

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne oppgaven ble skrevet i samarbeid med TINE Meieriet Brumunddal og gjennomført høsten 2011. Arbeidet med oppgaven ble utført ved institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap på Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Ås og ved TINE Meieriet Brumunddal.

Hovedveileder og tilleggsveileder for oppgaven var Roger K. Abrahamsen og Siv Borghild Skeie. Tusen takk til dere begge for god rådgivning og konstruktive tilbakemeldinger under planlegging og gjennomføring av oppgaven.

Takk til Ottar Olden, Brit Monica Pettersen og Olav Kulsvehagen som har vært kontaktpersoner fra TINE og har bidratt med kompetanse og innspill i løpet av høsten. En takk rettes også til Randi Helene Ljødal og resten av personalet ved driftslaboratoriet samt Finn Åge Østerhagen og gutta på tørka som har bidratt med utstyr, hjelp og støtte til det praktiske arbeidet i oppgaven.

Jeg vil også takke damene på laboratoriet på Ås for god hjelp. Spesielt rettes en takk til May Aalberg, Tone Molland og Kari Olsen som har vært til uvurderlig hjelp når avstanden mellom hedmarken og Ås til tider ble stor.

Til slutt vil jeg takke kjæreste, familie og venner for all støtte og tålmodighet det siste halvåret!

Veldre, desember 2011

Agnethe Gaalaas Snedrud

Sammendrag

I Norge produserer TINE Meieriet Brumunddal (TMB) ca. 70 tonn yoghurtpulver årlig som benyttes videre i næringsmiddelindustrien til ulike matvarer. Yoghurtpulveret produseres ved at skummetmelk konsentreres, syrnes med yoghurtkultur til pH 4,80 og deretter spraytørkes. I lengre tid har TMB hatt problemer med ustabil syrning av skummetmelkskonsentrat. Dette har igjen hatt effekt på kvaliteten til yoghurtpulveret som produseres fra konsentratet. I denne oppgaven er det undersøkt hvilken effekt tørrstoffinnholdet i skummetmelkskonsentratet har på syrningsaktiviteten til yoghurtkulturene som benyttes til yoghurtpulverproduksjon ved TMB. Det er også undersøkt hvilke effekter syrningen med de to kulturene har på innhold av kjemiske smakskomponenter og kvaliteten på pulveret.

Syrningsevnen til de to yoghurtkulturene F-DVS YC-471 Yo-Flex[®] (YC-471) og F-DVS YC-183 Yo-Flex[®] (YC-183) fra Chr. Hansen ble undersøkt i skummetmelkskonsentrat fra TMB. Det ble gjennomført syrningsforsøk hvor det ble tillaget konsentratprøver med tørrstoffinnhold på 20 %, 22,5 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 32,5 % og 35 %. Disse prøvene ble inokulert med 0,02 % syrekultur som er anbefalt mengde fra syrekulturprodusenten. I tillegg ble tre ekstra prøver med tørrstoffinnhold på henholdsvis 24 %, 26 % og 28 % inokulert med 0,005 % syrekultur som tilsvarer mengden som benyttes ved TMB. Prøvene ble inkubert ved 43 °C til pH 4,80. Gjennom syrningsforløpet ble det målt pH hver halve time i 9 timer og det ble tatt ut prøver til mikrobiologiske analyser hver hele time i 6 timer. De ferdig syrnede prøvene ble analysert ved hjelp av HPLC og HSGC for å bestemme innhold av laktose, melkesyre, acetaldehyd, etanol, aceton, diacetyl og acetoin. En har også fulgt syrningsforløpet i 10 produksjoner ved TMB og analysert pH, tetthet, tørrstoff, utseende, lukt og smak, brente partikler, fettinnhold, vekst av uønskede bakterier og kjemisk innhold i ferdig yoghurtpulver.

Tørrstoffnivået i skummetmelkskonsentratet påvirket syrekulturenes evne til å syrne konsentratet. Jo høyere tørrstoffnivået var, desto tregere gikk syrningen. YC-183 inneholder en stamme av *Lactobacillus (Lb.) delbrueckii* subsp. *bulgaricus* som synes å være svært sensitiv overfor osmotisk trykk og var ikke i stand til å vokse i prøver av skummetmelkskonsentrat med tørrstoffinnhold fra 20 % til 35 %. YC-471 inneholder en stamme av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* som vokste i skummetmelkskonsentrat med 20 % og 22,5 % tørrstoffinnhold til henholdsvis 6,65 log kde/ml og 6,11 log kde/ml etter 6 timers syrning. YC-183 inneholder en stamme av *Streptococcus (S.) thermophilus* som viste evne til å vokse i skummetmelkskonsentrat med 35 % tørrstoff. YC-471 inneholder en stamme av *S. thermophilus* som viste seg å bli kraftig inhibert i skummetmelkskonsentrat med 32,5 % tørrstoff og som ikke vokste når tørrstoffinnholdet økte til 35 %. Syrningen gikk raskere i prøvene med 0,02 % podemengde enn i prøvene med samme tørrstoffinnhold, men 0,005 % podemengde. Syrningen av konsentratet viste seg å ha effekt på innhold av melkesyre og acetaldehyd, utseende, lukt og smak samt brente partikler i ferdig pulver.

Abstract

In Norway, yoghurt powder is produced by TINE Meieriet Brumunddal (TMB). They produce about 70 tons powder per year, which is used as an ingredient for different products in the food industry. The yoghurt powder is produced by concentrating skim milk that is then inoculated with a yoghurt culture that ferments the concentrate to pH 4,80. The fermented concentrate is then spray dried. For a longer period, TMB has had problems with unstable fermenting process which has affected the quality of the yoghurt powder. In this study, the effect of dry matter in skim milk concentrate on the fermenting ability of two yoghurt cultures is examined. The effect that the different yoghurt cultures may have on the content of flavor compounds and the quality of the yoghurt powder was also examined.

The fermenting ability of the yoghurt cultures F-DVS YC-471 Yo-Flex[®] (YC-471) and F-DVS YC-183 Yo-Flex[®] (YC-183) produced by Chr. Hansen was investigated in skim milk concentrate from TMB. In the experiments, it was prepared samples with a dry matter content of 20 %, 22,5 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 32,5 % and 35 %. The samples were inoculated with 0,02 % yoghurt culture, which is recommended by Chr. Hansen. In addition, three samples with respectively 24 %, 26 % and 28 % dry matter content was inoculated with 0,005 % yoghurt culture which is equal to the amount used in the yoghurt powder production in TMB. The samples were incubated at 43 °C until pH 4,80 was achieved. Through the fermentation experiment, the pH was measured every half hour for 9 hours and samples for microbiological analysis were taken out every hour for 6 hours. The fermented samples were analyzed by HPLC and HSGC to determine the contents of lactose, lactic acid, acetaldehyde, ethanol, acetone, diacetyl and acetoin. This study also examined the fermenting process of 10 yoghurt powder productions at TMB. The final yoghurt powders of the productions were analyzed to determine pH, density, dry matter, appearance, scent and flavor, scorched particles, fat content, growth of spoilage bacteria and chemical aroma components.

The content of dry matter in the skim milk concentrate affected the fermenting ability of the yoghurt culture. The fermentation decreased when the content of dry matter increased. YC-183 contains a strain of *Lactobacillus (Lb.) delbrueckii* subsp. *bulgaricus* that appeared to be sensitive towards osmotic pressure and was not capable of growing in skim milk concentrate with a content of dry matter above 20 %. The strain of *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in YC-471 grew in skim milk concentrate with 20 % and 22,5 % dry matter. During 6 hours the number of lactobacilli grew to a number of 6,65 log kde/ml (in 20 % dry matter) and 6,11 log kde/ml (in 22,5 % dry matter). The strain of *Streptococcus (S.) thermophilus* in YC-471 was utterly inhibited when the content of dry matter exceeded 32,5 % and showed no growth in the sample containing 35 % dry matter. On the other hand, YC-183 contains a strain of *S. thermophilus* that grew in all the samples, including the one containing 35 % dry matter. The samples inoculated with 0,02 % yoghurt culture fermented more rapidly than the samples inoculated with 0,005 % yoghurt culture. The fermentation process seemed to affect lactic acid and acetaldehyde, scent and flavor, appearance and scorched particles in yoghurt powder.

Innholdsfortegnelse

Forord	i
Sammendrag	ii
Abstract	iii
1. Innledning.....	1
2. Litteratur.....	2
2.1. Yoghurt.....	2
2.1.1. Produksjon av yoghurt.....	2
2.2. Yoghurtkultur	5
2.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	5
2.2.2. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgarius</i>	6
2.2.3. Kooperasjon.....	7
2.2.4. Aromadannelse	8
2.3. Pulverteknologi	10
2.3.1. Historie	10
2.3.2. Vakuuminndamping	10
2.3.3. Tørking	12
2.3.4. Agglomerering.....	17
2.4. Yoghurtpulver	20
2.5. Yoghurtpulverproduksjon ved TINE Meieriet Brumunddal	23
3. Materialer og metoder	26
3.1. Syrning	26
3.1.1. Råvarer	26
3.1.2. Forsøksoppsett.....	27
3.2. pH.....	29
3.3. Mikrobiologiske analyser	29
3.3.1. Selektivt medium for <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	29
3.3.2. Selektivt medium for <i>S. thermophilus</i>	29
3.4. Kjemiske analyser	30
3.4.1. High Pressure Liquid Chromatography	30
3.4.2. Head Space Gas Chromatography	31
3.5. Yoghurtpulverproduksjon.....	32
3.6. Analyser av yoghurtpulver	34
3.6.1. Lukt og smak	34
3.6.2. Utseende	34

3.6.3.	Bulktetthet	34
3.6.4.	Brente partikler.....	34
3.6.5.	pH.....	34
3.6.6.	Tørrstoff.....	34
3.6.7.	Fett.....	35
3.6.8.	Salmonellaanalyse	35
3.6.9.	Mikrobiologiske analyser	35
4.	Resultater.....	36
4.1.	Syrning	36
4.2.	Kjemiske analyser	46
4.3.	Analyser av yoghurtpulver	50
5.	Diskusjon.....	54
6.	Konklusjoner	62
7.	Litteraturliste	63
	Vedlegg	67
	Vedlegg 1: Beregning av konsentratprøver til syrningsforsøk.....	67

1. Innledning

Yoghurt er et velkjent fermentert melkeprodukt i markedet som har en karakteristisk smak og syrlighet. Ved å tørke yoghurt får en yoghurtpulver som benyttes blant annet i brød og bakervarer, supper og sauser, sjokolade, kjøtt- og fiskefarses og tørrblandinger. Årlig produseres det ca 70 tonn yoghurtpulver ved TINE Meieriet Brumunddal (TMB) som selges videre til små og store næringsmiddelbedrifter. Produksjonen ved TMB tar utgangspunkt i skummetmelk som konsentreres opp, syrnes med en yoghurtkultur bestående av *Streptococcus (S.) thermophilus* og *Lactobacillus (Lb.) delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, og deretter spraytørkes.

De tre viktigste egenskapene ved yoghurtpulver er syrligheten som følge av melkesyreproduksjon og lavere pH-verdi, yoghurtsmaken som følge av acetaldehydnivå i pulveret samt innhold av levende bakterier fra yoghurtkulturen som gjør at produktet kan bære merkenavnet ”Yoghurt”. Gjennom tørkeprosessen utsettes det syrnede konsentratet for høye temperaturer og høyt trykk. Dette vil føre til at en del av aromastoffene som er dannet fordamper vekk og antall levende yoghurtbakterier minker (Balkir et al. 2011; Kumar & Mishra 2004). Det er derfor viktig å gjøre bevisste valg av prosessparametere og utstyr som benyttes for å minimere dette tapet.

I produksjon ved TMB har en i lengre tid opplevd ustabil syrning av skummetmelkskonsentratet som skal bli yoghurtpulver. Det har vært satt i gang flere tiltak ved anlegget for å løse problemet, men ustabiliteten har vedvart. Denne oppgaven er skrevet i samarbeid med TMB hvor hensikten var å undersøke faktorer som kunne påvirke syrningen av skummetmelkskonsentrat. Det ble utført syrningsforsøk som testet syrningspotensialet hos to ulike syrekulturer i skummetmelkskonsentrat med ulikt tørrstoff. I tillegg er det analysert syrnet skummetmelkskonsentrat samt ferdig yoghurtpulver for å skaffe kunnskap om kjemisk sammensetning av yoghurten før og etter spraytørking.

2. Litteratur

2.1. Yoghurt

Yoghurt kommer opprinnelig fra nomadene i Midt-Østen og Asia hvor en har laget fermenterte surmelksprodukter så lenge mennesket har nyttiggjort seg melk fra geit, sau og ku. Selve navnet ”Yoghurt” stammer fra det tyrkiske ordet ”jugurt”. Troen på at yoghurt har en gunstig effekt på menneskets helse har røtter så langt som tilbake til persiske tradisjoner hvor det sies at Abraham kunne takke yoghurten for sin produktivitet og lange levetid. I nyere historie lever ryktene om at keiser Francis I av Frankrike ble kureret fra en svekkende sykdom ved å konsumere yoghurt laget av geitemelk. I Midt-Østen levde nomadene i et subtropisk klima hvor temperaturen kunne komme opp til 40 °C. I et slikt klima vil melken bli sur og koagulere innen kort tid etter melking da nomadene levde under primitive kår og ikke hadde mulighet for kjøling. En vanlig metode for å ta vare på melka var ”backslopping” hvor en tilsatte allerede fermentert melk til krukkene og belgene som inneholdt fersk melk. Sjansen for kontaminering av mikroorganismer fra luft, dyr, mennesker og miljøet var stor (Tamime & Robinson 2007).

Siden begynnelsen av 1900-tallet ble det etablert en viss struktur for hvordan storskala produksjon av yoghurt skulle foregå og hvilke mikroorganismer som skulle benyttes (Tamime & Robinson 2007). Yoghurtens popularitet i den vestlige verden tok seg opp først når yoghurt med høyere sukkerinnhold som var tilsatt frukt og bær kom på markedet på 1950-tallet (Tamime 2006).

2.1.1. Produksjon av yoghurt

I den vestlige verden brukes det i hovedsak kumelk som råvare for yoghurtproduksjon. Det forutsettes at melka er mikrobiologisk trygg og fri for antibiotika, vaskemidler og bakteriofager. For å opprettholde et ensartet produkt er det vanlig å standardisere melkas fett- og proteininnhold (Tamime 2006).

Yoghurt er et spesielt fermentert konsummelksprodukt da melka tørrstoffanrikes for å oppnå ønsket konsistens. Lovverkene for hvor mye melka må tørrstoffanrikes varierer fra land til land, etter norsk lov må det tilsettes minst 2,5 % tørrstoff. Det er vanligst å tørrstoffanrike med skummetmelkspulver, men en kan også tilsette kjernemelkspulver, mysepulver, kaseinpulver eller mysepulverkonsentrater. Andre metoder for å øke tørrstoffinnholdet i melka er blant annet ved vakuuminndamping eller membranfiltrering som ultrafiltrering og omvendt osmose (Tamime & Robinson 2007).

I noen land er det også akseptert å sette andre stoffer til yoghurten for å øke blant annet munnfølelse, smak, holdbarhet og forbedre utseende på produktet. En kan i slike tilfeller tilsette stabilisatorer, smaksstoffer, søtningsmidler, konserveringsmidler og fargestoffer (Tamime & Robinson 2007).

Etter at melka er standardisert og tilsatt eventuelle tilsetningsstoffer homogeniseres melka. Homogeniseringa reduserer størrelsen på fettkulene i melka slik at en minimerer risikoen for fettoppfløting i ferdig yoghurt. Dersom melka ikke homogeniseres kan fett gi forstyrrelser i geldannelsen fordi det vil flyte opp til overflaten og bryte proteinnettverket på vei opp. Dette vil gi hulrom der myse vil samle seg og etter hvert flyte opp til overflaten når myselommen blir stor nok. Yoghurten vil i dette tilfellet ha både et gult fettlag og et myselag på overflaten som er svært udelikat og ikke ønsket i produktet. Homogenisering vil også føre til bedre konsistens og økt viskositet. Ved homogenisering vil fettkulene i melka knuses og en får en økning i fettkuleoverflatearealet og kasein vil inkorporeres i den nye pseudomembranen som dannes omkring fettkulene. Rene fettkuler binder seg ikke så godt til proteinnettverket, men kaseindelen i pseudomembranene vil integrere fettkulene i kaseingelen som dannes og dermed øke antall byggeklosser i gelnettverket. Dette gir en sterkere gel som vil binde mer vann og redusere tendensen til synerese. Det er vanlig å bruke et homogeniseringstrykk på omkring 200 bar i yoghurtproduksjon med melk som holder en temperatur på ca 70 °C. Dette endrer diameter på fettkulene fra 1 – 10 µm og ned til <2µm. Dersom trykket økes vil en få økt gelfasthet da det dannes flere fettkuler av mindre fettkulemembranmateriale og dermed vil mer kasein inkorporeres i pseudomembranen. Men homogenisering gjør melka mer utsatt for lipolyse og det er derfor viktig å varmebehandle melka så fort som mulig for å hindre enzymatisk harskning (Tamime 2006; Tamime & Robinson 2007).

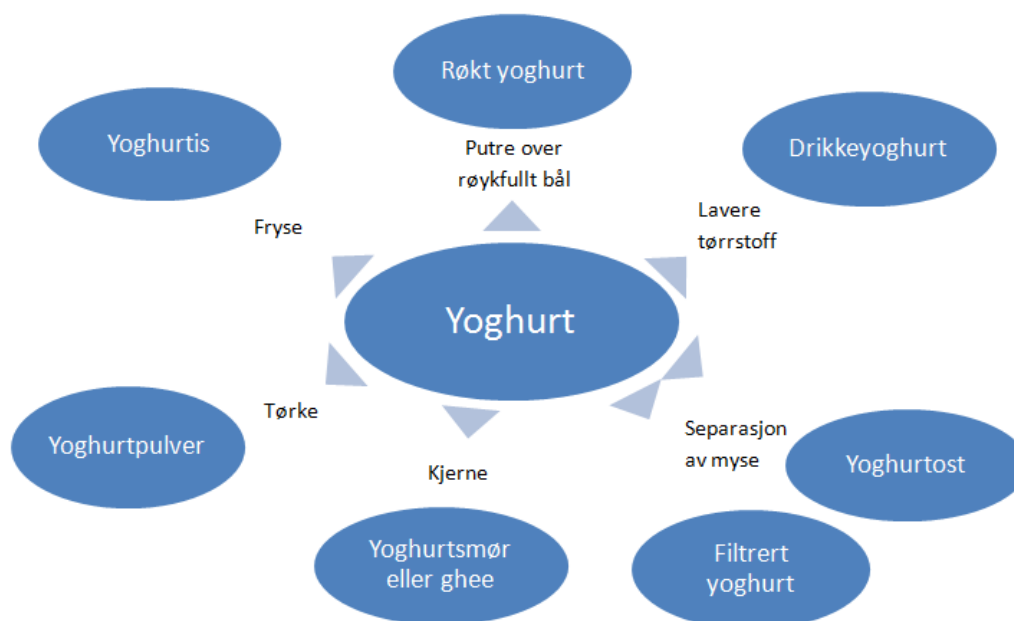
Varmebehandling av melka har som mål å eliminere patogene og uønskede mikroorganismer og endre fysiske og kjemiske egenskaper hos melkekomponentene. Ved kommersiell produksjon er det vanlig med en varmebehandling ved 90 – 95 °C i 5 – 10 minutter. En slik temperatur er tilstrekkelig for å drepe de fleste vegetative celler, men sporedannere og noen varmestabile enzymer vil fortsatt være tilstede. Dette reduserer den mikrobielle konkurransen og sørger for gode vekstvilkår for yoghurtkulturen som tilsettes senere i prosessen. Den høye varmebehandlingen gjør at over 80 % av myseproteinene (i hovedsak β-lactoglobulin og α-laktalbumin) vil denatureres og binde seg til κ-kaseinet via disulfidbindinger. Dette danner tynne proteinfilamenter som stikker ut fra micelleoverflaten og gir micellene en større hydrodynamisk radius. Denatureringen øker proteinmengden i gelen med omkring 25 %, som gir økt antall bindinger mellom proteinpartikler. Dette gir en tykkere konsistens og økt viskositet, sterkere gel og økt vannbindingsevne som reduserer syneresen. Det oppnås også en glattere og bedre munnfølelse (Tamime 2006; Tamime & Robinson 2007).

Etter varmebehandlingen kjøles melka ned til 42 – 43 °C og inokuleres med yoghurtkultur som består av *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Yoghurtkulturen omtales nærmere i avsnitt 2.2. En av hovedfunksjonene til en syrekultur som brukes i fermenterte melkeprodukter er å omdanne laktose til melkesyre som senker pH og danner syregel. En syrefelt kaseingel er en partikulær nettverksgel med overlappende tråder som er bundet sammen med ulike typer bindinger. Gelering

forekommer når de aggregerende kreftene sakte blir større enn de frastøtende kreftene mellom proteinpartiklene. Hastigheten til geldannelsen er blant annet avhengig av inkubasjonstemperaturen (20 – 45 °C). Ved høy temperatur vil en få en rask geldannelse som gir et grovt proteinnettverk. Dette resulterer i en svakere gel som er mer utsatt for spontan synerese. Dersom geldanningen skjer alt for raskt vil en få en utfelling i stedet for geldannelse. Dersom geldannelsen skjer langsomt vil en få et økt antall kontaktpunkt mellom proteinpartiklene og dermed et finere og tettere gelnettverk (Tamime 2006; Tamime & Robinson 2007).

Ved produksjon av set-yoghurt (fast yoghurt) tappes yoghurten rett etter inokulering, fermenteres i emballasjen og kjøles ned i kjøletunnel. Rørt yoghurt fermenteres på tank til ønsket pH (omkring 4,4) og røres deretter opp samtidig som den kjøles ned til ca. 20 °C med kaldt vann sirkulerende rundt tanken og inne i rørverket eller gjennom en platevarmeveksler. For et variert produktspekter kan en tilsette frukt, bær, andre smakskomponenter, sukker eller farge til den ferdigsyrnede yoghurten før emballering (Tamime 2006).

Med yoghurt som utgangspunkt kan en ved hjelp av ulike prosesser lage nye produkter som vises i figur 1. Et av produktene er yoghurtpulver som en vil gå nærmere inn på i avsnitt 2.4.



Figur 1 – Veier til ulike produkter med yoghurt som utgangspunkt. Oversatt til norsk fra Tamime & Robinson (2007).

2.2. Yoghurtkultur

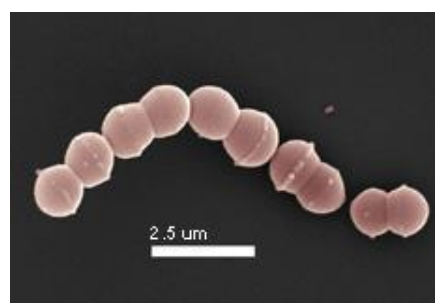
For at et produkt skal kunne bære merkenavnet ”Yoghurt” må produktet inneholde rikelig med levedyktige bakterier fra artene i den termofile yoghurtkulturen: *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Kumar & Mishra 2004). Kulturen tilsettes enten som flytende brukssyre som lages på meieriet eller direkte til melka i form av frysetørket eller frossen kultur. De fleste melkesyrebakterier bevares godt gjennom tillaging av syrekulturer, men *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er kjent som er sensitiv til frysing og tørking. En tilsetter en mengde syrekultur som tilsvarer ca. 10^7 celler per gram melk ved begynnelsen av fermenteringen (Hutkins 2006). En kan kjøpe yoghurtkulturer som er sammensatt av forskjellige bakteriestammer og dermed produsere yoghurter med ulike egenskaper og smaksprofiler. I hovedsak kategoriseres yoghurtkulturene etter viskositet og smaksintensitet på yoghurten. I følge TINE Meierienes årsrapport (2010) har det generelle yoghurtssalget i Norge vært økende i flere år på rad og mye tyder på at det vil fortsette. (Hutkins 2006; Robinson 2002; TINE SA 2010).

I tillegg til at det er en sunnhetstrend blant forbrukerne som ikke ønsker E-stoffer tilsatt til produktene er det også strengt reglement for hva slags stabilisatorer en kan tilsette yoghurt. Dette har ført til økt fokus på bakteriestammer som kan produsere eksopolysakkarider (EPS). Yoghurtbakterier med denne egenskapen vil danne polysakkaridkjeder bestående av i hovedsak galaktose, glukose og rhamnose som delvis skilles ut av cellen og danner et hårete trådlignende lag. Dette fungerer som en naturlig fortykningsagent og kan gi en ”slimete” konsistens og svært trådtrekkende produkt. Dersom et produkt inneholder en bakteriestamme som produserer EPS, vil dette føre til høyere viskositet og mindre myseutskillelse i produktet sammenlignet med produkter uten EPS til stede (Tamime & Robinson 2007).

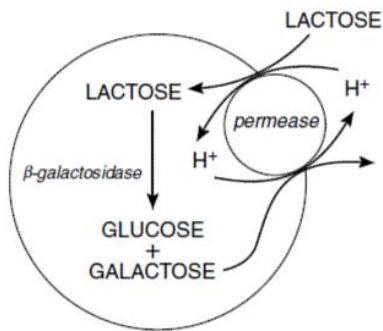
Den essensielle egenskapen ved en god syrekultur er at den bør produsere ønsket mengde melkesyre innen en gitt tid (Robinson 2002). Laktose i melka er hovedenergikilden til yoghurtbakteriene (Tamime & Robinson 2007) og i tillegg til å produsere melkesyre vil også yoghurtbakteriene i sin metabolisme danne aroma- og smaksstoffer. Den viktigste smakskomponenten i yoghurt er acetaldehyd som vil bli diskutert nærmere i avsnitt 2.2.4.

2.2.1. *Streptococcus thermophilus*

Klassifiseringen av *S. thermophilus* ble beskrevet av Orla-Jensen i 1931, men på grunn av sin likhet til *Streptococcus salivarius* ble den på 80-tallet betegnet som en underart av sistnevnte organisme. Først på begynnelsen av 90-tallet ble de genetiske forskjellene lagt frem og *S. thermophilus* betegnet som en egen art igjen. *S. thermophilus* brukes i hovedsak i kombinasjon med andre syrekulturer for tillaging av ost,



Figur 2 – *Streptococcus thermophilus*. (DOE Joint Genome Institute 2002)

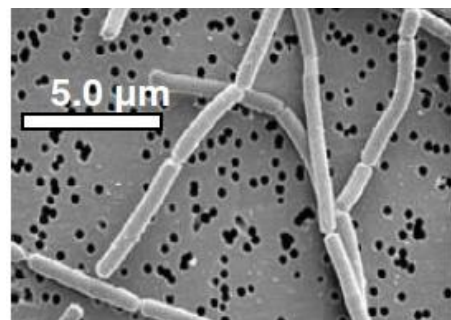


Figur 3 – Transport av laktose og galaktose gjennom cellemembran. (Walstra et al. 2006)

yoghurt og probiotiske fermenterte melkeprodukter. *S. thermophilus* er Gram-positiv og forekommer som kokker med en rund eller oval form som har en diameter på ca. 0,7 - 1 μm . De danner kjeder på inntil 10 til 20 celler eller forekommer parvis som vist i figur 2. *S. thermophilus* kan ikke vokse ved 15 $^{\circ}\text{C}$, men de fleste stammer kan vokse mellom 40 $^{\circ}\text{C}$ og 50 $^{\circ}\text{C}$. For optimale vekstforhold bør temperaturen ligge omkring 37 $^{\circ}\text{C}$ og det bør være B-vitamin og visse aminosyrer tilgjengelig for bakterien. *S. thermophilus* er homofermentativ og omdanner laktose til L(+)-melkesyre. Laktose transporteres gjennom cellemembranen ved hjelp av permease og inne i cellen vil enzymet β -galactosidase hydrolysere laktose til glukose og galaktose. For hvert laktosemolekyl som fraktes inn i cellen, fraktes et galaktosemolekyl ut som vist i figur 3. Dette fordi *S. thermophilus* ikke kan nyttiggjøre seg videre av galaktose med unntak av til noe EPS-produksjon. Glukosen derimot vil metaboliseres videre til pyruvat via Embden-Meyerhof-Parnas Pathway og deretter vil melkesyre dehydrogenase omdanne pyruvat til melkesyre. *S. thermophilus* har evne til å produsere ca. 10 g. melkesyre per kg. yoghurt som tilsvarer en pH omkring 4,3 – 4,5. Ved dette syrenivået vil videre vekst og metabolisme inhiberes. Noen stammer av bakteriearten er EPS produserende, i hovedsak dannes da kjeder med repeterende tetrasakkarider, men også hekso- og heptasakkarider (De Vos et al. 2009; Hutkins 2006; Robinson 2002; Tamime & Robinson 2007).

2.2.2. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

I 1905 gikk Metchnikoff ut med en teori om at man kunne leve lenger av å innta yoghurt som inneholdt en melkesyrebakterie ved navn *Bulgarian bacillus*. Denne bakterien ble klassifisert av Orla-Jensen i 1931 som *Thermobacterium bulgaricum*, senere omdøpt til *Lactobacillus bulgaricus*. Dette er noe av historien bak yoghurtbakterien som i dag klassifiseres som *Lactobacillus*



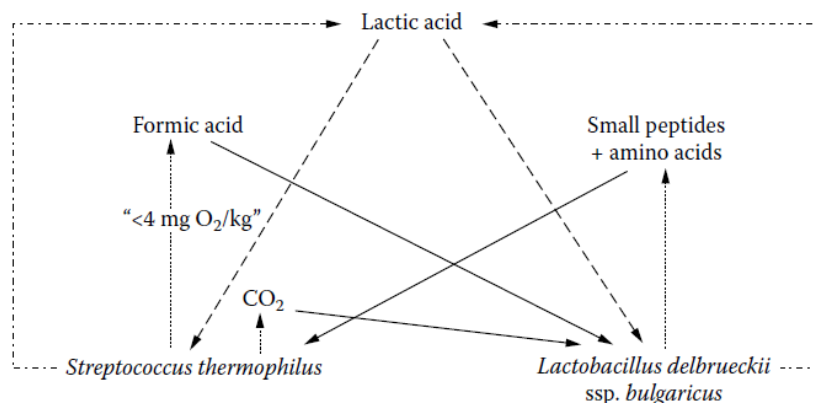
Figur 4 – *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. (Hutkins 2006)

delbrueckii subsp. *bulgaricus*. Sammen med *Lactobacillus helveticus* er den en av de to vanligste artene av laktobasiller som brukes i meieriindustrien, i hovedsak til ost og yoghurt. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er en Gram-positiv bakterie som forekommer i melk som korte staver med avrundede ender som vist i figur 4. Stavene forekommer i kjeder på tre-fire stykker og har en størrelse på 5,0 – 0,8 \times 2,0 - 9,0 μm . *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er i likhet med *S. thermophilus* homofermentativ, men produserer D(-)-melkesyre som er vanskeligere å metabolisere i menneskets tarm sammenlignet med isomeren L(+)-melkesyre. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kan produsere

opp mot 18 g. melkesyre per kg. yoghurt. Optimal veksttemperatur for *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er 45 °C, men den kan vokse i temperaturer omkring 50 -55 °C. Det er påvist lite vekst ved temperaturer lavere enn 10 °C. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er fakultativt anaerob som medfører at veksten inhiberes i aerobt miljø. Typisk for EPS-produserende stammer av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er at det dannes heptasakkarider satt sammen av glukose, rhamnose og en stor andel galaktose (De Vos et al. 2009; Hutkins 2006; Robinson 2002; Tamime & Robinson 2007).

2.2.3. Kooperasjon

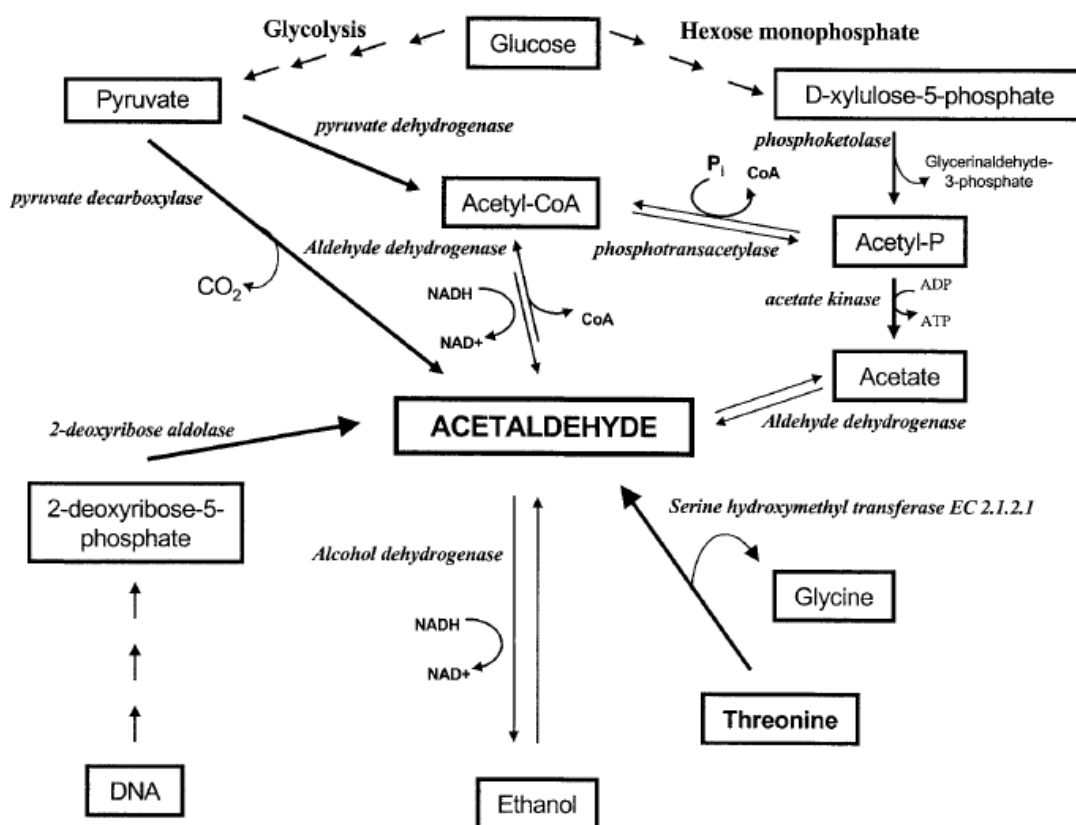
De to bakterieartene *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* vokser bedre i melk dersom begge stammene er til stede enn om de vokser hver for seg. Fermentering av melk til yoghurt kan skje i løpet av 3 – 4 timer dersom begge stammer er til stede, men det kan ta en enkelt stamme opptil 12 – 16 timer å produsere samme syrenivå. De har et gjensidig samspill i sin metabolisme som kommer begge bakterier til gode. Dette samspillet er skissert i figur 5. Det er gjort mange studier på yoghurtbakterienes kooperasjon og det viser seg at det er streptokokkene som vokser opp først. Det ser ikke ut til at laktobasillene vokser frem før streptokokkene har produsert noe melksyre og senket pH i melka. Melk er et gunstig og proteinrikt miljø for mikrobiell vekst, men det er for små mengder av frie aminosyrer som glutaminsyre, histidin, cystein, methionin, valin og leucin til at streptokokkene skal kunne vokse til det celletall som er nødvendig for å fullføre en yoghurtfermentering. *S. thermophilus* har svake proteolytiske egenskaper og mangler evnen til å hydrolysere kasein, men nyttiggjør seg innledningsvis av de frie aminosyrene som finnes i melka. Etter dette nytter den godt av at *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* produserer en proteinase som gjør kortkjedede peptider og aminosyrer tilgjengelig. *S. thermophilus* vil i sin metabolisme produsere maursyre under anaerobe forhold samt små mengder CO₂ som stimulerer vekst av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Sistnevnte er den av de to yoghurtbakteriene som står for den ekstensive syreproduksjonen. Når pH synker mot 5,0 blir miljøet for surt for streptokokkene og videre vekst inhiberes. Laktobasillene gror svært godt ved 42 – 45 °C, så et virkemiddel dersom en ønsker å dempe syreproduksjonen kan være å inkubere ved 37 °C eller bytte til en bakteriestamme som produserer mindre melkesyre (Hutkins 2006; Robinson 2002; Walstra et al. 2006).



Figur 5 – Kooperasjon mellom *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Walstra et al. 2006)

2.2.4. Aromadannelse

Den karakteristiske yoghurtsmaken kommer av melkesyre som gir en syrlig og frisk smak, samt fra aromatiske komponenter som acetoin, etanol, aceton, diacetyl og acetaldehyd som dannes i yoghurtbakterienes metabolisme. Både *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* er homofermentative som betyr at begge i hovedsak produserer melkesyre som endeprodukt i sin sukkermetabolisme. De fleste yoghurttyper som er kommersielt produsert inneholder mellom 0,8 og 1,0 % melkesyre som gir den ønskede syrligheten i produktet. Den viktigste smakskomponenten i yoghurt er acetaldehyd som, til tross for at den forekommer i relativt små mengder (normalt mindre enn 25 ppm), gir yoghurten dens karakteristiske smak. Et merkbart innhold av acetaldehyd i andre fermenterte konsummelksprodukter vil karakteriseres som ”grønn” smak eller som yoghurtmak. Både *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* danner acetaldehyd, men mengden som blir produsert kan blant annet reguleres med hvilke bakteriestamme man velger i yoghurtkulturen da ulike bakteriestammer produserer ulike mengder. Acetaldehyd hoper seg opp i produkter der syrekulturen ikke innehar enzymet alkohol dehydrogenase som omdanner acetaldehyd videre til etanol. Figur 6 viser flere metabolske veier for dannelse av acetaldehyde; fra glukose, fra DNA-komponenter eller fra aminosyren treonin. I glykolysen omdannes glukose til pyruvat som igjen kan omdannes til acetaldehyd på to måter. Den ene måten er ved direkte dekarboksylering av pyruvat med acetaldehyde som endeprodukt. Den andre måten er at pyruvat omdannes til acetyl CoA ved pyruvat dehydrogenase som deretter kan oksideres til acetaldehyd ved hjelp av aldehyd dekarboksylase. Glukose kan også



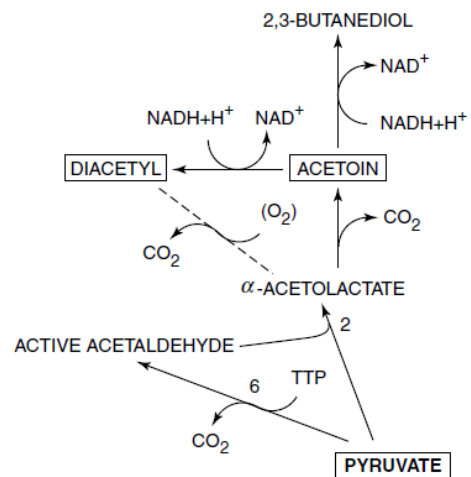
Figur 6 – Dannelse av acetaldehyde. (Chaves et al. 2002)

omdannes til acetylfosfat via Hexose-monophosphate veien (HMP). Acetylfosfat kan også dannes fra acetyl-CoA med hjelp av enzymet fosfotransacetylase. Acetylfosfat omdannes via acetat til acetaldehyd. Dannelse av acetaldehyd fra DNA-komponenter skjer ved at enzymet deoxyriboaldolase omdanner 2-deoxyribose-5-fosfat til acetaldehyd i stedet for at det syntetiseres DNA. Den siste måten en kan danne acetaldehyd er fra aminosyren threonin. Denne reaksjonen katalyseres av enzymet serine hydroxymethyl transferase (threonin aldolase) og det dannes glycin og acetaldehyd. (Chaves et al. 2002; Hutkins 2006; Ozer & Atasoy 2002; Tamime & Robinson 2007)

Det strides om hvilke av bakteriestammene som står for mesteparten av acetaldehydproduksjonen. Noen artikkelforfattere rapporterer at *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* produserer mer acetaldehyd enn *S. thermophilus*, mens andre rapporterer det motsatte (Chaves et al. 2002). Det er heller ikke enighet om det er den ene eller andre metabolske veien som er viktigst for acetaldehydproduksjonen. For eksempel skriver Beshkova et al. (1998) at en forsker har funnet at kun *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kan omdanne aminosyren treonin, mens andre har funnet dette hos begge yoghurtbakteriene (Tamime & Robinson 2007). Det er også vist at enzymaktiviteten til streptokokkene minker når veksttemperaturen øker fra 30 – 37 °C eller fra 30 – 42 °C, mens den forblir konstant hos laktobasillene. Siden yoghurtfermentering normalt foregår ved 43 °C vil en da kunne anta at laktobasillene i hovedsak står for acetaldehydproduksjonen fra treonin (Tamime & Robinson 2007).

S. thermophilus og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kan ikke metabolisere sitrat, derfor må all diacetyl og acetoin som dannes i yoghurt komme fra sukkermetabolismen

(Walstra et al. 2006). Pyruvat kan syntetiseres til α -acetolaktat som videre kan oksideres og dekarboksyleres til diacetyl og dekarboksyleres acetoin som vist i figur 7. Selv om diacetyl og acetoin ikke forekommer i store mengder i yoghurt bidrar de til den samlede smaksprofilen. Urbach (1995) rapporterer om varierende evne til å produsere diacetyl fra syrekultur til syrekultur. Noen kan produsere høye nivåer mellom 1,5 – 9,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, mens andre produserer svært lave mengder (< 0,20 $\mu\text{g mL}^{-1}$). *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nevnes som en av de bakterier som kan produsere høye nivåer diacetyl. Det er usikkerhet omkring hvor stor innvirkning acetoin og etanol har på yoghurtsmaken, mens noen forskere påstår at de er mindre viktige, påstår andre at de er nødvendig for et komplett smaksbilde. Aceton finnes opprinnelig i små mengder i melk, men yoghurtbakteriene produserer også noe. I yoghurt finner en som oftest mellom 0,3 og 4,0 ppm acetoin. Etanol metaboliseres fra glukose eller aminosyrer og det er vanlig å finne mellom 0,2 og 9,9 ppm etanol i yoghurt produsert på kumelk (Cheng 2010).



Figur 7 – Omdanning av pyruvat til diacetyl og acetoin. (Walstra et al. 2006)

2.3. Pulverteknologi

I denne delen er det tatt utgangspunkt i skummetmelk som råvare og prosessstrinnene som benyttes for å oppnå skummetmelkspulver.

2.3.1. Historie

Inndamping av melk har vært kjent i mange år og er beskrevet i litteratur så tidlig som på 1200-tallet da Marco Polo opplevde et pastalignende melkeprodukt i Mongolia. Den første typen inndamping skjedde i åpne panner som ble varmet opp fra undersiden. En slik type inndamping vil ta lang tid ettersom fordampningen må skje fra overflaten. I løpet av denne tiden vil den kraftige varmebehandlingen kunne føre til flere fysiske og kjemiske endringer i melka. Siden den gang har det vært en enorm utvikling innenfor prosessutstyr og bruksområder for konsentrerte og tørkede melkeprodukter. Omkring år 1800 finner en den første bruk av spraytørker i meieriindustrien og utviklingen fortsatte utover århundret. Det var først i 1901 at en av de første spraytørkene ble patentert av tyskeren Robert Stauf som sprayet melk gjennom en dyse inn i et kammer med varmluft. Det første ordentlige gjennombruddet for spraytørkene kom først i USA i 1913 da amerikaneren Mr. Grey og Mr. Jensen fra Danmark startet produksjon og kommersielt salg av spraytørker (Westergaard 2010).

2.3.2. Vakuuminndamping

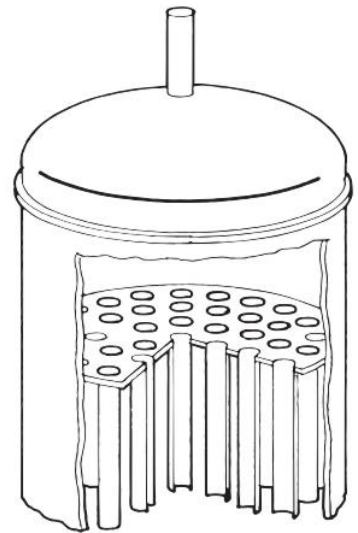
Før vakuuminndamping varmes melka opp for å inaktivere mikroorganismer som er tilstede i melka. Denne varmebehandlingen må minst tilsvare vanlig pasteurisering for å sikre at produktene ikke inneholder patogene bakterier fra råmelka. Avhengig av produkt kan det benyttes ulike varmebehandlinger fra pasteurisering til UHT-behandling (Tamime 2009).

Vakuuminndamping av melk vil si å konsentrere melk med vandig konsistens til et konsentrat (Westergaard 2010). Dette er et hensiktsmessig prosessstrinn før tørking for meierianlegget da dette gir økt kapasitet og sparer energi. Vakuuminndamping krever mindre energi enn spray-tørking eller valse-tørking. Ved å spraytørke et konsentrat i stedet for ukonsentrert melk vil pulverets oppløselighet bedres og i tillegg blir pulveret tyngre, dette vil igjen føre til økt bulk tetthet som sparer lager- og fraktkostnader (Tamime 2009).

Inndampere benyttet i meieriindustrien vil alltid operere under vakuum for å kunne oppnå fordampning ved lavere temperaturer. Dette er hensiktsmessig for å unngå denaturering av myseproteinene i melka samt at det er energiøkonomisk fordelaktig. For tillaging av skummetmelkspulver konsentreres melka til omkring 50 – 55 % tørrstoff (Tamime 2009).

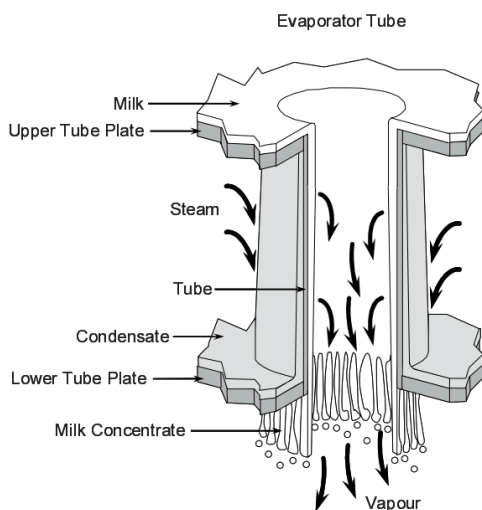
En tidlig metode for industriell inndamping var såkalt tvungen resirkuleringsinndamping. Denne inndamperen tvang melka opp gjennom rør eller mellom plater som ble varmet opp fra utsiden med damp. Melka ble resirkulert i systemet til ønsket tørrstoff var oppnådd. Metoden gav større overflate for fordampning en bruk av åpen panne, men melka ble overopphetet inne i rørene da dampen ikke ble

frigjort fra melka før den nådde toppen av røret. Denne metoden ble imidlertid erstattet av en såkalt fallende film inndamper som er mer skånsom prosess. En slik inndamper består i hovedsak av flere rør montert vertikalt ved siden av hverandre inne i en vakuumbeholder som vist i figur 8. Rørene er i hver ende festet til en plate hvor topplaten har som funksjon å fordele melka jevnt utover alle tilgjengelige rør. Melka vil legge seg som en tynn film på innsiden av rørene og flyte nedover samtidig som den varmes opp av vandamp som tilføres på utsiden av rørene som vist i figur 9. Dampen vil kondensere og renne ned på utsiden av rørene. På innsiden vil vann og flyktige komponenter fordampe fra melka og separeres fra konsentratet i enden av rørene ved hjelp av en dråpeutskiller eller sentrifugalkraft. Gjennomstrømningshastigheten av melkekonsentratet må være høy nok til at rørene er dekket av en melkefilm hele veien fra topp til



Figur 8 – Fallende film inndamper (Westergaard 2010)

bunn. Problemer kan oppstå spesielt i nedre del av rørene hvor mengde konsentrat er redusert på grunn av fordampingen og i tillegg har konsentratet økt viskositet på dette punkt. Dette kan forårsake koagulering, påbrenning og varmetap. For å unngå dette problemet kan en dele inndampingsenheten inn i flere seksjoner som gjør at en kan kjøre en tykkere melkefilm gjennom rørene. En pumpe transporterer melkekonsentratet til toppen av neste seksjon til ønsket tørrstoffnivå er oppnådd. Konsentratets tørrstoffinnhold kan blant annet måles i °Brix med refraktometer eller ved å bestemme konsentratets egenvekt. For å ha kontroll på inndampingsprosessen er en avhengig av et jevnt undertrykk gjennom hele operasjonen og det settes dermed store krav til vakuumpumpa (Tamime 2009; Walstra et al. 2006; Westergaard 2010).



Figur 9 – Detaljert utsnitt av rør fra fallende film inndamper (Westergaard 2010)

Varmen som benyttes i fordampingsprosessen kommer i de fleste tilfeller fra damp. I prinsippet kan stort sett all varmen som frigjøres i fordampingsprosessen gjenbrukes, men noe vil gå tapt til miljøet. Walstra et al. (2006) nevner tre systemer for å fornye varmeenergien i inndamperen. Multippel effekt er et system som består av flere inndampingsseksjoner hvor den første seksjonen tilføres damp som gjør at noe vann fordamper fra melka. Denne dampen separeres fra melka og benyttes videre til å varme opp melka i neste seksjon. Slik kan det fortsette i tre til sju inndampingsseksjoner før dampen fra siste seksjon kondenseres i en spesialkondensator. Et annet system er termisk damprekompresjon hvor en tilfører damp ved atmosfærisk trykk til dampen som kommer fra melka i en

fordampningsseksjon. Dette fører til at dampen komprimeres og temperaturen øker. Systemet kan benyttes til både ett-trinns og flertrinnsinndampere. Et tredje system er mekanisk damprekompresjon som benytter en pumpe for å rekomprimere dampen som kommer fra melkekonsentratet og på denne måten øke temperaturen. Sistnevnte system har den fordel at det blir mulig å holde konsentratet ved en konstant temperatur under inndampingen.

Andre alternativer for å konsentrere melka er revers osmose (RO) (omvendt osmose) og frysekonsentrering. Omvendt osmose er en membranfiltreringsteknikk hvor en utnytter at vann har høyere løselighet enn andre komponenter i melka. Separeringen skjer ved at det skapes stor forskjell i det osmotiske trykket mellom retentat og permeat. Fordelen med omvendt osmose er at prosessen er mindre energikrevende enn andre konsentreringsmetoder, men har den ulempen at en ikke kan oppnå like høy konsentreringsgrad. Frysekonsentrering skjer i en skrapevarmeveksler hvor melka renner gjennom et rør som kjøles fra utsiden. Dette skaper et islag på innsiden av røret som umiddelbart skrapes vekk med roterende kniver. Ved å fjerne iskrystallene oppnår man konsentrert melk. Prosessen er imidlertid svært kostbar og byr på færre variasjonsmuligheter enn inndampere og benyttes stort sett kun til å konsentrere væsker der en ønsker å ta vare på mest mulig flyktige aromastoffer (Walstra et al. 2006).

2.3.3. Tørking

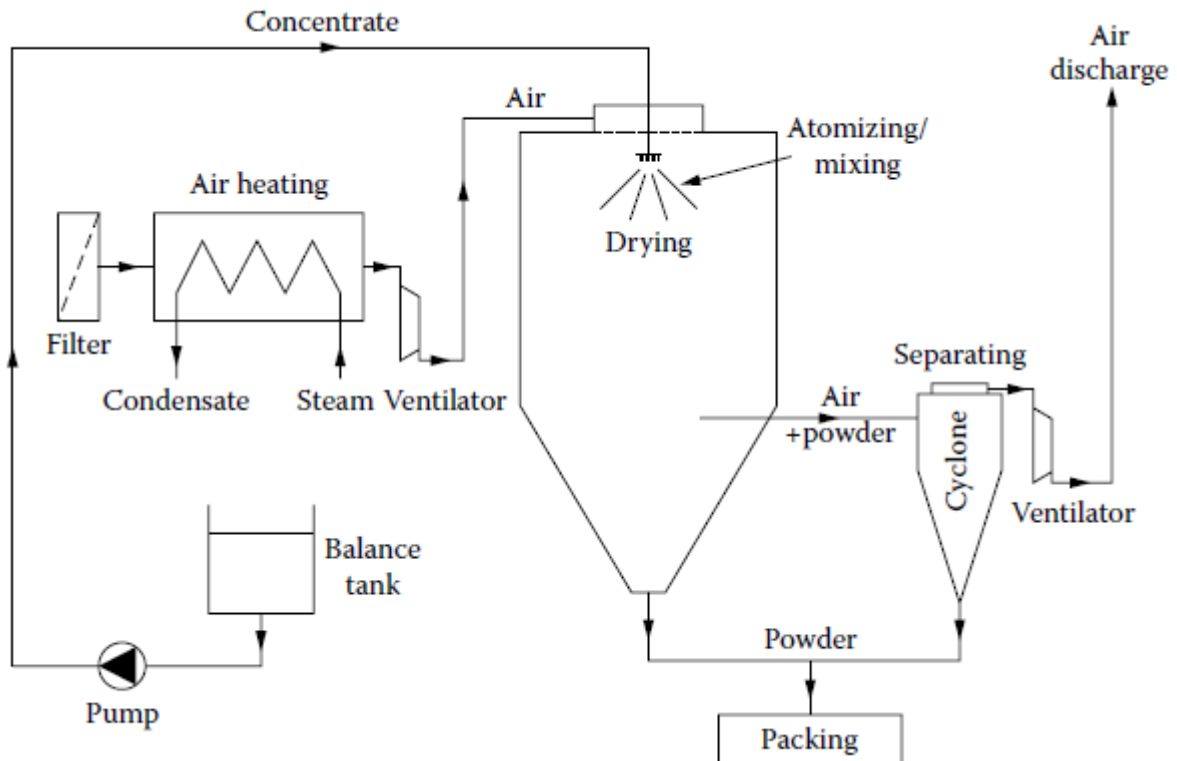
Tørking benyttes i meieriindustrien for å produsere melkeprodukter med lang holdbarhet som enklere kan lagres og håndteres og som etter rekonstituering med vann gir et produkt med svært lignende egenskaper til det originale utgangspunktet (Walstra et al. 2006). Den største utfordringen med tørking er å unngå uønskede endringer både fysisk og kjemisk som for eksempel irreversible reaksjoner som gjør proteinene i melka uløselige. Det finnes mange tørkemoder, men Walstra et al. (2006) skriver at det er fire metoder som benyttes i meieriindustrien: Valsetørking, skumtørking, frysetørking og spraytørking.

Valsetørking er en prosess som i dag er lite brukt på grunn av at kvaliteten på sluttproduktet som oftest er dårligere enn ved å bruke andre metoder. En valsetørke er bygget opp av en roterende jerntrommel som varmes opp fra innsiden med damp som gir en svært høy tørketemperatur. Ofte er det satt to valser inntil hverandre med liten avstand. Melkefilmen som fordeles utover valsene, tørkes og skrapes av med en jernkniv før pulveret samles og males opp. Det påføres stor skade på produktet på grunn av høy temperatur og sammenpressing der valsene står tett inntil hverandre.

Ved skumtørking tilføres luft eller nitrogen til konsentratet under trykk som danner mange gassceller og en svamplignende konsistens. Denne miksen varmes opp under vakuum og tørker relativt raskt. Den store kaken som dannes males så opp til pulver av god kvalitet da produktet har gjennomgått en skånsom varmebehandling. Prosessen er svært kostbar og kun brukt til spesielle produkter som for eksempel morsmelkserstatning.

Frysetørking kalles prosessen der et tynt lag væske fryses og isen sublimeres under høyt trykk. Tilbake har man en porøs kake som males opp til pulver. Dette er en svært skånsom prosess da en ikke påfører noen skade med bruk av varme, men metoden er svært kostbar og mest brukt til mindre produksjoner som for eksempel av syrekulturer.

Spraytørking er den vanligste metoden i dagens industri. Westergaard (2010) definerer spraytørking som transformasjonen fra væskeform til tørket form ved å spraye væsken inn i et varmt tørkemedium. Pulveret forekommer som enkle partikler eller agglomerater avhengig av de fysiske og kjemiske egenskapene til væsken, tørkeoppsett og operasjonsparametre. Det finnes mange varianter av en spraytørke, men noen essensielle prosesstrinn er alltid til stede. Oppvarming av luft er første trinn. Ofte ligger lufttemperaturen inn på tørka på omkring 200 °C og forlater tørka på omkring 100 °C. Konsentratet finfordelles i lufta med enten en roterende skive eller en dyse og de små dråpene vil tørke raskt. Den varme lufta og finfordelte væsken kommer parallelt inn i tørkekammeret og mikses så kraftig at lufta kjøles svært raskt. Under selve inndampingen vil all fordampingsvarme tas fra selve dråpen. Temperaturen i dråpen/partikkelen vil dermed aldri bli særlig varm mens det enda er fordampbart vann tilstede i dråpen/partikkelen. Dette fører til at mesteparten av tørkeprosessen ikke foregår ved høyere temperatur enn utgangstemperaturen for lufta. Pulveret separeres fra lufta som oftest ved bruk av sykkloner (Walstra et al. 2006).



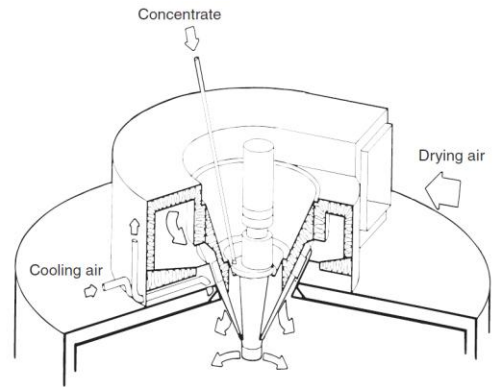
Figur 10 – Forenklet figur av et eksempeloppsett på spraytørke hentet fra Walstra et. al (2006).

Design og oppsett av en spraytørke varierer blant annet ettersom hva man skal produsere, hvor stor plass man har til rådighet og økonomien til å investere. Figur 10 viser et forenklet oppsett av en spraytørke. Konsentratet som kommer fra inndamper oppbevares på en balansetank da tørkeprosessen som oftest tar lenger tid enn inndampingen. Fra balansetanken pumpes deretter konsentratet inn i tørkekammeret. Det finnes flere ulike design på tørkekammer, men den mest vanlige er et sylinderformet kammer med en 40 – 60 ° kjegle i bunn. I et slikt oppsett vil pulveret falle gjennom tørkekammeret med gravitasjonskreftene, mens i andre typer kammer med flat bunn eller horisontale bokser må pulveret skrapes ut. Et kjegleformet kammer gir mulighet for å kombinere med integrerte fluid beds eller belter og gir større fleksibilitet for produksjon av ulike produkter. Konsentratet som skal inn i tørkekammeret kan varmes opp for å oppnå lavere viskositet som kan være fordelaktig for dyser og også for en rotasjonsforstøver. Et filter er nødvendig i prosesslinjen i innmatingsystemet for å skille ut eventuelle klumper og partikler som kan tette dysene. Dersom en skal produsere helmelkspulver, eller andre fettholdige produkter, kan det også være fordelaktig å inkorporere en homogenisator for homogenisering av konsentratet, for å redusere innholdet av fritt fett i ferdig pulver (Westergaard 2010).

Forstøvingsenheten skal fordele konsentratet i mange små dråper som legger til rette for effektiv fordamping. Jo mindre dråper, jo større overflate som igjen vil gi lettere fordamping. For en ideell tørkeprosess burde alle dråper være av eksakt samme størrelse slik at hver dråpe gjennomgår lik varmebehandling og oppnår likt vanninnhold. Dog er et komplett homogent pulver verken mulig med dagens forstøvingsenheter og heller ikke ønsket med tanke på at dette vil gi lavere bulk tetthet og større emballasje- og pakkekostnader. I meieriindustrien benyttes i hovedsak to typer forstøvingsenheter: Trykkdyser og rotasjonsforstøvere. Trykkdysene deles inn i høyt trykk – lav kapasitetsdyser og lavt trykk – høy kapasitetsdyser. Førstnevnte opererer for det meste i et-trinns tørkesystemer hvor pulveret oppnår ferdig vanninnhold i tørkekammeret. Dysene har en kapasitet på 50 – 150 kg konsentrat per time ved et trykk på 300 – 400 bar. Ulemper med disse dysene er at en trenger mange dyser for å oppnå en god kapasitet, dysene har smale åpninger som fort tetter seg og konsentratet kan ikke ha høyere tørrstoffinnhold enn 40 – 42 %, noe som gjør prosessen kostbar. Lavt trykk – høy kapasitetsdyser er mer og mer brukt etter at to-trinns tørkesystemer ble utviklet. Dysene kjøres ved et trykk på 150-200 bar, kan takle konsentrat på opp mot 50 % tørrstoff og har kapasitet på 1000 – 1500 kg konsentrat per time. Generelt har trykkdysene mange fordeler ved at de gir pulver som inneholder lite innesluttet luft, gir pulver med høy bulk tetthet, gir mindre avleiring på kammerveggene selv ved kjøring av vanskelige produkter og kan produsere store pulverpartikler. Rotasjonsforstøvere har vært benyttet i meieriindustrien i mange år og gir stor fleksibilitet i og med at de kan behandle svært viskøse produkter og konsentrat som inneholder krystaller. Forstøveren kan behandle store mengder og det er god økonomi i en slik forstøver siden man kan kjøre konsentrat med høyt tørrstoff. Ulike

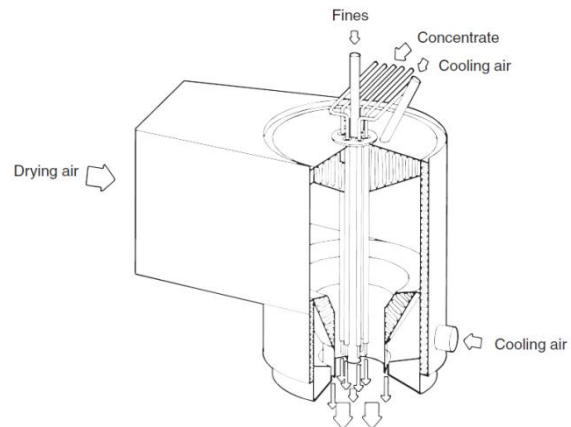
skivedesign åpner muligheter for ulik størrelse, form og karakteristika på pulverpartiklene (Westergaard 2010).

Sammen med forstøvingsenheten er luftdistribusjon de vesentligste punktene i en spraytørke. Westergaard (2010) forklarer at det er tre hovedkategorier for luftdistribusjon hvor luftstrømmen går medstrøms, motstrøms eller i en mikset strøm med konsentratet. I meieriindustrien er det ønskelig med best mulig mik av varmluft og konsentratdråper for en hurtig fordamping og dette oppnås best i et medstrøms design. Det vanligste



Figur 11 – Roterende luftstrøm (Westergaard 2010)

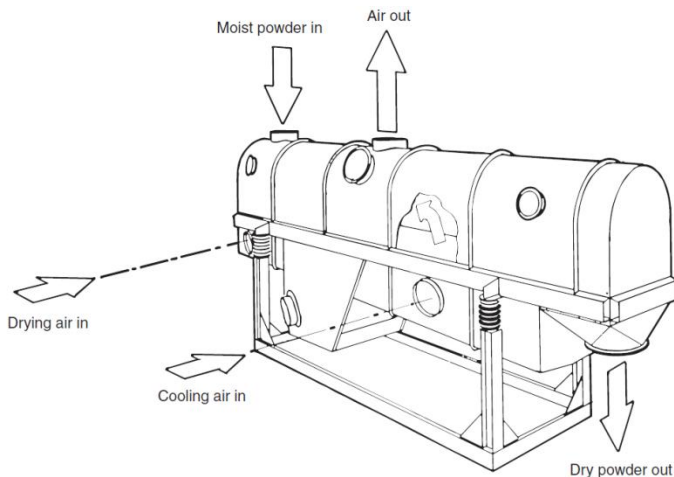
er at luftfordelerne sitter på toppen av tørkekammeret med forstøvingsenheten i midten og tilfører varmluft som en roterende luftstrøm eller en plug-flow luftstrøm. En roterende luftstrøm oppnås ved at lufta kommer inn i en spiralformet hylse hvor lufta deretter ved hjelp av justerbare spjeld ledes nedover og ut fra sentrum som vist i figur 11. En slik luftfordeling fungerer både sammen med dyseforstøvere og rotasjonsforstøvere. En plug-flow luftstrøm er den enkleste strømmen en kan tenke seg hvor hastigheten til strømmen er konstant i alle deler av systemet (Dobkin 2000). Lufta entrer fra en side og fordeles gjennom et justerbart luftstyringssystem som vist i figur 12. Denne type luftfordeling brukes sammen med trykkdyser der en laminær plug-flow luftstrøm er ønsket. I begge luftfordelingssystemer brukes kaldluft for å regulere slik at en unngår overoppheting, brente partikler og i verste fall brann. Lufta som benyttes i tørkeprosessen er underlagt strenge restriksjoner og må filtreres før den kommer inn i tørkekammeret. For å varme opp lufta benyttes enten damp, olje, gass eller elektrisitet (Westergaard 2010).



Figur 12 – Plug-flow luftstrøm (Westergaard 2010)

Lufta som går ut av tørka inneholder noe pulver. Det er ofte de minste partiklene, som kalles fines, som følger luftstrømmen og må separeres ut på grunn av både økonomi og miljø. En måte å gjøre dette på er ved bruk av en syklon. I et kjegleformet kammer ledes luftstrømmen til en malstrømsbevegelse hvor sentrifugalkraften vil føre pulverpartiklene ut mot kammerveggene og tappes ut i bunn. Herfra kan de fine partiklene tappes og pakkes eller fraktes tilbake til forstøvingsenheten for å danne agglomererte pulverpartikler. Agglomererte partikler omtales mer i avsnitt 2.3.4. Den rene luftstrømmen snor seg opp langs midtaksen i syklonen i en spiralbevegelse og slippes ut i toppen. En annen separasjonsmetode er sekkefilter hvor lufta fordeles jevnt over et antall sekker fra utsiden og inn

til senter av sekken. Pulveret holdes igjen av filteret og separeres ut i bunn fra den rene lufta som når senter av sekken og transporteres via et utløpsrør i toppen. En tredje måte er en såkalt wet scrubber (våtvasker) som bygger på samme design som en sykklon, men i tillegg tilføres det væske via en dyse. Pulverpartiklene vil kollideres og løse seg opp i væskedråpene som kan separeres ut i bunn og resirkuleres. For å møte strenge restriksjoner fra lokale myndigheter kombineres ofte sykklon med sekkefilter eller våtvasker for å oppnå god nok luftrensing (Westergaard 2010).



Figur 13 – Fluid-bed (Westergaard 2010)

illustrerer den varme og kalde lufta som blåses fra undersiden og opp igjennom den perforerte platen og tørker pulveret som er spreidd utover. Dersom platen i tillegg er vibrerende, skaper dette større bevegelse i pulveret og øker tørkeraten ytterligere. Siden holdetiden i en fluid-bed er relativt lang i forhold til tiden i tørkekammeret, vil fuktigheten fra partikkelens senter rekke ut til overflaten hvor fordampingen skjer. Denne teknologien gjør det dermed mulig å fjerne de siste 2- 10 % fuktighet uten å utsette produktet for høyere varmebehandling. I første del av en fluid-bed skjer ettertørkingen med varmluft, mens i siste seksjon kjøles pulveret ned og er klart for pakking når det når enden av platen (Walstra et al. 2006; Westergaard 2010).

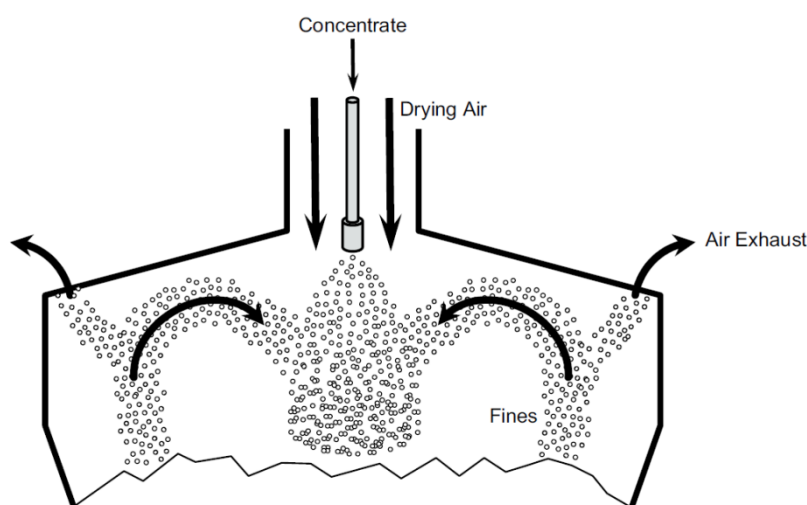
I tillegg til tottrinns tørking med en ekstern fluid-bed kan en også oppnå tre-trinns tørking dersom en installerer en intern fluid-bed i bunnen av tørkekammeret. En slik intern fluid-bed vil inngå som tørketritt to i prosessen da partiklene fra toppen av tørkekammeret faller ned på den perforerte platen i bunn og møter luftstrøm fra undersiden med passende temperatur og hastighet i forhold til produktet. Fra en intern fluid-bed vil pulveret fraktes videre til en ekstern fluid-bed for ettertørking og kjøling. Jo flere tørketritt en har i løpet av en tørkeprosess, jo lavere temperaturer kan en operere med som gir en mer skånsom prosess for pulveret. Dersom økonomien og markedet er til stede for slike investeringer kan man vinne økonomisk på dette over tid da en vil bruke mindre oppvarmingsenergi dersom produksjonen opererer ved lavere temperaturer. Kostnadsbildet varierer selvfølgelig fra anlegg til anlegg (Westergaard 2010).

2.3.4. Agglomerering

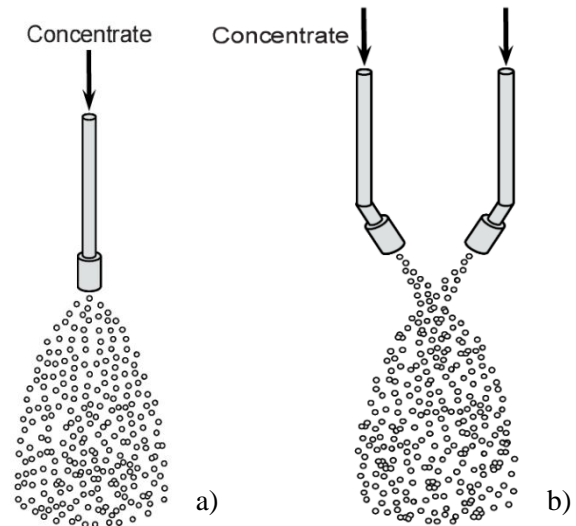
Hensikten med spray-tørking er å produsere små konsentratdråper som gir stor fordampingsoverflate. Dersom forstøvingsenheten lager for små konsentratdråper vil pulverpartiklene som dannes være svært fine og vanskelig å håndtere da det blir som ”støv”. I tillegg har så fine partikler dårlig oppløsningsevne ved rekombinering med vann. Dette problemet kan løses med agglomerering. Westergaard (2010) definerer agglomerering ved at små partikler kleber seg til hverandre og danner et pulver som består av større agglomerater som er essensielt

for en lettere rekombinering i vann. Agglomerering påvirker med andre ord de fysiske egenskapene til pulveret i positiv forstand når det gjelder oppløsningsevne, men vil gi lavere bulk tetthet og økte kostnader for pakking og logistikk. Et agglomerat vil ha en størrelse på omkring 100 – 500 µm avhengig av struktur (Tamime 2009; Westergaard 2010).

Ved spray-tørking har en to typer agglomerering, spontan og tvungen, som igjen forekommer i primær eller sekundær form. En spontan primær agglomerering vises i figur 14 a) og forekommer ved tilfeldig kollisjon mellom partikler ut fra en enkel forstøvingsenhet som følge av at partikler med forskjellig diameter vil ha forskjellig hastighet og retningsmønster. En slik agglomerering vil alltid finne sted i en eller annen grad. Ved en tvungen primær agglomerering som er vist i figur 14 b) har en bevisst stilt inn retningen på forstøvningsenhetene slik at skyene kolliderer med hverandre. En slik prosess forutsetter to eller flere forstøvingsenheter i samme tørkekammer.



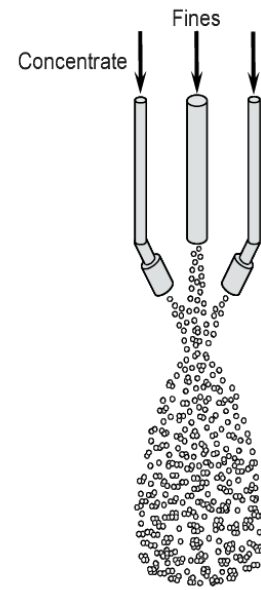
Figur 15 – Spontan sekundær agglomerering. (Tamime 2009)



Figur 14 – a) Spontan primær agglomerering.
b) Tvungen primær agglomerering. (Tamime 2009)

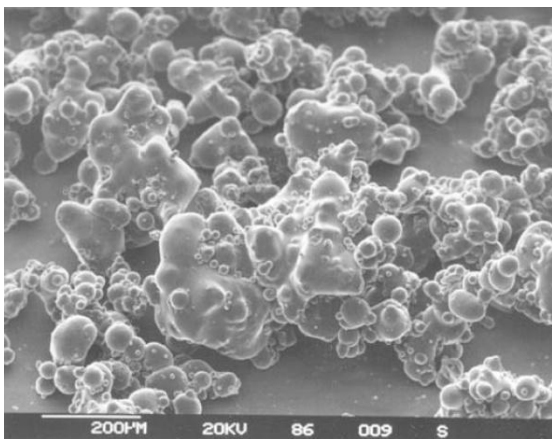
som følge av venturieffekt i tørkekammeret hvor undertrykk som oppstår frakter fines tilbake til forstøvingsenheten som vist i figur 15. De fuktige partiklene rett fra forstøveren vil kollidere med de tørre partiklene og danne større agglomerater.

Ved tvungen sekundær agglomerering blir fines som resirkuleres fra for eksempel sykkloner, posefiltre og fluid-bed tilbakeført til forstøvingsenheten. Som vist i figur 16 plasseres returpunktet for fines i nærheten av forstøvingsenhetene slik at de tørre partiklene kleber seg til de fuktige (Tamime 2009; Westergaard 2010).

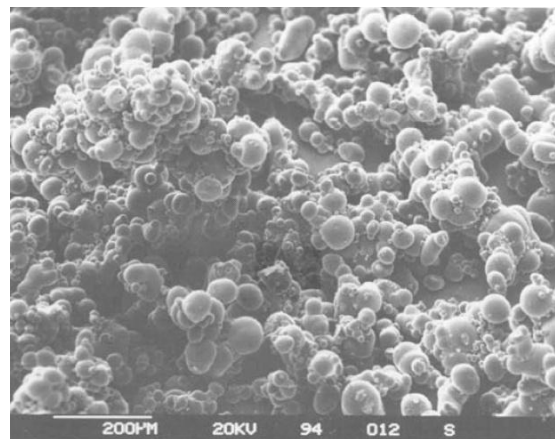


Figur 16 – Tvungen sekundær agglomerering. (Tamime 2009)

På ferden gjennom en tørkeprosess vil agglomeratene støte borti hverandre, vegger og plater i systemet ettersom det fraktes i rør og over perforerte plater ved hjelp av trykk og luftstrømmer. All denne mekaniske slitasjen vil delvis bryte ned agglomerater til fines, mindre agglomerater og fragmenter. I hvor stor grad dette skjer avhenger blant annet av strukturen til agglomeratet. Tamime (2009) angir fire ulike agglomeratstrukturer navngitt etter likhetstrekk til løk, bringebær og drueklase. Dersom fines og konsentratdråper kolliderer svært nærme forstøvingsenheten vil partikkelen kunne trenge inn i dråpen og danne en såkalt løkstruktur som vises i figur 17. Agglomerater med løkstruktur har høy mekanisk stabilitet og høy bulk tetthet. Dersom kollisjonen skjer noe lenger unna forstøvingsenheten vil en få en såkalt bringebærstruktur som også er en rimelig kompakt struktur. Flyttes kollisjonssonen enda lenger fra hverandre får man en kompakt druestruktur som vist i figur 18 og til slutt en løs druestruktur. Sistnevne struktur fuktes lettest og har best oppløsningsevne, men samtidig må en merke seg at jo mindre kompakt strukturen er, jo større sjanse er det for at agglomeratet slites gjennom tørkeprosessen og det dannes fragmenter og fines. En kompakt druestruktur er derfor et ideelt kompromiss. I tillegg til plassering av forstøvingsenhet kan også tørrstoffinnhold i konsentrat og utgangstemperaturen på tørka være faktorer som påvirker agglomereringsgraden (Tamime 2009; Westergaard 2010).



Figur 17 – Agglomerater med løkstruktur. (Tamime 2009)



Figur 18 – Agglomerater med kompakt druestruktur. (Tamime 2009)

De siste ti-årene har markedet for ferdigposer av supper, sauser, desserter, kakemikser osv. hatt en enorm vekst som igjen stiller krav til pulverteknologien bak ingrediensene. Avhenging av bruksområde er pulveret forventet å løse seg opp uten problemer til en homogen blanding i både varme og kalde væsker. Instant melkepulver er et agglomerert pulver som skal kunne løses øyeblikkelig i kaldt vann. Rekonstituering med vann er en komplisert prosess som forklares med tre fenomen: Wettability (befuktingsevne), dispersibility (dispergeringsevne) og solubility (oppløsningsevne). Befuktningssevnen måles etter hvor stor grad pulveret fuktes med vann ved en gitt temperatur. Dersom pulveret blir liggende på overflaten av vannet uten å synke har pulveret dårlig befuktningssevne. Faktorer som påvirker befuktningssevnen er agglomerering, partikkeltetthet og fritt fett. Det er uønsket med store luftblærer i pulverpartikkelen som følge av luft i konsentrat da partikkelen vil bli liggende å flyte på vannoverflaten. Helmelkspulver har større sjanse for fritt fett på utsiden av pulverpartikkelen som senker befuktningssevnen. Dette kan løses ved å spraye pulveret med fosfolipidet lecitin. Dispergeringsevne omhandler pulverets evne til å dispergere i vann ved forsiktig omrøring. Dette innebærer at pulveret brytes ned til agglomerater som igjen brytes ned til enkle partikler. For at et pulver skal ha god dispergeringsevne må pulveret i første omgang ha god befuktningssevne og deretter må agglomeratene vært i god stand uten for mye fine partikler tilstede. Oppløsningsevnen til pulver produsert i moderne tørker kan komme opp mot 100 % dersom prosessen gjennomføres korrekt, men det er flere faktorer som kan medføre bunnfall og uløselige partikler ved rekombinering. Den vanligste faktoren er kraftig varmebehandling av råmelk og konsentrat som vil føre til denaturering av myseprotein som sammen med laktose kan danne komplekse, uløselige bindinger. Dersom melka er syrnet vil det kunne føre til dårlig oppløsningsevne da videre varmebehandling vil føre til irreversibel denaturering av proteiner, spesielt kasein. Generelt forventer man lav oppløsningsevne dersom en gjennom tørkeprosessen har operert med høye temperaturer og høy viskositet på konsentratet. Pulvere med høyt innhold av laktose forventes generelt å ha god oppløsningsevne da laktose vil beskytte proteinene mot denaturering (Tamime 2009).

2.4. Yoghurtpulver

Forløperen til yoghurtpulver oppstod i land som Tyrkia, Libanon, Syria, Irak og Iran hvor man laget en tørket form for yoghurt. Yoghurt ble blandet med hvetemel og semule og formet til små klumper eller irregulære baller og plassert i solen for å tørke. Produktet ble kalt "kishk" og ble solgt enten som tørkede klumper eller malt opp til mel (Tamime & Robinson 2007).

De mange produktvariantene med yoghurt som utgangspunkt har gjort at navnet yoghurt finnes på en mengde ulike produkter som for eksempel yoghurtpulver, yoghurtiskrem, yoghurt nøtter osv. som vist i figur 1. Det er satt mange spørsmålsteget ved bruken av "Yoghurt" som merkenavn da produktet må inneholde rikelig med levedyktige bakterier fra yoghurtkulturen for å kunne bære navnet "Yoghurt", og i mange tilfeller går prosessene hardt utover levedyktigheten til bakteriene. I praksis aksepteres dette så lenge merkingen av emballasjen inneholder informasjon om at opphavet til det prosesserte produktet er yoghurt (Tamime & Robinson 2007).

Hovedformålet med å tørke yoghurt er å lage et produkt med lang holdbarhet som er enkelt og håndtere og ikke har behov for kjølelagring. Det er hensiktsmessig å konsentrere yoghurten før tørking for en mer effektiv tørkeprosess. Det finnes i hovedsak to metoder for kommersiell produksjon av yoghurtpulver; frysetørking og spraytørking. Frysetørking er det beste alternativet da temperaturen ikke kommer opp i mer enn 20 – 35 °C under prosessen og dermed vil en stor del av yoghurtbakteriene overleve, liten skade påføres melkekomponentene og fordampningen av flyktige aromastoffer er minimal. Metoden er imidlertid så kostbar at den er sjeldent benyttet for kommersiell produksjon. I stedet benyttes stort sett spraytørking for storskalaproduksjon av yoghurtpulver (Kumar & Mishra 2004; Tamime & Robinson 2007).

Steinsholt & Abrahamsen (1978) rapporterer om forsøk hvor iskremmikser med ulikt tørrstoff- og sukkerinnhold ble syrnede med yoghurtkultur. Innhold av fettfritt tørrstoff i iskremmikserne var på 8 %, 10 % og 12 %, mens innhold av sukker var på 12 %, 14 % og 16 %. Etter fermentering i 4 timer ved 43 °C viste resultatene at oppnådd pH i ismiksen var avhengig av både sukkernivå og tørrstoffnivå. Jo høyere innhold av sukker og fettfritt tørrstoff, desto dårligere syringsevne viste yoghurtkulturen i ismiksen, som resulterte i høyere pH-verdier. I forsøket ble det tillaget mikroskoppreparater fra de ulike iskremmikserne for å estimere balansen mellom de to bakteriestammene i yoghurtkulturen. Det viste seg at en tilfredsstillende balanse ble opprettholdt i iskremmikser med fettfritt tørrstoffinnhold på 8 % og 10 % og i prøvene med sukkerinnhold på 12 %. Da sukkerinnholdet i iskremmiksen passerte 10 % gav dette svært ugunstige vilkår for laktobasillene og mikroskopering viste at bakteriecellene var ødelagt. Det samme skjedde dersom en økte innhold av fettfritt tørrstoff i iskremmiksen til over 8 %. Streptokokkene ble også påvirket av økende sukker- og tørrstoffinnhold, men bakteriecellene ble ikke ødelagt i samme grad som laktobasillene. Steinsholt & Abrahamsen (1978) konkluderte med at innvirkningen på yoghurtkulturen kunne skyldes høyt osmotisk trykk eller "lav" vannaktivitet.

Som tidligere nevnt er konsentrering av melka hensiktsmessig før spraytørking. Avlesen (1978) utførte forsøk hvor det i et tilfelle ble konsentrert opp skummetmelk før syrning og i et annet tilfelle ble skummetmelk konsentrert etter syrning. Syrning av skummetmelk som ikke var konsentrert opp gikk raskt og nådde pH 4,45 etter 4 timer. Inndampingen av det sure mediet gikk derimot ikke bra da en på grunn av oppvarmingen fikk utfelling. Konsentratet ble nøytralisert med 33 % lut før konsentreringen fortsatte. Etter dette gikk inndampingen greit og en oppnådde et konsentrat med 22 % tørrstoff. I forsøket hvor oppkonsentrering skjedde før syrning ble det tilsatt syrekultur til et konsentrat med 16 % tørrstoff. Konsentrering og syrning gikk uten problemer og ferdig syrnet konsentrat hadde pH 4,03. I samme studie syrnet en også konsentrater med ulikt tørrstoffinnhold hvor alle konsentrater fikk avbrutt syrningen ved pH 5,0 og satt på kjølerom. Ved å måle hvor kraftig ettersyrningen av yoghurtprøvene var ble det konkludert med følgende: Syrning av konsentrat med 19, 21 og 23 % tørrstoff var ikke noe problem, men når tørrstoffinnholdet kom så høyt som 25 % kunne en registrere syrningsproblemer. Videre analyser viste at konsentratet med 25 % tørrstoff inneholdt 8,4 ppm acetaldehyd, noe som var mindre enn i prøvene med 19, 21 og 23 % tørrstoff. Da konsentratprøvene ble spraytørket ble i gjennomsnitt 35,7 % av acetaldehydet holdt tilbake i pulveret. Kumar & Mishra (2004) rapporterer at oppkonsentrering ved vakuuminndamping kan være fordelaktig med tanke på å holde på næringsstoffer, men kan gi større tap av aromastoffer. Forsøk viser at innhold av acetaldehyd, diacetyl og acetoin ble redusert med henholdsvis ca. 90, 50 og 50 % etter vakuuminndamping.

Avlesen (1978) testet spraytørking av skummetmelksskonsentrat syrnet med yoghurtkultur under ulike prosessfaktorer. Det ble undersøkt effekter av prosessvariable på vanninnhold, levedyktige bakterier, acetaldehydinnhold og bulk tetthet i ferdig pulver. Resultatene viste at det gav generelt best resultat når tørrstoffnivået i konsentratet var 23 % eller lavere, inngangstemperaturen på tørka var på 170 °C og forstøvingsenheten hadde en hastighet på 24 000 omdreininger/min selv om pulveret i dette tilfellet hadde et noe høyt vanninnhold.

Parametere som påvirker overlevelse av yoghurtbakterier fra syrekulturen er blant annet inngangs- og utgangstemperaturen på lufta under spraytørking, type forstøvingsenhet og retningen på luftstrømmen i tørkekammeret. Antall overlevende bakterier er avtagende med økende temperaturer på luftstrømmen inn og ut av tørka og økende trykk i forstøvingsenheten (Kumar & Mishra 2004). Forsøk utført av Bielecka & Majkowska (2000) viste at flest yoghurtbakterier overlevde spraytørkingen dersom utgangslufta holdt en temperatur på 60 °C. I dette tilfellet overlevde 69,5 % av *S. thermophilus* og 22,1 % av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Temperaturen på utgangslufta trekkes frem som den viktigste faktoren for overlevelsessevnen til yoghurtbakteriene, vanninnholdet i yoghurtpulveret og sensoriske egenskaper, men antall levende bakterier i konsentratet før tørking trekkes også frem som en viktig faktor for antall levende yoghurtbakterier i ferdig pulver. Generelt hadde yoghurtpulveret best kvalitet dersom det var produsert med en utgangstemperatur på 70 °C eller 75 °C. Studien viser også at *Lb.*

delbrueckii subsp. *bulgaricus* er svært sensitiv for varmesjokk og at *S. thermophilus* viste bedre overlevelsessevne gjennom spraytørking.

Siden tilstedeværelse av levende yoghurtbakterier er et viktig kriterium for yoghurtpulver bør minimumsantallet av *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* være $1-5 \times 10^6$ cfu/ml ved utløpsdato. Gjennom tørkeprosessen og lagring vil bakterietallene synke og det er derfor viktig med et høyt bakterietall i konsentratet før tørking (Balkir et al. 2011).

Spraytørking har en ugunstig effekt på yoghurtsmaken da den kommer av flyktige aromakomponenter som kan fordampe under tørkeprosessen (Kumar & Mishra 2004). Silva et al. (1997) rapporterer at tørrstoffnivå i konsentratet, hastigheten på forstøvingsenheten og utgangstemperaturen på tørka påvirker hvor mye acetaldehyd som forblir i yoghurten gjennom spraytørking. Et forsøk gjennomført med 25 % tørrstoff i konsentrat på en spraytørke med inngangstemperatur på 210 °C og utgangstemperatur på 70 °C samt hastighet på 23 000 omdreininger/min viste at ca. 50 % av acetaldehydet var holdt tilbake i yoghurtpulveret. Dersom tørrstoffinnholdet i konsentratet sank til 15 % eller 20 % og utgangstemperaturen økte til 80 °C, ble mindre acetaldehyd holdt tilbake (ca. 45 %). En annen måte å holde tilbake mer acetaldehyd gjennom tørkeprosessen på er tilsetning av stabilisatorer som for eksempel carragenan, xanthan eller gellan til konsentratet (Kumar & Mishra 2004).

Yoghurtpulver som rekonstitueres i 10 – 40 °C varmt vann i forholdet 1:5 av pulver og vann kan inneha liknende smak og næringsinnhold som fersk yoghurt. En rekombinert yoghurt vil imidlertid ikke oppnå samme viskositet eller reologiske egenskaper som fersk yoghurt da gelstrukturen ødelegges gjennom tørkeprosessen. Et frysetørket yoghurtpulver vil ha bedre rekonstitueringssegenskaper enn et spraytørket yoghurtpulver (Kumar & Mishra 2004).

Pakking, håndtering og lagring av yoghurtpulver er enklere og medfører mindre kostnader enn ved fersk yoghurt. I tillegg er pulveret mindre egnet å vokse i for uønskede bakterier og mugg på grunn av det lave vanninnholdet og vannaktiviteten. For at dette skal bestå utover i holdbarhetstiden må emballasjen være både vann- og lufttett for å forhindre at pulveret tar til seg fuktighet. Vannaktivitetsnivået i pulveret bør imidlertid være på 0,2 dersom en ønsker en bedre overlevelse av yoghurtbakteriene gjennom holdbarhetstiden (Kumar & Mishra 2004).

Kumar & Mishra (2004) rapporterer at yoghurtpulver inneholder flere ernærings- og helsemessige effekter. Blant annet er celleveggen i yoghurtbakteriene assosiert med egenskaper som forhindrer svulstdannelser. Denne aktiviteten er ivaretatt også etter tørking. Ernæringsmessig inneholder yoghurtpulver noe mindre laktose enn melk på grunn av omdannelsen til melkesyre og andre metabolitter. Melkesyren vil ha en motvirkende effekt mot andre uønskede mikroorganismer både i produktet og i tarmen ved konsum.

2.5. Yoghurtpulverproduksjon ved TINE Meieriet Brumunddal

TINE Meieriet Brumunddal (TMB) er en del av TINE SA, et samvirkeforetak som eies av ca. 15 000 melkebønder i Norge. Anlegget mottar årlig 55- 60 millioner liter melk som benyttes i en allsidig produksjon av langtidsholdbare melkeprodukter samt melkepulver og kondenserte melkeprodukter. Av pulver produseres det melkepulvervarianter med ulikt fettinnhold, yoghurtpulver, ostepulver og syrnet kjernemelkspulver (TINE SA 2011a). I 2010 ble det produsert ca. 3700 tonn pulver totalt ved TMB (Pettersen 2011). Videre salg av yoghurtpulver skjer gjennom TINE Ingrediens som kan opplyse at det totalt i 2010 ble solgt 74 450 kg yoghurtpulver til omkring 30 kunder (Lie 2011).

I følge TINEs produktdatablad for yoghurtpulver (TINE SA 2011b) har produktet en gulhvitt farge og er syrlig på lukt og smak. Det fremstilles av skummetmelkskonsentrat som syrnes med yoghurtkultur før det spraytørkes. Det ferdige pulveret skal ha en pH på ca. 4,80, et tørrstoffnivå på 96,5 % og en bulk tetthet på 0,50 – 0,60 g/cm³. Pulveret skal ha en vannaktivitet på mindre enn 0,2 aw og 100 g. pulver skal inneholde mindre enn 5 g. vann. Ved rekombinering vil 103 kg. pulver sammen med 897 liter vann gi ca. 1000 liter rekombinert yoghurtpulver. Ernæringsmessig vil 100 g. pulver gi ca 1530 kJ og yoghurtpulverets anvendelsesområder er i brød og bakervarer, iskrem, supper og sauser, sjokolade, kjøtt- og fiskefarsler og i tørrblandinger.

Tre viktige egenskaper ved yoghurtpulver er syrligheten som følge av melkesyreproduksjon og lavere pH-verdi, yoghurtsmaken som følge av acetaldehydnivå i pulveret samt innhold av levende bakterier fra yoghurtkulturen som gjør at produktet kan bære merkenavnet ”Yoghurt”. Av de nevnte parametre har TINE per dags dato kun kvalitetskrav for pH i sin produktspesifikasjon for yoghurtpulver. For eventuelt å definere andre kvalitetskrav var det ønskelig fra Storror (2011), fagleder for pulver og konsentrater i TINE SA, å ta kontakt med en større kunde av yoghurtpulver som har gitt tilbakemelding på produktkvaliteten. I en telefonsamtale med en produktutvikler fra firmaet ble det opplyst at de blander sammen yoghurtpulveret med blant annet sukker og melkekomponenter til en fettfylling til sjokoladeproduksjon. Kunden var opptatt av at pulveret hadde lavt vanninnhold, blandet seg godt til en homogen blanding og gav fyllet en syrlig og frisk yoghurtmak. Blandingen som pulveret tilsettes ble kraftig prosessert og det var dermed viktigere med god lukt og smak enn instantegenskaper i pulveret. En stabil pH i pulveret fra gang til gang var viktigst produksjonsmessig for kunden som i tillegg opplyste at pH-verdien gjerne kunne vært lavere for å oppnå enda syrligere effekt i sjokoladefyllet. Det har tidligere vært kommunikasjon mellom kunden og TINE for å kunne imøtekomme disse ønskene. I en telefaks (1998) opplyses det fra kunden om forsøk som er utført på syrlighet og smak på ulike yoghurtpulverproduksjoner fra TINE. Pulver som hadde en pH-verdi omkring 4,40 – 4,56 ble karakterisert som god, frisk og syrlig, mens pulver hvor pH lå omkring 4,70 – 5,05 ble beskrevet som tam og lite syrlig. Ønskene om en så lav pH i pulveret kunne imidlertid ikke imøtekommes av TINE da dette gav vanskeligheter i pulverproduksjonen. Viskositeten i konsentratet økte i takt med surhetsgraden og gav problemer i forstøvningssystemet i tillegg til at pulveret fikk en

markant mørkere farge (Storrø 2011). Når det gjelder levende yoghurtbakterier i pulveret er dette i grunn ikke ønsket av kunden, men kunden forstod at dette var nødvendig for yoghurtpulveret som produkt. Det var ikke aktuelt å benytte et annet syrnet melkepulver i stedet for yoghurtpulver da yoghurtsmaken samt ”Yoghurt” som merkenavn var viktig for kunden. Det var ønskelig at pulveret gav en rund, mild yoghurt smak som ikke ble for spiss. Informasjon om innhold av acetaldehyd i pulveret for å definere smakstyrken kunne dermed vært ønskelig. Kunden hadde ingen krav eller formening om innhold av andre flyktige aromakomponenter eller organiske syrer.

Det har i lengre tid oppstått problemer med syrningen av skummetmelkskonsentrat som skal bli yoghurtpulver ved TMB. Problematikken har ført til økonomiske og tidsmessige tap for anlegget. Syrningstiden har variert i lengde fra 4 timer opp mot et døgn før konsentratet har nådd ønsket pH på 4,8. I flere tilfeller har konsentratet blitt avkjølt ved en høyere pH da syrningen har stoppet helt opp. En har ikke kunnet spore noen gjentakende faktorer i prosess eller ferdig pulver som kan avsløre hvor problemet oppstår. Produksjonsmessig hadde det vært ønskelig å produsere yoghurtpulver to eller tre ganger i løpet av én uke, men dette har man gått bort i fra da det som oftest oppstår store syrningsproblemer ved produksjon nummer to. Det er gjort flere tiltak ved anlegget for å finne en løsning på den ustabile syrningen. Tidligere var det forskjellige rutiner på vasken som ble utført mellom produksjoner i løpet av uka og vasken som ble utført ved ukestart og ukesslutt. Dette ble endret til at vaskerutinene av tank og rørsystem som er tilknyttet yoghurtpulverproduksjonen vaskes og steriliseres som om det skulle være oppstart og avslutning av uka ved hver produksjon. Tiltaket har ikke ført til varig forbedring av syrningsstabilitet. Det ble en periode forsøkt å lage en brukksyre på forhånd som deretter ble tilsatt skummetmelkskonsentratet. Dette tiltaket gav ingen forbedringer og en valgte derfor å gå tilbake til å tilsette den frosne DVS-kulturen direkte i syrningstanken. Tidligere ble skummetmelka varmet opp til 85 °C som høyeste temperaturtrinn i varmebehandlingen, men per dags dato er denne temperaturen høynet til 94 °C. Bakgrunnen for dette tiltaket var en mistanke om at uønskede mikroorganismer var til stede i skummetmelkskonsentratet og hemmet syrekulturen, ved en høyere temperatur ville en i større grad drepe disse uønskede bakteriene før syrekulturen ble tilsatt. Det har også vært mistanke om tilstedeværelse av bakteriofager i produksjonsutstyret og som tiltak mot dette ble det byttet syrekultur. Dette gav en kortvarig positiv respons før en igjen opplevde ustabilitet. Det settes spørsmålstegn omkring mistanken om bakteriofagangrep da det er lite tenkelig at slike angrep skal skape problemer kun ved ukens siste produksjon og ikke ved ukens begynnelse. I tillegg produserer TMB syrnet kjernemelkspulver hvor det benyttes det samme produksjonsutstyr, type syrekulturer og prosesslinje. Det har aldri vært observert syrningsproblemer ved produksjon av syrnet kjernemelkspulver. Den eneste forskjellen mellom produksjon av yoghurtpulver og syrnet kjernemelkspulver er konsentratet som tar utgangspunkt i henholdsvis konsentrert skummet melk og konsentrert kjernemelk (Olden et al. 2011).

Med bakgrunn i ovennevnte tiltak som tidligere er gjennomført ved anlegget ønsket en i denne oppgaven å se nærmere på skummetmelkskonsentratets rolle i syrningsproblematikken. En ønsket å undersøke syrningsvevnen til de to syrekulturene YC-471 og YC-183 i skummetmelkskonsentratet og hvilke effekter den ustabile syrningen hadde for det ferdige yoghurtpulverets produktkvalitet. Det ble derfor gjennomført syrningsforsøk med skummetmelkskonsentrat med ulikt tørrstoffinnhold hvor en fulgte utvikling i pH og mikrobiologisk vekst gjennom syrningen. I tillegg ble det analysert ferske yoghurtprøver samt yoghurtpulver for å undersøke hvordan syrningsforløpet med to ulike syrekulturer påvirket egenskaper, kvalitet og kjemisk profil i ferdig pulver.

3. Materialer og metoder

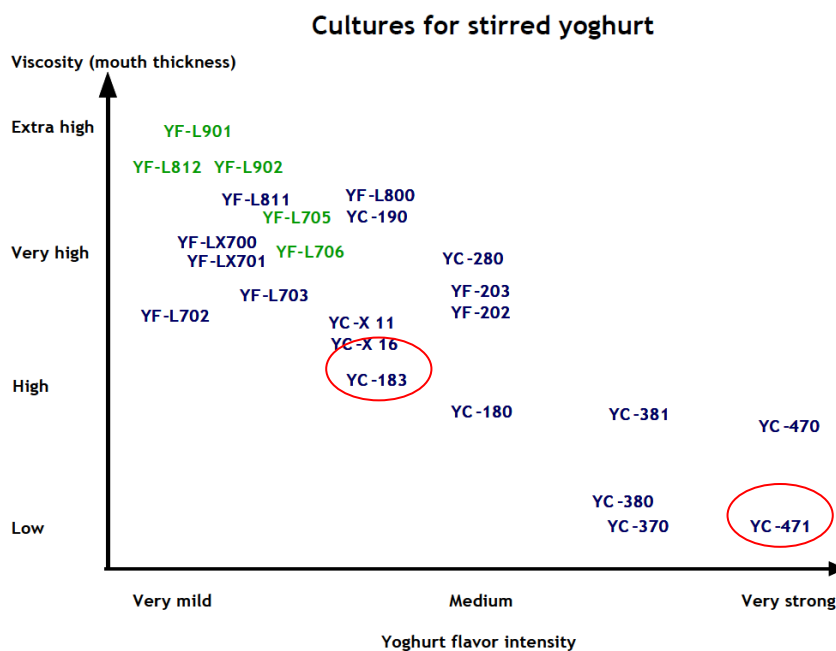
3.1. Syrning

En ville i disse forsøkene undersøke syringsevnen til yoghurtkulturene F-DVS YC-471 Yo-Flex[®] (heretter omtalt som YC-471) og F-DVS YC-183 Yo-Flex[®] (heretter omtalt som YC-183) i skummetmelkskonsentrater med ulike tørrstoffinnhold. I tillegg ville en følge utviklingen av de to bakteriestammene *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* gjennom syrningsforløpet. Syrningsforsøkene ble gjennomført på Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap ved UMB.

3.1.1. Råvarer

For at forholdene i syrningsforsøket skulle være mest mulig lik forholdene ved yoghurtpulverproduksjonen ble det benyttet råvarer fra TMB. Skummetmelkskonsentratet som ble benyttet var skummetmelk som ble dampet inn til et tørrstoffnivå på ca. 50 % i produksjonen ved TMB. Konsentratet ble tappet på sterile flasker og kjølt ned på kjølerom til 4 °C. For å holde en uavbrutt kjølekjede ble flaskene fraktet i isoporesker med kjøleelementer til UMB og deretter holdt på kjølerom til innveing av konsentratprøver. Tørrstoffinnholdet i konsentratet som ble benyttet til syrningsforsøkene ble målt til 55 % ved hjelp av et refraktometer (Pocket Refractometer PAL-2, Atago, Japan) som måler °Brix. 100 ml skummetmelkskonsentrat ble veid til å ha en vekt på 120 gram og ut ifra dette ble det regnet ut mengdeforhold i de ulike konsentratprøvene. Utrekningene kan sees i vedlegg 1.

De to yoghurtkulturene som ble benyttet i forsøket er av samme type som benyttes i yoghurtpulverproduksjonen ved TMB: F-DVS YC-471 Yo-Flex[®] og F-DVS YC-183 Yo-Flex[®]. Begge er frosne DVS-kulturer som inneholder de to yoghurtbakteriene *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* og er levert av Chr. Hansen. I figur 19 ser en hvor de to kulturene er plassert i forhold til andre kulturer på smaksintensitet og viskositet.



Figur 19 – Yoghurtkulturer fra Chr. Hansen (2006).

YC-471 og YC-183 er begge termofile syrekulturer beregnet for produksjon av drikkeyoghurt og yoghurt av type rørt eller fast. De frosne pelletene har en off-white farge og anbefalt inokuleringsmengde er 2 000 gram syrekultur til 10 000 liter melk. Forskjellen på de to syrekulturene ligger i smaksintensitet og viskositet i yoghurten. YC-471 skal gi veldig sterk yoghurt smak, medium viskositet og høy ettersyrning. Dersom en inokulerer 0,02 % YC-471 i helmelk som er tørrstoffanrikt med 2 % skummetmelkspulver og varmebehandlet ved 85 °C i 30 minutter, skal en etter 5 timers inkubering ved 43 °C oppnå en pH 4,2 – 4,5. Ved inokulering av 0,02 % YC-183 under samme forutsetninger skal en oppnå pH 4,4 – 4,7 etter 5 timer. YC-183 skal gi yoghurten en mild smak, høy viskositet og lav ettersyrning. (Chr. Hansen 2008a; Chr. Hansen 2008b)

3.1.2. Forsøksoppsett

For å kartlegge hvilke fortynninger som burde sås ut til hvilket tidspunkt i syrningsforløpet ble det, som et forforsøk, syrnet skummetmelk konsentrat på 20 %, 25 % og 30 % og sådd ut på forventede fortynninger. Det ble benyttet en podemengde på 0,02 % og inkuberingstemperatur på 43 °C. Ved å bruke resultatene fra første delforsøk justerte en så på hvilke fortynninger som skulle brukes videre.

Syrningsevnen til de to yoghurtkulturene ble undersøkt ved å måle tiden det tar for å oppnå pH 4,8 ved ulike tørrstoffinnhold i skummetmelk konsentrat på henholdsvis 20 %, 22,5 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 32,5 %, 35 %. Som standard ble det brukt inokuleringsmengde tilsvarende det som anbefales av Chr. Hansen. For begge kulturene anbefales det å tilsette 2000 gram frossen DVS-kultur per 10 000 liter melk som gir en podeprosent på 0,02 %. Dette tilsvarer 40 µl per konsentratprøve på 200 ml. I tillegg ble tre prøver på henholdsvis 24 %, 26 % og 28 % podet med 0,005 % yoghurtkultur. Dette er tilsvarende mengden som benyttes i produksjonen ved TMB hvor de

tilsetter 500 gram frosne DVS-kultur til ca 10 000 liter skummetmelkskonsentrat. Dette betyr at det tilsettes 10 µl per konsentratprøve på 200 ml. Den frosne DVS-kulturen ble overført til en steril glassflaske med kork og deretter oppbevart ved 4 °C til inokulering. Yoghurtkulturen som da var blitt flytende ble blandet godt opp før den ble pipettert. Dette gjøres på grunn av at Chr. Hansen framstiller yoghurtkulturen ved å blande frosne renkulturer av hver av de to bakterietypene (Abrahamsen 2011). Ved å ta ut et større antall pellets for smelting og deretter blande godt er en sikker på å få med et representativt antall av hver av de to bakterietypene. Konsentratet ble fordelt i sterile glass med lokk og tilsatt sterilt vann og syrekultur i følge tabell 1.

Tabell 1: Tillaging av konsentratprøver. Mengde skummetmelkskonsentrat, sterilt vann og syrekultur som tilsettes de ulike prøvene for å oppnå ønskede tørrstoffinnhold.

TS %	Skummetmelkskonsentrat	Sterilt vann (ml)	Syrekultur (µl)
20 %	73 ml = 87,6 g	127	40
22,5 %	82 ml = 98,4 g	118	40
24 %	87 ml = 104,1 g	113	40
24 % TMB*	87 ml = 104,1 g	113	10
25 %	91 ml = 109,2 g	109	40
26 %	95 ml = 114,0 g	105	40
26 % TMB	95 ml = 114,0 g	105	10
27 %	98 ml = 117,6 g	102	40
28 %	102 ml = 122,4 g	98	40
28 % TMB	102 ml = 122,4 g	98	10
29 %	105 ml = 126,0 g	95	40
30 %	109 ml = 130,8 g	91	40
32,5 %	118 ml = 141,6 g	82	40
35 %	127 ml = 152,4 g	73	40

* TMB = Inokuleringsmengde 0,005 %, tilsvarende yoghurtpulverproduksjon ved TMB.

Det ble laget tre paralleller av hvert prøvenummer hvor én ble benyttet til pH-målinger, én til uttak av mikrobiologiske prøver og én til innveing av prøver til HPLC og HSGC.

Etter innveing av skummetmelkskonsentrat og tilsetting av sterilt vann ble alle glass blandet godt slik at en oppnådde en homogen blanding i alle prøver. Glassene ble satt i vannbad og varmet opp til 43 °C før inokulering av syrekulturen. Etter at syrekulturen ble tilsatt ble det umiddelbart tatt ut prøver til mikrobiologisk og pH ble målt. Deretter ble det målt pH hver halve time i 9 timer og tatt ut til mikrobiologisk analyse hver hele time i 6 timer.

3.2. pH

pH-verdi i yoghurtprøvene ble målt hver halve time med et digitalt pH-meter (pH M 92 LAB pH meter, Radiometer Analytical S. A., Frankrike). Før fermentering ble pH-meteret kalibrert med standard bufferløsninger på pH 4.0 og 7.0 (Merck, Tyskland) temperert til 43 °C.

3.3. Mikrobiologiske analyser

Ved uttak til mikrobiologisk analyse ble yoghurtprøven blandet opp og 1 ml prøve overført til 9 ml peptonvann. Røret ble blandet godt på en vortexmikser og deretter satt direkte i isvannbad på kjølerom der det ble stående til det var tid til utsåing. Fra peptonrørene ble det laget standard fortynningsrekker med steril Ringers løsning. Antall kolonidannende enheter av de to bakterietypene ble funnet ved innstøpning med selektive vekstmedier på petriskåler.

3.3.1. Selektivt medium for *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Ashraf & Shah (2011) anbefalte MRS-agar justert til pH 5,2 og anaerob inkubering ved 43 °C for opptelling av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dersom *Lb. acidophilus* og *Lb. rhamnosus* ikke var til stede i produktet. MRS-agar ble tillaget ved å løse opp 68,2 g MRS-agarpulver (Merck, Tyskland) per liter destillert vann. Løsningen ble deretter varmet opp til kokepunktet og pH ble justert til 5,2 med 0,1 M HCl (Merck, Tyskland). Deretter ble agaren overført til glassflasker og autoklavert ved 121 °C i 15 minutter. Da det viste seg at laktobasillen i yoghurtprøvene inokulert med YC-471 ikke ville vokse opp på den tillagede agaren, ble det gjort et forsøk hvor UHT-lettmelk ble inokulert med YC-471, syrnede ned til pH 4,56 og innstøpt med MRS-agar tillaget uten pH-justering til 5,2. Etter fire døgns anaerob inkubering ved 43 °C ble det laget til mikroskoppreparater av koloniene som hadde vokst frem for å undersøke om det var stavformede laktobasiller og ikke kokkeformede streptokokker som hadde vokst frem. Til videre mikrobiologiske analyser ble det benyttet MRS-agar uten pH-justering.

3.3.2. Selektivt medium for *S. thermophilus*

M17-agar som selektivt medium for *S. thermophilus* ble anbefalt av Ashraf & Shah (2011). Agaren ble tillaget ved å løse opp 65 gram M17-agarpulver (Merck, Tyskland) per liter destillert vann som ble varmet opp til kokepunktet, overført på glassflasker og autoklavert ved 121 °C i 15 minutter. Skålene ble innstøpt med M17-agar og deretter inkubert aerobt ved 37 °C i tre døgn.

3.4. Kjemiske analyser

Det ble utført kjemiske analyser av yoghurtprøver fra syrningsforsøk og av yoghurtpulverprøver fra produksjonen ved TMB. Innhold av organiske syrer ble bestemt ved High Performance Liquid Chromatography (HPLC) og innhold av flyktige aromakomponenter ble bestemt ved hjelp av Head Space Gas Chromatography (HSGC).

3.4.1. High Pressure Liquid Chromatography

High pressure liquid chromatography betyr væskekromatografi under høyt trykk. Kort sagt er dette en separasjonsteknikk hvor mobilfasen er en væske som under høyt trykk tvinges gjennom en kolonne pakket med partikler. Analysen ble gjennomført etter en modifikasjon av metoden beskrevet av Marsili et. al (1981). Prøveopparbeidingen for yoghurtpulver var den samme som beskrevet i avsnitt 3.4.1. 1,00 g prøve ble veid opp i et 10 ml Belcorør. Prøven ble tilsatt 2,5 ml ionebyttet vann, deretter 0,2 ml 0,5 M svovelsyre (Merck) og 8 ml acetonitril (Merck). Prøvematerialet ble deretter blandet i en Multi-RS 60 Biosan vendemaskin i 30 minutter. Prøven ble sentrifugert i en Kubota 2010 sentrifuge (Bunkyo-ku, Tokyo, Japan) ved 2600 g i 15 minutter. Supernatanten ble filtrert gjennom et PTFE 13 mm Syringe filter, porestørrelse 0,2 μm (Becton Dickinson, UK) direkte i et HPLC-rør (Agilent, Tyskland) og lukket med et Chromacol 8-ST101 septa og Chromacol 8-SV plastkork

25 μl av prøveløsningen ble injisert i en HPLC bestående av Serie 200 autoinjektor (Perkin Elmer), Serie 200 pumpesystem (Perkin Elmer), Series 200 UV-detektor (Perkin Elmer), Serie 200 RI-detektor (Perkin Elmer), Totalchrom LC-terminal, versjon 6.3.2 (Perkin Elmer), LC ovn 101 kolonneovn (Perkin Elmer) og med serie "interface" (Perkin Elmer).

For separasjon av de organiske syrene ble komponentene ført gjennom en Aminex HPX-87H kolonne (Bio Rad, CA, USA) ved hjelp av 5 mM svovelsyre (Merck, VWR) som mobilfase og en flow på 0,4 ml/min. Temperaturen i kolonnen var på 30 °C. Prøvene ble først kjørt gjennom en forkolonne av typen Cation-H refil (Bio Rad) for å beskytte kolonnen. Ved utgangen av kolonnen ble komponentene detektert ved hjelp av en UV-detektor med bølgelengde på 210 nm og en RI-detektor. Identifikasjonen av de organiske syrene og karbohydratene ble gjennomført ved å sammenligne retensjonstiden mot standarder av de ulike organiske syrer og karbohydrater.

Konsentrasjonen av de organiske syrene og karbohydratene i prøvematerialet ble beregnet ut ifra standarder av kjente komponenter. Standardene som ble benyttet var sitronsyre, α -ketoglutarsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, ravsyre, DL-melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre, DL-pyroglutaminsyre (Sigma), glukose, laktose, maltose, fruktose og galaktose (Merck, VWR).

3.4.2. Head Space Gas Chromatography

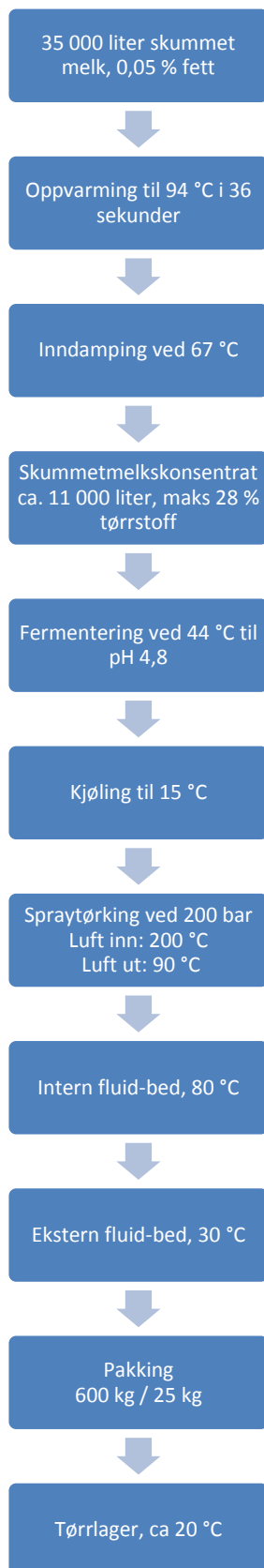
Metoden og fremgangsmåten er beskrevet av Narvhus et al. (1998). 10 g prøvemateriale ble overført til en N 20-20PE headspace flaske (Machery Nagel, Tyskland) og forseglet med Chromacol 20-CT3 teflonbelagt gummiseptum og Chromacol 20-ACB aluminiumshette. Yoghurtprøvene fra syrningsforsøkene kunne overføres direkte, mens yoghurtpulveret ble fortynnet i forholdet 1:10 med destillert vann i en 100 ml målekolbe, satt til omrøring på magnetrører i 5 minutter og deretter overført til headspace flasken.

Prøvene ble deretter plassert i en HP 7694 Headspace sampler med et 6890 GC system (Agilent, Wilmington, USA), en 900 serie "interface" (Perkin Elmer, Connecticut, USA) med en Parker 75-32 hydrogengenerator med trykk på 1,8 bar (Parker Hannifin UK Ltd., Kent, UK) og Total Chrom LC-terminal (Perkin Elmer). Headspace bad temperaturen var på 50 °C, manifoldtemperaturen var på 60 °C og ekvilibrerings tiden på 45 minutter. Injiseringsvolumet var på 1,0 ml, injiseringstiden var på 0,5 minutter og injektortemperaturen var på 180 °C.

Det ble kjørt med et temperaturprogram etter følgende forløp: Steg 1: 5 minutter ved 33 °C. Steg 2: 2 minutter ved 40 °C. Steg 3: 2 minutter ved 70 °C. Steg 4: 1 minutt ved 130 °C. Temperaturstigningen mellom steg 1 og 2 var 10 °C per minutt, mellom steg 2 og 3 var den 15 °C per minutt og mellom steg 3 og 4 var den 30 °C per minutt.

I gasskromatografi er mobilfasen en gass som ikke reagerer med analytten eller interfererer med deteksjonen. Komponentene i prøven ble i denne undersøkelsen ført ved hjelp av bæregass av type nitrogen 6,0 (Aga, Norge) med konstant bæregassflow på 5,0 ml per minutt. Komponentene ble separert på en CP-SIL5CB GC kolonne (Varian, Middeburg, Nederland). Kolonnenlengden var på 25 meter, hadde en indre diameter på 0,53 mm og filmtykkelse på 5,0 µm. Separasjonen av de ulike komponentene i prøven skyldes ulik grad av flyktighet og affinitet til den stasjonære fasen. Komponentene ble påvist ved hjelp av en flammeionisasjonsdetektor med en temperatur på 200 °C. En flammeionisasjonsdetektor er en destruktiv detektor hvor bæregassen blandes med en stråle hydrogengass som brennes i overskudd av oksygen. Konsentrasjonen av hver flyktige komponent ble beregnet ut fra standarder av kjente flyktige komponenter tilsatt vann. Standarder som ble benyttet i analysen var acetaldehyd, 2-butanon, etylacetat, 2-heksanol (Fluka, Sigma), 2-metyl-1-propanol (iso-butanol), 2-metyl-butanal, 3-metyl-butanal, 3-metyl-1-butanol (iso-amylalkohol), 2-metyl-1-butanol, 2-metyl-propanal, diacetyl (Sigma), 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, acetoin, iso-butylacetat, dimetylsulfid, aceton, 2,3-pentadion (Merck, VWR) og etanol (Kemetyl).

3.5. Yoghurtpulverproduksjon



Figur 20 – Flytskjema for yoghurtpulverproduksjon ved TMB.

I dette avsnittet vil produksjonslinjen for yoghurtpulver ved TMB bli beskrevet i henhold til forklaringer gitt av Jon Børre Uhr, Finn Åge Østerhagen og Erik Andresen som alle er arbeidsledere ved tørkeavdelingen ved TMB.

Før melka som benyttes i produksjonen pumpes fra melkemottaket og inn på silotanker i anlegget blir det tatt ut prøver til laboratoriet for mikrobiologisk kontroll samt utført en hurtigtest for kontroll av antibiotika. Melka blir deretter separert og det er skummetmelka med en fettprosent på ca. 0,05 % som benyttes til yoghurtpulverproduksjon. Skummetmelka pasteuriseres deretter ved 72 °C i 15 sekunder og kjøres inn på en lagertank med kjøling. Når det er klart for kjøring på tørkeanlegget varmes melka opp gradvis til ca 75 °C. Deretter blir melka utsatt for en direkte oppvarming med steam til 94 °C og overføres en holdercelle i 36 sekunder. Fra holdercellen fraktes melka til toppen av en fem-trinns inndamper av typen fallende film. Melka har nå en temperatur på ca 65 °C. I inndamperen varmes konsentratet opp fra rørenes utside med damp på 67 °C under trykk. Dette gir en koketemperatur på 63 °C i konsentratet. Her skjer inndampingen hvor 35 000 liter skummetmelk konsentreres til ca. 11 000 liter skummetmelkskonsentrat med maks. 28 % tørrstoff. Etter at konsentratet forlater fem-trinns inndamperen går linjen innom et siste trinn i inndampingsprosessen som kalles ”finish’ern”. Dette er en inndamper med egen oppvarmingsenhet og separator som fjerner det siste vannet ved en temperatur på omkring 47 °C. Etter dette trinnet måles egenvekta til konsentratet for å sjekke tørrstoffinnholdet. Denne vekta styrer hastigheten på vifta som komprimerer dampen som kjøres inn på fem-trinnsinndamperen. Inndampingsprosessen er kontinuerlig og bruker ca. 4 timer på å konsentrere opp en kjøring på 35 000 liter. Konsentratet blir dermed overført litt etter litt til syringstanken og det tilsettes 500 gram syrekultur når tanken inneholder ca. 3 000 liter konsentrat. Konsentratet har her en temperatur på ca 47 °C og

kjøles ned til 44 °C gjennom et plateapparat koblet til tanken. Syrekulturen som benyttes er en frossen DVS-kultur fra Chr. Hansen og tilsettes direkte til konsentratet i syrningstanken. Det byttes på mellom to typer yoghurtkulturer, YC-471 og YC-183, når man finner det for godt. Før hver syrning vaskes og steriliseres syrningstanken. Inkuberingstemperaturen under fermentering holdes på 44 °C ved at det syrnende konsentratet pumpes gjennom et plateapparat og deretter tilbake via en kobling i toppen av den liggende syrningstanken. Tankens røreverk består av propell plassert nederst i ene enden av tanken. Når alt skummetmelkskonsentrat har kommet inn på tanken måles det pH med jevne mellomrom til en når pH 4,8. Da kjøles konsentratet ned til 15 °C og overføres til en buffertank for å sikre jevn tilflyt av konsentrat under tørkeprosessen. Det benyttes en spraytørke med fire trykkdyser som opererer ved 200 bar. Varmluft blåses inn fra toppen parallelt med konsentratet med en temperatur på ca 200 °C. Lufttemperaturen ut fra tørka er på ca 90 °C. Fine partikler som følger luftstrømmen separeres ved bruk av syklon og føres tilbake til toppen av tørka. Her sprayes partiklene ut i midten av de fire konsentratdysene som medfører tvungen sekundær agglomerering. I bunn av tørkekammeret møter pulverpartiklene en intern fluid-bed hvor det blåses luft fra undersiden med en temperatur på 80 °C. Deretter fraktes pulveret videre til en ekstern fluid-bed med vibrerende perforert bånd som foretar den siste ettertørkingen og kjøler pulveret ned til 25 – 30 °C. Pulveret føres herfra gjennom en sikt og pakkes i storsekker à 600 kg eller småsekker à 25 kg og oppbevares på tørrlager ved ca. 20 °C. Pulverprøver til kjemiske analyser ble tatt ut fra ferdigpakke småsekker.

3.6. Analyser av yoghurtpulver

Analyser av ferdig yoghurtpulver ble utført ved driftslaboratoriet på TMB. Her ble det analysert med hensyn på lukt og smak, utseende, bulk tetthet, brente partikler, pH, tørrstoff i pulver og fett i pulver. Det ble også utført salmonellaanalyse og mikrobiologiske analyser med hensyn på *Staphylococcus (Staph.) aureus*, *Bacillus (B.) cereus*, koliforme bakterier, mugg og gjær. Disse analysene ble utført på en samleprøve fra alle paller fra den aktuelle produksjonen.

3.6.1. Lukt og smak

Lukt og smak ble bedømt etter en hedonisk skala fra 1 til 5 hvor 5 representerer utmerket produkt. Yoghurtpulveret skal ha en syrlig, frisk smak av yoghurt.

3.6.2. Utseende

Yoghurtpulverets utseende ble bedømt visuelt etter en hedonisk skala fra 1 til 5 hvor 5 representerer utmerket produkt med en hvit til gulhvite farge som var fri for klumper og uregelmessigheter.

3.6.3. Bulk tetthet

For å måle pulverets bulk tetthet ble det benyttet en tetthetsmåler utformet i henhold til metode IDF 134 (IDF 134 2005). 100 gram pulver ble veid inn i en målesylinder og satt i et stampevolumeter (J. Engelsmann A.-G., Tyskland) som så stampet 500 ganger. Deretter ble volumet i cylinderen avlest.

3.6.4. Brente partikler

Brente partikler ble observert ved å løse 25 gram pulver i vann og filtrere gjennom et filterpapir. De brente partiklene vil ikke løses opp i vann og samles opp på filterpapiret. Filterpapiret ble sammenlignet med standarder i henhold til ADPI (2009).

3.6.5. pH

10 gram yoghurtpulver ble blandet med 90 gram destillert vann temperert til 40 °C. Løsningen ble ristet godt og satt en time i romtemperatur for at pulveret skulle løses opp og løsningen kjøles ned. pH ble målt med et digitalt pH-meter (pHM 210 Standard pH meter, Radiometer Analytical S. A., Frankrike).

3.6.6. Tørrstoff

Tørrstoffanalyse ble utført i henhold til metode IDF 26A (1993). 1 g pulver ble veid opp i en aluminiumsroundell og tørket ved 102 °C i 2 timer. Deretter ble roundellen satt til nedkjøling i eksikator i 1 time før veiing av prøven.

3.6.7. Fett

Analyse av fettinnhold i pulver ble utført etter metode IDF 9C (1987). 0,5 g pulver ble løst i 10 ml destillert vann temperert til 65 °C. Prøven ble tilsatt 2 ml ammoniakk og deretter satt i vannbad på 65 °C i 15 minutter. Etter avkjøling til romtemperatur ble det tilsatt 2 dråper bromtymolblått, 10 ml etanol og 25 ml dietyleter. Innholdet ble blandet før det ble tilsatt 25 ml petroleter og blandet igjen. Prøvene ble sentrifugert i 5 minutter og eterfasen ble dekantert over i en erlenmeyerkolbe. Det ble utført en ekstraksjon til med 15 ml dietyleter og 15 ml petroleter. Erlenmeyerkolben ble så satt til inndamping og deretter i varmeskap på 102 °C i 1,5 time. Etter avkjøling i eksikator ble prøvene veid.

3.6.8. Salmonellaanalyse

Salmonellaanalyse ble utført med BioControl 1-2 TEST (BioControl Systems, USA) som er godkjent gjennom AOAC Official method 989.13 (AOAC International 2000). Metoden er en kvalitativ hurtigmetode for påvisning av salmonella i næringsmidler som baserer seg på observasjon av salmonellabakteriens immobilitet i et bevegelig medium. Dersom det er bevegelige salmonellabakterier i produktet vil de bevege seg oppover i en peptonbasert gel til de møter et antistoff tilsatt i andre enden. Resultatet ble avlest som påvist eller ikke påvist i prøven. Dersom et tydelig tredimensjonalt immunobånd av celler ble observert øverst i gelen, var prøven positiv.

3.6.9. Mikrobiologiske analyser

Samleprøven samt en start- og stopprøve fra produksjonen ble fortynnet med Ringers løsning og benyttet til videre utsåing.

For analyse av *B. cereus* ble det benyttet platespredning på MOSSEL agar (Merck, Tyskland) og aerob inkubering i et døgn ved 30 °C.

Koliforme bakterier ble analysert ved innstøpning med VRBA (Merck, Tyskland) som ble inkubert ved 37 °C i et døgn.

For analyse av mugg og gjær ble det benyttet platespredning på Dicloran-Glyserol (DG18) agar (Merck, Tyskland) og aerob inkubering ved 25 °C i fem døgn.

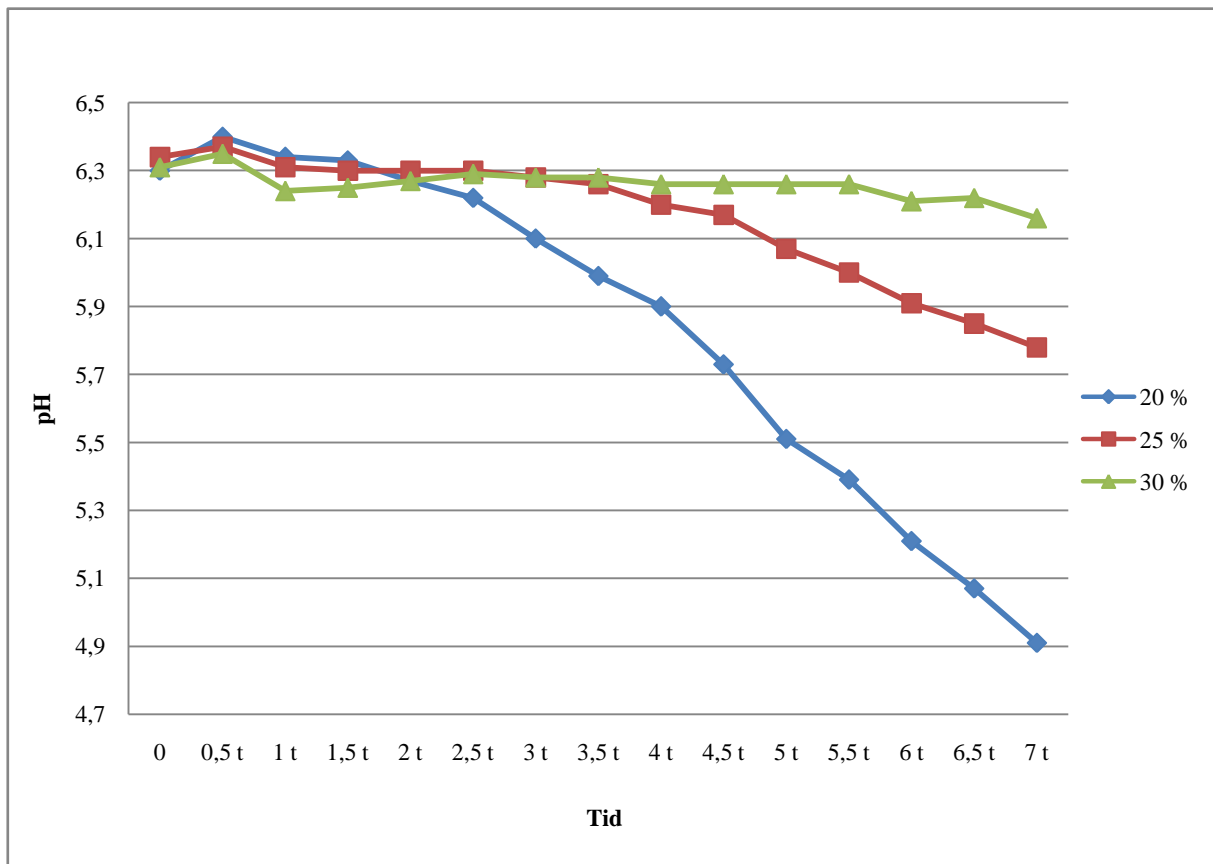
For analyse av *Staph. aureus* ble det benyttet Petrifilm™ Staph Express Count Plate (3M Microbiology, USA). Petrifilmplaten består av et modifisert Baird-Parker medium som er selektivt for *Staph. aureus* og forekommer som rød-fiolette kolonier på filmen dersom de er til stede i produktet. Petrifilmplaten ble inkubert aerobt ved 37 °C i et døgn.

4. Resultater

Resultatdelen er inndelt i tre deler; syrningsforsøk av skummetmelkskonsentrat og kjemiske analyser som er utført på UMB, samt analyser av ferdig yoghurtpulver som er utført ved TMB.

4.1. Syrning

Det ble utført et forforsøk hvor en syrnede skummetmelkskonsentrat med tørrstoffinnhold på henholdsvis 20 %, 25 % og 30 %. Konsentratprøvene ble inokulert med syrekultur YC-471 og det ble målt pH hver halve time i sju timer. Resultatene fra disse målingene er grafisk fremstilt i figur 21.



Figur 21 – Syrningstest av skummetmelkskonsentrat med YC-471.

Syrningskurvene i figur 21 viser ulik syrningsaktivitet i de forskjellige konsentratprøvene. I løpet av de 7 timene syrningen pågikk hadde konsentratprøven med 20 % tørrstoff en jevnt synkende syrningskurve og syrnede til pH 4,9. Prøven med 25 % tørrstoff viste også en jevnt synkende syrningskurve og oppnådde ca. pH 5,8 etter 7 timers syrning. Prøven med 30 % tørrstoff endte på pH 6,15 og viste liten grad til syrning.

Gjennom syrningsforløpet ble det hver hele time i 6 timer tatt ut prøver til mikrobiologisk analyse og veksten av *S. thermophilus* er vist i tabell 2.

Tabell 2 – Vekst av *S. thermophilus* på M17-agar ved syrning av skummetmelkskonsentrat med YC-471.

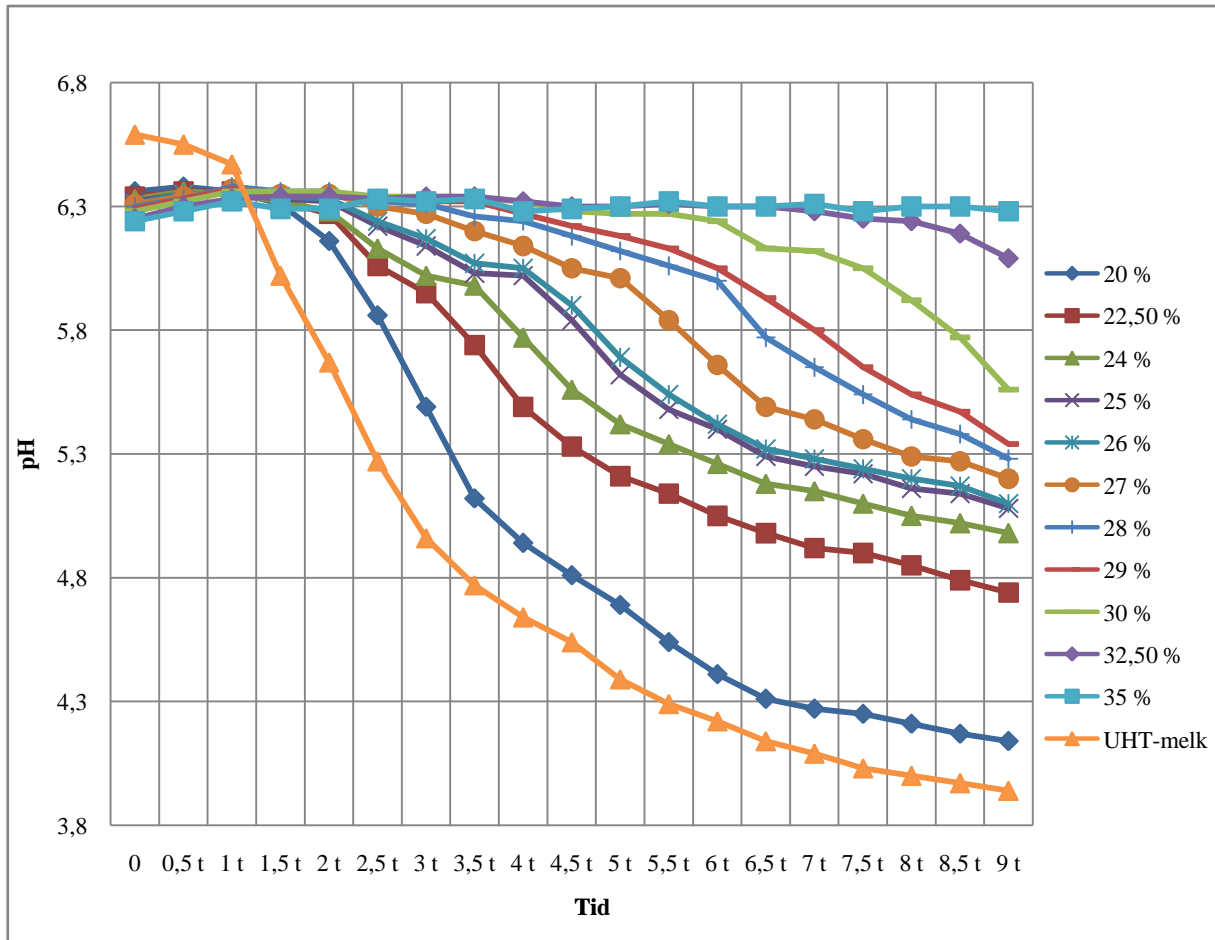
Verdiene er oppgitt som log kde/ml.

Tid							
TS	0 t	1 t	2 t	3 t	4 t	5 t	6 t
20 %	6,45	6,15	6,54	7,95	8,83	9,16	9,07
25 %	6,38	6,15	6,00	6,00	7,00	7,99	8,34
30 %	6,71	6,34	6,30	6,30	6,00	6,00	6,48

Resultatene i tabell 2 viser at det ikke forekommer vekst av *S. thermophilus* i konsentrat med 30 % tørrstoff og etter 6 timer er bakterietallet i prøven lavere enn mengden som opprinnelig ble inokulert. Etter 1 time sank bakterietallet noe i alle tre konsentratprøver. Etter to timer vokste *S. thermophilus* raskest opp i konsentratet med 20 % tørrstoff og nådde et celletall på 9,07 log kde/ml etter 6 timer. I konsentratet med 25 % tørrstoff brukte bakteriene noe lenger tid før celletallet økte, men mellom time 4 og time 6 i fermenteringen vokste celletallet fra 7,00 til 8,34 log kde/ml.

De syrnede konsentratprøvene ble også sådd ut på MRS-agar som var justert til pH 5,2 for vekst av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Disse skålene viste ingen vekst. Etter forforsøket ble derfor to prøver med UHT-lettmelk syrnet med henholdsvis YC-471 og YC-183. Prøvene ble syrnet ned til pH 4,56 og innstøpt med MRS-agar som ikke var pH-justert. Av bakteriekoloniene som vokste opp på skålene ble det tillaget mikroskoppreparater. Ved mikroskopering kunne en observere at de fremvokste bakteriene var stavformede.

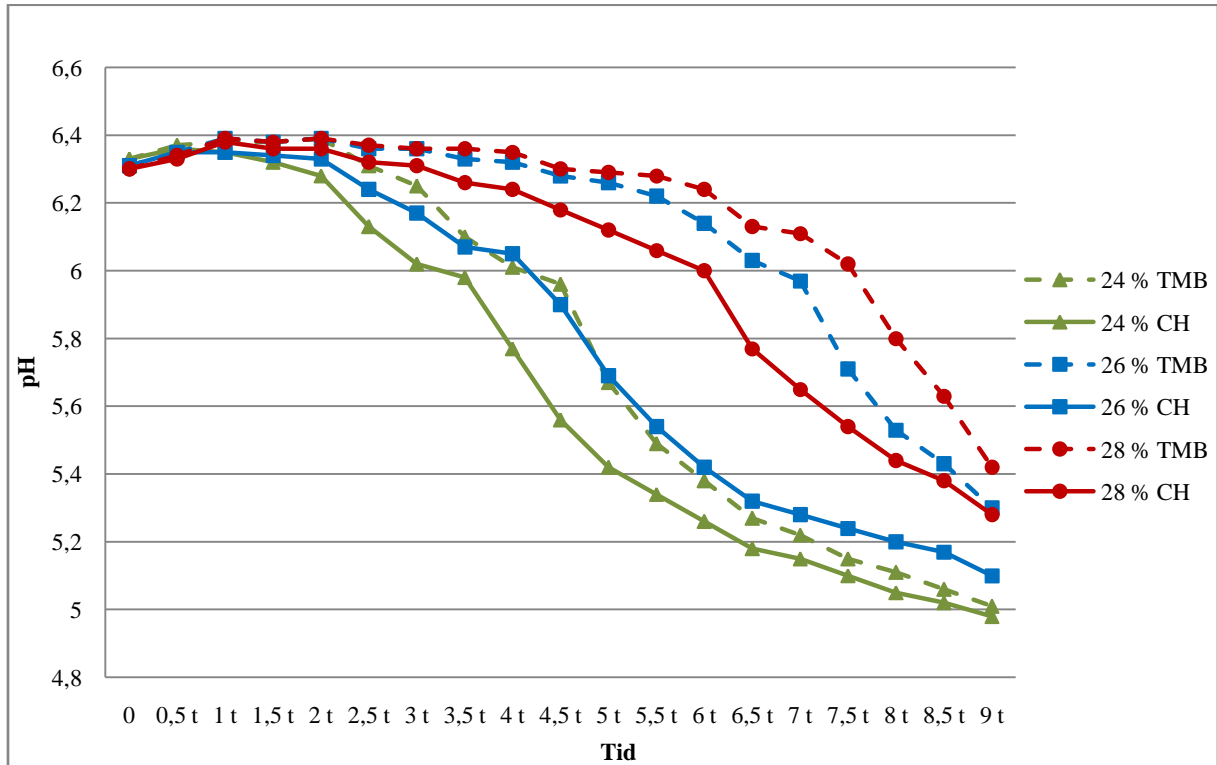
Det ble tillaget 11 prøver av skummetmelkskonsentrat med ulikt tørrstoffinnhold fra 22 % til 35 %. Disse prøvene ble inokulert med 0,02 % YC-471. I tillegg ble en prøve bestående av UHT-melk inokulert og inkubert på samme måte. Hver halve time ble det målt pH i prøvene og resultatene vises i figur 22.



Figur 22 – Syrning av skummetmelkskonsentrat med YC-471.

Syrningskurvene i figur 22 viser at lavere tørrstoffinnhold i konsentrat gir økt syrningsgrad. UHT-melka syrnet raskest og oppnådde den laveste pH-verdien på ca. 3,9 etter 9 timers syrning. Konsentratprøven med 20 % tørrstoffinnhold hadde samme syrningsmønster som UHT-melka og relativt rask syrning, men lå hele tiden noe høyere i pH-verdi. Ved yoghurtpulverproduksjon ved TMB er det ønskelig med pH 4,80 i konsentrat før tørking. UHT-melka samt konsentratprøvene på 20 % og 22,5 % var de eneste prøvene som i løpet av de 9 timene nådde pH 4,80. Prøven med 20 % tørrstoff brukte 4,5 t for å nå pH 4,8, mens prøven med 25 % tørrstoff brukte 8,5 t. Prøven med 35 % tørrstoff var den eneste prøven hvor det ikke ble registrert reduksjon i pH.

For å sammenligne podemengden som benyttes i yoghurtpulverproduksjonen ved TMB med podemengden som anbefales av syrekulturprodusenten, ble det i samme forsøk syrnede tre ekstra prøver med tørrstoffinnhold på henholdsvis 24 %, 26 % og 28 %. Disse prøvene ble inokulert med 0,005 % YC-471, og sammenlignet med den anbefalte podemengde på 0,02 %, og ellers behandlet likt som de resterende prøvene.



Figur 23 – Syrning av skummetmelksskonsentrat med to ulike podemengder av YC-471.

TMB = Inokuleringsmengde 0,005 % tilsvarende yoghurtpulverproduksjon ved TMB. CH = Inokuleringsmengde 0,02 % anbefalt av syrekulturprodusent Chr. Hansen.

I figur 23 vises syrningskurvene for konsentratprøvene med tørrstoffinnhold på 24 %, 26 % og 28 % inokulert med to ulike podemengder. De parvise prøvene med likt tørrstoffinnhold hadde relativt like syrningskurver fra start, men etter 2 timer økte syrningsaktivitet kraftigere i prøvene med 0,02 % podemengde. Etter 9 timer hadde prøve 24 % TMB og prøve 24 % CH samme pH på ca. 5,0. Prøve 26 % CH hadde syrnede til ca. pH 5,1, som er lavere enn pH i prøve 26 % TMB. Det var samme pH i prøve 26 % TMB og prøve 28 % CH etter 9 timer. Prøve 28 % TMB, som hadde lav podemengde og høyest tørrstoffinnhold av de seks prøvene, syrnede dårligst og oppnådde pH 5,45 etter 9 timer.

Gjennom syrningsforsøket ble det tatt ut prøver til mikrobiologiske analyser hver hele time i 6 timer. Det ble sådd ut med fortyninger estimert ut i fra resultatene fra forforsøket. Vekst av *S. thermophilus* i de ulike konsentratprøvene er oppsummert i tabell 3.

Tabell 3 - Vekst av *S. thermophilus* på M17-agar ved syrning av skummetmelkskonsentrat med YC-471.
Verdier er oppgitt i log kde/ml.

TS \ Tid	Tid						
	0 t	1 t	2 t	3 t	4 t	5 t	6 t
20 %	6,72	6,41	7,80	8,79	9,16	9,12	8,98
22,5 %	6,51	6,40	7,08	8,54	9,03	9,09	9,22
24 %	6,46	6,20	7,08	7,36	8,67	9,11	9,09
24 % TMB	5,81	5,05	5,79	6,08	7,00	8,52	8,91
25 %	6,51	6,26	6,38	7,20	8,54	9,07	9,14
26 %	6,38	6,15	6,23	6,26	6,59	8,67	9,07
26 % TMB	5,96	5,38	5,28	5,79	5,52	6,18	7,43
27 %	6,48	6,11	6,08	6,26	7,23	8,88	8,86
28 %	6,32	5,98	6,30	6,00	6,53	8,26	9,00
28 % TMB	6,04	5,41	5,43	5,36	5,54	5,61	6,08
29 %	6,41	5,96	5,94	5,98	6,11	7,46	8,51
30 %	6,41	6,20	6,04	5,93	5,99	6,60	6,99
32,5 %	6,34	6,26	5,89	5,84	5,81	5,87	5,99
35 %	6,36	6,26	5,99	5,89	5,81	5,52	5,53

Ut i fra tabell 3 kan en se generelt at veksthastigheten av *S. thermophilus* øker, jo lavere tørrstoffinnholdet i skummetmelkskonsentratet er. Den hurtigste fremveksten fant en i konsentrat med 20 % tørrstoff, men her sank bakterietallet noe igjen de to siste timene da pH-verdiene var kommet under pH ca.4,00. Etter 6 timers syrning fant en det høyeste bakterietallet i konsentratet med 22,5 % tørrstoff med 9,22 log kde/ml. *S. thermophilus* vokste i alle konsentratprøver med lavere tørrstoff enn 30 %. I prøver med høyere tørrstoff sank antall streptokokker eller forble på samme nivå som podemengde.

Generelt ser en at i prøvene med mindre podemengde, bruker *S. thermophilus* lenger tid på å vokse opp til samme bakterietall som i prøver med samme tørrstoffinnhold og standard podemengde. I prøve 24 % TMB hadde streptokokkene etter 6 timer vokst til 8,91 log kde/ml som er i nærheten av samme antall som i prøve 24 %. I prøve 26 % TMB var antall streptokokker noe lavere, det ble registrert 7,43 log kde/ml etter 6 timer. Streptokokkene vokste ikke frem i prøve 28 % TMB.

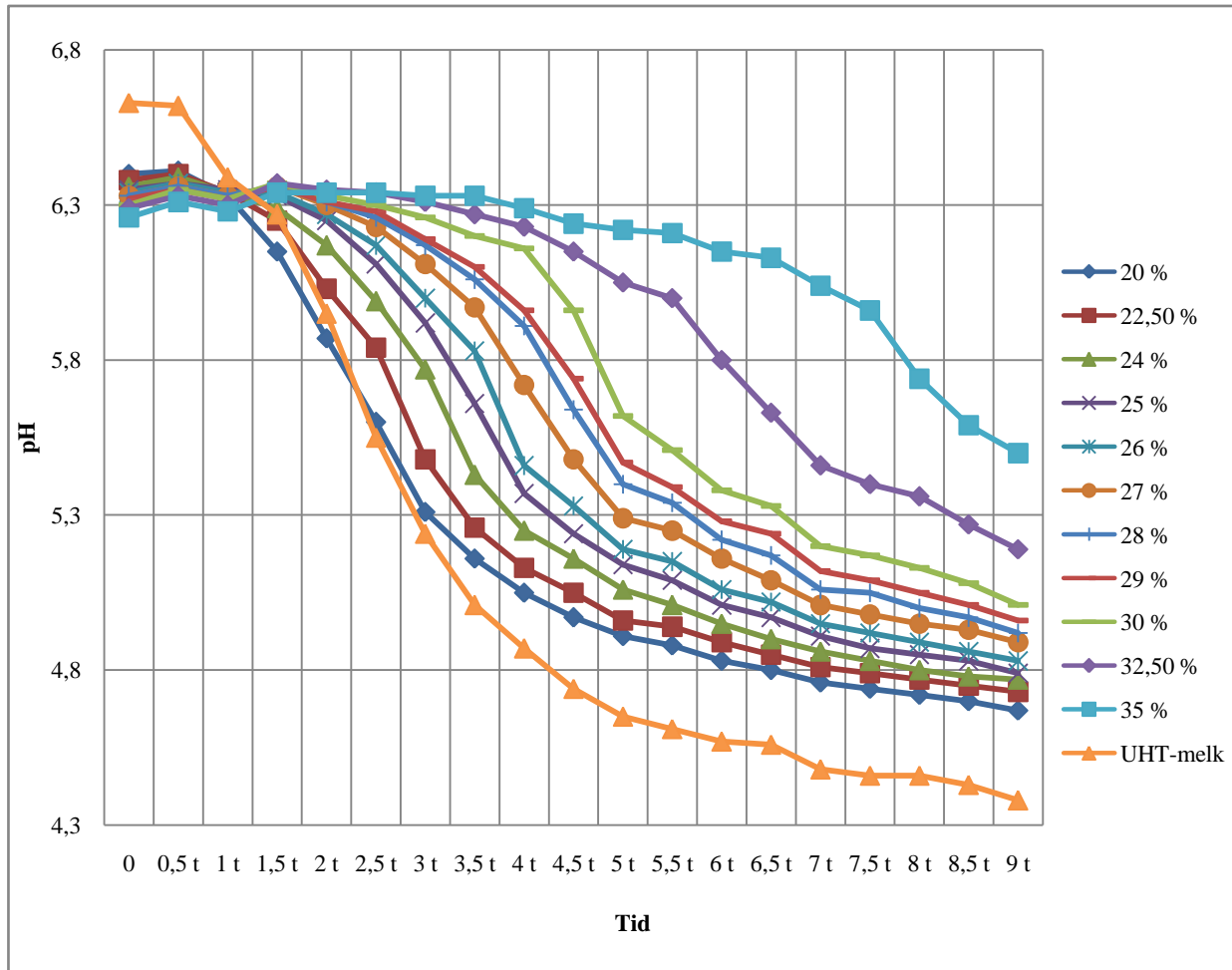
De syrnede konsentratprøvene ble også sådd ut på MRS-agar for å undersøke vekst av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Siden en ikke hadde resultater fra forforsøket å gå etter, antok en at de to bakteriestammene ville vokse opp noenlunde likt. Resultatene vises i tabell 4.

Tabell 4 - Vekst av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* på MRS-agar ved syrning av skummetmelkskonsentrat med YC-471. Verdier er oppgitt i log kde/ml.

Tid \ TS	0 t	1 t	2 t	3 t	4 t	5 t	6 t
20 %	4,04	3,95	4,34	5,32	5,49	6,20	6,65
22,5 %	4,04	4,15	3,48	4,20	5,18	5,64	6,11
24 %	4,15	4,23	3,30	< 3	3,47	< 4	< 4
24 % TMB	3,82	3,86	3,00	< 3	< 3	< 4	< 4
25 %	4,26	4,15	3,30	3,00	< 3	< 4	< 4
26 %	4,15	4,20	3,81	< 3	< 3	< 4	< 4
26 % TMB	3,78	3,58	< 3	< 3	< 3	< 4	< 4
27 %	4,04	4,00	< 3	< 3	< 3	< 4	< 4
28 %	3,94	3,99	< 3	< 3	< 3	< 4	< 4
28 % TMB	3,75	3,67	< 3	< 3	< 3	< 3	< 4
29 %	4,08	3,98	< 3	< 3	< 3	< 4	< 4
30 %	4,11	3,61	2,90	3,47	< 2	< 3	< 3
32,5 %	3,98	3,41	2,78	< 2	2,00	< 3	< 3
35 %	3,69	3,11	2,00	< 2	< 2	< 3	< 3

Selv om en hadde forventet at streptokokkene og laktobasillene skulle vokse opp noenlunde likt utover i syrningsforløpet, viser tabell 4 at dette ikke var tilfellet i mange av prøvene. Kun i prøvene med tørrstoffinnhold på 20 % og 22,5 % vokste laktobasillene frem og etter 6 timer var bakterietallene på henholdsvis 6,65 og 6,11 log kde/ml. For de resterende konsentratprøvene ble det registrert mange skåler uten vekst etter to timers syrning, dette fordi det ble sådd ut med for høye fortyninger i forhold til antall laktobasiller i prøvene. I konsentratprøvene med tørrstoff fra 24 % til 35 %, hvor en har registrert tellbare skåler fra start frem til to timers syrning, kan en observere synkende antall laktobasiller.

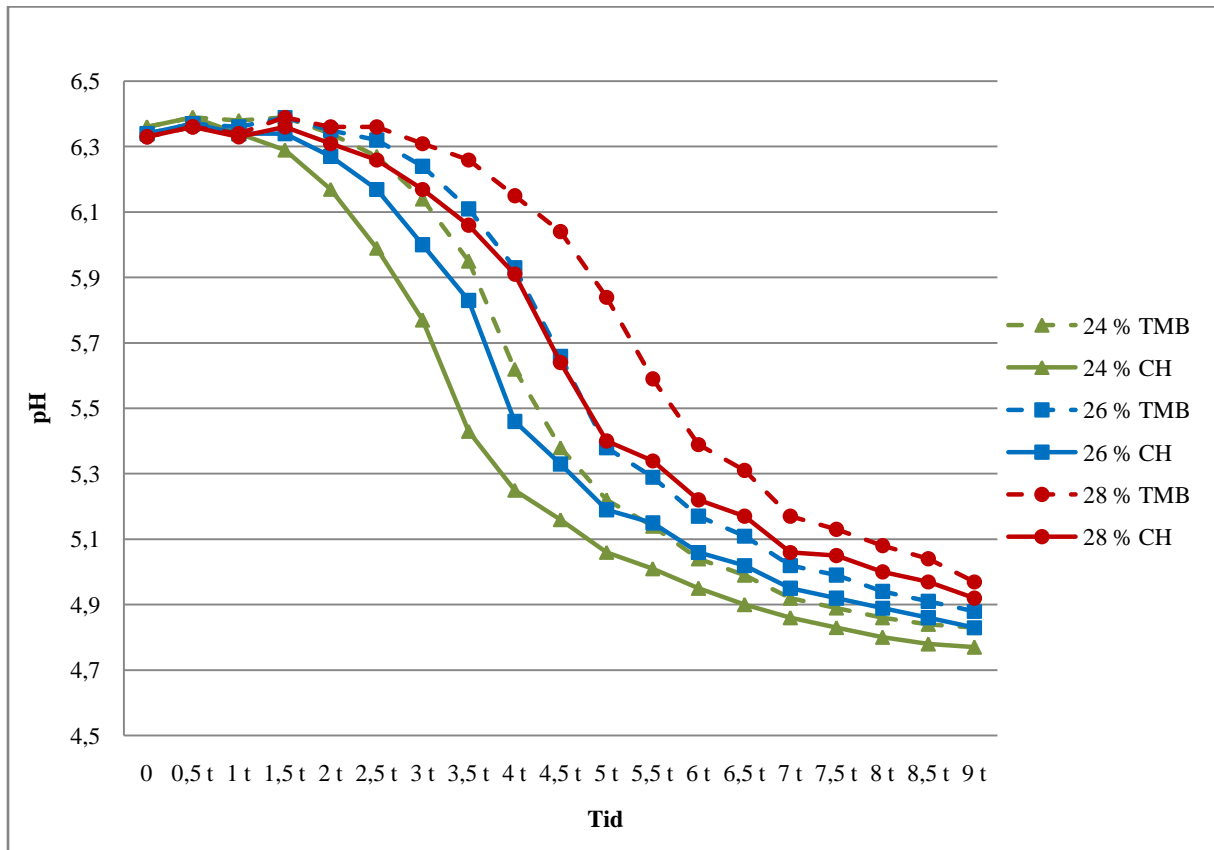
Det ble utført et nytt syrningsforsøk med samme forsøksoppsett, men i forsøk nummer to ble syrekulturen YC-471 byttet ut med YC-183. pH-målingene som ble registrert hver halve time gjennom syrningsforløpet er fremstilt i figur 24 nedenfor.



Figur 24 - Syrning av skummetmelksskonsentrat med YC-183.

Ved syrning med YC-183 nådde konsentratprøvene med 20 %, 22,5 %, 24 % og 25 % tørrstoff pH 4,8 etter henholdsvis 6,5 t, 7 t, 8 t og 9 t. I figur 24 ser en at samtlige konsentratprøver gjennom syrningsforløpet har hatt en reduksjon i pH i en eller annen grad. Konsentratprøvene med 32,5 % og 35 % tørrstoff hadde noe svakere syrningsgrad enn de resterende prøvene. Etter 9 timer hadde alle konsentratprøvene, med unntak av 32,5 % og 35 %, en pH-verdi mellom 4,7 og 5,0. UHT-melka hadde etter 9 timers syrning en pH-verdi nærmere 4,3.

Også i dette forsøket ble det i tillegg syret tre prøver, med tørrstoffinnhold på henholdsvis 24 %, 26 % og 28 %, hvor podemengden tilsvarte den mengden som benyttes ved TMB. I figur 25 vises pH-målingene fra de tre prøvene sammenlignet med pH-målingene av prøvene med samme tørrstoffinnhold og CH podemengde.



Figur 25 – Syrning av skummetmelkskonsentrat med to ulike podemengder av YC-183.

TMB = Inokuleringsmengde 0,005 %, tilsvarende yoghurtpulverproduksjon ved TMB. CH = Inokuleringsmengde 0,02 %, anbefalt av syrekulturprodusent Chr. Hansen.

Fra figur 25 kan en se at prøve 24 % TMB og 26 % CH samt prøve 26 % TMB og 28 % CH har svært like syrningskurver. Generelt synes prøvene med 0,02 % podemengde raskere enn prøver med TMB podemengde og samme tørrstoff. Etter 9 timers syrning hadde samtlige prøver en pH mellom 4,7 og 5,0.

Gjennom syrningsforløpet ble det tatt ut prøver til mikrobiologiske analyser hver time i 6 timer. Benyttede fortyninger ble estimert ut fra resultatene fra syrningsforsøket med YC-471. Vekst av *S. thermophilus* gjennom syrningsforløpet med YC-183 er oppsummert i tabell 5 nedenfor.

Tabell 5 - Vekst av *S. thermophilus* på M17-agar ved syrning av skummetmelkskonsentrat med YC-183.
Verdier er oppgitt i log kde/ml.

Tid							
TS	0 t	1 t	2 t	3 t	4 t	5 t	6 t
20 %	6,49	7,07	8,01	9,04	9,05	9,05	8,27
22,5 %	6,36	6,84	7,40	8,76	9,09	9,11	9,01
24 %	6,23	6,75	7,20	8,72	9,19	9,25	9,28
24 % TMB	5,56	6,18	7,18	7,94	9,19	9,4	9,32
25 %	6,34	6,60	7,28	8,57	9,34	9,31	9,28
26 %	6,36	6,61	7,04	8,03	9,27	10,16	10,41
26 % TMB	5,86	6,08	6,76	7,48	9,02	9,30	9,25
27 %	6,23	6,43	6,93	7,95	9,00	8,30	9,36
28 %	6,28	6,28	6,90	7,46	9,15	9,31	9,35
28 % TMB	5,86	6,04	6,34	7,04	7,98	8,59	9,18
29 %	6,30	6,28	6,87	7,41	8,63	9,22	9,46
30 %	6,00	6,30	6,74	7,18	8,32	8,93	8,98
32,5 %	6,40	6,04	6,38	7,18	7,41	8,28	8,77
35 %	6,83	6,15	6,18	6,53	6,79	7,18	7,68

Ut i fra tabell 5 kan en se en at *S. thermophilus* vokste i samtlige prøver. Den raskeste fremvekst av streptokokker fant man i prøven med lavest tørrstoffinnhold, men her avtok antall streptokokker noe etter femte time i syrningsforløpet. Høyest antall streptokokker etter 6 timers syrning er registrert i prøven med 26 % tørrstoffinnhold med 10,41 log kde/ml. Prøvene med mindre podemengde har naturlig nok et lavere antall streptokokker ved starten av syrningen enn prøvene med standard podemengde. Utover i syrningen ser en imidlertid at streptokokkene vokser til omtrentlig samme antall i prøvene uavhengig av podemengden tilsatt ved start. En generell trend for resultatene i tabell 5 er at antall streptokokker er lavere gjennom syrningsforløpet i prøver med høyt tørrstoffinnhold, enn i prøvene med lavere tørrstoffinnhold.

Vekst av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* gjennom syrningsforløpet ble også undersøkt og resultatene er oppsummert i tabell 6. Med utgangspunkt i resultatene fra det første syrningsforsøket ble det sådd ut med lave fortyninger i håp om å oppnå tellbare skåler for alle prøver.

Tabell 6 - Vekst av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* på MRS-agar ved syrning av skummetmelksskonsentrat med YC-183. Verdier er oppgitt i log kde/ml.

Tid							
TS	0 t	1 t	2 t	3 t	4 t	5 t	6 t
20 %	3,57	3,57	3,69	3,63	3,61	3,70	3,00
22,5 %	3,46	3,61	3,46	2,9	< 2	< 2	< 2
24 %	5,71	3,78	3,68	3,57	3,52	3,38	3,36
24 % TMB	3,49	3,32	3,51	3,49	3,45	3,30	3,15
25 %	3,76	3,80	3,81	3,60	3,38	3,30	3,23
26 %	3,62	3,65	3,72	3,53	3,41	3,27	3,11
26 % TMB	3,52	3,51	3,46	3,40	3,30	3,26	3,18
27 %	3,69	3,61	3,53	3,49	3,45	3,11	3,08
28 %	3,58	3,72	3,66	3,53	3,46	3,36	3,32
28 % TMB	3,52	3,54	3,47	3,41	3,32	3,28	3,18
29 %	3,81	3,49	3,45	3,43	3,20	3,08	2,76
30 %	3,68	3,56	3,48	3,48	3,41	3,30	2,98
32,5 %	3,75	3,60	3,56	3,52	3,38	3,18	3,08
35 %	3,83	3,68	3,52	3,43	3,34	3,18	2,95

Resultatene i tabell 6 viser at laktobasillene i syrekultur YC-183 ikke vokste frem i noen av konsentratprøvene. Det ble observert en svak økning i prøven med 20 % tørrstoff etter to timer og i prøvene med 22,5 % og 24 % tørrstoff etter 1 time. Deretter sank antall laktobasiller igjen, men døde ikke i vesentlig grad. Dette betyr at de muligens holdt seg i live, men var ikke i stand til å vokse i den forstand at de gikk inn i celledeling (Abrahamsen 2011). Etter 6 timer var det et lavere antall levedyktige laktobasiller til stede enn ved inokulering. Ved å sammenligne med resultatene i tabell 5 kan en observere at antall laktobasiller ved start er betydelig lavere enn antall streptokokker ved start i samme prøve.

4.2. Kjemiske analyser

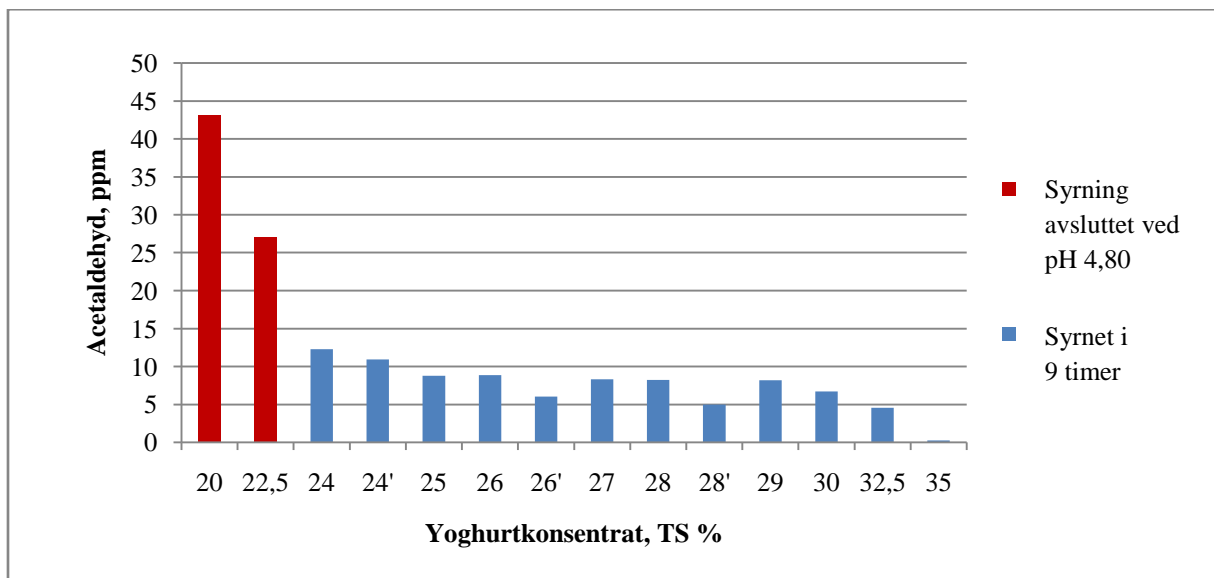
De kjemiske analysene ble utført ved hjelp av HSGC og HPLC. En prøve bestående av usyrnet skummetmelkskonsentrat ble analysert for å kartlegge hvilke mengder flyktige aromakomponenter og organiske syrer konsentratet har i utgangspunktet før syrekulturens fermentering. Resultatene vises i tabell 7.

Tabell 7 – Flyktige aromakomponenter og organiske syrer i usyrnet skummetmelkskonsentrat.

TS	Laktose (ppm)	Melkesyre (ppm)	Acetaldehyd (ppm)	Etanol (ppm)	Aceton (ppm)	Diacetyl (ppm)	Acetoin (ppm)
25 %	136 924	0	0,03	0,18	0,55	0	0

Usyrnet skummetmelkskonsentrat med et tørrstoffinnhold på 25 % inneholdt 136 924 ppm laktose som tilsvarer ca. 13,7 %. Tabell 7 viser også at konsentratet ikke inneholdt melkesyre, diacetyl eller acetoin og kun svært små mengder acetaldehyd, etanol og aceton.

Under syrningsforsøkene ble det tatt ut prøver til kjemiske analyser ved pH 4,80 ettersom det er ved denne pH-verdien at syrningen avsluttes ved yoghurtpulverproduksjon ved TMB. De prøvene som ikke oppnådde så lav pH, ble kjølt ned og analysert etter 9 timers syring. Prøvene til kjemisk analyse hadde dermed ulik pH ved analysetidspunkt. Innhold av acetaldehyd i konsentratprøvene syrnede med YC-471 er vist i figur 26.



Figur 26 – Innhold av acetaldehyd i yoghurtkonsentrat syrnede med YC-471

I syrningsforsøket med YC-471 var det to prøver som nådde pH 4,80 innen 9 timer var passert. Prøven som inneholdt 20 % tørrstoff ble kjølt ned etter 4,5 t og prøven med 22,5 % tørrstoff ble kjølt ned etter 8,5 t. Figur 26 viser at dette også er de to prøvene hvor det ble produsert mest acetaldehyd (henholdsvis 43 og 27 ppm). I de andre konsentratprøvene ble innholdet av acetaldehyd lavere når tørrstoffinnhold i konsentratene økte. Prøven med 35 % tørrstoff var den eneste prøven hvor det ikke ble dannet noe acetaldehyd. En observerer også at det generelt ble produsert mindre acetaldehyd i prøvene med liten podemengde, sammenlignet med prøvene med likt tørrstoffinnhold og standard podemengde.

De kjemiske analysene bestemte innhold av laktose og en rekke flyktige aromakomponenter og organiske syrer i yoghurtkonsentratprøvene. I tabell 8 er det presentert resultater for laktose, melkesyre, etanol, aceton, diacetyl og acetoin som sammen med acetaldehyd har størst betydning for smaksprofilen i yoghurt.

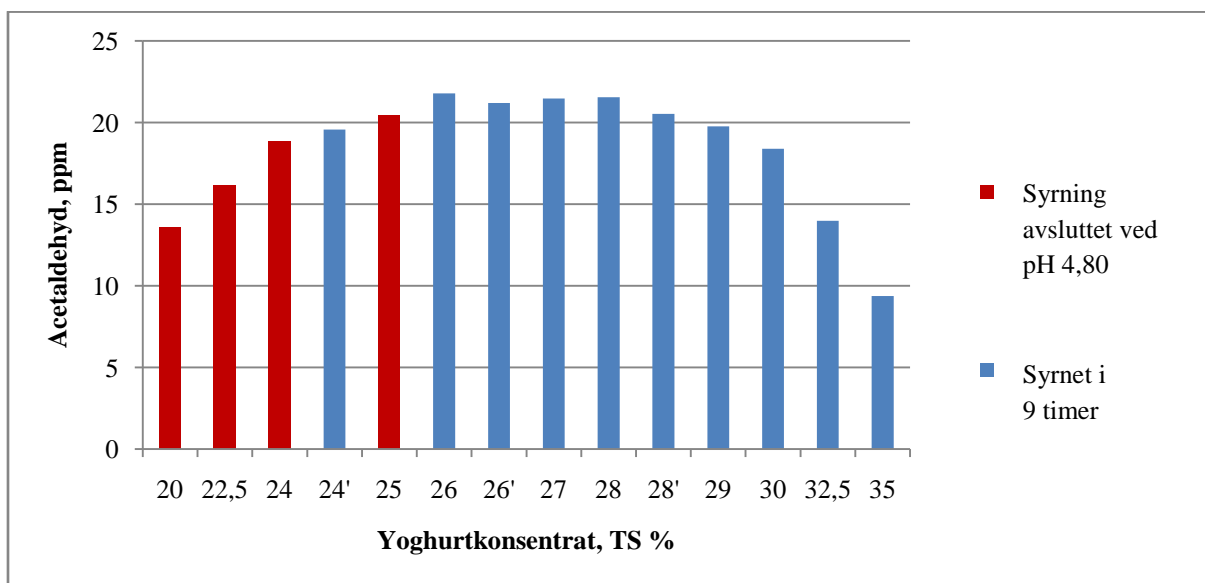
Tabell 8 – Flyktige aromakomponenter og organiske syrer i yoghurtkonsentrat syrnet med YC-471.

TS	Laktose (ppm)	Melkesyre (ppm)	Etanol (ppm)	Aceton (ppm)	Diacetyl (ppm)	Acetoin (ppm)
20 %	76 839	13 165	1,24	0,91	1,11	85,19
22,5 %	75 076	14 149	3,21	1,36	1,07	116,31
24 %	87 120	10 629	2,99	1,05	1,52	84,53
24' %	92 243	9 825	3,74	0,89	1,73	103,46
25 %	90 875	9 638	3,4	1,02	1,75	95,31
26 %	91 374	9 442	2,99	1,04	1,42	91,81
26' %	107 765	6 990	4,15	0,93	2,35	95,05
27 %	96 763	9 080	2,33	1,04	1,26	85,53
28 %	108 797	8 203	2,57	1,09	1,97	103,45
28' %	117 129	6 672	3,68	0,96	2,21	140,54
29 %	106 757	7 840	2,88	1,14	2,38	118,33
30 %	117 534	6 206	3,14	1,14	3,52	140,51
32,5 %	128 367	2 972	1,46	1,19	1,55	151,37
35 %	135 690	574	0,77	1,29	0,19	21,78

I tabell 8 kan en se at prøvene med høyest innhold av melkesyre, hadde de laveste laktosenivåene og lavest tørrstoffinnhold. I prøvene med mindre podemengde ble det generelt produsert mindre melkesyre enn i prøvene med samme tørrstoffinnhold og standard podemengde. Det viste seg at det i

prøven med 35 % tørrstoff ble produsert svært små mengder melkesyre og smakskomponenter sammenlignet med de resterende prøvene. En observerte også at prøven med 20 % tørrstoff inneholdt mindre melkesyre enn prøven med 22,5 % tørrstoff. I tillegg inneholdt prøven med 20 % tørrstoff generelt lavere nivåer av flyktige smakskomponenter enn de resterende prøvene, med unntak av prøven med 35 % tørrstoff.

I syrningsforsøket med YC-183 nådde tre av konsentratprøvene pH 4,80 før 9 timer var passert. Prøvene med tørrstoffinnhold på 20 %, 22,5 % og 24 % ble kjølt ned etter henholdsvis 6,5 t, 7,5 t og 8 t. Innhold av acetaldehyd i konsentratprøvene vises i figur 27.



Figur 27 – Innhold av acetaldehyd i yoghurtkonsentrat syrnert med YC-183

En ser i figur 27 at det ved syring med YC-183 ble produsert acetaldehyd i samtlige konsentratprøver. Mest acetaldehyd ble det produsert i prøvene med 26 %, 26' %, 27 % og 28 % tørrstoff som alle inneholdt i overkant av 20 ppm acetaldehyd. Dersom en tar utgangspunkt i prøven med 26 % tørrstoff, ser en at det er produsert gradvis mindre acetaldehyd i prøvene med synkende tørrstoffinnhold i konsentrat. Dette er også tilfellet i prøvene der tørrstoffinnholdet øker; en ser gradvis lavere acetaldehydinnhold fra prøven med 28 % tørrstoff til prøven med 35 % tørrstoff. Sistnevnte inneholdt minst acetaldehyd (ca. 9 ppm).

Det ble også bestemt innhold av laktose, melkesyre, etanol, aceton, diacetyl og acetoin i yoghurtkonsentratprøvene syrnnet med YC-183. Resultatene fra disse analysene vises i tabell 9 nedenfor.

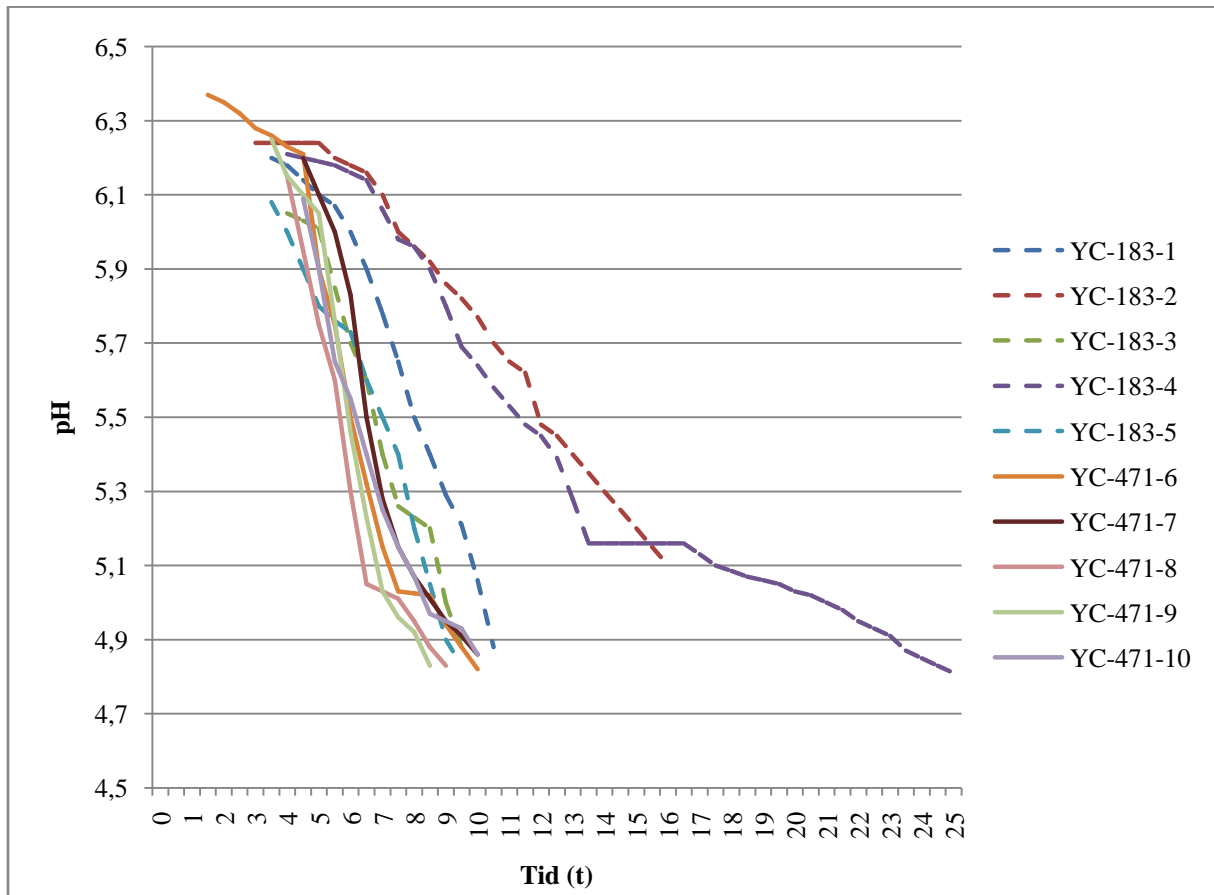
Tabell 9 – Flyktige aromakomponenter og organiske syrer i yoghurtkonsentrat syrnnet med YC-183

TS	Laktose (ppm)	Melkesyre (ppm)	Etanol (ppm)	Aceton (ppm)	Diacetyl (ppm)	Acetoin (ppm)
20 %	81 408	12 984	3,64	0,87	1,14	87,23
22,5 %	90 073	12 514	3,49	1,05	1,06	95,76
24 %	87 172	14 247	3,42	1,17	1,27	86,01
24 % TMB	92 564	13 811	3,52	1,11	1,00	98,63
25 %	90 146	14 085	3,42	1,26	1,03	104,44
26 %	102 764	14 655	4,44	1,39	1,40	135,88
26 % TMB	97 542	13 831	4,56	1,32	1,51	137,29
27 %	103 015	13 969	4,2	1,38	1,30	168,37
28 %	101 630	10 988	4,17	1,53	1,71	154,59
28 % TMB	111 902	12 621	4,1	1,43	1,90	157,54
29 %	105 320	13 546	4,29	1,52	1,97	155,52
30 %	111 816	12 737	4,12	1,6	2,23	157,11
32,5 %	124 364	10 468	4,81	1,73	2,33	159,04
35 %	126 982	7 898	5,21	1,93	2,03	143,49

Tabell 9 viser at det ble produsert mest melkesyre (14 655 ppm) i prøven med 26 % tørrstoff i konsentrat. Generelt lå melkesyrenivået i prøvene mellom 10 – 15 000 ppm som tilsvarer mellom 1 – 1,5 % melkesyre. Et unntak er prøven med 35 % tørrstoff som inneholdt i underkant av 8 000 ppm melkesyre. Naturlig nok, stiger laktosenivået i prøvene i takt med økende tørrstoffinnhold i prøvene. Nivået av etanol, aceton, diacetyl og acetoin viste en tendens til å øke, jo høyere tørrstoffinnholdet var i konsentratet.

4.3. Analyser av yoghurtpulver

Ved yoghurtpulverproduksjon ved TMB syrnes et skummetmelkskonsentrat, som i henhold til produksjonsanvisningen skal ha maksimum 28 % tørrstoff, med syrekultur YC-471 eller YC-183. Underveis i syrningsprosessen måles det pH jevnlig inntil ønsket pH på 4,80 er nådd. Figur 28 viser syrningskurvene til 10 ulike produksjoner i løpet av høsten 2011. Produksjon 1 til og med 5 ble syrnet med YC-183, mens produksjon 6 til og med 10 ble syrnet med YC-471.



Figur 28 – Syrningsforløp under yoghurtpulverproduksjon ved TMB.

Det vises av figur 28 at de fleste syrninger brukte mellom 8 og 11 timer på å syrne ned til ca. pH 4,8. Det er spesielt to produksjoner som skiller seg ut med lang syrningsstid. Ved produksjon YC-183-2 ble syrningsprosessen avsluttet ved pH 5,1 da det hadde gått 16 timer siden syrekulturen ble tilsatt. Produksjon YC-183-4 syrnet i 25 timer før konsentratet nådde pH 4,83. Syrningskurvene til produksjonene syrnet med YC-183 viser en tendens til å ligge lengst til høyre i diagrammet som tilsier lenger syrningsstid.

Under syrningsprosessene ble det observert et 10 – 20 cm tykt skumlag på i overflaten av konsentratet i syrningsstanken. Dette kommer som følge av at konsentratet som tempereres til 44 °C via et

plateapparat føres tilbake igjen i toppen av syrningstanken. Det innkommende konsentratet pisker opp konsentratet som befinner seg i tanken og blander inn luft.

Ved produksjon 5 og 6 ble det målt tørrstoff i skummetmelkskonsentratet før syrning. Tørrstoffnivåene lå på henholdsvis 22,30 % og 25,47 %.

Underveis i produksjonen tas det ut prøver av yoghurtpulveret, slik at analysene som utføres på ferdig pulver er en samleprøve som er representativ for hele kjøringen. Resultater fra analysene av ferdig yoghurtpulver er oppsummert i tabell 10 nedenfor.

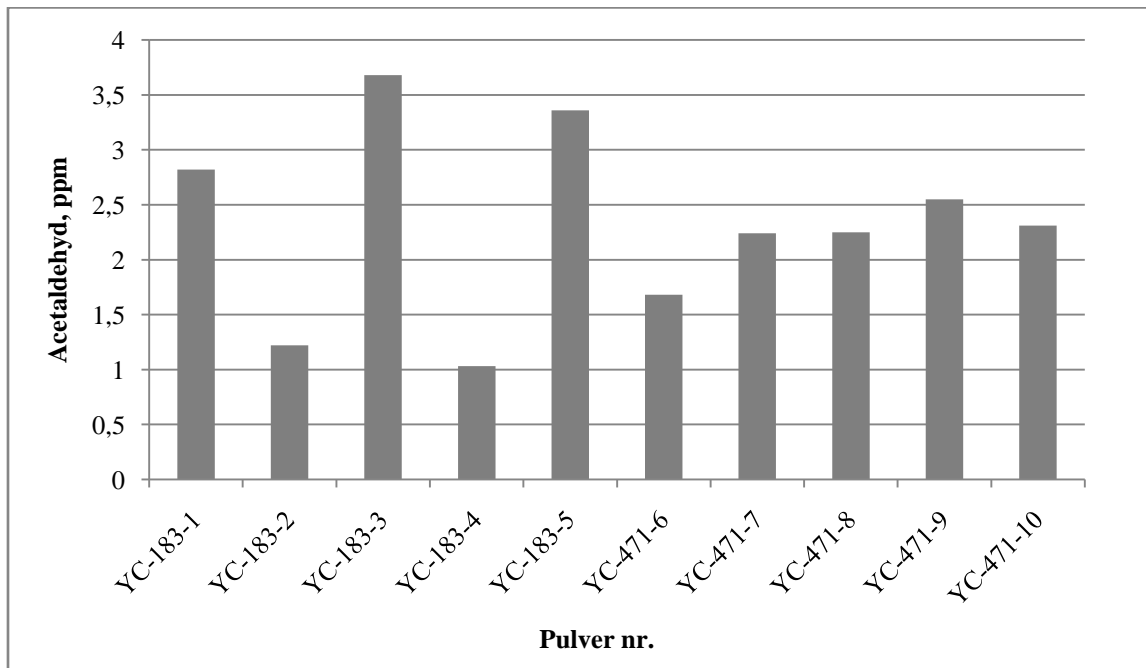
Tabell 10 – Analyser av ferdig yoghurtpulver

Nr.	Lukt og smak	Utseende	Tetthet (g/cm ³)	Brente partikler	pH	TS i pulver (%)	Fett i pulver (%)
YC-183-1	5	5	0,81	1	4,90	95,8	0,59
YC-183-2	5	5	0,57	1	5,29	95,4	0,82
YC-183-3	-	5	0,54	1	4,70	96,6	0,84
YC-183-4	2	2	0,63	3	4,71	94,6	0,92
YC-183-5	5	5	0,59	1	4,63	96,2	0,63
YC-471-6	5	5	0,65	1	4,80	93,9	0,66
YC-471-7	5	5	0,54	1	4,89	96,8	0,56
YC-471-8	5	5	0,55	1	4,94	95,8	0,51
YC-471-9	5	5	0,56	1	5,00	96,6	0,56
YC-471-10	5	4	0,63	1	4,60	96,6	0,91

Ut i fra tabell 10 kan en se at samtlige pulver, med unntak av pulver 4, hadde god lukt og smak, godkjent utseende samt karakter 1 på brente partikler som tilsvarer $\leq 7,5$ mg per 25 g pulver. Pulver 4 hadde en mørk, gul-oransje farge og 22,5 mg brente partikler per 25 g pulver. Pulver 1 ble målt til en tetthet på $0,81 \text{ g/cm}^3$, mens de andre produksjonene lå samlet mellom $0,54$ og $0,65 \text{ g/cm}^3$. Variasjonen i pH strakk seg fra 4,60 til 5,29 i de 10 pulverne. Pulver fra produksjon 1, 2, 7, 8 og 9 hadde pH høyere enn 4,80. Tørrstoffinnholdet lå mellom 95,4 og 96,8 % for alle pulvere unntatt pulver nr. 6 som ble målt til et tørrstoffinnhold på 93,9 %. Fettinnholdet i pulverne varierte fra 0,51 til 0,92 %.

De mikrobiologiske analysene viste at det ikke har forekommet *Staph. aureus*, *B. cereus*, koliforme bakterier, mugg, gjær eller salmonella i noen av de 10 pulverne som er analysert i denne oppgaven.

Pulver fra de 10 produksjonene ble analysert kromatografisk ved hjelp av HSGC og HPLC. Innhold av acetaldehyd i de forskjellige pulverne vises i figur 29.



Figur 29 – Innhold av acetaldehyd i yoghurtpulver

Pulver YC-183-2 og YC-183-4 inneholdt minst acetaldehyd av de 10 prøvene som vist i figur 29. Disse to pulverne stammer fra konsentrater som det tok meget lang tid og syrne, eller syrningen ble stoppet før riktig pH ble nådd. De inneholdt en konsentrasjon på omkring 1 ppm acetaldehyd, mens pulver YC-183-3 og YC-183-5, som inneholdt mest acetaldehyd, hadde en konsentrasjon på omkring 3,5 ppm. Alle de fire nevnte pulverne var produsert med YC-183. Pulver YC-471-6 til og med YC-471-10, som var produsert med YC-471, viste seg å ha et mer stabilt acetaldehydnivå og lå mellom 1,5 og 2,5 ppm.

I de kromatografiske analysene ble det også bestemt innhold av laktose, melkesyre, etanol, aceton, diacetyl og acetoin i pulverprøvene. Disse verdiene er oppsummert i tabell 12 nedenfor.

Tabell 11 – Flyktige aromakomponenter og organiske syrer i yoghurtpulver

Pulver nr.	Laktose (ppm)	Melkesyre (ppm)	Etanol (ppm)	Aceton (ppm)	Diacetyl (ppm)	Acetoin (ppm)
YC-183-1	23 605	6 720	0	0,24	0	2,68
YC-183-2	31 117	5 632	1,35	0,12	0,05	5,73
YC-183-3	24 519	6 862	0	0,20	0	3,70
YC-183-4	11 154	6 312	1,73	0,14	0	2,73
YC-183-5	28 073	6 361	0	0,20	0,05	3,55
YC-471-6	36 154	5 278	0,11	0,14	0,69	10,66
YC-471-7	36 618	5 122	0,17	0,12	0,25	9,74
YC-471-8	34 372	4 802	0,19	0,12	0,24	10,48
YC-471-9	36 949	5 664	0,21	0,15	0,28	10,94
YC-471-10	36 172	5 321	0,21	0,14	0,30	11,37

Resultatene i tabell 11 viser kjemiske forskjeller mellom pulverne som er syrnede med YC-183 og de som er syrnede med YC-471. Pulver YC-471-6 til og med YC-471-10 inneholdt stabile og noenlunde like mengder av de kjemiske komponentene som ble analysert. Laktoseinnholdet lå omkring 34 – 36 000 ppm og melkesyreinnholdet lå mellom 4800 og 5600 ppm. De fem prøvene hadde svært lave konsentrasjoner av etanol (ca 0,15 ppm), aceton (ca. 0,14 ppm) og diacetyl (ca. 0,30 ppm) samt noe høyere innhold av acetoin (ca. 10 ppm).

Pulver YC-183-1 til og med YC-183-5 varierte i kjemisk sammensetning grunnet pulver YC-183-2 og YC-183-4 som var svært forskjellige fra pulver YC-183-1, YC-183-3 og YC-183-5. Pulver YC-183-2 inneholdt ca 31 000 ppm laktose, mens pulver YC-183-4 inneholdt ca 11 000 ppm laktose. Pulver YC-183-1, YC-183-3 og YC-183-5 inneholdt mellom 23 – 28 000 ppm laktose. Pulver YC-183-2 hadde det laveste innholdet av melkesyre med ca 5 600 ppm, mens de resterende fire inneholdt mellom 6 300 og 6 800 ppm. Pulver YC-183-2 og YC-183-4 var de eneste pulverne som inneholdt etanol, henholdsvis 1,35 ppm og 1,73 ppm. Alle fem pulvere inneholdt noe aceton (ca. 0,1 – 0,2 ppm) samt acetoin (ca. 2,5 – 6,0 ppm). Det ble funnet svært små mengder (0,05 ppm) diacetyl i pulver YC-183-2 og YC-183-5.

5. Diskusjon

I Norge produseres mesteparten av yoghurt av kumelk som er tørrstoffanrikt med 2,5 %. Under optimale betingelser beregner man at yoghurtkulturen bruker omtrent 4 timer på å syrne melka ned til pH 4,4. I dette forsøket er det vist at yoghurtkulturene YC-471 og YC-183 bruker adskillig lenger tid på å syrne skummetmelkskonsentrat som skal bli til yoghurtpulver. Ved produksjon av skummetmelkspulver bør en fjerne så mye vann som mulig i inndamperen for å øke kapasiteten i produksjonen (Walstra et al. 2006). Dette gjelder ikke ved yoghurtpulverproduksjon fordi en da ville få et skummetmelkskonsentrat med høyere tørrstoff enn det yoghurtkulturen tåler for å vokse på en normal måte. Yoghurtkulturen hemmes på grunn av osmotisk trykk når sukkerkonsentrasjonen overstiger 10 % i et konsentrat som inneholder 10 % fettfritt tørrstoff (Steinsholt & Abrahamsen 1978). Skummet melk inneholder ca. 4,6 % laktose, og når melka konsentreres opp til 25 % vil dette utgjøre et laktosenivå opp mot 13 %. Skummetmelkskonsentratet som tillages til yoghurtpulverproduksjon ved TMB skal inneholde maks 28 % før syrning. Ansatte ved tørkeavdelingen ved TMB mener det er lite variasjon i tørrstoffinnholdet i konsentratet fra produksjon til produksjon siden dette er en helautomatisk prosess hvor tørrstoffinnholdet hele tiden sjekkes og justeres. Siden mengden konsentrat som kjøres er såpass stor, antas det derfor at det er små variasjoner mellom produksjonene. Det eneste som de mener kan utgjøre en forskjell fra gang til gang er tidspunktet hvor konsentratet kjøres inn på syringstanken ved igangsetting av prosessen. Ved inndampingsstart har konsentratet et lavere tørrstoffnivå og det kjøres alltid noe konsentrat til avfall før målingene tilsier at tørrstoffet er oppe på ønsket nivå og man sender konsentratet til syringstanken. Det kan dermed variere noe hvor mye av startkonsentratet med lavere tørrstoffinnhold som tas med inn på syringstanken. Målingene som ble gjennomført av skummetmelkskonsentrat før syring i to produksjoner viser 22,30 % og 25,47 %. Optimalt sett skulle en hatt flere målinger av tørrstoffnivået fra konsentratet i flere produksjoner, men bare av disse to resultatene ser en at det kan være betydelig variasjon i tørrstoffinnholdet mellom produksjonene. Ved tørrstoffnivåene som er målt i de to konsentratene vil yoghurtbakteriene utsettes for høyt osmotisk trykk som kan inhibere vekst og i verste fall ødelegge bakteriecellene, særlig av laktobasillene (Steinsholt & Abrahamsen, 1978). Dette forholdet kan dermed være en faktor som er med på å forlenge syringstiden.

Syrningsforsøkene som ble gjennomført i denne oppgaven viser at selv små økninger i tørrstoffinnholdet hadde innvirkninger på syrekulturens evne til å syrne skummetmelkskonsentrat. De to ulike syrekulturene reagerte forskjellig på konsentratene de ble inokulert i. Dersom en sammenligner hvordan de to syrekulturene syrnet prøven med UHT-melk, ser en at begge hadde en rask og jevn syring, men YC-471 viste evne til å syrne til en lavere pH enn YC-183. Syrningen av konsentratprøvene utført med YC-471 varierte mer på grunn av tørrstoffnivået i konsentratet, enn det som var tilfelle ved syrningen med YC-183. YC-471 syrnet prøven med 20 % tørrstoff ned til pH 4,14,

mens prøven med 35 % tørrstoff ikke ble syrnert i det hele tatt og endte på pH 6,28 etter 9 timer. I mellom disse ytterpunktene fordelte de resterende prøvene seg jevnt ved at høyere tørrstoffnivå i prøven gav høyere pH.

YC-183 syrnert prøven med 20 % tørrstoff ned til pH 4,67 etter 9 timer. Dette er ikke like lavt som YC-471 klarte, men til gjengjeld klarte YC-183 å syrne alle skummetmelkskonsentrater i forsøket. Det er dermed ikke så vide ytterpunkter i syrningen utført av YC-183. Prøvene med 35 % og 32,5 % endte på henholdsvis pH 5,50 og 5,19, mens de resterende prøvene hadde en pH mellom pH 4,7 og 5,0 etter 9 timers syrning. Ved syrning med YC-183 indikerer disse resultatene at det ikke vil være like kritisk for pH-verdien om skummetmelkskonsentratet varierer et par prosent som ved syrning med YC-471.

Generelt vises en liten tilbakegang i bakterietall etter 1 time før det så stiger igjen etter 2 timers syrning. Det kan tyde på at bakteriene får et lite sjokk av miljøet de inokuleres i, men kommer seg etter en times tid, avhengig av tørrstoffnivå og bakteriestamme. Steinsholt & Abrahamsen (1978) rapporterte at laktobasillene i yoghurtkulturen var mer sensitive for høyt osmotisk trykk og økt tørrstoffinnhold enn streptokokkene. Dette gjenspeiles i veksten av streptokokker og laktobasiller gjennom syrningsforløpet. De to syrekulturene YC-471 og YC-183 hadde noen ulikheter i balansen mellom bakteriestammene i syrningsforsøkene. I begge syrekulturene vokste streptokokkene frem i de fleste konsentratprøvene, mens for laktobasillene var det motsatt, de var ikke i stand til å vokse i de fleste tilfeller med unntak av i to prøver. Kun i prøvene med 20 % og 22,5 % tørrstoff syrnert av YC-471 vokste laktobasillene frem og ble registrert til henholdsvis 6,65 log kde/ml og 6,1 log kde/ml etter 6 timer - dette var også de samme to prøvene som oppnådde spesielt lav pH i syrningsforsøkene. Dette stemmer overens med litteraturen (Beshkova et al. 2002) som trekker frem kooperasjonen mellom bakteriestammene som en viktig faktor for en effektiv syrning. I de andre prøvene syrnert av YC-471 hadde streptokokkene stått for syrningsaktiviteten, men manglende kooperasjon og økende tørrstoffnivå gav treg syrning og høyere pH-verdier. Streptokokkene i YC-471 viste sensitivitet mot økende tørrstoffnivå ved at antall streptokokker avtok ettersom tørrstoffnivået i konsentratet økte. I YC-183 vokste ingen laktobasiller frem i konsentratprøvene og en antar derfor at laktobasillstammen i denne kulturen er mer sensitiv for økning i tørrstoff enn laktobasillstammen i YC-471. YC-183 viste derimot å ha en mer tolerant streptokokkstamme enn YC-471 som tok seg av syrningen i skummetmelkskonsentratet. Den viste noe avtagende vekst når tørrstoffinnholdet økte mot 35 %, men vokste likevel opp til 5,5 log kde/ml etter 5 og 6 timers syrning i nevnte prøve. Streptokokkene vokste raskest opp i prøvene med lavest tørrstoffinnhold, men viste også god vekst i prøvene med høyere tørrstoffinnhold.

De to ulike podemengdene som ble benyttet i forsøket viste seg å ha betydning for syrningen. I yoghurtpulverproduksjon ved TMB tilsettes det en fjerdedel av det som er anbefalt fra syrekulturprodusenten og den samme mengdeforskjellen ble gjenskapt i tre prøver med 24 %, 26 % og

28 %. I prøvene med liten podemengde var, naturlig nok, antall bakterier ved syrningsstart færre og de brukte lenger tid på å komme i gang. I prøvene med 24 % tørrstoffinnhold vokste streptokokkene til omtrent samme antall etter 6 timer uavhengig av podemengde. I prøvene med 26 % og 28 % holdt derimot bakterietallet seg betydelig lavere gjennom hele syrningen i prøvene med lav podemengde – og syrningsforsøkene viste at en lav podemengde svekket syrningen i samme grad som om man hadde 2 % høyere tørrstoffinnhold i en prøve med standard podemengde. Ved å tilsette den syrekulturmengden som er anbefalt av syrekulturprodusenten kan det virke som at yoghurtbakteriene har et sterkere utgangspunkt og syrner raskere enn om en poder etter TMB sine rutiner.

Faktorer som påvirker syrningshastigheten i en syrningsstank er blant annet formen på tanken og størrelse, form, posisjon og rotasjonshastigheten til røreverket (Tamime & Robinson 2007). I produksjonsanlegget til TMB benyttes en tank med røreverk som ikke er opprinnelig tiltenkt fermentering og som heller ikke er en optimal løsning. Den liggende tanken har rørverk i form av en propell av relativt liten størrelse plassert i ene nedre ende. Høy hastighet på propellen i konsentratet sammen med tilbakeføring av konsentrat fra toppen av tanken fører til et tykt, skumlag i overflaten av syrningsstanken som ble observert under hver produksjon. Dannelse av en virvelstrøm og inkorporering av luft i yoghurten er ikke ønskelig (Tamime & Robinson 2007) da denne luftinnblandingen i konsentratet er ugunstig for *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* som er blant de minst oksygentolerante melkesyrebakteriene (Beshkova et al. 2002). Dette kan dermed være en medvirkende grunn til lang syrningsstid dersom laktobasillene hemmes eller i verste fall dør ut i konsentratet under produksjon. Mengden oksygen kan også ha en hemmende effekt på *S. thermophilus*, men dette er stammeavhengig. Ulike stammer av termofile streptokokker har vist ulik toleranse for oksygen som følge av at de har ulike enzymatiske system (Beshkova et al. 2002). I noen tilfeller har luftinnblanding vist seg å være gunstig da det finnes oksygentolerante streptokokker som stimuleres av lave oksygenkonsentrasjoner (10 – 20 %). På grunn av kooperasjonen mellom bakteriestammene vil syrningen alt i alt gå raskere selv om laktobasillene alene ville blitt hemmet av oksygenkonsentrasjonen. Når oksygenkonsentrasjonen derimot kommer opp i 30-40 % vil fermenteringsprosessen inhiberes kraftig. Laktobasillene vokser ikke frem og en får dermed ingen form for kooperasjon gjennom fermenteringen. Selv om streptokokkene er mer oksygentolerante og kan ha en viss metabolisme til tross for luftinnblanding, blir denne evnen betraktelig svekket ved oksygenkonsentrasjoner over 30 % (Beshkova et al. 2002). Det er ikke gjort analyser av oksygenkonsentrasjon i skummetmelkskonsentratet som ble syret i produksjoner ved TMB og det er heller ingen dokumentasjon hvorvidt streptokokkstammen i de benyttede syrekulturer er oksygentolerante. Det er dermed vanskelig å anslå om luftinnblandingen som skjer under produksjonen er gunstig eller hemmende for syrningen.

Det er flere faktorer som kan inhibere eller redusere aktiviteten til syrekulturen som kan føre til dårlig kvalitet på produktet eller økonomisk tap for produsenten. Det er derfor viktig å sørge for at disse faktorene ikke er tilstede når melka inokuleres. I melk er det et naturlig innhold av antimikrobielle systemer som skal beskytte mot infeksjoner og sykdommer. Av disse er blant annet lacteniner og lactoperoxidase-tiocyanate-hydrogen peroxide systemet (LPS) påpekt som komponenter som inhiberer syrekulturen. Disse komponentene er varmesensitive og ødelegges gjennom forbehandlingen av melka dersom den varmes opp til 85 °C i 20 s (Robinson 2002; Walstra et al. 2006). Robinson (2002) beskriver forsøk hvor somatisk celletall i melka på 4.0×10^5 celler ml^{-1} forårsaket delvis inhibering av yoghurtkulturen. Det er observert at yoghurtkulturer kan inhiberes med inntil 35 % i melk med høyt somatisk celletall, men dersom melka kokes i 2 minutter eller varmes opp til 90 °C i 20 minutter vil en i følge Robinson (2002) gjenoppnå normal syreproduksjon.

Før en tilsetter yoghurtkulturen forutsettes det at melka er mikrobiologisk trygg og fri for antibiotika, vaskemidler og bakteriofager. Likevel kan dette forekomme og kan i slike tilfeller ha innvirkninger på syrningen. Variasjoner på melkas sammensetning i forhold til tidspunkt i laktasjonen eller årstid kan også påvirke syrekulturen. En annen faktor som kan hemme syrekulturen er tilstedeværelse av antibiotika som forekommer dersom bonden slipper melk fra nylig sykdomsbehandlede kuer på tanken. I hvilken grad inhiberingen forkommer avhenger av hvilke bakteriestammer som utsettes for hvilke typer antibiotika, som er mange og varierte. Generelt reagerer syrekulturer på svært lave konsentrasjoner og yoghurtkulturen er bevist svært sensitiv mot en rekke typer antibiotika (Robinson 2002). Melka som benyttes ved TMB analyseres for antibiotika både før og etter at den er tatt inn på anlegget og det er dermed svært liten sjanse for at dette er en hemmende faktor for syrningen ved yoghurtpulverproduksjon.

Bakteriofagangrep på syrekulturen i meieriindustrien ble først rapportert i 1930-åra og har siden vært et problem for meierianlegg. En bakteriofag er et virus som angriper bakterier via lytisk eller lysisk infeksjon og bruker bakterien som vertsorganisme for å replikere sitt DNA (Hutkins 2006). For å unngå bakteriofagangrep er det viktig å ha god hygiene og regelmessig renhold av utstyr, tanker og luft ved å installere luftfilter. Dersom en opererer med brukssyre er det viktig at områdene for tillaging av brukssyre og produksjonsområdet er adskilt. En ønsker minst mulig trafikk i mellom områdene og færrest mulig personer som er involvert i begge soner. Det vil også være en fordel å variere mellom ulike bakteriestammer og kulturer i produksjonen da produksjonen blir mindre sårbar for bakteriofagangrep (Robinson 2002). Bakteriofagangrep ble vurdert som lite sannsynlig i dette tilfellet siden syrekulturene YC-471 og YC-183 også benyttes til produksjon av syrnet kjernemelkspulver og en ikke har opplevd problemer med denne syrningsprosessen. Dersom en hadde hatt bakteriofager til stede ville denne syrningsprosessen også vært hemmet.

Rester av vaskemidler og desinfeksjonsmidler etter vask av utstyr, rørsystem og tanker kan påvirke syrekulturens aktivitet, men yoghurtkulturer viser seg å være mer tolerante enn mange andre kulturer og tåler høyere nivå før de inhiberes (Robinson 2002). I denne oppgaven ble det ikke undersøkt hvorvidt vaskemidlene kan ha inhiberende effekt på syrekulturen. Vaskerutinene før og etter syrning av skummetmelkskonsentrat til yoghurtpulver er imidlertid like de som utføres før og etter syrning av kjernemelk med samme syrekultur. Siden denne syrningen foregår uten problemer, antar en det ikke er vaske- og desinfeksjonsmidlene som inhiberer syrekulturen ved yoghurtpulverproduksjon.

I konsentratprøvene med høyere tørrstoffinnhold fant en naturlig nok høyere konsentrasjon av laktose. Dersom en sammenligner laktoseinnholdet i usyrnet skummetmelkskonsentrat med de syrnede yoghurtprøvene, ser man at yoghurtprøvene hadde lavere innhold av laktose. Dette er som forventet da laktose er hovedenergikilden til yoghurtbakteriene under fermenteringen. Med laktose som utgangspunkt danner yoghurtbakteriene melkesyre og det dannes ellers smakskomponenter som ble analysert kromatografisk i denne oppgaven. I yoghurtprøvene som ble syrnede med YC-471 fant man høyest innhold av melkesyre i de samme prøvene som syrnede raskest og oppnådde de laveste pH-verdiene. Med unntak av ytterpunktene, inneholdt de fleste prøvene mellom 6000 og 10 000 ppm melkesyre (0,6 – 1,0 %). Dette er som forventet ettersom yoghurt vanligvis inneholder omkring 0,9 % melkesyre (Cheng 2010). Flesteparten av konsentratprøvene syrnede av YC-183 inneholdt mellom 10 000 og 15 000 ppm som er noe høyere enn forventet. Høyest innhold av melkesyre hadde en i prøvene som hadde mellom 24 og 26 % tørrstoff. Prøvene med de laveste tørrstoffinnholdene nådde pH 4,80 i løpet av det 9 timer lange forsøket og fikk dermed kortere inkuberingstid enn de resterende prøvene. Dermed er det sannsynlig at streptokokkene hadde hatt tid nok i prøvene med 24 – 26 % tørrstoff til å danne høyere mengde melkesyre. Når tørrstoffinnholdet i prøvene øker ytterligere ser en imidlertid at det ble dannet mindre melkesyre til tross for at disse prøvene også ble inkubert i 9 timer. Dette skyldes sannsynligvis at også streptokokkene og ikke bare laktobasillene påvirkes av det osmotiske trykket som er høyere i disse prøvene og at det blir færre bakterier utover i syrningen som kan danne melkesyre.

Som nevnt i litteraturdelen strides forskerne om både *S. thermophilus* og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* produserer acetaldehyd eller om kun en av bakteriestammene står for mesteparten av produksjonen. I dette forsøket produserte YC-183 relativt høye nivåer av acetaldehyd (mellom 9,38 og 21,79 ppm) i alle konsentratprøver og det må være streptokokkene som har stått for denne produksjonen siden det var de eneste som vokste frem ved syrning med YC-183. Det høyeste acetaldehydnivået i forsøket fant en i konsentratprøven med 20 % tørrstoff syrnede med YC-471, hvor det ble produsert 43,06 ppm acetaldehyd i løpet av 4,5 timer. Det nest høyeste nivået fant en i konsentratprøven med 22,5 % tørrstoff, også syrnede av YC-471, med 27,09 ppm. Felles for disse to prøvene er at både laktobasillene og streptokokkene hadde vokst frem og dette er dermed et eksempel på at kooperasjonen mellom bakteriestammene er avgjørende for mengden acetaldehyd som dannes i

yoghurten. I de andre prøvene syrnet med YC-471 hadde ikke laktobasillene vokst frem og her har streptokokkene stått for acetaldehydproduksjonen. Mengde acetaldehyd sank fra 12,27 ppm i prøven med 24 % til 0,25 ppm i prøven med 35 % tørrstoff. Prøvene med lav podemengde hadde lavere antall bakterier enn tilsvarende konsentratprøve med standard podemengde. Dette viser seg også å påvirke dannelsen av acetaldehyd, der det er et mindre antall bakterier dannes det også totalt sett mindre acetaldehyd. Streptokokkene i YC-183 er tidligere omtalt ved at de synes ikke er like sensitive for økende tørrstoff i konsentratet. Prøvene som hadde 20 %, 22,5 % og 24 % tørrstoff inneholdt mindre acetaldehyd enn prøvene med 25 – 28 % tørrstoff. Dette er samme fenomen som ble observert for innhold av melkesyre i konsentratprøvene og hadde sannsynligvis samme årsak. Prøvene som hadde de laveste innholdene av tørrstoff nådde pH 4,80 i løpet av det 9 timer lange forsøket og fikk dermed kortere inkuberingstid enn de resterende prøvene. Streptokokkene hadde dermed i disse prøvene et kortere tidsrom å produsere acetaldehyd på.

De kromatografiske analysene viste at de to syrekulturene dannet relativt like mengder etanol, aceton, diacetyl og acetoin i konsentratprøvene. Felles for begge syrningsforsøk er at prøven med det laveste tørrstoffinnholdet (20 %) inneholder lavere nivåer av de nevnte komponentene, antagelig som følge av kortere inkuberingstid. Lavere nivåer fant en også i prøven med 35 % tørrstoff syrnet av YC-471 og dette skyldes sannsynligvis at det i denne prøven var svært lav aktivitet av yoghurtbakteriene. I de resterende prøvene, med tørrstoffinnhold fra 22,5 – 32,5 %, fant en etanolinnhold omkring 3 – 4 ppm, acetoninnhold omkring 1 – 2 ppm og diacetylinnhold omkring 1 – 3 ppm. Disse nivåene er i samsvar med verdier oppgitt av Cheng (2010). Innholdet av aceton i prøvene lå mellom 80 og 170 ppm, noe som er mye høyere enn det en normalt finner i yoghurt (0,3 – 4,0 ppm) (Cheng 2010). Aceton synes i liten grad å dannes ved fermenteringen og er dermed en komponent som i hovedsak følger melka. Et høyere innhold av aceton i konsentratene vil derfor være forventet som følge av oppkonsentreringen, men verdiene som er registrert i dette forsøket er vesentlig høyere enn det selve konsentrasjonsfaktoren skulle tilsi (Abrahamsen 2011).

Syrning av skummetmelkskonsentrat ved TMB har i lengre tid vært en ustabil prosess. I denne oppgaven er det undersøkt ti produksjoner og disse viste at to av produksjonene skilte seg klart ut i form av lang syrningstid. Produksjon YC-183-2 og YC-183-4 ble syrnet i henholdsvis 16 og 25 timer, i motsetning til de 8 andre produksjonene som brukte mellom 8 og 11 timer. Syrningen som ble avsluttet etter 16 timer nådde kun pH 5,1 i konsentrat. Resultatet fra denne syrningen er pulver YC-183-2 som i ferdiganalysene viste seg å ha en alt for høy pH på 5,29 i pulver. Selv om pulveret hadde for høy pH, scoret pulveret bra på utseende, lukt og smak og var innenfor grenseverdier for både brente partikler, tørrstoff og fettinnhold. Ved produksjon av pulver YC-183-4 derimot fortsatte en syrningen av konsentratet som etter 17 timer kun hadde nådd pH 5,1 i konsentratet. Etter 25 timers syrning nådde konsentratet pH 4,8, men hadde da blitt så viskøst at en fikk problemer med tørkeprosessen. Analysene av ferdig yoghurtpulver viste i dette tilfellet at pulveret fikk en mørk gul-

oransje farge, uakseptabel lukt og smak samt høyt innhold av brente partikler. Dette viser at TMB er helt avhengig av en syrningsprosess der en når den ønskede pH innenfor rimelig tid for at konsentratet skal kunne brukes videre og gi et akseptabelt sluttprodukt. De resterende produksjonene hvor konsentratet syrnert til pH 4,8 innen 11 timer gav pulver med rett utseende, lukt og smak og godkjente verdier for tetthet, pH, tørrstoff og fett i pulver ifølge TMBs produktkrav. Et unntak var pulver YC-471-6 som hadde et noe lavt tørrstoffinnhold. Dette skyldtes at spraytørka som normalt benyttes til tørking av yoghurtpulveret var under vedlikehold og det ble dermed benyttet en annen spraytørke til denne produksjonen.

Kromatografiske analyser av pulver YC-183-2 og YC-183-4 viste at den lange syringstiden også har hatt konsekvenser for innhold av kjemiske smakskomponenter. De to pulverne inneholdt begge omkring 1 ppm acetaldehyd som vil gi lite yoghurt smak ved rekombinering siden yoghurt normalt inneholder mellom 8 og 40 ppm acetaldehyd (Cheng 2010). Generelt kan en se at innhold av flyktige aromastoffer og organiske syrer er lavt i yoghurtpulverne. Tapet av aromastoffer gjennom spraytørking er som beskrevet i litteraturen (Avlesen 1978; Kumar & Mishra 2004) og understreker viktigheten ved at det dannes nok acetaldehyd og andre aromakomponenter i konsentratet til at det fortsatt er en viss andel igjen etter tørkeprosessen. Dårlig vekst av syrekulturen i konsentrat fører til at bakterietallet og innhold av acetaldehyd er lavt i konsentratet, og det vil bli enda lavere i yoghurtpulveret. Dersom syrningen i tillegg utarter seg slik som i syrningsforsøkene i denne oppgaven har vist, der laktobasillene ikke vokste frem, er det ikke sikkert det vil være noen levedyktige laktobasiller igjen i det ferdige pulveret siden laktobasillene i tillegg har vist seg å være sensitive mot tørkeprosessen. I et slikt tilfelle vil pulveret i teorien ikke kunne bære navnet "Yoghurt" da dette, som nevnt tidligere, er avhengig av at begge bakteriestammer fra yoghurtkulturen er til stede. Det samme gjelder for acetaldehyd, dersom det er dannet så små mengder acetaldehyd i konsentratet at alt fordampes under tørkeprosessen vil det ikke være yoghurt smak i det ferdige pulveret som vil skape problemer ved videre benyttelse av pulveret. Kunden til TMB som ble forespurt om hvilke krav de hadde for bruk av yoghurtpulver understreket viktigheten ved at de ikke kun var ute etter syrligheten, men også yoghurt smaken. Kunden ytret også ønske om at det ikke skulle være levende yoghurtbakterier til stede i pulveret. Dette er som tidligere nevnt ikke mulig dersom yoghurtpulveret skal kunne bringe merkenavnet "Yoghurt" videre, men dersom TMB hadde hatt analyser som anslo antall levende bakterier i yoghurtpulveret som en del av sitt kontrollprogram, ville kunden få en indikasjon om hva slags bakterievekst en kan forvente seg ved rekombinering. Slik produktkravene til yoghurtpulver ved TMB foreligger per dags dato, har verken TMB eller kunden kontroll på hvor mye acetaldehyd eller yoghurtbakterier pulveret faktisk inneholder. Dessverre er det ikke analysert antall levende yoghurtbakterier i pulver i denne oppgaven, men resultater fra kromatografiske analyser viser at innhold av acetaldehyd i pulveret varierer med syrekultur og syrningsprosess. Muligens kan innhold av yoghurtbakterier og acetaldehyd være salgsfaktorer dersom en kartlegger hvor mye acetaldehyd

som blir produsert samt hvor stort antall yoghurtbakterier som overlever ved bruk av ulike typer yoghurtkulturer. En kan da selge yoghurtpulver med ulikt innhold av acetaldehyd og yoghurtpulver som gir kunden flere muligheter ved videre bruk i produkter.

Det er mange hensyn som skal tas ved valg av syrekultur til yoghurtpulverproduksjon. En har i denne oppgaven sett at syrekulturene YC-471 og YC-183 gir svært forskjellig syrningsprosess og yoghurtpulver. Opplysningene fra syrekulturprodusenten sier at en ved bruk av YC-471 vil få et høyt innhold av acetaldehyd, men dette viser seg kun å være riktig dersom tørrstoffinnholdet i konsentratet er lavt nok til at begge bakteriestammer vokser frem. Dersom man ønsker en syrekultur som bruker kort tid på å syrne til en lav pH bør man i velge YC-471, men da må man justere tørrstoffinnholdet i konsentratet til maks 22,5 %. Ved å senke tørrstoffinnholdet i konsentratet vil man muligens oppnå kortere syringstid, men en vil også senke kapasiteten på tørka. Et lavere tørrstoffinnhold i konsentratet vil også føre til mer fine partikler (Westergaard 2010), men siden spraytørka ved TMB har oppsett for tvungen sekundær agglomerering vil man antagelig likevel kunne oppnå et agglomerert pulver som er lett å rekombinere. Dersom en ikke ønsker å senke tørrstoffinnholdet i konsentratet må man ha en syrekultur som er mindre sensitiv for variasjoner i tørrstoffinnholdet. Da er YC-183 et bedre valg, men en må da akseptere at denne kulturen ikke har evne til å syrne like raskt. Kanskje burde man teste ut andre syrekulturer for å finne en kultur der laktobasillen er mer tolerant for et høyt tørrstoffinnhold og som dermed kan være bedre egnet for yoghurtpulverproduksjonen. Syrekulturprodusenten opplyser at YC-183 skal produsere yoghurt med høy viskositet. TMB har, som tidligere nevnt, hatt en korrespondanse med en kunde hvor en ikke har klart å møte kundens ønske om lavere pH i yoghurtpulveret på grunn av at konsentratet da blir så viskøst at det blir problematisk under tørkeprosessen. Med tanke på at et konsentrat med høy viskositet er uansett ikke ønsket for tørkeprosessen, vil YC-471 være et bedre valg enn YC-183.

I tillegg til valg av syrekultur viser forsøkene at også tørrstoffnivået i skummetmelkskonsentratet sannsynligvis er en avgjørende faktor for syrningen og derved også for kvaliteten til det ferdige produktet. Alt i alt påvirker tørrstoffinnholdet hvordan syrekulturen oppfører seg i forhold til om begge stammene vokser frem og antall bakterier som oppnås i konsentratet. Dette har igjen betydning for hvor raskt syrningen går, hvilken pH som oppnås og hvor mye acetaldehyd en får dannet. Med tanke på at mye av acetaldehydet samt en stor del av yoghurtbakteriene forsvinner under spraytørkingen, vil det være ønskelig at yoghurtkulturen som benyttes har evne til å vokse til et høyt antall bakterier samt å produsere relativt store mengder acetaldehyd for at pulveret skal kunne omsettes som yoghurtpulver.

6. Konklusjoner

Tørrstoffnivået i skummetmelkskonsentrat påvirket syrekulturene YC-471 og YC-183 sin evne til å syrne konsentratet. Jo høyere tørrstoffnivået var, desto tregere gikk syrningen.

YC-183 inneholder en stamme av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* som synes å være svært sensitiv overfor osmotisk trykk og vokser ikke i skummetmelkskonsentrat med 20 % tørrstoff. YC-471 inneholder en stamme av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* som tålte inntil 22,5 % tørrstoff i skummetmelkskonsentrat.

YC-183 inneholder en stamme av *S. thermophilus* som viste evne til å vokse i skummetmelkskonsentrat med 35 % tørrstoff. YC-471 inneholder en stamme av *S. thermophilus* som viste seg å bli kraftig inhibert i skummetmelkskonsentrat med 32,5 % tørrstoff og som ikke vokste når tørrstoffinnholdet økte til 35 %.

Ved å benytte podemengden anbefalt av syrekulturprodusenten oppnådde man raskere syring, høyere bakterievekst og høyere innhold av acetaldehyd enn ved å benytte podemengden som TMB har som rutine.

Ved lav podemengde vokste det opp et mindre antall bakterier i skummetmelkskonsentratet. Dette resulterte igjen i tregere syring og det ble dannet mindre melkesyre og acetaldehyd.

7. Litteraturliste

Abrahamsen, R. K. (2011). (Personlig meddelelse)

ADPI. (2009). *Standards for Grades of Dry Milks Including Methods of Analysis*. Bulletin nr. 916 (fornyet utgave): American Dairy Products Institute, Chicago.

AOAC International. (2000). *AOAC Official Method 989.13 - Motile Salmonella in All Foods*. Immunodiffusion (1-2 TEST) Method. Gaithersburg, USA.

Ashraf, R. & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 149 (3): 194-208.

Avlesen, K. (1978). *Fremstilling av yoghurtpulver anvendt til syrning av iskremblandning*. Hovedoppgave: Norges Landbrukshøgskole, Meieriinstituttet, Avdeling for Meieriteknologi, Ås.

Balkir, P., Sakin, M., Koc, B. & Kaymak-Ertekin, F. (2011). Storage stability of spray-dried yoghurt powder. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 66 (2): 159-162.

Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. & Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 20 (3): 180-186.

Beshkova, D. M., Simova, E. D., Frengova, G. I., Simov, Z. I. & Spasov, Z. N. (2002). Effect of oxygen on batch yogurt cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18 (4): 365-369.

Bielecka, M. & Majkowska, A. (2000). Effect of spray drying temperature of yoghurt on the survival of starter cultures, moisture content and sensoric properties of yoghurt powder. *Nahrung-Food*, 44 (4): 257-260.

Chaves, A., Fernandez, M., Lerayer, A. L. S., Mierau, I., Kleerebezem, M. & Hugenholtz, J. (2002). Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (11): 5656-5662.

- Cheng, H. (2010). Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50 (10): 938-950.
- Chr. Hansen. (2006). *Yo-Flex® Technical Brochure*. Hørsholm, Danmark.
- Chr. Hansen. (2008a). *F-DVS YC-183 Yo-Flex®*. Product Information. Hørsholm, Danmark.
- Chr. Hansen. (2008b). *F-DVS YC-471 Yo-Flex®*. Product Information. Hørsholm, Danmark.
- De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K.-H. & Whitman, W. B. (red.). (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2. utg., b. 3: The Firmicutes. Heidelberg, London, New York: Springer Science+Business Media.
- Dobkin, D. M. (2000). *Semiconductor Process Development*. Simple Flow #1: Plug Flow. Tilgjengelig fra: http://www.enigmatic-consulting.com/semiconductor_processing/CVD_Fundamentals/xprt/Plug_reactor.html (lest 21.09.2011).
- DOE Joint Genome Institute. (2002). *Streptococcus thermophilus LMD-9*. California, USA. Tilgjengelig fra: <http://genome.jgi-psf.org/strth/strth.home.html> (lest 23.11.2011).
- Hutkins, R. W. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. 1. utg. Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.
- IDF 9C. (1987). *Dried milk, dried whey, dried buttermilk and dried butter serum - Determination of fat content (Röse Gottlieb reference method)*.
- IDF 26A. (1993). *Dried milk and dried cream - Determination of water content*.
- IDF 134. (2005). *Dried milk and dried milk products - Determination of bulk density*.
- Kumar, P. & Mishra, H. (2004). Yoghurt Powder—A Review of Process Technology, Storage and Utilization. *Food and Bioproducts Processing*, 82 (2): 133-142.
- Lie, A. E. (2011). *E-post fra Anne Elisabeth Lie, Commercial Director TINE Ingrediens*. Oslo (02.12.2011).

- Marsili, R. T., Ostapenko, H., Simmons, R. E. & Green, D. E. (1981). High Performance Liquid Chromatographic Determination of Organic Acids in Dairy Products. *Journal of Food Science*, 46 (1): 52-57.
- Narvhus, J. A., Osteraas, 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 (1): 73-80.
- Olden, O., Pettersen, B. M. & Kulsvehagen, O. (2011). *Møte med Ottar Olden (Meierisjef), Brit Monica Pettersen (Prosessingeniør) og Olav Kulsvehagen (Produksjonsleder avd. tørking) ved TINE Meieriet Brumunddal*. Brumunddal (22.08.2011).
- Ozer, B. & Atasoy, F. (2002). Effect of addition of amino acids, treatment with beta-galactosidase and use of heat-shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55 (4): 166-170.
- Pettersen, B. M. (2011). *TINE Meieriet Brumunddal, produksjon av melkepulver*. Brumunddal: TINE Meieriet Brumunddal (presentasjon 16.05.2011).
- Robinson, R. K. (2002). *Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products*. 3. utg. New York: John Wiley and Sons Inc. Publications.
- Silva, A. P., Cervantes, M. A. S. & Galindo, H. S. G. (1997). Acetaldehyde retention during spray drying of yoghurt. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 52 (2): 89-93.
- Steinsholt, K. & Abrahamsen, R. K. (1978). *The Growth Conditions of the Starter in Yoghurt Ices as a Base for Modified Manufacturing Process*. Vitenskapelige meldinger fra Norges Landbrukshøgskole. Meieriinstituttet. Melding nr. 215. Sarpsborg: Vardings trykkeri.
- Storrø, K. (1998). *Syrlighet og smak på yoghurtpulver* (Telefaks).
- Storrø, K. (2011). *Møte med Ketil Storrø, fagleder for pulver og konsentrater i TINE SA*. Brumunddal (02.09.2011).
- Tamime, A. Y. (red.). (2006). *Fermented Milks*. Oxford, England: Blackwell Science Ltd.

- Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (2007). *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and technology*. 3. utg. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Tamime, A. Y. (2009). *Dairy Powders and Concentrated Products*. Dairy Science and Technology Consultant, Ayr, United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.
- TINE SA. (2010). Årsrapport 2010. Oslo: TINE Kommunikasjon.
- TINE SA. (2011a). *TINE Meieriet Brumunddal*. Tilgjengelig fra: <http://www.tine.no/om-tine/var-virksomhet/meieriene/meieriene/9537.cms?tine-meieriet-brumunddal> (lest 09.09.11).
- TINE SA. (2011b). TINE Produktdatablad. *Yoghurtpulver*. Oslo.
- Urbach, G. (1995). Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products. *International Dairy Journal*, 5 (8): 877-903.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology*. 2. utg. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Westergaard, V. (red.). (2010). *Milk Powder Technology: Evaporation and Spray Drying*. 5. utg. København, Danmark: GEA Niro, GEA Process Engineering.

Vedlegg

Vedlegg 1: Beregning av konsentratprøver til syrningsforsøk

Tillaging av konsentratprøvene til syrningsforsøkene tok utgangspunkt i skummetmelkskonsentrat målt til 55 % tørrstoff samt sterilt vann. 100 ml skummetmelkskonsentrat veide 120 g. Beregningene som følger angir mengde skummetmelkskonsentrat og sterilt vann som skal til for å lage prøver på 200 ml med ulike tørrstoffinnhold.

For å finne mengde skummetmelkskonsentrat benyttes følgende formel:

$$\text{Total mengde prøve (ml)} \cdot \text{TS prøven (\%)} = \text{Mengde konsentrat (ml)} \cdot \text{TS konsentrat (\%)}$$

Skummetmelkskonsentratet var svært viskøst og det ble vurdert som mer nøyaktig å veie inn mengde konsentrat fremfor å måle opp i målesylinder da mye konsentrat ble værende igjen i målesylinderen. 1 ml skummetmelkskonsentrat tilsvarer 1,2 g og beregnes derfor etter formelen:

$$\text{Mengde konsentrat (ml)} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = \text{Mengde konsentrat (g)}$$

20 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 20 \%}{55 \%} = 73 \text{ ml}$$

$$73 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 87,6 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 73 \text{ ml} = 127 \text{ ml}$$

22,5 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 22,5 \%}{55 \%} = 82 \text{ ml}$$

$$82 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 98,4 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 82 \text{ ml} = 118 \text{ ml}$$

24 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 24 \%}{55 \%} = 87 \text{ ml}$$

$$87 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 104,1 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 87 \text{ ml} = 113 \text{ ml}$$

25 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 25 \%}{55 \%} = 91 \text{ ml}$$

$$91 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 109,2 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 91 \text{ ml} = 109 \text{ ml}$$

26 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 26 \%}{55 \%} = 95 \text{ ml}$$

$$95 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 114,0 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 95 \text{ ml} = 105 \text{ ml}$$

27 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 27 \%}{55 \%} = 98 \text{ ml}$$

$$98 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 117,6 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 98 \text{ ml} = 102 \text{ ml}$$

28 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 28 \%}{55 \%} = 102 \text{ ml}$$

$$102 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 122,4 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 102 \text{ ml} = 98 \text{ ml}$$

29 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 29 \%}{55 \%} = 105 \text{ ml}$$

$$105 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 126,0 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 105 \text{ ml} = 95 \text{ ml}$$

30 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 30 \%}{55 \%} = 109 \text{ ml}$$

$$109 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 130,8 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 109 \text{ ml} = 91 \text{ ml}$$

32,5 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 32,5 \%}{55 \%} = 118 \text{ ml}$$

$$118 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 141,6 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 118 \text{ ml} = 82 \text{ ml}$$

35 %:

$$\text{Mengde konsentrat} = \frac{200 \text{ ml} \cdot 35 \%}{55 \%} = 127 \text{ ml}$$

$$127 \text{ ml} \cdot \frac{1,2 \text{ g}}{1 \text{ ml}} = 152,4 \text{ g}$$

$$\text{Mengde sterilt vann} = 200 \text{ ml} - 127 \text{ ml} = 73 \text{ ml}$$