



TEKNOLOGISK
INSTITUT



**Plantefermentater for
bedre holdbarhed og
fødevareresikkerhed af
salater og gryderetter**

PlanteFerm

Plantefermentater for bedre holdbarhed og fødevareresikkerhed af salater og gryderetter

PlanteFerm

Udarbejdet af

Teknologisk Institut - Gregersensvej 1, 2630 Taastrup
Fødevarer og Produktion
Anette Granly Koch

Sagsansvarlig

Anette Granly Koch
Fødevareresikkerhed og Kvalitet

Opgavenr.: 2011651 Versionsnr.: 1
22. juni 2026

Samarbejdspartner: TVM Ingredients

Projektet er støttet af PlanteFonden



Indhold

1 Indledning.....	5
1.1 Baggrund	5
1.2 Formål.....	6
2 Antimikrobiel effekt af plantefermentater	6
2.1 Hæmning af bakterier	6
2.1.1 Fremgangsmåde	7
2.1.2 Resultater	8
2.1.3 Råvarer med bedst antimikrobiel effekt	9
2.1.4 Årsag til antimikrobiel effekt.....	9
2.2 Holdbarhed af fermentater.....	10
2.2.1 Holdbarhed af pasteuriserede fermentater	10
2.3 Konklusion antimikrobiel effekt	12
2.3.1 Effekt på uønskede mikroorganismer	12
2.3.2 Normal vs. kraftig fermentering.....	13
2.3.3 Neutral vs. sur agar – hvilke fødevarer vil fermentaterne virke bedst i?	13
2.3.4 Holdbarhed af pasteuriserede fermentater	13
3 Økonomisk og sensorisk acceptabel koncentration	14
4 Holdbarhed af coleslaw tilsat fermenterede gulerødder	15
4.1 Forsøgsdesign	15
4.2 Resultater	16
4.2.1 Vækst af Listeria	16
4.2.2 Vækst af naturligt forekommende bakterier (Leuconostoc)	18
4.2.3 Dominerende bakterier i coleslaw	18
4.3 Konklusion	18
5 Holdbarhed af gryderet tilsat fermenterede svampe.....	19
5.1 Forsøgsdesign	19
5.2 Resultater	21
5.2.1 Vækst af Bacillus	21
5.2.2 Vækst af Clostridium.....	23
5.2.3 Vækst af naturligt forekommende bakterier	25
5.3 Konklusion	26

6 Konklusion og anbefalinger til brug af plantefermentater.....	26
7 Referencer	28
8 Bilag.....	29
8.1 Antimikrobiel effekt målt i agar-diffusionsassay.....	29
8.2 Mikrobiota i coleslaw.....	32

1 Indledning

Projektet PlanteFerm, som er støttet af PlanteFonden, har til formål at øge brugen af fermenterede sidestrømme til forbedring af holdbarhed og fødevarer sikkerhed af økologiske og konventionelle plantebaserede produkter. God holdbarhed er essentielt for en rentabel produktion og distribution af plantebaserede produkter; ligesom udnyttelse af sidestrømme fra dyrkning af vegetabilier er et vigtigt element i fremtidens fødevarerproduktion.

Projektet har undersøgt forskellige råvarer (svampe, gulerødder, rødbeder, hvidkål og løg) for at se, om den antimikrobielle effekt kan fås fra meget forskellige råvarer. Svampene er endvidere valgt, fordi de også vil kunne give et sensorisk løft til plantebaserede produkter via deres kendte umamismag.

Projektets aktiviteter skal vise, hvor kraftig antimikrobiel aktivitet der er i de fermenterede sidestrømme, hvilke mikroorganismer der kan hæmmes vækst af, og hvordan den antimikrobielle aktivitet påvirkes af forædlingsprocesser som fx varmebehandling. Den antimikrobielle effekt undersøges i to forskellige fødevarer: en frisk ready-to-eat-salat og en varmebehandlet gryderet.

1.1 Baggrund

Fermentering er en velkendt teknologi, hvor mikroorganismer omdanner en råvare til en færdigvare ofte med et lavere pH og en anden smag og konsistens. Under fermentering danner starterkulturen forskellige metabolitter. Disse metabolitter kan have antimikrobiel effekt og hæmme vækst af forskellige bakterier og skimmel. Tvedemose Ingredients har indikationer på, at et gulerodsfermentat kan forbedre holdbarheden af brød. Teknologisk Institut har vist, at brug af gode bakterier i fødevarer kan inaktivere eller hæmme væksten af patogene bakterier (biokonservering). Denne viden anvendes til at fastlægge, hvordan fermenterede sidestrømme fra svampe, løg, gulerødder, hvidkål og rødbeder kan anvendes til at forbedre holdbarhed af plantebaserede fødevarer. I projektet er fermenterede gulerødders effekt testet i coleslaw, og fermenterede svampe er testet i en gryderet.



1.2 Formål

Formålet med denne rapport er at samle den opnåede viden fra projektet i en guideline med anvisninger til, hvordan fermenterede sidestrømme kan:

- emballeres og distribueres uden at udgøre en fødevarsikkerhedsmæssig risiko og sikre, at den antimikrobielle effekt bevares bedst muligt
- anvendes i ready-to-eat-salater, så holdbarheden forlænges, og kritisk vækst af patogene bakterier undgås i holdbarhedstiden
- anvendes i gryderetter, så kritisk vækst af sporedannende bakterier (patogene og fordærvere) undgås i holdbarhedstiden

Derudover indeholder guidelinen anvisninger til, hvilken dokumentation der skal indsamles, når nye fermentater skal fremstilles og anvendes til konservering af økologiske planteprodukter.

2 Antimikrobiel effekt af plantefermentater

Fermentaternes antimikrobielle effekt er testet over for en række forskellige bakterier i et agar-diffusionsassay. Som repræsentanter for fordævelsesbakterier er *Pseudomonas* og mælkesyrebakterier undersøgt, og blandt de patogene bakterier er *Listeria*, *Bacillus* og *Clostridium* undersøgt.

Desuden er plantefermentaternes stabilitet og holdbarhed undersøgt under lagring på køl.

2.1 Hæmning af bakterier

Ved brug af agar-diffusionsassay (figur 1) blev det undersøgt, hvor kraftig hæmning forskellige fermenterede vegetabilier og svampe gav. Herved kunne de mest lovende fermentater (dem med kraftigst effekt) udvælges til produktforsøg. I forsøgene blev både den fast del og væskedelen analyseret for antimikrobiel effekt.

I afsnit 4 og 5 er det undersøgt, hvordan fødevarekomponenter påvirker den antimikrobielle effekt, og i dette afsnit beskrives betydning af varmebehandling, pH og lagringstemperatur.

2.1.1 Fremgangsmåde

Bakterierne *Pseudomonas* spp., *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* og *Clostridium botulinum* (psykrotrof, toksinnegativ) blev indstøbt i agar; herefter blev et hul i agaren fyldt med mos af de fermenterede plantefermentater.

Agarpladerne med pH 6,8-7,0 hhv. pH 5,6-5,8, der var tilsat plantemos og bakterier, blev inkuberet ved 10°C. Løbende blev bakterievæksten aflæst med fokus på størrelsen af det areal, hvor der ikke var vækst af bakterierne (hæmzoner) (figur 1). Ligeledes blev det undersøgt, om hæmzonen kunne fjernes med proteaser og peptidaser.

Eksempler på pasteuriserede plantefermentater er vist i figur 2.



Figur 1. Eksempel på hæmzoner (7: *Pseudomonas*, gulerodsfermentat; 11: *Listeria*, champignonfermentat; 14: *Pseudomonas*, hvidkålsfermentat).



Figur 2. Eksempler på pasteuriserede plantefermentater. Fra venstre: gulerødder, hvidkål, rødbeder, løg og svampe.



2.1.2 Resultater

Resultaterne viste overordnet, at:

- Den antimikrobielle effekt var kraftigere ved pH 5,6-5,8 end ved pH 6,8-7,4
- Hæmningen ikke skyldtes antimikrobielle peptider (bakteriociner)
- Jo længere fermenteringstid (lavere pH og mere syre) des bedre effekt

I bilag 8.1 er hæmningen af de testede fermentater vist for hver bakterie.

2.1.2.1 pH's betydning for væksthæmning

Generelt viste fermentaterne bedst antimikrobiel effekt ved pH 5,7-5,8, men flere fermentater havde også hæmmende effekt overfor enkelte bakterier ved pH 7,4.

Antimikrobiel effekt ved pH 7,4

Jo længere fermentering (lavere pH), der anvendtes, des større blev den antimikrobielle effekt. Der var dog enkelte undtagelser (fx hæmning af *Listeria* med champignonfermentat, hvor hæmningen var størst ved normal fermentering).

- Fermenteret hvidkål havde en særligt markant hæmning, især mod *Leuconostoc*, hvor lang fermentering gav en hæmzone på 50 mm, mod 45 mm ved normal fermentering.
- For *Bacillus* og *Pseudomonas* blev der generelt fundet øget hæmning efter kraftig/lang fermentering, uanset råvare.
- Champignon- og gulerodsfermentater viste også øget effekt ved længere fermentering, især mod *Bacillus* og *Pseudomonas*.
- Enkelte fermentater havde kun begrænset effekt på visse bakterier, særligt sås dette for effekten af fermenterede champignon og hvidkål mod *Pseudomonas*.

Antimikrobiel effekt ved pH 5,8

Den antibakterielle effekt var generelt kraftigere og mere ensartet på tværs af både fermenteringstype (lang/normal) og råvare ved pH 5,8 end ved pH 7,4.



Forskellen mellem normal og kraftig/lang fermentering var mindre udtalt; i flere tilfælde sås næsten samme – eller endda større – hæmning ved normal fermentering (fx *Listeria* i gulerod, og *Leuconostoc* samt *Listeria* i hvidkål).

- Gulerodsfermentater havde den bedste hæmning, især mod *Listeria* og *Bacillus*.
- Fermenterede champignon havde også markant hæmning af flere bakterier, især *Listeria* og *Bacillus*.

Disse resultater tyder på, at både fermenteringstid, råvare og pH spiller afgørende roller for fermentaternes antibakterielle aktivitet.

2.1.2.2 Hvilke bakterier blev hæmmet mest?

Overordnet viser resultaterne, at *Bacillus* generelt var den bakterie, der blev hæmmet mest effektivt af plantefermentaterne, mens mælkesyrebakterien *Leuconostoc* var den bakterie, som var sværest at hæmme.

En grov rangordning af, hvilke bakterier der lettest hæmmes med fermentaterne, baseret på antal analyser med hæmzoner på 35 mm eller derover for de 4 bakterier, er:

Bacillus > *Listeria* > *Pseudomonas* > *Leuconostoc*

2.1.3 Råvarer med bedst antimikrobiel effekt

Blandt de testede fermentater udviste fermenterede gulerødder og hvidkål generelt de største hæmzoner på tværs af alle bakterietyper.

En grov rangordning af fermentaternes effekt, baseret på antal analyser med hæmzoner på 35 mm eller derover for de 4 bakterier, er:

Gulerødder > Hvidkål > Gule løg > Rødbeder > Champignon

2.1.4 Årsag til antimikrobiel effekt

Ved fermentering dannes en række metabolitter, heriblandt organiske syrer, og pH sænkes. Dette er kendte faktorer med antimikrobiel effekt; men der kan også dannes andre metabolitter fx antimikrobielle peptider (bakteriociner), som er kendte for at have effekt på mælkesyrebakterier og *Listeria*. Baseret på bakteriocintesten gennemført

i dette projekt er der ikke noget, som tyder på, at effekten skyldes produktion af bakteriociner.

Indholdet af organiske syrer, som acetat og laktat, og fermentaternes lave pH er sandsynligvis den primære årsag til den antimikrobielle aktivitet. Pasteurisering har bibeholdt denne effekt, også selvom størstedelen af den levende fermenteringsflora er inaktiveret.

2.2 Holdbarhed af fermentater

For at kunne vurdere holdbarheden af plantefermentaterne blev pH, vandaktivitet og mikrobiel sammensætning analyseret. Data blev brugt til at give anvisninger til, hvordan fermentaterne bedst kan distribueres til fødevarer. Især vækst af patogene bakterier er vigtigt at hindre, dersom fermentaterne kontamineres.

2.2.1 Holdbarhed af pasteuriserede fermentater

Analyserne viste, at fermentaterne har lave pH-værdier (4,0-4,6) og høj vandaktivitet, hvilket betyder, at den konserverende effekt primært skyldes det lave pH og de dannede organiske syrer i kombination med opbevaring på køl.

I fermentaterne blev der målt et indhold af acetat på mellem 0,06% og 0,36%, og laktatindholdet var mellem 0,12% og 4%, hvor 4% blev målt i de tørrede, fermenterede svampe. Generelt vurderes det, at de målte syrekonzentrationer er forholdsvis lave, og at den antimikrobielle effekt især skyldes det lave pH.

I de fleste fermentater blev der fundet kimtal på ca. 2 log cfu/g. Det kan være overlevende mælkesyrebakterier fra fermenteringen eller sporedannende bakterier (*Bacillus*). Den dominerende flora er identificeret som DNA fra mælkesyrebakterierne *Lactococcus lactis* og *Leuconostoc* spp. *Lactococcus lactis* er en kendt bakterie i starterkulturer til fødevarer. Flere stammer af *L. lactis* er kendt for at producere nisin. *Leuconostoc* anvendes også i nogle starterkulturer, men er også kendt for at producere luft og slim i fødevarer. Ligeledes er mange *Leuconostoc* kendt for at producere pediocinlignende peptider (bakteriociner med antimikrobiel effekt).

Processen kort fortalt:

1. Råvarer med hygiejnisk status som til humant konsum
2. Fermentering
3. Vakuumpakning
4. Pasteurisering
5. Opbevaring ved 5°C

Fermentaternes holdbarhed blev vurderet ud fra konservering og varmebehandling. Varmebehandling i lukkede poser til 72°C/2 minutter sikrer inaktivering af vegetative bakterieceller og fjerner risikoen for efterkontaminering, men sporer fra *Bacillus* og *Clostridier* kan overleve. Derfor er det nødvendigt, at produktets pH eller andre konserveringsfaktorer (fx lav vandaktivitet eller yderligere konserveringsmidler) effektivt forhindrer spiring og vækst af disse sporedannende bakterier.

Grænseværdier for vækst

- *Bacillus cereus* vokser ikke ved pH under 4,5 eller under 4°C
- *Clostridium botulinum* (proteolytisk, mesofil) vokser ikke ved pH under 4,6 eller under 10-12°C
- *Clostridium botulinum* (non-proteolytisk, psykrotrof) vokser ikke ved pH under 5 eller under 3°C
- *Clostridium perfringens* vokser ikke ved pH under 5,5 eller under 10-12°C

Anbefaling

Det anbefales derfor, at produktionen af fermenterede sidestrømme bør sigte mod pH < 4,5, pasteurisering med en holdetid på minimum 72°C i 2 minutter i lukket emballage og opbevaring på køl ved 5°C for at sikre mikrobiologiske stabilitet og forhindre vækst af sygdomsfremkaldende bakterier.

Det skal dog bemærkes, at visse gær- og skimmelarter kan danne ascosporer, der overlever varmebehandling til 72°C og kan vokse ved lavt pH < 4,5 og lav temperatur 4°C. Dette kan give udfordringer med sensorisk og mikrobiel stabilitet. Hvor stort et problem, det kan blive, vides ikke.



2.3 Konklusion antimikrobiel effekt

2.3.1 Effekt på uønskede mikroorganismer

Leuconostoc er en bakterie, som kan producere uønsket luft, slim og sur lugt i fødevarer. Den er svær at hæmme vækst af, og der kræves høje koncentrationer af organiske syrer. Dette kan være forklaringen på, at kun få fermentater har en lille hæmmende effekt på denne bakterie. Gule løg har generelt haft en lille effekt, og nogle batch af gulerødder og champignon har haft en lille effekt. For champignon var det de tørrede og de kraftigt fermenterede, der viste hæmning.

Pseudomonas er kendt for at fordærve køleopbevarede fødevarer. Den hæmmes lidt af alle fermentater. Den bedste hæmning fås med gulerødder, hvor der er effekt ved neutralt og let surt pH. De næstbedste fermentater er gule løg og hvidkål.

Listeria, som er sygdomsfremkaldende og uønsket i ready-to-eat-fødevarer som fx salat, hæmmes lidt/en del af alle fermentater. Gulerødder, gule løg og champignon har de bedste effekter. I afsnit 4 vises effekten i coleslaw for afklaring af den hæmmende effekt.

Bacillus cereus er en sporedannende bakterie, som kan overleve varmebehandling, hvorfor den er interessant at kunne hæmme i sous vide-retter såvel som i hot-fill-gryderetter. Bakterien ser ud til at hæmmes af samtlige fermentater. Det er svært at afgøre, om fermentater fra den ene råvare er bedre end fra den anden. Effekten er bedre ved pH 5,8 end ved pH 7,4. Dette kunne indikere, at organiske syrer er en del af den hæmmende effekt. Alle fermentater er interessante at teste i gryderetter, hvor der ønskes en hæmning af *B. cereus*. I afsnit 5 vises effekten i gryderetter.

Clostridium botulinum (psykrotrof) udgør en fødevarerikkerhedsrisiko ved holdbarhedstider over 10 dage på køl. Her kræves konservering, som hindrer spiring og vækst. Den anvendte stamme fungerede ikke i det anvendte assay ved 10°C, da væksten var for langsom. I stedet blev nogle af fermentaterne testet ved 20°C (anaerobt). Resultaterne viste, at fermentaterne fra de testede fermenterede råvarer gav store hæmzoner både ved pH 7,4 og pH 5,8. Derfor er alle fermentater interessante at teste i gryderetter, hvor der ønskes en hæmning af *C. botulinum*. I afsnit 5 vises effekten i gryderetter.



2.3.2 Normal vs. kraftig fermentering

Resultaterne viser, at kraftig/langvarig fermentering til tider giver en øget hæmzone sammenlignet med normal fermentering – især ved neutralt pH. Ved surt pH er forskellen mindre udtalt. Dette tyder på, at længere fermenteringstid kan være relevant især i fødevarer med højere pH, mens effekten er mindre væsentlig i sure produkter.

2.3.3 Neutral vs. sur agar – hvilke fødevarer vil fermentaterne virke bedst i?

Screeningsforsøgene har tydeligt vist, at fermentaterne har størst antimikrobiel effekt i let sur agar (pH 5,8) frem for neutral agar (pH 7,4). Dette indikerer, at fermentaternes naturlige konserverende evner udnyttes bedst i let sure fødevarer, der allerede har et pH under 6. I fødevarer med neutralt eller højt pH vil effekten være væsentligt mindre, medmindre fermentatet tilsættes i tilstrækkelig høj koncentration til at påvirke pH i produktet.

Det konkluderes derfor, at fermenterede planteprodukter har et potentiale som naturlige konserveringsmidler særligt i let sure produkter, eller hvor fermentatet tilsættes i koncentrationer, der kan sænke pH markant. Der er ikke evidens for, at bakteriociner bidrager væsentligt – den største effekt er forbundet med lavt pH og sandsynligvis organiske syrer og/eller andre metabolitter. Mængde, fermenteringstid og valg af produkt har betydning, og der skal laves flere produktforsøg for at fastlægge optimal anvendelse i praksis.

2.3.4 Holdbarhed af pasteuriserede fermentater

Det anbefales derfor, at produktionen af fermenterede sidestrømme bør sigte mod pH < 4,5, pasteurisering med en holdetid på minimum 72°C i 2 minutter i lukket emballage og opbevaring på køl ved 5°C for at sikre mikrobiologiske stabilitet og forhindre vækst af sygdomsfremkaldende bakterier.

Det skal dog bemærkes, at visse gær- og skimmelarter kan danne ascosporer, der overlever varmebehandling til 72°C og kan vokse ved lavt pH < 4,5 og lav temperatur 4°C. Dette kan give udfordringer med sensorisk og mikrobiel stabilitet. Hvor stort et problem, det kan blive, vides ikke.

3 Økonomisk og sensorisk acceptabel koncentration

Der er udarbejdet en beregning af, hvor store mængder fermentat der maksimalt vil kunne anvendes i salater og gryderetter, for at applikationen er økonomisk rentabel for fødevarereproducenter, samt en vurdering af, om mængderne er sensorisk acceptable i udvalgte produkter.

Sammen med udvalgte industripartnere (aftagere af fermentat til konservering) er økonomi og sensorik ved anvendelse af fermenterede gulerødder hhv. fermenterede svampe vurderet.

Fermenterede gulerødder i coleslaw

Da indkøbspriser kan være konkurrencefølsomme at offentliggøre, er der taget udgangspunkt i en beregning, hvor fermenterede gulerødder koster 42 kr. pr. kg, klar til anvendelse i produktionslinjen. Ved at udskifte friske gulerødder med fermenterede gulerødder opnås en merpris på den færdige coleslaw på ca. 0,07 kr. ved tilsætning af 10% fermenterede gulerødder i stedet for friske gulerødder. Baseret på en blindsmagningstest, hvor medarbejdere smagte på coleslaw med forskellige koncentrationer af fermenterede gulerødder, blev det konkluderet, at 10% fermenterede gulerødder giver et både økonomisk fornuftigt udgangspunkt samt ingen væsentlig negativ sensorisk forskel.

Fermenterede svampe i gryderetter

Da prisforskellen mellem friske og fermenterede svampe er minimal, er det konkluderet, at det er muligt at erstatte samtlige friske svampe med fermenterede svampe uden at skabe en væsentlig økonomisk fordyrelse af det endelige produkt. Ved de sensoriske bedømmelser blev dette også vurderet som acceptabelt, da retten i forvejen har en forholdsvis lav pH-værdi, hvilket betyder, at fermenteringen ikke medfører en markant sensorisk forskel i slutproduktet.

Det kan på baggrund af disse to cases konkluderes, at der er stor forskel på, hvor meget fermenteret produkt der kan anvendes afhængig af både pris og den sensoriske effekt på slutproduktet.

De anvendte koncentrationer i challengetest er fastlagt ud fra de sensoriske og økonomiske betragtninger.



4 Holdbarhed af coleslaw tilsat fermenterede gulerødder

Forsøgene har til formål at undersøge den antilisterielle effekt af fermenterede gulerødder tilsat i forskellige koncentrationer i ready-to-eat coleslaw.

Undersøgelsen skal give viden om, hvorvidt – og i hvilket omfang – fermenterede gulerødder kan forbedre fødevarerens sikkerheden i coleslaw samt identificere den optimale koncentration for maksimal antimikrobiel effekt uden at kompromittere produktets struktur og sensoriske kvalitet.

4.1 Forsøgsdesign

Coleslaw blev fremstillet i fire varianter, hvor 0%, 10%, 30% eller 100% af gulerodsdelen var erstattet med fermenteret gulerod. Ingredienserne blev samlet og blandet på Teknologisk Institut på 2 forskellige dage (forsøg 1 og forsøg 2).

For hver variant (0%, 10%, 30% og 100% fermenteret gulerod) blev der gennemført to serier:

- A. **Upodet:** Prøverne blev anvendt til holdbarhedsforsøg, herunder analyser for pH (dag 0) samt kimal og mikrobiotasammensætning (16S) ved start, midtvejs og ved afslutning af lagringsperioden.
- B. **Podet med *L. monocytogenes*:** Prøverne blev podet med en cocktail bestående af fem stammer af *L. monocytogenes* for at undersøge udvikling i koncentration under lagring. Der blev analyseret for *Listeria* (alle udtag), pH (dag 0) samt aerobt kimal og mikrobiotasammensætning (16S) ved start, midtvejs og ved afslutning af lagringsperioden.

Alle prøver blev pakket i modificeret atmosfære (MAP) med 70% N₂ og 30% CO₂ og lagret ved 5°C. I løbet af lagringsperioden blev der analyseret for:

- ***Listeria monocytogenes*** (kun podede prøver) på RLM-agar, overfladeudsæd, 37°C i 2 dage.
- **Totalkimal** på APT-agar, dybde med dæk, 20°C i 5 dage (både podede og upodede prøver).

Hver forsøgsserie blev analyseret kemisk for pH, salt, vand, L-Laktat og acetat.



4.2 Resultater

Coleslaw uden fermenterede gulerødder har pH 6,2-6,3. Erstatning af de friske gulerødder med fermenterede gulerødder reducerer pH til 6,0-6,1 (10%), 5,4-5,6 (30%) og 4,6 (100%). I produktet, hvor alle friske gulerødder er erstattet med fermenterede gulerødder, kan der måles ganske lidt laktat og 0,13% acetat (tabel 1).

Tabel 1. Kemiske parametre for de fire coleslaw-produkter med varierende indhold af fermenteret gulerod (forsøg 1/forsøg 2).

Forsøg	Produkt	pH	Salt (%)	Vand (%)	Acetat (%)	L-laktat (%)
1/2	1 (0%)	6,3 / 6,2	0	90,8 / 90,3	0,02 / 0,01	0,00 / 0,00
1/2	2 (10%)	6,0 / 6,1	0	90,8 / 90,5	0,03 / 0,03	0,00 / 0,00
1/2	3 (30%)	5,4 / 5,6	0	91,2 / 91,0	0,06 / 0,05	0,00 / 0,00
1/2	4 (100%)	4,6 / 4,6	0	92,0 / 92,4	0,13 / 0,13	0,03 / 0,02

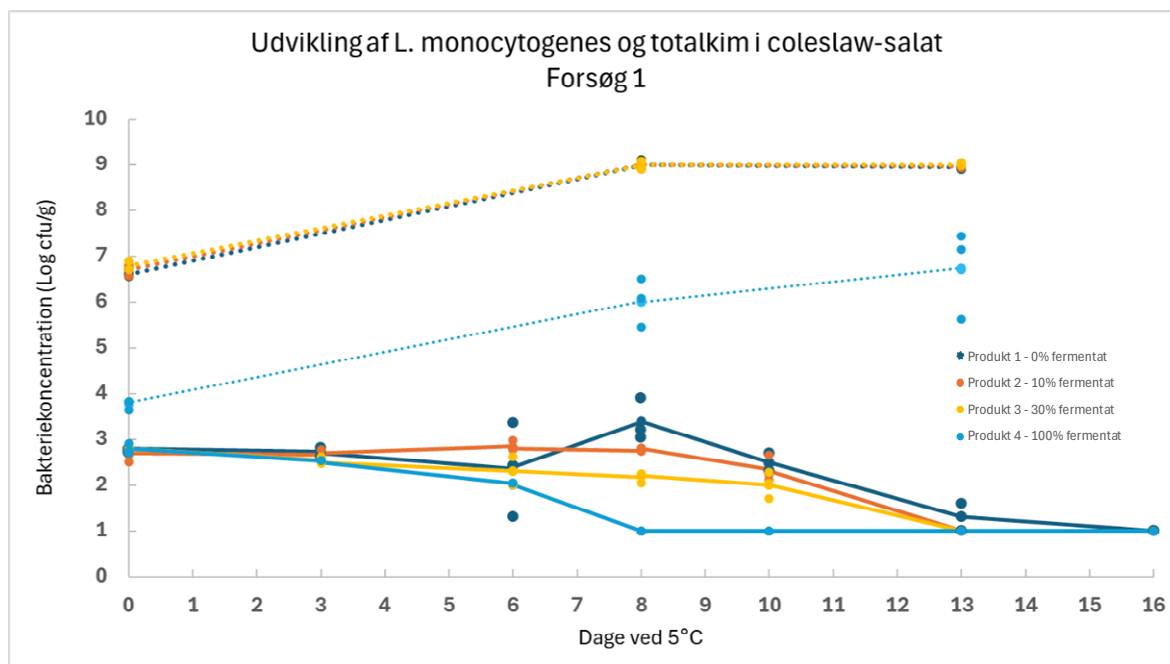
Total laktat er på samme niveau som L-laktat. Havde der været vækst af fx *Leuconostoc*, ville der være både L- og D-laktat i tæt på forholdet 1:1. Vækst af *Lactococcus* derimod producerer primært L-laktat (forhold L:D er ca. 95:5).

4.2.1 Vækst af *Listeria*

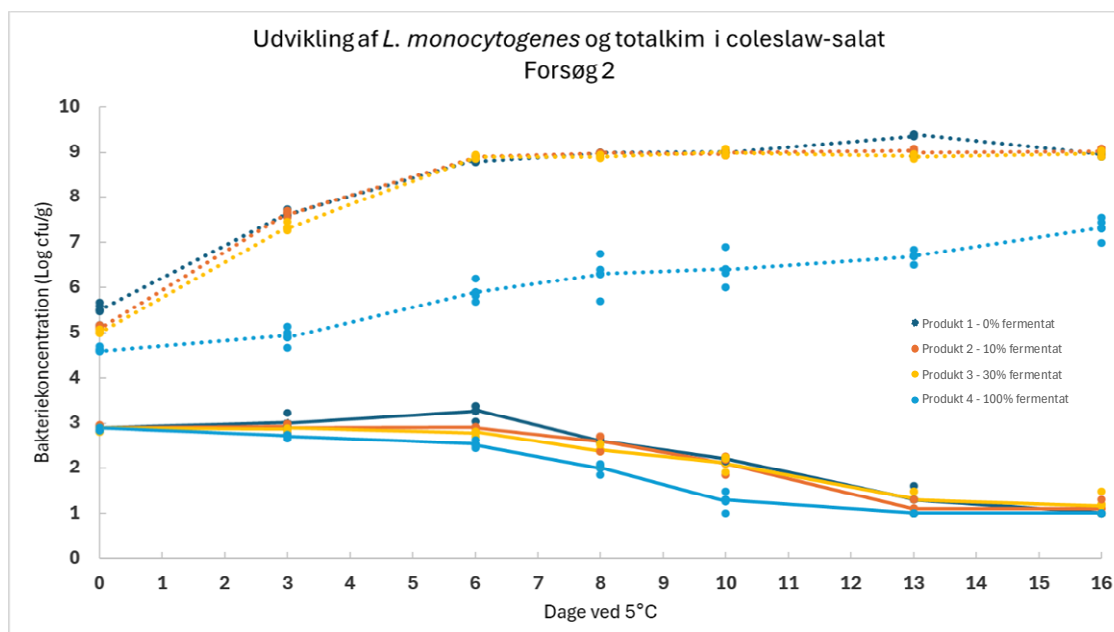
Listeria monocytogenes voksede ikke i den undersøgt coleslaw. Det er overraskende, idet de målte kemiske værdier burde tillade god vækst af *Listeria*. En mulig forklaring er det høje antal af naturligt forekommende bakterier, som hurtigt bliver domineret af *Leuconostoc*.

Det er derfor ikke muligt at konkludere, om fermenterede gulerødder kan hæmme vækst af *Listeria* i coleslaw.

Resultaterne viser, at når de naturligt forekommende bakterier i coleslaw når deres maksimale antal, fås et lille fald i antallet af *Listeria* i prøverne. Dette fald ses lidt tidligere i produkter, hvor alle friske gulerødder er erstattet af de fermenterede (100%). I disse prøver har totalkim heller ikke nået det maksimale antal, da henfaldet af *Listeria* starter. Tilsætningen af 100% fermenterede gulerødder har sandsynligvis en effekt på henfaldet af *Listeria* som følge af det lave pH på 4,6 i produktet.



Figur 3. Udvikling i koncentrationen af *Listeria monocytogenes* (fuldt optrukne linjer, —) og totalkim (stiplede linjer, ···) i produkt 1 (0% fermentat – pH 6,2, mørkeblå), produkt 2 (10% fermentat – pH 6,0, orange), produkt 3 (30% fermentat – pH 5,6, gul) og produkt 4 (100% fermentat – pH 4,6, lyseblå) under lagring af coleslaw-salat ved 5°C i 16 dage (forsøg 1).



Figur 4. Udvikling i koncentrationen af *Listeria monocytogenes* (fuldt optrukne linjer, —) og totalkim (stiplede linjer, ···) i produkt 1 (0% fermentat – pH 6,2, mørkeblå), produkt 2 (10% fermentat – pH 6,0, orange), produkt 3 (30% fermentat – pH 5,6, gul) og produkt 4 (100% fermentat – pH 4,6, lyseblå) under lagring af coleslaw-salat ved 5°C i 16 dage (forsøg 2).



4.2.2 Vækst af naturligt forekommende bakterier (*Leuconostoc*)

I forsøg 1 betyder tilsætning af kun fermenterede gulerødder (100%), at startkimtallet er væsentlig lavere end i holdene med 0-30% fermenterede gulerødder. I forsøg 2 ses denne forskel ikke.

Der er ingen forskel på væksthastigheden af den naturlige mikrobiota, når der tilsættes 0-30% fermenteret gulerod (pH 6,3 faldende til pH 5,6); men i produktet, hvor der kun er tilsat fermenterede gulerødder sammen med de øvrige ingredienser, ses en væsentlig langsommere vækst af de naturligt forekommende bakterier. Og antallet når ikke det maksimale, i de 13-16 dage forsøget løb. Dette indikerer, at fermenterede gulerødder kan anvendes til at forlænge holdbarheden, sandsynligvis primært ved at sænke pH i produktet.

4.2.3 Dominerende bakterier i coleslaw

Med 16S-analyse blev produkternes indhold af bakterie-DNA analyseret. Ved analysen måles DNA fra både levende og døde bakterieceller. Resultatet viser den procentvise sammensætning af bakterie-DNA i en prøve. Det er derfor kun de dominerende bakteriers DNA, der kan ses. Resultaterne er vist i bilag 8.2.

Coleslawprodukternes mikrobiota på dag 0 bestod af flere forskellige bakterier, hvor DNA fra gramnegative arter var de dominerende, bl.a. *Pseudomonas*. Der blev også fundet *Leuconostoc* i alle prøverne. Jo mere fermenteret gulerod, der blev tilsat, des større andel af bakterie DNA'et blev udgjort af *Leuconostoc*. Efter 8-13 dages lagring var mikrobiotaen domineret af *Leuconostoc* spp. i alle prøver.

Disse resultater viser, at *Leuconostoc* bliver dominerende i MA-pakket coleslaw under lagring ved 5°C uanset mængden af anvendt fermenteret gulerod. *Leuconostoc* er en heterogen mælkesyrebakterie, der bl.a. producerer CO₂, hvilket kan føre til pustning af pakkerne og dermed kassation/reklamationer. Målingerne af pakkegassen viser også en stigning i CO₂.

4.3 Konklusion

Fermenteret gulerod sænker pH i coleslaw, jo mere der tilsættes, des lavere bliver pH.

Da *Listeria monocytogenes* ikke voksede i coleslaw med eller uden fermenterede gulerødder, er det ikke muligt at vurdere, om de fermenterede gulerødder kunne have



en væksthæmmende effekt i salat. Det er overraskende, at *L. monocytogenes* ikke voksede i coleslaw, da der internationalt har været udbrud af listeriose relateret til coleslaw, og det målte pH er så højt, at der burde være vækst. En mulig forklaring kan være det relativt høje startantal af bakterier, heriblandt *Leuconostoc*, som er kendt for at hæmme vækst af fx *Listeria*.

Tilsætningen af 100% fermenterede gulerødder resulterede i et lavere pH (pH 4,6) og hæmmede væksten af den naturlige mikrobiota i den undersøgte coleslaw. Når de naturligt forekommende bakteriers vækst kan hæmmes, vil det kunne betyde en forbedret holdbarhed, målt som mindre vækst af den naturlige mikrobiota og en mindre luftproduktion (ingen pustning af pakkerne).

Den primære årsag til den konserverende effekt vurderes at være det lavere pH og indholdet af acetat. For at opnå en antimikrobiel effekt skal der tilsættes en stor mængde fermenteret gulerod. Derfor er det vigtigt at fokusere den videre udvikling på, i hvilke produkter de fermenterede gulerødder kan bidrage positivt til den sensoriske kvalitet af produktet.

5 Holdbarhed af gryderet tilsat fermenterede svampe

Forsøgene har til formål at undersøge den antimikrobielle effekt af fermenterede svampe, tilsat i forskellige koncentrationer, på væksten af *B. cereus* og *C. botulinum* i varmebehandlede gryderetter.

Undersøgelsen skal give viden om, hvorvidt – og i hvilket omfang – fermenterede svampe kan forbedre fødevarerens sikkerheden i gryderetter, samt identificere den optimale koncentration for maksimal antimikrobiel effekt uden at kompromittere produktets struktur og sensoriske kvalitet.

5.1 Forsøgsdesign

Gryderetter blev fremstillet i tre varianter med 0%, 15% og 27% fermenterede svampe tilsat. Produkterne blev leveret færdigproduceret til Teknologisk Institut på to forskellige dage (forsøg 1 og forsøg 2).

For hver variant (0%, 15% og 27%) blev der gennemført tre forsøgsserier:

- A) **Upodet:** Prøverne blev varmebehandlet til 72°C i centrum i 2 minutter og anvendt til holdbarhedsforsøg, herunder analyser for pH, kimtal, sensorik (kun forsøg 1) og mikrobiotasammensætning (16S) ved start, midtvejs og ved afslutning af lagringsperioden.
- B) **Podet med *B. cereus*:** Prøverne blev podet med sporer af *B. cereus* for at undersøge vækst og overlevelse under lagring og herefter varmebehandlet til 72°C i centrum i 2 minutter. Der blev desuden analyseret for pH, kimtal, Bacillus-tal og mikrobiotasammensætning (16S) ved start, midtvejs og ved afslutning af lagringsperioden.
- C) **Podet med *C. botulinum*:** Prøverne blev podet med sporer af *C. botulinum* for at undersøge vækst og overlevelse under lagring og blev herefter varmebehandlet til 72°C i centrum i 2 minutter. Der blev desuden analyseret for pH, kimtal, Bacillus-tal og mikrobiotasammensætning (16S) ved start, midtvejs og ved afslutning af lagringsperioden.

Efter varmebehandling blev produkterne straks nedkølet og lagret ved enten 5°C og efterfølgende 10°C (forsøg 1) eller ved 8°C (forsøg 2) under aerobe betingelser (Bacillus) eller anaerobe betingelser (Clostridium). Under lagringen blev den mikrobielle udvikling målt ved analyser af:

- **A-serier (upodede):** Prøver blev fortyndet og udpladet på BBCAA, BHI-A samt RCM.
- **B-serier (podet med *Bacillus*):** 25 g prøve blev fortyndet og udpladet på BBCA (overfladespredning) og BHI-A (dybdeudsæd).
- **C-serier (podet med *Clostridium*):** 4-6 g prøve blev fortyndet og udpladet på RCM agar under anaerobe forhold og inkuberet anaerobt ved 30°C i 3 dage; kontrolplader blev desuden inkuberet aerobt.

Alle plader blev inkuberet i 3 dage, hvorefter kolonier blev talt. I tvivlstilfælde eller ved uidentificerbare kolonier blev der udført supplerende 16S-analyser.

Derudover blev der udtaget prøver til kemiske analyser. Følgende parametre blev analyseret: pH, salt, vand, laktat og acetat.



5.2 Resultater

Gryderetten havde som udgangspunkt et relativt lavt pH på 5,5-5,6. Ved tilsætning af 15% fermenterede svampe faldt pH med ca. 0,1 enhed, og tilsætning af 27% resulterede i et pH-fald på 0,4 enheder (tabel 2). De lave pH-værdier vil have en væksthæmmende effekt på *Bacillus* og *Clostridier*. Indholdet af organiske syrer steg også ved tilsætning af fermentater. Et lavere pH og øget indhold af organiske syrer forventes at påvirke bakteriernes vækst.

Tabel 2. Kemiske analyser af tre gryderetter med varierende indhold af fermenterede svampe (forsøg 1/forsøg 2, dag 0)

Produkt	pH	Salt (%)	Vand (%)	Acetat (%)	L-laktat (%)
1 (0%)	5,5 / 5,6	1,05 / 0,8	84,1 / 79,4	0,03 / 0,05	0,15 / 0,19
2 (15%)	5,4 / 5,2	1,38 / 0,9	80,3 / 84,3	0,05 / 0,06	0,33 / 0,25
3 (27%)	5,1 / 5,1	1,16 / 0,8	83,1 / 83,3	0,06 / 0,06	0,34 / 0,22

pH i saucen i forsøgene var: hold 1: 5,5; hold 2: 5,0; hold 3: 5,0

På dag 61 blev gryderetternes indhold af organiske syrer analyseret (tabel 3). Resultaterne var sammenlignelige med analyserne på dag 0 og viser, at der primært er dannet L-laktat i de fermenterede svampe, men at de indeholder en smule D-laktat. Det understøtter tidligere 16S resultater, som viste, at fermentatet indeholdt DNA fra *Lactococcus*.

Tabel 3. Kemiske analyser af tre gryderetter med varierende indhold af fermenterede svampe (forsøg 2, dag 61)

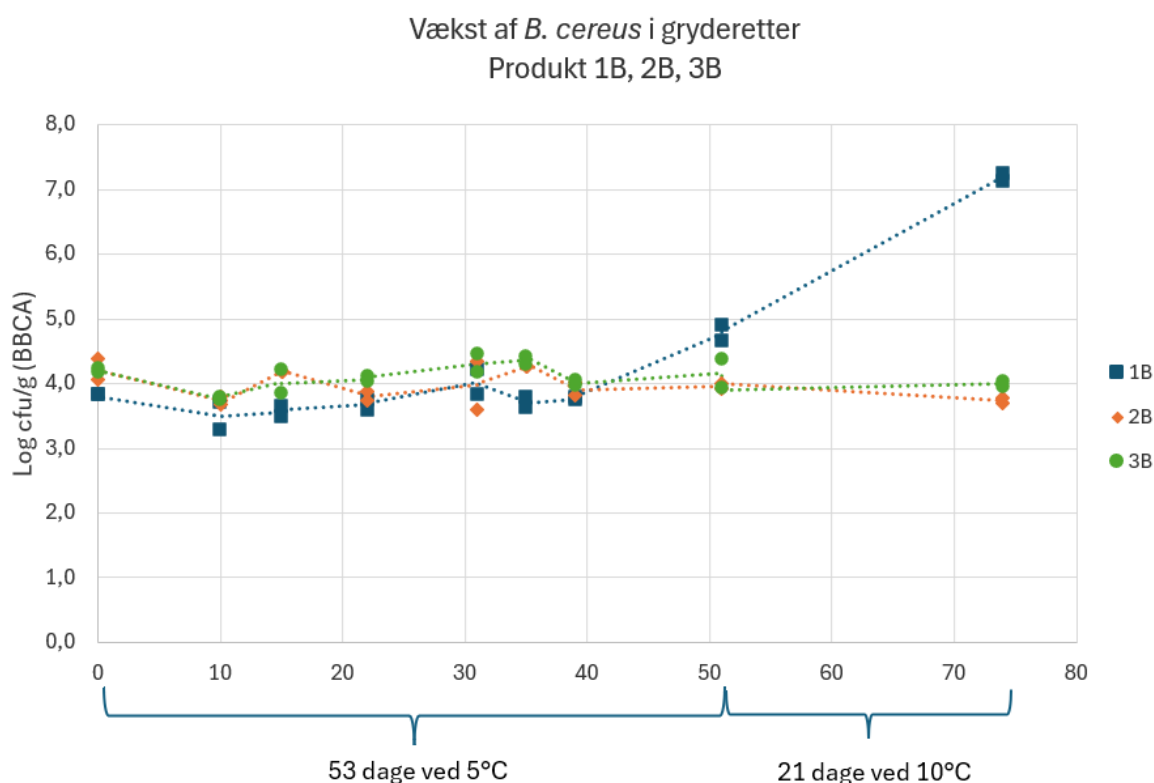
Produkt	pH	Acetat (%)	L-laktat (%)	Total laktat (%)
1 (0%)	5,5/5,5/5,6	0,03/0,04/0,04	0,19/0,18/0,20	0,20/0,20/0,22
2 (15%)	5,1/5,2/5,2	0,04/0,05/0,04	0,26/0,25/0,28	0,31/0,31/0,33
3 (27%)	5,1/5,2/5,2	0,04/0,04/0,04	0,23/0,24/0,23	0,29/0,30/0,29

5.2.1 Vækst af *Bacillus*

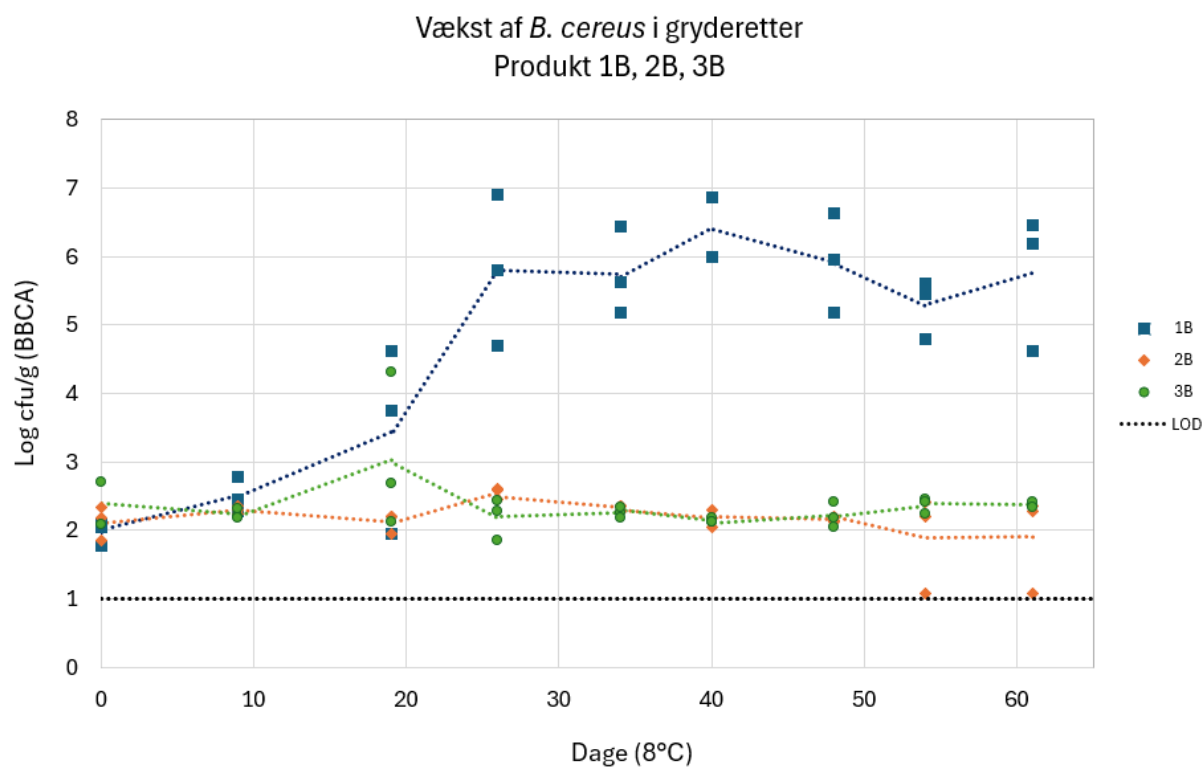
I forsøg 1 blev gryderetterne opbevaret ved 5°C i 53 dage, hvilket ikke resulterede i vækst af *Bacillus* i gryderetterne. Temperaturen blev derfor hævet til 10°C i de sidste 21 dage af forsøget for at simulere temperaturbelastning.

I gryderet uden fermenterede svampe steg antallet af *B. cereus*, da temperaturen blev øget til 10°C. Men i produkterne med 15% hhv. 27% fermenterede svampe blev der ikke fundet vækst *B. cereus* (figur 5).

I forsøg 2 (figur 6), hvor lagringstemperaturen var 8°C i hele forsøget, blev der ikke fundet vækst af *B. cereus* i 61 dage, når der var tilsat 15% hhv. 27% fermenterede svampe. I produktet uden fermenterede svampe steg antallet af *B. cereus* fra 2 log cfu/g (dag 0) til mellem 5 og 7 log cfu/g efter ca. 25 dage.



Figur 5. Forsøg 1: Vækst af *Bacillus cereus* i varmebehandlet gryderet under lagring af gryderet ved 5°C i 53 dage efterfulgt af 21 dage ved 10°C. Produkt 1B (ikke tilsat fermenterede svampe) – pH 5,5 (mørkeblå); Produkt 2B (15% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,3 (orange); Produkt 3B (27% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,1 (grøn).



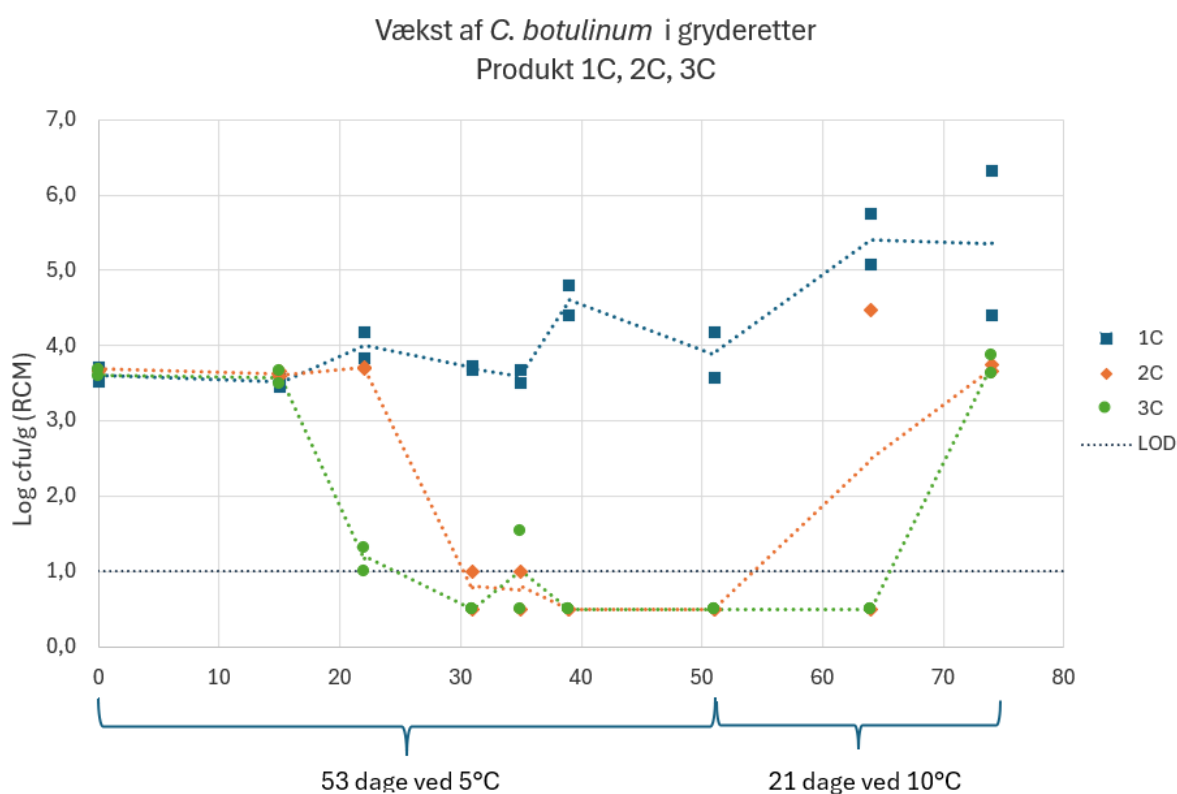
Figur 6. Forsøg 2: Vækst af *Bacillus cereus* i varmebehandlet gryderet under lagring af gryderet ved 8°C i 61 dage. Produkt 1B (ikke tilsat fermenterede svampe) – pH 5,6 (sauce pH 5,5) (mørkeblå); Produkt 2B (15% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,2 (sauce pH 5,0) (orange); Produkt 3B (27% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,1 (sauce 5,0) (grøn).

5.2.2 Vækst af *Clostridium*

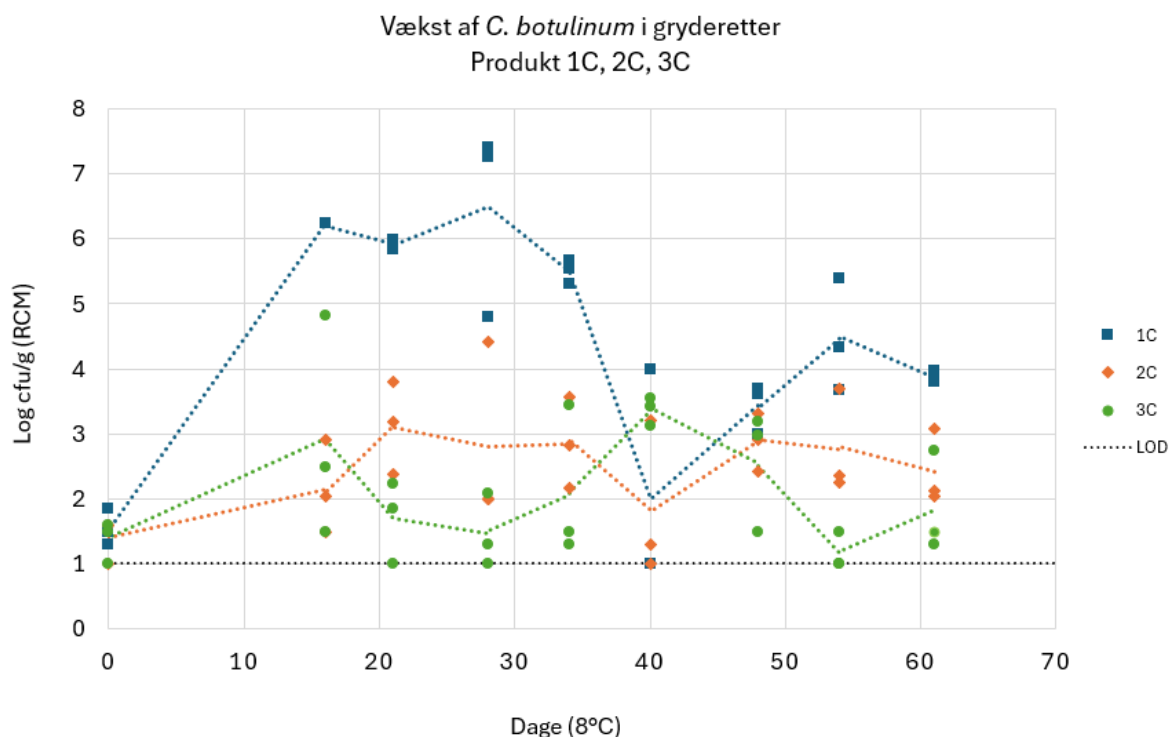
I forsøg 1 blev gryderetterne opbevaret ved 5°C i 53 dage, hvilket ikke resulterede i tydelig vækst af *C. botulinum*. Temperaturen blev derfor hævet til 10°C i de sidste 21 dage af forsøget for at simulere temperaturbelastning.

I gryderetten uden fermenterede svampe steg antallet af *C. botulinum* måske ganske lidt ved 5°C, men det er svært at vurdere. Ved 10°C var der tydelig vækst. I produkter tilsat fermenterede svampe faldt antallet af dyrkbare *C. botulinum* i løbet af de første 20-30 dage ved 5°C. Faldet sås først i gryderetten med 27% fermenterede svampe og lidt senere i gryderet tilsat 15% fermenterede svampe. Indtil temperaturen blev øget fra 5°C til 10°C, lå antallet af dyrkbare *C. botulinum* i et antal lige omkring detektionsgrænsen. De sidste 21 dage, hvor temperaturen blev øget til 10°C, ses en stigning i antallet af *C. botulinum* fra 1 log cfu/g til ca. 4 log cfu/g (som er identisk med podeniveauet).

I forsøg 2 blev produkterne opbevaret ved 8°C i 61 dage. I produktet uden fermenterede svampe steg antallet af *C. botulinum* til 6-7 log efter 15-30 dage. Herefter faldt antallet af dyrkbare clostridier. I gryderetterne tilsat fermenterede svampe ses meget varierende resultater ved hvert udtag. Der måles mellem 1 og 5 log cfu/g efter 15-30 dage. Det betyder vækst i nogle prøver og ikke i andre. Det er uvist, hvorfor der ses så uensartet vækst i gryderetterne. En forklaring er måske, at produktet er meget heterogent.



Figur 7. Forsøg 1: Vækst af *Clostridium botulinum* i varmebehandlet gryderet. Produkt 1C (ikke tilsat fermenterede svampe) – pH 5,5 (mørkeblå); produkt 2C (15% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,3 (orange); produkt 3C (27% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,1 (grøn) under lagring af gryderet ved 5°C i 53 dage efterfulgt af 21 dage ved 10°C. Punkter under 1 log cfu/g er prøver uden målte kolonier på agarpladerne (kimtal under detektionsgrænsen).



Figur 8. Forsøg 2: Vækst af *Clostridium botulinum* i varmebehandlet gryderet under lagring ved 8°C i 61 dage. Produkt 1C (ikke tilsat fermenterede svampe) – pH 5,6 (sauce pH 5,5) (mørkeblå); Produkt 2B (15% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,2 (sauce pH 5,0) (orange); Produkt 3B (27% svampe erstattet med fermenterede svampe) – pH 5,1 (sauce 5,0) (grøn)

5.2.3 Vækst af naturligt forekommende bakterier

I forsøg 1 var der i de upodete gryderetter ingen vækst af den naturlige mikrobiota i prøver tilsat fermenterede svampe. I holdet uden fermenterede svampe blev der efter 74 dage (53 dage v/5°C+21 dage v/10°C) fundet aerobe kimtal på 1 log cfu/g hhv. 7,5 log cfu/g. 16S sekventering viste, at det var *Bacillus* spp., der var vokset frem i prøven.

I forsøg 2 indikerer data, at der har været vækst af forskellige clostridier i prøverne podet med *Bacillus*. På dag 61 viste 16S analyserne, at der var DNA fra *Clostridium frigidicarnis*, *Clostridium bowmanii*, *Clostridium arbusti* og *Clostridium* spp. i prøver tilsat fermentat, og i prøver uden fermentat blev der påvist *Clostridium botulinum*. Ved forsøgene er disse clostridier ikke isoleret på agarplader.

Resultaterne indikerer således, at der sporadisk findes bacillus- og clostridiesporer, som overlever varmebehandlingen. De fermenterede svampe hæmmer væksten af *Bacillus*, mens clostridierne måske ikke hæmmes så godt. Flere forsøg er nødvendige for at afklare dette.



5.3 Konklusion

De fermenterede svampe reducerer pH i gryderetten fra pH 5,5-5,6 til 5,1-5,2. Tilsætning af de fermenterede svampe hindrer vækst af *Bacillus cereus*, når gryderetten efter lagring i 50 dage ved 5°C temperaturlastes ved 10°C i 21 dage. Ligeledes hindres vækst af *B. cereus* i gryderetter, hvor hhv. 15% og 27% af de friske svampe erstattes med fermenterede svampe.

Tilsætning af de fermenterede svampe hindrer vækst af *Clostridium botulinum* i gryderetten under lagring i 50 dage ved 5°C. Ved tilsætning af fermenterede svampe falder antallet af dyrkbare clostridier til omkring detektionsgrænsen. Det skal dog bemærkes, at det er svært at afgøre, om der var vækst i gryderetten uden fermenterede svampe.

Når gryderetten efter 50 dage ved 5°C temperaturlastes ved 10°C i 21 dage, stiger antallet af clostridier i kontrollen uden fermenterede svampe. I gryderet tilsat fermenterede svampe kan *C. botulinum* tælles i et antal på niveau med podeniveauet. Om det skyldes vækst ved 10°C, eller at *C. botulinum* går fra ikke at kunne dyrkes til at kunne dyrkes på agarpladerne, vides ikke. Men da der er kimtal over 4 log i nogle prøver, vurderes det, at vækst har været muligt i nicher i gryderetten.

Ved 8°C ses vækst af *C. botulinum* i kontrollen uden fermentat. I gryderetter med fermenterede svampe ses vækst i nogle prøver og ikke i andre prøver. Det er uvist, hvorfor der ses så uensartet hæmning/vækst af clostridierne.

6 Konklusion og anbefalinger til brug af plantefermentater

Formålet med projektet var at undersøge plantefermentaters holdbarhedsforbedrende effekt i ready-to-eat-salater som coleslaw samt i varmebehandlede gryderetter.

Screening

Screeningsresultaterne viser, at den største antimikrobielle virkning opnås ved let surt pH (5,7-5,8), hvor hæmzonerne generelt er størst. Dette er et pH, som kan findes i mange fødevarer. Der blev også set effekt ved højere pH, men ikke så markant.

Resultaterne viser, at kraftig/langvarig fermentering til tider giver en øget hæmzone sammenlignet med normal fermentering – især ved neutralt pH. Ved surt pH er forskellen mindre udtalt. Dette tyder på, at længere fermenteringstid kan være relevant især i fødevarer med højere pH, mens effekten er mindre væsentlig i sure produkter.

Økonomi

På baggrund af de to cases (fermenterede gulerødder hhv. champignon) kan det konkluderes, at der er stor forskel på, hvor meget fermenteret produkt der kan anvendes i en fødevare afhængigt af både pris og den sensoriske effekt på slutproduktet. Der er således brug for en vurdering fra produkt til produkt.

Holdbarhed af fermentater

Det anbefales, at produktionen af fermenterede sidestrømme bør sigte mod pH < 4,5, pasteurisering med en holdetid på minimum 72°C i 2 minutter i lukket emballage og opbevaring på køl ved 5°C for at sikre mikrobiologiske stabilitet og forhindre vækst af sygdomsfremkaldende bakterier.

Coleslaw

I ready-to-eat salat havde fermenterede gulerødder en væksthæmmende effekt på den naturlige bakterieflora, som var domineret af *Leuconostoc*. Årsagen er sandsynligvis det meget lave pH på pH 4,6, der blev opnået i coleslaw, hvor alle friske gulerødder var erstattet med fermenterede gulerødder.

Gryderetter

I gryderetter blev vækst af *B. cereus* tydeligt hæmmet ved brug af de fermenterede svampe (15% hhv. 27% erstatning af friske svampe). En del af årsagen er et lidt lavere pH, men det vurderes, at dette ikke er den eneste årsag. Hvilke metabolitter, der er medvirkende til hæmningen, er uvist.

I gryderetter blev vækst af *C. botulinum* hæmmet ved brug af de fermenterede svampe (15% hhv. 27% erstatning af friske svampe). Men der er meget stor spredning i antallet af clostridier ved analyserne. I nogle prøver ses vækst, mens der i andre ses et henfald. Årsagen til denne uensartede effekt er ikke identificeret. En sikker brug af fermenterede champignon med henblik på at hæmme *C. botulinum* kræver yderligere fokus på applikation og test.

Perspektivering

Resultaterne viser samlet, at fermenterede gulerødder og svampe har antimikrobiel effekt i fødevarer. Det gør fermentater interessante i forhold til at forbedre holdbarhed og fødevarer sikkerhed uden brug af kemiske konserveringsmidler.



Effekten ser ud til at være specifik på nogle bakterier. Fremtidig brug af fermentater kræver derfor fortsat fokus på at analysere effekten i nye fødevarematricer og overfor flere uønskede bakterier.

Ligeledes viser resultaterne, at fermentering og varmebehandling af sidestrømme og restprodukter fra dyrkning af vegetabilier giver et stabilt produkt med en god holdbarhed, som kan anvendes som ingrediens i fødevarer.

7 Referencer

Jacobsen, M. (2026) Plantefermentaters antimikrobielle effekt i coleslaw. Teknologisk Institut, rapport

Jacobsen, M., C. Akhlaghour og A.G. Koch (2026) Plantefermentaters antimikrobielle effekt i varmebehandlet gryderet. Teknologisk Institut, rapport

Koch, A.G. & Jacobsen (2025) Screening for fermentaters antimikrobielle effekt (agar assay). Teknologisk Institut, rapport

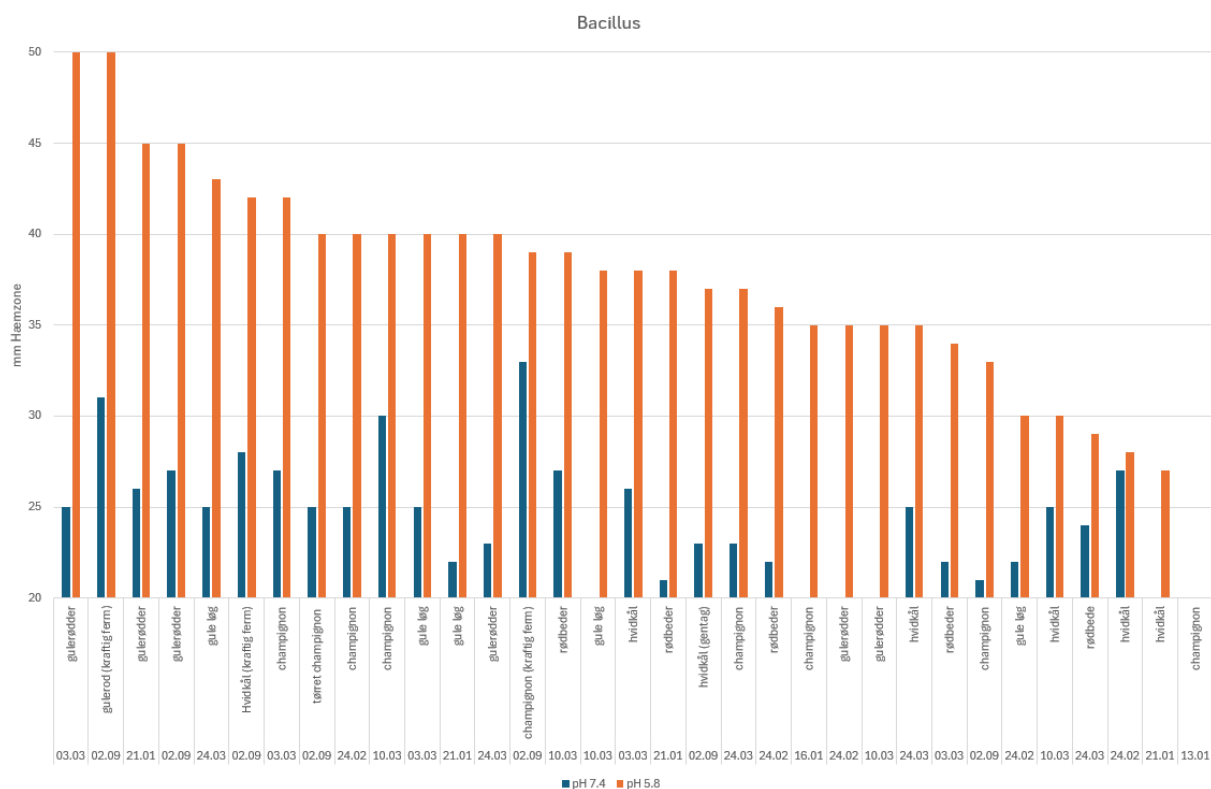
Hansen, F. & A.G. Koch (2026) Sensorisk og økonomisk vurdering. TVM/Teknologisk Institut, notat



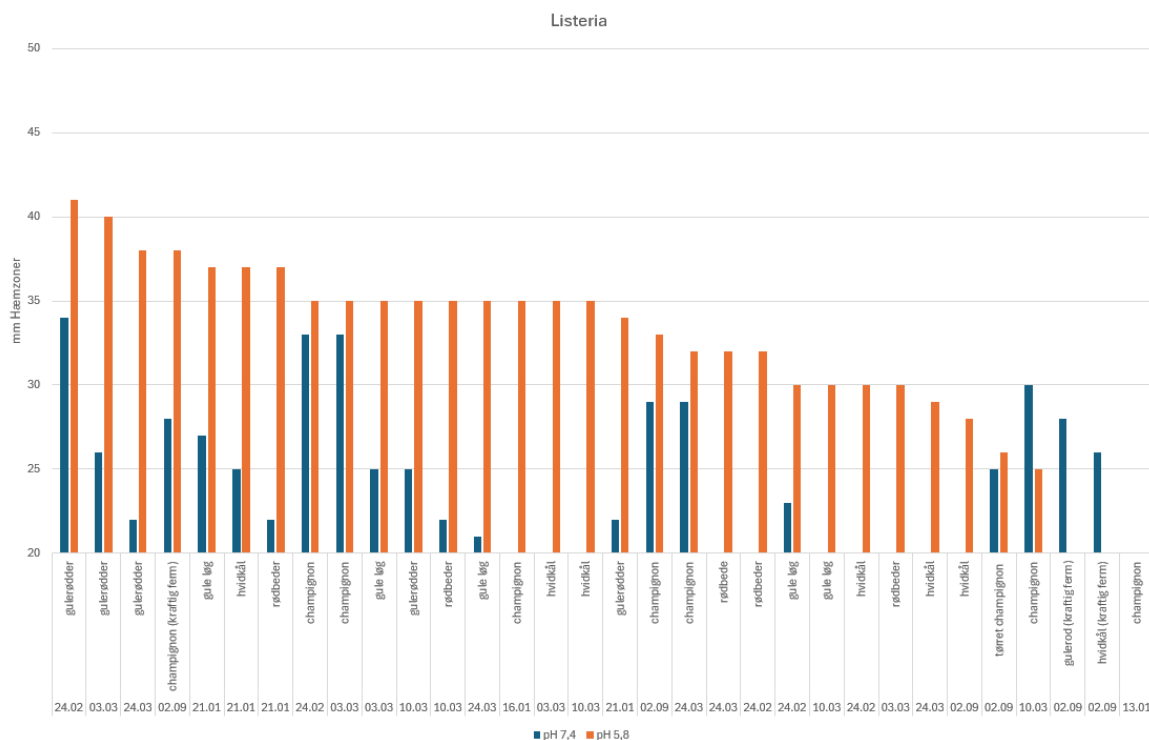
8 Bilag

8.1 Antimikrobiel effekt målt i agar-diffusionsassay

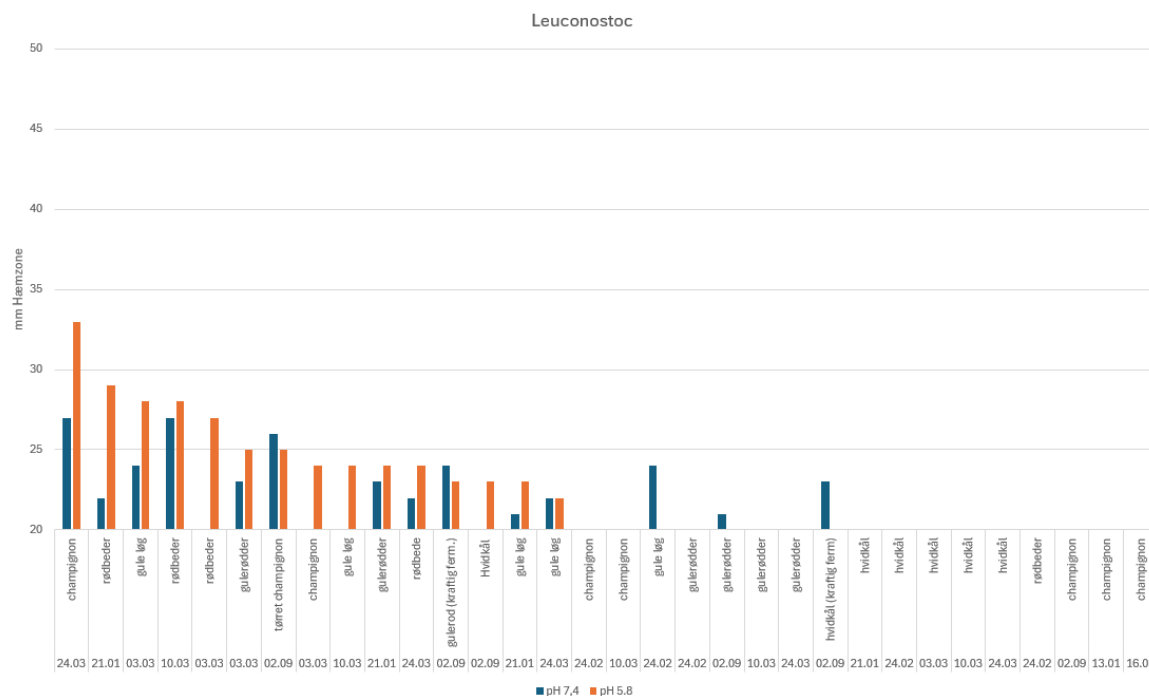
Hullet med fermentat måler 20 mm, derfor er en zone på 20 mm = ingen væksthæmning



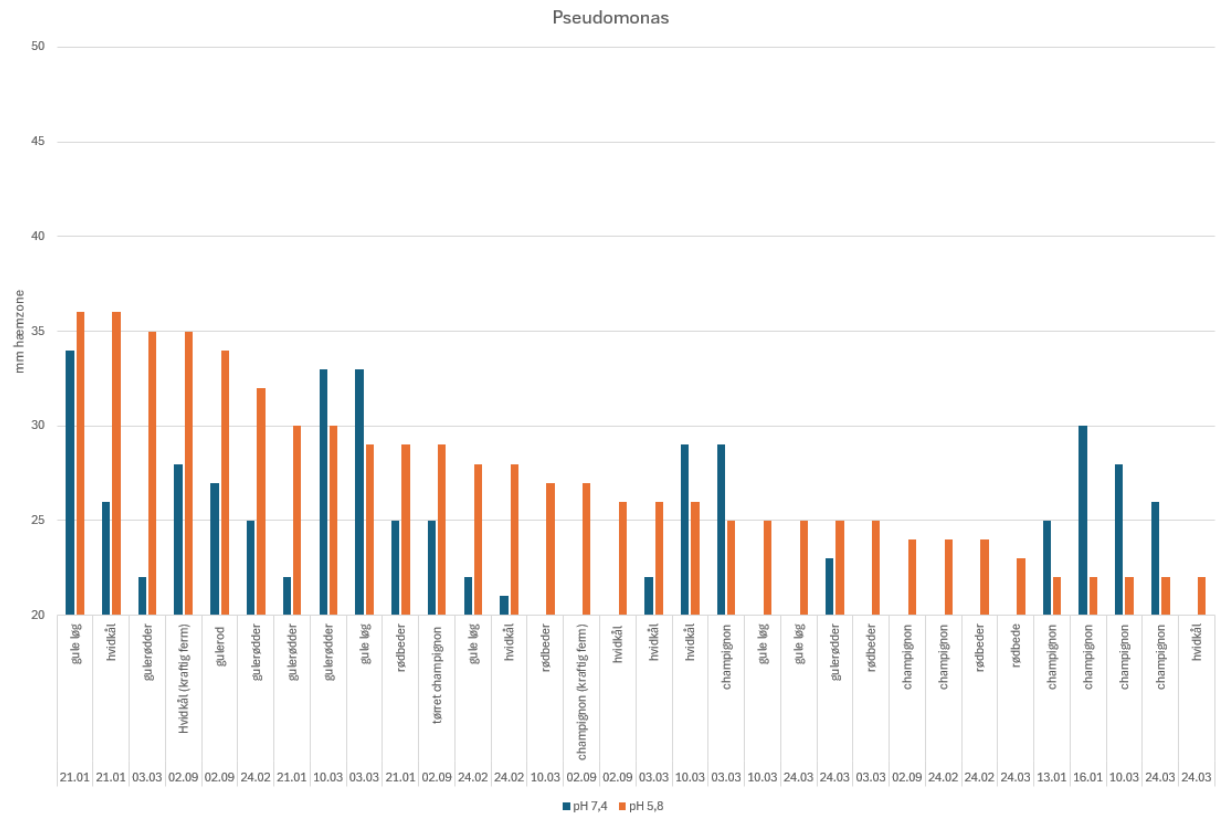
Hæmning af *Bacillus* sorteret efter hæmzonernes størrelse. BHI-agar med pH 7,4 hhv. 5,7-5,8, inkuberet aerobt ved 10°C.



Hæmning af *Listeria* sorteret efter hæmzonernes størrelse. BHI-agar med pH 7,4 hhv. 5,7-5,8, inkuberet aerobt ved 10°C.



Hæmning af *Leuconostoc* sorteret efter hæmzonernes størrelse. BHI-agar med pH 7,4 hhv. 5,7-5,8, inkuberet aerobt ved 10°C.



Hæmning af *Pseudomonas* sorteret efter hæmzonernes størrelse. BHI-agar med pH 7,4 hhv. 5,7-5,8, inkuberet aerobt ved 10°C.



8.2 Mikrobiota i coleslaw

Family	Genus	1 upodet-0	2 upodet-x-0	3 upodet-0	4 upodet-0	1 upodet-8	2 upodet-8	3 upodet-8	4 upodet-8	4 upodet-xx-8	1 upodet-13	1x upodet-13	1xx upodet-13	2 upodet-13	2 upodet-x-13	2.2 upodet-xx-13	3 upodet-13	3 upodet-x-13	3 upodet-xx-13	4 upodet-13	4 upodet-x-13	4 upodet-xx-13
Leuconostocaceae	Leuconostoc	2,8	3,4	4,7	69,7	91,4	79,1	96,8	83,3	89,5	97,2	97,8	97,5	93,9	97,4	96,7	99,1	98,6	98,6	99,4	89,9	98,9
Yersiniaceae	Serratia	4,0	16,3	21,3	8,2	3,3	10,4	0,8	3,8	2,1	0,8	0,6	1,0	2,8	0,9	1,0	0,1	0,2	0,3	0,0	1,7	0,1
Yersiniaceae	Rahnella1	7,0	10,3	16,0	11,3	2,4	7,7	0,7	5,3	3,9	0,6	0,5	0,6	2,1	0,6	0,9	0,1	0,2	0,2	0,0	2,7	0,2
Erwiniaceae	Erwinia		17,2	20,7	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1
Streptococcaceae	Lactococcus	0,8	0,0	0,0	2,3	1,7	0,9	0,7	0,9	1,2	0,9	0,8	0,5	0,5	0,7	0,8	0,3	0,6	0,4	0,0	1,2	0,0
Lactobacillaceae	Lactobacillus	0,3	0,4	0,3	0,0	0,4	0,4	0,3	4,4	1,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	2,1	0,7
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	53,8	33,9	32,0	3,2	0,1	0,6	0,5	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0
Oxalobacteraceae	Duganella	11,3	1,7	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Øvrige taxa (<1%)	20,1	16,8	2,3	4,8	0,6	1,0	0,1	2,3	1,9	0,1	0,1	0,2	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	0,0

Figur 9. Forsøg 1: Bakteriesammensætning i coleslaw-produkter med varierende indhold af fermenteret gulerod, dag 0, 8 og 13 (ikke podede prøver).

Family	Genus	1 podet-16	1 podet-x-16	1 podet-xx-16	2 podet-16	2 podet-x-16	2 podet-xx-16	3 podet-16	3 podet-x-16	3 podet-xx-16	4 podet-16	4 podet-x-16	4 podet-xx-16
Leuconostocaceae	Leuconostoc	95,9	96,6	91,7	93,9	94,8	91,6	99,3	100,0	98,7	98,7	99,1	98,4
Yersiniaceae	Serratia	1,7	1,2	3,6	2,3	2,1	3,9	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Yersiniaceae	Rahnella1	1,1	0,9	3,3	1,7	1,7	3,2	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
Erwiniaceae	Erwinia	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0							
Streptococcaceae	Lactococcus	0,7	0,7	0,3	1,3	0,7	0,3	0,2	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
Lactobacillaceae	Lactobacillus	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2	0,0	0,2	1,3	0,9	1,5
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oxalobacteraceae	Duganella	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Øvrige taxa (<1%)	0,2	0,3	0,8	0,4	0,3	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Figur 10. Forsøg 1: Bakteriesammensætning i coleslaw-produkter med varierende indhold af fermenteret gulerod, dag 16 (podede prøver).

Family	Genus	1 upodet-0																1x upodet-8																1x upodet-13															
		1x upodet-0				2 upodet-0				2.2 upodet-xx-0				3 upodet-0				3 upodet-x-0				3 upodet-xx-0				4 upodet-0				4 upodet-x-0				4 upodet-xx-0				1x upodet-8				1x upodet-13				1x upodet-13			
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	73.5	63.4	75.9	68.3	74.1	68.4	60.6	72.7	44.4	62.0	53.5	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.4	5.5	4.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1														
Leuconostocaceae	Leuconostoc	3.8	3.2	3.7	3.3	3.8	8.6	12.2	9.2	24.6	21.8	28.5	98.7	97.6	98.1	98.9	99.1	99.1	99.7	99.6	99.8	88.4	87.5	90.3	98.6	98.0	98.7	99.4	99.0	99.6	99.4	97.9	96.4																
Erwiniaceae	Erwinia	7.9	15.6	6.4	8.7	8.3	5.7	5.9	4.2	2.4	1.8	1.8	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.4	0.8	0.1	0.1	0.1	0.0	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0															
Yersiniaceae	Serratia	4.5	5.8	4.9	5.8	4.1	7.0	7.7	5.4	5.9	4.3	5.8	0.2	0.5	0.4	0.1	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.6	0.9	1.2	0.3	0.5	0.3	0.07	0.07	0.06	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1														
Yersiniaceae	Rahnella1	4.3	4.9	4.5	5.8	5.0	4.4	5.8	3.8	3.8	2.9	3.4	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.6	0.5	0.2	0.4	0.1	0.03	0.03	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0														
Oxalobacteraceae	Massilia	1.5	2.3	1.4	2.1	1.4	2.2	2.5	1.6	1.9	2.8	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0														
Oxalobacteraceae	Duganella	2.4	2.3	1.1	2.6	1.6	1.6	2.4	1.2	0.2	0.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0														
Clostridiaceae	Clostridium_sensu_stricto_18	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	13.4	0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0														
	Øvrige taxa (<2%)	2.1	2.5	2.1	3.4	1.7	2.1	2.8	2.0	3.5	3.9	4.6	0.9	1.6	1.1	1.0	0.7	0.6	0.3	0.3	0.2	4.3	4.8	2.8	0.8	0.9	0.9	0.5	0.7	0.5	0.9	0.4	0.6	1.9	3.4														

Figur 11. Forsøg 2: Bakteriesammensætning i coleslaw-produkter med varierende indhold af fermenteret gulerod, dag 0, 8 og 13 (ikke podede prøver).

Family	Genus	1-0	1x-0	1xx-0	2-0	2x-0	2xx-0	3-0	3x-0	3xx-0	4-0	4x-0	4xx-0	1-8	1x-8	1xx-8	2-8	2x-8	2xx-8	3-8
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	86,0	66,1	63,3	62,6	73,5	74,2	70,9	64,3	66,4	53,8	55,1	50,4	0,1	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0
Leuconostocaceae	Leuconostoc	2,3	1,7	2,6	8,3	2,7	3,7	9,6	10,3	9,7	27,1	28,2	26,4	97,6	96,5	97,6	97,3	98,0	98,5	99,6
Erwinaceae	Erwinia	3,4	8,9	9,6	9,1	8,5	5,8	4,0	5,2	5,7	1,8	1,6	2,3	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Yersiniaceae	Serratia	2,3	6,8	6,1	6,6	4,2	4,1	4,4	7,2	7,2	5,8	4,4	6,6	0,6	1,1	0,6	0,3	0,3	0,2	0,0
Yersiniaceae	Rahnella1	2,1	4,8	7,0	5,3	3,5	4,7	3,7	4,9	4,0	2,7	3,3	4,1	0,2	0,9	0,4	0,2	0,2	0,1	0,0
Oxalobacteraceae	Massilia	1,6	4,5	4,2	2,5	2,6	2,3	2,6	2,9	2,3	3,3	2,4	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oxalobacteraceae	Duganella	1,3	3,4	4,7	2,8	2,0	2,0	2,6	1,9	1,9	0,8	0,7	0,7	0,0	0,0	0,0	0	0	0	0,0
Clostridiaceae	Clostridium_sensu_stricto_18	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Øvrige taxa (<2%)	1,1	3,8	2,4	2,8	2,9	3,2	2,2	3,2	2,8	4,6	4,3	6,5	1,4	1,2	1,1	2,0	1,4	1,1	0,4

Figur 12. Forsøg 2: Bakteriesammensætning i coleslaw-produkter med varierende indhold af fermenteret gulerod, dag 0, 8 og 13 (podede prøver).

Tidligere 16S-analyser udført på de anvendte gulerodsfermentater viste, at fermentaterne var domineret af DNA fra *Leuconostoc* spp. Fermentaterne var imidlertid pasteuriserede, og de påviste *Leuconostoc*-sekvenser må derfor primært stamme fra døde celler. Det er ikke muligt ud fra data at afgøre, om DNA'et fra *Leuconostoc* oprindeligt stammer fra starterkulturen, men det er påfaldende, at der ses en højere andel DNA fra *Leuconostoc* på dag 0 i de prøver, der er tilsat 100% fermentat. Samlet viser sekventeringen, at *Leuconostoc* bliver dominerende i alle 4 produkter i begge forsøg.