keskiarvon välillä vallitsee tilastollinen yhteys. Johtopäätöksen erehtymisriski on 0,01 %. Tulos on tilastollisesti erittäin merkitsevä.

### 7.3 Faagitestit

Faagitesteinä suoritettiin raakamaidosta tuotantoon ulottuva faagiauditointi sekä faagimäärityksiä valmistusosaston keittokattiloista, joita on viisi yhdelle linjalle eli yhteensä kymmenen kattilaa.

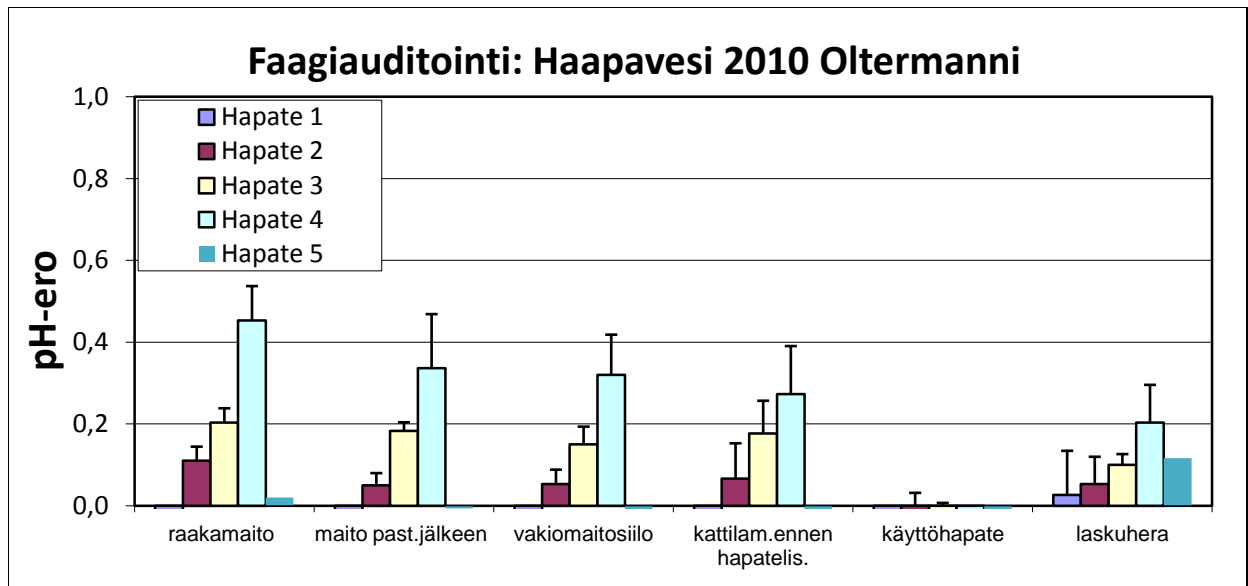
#### 7.3.1 Faagiauditointi

Hapate 1 on käytössä oleva päähapate ja muut hapatteet erilaisia lisä- ja varahapatteita. Taulukossa 4 on esitetty kolmena eri päivänä tehdyn faagiauditoinnin tulosten keskiarvot ja hajonnat kutakin hapatetta kohden.

Kuviossa 8 on vastaavasti taulukosta 3 luotu graafinen esitys, josta tulokset ja eroavaisuudet ovat helposti luettavissa.

Taulukko 4 Faagiauditoinnin tulokset (keskiarvo ja hajonta)

	Hapate 1		Hapate 2		Hapate 3		Hapate 4		Hapate 5	
	k-a	hajonta	k-a	hajonta	k-a	hajonta	k-a	hajonta	k-a	hajonta
raakamaito	-0,06	0,04	0,11	0,03	0,20	0,04	0,45	0,08	0,02	0,04
maito past.jälkeen	-0,09	0,06	0,05	0,03	0,18	0,02	0,34	0,13	-0,01	0,03
vakiomaitosiilo	-0,08	0,06	0,05	0,04	0,15	0,04	0,32	0,10	-0,03	0,04
kattilam.ennen hapatelis.	-0,08	0,05	0,07	0,09	0,18	0,08	0,27	0,12	-0,06	0,06
käyttöhapate	-0,05	0,05	-0,02	0,06	-0,03	0,04	-0,02	0,02	-0,07	0,04
laskuhera	0,03	0,11	0,05	0,07	0,10	0,03	0,20	0,09	0,12	0,10



Kuvio 8 Faagiauditoinnin tulokset

Kuten kuviosta 8 on nähtävissä, ei hapatteelle 1 ole olemassa merkittävää estoa faagien osalta millään prosessin osa-alueella. Tästä voidaan päätellä päähapatteen olevan tällä hetkellä soveltuva hapate prosessiin.

Sen sijaan hapatteelle 4 on merkittävää estoa jo raakamaidosta lähtien. Tämän perusteella hapatteen 4 käyttöä valmistusprosessissa tulisi tarkkaan harkita.

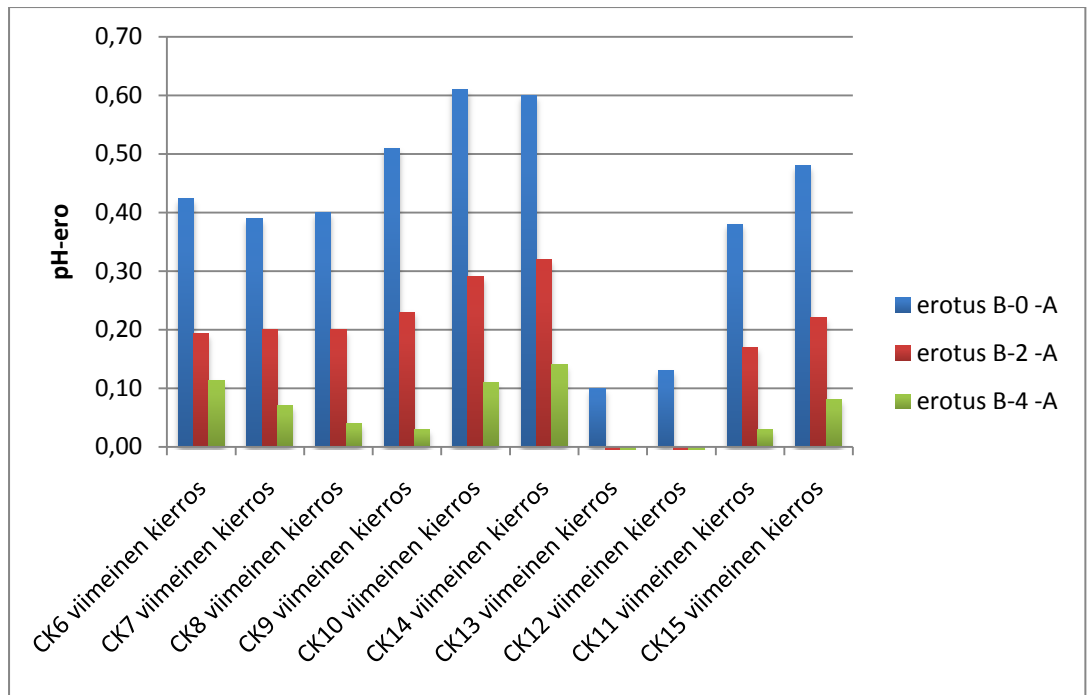
Erittäin merkittävä asia faagiauditoinnin osalta on se, ettei käytössä olevasta käyttöhapatteen löydy estoa mitään kokeessa mukana ollutta hapatetta vastaan, joten käyttöhapatetta voidaan pitää täysin faagivapaana. Tämä oli myös olettamus ennen opinnäytetyön aloittamista. Tulos osoittaa, että käyttöhapatteen valmistuksessa käytetään riittävää lämpökäsittelyä ja hygieniaa, jolloin vältetään faagikontaminaatioita.

Pääkäytössä olevien hapatteiden osalta tilanne näyttää hyvältä faagien aiheuttaman eston osalta. On kuitenkin muistettava, että tilanne voi nopeasti muuttua erityisesti juuston valmistusosastolla, esimerkiksi heikon hygienian tai riittämättömien pesujen johdosta.

### 7.3.2 Faagitestit kattiloista

Kuviossa 9 on esitetty faagien aiheuttamat happanemisen estotasot tuotannon viimeisen kierroksen kaikista kattiloista.

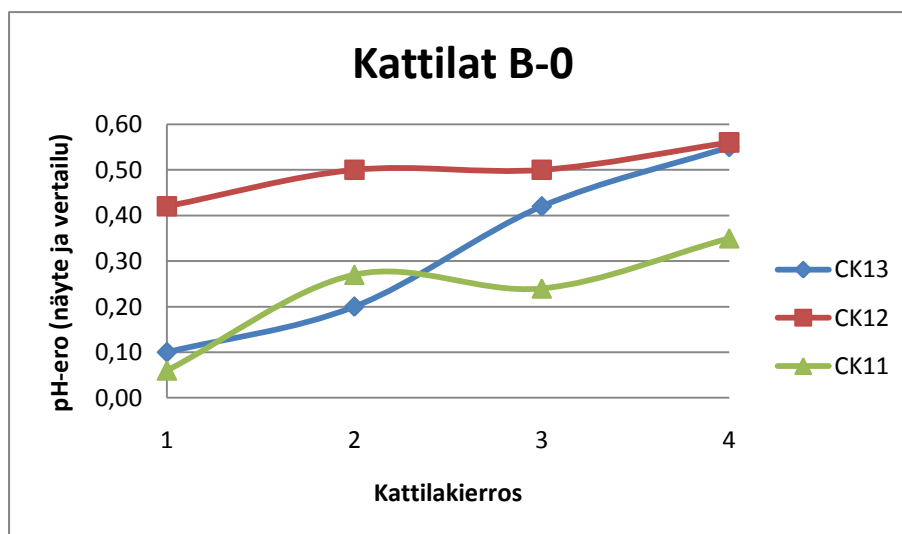




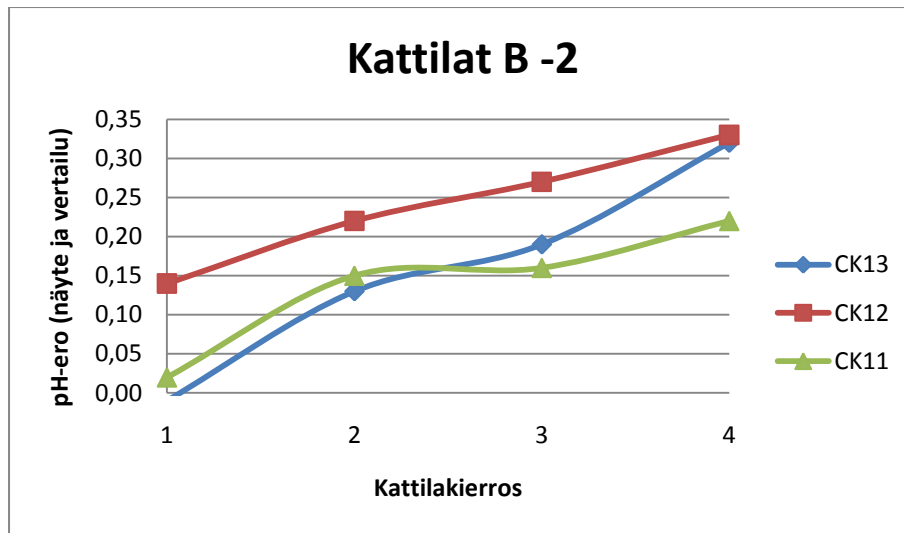
Kuvio 9 Faagitestit jokaisesta kattilasta viimeiseltä kierrokselta

Jokaisesta kattilasta tehtyjen faagitestien perusteella näyttäisi siltä, että kattiloiden välillä on eroja faagipitoisuuksien osalta. Kokeet tulisi toistaa riittävän useasti, jotta voitaisiin päätellä ovatko tietyt kattilat puhtaampia faagien osalta kuin toiset, ja ovatko tulokset tilastollisesti merkitseviä. Yksittäinen koe on suuntaa-antava, ja tämän kokeen perusteella tutkimusta näiltä osin kannattaisi jatkaa.

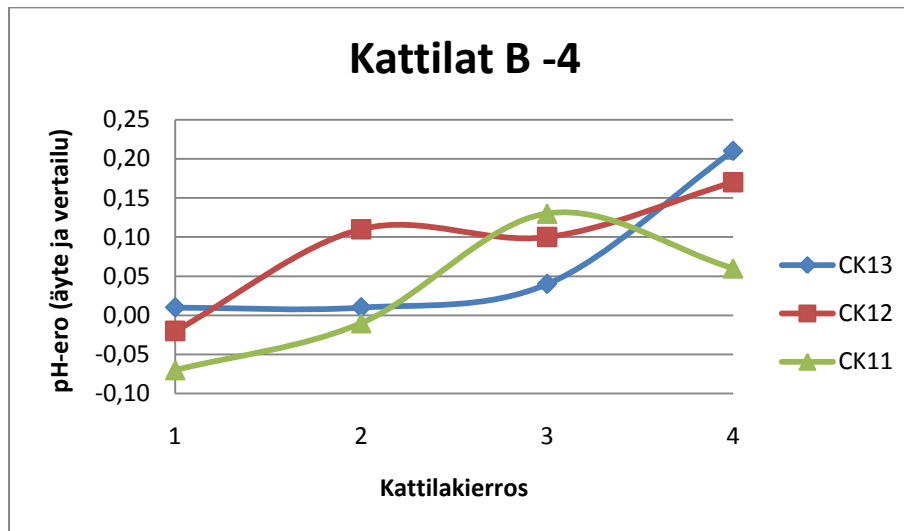
Kuvioissa 10–12 on esitetty faagien vaikutusta pH muutokseen faagitestissä. Tuotannon puolella välissä kattilalle CK11 suoritettiin happopesu, CK12 desinfiointi ja CK13 ei toimenpidettä. Jokaisella kattilalla keitettiin 4 kierrosta. Jostakin syystä kattilan CK12 hapanemisen estotaso oli jo alussa sen verran korkea, ettei tuloksesta voi tehdä selkeitä johtopäätöksiä.



Kuvio 10 Faagitestit eri toimenpiteillä B-0 (laimentamaton)



Kuvio 11 Faagitestit eri toimenpiteillä B-2 (laimennos  $10^{-2}$ )



Kuvio 12 Faagitestit eri toimenpiteillä B-4 (laimennos  $10^{-4}$ )

Kuvaajista (kuvio 10–12) on kuitenkin selkeästi nähtävissä, että kattilan CK11 estotaso viimeisellä (neljännellä) kierroksella on huomattavasti kah- ta muuta kattilaa matalampi, ja kierroksen kaksi jälkeen (kuvio 10) tapah- tuu lasku faagien estotasossa eli pH erotus pienenee. Happopesun vaiku- tus välipesuna on siis kaikista merkittävin faagitason hillitsemiseksi, ja kierroksen kaksi jälkeen suoritettu pesu näkyy selkeästi estotasoa hillitse- västi.

Myös kattilan CK12 estotaso jää samalle tasolle kuin kattilan CK13, jolle ei suoritettu mitään toimenpidettä tuotannon puolella välissä. Tästä voi- daan päätellä myös desinfioinnin vaikuttavan faagitasoon viimeisellä kier- roksella, koska CK 12 lähtötaso oli huomattavasti korkeampi kuin muiden kattiloiden. Ilman desinfiointi käsittelyä kattilan estotaso oli luultavasti ol- lut huomattavasti korkeampi.

Laimennoksen  $10^{-4}$  faagipitoisuudet ovat sen verran pieniä, ettei kuvaajas- ta (kuvio 12) selkeästi nähdä toimenpiteiden vaikutuksia vaan erot voivat

johtua muun muassa testin epätarkkuustekijöistä. Tässäkin kuitenkin nähdään, että kattilan CK 11 estotaso on muita alhaisempi viimeisellä kierroksella.

Kokeen toistettavuus on hyvä. Kokeen avulla on helppo selvittää mikä on pienin ja vähäisin pesumäärä tuotannon aikana, jolla faagipitoisuudet saadaan pidettyä riittävän alhaisina onnistuneen prosessin mahdollistamiseksi.

## 7.4 Varahapate

Varahapattteen osalta tutkittiin sen aktiivisuus verrattuna käytössä olevaan päähapatteeseen sekä prosessin mahdolliset estotekijät hapatetta vastaan.

### 7.4.1 Aktiivisuus

Taulukossa 5 on päähapattteen ja varahapattteen aktiivisuuskokeiden tulokset, joiden perusteella varahapattteen lisäysmääriä tuotannossa pyrittiin selvittämään.

Taulukko 5 Varahapattteen aktiivisuus päähapatteeseen verrattuna

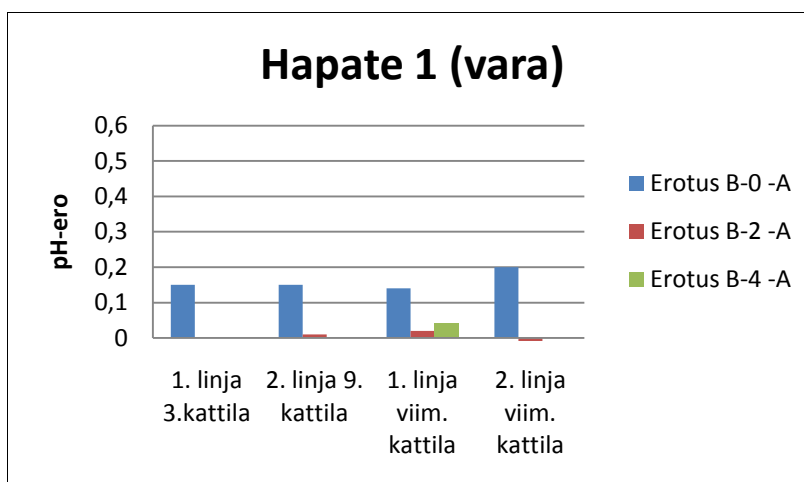
Näyte	Hapate	A <sub>alku</sub>	B <sub>alku</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	A <sub>alku</sub> -A <sub>1</sub>	A <sub>alku</sub> -A <sub>2</sub>	B <sub>alku</sub> -B <sub>1</sub>
Varahapate	Hapate 1	6,45	6,35	5,46	5,45	5,34	0,99	1,00	1,01
Päähapate	Hapate 2	6,45	6,35	5,52	5,50	5,4	0,93	0,95	0,95

A<sub>1</sub> = Valmistuksessa tehty testi A<sub>2</sub> = valmistuksessa tehty testi B<sub>1</sub> = laboratorioissa tehty testi

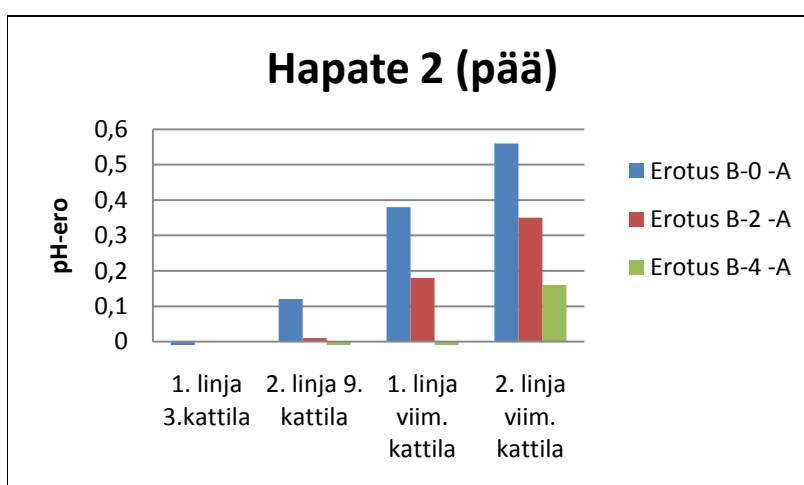
Päähapattteen aktiivisuuskokeen tulos eli alku-pH:n ja loppu-pH:n erotus oli keskimäärin 0,94 ja varahapattteen vastaava tulos keskimäärin 1,00. Aktiivisuuksiltaan hapatteet vastaavat lähestulkoon toisiaan, ja voidaan päätellä hapattteen lisäysmäärän olevan kutakuinkin sama molemmilla hapatteilla.

### 7.4.2 Estotekijät

Kuvioissa 13 ja 14 on esitetty vara- ja päähapatteeseen kohdistuva happanemisen estovaikutus faagien osalta. Kuvaajista on nähtävissä, että testattuun varahapatteeseen (hapate 1) kohdistuu vähemmän estovaikutusta tuotannon loppupuolella kuin tällä hetkellä käytössä olevaan päähapatteeseen (hapate 2).



Kuvio 13 Hapate 1 faagitesti



Kuvio 14 Hapate 2 faagitesti

Näiden tulosten perusteella varahapateen tulisi toimia tuotannossa vähintään päähapateen tasolla, joten näiltä osin varahapateen käytölle tuotannossa ei olisi estettä. Päinvastoin tuotantopäivän loppupuolella varahapate voisi toimia jopa päähapatetta paremmin. Tämä osoittaa, että varahapate eroaa faagiherkkydeltään päähapatteesta, ja olisi näiltä osin hyvä hapate käytettäväksi tämän hetkisen päähapateen rinnalla.

Taulukko 6 Hapatteiden 1 ja 2 faagitestit

Näyte	Hapate	A	B-0	B-2	B-4	Erotus B-0 -A	Erotus B-2 -A	Erotus B-4 -A
Hapate 1 (vara)	Hapate 2 *	5,03	4,95	4,94	4,96	<b>-0,08</b>	<b>-0,09</b>	<b>-0,07</b>
Hapate 2 (pää)	Hapate 2 *	5,03	4,97	4,97	5,03	<b>-0,06</b>	<b>-0,06</b>	<b>0,00</b>

Hapatteista 1 ja 2 (pää- ja varahapate) tehtiin vielä laboratoriossa valmistetulla hapatteella (Hapate 2\*) faagitesti, jolla selvitettiin molempien näytteen puhtaus faagien osalta.

Vertailu näytteen (A) ja varsinaisten näytteen (B) välillä ei ollut merkittävää eroa missään laimennoksessa, joten valmistettuja hapatteita pysty-

tään pitämään faagien osalta puhtaina. Näin ollen aktiivisuuskokeen ja faagitestien tuloksia voidaan pitää tältä osin luotettavana.

Estotekijöiden osalta testattua varahapatetta voidaan pitää prosessiin soveltuvana, ja sitä voidaan kokeilla tuotannossa.

## 8 POHDINTA JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Työn aikana suoritettiin useita määrittäyksiä, ja niistä saatiin hyviä tuloksia. Näiden tulosten pohjalta on mahdollista tehdä erilaisia havaintoja ja päätelmiä nykytilanteesta ja siitä miten asioita voitaisiin kehittää tulevaisuudessa.

Aktiivisuuskokeen tuloksista nähdään, että hapatteen aktiivisuudessa on eroavaisuutta käyttöhapatteen valmistuserien välillä. Ja kuten teoriaosassa on käsitelty, tulisi hapatteen aktiivisuuden pysyä päivästä toiseen samalla tasolla, jotta happanemisen hallinta näiltä osin olisi mahdollista. Hapatteen aktiivisuuden muutoksia voidaan kuitenkin kompensoida aktiivisuuskokeen perusteella.

Aktiivisuuskokeen avulla aktiivisuudeltaan heikommat hapatteet ovat tiedossa ennen hapatteen käyttöönottoa, joten happanemisprosessin hallinta helpottuu näiltä osin. Työn yhtenä tavoitteena oli määrittää käyttöhapatteelle jonkinlainen arvo, jolla hapatteen toimintaa voitaisiin ennakoita, ja jonka perusteella kyettäisiin tekemään muutoksia prosessiparametreihin happanemisen edistämiseksi. Tämä tavoite saavutettiin, ja Haapaveden tehtaalte saatiin toimiva määrittäys, jota kehittämällä voidaan saavuttaa hyviä lopputuloksia happanemisen hallinnassa.

Aktiivisuudeltaan heikompien hapatteiden toimintaa voidaan jatkossa kompensoida lisäämällä hapatteen tehoa joitakin prosessiparametreja muuttamalla. Teorian perusteella helpoimmat ja tehokkaimmat menetelmät happanemisen edistämiseksi olisivat hapatemäärän lisääminen ja esikypsytyksajan pidentäminen. Näillä kahdella menetelmällä voidaan suoraan kompensoida aktiivisuudeltaan heikomman hapatteen toimintaa, koska molemmat toimenpiteet lisäävät merkittävästi hapatebakteerien määrää juustomaidossa ja sitä kautta edistävät juuston happanemista. Ja koska aktiivisuuskokeen tulos on tiedossa ennen hapatteen käyttöönottoa, ovat nämä molemmat toimenpiteet suhteellisen helposti toteutettavissa. Tulee kuitenkin huomioida se, että hapatteen lisäsmäärän muutokset eivät saa olla liian suuria ( $>0,25\%$ ), kuten teoriaosassa on käsitelty, ja muutokset on tehtävä hallitusti. Liian suurilla lisäsmäärillä voidaan heikentävästi vaikuttaa lopputuotteen laatuun ja myös liian pitkällä esikypsytyksellä voidaan aiheuttaa sama lopputulos. Esikypsytyksaikaa pidentämällä luodaan myös mahdollisille bakteriofaageille otolliset olosuhteet lisääntyä. Tämä on yksi tärkeä asia, joka täytyy huomioida aikaa pidentäessä. Jos siis esikypsytyksaikaa pidennetään aktiivisuudeltaan heikon hapatteen kompensoimiseksi, saatetaan happanemisprosessia suunnata väärin mahdollisen faagi-infektion vaikutuksen voimistuttua. Silloin ei saavuteta haluttua lopputulosta happanemisen osalta.

Työn pohjalta valmistusosastolle saatiin ohjeistus, jonka mukaan hapatemäärä tulisi nostaa  $1\%$ :iin aktiivisuuskokeen tuloksen ollessa  $\leq 0,7$ . Tämä ohjeistus helpottaa erityisesti aktiivisuudeltaan heikkojen hapatteiden kohdalla happanemisprosessin hallintaa.

Aktiivisuuskokeen käytännöllisyyttä ja varmuutta on hyvä kehittää koetulosten lisääntyessä. Lisäksi aktiivisuuskokeen raja-arvot tarkentuvat näiden tuloksien myötä. Mahdollisesti hapatteen aktiivisuudelle voidaan luoda selkeät ylä- ja alarajat, joiden mukaan hapatteen määrää voidaan tarkemmin säätää juuston valmistusosastolla. Näin pystyttäisiin selkeästi reagoimaan hapatteen aktiivisuuden vaihteluihin.

Jatkossa hapatteen aktiivisuuden ollessa heikko olisi hyvä selvittää millä hapatemäärällä saavutetaan kokeessa hyvää hapatetta (hyvä aktiivisuus) vastaava tulos. Esimerkiksi jos aktiivisuuskokeen hapatemäärän lisäys on normaalisti 1 %, niin saavutetaanko heikolla hapatteella sama happaneminen 1,5 % hapatelisäyksellä, kuin hyvällä hapatteella 1 % lisäyksellä.

Lisäksi olisi erittäin tärkeää selvittää mistä mahdolliset aktiivisuuden vaihtelut johtuvat ja tutkia onko hapate-erien välillä nähtävissä selkeää eroa. Teoriaosassa käsiteltyjen hapatteen aktiivisuuteen pääasiassa vaikuttavien tekijöiden pohjalta on hyvä lähteä selvittämään mahdollisia ongelma kohtia. Käyttöhapatteen valmistuksessa on useita vaiheita, jotka vaikuttavat hapatteen aktiivisuuteen, ja näiden tekijöiden tasalaatuisuus tulisi varmistaa eri käyttöhapate-erien välillä. Täytyy muistaa, että perusasiat, kuten pH-mittareiden toiminta ja oikeat johtopäätökset täytyy olla kunnossa, jotta varsinaista hapatteen toimimattomuutta voidaan tutkia.

Faagitestien perusteella saatiin viitteitä Haapaveden tilanteesta faagien osalta. Mitään merkittävää tulosta ei faagitutkimuksilla saavutettu, mutta niiden avulla on helpompi lähteä jatkossa tutkimaan ja paikantamaan mahdollisia ongelma kohtia.

Erityisesti pesujen vaikutusta faagien estotasoihin kannattaisi tutkia tarkemmin, ja selvittää mikä pesu on riittävä, ja kuinka usein se on suoritettava, jotta faagitasot saadaan happanemisen osalta pidettyä riittävät alhaisina. Happopesu kattiloiden välipesuna on ainakin tehokkain ja riittävä toimenpide ehkäisemään bakteriofaagien toimintaa. Happopesu olisi hyvä pitää pesukäytäntönä, kunnes muiden mahdollisten pesujen riittävyys on selvitetty. Näin ollen saataisiin poistettua yksi mahdollinen happanemista estävä tekijä ja näiltä osin tasoitettua happanemisprosessia.

Kuten teoriaosassa on käsitelty, riittävillä kattiloiden ja putkistojen puhdistuskäsittelyjä kattiloiden täyttöjen välillä voidaan ehkäistä ja estää faagien vaikutusta. Myös aikaisempien kattiloiden herat ja niiden jäämät tulevat mahdollisimman hyvin pitää erossa uudelleen täytetyistä kattiloista, jolloin happanemisen estoa faagien osalta voidaan vähentää.

Kattilat täytyy pystyä huuhtomaan hyvin ennen uutta maidonottoa, jotta vältetään edellisten kattiloiden herojen ja uuden kattilamaidon väliseltä faagi-infektiolta. Jos kattiloiden huuhtelussa ja pesuissa on eroa, voi tämä näkyä faagitason nousuna.

Myös kattiloiden eroavaisuuksia on hyvä jatkossa tutkia lisää faagitasojen osalta, jotta voidaan varmasti todeta, ettei kattiloiden välillä ole merkittävää eroa, eivätkä jotkin tietyt kattilat aiheuta ongelmia happanemisessa.

Vaikka vain tietyt kattilat olisivat toisia kattiloita herkempiä infektoitumaan, voivat bakteriofaagien aiheuttamat ongelmat laajentua koko tuotantoa koskevaksi ongelmaksi, erityisesti ennen muottausvaihetta käytetyn välisäiliön kautta. Jos kattilavaiheessa tapahtuu faagi-infektio jonkin yksittäisen kattilan osalta, on mahdollista, että tämä ongelma jatkuu aina seuraavaan pesukiertoon asti välisäiliössä tapahtuvan kontaminaation kautta. Välisäiliössä olosuhteet herän läsnäolon seurauksena ovat hyvät bakteriofaageille lisääntyä ja aiheuttaa ongelmia happanemisessa. Myös rakeiston viipymä välisäiliössä voi olla pitkä, jolloin faagi-infektioille jää enemmän aikaa.

Välisäiliön pesu tuotannon välissä voisi myös olla yksi mahdollinen ehkäisevä toimenpide faagien lisääntymiselle. Tämä on kylläkin vaikeaa tai lähes mahdotonta toteuttaa jatkuvatoimisessa juustonvalmistusprosessissa, jossa käytetään vain yhtä välisäiliötä. Tällaisen toimenpiteen voisi mahdollistaa kahden välisäiliön käyttö ja tuotannon suunnittelu siten, että välipesulle jäisi riittävästi aikaa. Tämä voisi osaltaan ehkäistä faagien mahdollisesti aiheuttamaa happanemisen heikentymistä. Olisi vähintäänkin kannattavaa tutkia välisäiliön faagipitoisuudet tuotantopäivän aikana. Se voisi kertoa lisää vallitsevasta faagitilanteesta tehtaassa. Kaiken kaikkiaan pelkkä kattiloiden välipesu ei välttämättä estä bakteriofaageja lisääntymästä, jos infektio on jo tapahtunut.

Aikaisemmin käsiteltiin esikypsytyksajan muuttamista, tässä tapauksessa pidentämistä, mahdollisena toimenpiteenä kompensoimaan aktiivisuudeltaan heikomman hapatteen toimintaa. Faageista puhuttaessa tätä menetelmää voidaan käyttää ehkäisemään niiden toimintaa, mutta toimenpiteiden tulee olla täysin päinvastaiset eli esikypsytyksaika lyhentämällä tai poistamalla kokonaan voidaan vaikuttaa bakteriofaagien lisääntymiseen. Tämä perustuu teoriaosassa käsitellyyn saostuman vaikutukseen ehkäistä faagien liikkumista ja siten suojata hapatebakteereja faagi-infektioilta. Kokonaisuudessaan esikypsytyksajalla on merkitystä suuntaan tai toiseen. Faagipuhuttaessa tilanteessa esikypsytyksajan muuttamista voitaisiin käyttää kompensoimaan aktiivisuudeltaan heikkoa hapatetta, kun taas bakteriofaagien läsnä ollessa esikypsytyksaika tulisi pitää lyhyenä tai ainakin normaalina. On tietenkin tilanteesta riippuvainen kumman vaikutus on voimakkaampi, ja kumman avulla saavutetaan suurempi hyöty. Bakteriofaagien ei kuitenkaan missään tapauksessa saa antaa ottaa valtaa tuotannossa.

Faagiongelmien ilmettyä, ilman tehokkaita ehkäisykeinoja saman faagiherkkyuden omaavan hapatteen käyttö voi aiheuttaa faagitason nousun tehtaassa, jolloin happaneminen häiriintyy. Tämän osalta faagipitoisuuksien nousua voidaan ehkäistä hapatteiden vuorottelulla. Hapatteiden vuorottelu olisi kannattavaa, jos testattu varahapate on kaikin puolin soveltuva prosessiin.

Varahapatteen testaaminen onnistui halutulla tavalla. Tulosten perusteella varahapatetta voi kokeilla tuotannossa, ja hapatteen tulisi toimia kutakuinkin samalla tavalla kun käytössä oleva päähapate.



Varahapanteelle ja päähapanteelle suoritettujen faagitestien perusteella voidaan päätellä, että kyseisten hapanteiden faagiherkkydet eroavat toisistaan, toisin sanoen hapanteet ovat resistenttejä eri faagikannoille. Tämä on erittäin hyvä asia siinä mielessä, että näitä kahta hapatetta voitaisiin käyttää tuotannossa vuorotellen, jolloin välttyttäisiin yhden ainoan hapanteen käytöltä ja sen myötä ehkäistäisiin faagitason nousu haitalliselle tasolle.

Mikäli testattu varahapate muilta ominaisuuksiltaan sopii Oltermanni-juuston valmistukseen, olisi kaikin puolin järkevää ottaa käyttöön kahden eri faagiherkkyuden omaavan hapanteen kierrättäminen tuotannossa eli nykyistä päähapatetta ja testattua varahapatetta voisi siis mahdollisesti käyttää hapanteiden vuorotteluun.

## LÄHTEET

- Bylund, G. 2003. Dairy processing handbook. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Champagne, C. P., Lange, M., Blais, A. & Goulet, J. 1992. Hapatteen aktiivisuuteen faagien lisäksi mahdollisesti vaikuttavia tekijöitä. Suom. Kivelä T. Food Research international.
- Eck, A. 1987. Cheesemaking, Science and Technology. New York: Lavoisier Publishing Inc.
- Fox, P. F., Fuquay, J. W. & Roginski, H. 2002. Encyclopedia of Dairy Sciences. Irlanti.
- Fox, P. F. 1993. Cheese: chemistry, physics and microbiology Vol. 1 General Aspects. Lontoo: Chapman & Hall.
- Hutkins RW. 2001. Metabolism of Starter Cultures. Teoksessa Marth, EH, Steele JL, (toim.) Applied Dairy microbiology. 2. p. Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker Inc.
- Kammerlehner, J. 1986. Juustonvalmistusteknologia. Suom. Kivelä T. & Vihma R. Helsinki: Valio Oy.
- Kristensen, B. J.M. 1999. Cheese Technology – A Northern European Approach. Aarhus: International Dairy Books.
- Kärki M. 2007. Juustonvalmistuksen prosessiosaaminen. Meijeriteollisuuden ammattitutkinto. Opintomateriaali.
- Kärki M. 2010. Laktokokkihapatteet. Luentosarja.
- Leporanta, K., Huuonen, J., Lampi, M., Kärki, M., Manninen, R. & Saxelin, M. 1989. Hapatekirja. Valio Oy.
- Manninen R. 2008a. Hapatehäiriöt. Hapateteknologia-opintojakson opintomateriaali. Hämeen ammattikorkeakoulu.
- Manninen R. 2008b. Bakteriofaagit. Hapateteknologia-opintojakson opintomateriaali. Hämeen ammattikorkeakoulu.
- Mullan, W.M.A. 2003. Bacteriophage control in cheese manufacture - Conclusions. Viitattu 2.3.2011.  
<http://www.dairyscience.info/bacteriophage-control.html?start=8>
- Salkinoja-Salonen M. Mikrobiologian perusteita, mikrobiologian julkaisu ja 49/2001. Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos, Helsingin yliopisto. Gummerus Kirjapaino Oy, Jyväskylä 2002.

Tapaila, M. 2005. Juustot ja jauheet. Teoksessa Saarela. A-M., Määttä S., Hyvönen P. & von Wright A. (toim.) Elintarvikeprosessit. Kuopio: Savonia-ammattikorkeakoulu, 39–55.

Tapaila, M. 2010a. Lisäykset. Juustontuotanto-opintojakson verkkoaineisto. Hämeen ammattikorkeakoulu, Moodle. Viitattu 26.1.2010. <https://moodle2.hamk.fi>

Tapaila, M. 2010b. ROVin hallinta. Juustontuotanto-opintojakson verkkoaineisto. Hämeen ammattikorkeakoulu, Moodle. Viitattu 26.1.2010. <https://moodle2.hamk.fi>

Tapaila, M. 2010c. Juuston happanemisen perusteet. Juustontuotanto-opintojakson verkkoaineisto. Hämeen ammattikorkeakoulu, Moodle. Viitattu 26.1.2010. <https://moodle2.hamk.fi>

Tapaila, M. 2010d. Juuston suolaus. Juustontuotanto-opintojakson verkkoaineisto. Hämeen ammattikorkeakoulu, Moodle. Viitattu 26.1.2010. <https://moodle2.hamk.fi>

Tapaila, M. 2010e. Prosessin hallinta – pH:n ja vesipitoisuuden säätö. Juustontuotanto-opintojakson verkkoaineisto. Hämeen ammattikorkeakoulu, Moodle. Viitattu 26.1.2010. <https://moodle2.hamk.fi>

Väistö, A. 2010. Viilin varahapatteen kehittäminen. Helsingin Yliopisto. Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos. Maisterin tutkielma.

## AKTIIVIISUUSKOE HAPATTEESTA

### 1 OHJEEN TARKOITUS

Tarkoituksena on tehdä aktiivisuuskoe jokaisesta uudesta hapate-erästä. Aktiivisuuskokeen avulla pyritään ennakoimaan hapatteen toimivuuteen prosessissa, ja pystytään tarvittaessa reagoimaan (esim. lisäämällä hapatemäärää ~1 %) juuston happanemiseen.

### 2 OHJEEN SOVELTAMISALUE

Ohjetta sovelletaan Valio Oy:n Haapaveden tuotantolaitoksessa.

### 3 VASTUUT

Ohjeen ylläpidosta ja kehittämisestä vastaa Valio Oy, Haapavesi

### 4 MENETTELY

Aktiivisuuskoe perustuu pH:n mittaukseen, hapatteella kypsytetystä maitonäytteestä. Kokeen tulos on pH-arvojen (alku ja loppu) erotus, jonka tulisi viiden tunnin kuluttua olla  $\geq 0,70$

### 5 TARVITTAVAT VÄLINEET

- Vesihaude (30 °C)
- Vaaka (0,00g)
- Lämpömittari
- pH-mittari
- Koeputkiteline tai alusta näytekapseleille
- Näytekapseleita (30 ml)
- Pasteur-pipettejä (kertakäyttöpipettejä)
- Automaatti pipetti (10 ml)
  - kärkiä 10 ml
- Muovipulloja (250 ml)
  - autoklavoitua ennastemaitoa (laboratorio tekee valmiiksi)
- Ajastin kello

### 6 SUORITUS

1. Tuoreesta, jäädytetystä hapatteesta otetaan aseptisesti hapatenäyte (30 ml) steriiliin pikariin
2. Aktiivisuusnäyte valmistetaan lisäämällä kertakäyttöpipetillä 1 g hapatetta (1 %) autoklavoituun ennastemaitoon (100 ml), hapatemäärän mittaamiseen käytetään vaakaa
3. Näyte sekoitetaan hyvin
4. Sekoitettua näytettä annostellaan 10 ml kahteen (2) näytekapseliin
5. Kapselit asetetaan +30 °C:een vesihauteeseen viideksi (5) tunniksi
6. Näytteestä mitataan alku pH (vasta sen jälkeen kun näytettä on pipe-toitu näytepikeihin)
7. Viiden tunnin jälkeen näytepikeista mitataan aktiivisuus pH

Aktiivisuuskokeen tulokset kirjataan ylös.

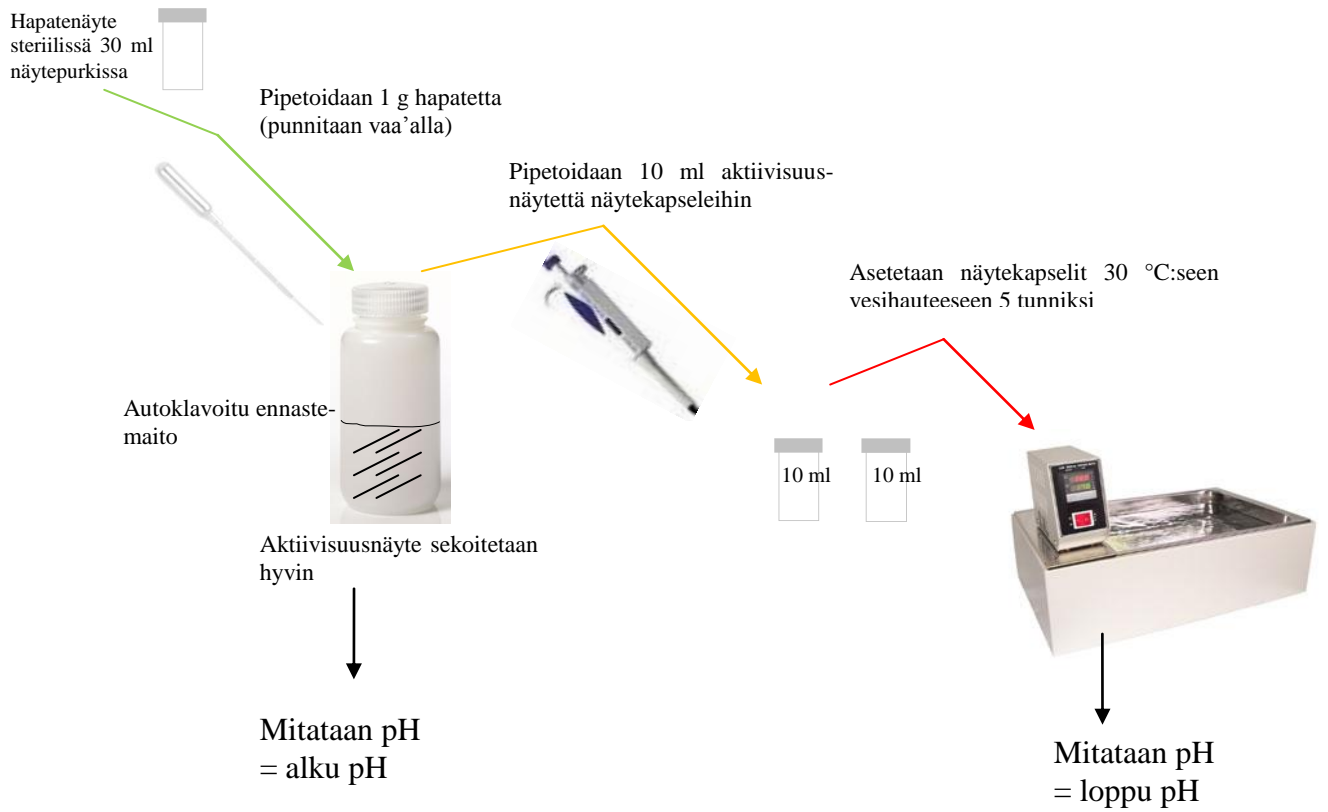
Kokeen suorittamisessa on huolehdittava erityisesti hygieniasta, ja kaikki näytteenotot ja siirrostukset on suoritettava aseptisesti. Koe on erittäin herkkä kontaminaatioille, ja pienikin virhe käsittelyssä voi antaa virheellisiä tuloksia. pH-mittarin toiminta ja kalibrointi on myös varmistettava, ohjeiden mukaisesti, ennen mittauksia.

### 7 TULKINTA

Aktiivisuuskokeessa mitataan alku pH ja loppu pH. Näiden arvojen erotus on kokeen tulos, jonka perusteella reagoidaan hapatteen toimivuuteen prosessissa.

<b>Tulos</b>	<b>Tulkinta</b>	<b>Toimenpide</b>
0,7 tai alle 1 %:iin	Hapatteen aktiivisuus on heikko	Nosta hapatemäärä
0,7 - 0,9	Hapatteen aktiivisuus kohtalainen	Tarkkaile lasku- roja ja juuston pH:ta
0,9 tai yli	Hapatteen aktiivisuus hyvä	Ei toimenpiteitä

# Hapatteen ja hapatehäiriöiden vaikutus Oltermanni-juuston valmistuksessa



## **FAAGIMÄÄRITYS (PERUSTUU PH:N MUUTOKSEEN)**

### **0 VERSIOMUUTOKSEN PERUSTE**

Menetelmäohjeen muutokset ja tarkennukset (mm. kasvualusta, isäntäviljelmä ja aktiivisuuskoe).

### **1 OHJEEN TARKOITUS**

Ohjeen tarkoituksena on luoda yhtenäinen toimintatapa faagimäärittysten tekoa varten.

### **2 OHJEEN SOVELTAMISALUE**

Menetelmä soveltuu faagien määrittämiseen hapatteista, heranäytteistä, tuotteista ja tuotantonäytteistä.

### **3 VIITTEET**

### **4 VASTUUT**

### **5 MENETTELY**

#### **Määritelmä**

Faagit ovat bakteerien viruksia, jotka aiheuttavat happanemishäiriöitä lisääntymällä voimakkaasti ja tuhoamalla hapatteessa olevia isäntäbakteereita. Tällöin hapontuotto vähenee tai loppuu kokonaan. Faagit ovat hyvin vaativia (spesifisiä) isäntäbakteeriensa suhteen ja lisääntyvät vain elävissä bakteerisoluisissa.

#### **Periaate**

Testissä mitataan haponmuodostuksen vähenemistä faagi-infektiossa kontrolliin verrattuna.

#### **Kasvualusta ja laitteet**

Kasvualustana käytetään steriloitua rasvatonta maitojauhemaitoa (100 g + 900 ml tislattua tai deionisoitua vettä). Maito steriloidaan autoklavoimalla (10 min / 120±1 °C tai 15 min / 115±1 °C).

**Huom! Laktoositon/HYLA- maitojauhe ei sovellu testin tekoon.**

Ennen mittauksia pH-mittarin toiminta ja kalibrointi varmistetaan mittarin ohjeen mukaan.

### Isäntäviljelmän valmistus

Isäntäviljelämä laimennetaan (DVS/DVI-hapatteet ja tarvittaessa maitoviljelmät) tai kasvatetaan (Redi-set-hapatteet ja Valion hapatetuotannon hapatejauheet) alkuperäisestä hapatteesta. **Tuotannosta tulevaa käyttöhapatetta ei koskaan käytetä isäntäviljelmänä.**

	Maitoviljelmät (esim. T-101)	Jäädetyt hapatteet (esim. DVS/DVI-rakeet)	Kylmäkuivatut ja muut kasvatettavat hapatteet (esim. Redi-set)
laimennus	Tarvittaessa. Jos hapate on esim. erittäin paksua tai venyvää, se laimennetaan punnitsemalla 10 g 90 ml:aan <b>steriloitua rasvatonta maitojauhemaitoa.</b> Huom. Katso annostelu kaaviosta	10 g:sta sulatettuja ja sekoitettuja rakeita otetaan <b>1 g</b> 99 ml:aan <b>steriloitua rasvatonta maitojauhemaitoa.</b> Sekoitetaan hyvin	1 g sekoitettua hapatejauhetta tai -raetta lisätään 99 ml:aan <b>steriloitua rasvatonta maitojauhemaitoa.</b> Sekoitetaan hyvin
kasvatus	ei	ei	<b>kyllä, tehtaan reseptin mukaan.</b>

### Näytteen esikäsittely

**Näytteen esikäsittely tehdään heti näytteenoton jälkeen** (koskee myös T&K:hon lähetettäviä näytteitä).

Esikäsittely on kaksivaiheinen ja sen tarkoituksena on poistaa näytteestä proteiini ja bakteerit. Esikäsittelyn jälkeen näytteen tulee olla kirkas. **Riittävä suodostilavuus on muutama millilitra.**

- 1) Näyte (käyttöhapate ym. sakeat näytteet) esisuodatetaan kovan suodatinpaperin läpi tai sentrifugoidaan noin 5000 rpm 10–15 min. Maitonäytteet saostetaan huoneenlämpöisinä muutamalla tipalla väkevää maitohappoa pH-lukemaan n. 4,5 ennen sentrifugointia. Jos näyte on kirkas (hera), sitä ei tarvitse välttämättä sentrifugoida tai esisuodattaa.
- 2) Kaikki näytteet steriilisuodatetaan (huokoskoko 0,45 µm).



## Suoritus

Esikäsitellystä näytteestä tehdään laimennokset steriloituun rasvattomaan maitojauhemaitoon (10 ml) oheisen kaavion mukaisesti. B-0-putkeen lisätään 0,1 ml (1 %) steriilisuodatettua näytettä. B-0-putkesta tehdään edelleen laimennokset  $10^{-2}$  ja  $10^{-4}$  (B-2 ja B-4). Jos epäillään, että näyte sisältää muita hapatetta inhiboivia tekijöitä (esim. antibioottia), osa näytteestä (1-5 ml) kuumennetaan 5 min 90 °C:ssa. Kuumennettua näytettä lisätään C-putkeen 0,1 ml (1 %).

A-putkia, jotka toimivat testissä kontrolleina, tehdään 2 kappaletta ja niihin ei lisätä näytettä.

Lopuksi jokaiseen putkeen lisätään isäntäviljelmää 0,1 ml (1 %).

Putkia, joissa on mesofiilihapate, inkuboidaan  $30 \pm 1$  °C:ssa ja putkia, joissa on termofiilihapate  $42 \pm 1$  °C:ssa, kunnes kontrolliputken (A) pH on 5,0–5,5. Kustakin putkesta mitataan pH vain kerran.

## Huomautus

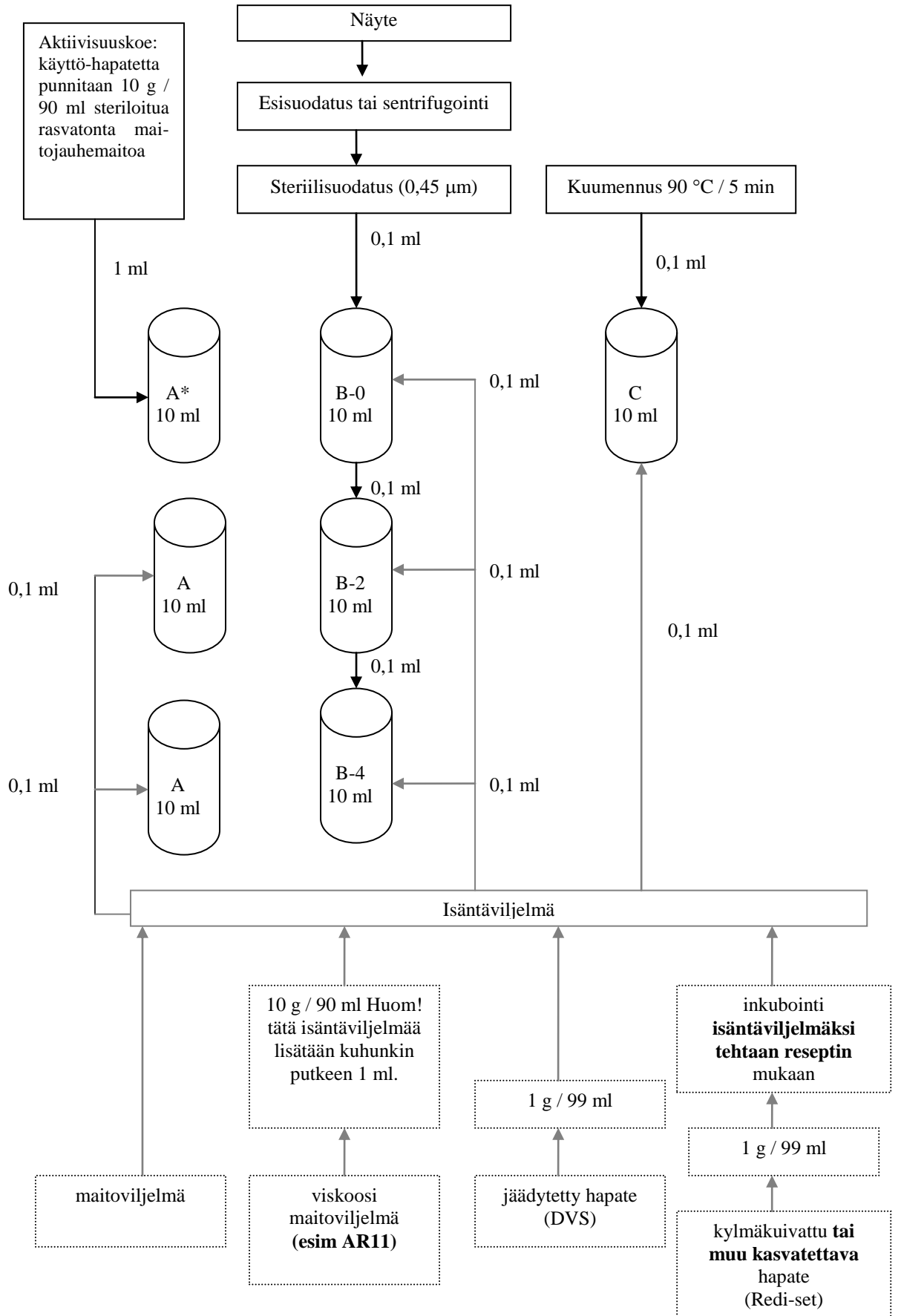
Jos inkubointia jatketaan pidempään, faagikontaminaatio voi peittyä erityisesti monikantasekahapatteita käytettäessä. Faagiresistentit kannat estävät tällöin pH-eron syntymisen. **pH mitataan välittömästi inkuboinnin jälkeen.**

## Aktiivisuuskoe

Aktiivisuuskokeen avulla seurataan tuotannossa käytössä olevan hapatteen aktiivisuutta. Aktiivisuuskokeessa hapatteen kasvatusaika on vakioitu.

**Aktiivisuuskoe tehdään vain tuotannosta tulevalle käyttöhapatenäytteelle.** DVS/DVI-hapatteille ja maitoviljelmille aktiivisuustestiä ei tehdä. Aktiivisuuskokeeseen tulevaa käyttöhapatenäytettä **ei esikäsitellä.** Aktiivisuuskoeita varten punnitaan käyttöhapatenäytettä 10 g/90 ml steriloitua rasvatonta maitojauhemaitoa, josta pipetoidaan edelleen 1 ml/10 ml steriloitua rasvatonta maitojauhemaitoa. Tämä on A\*-putki. Mesofiilihapatenäytettä inkuboidaan 5 h/30 ± 1 °C ja termofiilihapatenäytettä inkuboidaan 3 h/42 ± 1 °C. pH mitataan A\*-putkesta heti inkuboinnin jälkeen.

# Hapatteen ja hapatehäiriöiden vaikutus Oltermanni-juuston valmistuksessa



Taulukkomalli pH-tulosten kirjaamiseksi.

pvm	näyte	hapate	eränro	A	A * 3 h/5 h	B-0	B-2	B-4	C	erotus B-0 -A	erotus B-2 -A	erotus B-4 -A	erotus C-A

\* Hapatteen aktiivisuus. Mesofiilihapatteista pH mitataan 5 tunnin ja termofiilihapatteista 3 tunnin kuluttua.

### Tulosten tulkinta

- Jos kuumentamatonta näytettä sisältävän viljelmän (B-0) pH on kontrolliin (A) verrattuna  $\geq 0,1$  pH- yksikköä korkeampi, faagi-infektio on mahdollinen.
- Yleensä faagi ei aiheuta välittömiä ongelmia tuotannossa, ellei sitä löydetä  $10^{-4}$ -laimennoksesta (B-4).
- Jos kuumennettua näytettä sisältävän viljelmän (C) pH on korkeampi kuin kontrolliviljelmän (A), näytteessä voi olla muita inhiboivia tekijöitä, esim. antibioottia.
- Jos näyte tulosten perusteella aiheuttaa happanemisen estoa, tehdään seuraavalla kerralla rinnakkaisanalyysi tuloksen luotettavuuden varmistamiseksi.
- A-putkien tulosten avulla seurataan hapatteen aktiivisuutta.

### Näytteiden ja välineiden jälkikäsitely

Faagien leviämisen estämiseksi näytteiden kanssa kosketuksiin joutuneet välineet autoklavoidaan ennen pesua. Myös näytepullot näytteineen autoklavoidaan, jos ne eivät ole kertakäyttöisiä. Jätepusseja suljetaan huolellisesti ja hävitetään paikallisen jäteohjeistuksen mukaisesti. Elektrodi huuhdotaan ensin vedellä ja pidetään sitten tunnin ajan n. 70 % alkoholissa tai 15 min 1 % Virkon S-liuoksessa.

### Kirjallisuus

IDF Bulletin no 263/1991