



Rapport

RK fremstillingsteknologier

Holdbarhed af kogte plantepølser/pålæg samt ikke-kogt plantefars/-pølse

Anette Granly Koch

31. marts 2023
Proj.nr. 2008875-02-03

Version 1
AGLK/MT/FRL

Formål	Sammendrag <p>Formålet med forsøgene var at undersøge holdbarheden af plantebaseret pålæg samt ferske plantepølser. Holdbarhed af plantebaseret pålæg blev testet dels ved at pøde med en cocktail af <i>Leuconostoc</i>-stammer, dels ved at lagre ikke-podet plantepålæg slicet og pakket i pilot plant. Væksten af <i>Leuconostoc</i> på plantepølser blev sammenlignet med prædikeret vækst (DMRI's <i>Leuconostoc</i>-model).</p> <p>Forsøgene testede følgende:</p> <ul style="list-style-type: none">• Opskalering af recept og proces til brug i pilot plant.• Vækst af <i>Leuconostoc</i>-cocktail (kimtal, gas og sensorik).• Vækst i MA-pakkede produkter slicet i pilot plant (kimtal, sensorik).• Vækst i ikke-varmebehandlet plantefars i tarm.
Vækst af <i>Leuconostoc</i> spp.	Konklusioner <p>Væksten af <i>Leuconostoc</i>-cocktailen er i rimelige overensstemmelse med prædiktionerne foretaget med <i>Leuconostoc</i>-modellen version 1.</p> <p>Resultaterne indikerer, at der ikke vil være forskel på risikoen for pustning grundet produktion af CO₂ ved produktion af plantepølser baseret på planteproteiner i forhold til kødpølser tilsat 1% sukker.</p>
Holdbarhed af slice MA-pakkede plantepølser	<p>De slice plantepølser (pH 6,7; 2% salt/vand og ± 3% Na-laktat) indeholder et kimtal på 2-3 log cfu/g, som sandsynligvis er domineret af <i>Bacillus</i> spp. Under lagring i 40 dage ved 2,5-3°C ses ingen vækst i de MA-pakkede produkter. Under den efterfølgende lagring ved 5°C ses vækst af <i>Lactobacillus</i> og <i>Bacillus</i> i pølseski-verne med 2% salt/vand (6 log cfu/g på dag 105). I pølsen med 2% salt/vand og 3% Na-laktat ses ingen stigning i kimtallet, men den flora, der er i produktet, domineres af <i>Lactobacillus</i> og næsten ingen <i>Bacillus</i> spp. Det indikerer, at <i>Bacillus</i> henfalder i produktet, mens <i>Lactobacillus</i> måske langsomt stiger i antal.</p>
Holdbarhed af vakuumpakkede ferske plantepølser	<p>Under lagring af vakuumpakkede ferske plantepølser ved 2,5-3°C er holdbarheden målt som tiden til 7 log cfu/g. I produktet tilsat 3% Na-laktat lagret ved 2,5-3°C er holdbarheden ca. 12-14 dage længere end i produktet uden Na-laktat. Holdbarhed uden laktat: ca. 12 dage; holdbarhed med laktat: ca. 35 dage. Ingen produkter var sensorisk uacceptable på dag 35. I plantepølse 1 med lav konservering udgør de 3 arter <i>Carnobacterium maltaromaticum</i>, <i>Lactobacillus sakei</i> og <i>Leuconostoc mesenteroides</i> den dominerende flora ved forsøgets afslutning. Derimod bliver kun <i>Lactobacillus sakei</i> dominerende i pølse 2 tilsat 3% Na-laktat.</p>

<i>Formål</i>	<p>Indledning</p> <p>Formålet med forsøgene var at undersøge holdbarheden af plantebaseret pålæg samt ferske plantepølser. Holdbarhed af plantebaseret pålæg blev testet dels ved at pøde med en cocktail af <i>Leuconostoc</i>-stammer, dels ved at lagre ikke-podet plantepålæg slicet og pakket i pilot plant. Væksten af <i>Leuconostoc</i> på plantepølser blev sammenlignet med prædikteret vækst (DMRI's <i>Leuconostoc</i>-model).</p> <p>Forsøgene testede følgende:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Opskalering af recept og proces til brug i pilot plant. • Vækst af <i>Leuconostoc</i>-cocktail (kimal, gas og sensorik). • Vækst i MA-pakkede produkter slicet i pilot plant (kimal, sensorik). • Vækst i ikke-varmebehandlet plantefars i tarm.
<i>Forsøg 1</i>	<p>Fremgangsmåde</p> <p>Skiver af to forskellige plantepølser (pølse 1, pølse 2) blev podet med en cocktail af <i>Leuconostoc</i>. Skiverne blev MA-pakket (30/70 CO₂/N₂) og lagret ved 3°C og 7°C, indtil antallet af <i>Leuconostoc</i> nåede 7-8 log cfu/g. Ved afslutning af hver serie blev der lavet 16S sekventering til karakterisering af den dominerende flora. Se bilag 1, 4 og 5.</p>
<i>Forsøg 2</i>	<p>Plantepølse 1 og 2 (som i forsøg 1) blev slicet i pilot plant, MA-pakket og lagret ved 2,5-3°C i 40 dage og derefter ved 5°C i 65 dage (samlet 105 dages lagring).</p> <p>Der blev løbende udtaget prøver til mikrobiologisk analyse samt sensoriske bedømmelser. Ved forsøgets afslutning blev florasammensætningen i prøver fra hver serie karakteriseret ved brug af 16S sekventering. Se bilag 2, 4, 5 og 7.</p>
<i>Forsøg 3</i>	<p>Den ferske plantefars blev stoppet i tarm, og pølserne blev vakuumpakket og lagret ved 2,5-3°C i 35 dage (9/8-13/9 2022). Under lagringen blev produkterne analyseret for kimal, florasammensætning (16S) samt bedømt sensorisk med fokus på fordærv. Se bilag 3, 4 og 5.</p> <p>For detaljer om gennemførelse – se bilag 1-8 eller plan for forsøget Plan validering leuconostoc model vers 2.docx</p>
<i>Kemi</i>	<p>Resultater</p> <p>De kemiske analyser af plantepølserne er vist i tabel 1. Heraf ses det, at plantepølse 2 ikke er tilsat acetat som planlagt. I stedet var der ved en fejl blevet tilsat ascorbat.</p> <p>Der er således tilsat ca. 1,99% salt/vand i pølse 1 og 1,92% salt/vand i pølse 2. I pølse 2 er desuden tilsat 2,2% L-laktat svarende til 2,8% Na-Laktat.</p> <p>pH i plantepølserne er væsentligt højere end det, der typisk ses for kødbaserede pølser og pålæg, hvor pH ligger omkring 6,0-6,3.</p>

Table 1. Kemiske analyser af plantefarserne (2 prøver pr. batch).

Pølse	Acetat (%)	L-laktat (%)	Salt (%)	Vand (%)	pH	Salt/vand (%)
1-A	0,03	0,02	1,09	54,8	6,6	2,0
1-B	0,03	0,02	1,09	55,0	6,6	2,0
2-A	0,03	2,19	1,04	54,1	6,7	1,9
2-B	0,03	2,20	1,05	54,2	6,7	1,9

Analyseusikkerhed: salt: $\pm 5,4\%$ rel.; vand: $\pm 1,4\%$ rel.

Vækst af *Leuconostoc carnosum* og *L. mesenteroides* (forsøg 1)

Lagrings-
temperaturer

Den registrerede middeltemperatur var $3,1^\circ\text{C} \pm 0,09$ hhv. $6,9^\circ\text{C} \pm 0,15$ og $6,8^\circ\text{C} \pm 0,12$. Det vurderes derfor, at temperaturerne under forsøget har været som planlagt på 3°C og 7°C .

Podcocktail

I podcocktailen indgik 11 forskellige *Leuconostoc*-stammer. Kimtallet for hver stamme var 8,1-8,7 log cfu/ml. Efter blanding og fortynding blev der opnået et kimtal på 4,5 log cfu/ml i podcocktailen.

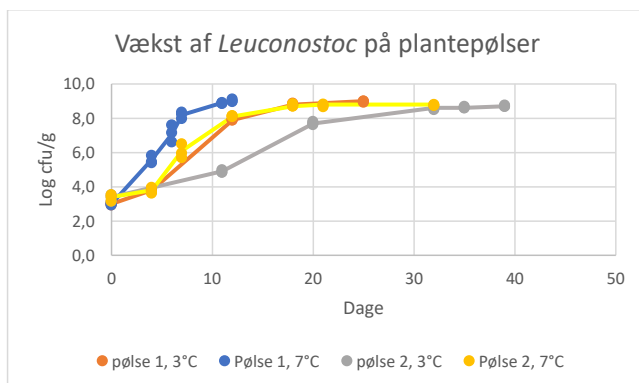
Ikke-podede kon-
troller

På podedagen og ved to tider under lagring ved 7°C blev der udtaget prøver af ikke-podede pølseskiver. Kimtallene i tabel 2 viser, at der var overlevende bakterier i produkterne, som dog ikke voksede under lagring ved 7°C .

Det vurderes derfor, at der ikke har været vækst af andet end de tilsatte *Leuconostoc*-stammer. De analyserede aerobe kimtal skyldes sandsynligvis overlevelse af sporer fx *Bacillus* spp.

Table 2. Kimtal (log cfu/g) i ikke-podede skiver plantepølse.

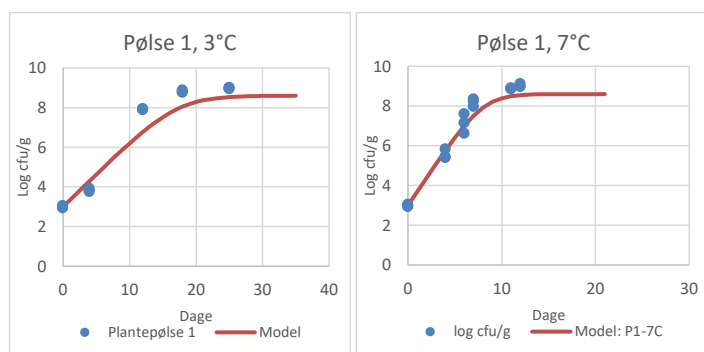
Pølse	Pølse 1 (log cfu/g)	Pølse 2 (log cfu/g)
Dag 0	2,8	3,3-3,2
Dag 7 v/ 7°C	2,2-2,3	-
Dag 32 v/ 7°C	-	1,0-1,0



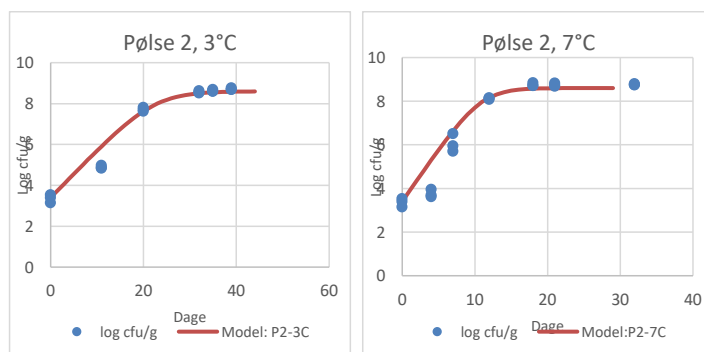
Figur 1. Vækst af cocktail af *L. carnosum* og *L. mesenteroides* på overfladen af MA-pakket plantepålæg lageret ved 3°C og 7°C . Pølse 1: 2% salt/vand; Pølse 2: 2% salt/vand+2,8% Na-laktat.

Sammenligning af vækst i plantepølse med vækst i kødpølse

I figur 2 og 3 er den målte vækst af *Leuconostoc* sammenlignet med den prædikterede vækst fra en præliminær vækstmodel for *Leuconostoc spp.* i kødpålæg. Resultaterne viser, at den målte vækst og den prædikterede vækst er i nogenlunde overensstemmelse. Der er små forskelle sidst i lagringsforløbet for pølse 1, og for pølse 2 er der mindre forskelle i starten af lagringsforløbet.



Figur 2. Sammenligning af målt vækst i plantepølse nr. 1 med prædikteret vækst i model baseret på data fra kødpålægforsøg.



Figur 3. Sammenligning af målt vækst i plantepølse nr. 2 med prædikteret vækst i model baseret på data fra kødpålægforsøg.

Den dominerende flora i begge pølser ved afslutningen af forsøget bestod af *Leuconostoc*. Heat map fra analysen er vist i bilag 6. *L. carnosum* udgør en væsentlig større procentdel af floraen end *L. mesenteroides* i begge pølser og ved begge temperaturer. Der er en tendens til, at jo mere konservering pølsen indeholder, og jo lavere temperaturer, der lagres ved, des mere dominerende bliver *L. carnosum*.

I alle prøver identificeres 5-9% lactobaciller. Der kan ikke redegøres for, hvorfor de findes i prøverne, da der kun er podet med en cocktail af *L. carnosum* og *L. mesenteroides*. Da de kun udgør en mindre del af floraen, vurderes det ikke at have indflydelse for kintallenes anvendelighed til validering af *Leuconostoc*-modellen.

Pølse 1 (ingen laktat) lagret ved 7°C

- *L. carnosum* dominerer med 62-73% af floraen
- *L. mesenteroides* udgør 15-17%
- *Lactobacillus* spp. udgør 5-9%
- I en enkelt prøve påvises 15% *Acinetobacter*

Pølse 1 (ingen laktat) lagret ved 3°C

- *L. carnosum* dominerer med 80% af floraen
- *L. mesenteroides* udgør 8%
- *Lactobacillus* spp. udgør 8-9%
- I en enkelt prøve påvises 15% *Acinetobacter*

Pølse 2 (med laktat) lagret ved 7°C

- *L. carnosum* dominerer med 83-88% af floraen
- *L. mesenteroides* udgør 4-6%
- *Lactobacillus* spp. udgør 5-7%

Pølse 2 (med laktat) lagret ved 3°C

- *L. carnosum* dominerer med 90-92% af floraen
- *L. mesenteroides* udgør <0,1 -0,6%
- *Lactobacillus* spp. udgør 6-7%

For flere detaljer se bilag 6.

Konklusion vækst I pølse 1 med lav konservering er væksten lidt hurtigere ved 3°C, end modellen prædikerer, mens væksten ved 7°C er, som modellen prædikerer.

I pølse 2 med høj konservering er væksten ved 3°C og 7°C lidt langsommere i starten (lidt længere nølefasen), end modellen prædikerer. Det maksimale kimtal nås, som modellen prædikerer.

Det tyder derfor på, at vækst af *Leuconostoc* er ens i pålæg fremstillet med animalske protein og vegetabiliske proteiner.

Produktion af CO₂ Ved hvert prøveudtag blev indholdet af CO₂ i pakkegassen analyseret. Indholdet af CO₂ i forhold til kimtal er vist i figur 4. Heraf ses, at CO₂-indholdet stiger, når kimtallet er over 8-8,5 log cfu/g. I figur 5 ses, at CO₂-indholdet i pakker med kødpålæg (1% sukker) også begynder at stige, når kimtallet er over 8 log cfu/g.

Ved forsøgene er anvendt samme emballage og pakkegas.

Dette indikerer, at der ikke vil være forskel på, hvornår der opstår pustning i pakker med plantepålæg og kødpålæg. Pustning vil først opstå, efter kimtallet overstiger 8 log cfu/g.

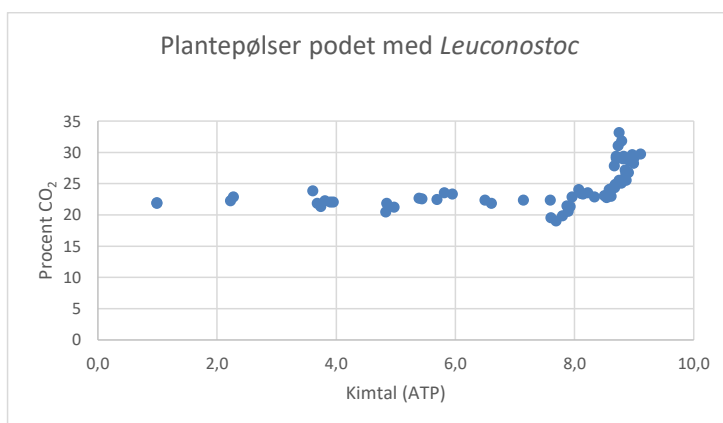
CO₂-produktion kræver dog, at produktet indeholder sukkerarter, som *Leuconostoc* kan nedbryde.

CO₂-ophobningen påvirkes desuden af emballagens tæthed. I en emballage med høj permeabilitet vil der ikke ses en stigning i CO₂. Dette er vist i figur 6, hvor kødpølse er podet med *Leuconostoc* og pakket i tre forskellige emballager (Thapa, 2021).

Under forsøget blev vakuumpakkede pølseskiver observeret for gasdannelse. Resultatet er vist i tabel 3. Visuel gasproduktion kan ses på dag 11 for pølse 1 (8,9 log cfu/g), og for pølse 2 er det på dag 21 (8,7 log cfu/g). Ved disse kimalt ses også en stigning i pakkernes CO₂-indhold.

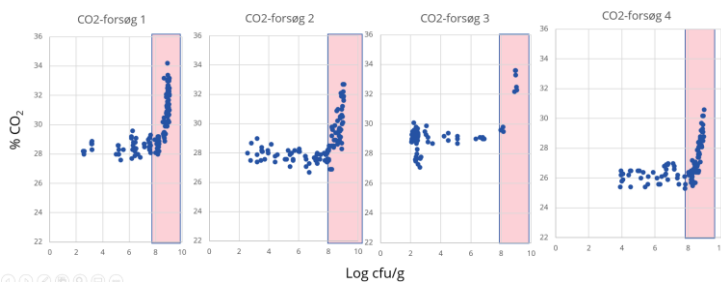
Tabel 3. Luftproduktion i vakuumpakkede prøver opbevaret ved 7°C (ingen data fra 3°C).

Dag	4	6	7	11	12	-
Pølse 1	-	-	-	+	++	-
Dag	4	7	12	18	21	32
Pølse 2	-	-	-	-	+	+++

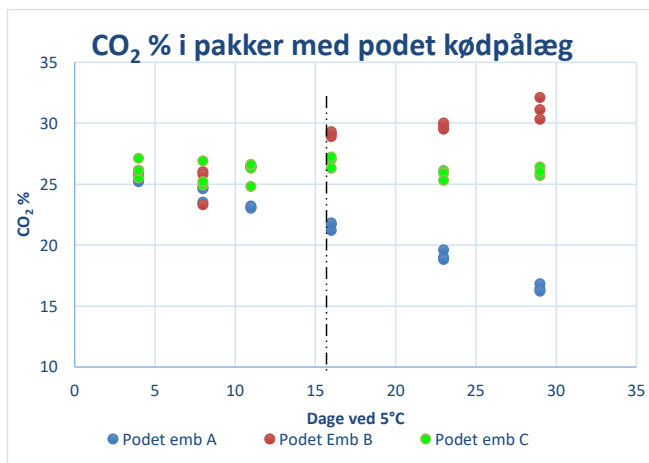


Figur 4. Sammenhæng mellem kimalt og CO₂-koncentrationen i pakkegassen i forsøg, hvor plantepølse med 1% sukker er podet med *Leuconostoc spp.*

Sammenhæng mellem kimalt og CO₂ i pakkegassen (alle prøver; OTR: ca. 2 ml/m²)



Figur 5. Sammenhæng mellem kimalt og CO₂-koncentrationen i pakkegassen i forsøg, hvor kødpølse med 1% sukker er podet med *Leuconostoc spp.*



Figur 6. CO₂-produktion i kødpålæg podet med *Leuconostoc mesenteroides* + *Leuconostoc carnosum*. MA-pakket (30%/70% CO₂/N₂) og lagret ved 5°C i tre forskellige emballagetyper med forskellig OTR: A: 50 ml/m²; B: 2 ml/m²; C: 8 ml/m² (Thapa, 2021).

Konklusion pustning

Resultaterne indikerer, at der ikke vil være forskel på risikoen for pustning grundet produktion af CO₂ ved produktion af plantepølser baseret på planteproteiner i forhold til kødpølser tilsat 1% sukker.

Hvis der ikke er sukker i produkterne, vil CO₂-produktionen være lille, og hvis der anvendes en emballage med høj permeabilitet, vil CO₂ sive ud af pakkerne, og der vil ikke opstå pustning.

Mikrobiel vækst

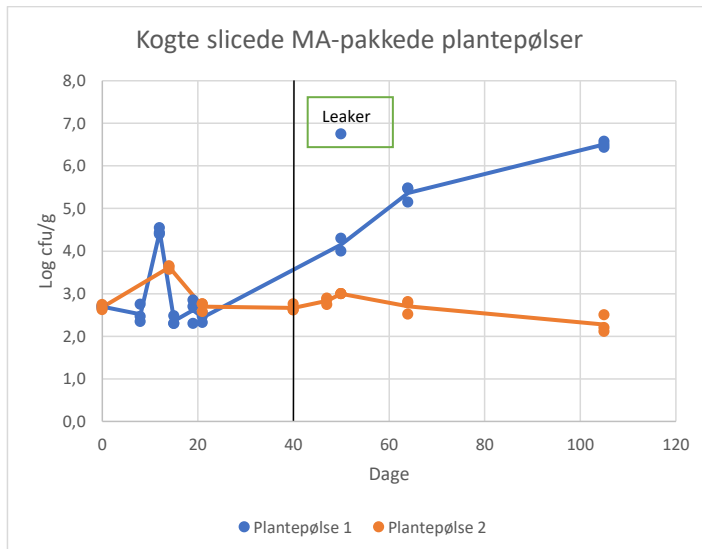
Holdbarhed af slicet MA-pakket plantepålæg (forsøg 2)

Plantepølse 1 og 2 blev slicet i DMRI's pilot plant, MA-pakket (30/70 CO₂/N₂) og lagret ved 2,5-3°C i 40 dage og dernæst ved 5°C i 65 dage (samlet 105 dages lagring). Den mikrobielle vækst er vist i figur 7.

De slicede plantepølser (P1 og P2) havde ved pakning et kimal på 2-3 log cfu/g. Kolonierne på APT-agar var bacillus-lignende.

For pølse 1 (ingen laktat) blev der ikke observeret vækst i pakkerne under opbevaring ved 2,5-3°C. Først efter flytning af pakkerne til 5°C på dag 40 begyndte en systematisk vækst, og antallet steg til 5 log cfu/g på dag 64, og 6,5 log cfu/g på dag 105. På dag 50 ses en pakke med kimal 6 log. Det er en leaker, hvor der blev målt 10% O₂ og 10% CO₂. Det afvigende højere kimal for pakkerne udtaget på dag 12 kan ikke forklares. Efter 105 dages lagring er der synlig vækst på skiverne (se figur 8).

For pølse 2 (3% Na-laktat) forblev kimaltallet på 2-3 log cfu/g under hele opbevaringstiden på 105 dage.



Figur 7. Mikrobiel vækst på slicet MA-pakket plantepålæg opbevaret ved 2,5-3°C i 40 dage efterfulgt af 65 dage ved 5°C. Produkterne er ikke podet med bakterier.



Figur 8. Synlige kolonier på plantepølse 1 efter 105 dages opbevaring ved 2,5-3°C/40 dage og 5°C i 60 dage. Produktet har også fået en kedelig gråbrun farve.

Pakkegassens sammensætning

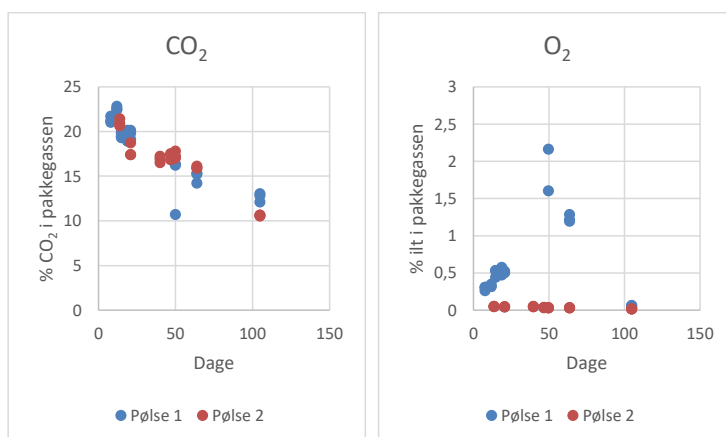
Produkterne er pakket i 30/70 CO₂/N₂. Ændringerne i pakkegassens sammensætninger er vist i figur 9.

Pakker med slicet pølse 1 har en iltrest på 0,3% og et målt CO₂-indhold på 21-23% på dag 8 efter pakning. Under lagring til dag 40 varierer iltresten mellem 0,3% og 0,5%. På dag 50 er iltresten steget til ca. 2%, på dag 64 måles ca. 1% og på dag 105 er indholdet på 0,06%. Der ses således et fald i iltrest fra dag 40 til

dag 105, hvilket indikerer mikrobiel vækst og dermed forbrug af pakkens iltrest. Der er en leaker på dag 50. Det er samme prøve, som har et væsentlig højere kintal end de øvrige analyseret på denne dag.

Pakker med slicet pølse 2 har en iltrest på 0,05% og et målt CO₂-indhold på 21-23% på dag 14 efter pakning. Under lagring til dag 64 varierer iltresten mellem 0,03% og 0,05%. På dag 105 er indholdet 0,012%. Dette indikerer, at der ikke er meget mikrobiel aktivitet i pakkerne.

For både pølse 1 og pølse 2 ses et fald i CO₂-indholdet under lagringen. Dette må tilskrives diffusion ud af pakken.



Figur 9. Gassammensætning i slicede MA-pakkede plantepølser opbevaret ved 2,5-3°C i 40 dage efterfulgt af 65 dage ved 5°C. Produkterne er ikke podet med bakterier. På dag 50 er der en pakke fra pølse 1, som er utæt (leaker), pakken har et O₂-indhold på 8% (ikke vist i figuren). Denne prøve har også et højere kintal.

Florasammensætning

Den dominerende flora i begge typer slicet plantepølse blev analyseret på dag 64. Resultaterne er vist i bilag 7.

I pølse 1 (uden laktat) dominerer *Lactobacillus* og *Bacillus* (5 log cfu/g).

I pølse 2 med laktat dominerer *Lactobacillus* (2-3 log cfu/g, ingen vækst).

Pølse 1 (ingen laktat) lagret ved 2,5-3°C/40 dage + 5°C i 24 dage (5 log cfu/g)

- *Lactobacillus* udgør 35-43% af floraen
- *Bacillus* udgør 37-44% af floraen
- Desuden påvises *Planococcus*, *Paenibacillus*, *Paenisporosarcina* og *Streptococcus*.

På artsniveau kan der for *Lactobacillus* være tale om *Lb. cripatus* og *Lb. frumenti*.

På artsniveau kan der for *Bacillus* være tale om *B. muralis* og *B. simplex*.

Pølse 2 (med laktat) lagret ved 2,5-3°C/40 dage + 5°C i 24 dage

- *Lactobacillus* udgør 79-81% af floraen
- Desuden påvises *Lactococcer*, *Streptococcer*, *Geobacillus*, *Pantoo* og *Weissella* i mængden 1-2%.
På artsniveau kan der for *Lactobacillus* være tale om *Lb. cripatus* (53-55%) og *Lb. frumenti* (25-27%). Resultatet skal tages med forbehold, da kimtallet ikke er mere end 2-3 log cfu/g

Efter samlet 105 dages opbevaring er den dominerende bakterieflora (data er vist i bilag 7):

- Pølse 1 (uden laktat): *Bacillus* (61-67%) efterfulgt af *Lactobacillus* (16-23%) (6 log cfu/g)
På artsniveau kan der være tale om *Bacillus simplex* (kan isoleres fra jord) samt lactobacillerne *L. helveticus*, og *L. frumenti*.
- Pølse 2 (med laktat): *Lactobacillus* (81-84%) (2-3 log cfu/g)
På artsniveau kan der være tale om lactobacillerne *L. helveticus* (55%) og *L. frumenti* (26-28%). Resultatet skal tages med forbehold, da kimtallet ikke er mere end 2-3 log cfu/g.

Konklusion florasammensætning

Karakteriseringen af florasammensætning viser, at det slicede plantepålæg med lav konservering (ingen laktat) er domineret af *Lactobacillus* og *Bacillus* efter 64 dages lagring (kimal 5 log cfu/g). Det viser, at både *Bacillus* og *Lactobacillus* kan vokse i produktet, når det opbevares ved 5°C. *Bacillus* er sandsynligvis sporer, som har overlevet varmebehandlingen, mens *Lactobacillus* er tilført ved slicening og pakning. Efter 105 dage er florasammensætningen i pølse 1 domineret af *Bacillus* efterfulgt af *Lactobacillus*. I pølse 2 er *Lactobacillus* dominerende. Dette skal dog tages med forbehold, da kimtallet ikke er højere end 2-3 log cfu/g.

Når mængden af konservering øges ved tilsætning af 2% Na-laktat ses ingen vækst, og floraen er domineret *Lactobacillus*. Det er ikke muligt at konkludere, om der har været vækst af *Lactobacillus*, og at den øgede mængde konservering har hindret vækst af *Bacillus* i produktet, eller om der fra start primært har været *Lactobacillus*. Identifikationerne med 16S sekventering skal også tages med forbehold, da det analyserede kimal er lavt.

En hypotese er dog, at der i den kogte kødpølse primært har været overlevende bacillus-sporer på dag 1 (koloniernes udseende på agaren var bacillus-lignende). Under lagringen er disse henfaldet/ikke vokset, hvorimod nogle få lactobaciller fra sliceningen af produktet er steget 2-3 log i antal (svagt fald i iltrest), så de er blevet dominerende i antal i forhold til *Bacillus*. Hypotesen er derfor, at i pølse 2 tilsat 3% Na-laktat kan *Bacillus* ikke opformeres, hvorimod der vil være langsom vækst af *Lactobacillus*. Dette stemmer overens med forsøg 1, hvor der ses et henfald af kimtallet i ikke-podede skiver af pølse 2 fra 3 log cfu/g til 1 log cfu/g.

Sensorisk vurdering Under lagring blev de slicede pølsers udseende og lugt bedømt på en skala fra 1-4. Resultaterne er vist i figur 10.

På dag 64 er udseende og lugt af begge pølser helt acceptable med karakteren 1. Dog skal det bemærkes, at begge produkterne har en lidt kedelig rødbrun farve og paté-lignende udseende fra start af forsøget.

Efter 105 dages opbevaring er lugten af pølse 1 fortsat acceptabel med karakterer på 1-2, dog med bemærkninger som gammel, pap, hengemt. Derimod er farven af produktet blevet kedelig med kommentarer som grå, brun gul, grønlig, kedelig og mange karakterer på 3 (uacceptabelt).

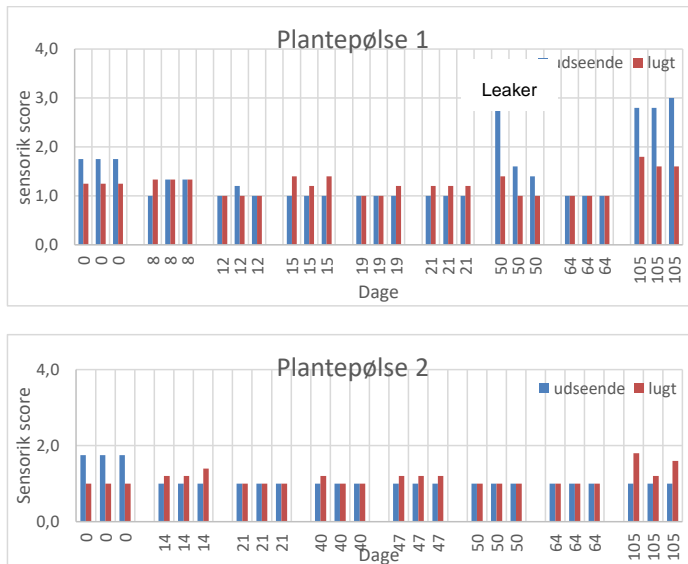
Efter 105 dages opbevaring er lugt og udseende af pølse 2 fortsat acceptabel med karakterer på 1-2.

Leakeren fra pølse 1 (dag 50) har et meget afvigende udseende. Dette hænger fint sammen med mikrobiel vækst.

De sensoriske vurderinger stemmer overens med, at den mikrobielle vækst i produkterne er begrænset med et slutkimal på kun 6 log cfu/g i pølse 1 og 2-3 log i pølse 2.

Pølse 1 uden laktat har en visuel dårligere holdbarhed af farven end pølse 2 tilsat laktat. Det er uvist, hvad der er årsagen. Nogle arbejdshypoteser kan være:

- Kan laktat beskytte mod farveoxidationer?
- Kan den bakterielle vækst producere metabolitter fx H_2O_2 eller andet, som kan nedbryde farven?
- Kan det være det reducerede iltindhold pga. mikrobiel vækst?
- Andet?

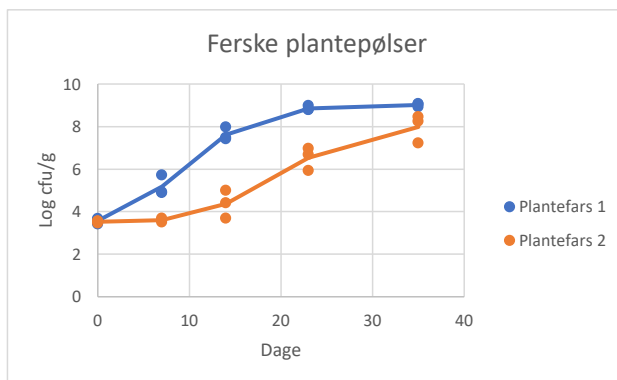


Figur 10. Ændring i udseende og lugt (fordærv) i MA-pakket slicede plantepølser lagret ved 2,5-3°C i 40 dage og dernæst 5°C i 65 dage (samlet 105 dage). 1 = frisk, 2 = lidt ændret men OK, 3 = tydelig ændret, ikke OK, 4 = fordærvet, ikke OK. Kommentarer til udseende af leaker fra pølse 1, dag 50: brun pølse, slimklat, synlig vækst, grøn.

Mikrobiologi

Holdbarhed af ferske plantepølser (forsøg 3)

De ferske plantepølser blev opbevaret ved 2,5-3°C. Den mikrobielle udvikling er vist i figur 11. Heraf ses, at tilsætning af 3% Na-laktat giver en væsentlig bedre holdbarhed. Tiden til det maksimale kimaltal på 9 log cfu/g er ca. 23 dage for pølsen uden laktat og lidt mere end 35 dage for pølsen med laktat. Tiden til 7 log cfu/g er på ca. 12 hhv. 26 dage. Det giver en øget mikrobiologisk holdbarhed på ca. 12-14 dage at tilsætte 3% Na-laktat til vakuumpakkede ferske plantepølser lagret ved 2,5-3°C.



Figur 11. Mikrobiel vækst i ferske plantepølser opbevaret i vakuum ved 2,5-3°C i 35 dage.

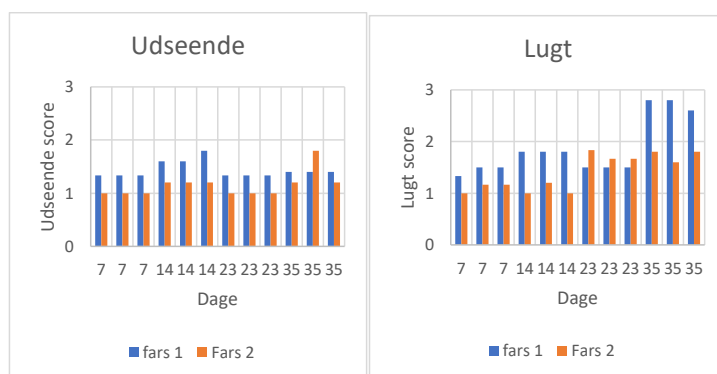
Sensorik

Under lagring blev pølsernes udseende og lugt bedømt på en skala fra 1-4. Resultaterne er vist i figur 12. Heraf ses, at udseendet af de 2 slags plantepølser ikke bliver uacceptabelt under 35 dages lagring. For lugtbedømmelserne ses, at fars 2 tilsat 3% Na-laktat fortsat er acceptabel efter 35 dages lagring. Derimod har fars 1 (uden laktat) ikke længere en acceptabel lugt.

For pølse 1 kan det sensoriske fordærv (lugt) erkendes på dag 35. Det er 12 dage efter, at det maksimale kimtallet på 9 log cfu/g blev nået.

For pølse 2 er kimtallet tæt på det maksimale på dag 35, og produktet er ikke sensorisk fordærvet.

Årsagen til så høje kimtallet uden fordærv kan måske findes i produkternes florasammensætning (se nedenfor). En anden mulig forklaring er, at den kraftige lugt af krydderier kan have maskeret dårlig lugt.



Figur 12. Ændring i udseende og lugt (fordærv) i ferske vakuumpakkede plantepølser lagret ved 2,5-3°C i 35 dage. 1 = frisk, 2 = lidt ændret, men OK, 3 = tydelig ændret, ikke OK, 4 = fordærvet, ikke OK.

Florasammensætning

Den dominerende flora i begge typer ferske plantepølser blev analyseret ved hvert prøveudtag dvs. på dag 0, 7, 14, 23 og 35. Resultaterne er vist i bilag 8.

Pølse 1 domineres af *Lactobacillus* og *Carnobacterium*. Ved start udgør *Lactobacillus* 76% af floraen, men andelen falder under lagring til mellem 3 og 65%. I stedet stiger forekomsten af *Carnobacterium* fra <0,1% på dag 0 til mellem 33% og 73%. Når andelen af *Lactobacillus* falder, stiger andelen af *Carnobacterium*. De to konkurrerer om at være dominerende, og det varierer mellem pakker ved de forskellige udtag. Til sidst bliver *Leuconostoc* også en del af den dominerende flora. Så i pakkerne med 5 log cfu/g ses en blanding af *Lactobacillus*, *Carnobacterium* og *Leuconostoc*, som til sammen bliver afgørende for den mikrobielle holdbarhed. På dag 0 findes også lidt (2-5%) *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pantoea*, *Geobacillus* og *Weissella*. Men disse slægter udgør en faldende andel under lagringen ved 2,5-3°C og har ingen betydning for den mikrobielle holdbarhed.

På artsniveau er det *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lactobacillus sakei* og *Leuconostoc mesenteroides*, der bliver dominerende. *Lb. crispatus* og *Lb. frumenti* er de dominerende lactobaciller på dag 0, men de bliver overvokset af de andre arter.

Pølse 2 domineres af *Lactobacillus* under hele lagring. På dag 0 udgør slægten 72-77% af den dominerende flora, og på dag 35 udgør slægten 91-98%. På dag 0 findes også lidt (2-5%) *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pantoea*, *Geobacillus* og *Weissella*. Disse slægter udgør en faldende andel under lagringen ved 2,5-3°C og har ingen betydning for den mikrobielle holdbarhed.

De dominerende arter blandt *Lactobacillus* ændres under lagringen. Ved forsøgets start udgjorde *Lb. crispatus* 41-50% af floraen. Dette falder til 0,6-8% ved lagringens afslutning. *Lb. frumenti* udgør 26-34% ved lagringens start, men kun 0,3-3% ved lagringens afslutning.

Konklusion flora-sammensætning

I plantepølse 1 med lav konservering udgør de 3 arter *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lactobacillus sakei* og *Leuconostoc mesenteroides* den dominerende flora ved forsøgets afslutning. Derimod bliver kun *Lactobacillus sakei* dominerende i pølse 2 tilsat 3% Na-laktat.

Konklusion

Vækst af *Leuconostoc* spp.

Væksten af *Leuconostoc*-cocktailen er i rimelige overensstemmelse med prædiktio-
nerne foretaget med *Leuconostoc*-modellen version 1.

Resultaterne indikerer, at der ikke vil være forskel på risikoen for pustning grund-
det produktion af CO₂ ved produktion af plantepølser baseret på planteprotei-
ner i forhold til kødpølser tilsat 1% sukker.

Holdbarhed af slicede MA-pakkede plantepølser

De slicede plantepølser (pH 6,7; 2% salt/vand og ± 3% Na-laktat) indeholder et
kimtall på 2-3 log cfu/g, som sandsynligvis er domineret af *Bacillus* spp. Under
lagring i 40 dage ved 2,5-3°C ses ingen vækst i de MA-pakkede produkter. Under
den efterfølgende lagring ved 5°C ses vækst af *Lactobacillus* og *Bacillus* i pølser-
skiverne med 2% salt/vand (6 log cfu/g på dag 105). I pølsen med 2% salt/vand og
3% Na-laktat ses ingen stigning i kimtallet, men den flora, der er i produktet, do-
mineres af *Lactobacillus* og næsten ingen *Bacillus* spp. Det indikerer, at *Bacillus*
henfalder i produktet, mens *Lactobacillus* måske langsomt stiger i antal.

Holdbarhed af vakuumpakkede ferske plantepølser

Under lagring af vakuumpakkede ferske plantepølser ved 2,5-3°C er holdbarhe-
den målt som tiden til 7 log cfu/g. I produktet tilsat 3% Na-laktat lagret ved 2,5-
3°C er holdbarheden ca. 12-14 dage længere end i produktet uden Na-laktat.
Holdbarhed uden laktat: ca. 12 dage; holdbarhed med laktat: ca. 35 dage. Ingen
produkter var sensorisk uacceptable på dag 35. I plantepølse 1 med lav konser-
vering udgør de 3 arter *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lactobacillus sakei* og
Leuconostoc mesenteroides den dominerende flora ved forsøgets afslutning. Der-
imod bliver kun *Lactobacillus sakei* dominerende i pølse 2 tilsat 3% Na-laktat.

Litteratur og henvisninger

Forsøgsplan: Y:\Projects\P2009645_SAF 101 Vækstmodel, sa pustning af kodprodukter og sammensat\Fagligt\validering plantepølse RK-forsøg\Plan validering leuconostoc model_vers 2.docx

Data, plan, datablade: Y:\Projects\P2009645_SAF 101 Vækstmodel, sa pustning af kodprodukter og sammensat\Fagligt\validering plantepølse RK-forsøg

Thapa, B. (2021). Test af forskellige emballager samt brug af organiske syrer ved "lavt" pH (vækstdata til model). P2008776.

Forsøg 1 gennemførelse

Konservering af farsler/pølser (podeniveau ca. 2 log cfu/g)

Konservering	Plantepølse 1	Plantepølse 2
Mærkning	P1	P2
pH	Ca. 6-7	Ca. 6-7
Estimeret vand i recept	55-60%	55-60%
Estimeret salt/vand	Ca. 2	Ca. 2
NaCl tilsat (%)	1,08	1,08
Na-laktat (%)	0	3
Na-acetat (%) – udgik ved en fejl	0	0,5

MAP i 30/70 CO₂/N₂.

Udskæring af skiver til podning Steril håndtering af produkter i LAF-bænk: På podedagen afsprittes produkterne med 70% ethanol med en gaze klud og placeres i cleanbænk på afsprittet skærebæret overtrukket med vrangvendt steril pose. Ved al håndtering bæres engangshandsker. Fra begge ender af pølserne afskæres med afsprittet kniv stykker a 3 cm tykkelse regnet fra clipsen. Disse stykker anvendes ikke. Det resterende stykke (uden clipseender) afskindes. Udskilt gelatine (klart exudat) og fedt (hvidt exudat) fjernes fra pølsens overflade.

Der sprittes grundigt af mellem hvert hold, skiftes poser og handsker m.v. Undgå, at pølserne har kontakt til podekulturene. Produkterne skæres i skiver på 1 cm. Der pakkes 1 skive pr. pakke.

Sterilkontrol (podeforsøg med *Leuconostoc*) For hver recept og hver temperatur (4 hold) udføres der sterilkontrol på upodede pakker. Sterilkontrol udføres med 2 pakker pr. udtag ved følgende tidspunkter: Ved pakning og ved det tidspunkt, hvor max kimtal forventes nået (fede tal, tabel 4).

Pakker i alt til sterilkontrol: 4 hold * 2 udtag * 2 pakker = 16 prøver, men kun 8 pakker skal pakkes, da de første er dag-0-prøver.

Prøver, der udtages på dag 0, behøver ikke at blive MA-pakket, men kan analyseres, når alle skiver er podet.

Diameter 1 skive pølse (diameter på tarm 5,5-6 cm) har et overfladeareal ($A=\pi*r^2$) på ca. $(3,14*2,8^2)$ til $(3,14*3^2) = 25-28$ cm². Mia målte mange skiver kødpølse og fandt en radius på 2,81 cm svarende til 24,8 cm² pr. skive.

Bakterier Produkterne (udskåret sterilt) podes med cocktail, som indeholder både *L. carnosum* og *L. mesenteroides*.

Sammensætning af cocktailen med *L. carnosum* og *L. mesenteroides*.

Bakterie	NR	DMRICC (nr.)	Opformering	pladespredning	Log cfu/ml
<i>L. carnosum</i>	1000-3 (gris),	3881XX	BHI-B, 20°C, 5 dage	APT-A, 20°C, 5 dage (dybde+dæk)	8,1
	14-2 (kylling),	3888XX			8,5
	17-4 (gris),	3891XX			8,7
	22-3 (grøn),	3895XX			8,7
	3140-5 (gris),	3887XX			8,4
	15-4 (gris)	3889XX			8,5
<i>L. mesenteroides</i>	24-1 (kylling),	3897XX	BHI-B, 20°C, 5 dage	APT-A, 20°C, 5 dage (dybde+dæk)	8,7
	26-1(gris),	3898XX			8,6
	29-1(gris),	3901XX			8,4
	31-2 (gris),	3902XX			8,6
	32-1 (gris)	3903XX			8,5

Podning De udvoksede kulturer forventes at indeholde $2-7 \times 10^8$ cfu/ml, ønsket podeni-veau er ca. 100 cfu/cm² (se beregning nedenfor). Der podes med 0,1 ml pr. skive (kun overfladen, der vender opad i pakken). Det er afgørende for forsøget, at der anvendes steril procedure ved håndtering og slicening af kødpølserne.

Cocktail Hver udvokset kultur blandes i forholdet 1:1:1:1:1 (afhængig af antal stammer i cocktailen). Herefter fortyndes i FK-vand til -4 dvs. ca. $2-7 \times 10^4$ cfu/ml.

Pakning Pølsekiverne pakkes i følgende:

- Lille plastbakke i PP (polypropylen, Antalis, varenummer1286456)
 - o Bund: 108x82 cm; højde: 2,8 cm
- llttætte vakuumposer (PA/PE, tykkelse 220 µm)
 - o O TR: 12 cm³/m² d bar
 - o CO₂ TR: 42 cm³/m² d bar
 - o N TR: 3 cm³/m² d bar

Der pakkes med 30/70 CO₂/N₂ i et produkt:gasvolumen på 1:1

Pakkegas: 30% CO₂/70 % N₂.

Indgangstryk: 1 bar

Vakuumeringsgrad: 5 mbar (minimum)

Efterfyldningsgrad: 550 mbar (hvis der anvendes 350 mbar rører emballagen ved produktet, hvilket skal undgås).

Før ibrugtagningen af gaspakkeren skylles gaspakkeren igennem med gas, hvorefter en tom pakke lukkes. Gassammensætning i denne kontrolpakke måles.

Observation af luftproduktion i vakuumpakkede skiver Da det kan være svært at observere synlig luftproduktion i de MA-pakkede prøver pga. stort headspace i pakkerne, vakuumpakkes 3 podede prøver for hvert hold. Der pakkes 1 skive pr. pakke, som podes.

Disse prøver observeres løbende for luftproduktion efter følgende skala:

-: ingen synlig luft

+: lidt luft

++: tydelig luft

+++ : meget luft

Sterilkontrol under lagring Sterilkontrol blev gennemført på dag 0 samt ved tid til 6 log vækst (kimalt 8 log). På dag 0 blev der observeret ca. 3 log i sterilkontrollen. I mikroskopet er det små og store kugler. På agarpladen er det ellipser i dybden og på overfladen med irregulær kant.

Prøvebehandling Ved prøveudtagning udtages pølseskiven på 1 cm. Ved stomacheringen fortyndes skiverne til -1 fort. ved tilsætning af 180 ml FKP.

Sensorisk bedømmelse Ved hvert udtag analyseres produkterne sensorisk på 1-4 skalaen. Se bilag 1. Der udtages 2 pakker til sensorik.

Alle i FØS kan deltage i dommerpanelet. Der skal anvendes mindst 5 dommere pr. bedømmelse.

Der blev ved en fejl ikke pakket sensoriske kontrolprøver.

Karakterisering af floraen med 16S Da der ikke findes selektive substrater til måling af *Leuconostoc* i prøverne, er forsøget meget følsomt overfor forureninger. Som kontrol af, at det er *Leuconostoc*, som er vokset frem, analyseres prøver ved maksimalt kimalt for florasammensætning ved 16S.

Links til sekventering: Y:\Projects\P2007715_DNAPROKON\Fagligt\produkter fra virksomhederne\Analyse protokol produktforsøg\analyseprotokol ved modtagelse af prøver.docx

Fremgangsmåde forsøg 2

<i>Pakning af produkter</i>	<p>Produkterne P1 og P2 fremstillet som beskrevet under "Fremgangsmåde Pilot". Til denne del af forsøget skal der anvendes:</p> <p>P1: 30 pk vak på frost + 50 pk MAP på køl, ved 100 g pr. pakke giver det 8 kg P1: 30 pk vak på frost + 50 pk MAP på køl, ved 100 g pr. pakke giver det 8 kg</p> <p>De kølede produkter slices i pilot plant og MA-pakkes med ca. 100 g pr. pakke. Skive-tykkelse: ca. 2 mm, hvis muligt ellers tykkere. Noter tykkelse. Der MA-pakkes med 30/70 CO₂/N₂ i et produkt:headspace på 1:1 om muligt til lagringsforsøg. Der vakuumpakkes til kontroller til sensorisk bedømmelse. Opbevares på frost.</p> <p>Følgende bakker anvendes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Flad bakke til 100 g pålæg <p>Følgende poser anvendes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ilttætte vakuumposer (PA/PE, tykkelse 220 µm) <ul style="list-style-type: none"> ○ O TR: 12 cm³/m² d bar ○ CO₂ TR: 42 cm³/m² d bar ○ N TR: 3 cm³/m² d bar <p>Der pakkes på den lille gaspækker.</p>
<i>Lagring</i>	<p>Produkter, som er MA-pakket, lagres ved 5°C. Produkter, som er vakuumpakket, lagres på frost (-18/20°C; sensorikkontroller).</p>
<i>Prøveudtagning</i>	<p>Der udtages 3 replikater pr. prøveudtag. Til tiden Tslut = 7-8 log cfu/g udtages 5 replikater. Der laves sensorik og kimtal på alle disse. Til Tslut analyseres de 5 replikater også ved 16S-analyse.</p> <p>Ved hvert udtag tages 3 tilfældige pakker. Følgende analyseres:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Det noteres, hvis der er synlig luftproduktion (0: ingen pustning; +: svag/lidt; ++: tydelig; +++: meget). Erfaringen viser, at dette ikke giver meget. • Der måles gassammensætning. • Der udtages produkt svarende til ca. 20-25 g, som stomacheres i fortyndingen 1:9 FKP (=1-fort.). • Der lugtes til prøverne (bilag 1). • Der spredes i dybde på APT uden dæk (20°C, 5 dage).
<i>Kontroller til sensorik</i>	<p>Der skal anvendes 2 pakker pr. produkt pr. udtag. 1 som reference og 1 som skjult kontrol.</p>

Kommenterede [MT1]: Disse to linjer er ens? Og der er ikke noget for P2?

Fremgangsmåde forsøg 3

Fars fra Pølse 1 og Pølse 2 stoppes i tarm (wienerpølse, 20 mm). Der fremstilles som minimum 9 pølser pr. hold. Hvis der er fars nok, må der gerne fremstilles 6 ekstra af hvert hold.

Pølserne pakkes i 30/70 CO₂/N₂, som de øvrige produkter, og opbevares ved ca. 5°C.

Der udtages prøver a 20 g pr. pølse til tiderne: dag 0/1, dag 7 ± 2, dag 14 ± 2.

Der udtages 3 pølser pr. hold pr. udtag.

Prøver i alt: 2 recepter x 3 udtag x 3 prøver/udtag = 18 prøver.

Analysér

Ved hvert prøveudtag analyseres følgende:

- Kimtal på APT-A, 20°C, 5 dage (dybde, uden dækklag).
- Lugt og udseende. Efter udtag til kimtal: Brug 3-5 kollegaer og karakterskalaen i bilag 1 (der er ingen referencer, da der ikke er produkt til det).
- 16S for alle prøver (18 stk.).

Fremgangsmåde pilot plant

Beslutninger ved indkøring af procedurer og opskrift.

Aftalt 15.07.2022: Efter første forsøg var pølsen for blød og kunne ikke slices. Ved stegning blev de meget bløde (som varm leverpostej). Med god stegeskorpe var det som stegt kartoffelmos. Kraftig muskatnødsmag og eftersmag.

- Fokus på at få en god slicebar konsistens som koldt pålæg. Carragenan testes.
- Krydderiblandingen justeres, så 1/10 nutmeg, og øges med de andre.
- Der testes to recepter: en med 0,5% carragenan og en med 1% carragenan.
- Mål pH på 4 pølser.
- Test sliceability.

Fremgangsmåde ved fremstilling af kødpølser (15 kg pr. hold)

Den anvendte recept er fortrolig og fremgår derfor kun af plan til forsøget. [Recept plantepølse.xlsx](#)
 Ingredienserne er: sojaprotein, vand, ærteproteinisolat, rødbedefibre, havrefibre, kartoffelstivelse, methylcellulose, olie, kokosfedt, salt, gæraroma, krydderier.
 Konservering med Purasal S (60% mælkesyre).

For detaljer om fremstilling se endvidere: [Fremstilling i pilot plantepølse 2008875.docx](#)

<i>Fremgangsmåde</i>	Produkterne fremstilles i hurtighakker i pilot plant. Processen optimeres ved forsøg, og kørselsprocedur samt håndtering af planteproteinerne noteres.
<i>Fyldning på steril tarm (forsøg 1 og 2)</i>	Fra røreskålen overføres farserne til en rengjort og aftørret vakuumfylder og fyldes på steril tarm (60 mm, Blue tint, Kalle Nordic ApS, KNN varenr.: 16020606703) og clipses.
<i>Varmebehandling</i>	Plantepølserne varmebehandles i kogeskab ved 80°C, indtil kerntemperaturen når 75°C. Dernæst overbruses de med koldt vand til 40°C i centrum, herefter luftkøling til 2°C. De kølede produkter fordeles i røde kasser og lagres i kølerum 1072 ved 0°C til podning (maks. 7-14 dage).
<i>Fyldning "wienerpølse" tarm (forsøg 3)</i>	Der stoppes i tarm med 200 mm kaliber. Pølser vakuumpakkes med ca. 30-50 g pr. pakke (til udtag i Lab M anvendes 20 g pr. prøve).

Sensorisk bedømmelse

Den sensoriske vurdering foretages af et panel af DMRI-medarbejdere. Det består af minimum 5 medarbejdere, der normalt arbejder med fødevarer sikkerhed.

Følgende procedure anvendes:

- Produktet bliver i prøveudtagningsrummet. Låget eller posen lukkes for at bevare lugt i produktet.
- Produktet henstår overdækket (beskyttet mod lys) ved stuetemperatur i ca. 1 time, før bedømmelserne starter.
- Prøverne mærkes 1-X af Lab M (mærkning er ligegyldig, skal blot være entydig).
- Lab M skriver mærkningen på bedømmelseskemaerne.
- For hvert produkt vil der også være en nul-prøve hver gang. Dette er for at kontrollere, om dommerne er i stand til at score en frisk prøve lavt.
- Ved hver bedømmelse bliver dommerne præsenteret for en nul-prøve for at få genopfrisket referencerammen.
- Der må ikke være mere end 1-2 dommere i lokalet ved bedømmelsen.

Lugt vurderes efter 1-4-skalaen, hvor 1-2 er accepteret, og 3-4 er ikke-accepteret. Herefter bedes dommerne afkrydse, hvilke egenskaber lugten af prøven har. Bedømmelsen foregår på papir.

Lugt (sur, putrid, svovlet, smør, kærnemælk, våd hund, ost, harsk, gammel, kælder, papkasse, osv.)

1. Frisk
2. Lidt afvigende
3. Tydelig afvigende
4. Meget afvigende

Udseende (ændret farve, synlige kolonier/vækst m.m.)

1. Frisk
2. Lidt afvigende
3. Tydelig afvigende
4. Meget afvigende

Når der gives 3 eller 4 i karakter, skrives en kommentar om, hvilke afvigelser produktet udviser. Når der gives en karakter på 3 og 4, er forandringerne så fremskredne, at produktet er uacceptabelt og ikke kan spises/serveres.

Dato: _____

Dommer (initialer) _____

Prøve ID	UDSEENDE		LUGT		Accept (sæt kryds)	
	Karakter	Kommentar	Karakter	Kommentar	Ja	Nej

Florasammensætning (Forsøg 1, podet med *Leuconostoc*-cocktail)

Pølse 1, lagret ved 3 og 7°C

	7°C i 12 dage			3°C i 25 dage		
Leuconostoc; carnosum	70.7	72.9	62.1	79.8	80.7	79.9
Leuconostoc; mesenteroides	17.6	16.7	14.6	8.8	8.4	8.3
Lactobacillus; crispatus	7	5.7	4	6.3	5.9	6.3
Acinetobacter; baumannii	0	0	14.9	0	0.1	0
Lactobacillus; frumenti	2.2	2.1	1.5	2.4	2.5	2
Lactococcus; lactis	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0
Pantoea; agglomerans	0.1	0.3	0.2	0.3	0.2	0.5
Streptococcus; equinus	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.5
Geobacillus; thermoglucosidarius	0.3	0.1	0.1	0.3	0.2	0.3
Comamonas; margaritae	0	0	1	0	0	0
Remaining taxa (243)	1.4	1.7	1.3	1.7	1.5	2.2
	D397T1unep01	D397T1unep02	D397T1unep03	D397T1unep04	D397T1unep05	D397T1unep06

Pølse 2, lagret ved 3 og 7°C

	7°C i 32 dage			3°C i 39 dage		
Leuconostoc; carnosum	88.3	82.9	88.2	90.7	90	91.9
Lactobacillus; crispatus	3.6	5.2	3.7	3.6	4.4	4
Leuconostoc; mesenteroides	5.1	5.7	4.2	0.6	0	0
Lactobacillus; frumenti	1.5	2.3	1.5	2.3	2.5	1.7
Pantoea; agglomerans	0.2	0.3	0.2	0.3	0.5	0.3
Acinetobacter; baumannii	0	1.1	0.2	0	0	0.1
Lactococcus; lactis	0.2	0.3	9	0.3	0.3	0.2
Geobacillus; thermoglucosidarius	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.2
Streptococcus; equinus	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1
Lactococcus; formosensis	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
Remaining taxa (198)	0.8	1.6	1.3	1.6	1.6	1.5
	D397T2unep01	D397T2unep02	D397T2unep03	D397T2unep04	D397T2unep05	D397T2unep06

Florasammensætning (Forsøg 2, kogt, MAP, pølse 1)

Pølse 1, dag 64, 5 log cfu/g:

Slægt:

Lactobacillaceae: Lactobacillus	34.6	43	43.4
Bacillaceae-1: Bacillus	44	39.5	37.4
Planococcaceae: Sporosarcina	10.5	5.5	3.1
Paenibacillaceae-1: Paenibacillus	2.8	0.5	7.4
Streptococcaceae: Streptococcus	2.1	2.1	2.1
Planococcaceae: Paenisporsarcina	0.5	2.6	0
Bacillaceae-1: Geobacillus	0.6	0.9	0.8
Streptococcaceae: Lactococcus	0.7	0.8	0.7
Leuconostocaceae: Weissella	0.7	0.7	0.5
Enterobacteriaceae: Pantoea	0.4	0.5	0.5
Remaining taxa (76)	3.1	3.8	4
	00001-1	00001-2	00001-3

Art:

Lactobacillus: crispatus	22.3	29.9	29.8
Bacillus: muralis	0	38.2	37.3
Bacillus: simplex	43.8	0	0
Lactobacillus: frumenti	12.3	13.1	13.3
Sporosarcina: globispora	10.5	5.5	3.1
Paenibacillus: tibetensis	0	0	7.4
Streptococcus: equinus	2.1	2.1	2.1
Paenibacillus: pabuli	2.8	0.5	0
Paenisporsarcina: antarctica	0	2.6	0
Lactococcus: formosensis	0.7	0.8	0.6
Remaining taxa (149)	5.6	7.3	6.4
	00001-1	00001-2	00001-3

Florasammensætning (Forsøg 2, kogt, MAP, pølse 2)

Pølse 2, dag 64 (2-3 log cfu/g):

Slægt:

Lactobacillaceae: Lactobacillus	80.5	79.4	79
Streptococcaceae: Lactococcus	4.7	4.1	4.4
Streptococcaceae: Streptococcus	2.1	2.1	2.2
Bacillaceae-1: Geobacillus	1.6	1.7	1.9
Enterobacteriaceae: Pantoea	1.5	2	1.6
Leuconostocaceae: Weissella	1.4	1.6	1.4
Bacillaceae-1: Bacillus	0.8	0.9	0.9
Rhodobacteraceae: Paracoccus	0.6	0.7	0.7
Bacillales: Exiguobacterium	0.8	0.7	0.6
Enterococcaceae: Enterococcus	0.7	0.7	0.7
Remaining taxa (95)	5.3	6.1	6.6
	DMAP2-1	DMAP2-2	DMAP2-3

Art:

Lactobacillus: crispatus	54.8	54.3	52.6
Lactobacillus: frumenti	24.8	25	26.5
Lactococcus: lactis	3.7	3.2	3.3
Streptococcus: equinus	2.1	2.1	2.2
Pantoea: agglomerans	1.5	1.9	1.6
Weissella: cibaria	1.1	1.3	1.2
Geobacillus: thermoglucosidasius	0.8	1	1
Lactococcus: formosensis	0.9	0.8	1
Geobacillus: stearothermophilus	0.8	0.8	0.9
Paracoccus: belbuenis	0.6	0.7	0.7
Remaining taxa (169)	8.8	8.9	9
	DMAP2-1	DMAP2-2	DMAP2-3

Dag 105 (Florasammensætning)

Pølse 1 (uden laktat): 6 log cfu/g

Pølse 2 (med laktat): 2-3 log cfu/g (ingen vækst)

Slægt:

	Pølse 1			Pølse 2		
Lactobacillaceae: Lactobacillus	15.5	22.5	22.8	81.4	83.9	81.9
Bacillaceae-1: Bacillus	67.4	66.5	61.4	1.6	1.2	2.4
Paenibacillaceae-1: Paenibacillus	11.9	5.1	11	0.1	0	0.1
Streptococcaceae: Lactococcus	1.1	1.3	1.2	5.5	4.9	5.9
Planococcaceae: Sporosarcina	2.5	1.5	1.2	0	0	0
Leuconostocaceae: Weissella	0.3	0.4	0.3	1.3	1.3	1.2
Bacillaceae-1: Geobacillus	0	0.2	0.2	1.1	1.1	1.1
Enterobacteriaceae: Pantoea	0.2	0.1	0.3	1.1	1	0.8
Remaining taxa (124)	1.2	2.4	1.7	7.9	6.6	6.5

Art:

	Pølse 1			Pølse 2		
Lactobacillus: helveticus	10.3	16.6	16	55.1	55.6	55.3
Bacillus: simplex	67.4	66.4	60.8	1.2	0.8	2
Lactobacillus: frumenti	5.3	5.9	6.8	26.3	28.2	26.6
Paenibacillus: tibetensis	5.1	4.8	9.3	0	0	0
Lactococcus: lactis	1.1	1.3	1	4.7	4.2	5.2
Paenibacillus: wynnii	6.8	0.3	0	0.1	0	0
Sporosarcina: globispora	2.4	1.5	1.2	0	0	0
Weissella: cbaria	0.2	0.3	0.3	0.5	1.1	1
Remaining taxa (279)	1.4	2.9	4.6	12.1	10.1	9.9

Florasammensætning fersk plantepølse 1 (Forsøg 3)
Lagret i vakuum ved 2,5-3°C

Slægt:

	Dag 0			Dag 7			Dag 14			Dag 23			Dag 35		
Lactobacillaceae; Lactobacillus	78.2	76.6	75.8	71.8	64.9	71	19.5	27.6	44.3	65.3	47.9	3.3	16.5	53.3	49.9
Carnobacteriaceae; Carnobacterium	0	0	0	2.8	9.8	2.8	73.3	63.7	49.6	26.6	43.2	92.1	59.8	32.7	33.5
Leuconostocaceae; Leuconostoc	0.3	0.2	0.3	0.4	0.4	0.4	0.1	0.7	1.3	5.7	6.9	0.8	20	11.3	14.2
Streptococcaceae; Streptococcus	4.2	2.1	2.5	5.3	4.4	5	1.3	0.7	0.4	0.1	0.1	0.2	0.1	0	0
Streptococcaceae; Lactococcus	3.2	5.5	6.3	1.7	1.5	1.7	0.3	0.2	0.1	0	0	0	0.1	0	0
Enterobacteriaceae; Pantoea	2.2	2.1	1.2	2.1	2.8	2.1	0.3	0.6	0.6	0.1	0.1	0	0.2	0.1	0
Bacillaceae-1; Geobacillus	1.6	1.5	1.5	1.8	1.6	1.9	0.4	0.2	0.1	0	0	0	0	0	0
Leuconostocaceae; Weissella	1.5	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6	0.4	0.4	0.2	0	0	0.1	0	0	0
Enterobacteriaceae; Serratia	0	0.1	0.1	0.2	0.3	0.3	0.6	0.4	0	1.5	0.9	2.2	1.7	1.9	0
Rhodobacteriaceae; Paracoccus	1.2	0.9	1.1	1.2	1.4	1.1	0.3	0.4	0.2	0	0	0.1	0	0	0
Remaining taxa (209)	9.5	9.4	9.6	11	11.2	12.2	3.5	5.1	3.2	0.6	0.8	1.2	1.5	0.6	2.2
	D00P1-1	D00P1-2	D00P1-3	D07P1-1	D07P1-2	D07P1-3	D14P1-1	D14P1-2	D14P1-3	D23P1-1	D23P1-2	D23P1-3	D35P1-1	D35P1-2	D35P1-3

Art:

	Dag 0			Dag 7			Dag 14			Dag 23			Dag 35		
Carnobacterium; mallaromaticum	0	0	0	2.2	8.5	2.1	67.1	58.7	47.2	25.5	41.3	87.4	54.2	30.9	31.9
Lactobacillus; crispatus	46.6	45.1	45.5	47.5	42	46.2	14.4	6.8	2.8	0.3	0.6	2.1	1.2	0.3	0.2
Lactobacillus; sakei	0	0	0	0	1.2	0.1	0	17.4	39.6	64.7	47	0	15	53	49.6
Lactobacillus; frumenti	29.5	30.9	29.5	24.2	21.6	24.5	5.2	3.4	1.9	0.2	0.2	1	0.3	0	0
Leuconostoc; mesenteroides	0	0.2	0.3	0	0.2	0.3	0	0.7	1.3	5.7	6.9	0.8	20	11.3	14.2
Carnobacterium; mobile	0	0	0	0.7	1.2	0.7	6.2	4.9	2.4	1.1	1.9	4.7	5.5	1.8	1.6
Streptococcus; equinus	4.2	2.1	2.5	5.3	4.4	5	1.3	0.7	0.4	0.1	0.1	0.2	0.1	0	0
Pantoea; agglomerans	2.2	2.1	1.2	2.1	2.8	2.1	0.3	0.6	0.6	0.1	0.1	0	0.2	0.1	0
Lactococcus; formosensis	3.2	2.1	2.2	1.6	1.4	1.6	0.3	0.2	0.1	0	0	0	0	0	0
Serratia; liquefaciens	0	0	0	0.2	0.2	0	0.6	0.4	0	1.5	0.9	2.2	1.7	1.9	0
Remaining taxa (518)	14.2	17.4	18.7	16.3	16.4	17.4	4.7	6.2	3.8	0.8	1	1.5	1.7	0.7	2.3
	D00P1-1	D00P1-2	D00P1-3	D07P1-1	D07P1-2	D07P1-3	D14P1-1	D14P1-2	D14P1-3	D23P1-1	D23P1-2	D23P1-3	D35P1-1	D35P1-2	D35P1-3

Florasammensætning fersk plantepølse 2 (Forsøg 3)
Lagret i vakuum ved 2,5-3°C

Slægt:

Lactobacillaceae: Lactobacillus	71.9	75.6	77.2	73.9	71.2	71.1	70.5	71.1	66.3	87.8	92.1	78.8	91	98.1	98
Streptococcaceae: Streptococcus	2.3	2.2	4.5	2.2	2.3	2	4.8	4.1	5.4	1.8	1.1	3.2	1.7	0.2	0.2
Streptococcaceae: Lactococcus	5.6	5.9	3	4.9	4.7	4	1.6	1.5	1.6	0.5	0.3	0.9	0.4	0.1	0.1
Enterobacteriaceae: Pantoea	2.8	1.9	2.2	2	3.3	4.2	3.6	3.4	4	1.1	1	1.9	0.2	0.1	0.2
Bacillaceae-1: Geobacillus	1.7	1.1	1.4	1.5	1.7	2	2.1	1.9	2.2	0.7	0.5	1.7	0.5	0	0
Leuconostocaceae: Weissella	2.1	1.6	1.2	1.7	1.8	2	2	1.9	2	0.6	0.3	1	0.3	0	0
Rhodobacteraceae: Paracoccus	1.4	1.1	0.8	1	1.4	1.4	1.4	1.6	1.6	0.6	0.4	0.8	0.2	0.1	0.1
Bacillales: Exiguobacterium	1	1.6	0.8	1	1.2	0.9	1.2	1.6	1.2	0.3	0.2	0.8	0.2	0	0
Pseudomonadaceae: Pseudomonas	1	0.7	0.5	0.6	1.2	1.4	1.1	1.1	1.2	0.4	0.4	0.6	0.1	0	0.1
Carnobacteriaceae: Carnobacterium	0	0	0	0	0.1	0.1	0.1	0.5	0.1	1.1	0.8	2.6	3.5	0.7	0.5
Remaining taxa (243)	10.3	8.3	8.3	11	11.2	10.9	11.5	11.3	12.5	5.1	3	7.6	2	0.7	0.8
	000P1-	000P2-	000P3-	000P1-	000P2-	000P3-	010P1-	010P2-	010P3-	020P1-	020P2-	020P3-	030P1-	030P2-	030P3-

Art:

Lactobacillus: crispatus	45.3	41.3	50.1	48.4	46.3	43.6	44.8	41.6	43.5	13.6	8.1	34.7	8.9	0.9	0.6
Lactobacillus: sakei	0	0	0	0	0	0.1	0.4	8.2	0.1	68.8	79.9	28.9	79	96.7	97.2
Lactobacillus: frumenti	25.8	34.2	26.5	25.4	24.8	27.4	25.1	21.3	24.6	5.3	4	15.1	3	0.4	0.3
Streptococcus: equinus	2.3	2.2	4.5	2.2	2.3	2	4.8	4.1	5.4	1.8	1.1	3.2	0	0.2	0.2
Pantoea: agglomerans	2.8	1.9	2.2	2	3.3	4.2	3.6	3.4	4	1.1	1	1.9	0.2	0.1	0.2
Lactococcus: lactis	3.6	3.5	0	3.8	3.7	3.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lactococcus: formosensis	2	2.3	3	1.1	1	0.9	1.5	1.4	1.5	0.4	0.1	0.8	0.1	0	0
Weissella: cibaria	1.9	1.5	1	1.5	1.6	1.6	1.6	1.5	1.6	0.5	0.3	0.8	0.3	0	0
Paracoccus: bebuenensis	1.4	1.1	0.8	1	1.4	1.4	1.4	1.6	1.6	0.6	0.4	0.8	0.2	0.1	0.1
Geobacillus: thermoglucosidarius	0.9	1.1	1.4	1.5	1	2	2.1	0.9	1	0.3	0.5	0.6	0.3	0	0
Remaining taxa (620)	14	10.9	10.5	13	14.8	13.8	14.5	15.9	16.7	7.5	4.7	13.1	7.9	1.5	1.5
	000P1-	000P2-	000P3-	000P1-	000P2-	000P3-	010P1-	010P2-	010P3-	020P1-	020P2-	020P3-	030P1-	030P2-	030P3-