

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP





## Forord

Denne mastergradsoppgaven ble utført ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap ved Universitetet for miljø- og biovitenskap våren 2010.

En stor takk skal rettes til mine veiledere Professor Roger K. Abrahamsen og Professor Judith A. Narvhus ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap for deres gode veiledning og tålmodighet i løpet av semesteret.

Mange har hjulpet meg med det praktiske arbeidet underveis. En stor takk til ansatte i Pilotanlegget for hjelp med diafiltrering og yoghurtproduksjon, og takk til laboratoriepersonellet ved instituttet for tilrettelegging og for hjelp til både stort og smått. En spesiell takk til Kari Olsen for hjelp med HPLC'n. Takk til TINE for MMP-pulver og takk til Anne-Grethe Johansen for innføring i, og hjelp ved gjennomføring av analyser.

Jeg vil også gi en stor takk til alle som stilte opp som dommere i det sensoriske dommerpanelet, og til slutt vil jeg takke mine medstudenter for en fin tid.

Ås, 18 mai 2010

---

Marlin Øvregård Løvås

---

---

---

## Sammendrag

Formålet med denne oppgaven var å fremstille en laktoseredusert yoghurt med lavt energiinnhold og tilfredsstillende smak og konsistens. Samtidig ville en undersøke yoghurtkulturens karbohydratmetabolisme. Melk ble laktoseredusert til 1,7 % ved bruk av diafiltrering og proteininnholdet ble konsentrert til 4,09 % ved bruk av ultrafiltrering. Det ble produsert seks laktosereduserte yoghurter og to kontroll yoghurter. Kontroll yoghurtene ble tilsatt 2,5 % skummetmelkpulver og inneholdt 4 % fett. De laktosereduserte yoghurtbasene ble laget med 0, 2 eller 4 % fett, og ble tilsatt hhv 4, 2 eller 0 % mikropartikulært myseprotein (MMP) fra TINE. Hensikten med denne tilsetningen var å undersøke om MMP kan fungere som en fettestatter i yoghurt. Halvparten av hver av de tre laktosereduserte blandingene og halvparten av kontrollblandingen ble tilsatt 3 % sukrose. Hensikten med å tilsette sukrose var å undersøke om yoghurtkulturen metaboliserer sukrose, og om laktoseinnholdet i så fall har innvirkning på denne metabolismen.

Yoghurtene ble analysert for organiske syrer, karbohydrater, flyktige aromastoffer, viskositet, gelfasthet, sensoriske egenskaper, pH og antall *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Analysene ble gjort på ferske yoghurter og ca 3 ukers kjølelagrede yoghurter.

Laktoseredusert yoghurt var signifikant ( $P > 0,05$ ) forskjellig fra kontroll yoghurtene for de fleste organiske syrer og flyktige aromakomponenter. Ved likt fettinnhold ble de laktosereduserte yoghurtene oppfattet som signifikant mer vassne og de hadde i større grad en besk smak. De laktosereduserte yoghurtene hadde også mindre grad av yoghurt smak og søthet.

Yoghurter tilsatt 2 eller 4 % MMP fikk signifikant ( $P > 0,05$ ) lavere viskositet målt med rheometer enn prøver som inneholdt 4 % fett. De hadde også signifikant svakere gel enn yoghurtene som inneholdt 4 % fett. Yoghurtene som var tilsatt MMP fikk generelt lavere score på de sensoriske egenskapene viskositet og kremethet enn yoghurtene med 4 % fett.

Resultatene tydet på at ved 3 % tilsatt sukker var det mindre galaktose og mer laktose tilstede etter 3 ukers lagring, enn det var i tilsvarende prøver som ikke var tilsatt sukrose etter 3 ukers lagring. Yoghurtene tilsatt 3 % sukrose syrnet raskere enn tilsvarende yoghurter uten sukrose, og pH falt mer under lagring i prøver tilsatt sukrose. Sukrose påvirket ikke balansen mellom *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i yoghurtkulturen,

---

## Sammendrag

---

eller antallet levende yoghurtbakterier under lagring. Yoghurtene med tilsatt sukrose ble oppfattet som signifikant ( $P > 0,05$ ) mer kremet og mindre vassne. Sukker hadde ikke signifikant innvirkning på gelfasthet eller viskositet målt med rheometer.

---

## Abstract

The aim of this work was to produce a lactose –reduced yoghurt with low calorie content and satisfactory flavor and consistency, and at the same time investigate how the yoghurtculture ferment carbohydrates. Milk was lactose-reduced to 1,7 % by diafiltration, and the protein content was concentrated to 4,09 % by ultrafiltration. It was produced six lactose-reduced yoghurts, and two control-yoghurts. The control-yoghurts where added 2,5 % skimmed milk powder (SMP) and had a fat content of 4 %. The lactose-reduced yoghurt bases where made with a fat content of 0, 2 or 4 %, and added 4, 2 or 0 % microparticulated whey protein (MWP), respectively. The MWP was produced by TINE. The purpose of this addition was to investigate whether MWP could act as a fat-replacer in yoghurt. Half of each of the lactose-reduced mixtures and half of the control mixture were added 3 % sucrose. The purpose of adding sucrose was to examine whether the yoghurtculture metabolizes sucrose, and if the case is so, whether this metabolism is affected by the lactose content in the milk or not.

The yoghurts where analyzed for organic acids, carbohydrates, volatile aroma compounds, viscosity, gel firmness, sensory characteristics, pH and amount of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. The analysis where carried out on fresh and on about 3 weeks old yoghurt that had been stored cold (>4°C).

Lactose-reduced yoghurts were significantly ( $P>0,05$ ) different from the control-yoghurts for most organic acids and volatile aroma components. At the same level of fat the lactose-reduced yoghurts were perceived as significantly more watery and had to a greater extent a bitter taste. The lactose-reduced yoghurts also had a smaller degree of the “yoghurt flavor” and they were perceived as less sweet.

Yoghurts containing 2 or 4 % MWP where found to have significantly ( $P>0,05$ ) lower viscosity measured by the rheometer than the yoghurts containing 4 % fat. The gel was also significantly weaker than in yoghurts containing 4 % fat. The yoghurts containing MWP were generally recognized, in the sensory analysis, as less viscous and less creamy than the yoghurts containing 4 % fat.

The results indicated that with an addition of 3 % sucrose there were less galactose and more lactose after 3 weeks of storage, than in the corresponding samples that did not contain sucrose. The yoghurts containing 3 % sucrose fermented faster than the corresponding yoghurts containing no sucrose, and the drop in pH was larger during storage. The sucrose did

---

## Abstract

---

not affect the balance between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in the culture, nor did it affect the growth during storage. Yoghurts added sucrose were perceived as significantly ( $P > 0,05$ ) creamier and less watery than samples without sucrose. Sucrose did not affect the gelfirmness or viscosity measured by the rheometer.

---



**Innholdsliste**

1. Innledning.....	1
2. Teori .....	3
2.1 Melkas komponenter .....	3
2.1.1 Laktose .....	3
2.1.2 Fett.....	4
2.1.3 Proteiner .....	4
2.2 Yoghurt fremstilling .....	5
2.2.1 Standardisering.....	6
2.2.2 Homogenisering .....	7
2.2.3 Varmebehandling .....	7
2.2.4 Tilsetning av kultur, inkubering, nedkjøling, tapping og kjølelagring .....	7
2.3 Yoghurtbakteriene .....	8
2.3.1 Protoco-operation .....	8
2.3.2 Karbohydrat metabolisme .....	8
2.3.3 Aromakomponenter.....	10
2.4 Geldanning .....	11
2.5 Reologi .....	12
2.5.1 Generelt om reologi.....	12
2.5.2 Klassifisering av flytende stoffer .....	13
2.5.3 Måling av viskositet .....	13
2.5.4 Rørt yoghurts viskositet .....	14
2.6 Mikropartikulært myseprotein (MMP).....	15
2.7 Ultrafiltrering og diafiltrering .....	16
3. Materialer og metoder .....	19
3.1 Forforsøk .....	19
3.2 Diafiltrering og ultrafiltrering .....	20
3.3 Yoghurt.....	22
3.4 Analyser .....	23
3.4.1 Utseende .....	23
3.4.1 Mikrobiologiske analyser.....	23

---

## Innholdsliste

---

3.4.2 Kjemiske analyser .....	24
3.4.3 Reologiske analyser.....	27
3.4.4 Sensoriske analyser .....	29
3.4.5 Statistiske analyser .....	29
4. Resultater.....	31
4.1 Forforsøk på yoghurtkulturen.....	31
4.2 Hovedforsøk .....	31
4.2.1 Ultrafiltrering .....	31
4.2.2 Fett og tørrstoffinnhold .....	32
4.2.3 Syrningstid og pH.....	33
4.2.4 Utseende .....	34
4.2.5 Mikrobiologiske analyser .....	36
4.2.6 Kjemiske analyser .....	37
4.2.7 Reologiske analyser.....	54
4.2.8 Sensoriske analyser .....	57
4.2.9 Statistiske analyser .....	69
5. Diskusjon.....	75
5.1. Diafiltrering og ultrafiltrering .....	75
5.2. Syrningstid og pH.....	75
5.3. Utseende .....	76
5.4. Effekt av forsøksfaktorene .....	77
5.4.1. Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold .....	77
5.4.2. Effekt av tilsetning av sukker.....	85
5.4.3 Effekt av uttak .....	88
5.4.4 Effekt av forsøk.....	93
5.5 Syntese .....	95
6. Konklusjon .....	97
7. Referanseliste .....	99
8. Oversikt over vedlegg .....	103

---

## 1. Innledning

Yoghurt er et populært syrnet meieriprodukt som finnes i mange varianter. Ved å diafiltrere melka før syrning vil en kunne lage en laktoseredusert yoghurt. Under diafiltrering fjernes en del av karbohydratene i melka og ved å konsentrere proteinene i stedet for å tilsette skummetmelkpulver vil energiinnholdet i yoghurten bli lavere enn i en vanlig yoghurt. Det sees som en trend at forbrukere vil ha produkter med lavest mulig energiinnhold og lavest mulig innhold av karbohydrater. Ved i tillegg å redusere fettinnholdet vil en få en ytterligere energireduksjon. Melkefettet spiller imidlertid en viktig rolle for yoghurtens reologiske egenskaper. En fetterstatter vil kunne kompensere for det manglende fettet. I denne oppgaven var det ønskelig å finne ut om mikropartikulært myseprotein (MMP) kan brukes som en fetterstatter i laktoseredusert yoghurt og gi tilsvarende egenskaper som det en yoghurt med vanlig fettinnhold har, uten å påvirke produktet i negativ retning i form av smak og konsistens. Resultatet ville i så fall være en yoghurt med lavt innhold av karbohydrater og fett og høyt innhold av protein, noe som kunne vært aktuelt for dagens marked. Produktet vil sannsynligvis også kunne tåles bedre av personer som har en grad av laktoseintoleranse.

Hvordan yoghurtkulturen metaboliserer laktose under syrningen av melka er godt kjent. Mindre kjent er det hvordan, og om, yoghurtkulturen metaboliserer sukrose. Ved å tilsette sukrose til både laktoseredusert yoghurt og kontroll yoghurt, ville en se om bakteriene foretrakk laktose eller sukrose, og om sukrose eventuelt ble metabolisert når det var lite laktose tilstede. Det var også ønskelig å se hvordan laktoseredusering ville påvirke graden av ettersyrning.

For å undersøke disse faktorene ble det produsert yoghurt av diafiltrert melk med ulik grad av fettinnhold. De fettreduserte yoghurtene ble tilsatt MMP og det ble produsert en vanlig full-fet yoghurt til sammenligning. Alle yoghurter ble lagd med og uten tilsatt sukker. Ved å analysere kjemiske, fysiske og sensoriske egenskaper ble det undersøkt om det var mulig å fremstille en laktoseredusert yoghurt med lavt fettinnhold og god smak og konsistens. Samtidig ble yoghurtkulturens karbohydratmetabolisme undersøkt.

---

---

## 2. Teori

### 2.1 Melkas komponenter

Innhold av de ulike komponentene i melk vil variere mellom ulike kuraser, fysiologiske faktorer som stadium i laktasjonsperioden og alder på kua, og miljøfaktorer som fôr og stress. Da melk fra flere kyr og flere fjøs som regel blir blandet sammen vil de individuelle forskjellene bli gjevnet ut og de regionale og sesongavhengige variasjonene vil være av størst betydning (Fox & McSweeney 1998). Melk består hovedsakelig av ca 87,1 % vann, 4,6 % laktose, 4 % fett og 0,7 % salter og mineraler (Walstra et al. 2006). Mer om hovedkomponentene følger under.

#### 2.1.1 Laktose

Laktose er et disakkarid bestående av D-glukose og D-galaktose bundet sammen av en  $\beta$ —1 $\rightarrow$ 4 glukosidbinding. Søtheten til laktose er ca 0,4 ganger søtheten til sukrose, altså atskillig mindre søtt (Tamine & Robinson 1999). I melka er søtsmaken også til en viss grad dekket over av proteinene (Walstra et al. 2006).

Laktose fordøyes i menneskekroppen ved at enzymet  $\beta$ -galactosidase (også kalt laktase) spalter laktose til glukose og galaktose som blir tatt opp i tynntarmen (Fox & McSweeney 1998). Spaltingen og opptaket skjer sakte slik en unngår et ugunstig raskt og stort oppsving i blodsukkeret (Walstra et al. 2006). Laktose kan ikke bli tatt opp i blodet, så dersom laktosen ikke blir spaltet, vil den havne i tykktarmen og føre til diaré, kramper og luft i magen. Hos de aller fleste nyfødte fungerer  $\beta$ -galactosidase enzymet, men aktiviteten vil minke etter hvert som barnet vokser og en antar at ca 70 % av verdens voksne befolkning er laktoseintolerante (Fox & McSweeney 1998). Dette er regionalt avhengig; steder hvor en i generasjoner har drukket melk vil ha en lav andel av laktoseintolerante voksne mennesker (for eksempel Europa), mens steder hvor en tradisjonelt ikke har drukket annet enn morsmelk vil ha en høy andel av laktoseintolerante (Walstra et al. 2006). Personer med laktoseintoleranse ser ut til å tåle fermenterte produkter bedre enn vanlig konsummelk, selv om melkesyrebakteriene ikke har metabolisert all laktosen. En mulig forklaring kan være at  $\beta$ -galactosidase-enzymet til yoghurtbakteriene ligger beskyttet inne i bakteriecellen, selv om bakterien dør i magesekken.

### 3. Teori

---

I tynntarmen er det alkaliske forhold og galle vil ødelegge cellen slik at enzymet frigjøres og kan spalte den inntatte laktosen (Torres et al. 2009).

#### 2.1.2 Fett

Melk er en ”fett-i-vann” emulsjon, og omtrent alt fett i melka finnes fordelt (dispergert) i melka i form av fettkuler. I uhomogenisert melk har fettkulene en gjennomsnittelig diameter på 3,5  $\mu\text{m}$  (Tamine & Robinson 1999), men med variasjon fra 0,1 til 15  $\mu\text{m}$ . Fettkulene har en membran som holder dem dispergert i vannfasen (forhindrer fettkulene å smelte sammen; koalisering) og fungerer som en emulgator. Uten homogenisering vil allikevel stillestående melk få et fløtelag på grunn av forskjell i tetthet mellom fett og melkas vannfase. Det er forskjellen i tetthet i fett og vannfasen som utnyttes under separering. Ved homogenisering vil fettkulene bli mindre og fettkulemembranen vil endres (Walstra et al. 2006). Dette vil bli videre omtalt i seksjonen om homogenisering.

Fettet er viktig ernæringsmessig som kilde til essensielle fettsyrer (særlig linolsyre, C18:2) og fettløslige vitaminer (A, D, E og K) og selvsagt energi. Samtidig er fett viktig i en industriell sammenheng på grunn av den smaken og de reologiske egenskaper det bidrar til i en rekke melkeprodukter (Fox & McSweeney 1998).

#### 2.1.3 Proteiner

Proteinene i melk deles inn i to hovedtyper; kasein og serumproteiner. Omtrent 80 % av melkas proteininnhold er kasein, og ca 20 % er serumproteiner (Fox & McSweeney 1998).

##### 2.1.3.1 Kasein

Kasein er definert som proteiner i melk som felles ut ved pH rundt 4,6 ved 30 °C (Fox & McSweeney 1998). Disse kan videre deles inn i  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - og  $\kappa$ -kasein. Deler av  $\beta$ -kasein blir splittet av proteolytiske enzymer til  $\gamma$ -kasein og proteose pepton (som er løselig ved pH 4,6 og er et serum protein) (Walstra et al. 2006). Kaseinene har liten sekundær og tertiærstruktur og kan derfor ikke denatureres.

Kasein finnes i melka i form av miceller. Flere modeller for hvordan disse micellene er bygd opp er foreslått gjennom de siste 50 årene (Horne 2006), og det er per dags dato ikke enighet om den fullstendige strukturen. Det hersker imidlertid liten tvil om at micella er

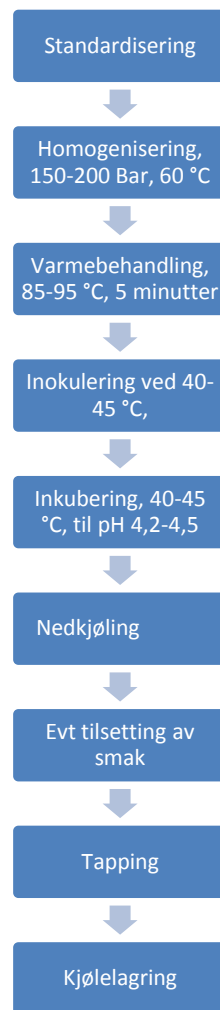
rund/sfærisk med en diameter på ca 100 nm og har et ”hårete” ytterlag av  $\kappa$ -kasein (Walstra 1999). I tillegg inneholder micella kalsiumfosfat som oftest er forklart som ”limet” i micella (Holt et al. 2003; Horne 2006; McMahon & Oommen 2008; Walstra 1999).

### **2.1.3.2 Serum proteiner**

Serumproteinene er løst i vannfasen i melka. Disse går også under betegnelsen myseproteiner fordi de, i tillegg til peptider fra  $\kappa$ -kasein, er proteinene som finnes i mysa fra løpe- eller syrefelling av kasein (Walstra et al. 2006). Serum proteinene består av  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, serum albumin, immunoglobuliner og proteose pepton. Disse proteinene er globulære, har en hydrofob kjerne og vil kunne denaturere under for eksempel oppvarming (ikke proteose pepton) (Walstra et al. 2006). Mysas egenskaper vil i stor grad være avhengig av egenskapene til  $\beta$ -laktoglobulin, da dette utgjør hele 50 % av myseproteinene (Fox & McSweeney 1998).  $\beta$ -laktoglobulin har to disulfidbindinger og en fri sulfatgruppe som under denaturering kan bli eksponert og danne en sterk binding til andre molekyler. Dette proteinet er i melka i form av dimere, hovedsakelig holdt sammen av hydrofobe krefter (Walstra et al. 2006).

## **2.2 Yoghurt fremstilling**

Det finnes to forskjellige måter å fremstille yoghurt på industrielt. Forskjellen ligger i hvor i fremstillingsprosessen syrningen foregår, og har merkbar innvirkning på det ferdige produktet. For rørt yoghurt (”stirred yoghurt”) synes melka på tank og tappes i beger *etter* syrning. Tapping og eventuell innblanding av smakstilsetninger fører til at gelen som er dannet under syrning røres opp. For fast type yoghurt (”set type yoghurt”) synes melka direkte i begeret, og den vil da ha en mer pudding-lignende konsistens (Walstra et al. 2006). I Norge er det kun rørt yoghurt som produseres industrielt (Abrahamsen 2010). Et enkelt flytskjema for rørt yoghurt er vist i figur 2.1, og de enkelte trinnene er nærmere forklart under.



**Figur 2.1:** Flytskjema for fremstilling av rørt yoghurt (Bylund 1995; Walstra et al. 2006).

#### 2.2.1 Standardisering

Melka blir først skummet slik at den ønskede fettprosenten oppnås. Dette er som regel i området mellom 0,5-3,5 % (Bylund 1995). For at yoghurten skal få en god og tykk konsistens må tørrstoffinnholdet økes. Som regel ligger tørrstoffinnholdet, inkludert fett, i industri fremstilt yoghurt på 14-15 %. Mange land har juridiske standarder hvor tørrstoffet ekskludert fett (SNF) skal være minst 8,2 %. Som regel er ikke dette noe problem da produsentene gjerne ønsker et høyt tørrstoffinnhold pga de reologiske egenskapene dette gir. Ulike metoder som kan brukes for å øke tørrstoffinnholdet er tilsetning av melkepulver (skummetmelkpulver, kjernemelkpulver, mysepulver, kaseinpulver), vakuuminndamping og membranfiltrering (Tamime & Robinson 1999).



### **2.2.2 Homogenisering**

Homogenisering gjøres hovedsakelig for å unngå at det skal dannes et fettlag under inkuberingen og for å få fettene jevnt fordelt i det ferdige produktet (Bylund 1995), men homogenisering vil også gi økt styrke til yoghurtgelen. Ved homogenisering vil fettkulene bli spaltet til mindre kuler. Dette vil føre til et økt overflateareal, som gjør at proteiner, hovedsakelig kasein, vil feste seg til membranen og fettene vil på den måten bli inkorporert i protein nettverket (Walstra et al. 2006). Dette vil bli videre omtalt under kapittel 2.4 om geldanning.

### **2.2.3 Varmebehandling**

Hovedhensikten med varmebehandlingen er å drepe potensielle patogene bakterier som er tilstede i yoghurtbasen og bedre vekstvilkårene til yoghurtkulturen. Yoghurtbasen får en relativt hard varmebehandling, for eksempel 95° i fem minutter eller tilsvarende, også fordi denne behandlingen i stor grad påvirker yoghurtens reologiske egenskaper (Walstra et al. 2006). I Norge er det vanlig at melka som brukes i yoghurtbasen allerede er pasteurisert, så varmebehandlingen er hovedsakelig for å bedre konsistens (Abrahamsen 2010).

### **2.2.4 Tilsetning av kultur, inkubering, nedkjøling, tapping og kjølelagring**

Det er vanlig å inkubere ved 40-45 °C. Syrningstiden kan være helt nede i 2,5 timer ved en aktiv kultur (Tamine & Robinson 1999), men syrningstiden er avhengig av inkuberingstemperatur, mengde bakteriekultur tilsatt og sammensetningen av kulturen, samt hvor sur den vil ha yoghurt før den stanser syrningen. Under tappingen blir koagelet som er dannet under syrning rørt opp, noe som forandrer teksturen i yoghurt. Hurtig nedkjøling til under 10 °C er viktig for å stoppe metabolismen til yoghurtkulturen slik at den unngår å få en for sur yoghurt (Tamine & Robinson 1999). Det er også mulig å kjøle ned yoghurt til ca 20 °C, tappe yoghurt for så å la den siste nedkjølingen skje i begeret. Da vil gelen kunne sette seg mer i begeret, og yoghurt vil bli mer viskøs (Abrahamsen 2010).

### 2.3 Yoghurtbakteriene

#### 2.3.1 Protoco-operation

Melkesyrebakteriene som brukes til å fermentere yoghurt er de termofile *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*. Disse omdanner laktosen i melka til melkesyre som syrner yoghurten. Bakteriene er homofermentative, det vil si at melkesyre er hovedsakelig det eneste produktet fra fermenteringen av glukose. *S.*

*thermophilus* og *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* har sine optimumstemperaturer for vekst ved henholdsvis 39 °C og 45 °C (Adams & Moss 2006). Bakteriene vokser sammen i en protoco-operation (Adams & Moss 2006; Walstra et al. 2006). Det betyr at de fremmer hverandres vekst, men er ikke avhengig av hverandre. Begge kan vokse alene i melk, men de vokser og syrner hurtigere sammen (Adams & Moss 2006).

*S. thermophilus* kommer raskest i gang med veksten, men etter hvert som pH kommer ned på 5,5 vil vekstraten flate ut og *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* vil dominere. Under syrningen spalter *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* protein til små peptider og aminosyrer, særlig valin, som *S. thermophilus* kan metabolisere. *S. thermophilus* danner CO<sub>2</sub> fra urea og maursyre fra pyruvat under anarobe forhold som fremmer *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* vekst. Maursyre blir brukt i biosyntesen av komponenter til DNA og RNA og *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* vokser derfor dårlig i melk med lavt innhold av maursyre (Adams & Moss 2006; Walstra et al. 2006; Zourari et al. 1991).

Det finnes to stereoisomerer av melkesyra, L(+) og D(-)-melkesyre. *S. thermophilus* produserer L(+) melkesyre og *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* produserer D (-) melkesyre.

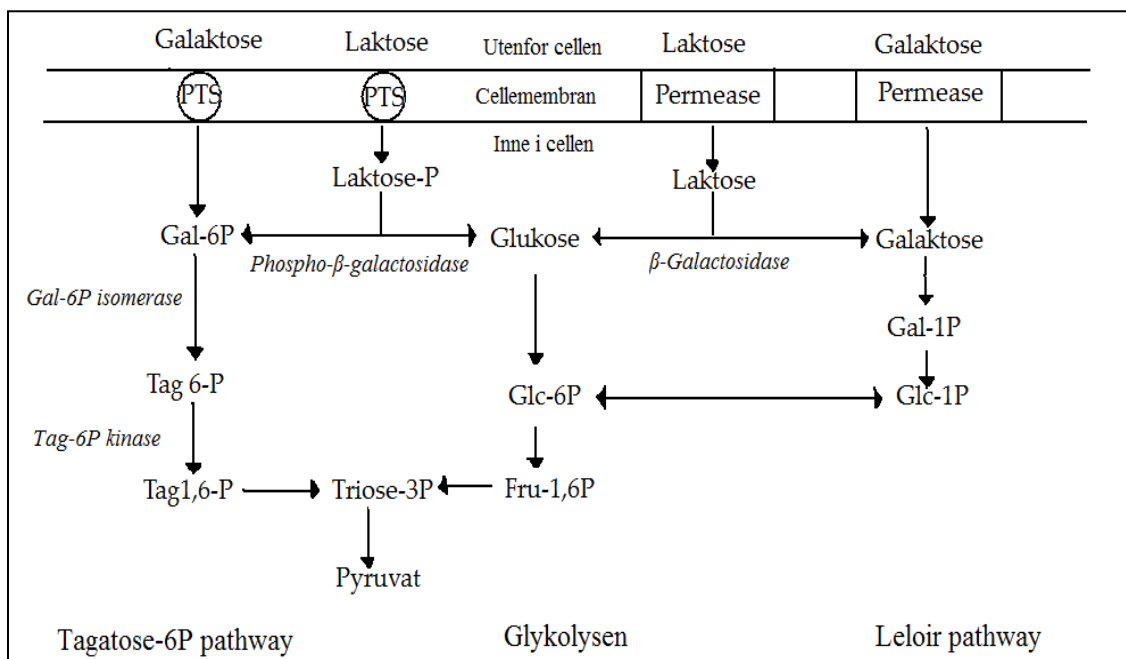
Dette kan ha helsemessig betydning for mennesker, da D(-) melkesyre tar lengre tid å fordøye og kan ved store inntak hope seg opp i kroppen (Zourari et al. 1991).

#### 2.3.2 Karbohydrat metabolisme

Hos *S. thermophilus* blir laktosen transportert inn i cellen ved hjelp av et laktose-permease-system og spaltet ved hjelp av intracellulær  $\beta$ -galactosidase. Glukosen blir via Embden-Meyerhof-Parnas pathway (glykolysen) omdannet til pyruvat som videre blir redusert til melkesyre av laktatdehydrogenase. Galaktosen blir fraktet ut av cellen igjen da de fleste stammer av *S. thermophilus* er Gal-, og ikke kan metabolisere galaktose (Zourari et al. 1991).

Energien som dannes ved utslipp av galaktose, brukes til å frakte inn laktose (Walstra et al. 2006), og stor mengde galaktose i vekstmediet ser ut til å hindre opptak av laktose (Zourari et al. 1991). Phosphoenolpyruvat phosphotransferase systemet (PEP-PTS) katalyserer transport og fosforylering av karbohydrater og er hovedopptakssystemet til de fleste melkesyrebakterier. De fleste stammer av *S. thermophilus* kan metabolisere glukose, laktose og sukrose (van den Bogaard et al. 2004) og et fåtall stammer kan metabolisere fruktose (Hols et al. 2005). Sukrose og fruktose er de eneste sukkerene som blir tatt opp gjennom PEP-PTS systemet, men veksten er lavere enn for vekst på laktose. Glukose tas ikke opp gjennom PEP-PTS og veksten er lavere på glukose enn på laktose (Poolman 1993; van den Bogaard et al. 2004).

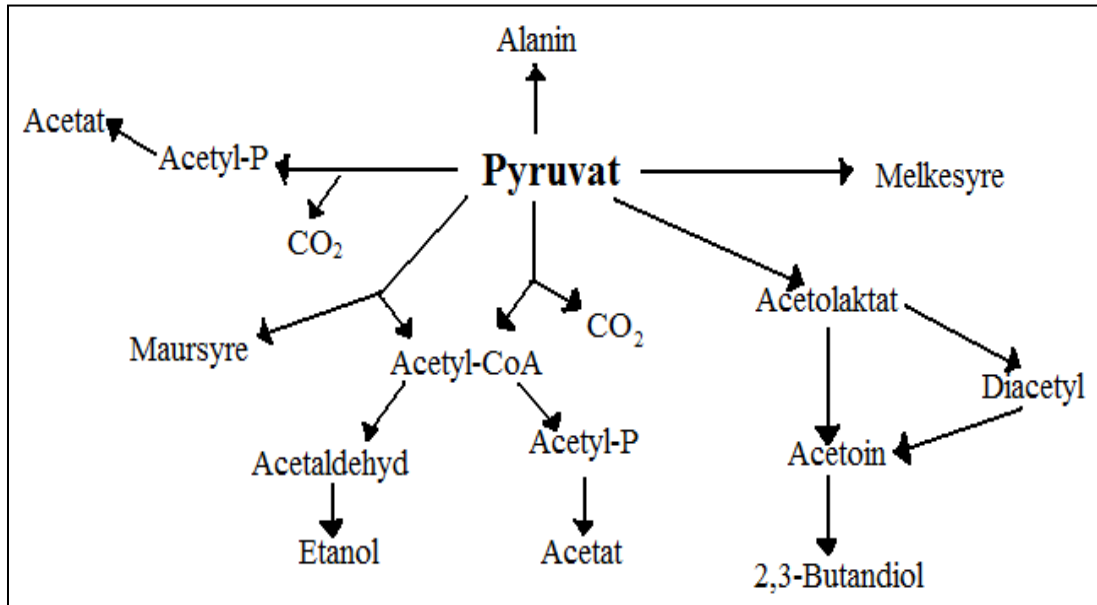
*L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* tar også inn laktosen i cellen hvor den blir spaltet ved hjelp av  $\beta$ -galaktosidase og glukosen blir metabolisert, mens galaktose blir fraktet ut igjen. Chervaux *et al.* (2000) fant at på samme måte som hos *S. thermophilus* ville høyt innhold av galaktose i vekstmediet til kulturen virke veksthemmende. De testet 22 stammer og fant at *L. bulgaricus* vokser raskere med laktose som karbohydratkilde, enn med glukose, mannose eller fruktose. Noen stammer kan metabolisere galaktose via Leloir pathway (Zourari et al. 1991). En figur over forskjellige opptakssystemer av karbohydrater for melkesyrebakterier er vist i figur 2.2.



**Figur 2.2:** Ulike systemer for karbohydratopptak i melkesyrebakterier. Etter Adams og Moss (2006) og Kandler (1983).

### 2.3.3 Aromakomponenter

Pyruvat blir av melkesyrebakterier hovedsakelig omdannet til melkesyre, men kan også bli omdannet til andre stoffer. En skjematisk fremstilling er vist i figur 2.3.



Figur 2.3: Melkesyrebakterienes metabolisering av pyruvat. Etter Liu (2003).

Acetaldehyd er den viktigste bidragsyteren til det som karakteriseres som ”yoghurt-smak” og produseres av både *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*. Acetaldehyd kan dannes fra pyruvat, men aminosyra treonin er sannsynligvis hovedkilden til acetaldehyd i yoghurt. Treonin finnes både naturlig i melka og oppstår gjennom proteolysen til *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus*. Enzymet treonin aldolase spalter da treonin til acetaldehyd og glycin. *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* har en større produksjon av acetaldehyd enn *S. thermophilus* (Adams & Moss 2006; Walstra et al. 2006). Enkelte stammer av *S. thermophilus* og *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* kan også produsere acetaldehyd fra DNA komponenter (2-deoxyribose-5-fosfat). Noen stammer av *S. thermophilus* har enzymet alkohol dehydrogenase som kan redusere acetaldehyd til etanol, (Zourari et al. 1991). Det er ikke vanlig at yoghurtkulturen innehar alkohol dehydrogenase-enzymet (Adams & Moss 2006).

Diacetyl er et stoff som finnes i små mengder i yoghurt, men det regnes som en viktig bidragsyter til en delikat yoghurt smak, særlig om acetaldehydnivået er lavt (Zourari et al. 1991). *S. thermophilus* og *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* kan ikke metabolisere citrat, så diacetyl kommer fra pyruvat dannet under laktose metabolismen (Walstra et al. 2006).

## 2.4 Geldanning

Guinee (1993) definerer en gel som løste partikler som aggregerer og danner et sammenhengende nettverk i den flytende fasen de er dispergert i. Gelen kan karakteriseres ved at den ikke flyter og at den er elastisk (Belitz et al. 2004).

Fall i pH ved syrning vil føre til at kolloidalt kalsiumfosfat (CCP) vil lekke ut av micella og den negative overflatespenningen til kaseinmicellene vil bli redusert/nøytralisert. CCP er ”limet” i micella og fall i pH vil føre til at micella mister kaseiner ut i serumfasen, særlig  $\beta$ -kasein. Ved videre senking av pH vil micellene aggregerer og holdes sammen av hydrofobe krefter og saltbroer, da CCP i serumet vil føre til økt ionestyrke. (Guinee et al. 1993; Walstra et al. 2006). Det dannes et tredimensjonalt nettverk av de aggregererte micellene, hvor serumfasen i melka blir inkorporert (Tamine & Robinson 1999).

Gelens egenskaper er i stor grad avhengig av strukturen til nettverket. Har nettverket få og store lommer og er lite strukturert, er gelen grov og ligner mer på presipetat. En grov gel har større tendens til synerese. Har nettverket stor grad av forgrening, er strukturert og har mange små lommer er det et fint nettverk (Guinee et al. 1993).

Mange faktorer spiller inn på gelens struktur. Homogenisering av melka før syrning vil som nevnt føre til en ny membran rundt fettkulene. De små fettkulene vil oppføre seg som pseudoprotein og delta i nettverket og bidra til en mindre porøs gel (Guinee et al. 1993).

Under varmebehandlingen som yoghurtbasen får, for eksempel 95 °C i 5 min, vil ca 70-80 % av myseproteinene (Bylund 1995) denatureres og bindes via disulfidbindinger til  $\kappa$ -kasein på overflaten av kaseinmicellene. Det denaturerte proteinet ytterst på micellene utgjør en sterisk hindring under aggregeringen av micellene og bidrar til at det ikke dannes store ”klumper” av miceller. Dette gir en finere, mer forgrenet gel med små porer. Myseprotein som ikke er denaturerte deltar ikke i protein-nettverket (Guinee et al. 1993).

En høy inkuberingstemperatur vil føre til at geldanningen starter ved en høyere pH og at en får en grovere gel. Ved for rask aggregering får en bunnfall og ikke en gel (Guinee et al. 1993).

Yoghurtkulturens proteaser kan være bidragsyttere ved geldanning. Enzymene destabiliserer da kasein micellene ved å kutte  $\kappa$ -kasein, og parakasein micellene holdes sammen ved Ca-broer (Tamine & Robinson 1999).

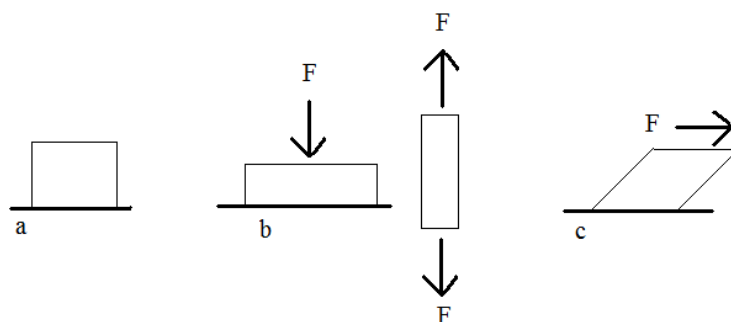
## 2.5 Reologi

### 2.5.1 Generelt om reologi

Reologi er læren om hvordan væsker og stoff flyter og deformeres under påvirkning av kraft (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Viskositet og elastisitet er to sentrale begrep innenfor reologien. Dersom et stoff deformeres under påvirkning av en kraft, men går tilbake til sin opprinnelige form når kraften opphører er stoffet elastisk (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Et ideelt elastisk materiale er et fast stoff som lagrer all deformasjons energi som blir påført materialet. Går derimot deformasjons-energien tapt er materialet viskøst. Dette er stoffer som under påvirkning av stress vil deformeres og ikke kunne gå tilbake til sin opprinnelige form. Stoffet flyter og energien vil gå tapt i form av varme. Mange stoffer har både elastiske og viskøse egenskaper, disse kalles viskoelastiske stoffer og er vanlig i matvarer (Bylund 1995).

Noen begreper innenfor reologi er kort forklart nedenfor.

Stress ( $\sigma$ ) er kraft per areal ( $F/A$ ) og oppgis i Pa ( $N/m^2$ ) (Bourne 2002). Stress kan være normalt (kraften virker normalt ned på et areal) eller tangentialt (skjær krefter). Normalt stress vil føre til forlenging eller forkorting av et elastisk material avhengig av retningen på kraften (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Skjær krefter (shear stress,  $\gamma$ ) virker når kraften er påført tagentielt med materialets overflate samtidig som materialets bunn står fast eller er påvirket av en kraft som går parallelt i motsatt retning (Bourne 2002; Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Se figur 2.4.



**Figur 2.4:** Viser hvordan deformasjonen på et materiale som er i ro (a) påvirkes av normalt stress (b) (kompresjon og strekking) og shear stress (c). Etter Ibarz og Barbosa-Cànovas (2003)

Hastigheten ved deformasjon under påvirkning av skjærkrefter kan uttrykkes ved shear rate [ $s^{-1}$ ] (Bylund 1995; Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Strain ( $\epsilon$ ) er et mål på deformasjon til et materiale, altså endring i størrelse eller form ved påvirkning av stress (Bourne 2002; Rao &

Steffe 1992). Ved å dele stress på strain kan en regne ut elastisitetsmodulen, også kalt Young's modul (Rao & Steffe 1992).

### **2.5.2 Klassifisering av flytende stoffer**

Hovedsakelig kan en dele flytende stoffer inn i de som er newtonske og de som er ikke-newtonske. De newtonske stoffene er væsker som er fullstendig viskøse og har konstant viskositet uavhengig av shear rate (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Flytende stoffer som inneholder få og små molekyler er typisk newtonske (Rao & Steffe 1992).

De ikke-newtonske stoffene er stoffer hvor viskositeten er avhengig av shear rate. Stoffet som ved økende shear rate får en lavere viskositet betegnes som pseudoplastiske (shear thinning), mens de som får en høyere viskositet er dilatante (shear thickening). De ikke-newtonske stoffene kan også være avhengig av tid (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003).

Thixotropiske stoffer får lavere viskositet ved konstant shear rate etter hvert som tiden går, og vil etter at den ytre påvirkningen forsvinner, gradvis få tilbake til sin opprinnelige eller deler av sin opprinnelige struktur (Barnes et al. 1989).

Både newtonske stoffer og de forskjellige ikke-newtonske stoffene kan ha plastiske flyteegenskaper. Det vil si at det trengs et visst "yield stress" før stoffet vil flyte. Er kraften som påføres mindre enn det aktuelle yield stress, vil stoffet oppføre seg som et elastisk stoff.

Viskositeten til både newtonske og ikke newtonske væsker er avhengig av temperatur (Bylund 1995).

### **2.5.3 Måling av viskositet**

Det finnes ulike metoder for å måle viskositet. De vanligste viskometrene er av roterende eller kapillær type. For en reologisk analyse der en for eksempel skal se på nedbryting av en yoghurt gel, bør en derimot bruke et reometer. Reometeret bruker metoder som ikke ødelegger prøvens struktur, slik at viskøse og elastiske egenskaper kan analyseres hver for seg (Bylund 1995).

I et reometer kan en blant annet utføre et "small amplitude oscillatory shear" eksperiment (SAOS). Prøven blir påført stress eller strain i et mønster av sinusbølger med en gitt frekvens.

### 3. Teori

---

Faseforskjellen mellom stress og deformasjon og forholdet mellom de to amplitudene måles. For elastiske materialer vil deformasjonsbølgen være i fase med stressbølgene og for viskøse materialer vil deformasjonsbølgen være  $90^\circ$  "out of phase". Viskoelastiske prøver vil ha en "phase-out" vinkel på mellom  $0$  og  $90^\circ$ . Dette kan brukes til å regne ut to reologibegreper; en lagringsmodul ( $G'$ ) som sier noe om hvor elastisk prøven er, og en tapsmodul ( $G''$ ) som sier noe om hvor viskøs prøven er. For et ideelt elastisk stoff vil all energi som blir tilført bli lagret, og brukes av stoffet til å gå tilbake til originale form, tapsmodulen vil være null. Et viskøst stoff uten elastiske egenskaper vil deformeres uten å lagre noe energi og lagringsmodulen vil være null (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003; Rao & Steffe 1992). "Damping factor" eller "loss factor" er forholdet mellom tapsmodulen og lagringsmodulen. "Flytpunktet" er når denne er 1 og prøven går fra å være elastisk til å bli viskøs (Mezger 1999). "Complex viscosity" [Pa s] sier noe om viskositeten under gitte forhold og regnes ut ved hjelp av lagringsmodulen og tapsmodulen (Mezger 1999).

#### **2.5.4 Rørt yoghurts viskositet**

Yoghurt er ikke-newtonsk, og pseudoplastisk, som betyr at jo større shear kraft som blir tilført, jo større del av nettverket blir ødelagt. Viskositeten vil i tillegg være avhengig av gelstyrken før opprøring; en sterk gel gir en mer viskøs yoghurt. Synerese i gelen vil kunne gi en mindre viskøs yoghurt (Walstra et al. 2006). Yoghurt er også thixotropisk, og vil en tid etter opprøring oppnå en mer viskøs form igjen (Bylund 1995).

Rørt yoghurt skal være glatt og viskøs, og gjerne være litt trådtrekkende. Den trådtrekkende egenskapen kommer av at yoghurtbakteriene produserer eksopolysakkarider (EPS) i form av kapsler som befinner seg på utsiden av bacteriecellen eller som blir utskilt i melka.

Sammensetningen i EPS varierer fra stamme til stamme, men inneholder ofte galaktose-, glukose- og rammnoseenheter. Sammensetningen i EPS har mer å si for den trådtrekkende egenskapen, enn selve mengden som produseres. Ved å bruke en yoghurtkultur som er EPS produserende kan en endre yoghurtens konsistens (Walstra et al. 2006).



## 2.6 Mikropartikulært myseprotein (MMP)

I dag etterstrebes det å produsere matvarer som har et lavt fettinnhold, samtidig som fettets funksjonelle og sensoriske egenskaper i matvaren skal beholdes. Dette har ført til utviklingen av en rekke fetterstattere. Da fett i matvarer ofte finnes i en emulsjon stabilisert av en proteinfilm, har fetterstattere basert på protein vært av interesse (Damodaran & Paraf 1997). En metode for å endre de funksjonelle egenskapene til proteinene i retning av å etterligne fett, er mikropartikulering. Ved mikropartikulering utsettes proteinene for høy temperatur og sterke skjærkrefter, som henholdsvis fører til denaturering og større størrelse på partiklene (Damodaran & Paraf 1997). Under denaturering eksponeres reaktive grupper på proteinene og proteinene bindes til hverandre i form av aggregater. Etter hvert vil det, om det er høy nok konsentrasjon av proteiner, dannes et gelnettverk. Er det skjærkrefter tilstede under denatureringen vil aggregatene ikke danne en gel, men mindre partikler (Spiegel 1999).

Myseproteinene kan mikropartikuleres. Mikropartikulært myseprotein baseres på myseproteinkonsentrat (WPC) med proteininnhold på 35-80 %. Dette konsentratet går så gjennom mikropartikuleringsprosessen. For å påføre skjærkrefter kan det brukes skrapevarmeveksler, mikser, homogenisator eller mikrofluidiser (Jost 1993).

Lav pH, sterke skjærkrefter og kort oppvarming til denatureringstemperaturen er viktig for å kontrollere størrelsen på aggregatene. Blir partiklene for små vil de ikke kunne fungere som fetterstattere, blir de for store vil de kunne gi en kornete/sandete konsistens (Jost 1993). Spiegel (1999) viste at ved temperaturer under 85 °C vil denatureringshastigheten gå ned, særlig om det er høyt innhold av laktose, og det vil bli dannet store partikler, mens de minste partiklene vil dannes ved denatureringstemperatur mellom 85-95 °C.

Fettinnholdet har mye å si for yoghurtens gelfasthet og viskoelastiske egenskaper. Reduserer en fettinnholdet i yoghurt vil en få en dårligere tekstur, noe det vanligvis er blitt kompensert for ved å øke tørrstoffet ved bruk av skummetmelkpulver, Na-kaseinat eller konsentrater av myseprotein (WPC). Problemet med bruken av disse tilsetningsstoffene har imidlertid vært at det trengs en så stor mengde av disse at yoghurtene har hatt en tendens til å få en kornete konsistens og smake pulver (Sandoval-Castilla et al. 2004).

Flere har undersøkt hvordan mikropartikulært myseprotein påvirker fettreduert yoghurt. Lobato-Calleros et al. (2004) fant at mikropartikulært myseprotein verken alene, eller sammen med WPC bedret fettreduert yoghurtens reologiske egenskaper. Sandoval-Castilla et al. fant

også at MMP alene ga svakere gel, men sammen med WPC (50:50) lignet yoghurten på fullfet yoghurt med hensyn på de reologiske egenskapene. Torres *et al.* (2009) fant at MMP med en størrelse på mellom 1 og 10µm ga omtrent lik elastisitetsmodul som en fullfet yoghurt. Helgheim (2005) fant at fettreduert yoghurt tilsatt MMP var mindre fast og mindre viskøs enn vanlig fullfet yoghurt. Det later til at mengde MMP som er tilsatt, mengde protein av MMP som er denaturert, hvor i prosessen proteinet blir tilsatt og størrelse på partiklene spiller inn på de reologiske egenskapene til yoghurten.

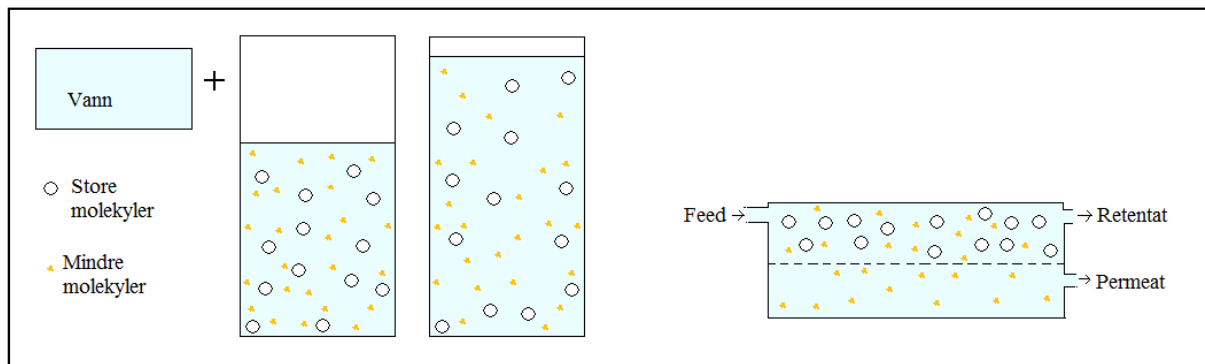
Det mikropartikulære myseproteinets oppgave i yoghurten er å etterligne fett (Lobato-Calleros *et al.* 2004). Sandoval-Castilla *et al.* (2004) viste at i fullfet yoghurt var fettkulene inkorporert i proteinnettverket, og at fettreduert yoghurt var mindre tettpakket og hadde større hulrom i nettverket. Fettreduert yoghurt som var tilsatt MMP lignet fettreduert yoghurt i struktur. Sannsynligvis hindrer MMP-partiklene kaseinene fra å aggregere. Torres *et al.* (2009) fant at partikkel størrelse og denatureringsgrad hadde effekt på tettheten til gelen; høy denatureringsgrad og små partikler (1-10 µm) ga den tetteste strukturen.

## 2.7 Ultrafiltrering og diafiltrering

Ultrafiltrering (UF) er en membranfiltreringsmetode som brukes til å skille stoffer i en løsning fra hverandre på grunnlag av molekylvekt, såkalt molekylseparering. UF oppkonsentrerer molekyler med vekt på mellom 300- 500 000 Da (molekylstørrelse 10-200 Å) avhengig av membranenes porestørrelse (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003). Dette vil si at i melk vil makromolekylene protein og fett oppkonsentreres, mens de mindre molekylene laktose og salter kan transporteres gjennom membranen sammen med vann (Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003; Walstra *et al.* 2006). Den delen av væska som *ikke* går gjennom membranen er konsentratet eller retentatet, og den delen som går gjennom er permeatet.

Da de små molekylene kan flyte fritt gjennom membranen vil det være lik konsentrasjon av disse i konsentrat og permeat. For å redusere innholdet av disse stoffene i konsentratet kan en diafiltrere. Ved diafiltrering tilsetter en vann til løsningen som skal ultrafiltreres, slik at konsentrasjonen av alle stoffer i løsningen fortynnes. Under ultrafiltreringen vil konsentrasjonen av de store molekylene som ikke går gjennom membranen øke i retentatet, mens konsentrasjonen av de små molekylene vil i forhold til vann være i lik konsentrasjon som før ultrafiltreringen. På den måten vil en del av de små molekylene ”vaskes ut” fra

retentatet. Dette er en metode som kan brukes til å laktoseredusere melk. Diafiltreringen kan gjøres i et trinn ved tilsetning av vann før ultrafiltrering, eller i flere trinn hvor en konsentrerer opp retentat for så å tilsette vann og konsentrere opp retentat igjen (Bylund 1995; Walstra et al. 2006). Det er også mulig å ultrafiltrere først, og diafiltrere konsentratet etterpå (Alvarez et al. 1998) Prinsippet for diafiltrering (et trinns) og ultrafiltrering er skjematisk forklart i figur 2.5.



**Figur 2.5:** Viser prinsippet for diafiltrering ved tilsetning av vann og prinsippet for oppkonsentrering av makromolekyler ved hjelp av UF. Etter Ibarz og Barbosa-Cànovas 2003; Walstra et al. 2006.

---

---

### 3. Materialer og metoder

Det ble laget 4 forskjellige yoghurtbaser. Av disse var tre laktosereduserte og en laget av vanlig melk. De tre laktosereduserte yoghurtbasene hadde et fettinnhold på 0, 2 og 4 %. Disse ble tilsatt hhv 4, 2 og 0 % mikropartikulært myseprotein (MMP). Kontrolllyoghurtene som ble laget av vanlig melk inneholdt 4 % fett og ble tilsatt 2,5 % skummetmelkpulver (SMP). Fra hver yoghurtbase ble det laget yoghurt tilsatt 3 % sukrose og yoghurt uten tilsatt sukrose.

Hvert forsøk ble gjennomført 3 ganger, med 14 dagers mellomrom. Melk ble levert fra fjøset på UMB. Forsøksopplegget var likt for alle forsøkene. Ved forsøk 1 var det ikke samme melk som ble diafiltrert/ultrafiltrert og brukt i kontrolllyoghurtene. Det ble da kjøpt Tine skummetmelk i butikken til kontrolllyoghurten. Ved forsøk 3 var melka fersk og hadde ikke vært kjølelagret.

Det mikropartikulære myseproteinet (LC60, basert på WPC60) var et pilotprodukt fra TINE, produsert ved TMiN Verdal. Produktet hadde en sammensetning på ca 55 % protein, 30 % laktose, 5 % fett 6 % aske og 4 % vann. Partikkelstørrelsen var på 1 -10 µm (Johansen 2010). Skummetmelkpulver var spraytørket, agglomerert, middels varmet og produsert av TINE.

Det ble også gjort et forforsøk hvor det ble produsert kontrolllyoghurt uten sukker for å undersøke veksten til yoghurtkulturen.

#### 3.1 Forforsøk

500 ml Tine lettmeik ble tilsatt 2,5 % skummetmelkpulver i et syltetøyglass og varmet opp til 95 °C i vannbad og holdt ved denne temperaturen i 5 minutter. Glasset ble så satt i vannbad ved 42 °C. Etter temperering ble 0,02 % tint frossenkultur av typen YF L02 fra Cristian Hansen, Danmark tilsatt. Syrning ble stanset ved pH 4,5 ved å sette glasset i isvann med smeltende is. Det ble så tatt mikrobiologiske prøver av yoghurten innstøpt i M17 agar (laget av buljong fra Merck, Darmstadt, Tyskland og Bactoagar fra Saveen Wernerm, Limhamn, Sverige) og MRS agar (laget av buljong fra Merck og Bactoagar fra Saveen Wernerm). Prøvene ble inkubert ved 42 °C i 3 døgn, og dyrkingen på MRS fant sted i anaerobe kar.

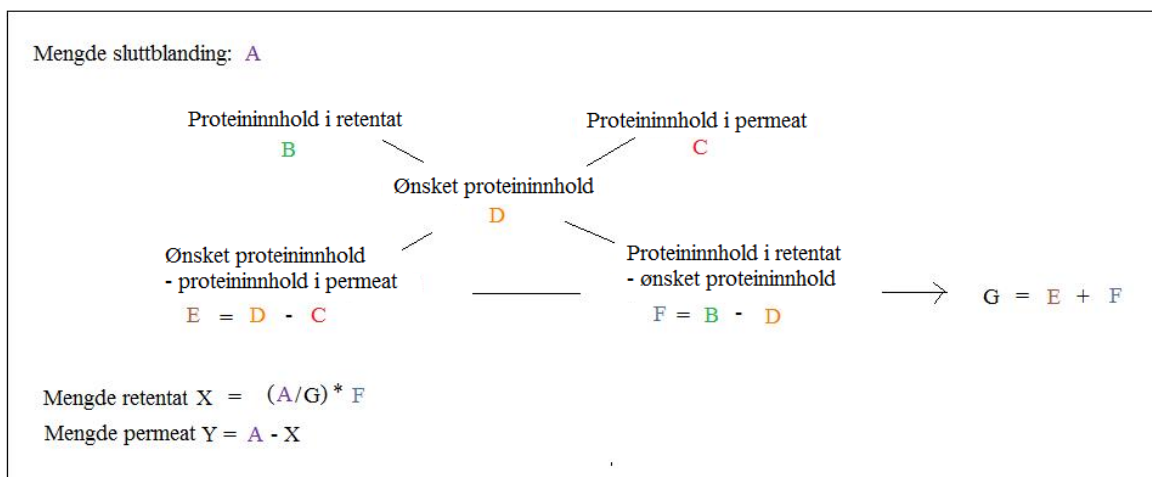
Det ble også tatt prøver direkte av den tinte frossenkulturen under de samme betingelsene. Yoghurten og kulturen ble også undersøkt i mikroskop. En dråpe yoghurt/kultur ble blandet



tørrstoffinnholdet. Etter diafiltreringen ble retentatet varmebehandlet i 50 liters spann i vannbad opp til 72 °C og så avkjølt. Det ble tatt vare på 30 liter av permeatet for å kunne blande til riktig proteinkonsentrasjon dagen etter. Permeatet fikk samme varmebehandling som retentatet. Fettinnholdet i fløten og konsentratet ble målt ved hjelp av Gerber-analyse (etter Meieriets Analyse Håndbok metode 601 for fløte og metode 602 for konsentratet).

På dag 1 en ble proteininnholdet i retentatet analysert ved Kjeldahlanalyse. Det ble målt opp 3 paralleller på 0,5 g i opplutningsrør. De tre parallellene og 2 blindprøver ble tilsatt en Kjeldahltablett og 3 ml svovelsyre og satt i varmeblokk. Prøvene ble varmet opp til 420 °C og kokt i 45-60 minutter. Prøvene ble avkjølt og analysert i en Kjeltex 1035 med automatisk destillering og titrering. Svaret kom ut i prosent protein (innstilt på melk).

Hvor mye retentat som skulle blandes med permeat for å få en proteinkonsentrasjon på 4,09 ble regnet ut ved hjelp av metoden som er vist i figur 3.2.



**Figur 3.2:** Metode for utregning av mengde retentat og permeat som måtte blandes for å oppnå rett protein konsentrasjon.

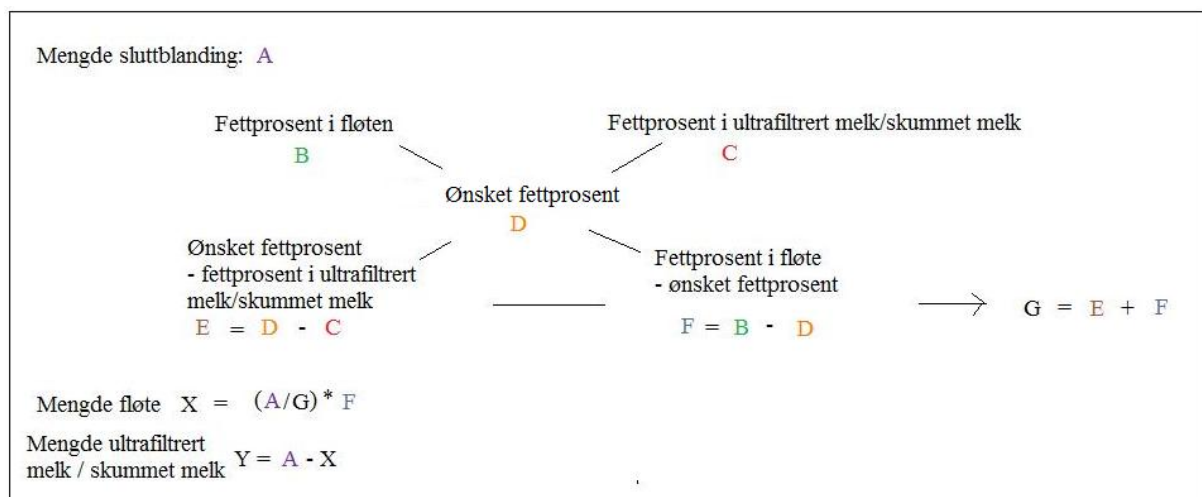
## 3.3 Yoghurt

Dag 2 ble de ulike prøvene laget. De ulike prøvenes koder er vist i tabell 3.1.

**Tabell 3.1:** De ulike prøvenes koder.

Prøve navn	Diafiltrert og ultrafiltrert	Fett, %	Mikropartikulært myseprotein, %	Skummetmelkpulver, %	Sukrose, %
AU	Ja	0	4	0	0
AS	Ja	0	4	0	3
BU	Ja	2	2	0	0
BS	Ja	2	2	0	3
CU	Ja	4	0	0	0
CS	Ja	4	0	0	3
DU	Nei	4	0	2,5	0
DS	Nei	4	0	2,5	3

Samme metode som vist under protein utregninger ble bruk til å beregne hvor mye fløte som skulle blandes med diafiltrert melk/skummet melk for å få ønsket fettprosent i de ulike blandingene. Metode er vist i figur 3.3. Merk at i forsøk 1 ble det ikke tatt hensyn til at fettkonsentrasjonen fortynnes ved tilsetningen av permeat. Det var så lite permeat som ble tilsatt at det skulle ikke gi store utslag (0,19 % fett i stedet for 0,2 %).



**Figur 3.3:** Metode for utregning av mengde fløte og ultrafiltrert melk/skummet melk som skulle blandes for å oppnå ønsket fettprosent i blandingene.

Det ble tatt av prøver til fettanalyse (Gerber-analyse) av de ulike blandingene (A, B, C og D, se tabell 3.1) og til tørrstoff analyse av konsentrat + permeat (A). Tørrstoff ble målt ved at ca 2 ml romtemperert prøve ble innveid i skål og tørket i varmeskap ved 105 °C i ca 24 t.



Prøvene ble så avkjølt i eksikator til de var romtempererte og skålene kunne veies. Tørrstoff ble beregnet ved formelen som er vist nedenfor:

$$\text{Tørrstoff \%} = \frac{(\text{Vekt av skål med prøve etter tørking} - \text{vekt av skål})}{(\text{Vekt av skål med prøve} - \text{vekt av skål})} * 100$$

Det ble laget mer av hver blanding enn det en trengte for å ha litt å gå på (10 kg av A, B, C og D). Av den første blandingen ble 3 kg varmet opp til ca 20 °C i en prosesstank med røring og kjøle/varmekappe. Ved 20 °C, som var ca romtemperatur, ble de tørre ingrediensene tilsatt og under røring fikk blandingen en svelletid på 20 minutter. Temperaturen under svelling var nok noe høyere enn romtemperatur fordi dampen ble skrudd av ved 20 °C og det tok litt tid før temperaturen stabiliserte seg. Blandingene ble så varmet opp til 60 °C og homogenisert ved 200 bar (Rannie, Danmark). Etter homogeniseringen ble blandingen varmet opp til 95 °C i 5 minutter, før den ble nedkjølt til ca 42 °C og tappet over i sterile syltetøyglass(700 ml) med ”snap on”-lokk. Glassene ble satt i vannbad ved 42 °C. Da alle blandingene hadde fått samme behandling og var temperert, ble de inokulert med 0,02 % (140 µm) tint frossenkultur av typen YF L02 fra Cristian Hansen, Danmark. Ved pH 4,5 ble syrningen avsluttet ved å sette glassene i isvann med smeltende is.

## 3.4 Analyser

### 3.4.1 Utseende

Yoghurtene ble bedømt 24 timer etter startet syrning og 20 dager etter startet syrning. De ble bedømt ved å gi poeng på en skala fra 0-5, hvor 5 var feilfri vare. En la spesielt vekt på å observerer eventuell myseutskillelse. En del av yoghurtene hadde skumlag fra tappingen/blanding med kulturen, dette ble det sett bort i fra.

### 3.4.1 Mikrobiologiske analyser

Mikrobiologiske analyser ble tatt 24 timer etter startet syrning og 20 dager etter startet syrning (hhv ”fersk” og ”lagret”). For å ta ut prøve til mikrobiologisk analyse ble det brukt en automatpipette på 1000 µl til å stikke et hull på siden i yoghurtgelen og ta opp en liten del

### 3. Materialer og metoder

---

yoghurt (for ikke å ødelegge gelen). Da yoghurten var så tykk at en ikke fikk opp akkurat 1000 µl ble det som kunne bli tatt opp overført til sterile sentrifugerør. Med en automatpipette på 100 µl ble yoghurtprøven i sentrifugerøret rørt opp ved å trekke den inn og ut av pipetten. Når den var tynn nok til at det ikke ble sugd opp luft ble det laget en fortynningsrekke og prøver ble innstøpt i M17 agar (laget av buljong fra Merck, Darmstadt, Tyskland og Bactoagar fra Saveen Wernerm, Limhamn, Sverige) og MRS agar (laget av buljong fra Merck og Bactoagar fra Saveen Wernerm). Prøvene ble inkubert ved 42 °C i 3 døgn. Dyrkingen på MRS fant sted i anaerobe kar.

#### 3.4.2 Kjemiske analyser

Kjemiske analyser ble tatt av yoghurtblandingene før tilsetning av bakteriekultur, 24 timer etter startet syrning og 21 dager etter startet syrning (hhv ”Før syrning”, ”Etter 24 timer” og ”Etter 3 uker”). Yoghurt prøvene ble rørt opp med en Adax håndmikser i 2 minutter ved hastighet 3 og bruk av en visp, før uttak til kjemiske analyser. Vispen ble ført rundt langs glassets vegger for å sikre en så homogen masse som mulig.

##### **3.4.2.1 HPLC metode 1: Organiske syrer og karbohydrater**

Organiske syrer og karbohydrater ble analysert ved hjelp av High Performance Liquid Chromatography (HPLC), metode etter Mugula *et al.* (2003) og Narvhus *et al.* (1998)

Det ble veid opp 1,00 gram prøve i et belchorør og tilsatt 2,5 ml ionebyttet H<sub>2</sub>O, 0,200 ml 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck) og 8,0 ml CH<sub>3</sub>CN (Merck). Prøvene ble så vendt i en Multifix vendemaskin i 30 minutter før de ble sentrifugert ved 3500 rpm i 15 minutter (Kubota 2000, Bankyo-ku, Tokyo, Japan). Supernatanten ble trukket opp med en 10 ml sprøyte, filter ble satt på sprøyta og filteret ble vasket med ca 1 ml supernatant, før filtrert supernatant ble sprøytet i HPLC-glass. Glasset ble forseglet med septa (Chromacol 8-ST101) og plastkork (Chromacol 8-SV) og 25 µl prøve ble injisert.

HPLC bestod av en autoinjektor series 200 (Perkin Elmer Waltham Massachusetts, USA), series 200 pumpe (Perkin Elmer), LC oven 101 (Perkin Elmer) og med 900 series interface (Perkin Elmer). En Cation-H refill, 30 x 4,6 millimeter id (Bio Rad, Hercules, CA, USA) forkolonne og en Aminex HPX-87H, 300 x 7,8 mm id (Bio Rad) kolonne ble brukt. Prøven gikk gjennom forkolonna først for å beskytte hovedkolonna mot eventuelle forurensinger. Mobilfase var 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, flow 0,4 ml/min og kolonnetemperatur

30 °C. Komponentene i prøven ble under trykk fraktet sammen med mobilfasen gjennom kolonnematerialet (stasjonærfasen) som er svakt positivt ladet. De ulike stoffene vil da separeres på grunnlag av ladning og retensjonstid. Det ble brukt 200 series RI-detektor (Perkin Elmer) og 200 series UV-detektor (Perkin Elmer) på 210 nm. Data ble behandlet med TotalChrom (Perkin Elmer). Resultatene kom ut i form av grafer med topper for de ulike komponentene som er tilstede, og ved hjelp av standarder kan en regne ut mengden av de ulike stoffene i prøvene (tilsvarende arealet under disse toppene).

Standarder som ble brukt var sitronsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, ravsyre, DL-melkesyre, urinsyre, DL-pyroglutaminsyre,  $\alpha$ -ketoglutaminsyre, propionsyre, eddiksyre, maursyre (Sigma), glukose, laktose, maltose, fruktose og galaktose (Merck).

For prøver som inneholdt sukrose vil en ikke kunne skille mellom sukrose og laktose i kromatogrammet ved bruk av denne HPLC metoden. I tillegg ble det brukt svovelsyre som bryter sukrose ned til fruktose og glukose. Fruktose er i store mengder vanskelig å skille fra galaktose i kromatogrammet. Så for HPLC metode 1 fikk de prøvene som inneholdt sukrose gale verdier for laktose, glukose og galaktose.

#### **3.4.2.2 HPLC metode 2: Karbohydrater**

Prøver til sukrose ble frosset ned før analyse. Metoden var modifisert etter Knudsen (1997) og Lothe (2003).

Det ble veid inn 1,0 gram tint prøve i et Falcon-rør og tilsatt 9 ml ionebyttet vann og 30 ml 96 % etanol. Prøvene ble vendt i 30 minutter og satt på kjølerom. Etter ca 1 time ble prøvene overført til sentrifugerør og sentrifugert i 30 min ved 8000 rpm (Beckman J2-MC, Nerlien Meszansky, Oslo, Norge). Supernatanten ble trukket opp og oppbevart på kjølerom over natt. 4 ml supernatant ble så blandet med 2 ml indrestandardløsning (arabinose 0,2 mg/ml). En Sep-Pak kolonne ble vasket med 2 ml metanol og 5 ml ionebyttet vann, før 2 ml av prøven ble filtrert gjennom kolonna og samlet opp i 2 eppendorf-rør (1 ml i hvert rør). Prøvene ble så tørket i vakuum-sentrifuge (Savant SDD 2010 Speed Vac Concentrator, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) ved 55 °C, til det ikke var noe væske igjen i rørene.

Hvert eppendorf-føf ble tilsatt 110  $\mu$ l ionebyttet vann og mikset på Vortex mikser to ganger. To tilsvarende prøver ble trukket opp med en 1 ml sprøyte (altså blandet) og filtrert gjennom Millex Syringe-driven Filter Unit med PVDF Durapore (Millipore, Billerica, MA, USA) i HPLC glass. Glasset ble forseglet og 20  $\mu$ l ble injisert på HPLC. HPLC ble kjørt på et Dionex

### 3. Materialer og metoder

---

Ultimate 3000 system (Sunnyvale, CA, USA) med Varian HPLC kolonne på 300 x 7,8 mm x 3,8" (Holger Teknologi AS, Oslo, Norge). Mobilfase var ionebyttet H<sub>2</sub>O, flow 0,4 ml/min, kolonnetemperatur 85 °C, trykk 45 bar og detektor var RI-detektor. Data ble behandlet med Dionex Chromeleon 7 software.

Standarder var sukrose, laktose, galaktose, glukose, fruktose (Merck).

#### **3.4.2.3 HSGC for analyse av flyktige stoffer**

Flyktige aromastoffer ble analysert ved hjelp av Head Space Gas Chromatography (HSGC) etter en metode beskrevet av Narvhus *et al* (1998). 10,00 g prøve ble veid opp i en headspaceflaske som ble forseglet med et teflonbelagt septum og en aluminiumsring. Prøvene ble frosset ned og tint før de ble analysert.

Prøvene ble satt i en HP 7694 Headspace sampler med et 6890 GC system (Agilent, Wilmington, USA), serie 900 interface (Perkin Elmer) med en Whatman 75-32 hydrogenerator (Merck) med trykk på 1,6 bar. Ekvilibreringstemperaturen var på 50 °C, manifoldtemperaturen på 60 °C og ekvilibreringstiden var på 45 minutter. Det ble injisert 1 ml, injiseringstiden var 30 sekunder og injektortemperaturen var 180 °C.

GC-temperaturene var innstilt etter følgende program

- 53 °C i 1 minutt
- Økning med 15 °C i minuttet
- 70 °C i 2 minutter
- Økning med 22 °C i minuttet
- 130 °C i 3 minutter

Den mobile fasen var nitrogengass med konstant bæregassflow på 5,0 ml/min. Det ble brukt en CP-SIL 5 CB GC kolonne (Middelburg, Nederland) med kolonnenlengde på 25 meter, indre diameter på 0,53 mm og filmtykkelse på 5,00 µm. Det ble brukt en flammeionisasjonsdetektor med temperatur på 200 °C. Data ble behandlet med Total Chrom (LC-terminal) (Perkin Elmer). De flyktige stoffene fra prøven hadde ulik flyktighet og ulik affinitet til den stasjonære fasen (kolonnematerialet) og brukte derfor forskjellig tid gjennom kolonna. Resultatene kom ut i grafer med topper for de ulike stoffene, og ved hjelp av standarder kan en regne ut mengden av det aktuelle stoffet i prøven. De ble kjørt en prøve med vann mellom hver av prøvene.

Standarder var acetaldehyd, 2-pentanon, 2-butanon, etylacetat (Fluka, Sigma, Steinheim, Tyskland), 2-metyl-1-propanol, 2-metyl-butanal, 3-metyl-butanal, 3-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-butanol, 2-metyl-propanal, diacetyl (Sigma, Steinheim, Tyskland) 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol, acetoin, iso-butylacetat, dimetylsulfid, aceton, 2,3-pentadione (Merck) og etanol (Arcus, Oslo, Norge).

Bare acetaldehyd, diacetyl, aceton, acetoin og etanol ble registrert som resultater.

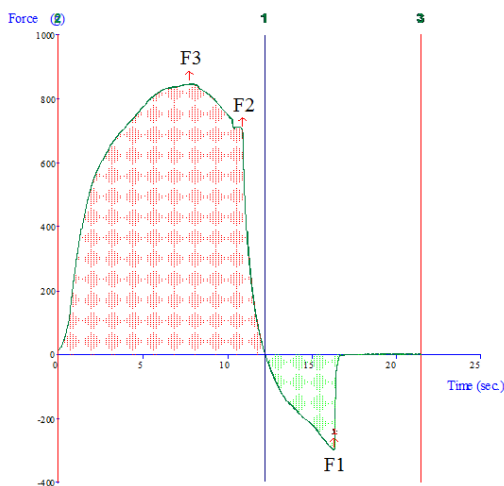
#### **3.4.3 Reologiske analyser**

Gelfasthet og viskositet ble målt 48 timer etter startet syrning ("fersk") og 22 dager etter startet syrning ("lagret").

##### **3.4.3.1 Gelfasthet**

En probe registrerer motstand ned og opp i gelen. Det ble brukt Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Surrey England). Kraftcelle (loading cell) på 25 kg og probe P45, en aluminiumsylinder med 45mm i diameter. Proben gikk 11 mm ned i prøven med en hastighet på 1mm/s. Prøvene ble ikke rørt opp. Glassene ble plassert slik at proben ikke gikk ned i prøven der hvor det var tatt ut yoghurt til mikrobiologiske analyser. Prøvene ble oppbevart i isoporkasser med is i for at de skulle være kalde under analysene. Resultatene ble håndtert ved bruk av Texture Expert Exeed (New York, USA).

En typisk kurve for en prøve er vist i figur 3.4. Kraften er målt i gram, og F3 (bristepunkt/knekkpunkt), F2 (motstand før proben endrer retning) og F1 (motstand på vei ut av prøven) er registrert som resultat.



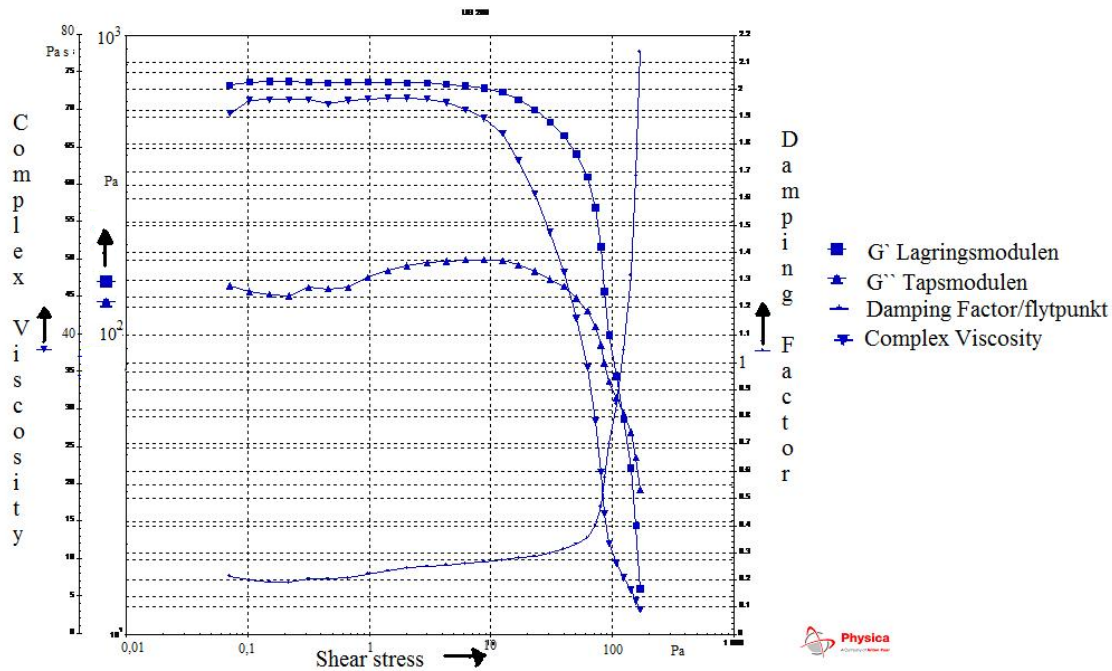
**Figur 3.4:** En typisk kurve som viser kraften som skal til for å presse et målelegeme ned i prøven og kraften som skal til for trekke legemet opp igjen fra en yoghurtprøve under den tiden det tar å gjennomføre en måling

#### **3.4.3.2 Viskositet**

Viskositeten ble analysert ved hjelp av et Paar Physica rheometer (UDS Universal Dynamic Spectrometer, Anton Paar GmbH, Graz, Østerrike). Prøvene ble analysert i en oscillerende test hvor det er en fast plate og en oscillerende konisk probe med økende strain, økende amplitude og konstant frekvens. Det ble brukt konisk probe MK 22 (50 mm, 1°) og det ble målt 30 punkter. Data ble behandlet med US 200 software.

Prøven ble rørt opp fem ganger ved hjelp av en spiseskje ført fem ganger i en sirkulær bevegelse i glassene (i tillegg hadde altså proben fra gelstyrke målingen vært nede i alle prøvene), og applisert på den faste platen i rheometeret med en 3 ml plastpipette hvor tuppen var klippet av.

Figur 3.5 viser en typisk kurve for en yoghurt prøve. Den viser forholdene mellom  $G'$  (lagringsmodul),  $G''$  (tapsmodul), flytpunktet og kompleks viskositet. Hver prøve ga en slik kurve. I resultatdelen er shear stress ved flytpunkt, tapsmodul ved første punkt, tapsmodul ved flyt punkt, tapsmodul ved siste punkt i målingen og "complex viscosity" ved flytpunktet hentet fra en tabell som programvaren ga.



Figur 3.5: Viser 4 kurver typisk for en yoghurtprøve.

### 3.4.4 Sensoriske analyser

Sensoriske analyser (profilering) ble gjort 8 dager etter syrning ("fersk") og 22 dager etter syrning ("lagret"). Det ble utarbeidet et skjema for den sensoriske analysen (se vedlegg 1) og et panel bestående av studenter og ansatte ved IKBM evaluerte de ulike yoghurtene. Det var fra 6 til 9 dommere og 8 eller 16 prøver under hver profilering. Prøvene som var "ferske" ble rørt opp et par timer før analysene ved hjelp av en Adax håndmikser i 1 minutt på full hastighet, med en visp. Det ble forsøkt å gjøre røringen så lik som mulig i hvert glass. Prøvene som var "lagret" var rørt opp til kjemiske analyser dagen før og ble derfor bare rørt opp med en spiseskje rundt i glasset fem ganger.

Ved siste analyse ble de lagrede prøvene som ikke inneholdt sukker også tilsatt 12 % jordbærsyltetøy (Landlord jordbærsyltetøy, kjøpt i butikken), hovedsakelig for å se om denne smakstilsetningen "dekket over" eventuelle bismaker.

### 3.4.5 Statistiske analyser

For de statistiske analysene ble det tatt med data fra "ferske" prøver (24 timer for pH, kjemiske og mikrobiologiske analyser, 48 timer for reologiske analyser og 8 dager for sensoriske analyser) og "lagrede" prøver (ca 3 uker for alle analyser).

### 3. Materialer og metoder

---

Sukrose/laktose, glukose og galaktose fra HPLC 1 (fra karbohydrater og organiske syrer) ble tatt ut. I stedet ble laktose, sukrose og galaktose for HPLC 2 tatt med. Resultatene fra karbohydratanalysen (HPLC metode 2) fra forsøk 1 ble brukt 3 ganger i den fullstendige statistiske utregningen fordi en trengte et fullstendig datasett og det var ikke mulig å bruke resultatene fra forsøk 2 og 3 på grunn av sammenbrudd i HPLC. For de reologiske analysene ble stress ved flyt punkt brukt som mål på viskositet og Force 2 brukt som mål på gelfasthet.

Alle de statistiske analysene ble gjort ved bruk av The Unscrambler 9,8 (Camo, Oslo, Norge). Det ble kjørt både Principal Component Analysis (PCA) og Variansanalyse. Hensikten med PCA er å dele data inn i en ”struktur” del og en ”støy” del, og gjerne finne grupperinger og trender dataene. Analysen vil gi flere prinsippal komponenter, hvor PC1 vil kunne forklare mest variasjon i datasettet (PC1 vil ligge i den retningen det er størst variasjon), PC2 vil kunne forklare nest mest variasjon, osv. En vil også kunne plote variablene (loadings) og prøvene (scores) sammen i et PC-kordinat, slik at en kan se hvilke variabler som gir størst bidrag til prinsippal komponentene i ulike retninger. Score-plottet kan kalles et ”kart over prøvene” og etter grupperinger i plottet kan en se hva som bidrar mest til PC1, PC2 osv (Esbensen 2002).

I PC-plottene står F1, F2 og F3 foran hver prøvekode. Dette betyr hhv forsøk 1, forsøk 2 og forsøk 3. Etter prøvenavnet står kode for uttak hvor 2 betyr at prøven er ”fersk” og 3 betyr at prøven er ”lagret”. Designvariabler var Sukker, Melkeblending (A, B, C og D), Uttak og Forsøk.

Hensikten med en variansanalyse er å bryte ned respons variasjonen til forskjellige komponenter som kan sammenlignes og testes for signifikans. Hvis den ”struktureerte” variansen (pga designvariablen) er større enn den ”tilfeldige” variansen, er effekten signifikant (Esbensen 2002). Ved variansanalyse ble det regnet en p-verdi for hver design variabel og hver variabel. Er p mindre en 0,05 (signifikans nivå på 5 %) har den gitte design variabelen signifikant effekt på den valgte variabel. Variansanalysen kan også si i hvilken retning effekten gir utslag.



## 4. Resultater

### 4.1 Forforsøk på yoghurtkulturen

Resultatene fra undersøkelse av den mikrobiologiske balansen i yoghurtkultur og yoghurt syrnet med den aktuelle kulturen er vist i tabell 4.1

**Tabell 4.1:** Resultater fra de mikrobiologiske analysene på yoghurt og frossenkultur.

	<i>Streptococcus thermophilus</i> (M17)	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (MRS)
<b>LOG kde/ml i fersk yoghurt</b>	<b>8,87</b>	<b>&lt;4</b>
<b>LOG kde/ml i frossenkultur</b>	<b>10,48</b>	<b>&lt; 8</b>

Det ble ikke funnet *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ved de fortyningene som var brukt. Yoghurt og frossenkultur ble også studert i mikroskop og en så svært få staver i forhold til kokker, men det ble registrert at staver var til stede i kulturen og i yoghurten.

### 4.2 Hovedforsøk

Under følger resultatene fra hovedforsøkene. Koding for prøvene er gitt i tabell 3.1 under ”Materialer og metoder”.

#### 4.2.1 Ultrafiltrering

°Brix-, temperatur- og fluxmålinger underveis i ultrafiltreringen er vist under i tabell 4.2, 4.3 og 4.4.

**Tabell 4.2:** Viser resultater fra ultrafiltreringen i forsøk 1

	<b>Retentat</b>	<b>Retentat</b>	<b>Permeat</b>	<b>Permeat</b>
<b>Klokkeslett</b>	°Brix	Temp, °C	Flux, l/min	°Brix
09.54	3,3			1,5
09.52		48	8	
10.00	3,4			1,5
10.05		48	7,8	
10.15	4,4	49		1,5
10.21	5,4			1,5
10.30	7,6			

## 4. Resultater

---

**Tabell 4.3:** Viser resultater fra ultrafiltreringen i forsøk 2

	Retentat	Retentat	Permeat	Permeat
Klokkeslett	Brix	Temp	Flux	Brix
10.15	3,2	47		1,9
10.20			5	
10.25	3,9			1,9
10.30		49	4,4	
10.35	4,1			1,9
10.40			4,6	
10.45	4,9			1,8
10.50				
10.55	5,7		4	1,8
11.00	6,2	52		1,8
11.05	7,1		4,2	1,6
11.15	8,9			1,7

**Tabell 4.4:** Viser resultater fra ultrafiltreringen i forsøk 3

	Retentat	Retentat	Permeat	Permeat
Klokkeslett	°Brix	Temp, °C	Flux, l/min	°Brix
09.50	3,3	47	6,2	1,6
09.55	3,5			1,7
10.00	4		5	1,7
10.10	4,1	49		1,7
10.15			5	
10.20	4,9			1,6
10.25	5,4	50	4,6	1,7
10.30	6,2			1,7
10.35	7	52		1,7
10.40	8			1,7
10.45	8,8			
10.50				

For alle forsøk gikk °Brix opp i retentatet underveis i ultrafiltreringen, mens det holdt seg relativt stabilt i permeatet. Fluxen gikk ned underveis i diafiltreringen i alle forsøkene. I forsøk 1 var fluxen større enn i forsøk 2 og 3.

### 4.2.2 Fett og tørrstoffinnhold

Fett i de ulike blandingene og tørrstoffinnhold i blandingen av konsentrat og permeat som var blandet for å oppnå en proteinkonsentrasjon på 4.09 %, er vist i tabell 4.5.

**Tabell 4.5:** Resultater fra fett og tørrstoffanalyser.

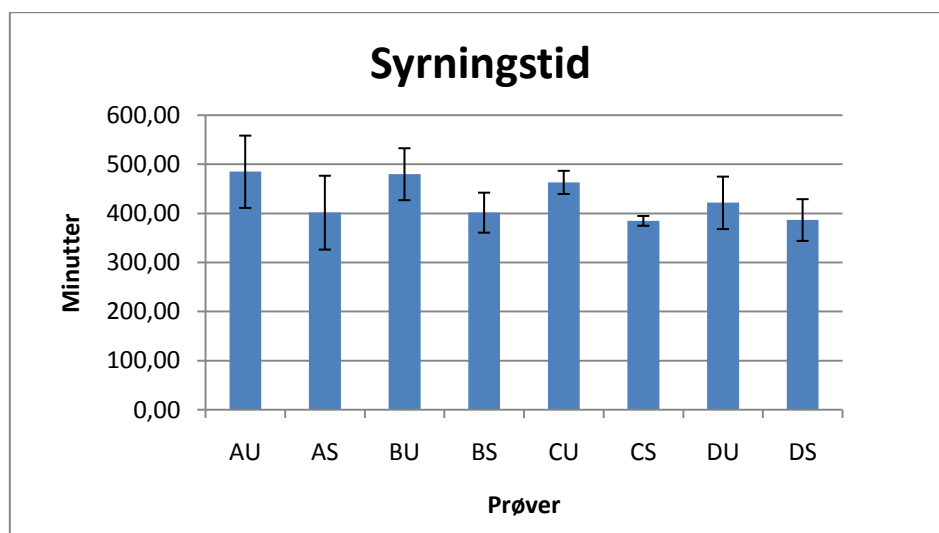
	Gjennomsnitt ( ± SD )
Fett i blanding A	0,2 ± 0,1
Fett i blanding B	1,9 ± 0,2
Fett i blanding C	3,9 ± 0,1
Fett i blanding D	4,0 ± 0,9 *
Tørrstoff i konsentrat blandet med permeat	6,4 ± 0,1

\*Fett i blanding D i forsøk 1 ble ikke målt.

Fett i blanding A var litt høyere enn forventet, mens fett i blanding B og C var litt lavere enn forventet. Fett i blanding D og tørrstoffinnhold var som forventet.

### 4.2.3 Syringstid og pH

Gjennomsnittlig syringstid for alle 3 forsøkene er vist med standardavvik i figur 4.1. Syring ble avsluttet ved pH 4,5.

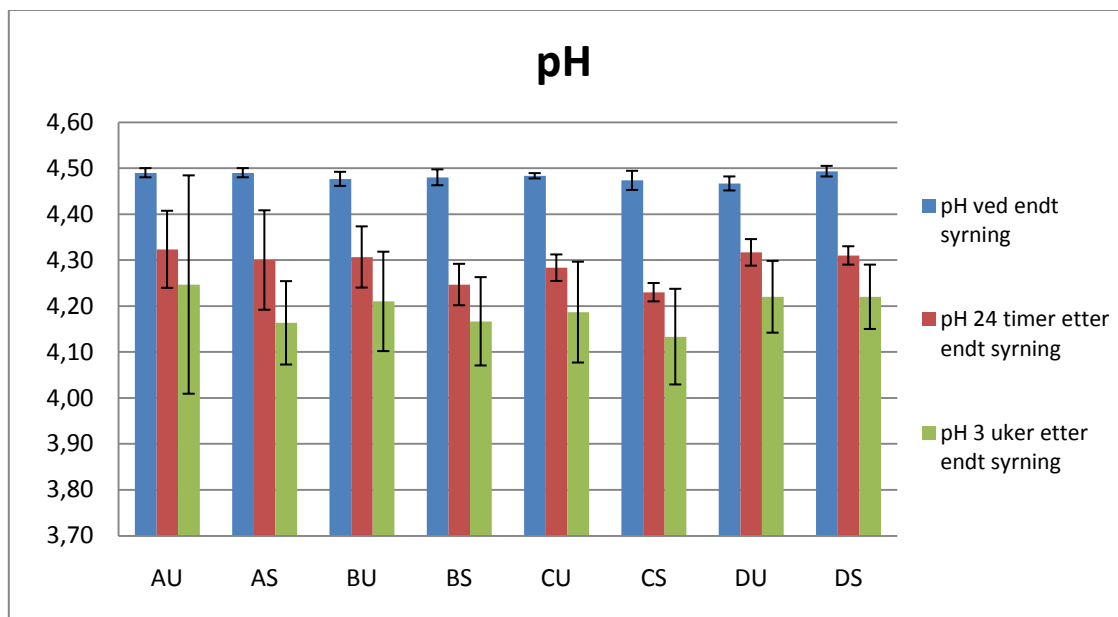


**Figur 4.1:** Gjennomsnitt av syringstid for alle prøvene.

Prøvene som var tilsatt sukker hadde kortere syringstid enn tilsvarende prøver uten sukker. Blant prøver uten sukker var det en trend at de med lavest innhold av fett hadde lengst syringstid.

## 4. Resultater

pH ble målt 24 timer og 3 uker etter endt syrning. Gjennomsnitt fra alle forsøk og standardavvik er vist i figur 4.2.



**Figur 4.2:** pH ved endt syrning, 24 timer etter endt syrning og etter 3 ukers kjøling for alle prøver.

pH gikk ned mellom hvert uttak. Fallet var størst fra endt syrning til 24 timer etter. Det var ingen klar forskjell mellom laktosereduserte yoghurter og kontroll-yoghurter. Yoghurter tilsatt sukker hadde større fall i pH enn tilsvarende yoghurter uten tilsatt sukker.

### 4.2.4 Utseende

Resultatene fra utseende til de ulike prøvene 24 timer og 20 dager etter endt syrning er vist i tabell 4.6, 4.7 og 4.8.

**Tabell 4.6:** Poeng ved undersøkelse av utseende til prøvene fra forsøk 1

Prøve	Etter 24 timer		Etter 20 dager	
	Poeng	Kommentar	Poeng	Kommentar
AU	5		4	Litt myseutskillelse i skummet
AS	5		4	Litt myseutskillelse i skummet
BU	5		5	
BS	5		5	
CU	3	Myseutskillelse langs glassets vegger	5	
CS	5		5	
DU	5		5	
DS	3	Myseutskillelse langs glassets vegger, men ikke like mye som CU	5	

Etter 24 timer så de fleste prøvene bra ut, men CU og DS hadde myseutskillelse langs glassets vegger. En kunne ikke se store forskjeller på 24 timer gammel og 20 dager gammel yoghurt.

**Tabell 4.7:** Viser poeng ved undersøkelse av utseende til prøvene fra forsøk 2.

Prøve	Etter 24 timer		Etter 20 dager	
	Poeng	Kommentar	Poeng	Kommentar
AU	5		4	Myse i kollapsede skumbobler
AS	5		5	
BU	5		5	
BS	5		5	
CU	5		5	
CS	5*	*I et parallelt glass kunne en se myseutskillelse langs glassets vegger, men ikke i dette glasset.	5	
DU	5		4	Myseutskillelse i skummet
DS	5		4	Litt myse langs glassets vegger

Ved undersøkelse av 24 timer gammel yoghurt fra forsøk 2 hadde ingen av yoghurtene myseutskillelse, men det ble lagt merke til at et parallelt glass til prøve CS hadde myseutskillelse langs glassets vegger. Det var ikke store forskjeller på 24 timer gammel yoghurt og 20 dager gammel yoghurt.

**Tabell 4.8:** Poeng ved undersøkelse av utseende til prøvene fra forsøk 3.

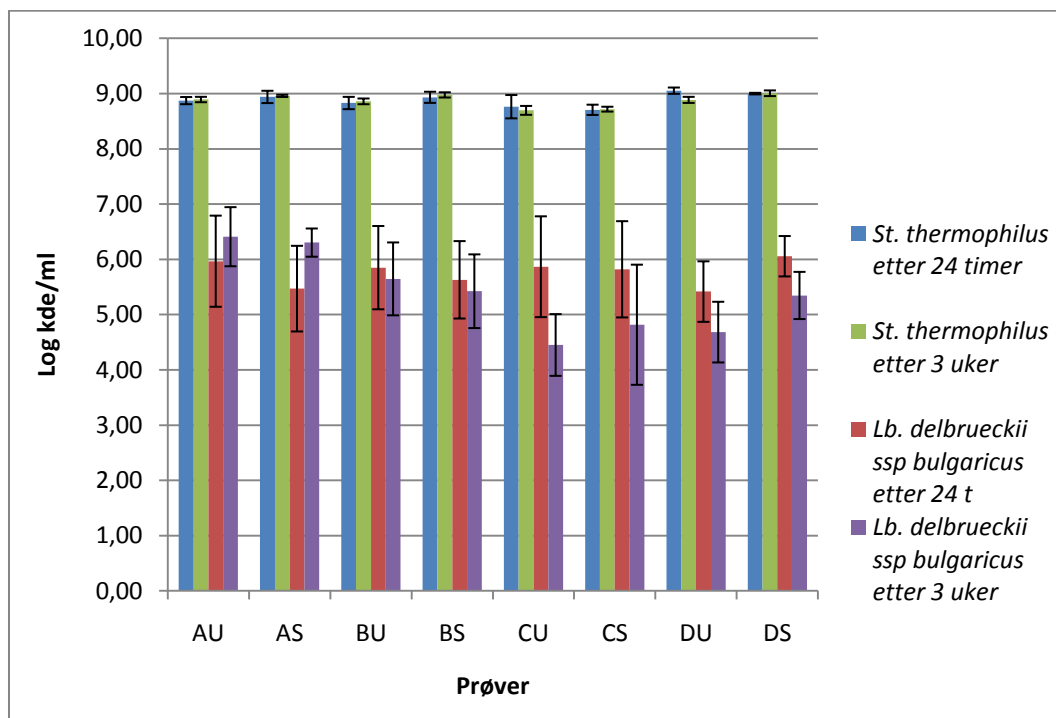
Prøve	Etter 24 timer		Etter 20 dager	
	Poeng	Kommentar	Poeng	Kommentar
AU	5		5	
AS	5		5	
BU	5		5	
BS	5		5	
CU	5		5	
CS	5		4	Kollapset skum med litt myse
DU	5		5	
DS	5		4	Kollapset skum med litt myse

Alle prøvene fra forsøk 3 så bra ut etter 24 timer. Det var ikke store forskjeller på 24 timer gammel og 20 dager gammel yoghurt, men det var litt myse i kollapset skum på noen av prøvene.

## 4. Resultater

### 4.2.5 Mikrobiologiske analyser

Resultatene fra de mikrobiologiske analysene er vist i figur 4.3.



**Figur 4.3:** Antall bakterier (log kde/ml) av *Streptococcus thermophilus* (dyrket på M17) og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (dyrket på MRS) i prøvene 24 timer og 3 uker etter endt syring.

Antall *Streptococcus thermophilus* var vesentlig høyere enn antall *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Antall *S. thermophilus* holdt seg stabilt under lagring. For prøvene som inneholdt 4 % MMP (A) gikk antallet av *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* opp under lagring. For de andre prøvene gikk antallet ned under lagring.

## 4.2.6 Kjemiske analyser

### 4.2.6.1 HPLC organiske syrer og karbohydrater, metode 1

#### Innhold i diafiltrert og ultrafiltrert melk

Gjennomsnittlig innhold av de ulike organiske syrer og karbohydrater i konsentratet fra UF-behandlingen, etter justering av proteininnhold ved tilsetning av permeat, er vist i tabell 4.9.

**Tabell 4.9:** Gjennomsnittlig innhold av organiske syrer og karbohydrater i diafiltrert og UF-behandlet melk.

	<b>Innhold, ppm</b>	<b>Standardavvik ±</b>
<b>Sitronsyre</b>	910,89	52,72
<b>a-ketoglutaric acid</b>	5,24	4,16
<b>Orotinsyre</b>	28,86	1,29
<b>Pyrodruesyre</b>	0,44	0,38
<b>Ravsyre</b>	97,02	32,48
<b>Melkesyre</b>	0,00	0,00
<b>Maursyre</b>	0,00	0,00
<b>Urinsyre</b>	4,49	1,84
<b>DL-Pyroglutamic acid</b>	0,00	0,00
<b>Eddiksyre</b>	0,00	0,00
<b>Laktose</b>	17347,63	1253,38
<b>Glukose</b>	75,60	7,76
<b>Galaktose</b>	24,92	4,16

Laktoseinnholdet var på ca 1,7 % etter diafiltrering og ultrafiltrering av melka.

## 4. Resultater

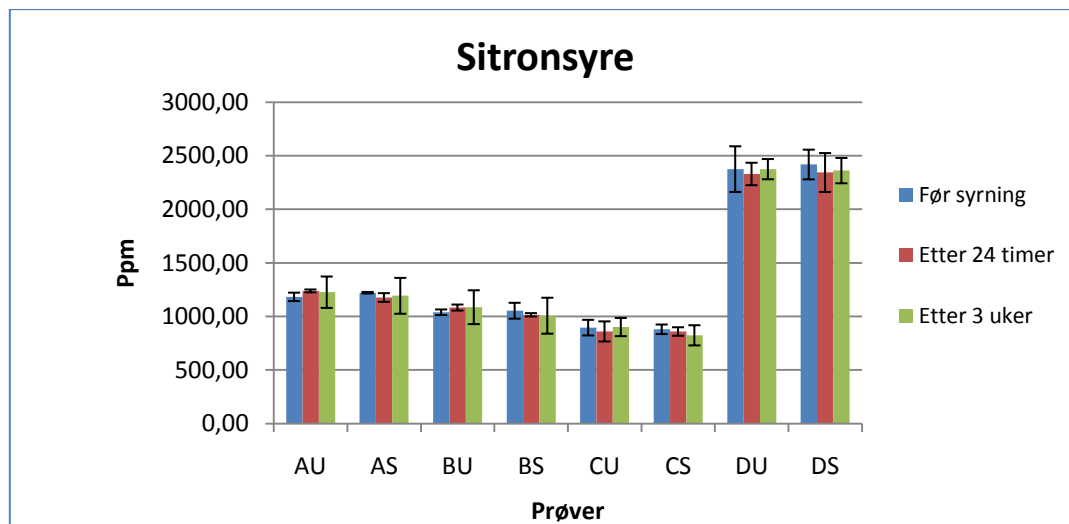
---

### Innhold av organiske syrer

Resultatene av enkelte organiske syrer fra HPLC metode 1 er vist i figurene som følger.

#### **Sitronsyre**

Konsentrasjon av sitronsyre for de ulike prøvene er vist i figur 4.4.



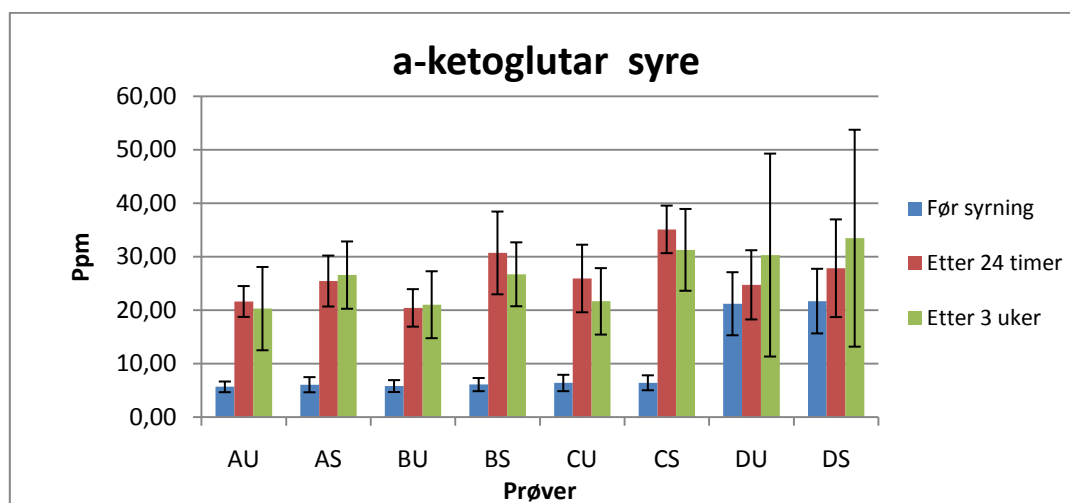
**Figur 4.4:** Konsentrasjon av sitronsyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Konsentrasjonen av sitronsyre var relativt jevnt fra uttak til uttak. Størst mengde var det i de prøvene som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Mengden var litt høyere desto mer MMP som var tilsatt i de laktosereduserte prøvene. Det var ingen forskjell mellom prøvene som var tilsatt sukker og de tilsvarende som ikke var det.



**$\alpha$ -ketoglutar syre**

Konsentrasjon av  $\alpha$ -ketoglutar syre i de ulike prøvene er vist i figur 4.5.

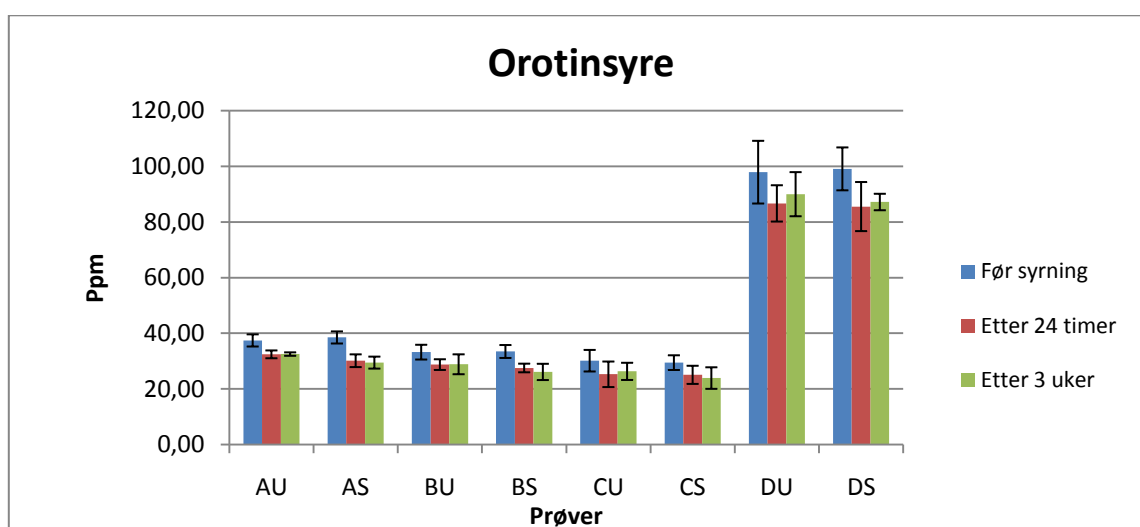


**Figur 4.5:** Konsentrasjon av  $\alpha$ -ketoglutar syre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Før syring var innholdet jevnt i de laktosereduserte prøvene, og høyest i de prøvene som var tilsatt SMP. Etter 24 timer hadde mengden økt i alle prøvene. Før syring var det ikke forskjell mellom prøvene som var tilsatt sukker og de tilsvarende prøvene som ikke var det. Etter syring var det litt større innhold i prøvene som var tilsatt sukker.

**Orotinsyre**

Konsentrasjon orotinsyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.6.



**Figur 4.6:** Konsentrasjon av orotinsyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

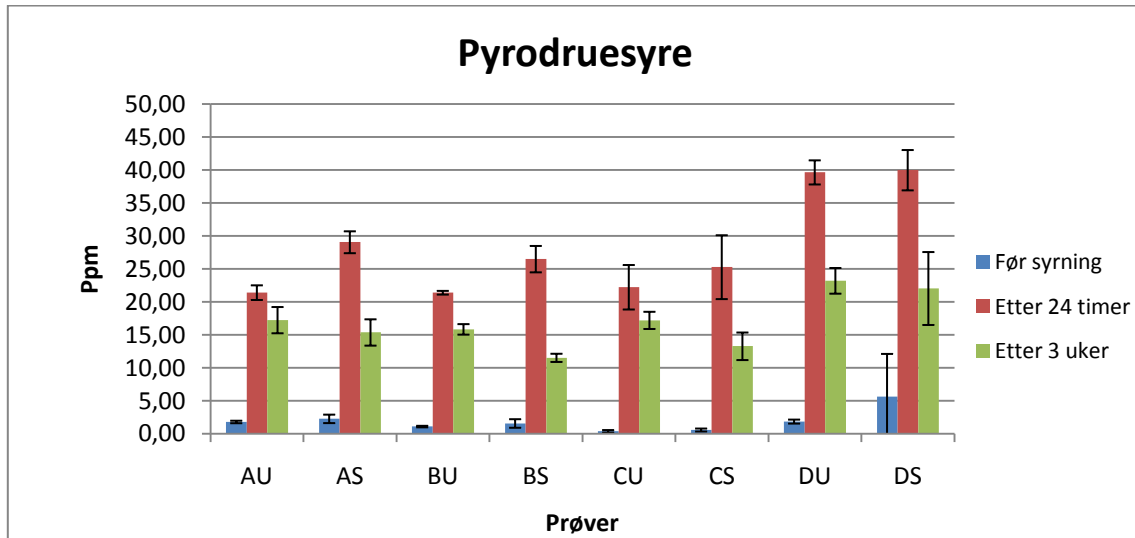
## 4. Resultater

---

Det var høyest innhold av orotinsyre i prøvene som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Det var litt høyere innhold jo mer MMP det var tilsatt til de laktosereduserte prøvene. For alle prøver var innholdet lavere etter syrning, og holdt seg ganske stabilt under lagring.

### Pyrodruesyre

Konsentrasjon av pyrodruesyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.7.

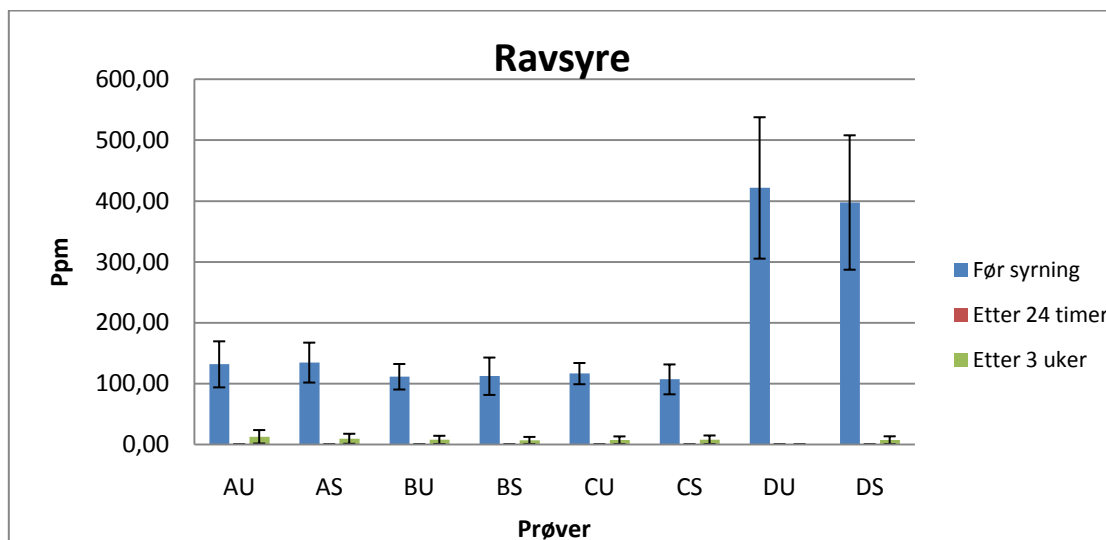


**Figur 4.7:** Konsentrasjon av pyrodruesyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

For alle prøver økte innholdet av pyrodruesyre under syrning, og minket under lagring. Høyest innhold var det i prøvene som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Etter 24 timer var det høyere innhold i de som inneholdt sukker enn de som ikke inneholdt sukker. Etter lagring var det motsatt.

## Ravsyre

Konsentrasjon av ravsyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.8.

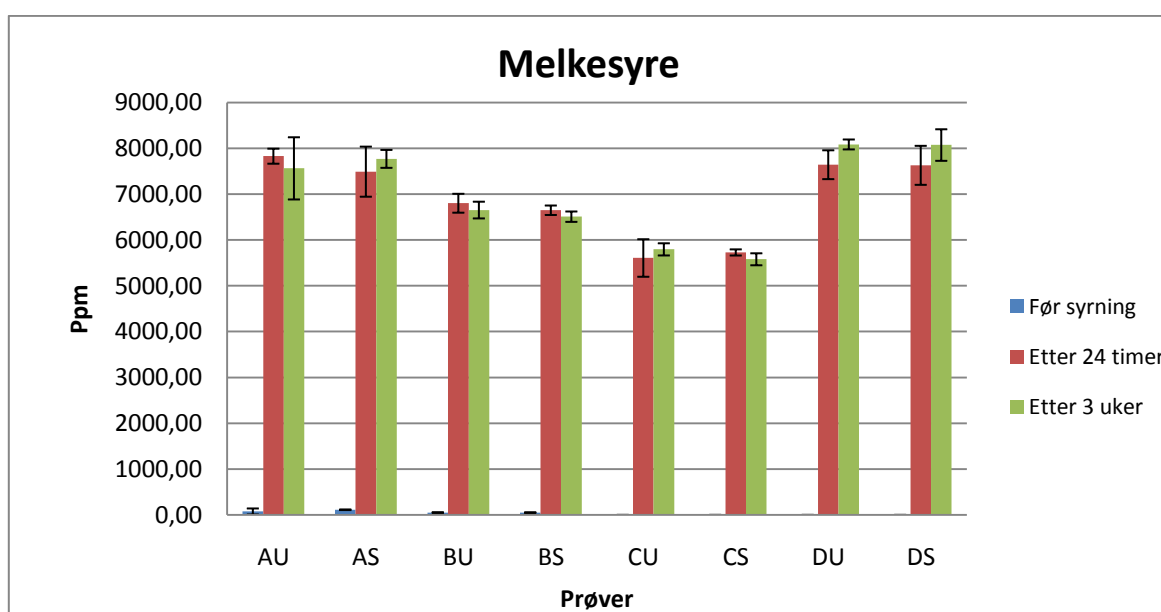


**Figur 4.8:** Konsentrasjon av ravsyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Innholdet av ravsyre var høyest før syring, og gikk så ned til ikke-detektbart etter syring, og litt opp igjen under lagring for alle prøver bortsett fra DU. Høyest innhold før syring var det i prøvene som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Det var ikke store forskjeller mellom prøvene som var laget av laktoseredusert melk. Det var heller ikke store forskjeller mellom de som var tilsatt sukker og de tilsvarende som ikke var tilsatt sukker.

## Melkesyre

Konsentrasjon melkesyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.9.



**Figur 4.9:** Konsentrasjon av melkesyre i de ulike prøvene ved 3 uttak.

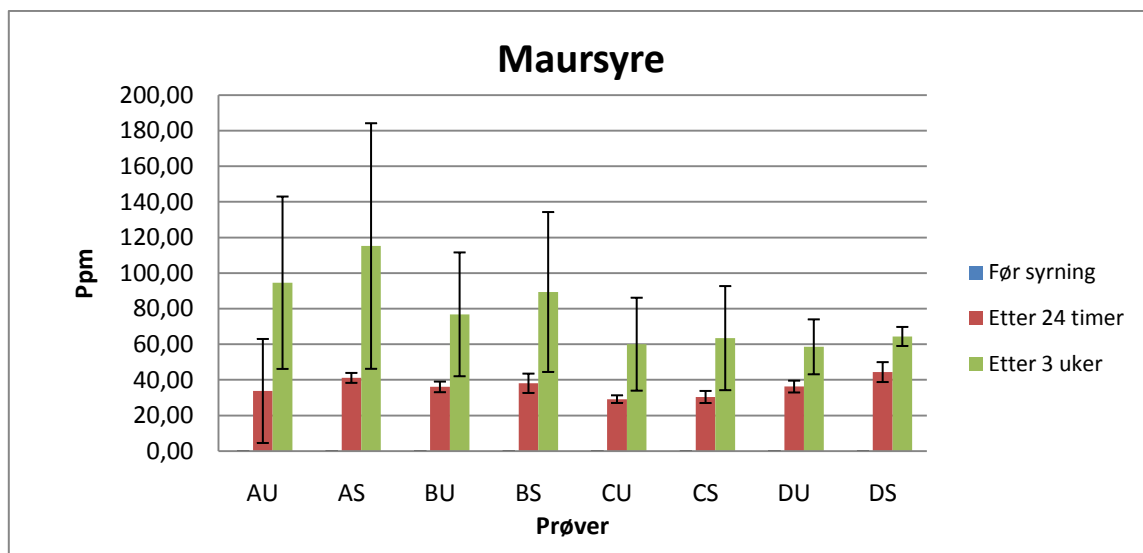
## 4. Resultater

---

Innholdet av melkesyre før syrning var tilnærmet null for alle prøver. Etter syrning hadde mengden økt betraktelig. Under lagring holdt innholdet seg relativt jevnt. Innholdet var etter 24 timer og etter 3 uker høyest i D og A prøvene. For de laktosereduserte prøvene var innholdet høyere jo mer MMP det var tilsatt. Det var ingen store forskjeller på de som var tilsatt sukker, kontra de som ikke var tilsatt sukker.

### Maursyre

Konsentrasjon maursyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.10.

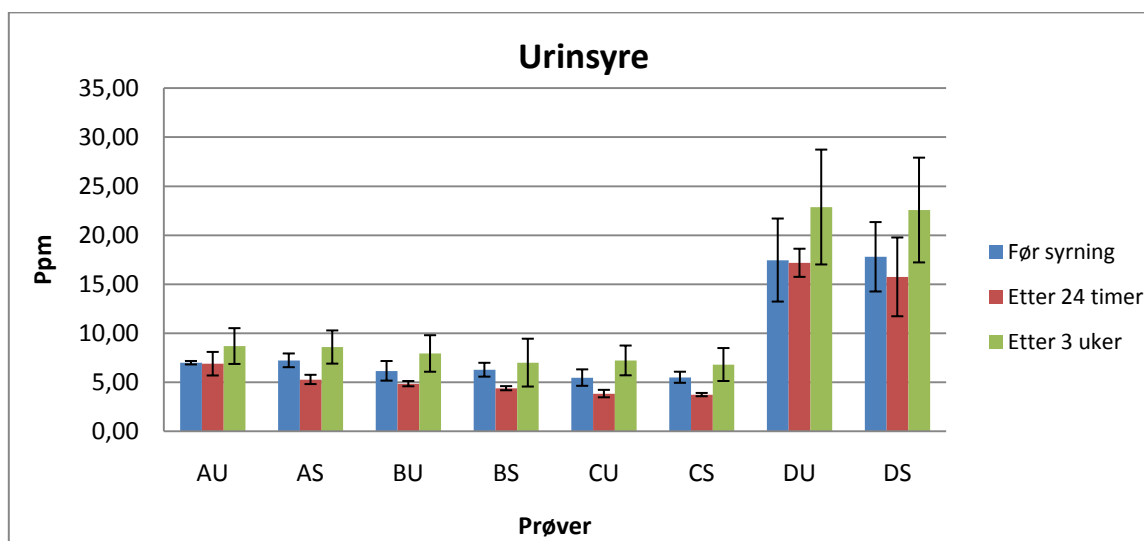


**Figur 4.10:** Konsentrasjon av maursyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Før syrning var det ikke maursyre tilstede i prøvene. Under syrning og under lagring gikk innholdet opp for alle prøver. Etter 24 timer var innholdet relativt jevnt for alle prøver. Etter lagring var innholdet høyest i prøvene som inneholdt mest MMP. Innholdet var høyest i de prøvene som var tilsatt sukker sett i forhold til de tilsvarende prøvene som ikke var tilsatt sukker. Dette var tydeligst i de lagrede prøvene.

## Urinsyre

Konsentrasjon urinsyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.11.

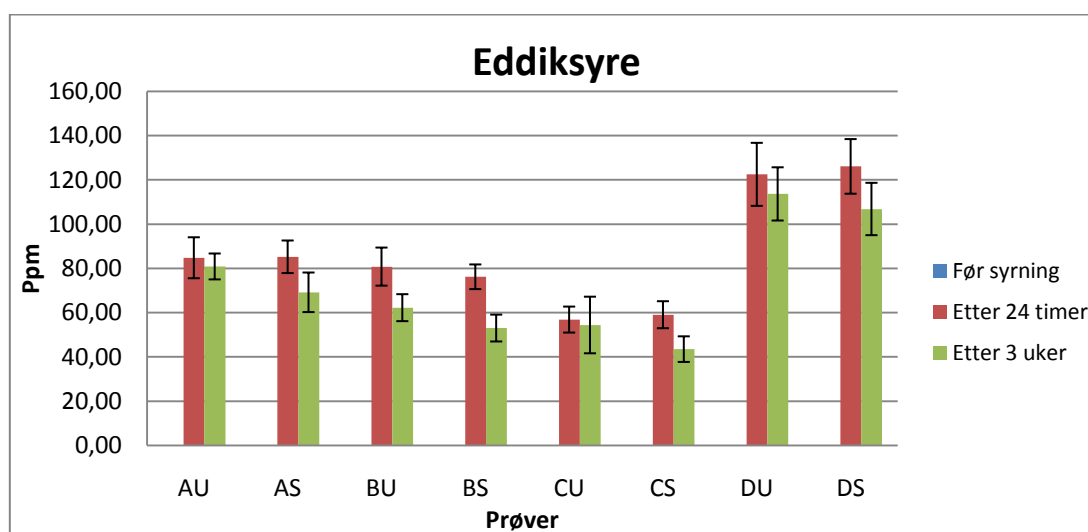


**Figur 4.11:** Konsentrasjon av urinsyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

For alle prøver gikk innholdet av urinsyre litt ned under syring, men økte under lagring. Høyest innhold var de i de prøvene som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Det var ingen tendens i forhold til sukkerinnhold.

## Eddiksyre

Konsentrasjon av eddiksyre i de ulike prøvene er vist i figur 4.13.



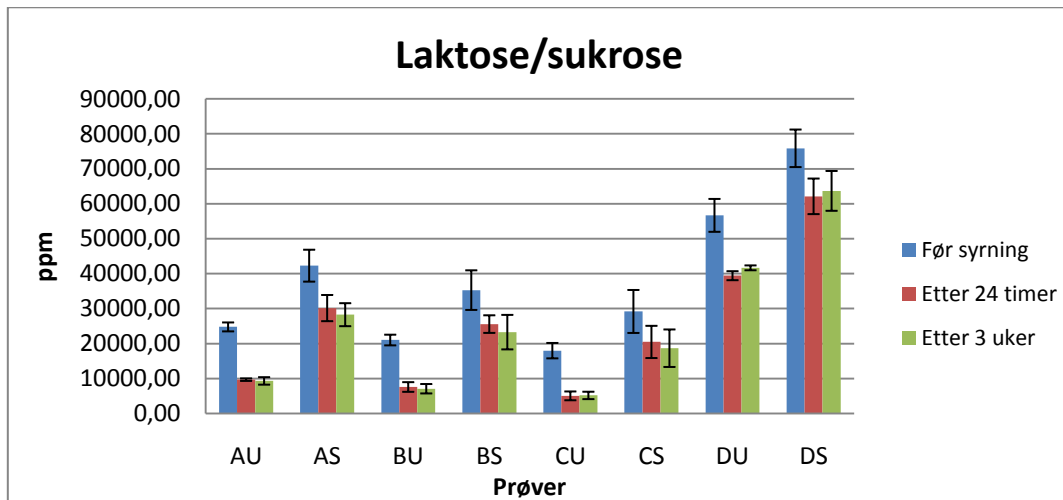
**Figur 4.13:** Konsentrasjon av eddiksyre i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

## 4. Resultater

Før syring var det ikke eddiksyre tilstede i prøvene. Etter syring hadde innholdet økt, men mengden gikk ned under lagring. Det var høyest innhold i yoghurt som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Innholdet i de laktosereduserte prøvene var sammenfallende med hvor mye MMP det var tilsatt. Etter lagring var innholdet lavere i prøvene som var tilsatt sukker enn i de tilsvarende som ikke var tilsatt sukker.

### Laktose og sukrose

Konsentrasjon av laktose og sukrose i de ulike prøvene fra HPLC er vist i figur 4.14. Merk at med HPLC metode 1 kan en ikke skille mellom laktose og sukrose i de prøvene som var tilsatt sukker.

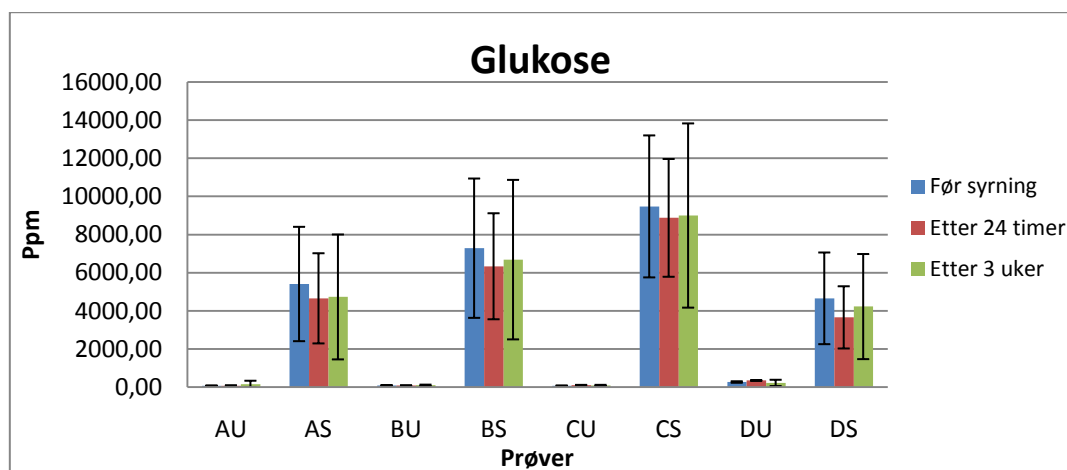


**Figur 4.14:** Konsentrasjon av laktose/sukrose i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

For alle prøver gikk mengden laktose/sukrose ned under syring. Innholdet holdt seg relativt jevnt under lagring. Innholdet var høyere i prøver som var tilsatt sukker enn tilsvarende prøver som ikke var tilsatt sukker. Innholdet var høyest i de prøvene som var laget av vanlig melk og tilsatt SMP. Innholdet i laktosereduserte prøvene var sammenfallende med mengde MMP tilsatt; jo mer MMP tilsatt jo høyere laktoseinnhold.

## Glukose

Konsentrasjon av glukose i de ulike prøvene er vist i figur 4.15. Merk at i prøvene som var tilsatt sukker vil en del av sukrosen brytes ned til glukose i kontakt med svovelsyre i HPLC metode 1. Derfor vil de prøvene som inneholdt sukrose få for store verdier av glukose.

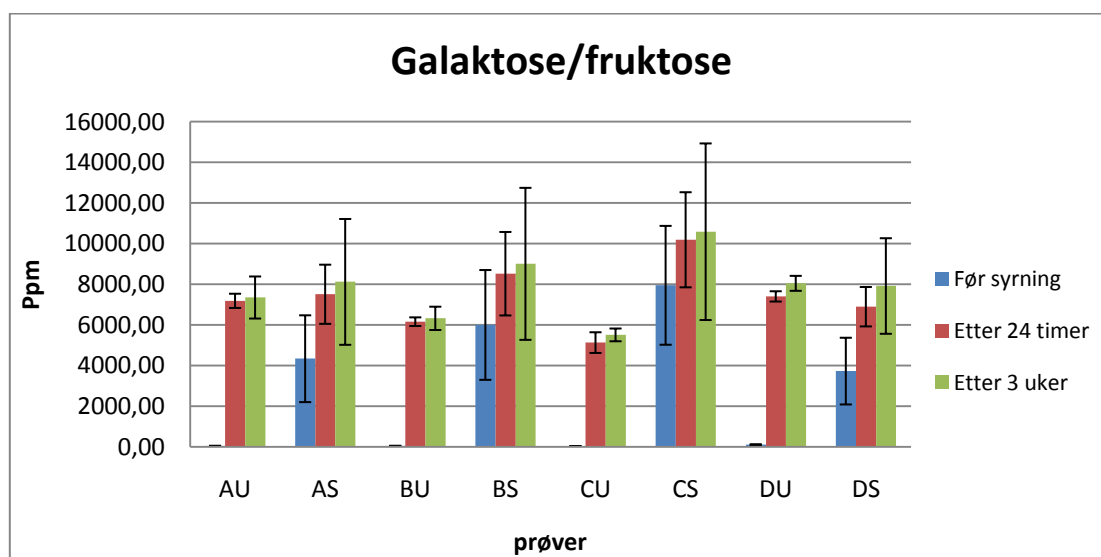


**Figur 4.15:** Konsentrasjon av glukose i de ulike prøvene.

Det var lave konsentrasjoner av glukose i prøvene som ikke var tilsatt sukrose. Av dette kan en konkludere med at det i utgangspunktet var svært lite glukose i alle prøvene.

## Galaktose

Mengde galaktose i de ulike prøvene er vist i figur 4.16. Merk at i de prøvene som var tilsatt sukker, vil noe av sukrosen brytes ned til glukose og fruktose og fruktose er vanskelig å skille fra galaktose i HPLC metode 1. De prøvene som inneholdt sukrose vil derfor få for store verdier av galaktose.



**Figur 4.16:** Mengde galaktose i de ulike prøvene.

## 4. Resultater

---

For de prøvene som ikke var tilsatt sukker ble det omtrent ikke registrert galaktose før syring. Mengden økte under syring og under lagring.

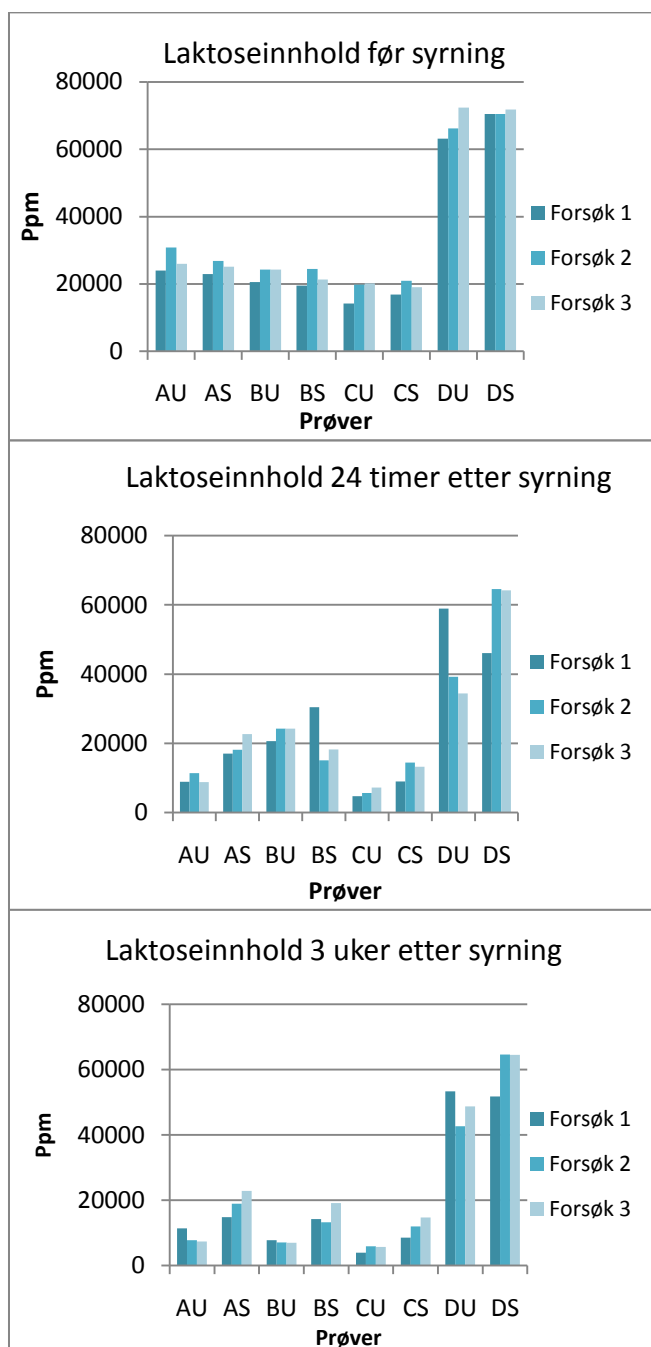
### **4.2.6.2 HPLC karbohydrater, metode 2**

Mengde laktose, sukrose og galaktose funnet i de ulike prøvene er vist under. Det ble ikke funnet fruktose og bare små mengder glukose i noen få prøver så disse er ikke tatt med i resultatdelen. Merk at resultatene ikke er vist som gjennomsnitt, men som faktiske verdier for hvert forsøk. Etter at alle prøvene fra forsøk 1 var gjort, ble det sammenbrudd av HPLC'n. Dette førte til at de kromatografiske grafene ble vanskeligere å tyde, og resultatene mindre pålitelige. Derfor er det mer hensiktsmessig å se på trendene i forhold til å se på gjennomsnitt.



## Laktose

Mengde laktose i de ulike prøvene i de ulike uttakene er vist i figur 4.17.



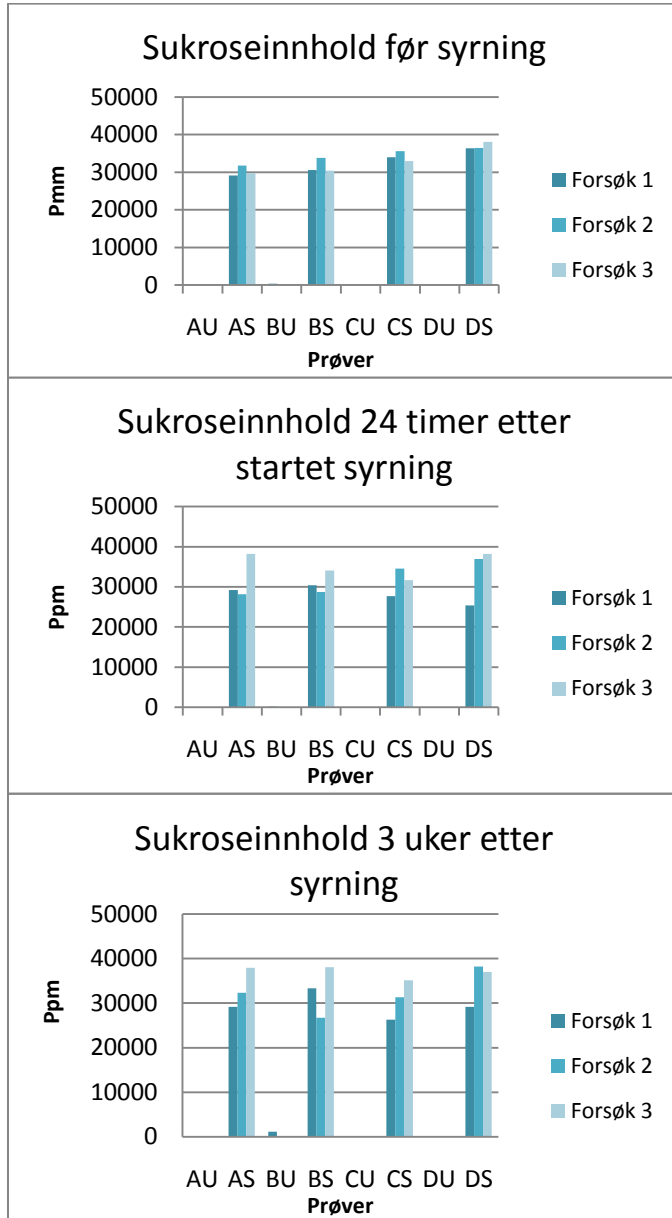
**Figur 4.17:** Laktoseinnhold i de ulike prøvene.

Før syring var innholdet av laktose klart størst i de prøvene som ikke var laktoseredusert. Blant de laktosereduserte var innholdet størst i de som var tilsatt mest MMP. Etter 24 timer var innholdet gått ned i de fleste prøver. Etter 24 timer var det en liten tendens til at prøvene som var tilsatt sukker hadde høyere innhold av laktose enn tilsvarende prøver uten. Etter 3 uker var denne tendensen klarere.

## 4. Resultater

### Sukrose

Mengde sukrose i de ulike prøvene i de ulike uttakene er vist i figur 4.18. Resultatene er ikke vist som gjennomsnitt, men som faktisk verdi for hvert forsøk.

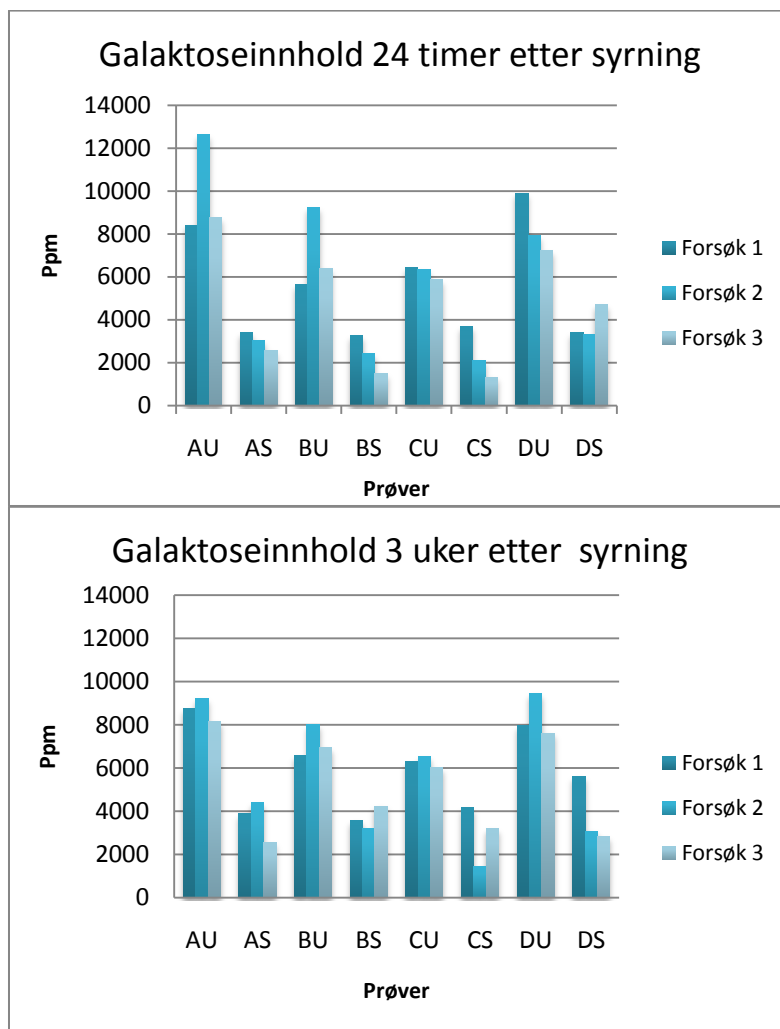


**Figur 4.18:** Sukroseinnhold i de ulike prøvene før syrning, 24 timer etter og 3 uker etter.

Det var ingen klar trend for disse resultatene. Verdiene fra forsøk 1 gikk litt ned fra før syrning til etter lagring.

## Galaktose

Mengde galaktose i de ulike prøvene 24 timer og 3 uker etter endt syrning er vist i 4.19. Det ble ikke funnet noe galaktose før syrning.



**Figur 4.19:** Galaktoseinnhold i de ulike prøvene 24 timer og 3 uker etter endt syrning.

Det var mindre galaktose i prøvene som var tilsatt sukker enn i de tilsvarende som ikke var tilsatt sukker.

## 4. Resultater

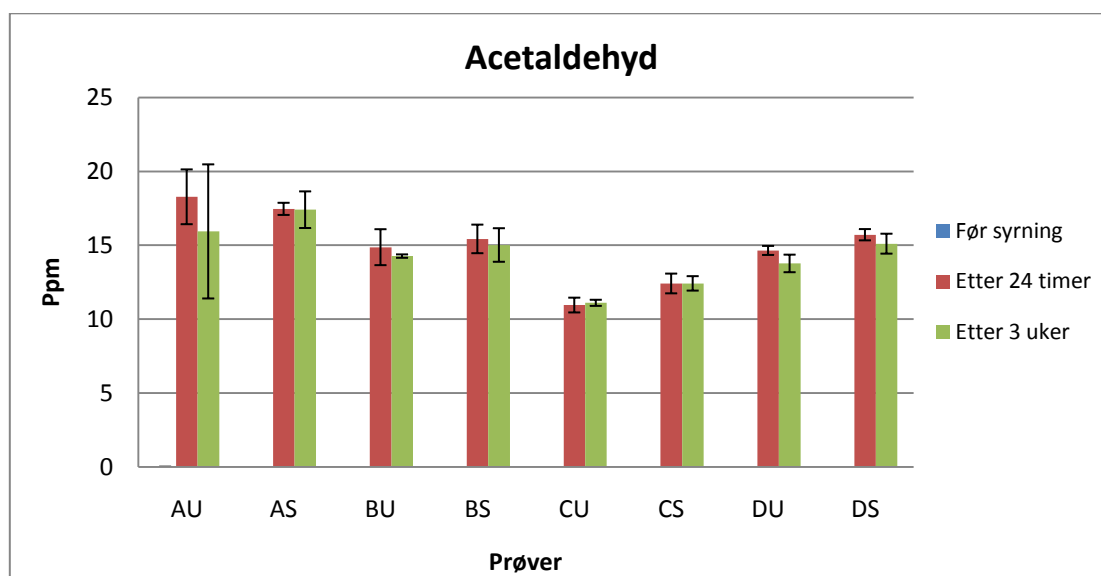
---

### 4.2.6.3. HSGC analyse av flyktige stoffer

Resultatene fra de flyktige forbindelsene analysert ved HSGC er vist under.

#### Acetaldehyd

Mengden acetaldehyd i de ulike prøvene er vist i figur 4.20.

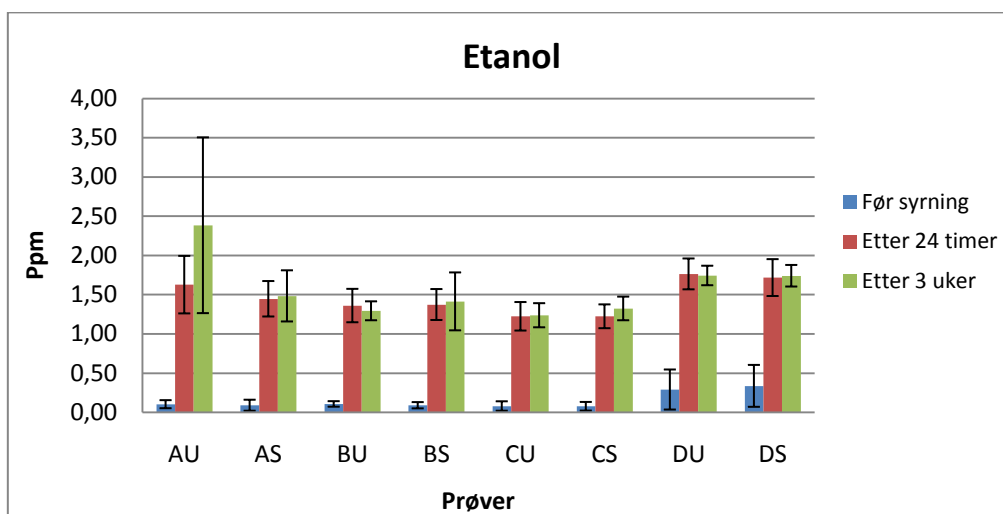


**Figur 4.20:** Konsentrasjon acetaldehyd i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Før syring var innholdet av acetaldehyd lavere enn deteksjonsgrensen for alle prøvene. Etter 24 timer hadde innholdet steget betraktelig, mens det holdt seg relativt stabilt under lagring. En kunne se en liten tendens til at prøvene med sukker hadde et litt høyere innhold enn de tilsvarende prøvene uten sukker, bortsett fra A. For de laktosereduserte yoghurtene var det høyest innhold i prøvene som var tilsatt mest MMP.

## Etanol

Mengden etanol i de ulike prøvene er vist i figur 4.21

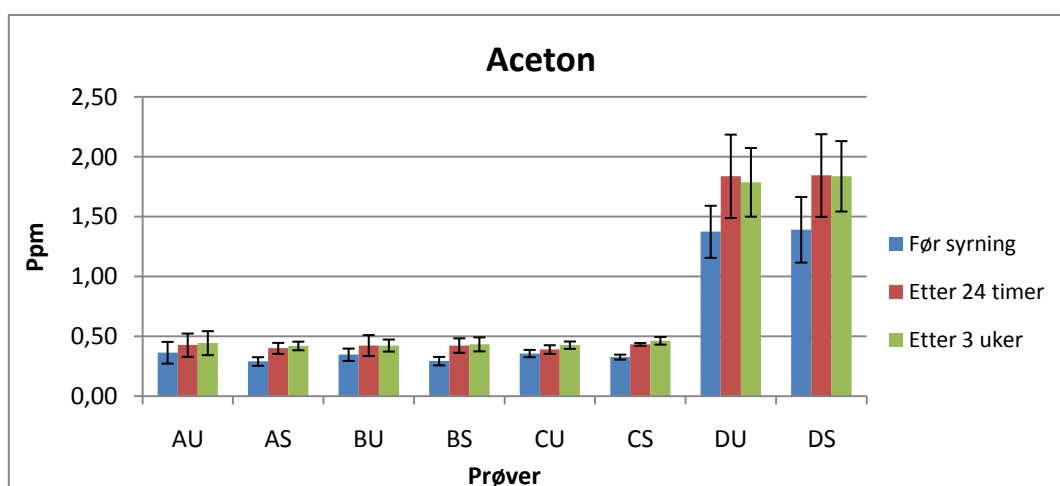


**Figur 4.21:** Konsentrasjon av etanol i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Mengden etanol økte under syring. For alle prøvene holdt mengden seg relativt stabilt under lagring, unntaket var 3-ukers uttak for AU som hadde et stort standardavvik. Det var ingen stor forskjell på prøver som var tilsatt sukker og tilsvarende som ikke var tilsatt sukker. Høyest innhold av etanol var det i prøvene som var laget av skummet melk og tilsatt SMP.

## Aceton

Mengde aceton i de ulike prøvene er vist i figur 4.22.



**Figur 4.22:** Konsentrasjon av aceton i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

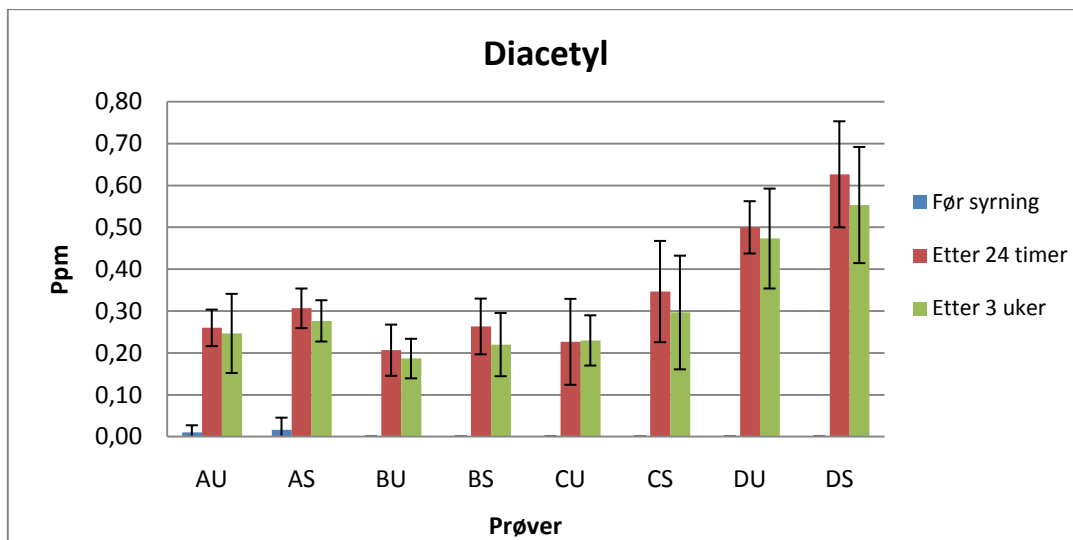
## 4. Resultater

---

Mengden aceton gikk opp under syrning og holdt seg stabil under lagring. Det var ingen forskjell i innhold med hensyn på sukkerinnhold. Høyest innhold var det absolutt i prøvene som var laget av skummet melk og tilsatt SMP. Det var ikke store forskjeller mellom de prøvene som var laget av laktoseredusert melk.

### Diacetyl

Mengde diacetyl i de ulike prøvene er vist i figur 4.23.

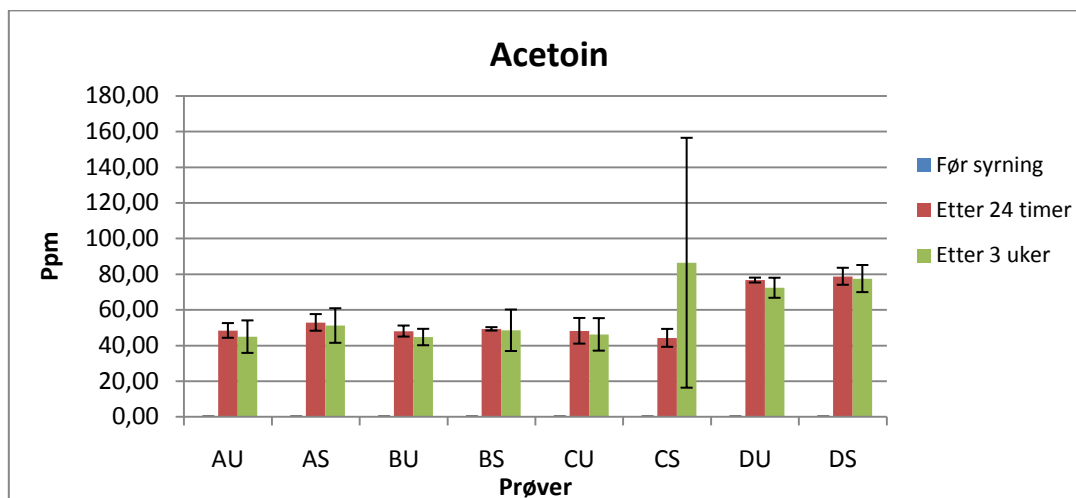


**Figur 4.23:** Konsentrasjon av diacetyl i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Mengden diacetyl gikk opp under syrning, men litt ned igjen under lagring. Innholdet var litt høyere i prøvene som inneholdt sukrose enn tilsvarende prøver som ikke inneholdt sukrose. Innholdet var høyest i de prøvene som var laget av skummet melk og tilsatt SMP.

## Acetoin

Mengde acetoin i de ulike prøvene er vist i figur 4.24.



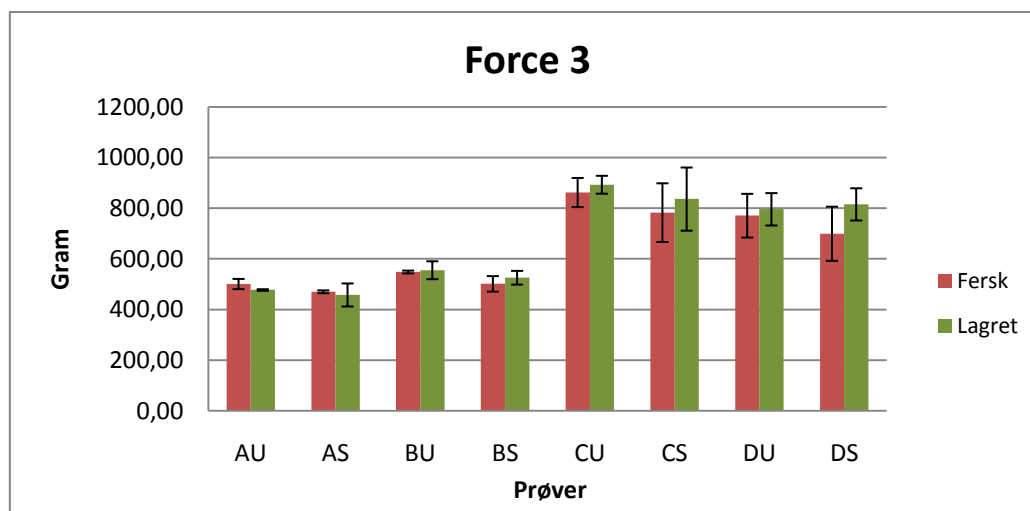
**Figur 4.24:** Konsentrasjon av acetoin i de ulike prøvene ved de 3 uttakene.

Før syring ble det ikke registrert acetoin tilstede i prøvene. Etter syring var innholdet over 40 ppm for alle prøvene. Mengden holdt seg stabil under lagring, bortsett fra prøve CS som gikk opp, men som også fikk et stort standardavvik. En kunne ikke se noen markant forskjell på de prøvene som var tilsatt sukrose og de tilsvarende som ikke var tilsatt sukrose. Størst innhold var det i prøvene som var laget av skummet melk og tilsatt SMP. Innholdet var relativt likt i de prøvene som var laget av laktoseredusert melk.

### 4.2.7 Reologiske analyser

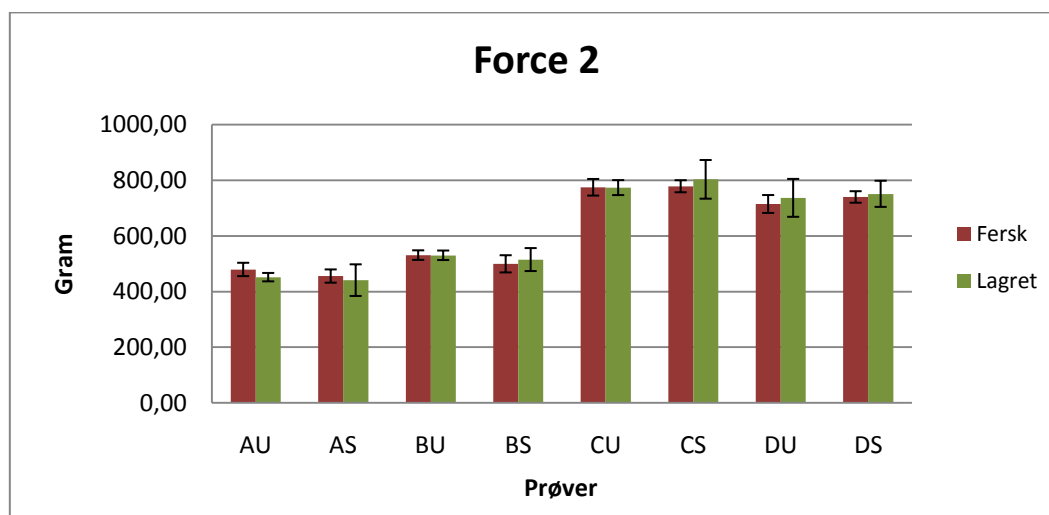
#### 4.2.7.1 Gelfasthet

Verdier for Force 3, Force 2 og Force 1 for de ulike prøvene er vist i figur 4.25, 4.26 og 4. 27.



Figur 4.25: Kraften ved knekkpunkt.

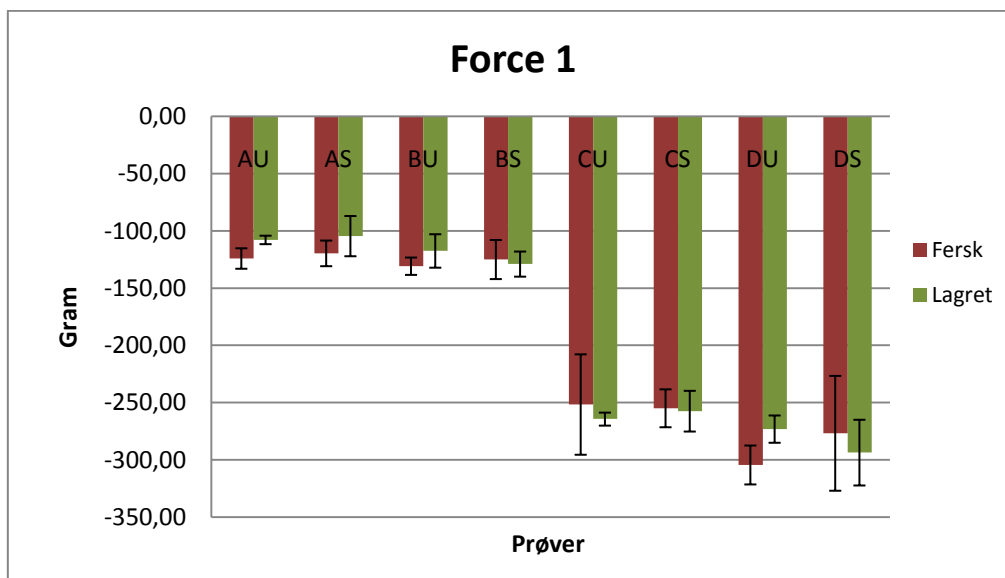
Prøvene som var tilsatt MMP ga proben mindre motstand enn de med 4% fett. For prøver med mye fett økte gelens styrke litt under lagring.



Figur 4.26: Kraften ved maks distanse ned i prøven.

Prøvene som var tilsatt MMP ga mindre motstand enn de som var tilsatt 4 % fett.



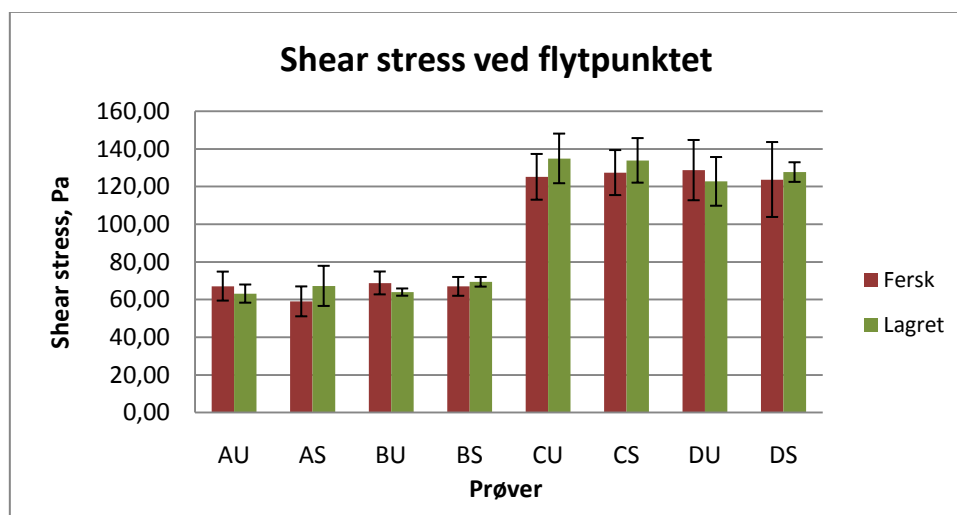


**Figur 4.27:** Motstanden proben møtte på vei opp av prøven

Prøvene som var tilsatt 4 % fett ga proben mer motstand på vei opp av prøven enn tilsvarende prøver uten fett.

#### 4.2.7.2 Viskositet

Gjennomsnittlig shear stress ved flytpunktet for alle prøver i vist i figur 4.28. Merk at det ikke ble tatt paralleller ved første analyse, altså ferske prøver fra forsøk 1.

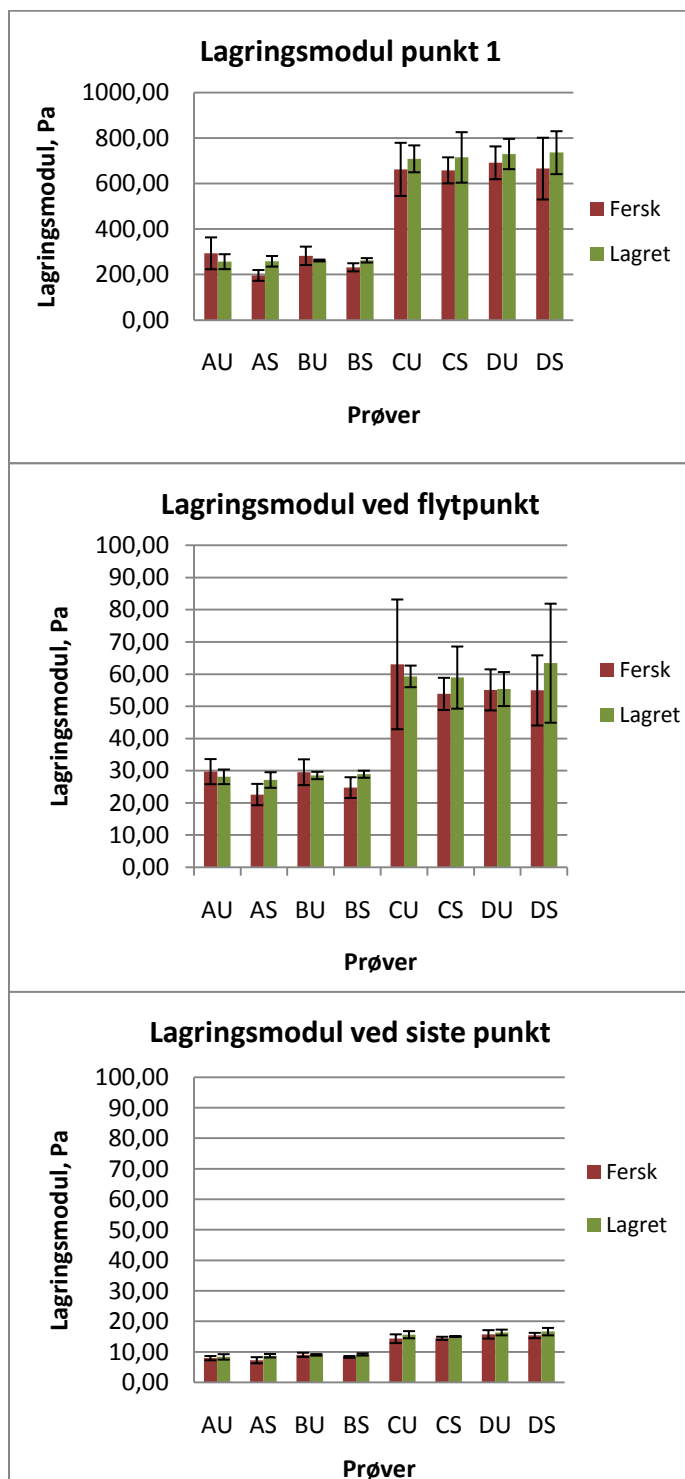


**Figur 4.28:** Shear stress ved flytpunktet for alle prøver.

Prøvene som var tilsatt 4 % fett nådde flytpunktet ved større grad av shear stress enn de som var tilsatt MMP. Det var ingen klare forskjeller på de prøvene som var tilsatt sukker, eller på de ferske og lagrede prøvene.

## 4. Resultater

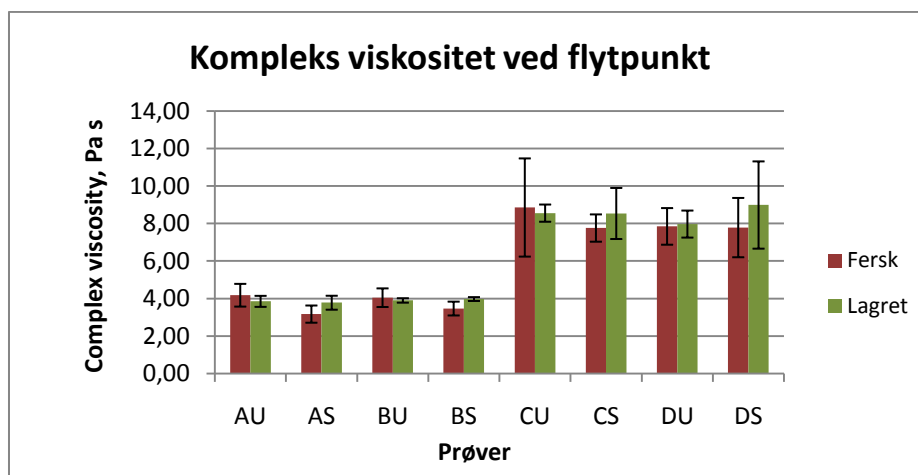
Lagringsmodul ved første målepunkt, flytpunkt og siste målepunkt er vist i figur 4.29.



**Figur 4. 29:** Lagringsmodul for de ulike prøvene ved første målepunkt, flytpunkt og siste målepunkt.

Lagringsmodulen var høyest i prøvene som var tilsatt 4 % fett. Lagringsmodulen sank fra første målepunkt til siste målepunkt.

Kompleks viskositet ved flytpunktet er vist i figur 4.30



Figur 4.30: Kompleks viskositet ved flytpunktet til de ulike prøvene.

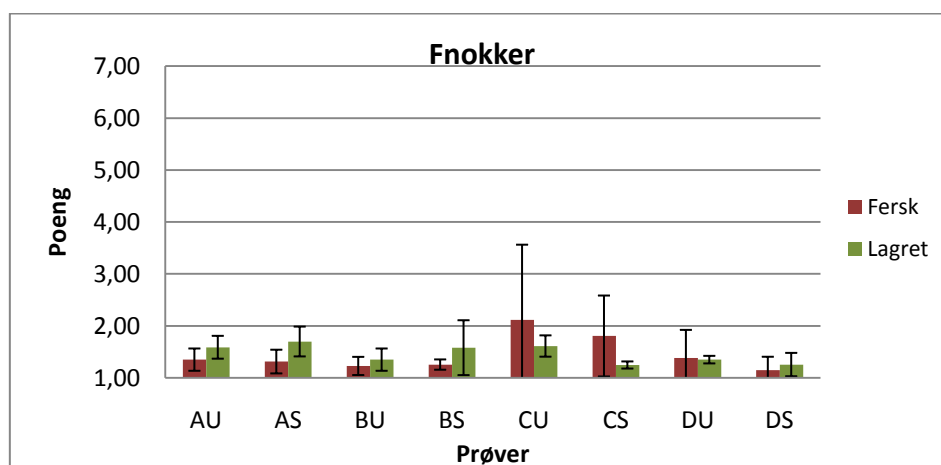
Prøvene som inneholdt 4 % fett hadde høyest kompleks viskositet.

#### 4.2.8 Sensoriske analyser

For hver egenskap ble det utregnet gjennomsnitt av de ulike dommernes bedømmelse, og videre gjennomsnitt av de tre forsøkene. Resultatene fra de sensoriske analysene er vist under, med standardavviket mellom de 3 forsøkene.

##### Fnokker

Gjennomsnittlig oppfattelse av fnokker er vist i figur 4.31.



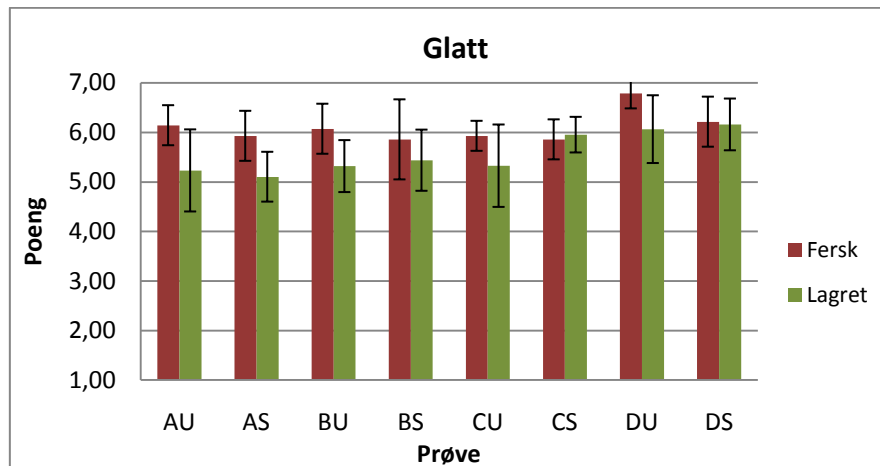
Figur 4.31: Grad av fnokker i de ulike prøvene, fersk og lagret.

For alle prøver bortsett fra CU og CS var det større grad av fnokker i de lagrede prøvene enn i de ferske.

## 4. Resultater

### Glatt

Gjennomsnittlig oppfattelse av egenskapen glatt er vist i figur 4.32. Ved poeng 7 var prøven glatt og ved poeng 1 var den grynet/melen. Merk at denne egenskapen ikke var med i den første sensoriske analysen (altså fersk fra forsøk 1).

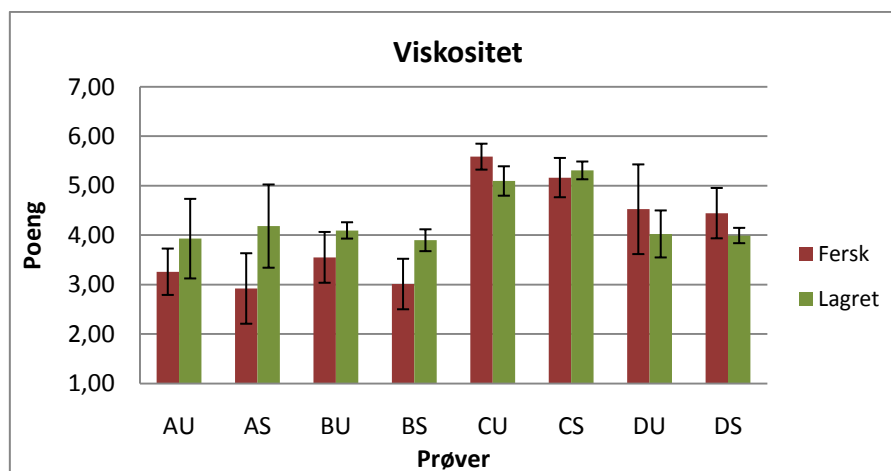


Figur 4.32: Grad av glatthet i de ulike prøvene.

For ferske prøver var prøvene relativt like med hensyn på egenskapen glatt. Alle prøver bortsett fra CS ble oppfattet som mindre glatt etter lagring.

### Viskositet (drypp av skje)

Gjennomsnittlig viskositet er vist i figur 4.33. Ved 1 var prøven tynn og ved 7 var den tykk.



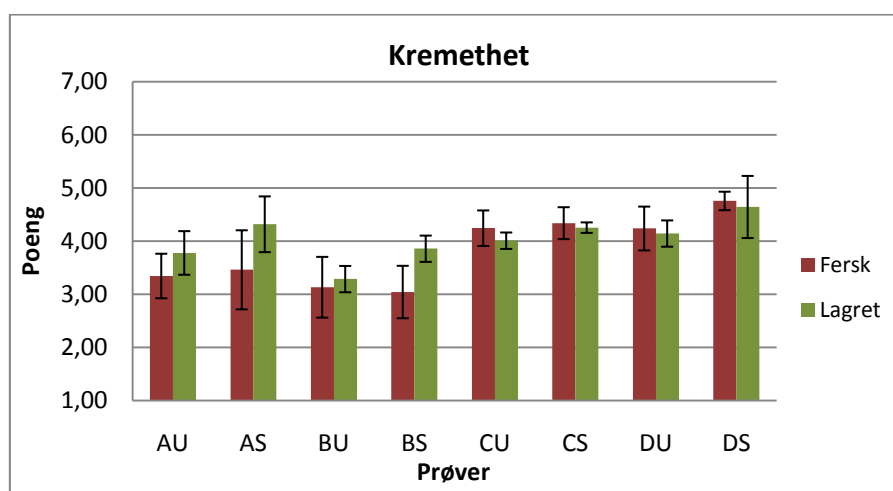
Figur 4.33: Viskositet (drypp av skje) for de ulike prøvene.

For prøver med tilsatt MMP ble lagrede prøvene oppfattet som mer viskøse enn ferske. CU og CS ble oppfattet som mest viskøse både som ferske og som lagrede prøver. For de ferske prøvene kunne en klart se at C og D ble oppfattet som mer viskøse enn A og B. For de ferske

prøvene ble de som inneholdt sukker oppfattet som litt mindre viskøse enn de som ikke inneholdt sukker. Prøver som inneholdt under 4 % fett (A og B) ble oppfattet som mer viskøse etter lagring, mens prøver som inneholdt 4 % fett (C og D) ble oppfattet som mindre eller like viskøse etter lagring.

### Kremethet

Gjennomsnittlig oppfattelse av kremethet (munnfølelse) for alle prøvene er vist i figur 4.34. Ved 1 poeng var yoghurten lite kremet og ved 7 poeng var yoghurten mye kremet. Ved 4 poeng var yoghurten som en ville forventet av en yoghurt naturell. Merk at ved første sensoriske analyse var kremethet plassert under ”utseende” i det sensoriske skjemaet.



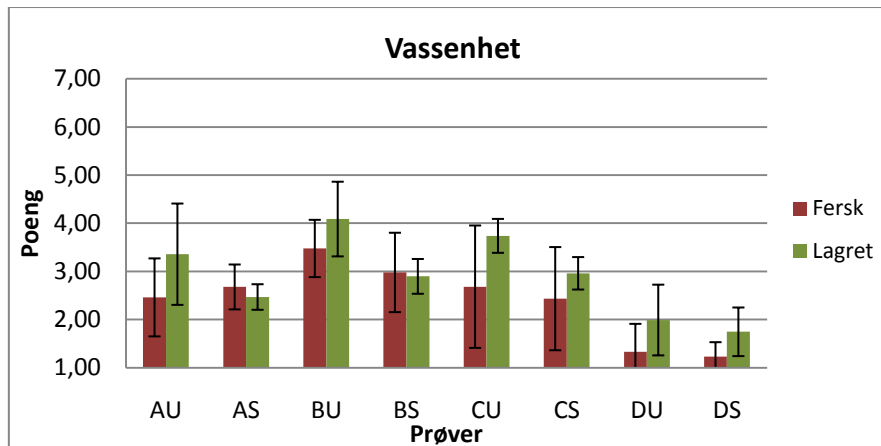
**Figur 4.34:** Oppfattelse av kremethet for alle prøvene.

For ferske prøver ble CU, CS, DU og DS oppfattet som mer kremet enn de andre prøvene. For lagrede prøver var ikke trenden så klar. For lagrede prøver ble også de som inneholdt sukker oppfattet som litt mer kremet enn de tilsvarende prøvene som ikke inneholdt sukker. Prøvene som inneholdt mindre enn 4 % fett (A og B) ble oppfattet som mindre kremete enn en kunne forvente fra en yoghurt naturell. For de som inneholdt under 4 % fett gikk graden av kremethet opp under lagring, mens den for de som inneholdt 4 % fett gikk ned.

## 4. Resultater

### Vassenhet

Gjennomsnittlig vurdering av vassenhet er vist i figur 4.35. Ved 1 poeng var yoghurten lite vassen og ved 7 poeng var den i stor grad vassen. Merk at ved den første sensoriske analysen var vassenhet kategorisert under ”utseende” og ikke munnfølelse slik den var under de andre analysene.

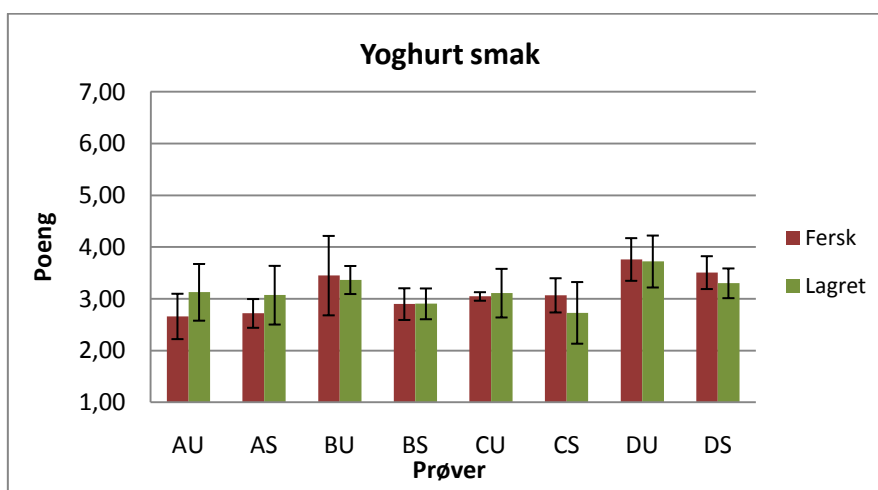


**Figur 4.35:** Graden av vassenhet i de ulike prøvene.

DU og DS ble oppfattet som minst vassen, særlig for ferske prøver. For lagrede prøver ble de prøvene som var tilsatt sukker oppfattet som mindre vassne enn de tilsvarende prøvene som inneholdt sukker. For prøver uten sukker gikk graden av vassenhet opp under lagring

### Yoghurtsmak

Gjennomsnittlig vurdering av yoghurtsmak i prøvene er vist i figur 4.36. Ved 1 poeng var det lite yoghurtsmak og ved 7 poeng var det stor grad av yoghurtsmak. Ved 4 poeng var yoghurten slik en ville kunne vente fra en yoghurt naturell.

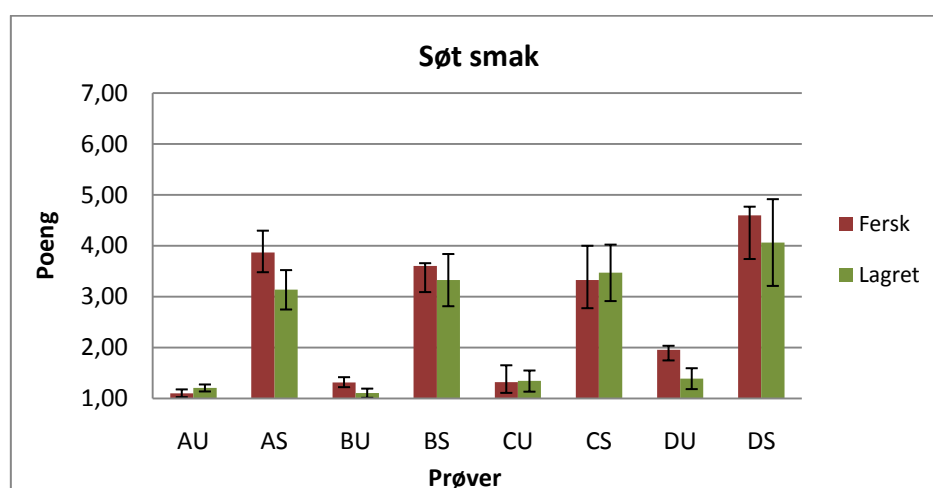


**Figur 4.36:** Gjennomsnittlig vurdering av styrken yoghurtsmak.

Alle prøvene ble oppfattet å ha en mindre sterk yoghurt smak enn en ville kunne forvente fra en kjøpt yoghurt. Det var en svak tendens at de prøvene som inneholdt sukker ble oppfattet å ha litt svakere yoghurt smak enn de tilsvarende prøvene som ikke inneholdt sukker.

### Søt smak

Gjennomsnittlig vurdering av søt smak for de ulike prøvene er vist i figur 4.37.



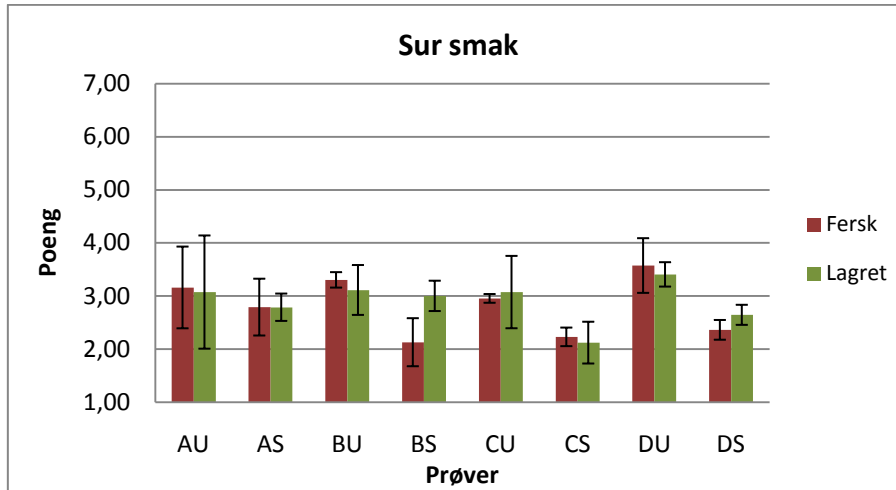
**Figur 4.37:** Gjennomsnittlig oppfattelse av søt smak.

Prøvene som inneholdt sukker ble klart oppfattet som mer søte enn de som ikke var tilsatt sukker. Av prøvene uten sukker ble yoghurt laget av skummet melk tilsatt SMP oppfattet som litt mer søt enn laktosereduserte.

## 4. Resultater

### Sur smak

Gjennomsnittlig vurdering av sur smak i de ulike prøvene er vist i figur 4.38. Ved 1 poeng var yoghurten lite sur, og ved 7 poeng var yoghurten veldig sur. Ved 4 poeng var den som en skulle forvente av en yoghurt naturell.

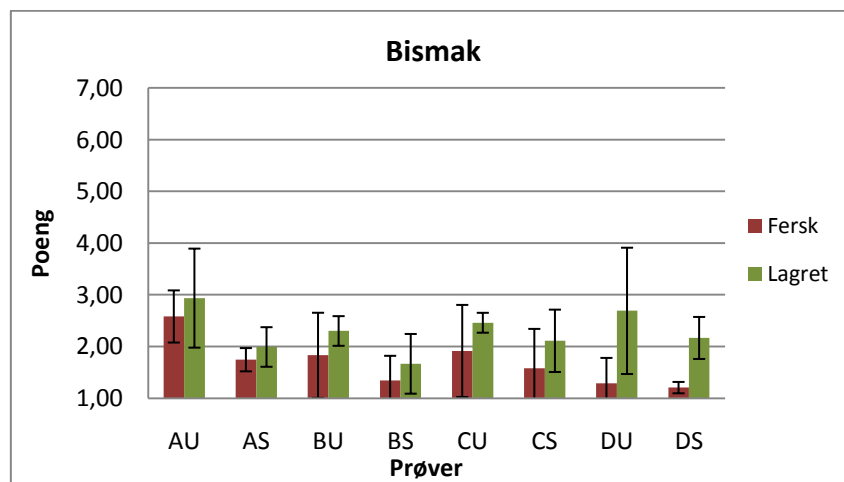


**Figur 4.38:** Gjennomsnittlig vurdering av sur smak.

Alle prøvene ble oppfattet som litt mindre sure enn hva en ville kunne forvente av en standard naturell yoghurt. De prøvene som inneholdt sukker ble oppfattet som litt mindre sure enn de tilsvarende prøvene som ikke inneholdt sukker. Det var ikke noe klart mønster i utviklingen av sur smak under lagring.

### Bismak

Gjennomsnittlig grad av bismak er vist i figur 4.39. Ved 1 poeng var det liten grad av bismak, ved 7 poeng var det stor grad av bismak.



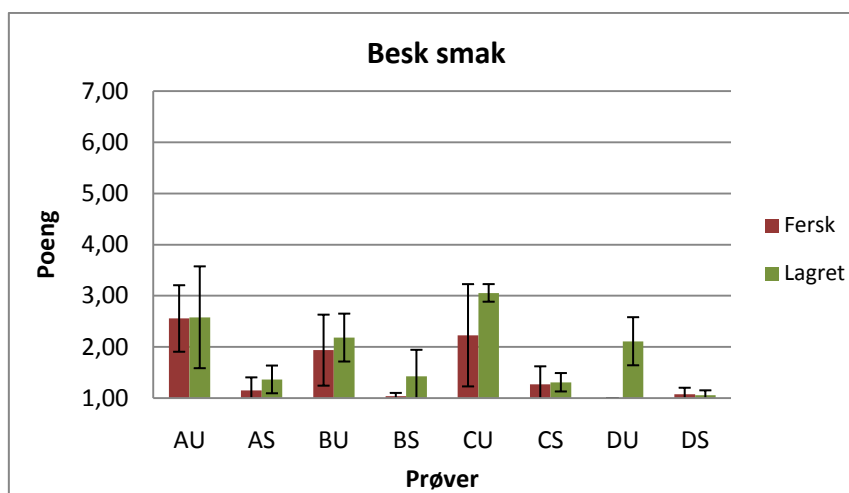
**Figur 4.39:** Gjennomsnittlig vurdering av bismak.



Graden av bismak gikk opp under lagring. Prøvene som inneholdt sukker ble oppfattet å ha mindre grad av bismak enn prøvene som ikke inneholdt sukker. DU og DS hadde omtrent ingen bismak fersk, men hadde størst økning i graden av bismak under lagring.

### Besk smak

Gjennomsnittlig vurdering av en besk smak er vist i figur 4.40. Ved 1 poeng var det liten grad av besk smak, ved 7 poeng var det stor grad av besk smak.



**Figur 4.40:** Gjennomsnittlig vurdering av besk smak.

Generelt ble prøvene som inneholdt sukker oppfattet som mindre beske enn de tilsvarende prøvene som ikke inneholdt sukker. Graden av besk smak økte ved lagring.

### Kommentarer

Kommentarer fra den sensoriske analysen er gjengitt i tabell 4.5. Dette var ikke kommentarer som det ble spurt om i det sensoriske skjemaet.

## 4. Resultater

**Tabell 4.5:** Oversikt over kommentarer fra den sensoriske analysen

	Fersk	Lagret
<b>AU</b>	"Papp" "Virker salt og melen og litt papp smak" "Papp/såpe" "Såpe" "Virker salt og smaker kjeller"	"Vet ikke hva bismaken er, men veldig melen i munnen og ikke god" "Papp/tam" "Papp" "Ikke god. Smaker gammel og uren" "Papp"
<b>AS</b>	"Såpe"	"Såpe" "Såpe" "Veldig sur og en bismak som kan kalles parfymert" "Såpe"
<b>BU</b>	"Vannaktig, litt salt og en bismak (papp eller...)" "Papp" "Virker nesten litt salt" "Virker litt salt, men ellers veldig lite aromatisk"	"Papp" "Papp kanskje?" "Papp/Såpe" "Virker salt og lite aromatisk" "Papp"
<b>BS</b>		"Ingen spesiell bismak, men heller ikke yoghurt smak"
<b>CU</b>	"Vannsmak" "Diacetyl" "Ikke god" "Virker litt salt og en del melen" "Virker litt salt og lite aromatisk og litt melen i munnen"	"Vet ikke hva bismaken er. Papp kanskje...ikke god" "Diacetyl" "Ikke god!" "Diacetyl"
<b>CS</b>	"Rar smak, ikke mye yoghurt smak" "Veldig søt, men synes den var vannaktig i smaken"	"Veldig vassen" "Papp"
<b>DU</b>	"Salt" "Virker salt og ganske sur"	"Virker nesten litt salt" "Diacetyl,salt" "Virker salt" "Salt"
<b>DS</b>	"Flott yoghurt, men litt søt" "Litt for søt, men ellers god"	"Egentlig positiv smak, men vet ikke hva"

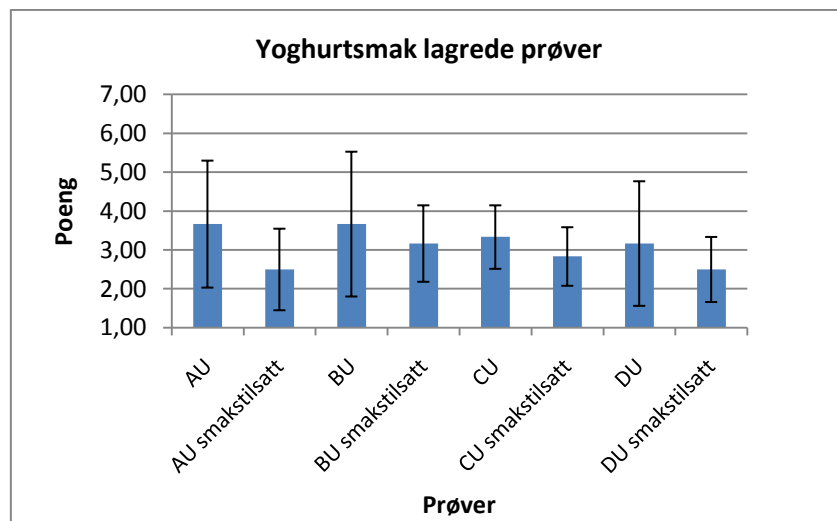
Generelt fikk de laktosereduserte en del negative kommentarer, særlig på smaker som ”papp”, ”såpe” og ”salt”.

### Smakstilsatt yoghurt

Resultater for den sensoriske analysen hvor noen yoghurter ble smakstilsatt er vist under. Da det hovedsakelig var smaksparemetene en var interessert i, er det kun disse som er presentert.

### Yoghurtsmak

Resultatene for oppfattelse av yoghurtsmak for smakstilsatt yoghurt og de tilsvarende yoghurtene uten smakstilsetning er vist i figur 4.41. Merk at standardavviket er avviket mellom hver dommer, da det bare ble forsøkt med smakstilsetning en gang.



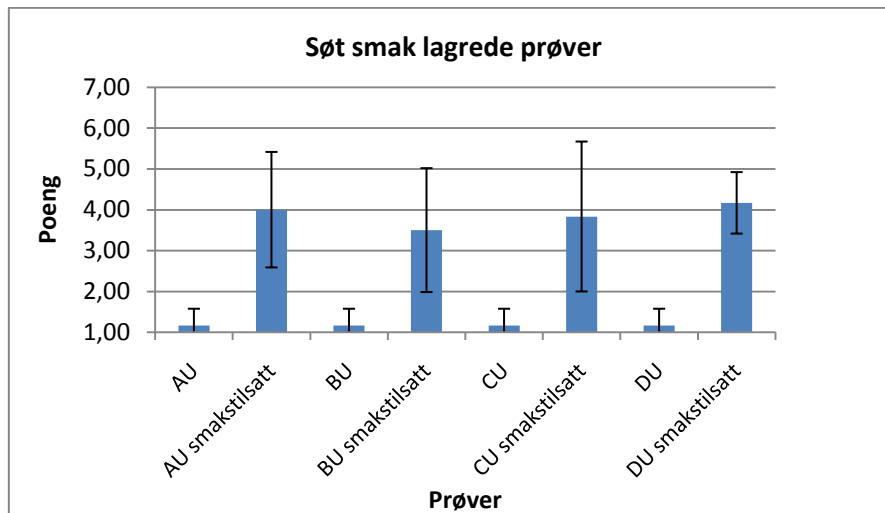
**Figur 4.41:** Vurdering av styrken av yoghurtsmak i smakstilsatt lagret yoghurt og tilsvarende yoghurt naturell.

Ved smakstilsetning ble yoghurtsmaken mindre fremtredende enn tilsvarende prøve uten smakstilsetning for alle prøver. Forskjellen var minst i CU.

## 4. Resultater

### Søt smak

Resultatene for oppfattelse av søt smak i smakstilsatt yoghurt og de tilsvarende yoghurtene uten smakstilsetning er vist i figur 4.42. Merk at standardavviket er avviket mellom hver dommer, da det bare ble forsøkt med smakstilsetning en gang.

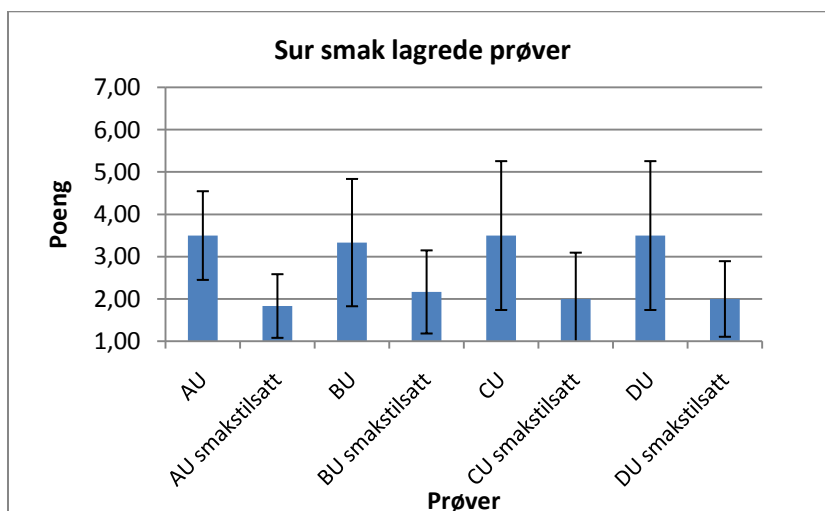


Figur 4.42: Vurdering av søt smak i smakstilsatt og naturell yoghurt.

For alle prøver ble de smakstilsatte yoghurtene oppfattet som søtere enn naturell som ikke ble oppfattet som søte.

### Sur smak

Resultatene for oppfattelse av sur smak i smakstilsatt yoghurt og de tilsvarende yoghurtene uten smakstilsetning er vist i figur 4.43. Merk at standardavviket er avviket mellom hver dommer, da det bare ble forsøkt med smakstilsetning en gang.

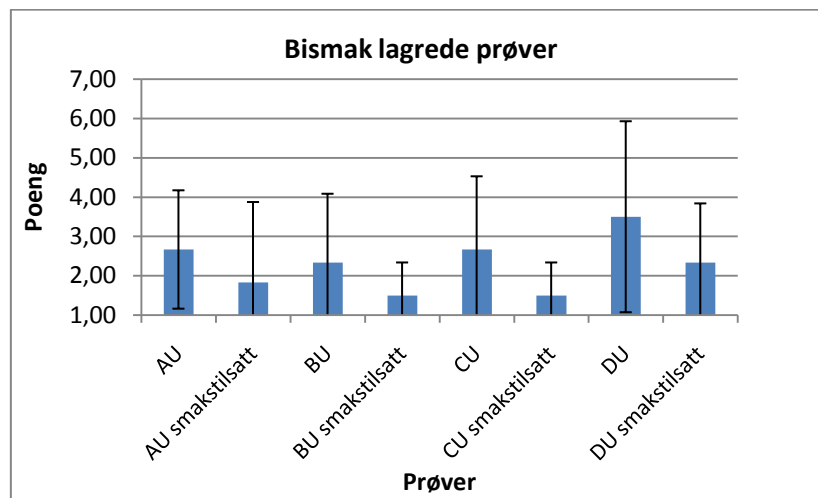


Figur 4.43: Oppfattelse av sur smak i smakstilsatt yoghurt og tilsvarende yoghurt naturell.

De smakstilsatte yoghurtene ble oppfattet som mindre sure enn yoghurtene uten smakstilsetning. De smakstilsatte yoghurtene ble oppfattet som omtrent like sure.

### Bismak

Vurdering av grad av bismak i smakstilsatt yoghurt og tilsvarende yoghurt naturell er vist i figur 4.44. Merk at standardavviket er avviket mellom de ulike dommerne og ikke gjennomsnittet fra ulike forsøk, da det bare ble forsøkt med smakstilsetning en gang.



**Figur 4.44:** Vurdering av bismak i yoghurt naturell og tilsvarende smakstilsatt yoghurt.

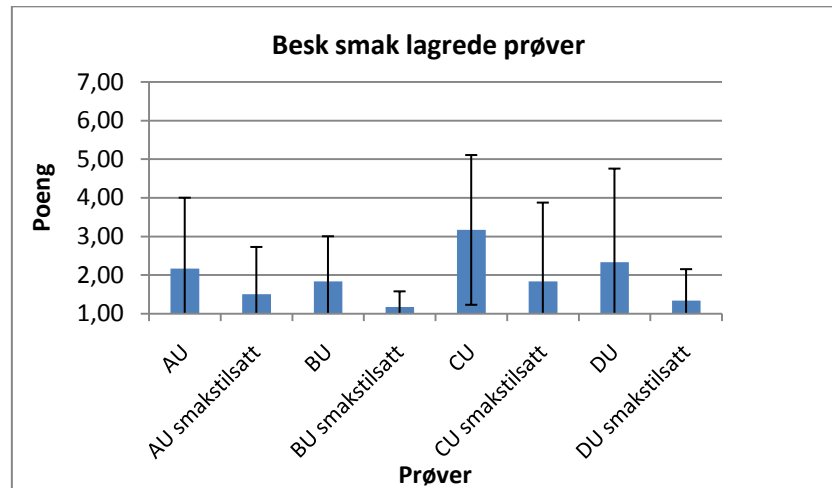
For alle prøver gikk graden av bismak ned ved smakstilsetning, men den forsvant ikke. Størst grad av bismak var det i yoghurten laget av melk tilsatt SMP, men med et stort standardavvik.

## 4. Resultater

---

### Besk smak

Vurdering av grad av besk smak i smakstilsatt yoghurt og tilsvarende yoghurt naturell er vist i figur 4.45. Merk at standardavviket er avviket mellom de ulike dommerne og ikke gjennomsnittet fra ulike forsøk, da det bare ble forsøkt med smakstilsetning en gang.



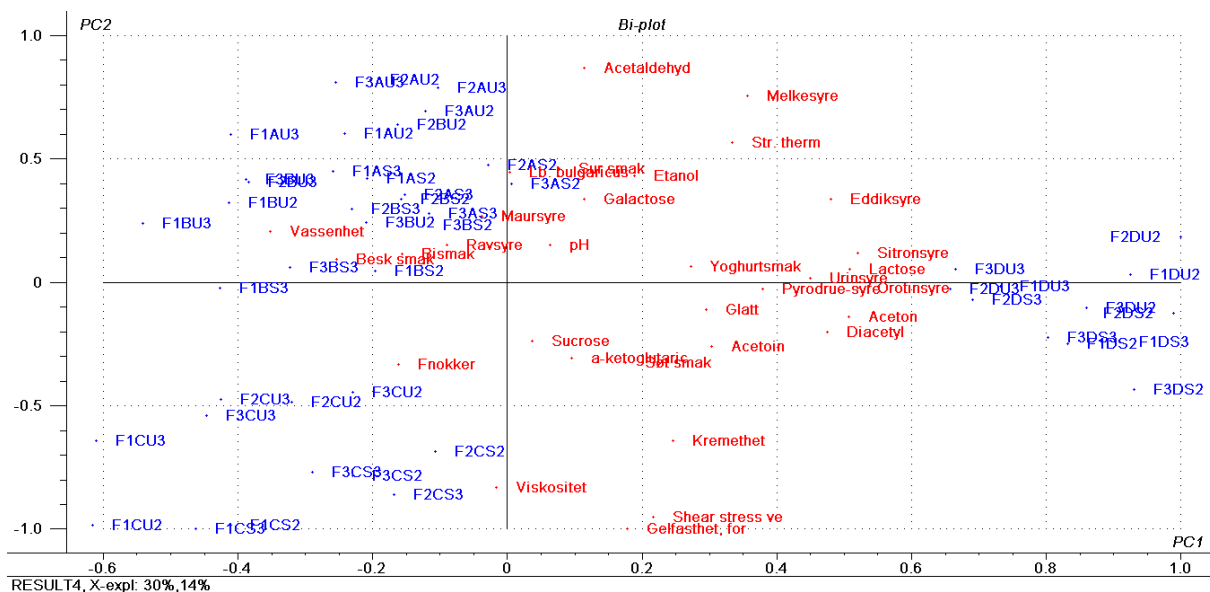
**Figur 4.45:** Vurdering av grad av besk smak i yoghurt naturell og tilsvarende smakstilsatt yoghurt.

For alle prøvene gikk graden av besk smak ned ved smakstilsetning.

## 4.2.9 Statistiske analyser

### 4.2.9.1 PCA

Bi-plot (scores og loadings) med PC1 og PC2 som X og Y akse er vist i figur 4.46



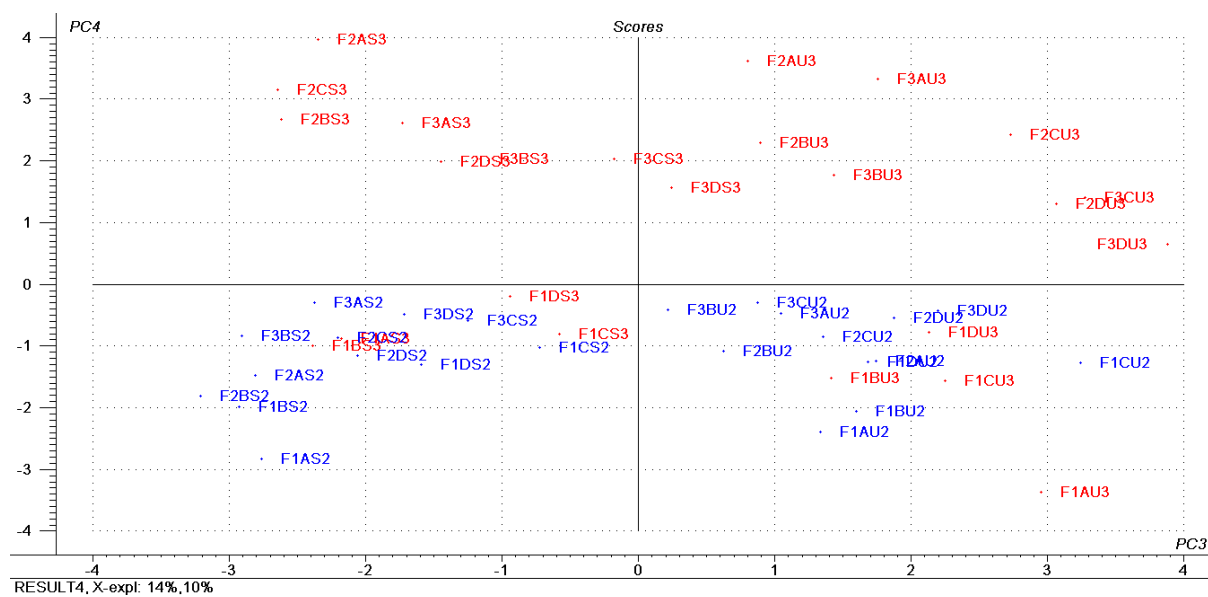
**Figur 4.46:** Bi-plot av datasettet.

PC1 var hovedsakelig forklart ved designfaktoren ”type melkeblanding” med hensyn på laktoseinnhold, da alle de ikke-laktosereduserte prøvene lå til høyre i plottet og de laktosereduserte lå til venstre i plottet. Eddiksyre, sitronsyre, urinsyre orotinsyre, aceton, diacetyl og laktose var høyest i D-blandingene. Grad av vassenhhet, besk smak, bismak og fnokker var høyest i de laktosereduserte yoghurtene. PC1 forklarte 30 % av variasjonen.





Scoreplot med PC3 og PC4 og fargekoding for designvariabelen ”Uttak” er vist i figur 4.49.



**Figur 4.49:** Scoreplot med fargekoder for uttak 24 timer etter endt syrning (blå) og 3 uker etter syrning (rød) i et PC3 og PC4 koordinat.

PC4 var ”Uttak”, som kunne forklare 10 % av variasjonen i datasettet. Denne var ikke klart avgrenset.

## 4. Resultater

### 4.2.9.2 Variansanalyse

Resultatene fra variansanalysen er vist i tabell 4.6 og 4.7.

**Tabell 4.6:** Resultatene fra variansanalyse for pH, organiske syrer, karbohydrater og flyktige stoffer. P verdi og i hvilken retning designvariabelen gir utslag er vist. Signifikansnivå var 5 %.

	Sukker, p verdi og effekt	Blanding p verdi og effekt	Uttak p verdi og effekt	Forsøk p verdi og effekt
pH	<b>0,0207</b> U>S	0,0745 -	<b>0,0000</b> 24 t > 3 uker	<b>0,0000</b> 1>2, 3
<b>Organiske syrer</b>				
Sitronsyre	0,0677 -	<b>0,0000</b> D>A>B>C	0,7003 -	<b>0,0000</b> 2>3,1
a-ketoglutar syre	<b>0,0002</b> S>U	<b>0,0400</b> DC>BA*	0,9654 -	<b>0,0000</b> 2>1>3
Orotinsyre	<b>0,0065</b> U>S	<b>0,0000</b> D>A>B>C	0,5971 -	<b>0,0000</b> 3,2>1
Pyrodrue-syre	0,5757 -	<b>0,0000</b> D>ACB	<b>0,0000</b> 24 t > 3 uker	0,9443 -
Ravsyre	0,6897 -	0,1734 -	<b>0,0000</b> 3 uker > 24 t	<b>0,0003</b> 2,3>1
Melkesyre	0,3970 -	<b>0,0000</b> DA>B>C	0,3188 -	<b>0,0061</b> 2>1
Maurusyre	0,2691 -	0,0600 -	<b>0,0000</b> 3 uker > 24 t	<b>0,0024</b> 2,3>1
Eddiksyre	0,0612 -	<b>0,0000</b> D>A>B>C	<b>0,0000</b> 24 t > 3 uker	<b>0,0247</b> 2>1
Urinsyre	0,2528 -	<b>0,0000</b> D>ABC	<b>0,0000</b> 3 uker > 24 t	<b>0,0004</b> 3,2>1
<b>Karbohydrater</b>				
Sukrose	<b>0,0000</b> S>U	<b>0,0000</b> B>ADC	<b>0,0415</b> 3 uker > 24 t	1,0000 -
Laktose	0,0626 -	<b>0,0000</b> D>BA>C	<b>0,0147</b> 24 t > 3 uker	1,0000 -
Galaktose	<b>0,0000</b> U>S	<b>0,0000</b> DA>CB	0,1795 -	1,0000 -
<b>Flyktige stoffer</b>				
Acetaldehyd	<b>0,0095</b> S>U	<b>0,0000</b> A > BD > C	0,0776 -	<b>0,0013</b> 2> 3, 1
Etanol	0,2776 -	<b>0,0018</b> DA > C	0,2917 -	0,2431 -
Aceton	0,7646 -	<b>0,0000</b> D > ABC	0,8606 -	<b>0,0292</b> 1>3,2*
Diacetyl	<b>0,0007</b> S>U	<b>0,0000</b> D > CAB	0,1049 -	<b>0,0001</b> 3 > 1,2
Acetoin	0,1660 -	<b>0,0013</b> D>AB	0,5529 -	0,2315 -

\* Ikke helt forskjellige i følge Analysis of variance-plot

Designvariablene hadde signifikant effekt på flere av variablene. Type blanding yoghurtene var laget av hadde effekt på flest variabler, hvor D ofte skilte seg ut. Uttak hadde ikke signifikant effekt på noen av de flyktige stoffene, men på flere av de andre variablene. Av

organiske syrer hadde tilsatt sukker kun effekt på orotinsyre og  $\alpha$ -ketoglutar syre. ”Forsøk” hadde effekt på flere variabler, men det var ikke klart et forsøk som skilte seg fra de andre.

**Tabell 4.7:** Resultatene fra variansanalysefor antall *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, reologiske egenskaper og sensoriske egenskaper. P verdi og i hvilken retning designvariabelen gir utslag er vist. Signifikansnivå var 5 %.

	Sukker, p verdi og effekt	Blanding p verdi og effekt	Uttak p verdi og effekt	Forsøk p verdi og effekt
<b>Mikrobiologisk</b>				
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	0,7120 -	<b>0,0303</b> A>C	0,0604 -	<b>0,0099</b> 2>1
<b>Reologiske egenskaper</b>				
Shear stress ved flytpunkt	0,9689 -	<b>0,0000</b> CD>BA	0,4571 -	<b>0,0447</b> 3>2,1*
Gelfasthet, force 2	0,9208 -	<b>0,0000</b> C>D>B>A	0,7217 -	0,2062 -
<b>Sensoriske egenskaper</b>				
Fnokker	0,5375 -	0,1380 -	0,9600 -	0,0665 -
Viskositet	0,3966 -	<b>0,0000</b> C>DBA D>A	0,1208 -	<b>0,0411</b> 3>1
Kremethet	<b>0,0171</b> S>U	<b>0,0000</b> DC>BA	0,0905 -	0,8098 -
Vassenhet	<b>0,0047</b> U>S	<b>0,0000</b> B>AD AC>D	<b>0,0028</b> 3 uker> 24 t	<b>0,0000</b> 3>2>1
Yoghurtsmak	<b>0,0470</b> U>S	<b>0,0012</b> D>CA	0,8760 -	0,2623 -
Søt smak	<b>0,0000</b> S>U	<b>0,0000</b> D>CBA	<b>0,0139</b> 24 t > 3 uker	<b>0,0025</b> 1,2 > 3
Sur smak	<b>0,0000</b> U>S	0,1028 -	0,4843 -	<b>0,0017</b> 2, 3 > 1
Bismak	<b>0,0036</b> U>S	0,1257 -	<b>0,0010</b> 3 uker> 24 t	0,1761 -
Besk smak	<b>0,0000</b> U>S	<b>0,0105</b> CA>D	<b>0,0214</b> 3 uker> 24 t	0,1976 -

\*Ikke helt forskjellige i følge Analysis of variance-plot

Blanding hadde effekt på flest variabler. Sukker hadde effekt på alle de sensoriske egenskapene bortsett fra fnokker og viskositet. Ingen av designvariablene hadde effekt på fnokker. Forsøk hadde effekt på flere av variablene, men det var ikke noe klart system i hvilke forsøk som skilte seg ut.



## 5. Diskusjon

Diskusjonen tar først for seg de resultatene som ikke er i de statistiske analysene, og vil så ta for seg designvariablene og forsøkenes effekt på variablene. Prøvenes koder står i tabell 3.1 under ”Materialer og metoder”.

### 5.1. Diafiltrering og ultrafiltrering

Gjennom ultrafiltreringen kunne en se at en fikk en oppkonsentrering av tørrstoff i konsentratet, mens tørrstoffinnholdet i permeatet holdt seg relativt stabilt. Dette var som forventet, og forteller at prosessen har gått normalt.

Grunnen til at fluxen gikk ned underveis skyldes ”fouling” i membranen. I konsentratet vil det i området nærmest membranen bli en høyere konsentrasjon av de løste stoffene som ikke kan gå gjennom membranen. Etter hvert som ultrafiltreringen pågår vil dette laget bli tykkere og vil til en viss grad begrense permeatets flux gjennom membranen (Bylund 1995; Ibarz & Barbosa-Cànovas 2003).

En kunne se fra HPLC metode 1 at diafiltreringen hadde fortynnet laktoseinnholdet i melka ned til ca 1,7 %. Da det var beregnet et laktoseinnhold på 1,5 % var dette litt høyere enn forventet, noe som tyder på at det ikke har vært tilsatt nok vann under diafiltreringen, og/eller at laktoseinnholdet i melka var høyere enn 4.7 % som det ble beregnet med.

Innholdet av laktose i laktosereduserte yoghurter etter syring varierte fra ca 0,5-1 %, avhengig av tilsatt MMP. Målet om null laktose etter syring ble derfor ikke nådd, men i forhold til kontroll-yoghurten som hadde et laktoseinnhold på ca 4 % etter syring, var yoghurten klart laktoseredusert.

### 5.2. Syringstid og pH

A hadde lengst syringstid, deretter B, C og til sist D med kortest tid. For de laktosereduserte prøvene kan dette forklares ut i fra mengde MMP tilsatt. Proteiner øker bufferkapasiteten til melka slik at det kan produseres mer syre før pH faller (Salaün et al. 2005). A hadde høyest innhold av MMP tilsatt og det kunne derfor produseres mer syre før samme pH var nådd som i prøver fra blanding B og C. Full-fet blandingene C og D skulle ha likt innhold av protein,

## 5. Diskusjon

---

men kontroll yoghurten D hadde litt korter syringstid enn C, særlig prøvene uten sukker. Gjennom diafiltreringen vil små komponenter i melka som aminosyrer, mineraler og B-vitamin som ikke er bundet til protein fortynnes ut (Premaratne & Cousin 1991). Dette kan ha hatt en negativ effekt på vekstraten til yoghurtkulturen i de laktosereduserte yoghurtene. Særlig i dette forsøket hvor *Streptococcus thermophilus* dominerte yoghurtkulturen, som er kjent for å være mindre proteolytiske enn *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Walstra et al. 2006), kan dette ha vært tilfelle.

I denne undersøkelsen ble ikke pH i den diafiltrerte melka og i kontrollmelka målt før syring. Kosikowski (1979) fant at pH var høyere i ultrafiltrert og diafiltrert melk før syring, enn i vanlig fersk melk. Om pH var høyere ved syrningsstart, ville det ta lengre tid før pH 4,5 var oppnådd for laktosereduserte prøver enn for kontrollprøvene.

Syrningstiden var kortere for prøvene som inneholdt sukker. I følge van de Bogaard et al. (2004) kan *S. thermophilus* metabolisere sukrose via PEP-PTS, men mindre effektivt enn laktose. Det er derfor mulig *S. thermophilus* metaboliserer sukrose uavhengig av laktosepermease-systemet og at det derfor raskere dannes melkesyre som resulterer i fall i pH.

### 5.3. Utseende

Det var ikke noen tydelige sammenhenger mellom forsøksfaktorer og myseutskillelse. Myseutskillelsen som ble observert i noen av yoghurtene kan ha hatt en sammenheng med hvor glasset stod i vannbadet i forhold til vanntermostatens pumpe og derved bevegelse i vannet. Bevegelse som kan forstyrre gelen under syring gir økt sjanse for synerese, da de ytre kreftene kan føre til brudd på bindinger i gelen (Guinee et al. 1993). Det var generelt lite myseutskillelse, også etter lagring. Det er kommentert på myseutskillelse i "kollapset" skum, men dette hadde sannsynligvis ikke vært tilstede om de aktuelle prøvene hadde hatt en glatt overflate fra starten av. Generelt er det liten tendens til myseutskillelse i yoghurter som er laget på denne måten, altså syrnet på glass (Guinee et al. 1993). For øvrig kunne en se myseutskillelse på omtrent alle yoghurter noen uker etter at de var rørt opp. Dette var ikke noe som ble analysert, men oppdaget da yoghurtene skulle kastes.

## 5.4. Effekt av forsøksfaktorene

### 5.4.1. Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold

I følge prinsipal komponent analysen (PCA) var yoghurtbaseblandingen den designvariabelen som kunne forklare mest variasjon i datasettet. Først i henhold til om prøvene var laktoseredusert og dernest i henhold til hvor mye fett prøvene inneholdt.

#### 5.4.1.1 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på pH

Type blanding hadde ikke signifikant effekt på pH under lagring, noe som tyder på at reduisering av laktoseinnholdet ikke førte til en mindre grad av ettersyrning i forhold til i kontrolllyoghurtene. Innholdet av laktose i ferdig syrnede yoghurter var imidlertid ikke null, så det er mulig at om en reduserer laktoseinnholdet ytterligere vil en kunne se en mindre grad av ettersyrning. Kosikowski (1979) fant at i yoghurt laget av ultrafiltrert og diafiltrert melk med et laktoseinnhold på mellom 0,31-0,61 % etter syrning, var det ikke signifikant fall i pH etter en uke. I dette forsøket var laktoseinnholdet på 0,5-1 % etter syrning.

Under syrningen kunne en se at det var en forskjell i syrningstiden til de ulike blandingene. Som nevnt tidligere skyldes dette sannsynligvis bufferkapasiteten til proteinene som var tilsatt, da yoghurter tilsatt mest MMP hadde lengst syrningstid.

#### 5.4.1.2 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på organiske syrer

Innholdet av de organiske syrene sitronsyre, orotinsyre, og eddiksyre var signifikant forskjellig mellom alle blandingene, hvor det var størst innhold i kontrolllyoghurtene. Laktosereduserte prøver hadde høyest innhold i de prøvene som var tilsatt mest MMP og minst i de som ikke var tilsatt MMP.

Grunnen til at det var høyere innhold av sitronsyre i kontrolllyoghurtene i forhold til laktosereduserte yoghurter skyldes at SMP inneholder sitronsyre. Innholdet i vanlig melk ligger på rundt 2000 ppm. Laktosereduserte prøvene hadde lavere innhold enn dette, noe som tyder på at konsentrasjonen har blitt fortynnet ved diafiltrering og ultrafiltrering. Biliaderis et al (1992) fant også at innholdet av sitronsyre var lavere i yoghurt laget av UF-behandlet melk enn SMP-tilsatt yoghurt. Blant laktosereduserte yoghurter var det høyest innhold sitronsyre i de som var tilsatt 4 % MMP og innholdet var høyere enn i konsentratet før MMP ble tilsatt. Dette tyder på at MMP også inneholder sitronsyre.

## 5. Diskusjon

---

Det var betydelig lavere innhold av orotinsyre i laktosereduserte yoghurter enn i kontrolllyoghurtene. Dette tyder på at orotinsyre enten ble fortynnet gjennom diafiltreringen, tilsatt gjennom SMP, eller begge deler. Okonkwo og Kinsella (1969) rapporterte mengder på 34 ppm orotinsyre i kjøpt yoghurt, Larson og Hegarta (1979) fant 66 ppm. I dette forsøket inneholdt de laktosereduserte yoghurtene noe lavere verdier enn dette mens kontrolllyoghurten hadde høyere innhold. Orotinsyre blir oppkonsentrert i tørrmelk og mysepulver (Okonkwo & Kinsella 1969). Dette samsvarer med at blant laktosereduserte prøver var det høyest innhold av orotinsyre i de prøvene som var tilsatt størst konsentrasjon MMP.

Den samme trenden ble vist for eddiksyre som for sitronsyre og orotinsyre; det var høyest innhold i kontrolllyoghurtene. Forskjellen var at det ikke var eddiksyre tilstedet i blandingen før syring. Dette betyr at det ikke var tilsatt mer eddiksyre i noen av prøvene, men at det var andre stoffer som i større grad ble omdannet til eddiksyre i prøvene med høyt eddiksyreinnehold. Det er vanlig med et eddiksyreinnehold i yoghurt på 30-50 ppm (Walstra et al. 2006), men i dette forsøket hadde både kontrolllyoghurt og laktosereduserte yoghurter et innhold over dette nivået.

Pyrodruesyre- og urinsyreinnholdet var signifikant høyere i kontrolllyoghurten enn i laktosereduserte yoghurter, men det var ikke signifikant forskjell mellom de laktosereduserte blandingene når det gjaldt innholdet av disse to syrene. Da pyrodruesyre er et intermediært stoff i flere metabolske reaksjoner (Fernandez-Garcia & McGregor 1994) tyder det på at det har vært flere metabolske reaksjoner i kontrolllyoghurten enn i de laktosereduserte, eller at det har vært mindre omfattende omdanning av disse stoffene. Resultatene tyder imidlertid på flere metabolske omdanninger fordi flere av de stoffene som ikke fantes i melka før syring var det dannet mer av i kontrolllyoghurten som for eksempel diacetyl, acetoin og eddiksyre.

Det var signifikant høyere innhold av melkesyre i A og D enn i B og C, og høyere innhold i B enn i C. For de laktosereduserte yoghurtene, A, B og C, skyldes dette som nevnt bufferkapasitet og samsvarer med påfølgende forskjell i syringstid. Yoghurter fra blanding A var tilsatt 4 % MMP og det kunne da produseres mer melkesyre uten å få det samme fallet i pH som i C hvor det ikke var tilsatt protein. Blanding C og D hadde samme proteininnhold, men kontrollblandingen D hadde signifikant mer melkesyre enn C samtidig som syringstiden var kortere enn for de andre blandingene. Dette tyder på en raskere syring og en bufferkapasitet i tillegg til proteinet som er tilsatt gjennom SMP. At kontrolllyoghurten syrner raskere enn laktosereduserte yoghurter kan som nevnt skyldes at det ikke var like høy



konsentrasjon av lett-tilgjengelig nitrogeholdige forbindelser og vitaminer i den diafiltrerte og ultrafiltrerte melka. Disse små molekylene vil gjennom ultrafiltreringen bli vasket ut, noe som vil kunne føre til en langsommere vekst i den laktosereduserte melka. Bufferkapasiteten i kontrolllyoghurten kan komme fra det høye innholdet av citrat eller produksjon av  $\text{NH}_3$  fra urea under syrningen (Salaün et al. 2005).

Type blanding hadde signifikant effekt på  $\alpha$ -ketoglutar syre, men i hvilken retning var vanskelig å si ut fra variansanalysen. Den tydet på at D og C hadde signifikant større innhold enn A og B. Ut i fra de grafiske fremstillingene ser det heller ut til at innholdet er minst i D og A. Det var relativt store standardavvik på prøvene fra blanding D etter lagring, noe som kan ha ført til et svakere signifikant utslag. Før syrning var innholdet høyere i kontrolllyoghurten og relativt likt blant de laktosereduserte.

Blanding hadde ikke signifikant effekt på innholdet av ravsyre, det vil si etter syrningen var det ikke signifikant forskjell mellom prøvene. Før syrningen, som ikke er tatt med i de statistiske analysene, kan en derimot se at innholdet var vesentlig høyere i blanding D enn i de laktosereduserte prøvene. Dette tyder på at SMP inneholder ravsyre eller at innholdet blir fortynnet under diafiltrering, og at alt blir metabolisert under syrning, uavhengig av blanding.

### **5.4.1.3 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på karbohydrater**

Som ventet var det signifikant mer laktose i kontrolllyoghurten enn i de laktosereduserte. Det var ikke signifikant forskjell mellom B og A, men C hadde signifikant minst laktose. Dette var ikke uventet da MMP, som var tilsatt A og B, inneholdt en del laktose.

Sukrose ble tilsatt i samme mengde til alle prøvene med sukrose, men variansanalysen ga imidlertid signifikant mer sukker i B. Dette skyldes sannsynligvis at det ble funnet noe som kom ut på toppen til sukrose i kromatogrammet i en B prøve som ikke skulle inneholde sukker.

Da det ikke ble funnet signifikant forskjell mellom kontrolllyoghurten og de laktosereduserte yoghurtene på grunnlag av sukroseinnhold, ville det være nærliggende å konkludere med at det enten ikke har vært metabolisert sukrose av yoghurtkulturen, eller at en eventuell sukrosemetabolisme skjer uavhengig om det er laktose tilstede. Dette kan på grunnlag av data fra dette forsøket ikke utelukkende påstås, da variansanalysen bygger på kun et gjentak og det var heller ingen av de laktosereduserte yoghurtene som var helt laktosefrie etter syrning.

## 5. Diskusjon

---

Under syrningen blir som nevnt laktosen fraktet inn i bakteriecellen via et laktose-permease system. Inne i cellen blir laktosen spaltet av  $\beta$ -galactosidase og glukosedelen blir metabolisert til melkesyre, mens galaktosedelen blir fraktet ut av cellen (Zourari et al. 1991). Mengden galaktose kan derfor ses i sammenheng med nedgang i laktose og økning i melkesyre. Det var signifikant mer galaktose i A og D enn i B og C. Dette er sammenfallende med at det også ble funnet mest melkesyre i A og D. Laktoseresultatene var vanskeligere å tolke fordi prøvene inneholdt ulike konsentrasjoner av laktose før syrning, og det var nettopp D og A som inneholdt mest laktose både før og etter syrning.

### **5.4.1.4 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på flyktige stoffer**

Acetaldehydinnholdet i laktosereduserte blandinger var samsvarende med syringstid; lengre syringstid ga høyere innhold av acetaldehyd. Acetaldehydproduksjonen var altså signifikant større i A enn i B og C, og B hadde signifikant høyere innhold enn C.

Acetaldehydinnholdet til kontroll-yoghurtene sammenfaller ikke med syringstiden, da kontroll-yoghurtene hadde kortere syringstid, men like mye acetaldehyd som B og mer enn C. Aminosyra treonin er som nevnt sannsynligvis hovedkilden til dannelse av acetaldehyd. Enzymet treonin aldolase splitter da treonin til acetaldehyd og glycin (Zourari et al. 1991). Marranzini *et al* (1989) og Rysstad (1990) fant at ved lavt innhold av treonin og høyt innhold av glycin gikk acetaldehydproduksjonen ned. At acetaldehydinnholdet var lavere i laktosereduserte yoghurtter kan skyldes at mengden treonin i melka var blitt fortynnet gjennom diafiltrering og ultrafiltrering. Det er imidlertid forskning som tyder på at treonin ikke er hovedkilden til acetaldehyd. Ott *et al* (2000) fant i et forsøk at glukose var hovedkilden til acetaldehyd og Wilkins (1986) viste at acetaldehyd kunne dannes fra treonin, men at bare 2 % av acetaldehyden i det aktuelle forsøket stammet fra treonin.

I dette forsøket var konsentrasjonen av acetaldehyd mellom 11-19 ppm for alle prøver. Det er oppgitt ulike tall for innhold av acetaldehyd i yoghurt. Hamdan *et al* (1971) fant 22-26 ppm, Abrahamsen (1977) fant 19,5-22,5 ppm, Beshkova *et al* (1998) fant 14,15-17,34 ppm og Pinto *et al* (2009) fant 11-35 ppm. Resultatene i dette forsøket var altså ikke uvanlig i forhold til hva som har vært rapportert tidligere.

For etanol var innholdet signifikant høyere i blanding D og A enn i C. Det var en prøve fra blanding A med veldig høyt innhold i forhold til de andre som ga et stort standardavvik. Dette kan ha vært forårsaket av en gjærforurensing. Innholdet av etanol før syring var litt høyere i kontroll-yoghurtene, som kan bety at det ikke var noen signifikant forskjell i *produksjon* av

etanol mellom de laktosereduserte yoghurtene og kontrolllyoghurtene. Etanol kan dannes fra acetaldehyd ved hjelp av enzymet alkoholdehydrogenase, men aktiviteten av dette enzymet er lav i yoghurtkulturer (Rysstad & Abrahamsen 1987). En kunne heller ikke se noen sammenheng mellom acetaldehyd og etanolinnhold, bortsett fra i A-prøven som sannsynligvis var forurenset. Etanolinnholdet i yoghurt er typisk rundt 10-40 ppm (Walstra et al. 2006), og alle blandingene hadde konsentrasjoner under dette nivået. Etanol bidrar sannsynligvis lite til smaken av yoghurt, da det må større konsentrasjoner til for at etanol skal bidra i smaksbildet (Walstra et al. 2006).

Diacetyl menes å ha en viktig og positiv innvirkning på yoghurt smak (Zourari et al. 1991). Innholdet av diacetyl var signifikant høyere i kontrolllyoghurtene, med et innhold på ca 0,55-0,62 ppm. Laktosereduserte yoghurter hadde et innhold på 0,19-0,35 ppm. Diacetylinnholdet i yoghurt er som regel rundt 0,8-1,5 ppm (Walstra et al. 2006). Dette betyr at både kontrolllyoghurter og laktosereduserte yoghurter hadde et litt lavt innhold av diacetyl i dette forsøket.

Innholdet av acetoin var også høyere i kontrolllyoghurtene enn i A og B prøver. Grunnen til at kontrolllyoghurtene ikke var signifikant forskjellig fra C skyldes nok at det var en C-prøve som avvirket med høy verdi. Acetoin er et smaksnøytralt stoff og har derfor ingen rolle i yoghurt smaken (Kandler 1983).

Diacetyl og acetoin dannes under citratmetabolisme. Citrat blir da omdannet til pyruvat som videre blir omdannet til diacetyl og acetoin. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* og *S. thermophilus* er ikke citratomsettende (Walstra et al. 2006), noe som en også kan se av det tilnærmet konstante innholdet av sitronsyre under syrning i dette forsøket. Dette betyr at diacetyl og acetoin i yoghurt må stamme fra pyruvat dannet under karbohydratmetabolisme (Walstra et al. 2006). Innholdet av pyrodruesyre var høyere i kontrolllyoghurtene enn i laktosereduserte yoghurter, som samsvarer med at det også var høyere innhold av diacetyl og acetoin i disse yoghurtene.

Aceton bidrar til smaksprofilen til yoghurt, men i mindre grad enn acetaldehyd og diacetyl (Beshkova et al. 1998). Det var signifikant mindre aceton i laktosereduserte yoghurter enn i kontrolllyoghurter, både før og etter syrning.

### **5.4.1.5 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på mikrobiologi**

Resultatene for kvantifisering av *Streptococcus thermophilus* ble ikke tatt med i variansanalysen (fordi det manglet et resultat), men antall så veldig jevn ut med log kde/ml på rundt 9 for alle prøver. Antallet var høyest i blanding D, men forskjellen mellom de ulike blandingene var ikke stor.

Antallet *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* var signifikant høyere i blanding A enn i blanding C, noe som var særlig tydelig etter lagring. Dette skyldes nok bufferkapasiteten til de tilsatte proteinene, som førte til at *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, som er den mest syretolerante av de to yoghurtbakteriene, kunne vokse enda litt etter syrningen.

Det var signifikant mer melkesyre i kontroll-yoghurten enn i B og C, men ikke signifikant høyere antall *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Dette kan skyldes at *S. thermophilus* har hatt en raskere syrning i kontroll-yoghurten, slik at *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ikke fikk vokse like lenge i denne som i laktosereduserte yoghurter før syrning ble avsluttet.

Det er gjerne oppgitt at det i ferdig yoghurt skal være et forhold på 1:1 mellom de to bakterietypene (Walstra et al. 2006). Dette var ikke tilfelle med denne kulturen. Det er ikke prøvenes egenskaper eller behandlingsmetoder som favoriserer *S. thermophilus*, men kulturen som ikke har en forventet balanse i antallet av de to bakterietypene. Dette kom frem av forforsøket der kulturen også ble testet direkte.

Flere har hevdet at *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* produserer den største andelen acetaldehyd (Beshkova et al. 1998; Lees & Jago 1978; Zourari et al. 1991), og det lave innholdet av *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i kulturen som ble brukt i dette forsøket kan være en årsak til at acetaldehydinnholdet ikke var høyere. Acetaldehydinnholdet var lavest i C-yoghurter og høyest i A-yoghurter, som etter 3 uker hadde henholdsvis lavest og høyest innhold av *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Andre har imidlertid hevdet at det er *S. thermophilus* som produserer mest acetaldehyd (Ott et al. 2000; Wilkins et al. 1986).

### **5.4.1.6 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på reologiske egenskaper**

Det var signifikant forskjell i gelfasthet mellom alle prøvene, og yoghurter med høyest innhold av fett hadde sterkest gel. I fullfet yoghurt vil homogeniserte fettkuler opptre som pseudoprotein i nettverket og bidrar til en tettere og mer forgrenet gel (Guinee et al. 1993). Sandoval-Castilla et al (2004) fant at fettredusert yoghurt hadde en åpnere struktur med flere

hulrom enn en fullfet yoghurt. Videre ble det vist at fettredusert yoghurt tilsatt MMP lignet den fettreduserte yoghurten i struktur, men med MMP-partikler inkorporert i nettverket. Denne gelen var mindre fast enn en fullfet yoghurtgel. MMP-partiklene så ut til å beholde sin opprinnelige struktur og ikke binde seg til kaseiner slik myseproteiner som ikke er mikropartikulære gjør under varmebehandling av melk.

For de yoghurtene som inneholdt 4 % fett (C og D) hadde den laktosereduserte yoghurten signifikant sterkere gel enn kontroll-yoghurten. Dette kan skyldes syrningstiden, da D hadde kortere syrningstid enn C. Kort syrningstid fører til et grovere og mer porøs nettverk, som vil gi en mindre fast gel (Guinee et al. 1993). Det var imidlertid ikke stor forskjell i syrningstid. En annen forklaring kan være forskjellen i laktoseinnhold. Laktose beskytter  $\beta$ -laktoglobulin mot denaturering (Bernal & Jelen 1985) slik at myseprotein i mindre grad kan binde seg til kasein og bidra til en tettere mer forgrenet struktur i nettverket (Guinee et al. 1993).

Force 1 er som nevnt tidligere et mål på motstanden proben møter på vei ut av gelen. Den kan være et mål på gelens styrke i form av at en sterk gel vil gi mer motstand, men den kan også si noe om hvor ”adhesive” prøven er, altså i hvor stor grad den ”klistrer” seg til proben. Det en ser ut av resultatene er at selv om C hadde sterkest gel i Force 2 målingen, er det prøvene fra D som gir proben mest motstand på vei tilbake. En vet ikke her om forskjellen er signifikant da resultatene for ”Force 1” ikke var med i den statistiske dataanalysen. Dette kan imidlertid tyde på en litt forskjellig struktur i den laktosereduserte yoghurten i forhold til kontroll-yoghurten.

Shear stress ved flytpunkt var signifikant større for C og D enn for B og A. Dette betyr at verken 4 % tilsatt MMP eller 2 % tilsatt MMP sammen med 2 % fett har kunnet imitere 4 % fett ved disse viskositetsmålingene. I homogenisert full-fet yoghurt vil fettkulene ha en overflate dekket hovedsakelig av kasein og noe myseprotein, som fører til at de deltar i proteinnettverket og opptrer som bindepunkter i gelen. Dette vil føre en mer elastisk gel som vil kunne tåle større grad av shear stress før den blir ødelagt (Lucey et al. 1998; Sandoval-Castilla et al. 2004). MMP partiklene deltar tydeligvis ikke i nettverket som bindepunkter på samme måte som fettkulene, og bidrar ikke til en elastisk gel. Lobato-Calleros et al. (2004) fant også at fettredusert yoghurt som var tilsatt MMP viste større grad av viskøse enn elastiske egenskaper i forhold til full-fet yoghurt. En kunne også se av viskositetsanalysen at yoghurter av blanding C og D hadde høyere lagringsmodul ved alle målepunkter enn fettredusert yoghurt. Dette betyr at de var mer elastiske i forhold til prøver med lavt innhold av fett.

## 5. Diskusjon

---

Yoghurter laget av blanding C og D hadde også høyere kompleks viskositet ved flytpunkt enn de fettreduserte yoghurtene.

Viskositetsmålingene viste ikke signifikant forskjell mellom C og D som tyder på at laktoseredusering ikke har hatt en signifikant effekt på viskositet i forhold til en kontrolllyoghurt med lik mengde fett. Det var uventet at det ikke var signifikant forskjell mellom viskositet i A og B, da A inneholdt 0 % fett og B inneholdt 2 % fett.

I dette forsøket ble det bare undersøkt to forskjellige konsentrasjoner av MMP og det ble ikke produsert noen prøve uten fett og uten tilsatt MMP, men med SMP for sammenligning. Det er mulig at MMP har bedret viskositet og gel egenskaper i forhold til en prøve uten fett, men MMP har altså ikke klart å etterligne en full-fet yoghurt.

### **5.4.1.7 Effekt av laktose-, MMP- og fettinnhold på sensoriske egenskaper**

I den sensoriske analysen kunne en klart se at kontrolllyoghurten hadde høyest score på de positive egenskapene yoghurt smak og søt smak, og lavest score på de negative egenskapene vassenhet og besk smak. Bismak, sur smak og fnokker var det ikke signifikant effekt på i forhold til yoghurtblandingene. Yoghurter fra blanding A og C hadde en signifikant større grad av besk smak enn kontrolllyoghurtene, noe som sannsynligvis skyldes ultrafiltrering. Biliaderis (1992) fant også at yoghurt laget av UF-behandlet melk fikk en bitter smak, og dette har vært et problem ved ferskost fremstilt fra UF-konsentrat (Rosenberg 1995). Sannsynligvis skyldes det en konsentrering av kalsium under ultrafiltreringen. Fordi kalsium i stor grad er bundet til kaseiner i form av kalsiumfosfat vil kalsium bli konsentrert i retentatet sammen med proteinet og kunne føre til en bitter smak på det ferdige produktet (Renner & El-Salam 1991). For ferskost laget av UF-melk har dette problemet vært løst ved å ultrafiltrere etter syring (Renner & El-Salam 1991) fordi kalsium gradvis blir løst fra micellen ved en reduksjon i pH (Walstra et al. 2006). Det er også mulig at smaken kan skyldes økt proteolytisk aktivitet (Biliaderis et al. 1992; Rosenberg 1995). Poulsen (1977) fant for øvrig at skummetmelk kunne konsentreres til 6,4 % protein uten at det påvirket smaken på melka.

Selv om kontrolllyoghurten hadde signifikant mer yoghurt smak enn C og A, var acetaldehydinnholdet størst i A. Det er mulig at en bismak i blanding A har ført til at yoghurt smaken ikke kom tilstrekkelig frem. Det kom flere tilbakemeldinger på at laktosereduserte yoghurter smakte ”papp”, ”salt” og ”såpe”. Som nevnt kan oppkonsentrering av kalsium føre til en bitter, men også ”kalkaktig” smak (Puspitasari et al. 1991). Forøvrig ble

alle yoghurtene vurdert til å ha mindre grad av yoghurt smak enn en ville forvente fra en yoghurt naturell, noe som henger sammen med acetaldehydinnholdet som var relativt lavt. Dette tyder på at yoghurtkulturen var en svak acetaldehydproducent.

Det ble prøvd å tilsette syltetøy til yoghurtene for å undersøke om det kunne bedre smaken på yoghurten og dekke over denne beske bismaken. Det var i stor grad tilfellet, men den forsvant ikke helt. Syltetøyet førte imidlertid også til at yoghurt smak og sur smak i mindre grad ble oppfattet.

Da kontrolllyoghurtene ble oppfattet som søtere enn de laktosereduserte kan det være at selv om den relative søtheten til laktose er lav, bare 0,4 i forhold til sukrose (Tamine & Robinson 1999), så har den betydning for søt smaken i yoghurt.

Samsvarende med de reologiske analysene ble de yoghurtene med høyest innhold av fett oppfattet som mer viskøse enn de magre yoghurtene.

Laktosereduserte yoghurter ble oppfattet som mer vassne enn kontrolllyoghurtene. Dette er sammenfallende med hva Mo (2004) fant, som beskrev laktosereduserte yoghurter som mer vannaktige og med en tynnere munnfølelse enn vanlige yoghurter tilsatt SMP.

### **5.4.2. Effekt av tilsetting av sukker**

Sukker ble bestemt som PC 3, med 14 % av variasjonen i datasettet forklart.

#### **5.4.2.1 Effekt av tilsetting av sukker på pH**

Sukker hadde signifikant effekt på pH i den retning at yoghurter med sukker hadde større fall i pH 24 timer etter syring og under lagring enn yoghurter uten sukker. En kunne også se at sukker hadde effekt på syringstiden, da yoghurtene som var tilsatt sukker hadde et hurtigere fall i pH enn yoghurtene uten tilsatt sukker. Slocum *et al.* (1987) fant at 7 % tilsatt sukrose førte til en økning i proteolyse aktivitet de første timene under syring. Ved proteolyse blir proteinenes bufferkapasitet lavere, og mindre syre kan dannes før en fikk fall i pH. Dette vil føre til en kortere syringstid, slik som en så i dette forsøket. Slocum *et al* fant også at ved å tilsette opp til 7 % sukrose ville det for noen kulturer være en økning i grad av proteolyse under lagring. Da proteolyse vil kunne føre til en endring i bufferkapasitet er dette en mulig forklaring på at pH falt mer under lagring i yoghurtene som inneholdt sukker, enn i yoghurtene som ikke inneholdt sukker. Det var imidlertid ikke signifikant forskjell i

## 5. Diskusjon

---

melkesyre mellom yoghurter som inneholdt sukrose og yoghurter som ikke inneholdt sukrose, noe som var uventet da det var forskjell i pH.

### **5.4.2.2 Effekt av tilsetning av sukker på organiske syrer**

Sukker tilsetning hadde kun signifikant effekt på de organiske syrene  $\alpha$ -ketoglutarsyre og orotinsyre. Det var mer  $\alpha$ -ketoglutarsyre i prøver med sukker enn i de tilsvarende uten.  $\alpha$ -ketoglutarsyre inngår i aminosyre metabolismen (Mathews et al. 2000), så det er mulig at prøver med sukker har hatt større aktivitet med hensyn på aminosyremetabolisme. Analyser som kunne vise en slik aktivitet ble imidlertid ikke utført. Orotinsyre viste en signifikant lavere konsentrasjon i de prøvene som var tilsatt sukker. Dette vises imidlertid ikke klart i den grafiske fremstillingen.

Tilsetning av sukker hadde ikke signifikant effekt på pyrodruesyreinnhold i prøvene. I den grafiske fremstillingen kunne en imidlertid se en trend blant laktosereduserte prøver. Ved uttakene gjort 24 timer etter startet syring hadde laktosereduserte yoghurter som inneholdt sukrose høyere innhold av pyrodruesyre enn de tilsvarende yoghurtene uten sukker. Etter 3 uker var tendensen motsatt; laktosereduserte yoghurter med sukrose hadde lavere innhold av pyrodruesyre enn de tilsvarende uten. I kontroll-yoghurtene var innholdet av pyrodruesyre relativt likt for yoghurtene med og uten sukker. Dette kan tyde på høyere grad av karbohydratmetabolisme i de prøvene som hadde redusert laktoseinnhold og som var tilsatt sukker.

Tilsetning av sukker hadde ikke signifikant effekt på melkesyre. Da melkesyre er hovedårsaken til fall i pH under syring, samsvarer dette ikke med at yoghurter tilsatt sukker hadde kortere syringstid og større fall i pH enn yoghurter som ikke var tilsatt sukker. Bills et al (1972) og Slocum *et al* (1987) fant at ved tilsetning av hhv 4 og 7 % sukrose ble det produsert mindre melkesyre enn uten tilsetning av sukrose. Dette ble som nevnt tidligere forklart med at sukrose førte til en økning i proteolyse aktivitet de første timene under syring. Ved proteolyse ble proteinenes bufferkapasitet lavere, og mindre syre kunne dannes før en fikk fall i pH.

### **5.4.2.3 Effekt av tilsetning av sukker på karbohydrater**

Tilsatt sukker hadde ikke signifikant effekt på laktoseinnholdet i de ferdig syrnede yoghurtene. Det ville være naturlig å tro at om bakteriene metaboliserer mindre laktose når det er sukker tilstede, skulle tilsatt sukker ha hatt signifikant effekt på laktoseinnholdet i



produktet. Det er imidlertid viktig å påpeke at variansanalysen for laktose var basert på bare et uttak, og at ut fra de grafiske fremstillingene kunne en se en trend der prøvene med tilsatt sukker faktisk hadde mindre laktose. Dette var særlig tydelig etter 3 uker. Dette indikerer at bakteriene faktisk metaboliserer mindre laktose når det er sukrose tilstede i vekstmediet.

Det var signifikant mer galaktose etter syrning i prøvene som ikke inneholdt sukker, dette kunne også ses klart i de grafiske fremstillingene. Det kommer nok av at galaktosedelen blir eksportert ut i det ekstracellulære mediet etter spalting av laktose. Dette tyder også på at mindre laktose er spaltet i yoghurtene med tilsatt sukker.

For sukrose var det som ventet signifikant mer sukrose i de prøvene som var tilsatt sukker.

#### **5.4.2.4 Effekt av tilsetning av sukker på flyktige stoffer**

Bills et al (1972) fant at ved 8 % tilsatt sukrose ble det produsert mindre acetaldehyd enn om det ikke var tilsatt sukrose. I dette forsøket var det signifikant mer acetaldehyd og diacetyl i de prøvene som var tilsatt sukker. Det var også mer pyrodruesyre i yoghurter tilsatt sukrose. Dette kan tyde på at ved sukrose tilstede vil det bli dannet mer acetaldehyd og diacetyl fra pyruvat, mens det med vanlig laktosemetabolisering blir dannet mest acetaldehyd fra treonin. Ved HSGC er det imidlertid en mulighet for at tilsetning av sukrose kan flytte ekvilibrumet slik at en får en økning i respons, uten at det faktisk var et høyere innhold av acetaldehyd og diacetyl. Dette ble i dette forsøket ikke undersøkt.

#### **5.4.2.5 Effekt av tilsetning av sukker på mikrobiologi**

Sukker hadde ikke signifikant effekt på antall *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Det så heller ikke ut til at sukker hadde noen effekt på vekst av *Streptococcus thermophilus*, da veksten var veldig jevn for alle prøver. Steinsholt og Abrahamsen (1978) fant at dersom sukroseinnholdet var over 12 % ble yoghurtkulturen vesentlig svekket, særlig *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Bills et al (1972) fant det samme ved 4 % sukrose. Det ble altså ikke påvist en slik hemming i dette forsøket ved 3 % tilsatt sukrose.

#### **5.4.2.6 Effekt av tilsetning av sukker på reologiske egenskaper**

Tilsetning av sukker hadde ikke signifikant effekt på de reologiske egenskapene ”shear stress ved flytpunkt” og gelfasthet målt i ”force 2”. Dette tyder på at 3 % tilsatt sukker ikke påvirker gelen eller geldannelsen. Det tyder også på at selv om yoghurter som var tilsatt sukker syrnet raskere har dette ikke hatt innvirkning på geldannelsen.

### **5.4.2.7 Effekt av tilsetning av sukker på sensoriske egenskaper**

Naturlig nok ble prøvene som var tilsatt sukker oppfattet som signifikant mer søte. Disse ble også oppfattet som signifikant mer kremet.

Yoghurter uten sukker ble oppfattet til å ha en sterkere grad av yoghurt smak, noe som ikke stemmer med at det var produsert signifikant mer acetaldehyd og diacetyl i prøver med tilsatt sukker. Det er mulig at søtsmaken fra sukkeret har dekket over noe av yoghurt smaken. En annen forklaring er som nevnt at sukkeret kan påvirke resultatet i HSGC-analysen slik at en får for høye verdier.

Prøvene uten tilsatt sukker ble oppfattet som signifikant mer vassne, sure og til å ha større grad av bismak og besk smak. At de med tilsatt sukker oppfattes som mindre sure og til å ha mindre grad av bismak og besk smak skyldes nok at disse smakene til en viss grad blir dekket over av søtsmaken fra sukkeret. Ved tilsetning av syltetøy så en også at disse negative egenskapene var mindre framtrepende.

Prøver som var tilsatt sukker ble oppfattet som mer kremet og mindre vassne. Dette tyder på at karbohydrater spiller en rolle for yoghurtens konsistens. Det er også sammenfallende med at laktosereduserte yoghurter ble oppfattet som mer vassne enn yoghurter med høyere innhold av laktose. Forøvrig ble ikke prøver som var tilsatt sukker oppfattet som mer viskøse enn prøver uten sukker, og sukker hadde ikke signifikant effekt på shear stress ved flytpunkt.

### **5.4.3 Effekt av uttak**

Uttak ble bestemt som PC 4, med 10 % av variasjonen i datasettet forklart. Dette tyder på at det ikke har skjedd store forandringer under lagring.

#### **5.4.3.1 Effekt av uttak på pH**

Det var et signifikant fall i pH fra fersk til lagret yoghurt. At pH falt mer fra ferdig syret til 24 timer gammel, enn fra 24 timer til 3 uker gammel tyder på at det skjer størst ettersyrning under nedkjølingen, altså før temperaturen er gått tilstrekkelig ned.

Et kvalitetsproblem med yoghurt er at syrningen ofte fortsetter etter kjøling og gir en sur smak (Walstra et al. 2006). Ved laktoseredusering ville man kunne forvente en mindre grad av ettersyrning. Kosikowski (1979) fant at ved laktoseinnhold på 1,1 % før syrning hadde ferdig

fermentert yoghurt et laktoseinnhold på 0,31-0,61 % og det var ikke stor grad av ettersyrning. Dette var ikke tilfelle i dette forsøket hvor både laktosereduserte yoghurter og kontroll-yogurtene hadde fall i pH etter syrningen. Graden av ettersyrning i laktosereduserte yoghurter, kan komme av at laktosekonsentrasjonen ikke var tilstrekkelig redusert. Yoghurter fra blanding C var de med lavest innhold av laktose, og hadde et laktoseinnhold på ca 1,8 % før syrning og 0,5 % etter syrning. De andre laktosereduserte yoghurtene hadde høyere innhold grunnet tilsetning av MMP som inneholdt noe laktose.

### **5.4.3.2 Effekt av uttak på organiske syrer**

Mengden pyrodruesyre gikk som forventet opp under selve fermenteringen. Fernandez-Garcia og McGregor (1994) viste at pyrodruesyreinnholdet i yoghurt var høyest 6 timer etter inokulering, og ble senere redusert. I dette forsøket gikk også innholdet signifikant ned under lagring. Dette er sannsynligvis fordi pyrodruesyre er et intermediært stoff i flere metabolske reaksjoner (Fernandez-Garcia & McGregor 1994).

Eddiksyre var ikke tilstede i blandingene før syrning, men i løpet av syrning ble det dannet mellom 40-120 ppm. Eddiksyre er et stoff som dannes under fermentering av yoghurtkulturen (Walstra et al. 2006), så dette var ikke uventet. Under lagring gikk innholdet signifikant ned.

Ravsyre, urinsyre og maursyre viste en signifikant økning under lagring. Av disse var det kun ravsyre og urinsyre som var tilstede i melka før fermentering. All ravsyre i den opprinnelige melken ble metabolisert under syrning og innholdet gikk litt opp igjen under lagringen. Dette ble også vist av Mo (2004). Urinsyre gikk litt ned gjennom *syrningen*, noe som også er rapportert tidligere (Fernandez-Garcia & McGregor 1994; Mo 2004).

Maursyre ble dannet under både fermentering og lagring. Denne økningen i konsentrasjon kan komme av at *St. thermophilus* danner maursyre fra pyruvat (Walstra et al. 2006).

*Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er ikke citratomsettende, så tidspunkt for prøveuttak hadde som ventet ikke effekt på innholdet av sitronsyre.

Det var uventet at mengde melkesyre ikke viste en signifikant økning under lagring da uttak hadde signifikant effekt på pH. Mo (2004) viste at melkesyreinnholdet i både vanlige og laktosereduserte yoghurter først økte under lagring, for så å avta etter 12 dager. Da det ikke

## 5. Diskusjon

---

ble tatt analyser underveis i lagringen i dette forsøket, men kun etter 3 uker, er det mulig at det samme kan ha skjedd.

Okonkwo og Kinsella (1969) viste at mengde orotinsyre i yoghurt sank under syring, men ca 7 timer etter inokulering stabiliserte innholdet seg. Noe som samsvarer med at innholdet av orotinsyre holdt seg jevnt under lagring i dette forsøket.

### **5.4.3.3 Effekt av uttak på karbohydrater**

Størst fall i laktoseinnholdet var det fra før syringen til 24 timer etter. Dette var som forventet da det hovedsakelig er laktose som blir metabolisert under fermenteringen. Det var også signifikant lavere innhold av laktose i de lagrede yoghurtene. Dette er imidlertid ikke noe som kommer klart frem av de grafiske fremstillingene, og kan skyldes at variansanalyseresultatene for laktoseinnhold baseres på kun et forsøk. Laktoseinnholdet bestemt i følge HPLC metode 2 var litt høyere enn laktoseinnholdet i følge HPLC metode 1. For kontrollyoghurtene er metode 1 nærmest det som er å forvente i en 2,5 % SMP-tilsatt yoghurt.

Variansanalysen viste at det var signifikant forskjell på fersk og lagret yoghurt med hensyn på sukroseinnholdet, men at det var mer sukrose tilstede *etter* lagring. Dette er et usannsynlig resultat, og skyldes nok små feil i målingene. P-verdien var dessuten høy, og for sukrose ble bare resultatene fra forsøk 1 brukt i variansanalysen. Ser en på den grafiske fremstillingen fra sukrose analysen, kan en ikke se noen trend med hensyn på uttak.

Yoghurtkulturens sukrosemetabolisme er ikke godt dokumentert. De fleste stammer av *Streptococcus thermophilus* kan metabolisere sukrose (van den Bogaard et al. 2004). Stammer av *S. thermophilus* som kan metabolisere sukrose tar inn molekylet i cellen via PEP-PTS, hvor det blir spaltet til glukose og fruktose (Hols et al. 2005). Om sukrose var blitt tatt inn i cellen og fruktosedelen av sukrose ikke ble metabolisert skulle en kunne finne fruktose i de syrnede yoghurtene. Dette var ikke tilfelle. En annen mulighet er at sukrose blir tatt opp i cellen og både glukosedelen og fruktosedelen blir omdannet til pyruvat. Da ville en ikke kunne finne fruktose i de syrnede yoghurtene. Hols et al (2005) oppgir imidlertid at de fleste stammer av *S. thermophilus* ikke kan fermentere fruktose. Det er også oppgitt at fruktose kan metaboliseres, men vil allikevel akkumuleres i vekstmediet muligens på grunn av et saktere opptak (Zourari et al. 1991). En tredje mulighet er at *S. thermophilus* spalter sukrose og metaboliserer glukosen, mens *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* metaboliserer

fruktosen. De fleste stammer av *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kan metabolisere fruktose, men ikke sukrose (Amoroso et al. 1989).

Galaktoseinnholdet økte under syrning, men endret seg ikke signifikant under lagring. Økningen i galaktoseinnholdet skyldes som nevnt tidligere at bakteriene bare metaboliserer glukosedelen av laktose, og at galaktose blir fraktet ut igjen fra cellen.

Blant prøver som var laktosereduserte kunne en se at prøver som var tilsatt sukker hadde et høyere innhold av pyrodruesyre etter syrning, samtidig som det var lavere innhold av galaktose og høyere innhold av laktose. Innholdet av melkesyre var omtrent likt mellom prøver som var tilsatt sukker og tilsvarende prøver som ikke var tilsatt sukker. Dette tyder på at når det var både sukrose og laktose til stede ble det dannet noe melkesyre fra sukrose, samtidig som det ble dannet mindre melkesyre fra laktose. Fra galaktoseresultatene, og til en viss grad fra laktoseresultatene, så det ut til at dette gjaldt både for laktosereduserte yoghurturter og kontrolllyoghurtene. Det betyr i så fall at mengden laktose ikke har hatt noen innvirkning på hvorvidt sukrose blir metabolisert. Det er mulig dette hadde vært annerledes om det hadde vært enda mindre laktose i melka før syrning.

Da både laktose- og galaktoseinnholdet i følge HPLC metode 2 var høyere enn HPLC metode 1, er det rimelig å anta at det er metoden som gjør at sukroseinnholdet for noen prøver ble høyere i HPLC metode 2 enn de 3 % sukrose som var tilsatt. For fremtidige analyser kan det være gunstig å øke konsentrasjon indrestandardløsning for et mer nøyaktig resultat. En økning i indrestandard vil føre til en større topp i kromatogrammet som vil være enklere å integrere korrekt.

#### **5.4.3.4 Effekt av uttak på flyktige stoffer**

Det var ikke signifikant forskjell mellom fersk og lagret yoghurt med hensyn til de flyktige aromakomponentene. En kunne se en liten nedgang av diacetyl under lagring, men nedgangen var ikke signifikant. Både *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* har lav aktivitet av alkoholdehydrogenase, og omdanner derfor ikke acetaldehyd til etanol (Walstra et al. 2006).

En ville kanskje kunne forvente at innholdet ville gå litt ned etter lagring ville fordi stoffene er flyktige, men dette var altså ikke tilfelle her, sannsynligvis fordi syltetøyglassene som yoghurtene var lagret på var tette.

### **5.4.3.5 Effekt av uttak på mikrobiologi**

Uttak hadde ikke signifikant effekt på antall *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, men det skjedde allikevel en endring under lagring. Prøvene som var laget av blanding A (tilsatt 4 % MMP) hadde hatt en økning i antall *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, mens det i de andre prøvene hadde vært en nedgang. Nedgangen var størst i de prøvene som var laget av blanding C, altså prøver uten proteintilsetning. Da nedgang i pH etter 3 uker ikke var vesentlig forskjellig mellom de ulike blandingene er det naturlig å konkludere med at veksten av *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i prøve AU og AS skyldes økt bufferkapasitet grunnet tilsatt protein. Grunnen til at det er *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* som har vokst under lagring skyldes nok at *S. thermophilus* vokser saktere ved pH 5,5 (Adams & Moss 2006), mens *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er mer tolerante for lav pH og kan fortsette å vokse (Walstra et al. 2006). *Streptococcus thermophilus* hadde et jevnt innholde, både mellom prøvene og mellom uttakene.

### **5.4.3.6 Effekt av uttak på reologiske egenskaper**

Lagring hadde ikke signifikant effekt på viskositet eller gelstyrke.

Dette hadde nok sannsynligvis vært annerledes om prøvene hadde blitt rørt opp før lagring, da yoghurt er thixotropisk (Bylund 1995) og etter hvert som den står oppnår noe av sin opprinnelige struktur.

### **5.4.3.7 Effekt av uttak på sensoriske egenskaper**

For de sensoriske analysene var det signifikant forskjell på fersk og lagret yoghurt for flere variabler. Ikke uventet ble de negative egenskapene vassenhet, bismak og besk smak oppfattet som signifikant mer fremtredende i lagret yoghurt enn i fersk yoghurt. Nedbryting av proteiner under lagring kan være årsaken til at lagret yoghurt ble oppfattet som mer besk og til å ha større grad av bismak (Slocum et al. 1987). Søtsmaken gikk signifikant ned under lagring. Dette kan skyldes at graden av besk smak og bismak gikk opp, og på den måten kamuflerte noe av søtsmaken. Søtsmaken gikk for øvrig ikke ned for alle prøver.

Lagring hadde ikke signifikant effekt på graden av sur smak, noe som tyder på at selv om det var et fall i pH under lagring, så har ikke graden av ettersyrning vært stor nok til at det ga utslag i den sensoriske analysen. At yoghurter blir surere under lagring er særlig noe som

oppfattes hos fettsereduserte yoghurter (Walstra et al. 2006), men det var altså ikke noe som kom klart frem i dette forsøket.

Poeng for hvor ”glatt” de ulike yoghurtene var ble ikke tatt med i variansanalysen, men av resultatene kan en se at de ble gitt lavere score til de lagrede prøvene. Det betyr at lagret yoghurt av en eller annen grunn ble oppfattet som mer grynet.

### **5.4.4 Effekt av forsøk**

Alle forsøkene ble gjort på likest mulig måte, allikevel var standardavvikene på enkelte analyser relativt store og ”Forsøk” hadde signifikant effekt på flere variabler i variansanalysen. Ved forsøk 1 var fluxen større under membranfiltreringen, noe som mulig kan ha ført til at syrningsforløpet var litt annerledes i forhold til de to andre gjentakene.

#### **5.4.4.1 Effekt av forsøk på pH**

pH var signifikant høyere etter lagring i forsøk 1 enn i forsøk 2 og 3. Ved avslutning av syrningen var pH relativt lik mellom forsøkene, så endringen må ha skjedd under lagring. At pH var høyere i forsøk 1 betyr at det har vært mindre grad av ettersyrning. Da bare laktoseinnholdet fra forsøk 1 ble var med i variansanalysen, vet en ikke om det var signifikant forskjell i laktose i forsøk 1 i forhold til de andre, men laktoseinnholdet i den diafiltrerte melka var lavest i forsøk 1. Melkesyre, som er hovedårsaken til fall i pH, var signifikant lavere i forsøk 1 enn i forsøk 2.

#### **5.4.4.2 Effekt av forsøk på organiske syrer**

Forsøk hadde signifikant effekt på alle de organiske syrene bortsett fra pyrodruesyre. For de fleste av disse syrene var trenden at det var lavest innhold i forsøk 1. Dette samsvarer med at pH var høyest i forsøk 1.

#### **5.4.4.3 Effekt av forsøk på karbohydrater**

Det er mulig det var signifikante forskjeller i karbohydratinnhold med hensyn på forsøk, men da kun resultater fra forsøk 1 ble brukt i den statistiske analysen for karbohydrater viste analysene selvsagt ikke signifikante forskjeller.

## 5. Diskusjon

---

### **5.4.4.4 Effekt av forsøk på flyktige stoffer**

For acetaldehyd, aceton og diacetyl var innholdet signifikant forskjellig mellom noen forsøk, men det var ikke noe tydelig mønster for hvilke forsøk som skilte seg ut.

### **5.4.4.5 Effekt av forsøk på mikrobiologi**

Antall *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* var signifikant høyere i forsøk 2 enn i forsøk 1. Dette kan ha sammenheng med at syringstiden var kortere i forsøk 1. Antall *Streptococcus thermophilus* var ikke med i den statistiske analysen, men standardavviket mellom forsøkene var lite.

### **5.4.4.6 Effekt av forsøk på reologiske egenskaper**

Forsøk hadde ikke signifikant effekt på gelfasthet. I forsøk 3 var shear stress ved flytpunkt derimot signifikant høyere enn i forsøk 1 og 2, men p-verdien var høy.

### **5.4.4.7 Effekt av forsøk på sensoriske egenskaper**

For sensoriske egenskaper hadde forsøk effekt på grad viskositet, grad av vassenhet, søt smak og sur smak. Grunnen til at yoghurtene i forsøk 1 fikk lavere poeng for vassenhet kan være at ved den første sensoriske analysen var egenskapen "vassenhet" plassert under "utseende" i det sensoriske skjemaet, og ikke under "konsistens" som den var i resten av de sensoriske analysene. Yoghurtene fra forsøk 1 ble oppfattet som mindre sure, enn yoghurtene fra forsøk 2 og 3. Dette kan sees i sammenheng med at pH var høyest i forsøk 1.



## 5.5 Syntese

Ved diafiltrering reduserte en laktoseinnholdet i melka. Målet var at det ikke skulle være noe laktose igjen etter syring, men i dette forsøket var det fortsatt noe laktose igjen etter syring. Skal en diafiltrere melk slik at all laktose blir metabolisert under syring bør en derfor tilsette enda mer vann til melka. Fordi MMP inneholdt noe laktose fikk laktosereduserte yoghurter tilsatt MMP en liten økning i innholdet av laktose. Dette er også noe en må ta i betraktning om en skal lage en mager laktoseredusert yoghurt. Da det var noe laktose igjen etter syring klarte en ikke å begrense ettersyrningen. Ved de konsentrasjoner av laktose som var igjen i laktosereduserte yoghurter kunne en ikke se noen forskjell i grad av ettersyrning i forhold til kontroll-yoghurten.

De sensoriske analysene tyder på at melk som er laktoseredusert ved bruk av diafiltrering har en smak som ikke er tilstede eller som ikke registreres i vanlig yoghurt. Dette ble forsøkt dekket over ved tilsetning av syltetøy, noe som reduserte, men ikke fjernet denne beske smaken. Spørsmålet er hvor villige kundene er til å godta en viss grad av ”annerledes” smak i forhold til å få et sunnere produkt. Laktosereduserte yoghurter ble også oppfattet som mer vassne, mindre søte og hadde svakere grad av yoghurt smak ved samme fettinnhold som i kontroll-yoghurt. Den sensoriske oppfattelsen av yoghurter laktoseredusert ved hjelp av diafiltrering byr derfor på utfordringer om en skal produsere en yoghurt som skal tilsvare en vanlig SMP-tilsatt naturell yoghurt.

De reologiske resultatene viste at yoghurter tilsatt 2 eller 4 % MMP hadde svakere gel og lavere viskositet målt med rheometer enn prøver som inneholdt 4 % fett. Yoghurtene som var tilsatt MMP fikk også generelt lavere score på de sensoriske egenskapene viskositet og kremethet enn yoghurter med 4 % fett. Ved de mengder MMP som var tilsatt i denne oppgaven oppnådde en derfor *ikke* tilsvarende reologiske egenskaper som 4 % fett i yoghurt gir.

Yoghurtkulturen så ut til å foretrekke laktose fremfor sukrose som karbohydratkilde, men det ble nok metabolisert noe sukrose. En skulle da ha sett en nedgang i sukrose under syring i prøver som var tilsatt sukrose, noe som ikke var tilfelle. Dette skyldes sannsynligvis feil ved analysemetoden. En kunne på den annen side se at det var mer laktose og mindre galaktose i yoghurtene som var tilsatt sukrose. Forskjellen i laktoseinnhold hos yoghurter tilsatt sukker og ikke tilsatt sukker var imidlertid ikke signifikant. Det er viktig å påpeke at variansanalysen bare påviste eventuelle signifikante effekter under lagring, da analysene av melkebasene før

## 5. Diskusjon

---

syring ikke var med i variansanalysen. Av de grafiske fremstillingene går det frem at det var en forskjell i laktoseinnhold etter syring og lagring. For laktose, sukrose og galaktose analysert med HPLC metode 2, kan det i videre forsøk som nevnt være hensiktsmessig med en høyere konsentrasjon av indrestandard, som vil gjøre resultatene mer nøyaktige. Da laktoseinnholdet ikke var null i noen av yoghurtene fikk en ikke undersøkt om sukrosemetabolismen hadde vært større uten laktose tilstede.

## 6. Konklusjon

Ved diafiltrering og ultrafiltrering kunne en henholdsvis redusere laktoseinnhold og konsentrere proteininnholdet i melka. I melk diafiltrert til 1,7 % laktose, var det igjen ca 0,5-1 % laktose ved endt syrning, avhengig av mengde MMP tilsatt. Kontroll yoghurt hadde et innhold på ca 4 % laktose etter endt syrning.

Laktoseredusering ga yoghurt som var signifikant forskjellig fra kontroll yoghurtene for de fleste organiske syrer og flyktige aromakomponenter. Ved likt fettinnhold ble de laktosereduserte yoghurtene oppfattet som mer vassne og de hadde i større grad en besk smak enn prøver som ikke hadde fått sitt laktoseinnhold redusert. De laktosereduserte yoghurtene hadde også mindre grad av yoghurt smak og søthet.

Ved de mengder MMP som var tilsatt i denne oppgaven oppnådde en ikke tilsvarende reologiske egenskaper som 4 % fett i yoghurt gir.

Tilsatt sukrose hadde effekt på yoghurtkulturens metabolisme. Selv om det ikke ble registrert en nedgang i sukrose under syrning og lagring viste resultatene at ved 3 % tilsatt sukker var det mindre galaktose og mer laktose tilstede etter syrning og lagring, enn det var i tilsvarende prøver som ikke var tilsatt sukrose. Yoghurtene tilsatt 3 % sukrose syrnet raskere enn tilsvarende yoghurter uten sukrose, og pH falt mer under lagring.

Yoghurter produsert av diafiltrert og ultrafiltrert melk viste ikke like gode egenskaper som kontroll yoghurtene, og MMP var ikke en fullgod erstatte for fett. Begge disse områdene er nok derfor noe som må arbeides videre med for å kunne produsere en tilfredsstillende laktoseredusert og mager yoghurt ved hjelp av diafiltrering.

---

---

## 7. Referanseliste

- Abrahamsen, R. K. (1977). Inkubasjonstidens innvirkning på enkelte bakteriologiske og biokjemiske forhold i yoghurtkulturen. *Meieriposten (melding nr 208 fra Meieriinstituttet, Norges Landbrukskøleskole)* (208).
- Abrahamsen, R. K. (2010). *Personlig meddelelse*.
- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2006). *Food Microbiology, Second Edition*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Alvarez, F., Argüello, M., Cabero, M., Riera, F. A., Alvarez, R., Iglesias, J. R. & Granda, J. (1998). Fermentation of Concentrated Skim-Milk. Effects of Different Protein/Lactose Ratios Obtained by Ultrafiltration-Diafiltration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 76: 10-16.
- Amoroso, M. J., Manca de Nadra, M. C. & Oliver, G. (1989). The growth and sugar utilization by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* isolated from market yogurt. *Dairy Science and Technology*, 69: 519-528.
- Barnes, H. A., Hutton, J. F. & K., W. (1989). *An introduction to Rheology*. Rheology series, b. 3. Amsterdam: Elsevier Science.
- Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2004). *Food Chemistry, 3rd revised Edition*. Berlin: Springer-Verlag.
- Bernal, V. & Jelen, P. (1985). Thermal Stability of Whey Proteins - A Calorimetric Study. *Journal of Dairy Science*, 68: 2847-2852.
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. & Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 20: 180-186.
- Biliaderis, C. G., Khan, M. M. & Blank, G. (1992). Rheological and Sensory Properties of Yoghurt from Skim Milk and Ultrafiltered Retentates. *International Dairy Journal*, 2: 311-323.
- Bills, D. D., Yang, C. S., Morgan, M. E. & Bodyfelt, F. W. (1972). Effect of Sucrose on the Production of Acetaldehyde and Acids by Yoghurt Culture Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 55: 1570-1573.
- Bourne, M. C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement, Second Edition*. Food Science and Technology International Series. London: Academic Press.
- Bylund, G. (1995). *Dairy Processing Handbook*. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB.
- Chervaux, C., Ehrlich, S. D. & Maguin, E. (2000). Physiological Study of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Strains in a Novel Chemically Defined Medium. *Applied Environmental Microbiology*, 66 (12): 5306-5311.
- Damodaran, S. & Paraf, A. (1997). *Food Proteins and Their Applications*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Esbensen, K. H. (2002). *Multivariate Data Analysis in practice, An introduction to multivariate data analysis and experimental design, 5th edition*. Oslo: Camo.
- Fernandez-Garcia, E. & McGregor, J. U. (1994). Determination of Organic Acids During the Fermentation and Cold Storage of Yogurt. *Journal of Dairy Science*, 77: 2934-2939.
- Fox, P. F. & McSweeney, P. L. H. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Guinee, T. P., Pudja, P. D. & Farkye, N. Y. (1993). *Cheese: Chemistry, Physics, and microbiology: Major Cheese Groups, Volume 2*. London: Chapman & Hall.
- Hamdan, I. Y., Kunsman, J. E. & Deanne, D. D. (1971). Acetaldehyde Production by Combined Yogurt Cultures. *Journal of Dairy Science*, 54: 1080-1082.

## 6. Referanseliste

---

- Helgheim, M. (2005). *Mikropartikulært myseproteinpulver som ingrediens i mager yoghurt*. Mastergradsoppgave. Ås: Universitetet for Miljø- og biovitenskap, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap.
- Hols, P., Hancy, F. H., Fontaine, L., Grossiord, B., Ptozzi, D., Leblond-Bourget, N., Decaris, B., Bolotin, A., Delorme, C., Ehrlich, S. D., et al. (2005). New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29: 435-463
- Holt, C., De Kruif, C. G., Tuinier, R. & Timmins, P. A. (2003). Substructure of bovine casein micelles by small-angle X-ray and neutron scattering. *Colloids and Surfaces A: Physicochem.*, 213: 275-284.
- Horne, D. S. (2006). Casein micelle structure: Models and muddles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 11: 148-153.
- Ibarz, A. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). *Unit Operations in Food Engineering*. Boca Raton: CRC Press.
- Johansen, A.-G. (2010). *personlig meddelelse*.
- Jost, R. (1993). Functional characteristics of dairy proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 4: 283-288.
- Kandler, O. (1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49: 209-224.
- Knudsen, K. E. B. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 67: 319-338.
- Kosikowski, F. V. (1979). Low Lactose Yoghurts and Milk Beverages by Ultrafiltration. *Journal of Dairy Science*, 62: 41-46.
- Larson, B. L. & Hegarty, H. M. (1979). Orotic Acid in Milks of Various Species and Commercial Dairy Products. *Journal of Dairy Science*, 62: 1641-1644.
- Lees, G. J. & Jago, G. R. (1978). Role of Acetaldehyd in Metabolism: A Review. *Journal of Dairy Science*, 61: 1216-1224.
- Liu, S.-Q. (2003). Partial implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 83: 115-131.
- Lobato-Calleros, C., Martínez-Torrijos, O., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Orozco, J. P. & Vernon-Carter, E. J. (2004). Flow and creep compliance properties of reduced-fat yoghurts containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal*, 14: 777-782.
- Lothe, O. S. (2003). *Innvirkning av råstoff og prosesseringsmåter på akrylamiddannelse, og andre relevante parametre i potetchips*. Masteroppgave. Ås: Norges Landbrukshøgskole, Institutt for næringsmiddelfag.
- Lucey, J. A., Munro, P. A. & Singh, H. (1998). Rheological Properties and Microstructure of Acid Milk Gels as Affected by Fat Content and Heat Treatment. *Journal of Food Science*, 63 (4): 660-664.
- Marranzini, R. M., Schmidt, R. H., Shireman, R. B. & Cornell, J. A. (1989). Effect of Threonine and Glycine Concentrations of Threonine Aldolase Activity of Yoghurt Microorganisms During Growth in a Modified Milk Prepared by Ultrafiltration. *Journal of Dairy Science*, 72: 1142-1148.
- Mathews, C. K., van Holde, K. E. & Ahern, K. G. (2000). *Biochemistry, Third Edition*. San Francisco: Addison-Wesley Publishing Company.
- McMahon, D. J. & Oommen, B. S. (2008). Supramolecular Structure of the Casein Micelle. *Journal of Dairy Science*, 91: 1709-1721.
- Mezger, T. (1999). *A little course in rheology*. Stuttgart: Physica Messtechnik GmbH.

- Mo, C. R. (2004). *Utvikling av laktoseredusert probiotisk yoghurt*. Mastergradsoppgave. Ås: Norges Landbrukshøgskole, Institutt for kjemi, biovitenskap og matvitenskap.
- Mugula, J. K., Nnko, S. A. M., Narvhus, J. A. & Sørhaug, T. (2003). Microbiological fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 187-199.
- Narvhus, J. A., Østeraas, K., Mutukumira, T. & Abrahamsen, R. K. (1998). Production of fermented milk using a malty compound-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, isolated from Zimbabwean naturally fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 73-80.
- Okonkwo, O. & Kinsella, J. E. (1969). Orotic Acid in Yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 52: 1861-1862.
- Ott, A., Germond, J. E. & Chaintreau, A. (2000). Origin of Acetaldehyde during Milk Fermentation Using <sup>13</sup>C-labeled Precursors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1512-1517.
- Pinto, S. M., Das Gracas Clemente, M. & De Abreu, L. R. (2009). Behaviour of volatile compounds during the shelf life of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 62: 215-223.
- Poolman, B. (1993). Energy transduction in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12: 125-148.
- Poulsen, P. R. (1977). Feasibility of Ultrafiltration for Standardizing Protein in Milk. *Journal of Dairy Science*, 61: 807-814.
- Premaratne, R. J. & Cousin, M. A. (1991). Changes in the Chemical Composition During Ultrafiltration of Skim Milk. *Journal of Dairy Science*, 74: 788-795.
- Puspitasari, N. L., Lee, K. & Greger, J. L. (1991). Calcium Fortification of Cottage Cheese with Hydrocolloid Control of Bitter Flavor Defects. *Journal of Dairy Science*, 74: 1-7.
- Rao, M. A. & Steffe, J. F. (1992). *Viscoelastic Properties of Foods*. Elsevier Applied Food Science Series. Essex: Elsevier Science Publishers Ltd.
- Renner, E. & El-Salam, A. (1991). *Application of ultrafiltration in the dairy industry*. London: Elsevier Applied Science.
- Rosenberg. (1995). Current and future applications for membrane process in the dairy industry. *Trends in Food Science & Technology*, 6 (12-19).
- Rysstad, G. & Abrahamsen, R. K. (1987). Formation of volatile aroma compounds and carbon dioxide in yogurt starter grown in cows' and goats' milk. *Journal of Dairy Research*, 54: 257-266.
- Rysstad, G., Knutsen, W. J. & Abrahamsen, R. K. (1990). Effect of threonine and glycine on acetaldehyde formation in goats' milk yoghurt. *Journal of Dairy Research*, 57: 401-411.
- Salaün, F., Mietton, B. & Gaucheron, F. (2005). Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal*, 15: 95-109.
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. & Vernon-Carter, E. J. (2004). Microstructure and texture of yoghurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14: 151-159.
- Slocum, S. A., Jasinski, E. M., Anantheswaran, R. C. & A., K. (1987). Effect of Sucrose on Proteolysis in Yoghurt During Incubation and Storage. *Journal of Dairy Science*, 71: 589-595.
- Spiegel, T. (1999). Whey protein aggregation under shear conditions - effects of lactose and heating temperature on aggregate size and structure. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 523-531.

## 6. Referanseliste

---

- Steinsholt, K. & Abrahamsen, R. K. (1978). The Growth Conditions of the Starter in Yoghurt Ices as a Base for a Modified Manufacturing Process. *Scientific Reports of The Agricultural University of Norway*, 57 (47): 1-23 (ikke lest).
- Tamine, A. Y. & Robinson, R. K. (1999). *Yoghurt science and technology, second edition*. Boca Raton: Woodhead Publishing.
- Torres, I. C., Ipsen, R., Knudsen, J. C. & Østergaard, B. B. (2009). *Microparticulated Whey Protein as Fat Replacer in Yoghurt*. 5th International Symposium on Food Rheology.
- van den Bogaard, P. T. C., Hols, P., Kuipers, O. P., Kleerebezem, M. & de Mos, W. M. (2004). Sugar Utilisation and Conservation of the gal-lac Gene Cluster in *Streptococcus thermophilus*. *Systematic and Applied Microbiology*, 27: 10-17.
- Walstra, P. (1999). Casein sub-micelles: do they exist. *International Dairy Journal*, 9: 189-192.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology, Second edition*. Boca Raton: CRC Press.
- Wilkins, D. W., Schmidt, R. H., Shireman, R. B., Smith, K. L. & Jezeski, J. J. (1986). Evaluating Acetaldehyde Synthesis from L-[<sup>14</sup>C(U)] Threonine by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*, 69: 1219-1224.
- Zourari, A., Accolas, J. P. & M.J., D. (1991). Metabolism and biochemical characteristics of yoghurt bacteria. A review. *Dairy Science and Technology*, 72 (Lait): 1-34.



## 8. Oversikt over vedlegg

Vedlegg 1: Sensorisk profilerings skjema

Vedlegg 2: Datablad for skummetmelkpulver (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 3: Resultater fra forforsøk (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 4: Regneark diafiltrering (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 5: Resultater fett-, tørrstoff og proteininnhold (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 6: Resultater syringstid og pH (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 7: Resultater mikrobiologiske analyser (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 8: Resultater HPLC metode 1 (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 9: Resultater HPLC metode 2 (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 10: Resultater HSGC (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 11: Resultater viskositetsmålinger Physica (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 12: Resultater gelfasthetsmålinger Texture Analyzer (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 13: Resultater sensorisk analyse (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 14: Resultater statistiske analyser (finnes på vedlagt CD)

Vedlegg 15: Elektronisk utgave av masteroppgaven (finnes på vedlagt CD)

# Bedømmelse av yoghurt

Prøve nr: \_\_\_\_\_

Dato: \_\_\_\_\_

Dommer: \_\_\_\_\_

## Utseende

	Lite				Mye		
Fnokker	1	2	3	4	5	6	7
	Grynet/melen				Glatt		
Grynet/melen	1	2	3	4	5	6	7

## Konsistens

	Tynn				Tykk		
Viskositet (drypp av skje)	1	2	3	4	5	6	7
	Lite				Mye		
Kremethet (munnfølelse)	1	2	3	4	5	6	7
Vassenhet (munnfølelse)	1	2	3	4	5	6	7

## Lukt/smak

	Lite				Mye		
Yoghurtsmak	1	2	3	4	5	6	7
Søt smak	1	2	3	4	5	6	7
Sur smak	1	2	3	4	5	6	7
Bismak	1	2	3	4	5	6	7
Besk smak	1	2	3	4	5	6	7