



## Forord

Mastergradsoppgaven min ble utført i samarbeid med TINE SA, ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap (IKBM), seksjon matvitenskap. Gjennomføringen av oppgaven var fra januar til mai 2014, som en avslutning på mine år ved Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet (NMBU).

Veiledere for oppgaven har vært Professor Judith A. Narvhus, Forsker Anne-Grethe Johansen og PhD Camilla Elise Jørgensen. En stor takk rettes til dem for utrolig god hjelp, veiledning og støtte.

Jeg vil også takke ansatte ved instituttet for god tilrettelegging under forsøkene. Takk for hjelp fra Geirfinn Lund og Magne Adamskii i Pilotanlegget, samt May Helene Aalberg og Ahmed Abdelghani på laben, Kari Olsen for hjelp på lab og HPLC analyser, samt Reidar Schüller for opplæring på rheometer.

En takk rettes også til Elin Simonstad Valle for hjelp til utførelse av sensoriske analyser av yoghurtene på TINE Kalbakken. Samt Sigrid Svanborg og Tom Hoffman for hjelp med mikrofiltreringen under produksjonen.

Arbeidet med denne oppgaven har vært utrolig spennende, lærerik og til tider litt frustrerende. Jeg vil også takke mine medstudenter for fine stunder, samtaler og godt arbeidsmiljø.

Til slutt vil jeg takke mine foreldre for god støtte gjennom hele studieforløpet.

Ås, 12. mai 2014

Anne Theoline Undheim

## Sammendrag

Mager proteinrik yoghurt ble produsert ved bruk av tre ulike resepter hvor kaseinkonsentrert melk var basen. To av reseptene ble tilsatt myseprotein som ingrediens, i form av ultrafiltrert nativ myse eller rekombinert WPC80-pulver. Som en kontroll ble det produsert yoghurt bestående av bare kaseinkonsentrert melk. De ulike reseptene ble påført ulik varmebehandling og etterbehandling. Hensikten var å se hvordan myseproteiningrediens, temperaturbehandling og mekanisk etterbehandling med kolloidmølle påvirket tekstur, rheologiske, samt sensoriske egenskaper til det ferdige produktet.

Det ble totalt gjort tre gjentak, hvor ti ulike yoghurter ble produsert hver gang. De skulle alle inneholde 8% protein, hvor forholdet mellom myseprotein og kasein varierte alt ettersom om den ble tilsatt myseproteiningrediens. Yoghurtreseptene ble homogenisert ved 180 bar, og varmebehandlet ved enten 75°C eller ved 95°C i 5 minutter. Reseptene ble deretter temperert til 43°C, og tilsatt 0,02% yoghurtkultur bestående av *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Etter endt fermentering (ved pH 4,6±0,02) ble noen av yoghurtene mekanisk etterbehandlet med kolloidmølle. Sammensetning i form av protein, karbohydrater, organiske syrer, fett, denaturert myseprotein, tørrstoff og aske ble analysert i ferdig yoghurt. Fysiske analyser som myseutskillelse, rheologimåling og teksturanalyse samt sensoriskprofilering og kvalitetsanalyse ble gjort for å karakterisere de ulike yoghurtene.

Resultatene viste at valg av myseproteiningrediens, og økt mengde myseprotein, påvirker de rheologiske og teksturelle egenskaper til yoghurt. Bruk av nativt myseproteinkonsentrat gav yoghurter med høyere verdier for parameterne som omhandler fasthet, tykkelse og gelstyrke, sammenliknet med yoghurt produsert med myse fra osteproduksjon (WPC).

Høy varmebehandling gav økt fasthet og gelstyrke til ferdig produkt, men også høy forekomst av klumper. Det ble derfor valgt å bruke kolloidmølle som etterbehandling, for å gi produktet en jevnere konsistens. Dette prosessstrinnet kan trolig brukes til å forbedre konsistens i klumpete yoghurt.

Yoghurtresept tilsatt ekstra myseprotein, varmebehandlet ved 75°C i 5 minutter og ingen bruk av kolloidmølle kom ved første gjentak best ut av kvalitetskontrollen. Dette indikerer at det er mulig å produsere mager yoghurt med 8% protein, uten bruk av høy temperatur, med tilfredsstillende sensoriske egenskaper. Det var imidlertid stort standardavvik mellom gjentakene, og denne kvaliteten ble ikke reproduisert.

Ingen av yoghurtene produsert i gjentak 2 eller 3 ble bedømt til å ha tilfredsstillende sensoriske egenskaper. Ulike produktegenskaper ble registrert mellom parallelle yoghurter ved de ulike gjentakene. Ulikhetene kan ses i sammenheng med variasjoner i fettinnhold i melken, filtrering/konsentrering av melk og myse, samt pH og opprøring ved endt syring. Dette viser hvor sårbar en pilotproduksjon kan være, da den er vanskelig å standardisere. Innvirkningen variasjonene hadde på sluttproduktet indikerer hvor sensitiv mager, proteinrik yoghurt er for endringer i råstoffsammensetning og prosessforløp.

## Abstract

Protein enriched non-fat yoghurt was produced using three different recipes where casein concentrated milk was the main ingredient. In two of the recipes, whey protein was added, either as ultrafiltrated native whey, or recombined WPC80-powder. A control yoghurt consisting of only casein concentrated milk was produced. The different recipes were applied varying heat treatment and post-treatment. The purpose was to see how whey protein ingredient, temperature treatment and mechanical treatment with colloid mill influenced texture, rheological and sensory properties of yoghurt.

Three similar productions was carried out, where ten different yoghurts were made each time. They should all contain 8% protein, wherein the ratio of whey protein to casein varied depending on whether extra whey protein was added or not. The yoghurtmilk was homogenized at 180 bar, and heat-treated at either 75°C or 95°C for 5 minutes. The yoghurtmilk was then tempered to 43°C, before 0,02% yoghurt culture, consisting of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, was added. After the fermentation was done (at pH  $4.6 \pm 0.02$ ), some of the yoghurts were mechanically treated with a colloid mill. The composition, regarding protein carbohydrates, organic acids, fats, denatured whey protein, dry matter and ash were analyzed in the yoghurt. Physical measurements as whey separation, rheology analysis, texture analysis and sensory evaluation were performed to characterize the different yoghurts.

The results showed that the choice of whey protein ingredient and an increased amount of whey protein, affected the rheological and textural properties of yoghurt. The use of native whey protein concentrate resulted in yoghurt with higher values for the parameters concerning firmness, thickness and gel strength, compared to yoghurt made with whey from cheese production (WPC) as an ingredient.

High heat-treatment increased the firmness and gel strength of the yoghurt, but it also resulted in an occurrence of visible grains. To give the product a smoother texture, it was decided to use colloid mill as a post treatment. This process step can probably be used to improve the consistency of grainy yoghurt.

In the first production, yoghurt that was added extra whey protein, heat-treated at 75°C for 5 minutes and not exposed to post-treatment by colloid mill, came out with the best quality.

None of the yoghurts produced the second or the third time had satisfactory sensory properties. Different product characteristics were recorded between parallel yoghurts produced in the different productions. The differences may be due to variations in fat grade in the milk, filtration/concentration of milk and whey, as well as pH and stirring at the end of the fermentation. This shows how vulnerable an unstandardized pilot production can be. The impact these variations had on the final product indicates how sensitive non-fat, protein-enriched yogurt is to changes in milk composition and process flow.

## Innholdsfortegnelse

<b>1</b>	<b>INNLEDNING</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>TEORI</b>	<b>2</b>
2.1	KUMELK	2
2.1.1	<i>Komponenter i melk</i>	2
2.2	PROTEINER I MELK	2
2.2.1	<i>Kasein og kaseinmicellen</i>	3
2.2.2	<i>Myseprotein</i>	4
2.3	MEMBRANFILTRERING	6
2.3.1	<i>Mikrofiltrering</i>	7
2.3.2	<i>Ultrafiltrering</i>	8
2.4	YOGHURT	9
2.4.1	<i>Definisjon og spesifikasjoner</i>	9
2.4.2	<i>Generell fremstilling</i>	10
2.4.3	<i>Proteinberiket yoghurt</i>	12
2.4.4	<i>Kolloidmølle</i>	14
2.5	TEKSTUR OG BESKRIVELSE AV YOGHURTENS EGENSKAPER	15
2.5.1	<i>Reologi</i>	15
2.5.2	<i>Faktorer som påvirker egenskapene til yoghurt</i>	17
<b>3</b>	<b>MATERIALER OG METODER</b>	<b>20</b>
3.1	FORSØKSOPPLEGG	20
3.1.1	<i>Mandag</i>	22
3.1.2	<i>Tirsdag</i>	24
3.1.3	<i>Onsdag/Torsdag</i>	28
3.2	PRØVETAKING UNDER PRODUKSJONEN	31
3.3	ANALYSEMETODER	32
3.3.1	<i>Tørrstoff</i>	32
3.3.2	<i>Aske</i>	32
3.3.3	<i>Protein (Kjeldahl)</i>	32
3.3.4	<i>Denatureringsgrad (HPLC)</i>	35
3.3.5	<i>Analyse av organiske syrer og karbohydrater (HPLC)</i>	36
3.3.6	<i>Fett (Gerber)</i>	36
3.3.7	<i>Mineral</i>	36
3.3.8	<i>Gelfasthet (Teksturanalyse)</i>	37
3.3.9	<i>Reologi</i>	38
3.3.10	<i>Myseutskillelse</i>	40
3.3.11	<i>pH</i>	41
3.4	SENSORISKE BEDØMMELSER	42
3.4.1	<i>Profilering</i>	42
3.4.2	<i>Kvalitetstest</i>	44
3.5	STATISTISK BEHANDLING AV RESULTATENE	45
<b>4</b>	<b>RESULTATER</b>	<b>47</b>
4.1	SYRNINGSTIDER	47
4.1.1	<i>pH</i>	49
4.2	SAMMENSETNING	50
4.2.1	<i>Fett</i>	52
4.2.2	<i>Organiske syrer og karbohydrater</i>	52
4.2.3	<i>Mineral</i>	54
4.3	DENATURERINGSGRAD	55

4.4	VIDERE RESULTATBEHANDLING.....	58
4.5	FYSISKE EGENSKAPER OG EFFEKTEN AV SAMMENSETNING OG PROSESSERING.....	59
4.5.1	<i>Teksturanalyse</i> .....	59
4.5.2	<i>Reologi</i> .....	62
4.5.3	<i>Mysedrenering</i> .....	66
4.5.4	<i>Resultater fra toveis variansanalyse</i> .....	69
4.6	SENSORISKE ANALYSER.....	71
4.6.1	<i>Profileringstest</i> .....	71
4.6.2	<i>Kvalitetstest</i> .....	79
<b>5</b>	<b>DISKUSJON</b> .....	<b>81</b>
5.1	SYRNINGSTID OG PROTEINKONSENTRASJON.....	81
5.2	EFFEKT AV MYSEPROTEIN.....	82
5.3	EFFEKT AV VARMEBEHANDLING.....	84
5.4	EFFEKT AV ETTERBEHANDLING MED KOLLOIDMØLLE.....	86
5.5	FORSKJELLER MELLOM GJENTAK OG ULIKHETER MELLOM PARALLELLE PRODUKTER.....	88
<b>6</b>	<b>KONKLUSJON</b> .....	<b>92</b>
<b>7</b>	<b>REFERANSELISTE</b> .....	<b>94</b>
<b>8</b>	<b>VEDLEGG</b> .....	<b>100</b>
	<i>Produktblad WPC-80</i> .....	100
	<i>Registreringer fra ultrafiltrering</i> .....	101
	<i>Podekultur, produktblad YC-183</i> .....	102
	<i>Podemengder</i> .....	104
<b>9</b>	<b>VEDLEGG SOM FORELIGGER PÅ CD:</b> .....	<b>105</b>



## 1 Innledning

Yoghurt er et populært meieriprodukt som produseres ved fermentering av melk med bruk av de termofile melkesyrebakteriene *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Melkesyre som disse bakteriene produserer fører til at det blir dannet en gel da det skjer en destabilisering av proteinene i melken (Tamime 2006). Siden 1950 har konsumet av fermenterte melkeprodukter, og spesielt yoghurt, økt drastisk. Dette mest på grunn av næringsverdien og helseaspektet forbundet med disse produktene (Tamime 2004).

Konsumenters interesse og etterspørsel etter mager yoghurt har spesielt økt den siste tiden. Dette har ført til utfordringer når det gjelder tekstur og sensoriske egenskaper til ferdig produkt, da disse sterkt påvirkes av sammensetningen i melken. Redusert fettinnhold forårsaker tap i viskositet og struktur, som resulterer i endret utseende, tekstur, og munnfølelse. Et alternativ har derfor vært å tilsette ekstra melkeproteiner da disse i denaturert form har gode funksjonelle egenskaper og kan virke som fettestattere (Krzeminski et al. 2011).

I produksjon av proteinberiket mager yoghurt, vil prosessvilkårene ha stor innvirkning på teksturdannelsen. Siden tekstur samt mangel på synlig myseutskillelse, spiller en avgjørende rolle for kvalitet og den helhetlige sensoriske forbrukeraksepten (Lee & Lucey 2004b), er det dermed viktig å ha en forståelse for effekten de ulike prosesseringsvilkår har.

I denne oppgaven var hensikten å produsere en mager, proteinrik yoghurt ved ulike faktorkombinasjoner, for å undersøke effekten av tilpasset produksjonsteknologi. Kaseinkonsentrert melk, produsert ved mikrofiltrering av skummetmelk, var basen. Myseprotein ble tilsatt som ingrediens i form av ultrafiltrert nativ myse eller rekombinert WPC80-pulver. Resepten ble behandlet med høy eller lav varmebehandling og etterbehandlet med kolloidmølle. Hensikten var å se hvordan myseproteiningrediens, temperaturbehandling og mekanisk etterbehandling med kolloidmølle påvirket tekstur, rheologiske, samt sensoriske egenskaper til det ferdige produktet.

## 2 Teori

### 2.1 Kumelk

Kumelk er et råstoff som egner seg svært godt til produksjon av næringsmidler. Yoghurt er et eksempel som er blitt et veldig populært meieriprodukt. Protein fra melk har tradisjonelt vært en av hovedproteinkildene til mennesker. Det har også i den siste tiden blitt et stort fokus på proteiner og deres ernæringsmessige verdier samt funksjonelle egenskaper.

#### 2.1.1 Komponenter i melk

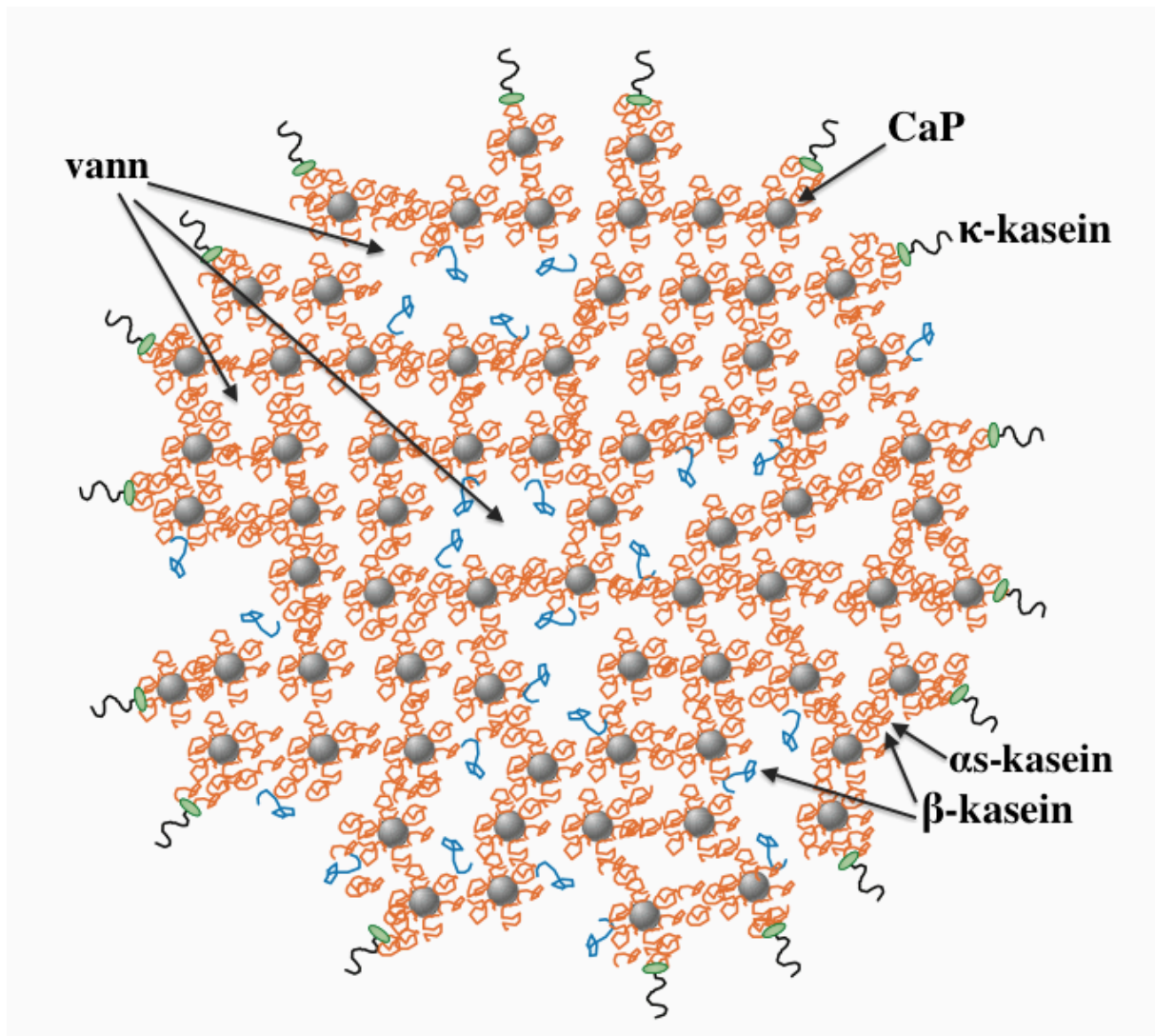
Mange faktorer som årstid, sted, fôr, alder og rase påvirker kvaliteten til kumelken. Generelt består melk av vann (87%), laktose (4,6%), fett (4,0%), protein (3,3%), mineraler (0,7%) samt små mengde organiske syrer. Laktose er karbohydratbestanddelen, et disakkarid bestående av et glukosemolekyl og et galaktosemolekyl. Fettet er i hovedsak triglyserider, hvor fettsyrene varierer i lengde og metning, men forekommer også som fosfolipider, kolesterol, frie fettsyrer samt mono- og di-glyserider. Proteinene deles i to hovedgrupper, kasein og myseprotein, hvor kaseinene utgjør 80% og myseproteinene 20%. Mineralsammensetningen i melk består av kationene; kalsium, magnesium, natrium og kalium, sammen med anionene; fosfat, sitrat og klorid. Mineralfraksjonen er viktig i utviklingen av meieriprodukter da den er dynamisk og i sterk interaksjon med proteinfraksjonen (Gaucheron 2005). Den kjemiske komposisjonen av melken bestemmer næringsverdien i forhold til hvilke mikroorganismer som kan vokse der, smaken, og hvilke kjemiske reaksjoner som kan skje (Walstra et al. 2006).

### 2.2 Proteiner i melk

Kasein og myseprotein befinner seg i henholdsvis miceller og melkeserum. Miceller er partikler i kolloidale suspensjoner bestående av vann, protein og salt. De foreligger i en åpen struktur. Melkeserum er væsken hvor micellene er dispergert. Kaseinene og myseproteinene har ulik struktur og egenskaper.

### 2.2.1 Kasein og kaseinmicellen

Kaseinene består i hovedsak av  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\beta$ - og  $\kappa$ -kasein med en molekylær ratio på rundt 11:3:10:4. De er hydrofobe molekyler med sterke ladninger på grunn av fosfatgruppene de inneholder. Dette gjør at de binder kationer som kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Kaseinene denaturerer ikke ved varmebehandling da de ikke har globulær struktur, og beholder dermed stort sett sin opprinnelige form. De er imidlertid uløselige ved deres isoelektiske punkt, som gjør at de felles ut når melk (ved  $20^\circ\text{C}$ ) surgjøres til pH 4,6 (Walstra et al. 2006). I melk foreligger de fleste kaseiner som aggregater kalt kaseinmiceller. Basert på all informasjonen som finnes om micellens sammensetning og reaktivitet, er det de siste 10 årene blitt laget flere modeller for å prøve å forklare micellens struktur. Sub-micelle modellen ble brukt i flere år, men det finnes nå tilstrekkelig bevis til å konkludere med at denne ikke stemmer overens med realiteten. Strukturen som best kan forklare micellenes egenskaper er blitt debattert i flere år. I 2011 publiserte Dalglish en modell som nå brukes til å forklarer micellestrukturen, og som stemmer overens med dens egenskaper. Den er illustrert i Figur 1, og viser at micellen har en mer åpen og porøs struktur bestående av store deler vann. Den har en hydrofob kjerne og en hydrofil overflate.  $\alpha_{s1}$ -,  $\alpha_{s2}$ - og  $\beta$ -kaseinene er festet sammen med kalsiumfosfat ( $\text{CaPO}_4$ ). Noen  $\beta$ -kaseiner er hydrofobt bundet til andre kaseiner og kan forsvinne ved kjølelagring.  $\kappa$ -kaseinene omslutter micellen som et stabiliserende "hårete" lag, hvor den hydrofobe delen er vendt inn i micellen og den hydrofile ut mot melkeserumet (Dalglish & Corredig 2012).



Figur 1: Bilde er hentet fra Dagleish og Corredig (2012) og viser Dagleish kaseinmicellemodell.  $\alpha_s$ - og  $\beta$ -kaseinene er festet sammen med kalsiumfosfat (CaP). Noen  $\beta$ -kasein er hydrofobt bundet til andre kaseiner og kan forsvinne ved kjølelagring.  $\kappa$ -kaseinene omslutter micellen som et stabiliserende hårete lag, hvor den hydrofobe delen er vendt inn i micellen og den hydrofile ut mot melkeserumet.

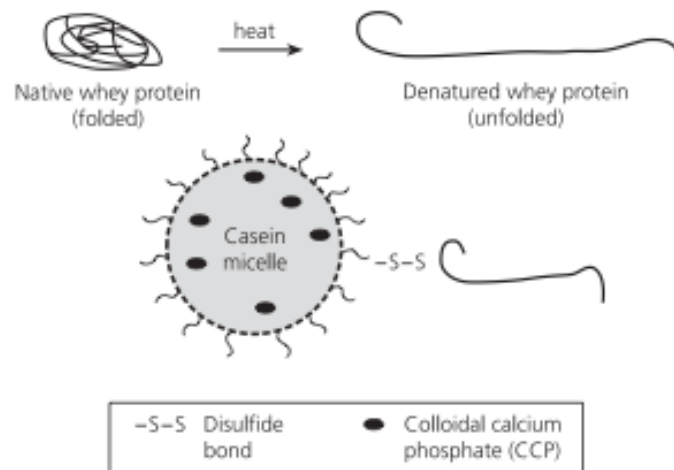
### 2.2.2 Myseprotein

Myseproteinene består av 50%  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -Lg), 20 %  $\alpha$ -laktoalbumin ( $\alpha$ -La), 10% blodserum albumin (BSA) samt 10% immunoglobuliner (Ig) (Fox 2001).  $\beta$ -laktoglobulin eksisterer i minst fem ulike genetiske varianter, hvor de to mest vanlige er A og B (Heidari et al. 2009). Myseprotein er i motsetning til kasein globulære, hydrofile og varmesensitive, skjematisk illustrert i Figur 2. De har en molekylstørrelse på 15-130 kDa, og strukturen er stabilisert av intramolekylære disulfidbindinger (SH-) (Fox 2001). Proteinløselighet forteller noe om hvor stor del av proteinene som løser seg ved blanding med vann. Ved det isoelektriske punkt til myseproteinene, som for  $\beta$ -Lg og  $\alpha$ -La henholdsvis er pH 5,3 og 4,8, (Farrell et al. 2004), kan de assosieres med hverandre

da de ikke har noen ladning. Noe som resulterer i uløselighet. Dersom pH er høyere enn det isoelektriske punkt vil ladningen bli negativ og løseligheten øke.

### **2.2.2.1 Denaturering av myseproteiner**

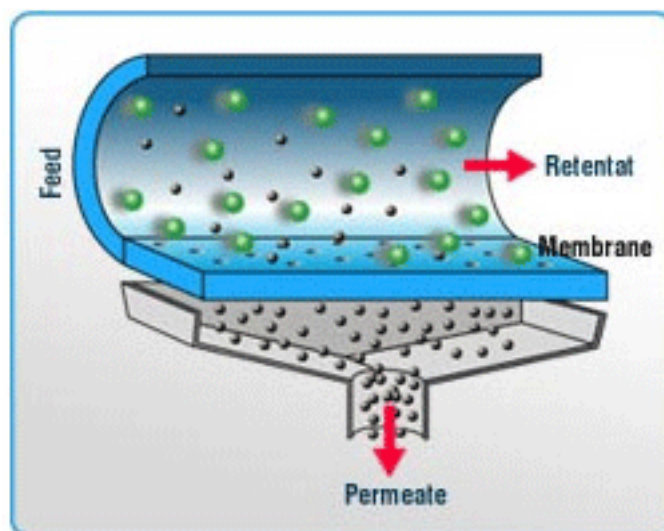
Denaturering gjør at de negative globulære molekylerne folder seg ut til en mindre organisert struktur. Flere parametere, deriblant temperaturøkning, kan forårsake denaturering (de Wit 1981). Termisk denaturering er viktig med tanke på blant annet yoghurtproduksjon.  $\alpha$ -La denaturerer i området 59-62°C, mens det kreves en temperatur på 76-82°C for å denaturere  $\beta$ -Lg. Hvor stor del av myseproteinene som denaturerer avhenger holdetid ved denne temperaturen, samt pH, ionestyrke, mineralinnhold og proteinkonsentrasjon. Denatureringen fører videre til en redusert proteinløselighet, som igjen vil påvirke proteinenes funksjonelle egenskaper (de Wit & Klarenbeek 1984).  $\beta$ -laktoglobulin er reaktivt da det inneholder en sulfhydrylgruppe som blir eksponert og aktiv når proteinet denatureres (for eksempel ved varmebehandling på > 75°C i 15 sek). De gjennomgår da interaksjoner med seg selv, og som illustrert i Figur 2, med  $\kappa$ -kaseinene på micelleoverflaten.  $\alpha$ -laktalbumin denaturerer ved en lavere temperatur men vil allikevel ikke aggregere med andre komponenter før det påføres en sterkere temperaturbehandling. De vil da danne aggregater med  $\beta$ -laktoglobulinene. Det blir altså dannet et myseprotein-kaseinkompleks med en hydrofil overflate. Dette påvirker mange viktige teknologiske egenskaper som for eksempel stabiliteten til melk og melkekonsentrater, men også struktur, rheologi og synreseegenskaper til melkegeler (Fox 2001).



Figur 2: Illustrasjon, hentet fra (Tamime 2006), av interaksjonen mellom myseprotein og kasein ved varmebehandling av melk. Størrelsesorden stemmer ikke da  $\beta$ -laktoglobulin har en størrelse på rundt 2 nm, mens gjennomsnittsstørrelsen på micellene er 150 nm.

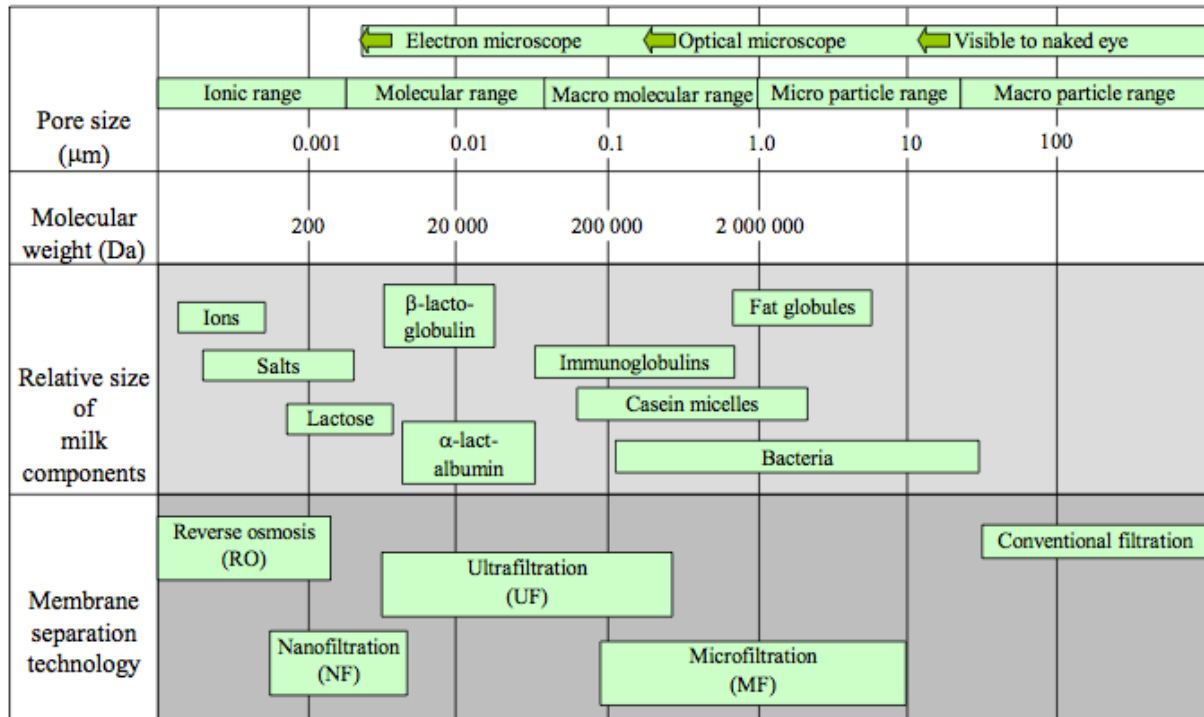
### 2.3 Membranfiltrering

Membranfiltrering er en separasjonsprosess hvor en skiller væske bestående av ulike partikler i to faser ved hjelp av en semipermeabel membran. Membraner, av typen kjemisk eller keramisk, har ulik porestørrelse hvilket bestemmer hvilke partikler som skal skilles fra hverandre. Alt etter behov kan komponenter konsentreres opp eller fjernes. Når det er snakk om filtrering er det viktig å skille mellom permeat og retentat. Som vist i Figur 3 er permeatet delen av væsken som trenger gjennom porene i membranen, mens retentatet er delen som holdes tilbake og dermed blir oppkonsentrert.



Figur 3: "Cross flow filtration" separering av permeat og retentat. Hentet fra (Novasep 2014)

Det skilles mellom de fire hovedmetodene; Mikrofiltrering (MF), Ultrafiltrering (UF), Nanofiltrering (NF) og Reverse Osmosis (RO). Dette er illustrert i Figur 4 under. Disse filtreringsteknikkene er blitt brukt i meieriindustrien i flere tiår, og er nå en av de viktigste teknikkene som brukes. Konsentrering av melk og myse er hovedbruksområdene i meieriindustrien (Heino 2009).



Figur 4: Membranfiltreringsteknikker for melkefraksjoner, melkekomponenter og deres partikkelstørrelse. Hentet fra (Heino 2009)

Figur 4 viser de ulike typene filtreringsteknikker som benyttes på melkefraksjoner. Melkekomponentenes partikkelstørrelse er vist da det er den som bestemmer hvilke som går gjennom porene (permeat) i membranen, og hvilke som holdes tilbake (retentat). "Reverse Osmosis" (RO) brukes til å oppkonsentrere myse, UF-permeat eller -retentat. Nanofiltrering (NF) benyttes til demineralisering (Tamime & Robinson 2007). I denne oppgaven ble det benyttet de teknikkene mikrofiltrering og ultrafiltrering, og disse beskrives i detalj i avsnitt 2.3.1 og 2.3.2 under.

### 2.3.1 Mikrofiltrering

Mikrofiltrering (MF) er den eldste filtreringsteknikken. I meieriindustrien blir det benyttet keramiske membraner med ulik porestørrelse alt eller formål. En porestørrelse

på 1,4 µm gjør det mulig å skille bort bakterier og sporer fra melk. Dersom det benyttes en porestørrelse på 0,14 µm kan melk proteinstandardiseres (Filtration 2012).

Konsentrasjonsfaktor (KF) sier noe om hvor mye som går gjennom membranen (retentat) kontra hvor stor strømming det er gjennom filtreringsanlegget (feed). Dette bestemmer igjen den endelige proteinkonsentrasjonen.

$$KF = \frac{Retentat}{Feed}$$

### **2.3.1.1 Protein fraksjonering**

Mikrofiltrering kan brukes til å fraksjonere melkeproteiner til en kaseinrik fraksjon og en kaseinfri fraksjon som inneholder myseproteiner. Dette gjøres vanligvis med keramiske membraner med en porestørrelse på rundt 0,1 µm. Dette ved bruk av et uniformt transmembrantrykk (UTP), med høy tangential flow velocity (>6 m/s) og en filtreringstemperatur på 50-55°C (Maubois 2002). Retentatet er da melk med en gitt kaseinkonsentrasjon som for eksempel kan benyttes ved ysting som en standardisert ideell ystemelk (Heino 2009). Permeatet består av myseprotein i sin naturlige form, ofte kalt nativ myse eller jomfrumyse. Denne mysen, sammenliknet med myse fra osteproduksjon, er ikke påvirket av varme, enzymer fra løpe eller bakterier fra syrekultur. Dette gjør at nativ myse har samme pH som melk samt bedre funksjonelle egenskaper enn vanlig myse (Maubois 2002). Aminosyresammensetning til disse proteinene er også av høyere ernæringsmessig verdi (Boye et al. 1995).

### **2.3.2 Ultrafiltrering**

I meieriindustrien har ultrafiltrering (UF) en rekke ulike bruksområder. Det kan nevnes proteinstandardisering av ystemelk, ferskostproduksjon, proteinkonsentrasjon og avkalking av permeat, samt laktoseredusering av melk. Det er en medium-trykkdrevet filtreringsprosess, som baseres på en membran med en medium åpen struktur. Dette gjør at de fleste mindre komponentene passerer membranen, mens større komponenter avvises eller holdes tilbake. Det blir brukt kjemiske membraner, det kan det nevnes "spiral wound", "hollow fibre", og "flat sheet", som finnes i flere porestørrelser (Filtration 2012).



UF kan brukes til å fraksjonere myseproteiner fra myse. Membranene har da vanligvis en "cut-off" på 10 – 50 kDa, som gjør at partikler som laktose, mineraler og vann passerer membranen som permeat, mens protein og eventuelt fett konsentreres opp. Myse fra osteproduksjon kan konsentreres på denne måten, hvor en sitter igjen med et myseproteinkonsentrat (WPC) som kan få et endelig proteininnhold på 25-80%. Sammensetningen til myseproteinkonsentratet som produseres varierer med type membran, varigheten på filtreringen og bruk av vann (diafiltrering) (de Wit 2001). Nativ myse kan konsentreres til nativt myseprotein konsentrat (NWPC) eller isolat (NWPI). Disse kan brukes som ingrediens i flere matvarer da de har ypperlige løselighetsegenskaper, samt skum- og gel-dannende egenskaper (Heino 2009).

## 2.4 Yoghurt

Yoghurt er et syrnet melkeprodukt fermentert med melkesyrebakterier som produserer god smak og aroma. Yoghurt skiller seg fra andre fermenterte meieriprodukter da det er det eneste som blir tørrstoffanriket. Dette gjør det til et mer viskøst produkt. I industrien produseres flere typer yoghurter, der komposisjon, type kultur, produksjonsmetode samt smak og tilsetninger varierer. De to hovedtypene er set-yoghurt og rørt-yoghurt. Set-yoghurt er en kontinuerlig semifast masse hvor melken fermenteres og koagulerer i emballasjen. Rørt-yoghurt er mindre viskøst da yoghurtmassen fermenteres på store tanker før strukturen delvis ødelegges ved røring og emballering (de Wit 2001).

### 2.4.1 Definisjon og spesifikasjoner

Yoghurt defineres ifølge Codex Alimentarius (2008), standard 243; "Fermented Milk and Yoghurt" som et produkt produsert av melk, som må inneholde minst 2,7% melkeprotein og mindre enn 15% melkefett, samt minst 0,6% melkesyre. Yoghurten inneholder en symbiotisk kultur bestående av *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, som er levedyktig og aktiv i produktet ut hele holdbarhetsdatoen.

Yoghurt kan gjennom forbrukers øyne karakteriseres ut fra enkle vilkår som farge, smak og munnfølelse. Disse er for produsenten en refleksjon på de kjemiske, fysiske og mikrobiologiske egenskapene til produktet. Spesifikasjonene som avgjør om yoghurten

er av god kvalitet varierer fra yoghurttype til yoghurttype. Men generelt skal en nøytral yoghurt ha en glatt og blank overflate uten synlig mysesyntese. Teksturen skal være homogen og viskøs, og smaken passe syrlig (Tamime 2006).

#### **2.4.2 Generell fremstilling**

For å sikre et produkt av god kvalitet er det viktig at melken som benyttes er av god kvalitet. Dette innebærer lavt bakterietall (max.  $1,0 \cdot 10^5$  cfu/g) og celletall ( $< 4,0 \cdot 10^5$ ), samt ingen tilstedeværelse av bakteriofager, vaskemiddel- eller antibiotikarester (Tamime 2006). I denne oppgaven ble det framstilt rørt-yoghurt, hvordan en generell produksjon av rørt-yoghurt kan foregå i industrien, samt hvorfor de ulike prosessstrinnene utføres, er beskrevet dermed steg for steg i seksjon 2.4.2.1 - 2.4.2.5 under.

##### **2.4.2.1 Standardisering**

Melkekomposisjonene standardiseres for å oppnå ønsket tørrstoff- og fettinnhold. Mengde fett varieres for å tilfredsstille de ulike konsumentenes preferanser. Yoghurter på markedet kan inneholde fra 0,1 til 10% fett. Tørrstoffinnholdet er viktig da det er proteinene sammen med mineralene i melken som utgjør de grunnleggende byggeklossene i gelnettverket. SNF (solid-non-fat) i melken økes til 12-14g/100g (Tamime & Robinson 2007), og er det som gir struktur til yoghurten (Tamime 2006). Det økes enten ved konsentreringsprosesser eller ved tilsetning av melkepulver, myseproteinpulver, kaseinpulver eller kjernemelk-pulver. Ratioen mellom myseprotein og kasein er en viktig faktor, hvor økt mengde myseprotein kan fremme god tekstur til produktet. Eventuelle stabilisatorer, som gelatin eller pektin, kan tilsettes i dette steget for å forsterke og opprettholde yoghurtens gode tekstur, munnfølelse og utseende. Stabilisatorer hjelper også til med å jevne ut konsistensvariasjoner fra batch til batch (Lee & Lucey 2010).

##### **2.4.2.2 Homogenisering**

Homogenisering av melken er spesielt viktig for yoghurter som inneholder fett for å unngå fett- og myseutskillelse under fermentering og lagring, samt for å fremme hvitheten og konsistensen. Under homogenisering vil proteinene inngå i fettkulemembranen slik at fettkulene får proteinegenskaper og inngår i gelnettverket under fermenteringen. Betingelsene for homogenisering er 10-20 MPa ved 55-60°C (Lee

& Lucey 2010). Yoghurtblandingen homogeniseres også for å blande alle ingrediensene grundig.

#### **2.4.2.3 Pasteurisering**

Blandingen gjennomgår deretter en kraftig varmebehandling, hvor temperatur og holdetid varierer i ulike prosesser, men hovedhensikten er å denaturere myseproteinene. Ved storskala produksjon blir det vanligvis brukt platevarmevekslingsapparat med en holdecelle som har stor nok kapasitet til å holde temperaturen på 90-95°C i 5-10 minutter. Den høye pasteuriseringstemperaturen reduserer også antall uønskede mikroorganismer i melken, slik at det blir bedre vekstvilkår for syrekulturen som senere skal tilsettes (Lee & Lucey 2010).

#### **2.4.2.4 Fermentering, metabolisme og geldannelse**

Melken avkjøles så til 40-43°C, som er den optimale veksttemperaturen til de termofile bakteriene som skal tilsettes. Syrekulturen som i hovedsak består av *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* og *Streptococcus thermophilus*, blandes i yoghurtmiksen. Yoghurtblandingen holdes ved 42°C inntil ønsket pH er nådd, den kan variere fra 4,2-4,6. Fermenteringen kan ta flere timer, og det er her gelen samt smaken til yoghurten dannes.

Yoghurtsmak er et resultat av flere komplekse biokjemiske reaksjoner initiert av mikrobiell aktivitet (Tamime & Robinson 2007). Hovedoppgaven til syrekulturen som tilsettes er å produsere melkesyre slik at pH senkes. I tillegg til at dette er årsaken til at det blir dannet en gel, gir det også yoghurten dens smak. Det er laktosen i melken som er hovedenergikilden. *Str. thermophilus* metaboliserer også glukose, og *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* både glukose og galaktose. De to bakteriene har en slags samarbeidseffekt eller synergi. *Str. thermophilus* vokser raskest og fermenterer laktose til L(+)-laktat. Dette skjer homofermentativt, som gjør at CO<sub>2</sub> frigjøres ved nedbrytingen av urea til maursyre. Alle disse tre metabolittene er med på å stimulere veksten av *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Denne bakterien vil igjen hydrolysere kasein, spesielt β-kasein, ved bruk av peptidaser til polypeptider og ved videre enzymaktivitet, til frie aminosyrer. *Str. thermophilus* hydrolyserer også polypeptider til frie aminosyrer, som igjen stimulerer veksten til de to bakteriene. Denne synergien gjør at populasjonen av de to bakteriene etter rundt 4 timer har økt til godt over 2,0x10<sup>7</sup>

cfu/ml, samt produsert nok melkesyre til at fermenteringen kan avsluttes.

Metabolittene som frigjøres underveis i fermenteringen er med på å gi yoghurten smaken som skiller seg fra de andre fermenterte melkeproduktene. Acetaldehyd er hovedsmakskomponenten, og produseres når aminosyren threonin omgjøres til glysin (Tamime 2006).

Etter 3-4 timer har den mikrobielle aktiviteten resultert i et melkesyreinnholdet på rundt 1,0 – 1,2 mg/ml. pH ligger da på 4,2-4,3, og det er blitt dannet en fast gel da melkeproteinene har koagulert (Tamime 2006). Melkesyreproduksjonen resulterer i en reduksjon av overflatespenningen til micellene. Dette øker den elektrostatiske tiltrekningen mellom kaseinene, som resulterer i aggregering og formasjon av et tredimensjonalt nettverk der proteinene holdes sammen av hydrofobe og elektrostatiske bindinger (Lee & Lucey 2010). I melk som har gjennomgått en varmebehandling vil geldannelsen skje ved pH 5,3. Dette fordi det er det isoelektriske punktet til  $\beta$ -laktoglobulin, som etter varmebehandlingen er festet til kaseinmicellen. Når pH synker blir micellen mer ustabil, da det kolloidale kalsiumfosfatet, samt  $\beta$ -kasein lekker ut til serum. En økende mengde vann assosieres med micellen, og den negative ladningen reduseres. Geldannelsen skjer når de aggregerende kreftene sakte dominerer over de frastøtende kreftene (Dalglish & Corredig 2012). Flere faktorer er med på å påvirke strukturen på gelen som dannes, som igjen vil påvirke kvaliteten til yoghurten. Flere detaljer om disse faktorene vil bli beskrevet i avsnitt 2.5.2.

#### **2.4.2.5 Røring, kjøling og pakking**

Når ønsket pH er nådd røres yoghurten forsiktig slik at gelen som er dannet delvis brytes. Yoghurtmassen avkjøles så til 20°C, hvor eventuell frukt eller andre smakstilsetninger røres inn dersom en ønsker å produsere noe annet enn naturell yoghurt. For å stoppe fermenteringsprosessen avkjøles yoghurten til <10°C (Lee & Lucey 2010). Yoghurten pumpes så fra fermenteringstank over i ønsket emballasje.

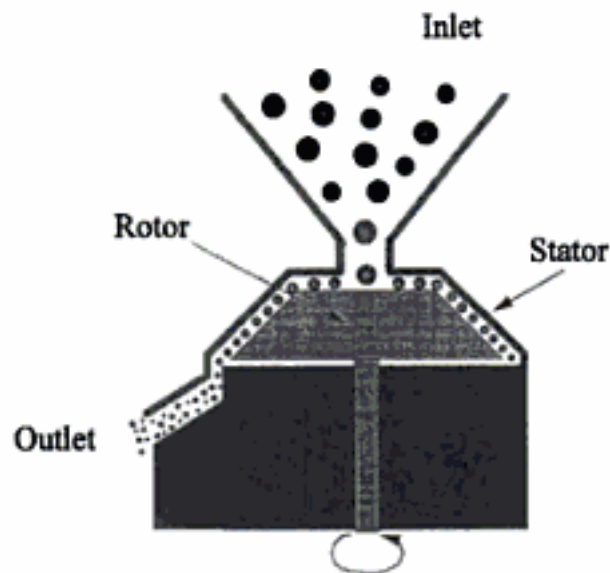
### **2.4.3 Proteinberiket yoghurt**

Det økte fokuset på gunstigheten av protein og melkeprotein når det kommer til helse, trening og muskelvekst, har inspirert til en rekke forsknings- og

produktutviklingsstudier. Protein fra melk, både kasein og myseprotein, er av ypperlig biologisk kvalitet da de inneholder mange essensielle aminosyrer. Det har i løpet av de siste årene blitt produsert en rekke nye yoghurter med økt proteininnhold (Tamime & Robinson 2007). I følge Codexreguleringene (2008) skal alle fermenterte melkeprodukter som betegnes som proteinrike inneholde minst 5,6% protein. Proteinberikelse av yoghurt kan gjøres ved å tilsette pulver eller benytte seg av filtreringsteknikker. 3-4% skummetmelkpulver (SMP) tilsettes vanligvis yoghurt for tørrstoffberikelse, og proteinberikelse. Det er derimot en grense for hvor mye SMP som kan tilsettes før det gir yoghurten en pulveraktig konsistens. Melkepulver med høyt proteininnhold eller mysepulver kan derimot benyttes for å øke proteininnholdet. Eksempler er melkeprotein- eller kaseinkonsentrat, myseprotein-konsentrat (WPC), -isolat (WPI) og -hydrolysat (WPH). Når slike pulver tilsettes yoghurt med lite fett, vil det forbedre flere av de funksjonelle egenskapene. Det er vist økt viskositet, tekstur og munnfølelse samt redusert forekomst av synerese i yoghurter hvor slike pulver er tilsatt. En annen måte å produsere yoghurt med høyt proteininnhold er å benytte seg av filtreringsteknikker. Membranteknikker, og spesielt ultrafiltrering, har blitt brukt til å produsere yoghurt de siste 30 årene. Dette kan enten gjøres ved å proteinkonsentrere melk og benytte dette som ingrediens, eller ved å filtrere selve yoghurten etter fermentering (Tamime & Robinson 2007).

#### 2.4.4 Kolloidmølle

Kolloidmøller er stort sett skivemøller med en smal åpning (0,05-1,3mm) mellom en stasjonær skive og en vertikal roterende skive. Rotasjonen skjer ved 3000-15000rpm, noe som skaper høye skjærkrefter (Fellows 2009). Den blir brukt til å redusere partikkelstørrelsen til et fast stoff suspendert i en væske, eller til å redusere dråpestørrelsen i en væske suspendert i en annen væske. Figur 5 illustrerer hvordan en kolloidmølle virker. Kolloidmøllene er veldig effektivt for væsker med høy viskositet, og den brukes blant annet i industrien for å stabilisere emulsjoner (McClements 2000). Når det kommer til yoghurtproduksjon er det begrenset med publikasjoner om mekanisk behandling for å forbedre konsistens og tekstur.



Figur 5: Illustrasjon av hvordan en kolloidmølle virker. Hentet fra McClements (2000)

## 2.5 Tekstur og beskrivelse av yoghurtens egenskaper

I følge "International Organization for Standardization" representerer tekstur i matvarer alle de reologiske og strukturelle egenskapene som er merkbare ved taktile (følbare), mekaniske samt synlige og i noen tilfeller hørbare reseptorer. Informasjon eller målinger av disse egenskapene kan innhentes ved bruk av instrumentelle metoder, som reologianalyser, og/eller med sensoriske bedømmelser (Walstra et al. 2006). Dette vil være med på å gi et helhetlig inntrykk av produktets egenskaper. Teksturen til yoghurt, og ethvert annen fermentert meieriprodukt, er avgjørende for kvaliteten. Sensoriske egenskaper som gjenspeiler tekstur i yoghurt er tykkelse, fylldighet, glatthet, og seighet.

### 2.5.1 Reologi

Reologi handler om deformasjon og flyt av materialer som følge av påførte krefter. Det tar altså for seg sammenhengen mellom kraft, deformasjon og tid. Produktet må altså deformeres på kontrollert vis samtidig som en måler hvordan materialet reagerer på deformasjonen. Størrelsen på kreftene som må til for å deformere materialet eller skape flyt, avhenger av arealet hvor kraften påføres. Denne parameteren kalles på engelsk for *stress* ( $\sigma$ ), hvor måleenheten er pascal ( $\text{Pa} = \text{N}/\text{m}^2$ ). Når en slik kraft virker parallelt på en overflate kalles det for skjærspenning. Når en slik kraft påføres et materiale som yoghurt vil den relative deformasjonen variere i produktet. Dermed vil avstanden mellom to punkter i materialet i forhold til den opprinnelige avstanden gi et mål på lokal deformasjon. Dette kalles på engelsk, *strain* ( $\tau$ ), og kan oversettes til tøyning (Tamime 2006).

#### 2.5.1.1 Viskoelastisk materiale

Matvarer er vanligvis verken et fast stoff eller en væske, men en blanding av disse elementene, altså et viskoelastisk materiale som altså både har viskøse (flyt) og elastiske (faste) egenskaper (Tamime 2006). Melkegeler og yoghurt er et typiske eksempler på slike materiale (Tamime 2006). Yoghurt er enten en viskoelastisk væske (rørt-yoghurt) eller et viskoelastisk fast stoff (set-yoghurt).

#### 2.5.1.2 Skjærtynnende og tiksotropiske egenskaper

Yoghurt og melkegeler viser også skjærtynnende og tiksotropiske egenskaper (Ozcan 2013). At et materiale er skjærtynnende vil si at det blir mer flytende når det utsettes for skjærspenning (røring), og at det får en økt viskositet (mer fast) dersom skjærspenning

reduseres. Produktet kan med andre ord gjenopprette konsistens. Siden viskositeten, som er et mål på motstand mot flyt i yoghurt, avhenger av skjærhastigheten som påføres, kalles den for "apparent" viskositet. Når det kommer til tiksotropisitet, vil det si at viskositeten minker ved påført kraft over tid, samt øker etter at påkjenningene stoppes. Siden denne strukturelle nedbrytingen i yoghurt ikke er helt reversibelt er det ikke et ekte tiksotropisk materiale (Lee & Lucey 2010). For å initiere flyt i skjærtynnende væsker må flytspenningen ( $\sigma_{\text{yield}}$ ) overskrides. Dette er altså punktet hvor kreftene som påføres gelen er større enn kreftene som holder gelnettverket sammen (Walstra et al. 2006).

### **2.5.1.3 Måleparametere**

Det er flere rheologiske parametere som benyttes for å forklare oppførselen til materialer. Dynamiske reologimålinger av yoghurt er av interesse da det relateres til både viskøse og flytende egenskaper. En slik dynamisk måling kan være en oscillasjonstest, hvor små regelmessige svingninger frem og tilbake, påføres yoghurten. Dette kan gjøres ved bruk av et rheometer hvor det påføres såpass lav skjærspenning at gelen ikke ødelegges. Dette vil generere de to skjærmodulene; elastisitetsmodul ( $G'$ ) og tapsmodul ( $G''$ ), som hhv forklarer yoghurtens faste og flytende egenskaper (Tamime 2006). Førstnevnte er viktig, da den forteller noe om fastheten til yoghurten. Dette er en parameter som øker under geldannelsen da det blir dannet flere protein-protein interaksjoner, samt skjer en omorganisering av proteinnettverket (Walstra et al. 2006). Forholdet mellom de to parameterne ( $G''/G'$ ) kalles tapstangenten ( $\tan \delta$ ), og gir informasjon om materialet oppfører seg mest som et fast stoff eller som en væske. Dersom verdien er  $< 1,0$  ( $G' > G''$ ) vil yoghurten ha mer faste egenskaper enn flytende (Tamime 2006).

I en oscillasjonstest med en konstant vinkelhastighet kan det lineære viskoelastiske området (LVR) i et for eksempel yoghurt bestemmes. LVR forteller når yoghurten fortsatt er i den stabile fasen og har sin opprinnelige struktur, dermed kan egenskapene til yoghurt i hvile beskrives. Når skjærspenningen eller skjærhastigheten økes, og materialet blir påført en kritisk tøyning ( $\gamma$ ), vil det forlate denne fasen. LVR defineres som området før elastisitetsmodulen reduseres med 5%. Måledata for skjærspenningen



som var nødvendig for å redusere elastisitetsmodulen tilstrekkelig, samt tøyningen yoghurten ble påført er verdier som forteller noe om egenskapene til yoghurtgelen i LVR (Guggisberg et al. 2007).

### **2.5.2 Faktorer som påvirker egenskapene til yoghurt**

Siden en av de viktigste kvalitetsparameterne til yoghurt omhandler tekstur, er faktorer som påvirker dette veldig viktige å ha kontroll på. De produksjonsparameterne som har størst innvirkning er tørrstoffberikelse, stabilisatortilsetning, fettinnhold, homogenisering, varmebehandling, syrekultur, inokuleringsforhold, pH ved gelødeleggelse, avkjølingsbetingelser samt håndtering av produktet etter produksjon. Summen av alle disse faktorene er altså av betydning for produktets kvalitet. Dette gjenspeiler hvor sårbar en produksjon er. I avsnittene under er betydningen av de mest aktuelle av disse produksjonsparameterne forklart.

#### **2.5.2.1 Tørrstoffberikelse**

Når tørrstoffet økes, øker en altså forekomsten av de geldannende komponentene i melken. Dette gjør at gelen dannes lettere, da proteinene har lettere for å aggregere på grunn av den høye konsentrasjonen. Tørrstoffberikelse skaper også en økt bufferkapasitet, slik at det trengs mer melkesyre for å senke pH. Dette gjør at det blir dannet et tett gelnettverk, som holde bedre på mysen og dermed forhindrer synrese (Tamime 2006). Tørrstoffinnholdet i yoghurtmelken, og da spesielt proteinkonsentrasjonen, har stor innvirkning på de fysiske og sensoriske egenskapene til sluttproduktet. Flere studier er blitt gjort på området. Tamime og Robinson (2007) hevder at konsistens og viskositet i yoghurt er proporsjonal med mengde protein som er til stede i melken. Biliadres et al. (1992) viste at en økning av tørrstoff med enten tilsetning av skummetmelkepulver eller UF-retentat, gav økt elastisitetsmodul ( $G'$ ). Flere artikler er skrevet om hvordan økt tørrstoffinnhold i melk gir økt viskositet i yoghurt, blant annet fra Sodini et al. (2004) som viste at munnfølelse eller oral viskositet økte ved bruk av tørrstoffberiket melk. Ulike melkeproteiner har også en innvirkning på teksturen. Peng et al. (2009) viste at tilsetning av henholdsvis skummetmelkpulver, melkeprotein isolat (WPI) og natriumkaseinat gav økende elastisitetsmoduler. WPI gav ifølge Isleten og Karagul-Yuceer (2006) økt viskositet og redusert synrese, men hadde ikke tilfredstillende sensoriske egenskaper. Tilsetning av WPC sammen med høy varmebehandling av yoghurtmiksen gav økt elastisitetsmodulverdier samt redusert

gelingstid (Lucey et al. 1999). Når myseproteiner tilsettes vil den totale partikkelstørrelsen øke, som fører til lavere resistans mot skjærkrefter (Krzeminski et al. 2011). Dermed er mengde myseprotein og forholdet mellom myseprotein og kasein avgjørende for den endelige kvaliteten. Flere har vist at en overdreven mengde tilsatt myseprotein kan gi uønskede egenskaper. Küçükçetin (2008) rapporterte at synlig ujevnheter, grad av grynethet, omkrets av korn, lagringsmoduler og flytspenning ble redusert når forholdet mellom kasein og myseprotein samt varmenehandlingsbetingelsene økte. Dette viser at kompleksiteten av produksjon av yoghurt med god kvalitet.

### **2.5.2.2 Varmebehandling**

Varmebehandling er den prosessparameteren som viser seg å ha størst effekt på tekstur og konsistens til yoghurt (Lucey et al. 1998). Det vises til avsnittet 2.2.2.1 som omhandler denaturering og hvordan denaturerte myseproteiner fester seg på overflaten til kaseinmicellen. Selv om det er vist at denaturerte myseproteiner påvirker geldannelsen (Lucey et al. 1997), er derimot mekanismene for hvordan de påvirker de rheologiske egenskapene til yoghurt ennå ukjent. Det er vist at en varmebehandling på over 80°C vil gi økt elastisitetsmodul, og geldannelse ved en høyere pH (Lucey et al. 1997). Lee og Lucey (2004a) viste også at høyere elastisitetsmodul som følge av varmebehandling (>78°C i 30 min) kom av økt interaksjon mellom denaturert myseprotein og kaseinmiceller. En kan dermed si at en kraftigere temperaturbehandling og økt mengde denaturert myseprotein, som følge av temperaturbehandlingen, resulterer i økt gelfasthet og da også viskositet i yoghurt. Det samme ble bekreftet av Lee og Lucey (2006) i rørt-yoghurt.

### **2.5.2.3 Inkuberingstemperatur**

Det er hevdes av flere forskere at redusert inkuberingstemperatur, temperatur under syrningen, vil gi et produkt med bedre egenskaper. Lee og Lucey (2006) og (2004a) viser at syregeler som dannes ved høy inkuberingstemperatur (43°C) vil gi redusert geleringstid, økt elastisitetsmodul og mer myseutskillelse sammenliknet med syregeler som dannes ved lav temperatur (32°C). Dette forteller at syregeler som dannes ved høy temperatur er svakere og har et mer skjørt nettverk. Lee og Lucey (2004a) viste at når geldannelsen skjer saktere, ved en lavere temperatur, vil det bli dannet flere og sterkere

interaksjoner mellom kaseinene, da de observerte et proteinnettverk med mange kryssbindinger og forgreininger ved mikroskopering. Et slikt nettverk vil gi en yoghurt med en sterkere gel og bedre tekstur. En sakte geldannelse gjør også at kaseinpartiklene sveller, som øker kontaktarealet mellom partiklene i nettverket, og som igjen kan gi økt stivhet i syregelen (Walstra et al. 2006).

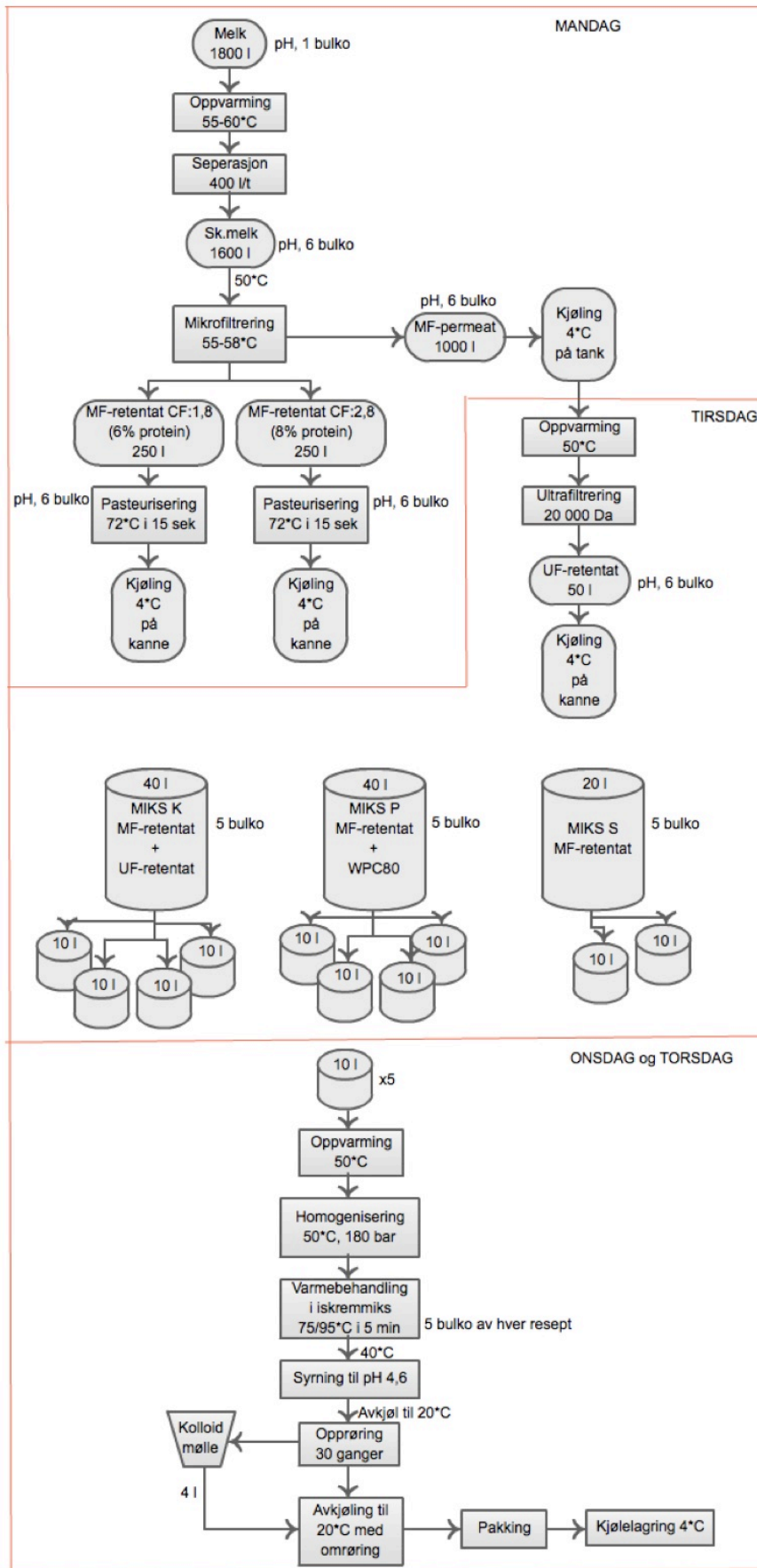
### 3 Materialer og metoder

Det ble produsert 10 ulike proteinrike yoghurter i tre separate forsøk. Hvert forsøk tok til sammen 4 dager (mandag-torsdag). Forskjellen mellom de ulike yoghurtene var sammensetning, varmebehandling og etterbehandling. Tre resepter ble laget hvor kaseinkonsentrert melk (MF-retentat CF 1.8 og CF 2.8) var basen. En av reseptene ble laget med nativt myseproteinkonsentrat (UF-retentat) den andre med rekombinert WPC80-pulver (fra TINE Verdal med 80,8% protein), og den siste som en kontroll/standard med bare kaseinkonsentrert melk (MF-retentat). De skulle alle inneholde rundt 8% protein med en myseprotein:kasein-ratio på 35:65. Denne ratioen var ikke mulig å oppnå i standardresepten da MF-retentatet inneholdt lite myseprotein, kun 15% av proteinene var antatt å være myseprotein. Etter homogenisering ble reseptene varmebehandlet ved to ulike temperaturer, 75°C i 5 minutter og 95°C i 5 minutter. Etter endt syrning ble noen av yoghurtene etterbehandlet med kolloidmølle.

Det gikk 2-3 uker mellom hvert forsøk, noe som gjorde det mulig å analysere produktene mellom hver produksjon. Prøvene ble analysert med hensyn til kjemiske, fysiske og sensoriske egenskaper hvor metodene er beskrevet i kapitlene under.

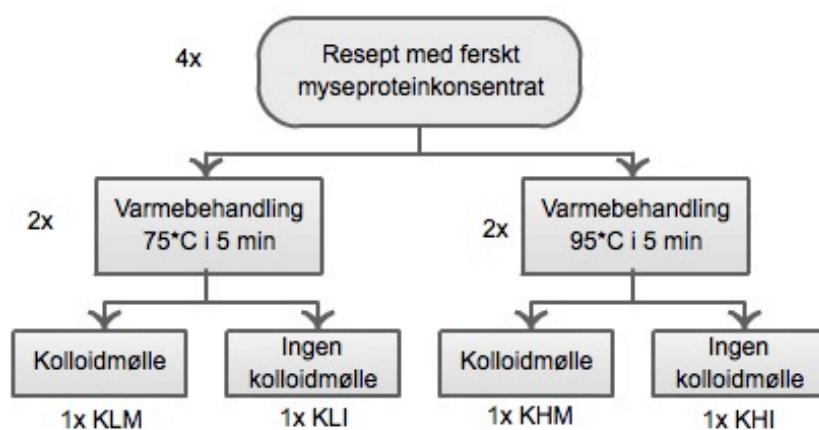
#### 3.1 Forsøksopplegg

Forsøk 1, 2 og 3 skulle i teorien være helt identiske. Noen forskjeller eller avvik ble det allikevel. Fremstillingsprosessen for yoghurtene samt forsøksopplegget er illustrert i Figur 6 under og beskrevet i detalj, dag for dag, i avsnitt 3.1.1 - 3.1.3.



Figur 6: Flytskjema over produksjonen

De ulike reseptkombinasjonene ble, som vist i Figur 7, delt i to grupper. Halvparten ble varmebehandlet ved en lav temperatur (75°C i 5 min), og halvparten ble varmebehandlet ved en høy temperatur (95°C i 5 min). Etter syrningsprosessen ble halvdelen av hver batch etterbehandlet med kolloidmølle, mens den resterende halvdelen ikke hadde noen form for etterbehandling.



Figur 7: Flytskjema som illustrerer produksjonsvariasjonene

Yoghurtene som ble produsert ble gitt forkortelser på tre bokstaver med hensyn på deres ulike ingredienser og produksjonsbetingelser. En oversikt over dette er vist i Tabell 1 under:

Tabell 1: Navneforklaring på de 10 yoghurtene

Yoghurt	KLM	KLI	KHM	KHI	PLM	PLI	PHM	PHI	SHM	SHI
Ingrediens	Myseprotein konsentrat				WPC80				Konsentrert melk	
Varmebehandling	Lav (75°C 5 min)		Høy (95°C 5 min)		Lav (75°C 5 min)		Høy (95°C 5 min)		Høy (95°C 5 min)	
Kolloidmølle	Ja	Nei	Ja	Nei	Ja	Nei	Ja	Nei	Ja	Nei

### 3.1.1 Mandag

#### 3.1.1.1 Levering av melk

1800 liter melk ble levert fra fjøset på NMBU på mandagen i hver produksjonsuke. Den var 1-3 gammel, og ble levert på tank til Pilotanlegget på IKBM. Det ble målt pH på melken, samt tatt ut en bulkotest som ble fryst ned i tilfelle det ville være nødvendig å ta analyser av den i ettertid.

### **3.1.1.2 Separering**

Melken ble varmet opp til rundt 63°C, og separert ved bruk av en Westfalia Separator (1994, Oelde, Tyskland) som separerte 400L i timen. Skummetmelken ble samlet opp på et dobbelt-O-kar med varmekappe slik at temperaturen kunne holdes på rundt 50°C. Prøver ble tatt ut med bulkotester. pH ble målt, og melken ble analysert med FOSS Milkoscan FT1 (2013, Skala, Hillerød, Danmark), for å kvalitetskontrollere den. Softwareprogrammet MSC FT1 (versjon 2.2.3) ble benyttet med kalibreringsprogram for skummetmelk.

### **3.1.1.3 Mikrofiltrering**

Etter at en viss mengde melk var separert og samlet, startet mikrofiltreringen. Anlegget som ble brukt er av typen Pastilac (1995, APV, Silkeborg), med en INSIDE CÉRAM (Tami industries, GEA), sunflower membran med porestørrelse 0,14 µm. Filtreringen ble utført som beskrevet i patent WO 2011115498 A1. Temperaturen under filtreringen skulle ligge på mellom 55 og 58 °C. Dette var tilfelle i forsøk 1 og 3, mens kjølevannet midlertidig uteble under andre produksjon, noe som førte til at temperaturen steg til rundt 60°C i ca. 15 minutter. Temperaturen på skummetmelken lå på 50-55 °C. Prosessen ble nøye kontrollert da alle verdier av trykk, temperatur og mengde retentat og permeat ble overvåket og notert i regneark underveis (se vedlegg 1 på CD). Filtrering og oppsamling av de to retentatene tok i hvert av forsøkene 4 timer og 40 minutter.

To MF-retentat ble samlet på to separate tanker med kjøling (4°C).

MF-retentat med konsentrasjonsfaktor CF 1.8 ble konsentrert og samlet opp først, deretter ble konsentrasjonsfaktoren endret til CF 2.8. Før oppsamling av MF-retentat CF 2.8 ble grensefasen fjernet. MF-permeatet ble samlet på to tanker som ble satt på kjøling ved 4°C natten over. Det ble tatt ut prøver av MF-permeatet, som også ble analysert på milkoskan.

### **3.1.1.4 Pasteurisering**

Den oppkonsentrerte melken ble pasteurisert ved 75°C i 15 sekunder ved bruk av Pastilac-Therm (1994, Landteknikk, by), tappet på plastkanner og lagret på kjølerom (4°C) til neste dag. Prøver av de to ingrediensene ble tatt ut med bulkotester etter

pasteurisering. De ble analysert på milkoskan før reseptberegning, og pH ble målt for å kvalitetssikre.

### **3.1.1.5 Tillaging av WPC80-løsning**

Tillaging av ingrediensen til Miks P ble blandet dagen før selve blandingen av yoghurtreseptene. Myseproteinpulver produsert av TINE Verdal med 80,8% protein ble benyttet. Pulveret var fremstilt ved ultrafiltrering og spraytørking av myse fra hvitostproduksjon. Pulveret hadde en gulhvitt farge og nøytral lukt og smak. Produktblad foreligger som vedlegg 1. Det ble blandet en WPC-løsning på 20 kg med 7% protein. Mengde pulver og vann ble regnet ut som vist under:

$$v1 = \frac{7\% \times 20kg}{80,8\%} = 1,733kg$$

Mengde WPC-pulver = 1,733kg, mengde vann = 20-1,733kg = 18,267kg

Vannet og pulveret ble veid opp i hver sin steamet 50 liters plasttønne. Når vannet etter noen timers henstand hadde nådd romtemperatur, ble halvparten helt i tønne med pulver. Dette ble rørt godt sammen til en homogen blanding ( $\approx 30$  min), før resten av vannet ble tilsatt. Prøver ble tatt ut av løsningen.

## **3.1.2 Tirsdag**

### **3.1.2.1 Ultrafiltrering**

MF-permeatet som ble samlet opp etter mikrofiltreringen ble filtrert gjennom et ultrafiltreringsanlegg av typen Alfa Laval UFS-4. Membranen i anlegget var av typen "spiral wound", betegnelse 62-63381489 (APV, Nakskov, Danmark) med en "cut off" på 20 000Da. MF-permeatet ble varmet til 50°C før det ble pumpet over til balansetanken på UF-anlegget. Sirkulasjonstrykket under filtreringen var 0,9 bar, og fødestrykket på 2,2 bar. Under filtreringen var det viktig å følge med på at temperaturen ikke oversteg 50°C da det kan denaturere myseproteinene og tette membranen. Hele filtreringsprosessen tok i hvert forsøk 1 time og 20 minutter. Jevnlig ble temperatur, flux (L/min) samt permeatbrix målt og notert i skjema (vedlegg 2).



Målet var å stå igjen med et myseproteinkonsentrat på 7% protein. Væsken sirkulerte i anlegget til ønsket mengde var igjen. Denne mengden ble regnet ut med hensyn på mengde MF-permeat (935L) samt målt proteinkonsentrasjon (0,4%):

$$v_2 = \frac{0,4\% \times 935L}{7\%} = 53L$$

Milkoskan resultatene viste at MF-permeatet hadde en proteinkonsentrasjon på 0,6%. Basert på erfaringer er denne noe lavere enn den opprinnelige proteinkonsentrasjonen (målt med Kjeldahl), det ble dermed brukt 0,4% i formelen.

UF-retentatet ble tappet på kanne og satt på kjølerom (4°C), prøver ble tatt ut og analysert med milkoskan.

### **3.1.2.2 Reseptberegning og blanding**

Reseptberegning ble basert på resultater fra milkoskananalysene. Det var ønskelig å produsere yoghurt med en proteinkonsentrasjon på 8%, og en myseprotein:kasein-ratio på 35:65, samt 15:85 for miks S. Myseprotein- og kaseinkonsentrasjonen i MF-retentatene ble regnet ut ved å multiplisere proteinkonsentrasjonen med henholdsvis 0,15 og 0,85 for CF 1.8, samt 0,13 og 0,87 for CF 2.8, da dette erfaringsmessig er fordelingen av de ulike proteinene i MF-retentat. Sammensetningen til alle ingrediensen som ble brukt (målt på milkoskan), mengder som var nødvendig av de ulike ingrediensen, samt myseprotein:kasein-ratio for de ulike miksene er vist i vedlegg 2 på CD.

Det ble brukt vekt og 50-liters plasttønner for å blande sammen og måle opp hver ingrediens. Deretter ble miksen fordelt på 10-liters plastbøtter med lokk, merket godt og plassert på kjølerom (4°C) over natten. Det ble tatt ut prøver av alle miksene. De ble også analysert ved bruk av i milkoskan for å undersøke at sammensetningen var som den skulle.

For videre prosessering ble reseptene delt i to grupper, hvor fem av yoghurtene ble produsert på onsdagen i gjeldene produksjonsuke og fem på torsdagen. Hvilke som skulle produseres når, samt syrningsrekkefølgen ble randomisert.

### 3.1.2.3 Randomisering

Randomisering gjøres for å oppfylle tilfeldighetens vilkår slik at statistisk hypotesetesting er tillatt. Randomiseringen ble i dette forsøket gjort ved å gi de ulike produksjonsparameterne og produksjonsdagene vektall, som vist i Tabell 2.

Tabell 2: Vekttall for produksjonsparameter og dager

A → Myseproteinkilde	-1: WPC80	1: myseproteinkonsentrat
B → Varmebehandling	-1: 75/5	1: 95/5
C → Etterbehandling	-1: Kolloidmølle	1: Ingen
Dag →	-1: Onsdag	1: Torsdag

For videre å finne ut hvilken dag de ulike yoghurtene skulle produseres ble vektallene for hvert forsøk kalkulert ved å multiplisere vektallene for hver yoghurt. For forsøk 1 ble faktor myseproteinkildene (A), varmebehandlingene (B) og etterbehandling (C) multiplisert. For forsøk 2 ble faktor myseproteinkildene (A), og varmebehandlingene (B) multiplisert med hverandre, og for forsøk 3 varmebehandlingene (B) og etterbehandling (C). Dette gav enten 1 eller -1 som igjen viste til onsdag eller torsdag. Produksjonsdagen til de 8 yoghurtene som skulle lages med myseproteiningrediens er listet i Tabell 3.

Tabell 3: Randomisering av produksjonsdag

			Forsøk 1	Forsøk 2	Forsøk 3
A	B	C	ABC	AB	BC
-1	-1	-1	-1	1	1
1	-1	-1	1	-1	1
-1	1	-1	1	-1	-1
1	1	-1	-1	1	-1
-1	-1	1	1	1	-1
1	-1	1	-1	-1	-1
-1	1	1	-1	-1	1
1	1	1	1	1	1
Yoghurt			Forsøk 1	Forsøk 2	Forsøk 3
PLM			Onsdag	Torsdag	Torsdag
KLM			Torsdag	Onsdag	Torsdag
PHM			Torsdag	Onsdag	Onsdag
KHM			Onsdag	Torsdag	Onsdag
PLI			Torsdag	Torsdag	Onsdag
KLI			Onsdag	Onsdag	Onsdag
PHI			Onsdag	Onsdag	Torsdag
KHI			Torsdag	Torsdag	Torsdag

For de to yoghurtene som skulle produseres som standard, med bare MF-retentat som ingrediens, ble randomiseringen arrangert noe annerledes da det bare var en parameter å ta hensyn til (etterbehandling).

Tabell 4: Randomisering av standardyoghurter

Kontroll	Onsdag	Torsdag
Forsøk 1	Kolloidmølle	Ingen
Forsøk 2	Ingen	Kolloidmølle
Forsøk 3	Trukket	

Tabell 4 viser at i forsøk 1 ble SHM produsert på onsdagen, SHI på torsdagen. Dette ble snudd om i forsøk 2, og i forsøk tre ble rekkefølgen trukket. Tabell 5 viser syrningsrekkefølgen for hver produksjonsdag, som også ble randomisert ved trekning:

Tabell 5: Syrningsrekkefølge

Forsøk 1	Onsdag	Yoghurt 1: PLM
		Yoghurt 2: KHM
		Yoghurt 3: KLI
		Yoghurt 4: PHI
		Yoghurt 5: SHM
	Torsdag	Yoghurt 6: PHM
		Yoghurt 7: KHI
		Yoghurt 8: KLM
		Yoghurt 9: SHI
		Yoghurt 10: PLI
Forsøk 2	Onsdag	Yoghurt 1: PHI
		Yoghurt 2: KLM
		Yoghurt 3: SHI
		Yoghurt 4: KLI
		Yoghurt 5: PHM
	Torsdag	Yoghurt 6: SHM
		Yoghurt 7: PLM
		Yoghurt 8: KHM
		Yoghurt 9: KHI
		Yoghurt 10: PLI
Forsøk 3	Onsdag	Yoghurt 1: PLI
		Yoghurt 2: SHI
		Yoghurt 3: KLI
		Yoghurt 4: PHM
		Yoghurt 5: KHM
	Torsdag	Yoghurt 6: SHM
		Yoghurt 7: PLM
		Yoghurt 8: KLM
		Yoghurt 9: KHI
		Yoghurt 10: PHI

### 3.1.3 Onsdag/Torsdag

#### 3.1.3.1 Homogenisering

Før homogenisering ble yoghurtblandingen varmet opp til 50°C ved bruk av prosessbeholdere (vist i Bilde 1). Blandingen ble deretter overført til en homogenisator av typen Rannie No. 45 80/71 (1971, Tempres, Tyskland). Reseptene ble homogenisert ved 180 bar og 50°C.

### 3.1.3.2 Varmebehandling

Etter homogenisering ble reseptene varmebehandlet ved enten 75 eller 95°C med en holdetid på 5 minutter før den gradvis ble nedkjølt til 40°C. Varmebehandlingen foregikk i prosessbeholdere (5L) med doble vegger med steam- og isvanntilkopling, hvor temperaturen ble justert ved injisering av steam i kappen. Bilde 1 under viser beholderne som ble brukt.



Bilde 1: Prosessbeholdere (5L), av rustfritt stål med doble vegger med steam- og isvanntilkopling, benyttet under varmebehandling

Yoghurtresepten ble tappet på autoklaverte syrningsssåer (5L) med lokk og rørepinne. Disse ble veid før og etter tapping, slik at eksakt mengde yoghurtmiks kunne kalkuleres. Prøver ble også tatt ut fra de varmebehandlede reseptene før veiingen. Syrningsssåer ble så plassert i vannbad temperert til 43°C.

### 3.1.3.3 Beregning av mengde syrekultur, poding og fermentering

Syrekulturen som ble benyttet var YC-183, levert av Christian Hansen (Danmark), bestående av bakteriene *Streptococcus thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Kulturen var av typen DVS (Direct Vat Set) og bakteriene var i form av frosne pellets (produktblad i vedlegg 3). Kulturen ble tatt opp i forveien og smeltet i autoklaverte glass.

Podeprocenten skulle være 0,02%, og mengde syrekultur som var nødvendig ble kalkulert ved bruk av formelen:

$$\text{Podemengde basert på yoghurtvekt} = \frac{\text{vekt av yoghurt} \times 0,02 \text{ (poseprosent)}}{100}$$

Verdien ble omgjort til  $\mu\text{l}$ , ved først å anta at  $1\text{ kg} = 1\text{ liter}$ , for så å multiplisere med 1000000. Podemengdene er vist i tabell i vedlegg 3.

Mengde kultur ble tilsatt med automatpipette da temperaturen i yoghurtmiksene var nådd  $43^{\circ}\text{C}$ . De ble så rørt 50 ganger med rørepinne for å få en jevn fordeling av kulturen i hele miksen. Rundt 150 ml ble tatt ut og overført til et lite glass med lokk. Syrningssåen ble satt tilbake i vannbadet, og glasset ble plassert i et annet vannbad, også temperert til  $43^{\circ}\text{C}$ . Podingen ble foretatt med 5 minutters mellomrom, hvor tidspunkt ble notert. pH ble målt i glasset jevnlig og systematisk for å registrere hvor langt syrningsprosessen var kommet. På denne måten kunne syrningssåene stå uforstyrret under fermenteringen. Fermenteringsprosessen ble stoppet når pH nådde  $4,6 \pm 0,02$ . Under produksjon 1 og 2 ble det benyttet et pH-meter av typen Orion PerpHeeT LogR meter, modell320, med elektrode (orion 9292BN "Thermo electon corporation", "Perthect combination pH") kalibrert ved å bruke standard bufferløsninger (Merck, Tyskland) på pH 4 og 7. I forsøk 3 ble det benyttet LAB pH Meter, PHM 92 (Radiometer Copenhagen, Danmark) med elektrode ("red rod" kombinert pH elektrode, pH c2005-7, Lyon, Frankrike) kalibrert på samme måte.

#### **3.1.3.4 Avkjøling og etterbehandling med kolloidmølle**

Etter endt syrning ble det rørt 30 ganger i yoghurtene. De som skulle etterbehandles ble kjørt på sirkulasjon på kolloidmølle i 30 sekunder. Kolloidmøllen var av typen "Toothed Colloid Mill" Fryma Machines AG, CH-4310 (Rheinfelden, Sveits). Yoghurtene ble tappet på sterile spann med lokk, og plassert til avkjøling i kasser fylt med is og isvann. Syrningssåer som inneholdt yoghurt som ikke skulle etterbehandles ble satt rett til avkjøling. Det ble rørt 20 ganger, hvert 10. minutt, for å forsikre en jevn avkjøling. Temperaturen ble målt og da den var nådd  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  kunne syrningsså/spann tas ut og yoghurtene pakkes.

### 3.1.3.5 Pakking

Yoghurtmassen ble overført til "konditorposer" med klippet hull i enden. Dette gjorde det enkelt å overføre yoghurten til rømmebeger og ola-LT-beger. Begrene var merket og ble umiddelbart satt lokk på og plassert på kjølerom (4°C). Det ble på begrene som skulle brukes til sensorisk analyse strøket på oblat for å forhindre "kjøleskapsmak".

## 3.2 Prøvetaking under produksjonen

Under produksjonene ble det tatt ut prøver til de ulike analysene. Dette ble gjort på råmelk, skummetmelk, MF-permeat og alt av ingredienser, samt yoghurtmikser og resepter. Alle de ulike analysene er listet i Tabell 6 under. Prøvene som skulle analyseres for denatureringsgrad ble fryst ned. Det ble i tillegg tatt ut og fryst ned en reserveprøve av alt.

Tabell 6: Prøveuttak under produksjonen

	Prøveuttak under produksjon	Bulk								Rør
		pH	Milkoskan	Kjeldahl	Tørrestoff	Aske	HPLC	Fett	Denat. HPLC (frys)	Mineral
Mandag	Råmelk	1	X	X	X	X	X	X	X	X
	Sk.melk	1	1	1	1	1	1	X	X	X
	MF-permeat	1	1	1	1	1	1	X	X	X
	MF-retentat (CF1,8)	1	1	1	1	1	1	X	X	X
	MF-retentat (CF2,8)	1	1	1	1	1	1	X	X	X
	WPC80-konsentrat	1	1	1	1	1	1	X	X	X
Tirsdag	UF-retentat	1	1	1	1	1	1	X	X	X
	MIKS K før varmebehandling	X	1	1	X	X	X	1	1	X
	MIKS P før varmebehandling	X	1	1	X	X	X	1	1	X
	MIKS S før varmebehandling	X	1	1	X	X	X	1	1	X
Onsdag	Resept 1 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 2 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 3 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 4 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 5 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
Torsdag	Resept 6 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 7 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 8 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 9 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
	Resept 10 (rett etter varmebehandling)	X	X	X	1	1	1	X	1	1
Antall prøver i hver analyse		7	9	16	16	16	3	13	10	10

Prøver ble også tatt ut for karakterisering av den ferdige yoghurten. Den ble pakket på rømmebeger og ola-LT-beger. I Tabell 7 er antall og hvilket pakkebeger som ble brukt vist, sammen med analysene og hvor de skulle gjennomføres.

Tabell 7: Prøveuttakelse for karakterisering av ferdig yoghurt

	Kalbakken			NMBU			
	Profilering	Kvalitet	Teksuranalyse	Rheometer	Dreneringstest	pH	HPLC
Fersk Yoghurt	2 rømmebeger	1 rømmebeger	3 rømmebeger	3 ola-LT-beger	2 ola-LT-beger	1 ola-LT-beger	1 ola-LT-beger
Lagret Yoghurt					2 ola-LT-beger		

Det ble til sammen pakket 4 ola-LT-beger til dreneringstest da 2 ble benyttet 9 dager (fersk) etter produksjon og de andre 23 dager etter produksjon (lagret.). Detaljert beskrivelse av de ulike analysene kommer i seksjonen under.

### 3.3 Analysemetoder

#### 3.3.1 Tørrstoff

Tørrstoffinnholdet ble analysert i skummetmelken, MF-permeatet, de to MF-retentatene, WPC-løsning, UF-retentatet, samt i alle de usyrnede yoghurtene. Metoden ble utført i henhold til metode 608 i Meierienes Analysebok (sist endret 01.10.90), med unntak av at det ble veid inn direkte fra prøver med en temperatur på 4°C. Prøvene sto i varmeskap ved 102°C i 20 timer.

#### 3.3.2 Aske

Askeinnholdet ble målt i de samme prøvene som nevnt i avsnittet over. Ved bruk av NMKL-metode 173 (2. Utgave 2005) . Det ble benyttet 10 gram prøve, og de sto i muffelovn ved 650°C i 4 timer.

#### 3.3.3 Protein (Kjeldahl)

Proteinkonsentrasjonen ble analysert ved bruk av Kjeldahl-metoden i skummetmelken, MF-permeatet, de to MF-retentatene, i WPC-konsentratet, UF-retentatet og i de tre ulike yoghurtmiksene. Dette ble gjort ved å analysere total nitrogen (TN), ikke kasein nitrogen (IKN) samt ikke protein nitrogen (IPN) etter hhv. IDF 20-1:2001 (IDF 2001a), 29-2:2004 (IDF 2004), og 20-5:2001 (IDF 2001c). Analysemetoden beskrives i detalj under, da det var en del avvik fra IDF metoden.

##### 3.3.3.1 *Prosedyre for analyse av total nitrogen*

Tre paralleller på 0,5 ml av hver prøve ble veid inn i Kjeldahlrør, og eksakt vekt ble notert. En Kjeldahltablett (Merck, Danmark) bestående av 1,5 g kaliumsulfat og 7,5 g selenium, samt 3 ml konsentrert svovelsyre (Merck, Danmark) ble tilsatt i hvert rør. Det ble også preparert to blankprøver bestående bare av reagens (tablett og svovelsyre), som ble brukt til å trekke fra titer-verdien. To standardprøver med 10% skummetmelk ble også laget for å sjekke at svaret ble som ventet. Alle rørene ble oppsluttet ved 420°C i en varmeblokk (Tecator Digestior Auto, FOSS Analytical AB Höganäs, Sverige) i 60 minutter. Rørene med prøve og reagens ble så avkjølt til romtemperatur og kjørt i en Kjeltech 8400 Analyzer Unit (FOSS Analytical AB Höganäs, Sverige), og tilbaketitret med 0,05 M HCl (Merck, Tyskland).

Nitrogeninnholdet ble beregnet ved bruk av følgende formel:



$$\%N = \frac{(Titer\ prøve - titer\ blank) * 0,070035}{gram\ prøve}$$

Da 95% av all nitrogenet i melk foreligger som proteiner, brukes omgjørings-, eller Kjeldahl-faktoren 6,38 (Walstra et al. 2006) til omregning fra prosent nitrogen til prosent total nitrogen protein (TNP).

$$\%TNP = \%N * 6,38$$

### 3.3.3.2 Prosedyre for analyse av ikke protein nitrogen

De resterende 5%, ikke protein nitrogen, består av i hovedsak urea og aminosyrer. For å felle ut ikke protein nitrogen ble 10 gram prøve veid inn i kolber, og videre tilsatt 10% trikloreddiksyre (Merck, Danmark) til vekten nådde ca. 50 g. Eksakt vekt ble registrert. Løsningen ble så filtrert med 589/2 filterpapir ("white ribbon", Ø 150mm, Whatman GmbH, Dassel, Tyskland). Deretter ble 5 gram filtrat veid i Kjeldahlrør, med tre paralleller av hver prøve. Videre var prosedyren lik som for total nitrogen.

Ikke protein nitrogenet ble funnet ved å sette inn verdiene i gitt formel:

$$\%IPN = \frac{(Titer - blank) * 0,070035 * vekt\ TCAfortynnet\ prøve}{Vekt\ prøve * vekt\ filtrat}$$

Totalproteinet kunne da beregnes ved å trekke fra total nitrogenet samt multiplisere med omgjøringsfaktor.

$$\%TP = (\%TN - \%IPN) * 6,38$$

### 3.3.3.3 Prosedyre for analyse av ikke kasein nitrogen

For utfelling av kasein ble 40 gram prøve samt 40 gram destillert vann veid inn i 100 ml kolber. Disse ble varmet til 35°C i vannbad. Deretter tilsatt 4 ml 10% eddiksyre (Merck, Tyskland) og 5-10 minutter etter, 4 ml 1M natriumacetat (Merck, Tyskland). Etter noen minutter ble pH justert til 4,6 (som feller ut kasein og denaturerte myseprotein) ved bruk av enten eddiksyre eller natriumacetat. Blandingen ble så overført til nye kolber, og etterfylt med destillert vann til vekten nådde ca. 100 gram, før den ble filtrert ved bruk av 589/2 filterpapir ("white ribbon", Ø 150mm, GE Healthcare Life Science,

Whatman , Tyskland ). 2 gram av filtratet ble så veid inn i Kjeldahlrør, 3 paralleller av hver prøve. Videre er prosedyren lik som for total nitrogen.

Ikke kasein nitrogenet ble funnet ved å sette verdier inn i gitt formel:

$$\%IKN = \frac{(Titer - blank) * 0,070035 * vekt\ pHjustert\ prøve}{Vekt\ prøve * vekt\ filtrat}$$

Kasein nitrogen kunne så beregnes ved å trekke fra ikke protein nitrogen og ikke kasein nitrogen fra total nitrogen, som vist i formel:

$$\%KN = \%TN - \%IPN - \%IKN$$

Denaturert myseprotein vil også felle ut sammen med kaseinet. En finner dermed mengde kasein og denaturert myseprotein ved å multiplisert med omgjøringsfaktor:

$$\% Kasein/denaturert\ myseprotein = \%KN * 6,38$$

Siden denaturerte myseprotein og kasein er uløselige ved pH 4,6, kan en ved å felle ut disse, finne de løselige eller native myseproteinene samt ikke-protein nitrogen forbindelsene i den resterende delen ved å bruke formelen:

$$Native/løselige\ myseprotein\ (\%NMP) = (\%IKN - \%IPN) * 6,38$$

Kasein:myseprotein-ratio i reseptene kunne også kalkuleres etter disse analysene ved bruk av formlene:

$$Kasein\ ratio = \frac{Kasein}{Kasein + NMP} * 100$$

$$NMP\ ratio = \frac{NMP}{Kasein + NMP} * 100$$

### 3.3.4 Denatureringsgrad (HPLC)

Prøveopparbeidelse til kvantitativ bestemmelse av nativ  $\alpha$ -LA samt summen av  $\beta$ -LG A og B, uttrykt som  $\beta$ -LG, ved RP-HPLC, ble utført i henhold til Beyer (1990) med tilsvarende endringer som angitt i Svanborg et al. (2014). Analysen ble gjort på de 3 miksene før varmebehandling samt på alle de 10 yoghurtreseptene etter varmebehandling. Alle prøvene ble fortynnet med Milli-Q-vann og justert til pH 4,6 med 0,05M HCL (Merck, Tyskland) for å felle ut de denaturerte myseproteinene. Løsningene ble satt til 1 times henstand før de ble filtrert (Blue ribbon 589/3, Whatman GmbH, Dassel, Tyskland). Før analyseringen startet ble prøvene fortynnet med TFA-buffer (0.1 % v/v, 99 % TFA), (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) og filtrert gjennom 0.2- $\mu$ m filter (25 mm Syringe Filter, VWR, West Chester, PA, USA). Fra hver prøve ble 10 $\mu$ L injisert i kolonnen (Zorbax 300SB-C<sub>18</sub>, 4.6, 150 mm, 5-Micron med en pre-column Zorbax 300SB-C<sub>18</sub> 4.6, 12.5 mm 5-Micron, Agilent, Santa Clara, CA, USA) i et HPLC-system (Perkin Elmer Series 200, Santa Clara, CA, USA) med UV/VIS detektor (226 nm). "TotalChrom Workstation software" versjon 6.2.1 (Perkin Elmer, Shelton, CT, USA) ble brukt for dataanalyse. Proteinene ble eluert ved en strømningshastighet på 0.5 mL/min ved 25 °C ved bruk av gradient A (0.1 % TFA) og gradient B (80 % acetonitril og 0.1 % TFA), begge fra Merck KGa (Darmstadt, Germany). Systemet ble stabilisert med 40 % gradient B i 3 minutter før den ble økt til 50 % gradient B over 2 minutter. Gradient B ble videre økt til 54 % over 12 minutter, så 60 % over 3 minutter før den tilslutt opprettholdt 60 % i 8 minutter. Vask av kolonne og ekvilibrering tok 20 minutter. Standardene som ble brukt på myseproteinene var  $\alpha$ -LA L6010,  $\beta$ -LG A L7880, og  $\beta$ -LG B L8005 (Sigma Aldrich, St.Louis, MO, USA). Kalibreringen ble gjort ved å fortynne standardløsninger av  $\alpha$ -LA og  $\beta$ -LG i gradient A, etterfulgt av filtrering gjennom 0.2- $\mu$ m filter og injisering i HPLC.

For å kalkulere hvor stor andel av myseproteinene som ikke var denaturert etter varmebehandlingen, ble myseproteinkonsentrasjonene etter varmebehandling dividert med konsentrasjonen før varmebehandling i hver enkel yoghurt. Prosentandel som ble denaturert kunne dermed lett regnes ved å trekke denne summen fra 100.

$$\% \text{ikke denaturerte MP} = \frac{\text{Konsentrasjon yoghurtresept etter varmebehandling}}{\text{Konsentrasjon yoghurtmiks før varmebehandling}} \times 100$$

$$\% \text{ Denaturert MP} = 100 - \% \text{ ikke denaturert MP}$$

Dette ble beregnet for  $\alpha$ -laktalbumin og  $\beta$ -laktoglobulin B og A, som utgjør størstedelen av myseproteinene.

### 3.3.5 Analyse av organiske syrer og karbohydrater (HPLC)

For å undersøke tilstedeværelsen av organiske syrer og karbohydrater, ble det foretatt en High Performance Liquid Chromatography. Analysen ble utført på skummetmelken, MF-permeatet, begge MF-retentatene, WPC80-løsning, UF-retentatet, alle reseptene rett etter varmebehandlingen, samt på alle yoghurtene. Hvor det ble veid inn 1,00 gram prøve i to paralleller.

Analysen ble utført i henhold til Marsili et al. (1981), basert på modifikasjon etter Narvhus et al. (1998). Prøvene ble analysert ved bruk av en Aminex HPX-87H kolonne (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) ved 30°C, koblet til en "Perkin Elmer Series 200 pumpe" (Perkin Elmer, Waltham, MA), og en "Perkin Elmer Series 200 autosampler" samt en "Perkin Elmer LC oven 101". 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i en strøm på 0,4 mL/min ble brukt som mobil fase. Standardløsninger for ekstern kalibrering ble preparert på samme måte som prøvene, og komponentene ble identifisert med hensyn på deres retensjonstid sammenliknet med standardløsninger. Dette ved bruk av en "Perkin Elmer Series 200 refractive index detector" for karbohydrater, og en "Perkin Elmer Series 200 UV/VIS detector" for de organiske syrene. Karbohydratene som ble brukt til standardløsninger var laktose, glukose og galaktose (alle fra Merck), og de organiske syrene: sitronsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, eplesyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre- og pyro-glutaminsyre (alle fra Sigma).

### 3.3.6 Fett (Gerber)

Fettinnholdet ble analysert i de tre yoghurtmiksene, ved bruk av Gerber analyse, metode 602 (sist endret 01.10.90) fra Meierienes Analysebok.

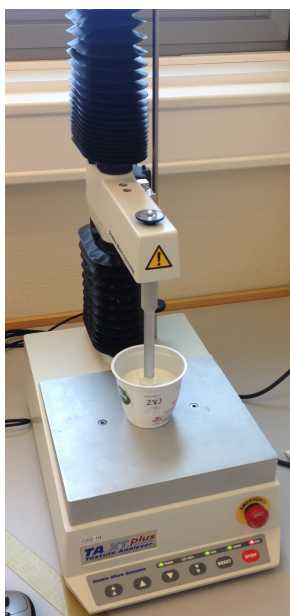
### 3.3.7 Mineral

Innholdet av natrium, fosfor, kalsium, magnesium, kalium, jern og kobber ble analysert i alle de ti yoghurtreseptene. Dette ble gjort ved å veie inn 5 ml av hver prøve i spesialbeholdere. Alle prøvene ble så dekomponert med 5,0 mL konsentrert salpetersyre ved 260° C i en UltraClave fra Milestone (2006, Leutkirch).

Etter dekomponeringen ble prøvene fortynnet i Sarsted sentrifugerør til 50,0 mL med milli-Q-vann. Massen til grunnstoffene kunne så detekteres ved bruk av en ICP-MS triple quadrupole, 8800 ICP-MS fra Agilent (2012, USA). Konsentrasjonen ble beregnet ved å sammenlikne signalstyrken med en standard for hvert mineral.

### 3.3.8 Gelfasthet (Teksturanalyse)

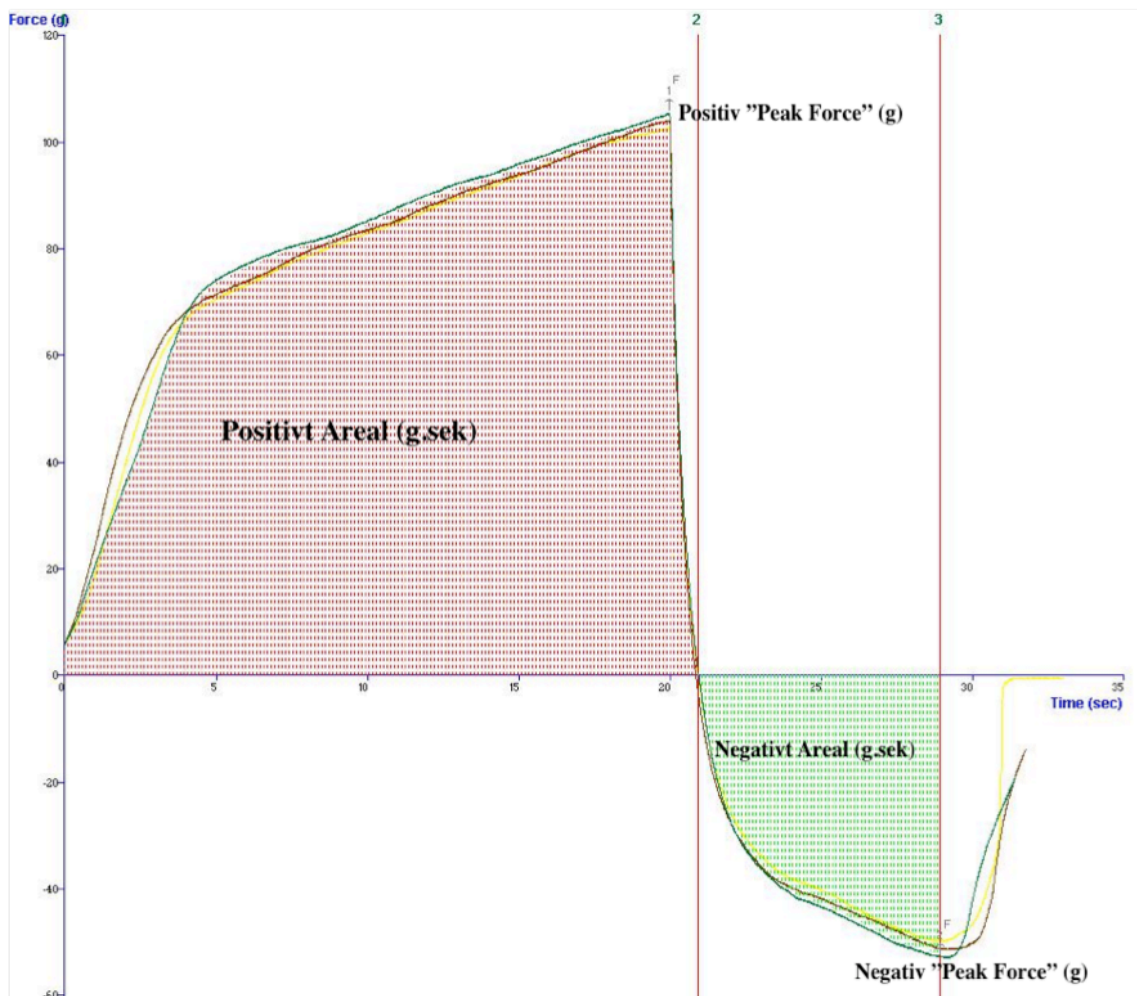
Gelfastheten til yoghurtene ble testet 6-7 dager etter produksjon ved bruk av en TA-HD.plus Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey) med en kraftcelle på 5 kg. En sylindrisk probe (P/25P Cylinder Lap Perspex, Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey) med en diameter på 25 mm ble ført 20 mm ned i yoghurten ved en hastighet på 1,00 mm/sekund. Deretter ble den ført opp med dobbel hastighet. Analysen er illustrert i Bilde 2 under:



Bilde 2: Teksturanalyse av yoghurter

Tre parallelle måling i tre forskjellige beger, ble utført på hver yoghurt. Proben ble ført ned midt i begeret. Det var ingen prøveopparbeidelse og yoghurtene ble tatt direkte ut fra kjølelagring før måling. Proben ble vasket og tørket mellom hver måling.

Data fra målingene ble hentet fra softwareprogrammet "Stable Micro Systems Exponent", versjon 6,1,5,0 (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey). Diagrammer av kraften (g) over tiden (s), som er illustrert i Figur 8, gav flere nyttige verdier.



Figur 8: Eksempel på diagram fra TA

Positiv "Peak Force" gir et mål på gelstyrken, og viser til yoghurtens fasthet. Jo høyere verdi desto fastere yoghurt. Arealet ("Positive Area") opp til dette punktet er et mål på konsistens. Negativ "Peak Force" gir en indikator på yoghurtens vedheng (Brookfield Engineering Laboratories 2014).

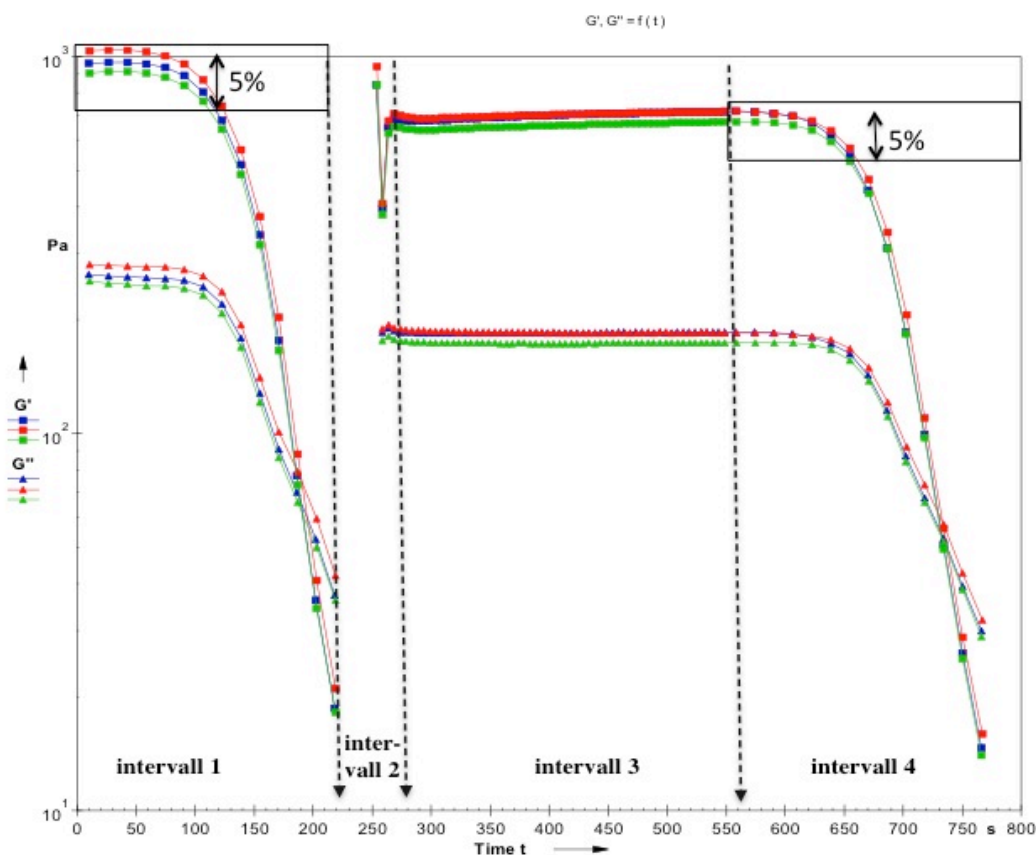
### 3.3.9 Reologi

De rheologiske egenskapene til de ulike yoghurtene ble bestemt ved å bruke Physica MCR 301 rheometer (Anton Paar GmbH, Tyskland). Plate PP50 ble benyttet og senket mot en fastsittende plate, temperert til 11°C, til avstanden mellom spindel og yoghurt var 2,0 mm (set-punkt).

Yoghurtene ble analysert 5 dager etter produksjon. Tre paralleller av hver prøve ble undersøkt. De var tatt rett fra kjølelagring, og øverste laget ble fjernet for å ta bort

eventuell myse. En teskje prøve ble lagt på platen før platen ble senket til set-punkt. Temperaturen var under hele analysen satt til 11°C, da dette er temperaturen som yoghurten har ved de sensoriske bedømmelsene, og som det tenkes at yoghurt blir konsumert ved. Softwareprogrammet "Universal Software US 200 Version 2.5X" (Anton Paar GmbH, Tyskland) ble benyttet for å analysere data.

Metoden som ble utviklet for å analysere yoghurtprøvene var delt i fire intervaller som til sammen tok 13 minutter (780 sek). Det første intervallet var et oscillasjonsintervall hvor prøven ble påført en økende belastning. Dette skjedde først veldig varsomt, før svingningene økte fra 0,05% - 100%. Oscillasjonen ble altså større, og prøven ble strukket mer og mer. Vinkelhastigheten var på 10 rad/s, som vil si 1,59 svingninger i sekundet ( $10r/2\pi$ ). Det ble totalt tatt 14 målinger i det første intervallet. I intervall 2, som var et rotasjonsintervall, ble det påført prøven såpass stor belastning at yoghurtstrukturen ble destruert. Prøven ble påført en skjærhastighet på  $50 \text{ s}^{-1}$  (tilsvarende tygging) i 30 sekunder, hvor det ble tatt 3 målinger hvert tiende sekund. Intervall 3 var et hvileintervall med veldig lav oscillasjon. Det ble påført en konstant ikke destruktiv tøyning på 0,05%. Yoghurten skulle da bygge opp strukturen etter ødeleggelsen, oppbyggingen ble overvåket med totalt 60 målepunkter. Det fjerde intervallet var nøyaktig likt det første." Figur 9 viser et eksempel på en måling av tre parallelle yoghurtprøver, hvor de ulike intervallene er merket av. Grafen viser elastisitets- ( $G'$ ) og tapsmodul ( $G''$ ) som funksjon av tid (sek), og påvirkningen platens bevegelser hadde på yoghurtens egenskaper illustreres.



Figur 9: Eksempelgraf som viser påvirkningen platens bevegelser hadde på yoghurtens egenskaper, sammen med tidsbruken (i sekunder) og målepunktene i de 4 ulike intervallene. Et tenkelig lineært viskoelastisk område (LVE) hvor  $G'$  hadde en reduksjon på 5%, er merket av da det var der målinger av tøyning og skjærspenning ble hentet fra.

Målepunkter som skulle fortelle noe om yoghurtens tøyningsevne, gelstyrke og "fast stoff egenskaper", ble hentet fra det lineær viskoelastiske området (LVE). Et tenkelig LVE er merket av i Figur 9, og er det stadiet før elastisitetsmodulen ( $G'$ ) reduseres med 5%. Dette er før yoghurtstrukturen ødelegges, og yoghurtens tilstand kan studeres under hvile. Elastisitetsmodulen ( $G'$ ) ble plottet som funksjon av både tøyning ( $\gamma$ ) og skjærspenning ( $\tau$ ), som gjorde det mulig å hente ut disse to verdiene, ved gitt elastisitetsmodul ( $G'$ ) i utgangen av det lineære viskoelastiske området. Disse målingene forteller hvor mye tøyning de ulike yoghurtene tålte, samt gir et mål på gelstyrke og "fast stoff egenskaper". Målingene ble foretatt både før og etter destruksjon av yoghurtstrukturen (intervall 1 og 4), for å kunne regne prosentandel gjenskapt gelstyrke etter destruksjon og henstand.

### 3.3.10 Myseutskillelse

Mengde myse som ble skilt fra yoghurtene ble målt ved bruk av en dreneringstest, en modifikasjon av metoden til Dannenberg og Kessler (1988b). Dette ble gjort for å finne



yoghurtgelens evne til å holde på mysen, da det er ønskelig med så lite myseutskillelse som mulig. Et sterkt gelnettverk som har høy vannbinding består av flere tynne forgreininger som holder på mysen.

Det ble brukt nylonnett (11 x 11 ruter per cm<sup>2</sup>) plassert i trakt som var satt i en erlenmeyerkolbe. Kolbene ble veid før bruk. Yoghurtene som skulle testes ble tatt ut fra kjølelagring (4°C). Ved bruk av en skje ble prøvene rørt 5 ganger, og tre skjeer ble veid inn og plassert i nylonnettet. Tre paralleller ble tatt av hver yoghurt og vekten ble notert. Mengde myse som ble drenert i løpet av 4 timer i romtemperatur ble veid, og ble et mål for myseutskillelse fra den enkelte yoghurt. Oppsettet er illustrert i Bilde 3 under.



Bilde 3: Illustrasjon av utstyr brukt til dreneringstesten

Dreneringstesten ble utført både på yoghurtene 9 og 23 dager etter produksjon. Dette for å måle vannbindingsevnen til både fersk og lagret yoghurt.

### 3.3.11 pH

pH ble målt i råmelk, skummetmelk, MF-permeat, MF-retentater, WPC80-løsning og UF-retentat, samt i alle yoghurtene 9 dager etter produksjon. Dette ble gjort ved bruk av samme pH-meter og elektrode som ble benyttet i den siste produksjonen. Alle prøvene hadde kjøleskapstemperatur (4°C) da de ble målt.

### **3.4 Sensoriske bedømmelser**

Sensoriske bedømmelser i form av kvalitetstest og profilering ble gjennomført på yoghurtene fra alle de tre forsøkene.

#### **3.4.1 Profilering**

Profileringstest kartlegger og grupperer alle yoghurtene i henhold til deres sensoriske egenskaper. Alle yoghurtene ble analysert i forhold til 17 egenskaper, hvor en intensitetsskala fra 1-9 ble benyttet for å vektlegge hver egenskap. Disse 17 egenskapene, hentet fra ISO 22934-2, er listet i Tabell 7 sammen med en forklaring av egenskap og ytterpunkter på skala:

Tabell 8: Sensoriske egenskaper om yoghurtene ble bedømt etter.

<b>Visuelle egenskaper (apparence)</b>	<b>Luftbobler</b>	1 = Ingen synlige: ingen luftbobler kan ses på overflaten av yoghurt 9 = Svært mange: yoghurt er dekket av et lag med luftbobler	
	<b>Farge</b>	1 = Hvit 9 = Grå	
	<b>Klumper</b>	1 = Ingen: ingen synlige klumper i størrelsesorden 1-5 mm 9 = Svært mange: svært mange synlige klumper i yoghurt	
	<b>Seig</b>	yoghurtens overflate ligner på cottage cheese 1 = Ikke seig: yoghurt er ikke seig og faller av skjeen i en klump 9 = Svært seig: yoghurt er svært seig og dras ut i en tråd når den faller fra skjeen.	
	<b>Blankhet</b>	1 = Svært matt: yoghurt har svært matt overflate 9 = Svært blank: yoghurt har svært blank overflate	
	<b>Flokker</b>	Flokker er tilstedeværelse av mindre partikler (< 1mm) på baksiden av skjeen 1 = Ingen synlige: yoghurt har ingen synlige flokker, overflaten er glatt på baksiden av skjeen 9 = Svært mange: yoghurt har svært mange synlige flokker på baksiden av skjeen, overflaten er irregulær	
	<b>Sandete</b>	1 = Ingen sandete: det er ingen følelse av sandkorn på tunga 9 = Svært sandete: det kjennes ut som det er mye sukkerkrytaller i yoghurt	
	<b>Melen</b>	1 = Ikke melen: det er ingen følelse av små mel-partikler i munnen 9 = Svært melen: det kjennes ut som det er mye mel i yoghurt	
	<b>Fydighet/ munnfølelse</b>	1 = Vassen: yoghurt er vassen og kjennes vannaktig i munnen 9 = Svært kremet: yoghurt er svært kremet i munnen	
	<b>Glatthet</b>	1 = Ikke glatt: det kjennes mange partikler på tunga når produktet presses mellom tunge og gane. Yoghurtens føles irregulær, kornete og/eller ujevn 9 = Svært glatt: det kjennes ingen ujevnheter eller korn i yoghurt, den er svært glatt.	
<b>Konsistensegenskaper</b>	<b>Tykkelse</b>	1 = Tynn: yoghurt er svært tynn og har konsistens som f.eks. fløte 9 = Svært tykk: yoghurt er svært tykk og har konsistens som f.eks. kremost	
	<b>Yoghurtsmak</b>	1 = Ingen: det er ingen aromatisk yogurtsmak 9 = Intens: yoghurt har kraftig, aromatisk yogurtsmak	
	<b>Besk/bitter</b>	1 = Ingen: yoghurt har ingen besk/bitter smak 9 = Intens: yoghurt har en kraftig besk/bitter smak	
	<b>Mysesmak</b>	1 = Ingen: yoghurt har ingen mys smak 9 = Intens: yoghurt har en kraftig mys smak	
	<b>Bismak</b>	1 = Ingen: yoghurt har ingen bismaker 9 = Intens: yoghurt har en eller flere kraftige bismaker	
	<b>Oksidert</b>	1 = Ingen: yoghurt har en kraftig oksidert smak 9 = Intens: yoghurt mangler syrlighet og har en svært tam smak	
	<b>Syrlighet</b>	1 = Ingen: yoghurt mangler syrlighet og har en svært tam smak 9 = Intens: yoghurt har en kraftig og skarp sur smak	
	<b>Smaksegenskaper</b>		

Bedømmelsen ble utført på sensorikkrommet hos TINE Kalbakken, av et erfarent dommerpanel, 6 og 7 dager etter produksjon. Prøvene ble profilert av et dommerpanel bestående av 6 dommere, i to omganger. Dommerpanelet ble kalibrert med fire yoghurter før hver bedømmelse slik at de ble samkjørt og enige om ytterpunkter og bruk av intensitetsskala. To kommersielle produkter og to yoghurter fra produksjonen ble brukt til kalibreringen. Prøvene som ble valgt fra produksjonen er vist i Tabell 9, med navneforklaring gitt i Tabell 1. Disse ble valgt med hensyn på hvilke som gav størst spredning i egenskaper for hver produksjon.

Tabell 9: Yoghurter valgt til kalibrering

Forsøk	Fin	Klumpete
1	KLM	KHI
2	KLI	KHI
3	PLI	KHI

TINEs yoghurt naturell og mager kesam ble valgt som kommersielle kalibreringsprodukter. Kesam er fersk ost, ikke yoghurt, men ble allikevel tatt med da den har flere like egenskaper som den yoghurten det er ønskelig å produsere. Sammensetningen er vist i Tabell 10.

Tabell 10: Sammensetningen i kalibreringsprodukter

	Protein	Laktose	Fett
Kesam mager	12	4,3	1
Yoghurt naturell	4,1	5,6	3,4

Yoghurtene ble rørt opp med skje fem ganger og satt i romtemperatur til en temperatur på rundt 11°C var nådd. Prøvene var kodet med tresifrede tall og ble servert til dommerne, i plastskåler, i tilfeldig rekkefølge. Nye koder og rekkefølger ble benyttet for hver omgang, og for hvert forsøk.

### 3.4.2 Kvalitetstest

Kvalitetstest ble også utført på sensorikkrommet hos TINE Kalbakken. Dette for å undersøke om produktene var i samsvar med spesifikasjonene eller om det var noen form for avvik. Kvalitetstesten ble gjennomført mellom 7 og 15 dager etter produksjon.

Prøvene ble bedømt ved bruk av en 5-poengs skala med hensyn til utseende, konsistens samt lukt/smak. Tre til fire autoriserte dommere utførte testen. Poenggivelsen blir brukt

som et mål på salgbarhet, hvor produkter som har 3 poeng eller laver ikke er egnet til salg, feilen på dette produktet må angis. Poengskala med forklaring er gitt under:

5 poeng = samsvar med sensorisk spesifikasjon

4 poeng = ubetydelig avvik fra sensorisk spesifikasjon

3 poeng = tydelig avvik fra sensorisk spesifikasjon

2 poeng = betydelig avvik fra sensorisk spesifikasjon

1 poeng = svært betydelig avvik fra sensorisk spesifikasjon

Prøvene ble satt i romtemperatur i 30-60 minutter før bedømmelsen startet.

Bedømmelse av utseende ble gjort i emballasjen mens prøven var i ro. Deretter ble prøvene rørt fem ganger med skje av panelleder og en spiseskje ble overført til petriskåler til dommerne. Konsistensen ble bedømt ved at dommerne rørte forsiktig rundt i prøven, lot produktet "falle" fra ca. 10 cm høyde ned i skålen, for deretter å registrere om produktet toppet seg eller fløt utover. Lukt/smak ble bedømt fra samme prøve som fra konsistens.

### **3.5 Statistisk behandling av resultatene**

Analysereultatene ble behandlet med program Minitab 13.1 (Minitab Inc., Pennsylvania, USA), ved bruk av enveis variansanalyse og modellen General lineær model (GLM).

Signifikante forskjeller mellom yoghurter samt signifikante effekter av de ulike produksjonsfaktorene ble undersøkt. Grupperingsinformasjon ved bruk av tukey parvise sammenligningstest, ble også hentet ut for å se i hvilken retning de ulike faktorene hadde en effekt. Ingen samspillseffekter ble testet.

$H_0$ : Forsøksfaktor (X) har ingen effekt på gitt parameter

$H_1$ : Forsøksfaktor (X) har effekt på gitt parameter

Det ble valgt et konfidensintervall på 95%, og nullhypotesen ble forkastet dersom p-verdien var  $<0,05$ .

Modellen som ble brukt besto av de faste faktorene gjentak (1 eller 3), myseproteinkilde (nativt myseproteinkonsentrat eller rekombinert WPC80-pulver), varmebehandling (75°C i 5 min eller 95°C i 5 min), og etterbehandling med kolloidmølle (ja eller nei).

Modell for statistisk behandling:

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha_l + \varepsilon_{ijkl}$$

$\tau_i$ : hovedeffekt av gjentak;  $i=1, 3$ ;  $a=2$

$\beta_j$ : hovedeffekten av myseproteinkilde;  $i=1, 2$ ;  $b=2$ .

$\gamma_k$ : hovedeffekten av varmebehandling;  $j=1, 2$ ;  $c=2$

$\alpha_l$ : hovedeffekten av etterbehandling;  $k=1, 2$ ;  $d=2$

$\varepsilon_{ijkl}$  : feilledd.  $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$

$y_{ijkl}$  er de ulike responsvariablene i form av sensoriske parameter, rheologiske målinger, teksturmålinger, myseseperasjon og denatureringsgrad.

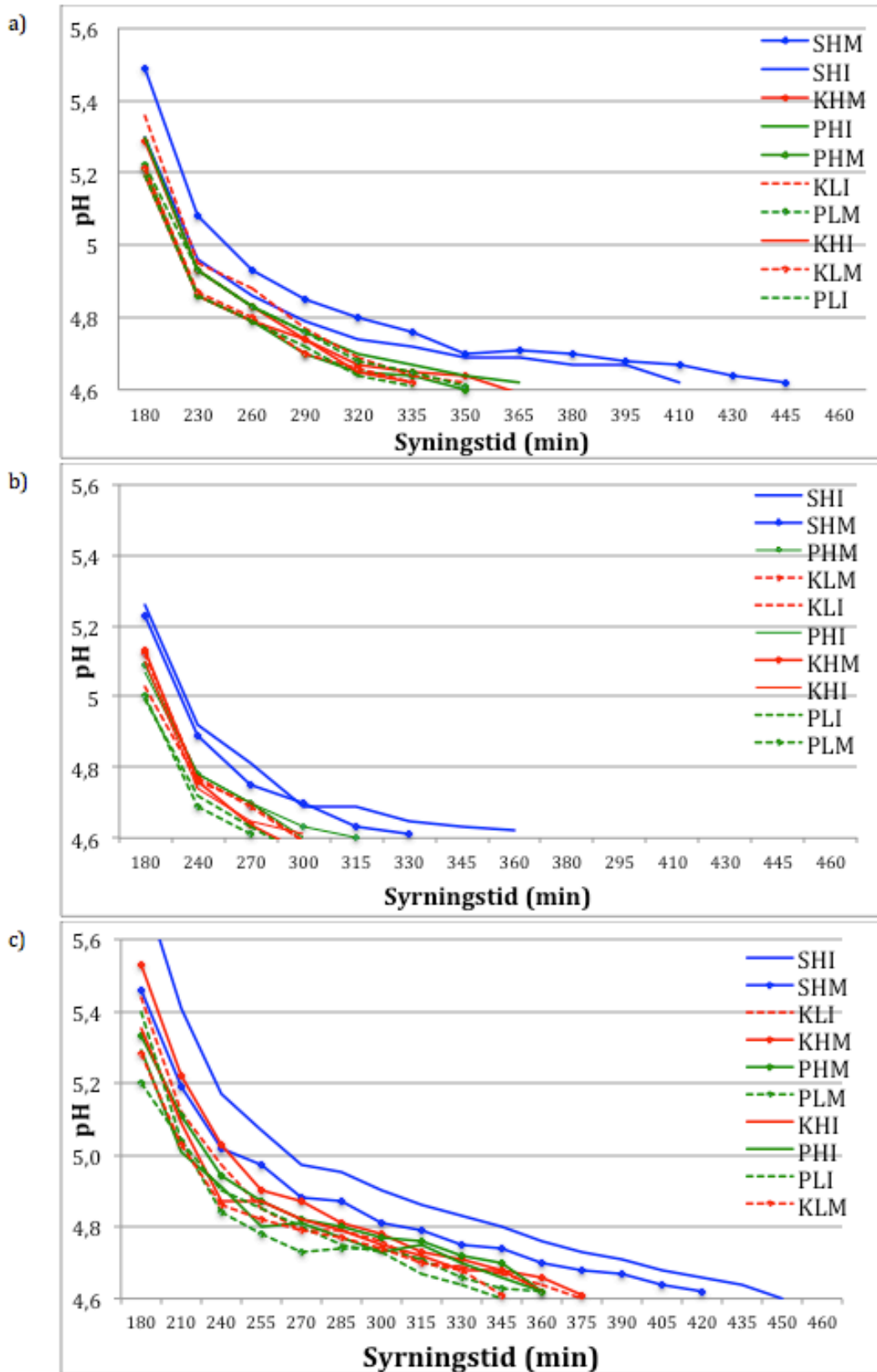
## 4 Resultater

Rådata fra analysene og utskrift fra statistisk behandling av resultatene er lagt i vedlegg på CD. Vedleggslisten i avsnitt 9 gir en oversikt over disse.

### 4.1 Syrningstider

Utviklingen av pH under fermenteringen i de ulike yoghurtene ble registrert og er vist i Figur 10 a), b) og c) under for hhv. gjentak 1, 2 og 3. De første målingene ble tatt 3 timer etter syrningen startet. Yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat (K) som ingrediens er illustrert med rødt, de med WPC80 (P) er vist med grønt, mens yoghurtene som ble produsert med bare kaseinkonsentrert melk (S) er illustrert med blått.

Yoghurtene som ble behandlet med høy varmebehandling (H), er vist som en heltrukket linje, mens de som ble behandlet med en lav varmebehandling (L) er vist som stiplet linje. Yoghurtene som ble etterbehandlet med kolloidmølle har betegnelsen M, og de som ikke ble behandlet har betegnelsen I. Disse er illustrert med hhv. stjerne og ikke stjerne i figuren. Etterbehandlingen har derimot ingen påvirkning på syrningstiden ettersom den skjedde etter fermenteringen var avslutte.



Figur 10: Utviklingsløp for pH under fermentering av yoghurtresepter i gjentak 1, 2 og 3. Syringstiden er gitt i minutter, og koder for de ulike yoghurtene er vist i tabell 1.



Fermenteringen ble avsluttet når pH var nådd  $4,6 \pm 0,02$ . Tiden dette tok varierte fra yoghurt til yoghurt. Fra figuren er det tydelig at yoghurtene produsert med bare proteinkonsentrert melk hadde lengst syringstid, noe som er gjennomgående for alle gjentakene. Syringstiden for disse yoghurtene var i gjentak 1 og 3 på hele 7-7,5 timer. Disse hadde også en veldig fast konsistens under opprøringen. Det er også gjennomgående at yoghurtene produsert med lav varmebehandling generelt hadde kortest syringstid. Den var i forsøk 1 og 3, på 5 timer og 45 minutter. Det varierte om dette var en yoghurt produsert med myseproteinkonsentrat eller WPC80. Et unntak er KHI, som i første forsøk var en av dem som var ferdig syrnet først.

Det kommer frem fra figuren at det i gjentak 2 var en betydelig kortere syringstid sammenliknet med gjentak 1 og 3. Etter endt syring og under opprøringen hadde yoghurtene fra gjentak 2 også en mindre tykk konsistens sammenliknet med gjentak 1 og 3. pH-meteret som ble brukt i gjentak 2 ble byttet ut, da det var mistanke om at dette ikke viste korrekt.

#### 4.1.1 pH

pH ble målt i yoghurtene 9 dager etter produksjon, for å se om det var nedgang i pH ved lagring, og eventuelt hvor stor ettersyrningen var. Tabell 11 viser resultatene fra de ulike gjentakene. I første kolonne for hvert gjentak er pH målt ved endt syring vist for å sammenlikning.

Tabell 11: pH målt i yoghurt ved endt syring samt 9 dager etter produksjon ved gjentak 1, 2 og 3. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

	Gjentak 1		Gjentak 2		Gjentak 3	
	pH ved slutt	pH etter 9 dager	pH ved slutt	pH etter 9 dager	pH ved slutt	pH etter 9 dager
KLM	4,62	4,46	4,59	4,56	4,61	4,58
KLI	4,62	4,45	4,59	4,55	4,60	4,47
KHM	4,59	4,48	4,60	4,67	4,61	4,49
KHI	4,62	4,37	4,62	4,69	4,62	4,55
PLM	4,61	4,52	4,59	4,65	4,62	4,57
PLI	4,61	4,41	4,60	4,65	4,60	4,51
PHM	4,60	4,44	4,60	4,55	4,62	4,48
PHI	4,62	4,44	4,60	4,55	4,62	4,58
SHM	4,62	4,43	4,59	4,78	4,62	4,57
SHI	4,62	4,49	4,62	4,61	4,60	4,52

Fra tabellen kan en se en viss nedgang i pH etter 9 dagers lagring for de fleste yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3. Høye pH-verdier på opptil 4,78 ble observert i yoghurtene fra gjentak 2 (denne gangen målt med et annet pH-meter enn det som ble brukt under pH-målingene i syrningsprosessen). Dette er med på å støtte opp under mistanken at pH-meteret som ble brukt i gjentak 2 var defekt. pH etter 9 dager er også høyere ved gjentak 3 sammenliknet med gjentak 1 for flere av yoghurtene.

## 4.2 Sammensetning

Sammensetningen, altså protein-, kasein/denaturert myseprotein, native myseprotein-, laktose-, tørrstoff- og askeinnhold, til de ulike ingrediensene som ble brukt i yoghurtproduksjonen er vist i Tabell 12 under. De er vist i form av gjennomsnittsverdi av de tre gjentakene, med tilhørende standardavvik.

Tabell 12: Sammensetningen av de ulike ingrediensene som ble brukt i yoghurtreseptene i form av protein-, kasein/denaturert myseprotein, native myseprotein-, laktose-, tørrstoff- og askeprosent. Det er gjennomsnittsverdier fra de tre gjentakene med tilhørende standardavvik.

	Protein (%)	Kasein/ denaturert MP (%)	Nativt myseprotein (%)	Laktose (%)	Tørrstoff (%)	Aske (%)
Skummet melk	3,24 ± 0,02	2,24 ± 0,02	0,99 ± 0,04	4,96 ± 0,06	9,28 ± 0,15	0,73 ± 0,01
MF-permeat	0,48 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,46 ± 0,03	4,91 ± 0,48	6,10 ± 0,24	0,42 ± 0,05
Konsentrert melk (6%)	5,66 ± 0,05	4,80 ± 0,43	0,86 ± 0,48	4,71 ± 0,08	11,75 ± 0,29	0,96 ± 0,04
Konsentrert melk (8%)	8,42 ± 0,25	7,42 ± 0,72	1,00 ± 0,47	4,10 ± 0,61	14,44 ± 0,48	1,18 ± 0,02
WPC80	6,00 ± 0,24	0,33 ± 0,00	5,35 ± 0,31	0,53 ± 0,05	8,33 ± 0,10	0,31 ± 0,01
Myseproteinkonsentrat	7,44 ± 0,48	0,44 ± 0,05	7,01 ± 0,44	4,42 ± 0,49	12,79 ± 0,35	0,52 ± 0,01

Videre er gjennomsnittsverdier av protein-, kasein/denaturert myseprotein, native myseprotein-, laktose-, tørrstoff- og askeinnhold i de ti ulike yoghurtreseptene fra de tre gjentakene med tilhørende standardavvik vist i Tabell 13.

Tabell 13: Sammensetningen av de ulike yoghurtreseptene i form av protein-, kasein/denaturert myseprotein, native myseprotein-, laktose-, tørrstoff- og askeprosent. Det er presentert som gjennomsnittsverdier fra de tre gjentakene, med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er gitt i tabell 1.

	Protein (%)	Kasein/ denaturert MP (%)	Nativt myseprotein (%)	Laktose (%)	Tørrstoff (%)	Aske (%)
KLM	7,47 ± 0,27	4,67 ± 0,56	2,80 ± 0,29	4,49 ± 0,18	13,55 ± 0,27	0,98 ± 0,00
KLI	7,47 ± 0,27	4,67 ± 0,56	2,80 ± 0,29	4,20 ± 0,40	13,52 ± 0,24	0,99 ± 0,00
KHM	7,47 ± 0,27	4,67 ± 0,56	2,80 ± 0,29	4,06 ± 0,46	13,64 ± 0,24	0,96 ± 0,02
KHI	7,47 ± 0,27	4,67 ± 0,56	2,80 ± 0,29	4,05 ± 0,33	13,75 ± 0,29	0,95 ± 0,03
PLM	7,43 ± 0,13	5,66 ± 0,33	1,78 ± 0,21	3,14 ± 0,20	12,26 ± 0,38	0,84 ± 0,03
PLI	7,43 ± 0,13	5,66 ± 0,33	1,78 ± 0,21	2,94 ± 0,30	12,23 ± 0,46	0,89 ± 0,03
PHM	7,43 ± 0,13	5,66 ± 0,33	1,78 ± 0,21	3,32 ± 0,38	12,39 ± 0,28	0,90 ± 0,02
PHI	7,43 ± 0,13	5,66 ± 0,33	1,78 ± 0,21	3,54 ± 0,24	12,32 ± 0,33	0,86 ± 0,02
SHM	7,61 ± 0,07	6,60 ± 0,47	1,01 ± 0,40	3,88 ± 0,71	13,68 ± 0,34	1,10 ± 0,02
SHI	7,61 ± 0,07	6,60 ± 0,47	1,01 ± 0,40	4,22 ± 0,27	13,65 ± 0,38	1,07 ± 0,05

Det må presiseres at proteininnholdet som er fremstilt i denne tabellen er fra yoghurtreseptene før varmebehandling. Dermed kommer ikke effekten varmebehandlingen hadde på myseproteinene frem fra disse resultatene. Denatureringsgrad, som kan illustrere effekten av varmebehandling er vist i avsnitt 4.3.

Det totale proteininnholdet ligger på rundt 7,5% for alle de ti yoghurtene som ble produsert. Dette stemmer overens med målingene gjort på milkoskan og reseptberegningene som ble gjort på bakgrunn av disse, da det var ønskelig å produsere en yoghurt med 8% protein. Tabell 13.

Tabell 13 viser at fordelingen av de ulike proteinene varierer med hensyn på ingrediensen som er brukt. Resepten laget med bare proteinkonsentrert melk (S) inneholdt mest kasein. Og reseptene laget med myseproteinkonsentrat (K) som ingrediens hadde inneholdt mest nativt myseprotein. Når det kommer til myseprotein:kasein-ratio i yoghurtene, skulle den i teorien ligge på 35:65 for yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat (K) og WPC80 (P). Etter kjeldahl analysen kommer det frem at dette ikke stemmer helt for de som ble produsert med WPC80 som ingrediens. Her ble fordelingen ca. 24:76. Det stemmer derimot bra i yoghurtreseptene produsert med myseproteinkonsentrat, hvor forholdet ble beregnet til å være rundt 37:63. Myseprotein:kasein-ratio i reseptene uten tilsatt myseprotein lå som ønsket på rundt 15:85.

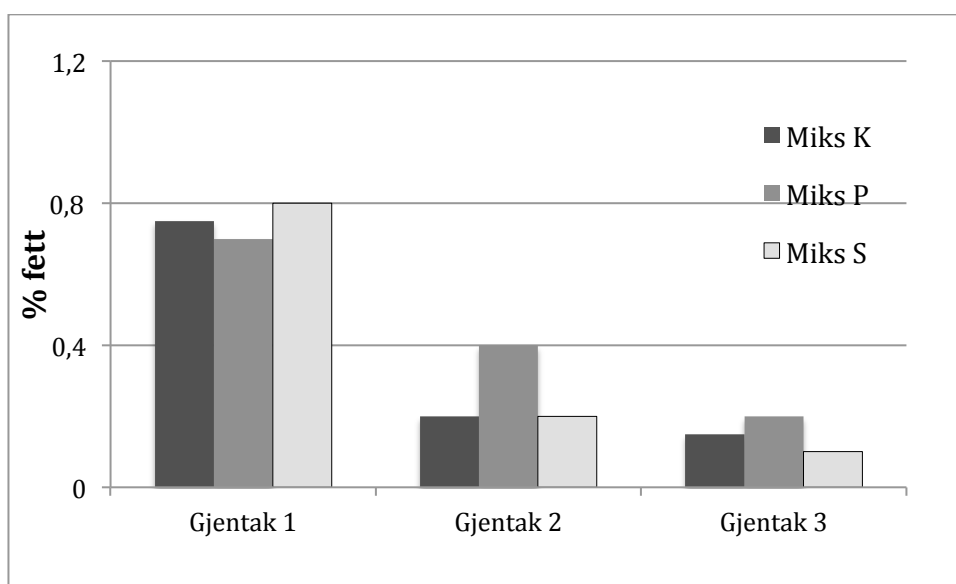
Laktoseinnholdet vist i Tabell 13 er målt i yoghurtreseptene før syring, hvordan innholdet var etter syringen er vist i avsnitt 4.2.2. Yoghurtene laget med samme resept skulle dermed i teorien inneholde samme mengde laktose. Tabell 13 viser at det er noen variasjoner, som mest sannsynlig kommer av unøyaktig prøveopparbeidelse eller analyse. Reseptene laget med WPC80 inneholdt rundt 3% laktose, som er mindre enn de to andre reseptene basert på nativt myseproteinkonsentrat. Yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat og proteinkonsentrert melk inneholdt rundt 4%, som stemmer bra overens med beregningene som ble gjort.

Tørrstoff ble målt i yoghurtreseptene etter varmebehandling, og er også signifikant høyest i yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat og proteinkonsentrert

melk. Askeinnholdet var signifikant høyere i yoghurtene produsert med konsentrert melk, og signifikant lavest i dem fremstilt med WPC80.

#### 4.2.1 Fett

Fettinnholdet ble analysert ved bruk av gerber-metode målt i de tre yoghurtmiksene før varmebehandling. Hvor Miks K inneholdt myseproteinkonsentrat, Miks P, WPC80, og Miks S, bare proteinkonsentrert melk. I Figur 11 er resultatene fra hvert forsøk presentert.



Figur 11: Fettprosent analysert i de ulike reseptene, laget med myseproteinkonsentrat (K), WPC80-konsentrat (P) og proteinkonsentrert melk (S), i gjentak 1, 2 og 3 med gerber-metode

Fettinnholdet skulle ligge på ca. 0,2%. Det er noe høyere i det gjentakket hvor fettmengden ligger rett under 0,8%. Dette kommer av at skummingen ikke var like optimal i første produksjon.

#### 4.2.2 Organiske syrer og karbohydrater

Konsentrasjonen av organiske syrer og karbohydrater ble målt i alle ingrediensene, yoghurtresepter og ferdig yoghurt. Melkesyre-, sitronsyre-, orotinsyre- og urinsyrekonsentrasjonen sammen med laktose-, glukose- og galaktoseinnholdet er vist i Tabell 14 under. Konsentrasjonen (gitt i ppm) er vist som gjennomsnittsverdier fra de tre gjentakene, med tilhørende standardavvik.

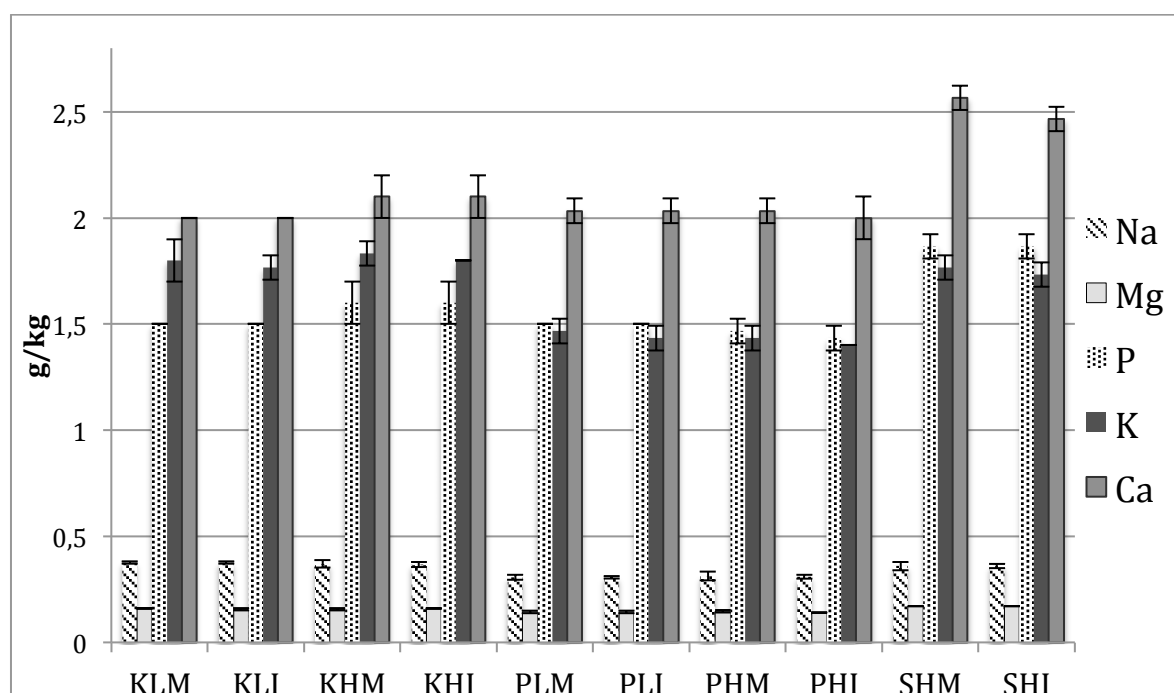
Tabell 14: Organiske syrer og karbohydrater analysert i ingrediensene, yoghurtreseptene og ferdige yoghurtur. Konsentrasjonen er vist som ppm og er et gjennomsnitt fra de tre forsøkene, standardavviket er vist i en kolonne for seg. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

	Melkesyre (ppm) Konsentrasjon ± SD	Sitronsyre (ppm) Konsentrasjon ± SD	Orotinsyre (ppm) Konsentrasjon ± SD	Urinsyre (ppm) Konsentrasjon ± SD	Laktose (ppm) Konsentrasjon ± SD	Glukose (ppm) Konsentrasjon ± SD	Galaktose (ppm) Konsentrasjon ± SD						
Sk.melk	0	2352,39	98,63	5,05	12,29	0,67	1242,82	60,58	30,89				
MF-perreat	0	2215,57	43,79	87,03	2,02	17,76	0,20	52242,78	911,28	72,62	0,74		
MF-retentat (CF:1.8)	0	2192,57	11,06	75,40	0,91	11,84	0,13	46975,77	341,98	0	36,66	0,01	
MF-retentat (CF:2.8)	0	2063,51	52,67	71,04	0,88	12,47	1,52	44838,20	613,19	0	33,91	1,00	
WPC80-konsentrat	29,865	771,55	14,08	8,05	0,11	3,17	0,07	5711,44	56,63	30,32	0,44	55,04	1,00
UF-retentat	0	2278,55	6,87	73,86	0,93	13,54	0,66	49581,91	748,03	0	67,51	0,37	
Resept	0	2166,79	44,89	71,60	1,98	13,20	0,16	46485,49	1246,49	0	34,61	1,03	
Yoghurt	12048,6	2172,50	28,02	64,85	0,96	12,20	0,44	22180,46	371,41	572,545	1,31	10880,02	178,26
Resept	0	2164,52	19,50	71,45	0,86	13,72	0,40	46288,90	723,84	0	32,42	0,16	
Yoghurt	12339,48	2147,72	40,16	62,83	0,37	14,06	0,16	21825,78	214,66	576,445	35,55	11250,71	21,47
Resept	0	2154,42	6,25	71,43	0,01	14,77	0,21	45916,31	13,28	0	34,61	1,03	
Yoghurt	11218,39	1975,56	46,11	57,09	0,18	12,92	1,24	19028,65	2123,89	368,5	38,98	9636,46	1090,05
Resept	0	2084,14	106,14	70,29	3,66	13,39	0,59	44331,07	1841,89	0	35,69	1,80	
Yoghurt	11477,085	2006,17	2,19	60,76	0,51	12,72	0,92	20083,97	166,81	441,725	4,57	10168,72	98,05
Resept	0	1668,44	22,44	53,11	1,61	10,69	0,06	33232,03	251,50	0	35,69	1,80	
Yoghurt	12109,355	1674,07	86,91	45,59	1,83	10,77	0,66	9800,47	794,92	247,465	5,10	10896,53	688,00
Resept	0	1630,61	19,34	51,56	0,00	10,91	0,08	32623,11	86,35	0	28,88	0,10	
Yoghurt	11018,23	1534,73	101,77	42,45	2,28	9,88	1,22	9399,13	796,24	198,15	15,74	9837,81	823,42
Resept	0	1683,26	33,42	53,54	0,57	11,84	0,08	33703,34	304,23	0	31,20	0,69	
Yoghurt	11813,7	1608,90	13,35	44,20	0,34	10,03	0,23	9673,28	27,10	157,78	0,01	10473,77	20,41
Resept	0	1688,90	53,93	53,38	1,34	12,30	0,28	33686,22	785,22	0	32,76	0,62	
Yoghurt	11728,41	1589,93	32,38	43,42	0,10	11,61	0,58	9453,14	329,53	70,545	1,53	10394,02	204,30
Resept	0	2150,75	0,64	72,65	0,01	12,97	0,21	45562,50	15,90	0	33,21	1,20	
Yoghurt	13636,98	2186,78	21,97	60,54	0,96	12,41	0,28	18559,68	185,23	811,835	5,93	12372,88	113,33
Resept	0	2128,02	3,10	71,68	0,07	12,75	0,35	45292,07	430,41	0	34,45	0,98	
Yoghurt	13322,87	2117,42	27,12	63,03	0,25	13,38	0,25	18141,35	160,53	1062,415	2,02	12022,32	70,70

Melkesyrekonsentrasjonen ligger på 11018-13636 ppm i ferdig syrnet yoghurt. Sitronsyre-, orotinsyre- og urinsyrekonsentrasjonen er nokså jevn i de ulike prøvene, utenom i WPC80, og yoghurtene produsert med denne ingrediensen, hvor konsentrasjonen er noe lavere.

### 4.2.3 Mineral

Mineralinnholdet i de ulike yoghurtene er vist i Figur 12 og Figur 13 som gjennomsnittsverdier fra de tre gjentakene. Natrium, magnesium, fosfor, kalium og kalsiumkonsentrasjonen er vist som g/kg i Figur 12.

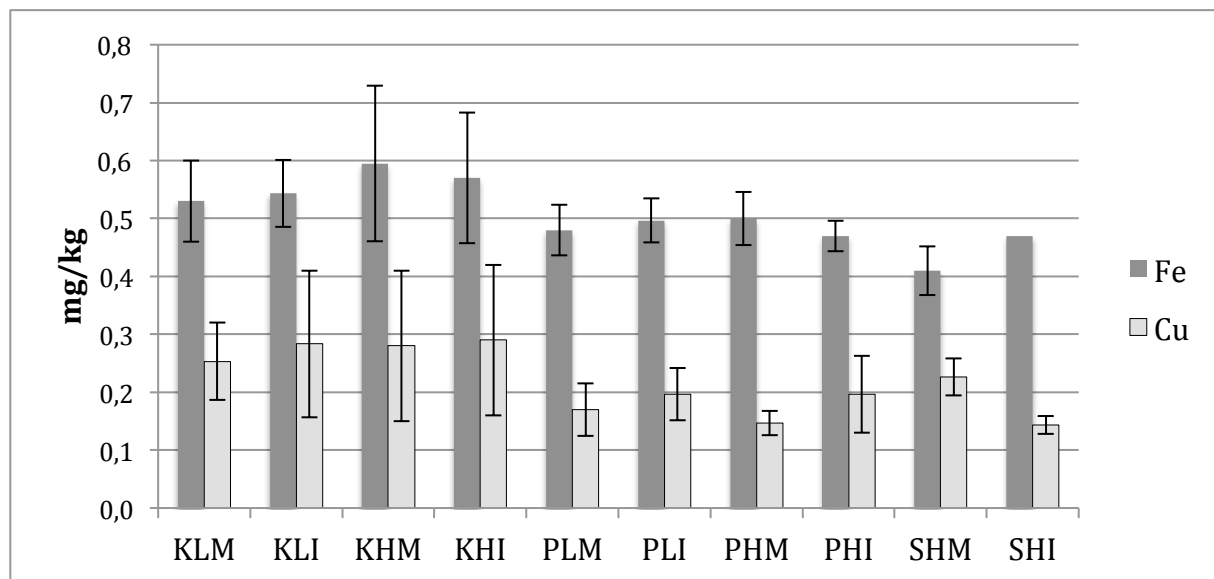


Figur 12: Gjennomsnittlig natrium, magnesium, fosfor, kalium og kalsiumkonsentrasjon (g/kg) i de ulike yoghurtene fra gjentak 1, 2 og 3, med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

Analysen ble tatt av yoghurtresept etter varmebehandling, de var altså ikke behandlet med kolloidmølle. Konsentrasjonene av de ulike mineralene er høyere enn i vanlig melk. Dette er som ventet ettersom membranfiltrering av melk også vil konsentrere opp mineralinnholdet. Det er en tendens til økt konsentrasjon av fosfat, kalsium og kalium i reseptene laget med myseproteinkonsentrat behandlet med høy temperatur. Generelt er mineralkonsentrasjonene høyere i reseptene laget med bare proteinkonsentrert melk da det ikke er noen form for fortynning med myseproteinkonsentrat.

Gjennomsnittlig jern- og kobberinnhold fra de tre gjentakene, med tilhørende

standardavvik, er vist som mg/kg i Figur 13 under.

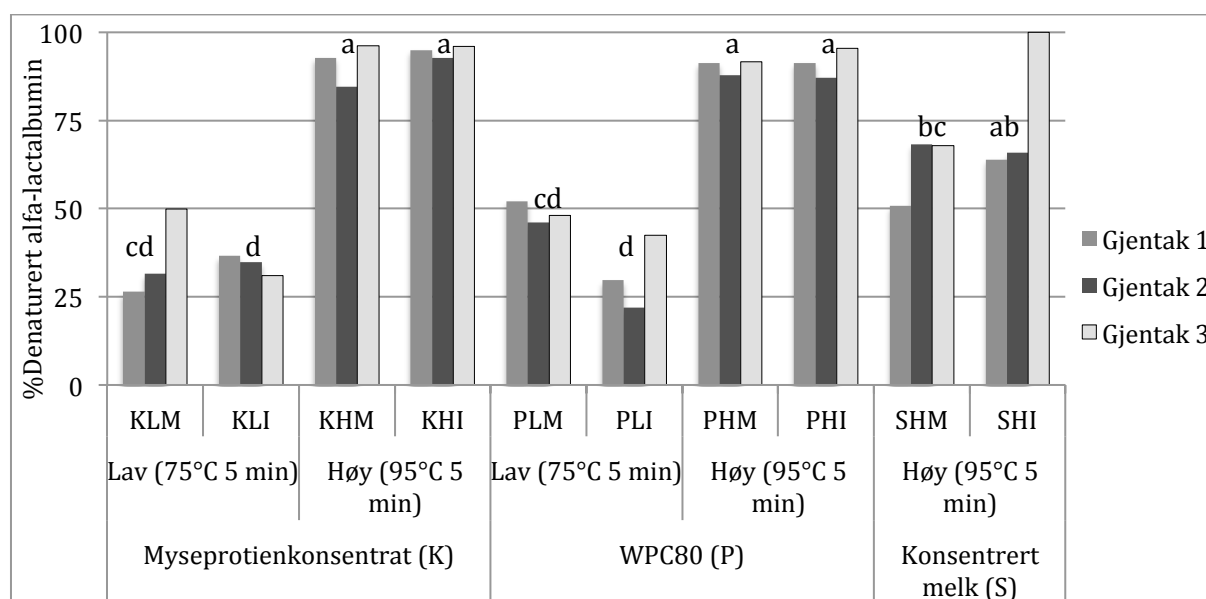


Figur 13: Gjennomsnittlig jern og kobberinnhold (mg/kg) i de ulike yoghurtene fra gjentak 1, 2 og 3 med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

Standardavvikene mellom de ulike forsøkene er relativt høye. Det er dermed vanskelig å si noe om forskjellen mellom de ulike reseptene. På grunn av feil under prøveoppbeidelsen eller analysen ble det ikke funnet eksakt konsentrasjon av jern i den andre og tredje prøven av SHI, dermed er bare verdien fra gjentak 1 oppgitt uten standardavvik.

### 4.3 Denatureringsgrad

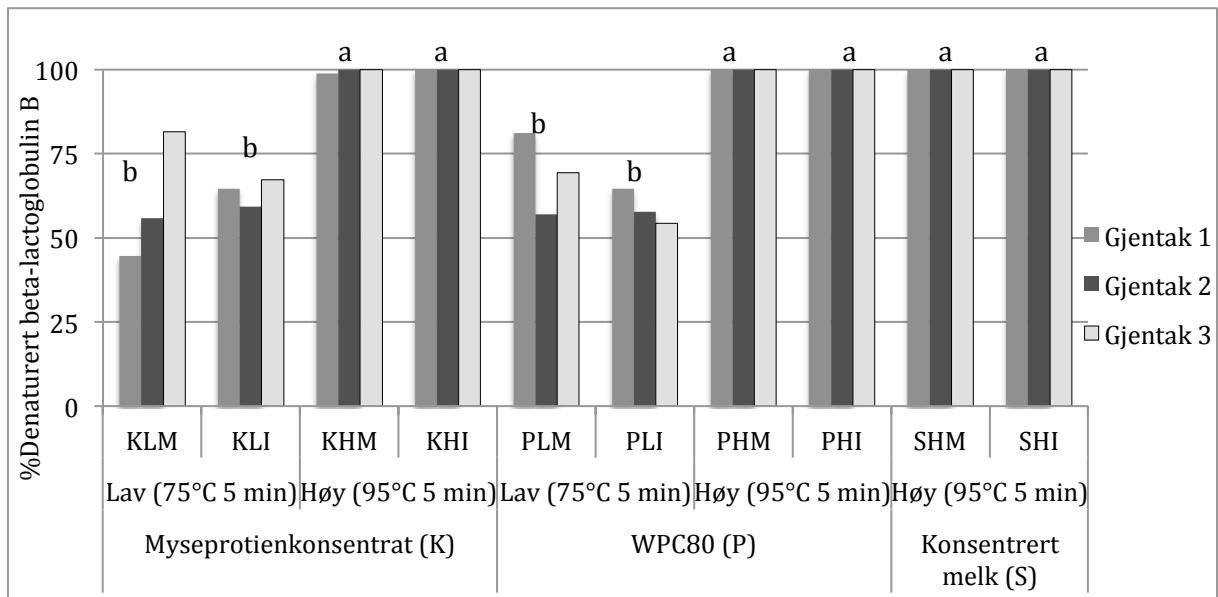
Andel denaturert  $\alpha$ -laktalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin B og  $\beta$ -laktoglobulin A, som ble analysert og beregnet i de ulike yoghurtreseptene, er vist i henholdsvis Figur 14, Figur 15 og Figur 16. Statistisk variansanalyse ble også utført for å undersøke om det var signifikante forskjeller mellom de ulike yoghurtene når det kom til de gitte parameterne. Det ble beregnet på verdiene fra de tre gjentakene, og resultatene er vist som bokstaver over stolpene i figurene. Ulike bokstaver angir at andel denaturert myseprotein var signifikant forskjellig på et 95% signifikansnivå, hvor  $a > b > c > d$ . Like bokstaver forteller at det ikke var noen signifikant forskjell mellom yoghurtene med hensyn på andel denaturert myseprotein.



Figur 14: Andel denaturert  $\alpha$ -laktalbumin etter varmebehandling i hver yoghurt fra de tre gjentakene. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene over stolpene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver indikerer at gjennomsnittet denaturert  $\alpha$ -laktalbumin var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d$

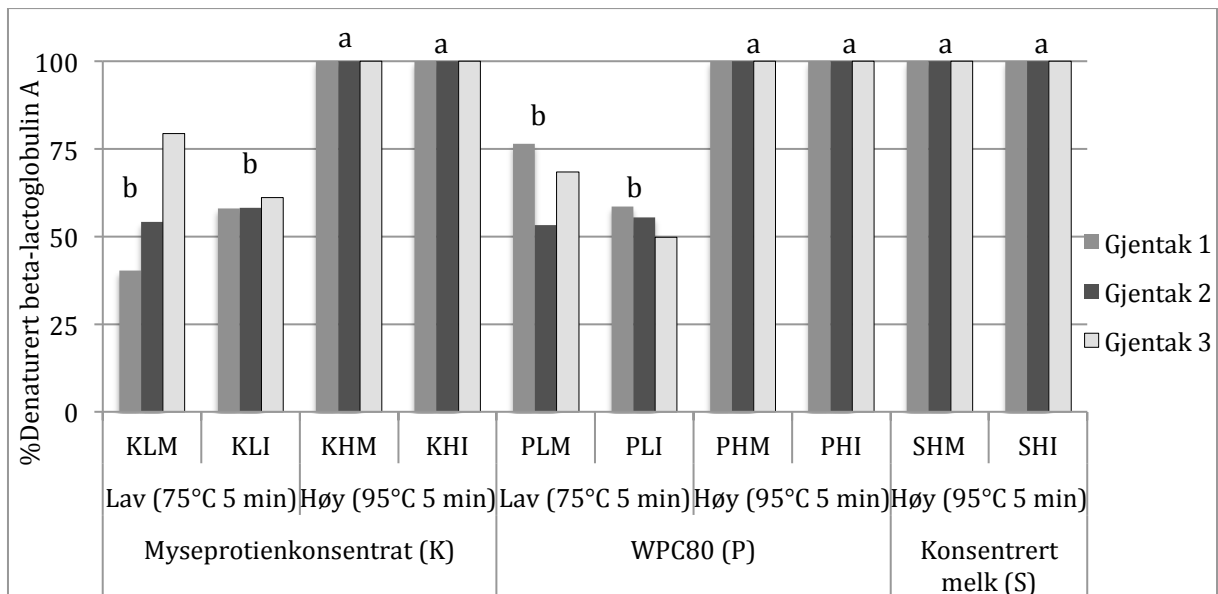
Fra Figur 14 går det frem at det var signifikante forskjeller mellom flere av yoghurtene når de kommer til andel denaturert  $\alpha$ -laktalbumin. Yoghurt fremstilt med høy varmebehandling inneholdt signifikant høyere andel av denaturerte proteiner ( $\alpha$ -laktalbumin) sammenliknet med de andre yoghurtene. Dette gjelder derimot ikke for reseptene med bare proteinkonsentrert melk (MF-retentat). KLI og PLI hadde signifikant lavest andel denaturert  $\alpha$ -laktalbumin av alle produktene. KLM og PLM inneholdt en noe høyere andel denaturert  $\alpha$ -laktalbumin, men kunne ikke skille seg signifikant fra KLI og PLI.





Figur 15: Andel denaturet  $\beta$ -laktoglobulin B etter varmebehandling i hver yoghurt for de tre gjentakene. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon fra tukey-metode, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at andel denaturet  $\beta$ -laktoglobulin B var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d$

Figur 15 viser at alle yoghurtene produsert med høy varmebehandling hadde 100% denaturet  $\beta$ -laktoglobulin B, disse var også signifikant forskjellige sammenliknet med dem produsert med lav varmebehandling som hadde en gjennomsnittlig denatureringsgrad på 60%.



Figur 16: Andel denaturet  $\beta$ -laktoglobulin A etter varmebehandling av hver yoghurt for de tre gjentakene. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon fra tukey-metode, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at andel denaturet  $\beta$ -laktoglobulin A var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d$

Fra Figur 16 kommer det frem at andel denaturert beta-laktoglobulin A var signifikant høyere i yoghurtene produsert med høy varmebehandling sammenliknet med yoghurtene produsert med lav varmebehandling. Høy temperaturbehandling gav 100% denaturering for  $\beta$ -laktoglobulin A.

For å undersøke om produksjonsfaktorene faktisk hadde signifikante effekter på denatureringsgrad, ble resultatene behandlet med toveis variansanalyse. Det ble testet ved et 95% konfidensintervall. Resultatene er vist i Tabell 15, og korrelasjonskoeffisientene som forteller hvor mye av variasjonen som er forklart av den gitte egenskapen, er vist i en kolonne for seg.

Tabell 15: Signifikante effekter, på et 95%-nivå, de ulike produksjonsparameterne hadde på andel denaturert myseprotein.  $R^2$  forteller hvor mye av variasjonene som ble forklart. Symbolforklaring: K = myseproteinkonsentrat, P = WPC80, S = proteinkonsentrert melk. H = høy varmebehandling (95°C i 5 min), L = lav varmebehandling (75°C i 5 min). M = etterbehandlet med kolloidmølle, I = ingen etterbehandling.

	Gjentak	Proteinkilde	Varmebehandling	$R^2$ (%)
$\alpha$ -laktalbumin	ingen sign.	K = P > S	H > L	87,8
$\beta$ -laktoglobulin B	ingen sign.	ingen sign.	H > L	86,8
$\beta$ -laktoglobulin A	ingen sign.	ingen sign.	H > L	53,5

Av Tabell 15 går det frem at varmebehandling har en signifikant effekt på denatureringsgraden til de tre myseproteinene. En kan med 95% sikkerhet si at høy varmebehandling gir økt andel denaturert  $\alpha$ -laktalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin B og  $\beta$ -laktoglobulin A. Det er ingen signifikant effekt av gjentak, som forteller at eventuelle ulikheter i de tre produksjonen ikke hadde noe å si for denatureringsgraden. Når det kommer til ingrediens eller proteinkilde viste det å ha en effekt på denaturert alfa-laktalbumin. Yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat og WPC80 som ingrediens, hadde høyere andel denaturert alfa-laktalbumin sammenliknet med de yoghurtene som bare ble produsert med proteinkonsentrert melk.

Korrelasjonskoeffisienten for  $\beta$ -laktoglobulin A er litt lav, noe som tyder på dårlig forklaring av variasjonen for akkurat denne parameteren.

#### 4.4 Videre resultatbehandling

Som nevnt er det mistanke om at yoghurtene som ble produsert ved gjentak 2 ikke var tilstrekkelig syrnet når de ble avkjølt. Årsaken til dette kan være bruk av pH-meter som viste lavere pH enn det som faktisk var tilfelle. Den korte syringstiden, sammen med

høy pH i yoghurt 9 dager etter produksjon, tyntflytende konsistens ved opprøring og ved senere analyser og bedømmelser, støtter denne mistanken. Resultatene videre, som omhandler fysiske egenskaper og sensoriske bedømmelser av yoghurtene, vil dermed ikke omhandle resultatene fra gjentak 2.

#### **4.5 Fysiske egenskaper og effekten av sammensetning og prosessering**

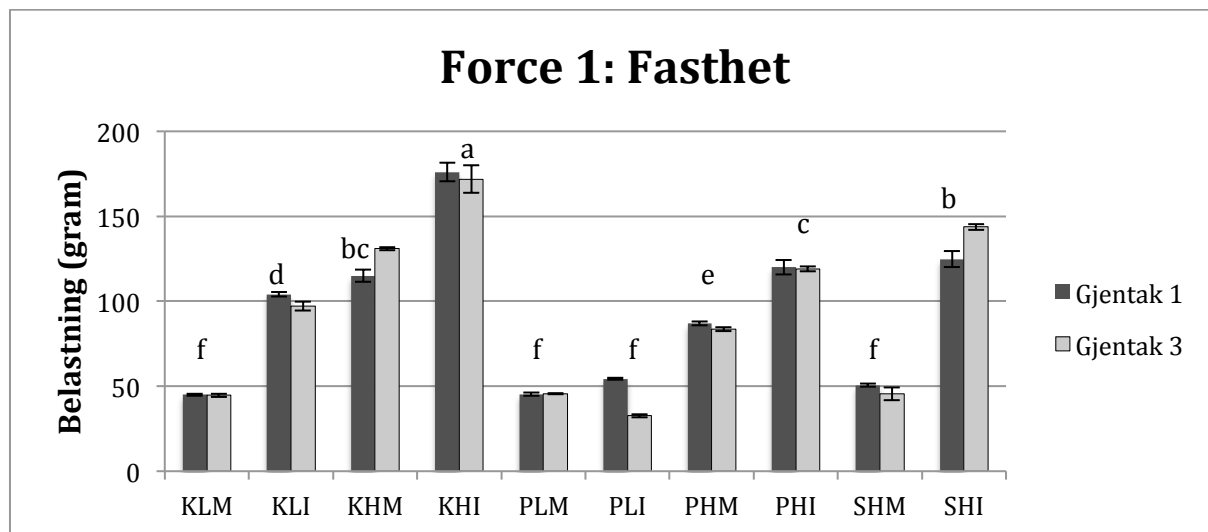
Bestemmelse av yoghurtens tekstur, rheologiske egenskaper samt evne til å holde på myse, blir betegnet som fysiske analyser. Resultatene fra de ulike analysene er presentert i avsnittene under, og statistiske resultater som forteller om det var signifikante effekter fra produksjonsfaktorene foreligger i avsnitt 4.5.4.

##### **4.5.1 Teksturanalyse**

Teksturanalyse evaluerer mekaniske egenskaper hos et produkt, hvor det blir utsatt for en kontrollert kraft. Resultatene fra denne påkjenningen vil genererer en deformasjonskurve. De mekaniske egenskaper som måles har vist seg å være korrelert til sensorisk oppfattelse (Brookfield Engineering Laboratories 2014). Parameterne "Force 1", "Area 1" og "Force 2" ble hentet ut fra denne analysen og forteller noe om yoghurtens fasthet, konsistens og vedheng. Disse resultatene forteller derimot ikke hvordan konsistensen til yoghurten er i forholdt til grynethet, klumper eller liknende.

Statistisk variansanalyse ble også utført for å undersøke om det var signifikante forskjeller mellom de ulike yoghurtene når det kom til de gitte parameterne. Det ble beregnet på verdiene fra forsøk 1 og 3, og resultatene er vist som bokstaver over stolpene. Ulike bokstaver forteller at yoghurtene var signifikant forskjellig på et 95% signifikansnivå, med tanke på gitt parameter, hvor  $a > b > c > d$ . Like bokstaver forteller at det ikke var noen signifikant forskjell mellom yoghurtene.

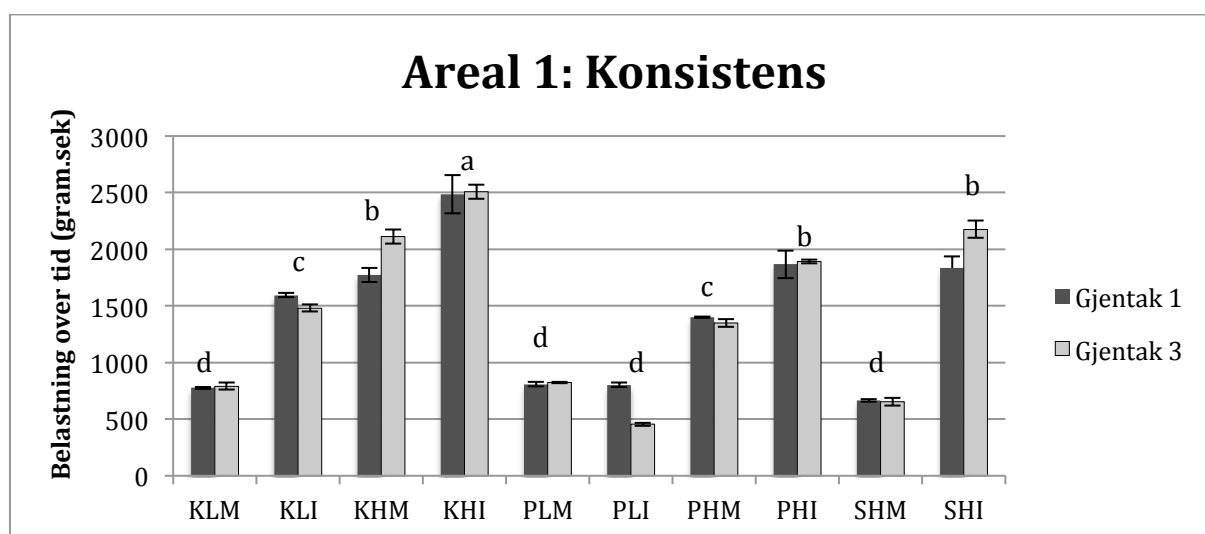
"Force 1" er en verdi som forteller hvor mye kraft som kreves for at proben skal penetrere en gitt avstand ned i et produkt, og er definert som arbeid nødvendig for å oppnå gitt deformasjon. Det er altså et mål på motstanden proben møtte når den ble ført ned i yoghurten, og gir dermed et mål på fastheten til yoghurten. En høy verdi indikerer fast yoghurt, mens en lav verdi forteller at yoghurten var myk. Resultatene fra måling av denne parameteren på alle yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3 er vist i Figur 17.



Figur 17: Fasthet målt i de ulike yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at grad av fasthet i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d > e > f$

Resultatene viser lave standardavvik mellom de parallelle målingene av hver yoghurt. Det er heller igjen stor forskjell mellom de to forsøkene. En yoghurt som skiller seg ut er den produsert med WPC80 som myseproteinkilde, lav varmebehandling samt uten kolloidmølle (PLI). Her er det en viss forskjell mellom de to gjentakene, som muligens kan ses i sammenheng med en litt ustabil varmebehandling i den første produksjonen. Temperaturen var her i ca. 1 min rundt 80°C. KHI er den som skiller seg mest ut, og er signifikant fastere enn de andre. PLI, KLM, PLM og SHM hadde signifikant lavest gelfasthet. Effekten av kolloidmølle er veldig synlig i yoghurten produsert med bare proteinkonsentrert melk, hvor yoghurt etterbehandlet med kolloidmølle er signifikant mindre fast sammenliknet med yoghurt produsert uten slik etterbehandling.

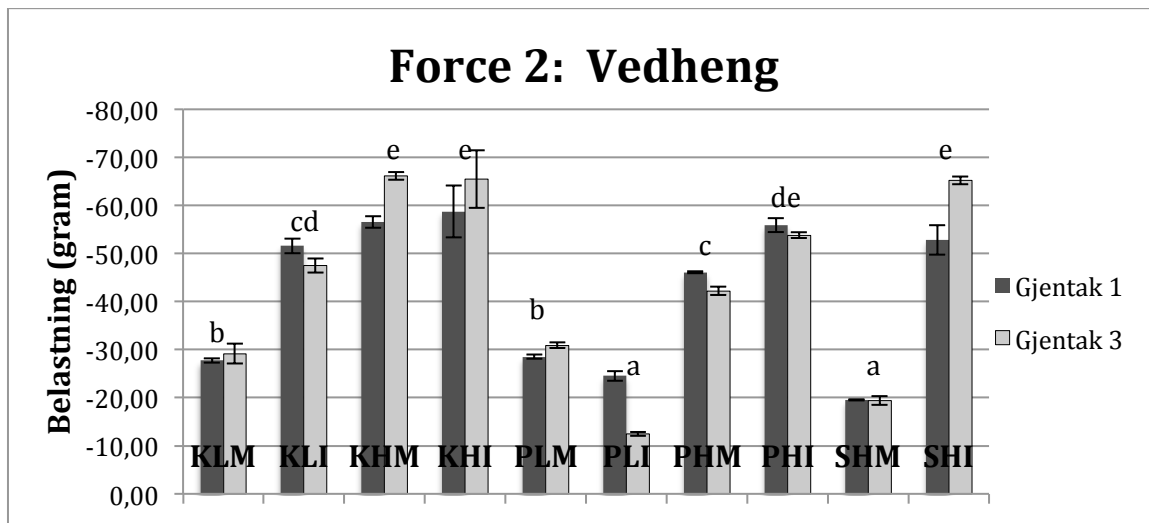
”Areal 1” er et mål på totale krefter som behøves for å trykke proben ned i yoghurten. Arealet gir dermed en indikasjon på yoghurtens konsistens, til stort areal (høy verdi) indikerer en yoghurt med tykk konsistens. Figur 18 viser resultatene fra måling av denne parameteren på alle de ti yoghurtene i gjentak 1 og 3, inkludert de statistisk signifikante forskjellene.



Figur 18: Mål på konsistens i de ulike yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon fra tukey-metode, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at konsistensen i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d$ .

Det er lave standardavvik mellom de parallelle målingene, og liten forskjell mellom gjentakene. Yoghurt framstilt ved faktorkombinasjonene PLI har størst forskjell mellom gjentakene, noe som trolig kan forklares med en noe ustabil temperaturkontroll i gjentak1. Yoghurt framstilt med faktorkombinasjonene KHI har signifikant tykkere konsistens enn alle de andre faktorkombinasjonene. Yoghurt framstilt ved faktorkombinasjonene KHM, PHI og SHI har signifikant tykkere konsistens enn de resterende faktorkombinasjonene. KLM, PLM, PLI og SHM har signifikant lavere konsistens enn yoghurt framstilt ved de andre faktorkombinasjonene.

”Force 2” er et mål på det arbeid som er nødvendig for å overvinne tiltrekningskreftene mellom overflaten av produktet, og overflaten av det den kommer i kontakt med (for eksempel tunge, tenner, gane). Denne verdien tilsvarer altså arbeidet som kreves for å trekke yoghurten bort fra en overflate, og gir dermed et mål på vedheng. Resultatene fra måling av denne parameteren i yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3 er vist i Figur 19 under.



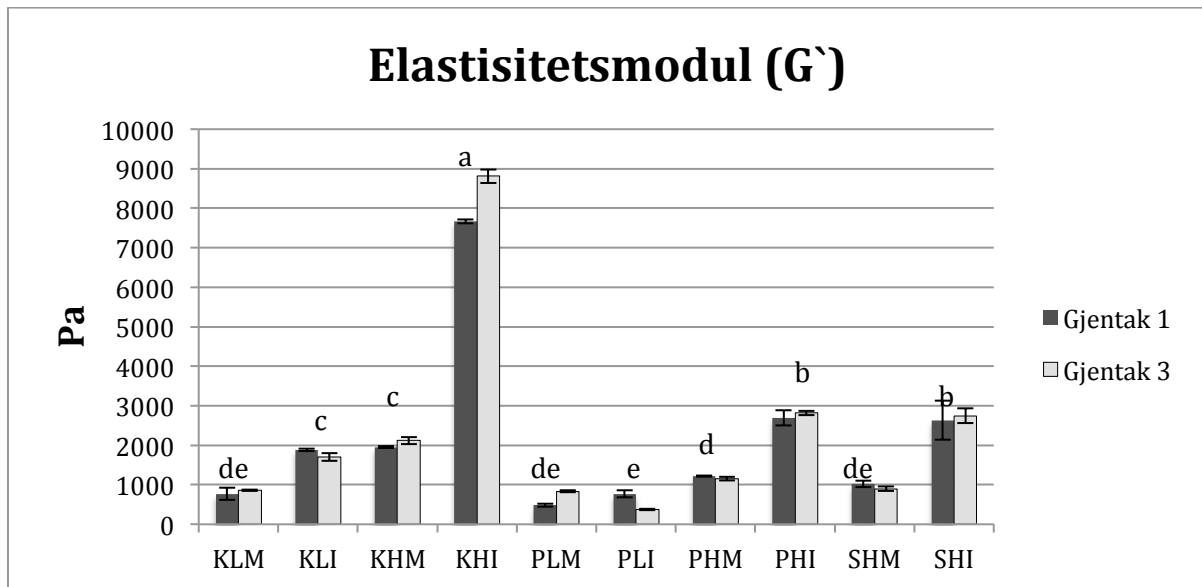
Figur 19: Vedheng målt i de ulike yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at vedhengen i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $e > d > c > b > a$ .

Yoghurt framstilt ved faktorkombinasjonene KHI, KHM og SHI har signifikant større vedhengskrefter sammenliknet med de andre faktorkombinasjonene. De har derimot ikke signifikant større vedhengskrefter enn yoghurten framstilt med faktorkombinasjonene PHI. Yoghurtene produsert med faktorkombinasjon PLI og SHM har signifikant lavest vedhengskrefter. KLM og PLM har også lave verdier for denne parameteren.

#### 4.5.2 Reologi

Målingene er tatt fra det lineære viskoelastiske området (LVR) i de ulike yoghurtene. LVR identifiseres av en 5% reduksjon av elastisitetsmodul ( $G'$ ) fra urørt yoghurt. Skjærspenningen ( $\tau$ ) som var nødvendig for denne reduksjonen, samt tøyningen ( $\gamma$ ) de ulike yoghurtene ble utsatt for i dette punktet ble hentet ut. Verdier fra disse parameterne ble tatt ut både før og etter destruksjon av yoghurtstrukturen, for å kunne regne prosentandel gjenskapt gelstyrke etter destruksjon og henstand. Resultatene fra de tre måleparameterne som presenteres i figurene under er tatt fra før destruksjon av yoghurtgel. Disse gir et mer reelt bilde på de faktiske egenskapene som en forbruker vil møte, da påkjenninger som medfører destruksjon av gelnettverk ikke vanligvis påføres yoghurt før den konsumeres.

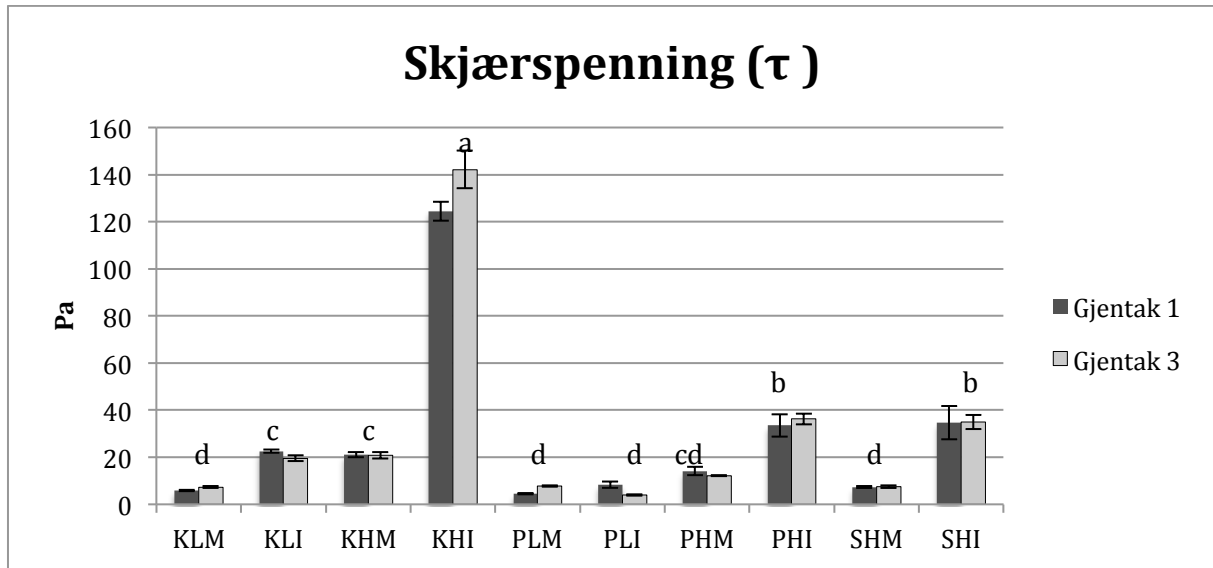
Elastisitettsmodulen ( $G'$ ) sier noe om "fast stoff egenskapene" i yoghurtene. En høy  $G'$  beskriver en fast yoghurt. Denne parameteren sier ikke noe om grynethet eller klumper i prøven. Elastisitettsmodulen ( $G'$ , Pa) i de ulike yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3, ved utgangen av LVR er vist i Figur 20.



Figur 20: Elastisitettsmodulen målt i de ulike yoghurtene, i utgang av LVR, fra gjentak 1 og 3, før destruksjon av yoghurtgel. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik, som gir et mål på "fast stoff egenskaper". Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at elastisitettsmodulen i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d > e$ .

Resultatene viser små standardavvik mellom de parallelle målingen i hver prøve. Det er heller ikke store forskjeller mellom de ulike yoghurtene i de to gjentakene. Fra Figur 20 kan en se en klar signifikant forskjell mellom yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon KHI og de resterende yoghurtene. Det er tydelig at denne er veldig fast. Yoghurt produsert med faktorkombinasjon PHI og SHI har signifikant høyere verdier sammenliknet med de resterende faktorkombinasjonene. Disse tre hadde alle mye klumper. PLI skilte seg ut som yoghurtene med signifikant lavest  $G'$ . Ellers hadde yoghurtene framstilt ved faktorkombinasjonene KLM, PLM og SHM lave elastisitettsmodulverdier ( $G'$ ).

Skjærspenningen ( $\tau$ ) sier noe om gelstyrken i yoghurtene. Høyere verdi for  $\tau$  forteller om et sterkere gelnettverk, og en mer robust yoghurt. Skjærspenningen (Pa) i de ulike yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3, ved utgangen av LVR er vist i Figur 21:

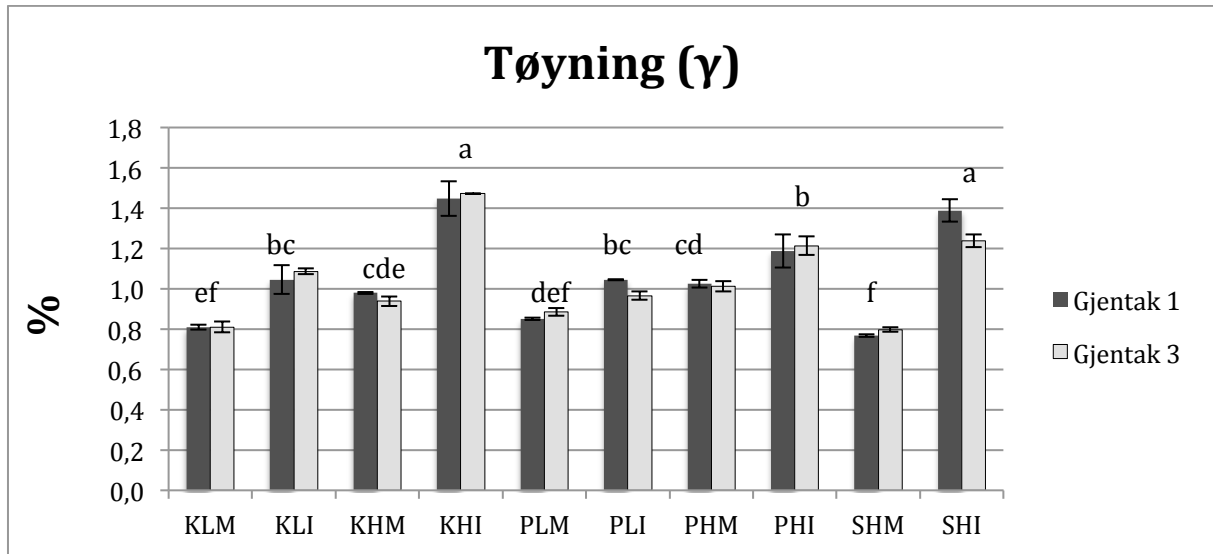


Figur 21: Skjærspenning målt i de ulike yoghurtene, i utgang av LVR, fra gjentak 1 og 3, før destruksjon av yoghurtgel. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik, som gir et mål på gelstyrke. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at skjærspenningen i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d$ .

Det er relativt små standardavvik mellom parallellene i hver prøve, og forskjeller mellom de to gjentakene. Yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon KHI har signifikant høyere verdi for skjærspenning ( $\tau$ ). Utenom denne har PHI og SHI signifikant sterkere gel enn de andre yoghurtene. Yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon KLM, PLM, PLI og SHM hadde signifikant lavest gelstyrke.

Tøyningen ( $\gamma$ ) de ulike yoghurtene ble målt til å ha etter 5% reduksjon av elastisitetsmodul ( $G'$ ), forteller noe om hvor mye tøyning som skal til før yoghurten ikke lenger har sin opprinnelige struktur. Jo lavere tøyningsverdi, jo kortere tid vil yoghurten befinne seg i LVR-området. De ulike yoghurters tøyningsgrense (%), som forteller noe om hvor mye påkjenning yoghurtgelen tåler er vist i Figur 22.

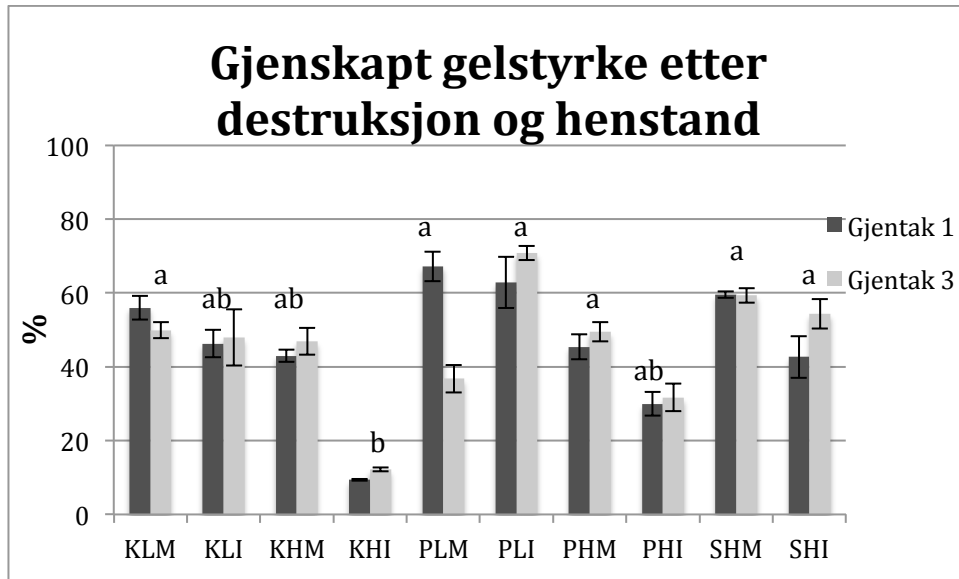




Figur 22: Tøyning målt i de ulike yoghurtene, i utgang av LVR, fra gjentak 1 og 3, før destruksjon av yoghurtgel. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at tøyningen i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d > e > f$ .

Yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon KHI og SHI hadde signifikant høyere verdier sammenliknet med de andre yoghurtene. SHM hadde signifikant lavest verdi. For de resterende yoghurtene var det vanskelig å se en klar signifikant forskjell med tanke på prosent tøyning.

Ved bruk av skjærspenningsverdier ( $\tau$ ), i LVR, tatt ut før og etter destruksjon av yoghurtgel, ble prosentandel gjenskapt gelstyrke kalkulert. Resultatene er illustrert i Figur 23 under, og sier noe om kvaliteten på gelnettverket. Dersom en yoghurt er grynede i konsistensen vil klumpene ødelegges under oscillasjon ved stor tøyning. Dermed vil dette vises igjen som dårlig evne til å gjenoppbygge struktur.

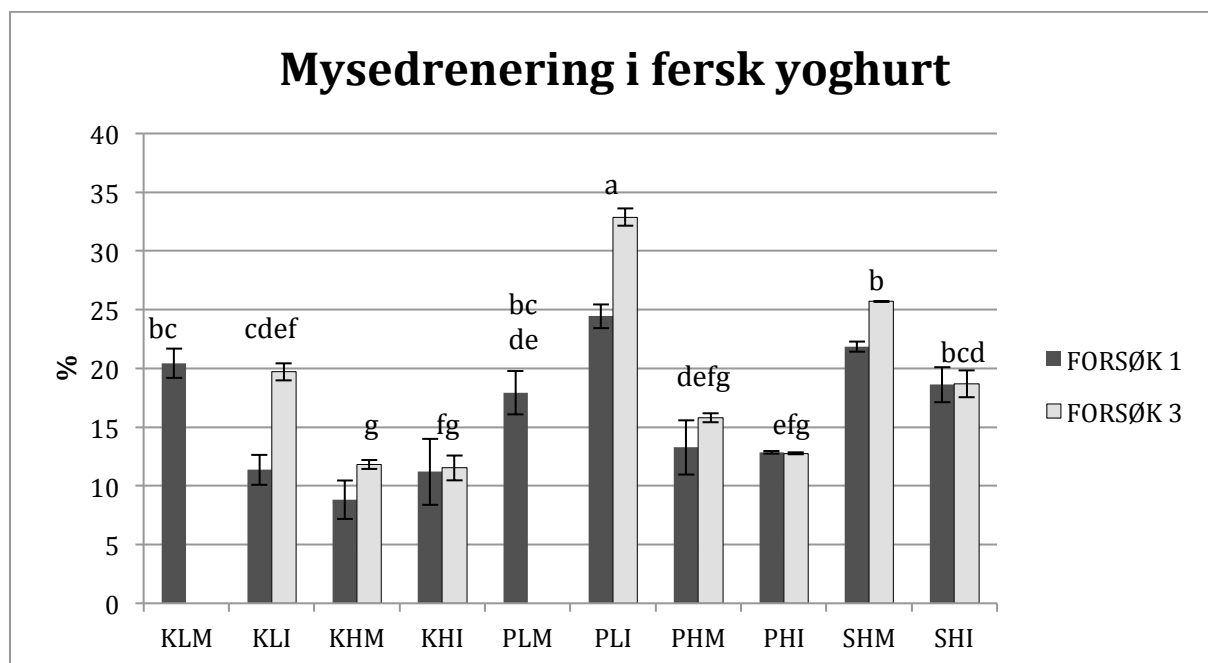


Figur 23: Prosentandel av opprinnelig gelstyrke som er gjenskapt etter destruksjon og henstand. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at andel gjenskapt gelstyrke i yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b$ .

Figur 23 viser at yoghurten fremstilt ved faktorkombinasjon KHI har signifikant dårligst evne til å gjenvinne gelsstyrke. Den kan derimot ikke skille seg signifikant fra PHI, KLI og KHM. Yoghurten fremstilt ved faktorkombinasjon PLI ser ut til å ha best gjenbyggingsevne sammenlignet med de andre yoghurtene, men skiller seg heller ikke ut signifikant.

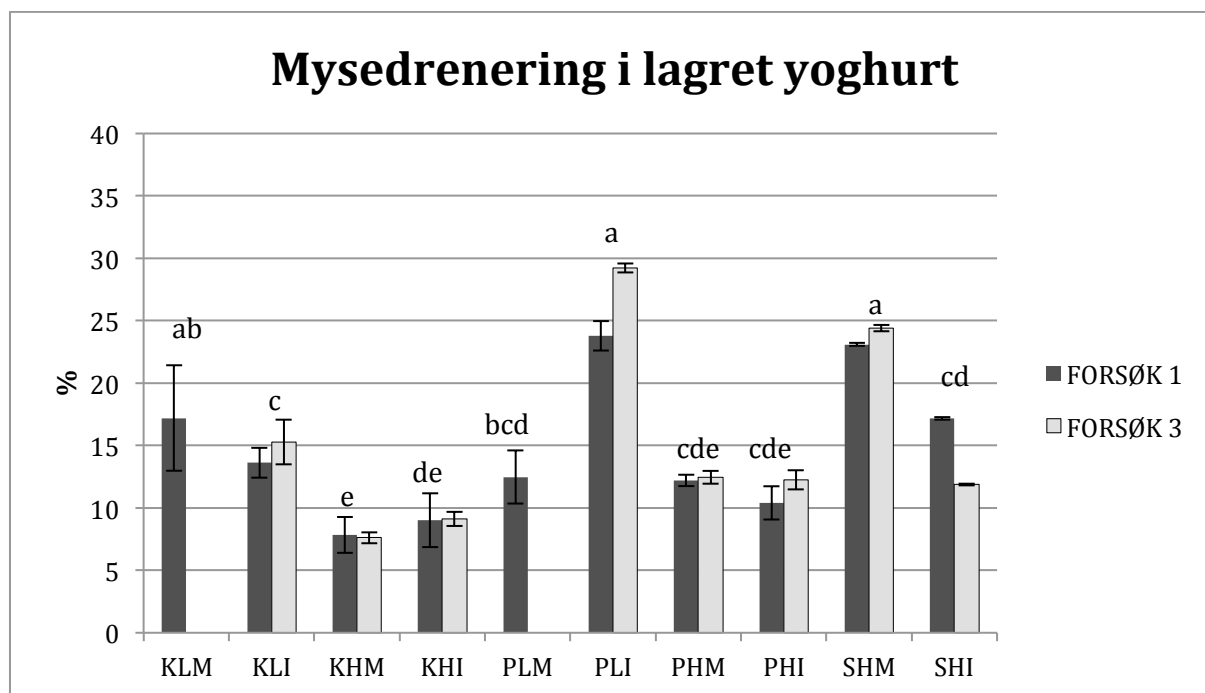
#### 4.5.3 Mysedrenering

Evnen yoghurten hadde til å holde på mysen ble målt i alle yoghurtene 9 og 24 dager etter produksjon. Disse blir referert til som hhv. fersk og lagret yoghurt. I Figur 24 er prosentvis myse utskilt etter 4 timers henstand vist ved hjelp av stolpediagram. Standardavvikene mellom parallellene er også illustrert. Disse resultatene sier noe om hvor tett gelnettverket var.



Figur 24: Prosentandel myseavrenning etter 4 timers henstand de ferske yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3. Hver stolpe viser gjennomsnittlig verdi fra tre paralleller med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at mengde myseavrenning i de ferske yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d > e > f > g$ .

Det var vanskelig å se en signifikant forskjell mellom de ulike yoghurtene, sannsynligvis på grunn av store forskjeller mellom de ulike gjentakene. Yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon PLI har signifikant mest myseutskillelse. KHM hadde signifikant minst myseutskillelse. Selv om de ikke er klare signifikante forskjeller er det mulig å se tendenser til at yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrasjon og med høy varmebehandling, samt de produsert med WPC80 og høy varmebehandling, har bedre evne til å holde på mysen. Høy varmebehandling fører til høyere grad av denaturering, som igjen øker vannbindingsevnen.



Figur 25: Prosentandel myseavrenning etter 4 timers henstand de lagrede yoghurtene produsert i gjentak 1 og 3. Figuren viser gjennomsnittlige verdier fra tre paralleller med tilhørende standardavvik. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1. Bokstavene er grupperingsinformasjon fra tukey-metode, hvor ulike bokstaver over hver stolpe viser at mengde myseavrenning i de ferske yoghurtene var signifikant forskjellige ved  $p < 0,05$ , der  $a > b > c > d > e > f > g$ .

Myseutskillelsen er generelt litt lavere i de lagrede produktene, vist i Figur 25, sammenliknet med de ferske, vist i Figur 24. Yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon KHM skiller har signifikant minst myseutskillelse. PLI og SHI har signifikant mer myseutskillelse sammenliknet med de resterende yoghurtene. Dersom en sammenlikner yoghurt fremstilt ved faktorkombinasjon KHM og KHI samt PHM og PHI, kan en se at det ikke er en signifikant forskjell, som altså indikerer at etterbehandling med kolloidmølle ikke har en effekt på myseutskillelse i disse produktene. En ser derimot en effekt i yoghurt produsert med bare proteinkonsentrert melk (SHM og SHI), hvor de behandlet med kolloidmølle har signifikant mer myseutskillelse enn de som ikke er blitt etterbehandlet.

Yoghurtene som fikk lav varmebehandling og ble blandet med kolloidmølle (KLM og PLM) hadde et tydelig faseskille hvor mysen la seg på bunnen og yoghurtmassen (som var veldig porøs) på toppen av begeret. Dette skjedde bare i forsøk 2 og 3. De ble såpass tynne etter omrøring at yoghurten rant gjennom nettet. Mysedreneringsresultatene fra disse prøvene er dermed tatt bort da det ikke ville gi et mål på myseutskillelse. De ble tatt en måling fra toppfasen, det som var yoghurt og ikke myse, disse resultatene er

heller ikke representative for evnen yoghurtene hadde til å holde på mysen. I Bilde 4 under er faseskille illustrert.



Bilde 4: Illustrasjon av faseskille som oppsto i forsøk 2 og 3 på alle yoghurtene med produsert med lav varmebehandling samt etterbehandlet med kolloidmølle

#### 4.5.4 Resultater fra toveis variansanalyse

Resultatene fra teksturanalyse, reologimålinger og mysedreneringstest ble behandlet statistisk med toveis variansanalyse. Dette for å finne ut om produksjonsfaktorene hadde signifikante effekter på disse fysiske måleparameterne. Det ble undersøkt ved et 95%-konfidensintervall. Effekt av forsøk ble også analysert, for å se om det hadde en innvirkning på resultatene, altså om like produkter som ble produsert i forsøk 1 og 3 allikevel var forskjellige. Korrelasjonskoeffisientene er vist i en kolonne for seg, og forteller hvor mye av variasjonen som er forklart av den gitte måleparameteren.

Tabell 16: Signifikante effekter de ulike produksjonsparameterne hadde på de fysiske egenskapene til yoghurtene.  $R^2$  forteller hvor mye av variasjonene som ble forklart. Symbolforklaring: K = myseproteinkonsentrat, P = WPC80, S = konsentrert melk. H = høy varmebehandling (95°C i 5 min), L = lav varmebehandling (75°C i 5 min). M = etterbehandlet med kolloidmølle, I = ingen etterbehandling. Analysen er gjort på et 95% signifikansnivå.

		Forsøk	Proteinkilde	Varmebehandling	Etterbehandling	$R^2$ (%)
Tekstur Analyse	Fasthet (force 1)	ingen sign.	K > P = S	H > L	I > M	82,2
	Konsistens (area 1)	ingen sign.	K > P = S	H > L	I > M	76,1
	Vedheng (force 2)	ingen sign.	K ≥ P ≥ S	H > L	I > M	53,5
Reologi	Elastisitetsmodul	ingen sign.	K > P = S	H > L	I > M	56,6
	Skjærspenning	ingen sign.	K > P > S	H > L	I > M	49,4
	Tøyning	ingen sign.	ingen sign.	H > L	I > M	75,5
	Gjenskapt gelstyrke	ingen sign.	S ≥ P ≥ K	L > H	ingen sign.	50,0
Myse- drenering	Fersk	ingen sign.	S ≥ P ≥ K	L > H	ingen sign.	38,7
	Lagret	ingen sign.	S ≥ P ≥ K	L > H	ingen sign.	29,3

Fra Tabell 16 kan en se at det ikke var noen signifikant effekt av forsøk. Når det kommer til proteinkilde eller effekt av ingrediens, kan en se at de fleste tekstur- og reologiparameterne har signifikant høyere verdier for yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat (K). Unntaket er parameteren tøyning ( $\gamma$ ) hvor proteinkilde ikke hadde noen signifikant effekt. Når det kommer til parameterne fasthet, konsistens og elastisitetsmodul ( $G'$ ), som alle sier noe om tykkelsen til produktet, er det ingen signifikant forskjell mellom brukt av WPC80 som ingrediens eller bare konsentrert melk. Skjærspenning ( $\tau$ ) som sier noe om gelstyrken viste signifikant høyere verdier for yoghurtene produsert med WPC80 som ingrediens kontra bare konsentrert melk. Varmebehandlingsfaktoren viste seg å ha en signifikant effekt på alle de fysiske parameterne. Høy varmebehandling gav signifikant høyere fasthet, konsistens, vedheng, elastisitetsmodul ( $G'$ ), skjærspenning ( $\tau$ ) og tøyning ( $\gamma$ ). For de samme måleparameterne var det også en signifikant økning dersom yoghurten ikke ble etterbehandlet med kolloidmølle. Når de kommer til parameterne gjenskapt gelstyrke viser resultatene at yoghurt produsert med bare konsentrert melk (S) hadde bedre evne, sammenliknet med yoghurt produsert med tilsatt myseproteinkonsentrat. Lav varmebehandling gav også signifikant effekt på denne parameteren. Bruk av kolloidmølle gav ingen signifikant effekt på verken gjenskapt gelstyrke eller myseutskillelse. Det var derimot signifikant mer myseutskillelse i yoghurt produsert med bare konsentrert melk sammenliknet med de som var tilsatt

myseproteinkonsentrat. Lav varmebehandling gav også signifikant mer myseutskillelse, både i ferske og lagrede produkter.

#### **4.6 Sensoriske analyser**

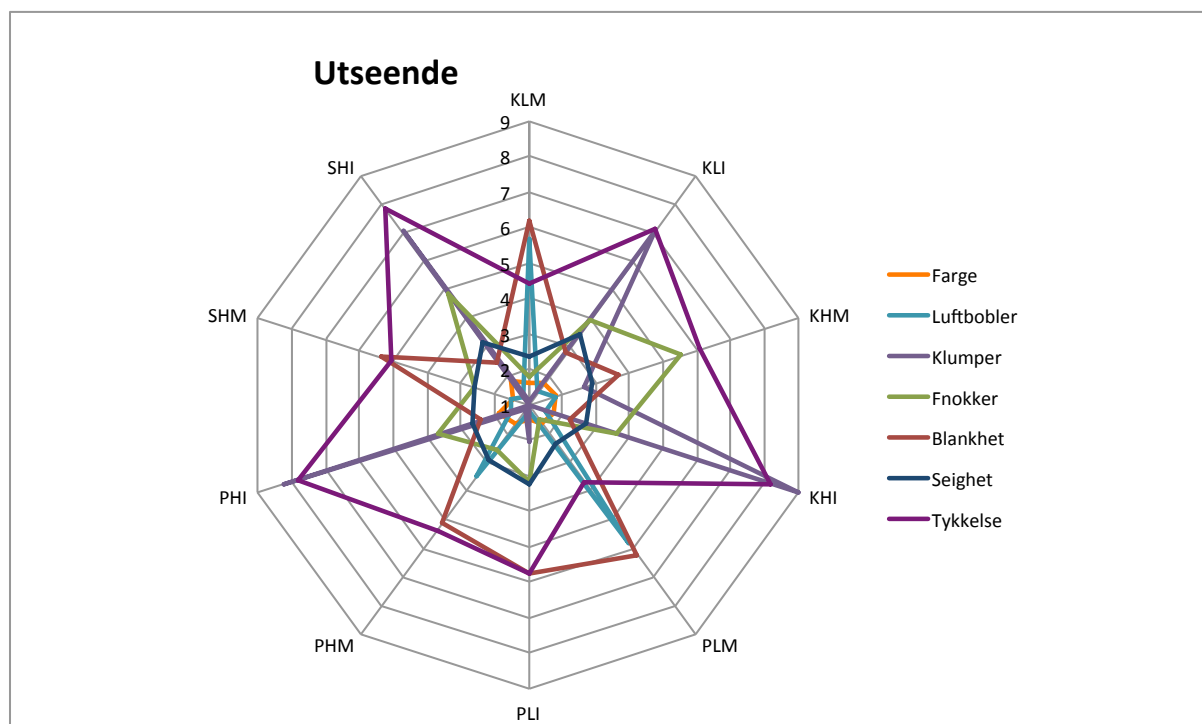
Resultatene fra de sensoriske analysene i form av profileringstest og kvalitetstest er presentert i avsnittene under. Profileringsresultatene ble behandlet statistisk med enveis og toveis variansanalyse.

##### **4.6.1 Profileringstest**

Resultatene fra profileringstesten av yoghurtene produsert i forsøk 1 og 3 er fremstilt ved bruk av radardiagram i de to avsnittene under. Yoghurtens ble kartlagt med hensyn til 17 sensoriske egenskaper, ved bruk av en skala fra 1-9. Det ble i de statistiske analysene lagt vekt på egenskapene; luftbobler, klumper, seighet, tykkelse, melen, glatthet, yoghurt smak samt bismak. da disse gav størst signifikante forskjeller samt forklarer yoghurtens egenskaper best.

##### **4.6.1.1 Gjentak 1**

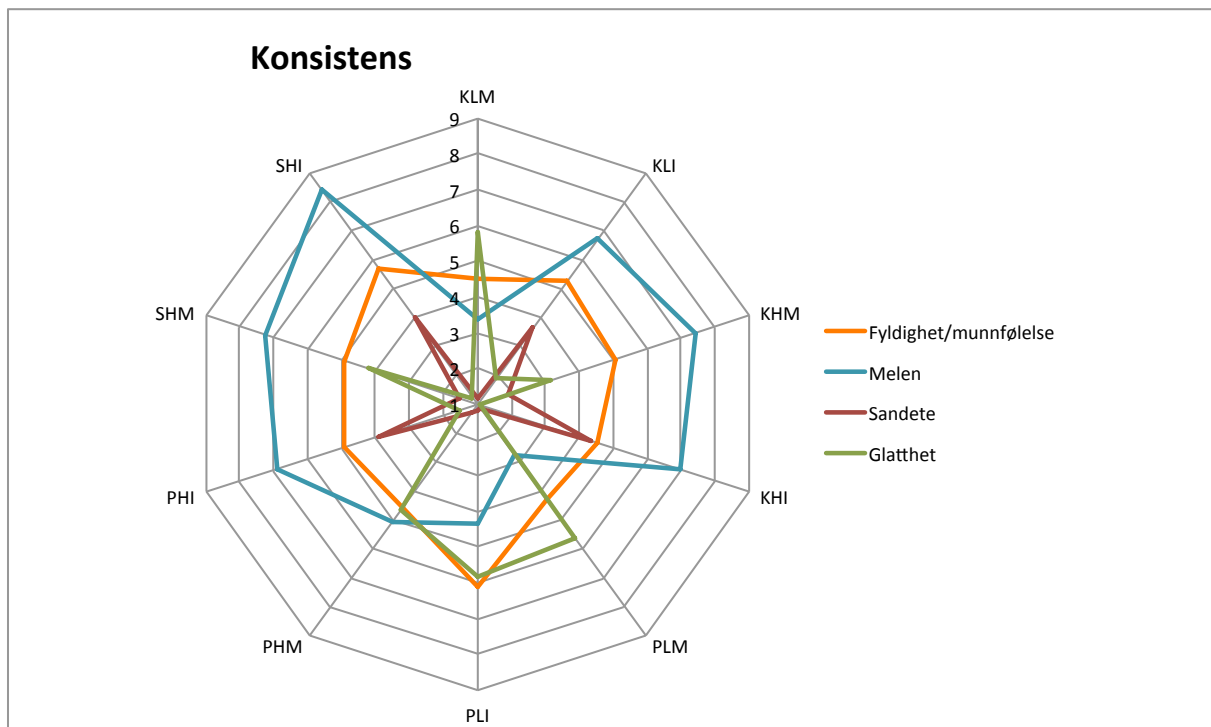
Resultatene er framstilt i tre ulike diagram hvor egenskaper som omhandler utseende, konsistens og smak er samlet hver for seg, og vist i henholdsvis Figur 26, Figur 27 og Figur 28.



Figur 26: Raderdiagram som viser resultatene fra profileringen (egenskaper som omhandler utseende), av de 10 yoghurtene produsert i gjentak 1. Figuren viser gjennomsnittlige poengverdier (1-9) fra seks dommere i to gjentaksserier. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

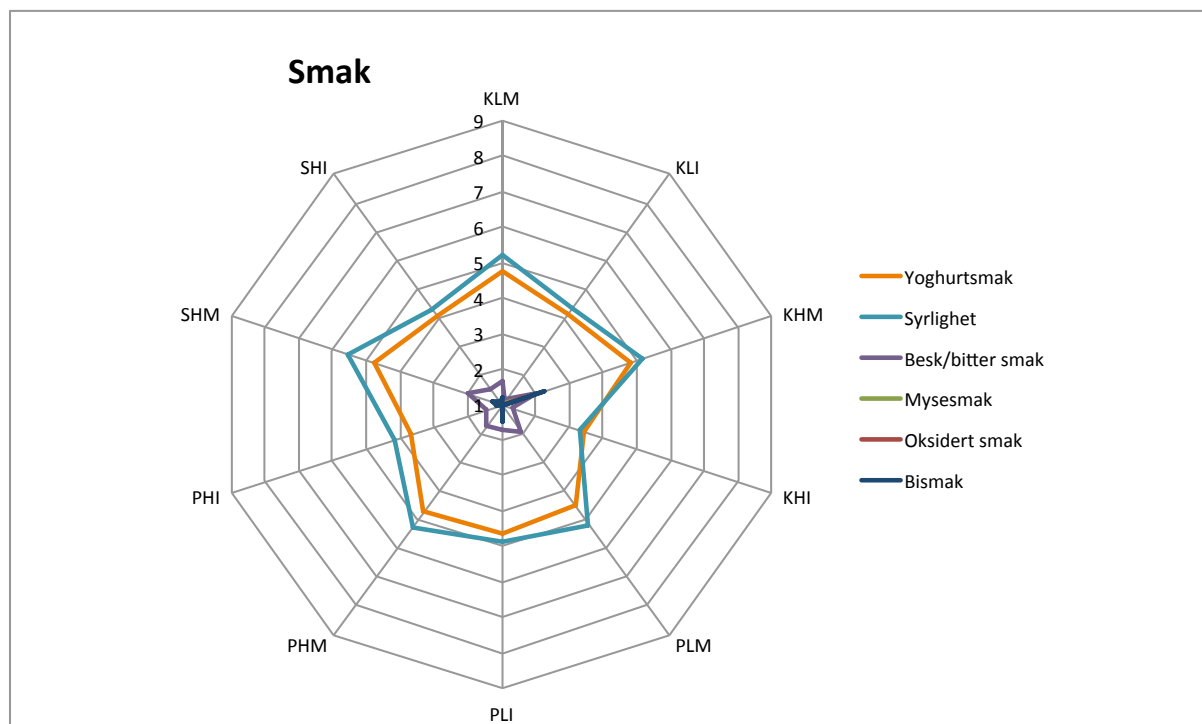
Figur 26 viser at alle yoghurtene fikk lave gjennomsnittsverdier for egenskapen farge, som forteller at yoghurtene var hvite. Yoghurt framstilt ved faktorkombinasjon PLM og KLM hadde signifikant mer synlige luftbobler sammenliknet med de andre faktorkombinasjonene. PHM hadde også en signifikant høy poengverdi for denne egenskapen. Ingen av de resterende yoghurtene hadde synlige luftbobler på overflaten. Fra Figur 26 kan en se at yoghurt framstilt ved faktorkombinasjon KHI hadde en gjennomsnittsverdi på 9 for egenskapen klumper. Den var signifikant høyere sammenliknet med de resterende faktorkombinasjonene, og ble av dommerne karakterisert som "gtøt-aktig". PHI, SHI og KLI ble også bedømt til å ha en signifikant høyere andel klumper sammenliknet med yoghurtene produsert med lav varmebehandling og/eller etterbehandlet med kolloidmølle. Poengsummen gitt til yoghurtene for egenskapen seighet var generelt lav. De framstilt ved faktorkombinasjon KLI, SHI og PLI hadde høyest grad av seighet. Yoghurt som ikke var etterbehandlet med kolloidmølle var signifikant (ved et 90%-nivå) seigere enn de som var etterbehandlet med kolloidmølle. For egenskapen tykkelse ble yoghurt framstilt ved faktorkombinasjon KHI signifikant mer tykk sammenliknet med yoghurter behandlet med lav varmebehandling og/eller kolloidmølle. PLM og KLM ble bedømt som minst tykke.





Figur 27: Raderdiagram som viser resultatene fra profileringen (egenskaper som omhandler konsistens), av de 10 yoghurtene produsert i gjentak 1. Figuren viser gjennomsnittlige poengverdier (1-9) fra seks dommere i to gjentaksserier. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

Når det kommer til egenskapen melenhet ble SHI karakterisert til å være mest melen. Den var derimot ikke signifikant forskjellig fra SHM, KHI eller KHM som alle hadde høy grad av melenhet. PLM og KLM hadde, sammenliknet med resterende yoghurter, signifikant lavere poengsummer for egenskapen melenhet. Figur 27 viser at PLI, KLM, PLM og PHM scorer høyest på egenskapen glatthet. De var signifikant mer glatte sammenliknet med resten av yoghurtene. KLI, PHI, KHI og SHI fikk alle mindre enn 2 poeng når de ble bedømt etter glatthet, som henger sammen med egenskapen klumper hvor disse ble bedømt til å være veldig klumpete.

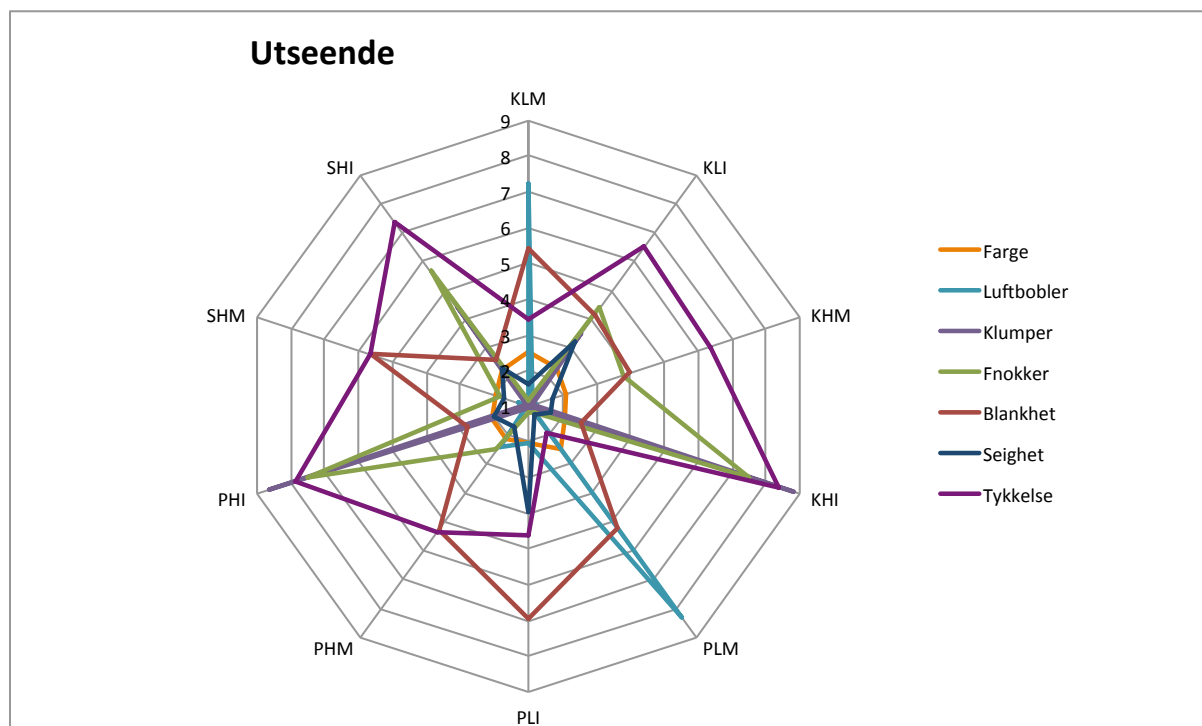


Figur 28: Raderdiagram som viser resultatene fra profileringen (egenskaper som omhandler smak), av de 10 yoghurtene produsert i gjentak 1. Figuren viser gjennomsnittlige poengverdier (1-9) fra seks dommere i to gjentaksserier. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

For egenskapene besk/bitter, oksidert, samt mysesmak var det ingen signifikante forskjeller mellom yoghurtene. Det var svært lav forekomst av de nevnte usmakene. For egenskapen yoghurtsmak og syrlighet fikk alle produktene en gjennomsnittsverdi på mellom 3,4 – 5,5. Figur 28 viser at KHI var den med en lavest verdier for yoghurtsmak og syrlighet. Yoghurt produsert i gjentak 1 hadde generelt lav grad av bismak. KHM hadde, sammenliknet med resterende yoghurter, signifikant høyest gjennomsnittsverdi (på 2,3) for egenskapen bismak.

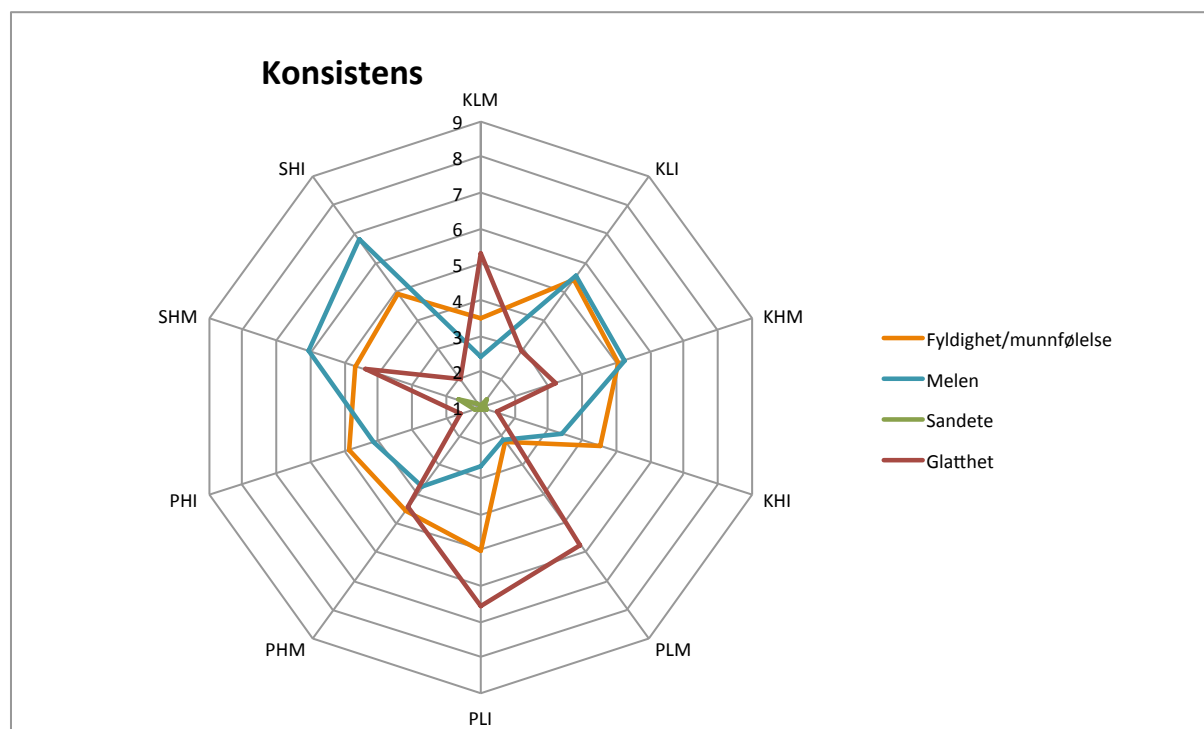
### 4.6.1.2 Gjentak 3

Resultatene er framstilt i tre ulike diagram hvor egenskaper som omhandler utseende, konsistens og smak er samlet hver for seg, og er vist i henholdsvis Figur 29, Figur 30 og Figur 31.



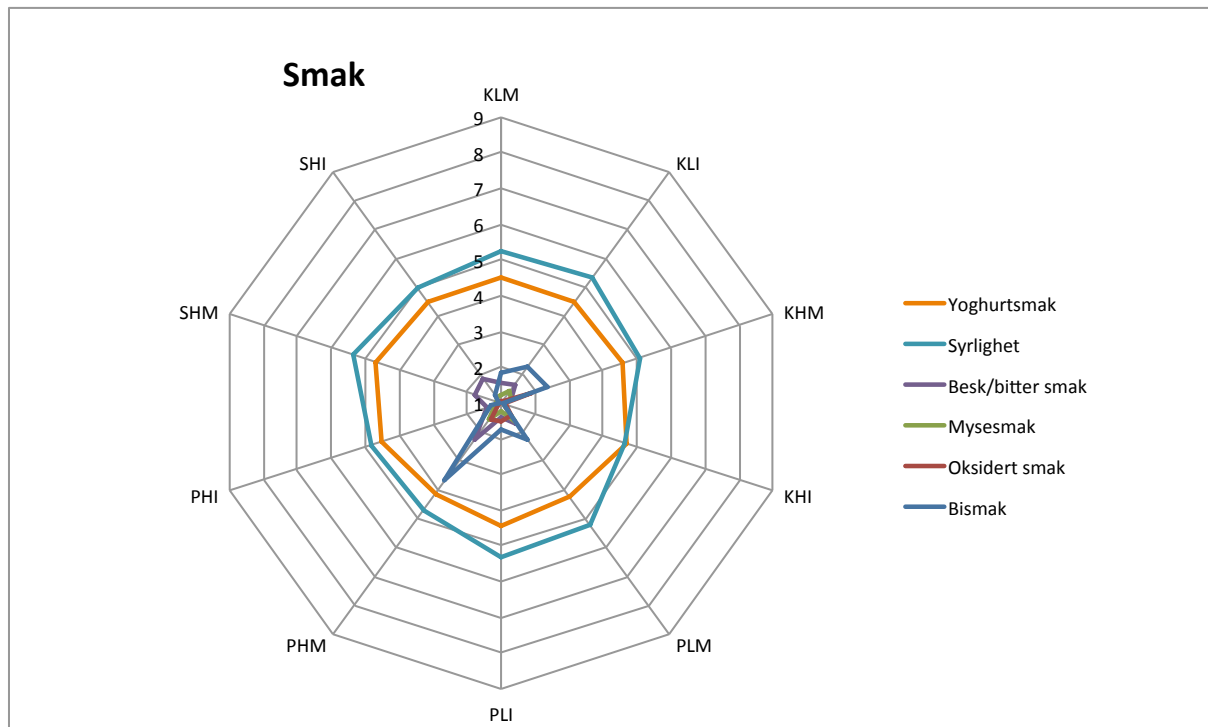
Figur 29: Raderdiagram som viser resultatene fra profileringen (egenskaper som omhandler utseende), av de 10 yoghurtene produsert i gjentak 3. Figuren viser gjennomsnittlige poengverdier (1-9) fra seks dommere i to gjentaksserier. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

Yoghurt framstilt ved faktorkombinasjon PLM og KLM hadde signifikant mest luftbobler. De ble gitt verdier på hhv. 8,3 og 7,3 som viser til stor forekomst av synlige luftbobler. Det var disse to yoghurtene som fikk tydelig faseskille (vist i Bilde 3), og hadde også, sammenliknet med resterende yoghurter, signifikant lavest grad av tykkelse. For egenskapen klumper var det yoghurt framstilt ved faktorkombinasjon KHI og PHI som hadde signifikant høyest forekomst. Ellers skiller også SHI og KLI seg ut som yoghurter med signifikant mer klumper sammenliknet med de resterende yoghurter. Når det kommer til seighet var verdiene lave. PLI og KLI hadde allikevel begge en signifikant høyere grad av seighet sammenliknet med de resterende yoghurter. KHI fikk en gjennomsnittsverdi på 8,4 når den ble bedømt etter egenskapen tykkelse. Det er signifikant høyere enn gjennomsnittsverdien for tilsvarende egenskap fra de andre yoghurtene utenom PHI og SHI som henholdsvis fikk gjennomsnittsverdier på 7,6 og 7,4.



Figur 30: Raderdiagram som viser resultatene fra profileringen (egenskaper som omhandler konsistens), av de 10 yoghurtene produsert i gjentak 3. Figuren viser gjennomsnittlige poengverdier (1-9) fra seks dommere i to gjentaksserier. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

SHI, SHM, KLI og KHM fikk alle en signifikant høyere gjennomsnittsverdi når det kom til egenskapen melenhet. Hvor de produsert med bare konsentrert melk hadde høyest verdier på 6,8 og 6,1. For egenskapen glatthet var PLI den med høyest verdi, den skilte seg derimot ikke signifikant fra PLM og KLM.



Figur 31: Raderdiagram som viser resultatene fra profileringen (egenskaper som omhandler smak), av de 10 yoghurtene produsert i gjentak 3. Figuren viser gjennomsnittlige poengverdier (1-9) fra seks dommere i to gjentaksserier. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

Det var en lav forekomst av usmakene besk/bitter, oksidert, samt mys smak, og det var heller ingen signifikante forskjeller mellom yoghurtene med tanke på disse egenskapene. Grad av usmak var derimot generelt litt høyere sammenliknes med resultatene fra yoghurtene produsert ved gjentak 1. Figur 31 viser at alle yoghurtene fikk relativt like verdier når det kom til egenskapene yoghurtsmak og syrlighet. For egenskapen bismak fikk yoghurt produsert ved gjentak 3 gjennomgående høyere verdier sammenliknet med dem som ble produsert ved gjentak 1. PHM skiller seg signifikant fra de andre med mest bismak, som av dommerne ble karakterisert som metallisk.

#### 4.6.1.3 Tovers variansanalyse av profileringsresultatene

Resultatene fra profileringen ble behandlet statistisk med toveis variansanalyse, for å undersøke om produksjonsfaktorene hadde signifikante effekter på de valgte egenskapene. Som vist i Tabell 17 kunne en se en effekt av de ulike faktorene på flere av disse egenskapene. Effekt av forsøk ble også analysert, for å se om det hadde en innvirkning på resultatene. Altså om produkter som skulle være like faktisk ble bedømt likt ved gjentak 1 og 3. Analysen ble gjort ved et 95%-konfidensintervall, og

korrelasjonskoeffisientene, som forteller hvor mye av variasjonen som er forklart av den gitte egenskapen, er vist i en kolonne for seg.

Tabell 17: Oversikt over signifikante effekter fra de ulike forsøksfaktorene på et utvalg sensoriske egenskaper, testet på 95% signifikansnivå.  $R^2$  forteller hvor mye av variasjonene som ble forklart. Symbolforklaring: gjentak 1 og gjentak 3. K = fersk myseproteinkonsentrat, P = WPC80-konsentrat, S = proteinkonsentrert melk. H = høy varmebehandling (95°C i 5 min), L = lav varmebehandling (75°C i 5 min). M = etterbehandlet med kolloidmølle, I = ingen etterbehandling.

	Gjentak	Proteinkilde	Varmebehandling	Etterbehandling	$R^2$ (%)
<b>Luftbobler</b>	ingen sign.	ingen sign.	H > L	M > I	55,0
<b>Klumper</b>	ingen sign.	ingen sign.	H > L	I > M	72,5
<b>Seighet</b>	1 > 3	ingen sign.	ingen sign.	I > M	42,6
<b>Tykkelse</b>	ingen sign.	K > P = S	H > L	I > M	92,0
<b>Melen</b>	1 > 3	S ≥ K ≥ P	H > L	I > M	74,0
<b>Glatthet</b>	ingen sign.	P ≥ S ≥ K	L > H	M > I	76,2
<b>Yoghurtsmak</b>	ingen sign.	ingen sign.	ingen sign.	ingen sign.	0,1
<b>Bismak</b>	3 > 1	ingen sign.	ingen sign.	ingen sign.	22,1

Fra tabellen er kan en se at egenskapen seighet, melenhet og bismak alle hadde en signifikant effekt av faktoren gjentak. Det var generelt større forekomst av seighet og melenhet i yoghurtene produsert ved gjentak 1. Yoghurtene produsert ved gjentak 3 hadde signifikant mer bismak sammenliknet med dem produsert ved gjentak 1.

Hvilke ingredienser eller proteinkilder som ble brukt i resepten hadde en effekt på tykkelse, melenhet og glatthet. Yoghurtene produsert med myseproteinkonsentrat viste seg å gi tykkere yoghurt. De som ble produsert med bare konsentrert melk hadde signifikant høyere grad av melenhet sammenliknet med yoghurt produsert med WPC80. For egenskapen glatthet viste yoghurtene produsert med WPC80 seg å ha en signifikant høyere verdi enn de produsert med myseproteinkonsentrat.

Når det kom til varmebehandlingen viste den å ha en effekt på luftbobler, klumper, tykkelse, melenhet og glatthet. Hvor høy varmebehandling gav mer luftbobler og klumper, samt økt tykkelse og grad av melenhet.

Bruk av kolloidmølle viste seg å ha en signifikant effekt på alle egenskapene utenom de som omhandler smak. Bruk av kolloidmølle gav signifikant mer luftbobler på overflaten av og glatt konsistens. Yoghurt fremstilt uten bruk av kolloidmølle hadde signifikant høyere grad av klumper, seighet, tykkelse og melenhet.

Yoghurtsmak og bismak var egenskaper som viste seg å ha få signifikante effekter fra de ulike forsøksfaktorene. Det var lav spredning i poenggivelsen som gjorde det vanskelig å skille de ulike yoghurtene fra hverandre, korrelasjonskoeffisientene er dermed også veldig lave.

#### 4.6.2 Kvalitetstest

En kvalitetsbedømmelsen av de ulike yoghurtene ble gjort for å finne ut om de var egnet som salgsvare. De ble bedømt etter utseende, konsistens og lukt/smak. En verdi på < 3,6, ved hver av de tre egenskapene, forteller at produktet har tydelige avvik fra sensoriske spesifikasjoner, og dermed ikke egner seg som salgsvare. Resultatene fra de ulike forsøkene er vist i Tabell 18 under.

Tabell 18: Resultater fra kvalitetsbedømmelse for egenskapen utseende, konsistens, lukt/smak i de ulike yoghurtene i gjentak 1 og 3. Snittverdier som tilsvarer ikke salgsvare er merket med rødt. Koder for yoghurtene er beskrevet i tabell 1

		Utseende	Konsistens	Lukt/smak	Snitt
Gjentak 1	<b>KLM</b>	<b>4,3</b>	<b>4,0</b>	<b>4,0</b>	<b>4,1</b>
	KLI	3,3	1,7	3,7	2,9
	KHM	5,0	3,0	3,3	3,8
	KHI	1,7	1,3	1,7	1,6
	PLM	4,3	3,3	3,7	3,8
	<b>PLI</b>	<b>5,0</b>	<b>4,3</b>	<b>3,7</b>	<b>4,3</b>
	<b>PHM</b>	<b>5,0</b>	<b>4,0</b>	<b>3,7</b>	<b>4,2</b>
	PHI	3,0	1,3	2,7	2,3
	SHM	4,7	3,7	2,7	3,7
	SHI	3,3	1,7	2,7	2,6
Gjentak 3	KLM	2,7	1,7	2,3	2,2
	KLI	2,7	2,0	2,3	2,3
	KHM	3,7	3,3	2,7	3,2
	KHI	1,3	1,0	2,3	1,6
	PLM	1,7	1,3	2,0	1,7
	PLI	2,7	3,0	2,3	2,7
	PHM	3,7	3,3	2,0	3,0
	PHI	1,3	1,0	2,3	1,6
	SHM	3,7	3,3	2,7	3,2
	SHI	2,7	1,7	3,0	2,4

Fra gjentak 1 ble KLM, PLI og PHM godkjent som salgbare produkter. Felles for yoghurtene som ikke ble godkjent var at de ble trukket for myseutskillelse, fnokkdannelse, grøtet konsistens samt besk, sur og utypisk lukt/smak. Yoghurt framstilt ved faktorkombinasjon KHI fikk lavest poengsum og trekkes spesielt for mye klumper og grynet konsistens. KLI ble heller ikke akseptert, da den hadde et uhomogent utseende, melen konsistens samt skarp sur lukt/smak.

Ingen av yoghurtene som ble produsert ved gjentak 3 ble akseptert som salgbart produkt av dommerpanelet. De ble alle trukket for myseutskillelse samt besk og utypisk smak/lukt. Yoghurtene som ble varmebehandlet med lav temperatur samt etterbehandlet med kolloidmølle (KLM og PLM) ble begge trukket for tynn konsistens, samt skumlag. De som ble produsert med myseproteinkonsentrat, varmebehandlet med høy temperatur samt uten etterbehandling (PHI og KHI) ble beskrevet av dommerne som veldig klumpete.

Fullstendig kommentarer som ble gitt yoghurter hvor 3 poeng eller lavere ble gitt, foreligger som vedlegg 19 på CD.



## 5 Diskusjon

Effekten myseproteintilsetning, varmebehandling og mekanisk etterbehandling med kolloidmølle hadde på ulike fysiske og sensoriske egenskaper til den proteinrike yoghurt, vil i denne delen bli diskutert. Syrningstiden, og resultater fra kvalitetskontroll samt konsekvenser av variasjon i råstoffsammensetning og produksjonsfaktorer vil også belyses.

### 5.1 Syrningstid og proteinkonsentrasjon

Syrningstid eller fermenteringstid defineres som tiden det tar for en gel å nå pH 4,6, målt fra tilsetning av syrekultur (Tamime 2006). Det ble tidligere i oppgaven konkludert med at fermenteringstiden ved gjentak 2 ble for kort grunnet defekt pH-meter. Det å avslutte syrningen for tidlig fikk følger for yoghurtens fysiske og sensoriske egenskaper. Resultatene fra de fysiske og sensoriske analysene i gjentak 2 ble dermed ikke tatt i betraktning i resultatdelen. Dette illustrerer hvordan små forskjeller i pH og syrningstid kan skape store konsekvenser nå det kommer til dannelsen av en syregel.

Yoghurtene som ble produsert ved gjentak 1 og 3 hadde en syrningstid som varierte fra 5 timer og 40 minutt til 7 timer og 30 minutt. Melkesyreinnholdet i ferdig syrnet (pH 4,6) produkt lå på mellom 1,1-1,3 mg/ml. Tamime (2006) hevder at etter 3-4 timer vil melkesyreinnholdet i en ferdig syrnet yoghurtgel (pH 4,2-4,3) ligge på 1,0-1,2 mg/ml. Dette var midlertidig ikke yoghurt produsert med så forhøyet proteinkonsentrasjon, som det vi gjennomførte i dette prosjektet. Den lange syrningstiden som ble registrert i yoghurt produsert med 8% protein viser den store bufferkapasiteten forhøyet proteininnhold har i yoghurt. Litteraturen sier at økt proteininnhold vil gi økt bufferkapasiteten slik at det behøves mer melkesyre for å senke pH tilstrekkelig (Walstra et al. 2006). Salauna et al. (2005) viser også i sin avhandling om "bufferkapasitet i meieriprodukter", at bufferkapasiteten øker med økende konsentrasjonsfaktor (CF) ved membranfiltrering, da protein og mineralinnholdet økes.

Yoghurt produsert med bare kaseinkonsentrert melk (SHI og SHM) hadde lenger syrningstid, og inneholdt gjennomgående mest melkesyre, sammenliknet med yoghurt som var tilsatt ekstra myseprotein. Dette henger sannsynligvis sammen med

myseproteinenes isoelektriske punkt, og når geldannelsen starter. Lee og Lucey (2003) viste at yoghurt som inneholdt mye denaturert myseprotein hadde en kortere syrningstid, da geldannelsen startet ved en høyere pH. Dette forklares med at  $\beta$ -laktoglobulin har høyt isoelektriske punkt (pH 5,3), som gjør at aggregeringen starter tidlig. Resultatene viser tendenser til at økt myseproteininnhold kan gi økt bufferkapasitet, gelering ved høyere pH og kortere syrningstid. Litteraturen sier også at høyere temperaturbehandling av melk vil gi kortere syrningstid. Dette fordi det blir en økt andel denaturerte myseproteiner om fester seg på overflaten til kaseinmicellen, og som er med på å binde kaseinmicellene sammen (Lee & Lucey 2003). Resultatene fra dette prosjektet viste derimot en tendens til at yoghurtresept varmebehandlet ved 95°C hadde lenger syrningstid enn yoghurtresept varmebehandlet ved 75°C. Dette stemmer ikke overens med hva som var ventet, og grunnen til dette er ikke kjent.

I forskningen gjort av Abd El-Khair (2009), hvor mager yoghurt med 8% protein ble produsert ved bruk av konsentrert melk og skummetmelkpulver, ble det konkludert med at en varmebehandling ved både 80°C og 90°C i 20 minutter gav et for fast produkt. Det er vist at varmebehandling med såpass høy temperatur vil gi økt elastisitetsmodul ( $G'$ ), altså økte faststoff-egenskaper til sluttproduktet, grunnet økt mengde denaturert myseprotein som forårsaker mange kryssbindinger mellom kaseinmicellene (Lee & Lucey 2003). Dette kan tyde på at det i yoghurt med 8% protein, hvor varmebehandlingen skjer ved 80°C eller høyere, vil det bli dannet såpass mange kryssbindinger at gelnettverket som dannes blir for tett, og yoghurtteksturen for fast.

## 5.2 Effekt av myseprotein

Bruk av nativt myseproteinkonsentrat som ingrediens gav signifikant høyere verdier for teksturparameterne; fasthet, konsistens, vedheng, samt reologiparameterne; elastisitetsmodul ( $G'$ ) og skjærspenning ( $\tau$ ) målt i LVR. Siden det i resepten med nativt myseprotein var totalt mer myseproteiner, sammenliknet med resepten hvor WPC ble tilsatt, er det vanskelig å si om effekten av måleparameterne kommer av myseproteiningrediens eller myseproteinmengde.

Det er vist at et økende proteininnhold, uten tilsatt ekstra myseproteiner, gir økende fasthet i proteinrik yoghurt. Dette ble vist av Abd El-Khair (2009) da han i sin forskning produserte yoghurt av konsentrert melk og skummetmelkpulver, med et proteininnhold som varierte fra 5,8% til 8,6%. Den økte fastheten ble forklart med økt tetthet i gelnettverket. Når det kommer til tilsetning av ekstra myseprotein er det vist at dette kan gi redusert fasthet til yoghurt (Puvanenthiran et al. 2002). Magenis et al. (2006) produserte i sin forskning to typer yoghurt, hvor en var laget med bare proteinkonsentrert melk, og en var laget med proteinkonsentrert melk tilsatt WPC. Yoghurt produsert med ekstra myseprotein gav mindre fast produkt. Dette viser at myseproteinkilde kan ha effekt på fasthet til endelig produkt, da myseproteinkonsentrat med mindre denatureringsgrad, i denne oppgaven, ser ut til å gi økt fasthet. Når det kommer til elastisitetsmodul ( $G'$ ), som sier noe om faststoff-egenskapene til et produkt, er det vist at den øker med generelt økende mengde myseprotein (Küçükçetin 2008). Dette stemmer overens med resultatene i denne oppgaven da det generelt var mer myseprotein i resepten som ble tilsatt nativt myseproteinkonsentrat, og som også hadde signifikant mer faststoff egenskaper, sammenliknet med yoghurt produsert med WPC som ingrediens. Küçükçetin (2008) rapporterte også om økende grad av grynethet med økende mengde myseproteintilsetning. Det ble hevdet at det gav en lavere motstandsdyktighet mot påkjenninger, som igjen gav reduserte verdier for gelstyrke. Dette stemmer derimot ikke med funnene i denne oppgaven, og som sammen med lav korrelasjonskoeffisient, gjør at det kan stilles spørsmålsteget til fortroligheten til resultatene fra denne måleparameteren.

Nativt myseprotein som ingrediens hadde en signifikant effekt på den sensoriske egenskapen glatthet, hvor yoghurt framstilt med nativt myseproteinkonsentrat ble karakterisert til å være mindre glatte. Krzeminski et al. (2011) og Puvanenthiran et al. (2002) viste begge at partikkelstørrelse øker med økende myseproteininnhold, ved bruk av henholdsvis nativt myseprotein isolat og WPC som ingrediens. Det kan dermed muligens tenkes at glattheten til yoghurt avhenger mer av mengde myseprotein sammenliknet med type myseprotein. Dette fordi det i resepten laget med nativt myseprotein, var mer myseprotein sammenliknet med kasein, i forhold til hva som var tilfelle i yoghurt produsert med WPC som ingrediens.

Fra resultatene kan en også se tendenser til at økt mengde myseprotein gav mindre myseutskillelse, samt at myseutskillelsen ble redusert ved lagring. Dette er i samsvar med flere andre studier, deriblant Isleten og Karagul-Yuceer (2006), hvor det ble vist at økt mengde myseprotein gav redusert myseutskillelse, i mager yoghurt produsert tilsatt ekstra myseprotein. Isleten og Karagul-Yuceer (2006) viste også til en generell reduksjon i myseseparasjon ved lagring av yoghurter tilsatt ulike typer mysepulver. Ved bruk av elektron mikroskopi (SEM) er det vist av flere, blant annet Amatayakula et al. (2006) og Puvanenthiran et al. (2002), at økt mengde myseprotein gir tettere gelnettverk med flere kryssbindinger og mindre porer. Dette er definisjonen på et sterkt gelnettverk som gir lite myseutskillelse.

### 5.3 Effekt av varmebehandling

Temperaturen på varmebehandlingen viste seg å ha signifikant effekt på de fleste av parameterne som ble målt, både i forhold til kjemiske, fysiske og sensoriske egenskaper.

Høy varmebehandling ved 95°C i 5 minutter gav signifikant mer denaturert  $\alpha$ -laktalbumin og  $\beta$ -laktoglobulin A og B i yoghurtreseptene, sammenliknet med dem som ble behandlet med lav temperatur (75°C i 5 minutter). Dette stemmer overens med litteraturen da den sier at kraftigere varmebehandling øker denatureringsgraden (Walstra et al. 2006).

Generelt gav den høye varmebehandling 85-95% denaturert  $\alpha$ -laktalbumin i yoghurtresept tilsatt myseprotein ingrediens, uavhengig av type ingrediens. Den lave temperaturbehandlingen gav derimot 20-50% denaturert  $\alpha$ -laktalbumin i de samme yoghurtreseptene. Alle reseptene som ble produsert med høy varmebehandling viste seg å gi 100% denaturert  $\beta$ -laktoglobulin A og B, mens det gav en denatureringsgrad på 40-80% ved lav varmebehandling. Dette stemmer overens med annen forskning, da  $\beta$ -laktoglobulin er vist å være mer varmesensitiv, spesielt ved høye temperaturer (Dannenberg & Kessler 1988b).

Det er vist at økt grad av denaturert myseprotein vil påvirke struktur og rheologiske egenskaper i syregeler. Dannenberg og Kessler (1988b) viste at mengde denaturert  $\beta$ -laktoglobulin var relatert til fasthet og viskositet til yoghurt. Myseprotein inneholder

intramolekylære disulfidbindinger som stabiliserer den globulære strukturen.  $\beta$ -laktoglobulin inneholder en sulfidgruppe som ved denaturering blir reaktiv og danner disulfidinteraksjoner med seg selv og andre proteiner (Fox 2001). Det er vist av Lee og Lucey (2006) samt Lucey et al. (1997), at økt interaksjon mellom denaturert myseprotein og kaseinmiceller resulterer i økt elastisitetsmodul ( $G'$ ). Dette stemmer bra overens med resultatene fra disse forsøkene, da høy varmebehandling, og dermed mer denaturert myseprotein, gav signifikant høyere elastisitetsmodul ( $G'$ ). Høy varmebehandling gav også signifikant høyere verdier for de andre reologiparameterne; skjærspenning ( $\tau$ ) og tøyning ( $\gamma$ ), samt teksturparameterne; fasthet, konsistens og vedheng. Yoghurt behandlet ved  $95^{\circ}\text{C}$  i 5 minutter ble altså tykkere, fastere samt fikk økt gelstyrke sammenliknet med yoghurt varmebehandlet ved  $75^{\circ}\text{C}$  i 5 minutter. De sensoriske målingene fastslår også dette da egenskapen fasthet fikk signifikant høyere poengsum i yoghurt behandlet med høy temperatur ( $95^{\circ}\text{C}$ ). Forskning gjort av Abd El-Khair (2009) bygger opp under disse resultatene da mager yoghurt med høyt proteininnhold, ble mer faste med økende temperaturbehandling.

Teksturanalyse- og reologiparameterne forteller ikke så mye om konsistens, i forhold til ujevnheter, i yoghurten. Det var med det blotte øyet en tydelig effekt å se av høy varmebehandling, i form av grynethet og klumper. Yoghurt behandlet med høy temperatur og som ikke ble etterbehandlet med kolloidmølle (KHI, PHI og SHI) var svært klumpete. Disse yoghurtene ble av dommerne, under kvalitetsanalysen, karakterisert som grøtaktige. Profileringsresultatene viste at egenskapen klumper var signifikant høyere i yoghurt produsert med høy varmebehandling. Küçükçetin (2008) rapporterte at økt temperaturbehandling gav redusert forekomst av synlige ujevnheter. Dette står i strid med resultatene fra denne oppgaven. Det kan derimot muligens ses i sammenheng med proteininnholdet, da Küçükçetin (2008) produserte yoghurt med 4,5% protein. Profileringsresultatene viste også at lav varmebehandling gav yoghurt signifikant mer glatt konsistens. Det kan dermed tenkes at syregeler produsert med såpass høy proteinkonsentrasjon som 8% ikke har samme effekt av temperaturbehandling som syregeler som forekommer ved vanlig yoghurtproduksjon.

Høy varmebehandling gav signifikant lavere prosentandel gjenskapt gelstyrke. Dette stemmer bra overens med de tidligere resultatene som sa at yoghurtene

varmebehandlet ved 95°C ble karakterisert til å være grøtaktig. Det er tenkelig at en yoghurt bestående av så mye klumper, ikke lenger en fin syregel med evne til å bygge opp konsistens etter destruksjon. Det kan også tenkes at klumper som blir påført stor nok påkjenning i form av for eksempel oscillasjon, vil bli ødelagt og dermed ikke kan være med på å øke teksturparameterne når destruksjonen avtar.

Mengde myseseperasjon var signifikant lavere i yoghurt produsert med høy varmebehandling. Myseseperasjon defineres som utskillelse av myse fra gelnettverket som legger seg som et synlig lag på overflaten av produktet (Lee & Lucey 2010). Dette indikerer svakt gelnettverk med store mysefylte porer. Lee og Lucey (2003) viste at yoghurtgeler laget av melk varmebehandlet med høy temperatur (>80°C), fikk et tettere nettverk bestående av mange kryssbindinger og forgreinede proteiner, med få porer. Dette er blitt forklart ved at andel denaturerte myseproteiner, som er høyere ved høyere temperaturbehandling, virker som "brobygger" mellom kaseinpartiklene som igjen øker antall og styrke på bindingene i gelnettverket. Dette stemmer bra med resultatene fra forsøkene da et slikt gelnettverk er sterkere og vil holde bedre på mysen.

Metoden som ble benyttet for å måle myseutskillelse forteller ikke så mye om mengden myse som faktisk legger seg på toppen av yoghurten. Dette avsløres heller ved de sensoriske analysene. Flere av yoghurtene som ble behandlet med høy temperatur fikk trekk for myseutskillelse ved kvalitetskontrollen. Metodevalget kan dermed diskuteres. Det er tenkelig at det hadde vært mer gunstig å bruke samme metode som Abd El-Khair (2009), hvor mål av synrese i yoghurt med høyt proteininnhold ble gjort med visuell bedømmelse ved å ha yoghurt på glass.

#### **5.4 Effekt av etterbehandling med kolloidmølle**

Ved bruk av kolloidmølle vil strukturen til yoghurtgelen ødelegges da den bryter bindingene i strukturnettverket som er blitt dannet under fermenteringsprosessen. Yoghurten blir da veldig flytende. Sodini et al. (2004) konkludere i sin avhandling "tekstur til rørt yoghurt", at etterbehandling har en signifikant effekt på yoghurtens kvalitet i forhold til tekstur. Dette stemmer bra overens med resultatene fra denne oppgaven, da yoghurt produsert uten mekanisk etterbehandling med kolloidmølle

hadde signifikant høyere verdier for teksturparameterne; fasthet, konsistens, vedheng, samt reologiparameterne; elastisitetsmodul ( $G'$ ), skjærspenning ( $\tau$ ) og tøyning ( $\gamma$ ).

Grunnen til at det ble brukt kolloidmølle i disse produksjonene var at det var ventet at den høye temperaturbehandlingen ville gi grøtete konsistens (pers. Med. Camilla Jørgensen), som en kolloidmølle eventuelt kunne jevne ut. Fra den sensoriske profileringen viste bruk av kolloidmølle å ha en signifikant positiv effekt på egenskapen klumper, da yoghurt etterbehandlet med kolloidmølle ble mer jevn og glatt. Ved gjentak 1 ble to av yoghurtene som ble behandlet med kolloidmølle (KLM og PHM) karakterisert med tilfredsstillende egenskaper. Det er dermed tenkelig at et slikt prosessstrinn kan benyttes for å forbedre tekstur i ujevn yoghurt.

De statistiske resultatene gav ingen signifikant effekt av kolloidmølle på gjenskapt gelstyrke eller myseutskillelse. Den kraftige behandlingen ser dermed ut, fra disse resultatene, til ikke å ha negative konsekvenser for styrken på gelnettverket og evne til å holde på myse. Det kan diskuteres om disse statistiske resultatene representerer virkeligheten. Det ble observert lave korrelasjonskoeffisienter for disse parameterne, noe som indikerer støy i resultatene. Det er kjent at mekanisk behandling av en syregel, i form av for eksempel røring med skje, vil gi myseutskillelse. Dette fordi det skjer en omorganisering i gelnettverket (Walstra et al. 2006). Dersom en ser bort fra de statistiske resultatene og heller ser på enkle resultater, kan en se at bruk av kolloidmølle i noen tilfeller gav økt myseutskillelse. Et eksempel var yoghurt produsert med bare kaseinkonsentrert melk, hvor den som ble etterbehandlet med kolloidmølle hadde 26% myseutskillelse, og den som ikke gjennomgikk en mekanisk etterbehandling bare hadde 18%.

Selv om det ikke ble gjort noen statistisk analyse for samspillseffekter, var det en tydelig effekt ved bruk av kolloidmølle og lav temperaturbehandling (75°C). I gjentak 2 og 3 fikk yoghurt framstilt med disse faktorkombinasjonene (PLM og KLM) et tydelig faseskille, hvor myse la seg på bunnen av begeret og en porøs yoghurtmasse la seg på toppen. Lignende resultater er ikke blitt funnet i litteratur eller tidligere publikasjoner. Det kan dermed bare spekuleres i hvorfor det ble et slikt faseskille. Det kan tenkes at det i utgangspunktet var en svak gel, som ved ytterlig påkjenning ikke klarte å gjenvinne

struktur. Det kan diskuteres hvorfor denne effekten ikke kom frem ved det første gjentak, hvor PLM og KLM ble karakterisert til å ha gode sensoriske egenskaper. Det kan tenkes at det kommer av råstoffvariasjonen mellom de ulike produksjonene, i form av ulik fettprosent og/eller variasjon i filtrering/konsentrering av melk og myse.

### **5.5 Forskjeller mellom gjentak og ulikheter mellom parallelle produkter**

Yoghurtene som ble godkjent som salgbare produkter var KLM, PLI og PHM fra første gjentak. Ingen av yoghurtene produsert ved gjentak 3 ble godkjent som salgbare produkt. KLM ble her trukket for blærete utseende, tynn konsistens og bismak, som følge av faseskille som oppstod ved disse faktorkombinasjonene. PLI, som kom best ut av kvalitetskontrollen ved gjentak 1, ble i gjentak 3 trukket for myseutskillelse, melen, seig og tynn konsistens samt utypisk smak. Yoghurt fremstilt med faktorkombinasjon PHM ble trukket for løs konsistens og myseutskillelse. Grunnen til disse store forskjellene i yoghurtkvalitet mellom gjentakene kan trolig skyldes forskjeller i reseptsammensetning eller ses i sammenheng med variasjoner i produksjonsforløpet.

En forskjell i fettinnhold i skummetmelken ble også registrert fra gjentak 1 og 3. Fettprosenten ble ved gjentak 1 målt til å være 0,8%, og ved gjentak 3 ble den målt til rundt 0,2%. Denne variasjonen kan ha skapt ulikheter mellom de fysiske og sensoriske egenskapene til yoghurt, som i utgangspunktet skulle være like ved de to gjentakene. Fettkuler som homogeniseres og varmebehandles blir omdannet til "pseudoprotein", da reaktive proteiner fester seg til fettkulemembranen og gir fettkulen proteinegenskaper. Dette gjør at syregelen som dannes under fermentering får et sterkere og mer robust nettverk, som igjen har vist seg og gi bedre sensoriske egenskaper i form av munnfølelse i ferdig produkt. Et slikt nettverk vil også redusere myseutskillelse (Tamime 2006). Det kan dermed spekuleres i om den lave fettprosenten i reseptene ved gjentak 3 har vært med på å påvirke utfallet på kvaliteten til disse produktene.

Fra gjentak 2 var det tydelig hvor stor effekt pH ved endt syrning hadde på sluttproduktet. pH-verdi målt i parallelle yoghurter, 9 dager etter produksjon, ved gjentak 1 og 3 viste også relativt store forskjeller. En kan da diskutere om fermenteringen er blitt stoppet ved for lav eller for høy pH. Dette er en feilkilde som kan



gi store utslag på produktets kvalitet. De sensoriske resultatene viser at det generelt ble produsert mer tykke samt klumpete produkter ved første gjentak, sammenliknet med det siste. Det ble under pH-målingen registrert ustabile målinger, pH-meteret tok lang tid før endelig pH ble bestemt. Dersom fermenteringen for eksempel ble stoppet før pH 4,6, kan det tenkes at det fikk konsekvenser for nettverksdannelse og styrken til gelen. Dersom fermenteringen ikke ble stoppet før pH var lavere enn 4,6, kan det tenkes at det ble dannet et veldig tett gelenettverket som gjorde yoghurten for fast. Dersom gelen er for fast, vil den mest sannsynlig ikke få jevn og fin konsistens under opprøring ved endt syrning. Det er dermed veldig viktig at fermenteringen avsluttes når yoghurtgelen har passe fast konsistens.

Ved produksjon av proteinrik yoghurt som får for tykk konsistens er det viktig med tilstrekkelig røring. Opprøringen av ferdig syrnet yoghurt er et annet variasjonsmoment som det må tas stilling til, da den var vanskelig å standardisere fra gang til gang. Den ble gjort manuelt, og flere av yoghurtene hadde veldig fast gel ved endt syrning. Det kan tenkes at omrøring 30 ganger ikke var tilstrekkelig for å jevne ut yoghurt som hadde veldig fast gel, og at mer omrøring kunne gitt et bedre produkt i forhold til konsistens og ujevnheter, enn det som faktisk ble oppnådd.

Yoghurt som ble produsert med ulik myseproteinkilde skulle i utgangspunktet ha likt forhold mellom myseprotein og kasein. Dette ble ikke tilfelle da det ble benyttet milkoskan, som ikke var kalibrert for slike høyproteinløsninger, for analyse og reseptberegning. Til tross for dette ble milkoskan likevel brukt, da det ikke var nok tid til å få bekreftet proteininnholdet ved hjelp av Kjeldahl-analyse. Dette er helt klart en feilkilde som fikk relativt store konsekvenser for sluttproduktene. Som følge av dette ble det mer myseprotein i yoghurt som var tilsatt nativt myseproteinkonsentrat sammenliknet med yoghurt framstilt med WPC som ingrediens. Dette har mest sannsynlig påvirket resultatene i de fysiske og sensoriske analysene.

Yoghurt produsert med nativt myseproteinkonsentrat, lav varmebehandling og uten kolloidmølle (KLI), var ventet skulle bli et bra produkt (pers. med. Camilla Jørgensen). Det ble raskt observert at denne produkt- og prosesskombinasjonen ikke fikk tilfredsstillende tekstur. Fra den sensoriske profileringen ble KLI bedømt til å være

svært klumpete og tykk, spesielt ved første gjentak hvor den fikk en gjennomsnittsverdi på 7 (på en skala fra 1-9) for begge egenskapene. Dersom en sammenlikner KLI med PLI, altså yoghurten produsert med samme betingelser bare med WPC som myseproteiningrediens, avdekker de sensoriske resultatene at disse produktene ble veldig ulike. PLI ble som nevnt godkjent som salgbart produkt (gjentak 1), og ble i motsetning til KLI bedømt til å ha veldig lite klumper og fikk høy gjennomsnittsverdi for egenskapen glatthet. KLI fikk dobbelt så høye verdier for parameterne som omhandlet fasthet ("force 1" og elastisitetsmodul ( $G'$ )) sammenliknet med PLI. Disse ulikhetene kan skyldes ulik mengde myseprotein, myseproteiningrediens eller muligens pH ved endt syrning.

På grunn av forskjellene mellom gjentak og parallelle produkter, ble det i noen tilfeller vanskelig å se klare sammenhenger, forskjeller og effekter som følge av de valgte forsøksparameterne. De statistiske resultatene bekrefter at gjentakene var preget av støy da noen av korrelasjonskoeffisientene var svært lave. Korrelasjonskoeffisienten forteller i hvilken grad det er en lineær sammenheng mellom to variabler, og altså hvor mye av variasjonen som blir forklart av den enkelte faktor. De statistiske resultatene viste at det var noen signifikante forskjeller mellom de to gjentakene, som forteller at de to produksjonene hadde ulikheter som kunne forklares i de valgte parameterne. Det var signifikante effekter av gjentak for de sensoriske egenskapene seighet og melen, hvor yoghurtene produsert ved gjentak 1 var signifikant mer seige og melne. Disse ulikhetene kan muligens forklares av den ulike produktsammensetningen i form av fettinnhold og proteinsammensetning. Det var i de ulike gjentakene ulike operatører og dermed filtreringsbetingelser som igjen kan skape forskjeller i råstoffsammensetning. Dersom tid eller kapasitet i pilotanlegget ikke hadde vært en begrensning, kunne nye forsøk blitt gjennomført for å eliminere disse ulikhetene.

Ulikhetene mellom gjentak viser hvor sårbar en pilotproduksjon av yoghurt kan være, da det er vanskelig å standardisere operasjoner som styres manuelt. Små variasjoner i produksjonen kan ha stor innvirkning på sluttprodukt. Når yoghurt produseres i industrien foregår det meste av prosessstrinn maskinelt, og er standardisert slik at behandlingen er optimal hver gang. Ulikhetene mellom de parallelle yoghurtene viser

hvor sensitiv mager, proteinrik yoghurt er for endringer i råstoffsammensetning og prosessforløp.

## 6 Konklusjon

Effekten av myseproteintilsetning, varmebehandling samt etterbehandling med kolloidmølle ble studert i mager, proteinrik yoghurt.

Resultatene viste at bruk av nativt myseproteinkonsentrat gav yoghurter med signifikant høyere verdier for parameterne som omhandler fasthet, tykkelse og gelstyrke, sammenliknet med yoghurt produsert med myse fra osteproduksjon (WPC). Det er også sannsynlig at denne effekten skyldes mengde myseprotein, da resepten som inneholdt nativt myseprotein viste seg å ha høyere andel myseprotein enn resepten laget med WPC som ingrediens.

Høy varmebehandling (95°C i 5 minutter) av yoghurtresepter, gav signifikant høyere grad av denaturert myseprotein, og ferdig syrnede yoghurt ble fastere og fikk økt gelstyrke. En slik høy varmebehandling gav også signifikant mer klumpete yoghurt, som ble karakterisert som grøtaktig. Dette var som ventet, og var grunnen for at kolloidmølle ble tatt med som etterbehandling. Bruk av kolloidmølle gav en signifikant reduksjon av klumper. Ved gjentak 1 ble to av yoghurtene som ble behandlet med kolloidmølle (KLM og PHM) godkjent som salgbart produkt. Det er dermed tenkelig at et slikt prosessstrinn kanskje kan brukes til å forbedre konsistens i klumpete yoghurt.

Yoghurt som i første gjentak ble framstilt ved bruk av WPC som ingrediens, varmebehandling ved 75°C i 5 minutter og ingen bruk av kolloidmølle (PLI), kom best ut av kvalitetstesten. Dette viser at det er mulig å produsere mager yoghurt med 8% protein, uten bruk av høy temperatur, med tilfredsstillende sensoriske egenskaper.

Ingen av yoghurtene produsert i gjentak 2 eller 3 ble bedømt til å ha tilfredsstillende sensoriske egenskaper. PLI ble blant annet trukket for myseutskillelse og tynn konsistens. KLM fikk tydelig faseskille i begeret med myse på bunnen og yoghurt på toppen. De store ulikhetene mellom gjentakene kan ses i sammenheng med variasjoner i fettinnhold i melken, filtrering/konsentrering av melk og myse, samt pH og opprøring ved endt syrning.

Det ble under analysene av sluttproduktene oppdaget relativt store forskjeller i reseptsammensetningen mellom de parallelle produktene, som igjen gav en del støy til de statistiske resultatene. Dette viser hvor sårbar en pilotproduksjon av yoghurt kan være, da det i et pilotforsøk er vanskelig å få et standardisert produksjonsforløp. Små variasjoner mellom produksjonene kan ha stor innvirkning på sluttprodukt. Ulikhetene mellom de parallelle yoghurt produsert ved de forskjellige gjentakene viser hvor sensitiv mager, proteinrik yoghurt er for endringer i råstoffsammensetning og prosessforløp.

## 7 Referanseliste

Abd El-Khair, A. A. (2009). Production and Evaluation of a High Protein Version of Non-fat Yogurt. *Journal of Agriculture and Biological Science*, 5 (4): 310-316.

Amatayakula, T., Sherkatb, F. & Shah, N. P. (2006). Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids.

Beyer, H. J. (1990). Zum Einfluss der Proteinkonzentration auf das Denaturierungsverhalten der Molkenproteine die damit verbundenen rheologischen Veränderungen. I: München-Weihenstephan, D. t. a. T. U. (red.). *München*.

Biliadres, C. G., Khan, M. M. & Blank, G. (1992). Rheological and sensory properties of yoghurt from skim milk and ultrafiltrated retentates. *International Journal of Dairy Technology*, 2: 311-323.

Boye, J. I., Alli, I., Ismail, A. A., Gibbs, B. F. & Konishi, Y. (1995). Factors affecting molecular characteristic of whey protein gelation. *International Journal of Dairy Technology*, 5: 337-353.

Brookfield Engineering Laboratories. (2014). *Learn About Texture*. Tilgjengelig fra: <http://www.brookfieldengineering.com/education/learn-about-texture.asp> (lest 19. April).

Dalgleish, D. G. & Corredig, M. (2012). The Structure of the Casein Micelle of Milk and Its Changes During Processing. *The Annual Review of Food Science and Technology*, 3: 449-467.

- Dannenberg, F. & Kessler, H. G. (1988b). Effect of denaturation of beta-lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yoghurt. *Milchwissenschaft*, 43: 632-635.
- de Wit, J. N. (1981). Structure and functional behaviour of whey proteins. *Milk Dairy Journal*, 35: 47-64.
- de Wit, J. N. & Klarenbeek, G. (1984). Effects of Various Heat Treatments on Structure and Solubility of Whey Proteins. *Netherlands Institute for Dairy Research*, 37 (11).
- de Wit, J. N. (2001). *Lecturer's handbook on Whey*.
- Farrell, H. M., Jimenez-Flores, J. R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E., Creamer, L. K., Hicks, C. L., Hollar, C. M., Ng-Kwai-Hang, K. F. & Swaisgood, H. E. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Research*, 87: 1641-1674.
- Fellows, P. J. (2009). *Food processing technology, Principles and practice*: Woodhead Publishing Limited.
- Filtration, G. (2012). Membrane filtration dairy industry.
- Fox, P. F. (2001). Milk Proteins as food ingredients. *International Journal of Dairy Technology*, 54.
- Gaucheron, F. (2005). The minerals of milk. *Nutru. Dev.*, 45: 473-483.
- Guggisberg, D., Eberhard, P. & Albrecht, B. (2007). Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins. *international Dairy Journal*, 17: 1353-1359.
- Heidari, M., Ahani Azari, M., Hasani, S., Khanahmadi, A. & Zerehdara, S. (2009). Association of genetic variants of  $\beta$ -lactoglobulin gene with milk production in a herd and a superior family of Holstein cattle. *Iranian Journal of Biotechnology*, 7 (4).

Heino, A. (2009). Microfiltration in cheese and whey processing.

IDF. (2001a). *Determination of nitrogen content Part 1: Kjeldahl method*. In. 20-1 Milk. Brussel, Belgium: International Dairy Federation.

IDF. (2001c). *Determination of nitrogen content - Part 5: Determination of protein-nitrogen content*. In. 20-5: Milk. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

IDF. (2004). *Determination of the casein-nitrogen content. Part 2: Direct method*. In. 29-2: Milk. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

Isleten, M. & Karagul-Yuceer, Y. (2006). Effects of Dried Dairy Ingredients on Physical and Sensory Properties of Nonfat Yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 89 (8).

Krzeminski, A., Großshale, K. & Hinrichs, J. (2011). Structural properties of stirred yoghurt as influenced by whey proteins. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (10): 2134-2140.

Kücükçetin, A. (2008). Effect of heat treatment and casein to whey protein ratio of skim milk on graininess and roughness of stirred yoghurt. *Food Research International*, 41 (2): 165-171.

Lee, W. J. & Lucey, J. A. (2003). Rheological properties, whey separation, and microstructure in set-style yoghurt: effects of heating temperature and incubation temperature. *Journal of Texture Studies*, 34: 515-536.

Lee, W. J. & Lucey, J. A. (2004a). Structure and Physical properties of yoghurt gels: Effects of inoculation rate and incubation temperature. *Journal of Dairy Science*, 87.



- Lee, W. J. & Lucey, J. A. (2004b). Structure and Physical properties of yoghurt gels: Effects of inoculation rate and incubation temperature. *Journal of Dairy Science*, 87.
- Lee, W. J. & Lucey, J. A. (2006). Impact of gelation conditions and structural breakdown on the physical and sensory properties of stirred yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 89: 2374-2385.
- Lee, W. J. & Lucey, J. A. (2010). Formation and Physical Properties of Yoghurt. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 23 (9): 1127-1136.
- Lucey, J. A., Tet Teo, C., Munro, P. A. & Singh, H. (1997). *Rheological properties at small (dynamic) and large (yield) deformations of acid gels made from heated milk*. Palmerston North, New Zealand: Massey University, Department of Food Technology.
- Lucey, J. A., Tamehana, M., Singh, H. & Mounro, P. A. (1998). Effect of interactions between denatured whey proteins and casein micelles on the formation and rheological properties of acid skim milk gels. *Journal of Dairy Research*, 65: 555-567.
- Lucey, J. A., Munro, P. A. & Singh, H. (1999). Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. *International Journal of Dairy Technology*, 9: 275-279.
- Magenis, R. B., Prudencio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Cerqueira Junior, N. G., Oliveira, R. V. B., Soldi, V. & Benedet, H. D. (2006). Compositional and physical properties of yogurts manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. *International Journal of Food Science and Technology*, 41 (5): 560-568.

- 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: 52-57.
- Maubois, J. L. (2002). Membrane microfiltration: a tool for a new approach in dairy technology. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57: 92-96.
- McClements, D. J. (2000). *Food Emulsions, Principles, Practice and Techniques*. Florida.
- Narvhus, J. A., Østeraas, K., Mutukumira, T. & Abrahamsen, R. K. (1998). Production of fermented milk using a malty compound-producing strain of *Lactococcus lactis* subs. *lactis* biovar. *diacetylactis*, isolated from Zimbabwean naturally fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*, 41 (1): 73-80.
- Nordisk Metodikkkomité for Levningmidler. (2005). *Aske*. No. 173.
- Norske Meierier. (1990a). *Fett i melk*. Meierienes Analysebok metodenummer 602.
- Norske Meierier. (1990b). *Tørrstoff i melk*. Meierienes Analysebok, metodenummer 608.
- Novasep. (2014). *Novasep Technologies for Bio-Based Chemical Manufacturing*.  
Tilgjengelig fra:  
<http://www.novasep.com/biomolecules/BioIndustries/Bioindustries-technologies.as> (lest 15. april).
- Ozcan, T. (2013). Determination of Yoghurt Quality Using Rheological and Textural Parameters. Turkey: Uludag University, Department of Food Engineering.
- Peng, Y., Serra, M., Horne, D. S. & Lucey, J. A. (2009). Effect of fortification with various types of milk proteins on the rheological properties and permeability of non fat set yoghurt. *Journal of Food Science*, 74: 666-673.

- Puvanenthiran, A., Williams, R. P. W. & Augustin, M. A. (2002). Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *international Dairy Journal*, 12: 383-391.
- Salauna, F.-o., Miettonb, B. & Gaucheron, F. (2005). Buffering capacity of dairy products. *international Dairy Journal*, 15: 95-109.
- Sodini, I., Remeuf, F., Haddan, S. & Corrieu, G. (2004). The relative effect of milk base, starter, and process on yoghurt texture: a review. *Food Science Nutrition*, 44: 113-137.
- Svanborg, S., Johansen, A. G., Abrahamsen, R. K. & Skeie, S. B. (2014). Initial pasteurisation effects on the protein fractionation of skimmed milk by microfiltration. *International Dairy Journal*.
- Tamime, A. (2006). *Fermented Milks*: Blackwell Science Ltd.
- Tamime, A. Y. (2004). Yoghurt-latest developments and bridging the link with industry. In International dairy symposium. *Recent developments in dairy science and technology*: 24-28.
- Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (2007). *Yoghurt: Science and Technology*, b. 3: Woodhead Publishing in Food Science, Technology and Nutrition.
- The Codex Alimentarius Commission. (2008). *Codex Standard for Fermented milks*. CODEX STAN 234.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science an Technology 2*. utg.: CRC Press, Taylor & Francis Group.

## 8 Vedlegg

### Produktblad WPC-80

<b>TINE Produktdatablad</b>	
<b>WPC 80</b>	
<b>Dato: 07.04.2013 Side 1   Artikkel nr.: 3904, 3923, 3925, 3938, 3965, 3972, 4466</b>	
<p><b>VAREBETEGNELSE:</b> Myseproteinpulver</p> <p><b>PRODUKTBESKRIVELSE:</b> Myseproteinpulver er fremstilt ved ultrafiltrering og spraytørring av myse fra hvitostproduksjon. Pulveret har en gulhvitt farge og nøytral lukt/smak.</p> <p><b>INGREDIENSER:</b> Myse</p> <p><b>NÆRINGSINNHOLD:</b> 100g vare gir ca.: energi 1650 kJ (390 kcal) protein 77,4 g -hvorav: myseprotein 77,4 g fett maks 8 g natrium 130 mg tiamin 0,20 mg riboflavin 0,20 mg niacin 0,5 mg pantotensyre 0,5 mg kalsium 400 mg fosfor 350 mg magnesium 50 mg kalium 500 µg</p> <p>pH: 6,1 +/-0,1 TØRRSTOFF: &gt;95 % VANNAKTIVITET: &lt;0,2 aw VANN: &lt;5 g ASKE: &lt;3,5 g BULKTEHET: 0,45 - 0,52 g/cm</p> <p><b>REKOMBINERING:</b> 0,66 kg pulver og 9,4 l (kg) vann gir ca 10 l (kg) rekombinert myseproteinpulver med 6,4 % ts.</p> <p><b>ANVENDELSE:</b> Iskrem, supper/sauser, sjokolade, kjøtt- og fiskefarse, desserter, bakeriprodukter, smeltost</p> <p><b>ENHETSSTØRRELSE:</b> Artikkelnr.3904: WPC-80 TV 25 kg Artikkelnr.3923: WPC80 20 kg Artikkelnr.3925: WPC80 650 TK 650 kg</p>	<p>Artikkelnr.3938: WPC80 TV 20 kg Artikkelnr.3965: WPC80 storsekk Artikkelnr.3972: WPC80 storsekk 600 kg Artikkelnr.4466: WPC-80 20 kg</p> <p><b>HOLDBARHET OG OPPBEVARING:</b> Artikkelnr.3904 - ca. 706 dager Artikkelnr.3923 - ca. 706 dager Artikkelnr.3925 - ca. 706 dager Artikkelnr.3938 - ca. 706 dager Artikkelnr.3965 - ca. 706 dager Artikkelnr.3972 - ca. 706 dager Artikkelnr.4466 - ca. 706 dager Optimal temperatur er 0° - 20 °C. Relativ fuktighet &lt; 65%. Merkes: Oppbevares tørt og kjølig. Tåler Topplast: 0 kg</p> <p><b>EMBALLASJE:</b> Småsekk: Flerlags papirsekk med løs innerliner av PE. Varmeforseglet.</p> <p>Storsekk: Vevd PP-yttersekk med løs innerliner av PE. Støvtett.</p> <p><b>MERKEPLIKTIGE ALLERGENER:</b> Melk og produkter fremstilt av melk (herunder laktose)</p> <p><b>GMO:</b> Produktet inneholder ikke GMO. Eventuelle spormengder av eller fra GM-materiale er utilsiktet, og under de grenseverdier som er satt for innhold av eller fra EU-godkjente og risikovurderte GMOer (hvh. 0,9% og 0,5%). Spor av andre GMOer og rester av genmateriale fra GMOer som koder for antibiotikaresistens skal ikke forekomme.</p> <p><b>FORURENSENDE STOFFER:</b> Produktet inneholder ikke forurensende stoffer (tilførte eller prosessfremkalte kjemiske kontaminanter), rester av medisiner eller plantevernmidler eller mikrobiologiske kontaminanter over til enhver tid gjeldende forskriftsgrenser. Kjent innhold av nevnte stoffer ligger på et akseptert lavt nivå, normalt langt under grenseverdier.</p> <p><b>TOLLTARIFNUMMER:</b> 35.02.2090</p>

P1161 Versjon 8

TINE SA  
Dronning Eufemias gate 6, 0191 Oslo  
Pb. 25, 0051 OSLO  
Telefon 03080 Telefaks 22 96 72 05  
E-post firmapost@tine.no www.tine.no



Sertifisert virksomhetsstyring etter NS-EN ISO-9001:2008 med HACCP i henhold til Codex Alimentarius inkludert i sertifikatet. Sertifikat nr 283 fra Moody International Certification.

Bilde 5: Produktblad for WPC80 benyttet ved de tre produksjonene

## Registreringer fra ultrafiltrering

Tabell 19: Registreringer fra ultrafiltrering ved forsøk 1, 2 og 3, i form av retentattemperatur (°C), permeatflux (l/min) og -brix, samt klokkeslett.

### Forsøk 1

Klokkeslett	Retentat	Permeat	
	Temp	Flux (l/min)	Brix
08:35	START		
08:40	47	14,0	5,5
08:45	48	13,2	5,5
08:52	49	11,2	5,2
08:57	45	10,8	6,0
09:10	48	10,8	6,0
09:20	48	10,8	6,1
09:35	48	10,6	6,0
09:55	STOPP		

Filtreringstid: 1 time og 20 minutter

### Forsøk 2

Klokkeslett	Retentat	Permeat	
	Temp	Flux (l/min)	Brix
09:15	START		
09:20	47	14,0	5,5
09:25	49	12,4	5,5
09:30	49	12,8	5,5
09:40	50	13,2	5,6
09:50	48	11,2	5,8
10:00	49	11,2	6,0
10:15	50	11,6	6,0
10:30	50	11,6	6,0
10:40	STOPP		

Filtreringstid: 1 time og 20 minutter

### Forsøk 3

Klokkeslett	Retentat	Permeat	
	Temp	Flux (l/min)	Brix
09:10	START		
09:15	49	14,8	5,2
09:20	49	12,8	5,2
09:25	50	12,8	5,2
09:30	50	12,4	5,2
09:35	50	12,8	5,2
09:40	51	11,2	5,6
09:45	46	11,2	6,6
09:50	47		5,4
09:55	48	10,8	5,4
10:00	48	10,8	5,8
10:05	48		5,8
10:10	48	10,8	5,8
10:15	49	10,8	5,8
10:20	49	10,4	5,8
10:25	50	10,0	5,8
10:30	STOPP		

Filtreringstid: 1 time og 20 minutter

## Podekultur, produktblad YC-183



Technical sheet

CHR. HANSEN

### F-DVS YC-183 - Yo-Flex®

Product Information

<b>Description</b>	Thermophilic Yoghurt culture. Defined mixed strain culture containing <i>Streptococcus thermophilus</i> and <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> blended in a convenient frozen pellet form to produce yoghurt.										
<b>Application</b>	YC-183 will produce yoghurt with a high body, very mild flavor and minimal post acidification.  The culture is ideal for manufacturing the following types of very mild yoghurt: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Stirred</li> <li>• Frozen</li> </ul>										
<b>Packing</b>	<table border="0"> <tr> <td style="padding-right: 20px;"><b>Packing size</b></td> <td><b>Item number</b></td> </tr> <tr> <td>500 g carton</td> <td>502675</td> </tr> </table>	<b>Packing size</b>	<b>Item number</b>	500 g carton	502675						
<b>Packing size</b>	<b>Item number</b>										
500 g carton	502675										
<b>Storage and shelf life</b>	Frozen cultures should be stored at -45°C (-49°F) or below. If the cultures are stored at -45°C (-49°F) or below, the shelf life is at least 12 months.										
<b>Instructions for use</b>	Remove the cultures from the freezer just prior to use. <b>DO NOT THAW THESE CULTURES.</b> Sanitize the gable top of the carton with chlorine. Open the carton and pour the frozen pellets directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly.										
<b>Dosage</b>	Recommended inoculation rate: 0.02 %  <table border="1"> <thead> <tr> <th>Amount of milk to be inoculated</th> <th>1,250 l / 500 gal</th> <th>2,500 l / 1,000 gal</th> <th>5,000 l / 2,000 gal</th> <th>10,000 l / 4,000 gal</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Amount of DVS culture</td> <td>250 g</td> <td>500 g</td> <td>1,000 g</td> <td>2,000 g</td> </tr> </tbody> </table>	Amount of milk to be inoculated	1,250 l / 500 gal	2,500 l / 1,000 gal	5,000 l / 2,000 gal	10,000 l / 4,000 gal	Amount of DVS culture	250 g	500 g	1,000 g	2,000 g
Amount of milk to be inoculated	1,250 l / 500 gal	2,500 l / 1,000 gal	5,000 l / 2,000 gal	10,000 l / 4,000 gal							
Amount of DVS culture	250 g	500 g	1,000 g	2,000 g							
<b>Incubation temperature</b>	Recommended incubation temperature is 35-45°C (95-113°F). For more information please use Chr. Hansen's suggested recipes.										
<b>Kosher status</b>	YC-183 is Kosher approved (Circle K D) for year-round use, excluding Passover.										

ABr/YC-183-Fro-PI/okt 2001/1:2

Chr. Hansen A/S, 10-12 Bøge Allé, DK-2970 Hørsholm. Tel: +45 45 747474. Fax: +45 45 748813. Web: chr-hansen.com

FROMAGEX • 1 866.437.6624 • WWW.FROMAGEX.COM • INFO@FROMAGEX.COM

## F-DVS YC-183 - Yo-Flex®

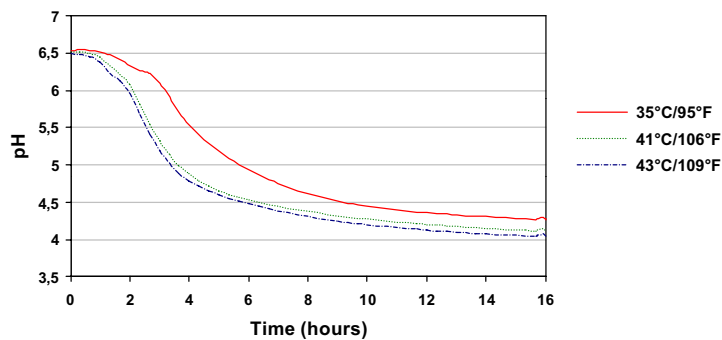
Product Information

CHR. HANSEN

### Technical information

Figure 1. The effect of temperature on acidification

### F-DVS YC-183



**Fermentation conditions:**  
Whole milk +2% skim milk powder (85°C (185°F)/30 min.)  
Inoculation: 0.02%

NB: Note that the accuracy of these curves is relative and subject to experimental error.

### Technical service

Chr. Hansen's worldwide facilities and the personnel of our application and technology center are at your disposal with assistance and instructions.

### References

References and analytical methods are available upon request.

The information contained herein is to our knowledge true and correct and presented in good faith. However, no warranty, guarantee, or freedom from patent infringement is implied or inferred. This information is offered solely for your consideration and verification.

EN-YC-183-PI-1001

ABr/YC-183-Fro-PI/okt2001/2:2

## Podemengder

Tabell 2: Podemengde beregnet, basert på yoghurtmengde, og benyttet for hver yoghurt i de tre ulike forsøkene

Yoghurt	Forsøk	Vekt så (kg)	med yoghurt (kg)	vekt yoghurt (kg = L)	Podemengde 0,02% ( $\mu\text{m}$ )
PHI	1	1,664	5,482	3,818	763,6
	2	1,585	5,804	4,219	843,8
	3	1,518	5,618	4,1	820
KLM	1	1,6	5,964	4,364	872,8
	2	1,626	6,008	4,382	876,4
	3	1,704	5,784	4,08	816
SHI	1	1,636	6,086	4,45	890
	2	1,44	5,782	4,342	868,4
	3	1,646	5,948	4,302	860,4
KLI	1	1,666	5,8	4,134	826,8
	2	1,724	5,902	4,178	835,6
	3	1,904	6,07	4,166	833,2
PHM	1	1,588	6,046	4,458	891,6
	2	1,552	5,702	4,15	830
	3	1,574	6,166	4,592	918,4
SHM	1	1,452	5,682	4,23	846
	2	1,604	5,798	4,194	838,8
	3	1,6	5,828	4,228	845,6
PLM	1	1,636	5,906	4,27	854
	2	1,854	6,062	4,208	841,6
	3	1,66	5,982	4,322	864,4
KHM	1	1,636	5,562	3,926	785,2
	2	1,646	5,882	4,236	847,2
	3	1,542	6,314	4,772	954,4
KHI	1	1,544	5,766	4,222	844,4
	2	1,668	6,05	4,382	876,4
	3	1,564	6,024	4,46	892
PLI	1	1,636	6,202	4,566	913,2
	2	1,52	5,912	4,392	878,4
	3	1,588	6,014	4,426	885,2



## 9 Vedlegg som foreligger på CD:

1. Logg fra mikrofiltrering fra de tre produksjonene
2. Reseptberegninger fra de tre produksjonene
3. Syrningstider
4. Kjeldahlresultater (rådata)
5. Tørrstoff- og askeinnhold (rådata)
6. Utskrift fra statistisk analyse av tørrstoff- og askeinnhold
7. Organiske syrer og karbohydrater (rådata)
8. Mineralinnhold (rådata)
9. Denatureringsresultater (rådata)
10. Utskrift fra statistisk analyse av denatureringsgrad
11. Teksturanalyseresultater (rådata)
12. Utskrift fra statistisk analyse av teksturanalyseresultater
13. Reologiresultater (rådata)
14. Utskrift fra statistisk analyse av reologiresultater
15. Mysedreneringsresultater (rådata)
16. Utskrift fra statistisk analyse av mysedreneringsresultater
17. Profileringsresultater (rådata)
18. Utskrift fra statistisk analyse av profileringsresultater
19. Kvalitetstestresultater



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)