



FORORD

Oppgaven inngikk som avsluttende arbeid for mastergradstudiet ved NMBU Matvitenskap, retning produksjon og produktutvikling og ble gjennomført ved NMBU Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap. Oppgaven ble gitt av TINE SA, ved forsker Anne-Grethe Johansen og doktorgradsstipendiat Sigrid Svanborg. To andre masterstudenter arbeidet parallelt med lignende tema.

Professor Elling-Olav Rukke var hovedveileder for oppgaven og har vært en viktig kontaktperson i perioden, med gode råd om disposisjon og skrivemetode. Anne-Grethe Johansen har vært veileder og hovedkontakt til TINE SA. Hun har bistått med tilrettelegging ved prosessering av råstoff, samt bistått i forståelsen av proteinanalyser. Nærmeste samarbeidspartner og veileder var Sigrid Svanborg som arbeider med nærliggende tema i sitt doktorgradstudie. Professor Reidar B. Schüller har vært en viktig veileder for utvikling av reologisk metode. Jeg vil takke for at veilederne har vært tilgjengelige for meg når jeg har hatt spørsmål. Jeg vil også takke professor emeritus Roger K. Abrahamsen for gode svar på meieritekniske spørsmål.

I forsøksperioden har laboratorieteknikere, pilotpersonell og ansatte ved TINE FoU vært veldig viktige både for trivsel og for gjennomføring av oppgaven. Jeg ønsker å takke både veiledere og ansatte ved NMBU Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap for godt samarbeid og en hyggelig tid.

Samarbeid med TINE har vært veldig godt. Jeg er takknemlig for all oppmerksomhet og hjelp jeg har fått i sammenheng med prosjektet. Jeg vil også takke TINE for økonomisk støtte som har vært essensiell for gjennomføring av hovedforsøket. Studiet har vært både interessant og spennende og jeg håper du som skal lese oppgaven synes det samme.

Ås, Mai 2014

Even Gausemel

Innholdsfortegnelse

1 Sammendrag	1
1.1 Abstract	3
2 Innledning og problemstilling	5
2.1 Innledning	5
2.2 Problemstilling	6
3 Litteraturoversikt og teori	7
3.1 Membranfiltrering	7
3.2 Viktige bestanddeler i myseingredienser	9
3.2.1 Melkeproteiner	9
3.2.2 β -laktoglobulin	10
3.2.3 Glykomakropeptid (GMP)	14
3.2.4 Melkemineraler og ionestyrke	14
3.2.5 Lipider	16
3.2.6 Laktose	17
3.3 Myseproteiners funksjonelle egenskaper	17
3.3.1 Aggregering av gel	18
3.3.2 Varmeindusert aggregering	18
3.3.3 Mikrostruktur	21
3.3.4 Proteinaggregater	22
3.3.5 Protein-protein interaksjon	23
3.3.6 Sammenligning av funksjonalitet	23
3.4 Prosessering av mysekonsentrat	24
3.4.1 Varmebehandling og ultrafiltrering av mysekonsentrat	24
3.4.2 Forvarming og spraytørking	25
3.4.3 Frysetørking	26
3.5 Reologi	28
3.5.1 Rheologiske metoder	28
3.5.2 Rheologiske metoder i litteratur	29
3.6 Texture Profile Analysis (TPA)	30
4 Materialer og metoder	32
4.1 Forsøksdesign og navn for mysekonsentrat, -pulver og -løsning	32
4.2 Produksjon: Mottak av prøvemateriale og membranfiltrering	33
4.2.1 Ostemysekonsentrat og mysepulver WPC-80 fra TINE Meieri Verdal	33
4.2.2 Filtreringsprosess for jomfrumyse	34

4.3 Produksjon: Frysetørking av mysekonsentrat og jomfrumysekonsentrat	35
4.4 Prøveopparbeidelse: Mysepulverløsning for analyser og aggregering av gel.....	37
4.5 Analyser og målinger	38
4.5.1 pH-analyser	38
4.5.2 Metodeutvikling: Rheometer MCR 301 (Anton Paar).....	39
4.5.3 Aggregering og oscillerende amplitudesveip med rheometer.....	41
4.5.4 Texture Profile Analysis (TPA)	43
4.5.5 Proteinanalyser med Kjeldahl metode	44
4.5.6 Tørrstoffanalyser.....	45
4.5.7 Partikkelstørrelse målt med Malvern Mastersizer.....	46
4.5.8 Uløselighetsindeks i mysepulver	47
4.5.9 HPLC-analyse av laktose i mysekonsentrat og mysepulver	48
4.5.10 Mineralanalyse av mysepulver.....	48
4.5.11 Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff (SBR) av fettinnhold i mysepulver.....	49
4.5.12 Aggregering av gel med tilsatt sukrose, for sensorisk vurdering.....	49
4.5.13 Sensorisk vurdering av aggregererte geler tilsatt sukrose	49
4.6. Statistikk og databehandling	51
5 Resultater	52
5.1. pH-analyser	53
5.2. Oscillerende amplitudesveip og Linear ViscoElastic-range i rheometer	53
5.2.1 Linear ViscoElastic range responser fra rheometermåling presentert i stolpediagram.....	53
5.2.2 Forsøksfaktorer og faktorinteraksjoner: Proteinkonsentrasjon, temperatur og tid.....	56
5.3 Texture Profile Analysis (TPA)	57
5.3.1 Responser fra Texture Profile Analysis (TPA) presentert i stolpediagram.....	57
5.3.2 Faktorinteraksjon: Pulver og aggregering.....	61
5.4 Proteinanalyse med Kjeldahl metode.....	62
5.4.1 Proteinanalyse av mysekonsentrat, mysepulver og løsning vist som stolpediagram	62
5.4.2 Faktorinteraksjoner: Proteinkilde og batch	68
5.5 Tørrstoffanalyser.....	69
5.5.1 Responser fra tørrstoffanalyser presentert i stolpediagram.....	69
5.5.2 Faktorinteraksjoner: Proteinkilde og batch	71
5.6 Partikkelstørrelser målt med Malvern Mastersizer	71
5.6.1 Responser fra Mastersizer-analyser presentert i diagram fra Mastersizersoftware.....	71
5.6.2 Responser fra Mastersizer-analyse presentert i stolpediagram	72
5.6.3 Faktorinteraksjoner: Proteinkilde og batch	76

5.7	Uløselighetsindeks i mysepulver	77
5.7.1	Analyse av uløselighetsindeks som beskrevet i IDF 129.....	77
5.7.2	Analyse av uløselighetsindeks med pH-justering til pH 6.4	77
5.8	HPLC-analyse av laktose i mysekonsentrat og -pulver	78
5.9	Mineralanalyse av mysepulver.....	78
5.10	Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff (SBR) analyse av fettinnhold i mysepulver.....	80
5.11	Sensorisk vurdering av aggregert gel med sukrose.....	80
6	Diskusjon	82
6.1	Forskjeller forårsaket av ulik prosessering av myseingredienser.....	82
6.1.1	Verdier for pH. Effekt av prosessering på proteinkilde	82
6.1.2	Tørrstoff, Laktose, mineraler og fett. Effekt av prosessering på proteinkilde	82
6.1.3	Tørrstoff, med påvirkning fra diafiltrering. Effekt av prosessering på batch.....	83
6.1.4	Proteinsammensetning. Effekt av prosessering på proteinkilde.....	83
6.1.5	Total varmebehandling og aggregatdannelse. Effekt av prosessering på proteinkilde	84
6.1.6	Uløselighetsindeks og partikkelstørrelse. Effekt av prosessering på proteinkilde	84
6.1.7	Partikkelstørrelse. Effekt av prosessering på batch.....	86
6.2	Forsøksfaktorer ved aggregering av gel.....	86
6.2.1	Effekt av løsning av mysepulver på proteinkilde.....	86
6.2.2	Rheometermåling. Effekt av varmeindusert aggregering på proteinkilde	87
6.2.3	Texture Profile Analysis (TPA). Effekt av forsøksfaktorer aggregering og pulver	89
6.2.4	Rheometermåling. Effekt av varmebehandlingstid og -temperatur	90
6.2.5	Rheometermåling. Effekt av proteinkonsentrasjon.....	90
6.2.6	Sensorisk vurdering.....	91
6.3	Analyseusikkerhet.....	92
6.3.1	Modifisert Kjeldahl metode ved analyse av proteinsammensetning.....	92
7	Konklusjon.....	93
8	Forslag til videre arbeid	94
9	Begrepsforklaringer	95
10	Referanser	99

1 Sammendrag

Målet med oppgaven var å sammenligne tre myseingredienser ved hjelp av kjemiske, fysiske og reologiske metoder og påvise eventuelle signifikante forskjeller. Forskjellene vurderes i forhold til forsøksfaktorer, ved analyser av myseingredienser og geler hvor myseingredienser inngår som ingrediens. Dette er et viktig tema fordi objektive data om myseingredienser er viktig for hensiktsmessig applikasjon og utvikling av nye ingredienser.

Studiet innebar produksjon av to mysepulver ved NMBU, Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap. Disse ble produsert ved frysetørking av to typer mysekonsentrat. Et av konsentratene ble produsert ved NMBU som del av oppgaven. Et annet ble produsert ved TINE Meieri Verdal, som også produserte det tredje mysepulveret som undersøkes i oppgaven. Oppgaven beskriver tre ulike fremgangsmåter for produksjon av mysepulver inkludert kommersiell spraytørkingsmetode. De tre myseingrediensene som vurderes i oppgaven var: a.) Kommersiell spraytørket WPC-80. b.) Frysetørket ostemysekonsentrat. 3.) Frysetørket nativt jomfrumysekonsentrat.

Mysepulver og løsningspulver ble undersøkt ved hjelp av kjemiske og fysiske metoder. Hovedfokuset i oppgaven var vurdering av myseingrediensenes funksjonalitet ved varmeindusert aggregering av gel. Reologiske metoder og Texture Profile Analysis ble brukt for å analysere løsningspulver/gel under- og etter aggregering. Data fra kjemiske, fysiske og reologiske analyser ble vurdert med Anova General Linear Model (GLM).

Forsøksdesign innebar randomisert komplett blokkdesign hvor modeller for konsentrat og pulver var basert på to faktorer: Proteinkilde og batch. For aggregering av gel var blokkdesignet mer komplekst med fem faktorer: Proteinkilde, batch, proteinkonsentrasjon, varmebehandlingstemperatur og varmebehandlingstid. De tre ovenfor nevnte pulver utgjorde tre nivåer av forsøksfaktor for proteinkilde. Hvert frysetørket pulver ble produsert i to batcher hos NMBU, spraytørket WPC-80 leveres i to sekker. Dette utgjorde to nivåer for forsøksfaktor batch. De tre siste faktorene forekom i to nivåer.

Fokuset på varmeindusert aggregering av mysegel kobles til proteinsammensetning og produksjon fordi proteinsammensetning og denatureringsgrad fra prosessering påvirker gelstruktur. Spesielt interessant var innhold av nativt myseprotein i de ulike ingrediensene. Reologi ble valgt som hoved metode fordi reologiske metoder var egnet for objektiv måling

av funksjonelle egenskaper i gel. Rheometer MCR 301 (Anton Paar) ble brukt ved måling av reologiske responsverdier. To uker ble brukt for å utvikle en egnet reologisk metode for måling av viskoelastiske egenskaper i varmeindusert mysegel. Texture Profile Analysis (TPA) nyttes for å vurdere et representativt utvalg av aggregerte geler.

Kjeldahl metode er en veletablert metode for undersøkelse av proteinsammensetning i melkeprodukter. Tørrstoffanalyse og analyse av proteinsammensetning ble gjennomført for mysekonsentrat, mysepulver og løsning. Partikkelstørrelsen ble analysert i mysepulver. Støtteanalyser som ble gjennomført var: Uløselighetsindeks, sensorisk vurdering og analyse av mineralinnhold, fettinnhold og laktoseinnhold (HPLC).

Reologiske målinger viste signifikante forskjeller mellom myseingrediensene. Alle de fem faktorene hadde signifikant innvirkning på de målte responsverdiene og responsverdiene var høyere for pulver av frysetørket jomfrumyse. Texture Profile Analysis (TPA) viste også signifikant forskjell mellom representative prøver. Proteinanalyse med Kjeldahls metode viste at innhold av total protein (TP), nativt myseprotein (NWP) og kasein (K) var høyere i pulver av frysetørket jomfrumyse relativt til ostemysebaserte pulver. Proteinsammensetningen i pulveret ble satt i sammenheng med verdier fra reologisk målemetode med bakgrunn i litteratur. Masterstudiet påviste signifikante forskjeller mellom de tre vurderte myseingrediensene og presenterte tydelig ulike egenskaper for frysetørket jomfrumyse og ostemysebaserte ingredienser.

Studiet omfatter både produksjon og metoder som gir signifikante resultater. Masteroppgavens lengde er preget av dette. Det er en bevisst beslutning fra kandidatens side å beholde lengden på oppgaven fordi hvert kapittel beskriver viktige momenter som komplekst påvirker egenskapene til myseingrediensene. Denne beslutningen støttes av veiledere.

1.1 Abstract

The aim of the study was to compare three whey ingredients with chemical, physical and rheological methods to detect significant differences between them. The differences were evaluated related to experimental factors in analysis of whey powder and whey powder gel. This is an important subject because objective data concerning whey ingredients is important for suitable application of development of new ingredients.

The study included production of two whey powders at Norwegian university of life science. These were produced by drying two different concentrate types. One of these concentrates was produced as part of this study. The other was produced at the TINE dairy at Verdal, who also produced the third powder to be evaluated. The study describes three different productions of whey powders. One of these approaches is a commercial spraydrying. The three whey ingredients which were evaluated were: 1.) Commercial spraydried WPC-80. 2.) Freezedried cheesewhey. 3.) Freezedried native whey concentrate.

The powders and whey powder solutions were examined by the use of chemical and physical methods. The main focus in the study is evaluation of functional properties in heat induced gels. Rheological methods were used to examine the solution/gel under- and after aggregation. Data from analysis was evaluated by the use of Anova General Linear Model (GLM).

Experimental design included randomized complete block design where model for powder and solution was based on two factors: Protein source and batch. For aggregation of gel the block design was more complex with five experimental factors: Protein source, batch, protein concentration, heat treatment temperature and heat treatment time. The three aforementioned powders represented the three levels of the protein source factor. Each of the freezedried powders are produced in two batches, spraydried WPC-80 is delivered in two sacks. These represent the two levels of the batch factor. The three last factors each have two levels.

The focus on heat induced aggregation of whey gel connects to protein composition and production because protein composition and denaturation from processing influences gel structure. Especially interesting is the composition of native whey protein. Rheology is chosen as the main method for the study of aggregated gel because rheology is well suited for objective measurement of the attributes of the gel structure. Rheometer MCR 301 (Anton Paar) was used for measurement of the rheological response values. Two weeks was spent

developing a suitable method for rheological measurement of viscoelastic properties in heat induced whey gel. Texture Profile Analysis (TPA) was used to examine representative aggregated gel samples.

The Kjeldahl method is a well-established method for the examination of protein composition in dairy products. Dry matter and protein composition was examined in whey concentrates, whey powders and solutions. The particle size in powders was analyzed in whey powder. Support experiments included: solubility index, sensory evaluation, and composition of minerals, fat and lactose (HPLC).

Rheological factors showed significant differences between whey ingredients. The five experimental factors showed significant differences for the measured response values and the values were higher for freeze-dried native whey concentrate. Texture Profile Analysis (TPA) showed significant differences between representative gel samples. Protein analysis showed that freeze-dried native whey concentrate had higher composition of casein, total protein (TP) and native whey protein (NWP) relative to cheese whey based powders. The protein composition was related to response values from rheological analysis with descriptions from the literature. The study detected significant differences between the examined whey ingredients and presented clear differences in attributes between freeze-dried native whey and cheese whey based ingredients.

This study included production as well as a number of methods which granted significant results. This affects the length of the thesis. The candidate consciously chose to keep the length at editing because every chapter describes important variables for the complex influence on whey ingredient attributes. This decision was supported by supervisors.

2 Innledning og problemstilling

2.1 Innledning

Myse består av vann og vannløselige melkekomponenter som tradisjonelt skilles fra øvrige melkekomponenter ved å tilsette løpe til melk, med følgende dannelse av koagel som skilles fra mysen. Myse skilles både fra ysting og fermenterte melkeprodukt, utgjør storparten av melkevolumet og har historisk blitt utnyttet på en dårlig måte. Mysens sammensetning vil være avhengig av melkeråstoff og hva som tilsettes melkeråstoffet. Dette påvirker også hva mysen kan brukes til. Myse fra melk som har blitt syrnnet med melkesyrebakterier eller syre kalles sur myse og melk fra usyrnet melk kalles usyrnet/søt myse. Det er vanlig å tilsette chymosin ved osteproduksjon. Chymosin er et løpeenzym som spalter glykomakropeptid (GMP) fra kaseinmicellers overflate ved koagulering (Walstra et al., 2006, Neelima et al., 2013). God forståelse av myse er viktig for god meieriøkonomi. Denne oppgaven omhandler bruk av protein fra myse som ingrediens. Myseingredienser kan nyttes i meieriprodukt eller selges til industri som bakeri eller kjøttvareproduksjon. Meieriindustri produserer og selger i dag store mengder ostemyseingredienser. Dette gir inntjening og mindre svinn. Mysepulver egnes til skreddersøm for utvikling av funksjonelle ingredienser og har fordelaktige egenskaper som god næringsverdi, Generally Regarded As Safe (GRAS) status og god helseprofil (Bryant and McClements, 1998, Vardhanabhuti et al., 2001, Havea et al., 2009).

I rå melk har melkeproteiner nativ form. Dette betyr at formen ikke har blitt endret etter melking. Nativ form tapes ved denaturering, som er et resultat av fysisk eller kjemisk endring av proteinstruktur, vanligvis ved varmebehandling eller senkning av pH. Tradisjonelt har myse vært et biprodukt ved industriell osteproduksjon hvor det ofte nyttes varierende grad av varmebehandling og syrning. Med moderne teknologi kan man med fordel skille myse og kasein med filtreringsprosesser uten å bruke melkebakterier, syre eller enzymer. Filtreringsprosessen krever ikke høy varmebehandling av melken før filtrering og etterlater nativt myseprotein nesten fritt for bakterier og sporer. Retentatet er meget godt egnet for osteproduksjon (Heino et al., 2007, Heino, 2009). Når man skiller ut mysen ved mikrofiltrering kaller man i Norge mysen for nativ myse, ideell myse eller jomfrumyse. Ved økt implementering av filtreringsteknologi ved osteproduserende meierier vil det kunne bli økt tilgjengelighet av jomfrumyse. Dette gjør native myseingredienser til et interessant satsningsområde for TINE SA. Native myseingredienser er dyrere å produsere, men har gode geldannelsesegenskaper. Mer forskning trengs for å avdekke fordeler ved nativt mysepulver.

2.2 Problemstilling

Tema og problemstillingen for oppgaven er:

Undersøk myseingredienser via analyser av myseingrediensene før og etter varmeindusert aggregering.

1. Benytt kjemiske, reologiske og fysiske metoder for å påvise signifikante forskjeller mellom myseingredienser produsert på tre ulike måter
2. Sammenlign tre mysepulver:
 - a. Kommersielt spraytørket WPC-80
 - b. Frysetørket ostemysekonsentrat
 - c. Frysetørket nativt jomfrumysekonsentrat
3. Relater forskjeller mellom myseingrediensenes egenskaper til forsøksfaktorer

Problemstillingen ble utviklet med innspill fra veiledere og er inspirert av tidligere arbeid gjort av doktorgradsstipendiat Sigrid Svanborg.

3 Litteraturoversikt og teori

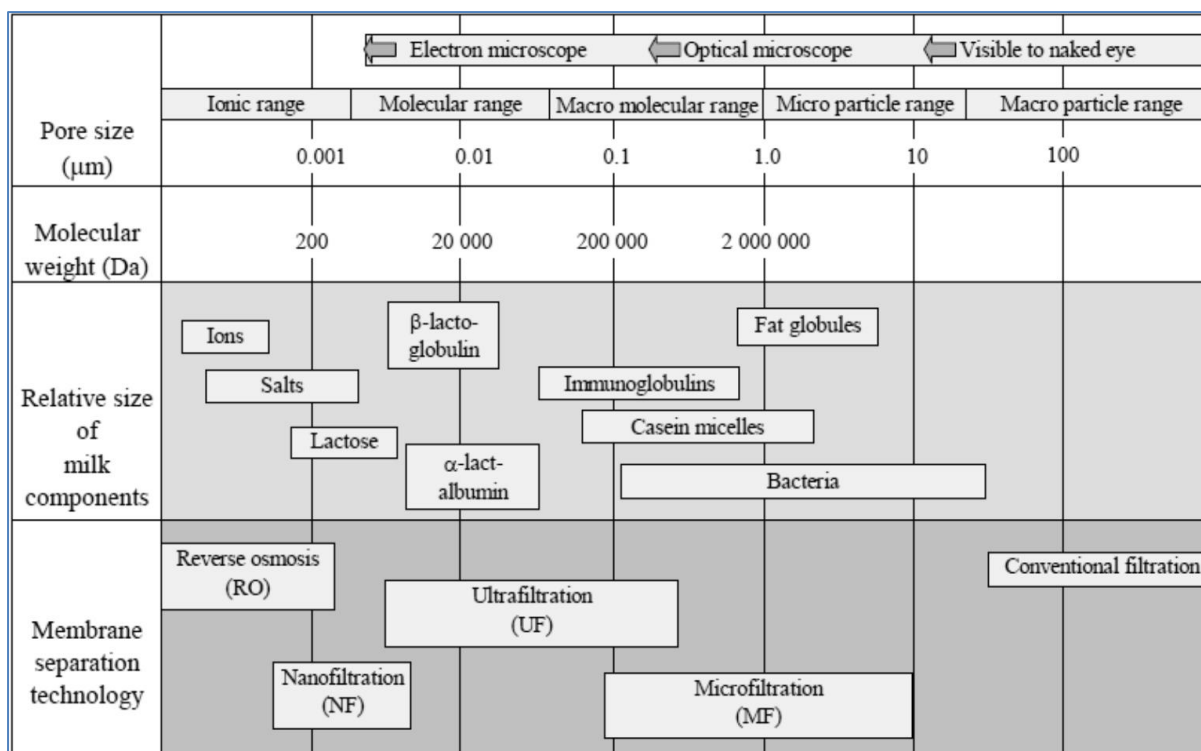
I dette kapitlet presenteres teoretisk bakgrunn fra fagbøker og vitenskapelige artikler som er relatert til oppgavens problemstilling. Teoribakgrunnen beskriver myseingrediensenes egenskaper, og forskjeller mellom disse egenskapene i ulike myseingredienser. Kapitlet gir bakgrunn for forståelse av produksjon, varmeindusert aggregering og strukturene som oppstår under aggregering av gel. Varmeindusert aggregering velges som hovedtema fordi ulik proteinsammensetning i myseingredienser gir ulik effekt av varmeindusert aggregering

3.1 Membranfiltrering

Ved osteproduksjon utgjør myse 80-90 % av melkevekten. Myse fra osteproduksjon inneholder 6.0-6.4 % tørrstoff og en stor andel vann (Belitz et al., 2009, Krzeminski et al., 2014). Membranfiltrering brukes for å fjerne vann fra myse og konsentrere tørrstoff hos både ostemysebaserte ingredienser og jomfrumysebaserte ingredienser. Membranfiltreringen har en viktig rolle for å bestemme sammensetning av tørrstoff i råstoffet som senere kan tørkes til pulveringredienser. Membranfiltrering deles i fire ulike typer filtrering: Revers osmose, nanofiltrering, ultrafiltrering og mikrofiltrering. I denne oppgaven fokuseres det på ultrafiltrering og mikrofiltrering som nytter porestørrelser som er egnet til å begrense gjennomstrømming av melkeproteiner. Gjennomsnittlig porestørrelse er henholdsvis 0.001-0.1 μm for ultrafiltrering og 0.02-10 μm for mikrofiltrering (Walstra et al., 2006, Fellows, 2009, Heino, 2009).

Semipermeabel membran medfører at komponenter av en gitt størrelse er store nok til å vandre gjennom membranen til den delen av væskestrømmen som kalles permeat. Andre partikler er for store for gjennomstrømming og skilles til en separat væskestrøm som kalles retentat eller konsentrat. Gjennomstrømming er også påvirket av partiklens ladning og romlige utforming. Hvilke komponenter som har begrenset gjennomstrømming er indikert i Figur 3.1. Legg merke til at de ulike metodenes separeringsteknologi oppgis i intervall. De to aktuelle filtreringsmetodene bruker ulike enheter for hvilke komponenter som trekkes gjennom membranene. Molekylvekt «cutoff» i Dalton (Da) for ultrafiltrering og porestørrelse i mikrometer (μm) for mikrofiltrering (Walstra et al., 2006, Fellows, 2009, Heino, 2009).

Til tross for definert porestørrelse vil mindre partikler kunne holdes tilbake og større partikler vandrer gjennom membran. Gjennomstrømming og tilbakeholding i membran er en kompleks prosess som påvirkes av membranens material og utforming. I tillegg påvirkes gjennomstrømming av polarisering og fouling i membranoverflate.



Figur 3.1 illustrasjon av fire ulike typer membranfiltrering, fra venstre til høyre: Revers osmose, nanofiltrering, ultrafiltrering og mikrofiltrering. Størrelsesorden for porestørrelser måles i diameter µm, og sammenlignes med molekylvekt i enheten Dalton (Da) i illustrasjonen (Heino, 2009)

Figur 3.1 viser at porestørrelse for ultrafiltrering og mikrofiltrering er et vidt område som overlapper. Fettglobuler og ulike melkeproteiners størrelser er vist i figuren og indikerer begrensning av ulike størrelser ved bruk av ulike semipermeable membraner.

Prosessforhold som trykk, pH, temperatur og flythastighet kontrolleres for å redusere polarisering og fouling som gir dårligere gjennomstrømming. Fouling er en kompleks prosess og membranfiltrering krever god innsikt i hvilke prosessparametre og membraner som er egnet for ulike væsker (Brans et al., 2004). De ulike membranfiltreringsmetodenes porestørrelse fordrer ulikt trykk og trykkforskjell ved prosessering. Mindre porestørrelse krever høyere trykk eksempelvis 345-1380 kPa for ultrafiltrering og 20-345 kPa for mikrofiltrering (Fellows, 2009). Diafiltrering er en metode som nyttes for å øke konsentrering av retentat i mikrofiltrering eller ultrafiltrering. Retentatet fra filtrering tilsettes vann og filtreres om igjen, gjerne i flere sykluser. For myse gir dette redusert innhold av permeatkomponenter som mineraler og laktose, men økt andel av protein i retentatet. Prosessen styres ved å kontrollere sammensetningen i retentatet med hensyn til tørrstoff eller proteininnhold. Denne prosessen er viktig for bestemmelse av sammensetning i tørrstoff (Walstra et al., 2006, Fellows, 2009, Heino, 2009).

I dette studiet er det relevant med membranfiltrering for å produsere jomfrumyse. Ved å nytte mikrofiltrering med 0.05-0.2 μm diameter porestørrelse, lavt trykk og moderat temperatur (0.1-1.0 bar, 50-55 °C) (Heino, 2009) kan man skille melk i to ulike fraksjoner: Et kaseinrikt retentat og et permeat som har et høyt innhold native myseproteiner (Brans et al., 2004, Heino, 2009, Svanborg et al., 2014). Skummetmelk nyttes vanligvis for produksjon av jomfrumyse fordi store fettglobuler fra helmelk kan tette membranporer under filtrering. Fettglobuler i melk er store, gjennomsnittlig 3.4 μm diameter i helmelk. Jomfrumyse av fra mikrofiltrering har et lavere innhold av melkesyre, og har derfor ofte en høyere pH verdi sammenlignet med ostemyse (Walstra et al., 2006, Heino, 2009).

Retentatet fra denne typen mikrofiltrering er rikt på micellært kasein som med fordel kan nyttes i osteproduksjon (Heino et al., 2007, Svanborg et al., 2014). Jomfrumysen inneholder ikke glykomakropeptid (GMP) og har et lavt innhold av kasein og lipider. Fettglobuler skilles fra til retentat. Siden jomfrumyse kommer fra melk, og ikke fra osteproduksjon, inneholder jomfrumysen heller ikke rester av tilsatt salt, syrekultur eller forurensinger fra ystekar. Endelig sammensetning i tørrstoff bestemmes ved ultrafiltrering av permeatet fra mikrofiltrering. Denne konsentreringen er nødvendig fordi vanninnhold er høyt i mikrofiltrerings-retentatet. Nativt myseprotein konsentreres i retentatet ved ultrafiltreringen. Ved å bestemme porestørrelse eller cutoff i de to filtreringsprosessene, og ved å filtrere retentatet i flere steg med eller uten diafiltrering, er det mulig å skreddersy sammensetning i retentat med hensyn til innhold av protein, mineraler og laktose i tørrstoff (Fellows, 2009, Heino, 2009).

3.2 Viktige bestanddeler i myseingredienser

De viktigste klassene av myseingredienser er pulveringredienser som Whey Protein Concentrate (WPC) og Whey Protein Isolate (WPI) som inneholder henholdsvis 25-80 % protein for WPC og ≥ 90 % protein for WPI (Foegeding et al., 2002). Myseingredienser varierer i stor grad i kjemisk sammensetning innad i de ulike klassifiseringene (de la Fuente et al., 2002, Foegeding et al., 2002, Walstra et al., 2006).

3.2.1 Melkeproteiner

Melkeprotein er den mest interessante komponenten i myseingredienser med hensyn til geldannelse og funksjonalitet. Melkeproteiner deles inn i to grupper. Kasein utgjør ca. 78.3 g/100 g og myseprotein ca. 19 g/100 g melkeprotein (Walstra et al., 2006). Melken inneholder også omtrent 5 % ikke-protein nitrogenholdige komponenter som eksempelvis urea.

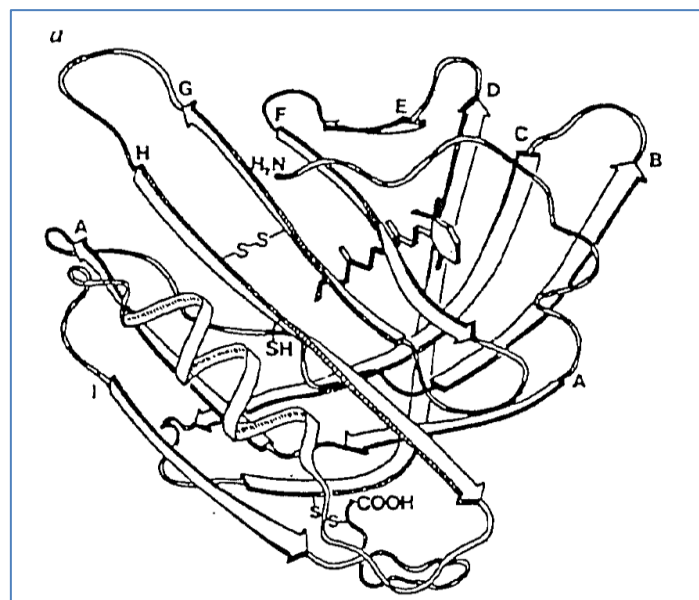
Myseprotein er definert som melkeprotein som er løselig ved pH 4.6. Kasein har isoelektrisk punkt ved pH 4.6 og er enkle å skille fra vann og myseprotein ved denne pH-verdien. I motsetning til kasein er myseprotein løselig også ved sitt isoelektriske punkt (pI) (Damodaran and Paraf, 1997). Innhold av kaseinprotein i myseingredienser vil variere (Brans et al., 2004). Selv om storparten av kasein vanligvis skilles fra myse, er det fremdeles noe igjen i myseråstoffet som vil kunne følge prosessen gjennom konsentrering og utgjøre en betydelig del av et konsentrat (Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Brans et al., 2004).

Myseproteiner er globulære molekyler med høy grad av hydrofobe grupper som gir en sammenfoldet struktur i løsning. Myseproteinene er varmesensitive og funksjonelle egenskaper tapes ved denaturering av proteinene (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012, Dissanayake et al., 2013b). Myseproteinene deles inn i grupper: β -laktoglobulin (9.8 g/ 100 g protein), α -laktalbumin (3.7 g/ 100 g protein), serum albumin (1.2 g/ 100 g protein) proteose-pepton (2.4 g/ 100 g protein) og immunoglobuliner (2.4 g/ 100 g protein) (Walstra et al., 2006). Jomfrumyse inneholder en mindre andel serum albumin og immunoglobuliner samt en høyere andel av β -laktoglobulin og α -laktalbumin på grunn av ulik permeabilitetsgrad ved filtrering (Heino et al., 2007, Heino, 2009). α -laktalbumin og serum albumin er myseproteiner som påvirker geldannelses-funksjonaliteten til myseingredienser men innholdet av disse proteinene er lavt relativt til innhold av β -laktoglobulin (van Vliet et al., 2004). Myseproteiner denatureres ved ulike minimumstemperaturer eksempelvis ved 62 °C for α -laktalbumin og ved 64 °C for serum albumin (Bryant and McClements, 1998, Belitz et al., 2009, Havea et al., 2009). I denne oppgaven fokuseres det på denaturering av myseproteinet β -laktoglobulin. Grunnen til dette er at β -laktoglobulin har en dominerende rolle ved varmeindusert aggregering av gel, som er godt beskrevet i litteraturen (Havea et al., 2009). Dersom myse kommer fra produksjon med chymosin inneholder den protein i form av glykomakropeptid (GMP) som opprinnelig er en kaseinkomponent, men som ofte omtales som del av myseproteingruppen (Walstra et al., 2006, Neelima et al., 2013)

3.2.2 β -laktoglobulin

β -laktoglobulin utgjør >50 % av myseproteinet og har vist seg å ha en dominerende rolle for funksjonelle egenskaper i myseprotein, spesielt ved økt innhold av nativ β -laktoglobulin etter mikrofiltrering (van Vliet et al., 2004, Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012, Dissanayake et al., 2013a, Dissanayake et al., 2013b). Heino et al (2007) målte mengder β -

laktoglobulin i myseingredienser. Artikkelen angir 562 mg/g protein for frysetørket jomfrumysekonsentrat, 422 og 405 mg/g protein for henholdsvis frysetørket og spraytørket jomfrumysekonsentrat. Altså noe høyere for frysetørket pulver og høyere for jomfrumysekonsentrat. Proteinet forekommer i genetiske varianter A-G. Disse variantene polymeriserer på noe ulik måte (Belitz et al., 2009). Variantene omtales ikke nærmere her fordi forskjellene mellom genetiske varianter ikke er grunnleggende for forståelse av protein-protein interaksjon mellom myseproteiner. Monomert β -laktoglobulin har en 18.3 kDa størrelse. Det inneholder 162 aminosyrer, hvorav 5 svovelholdige cystein (-CH₂SH) aminosyrer. Cystein har en SH-gruppe i sidekjeden. SH-grupper av denne typen kalles thiolgrupper (Fox and McSweeney, 1998, Walstra et al., 2006, Belitz et al., 2009). Figur 3.2 viser tertiær struktur hos nativ β -laktoglobulin med thiolgrupper og disulfidbindinger.



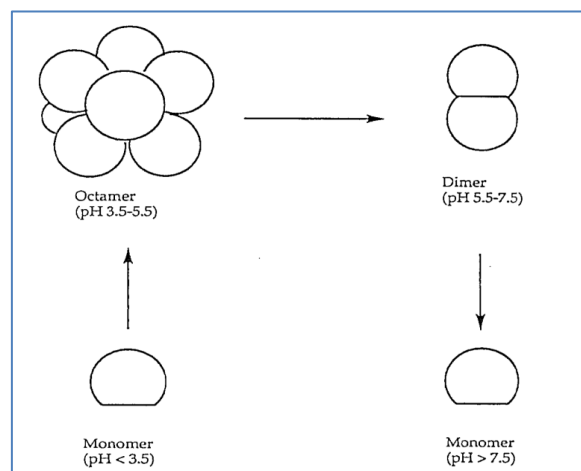
Figur 3.2 Nativ tertiær struktur hos β -laktoglobulin. Legg merke til disulfidbindinger (S-S) og fri thiolgruppe (-SH) (Fox and McSweeney, 1998)

Ved eksponering og oksidering av SH-gruppen i to sidekjedene kan to thiolgrupper oksideres og bindes til hverandre med en kovalent disulfidbinding (Vardhanabhuti et al., 2001, Dissanayake et al., 2013b). Denne reaksjonen krever et minimum av energi for å bryte bindingen og tid samt mobilitet for re-kombinering av bindinger. I nativ β -laktoglobulin vil fire av cystein-aminosyrene være bundet til hverandre i to intramolekulære disulfidbindinger mellom thiolgrupper (Figur 3.2). Den femte gruppen er en fri thiolgruppe i sidegruppen til aminosyre 121 (Fox and McSweeney, 1998, Surroca et al., 2002, Belitz et al., 2009, de Wit, 2009, Dissanayake et al., 2013b).

I denne oppgaven nyttes jomfrumysekonsentrat med nativt myseprotein. Det er forventet at innholdet av nativ β -laktoglobulin i jomfrumysen er høyt. Nativ tertiær struktur for β -laktoglobulin medfører at den frie thiolgruppen er foldet til innsiden av molekylet ved pH 6-7 (Figur 3.2), noe som gjør den lite reaktiv. Denne reaktive gruppens posisjon endres ved endring av temperatur, ionestyrke eller pH i løsning. I tillegg til to kryssbindinger mellom cystein-aminosyrer holdes tertiær og kvarternær struktur hos β -laktoglobulin sammen av hydrogenbindinger, hydrofob- og elektrostatiske interaksjoner. For myseproteiner generelt er struktur ofte preget av intramolekylær hydrofob interaksjon (van Vliet et al., 2004, de Wit, 2009, Dissanayake et al., 2013b). Ved varmeindusert denaturering av β -laktoglobulin brytes indre strukturgivende bindinger. Nativ tertiær struktur foldes ut og eksponerer reaktive thiolgrupper og hydrofobe områder. Denaturering og aggregering av sterke bindinger er irreversibel, og nativ struktur tapes. Dette fører til lavere reaktivitet ved øvrig oppvarming (Damodaran and Paraf, 1997, van Vliet et al., 2004, Walstra et al., 2006, Belitz et al., 2009).

Ved denaturering av β -laktoglobulin er den femte thiolgruppen viktig fordi reaktive grupper eksponeres i uparede antall som kan danne polymerkjeder. Små proteinstrukturer med høyt innhold av cystein som β -laktoglobulin er assosiert med høyere aggregeringsrate på grunn av høyt antall reaktive grupper i små molekyler (van Vliet et al., 2004). Ved denaturering og avkjøling etablerer β -laktoglobulin nye kovalente disulfidbindinger enten intra- eller intermolekylært avhengig av aggregeringsforhold. Intermolekylære bindinger er nødvendig for dannelse av et nettverk som kan danne gel. Thiolgruppene kan bindes til andre β -laktoglobulin-molekyler eller eksempelvis til kaseinmolekyler som også har thiolgrupper. For å danne sterke geler er det viktig at mer enn en thiolgruppe per molekyl eksponeres og danner intermolekylære disulfidbindinger. Samtidig er det viktig at strukturen stabiliseres av svakere intermolekylære interaksjoner (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2013b). En fordel for jomfrumyse over spraytørket ostemyse er at jomfrumyse har et høyt innhold av nativt protein som danner intermolekylære bindinger i kontinuerlig nettverk. Nativt β -laktoglobulin gir et høyere potensiale for lange kjeder av polymert protein som bindes sammen i kryssbindinger mellom uparede antall thiolgrupper under aggregering (Damodaran and Paraf, 1997, Surroca et al., 2002, Walstra et al., 2006, Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012, Wijayanti et al., 2013). Ved denaturering og nedkjøling ved riktig pH og ionestyrke danner β -laktoglobulin løselige polymerkjeder med høy molekylvekt (Vardhanabhuti et al., 2001).

Andre myseproteiner danner ikke samme polymerstruktur og har derfor ikke samme funksjonelle egenskaper. Ved et høyt antall kovalente bindinger mellom polymerer dannes det en gummiaktig gel som har høy skjærspenning ved brudd (Riou et al., 2011). Myseprotein er oftest dominert av svake bindinger og β -laktoglobulin kan også danne gel uten disulfidbindinger. Dette forekommer når varmebehandlingstemperatur ikke er tilstrekkelig høy til å denaturere kovalente bindinger. Den resulterende gelen er svak og dominert av hydrofob interaksjon og hydrogenbindinger (Vardhanabhuti et al., 2001, Surroca et al., 2002, de Wit, 2009, Havea et al., 2009, Wijayanti et al., 2013).



Figur 3.3 viser monomer, dimer og octamer former for β -laktoglobulin ved ulike pH-verdier. Nedre høyre hjørne viser pH > 7.5 og nedre venstre hjørne viser pH < 3.5 (Fox and McSweeney, 1998)

Tertiær og kvarternær struktur hos β -laktoglobulin forandres når pH og temperatur endres i løsning. β -laktoglobulin har en pH-avhengig oligomerisering (Belitz et al., 2009). Ved pH over isoelektriske punkt for β -laktoglobulin, pH 5.2 for variant B, (Walstra et al., 2006) vil proteinet forekomme som dimer (Figur 3.3). Dimer medfører at to molekyler bindes sammen av hydrofob interaksjon. Når pH senkes under dets isoelektriske punkt forekommer β -laktoglobulin også som en octamer form. Disse formene er mindre reaktive enn monomer form (Surroca et al., 2002, Walstra et al., 2006, de Wit, 2009, Erabit et al., 2013, Wijayanti et al., 2013). Løsningens pH påvirker protein-protein interaksjon ved å endre oligomerisering men også ved å endre molekylene overflateladning og elektrostatisk interaksjon. Temperatur påvirker også oligomerisering. Denatureringsprosessen forløpes av at dimer form skilles i to mer reaktive monomerer ved 65-70 °C. Dette eksponerer et hydrofob område og området for den frie thiolgruppen som blir mer eksponert ved økt temperatur. Dette er assosiert med rask aggregering (Damodaran and Paraf, 1997, Fox and McSweeney, 1998, Walstra et al., 2006, Belitz et al., 2009).

3.2.3 Glykomakropeptid (GMP)

Glykomakropeptid (GMP) utgjør opprinnelig C-terminal ende av κ -kasein (Aminosyrer 106-169) (Neelima et al., 2013) som spaltes av fra kaseinmicellenes overflate av chymosin. GMP kan utgjøre 15-25 % av total protein i ostemyse (Heino et al., 2007) og 20-25 % av total protein i ostemysebasert WPC (Neelima et al., 2013). Nativ jomfrumyse inneholder ikke denne komponenten fordi κ -kasein ikke blir spaltet før kasein skilles fra myseproteiner (Kulozik et al., 2003, Heino et al., 2007, Belitz et al., 2009, Heino, 2009, Neelima et al., 2013). Heino et al (2007) målte 146 og 171 mg/g protein for glykomakropeptid (GMP) i henholdsvis frysetørket og spraytørket ostemysekonsentrat. GMP deles i glykosylert og ikke-glykosylert type: gGMP og aGMP. Glykosylert gGMP har en karbohydratgruppe bundet til en av sine threoninaminosyrer. Karbohydratgruppene har en eller to negative ladninger ved pH 7 og dette medfører at de er polare og hydrofile. På grunn av ulik glykosylering har glykomakropeptid flere ulike isoelektriske punkt ved pH \sim 4.0 (Neelima et al., 2013). Når pH senkes under 6.5 reduseres avstøting og molekylet blir dominert av hydrofobe grupper som kan danne svak gel ved hydrofob interaksjon (Neelima et al., 2013). GMP har et vidt pH-område for løselighet og er assosiert med endring i funksjonelle egenskaper som emulgering, skumming og geldannelse (Walstra et al., 2006, Neelima et al., 2013). GMP har stort hydrodynamisk volum og deltar i funksjonelt proteinnettverk via svake interaksjoner som hydrostatisk interaksjon og eventuelt elektrostatiske interaksjoner dersom pH senkes til under pH 4.5 (Neelima et al., 2013). GMP kan ikke danne kovalente bindinger og er assosiert med aggregatdannelse og redusert antall disulfidbindinger under geldannelse (van Vliet et al., 2004, Belitz et al., 2009, Havea et al., 2009, Neelima et al., 2013).

3.2.4 Melkemineraler og ionestyrke

Usyrnet myse inneholder 0.66 % mineralsalter. Dette er noe lavere relativt til skummetmelk som inneholder 0.88 % mineralsalter. Mineralene inngår i dynamisk likevekt mellom løselig og uløselig form og innhold av melkemineraler og ioner i myseproteiner er et komplekst tema (Walstra et al., 2006, Huppertz, 2014). Kalium, natrium, magnesium, kalsium og fosfat er mineraler som er assosiert med kaseinmiceller som kolloid kalsiumfosfat. Under ysting kan disse mineralene løses fra kaseinmiceller til myse avhengig av pH og temperatur i likevekten (Walstra et al., 2006). Dette forekommer ikke ved produksjon av jomfrumyse hvor mineraler er assosiert med miceller som kolloidalt kalsiumfosfat ved mikrofiltrering. Dette fører til reduksjon av mineralinnhold i jomfrumyse fordi miceller skilles til retentat. Kolloid kalsiumfosfat i kaseinmiceller utgjør \sim 7 g / 100 g kasein (Walstra et al., 2006). For

myseingredienser uten mikrofiltrering, vil mineraler som er assosiert med lipider eller proteiner konsentreres i retentatet, eksempelvis ved ultrafiltrering av ostemyse (Bryant and McClements, 1998, Walstra et al., 2006, Heino, 2009, Riou et al., 2011).

Innhold av melkemineraler, og ionestyrke i løsning er assosiert med modulering av protein-protein interaksjon og protein-vann interaksjon. Protein-vann interaksjon er viktig for proteinenes løselighet (Walstra et al., 2006). Ved filtrering og varmebehandling er det viktig å forstå løseligheten til proteiner. Dette fordi redusert løselighet kan føre til utfelling og tap av mineraler og proteiner. Proteinenes løselighet er avhengig av molekylens overflateladning ved aktuelle pH og hvor mange hydrogenbindinger proteinene kan danne (Bryant and McClements, 1998, Brans et al., 2004, Walstra et al., 2006). Ionestyrke og mineral-sammensetning i løsning påvirker proteinmolekylens overflateegenskaper blant annet ved å endre balansen mellom positive og negative ladninger i aminosyrenes sidekjeder. Elektrostatisk interaksjon mellom ladede grupper kan gi både avstøting og tiltrekking, og innhold av ioner vil kunne ha en skjermende effekt på disse interaksjonene. Viktigste for varmeindusert aggregering er kalsiumioners funksjon i ionebindinger mellom melkeproteiner (Brans et al., 2004, Walstra et al., 2006). Kalsium er et toverdige ion som er viktig i divalente ionebindingene vi kaller kalsiumbroer. Natrium er et enverdige ion som vil konkurrere for den samme gruppen som gjør disse divalente ionebindingene mulige. Høyt innhold av natrium er derfor assosiert med færre ioniske protein-protein bindinger. Lav ionestyrke dominert av divalente ioner som kalsiumioner er assosiert med gode forhold for aggregering av mysegel. Et lavt innhold av kalsium gir en positiv effekt på bruddstyrke hos gel (Vardhanabhuti et al., 2001), eksempelvis ved 4.0 mM CaCl_2 (Riou et al., 2011). Ju et al. (1999) beskriver en økning av hardhet og adhesjon i gel ved økning av kalsiumkonsentrasjon fra 10-40 mM (Ju et al., 1999). Økt bevegelse i løsning vil føre til at protein-kalsium kontakt øker, og dette gjør effekten av økt ionestyrke større ved varmebehandling under bevegelse (Bryant and McClements, 1998, Vardhanabhuti et al., 2001, Heino et al., 2007, Riou et al., 2011, Erabit et al., 2013, Phan-Xuan et al., 2014).

Høy ionestyrke i løsning er assosiert med dannelse og utfelling av proteinaggregater. Ostemyse har et høyt innhold av kalsium, og ved oppvarming av ostemyse vil høy ionestyrke kunne føre til utfelling av proteiner og dannelse av aggregater ($>0.22 \mu\text{m}$). Ved tilsetning av kalsium under bevegelse og oppvarming kan disse aggregatene øke i størrelse opp mot 2000 μm (Riou et al., 2011) eller 6000 μm (Erabit et al., 2013). Erabit et al definerer aggregater

>500 µm som store aggregater. Riou et al.(2011) foreslår at utfelling av proteiner ved høyt kalsiuminnhold kan være et resultat av rask økning av hydrofob protein-protein interaksjon og dannelse av mange kalsiumbroer. Kalsiumioner kan øke effekten av hydrofob interaksjon. Kalsiumioner eliminerer avstøting mellom negative sidegrupper og endrer proteinenes tertiær struktur (Vardhanabhuti et al., 2001, Riou et al., 2011, Erabit et al., 2013, Phan-Xuan et al., 2014)

Phan-Xuan et al. (2014) indikerer kalsiumets skjerming av proteinenes overflateladning som en viktig effekt for økning av aggregeringsrate ved varmeindusert aggregering. Dannelse av store aggregater i gel kan føre til sterk reduksjon av gelenes bruddstyrke. Dette kan være et resultat av at for mange kalsiumbroer fører til en kollaps i strukturen som gir kompakte grupper av ikke-kontinuerlig aggregat omgitt av vannmedium. Dette gir en grov gelstruktur. Høyt innhold av kalsium er assosiert med økt synerese og opasitet som er koblet til grov gelstruktur (Riou et al., 2011). Synerese i gel øker når høy grad av hydrofob interaksjon trekker gelstrukturen sammen, eksempelvis ved oppvarming. Økt innhold av kalsium er assosiert med redusert gummiaktighet på grunn av redusert antall disulfidbindinger (Havea et al., 2009, Riou et al., 2011, Erabit et al., 2013, Phan-Xuan et al., 2014).

3.2.5 Lipider

Myseingredienser inneholder vanligvis et lavt innhold lipider. Det er ønskelig å redusere innhold av polare lipider og spesielt frie fettsyrer fordi polare lipider har en negativ effekt på funksjonelle egenskaper ved å inhibere dannelse av kontinuerlig proteinstrukturer. Mikrofiltrert jomfrumyse inneholder lite lipider, mindre enn i råstoffet som vanligvis er skummetmelk med 0.07 % fett (Walstra et al., 2006, Heino, 2009). Usyrnet ostemyse inneholder kun 0.05 % fett, men dette innholdet blir konsentrert i retentat ved ultrafiltrering. For å redusere fettinnholdet kan mysefløte separeres fra ostemysen før konsentrering (Walstra et al., 2006, Fellows, 2009). Heino et al. (2007) fant at fettinnhold i frysetørket jomfrumyse var 0.04 %, relativt til ~3 % for spraytørket og frysetørket ostemysekonsentrat. Lagring av råstoff uten varmebehandling er assosiert med økt lipase aktivitet i råstoff over tid. Dette kan potensielt føre til økt innhold av små lipidkomponenter som frie fettsyrer i melk/myse før ysting eller filtrering. Små lipidkomponenter kan være små nok til å ende opp i permeat etter mikrofiltrering. Lavpasteurisering (63 °C i 30 minutter) sikrer lav lipaseaktivitet (Walstra et al., 2006). Ved mikrofiltrering av fersk skummetmelk med

porestørrelse ned til 0.1 μm er innhold av lipider lavt i permeat (Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Walstra et al., 2006, Heino, 2009).

3.2.6 Laktose

I likhet med lipider er laktose en viktig del av myseingrediensenes ikke-protein tørrstoff. Ikke-protein tørrstoff er hovedsakelig laktose, fett og mineraler. Skummetmelk inneholder 4.8 % laktose, relativt til 5.0 % i usyrnet myse (Walstra et al., 2006). Lipider eller laktose kan ha en fysisk begrensende effekt på dannelse av kontinuerlig proteinnettverk ved aggregering. Et høyt innhold av laktose og/eller sukrose disakkarider kan også inhibere grad av denaturering og utfolding hos β -laktoglobulin. Videre kan inhibert denatureringen føre til økt dannelse av aggregater (Garrett et al., 1988, Spiegel, 1999). Ved produksjon av pulverprodukter er høyt laktoseinnhold assosiert med utfordringer som hygroskope laktosekrystaller (Fellows, 2009, Thompson et al., 2009). Høyt innhold av ikke-protein tørrstoff i løsning kan hindre proteiner fra å danne et intermolekylært kontinuerlig nettverk ved fysisk begrensning av proteinenes kontakt. Dette kan gi svakere gel eller forhindre gelling totalt (Garrett et al., 1988, Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Spiegel, 1999, Walstra et al., 2006).

3.3 Myseproteiners funksjonelle egenskaper

Myseproteiner har en rekke funksjonelle egenskaper. Myseproteiner vil kunne øke viskositet i løsning uten å danne gel, spesielt dersom proteinene forekommer som polymerer og/eller aggregater (Havea et al., 2009, Purwanti et al., 2011). Hvor mye viskositeten øker, avhenger av faktorer som polymerenes størrelse, romlige form og protein-vann interaksjon. Myseingrediensenes løselighet reduseres ved varmebehandling, og dette er assosiert med redusert funksjonelle egenskaper, men også ved endring til nye funksjonelle egenskaper (Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Walstra et al., 2006, Dissanayake et al., 2013b). Myseproteiner, og spesielt native myseproteiner har god emulgeringsevne og skumdannelsesegenskap. Myseproteiner er i stor grad amfifile fordi flere variasjoner har både hydrofile og hydrofobe grupper i sin struktur. Molekylens egenskap til å endre tertiær konfigurasjon, samt amfifile egenskaper gjør dem til overflateaktive stoffer eller surfaktanter som kan legge seg i fett-vann eller vann-luft overflater i form av en viskoelastisk film. Ved høy denaturering tapes en del av disse overflateaktive egenskapene (Damodaran and Paraf, 1997, van Vliet et al., 2004, Walstra et al., 2006, Dissanayake et al., 2013b, Eissa et al., 2014, Jara et al., 2014).

Proteinfunksjonalitet kan knyttes til spesifikke proteingrupper. Eksempelvis kan β -laktoglobulin assosieres med skumdannelse, geldannelse og binding av lipider. Glykomakropeptid er assosiert med skumming, munnfølelse og emulgering (Heino, 2009).

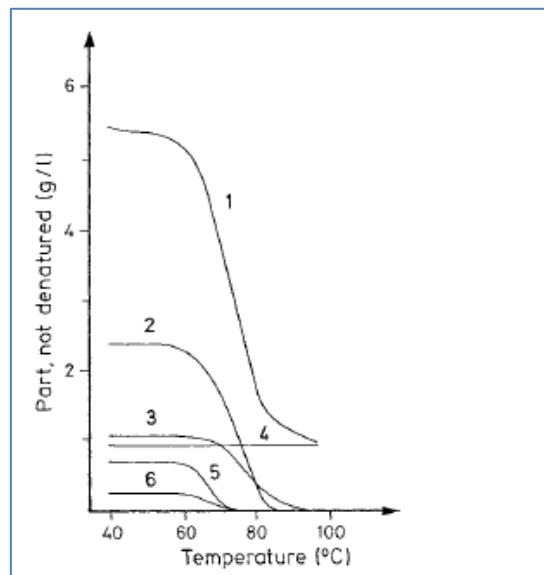
3.3.1 Aggregering av gel

Når man bruker ordet gel i oppgaven menes en løst komponent som danner et sterkt hydrert polymernettverk og som binder en væskemengde. Gel danner en struktur som ikke flyter under sin egen vekt. Aggregering av gel er dannelse av et system av partikler som holder relativ posisjon til hverandre ved hjelp av attraktive krefter (Damodaran and Paraf, 1997). Irreversibel gel dannes når attraktive krefter ikke brytes og tilbakevender til opprinnelig struktur når denatureringsforhold oppstår, etter aggregering (Damodaran and Paraf, 1997, Walstra et al., 2006, Dissanayake et al., 2013b). Aggregering av ikke-kontinuerlig nettverk danner partikler eller aggregater. Aggregater kan ved aggregering av gel først dannes separat, og så integreres i protein-nettverk. Dette er ofte observert i gel av myseprotein. Geler klassifiseres som svake eller sterke. I svake geler er nettverket dominert av svake reversible krefter. I sterke geler inkluderer strukturen økt grad av kovalente bindinger i tillegg til svake ikke-kovalente bindinger (Damodaran and Paraf, 1997, Havea et al., 2009). Myseprotein vil danne svake geler ved pH nærme isoelektrisk punkt. Sterke viskoelastiske geler kan dannes når pH justeres over eller under isoelektrisk punkt ved forhold som er øker antall kovalente intermolekulære bindinger (Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Walstra et al., 2006, Dissanayake et al., 2013b). I tillegg klassifiseres geler som fine og partikulerte geler som nevnes nærmere i kapittel 3.3.3.

3.3.2 Varmeindusert aggregering

Varmeindusert aggregering er avhengig av «total varmebehandling». Total varmebehandling er all varmebehandling produktet har blitt utsatt for under prosessering. Total varmebehandling påvirkes av varmebehandlingstid og varmebehandlingstemperatur fra behandling av råstoff til tørkeprosess (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Walstra et al., 2006, Fellows, 2009). Varmeindusert aggregering er en kompleks prosess hvor protein-protein interaksjon påvirkes av samspill mellom varmebehandling, proteinkonsentrasjon, pH og ionestyrke (Damodaran and Paraf, 1997, Dissanayake et al., 2013a, Dissanayake et al., 2013b). Forholdet mellom faktorer for varmeindusert myseproteingel og gel-funksjonalitet er ikke fullt ut forstått (Vardhanabhuti et al., 2001) og er gjenstand for samtidig forskning (Dissanayake et al., 2012, Dissanayake et al., 2013a, Dissanayake et al., 2013b).

Varmeindusert aggregering av myseprotein-gel forekommer typisk når temperaturen er høy nok i lang nok til å denaturere proteinene og gi vedvarende protein-protein interaksjon (Figur 3.4). Denaturering er første fase, hvor bindinger brytes. Andre fase er re-kombinering av bindinger og interaksjoner som kalles aggregering. Begge disse fasene er nødvendige for varmeindusert geldannelse (Damodaran and Paraf, 1997, Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2013b). Strukturen i gelen er avhengig av balanse mellom attraktive og avstøtende krefter. Disse kreftene er sterkt påvirket av pH (Damodaran and Paraf, 1997, Thompson et al., 2009, Dissanayake et al., 2013b). β -laktoglobulin denatureres ved $\sim 70^\circ\text{C}$ i kumelk, som gir aggregering ved avkjøling (Wijayanti et al., 2013). I følge Walstra vil temperaturen for denaturering av myseproteiner variere i et område over 70°C (Walstra et al., 2006) og i følge de Wit et al.(2009) vil varmebehandling ved høy temperatur i kort tid (HTST) gi nok varme til å denaturere myseproteiner etter 72°C i 15 sekunder. De Wit et al. påpeker videre at denatureringstemperaturen kan heves til $\sim 85^\circ\text{C}$ ved pH-justering til pH 3. Senkning av pH er assosiert med temperaturstabilitet i myseproteiner. Svak gel basert på denaturering og aggregering av hydrofob interaksjon kan forekomme ved lavere temperaturer enn 70°C , avhengig av proteinsammensetning og pH (Damodaran and Paraf, 1997, Walstra et al., 2006, de Wit, 2009, Dissanayake et al., 2013b, Wijayanti et al., 2013).



Figur 3.4 illustrerer denaturering av ulike typer myseprotein ved varmebehandlingstid i 30 minutter ved temperaturer mellom 40 og 100°C . Ulike myseløsninger: 1. Myseprotein totalt, 2. β -laktoglobulin, 3. α -laktalbumin, 4. proteose-pepton, 5. immunoglobulin og 6. serum albumin. Denaturering målt i g/L. (Belitz et al., 2009)

Minimum denatureringstemperatur for ulike myseproteiner påvirkes i stor grad av løsningens pH, med ulik grad av endring og utfolding av molekylens tertiærstruktur. Det er etablert at denaturering krever minimumstemperatur som varierer. Men denatureringsprosesser og

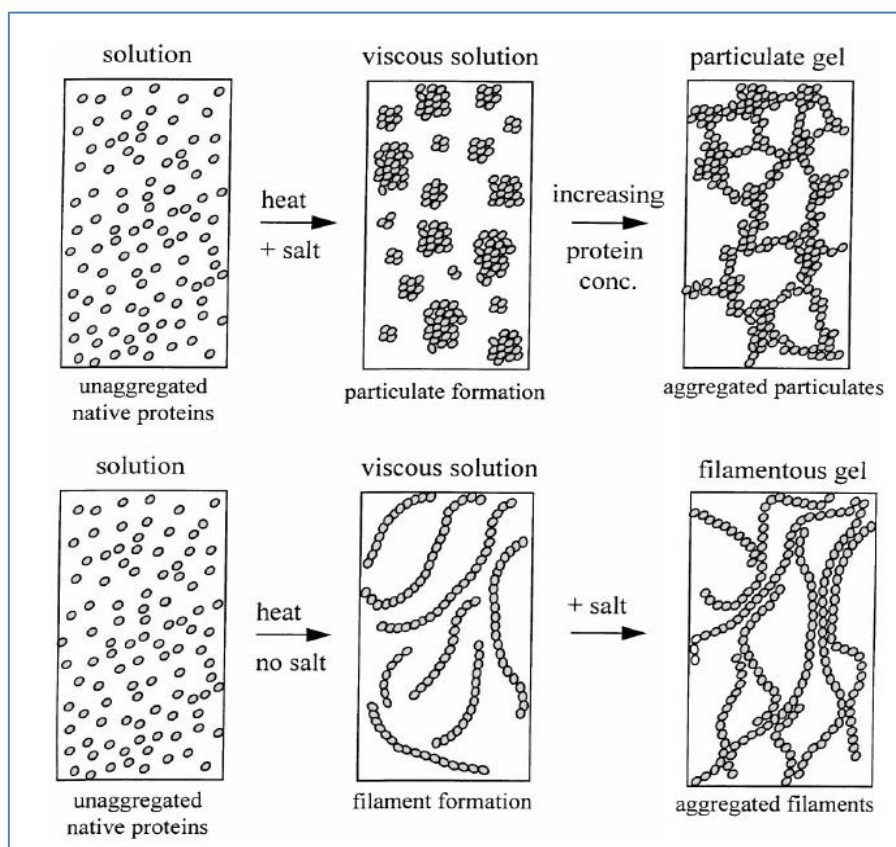
utfolding av proteinstruktur kan også variere med varmebehandlingstid ved aktuelle temperatur. Grad av utfolding øker over tid dersom det er tilstrekkelig energi tilgjengelig for å bryte interaksjoner. Termiske bevegelser ved varmebehandling over tid gir økt sjans for kontakt og dannelse av nye interaksjoner (Damodaran and Paraf, 1997, Walstra et al., 2006, de Wit, 2009, Thompson et al., 2009, Wijayanti et al., 2013). Aggregering mellom proteiner krever kontakt. Agitering, brownske- eller termiske bevegelser kan føre molekylene sammen og dette danner nye aggregerte strukturer dersom interaksjon vedvarer etter kontakt. Avkjøling vil føre til at molekyler i nettverket stabiliserer sin form og etablerer stivhet av bindingene i strukturen. Hos myseproteiner er denne aggregeringsprosessen irreversibel ved temperaturer over 70 °C, når nye disulfidbindinger dannes (Damodaran and Paraf, 1997, de Wit, 2009, Thompson et al., 2009, Dissanayake et al., 2012, Dissanayake et al., 2013b, Erabit et al., 2013, Wijayanti et al., 2013).

I denne oppgaven fokuseres det på varmeindusert aggregering av gel fordi dette er et lavteknologisk konsept som er egnet for å gi fokus på myseingredienser. Forskjellen mellom prosessering av nativt frysetørket jomfrumysepulver og spraytørket ostemysekonsentrat innebærer blant annet at nativt mysepulver utsettes for lite total varmebehandling før bruk som myseingrediens. Spraytørket ostemysekonsentrat derimot utsettes for flere steg med varmebehandling. Varmeindusert aggregering av gel i studiet beskriver hvordan lavt varmebehandlet myseingrediens reagerer på varmeindusert aggregering relativt til mer varmebehandlede ingredienser (Damodaran and Paraf, 1997, Dissanayake et al., 2013b).

Moderne teknologi gir flere fremgangsmåter for aggregering av myseprotein. Felles for alle disse metodene er utfolding av myseproteinenes native tertiærstruktur. Ulike typer varmebehandling kan nyttes for å endre myseingrediensenes utfolding og aggregering. For-aggregerte pulveringredienser kan aggregeres ved manipulering av ionestyrke i løsning. Myseingrediensenes egenskaper kan også endres ved kjemisk eller enzymatisk manipulering av myseproteinene, blant annet ved bruk av ulike hydrolysemetoder for å endre myseproteinenes struktur. Manipulering av pH eller ionestyrke i løsning er en god måte å kontrollere aggregeringsprosessen for å gi ulike geltyper etter aggregering. Metoder som benytter hydrostatisk trykk i behandling av myseproteinene er under utvikling (Vardhanabhuti et al., 2001, Foegeding et al., 2002, van Vliet et al., 2004, Eissa et al., 2014). Disse metodene omtales ikke her fordi det er ønskelig å fokusere på ingredienser, ikke på aggregeringsmetode.

3.3.3 Mikrostruktur

Gelens egenskaper er assosiert med ulik mikrostruktur i gel. Mikrostruktur i gel deles i fine, og partikulerte geler. Fine geler bindes av et nettverk av lengre tynnere strukturer med god bevegelse under oppvarming og mange sammenbindingspunkter etter aggregering. Fin gel har små porer i strukturen og dette gir god vannbindingskapasitet. Partikulert gel dannes av kortere og rigide strukturer. Partikulert gel danner også kontinuerlig nettverk men har ofte større porer og dårligere vannbindingskapasitet enn fine geler. Dårligere vannbinding er assosiert med mindre kapillært bundet vann (Langton and Hermansson, 1992, Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Vardhanabhuti et al., 2001). Ved varmeindusert aggregering av β -laktoglobulin under spesifikke forhold vil det kunne dannes lineære polymerkjeder. Lengden på polymerene er avhengig aggregeringsrate, pH og ionestyrke (Eissa et al., 2014). Hastigheten til aggregeringsprosessen påvirker om strukturen er uorganisert eller organisert (de la Fuente et al., 2002, Dissanayake et al., 2013a). Filament mikrostruktur og fin gel dannes ved organisert, sakte organisering av β -laktoglobulin filamenter (Kulozik et al., 2003, van Vliet et al., 2004, Eissa et al., 2014).



Figur 3.5 illustrerer ulik utvikling av mikrostruktur med ulikt saltinnhold ved varmeindusert aggregering. Øvre sekvens viser varmeindusert aggregering med salter og dannelse av partikulert gel. Nedre sekvens varmeindusert aggregering uten salter med dannelse av filament mikrostruktur (Bryant and McClements, 1998)

For β -laktoglobulin kan man generalisere ulike mikrostrukturer til pH-områder, hvor aggregering i området pH 4-6 gir partikulert gel og pH over og under dette området gir fin gel (Mudgal et al., 2011). En annen karakteristikk for geler er hvorvidt gelen er transparent eller opak. Transparens er her et resultat av en homogen masse med et nettverk av molekyler som er lineært aggregert som «perler på en rad» i tynne polymerkjeder (Bryant and McClements, 1998, Vardhanabhuti et al., 2001). Opake geler er et resultat av at aggregeringen har blitt gjennomført på en slik måte at mikrostrukturen ble dannet i et mindre organisert mønster og med tykkere polymerkjeder (Bryant and McClements, 1998, Vardhanabhuti et al., 2001). Opak gel er ofte et resultat av rask oppvarming til denatureringstemperatur. Opasitet er også assosiert med høyere grad av hydrofob interaksjon (Langton and Hermansson, 1992, Damodaran and Paraf, 1997, Vardhanabhuti et al., 2001, Foegeding et al., 2002, Mudgal et al., 2011). Opasitet kan også observeres i løsninger, hvor opasitet er assosiert med større partikkelstørrelse (Dissanayake et al., 2013a, Dissanayake et al., 2013b). Ved oppvarming vil antall svake hydrogenbindinger avta. Samtidig vil grad av hydrofob interaksjon øke. Dersom hydrofob interaksjon øker raskt kan denne prosessen føre til at hydrofobe komponenter trekkes sammen i aggregater som gir opak gel (Damodaran and Paraf, 1997, Bryant and McClements, 1998, Vardhanabhuti et al., 2001, Dissanayake et al., 2013a, Eissa et al., 2014).

3.3.4 Proteinaggregater

Aggregater hos myseprotein forekommer i større grad ved oppvarming av myseproteiner i bevegelse. Høy varmebehandling under agitasjon eller høy termisk bevegelse forekommer eksempelvis ved pasteurisering av myse i varmeveksler. Reaktiviteten til myseproteiner er høy tidlig i varmebehandlingsprosessen og derfor kan utfelling forekomme selv ved rask oppvarming (Walstra et al., 2006, Dissanayake et al., 2013a). Størrelsen og tettheten til aggregatene er avhengig av pH, ionestyrke og proteinsammensetning (Dissanayake et al., 2013b, Erabit et al., 2013). Aggregater ved bevegelse danner isolerte molekyllgrupper som ikke bidrar til et kontinuerlig nettverk og som er assosiert med svakere gelstruktur (Foegeding et al., 2002, Kulozik et al., 2003, Purwanti et al., 2011, Dissanayake et al., 2012, Wijayanti et al., 2013). Når man benytter tørre myseingredienser vil myseproteinenes tilstand som aggregat i pulver påvirke aggregering av pulperløsning. Myseingredienser som inneholder aggregater kan bidra til økt innhold av større aggregater i ferdig gel fordi små partikler adhererer til større partikler og senker løseligheten og reaktiviteten for resulterende store partikler (Foegeding et al., 2002, Kulozik et al., 2003, Purwanti et al., 2011, Dissanayake et al., 2013b, Wijayanti et al., 2013, Phan-Xuan et al., 2014).

3.3.5 Protein-protein interaksjon

Hvor mye protein-protein interaksjon som forekommer mellom myseproteiner i løsningsmedium er avhengig av pH. Dersom pH i løsningsmedium er tilnærmet isoelektrisk punkt for en gruppe proteiner, vil ladning i molekylets overflate være nøytral. Dette nøytraliserer avstøting mellom proteiner med likt isoelektrisk punkt (Walstra et al., 2006). Mindre avstøting gjør det enklere for proteiner å støte sammen, og det øker samtidig sjansen for at et sammenstøt resulterer i vedvarende interaksjon. Ved senkning av pH under isoelektrisk punkt vil β -laktoglobulin ha redusert sjanse for interaksjon og dannelse av intermolekulære disulfidbindinger. Eksempelvis vil økt avstøting og lav grad av de-protonerte thiolgrupper redusere dannelse av disulfidbindinger ved pH 3 (Foegeding et al., 2002, Walstra et al., 2006, Eissa et al., 2014).

Økt protein konsentrasjon i løsningsmedium påvirker protein-protein interaksjon ved at distansen mellom proteinmolekyler blir mindre (Dissanayake et al., 2013a). Geling av myseproteinkonsentrat WPC krever minimum proteinkonsentrasjon ved 8 %. Denne minimumsverdien er avhengig av pH (Damodaran and Paraf, 1997). Purwanti et al. beskriver minimum proteinkonsentrasjon for aggregering av myseprotein som 12 % (Purwanti et al., 2011). Dissanayake et al. (2013a) beskriver minimum proteinkonsentrasjon som 10 % ved pH 6. Videre beskriver Dissanayake et al. at 10 % proteinkonsentrasjon ved pH 6 er spesielt gode forhold for denaturering av myseprotein med målt kalorimetrisk «onset» temperatur ved 70.2 °C. Høy konsentrasjon er assosiert med økt aggregering og større aggregater (Foegeding et al., 2002, Walstra et al., 2006, Mudgal et al., 2011, Purwanti et al., 2011, Dissanayake et al., 2013a). Høy proteinkonsentrasjon kan føre til en grovere gel dersom aggregeringen skjer raskere i løsningsmedium på grunn av stor grad av protein-protein interaksjon (Vardhanabhuti et al., 2001, Foegeding et al., 2002, Walstra et al., 2006, Mudgal et al., 2011, Purwanti et al., 2011).

3.3.6 Sammenligning av funksjonalitet

Antti T. Heino (2009) beskriver gel-funksjonalitet hos frysetørket og spraytørket nativ jomfrumyse og ostemyse. Pulver av nativt myseprotein hadde bedre geldannelses-egenskaper enn pulver av ostemyseprotein. Funksjonelle egenskaper i myseproteinpulver er avhengig av prosessering, proteinkilde og proteinkonsentrasjon i løsningsmedium (Heino et al., 2007, Heino, 2009). Heino et al. (2007) sammenlignet i sin artikkel «functional properties of native and cheese whey protein concentrate powders» ulike geler med 10 % protein, behandlet ved 90 °C i 10 minutter. Ostemysebasert WPC og pulver av nativ jomfrumyse ble sammenlignet og resultatene viste at varmeindusert gel med nativt jomfrumysepulver hadde signifikant høyere

gelstyrke ved gelpenetreringstest. Gel av ostemysebasert WPC beskrives som mykere og med mindre vannbindingskapasitet. Heino et al. konkluderer i artikkelen med at høy total varmebehandling for kommersielt spraytørket WPC-pulver kan være årsak til lavere løselighet for spraytørket pulver (Heino et al., 2007) Denne effekten av denaturering på løselighet omtales også i andre litteraturkilder (de Wit, 2009, Dissanayake et al., 2013a).

3.4 Prosessering av mysekonsentrat

En mye brukt metode for produksjon av myseingredienser er konsentrering og spraytørking av ostemyse. Fra råstoff til ostemysekonsentrat utsettes mysen for varierende grad av varmebehandling (Heino et al., 2007, Heino, 2009, Thomson et al., 2009). Varmebehandling, konsentrering, spraytørking og frysetørking beskrives i dette kapitlet.

3.4.1 Varmebehandling og ultrafiltrering av mysekonsentrat

Revers osmose kan brukes for forkonsentrering av myse opp til 25 % tørrstoff men omtales ikke her (Belitz et al., 2009). I denne oppgaven omtales inndamping og ultrafiltrering fordi dette er populære metoder for reduisering av vann i meieribaserte pulveringredienser (Thompson et al., 2009). Før myse kan spraytørkes må store mengder vann fjernes. Dette kan gjennomføres ved ultrafiltrering men ofte suppleres ultrafiltrering med varmebehandlingsteknologi for å fjerne vann på en kosteffektiv måte. Før varmebehandling separeres ofte mysekonsentratet fra mysefløte og fra kaseinpartikler i en sentrifuge. Dette reduserer innhold av kasein og fett i den separerte mysen. Etter separering pumpes væsken til varmebehandling, som kan gjennomføres på flere ulike måter. Ostemyse er ikke steril og kan inneholde patogene mikroorganismer. Derfor krever produksjon av ostemysebaserte myseingredienser lavpasteurisering eller høyere temperaturbehandling.

En mye brukt prosess er inndamping i fallstrømsinndamper med vakuum (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Walstra et al., 2006, Fellows, 2009, Thomson et al., 2009). Denne prosessen nyttes ikke for myseingredienser som er vurdert i denne oppgaven. Men nevnes her fordi denne prosessen er et godt eksempel på en prosess med stor innvirkning på denatureringsgrad. I fallstrømsinndamper vil myse drenere gjennom rør som varmes med hettvann eller kondenseringsvarme. Temperaturen er høy nok til å drepe patogene mikroorganismer. Vakuum i fallstrømsinndamperen sørger for at kokepunktet for vann i konsentratet senkes og dette gir rask avdamping. Dette senker kostnad for å fjerne vann dramatisk. Prosessen har gjerne flere inndampingssteg avhengig av ønsket tørrstoff etter inndamping. Maksimum oppnådd tørrstoff for inndamping av myse er ~64 % tørrstoff.

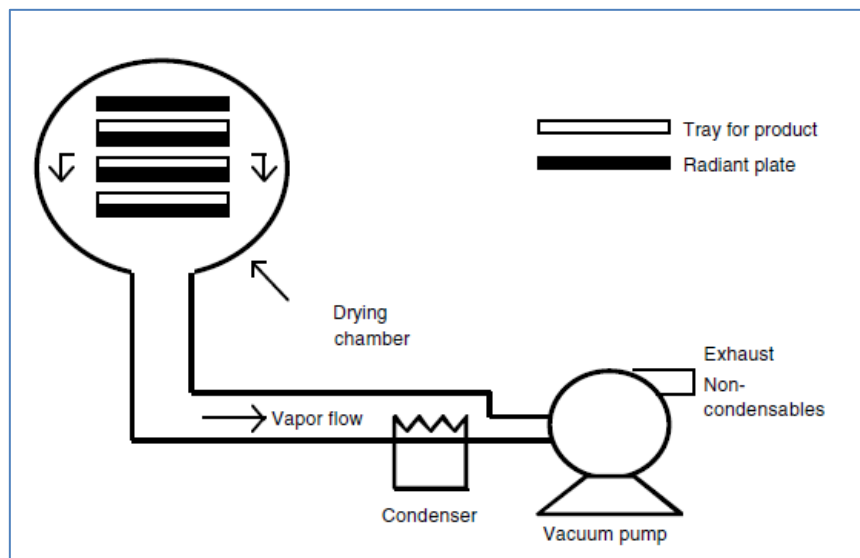
Et alternativ til fallstrømsinndamping er varmevekslingsoppvarming for å gi lavpasteurisering, eksempelvis ved 72 °C i 15 sekunder. Lavpasteurisering er mer sensitiv enn inndamping på grunn av kortere varmebehandlingstid, men gir ikke tap av vann (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Walstra et al., 2006, Fellows, 2009). Vannet fjernes derfor ved hjelp av ultrafiltrering. Som beskrevet tidligere i kapittel 3.3.2 Varmeindustriell aggregering, vil myseproteinene i ostemyse denatureres ved oppvarming >70 °C. Varmebehandlingsprosessene medfører mye bevegelse, og ostemyse har høy ionestyrke. Temperatur under varmebehandling av myse kan variere mellom 50-100 °C. Varmebehandlingstid variere avhengig av utformingen til prosessutstyret, og viskositet i mysekonsentratet. Høyere viskositet fører til lavere flythastighet og større risiko for adherering til overflater. Adherering til overflater kan gi påbrenning av proteiner og utfelling. Temperaturen er ofte tilstrekkelig for å gi Maillard reaksjon og endring i smak, lukt, farge og næringsverdi. Ved å regulere varmebehandlingstemperatur og -tid kan man regulere denatureringsgrad, proteinutfelling, farge, smak, lukt og næringsverdi, og dette gir muligheter for skreddersøm av prosessering av myse for myseingredienser (de la Fuente et al., 2002, Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Walstra et al., 2006, Fellows, 2009).

3.4.2 Forvarming og spraytørking

Før konsentratet pumpes til spraytørking vil det vanligvis bli utsatt for en forvarming i varmeveksler (Thompson et al., 2009). Temperaturen som nyttes i forvarmingen vil variere, og i følge Walstra et al. kan man benytte varmeintensitet mellom lavpasteurisering: Eksempelvis 63 °C i 15 sekunder, til sterilisering: Eksempelvis 130 °C i 30 sekunder. Etter forvarming vil konsentrat pumpes ved høyt trykk opp til tørkekammer. Mysekonsentratet fordeles i små dråper ved hjelp av dyser, eller sentrifugalforstøving. De små dråpene har stor overflate mot den varme luften og tørkes raskt til pulverpartikler med 10-250 µm diameter. Varme overføres til dråper samtidig som differanse i partialtrykk gir massetransport av vanddamp til luft. Hurtigheten til tørkingen er avhengig av dråpe/partikkelstørrelse, differanse i partialtrykk og massetransport av vann i materialet som tørkes (Thompson et al., 2009). Temperaturen i tørkekammeret reguleres for inn- og ut-luft. Inn-luften varmes til eksempelvis 150-300 °C (Fellows, 2009). Temperatur i inn-luft er spesielt tilpasset utforming og størrelse for spraytørken og sammensetning av konsentratet som skal tørkes. Temperatur i ut-luft kan måles ved eksempelvis 90-100 °C som korresponderer med 40-50 °C våtkuletemperatur i partikkel. Så lenge det er fritt vann på partiklens overflate vil temperaturen være våtkuletemperatur. Dette er en lavere temperatur fordi faseovergang vann

til damp gir avkjøling for partikkelen så lenge partikkeloverflaten er våt. Fuktighetsinnholdet i ferdig pulver er vanligvis standardisert ved et nivå som hindrer endring av pulverets karakter under lagring, eksempelvis til 8 % vann (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Walstra et al., 2006, Fellows, 2009, Thompson et al., 2009).

En fordel ved spraytørking over frysetørking er dannelse av små partikler. I tillegg danner prosessen små laktosekrystaller ved stabil krystalliseringsform. Ved alternative tørkeprosesser for myse med høyt laktoseinnhold vil laktose kunne danne hygroskopiske laktosekrystaller av typen α -hydrat. Dersom fuktighet øker til >6 % vil denne typen hygroskopisk laktose danne større partikler og gjør pulveret klissete (Thompson et al., 2009). Dersom partiklene som dannes har en partikkelstørrelse under $50 \mu\text{m}$ diameter omtales pulveret som fint pulver. Fint pulver kan være flyktig (Fellows, 2009).

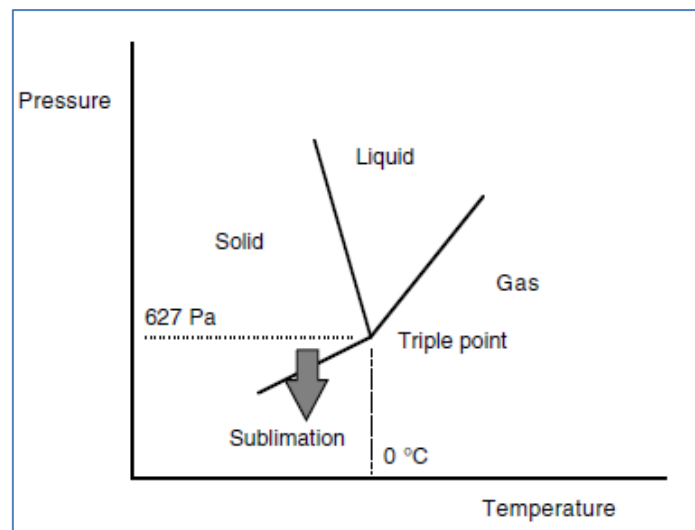


Figur 3.6 Illustrasjon av frysetørke med tørkekammer, kondensator og vakuumpumpe (Barbosa & Canovas 2003)

3.4.3 Frysetørking

Figur 3.6 viser en illustrasjon av en frysetørke med tørkekammer (drying chamber) i øvre kant og vakuumpumpe med kondensator i nedre kant. Produktet i tørkekammeret er frosset på forhånd og har så stor overflate mot luften i tørkekammeret som mulig. Temperaturen senkes under $0.01 \text{ }^\circ\text{C}$ og trykket i frysetørken senkes under 611.73 Pa (Fellows, 2009). Figur 3.7 viser en grafisk fremstilling av sublimering ved ønskede prosessparametre. Disse forholdene induserer sublimering av is i produkt direkte fra fast form til gassform. Vanddamp fra luften i tørkekammeret omdannes til is ved kondensatoren, og dette reduserer vanddampinnhold i tørkekammeret. Is vil da sublimere fra høyt vanddampinnhold i

grensesjiktet is-luft til lavt vandampinnhold i tørkekammer. Partialtrykk i grensesjiktet is-luft vil være høyere enn undertrykk i tørkekammeret og gi trykkgradient. Struktur i tørrstoff endres minimalt, men fjerning av vann fra strukturen vil gi porositet på grunn av mange hulrom. Porositet er assosiert med bedre hydreringsevne og lav densitet i pulver. Frysetørking endrer ikke smak, lukt, farge eller næringsverdi i produktet (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Walstra et al., 2006, Fellows, 2009).



Figur 3.7 Illustrasjon av forhold for sublimering fra frosset fast vannfase til gassfase. Sublimering forekommer ved trykk under 627 Pa og 0 °C (Barbosa & Canovas 2003)

Lav temperatur og mangel på luft gir god stabilitet til produktet under tørking og denne metoden er assosiert med lav denatureringsgrad for proteiner og lite mikrobiologisk aktivitet. Prosessen i tørkekammeret kan gjennomføres med noe tilført energi, men også ved ambient energinivå. Drift av kondensator og vakuumpumpe er energikrevende for storskala frysetørking og dette hever produksjonskost for frysetørkede ingredienser. Frysetørking kan være opp til fem ganger dyrere relativt til inndamping og spraytørking (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Fellows, 2009).

Heino et al. (2007) sammenlignet mysepulver av ostemyse og jomfrumyse som hadde blitt tørket med spraytørking og frysetørking. Artikkelen konkluderer med at tørkemethoden alene ikke viste noen signifikante forskjeller i funksjonelle egenskaper. Denne artikkelen nyttet få parallelle prøver for analyser av seks ulike typer funksjonalitet. Det er mulig at forskjeller mellom myseingredienser produsert med ulike tørkemethoder vil komme bedre frem med flere parallelle prøver og bruk av mer sensitive metoder.

3.5 Reologi

3.5.1 Rheologiske metoder

Reologiske metoder nyttes for å sammenligne funksjonelle egenskaper i ulike mysebaserte geler (Havea et al., 2009). Aggregert gel av myseprotein er et viskoelastisk materiale som har både viskøse og elastiske egenskaper. Viskøse egenskaper er egenskaper som bidrar til motstand mot flyt ved tilførsel av deformeringsenergi. Elastiske egenskaper fører til lagring av deformeringsenergi i strukturen som brukes for å gjenopprette strukturen etter deformering. Elastiske egenskaper måles ofte i størrelsen G' elastisk modulus, også kalt lagringsmodulus. Viskøse egenskaper måles i størrelsen G'' tapsmodulus (Steffe, 1996, Mezger, 1998). Deformering er fysisk endring av form eller størrelse. Det finnes flere typer deformering og i denne oppgaven omtales γ for tøyning (relativ lengdeutvidelse i prosent). Eksempel på ulike typer deformering er kompresjon mellom to overflater (normalkraftdeformering), eller ved at en overflate plasseres mot prøven og dreies (skjærspenning). Skjærspenning (shear stress) er et mål for kraft per enhetsareal som påføres parallelt til overflaten. Skjærspenning kalles tau, τ i denne oppgaven (Steffe, 1996, Mezger, 1998).

Reologiske målinger deles i lavdeformerings- og høydeformeringsmålinger. Et eksempel på en lavdeformeringsmåling er målinger hvor en probe føres mot prøven og oscillerer frem og tilbake med lav deformering av prøvens struktur. Dette vil gi informasjon om prøven med minimal forstyrning av prøvens egenskaper. Slike målinger er godt egnet til å måle viskoelastiske egenskaper i prøver med svak struktur over tid. Et eksempel på en høydeformeringsmåling er oscillerende amplitudesveip hvor tøyning kan øke til strukturen i prøven ødelegges. Slike målinger endrer prøvens egenskaper (Steffe, 1996, Mezger, 1999). Når lavdeformeringsmålinger gir jevne lineære målinger over tid kaller vi gjerne dette Linear ViscoElastic (LVE) range. G' og G'' gir jevne responsverdier i dette området. Oscillerende amplitudesveip er en måling hvor tøyning øker på en forutsigbar måte med konstant frekvens. Denne analysen gir informasjon om skjærspenning, G' og G'' over tid ved ulik grad av tøyning (Steffe, 1996, Mezger, 1999). Ved et gitt nivå vil tøyning nå en terskel hvor G' og G'' vil bli redusert i raskt økende grad. Deformeringen er i større grad ikke-reversibel og gel endrer struktur og vil i større grad flyte. Ved en LVE-range analyse beskrives målepunktet hvor kurven endrer karakter fra lineær utvikling til en utvikling hvor deformering endrer strukturen i prøven raskt. Målepunktet vil da kunne beskrive hvor mye tøyning prøven kan

utsettes for før lineært måleområde ender, og hvilken verdi prøven har for skjærspenning, G' og G'' moduli i målepunktet (Steffe, 1996, Mezger, 1999).

Ved å bestemme LVE-målepunkt for G' , tøyning og skjærspenning får man gitt definerte målepunkter for området hvor prøven svekkes og/eller flyter. Man kan også se på grafiske fremstillinger av utvikling av de ulike egenskapene og sammenligne flere prøver (Steffe, 1996, Mezger, 1999). Det kan være vanskelig å skille mellom høy viskositet og viskoelastisk gel i myseproteinløsninger med høyt tørrstoff. Ved reologisk måling av proteinløsning under oppvarming vil utvikling av G' og G'' vise forskjeller mellom en løsning som danner gel, og en løsning som ikke gjør det. Dette kan man utlede fra stigningstall for G' og G'' og ratio mellom dem under oppvarming. Når temperaturen som kreves for aggregering av mysegel nås, vil begge disse verdiene først øke. Når gelstruktur oppnås vil stigningen bli mindre og mindre og til slutt flate ut. Tilsynelatende geldannelsespunkt for elastisk gel er målepunktet hvor G' når en høyere verdi enn G'' modulus. Ikke-gelerende prøve vil ha en G'' målekurve som ligger høyere enn elastisk modulus G' (Steffe, 1996, Mezger, 1999, Vardhanabhuti et al., 2001, Havea et al., 2009).

3.5.2 Rheologiske metoder i litteratur

Det finnes flere eksempler på artikler som nytter reologiske metoder for å beskrive funksjonelle egenskaper i mysebasert gel. Artikkelen "Functional properties of whey proteins microparticulated at low pH" (Dissanayake et al., 2012) beskriver måling av varmeindusert gelling av løsning med 12 % myseprotein ved pH 7 for ulike typer spraytørket WPC. Artikkelen sammenligner spraytørket nativt- og denaturert mysekonsentrat. Lineært viskoelastisk målområde for gelene ble målt med MCR 301 (Anton Paar) ved oscillerende lavdeformerings-målinger. Aggregeringen ble gjennomført ved oppvarming til 90 °C med varmhoding i 20 minutter. Det native spraytørkede pulveret viste høyere elastisk modulus G' , dette ble relatert til høyere grad av sammenbindingspunkter i viskoelastisk nettverk i gel. Dette forklart ved at nativt spraytørket pulver hadde mer reaktive grupper for intermolekylær interaksjon ved aggregering relativt til pulver med høyere innhold av denaturert protein (Dissanayake et al., 2012).

Havea et al beskriver i artikkelen "Heat-Induced Whey Protein Gels: Protein-Protein Interactions and Functional Properties" sammenhengen mellom reologiske målinger og protein-protein interaksjon. I denne artikkelen nyttes oscillerende måling av lineært viskoelastisk måleområde ved oppvarming til 80 °C med varmhoding i 30 minutter ved pH

~7. Amplitudesveip 1-100 % ble brukt for å måle gelens egenskaper under tøyning. Geler hvor henholdsvis kovalente og ikke-kovalente bindinger var kjemisk inaktivert, ble sammenlignet med kontroll. Alle geler hadde 12.5 % protein og kontrollen var kommersielt spraytørket WPC. Havea et al. (2009) beskriver en balanse av kovalente disulfidbindinger og ikke-kovalente i mysebasert gel. Begge typene protein-protein interaksjon bidrar til elastisk modulus, men gel av WPC er dominert av ikke-kovalente bindinger som gir en svak gel med høy elastisk modulus på grunn av mange svake interaksjoner. Gel hvor ikke-kovalente bindinger er inaktivert er assosiert med redusert bruddstyrke på grunn av mindre protein-protein interaksjon. Den resulterende gelen er dominert av disulfidbindinger som gir økende elastisk modulus fra 70 °C og som er assosiert med motstand mot tøyning. Den resulterende gelen blir gummiaktig og krever mye tøyning før brudd. Høyere grad av kovalente bindinger reduserer mobilitet under aggregering. Gel hvor kovalente bindinger er inaktivert er preget av høy protein-protein interaksjon og økt elastisk modulus fra 63 °C. Denne økningen er et resultat av økt hydrofob interaksjon ved delvis denaturering av myseprotein. Denne effekten øker ved deaktiverte disulfidbindinger fordi struktur ikke blir immobilisert, noe som fører til at mer hydrofob interaksjon kan oppstå. Svake interaksjoner ødelegges ved lav tøyning, og dette resulterer i en skjør og rigid gel som lett brytes (Havea et al., 2009).

Purwanti et al (2011) beskriver i sin artikkel en mulig sammenheng mellom aggregatstørrelse og reologiske målinger: Større aggregater har et mindre overflateareal hvor sterke bindinger ofte er intramolekylære. Dette vil kunne gi et mindre kontaktområde for interaksjon mellom aggregater som er dominert av svake interaksjoner. For reologiske målinger indikerer dette at kraft tilført distribueres til færre intermolekylære bindinger. Dersom dette stemmer vil større aggregater gi svakere gel med hensyn til elastisk modulus (Purwanti et al., 2011).

3.6 Texture Profile Analysis (TPA)

Texture Profile Analysis måler teksturegenskaper i prøve ved at en bevegelig probe gir kompresjon til prøven, vanligvis to ganger. To kompresjoner er fordelaktig dersom man ønsker å måle hvor mye av strukturen som blir irreversibelt destruert ved første kompresjon. En slik analyse kalles two-bite TPA. Den målte størrelsen i disse målingene er kraft mot prøven over tid. Kraft kan måles i Newton (N), gram (g) eller kilo (kg). Tid måles vanligvis i sekunder. Data fra kompresjonene blir fremstilt i et kraft-tid diagram med to topper i kurvene som indikerer første og andre kompresjon. Etter kompresjon vil kraft reduseres ved opprekking av måleproben. Dersom prøven heftes til proben vil kraft bli negativ. Data fra en

Texture Profile Analysis vil bli behandlet av en software macro som analyserer kraft påført i ulike intervall og i toppunkt i kurvene (Pons and Fiszman, 1996, Bourne and Szczesniak, 1998). Seks av av responsene omtales her kort:

Responsverdier for «Resilience» og «Springiness» er responser som beskriver teksturens utvikling over tid etter kompresjon. Disse responsverdiene ble kalkulert men ble ikke tatt med fordi «Resilience» best måles med sakte målehastighet. «Springiness» er avhengig av produkthøyde ved ulike tidspunkt, og dette krever tid for at strukturen skal tilbakevende til sin form. Engelske navn for fire responser ble oversatt til norsk for bedre lesbarhet og forståelse: Hardness; oversatt til hardhet, adhesiveness; oversatt til adhesjon, cohesiveness; oversatt til kohesjon, Gumminess; oversatt til gummiaktighet.

Hardhet: Hardheter maksimum påført kraft i første kompresjon. Denne responsen beskriver hvor mye kraft som påføres prøven for å oppnå ønsket kompresjonsdybde. Denne kraften måles i Newton og kalkuleres automatisk av programmet (Pons and Fiszman, 1996, Bourne and Szczesniak, 1998)

Kohesjon: Kohesjon er en respons uten måleenhet som angir ratio mellom de positive områdene i kompresjon en og to. Kohesjon beskriver på denne måten ødeleggelse av struktur og gir bakgrunn for kalkulering av gummiaktighet (Pons and Fiszman, 1996, Bourne and Szczesniak, 1998).

Adhesjon: Adhesjon er definert som negativ kraft i området under absissen etter første kompresjon. Denne responsen beskriver hvilken kraft som kreves for å trekke probe opp fra prøven. Responsen kalkuleres automatisk og kan oppgis i kraft tid, eksempelvis Newton sekund (N s) (Pons and Fiszman, 1996, Bourne and Szczesniak, 1998).

Gummiaktighet: Gummiaktighet er en respons uten måleenhet som er kalkulert ved å multiplisere responsene hardhet og kohesjon. Gumminess beskriver forholdet mellom disse responsene og er brukt for å beskrive materialer som ikke er væsker, men som heller ikke er faste stoffer, eksempelvis geler (Pons and Fiszman, 1996, Bourne and Szczesniak, 1998).

4 Materialer og metoder

Kapittelet omhandler pulverproduksjon, analyser, forsøksdesign og statistiske metoder.

4.1 Forsøksdesign og navn for mysekonsentrat, -pulver og -løsning

Randomisert komplett blokkdesign med 48 faktorkombinasjoner ble benyttet for analyser av aggregerte geler i rheometer og forkortelser ble brukt for å identifisere faktorkombinasjoner under arbeidet med forsøk og oppgaveskriving

Tre pulver gis navn og kode: Kommersielt WPC-80 kalles Mysekonsentrat Spraytørket forkortet MS. Frysetørket ostemysepulver fra ostemysekonsentrat kalles Mysekonsentrat Frysetørket forkortet MF. Frysetørket jomfrumysepulver fra jomfrumysekonsentrat kalles Nativt Frysetørket forkortet NF. Blokkene i forsøksdesignet var ensbetydende med to batcher av hvert pulver som ble kalt batch 1. og batch 2. Seks ulike pulver kan da beskrives slik: MS 1., MS 2., MF 1., MF 2., NF 1. og NF 2. I rheometermåling ble halvparten av analysene gjennomført med batch 1. og den andre halvparten med batch 2. Sammen utgjør prøvene et komplett sett av faktorkombinasjoner analysert i randomisert rekkefølge. I forsøksdesignet utgjorde proteinkilde primær forsøksfaktor med tre nivåer MS, MF og NF. De fire andre hovedfaktorene er: Batch, proteinkonsentrasjon, varmebehandlingstemperatur og varmebehandlingstid. Forsøksfaktorenes nivåer vises i Tabell 4.1. Bokstavkoder for faktorer nyttes ikke i oppgaven, for bedre leselighet.

Tabell 4.1 Oversikt over faktorer og faktornivåer i forsøksdesignet med opprinnelige bokstavkoder. Forsøksfaktorene og ulike nivåer beskriver forskjeller mellom faktorkombinasjoner i forsøket

Forsøksfaktorer:				
Proteinkilde	Batch	P.konsentrasjon (%)	V.temperatur (°C)	V.tid (Minutter)
A-C	D	E	F	G
MS (WPC-80)	1. / 2.	10 % / 12 %	80 °C / 90 °C	10 min./20 min.
MF (Ostemyse)	1. / 2.	10 % / 12 %	80 °C / 90 °C	10 min./20 min.
NF (Jomfrumyse)	1. / 2.	10 % / 12 %	80 °C / 90 °C	10 min./20 min.

Tabell 4.1 viser at forsøksfaktoren proteinkilde har tre nivåer: MS, MF og NF. Forsøksfaktor D, E, F og G har alle to nivåer som beskrives i tabellen. Et eksempel på en kort beskrivelse for en faktorkombinasjon med 12 % løsning av WPC-80 fra batch 1. varmebehandlet ved 90 °C i 20 minutter er:

- 12 % MS 1. 90 °C i 20 min.

Konsentratene gis også navn på lik måte som for pulver: Ostemysekonsentrat kalles Myse Konsentrat forkortet MK. Nativt jomfrumysekonsentrat kalles Nativt Konsentrat forkortet NK. Navn og koder er ment å gi leseren bedre oversikt ved gjennomlesning av oppgaven.

4.2 Produksjon: Mottak av prøvemateriale og membranfiltrering

Produksjon av prøvemateriale utgjorde en betydelig del av arbeidet med studiet. Kommersielt fremstilt WPC-80 fra Verdal ble levert i to 20 kg sekker som ikke krevde videre bearbeiding. Ostemysekonsentrat ble levert i 25 L kanner fra TINE Verdal 20. januar og 4. mars. Ostemysekonsentratet ble raskt overført til 1 L hvite plastflasker og frosset til -20 °C. Konsentrert myse er et godt medium for bakteriekultur og frysetørking kunne ikke gjennomføres raskt ved mottak av ostemysekonsentrat. Derfor ble det standardisert at alt konsentrat skulle fryses ved -20 °C før videre prosessering. Bulkotester av de mottatte konsentratene ble tatt ut for følgende analyser av konsentrat: Mikrobiologisk kontroll, HPLC, Tørrstoff, pH-analyse og proteinanalyse med Kjeldahls analyse. Mikrobiologisk kontroll bestod av utsåing for total antall aerobe mesofile på PCA ved fortykning 10^{-5} , 10^{-6} og 10^{-7} . Ett ostemysekonsentrat ble avvist på grunn av dårlige resultater på mikrobiologisk kontroll. Ingen resultater er basert på informasjon om dette konsentratet.

4.2.1 Ostemysekonsentrat og mysepulver WPC-80 fra TINE Meieri Verdal

WPC-80 fra TINE Meieri Verdal ble produsert på følgende måte: Myse ble sentrifugert for å fjerne kaseinpartikler og deretter lavpasteurisert ved <72 °C i <15 sekunder. Tiltaksgrensen er satt til 72.3 °C i ≥ 15 sekunder. Etter lavpasteurisering ble mysekonsentratet kjølt ned til <4 °C. Lavpasteurisert myse ble konsentrert videre med diafiltrering og ultrafiltrering til ~30 % tørrstoff og >81.5 % protein i tørrstoff. Retentatet ble kjølt ned til <4 °C sendt til NMBU ved kontinuerlig kjølekjede <4 °C (TINE, 2013b) (Vedlegg 1.).

Kommersielt spraytørket mysepulver blir produsert fra samme type konsentrat. Konsentratet ble forvarmet i 30/60 sekunder (TINE, 2013b) ved 69 °C (Trainee, Ledsaak E., TINE SA, pers med.). Inn-luft temperatur i spraytørken var 185-220 °C (TINE, 2013b) og ut-luft temperatur var ~71.5 °C (Trainee, Ledsaak E., TINE SA, pers med.). Fuktighetsinnholdet i ferdig pulver var standardisert til >95 % tørrstoff. Den siste delen av tørkeprosessen foregikk i fluid bed tørke hvor pulver først ble ettertørket med varm luft, og så temperert i luft ved 30 °C. Resulterende pulver siktes og lagres i store tekstilsekker før omporsjonering til 20 kg sekk som ble sendt til NMBU (TINE, 2013b) (Vedlegg 2.).

4.2.2 Filtreringsprosess for jomfrumyse

For senere å kunne produsere jomfrumysemysepulver ble jomfrumyse skilt fra skummetmelk. Melkeråstoff ble levert fra fjøset ved avdeling for husdyrvitenskap i 900 L tanker med kjøleanlegg. Produksjon av jomfrumysekonsentrat ble utført 27-28. januar og 10-11. februar. Melken ble først varmebehandlet ved 63 °C i 15 sekunder i pasteur (A3-HRB, S.nr. 30100-41281, Alfa Laval, Lund, Sverige, 1994) og deretter separert (Westfalia separator, S.nr. 1710160, GEA, Oelde, Tyskland, 1994). Skummetmelken ble overført til en balansetank. Melken ble mikrofiltrert over en keramisk membran to ganger. Dette gav ~900 L permeat som dag dagen etter ble ultrafiltrert over en spiral wound membran. Retentatet ble tilsatt 50 % vann og diafiltrert i flere omganger til Brixmåling med refraktometer viste 0° Bx i permeat. Dette indikerte at laktose ikke lengre ble skilt ut ved filtrering. Retentatet ble så tappet av og avkjølt over natt i 25 liter plastkanner. Tredje dag ble retentatet overført til 1 L plastflasker og frosset ved -20 °C. Anlegget (Bilde 4.8) som ble brukt for mikrofiltrering var et spesialtilpasset pilotanlegg (UF/MF pilot MCC RV 01118340, APV, Silkeborg, Danmark, 2000) med trykkrør er av typen UF-SW-6.6-S1. Anlegget er spesialtilpasset med en rørvarmeveksler som sørger for kjøling under filtrering som beskrevet i patent 330181 (Hoffmann, 2011). Membranen (Inside Céram, Tami Industries, Frankrike) hadde en porestørrelse på 1.4 µm. Anlegget som ble brukt ved UF filtrering (Bilde 4.8) var et pilotanlegg (UF S-4, S.nr. 32570-0112, Alfa Laval, Silkeborg, Danmark) med membran cutoff på 20 kDa (GR60PP-6338/48, S.nr. DK00145699, Nakskov, Danmark) og et membran trykk ved 2.2 bar og ut-trykk ved 0.9 bar. Ultrafiltrering ble gjennomført ved 50 °C.



Bilde 4.8 Mikrofiltrerings anlegg til venstre med permeattank i forkant, Ultra Filtrerings anlegg til høyre med filtermodul montert liggende (Even Gausemel)



Bilde 4.9 Frossent konsentrat til venstre, alkoholfryser midstilt og vakuumfrysetørke til høyre (Even Gausemel)

4.3 Produksjon: Frysetørking av mysekonsentrat og jomfrumysekonsentrat

Før frysetørking ble frossent konsentrat tint ved 4 °C over natt. Tint konsentrat ble vendt homogent og ~0.2 L ble overført til fem 1000 mL kolber som skallfryses under rotering i en alkoholfryser (S.nr 67108, Haake, Berlin-Steglitz, Tyskland). Skallfrysingen (Bilde 4.9) tok 30-45 minutter, og kolbene forsegles så med parafilm og settes i en -80 °C fryser. For fullstendig nedfrysing lar man kolbene stå ved -80 °C i minimum 20 timer. Kolbene vakuumfrysetørkes ved -80-90 °C med intern trykk under 60 Pa på en frysetørke med egnet stativ (Bilde 4.9) for påkobling av kolber (Heto DryWinner, FD 6-85, S.nr. HE008807, Allerød, Danmark).

Frysetørkeprosessen ble avsluttet når kolbene ikke lenger var kaldere enn ambient temperatur og dette tok 30-40 timer. Frysetørkingen foregikk over en periode fra 20/1-13/3. Når kolbene ble koblet fra frysetørken ble tørre flak ristet løs fra overflaten (Bilde 4.10) og deretter ble det ført en stav av aluminium ned i kolben for å forsiktig støte innholdet til mindre flak. Flakene overføres til 200 x 400 mm poser vakuumposer (PE/PA 90, Maskegruppen AS) og posene forsegles uten vakuum i en vakuummaskin (Henkelman 300 II, S.nr. 30809681, Hertogbosch, Nederland, 1998). Når alt frysetørket pulver for en batch var ferdig tørket ble vakuumposene åpnet og innholdet ble kjørt i laboratorieblender av typen Waring Commercial® på sakte fart. Flakene ble porsjoner i fem deler for å ikke overfylle blenderen. Pulver ble kjørt i 10 sekunders intervall frem til alle synlige partikler var knust. Blender med innhold ble kraftig ristet mellom hvert 10 sekunders intervall for å sikre at alt pulver ble blandet. Ferdig pulver ble ristet i et stort måleglass for å kvalitetssikre pulverknusingen. Ferdig pulver ble lagret i en tett bølge uten mye overflødig luft. Alle pulver, både i vakuumposer og i 20 kg sekk, ble lagret ved ambient romtemperatur i mørke rom beskyttet fra høy luftfuktighet. Åpnede sekker ble forseglet etter prøveuttak. God forsegling er viktig fordi melkepulver kan trekke til seg luftfuktighet og endre karakter under lagring.

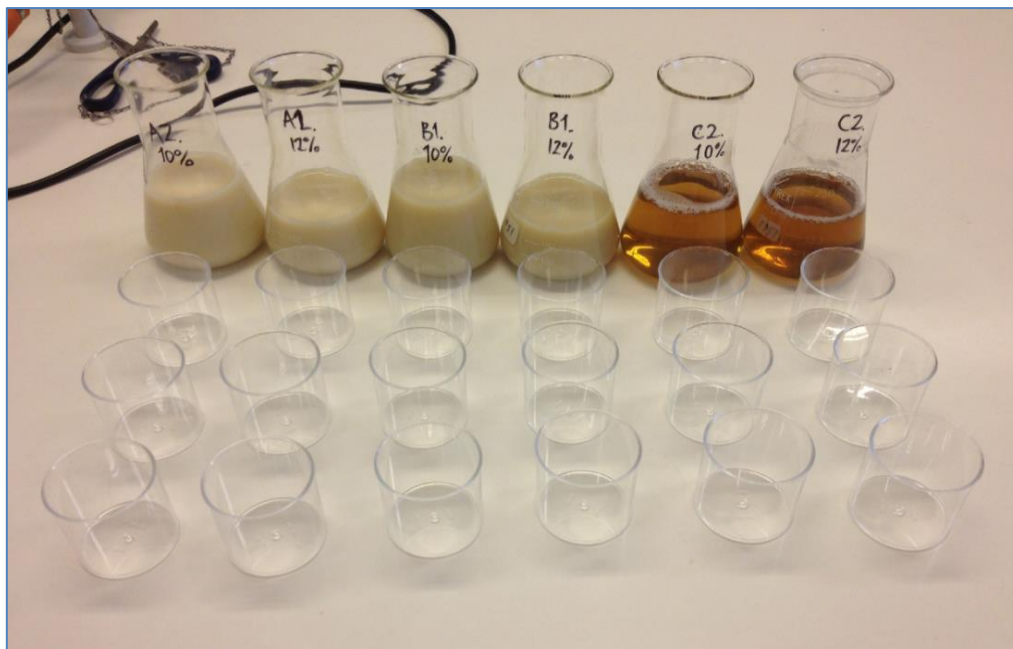


Bilde 4.10 Flak av frysetørket ostemysekonsentrat til venstre og -jomfrumyse til høyre (Even Gausemel)

Bilde 4.10 illustrerer utseendet til nylig frysetørket konsentrat. Innholdet i en kolbe frysetørket ostemysekonsentrat var ~60 g og ~12 g for jomfrumysekonsentrat. Legg også merke til forskjell i farge og i glans. Jomfrumysepulver har en glansfull overflate. Frysetørket jomfrumysepulver er flyktig nok til å sveve fritt i luft etter behandling.

4.4 Prøveopparbeidelse: Mysepulverløsning for analyser og aggregering av gel

Mysepulverløsning med 10 og 12 % total proteininnhold ble laget for proteinanalyser, tørrstoffanalyser og for reologiske analyser. Kalkulering av resept for løsning var basert på total protein (TP) verdier fra analyse av pulver.. Løsningen bestod av kalkulert mengde pulver, ionebyttet vann og til slutt sitratbuffer som alltid utgjorde 40 % av løsningens vekt. Oppveingen skjedde på en DeltaRange® vekt (Mettler PM480, Greifensee, Sveits) med to desimaler nøyaktighet. Etter tilsatt buffer var pH 6.2 i alle løsninger, en pH som er nærme nativ pH for mysekonsentrater ved pH 6-7 (Dissanayake et al., 2013a). Sitratbuffer 0.1 M ble laget dagen før løsningen skulle blandes, eller på samme dag dersom løsningen skulle hydrere over natt. Bufferen innhold destillert vann, sitronsyre monohydrat (VWR, Oslo) og trinatriumsitrat dihydrat (Merck, Darmstadt, Tyskland). Kalkulert proteininnhold fra resept ble sammenlignet med kalkulert proteininnhold fra oppveid vekt for pulver og løsning for å kontrollere sammensetningen. Løsningen ble magnetrørt ved romtemperatur i minimum 30 minutter, først ved innstilling 7 i 30 sekunder, og så med sensitiv røring ved innstilling 5-6. Holdbarheten til proteinløsning lagret ved 4 °C settes til fem dager. I disse forsøkene ble alle løsninger analysert senest dagen etter tillaging. Løsningen ble oppbevart mørkt, dekket med aluminiumfolie.



Bilde 4.11. Løsning av pulver MS 2.(A2), MF 1.(B1) og NF 2.(C2). Observer ulik farge i kolber C2 (Even Gausemel)

Bilde 4.11 illustrerer løsninger klare for oppmåling i Nunc 100 mL beger før aggregering av gel til Texture Profile Analysis (TPA). Konsentrasjon i kolbene er 10 og 12 % total protein.

4.5 Analyser og målinger

Tabell 4.2 viser hvilke analyser som ble utført for konsentrat, løsning og pulver. Analyse av fire konsentrater, seks pulvere og seks løsninger beskrives nærmere i underkapitler.

Tabell 4.2 Analyser av konsentrat, løsning og pulver fordelt på spesifikke proteinkilder

Analyser for konsentrat, løsning og pulver								
Analyser	Konsentrat		Pulver			Løsning		
	MK	NK	MS	MF	NF	MS	MF	NF
Proteinanalyse, Kjeldahl metode	X	X	X	X	X	X	X	X
Tørrestoffanalyse	X	X	X	X	X	X	X	X
Rheometer MCR 301						X	X	X
Texture Profile Analysis (TPA)						X	X	X
Sensorisk vurdering						X	X	X
Uløselighets indeks			X	X	X			
Analyse av partikkelstørrelse			X	X	X			
Mineralanalyse			X	X	X			
Fettanalyse (SBR)			X	X	X			
HPLC for laktose	X	X	X	X	X			

Tabell 4.2 indikerer at aktuelle analyse ble gjennomført for ulike konsentrat, pulver eller løsning ved å merke aktuelle boks med X. Tabellen viser til konsentrater Myse Konsentrat (MK) og Nativt jomfrumyse Konsentrat (NK) samt pulvere og løsninger med proteinkilde Mysekonsentrat Spraytørket (MS), Mysekonsentrat Frysetørket (MF) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF).

4.5.1 pH-analyser

Analyser av pH ble tatt for å gi innsikt i forskjeller mellom pH i ostemysekonsentrat, jomfrumysekonsentrat og løsning av myseingredienser. Det ble benyttet et temperaturregulert pH-meter (PHM 92 LAB pH meter METERLab™, Radiometer Analytical S.A, Lyon, Frankrike) som ble kalibrert før bruk. Alle prøver ble temperert til ambient temperatur (~20 °C) før pH-måling. Elektroden var i glass (PHC2005-7, Radiometer Analytical S.A, Lyon, Frankrike). For å forsikre at buffertilsetning hadde ønsket effekt i løsningen, tok man pH-analyser av ionebyttet vann, buffer og proteinløsning med og uten buffer. Analysene ble tatt av konsentrat like etter mottak og alltid med tre parallelle målebegre. For løsning ble analysene tatt før tilsats av buffer og deretter minst en time etter at bufferen hadde blitt tilsatt. For ionebyttet vann og buffer ble pH målt like før tilsetning.

4.5.2 Metodeutvikling: Rheometer MCR 301 (Anton Paar)

I begynnelsen av semesteret ble to uker brukt på opplæring i bruk av rheometeret (Physica® MCR301, S.nr. 80714774, Anton Paar GmbH, Graz, Østerrike) og for å utvikle en metode egnet for måling og aggregering av myseproteinløsning i instrumentet. I denne perioden ble flere ulike faktorkombinasjoner analysert i instrumentet. Forforsøk, forsøksdesign og litteratursøk var bakgrunnen for det valgte oppsettet. I perioden ble det klart at løsningen avdampet betydelig under oppvarming, og det ble valgt å dekke prøven med et tynt lag solsikkeolje. Ved å eksperimentere med bruk av plate-plate og bob-cup geometri kom man frem til at bob-cup hadde høyere sensitivitet for utviklingen i gelene. Sedimentering av protein i prøvemateriale før tilsats i rheometeret kunne ha gitt noe variasjon. Derfor ble det montert en magnetrører for kontinuerlig, sensitiv røring av prøvematerialet. Gelene endret volum ved oppvarming og nedkjøling og instrumentet ble programmert til å reagere på denne utviklingen ved å regulere probehøyde slik at normalkraften var 0 N. Dette, i tillegg til tilrettelegging av temperaturbehandling, var viktig for å gi mest mulig målbar utvikling i instrumentet. Tabell 4.3 presenterer intervall med parameterinnstillinger for rheometer.

Tabell 4.3 Innstillinger av parametere for temperatur, tid, tøyning og frekvens i ulike tidsintervall for rheometer

Parametere	Intervall				
	Temp.økning	Temp.holding	Temp.senkning	Relaksering	Amplitudesveip
Behandling ++					
Temperatur (°C)	4 til 90	90	til 4	4	4
Tid (Sekunder)	Automatisert	1200	Automatisert	300	Automatisert
Tøyning (%)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01-100
Frekvens (rad/s)	10	10	10	10	10
Behandling +-					
Temperatur (°C)	4 til 90	90	til 4	4	4
Tid (Sekunder)	Automatisert	600	Automatisert	300	Automatisert
Tøyning (%)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01-100
Frekvens (rad/s)	10	10	10	10	10
Behandling -+					
Temperatur (°C)	4 til 80	80	til 4	4	4
Tid (Sekunder)	Automatisert	1200	Automatisert	300	Automatisert
Tøyning (%)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01-100
Frekvens (rad/s)	10	10	10	10	10
Behandling --					
Temperatur (°C)	4 til 80	80	til 4	4	4
Tid (Sekunder)	Automatisert	600	Automatisert	300	Automatisert
Tøyning (%)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01-100
Frekvens (rad/s)	10	10	10	10	10

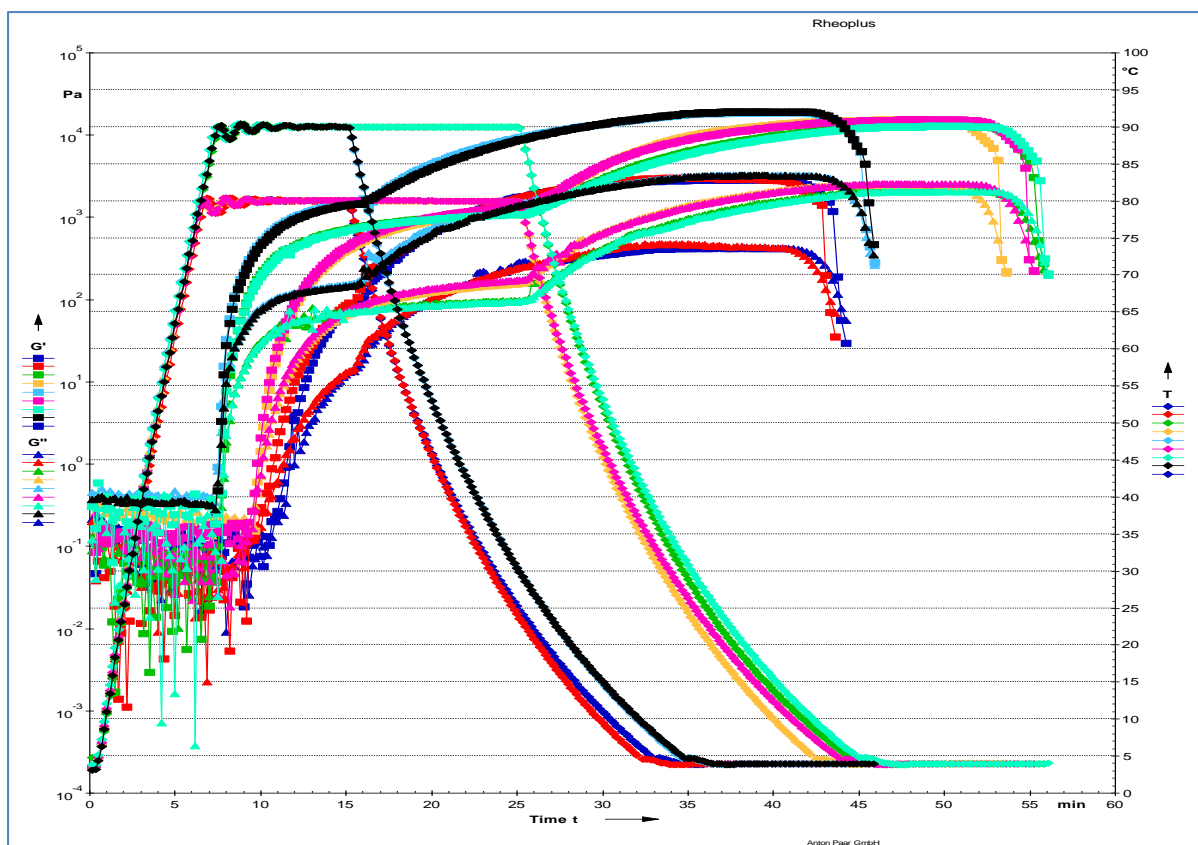
Tabell 4.3 viser temperatur, tid og verdier for tøyning i % og vinkelfrekvens radianer per sekund (frekvens). Tøyning er lengdedeformering prosent relativt til avstand mellom beholder og probe i bob-cup geometri. Legg merke til at tøyning er satt til et ikke-destruktivt nivå i de fire første intervall og til en økende tøyingsgrad fra 0.01 til 100 % for oscillerende amplitudesveip. Temperaturøkning forekom ved ~10 °C / minutt fra 4 °C og gelen fikk hvile i fem minutter etter avkjøling før amplitudesveip. Dette er nødvendig fordi varmeindusert aggregering gir øking av G' modulus ved relaksering (Havea et al., 2009).

I sammenheng med metodeutvikling ble prediksjonsintervall for responser kalkulert. Prediksjonsintervallene ble kalkulert med bakgrunn i analyser fra flere serier av analyser med 7 aggregeringer av løsning. Metoden ble justert mellom hver serie. Prediksjonsintervall ble kalkulert fra gjennomsnittsverdier og standardavvik fra samlet antall analyser i serie av analyser fra siste forforsøk (Se formel under). Sannsynlighet ble her satt til 0.95.

$$y = \bar{y} \pm t_{(1-p)/2, n-1} \sigma \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$$

I formelen indikerer p sannsynlighet, n antall prøver, σ standardavvik, \bar{y} gjennomsnittverdi og $t_{(1-p)/2, n-1}$ er invers av tosidet Students-t fordeling.

Prediksjonsintervall ble kalkulert for resultater fra Linear ViscoElastic-range (LVE-range) målepunkt med verdier for tøyning Gamma (γ), skjærspenning Tau (τ) og elastisk modulus G'. Tøyning (γ) gav +/- 7 % prediksjonsintervall, Skjærspenning (τ) gav +/-34 % prediksjonsintervall og elastisk modulus G' gav +/- 36 % prediksjonsintervall. Intervallene ble kalkulert fra et datasett med 7 paralleller med 10 % løsning av pulver MS 1. I tillegg ble prediksjonsintervall for tre paralleller med 12 % løsning av samme pulver kalkulert for å bekrefte at ulik proteinkonsentrasjon ikke gav høyere variasjon. Figur 4.12 viser grafisk at målinger for pulver MS 1. var forutsigbare og gav tydelige områder for LVE-range.



Figur 4.12. Grafisk fremstilling av forløp for temperatur (Temperaturøkning vist over initiell stigning av reologiske verdier), G' og G'' moduli (parallele kurvede linjer) hos ulike faktorkombinasjoner for pulver MS 1.

4.5.3 Aggregering og oscillerende amplitudesveip med rheometer

Rheometermåling ble gjennomført for 48 faktorkombinasjoner fra seks batcher. Hensikten var å gi objektive data for sammenligning av gelenes funksjonelle egenskaper. Figur 4.12 viser grafisk fremstilling av analyseforløp for åtte analyser av ulike faktorkombinasjoner for pulver MS 1. Denne figuren er ment for å illustrere forløpet i analysen. Resultater for LVE-range analyse fra lignende data blir presentert i kapittel 5.

For hver analyse ble 15 mL løsning tilsatt i en målekopp (C-CC27/T200/TI, D.nr. 80190745, Anton Paar GmbH, Graz, Østerrike, 2011) og deretter ble en Titanprobe (CC27/Ti, S.nr. 4107, Anton Paar GmbH, Graz, Østerrike, 2005) senket ned til måleposisjon. Løsning ble pipettert ut med en 5 mL pipette og 2 mL olje ble påført etter nedsenkning med en 1000 μ L pipette (Finnpipette, Thermo Scientific). For å registrere data ble Rheoplus/32 programvare brukt (V3.40, Anton Paar GmbH, Graz, Østerrike, 2008). Temperatur, skjærspenning, tøyning, G' og G'' moduli ble målt med målepunkt hvert tiende sekund gjennom første del av regimet og ved gitte tøyninger for oscillerende amplitudesveip. Når gelen var aggregert ble den kjølt til 4 °C og det ble gjennomført oscillerende amplitudesveip med logaritmisk økende angular

tøyning fra 0.01-100 %. Når alle disse målepunktene var registrert ble det gjort en Linear ViscoElastic-range analyse. I Figur 4.12 ligger målepunktet for LVE-range før nedsving mot slutten av målingen. Dette er et godt målepunkt for disse prøvene fordi initiale verdier ikke er målbare i løsning og fordi det ikke er alle aggregerte geler som gir målepunkter hvor G' og G'' kurver krysser hverandre. Flere analyser ble eliminert fra datasettet på grunn av feil innstilling av instrumentet eller ved mangel av oljedekk over prøven. Nye analyser ble gjennomført fortløpende for å kompensere for tapte prøver.



Bilde 4.13. Bob-cup geometri med gel til venstre. Svak gel etter oscillerende amplitudesveip til høyre (Even Gausemel)

Bilde 4.13 illustrerer hvordan bob-cup geometri for MCR 301 (Anton Paar) ser ut (Venstre) og hvordan en svak gel ser ut etter at oscillerende amplitudesveip (Høyre).



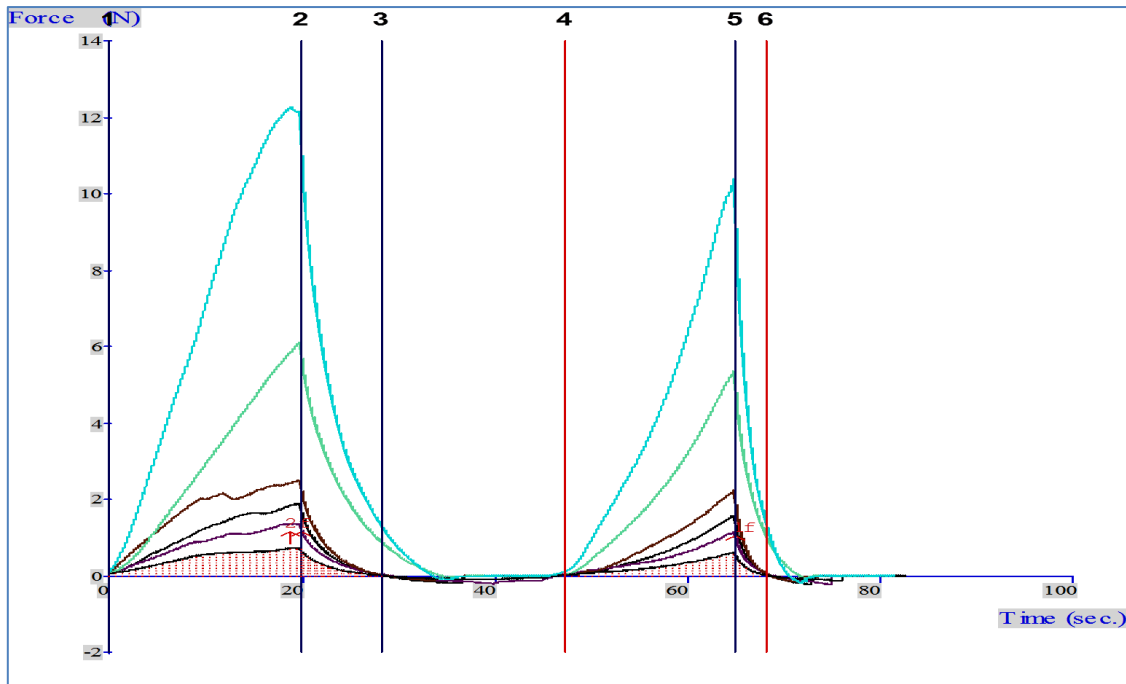
Bilde 4.14. Bildet viser sterk gel av 12 % NF 2. (90° i 20 min.) fra rheometer etter amplitudesveip (Even Gausemel)

Bilde 4.14 illustrerer at gel fra 12 % løsning av pulver NF 2. (90 °C 20 min.) hadde en gummiaktig struktur og at strukturen mot bob-cup overflaten var glatt og ikke nedbrutt etter endt oscillerende amplitudesveip. Gelen hadde ikke synlig synerese.

4.5.4 Texture Profile Analysis (TPA)

Hensikten med TPA-forsøket var å vise at ulik temperatur, varmebehandlingstid og proteinkonsentrasjon gav ulike funksjonelle egenskaper for representative geler som representerte ekstremene for nivå 1. og 2. for forsøksfaktorene temperatur, tid og proteinkonsentrasjon. Løsning med 10 og 12 % total protein ble forberedt og satt på kjølerom over natten. Dagen etter ble løsning overført til 100 mL Nunc beger i klar plast.

Totalt 36 beger ble fylt. 12 beger fra hver av tre pulver: MS 2., MF 1. og NF 2. 18 prøver hadde 10 % total proteinkonsentrasjon og ble varmebehandlet ved 80 °C i 10 minutter. 18 prøver hadde 12 % total proteinkonsentrasjon og ble varmebehandlet ved 90 °C i 20 minutter. Etter varmebehandling ble alle prøver avkjølt på is og satt på kjøøl over natten. Dagen etter ble en og en av prøvene tatt ut av kjøleskapet og spent fast i teksturmåleren (TA-HDi Texture Analyzer, Stable Micro Systems™, Surrey, England) i en rigg (HDP/3P8, Stable Micro Systems™). En probe (P/1KP, Delrin 1 cm² areal sylinder, Stable Micro Systems™) ble brukt for å komprimere gelen på tre ulike steder i begeret og resultatene for seks analyser totalt ble registrert i Texture Expert Exceed (Versjon 2.64, Stable Micro Systems™, Surrey, England). Hvert av de tre målepunkt ble komprimert to ganger i en two-bite måling med testfart på 2 mm/sek og en måledybde på 20 mm. En grafisk fremstilling for kraft (N) over tid ble produsert (Figur 4.15) og ulike toppunkter og arealer ble kalkulert. Verdiene fra denne kalkuleringen ble brukt for å beregne teksturbeskrivende responser. Alle analysene ble gjennomført i randomisert rekkefølge og på samme dag.



Figur 4.15. Texture Profile Analysis (TPA) fremstilling av kraft og tid for seks representative faktorkombinasjoner

Figur 4.15 illustrerer kraft i Newton og tid i sekunder for seks geler av ulike løsninger. Observer at målingen illustrerer to tydelige kompresjoner av varierende styrke. Programvaren beregner tidsintervall mellom tid 1-6 og kraft ved ulike punkt og i ulike arealer mellom kurvene og abscissen. Fra disse verdiene kan man bl.a. beregne hardhet i gel.

4.5.5 Proteinanalyser med Kjeldahl metode

Proteinsammensetningen er fokus i oppgaven. Forskjeller i proteinsammensetning hos konsentrat, pulver og løsninger ble analysert ved å gjennomføre analyse av total nitrogen (TN), ikke-protein nitrogen (IPN) og ikke-kasein nitrogen (IKN) etter Kjeldahl metode. Hensikten var å gi data som påviste eventuelle forskjeller i proteinsammensetning i ulike myseingredienser. Analysene ble gjennomført etter standardiserte prosedyrer beskrevet i henholdsvis IDF 20-1:2001 (IDF, 2001b), IDF 20-4:2001 (IDF, 2001c), 20-5:2004 (IDF, 2001a) og 29-2:2004 (IDF, 2004c) med noen modifikasjoner. Verdier (TN), (IPN) og (IKN) nevnt over ble brukt for å kalkulere innhold av nativt myseprotein (NWP), kasein (K) og total protein (TP). Kasein (K) inkluderer også denaturert myseprotein.

Analysen ble gjennomført som i standardene, men prøveopparbeidelsen for analysen ble modifisert i henhold til interne standarder for gjennomføring av analysen hos NMBU. Det ble ikke benyttet sentrifuge (10 000 rpm, 15 minutt) i prosedyre for IKN, men det ble benyttet et White Ribbon filter (Whatman™ 10300112 Ashless Grade 589/2 Quantitative Filter Paper, 4-

12 µm porestørrelse). Svovelsyre ble tilsatt rørene med en eppendorf varispenser® plus og alle oppslutningsrør ble veid opp på en Mettler PM480 DeltaRange® vekt. Veing for prøveopparbeidelse ble gjort på samme vekt og i tillegg en lukket Mettler PAE260 DeltaRange® vekt for pulverløsning. Tre rør skummetmelk ble brukt som kontroll og to blanke prøver ble konsekvent kjørt før hver serie med tre paralleller av både TN, IPN og IKN. Oppslutning ble gjennomført i oppslutningsblokk med avsug (Tecator™ Digestor Auto 20, S.nr. 535940608, Foss, Höganäs, Sverige, 2007). For destillering og titrering ble det brukt en Kjeltex (Kjeltex™ 8400 Analyzer Unit, S.nr. 520041194, Foss, Höganäs, Sverige, 2009). For å kalkulere innhold av kasein (K) trekkes ikke-kasein nitrogen (IKN) fra total nitrogen (TN) før multiplikasjon med proteinfaktor for meieriprodukter fra Kjeldahl metode (6.38). Proteinfaktor er en omregningsfaktor som er basert på innhold av nitrogen i protein.

$$(TN-IKN) \cdot 6.38 = (K)$$

Denaturet myseprotein kan danne uløselige aggregater. Derfor vil kasein (K) inkludere protein-nitrogen fra denaturet myse som ikke vandrer gjennom filter under filtrering.

Innhold av nativt myseprotein (NWP) kalkuleres ved at ikke-protein nitrogen (IPN) trekkes fra ikke-kasein nitrogen (IKN) før multiplikasjon med proteinfaktor 6.38:

$$(IKN-IPN) \cdot 6.38 = (NWP)$$

Total protein (TP) kalkuleres fra total nitrogen (TN) fratrukket ikke-protein nitrogen (IPN) og multiplisert med proteinfaktor 6.38:

$$(TN-IPN) \cdot 6.38 = (TP)$$

Dette medfører at total protein (TP) ikke inkluderer ikke-proteinkomponenter som eksempelvis urea.

4.5.6 Tørrstoffanalyser

Hensikten med tørrstoffanalyser var å påvise eventuelle forskjeller mellom tørrstoff i konsentrater, pulver og løsninger. For tørrstoffanalyse av løsning/konsentrat ble IDF 21B (IDF, 1987b) brukt og for pulver ble det brukt en modifisert metode basert på IDF 26 (IDF, 2004b) og standard fra meierienes analysehåndbok (Norske meierier, 1991). Alle prøver ble romtemperert før de ble satt i tørkeskapet og det ble tørket tre paralleller for hver analyse. For pulver ble det målt opp 1.0 g på aluminiumrondell og for løsning/konsentrat ble det målt opp

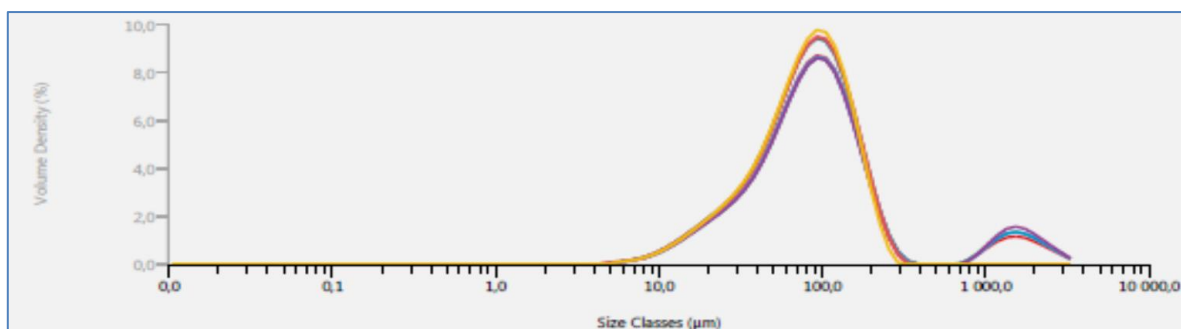
2 ml. To ganger avvek én parallell mer enn 0.5 % i tørrstoffverdi. Avvikende paralleller ble, i henhold med metoden, sløyfet og nye prøver ble tørket. Det ble nytt et Termaks varmeskap (Termaks AS, Bergen, Norge). For nøyaktig oppveing ble det brukt en lukket Mettler PAE260 DeltaRange® vekt.



Bilde 4.16. Malvern Mastersizer partikkelmåler med tørrdispersjonsenhet i forkant (Even Gausemel)

4.5.7 Partikkelstørrelse målt med Malvern Mastersizer

Mastersizeranalysen ble gjennomført for å sammenligne partikkelstørrelsene i ulike mysepulver og uniformitet for partikkelstørrelsene. Partikkelstørrelsen i pulver ble målt i tørr form i en Malvern Mastersizer 3000 (S.nr. MAL1083189, Malvern, Storbritannia) med Aero S optisk celle og Aero S tørrdispersjonsenhet (Bilde 4.16). Programvaren var Mastersizersoftware versjon 2.20. Åtte paralleller ble analysert for hvert pulver med et begrenset obskureringsintervall fra 0.1-15 %. Obskureringsintervall er et mål for hvor mye energi fra laser som måles etter gjennomlysning av optisk celle. Obskureringsintervallet ble valgt fordi for høy obskurering (mye pulver i optisk celle) gir feil fordeling av toppunkt, for lav obskurering (lite pulver i optisk celle) gir høyere grad av bakgrunnsstøy. Pulver MS 1., MF 1. og NF 1. ble analysert 21/2 og pulver MS 2., MF 2. og NF 2. ble analysert 14/3.



Figur 4.17. Mastersizer fremstiller resultater grafisk med en størrelsesfordelingskurve for mysepulverpartikler

Figur 4.17 illustrerer et eksempel for partikkelstørrelsesfordeling hos pulver MS 1. Abscissen i disse diagrammene viser en logaritmisk størrelsesfordeling i μm diameter og ordinaten viser volumtetthet i prosent. Altså hvor stor volumandel av pulver som har aktuelle størrelse. I tillegg til en grafisk fremstilling av partikkelstørrelser gav analysen flere verdier for å beskrive partikkelsammensetningen i hver pulvertype. Blant disse er partikkelstørrelser, målt i μm , hvor 10 %, 50 % og 90 % er mindre enn gitt størrelse. Disse kalles henholdsvis $D_v(10)$, $D_v(50)$ og $D_v(90)$. Responsverdien Uniformitet beregnes med utgangspunkt i median størrelse for hver enkelt prøve og beskriver avvik fra medianen for partikkelstørrelse. Gjennomsnittet av uniformitetsverdier beskriver hvor stor variasjon det er i prøvenes partikkelstørrelser for en serie pulverprøver med samme faktorkombinasjon.

4.5.8 Uløselighetsindeks i mysepulver

Uløselighetsindeks ble målt etter IDF 129 (IDF, 2005a) med noen modifikasjoner. Mikseren som ble brukt var en Omni mixer med 6 blads agitator (Omni International, Kennesaw, USA, 2012) og antiskummingsmiddelet var 30 % silikon H_2O emulsjon (Sigma-Aldrich Norway, Oslo). Rørene var 50 mL Falcon rør som ble plassert i en sentrifuge (Heraeus Multifuge X3R centrifuge, S.nr. 41120671, Osterode, Tyskland, 2010) med utsvingsrotor (HERA75003607, Osterode, Tyskland, 2010). Sedimenthøyden i rørene ble lest av med lupe. Hensikten med støtteanalysen var å påvise forskjeller i innhold av uløselige komponenter i ulike mysepulver.

I tillegg til standardisert IDF metode ble det utviklet en modifisert metode med pH-justering av løsningen før Omni mixer og sentrifugering. Modifikasjoner for metode: Pulver ble blandet i 50-60 mL vann ved $24\text{ }^\circ\text{C}$ og pH-justert til pH 6.40 med 0.1 M sitronsyre (VWR, Oslo). Deretter ble blandingen raskt tilsatt 3 dråper antiskummiddel, overført til en 100 mL målekolbe og justert med mer temperert vann. Deretter ble blandingen vendt og tilsatt i Omni mixer. Øvrig fremgangsmåte som for IDF 129 for resten av metoden. Begerglass og

målekolber ble temperert til 24 °C i vannbad for å unngå uønsket temperatursenkning i prøvematerialet.

4.5.9 HPLC-analyse av laktose i mysekonsentrat og mysepulver

Støtteanalyse med høytrykksvæskekromatografi (HPLC) ble gjennomført for å finne innhold av organiske syrer og laktose i pulveringrediensene og i konsentrater. Prøveopparbeidelse for konsentrater ble gjennomført samme dag som konsentratene ble mottatt for å ha likt laktoseinnhold i frosset konsentrat som i analyseresultatet. Prosedyre for metoden er beskrevet i en modifisert metode (Moe et al., 2013) basert på Marsili et al. (1981). Prøvematerialet ble først fortynnet til 1 % for pulver og 10 % for konsentrat. Prøvene ble vendt i en vendemaskin (Multi RS-60 rotator mixer, S.nr. 330512001, BIOSAN, Riga, Latvia) og deretter ble løsningen sentrifugert ved 3500 rpm i 15 minutter (Kubota 2010, S.nr. 33232, Kubota Corporation, Tokyo, Japan). Prøvene ble analysert i en kolonne (Aminex HPX-87H, Bio-Rad Laboratories, hercules, California, USA). Kolonnen var montert med en Perkin Elmer kolonneovn (LC oven 101), Perkin Elmer autoinjektor (Series 200) og en Perkin Elmer pumpe (Series 200, Waltham Massachusetts, USA). Betingelser for analysen var en 5 mM H₂SO₄ mobilfase med 0.4 mL/min flyt ved 30 °C. Prøvenes retensjonstid ble sammenlignet med standarder i en Perkin Elmer refraktiv indeks detektor (Series 200) og en Perkin Elmer UV/VIS detektor (Series 200) for organiske syrer. Standardene for sammenligning var laktose (Merck, Darmstadt, Tyskland) og sitron-, orotin-, pyrodrue-, eple-, rav-, melke-, maur-, eddik-, urin-, propion- og pyro-glutamin-syrer (Sigma-Aldrich Norway, Oslo). Ved mottak av data fra HPLC ble løsningsfaktor kalkulert inn for å gi reelle innhold. Resultater for organiske syrer var meget lave (Overingeniør Olsen K., NMBU, 2014, pers.med.). Resultater for organiske syrer presenteres ikke i oppgaven.

4.5.10 Mineralanalyse av mysepulver

Mineralinnhold analyseres for å påvise eventuelle forskjeller i mineralinnhold mellom mysepulver. Mineralanalyser av mysepulver ble gjennomført av Solfrid Lohne ved NMBU institutt for Miljøvitenskap (IMV). Metoden nytter spalting med HNO₃ og oppslutning i ovn (Milestone Ultrawave Ultraclave III, Sorisole, Italia) i lukkede beholdere som beskrevet i de la Fuente et al (1997). Metoden nytter emisjonsspektroskopi (Perkin Elmer, Shelton, USA). Analyserte mineraler i støtteanalysen var: Na, Mg, P, K, Ca, Fe, Zn og Cu.

4.5.11 Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff (SBR) av fettinnhold i mysepulver

Fettinnhold analyseres for å påvise eventuelle forskjeller mellom fettinnhold i ulike mysepulver. Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff (SBR) støtteanalysen ble gjennomført på kjemisk laboratorium ved TINE FoU, Måltidets hus etter standardisert intern metode MA 707 som referer til tre IDF-standarder (IDF, 2004a, 2005b, 2006). Opprinnelig ble fettinnholdet forsøkt analysert med Röse-Gerber metoden (IDF, 1987a), men mysepulver dannet gel i oppslutningen og var uegnet for denne prosedyren.

4.5.12 Aggregering av gel med tilsatt sukrose, for sensorisk vurdering

Aggregering av gelene ble gjennomført som hos aggregering av gel for Texture Profile analysis, med noen modifikasjoner: Løsningen som ble forberedt inneholdt ikke sitratbuffer og ble ikke pH-justert. I stedet ble mysepulver blandet ut med sukrose (Nordic sugar A/S, Harlemgruppen) før tilsetning av dest. vann. Når løsningen var rørt homogen med magnetrører ble den tilsatt smaksessens (Storms vaniljeessens 428). Sukrose utgjorde 16.7 %, smaksessens 0.15 % og total protein (TP) utgjorde 10.0 % i alle løsninger. De samme representative batcher av pulver ble brukt, som i aggregering for Texture Profile Analysis (TPA): MS 2., MF 1. og NF 2. Tre beger av hver løsning ble varmebehandlet ved 80 °C i 10 minutter, og tre beger av hver løsning ble varmebehandlet ved 90 °C i 20 minutter. Etter varmebehandlingen ble alle geler avkjølt på is i en time og satt på kjølerom frem i minimum 1 time for sensorisk vurdering samme dag.

4.5.13 Sensorisk vurdering av aggregerte geler tilsatt sukrose

Dette er en sensorisk metode som ble gjennomført for å gi en indikator på myseingrediensenes sensoriske karakteristika. Kun fire av de seks mulig prøvene ble presentert for vurdering: MS 2. 80 °C i 10 minutter; MS 2. 90 °C i 20 minutter; MF 1. 90 °C i 20 minutter og NF 2. 90 °C i 20 minutter. Prøve NF 2. 80 °C i 10 minutter ble utelukket fordi den hadde flytende konsistens. Fem karakteristika for mysegel ble vurdert: Hardhet, jevnhet, aggregater, synerese og munnfølelse. For å vurdere disse karakteristika ble det brukt enkel deskriptiv sensorisk analyse. Deskriptiv analyse nyttes vanligvis med paneler av trent dommere som sammenligner prøver med en produktspesifikasjon eller en etablert standard for produktet som skal bedømmes. Trent panel er godt kjent med aktuelle skalaer som brukes for å fordele poeng for de bedømte produktene, og for aktuelle karakteristika. Og standarden beskriver hvor mange poeng som er gitt for etablert standard (Lawless and Heymann, 2010).

Sensorisk analyse nevnes ikke i problemstillingen og deskriptiv analyse for denne oppgaven er ment som en ekstra indikator på forskjeller mellom ulike geler. Det er ikke etablert en standard eller produktspesifikasjon, da produktet som vurderes ikke er et kommersielt produkt. Det er ikke tilgjengelig et panel som er trent for deskriptiv analyse av mysegel. Derfor ble analysen gjennomført med utrent panel. Et utrent panel kan likevel være en god indikator for sensoriske karakteristika (Lawless and Heymann, 2010). Deltakere i analysen var ti studenter ved NMBU. Studentene som deltok i vurderingen ble gjort kjent med teoretisk bakgrunn som kreves for å forstå de ulike karakteristika før de utførte vurderingen. Panelet ble også presentert for teoretisk bakgrunn som kreves for å forstå hvordan man bruker skala og sammenligning for å gjennomføre en enkel deskriptiv analyse. Skjemaet nyttet standard 7-poengs skala hvor 7 poeng stod for henholdsvis meget høy hardhet, meget høy jevnhet, meget mye aggregater, meget mye synerese og meget god munnfølelse. Hardhet i gel beskrives som motstand mot trykk. Jevnhet beskrives som variasjon i gelstruktur i produktet. Aggregater beskrives som synlige eller taktilt observerte klumper i produktet. Synerese beskrives som fritt vann som tapes fra gel. Munnfølelse beskrives som hvor god gelen var til å gi munnfølelse assosiert med spiseegel eller pudding. (Lawless and Heymann, 2010). Når studentene hadde blitt informert ble de vurderingen gjennomført i et nøytralt, stille rom. Gelene ble presentert på hvite brett med tresifrede koder. Studentene rangerte så hver av de fire gelene i randomisert rekkefølge på separate skjema for hver gel. Det var ikke lov å snakke sammen under vurderingen. Skjema ble samlet inn, og gjennomsnittsverdier ble beregnet med Excel 2010 (Microsoft Office).

4.6. Statistikk og databehandling

Behandling av rådata ble gjennomført med Excel 2010 (Microsoft Office). Excel 2010 ble også benyttet for å lage grafiske fremstillinger og tabeller av behandlet data. Variansanalyser ble gjennomført med Minitab® 16.2.2. (Minitab Inc., Coventry, England). For data fra Rheometer MCR 301 (Anton Paar) ble noe av databehandlingen gjort i Rheoplus/32 V3.40. Data fra Texture Profile Analysis (TPA) ble delvis behandlet i Texture Expert Exceed. Datasett fra rheometer. Texture Profile Analysis (TPA), proteinanalyse, tørrstoffanalyse og analyse av partikkelstørrelse ble vurdert ved hjelp av ANOVA General Linear Model (GLM). Faktorenes nivåer ble sammenlignet med Tukey parvis sammenligning og Main Effect Plot. Residual Plot (Regular, Four in one) ble sammenlignet med R^2 verdier fra variansanalyse for å sikre at modellen var egnet for formålet.

Disse fire datasettene gir kompleks data som beskriver ulikheter mellom 6-48 ulike faktorkombinasjoner. Stolpediagram ble valgt som hovedform for presentasjon fordi stolpediagram gir tydelig informasjon om gjennomsnittlige forskjeller. For å gi leseren informasjon om signifikante forskjeller samtidig presenteres stolpediagram også med bokstavkoder for signifikant ulike Tukeygrupper hvor $A > B > C$ og $a > b$. Dette gjør informasjonen mer kompleks for lesning, men gir god samling av informasjon for hver responsverdi. Alle signifikansnivå var satt til 95 %, ($p=0.05$), for å gi signifikante resultater (Montgomery, 2013). For blokkdesign med mer enn to forsøksfaktorer ble signifikant faktorinteraksjon påvist med baklengs eliminerings. I tillegg ble grafisk to-faktor interaksjonsplot brukt for å vurdere om faktorinteraksjonene var reelle. Faktorinteraksjon i statistikk kan avdekkes dersom effekt av to faktorer er avhengige av hverandre. Dersom to variabler med faktorinteraksjon påvirker en tredje variabel er total effekt ikke lik en sum av de to påvirkende effektene. Faktorinteraksjon vil bli registrert med p-verdi, som sammenlignes med valgt signifikansnivå ($p=0.05$) (Montgomery, 2013).

Datasett for Minitab analyser er vedlagt i vedlegg 3-9.

5 Resultater

I dette kapittelet presenteres resultater fra kjemiske, fysiske og reologiske analyser samt resultater fra sensorisk vurdering. Det ble lagt vekt på resultater som gav statistisk signifikante forskjeller. Tukey parvis sammenligning skiller ulike nivåer av forsøksfaktorer fra hverandre dersom p-verdier er signifikante, her ved 95 % konfidensnivå. Ulike grupper gis bokstavgrupper A, B eller C hvor $A > B > C$ med hensyn til responsverdier. Signifikant ulikhet vil gi ulike Tukeygrupper fordelt på forsøksfaktornivåer forklart i Tabell 5.4. Dersom det ikke er signifikante ulikheter gis nivåer samme Tukeygruppe. Tabell 5.4 beskrives fordeling av forsøksfaktorenes nivåer for senere referanse. Dette er nødvendig fordi Tukeygrupper fordeles med hensyn til nivå i General Linear Model (GLM). Denne tabellen referer til navn og koder gitt i kapittel 4.1 Forsøksdesign og navn for mysekonsentrat, -pulver og -løsning.

Tabell 5.4. Tabellen gir en oversikt over forsøksfaktorenes nivåer i nivå 1, nivå 2, og nivå 3, slik de forekommer i Tukey parvis sammenligning. Tukey fordeler nivåene i 1-3 bokstavgrupper avhengig av hvor godt nivåene kan skilles

Forklaring av nivå som senere fordeles i Tukeygrupper A, B eller C			
Forsøksfaktor	Nivåforklaring		
	Nivå 1.	Nivå 2.	Nivå 3.
Proteinkilde	MS (Myse Spraytørket)	MF (Myse Frysetørket) eller MK (Mysekonsentrat)	NF (Nativt Frysetørket) eller NK (Nativt konsentrat)
Batch	Batch 1.	Batch 2.	
Konsentrasjon	10 % total protein	12 % total protein	
V.temperatur	80 °C	90 °C	
V.tid	10 minutter	20 minutter	
Pulver	MS batch 2.	MF batch 1.	NF batch 2.
Aggregering	10 %, 80 °C, 10 min.	12 %, 90 °C, 20 min.	

Tabell 5.4 presenterer ulike nivåer for de fem hovedfaktorene som gav 48 faktorkombinasjoner i forsøk med aggregering av gel. I tillegg viser tabellen faktornivåer hos sammenfalte forsøksfaktorer for modeller som benytter begrepene: Pulver (faktorer for proteinkilde og batch samlet) og aggregering (Faktorer for proteinkonsentrasjon, varmebehandlingstemperatur og varmebehandlingstid samlet). Samlede faktorer benyttes kun for Texture Profile Analysis (TPA)

5.1. pH-analyser

Tabell 5.5 presenterer gjennomsnittlige pH-verdier fra preparering av 10 % løsninger. Tabellen inkluderer pH i destillert vann, sitratbuffer samt løsning før og etter tilsetning av buffer. Gjennomsnittsverdi og standardavvik er beregnet med bakgrunnsdata fra ni analyser.

Tabell 5.5. Gjennomsnittlige pH-resultater for destillert vann, sitratbuffer, 10 % myseproteinløsning før og etter buffertilsetning (u/buff og m/buff). Gjennomsnittresultat for ni analyser for hver proteinkilde (MS, MF og NF)

Prøve ID	Dest. vann (pH)	10 % u/buff. (pH)	Sitratbuffer (pH)	10 % m/buff. (pH)
Myse Spraytørket (MS)	6.23 ± 0.42	6.47 ± 0.06	5.89 ± 0.19	6.20
Myse Frysetørket (MF)	6.06 ± 0.01	6.43 ± 0.09	6.01 ± 0.12	6.20
Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF)	6.12 ± 0.20	6.81 ± 0.03	5.82 ± 0.03	6.20

Tabell 5.5 viser at pH i destillert vann kan variere i stor grad. Variasjon i målinger kan skyldes forhold som at elektroden ikke er optimalt egnet for måling av rene vannløsninger. Lignende variasjon har blitt observert også i tidligere forsøk og variasjonen ble diskutert med laboratorieteknikere og veiledere. Da pH i ferdige løsninger ikke varierte ble pH i destillert vann vurdert som variasjon som ikke påvirker resultater for øvrige analyser. Tabellen viser at pH i løsning etter buffertilsetning er 6.20 etter henstand, men at pH i buffer var noe lavere før tilsetning i løsningen. Gjennomsnittsverdi for tre målte pH-verdier i konsentrater var: 6.44 for MK 1. 6.43 for MK 2. 6.93 for NK 1. og 6.92 for NK 2. Standard avvik var ± 0.012 for ostemysekonsentrat og ± 0.005 for jomfrumysekonsentrat (n=6).

5.2. Oscillerende amplitudesveip og Linear ViscoElastic-range i rheometer

Resultatene for rheometer med oscillerende amplitudesveip er basert på et datasett med tre responsverdier fra to parallelle analyser for hver av 24 faktorkombinasjoner. Responsene var Linear ViscoElastic range (LVE-range) målepunkt for tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . Forsøksfaktorer er proteinkilde (n=16), batch (n=24), proteinkonsentrasjon (n=24), varmebehandlingstemperatur (n=24) og varmebehandlingstid (n=24) ved aggregering.

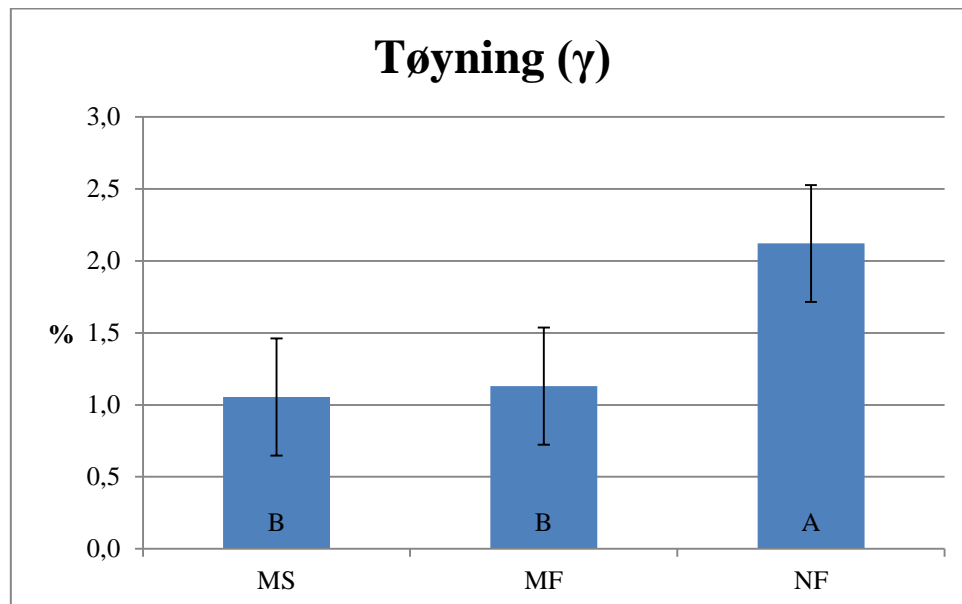
5.2.1 Linear ViscoElastic range responser fra rheometermåling presentert i stolpediagram

I figur 5.18-5.20 presenteres stolpediagram for tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . Disse illustrerer gjennomsnittsverdier for åtte eller seksten responsverdier, for henholdsvis batch eller proteinkilde. Standardavviket som vises i diagrammene er gjennomsnittet av tre standardavvik for ulike proteinkilde-grupper. Standardavviket inkluderer altså ikke den variasjonen som er forårsaket av forsøksfaktor proteinkilde, men all

øvrige variasjon. Standard avvik fra øvrige faktorkombinasjoner er egnet for å vise forskjeller mellom proteinkilde.

Tukeygrupper (95 % konfidensnivå) presenteres i 5.18-5.20. Tukeygrupper ble kalkulert samtidig som p-verdier i Anova General Linear Model (GLM) og viser signifikante forskjeller for forsøksfaktor proteinkilde (Store bokstaver A, B og C) og forsøksfaktor batch (små bokstaver a og b). Tukeygrupper rangeres etter gjennomsnittlig responsverdi, hvor $A > B > C$ og $a > b$. Dette beskriver hvilke faktornivå som har høyest gjennomsnittlige verdi for aktuelle respons.

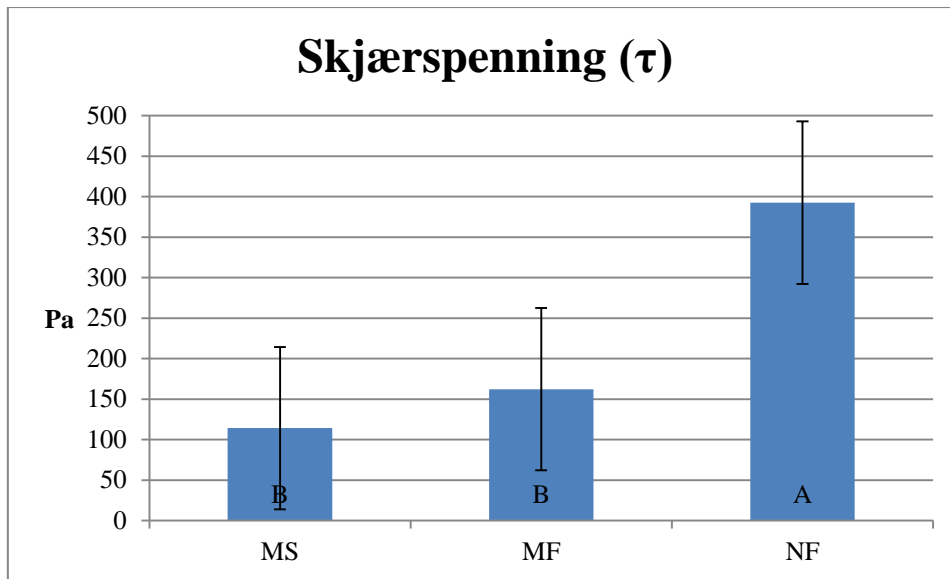
Figur 5.18 presenterer gjennomsnittlige responser for tøyning (γ). Gjennomsnittet er beregnet for grupper basert på proteinkilde. Det var ikke signifikant forskjell mellom batcher. Ordinaten viser enheten prosent (%). R^2 for General Linear Model var 91.86 % for tøyning (γ).



Figur 5.18. Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for tøyning (γ) for Myse Spraytørket (MS) batch 1. og 2., Myse Frysetørket (MF) batch 1. og 2. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) batch 1. og 2. Standardavvik og Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) er inkludert

Figur 5.18 illustrerer at gjennomsnittlige verdier for tøyning (γ) er høyere for geler av typen NF både for Tukeygrupper og stolpediagram.

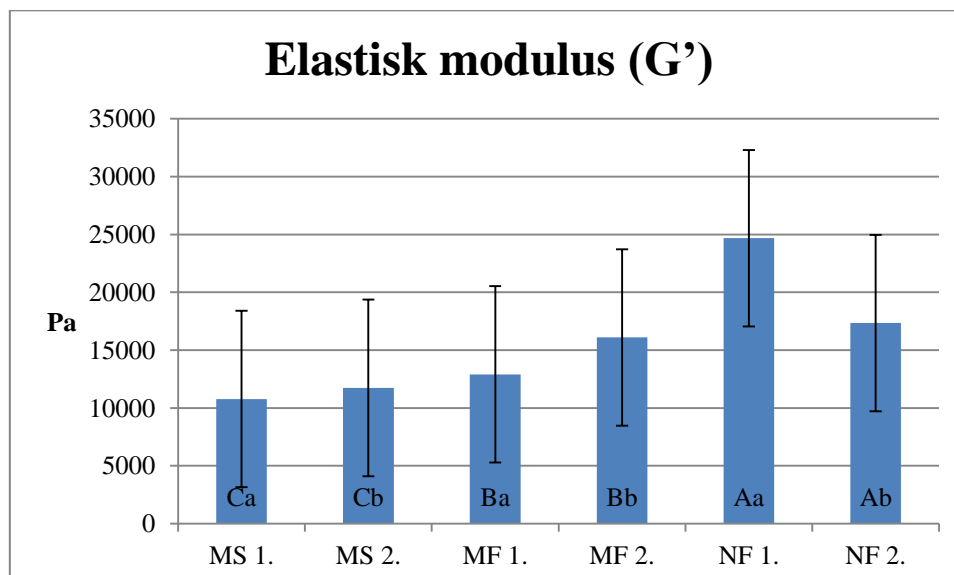
Figur 5.19 presenteres gjennomsnittlige responser for skjærspenning (τ). Gjennomsnittet er beregnet for grupper basert på proteinkilde. Det var ikke signifikant forskjell mellom batcher. Ordinaten viser enheten Pascal (Pa). R^2 for General Linear Model var 84.69 % for skjærspenning (τ).



Figur 5.19. Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for skjærspenning (τ) for Myse Spraytørket (MS) batch 1. og 2., Myse Frysetørket (MF) batch 1. og 2. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) batch 1. og 2. Standardavvik og Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) er inkludert

Figur 5.19 illustrerer at gjennomsnittlige verdier for skjærspenning (τ) er høyere for geler med proteinkilde NF både for Tukeygrupper og stolpediagram.

Figur 5.20 presenterer gjennomsnittlige responser for elastisk modulus G' fra seks ulike grupper basert på proteinkilde og batch. Ordinaten viser enheten Pascal (Pa). R^2 for General Linear Model var 92.30 % for elastisk modulus G' .



Figur 5.20. Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for elastisk modulus G' for Myse Spraytørket (MS) batch 1. og 2., Myse Frysetørket (MF) batch 1. og 2. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) batch 1. og 2. Standardavvik og Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) og batch (a og b) er inkludert

Figur 5.20 illustrerer at gjennomsnittlige verdier for elastisk modulus G' er signifikant ulike for alle ulike proteinkilder og i tillegg for batch 1. og 2. batch med bakgrunn fra Tukeygrupper. 1. er gjennomsnittlig høyere enn batch 2. og proteinkilde type NF er gjennomsnittlig høyere enn proteinkilde type MF som er gjennomsnittlig høyere enn proteinkilde MS. Høyt standardavvik er et resultat av at det var stor variasjon mellom faktorkombinasjoner. Dette gjør forskjellen vanskelig å observere i stolpediagrammet.

5.2.2 Forsøksfaktorer og faktorinteraksjoner: Proteinkonsentrasjon, temperatur og tid

Tabell 5.6 presenteres p-verdier (konfidensnivå 0.05) og Tukeygrupper (95 %) fra Anova General Linear Model (GLM) for alle responser med hensyn til de tre faktorene proteinkonsentrasjon, temperatur og tid. Her presenteres i tillegg faktorinteraksjoner som har en signifikant effekt på de tre responsverdiene. Faktorinteraksjon er påvist ved baklengs eliminering. Tabellen inneholder gjennomsnittsverdier for grupper basert på de ulike faktorene. Tukeygrupper er vist i superscript der nivåer er signifikant ulike for hver forsøksfaktor: Proteinkonsentrasjon, varmebehandlingstemperatur og varmebehandlingstid.

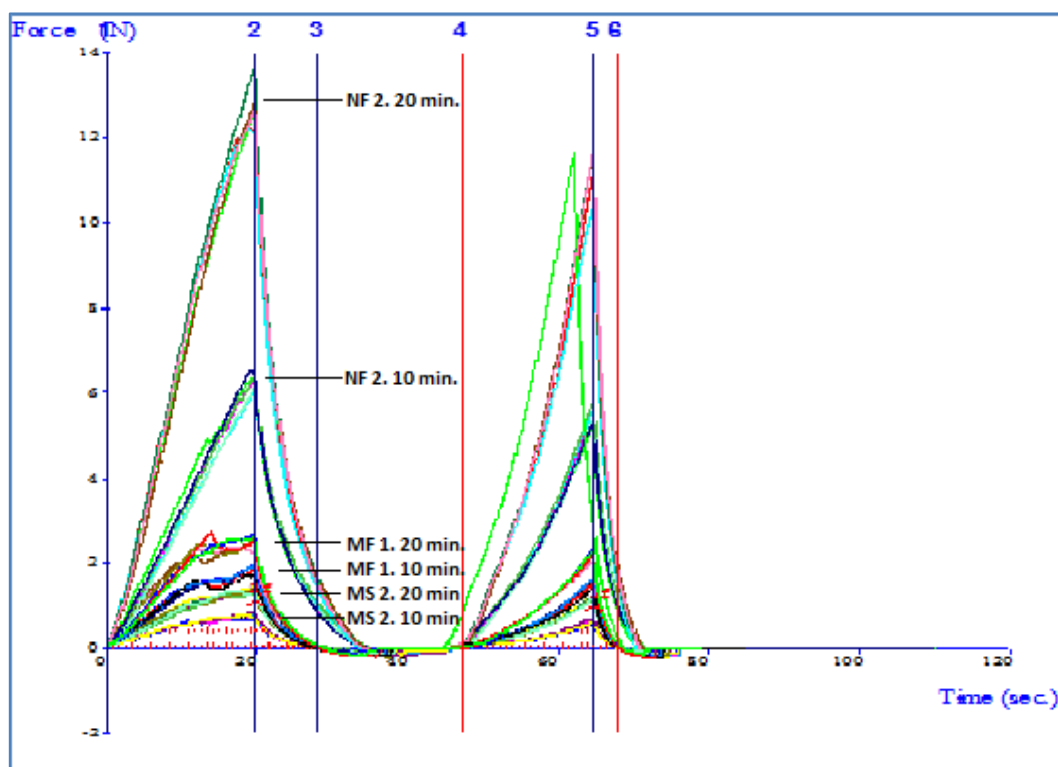
Tabell 5.6. Resultater for Anova General Linear Model analyse av LVE-range verdier for alle tre responser med hensyn til tre faktorer: Proteinkonsentrasjon, temperatur og tid og faktorinteraksjoner som har signifikant innvirkning på for de tre responsene. Ikke-signifikante faktorinteraksjoner er fjernet med baklengs eliminering

Faktor/Interaksjon	Tøyning (γ)			Skjærspenning (τ)			Elastisk modulus (G')		
	p-verdi	Nivå 1.	Nivå 2.	p-verdi	Nivå 1.	Nivå 2.	p-verdi	Nivå 1.	Nivå 2.
Proteinkonsentrasjon	0.000	1.734 ^A	1.136 ^B	0.040	199.1 ^B	246.8 ^A	0.000	14741 ^B	16435 ^A
V.temperatur	0.001	1.567 ^A	1.303 ^B	0.000	175.3 ^B	270.6 ^A	0.000	11482 ^B	19695 ^A
V.tid	0.826	1.427	1.443	0.011	192.8 ^B	253.1 ^A	0.000	13367 ^B	17809 ^A
Proteinkilde·Batch				0.006			0.000		
Proteinkilde·Temp.				0.015			0.003		
Tid·Temperatur				0.005			0.000		
Konsentrasjon·Batch	0.001			0.027					
Konsentrasjon·Kilde	0.000								
Tid·Batch	0.031								

Tabell 5.6 viser at faktorer proteinkonsentrasjon og varmebehandlingstemperatur er signifikante for alle tre responser. Faktoren varmebehandlingstid er signifikant for skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . Faktorinteraksjon mellom proteinkilde og henholdsvis batch og varmebehandlingstemperatur er signifikant for responser skjærspenning og elastisk modulus. Faktorinteraksjon mellom varmebehandlingstid og varmebehandlingstemperatur er signifikant for de samme to responsene.

5.3 Texture Profile Analysis (TPA)

Tekstur i myseproteingel ble målt med en two-bite Texture Profile Analysis. Seks representative geltyper ble tillaget for analysen med en modell basert på forsøksfaktorene pulver (MS 2., MF 1. og NF 2.) (n=12) og aggregering (n=18). Ett pulver ble valgt tilfeldig fra hver proteinkilde. Det var forventet at responsverdi for samme proteinkilde ville vært lik.



Figur 5.21. Texture Profile Analysis kompresjonskurve for kraft og tid for seks målinger av hver faktorkombinasjon. Figuren viser seks grupperinger med faktorkombinasjoner (ovenfra og ned): NF 2. 90 °C, 20 min., NF 2. 80 °C, 10 min., MF 1. 90 °C, 20 min., MF 1. 80 °C, 10 min., MS 2. 90 °C, 20 min. og MS 2. 80 °C, 10 min.

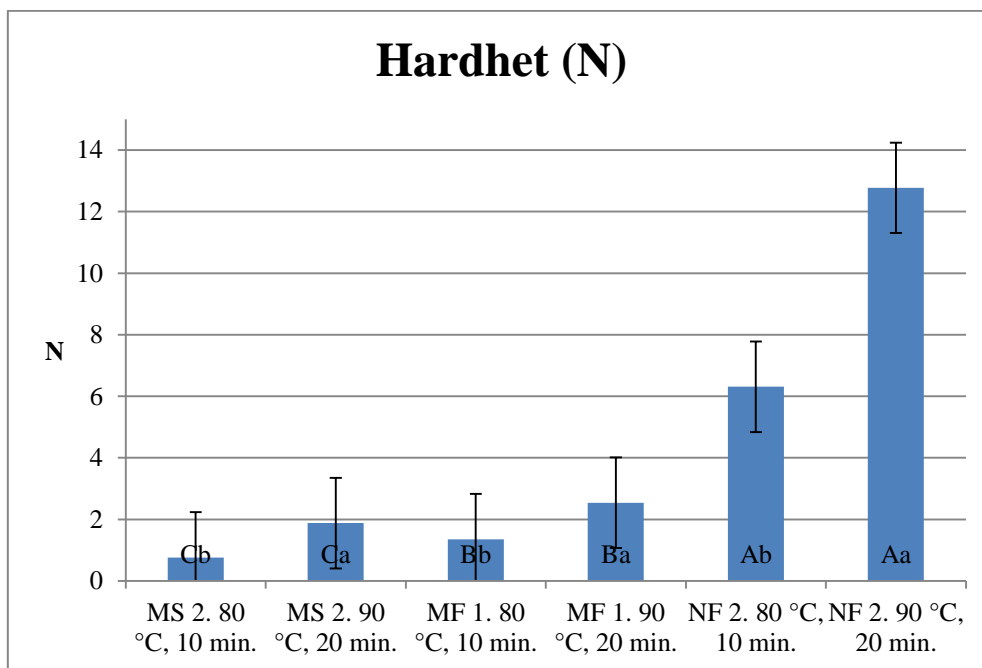
Figur 5.21 illustrerer seks separate grupper med samlede kurver. Disse har samme rekkefølge i kurvehøyde i første og andre kompresjon. Rekkefølgen er beskrevet i figuren. Rekkefølgen viser at Nativ Frysetørket (NF) proteinkilde har høyest målekurve. Samtlige målekurver med 12 %, 90 °C, 20 min. aggregering viser høyere målekurve enn 10 %, 80 °C, 10 min. aggregering.

5.3.1 Responser fra Texture Profile Analysis (TPA) presentert i stolpediagram

Figur 5.22-5.25 presenteres stolpediagram for gjennomsnittsverdier fra fire responsverdier. Hardhet, adhesjon, kohesjon og gummiaktighet Disse illustrerer gjennomsnittsverdier for seks prøver for hver presenterte gruppe. Standardavviket som vises i diagrammene er gjennomsnittet av tre standardavvik for ulike grupper basert på pulver (proteinkilde og batch samlet). Standardavviket inkluderer altså ikke den variasjonen som er forårsaket av

pulvertypen, men all øvrig variasjon. Standard avvik fra øvrige faktorkombinasjoner er egnet for å vise forskjeller mellom representative prøver for pulvertypen. Tukeygrupper (95 % konfidensnivå) blir presentert i figur 5.22-5.25. Tukeygrupper ble kalkulert samtidig som p-verdier i Anova General Linear Model (GLM) og viser signifikante forskjeller for faktorer: Pulver (Store bokstaver A, B og C) og aggregering (små bokstaver a og b). Tukeygrupper rangeres etter gjennomsnittlig responsverdi, hvor $A > B > C$ og $a > b$. Dette beskriver hvilke faktornivå som har høyest gjennomsnittlige verdi for aktuelle respons.

Figur 5.22 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for hardhet i enheten Newton (N). Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer pulver (proteinkilde og batch) og aggregering (konsentrasjon, temperatur og tid). R^2 for General Linear Model (GLM) var 99.74 % for hardhet.

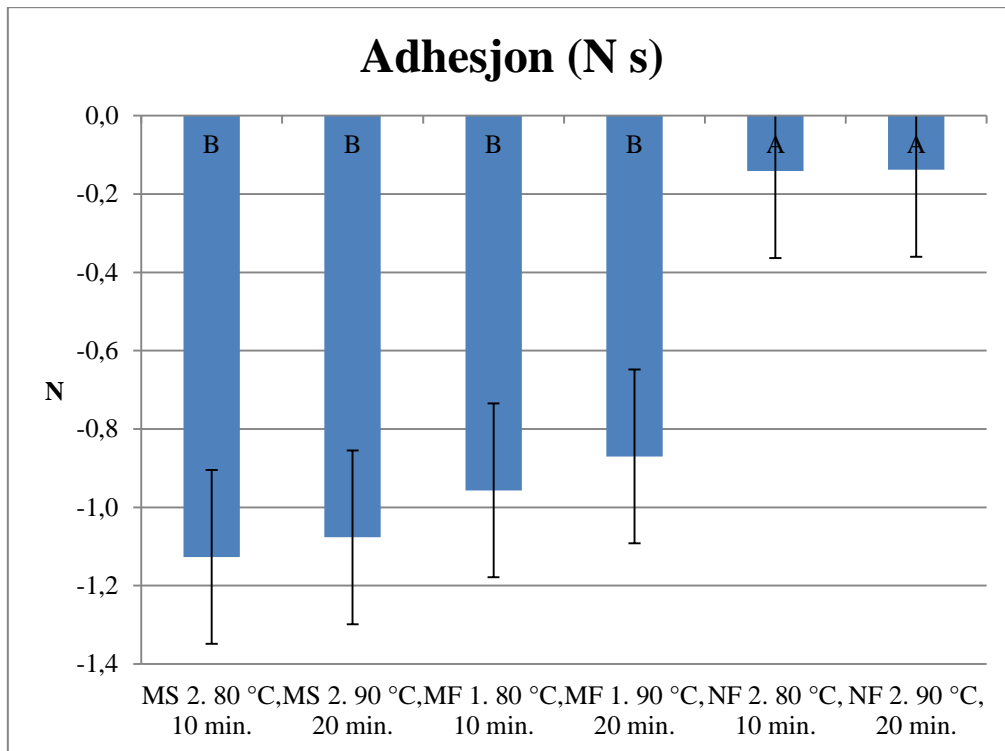


Figur 5.22 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for hardhet for seks ulike geltyper: Myse Spraytørket (MS) 2., Myse Frysetørket (MF) 1. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) 2. med 80 °C, 10 min. og 90 °C, 20 min. varmebehandling. Tukeygrupper for pulver (A, B og C) og aggregering (a og b) er inkludert

Figur 5.22 illustrerer at pulver av typen NF 2. har høyere gjennomsnittsverdi for hardhet med bakgrunn i stolpediagram og Tukeygrupper relativt til ostemysebaserte pulver av typen MS 2 og MF 1. Tukeygrupper viser også at aggregering 12 %, 90 °C, 20 min er signifikant høyere.

Figur 5.23 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for adhesjon i enheten Newton (N s). Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer pulver

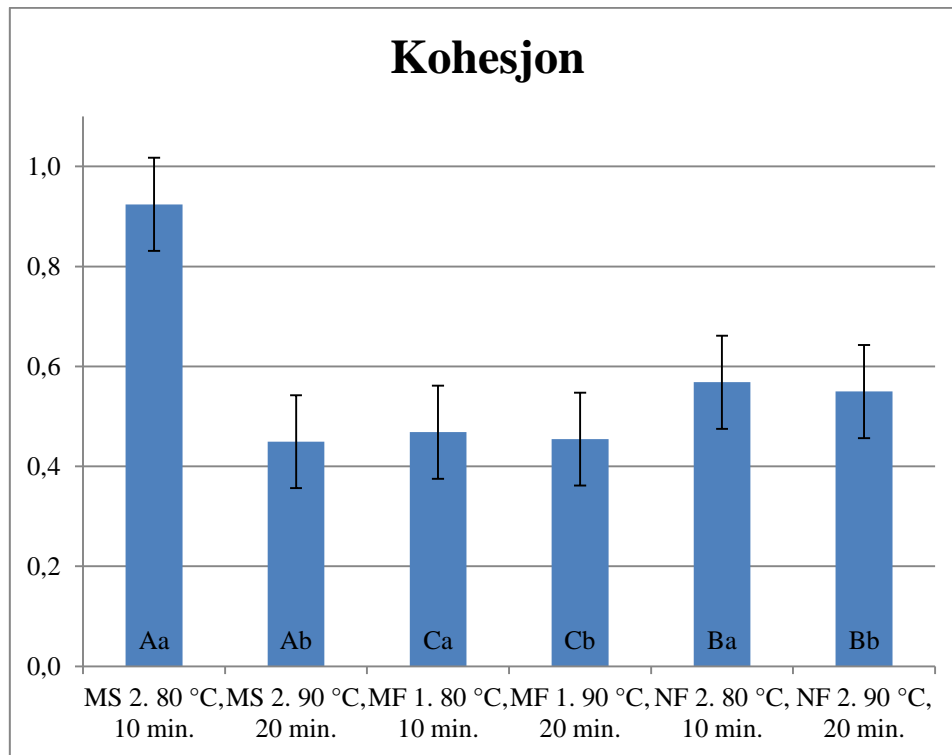
(proteinkilde og batch) og aggregering (konsentrasjon, temperatur og tid). R^2 for General Linear Model (GLM) var 70.80 % for adhesjon.



Figur 5.23 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for adhesjon for seks ulike geltyper: Myse Spraytørket (MS) 2., Myse Frysetørket (MF) 1. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) 2. med 80 °C, 10 min. og 90 °C, 20 min. varmebehandling. Tukeygrupper for pulver (A og B) er inkludert

Figur 5.23 illustrerer at pulver av type MS 2. og MF 1. har lavere negative verdier for adhesjon enn pulver av type NF 2. med bakgrunn fra stolpediagram og Tukeygrupper. Notabene: Dette medfører at disse gelene er mer adhesive siden adhesjon er en negativ respons.

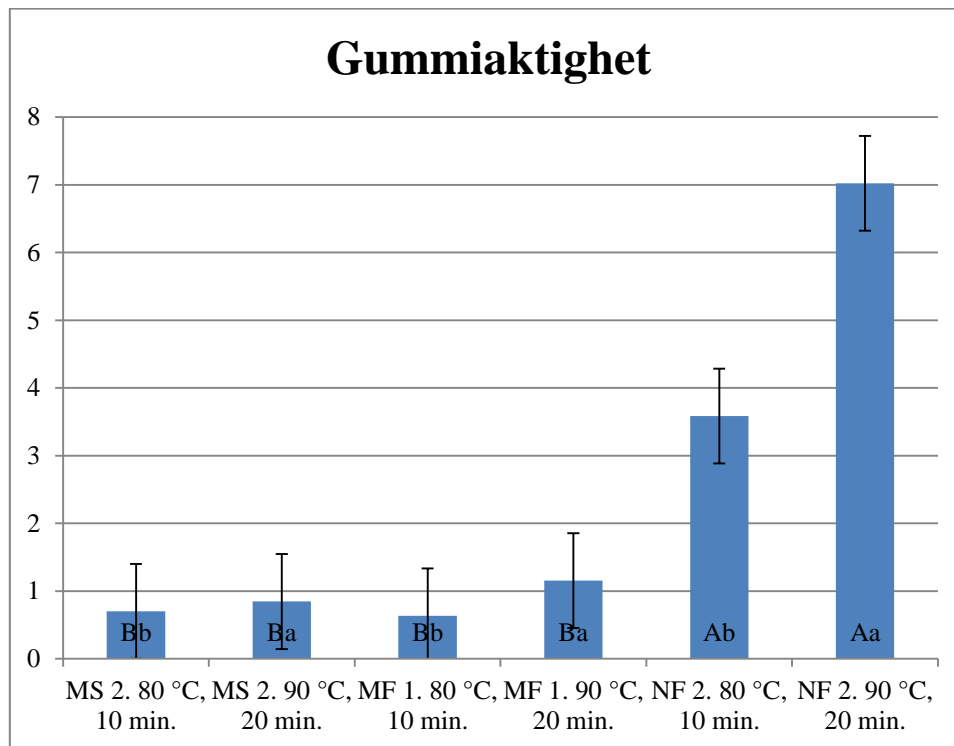
Figur 5.24 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for kohesjon. Denne responsen har ingen enhet men måles her på en ordinat skala fra 0.0-1.0. Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer pulver (proteinkilde og batch) og aggregering (konsentrasjon, temperatur og tid). R^2 for General Linear Model (GLM) var 98.41 % for kohesjon.



Figur 5.24 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for kohesjon for seks ulike geltyper: Myse Spraytørket (MS) 2., Myse Frysetørket (MF) 1. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) 2. med 80 °C, 10 min. og 90 °C, 20 min. varmebehandling. Tukeygrupper for pulver (A, B og C) og aggregering (a og b) er inkludert

Figur 5.24 illustrerer at pulver av typen MS 2. har høyere gjennomsnittsverdi for kohesjon enn pulver av type NF 2. som har høyere gjennomsnittsverdi enn pulver av typen MF 1. med bakgrunn fra Tukeygrupper. Aggregering 12 %, 90 °C, 20 min gir signifikant lavere gjennomsnittsverdier for kohesjon. Resultatet ble brukt for å kalkulere respons for gummiaktighet.

Figur 5.25 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for gummiaktighet. Denne responsen har ingen enhet. Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer pulver (proteinkilde og batch) og aggregering (konsentrasjon, temperatur og tid). R^2 for General Linear Model (GLM) var 99.37 % for gummiaktighet.



Figur 5.25 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig responsverdi for gummiaktighet for seks ulike geltyper: Myse Spraytørket (MS) 2., Myse Frysetørket (MF) 1. og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) 2. med 80 °C, 10 min. og 90 °C, 20 min. varmebehandling. Tukeygrupper for pulver (A og B) og aggregering (a og b) inkludert

Figur 5.25 illustrerer at pulver av typen NF 2. har høyere gjennomsnittsverdi for gummiaktighet enn øvrige pulver med bakgrunn i stolpediagram og Tukeygrupper. Aggregering 12 %, 90 °C, 20 min gir signifikant høyere gjennomsnittsverdier for gummiaktighet.

5.3.2 Faktorinteraksjon: Pulver og aggregering

For å vurdere om faktorinteraksjoner hadde signifikant effekt i geler analysert med Texture Profile Analysis ble faktorinteraksjon mellom pulver og aggregering inkludert i modellen for Anova General Linear Model (GLM). Resultatene viste at faktorinteraksjon mellom pulver og aggregering var signifikant ($P < 0.05$) for hardhet, kohesjon og gummiaktighet, men ikke signifikant for adhesjon.

5.4 Proteinanalyse med Kjeldahl metode

Resultatene for proteinanalyse etter Kjeldahl metode er basert på et datasett med responsverdier fra ni analyser for hver av 16 faktorkombinasjoner fordelt mellom fire konsentrat, seks pulver og seks løsninger. For hver av faktorkombinasjonene ble tre parallelle analyser gjennomført for hver av tre grunnresponser: Total nitrogen (TN), ikke-protein nitrogen (IPN) og ikke-kasein nitrogen (IKN). Utfra disse resultatene ble det kalkulert responsverdier for total protein (TP), nativt myseprotein «Native Whey Protein» (NWP) og kasein (inkludert denaturert myseprotein) (K). Respons (K) er analysert og kalkulert på en slik måte at denaturert myseprotein og kasein påvises samlet. Likevel vil denne responsen konsekvent kalles (K). Kun de tre siste kategoriene blir presentert her fordi det er disse resultatene som best beskriver proteinsammensetningen. IDF standard for Kjeldahl metode stiller krav til variasjonen mellom parallelle målinger, og ikke alle prøveverdier tilfredsstilte disse kravene. Dersom største avvik mellom tre paralleller var høyere enn fastsatte avviksgrenser ble den parallellen som avvok i størst grad fjernet. Dette medfører at resultater presentert her er basert på et datasett med 2 parallelle verdier fra hver faktorkombinasjon. Der ingen paralleller avvok ble de to første parallellene benyttet. Denne elimineringen var støttet av metoden og gav et balansert datasett.

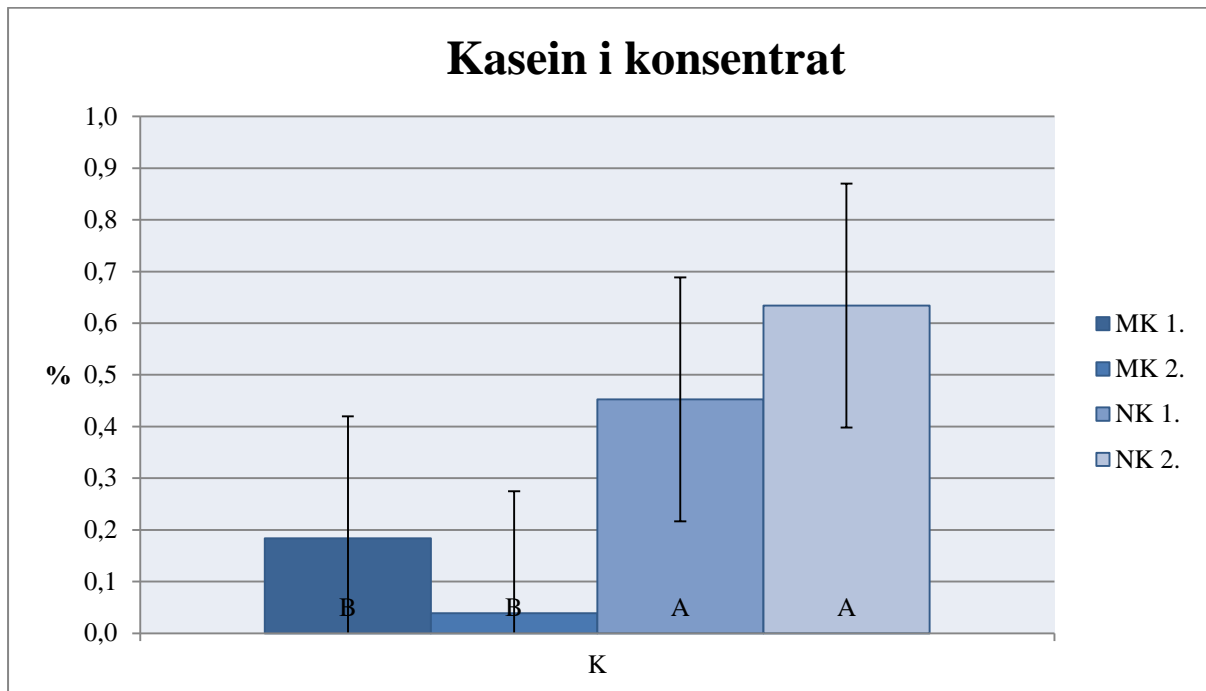
5.4.1 Proteinanalyse av mysekonsentrat, mysepulver og løsning vist som stolpediagram

Figur 5.26-5.31 viser seks stolpediagram for henholdsvis konsentrat, pulver og løsning. Disse illustrerer gjennomsnittlige responsverdier og standard avvik for et datasett med 8 verdier for hver respons for konsentrater. Verdier for hver respons for pulver og løsning er gitt fra et datasett med 12 prøver. Standardavviket i stolpediagrammene viser gjennomsnittlig standardavvik hos henholdsvis kasein (K) og, nativt myseprotein (NWP) og total protein (TP) samlet. Dette var mulig fordi standardavvik for de to siste responsverdiene var tilnærmet like.

Tukeygrupper (95 % konfidensnivå) presenteres i figur 5.26-5.31. Tukeygrupper ble kalkulert samtidig som p-verdier i Anova General Linear Model (GLM) og viser signifikante forskjeller for forsøksfaktor proteinkilde (Store bokstaver A, B og C) og forsøksfaktor batch (små bokstaver a og b). Tukeygrupper rangeres etter gjennomsnittlig responsverdi, hvor $A > B > C$ og $a > b$. Dette beskriver hvilke faktornivå som har høyest gjennomsnittlige verdi for aktuelle respons. Tukeygrupper er kalkulert med en variansanalyse som gir kompleks innsikt i forskjeller mellom grupper av forsøksfaktorer.

For konsentrater var det kun mulig å analysere to proteinkilder: Mysekonsentrat (MK) og nativt jomfrumysekonsentrat (NK). Dette var fordi proteinkilde MS ble gjort tilgjengelig som ferdig pulver. Responsene ble vurdert med hensyn til hvor mye av variasjonen som ble forklart av modellene, med følgende R^2 : Nativt myseprotein, 99.99 %; totalprotein, 99.98 %; kasein, 95.95 %. Faktorer var proteinkilde (n=4) og batch (n=4).

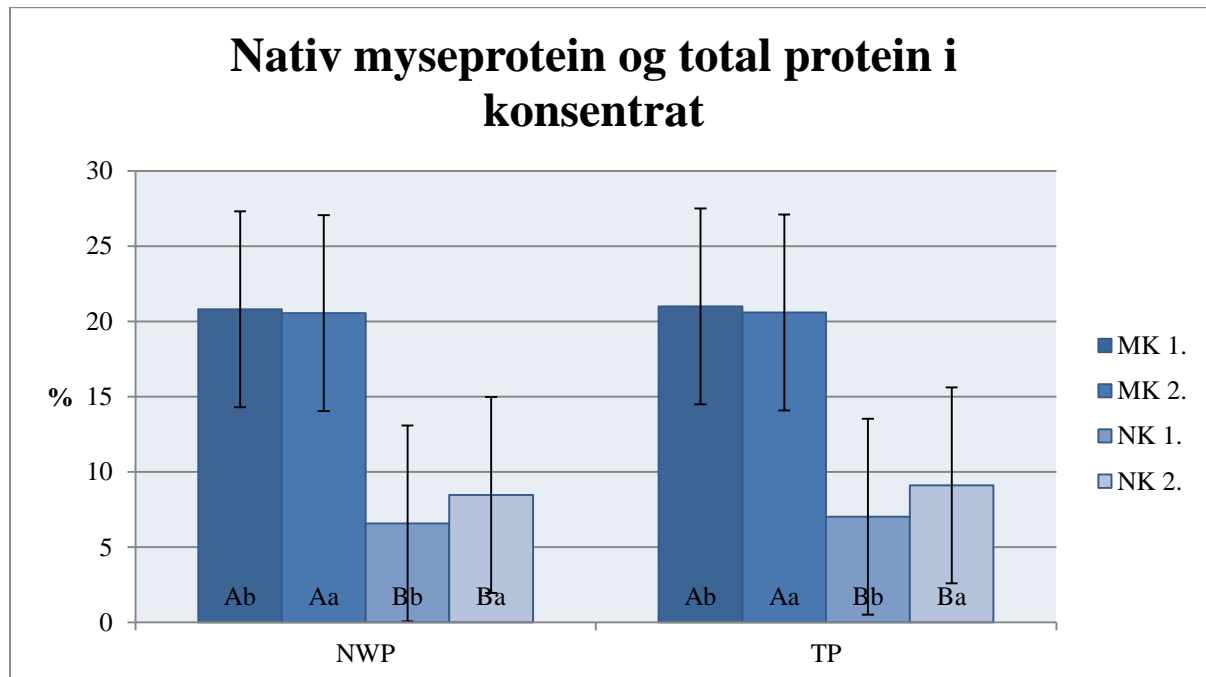
Figur 5.26 presenterer innhold av kasein (K) i to ulike batcher fra to ulike konsentrat.



Figur 5.26. Gjennomsnittlige innhold av kasein (K) i Myse Konsentrat (MK 1. og MK 2.) og Nativt jomfrumyse Konsentrat (NK 1. og NK 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) er inkludert.

Figur 5.26 illustrerer at responsverdi for kasein (K) signifikant ulike for proteinkilde ostemysekonsentrat (MK) og nativt jomfrumysekonsentrat (NK) med bakgrunn fra Tukeygrupper.

Figur 5.27 presenterer innhold av nativt myseprotein (NWP) og total protein (TP) i to ulike batcher fra to ulike proteinkilder.

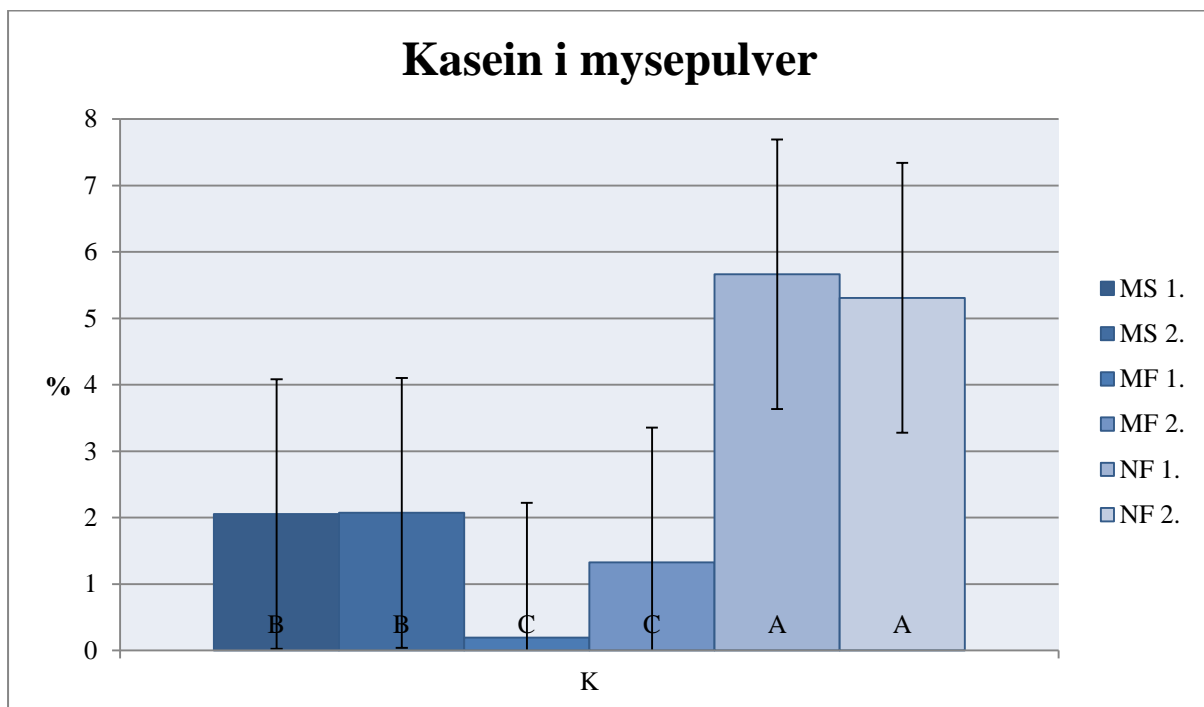


Figur 5.27 Gjennomsnittlige innhold av nativt myseprotein (NWP) og total protein i Myse Konsentrat (MK 1. og MK 2.) og Nativt jomfrumyse Konsentrat (NK 1. og NK 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) og batch (a og b) er inkludert.

Figur 5.27 illustrerer at responsverdier for nativt myseprotein (NWP) og total protein (TP) er signifikant ulike for proteinkilde ostemysekonsentrat (MK) og nativt jomfrumysekonsentrat (NK) med bakgrunn fra Tukeygrupper og delvis med hensyn til standardavvik. Diagrammet illustrerer også at batch 1. og 2. signifikant ulike for begge responsene.

Resultater fra pulveranalyser var spesielt viktige fordi disse gav bakgrunn for resept for løsninger. Responsene ble vurdert med hensyn til hvor mye av variasjonen som ble forklart av modellene, med følgende R^2 : Nativt myseprotein, 99.89 %; totalprotein, 99.98 %; kasein, 99.27 %. Faktorer var proteinkilde (n=4) og batch (n=6)

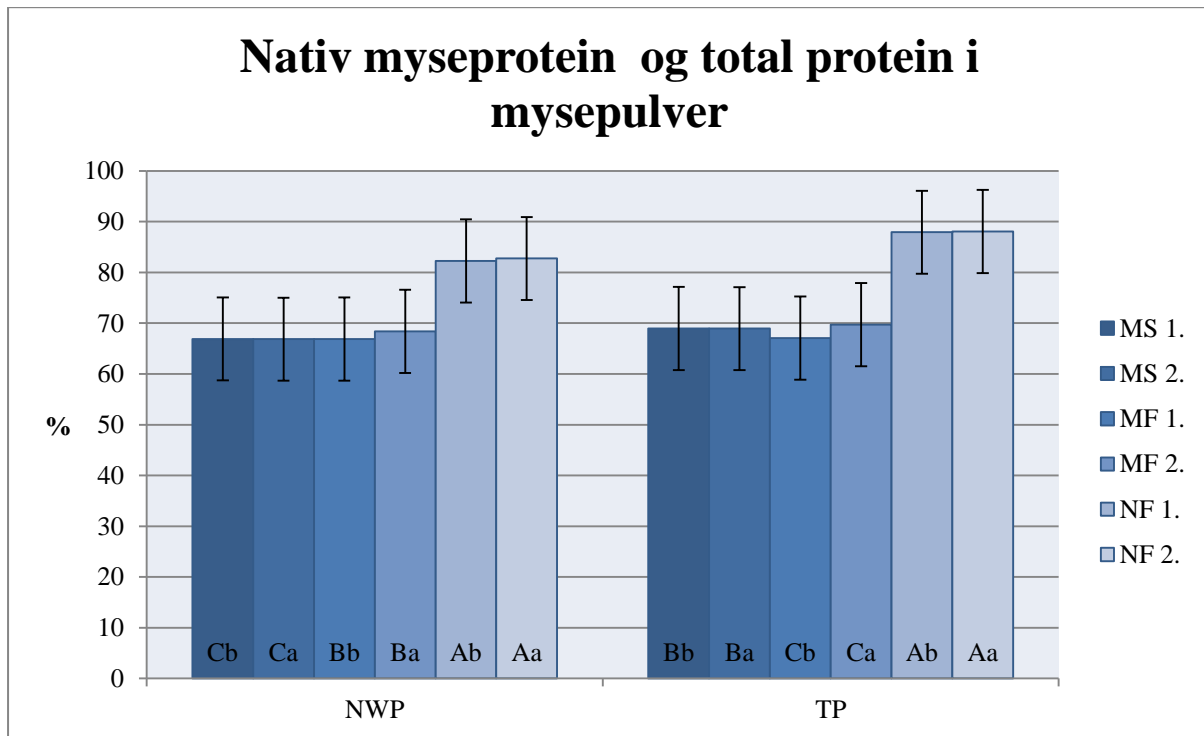
Figur 5.28 presenterer innhold av kasein (K) i to ulike batcher fra tre ulike mysepulver.



Figur 5.28 Gjennomsnittlige innhold kasein (K) i Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) er inkludert.

Figur 5.28 illustrerer at responsverdi for kasein (K) signifikant ulike for proteinkilde myse spraytørket (MS), myse frysetørket (MF) og nativ jomfrumyse frysetørket (NF) med bakgrunn fra Tukeygrupper.

Figur 5.29 presenterer innhold av nativt myseprotein (NWP) og total protein (TP) i to ulike batcher fra tre ulike mysepulver.

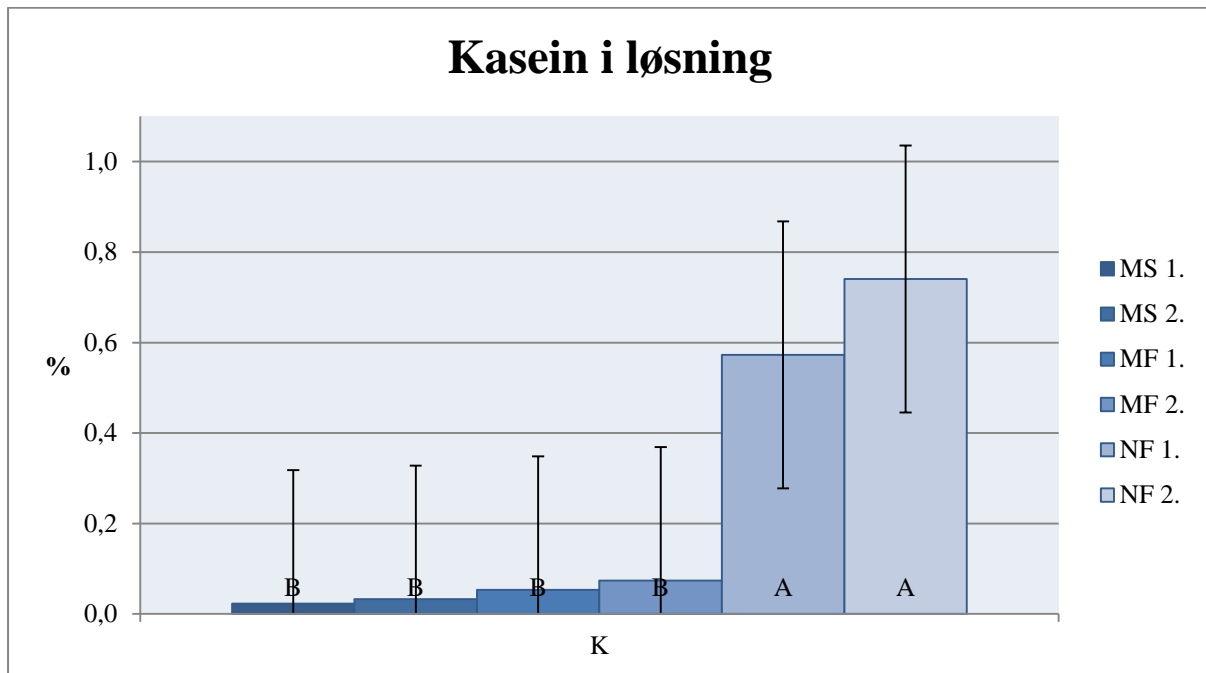


Figur 5.29. Gjennomsnittlige innhold av nativt myseprotein (NWP) og total protein i Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) og batch (a og b) er inkludert.

Figur 5.29 illustrerer at innhold av total protein (TP) og nativt myseprotein (NWP) er signifikant ulike for myse spraytørket (MS), myse frysetørket (MF) og nativ jomfrumyse frysetørket (NF) med bakgrunn fra Tukeygrupper og delvis for standardavvik. Diagrammet illustrerer også at batch 1. og 2. signifikant ulike for begge responsene.

Resultater for løsnings presenterer proteinsammensetning når total innhold protein er standardisert til 10 % i en løsning med sitratbuffer og dest. vann. Responsene ble vurdert med hensyn til hvor mye av variasjonen som ble forklart av modellene, med følgende R^2 : Nativt myseprotein, 99.57 %; totalprotein, 95.21 %; kasein, 98.14 %. Faktorer var proteinkilde (n=4) og batch (n=6)

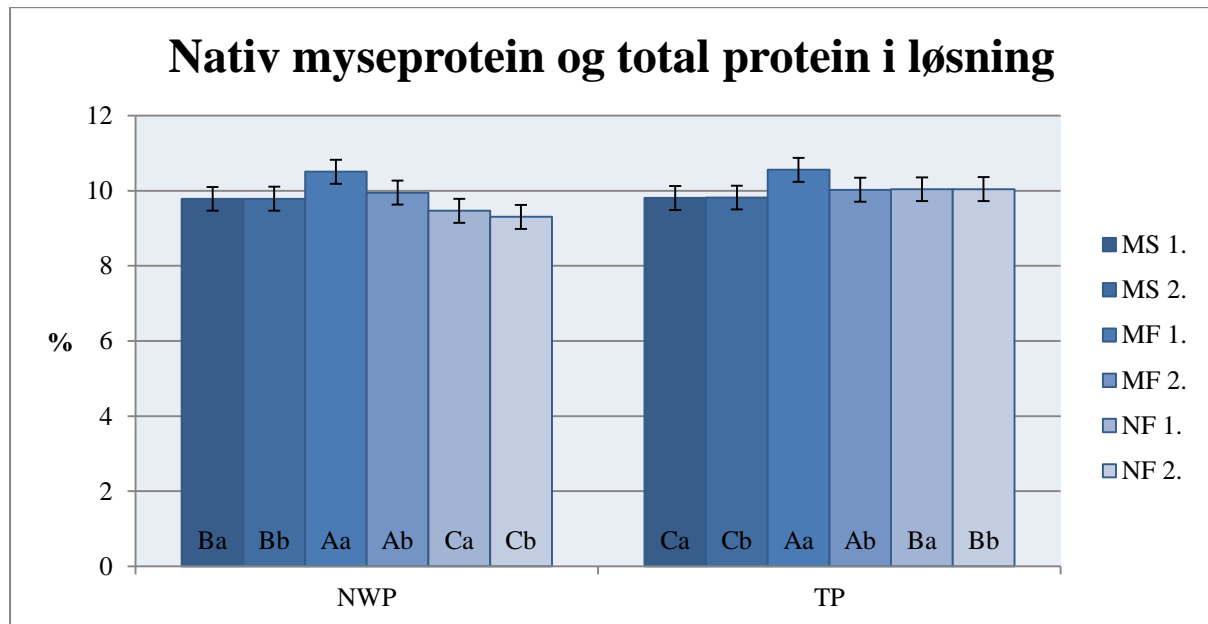
Figur 5.30 presenterer innhold av kasein (K) i to ulike batcher fra tre ulike typer løsning.



Figur 5.30 Gjennomsnittlige innhold av kasein (K) i løsninger av Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) er inkludert.

Figur 5.30 illustrerer at responsverdi for kasein (K) signifikant ulike for proteinkilde nativ jomfrumyse frysetørket (NF) og øvrige løsninger med bakgrunn fra Tukeygrupper og delvis for standardavvik.

Figur 5.31 presenterer innhold av nativt myseprotein (NWP) og total protein (TP) i to ulike batcher fra tre ulike typer løsning.



Figur 5.31. Gjennomsnittlige innhold av total protein (TP) og nativt myseprotein (NWP) i løsninger av Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) og batch (a og b) er inkludert.

Figur 5.31 illustrerer at innhold av nativt myseprotein (NWP) og total protein (TP) er signifikant ulikt for proteinkilde myse spraytørket (MS), myse frysetørket (MF) og nativ jomfrumyse frysetørket (NF) med bakgrunn fra Tukeygrupper. Diagrammet illustrerer også at batch 1. og 2. signifikant ulike for begge responsene.

5.4.2 Faktorinteraksjoner: Proteinkilde og batch

Interaksjonseffekter er statistisk påvist sammenheng mellom ulike faktorer. Tabell 5.7 presenterer p-verdier for sammenheng mellom proteinkilde og batch i konsentrat, pulver og løsning. Valgt signifikansnivå krever $p < 0.05$ for signifikante verdier.

Tabell 5.7 presenterer p-verdier for faktorinteraksjons mellom forsøksfaktor for proteinkilde og batch i konsentrat, pulver og løsning. Responser for kasein (K), native myseprotein (NWP) og total protein (TP).

Faktorinteraksjon mellom proteinkilde og batch			
Responsverdi	Konsentrat	Pulver	Løsning
Kasein (K)	0.026	0.012	0.172
Nativt myseprotein (NWP)	0.000	0.042	0.000
Total protein (TP)	0.000	0.000	0.004

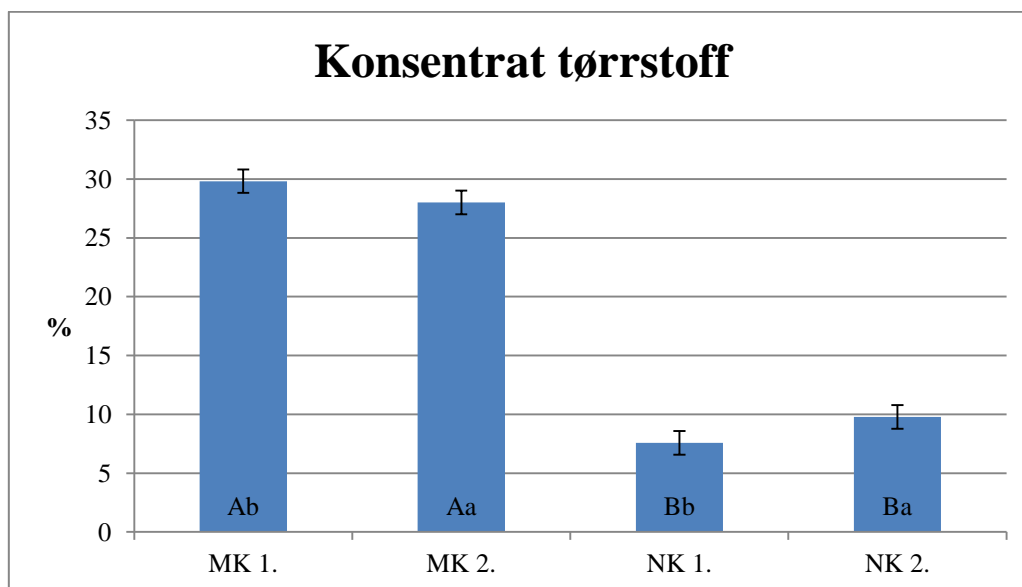
Tabell 5.7 viser faktorinteraksjon som påvirker alle responser i konsentrat, pulver og løsning, med unntak av responsverdi kasein (K) for løsning

5.5 Tørrstoffanalyser

Resultatene for tørrstoffanalyser er basert på et datasett med responsverdier fra tre parallelle analyser for hver av 16 faktorkombinasjoner fordelt mellom fire konsentrat, seks pulver og seks løsninger. For hver av disse skilles ulike faktorkombinasjoner fra hverandre med bakgrunn i to forsøksfaktorer: Proteinkilde (n=6) og batch (n=6 for konsentrat og n=9 for pulver og løsning). R^2 for modellene var 100.00 % for konsentrat, 87.32 % for pulver og 99.90 % for løsning.

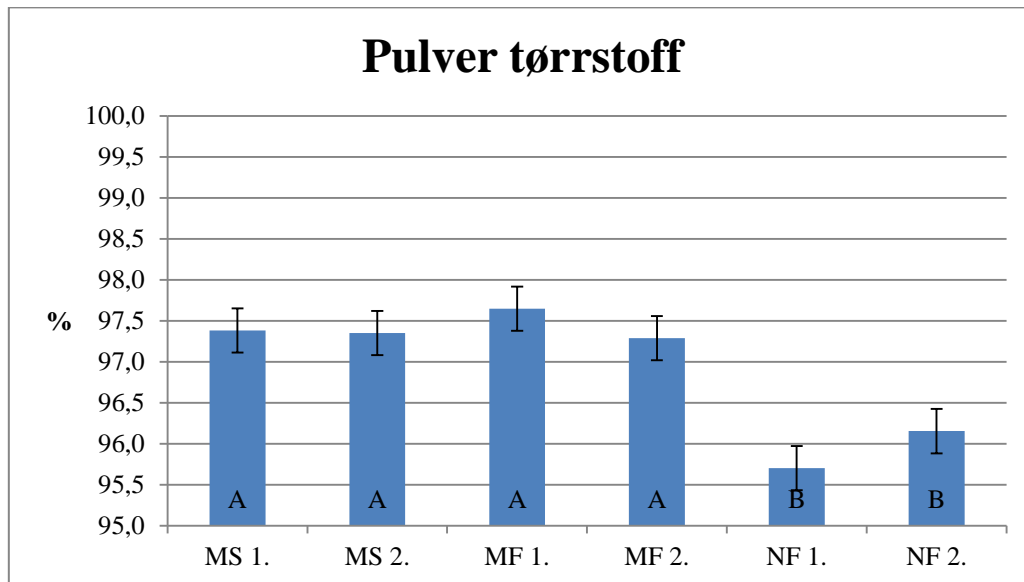
5.5.1 Responser fra tørrstoffanalyser presentert i stolpediagram

Figur 5.32-5.34 viser stolpediagram for henholdsvis konsentrat, pulver og løsning. Disse illustrerer gjennomsnittlige verdier for seks verdier for hver gruppe. Standardavviket viser variasjon for alle faktorer unntatt proteinkilde og inkluderer altså ikke den variasjonen som er forårsaket av denne faktoren. Dette er et resultat av at standard avvik er beregnet for tre ulike blokker fordelt for proteinkilde, hvor man tar gjennomsnitt av de tre resulterende standardavvik. Tukeygrupper (95 % konfidensnivå) presenteres i figur 5.32-5.34. Tukeygrupper ble kalkulert samtidig som p-verdier i Anova General Linear Model (GLM) og viser signifikante forskjeller for forsøksfaktor proteinkilde (Store bokstaver A, B og C) og forsøksfaktor batch (små bokstaver a og b). Tukeygrupper rangeres etter gjennomsnittlig responsverdi, hvor $A > B > C$ og $a > b$. Dette beskriver hvilke faktornivå som har høyest gjennomsnittlige verdi for aktuelle respons.



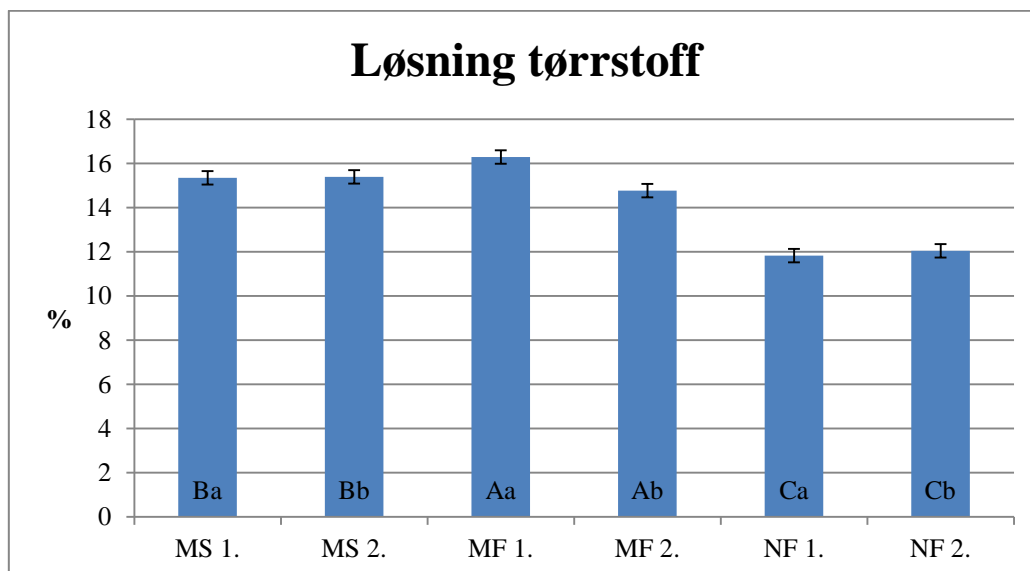
Figur 5.32 Stolpediagram med gjennomsnittlige innhold av tørrstoff i Myse Konsentrat (MK 1. og MK 2.) og Nativ jomfrumyse Konsentrat (NK 1. og NK 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) og batch (a og b) er inkludert

Figur 5.32 viser at tørrstoff er høyere i konsentrater av typen MK med bakgrunn fra Tukeygruppe og standardavvik. Diagrammet illustrerer også at batch 2. har signifikant høyere tørrstoff enn batch 1.



Figur 5.33 Stolpediagram med gjennomsnittlige innhold av tørrstoff i Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) er inkludert

Figur 5.33 viser at tørrstoff er høyere i pulver av typen MS og MF relativt til tørrstoff i pulver av typen NF med bakgrunn fra Tukeygruppe og standardavvik.



Figur 5.34 Stolpediagram med gjennomsnittlige innhold av tørrstoff i løsning av Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) og batch (a og b) er inkludert

Figur 5.34 viser at tørrstoff er signifikant ulikt med hensyn til proteinkilde med bakgrunn fra Tukeygruppe og standardavvik. Diagrammet illustrerer også at det er signifikant ulikt tørrstoff i batch 1. og 2.

5.5.2 Faktorinteraksjoner: Proteinkilde og batch

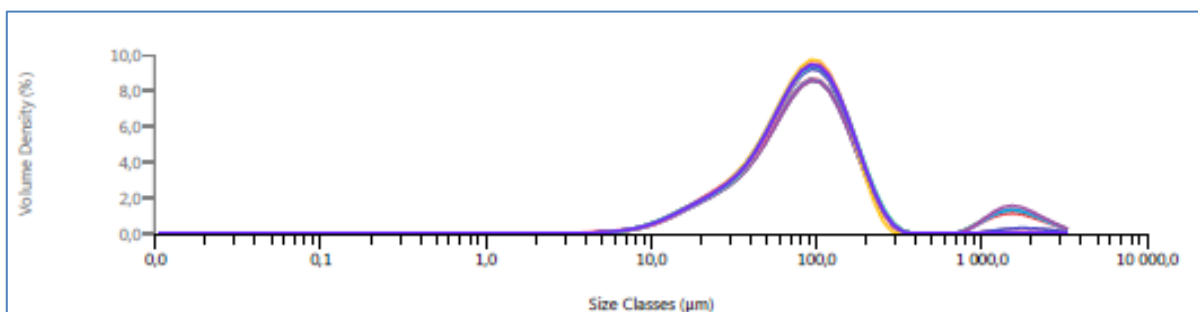
For å vurdere om faktorinteraksjoner hadde signifikant effekt i geler analysert med Texture Profile Analysis ble faktorinteraksjon mellom proteinkilde og batch inkludert i modellen for Anova General Linear Model (GLM). Det ble også laget interaksjonsplot for å vurdere sammenhengene. Resultatene viste at faktorinteraksjon mellom proteinkilde og batch var signifikant ($P = <0.05$) for tørrstoff i konsentrat og løsning, men ikke for pulver.

5.6 Partikkelstørrelser målt med Malvern Mastersizer

Resultatene for Mastersizer-analyser presenterer forskjeller mellom seks ulike pulver basert på to forsøksfaktorer: Proteinkilde ($n=16$) og batch ($n=24$). Åtte parallelle analyser ble registrert for hver av seks faktorkombinasjoner. Mastersizersoftware registrerer datakvalitet som pass/fail for hver enkelt analyse og analyser med dårlig kontroll over obskureringsgrad ble ekskludert av programvaren. Ujevn datakvalitet var vanligvis forårsaket av ujevn mating av pulver som ble manuelt regulert i tørrdispersjonsenhet. R^2 for modellene var 85.84 % for uniformitet, 99.68 % for $D_v(10)$, 93.49 % for $D_v(50)$ og 97.60 % for $D_v(90)$.

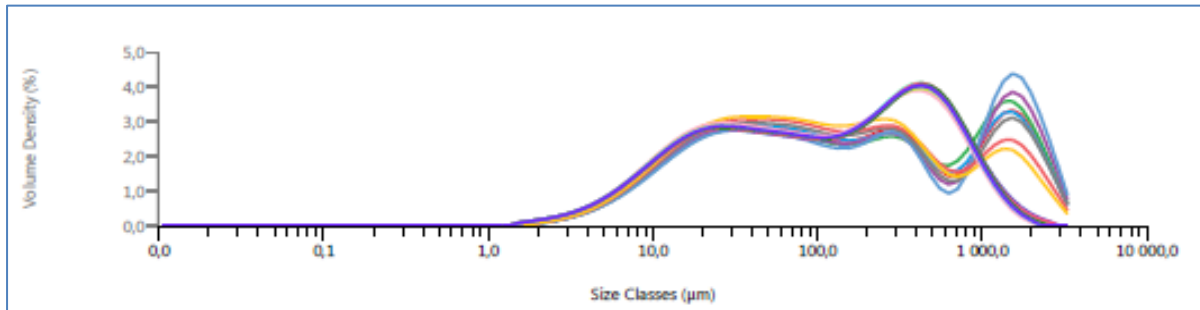
5.6.1 Responser fra Mastersizer-analyser presentert i diagram fra Mastersizersoftware

I figur 5.35-5.37 presenteres tre grafiske fremstillinger av partikkelstørrelsesfordeling for tre ulike proteinkilder, Myse Spraytørket (MS), Myse Frysetørket (MF) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF). Figurene er laget med Mastersizersoftware. Abscissen i diagrammene viser en logaritmisk størrelsesfordeling i μm diameter. Ordinaten viser volumtetthet i prosent. Altså hvor stor volumandel av mysepulver som har aktuelle størrelse.



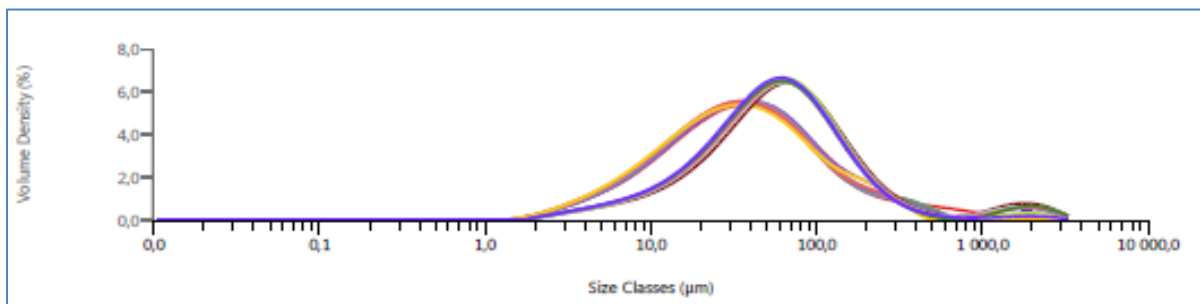
Figur 5.35. Størrelsesfordeling for pulver MS 1. og MS 2., kommersielt spraytørket WPC-80

Figur 5.35 presenterer en jevn kurve for størrelsesfordelingen i kommersielt WPC hvor størsteparten av partiklene har en diameter fra 10 til 200 μm og hvor en topp mot slutten som indikerer en andel partikler med størrelse over 1000 μm diameter. Det er vanskelig å skille kurver for MS 1. og MS 2.



Figur 5.36. Størrelsesfordeling for pulver MF 1. og MF 2., frysetørket og knust ostemysepulver

Figur 5.36 presenterer en noe mer varierende sammensetning i partikkelstørrelser for pulver MF 1. og MF 2. Kurve for mysepulver MF 1. har en variabel topp mot slutten som illustrerer at pulver inneholdt en større andel partikler med en diameter over 1000 μm enn pulver av typen MS og NF. Størsteparten av partiklene ligger likevel i en størrelsesklasse mellom 10 og 500 μm diameter.



Figur 5.37. Størrelsesfordeling for pulver NF 1. og NF 2., frysetørket og knust jomfrumysepulver

Figur 5.37 for pulver NF 1. og NF 2. presenterer to kurver som ligger nærme hverandre men som har ulike stigning og ulik topphøyde. Hoveddelen av partiklene ligger i en størrelsesklasse mellom 10 og 200 μm diameter med en liten topp også i området for partikler med en diameter over 1000 μm diameter.

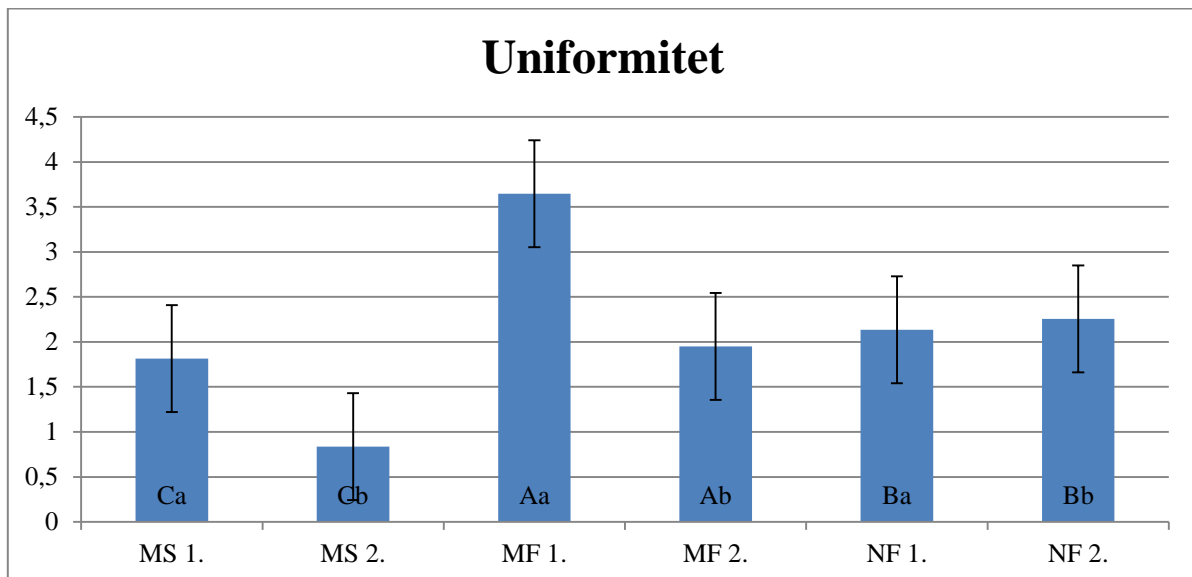
5.6.2 Responser fra Mastersizer-analyse presentert i stolpediagram

I figur 5.38-5.41 presenteres stolpediagram for gjennomsnittsverdier fra hver av fire responser: Uniformitet, Dv (10), Dv (50) og Dv (90). Disse illustrerer gjennomsnittsverdier for 8 prøver for hver presenterte gruppe. Standardavviket viser variasjon for alle faktorer

unntatt proteinkilde. Standard avvik er beregnet for tre ulike blokker fordelt mellom proteinkilder som ble analysert. Gjennomsnitt av de tre resulterende standardavvik for aktuelle respons er vist i diagrammene.

Tukeygrupper (95 % konfidensnivå) presenteres i figur 5.38-5.41. Tukeygrupper ble kalkulert samtidig som p-verdier i Anova General Linear Model (GLM) og viser signifikante forskjeller for faktorer: Proteinkilde (Store bokstaver A, B og C) og batch (små bokstaver a og b). Tukeygrupper rangeres etter gjennomsnittlig responsverdi, hvor $A > B > C$ og $a > b$. Dette beskriver hvilke faktornivå som har høyest gjennomsnittlige verdi for aktuelle respons.

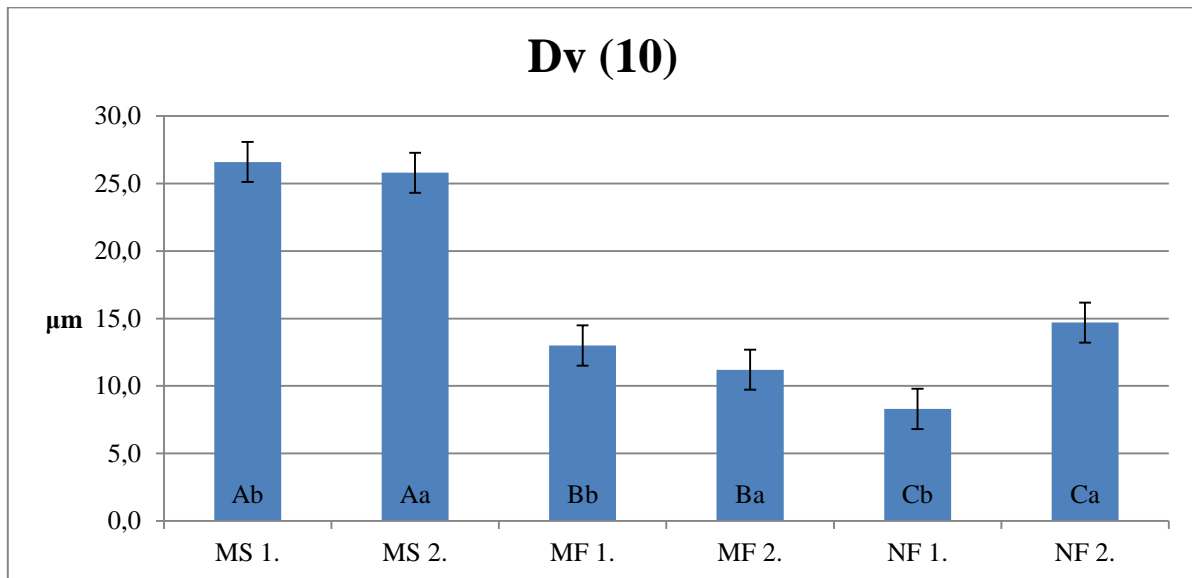
Figur 5.38 presenterer responsverdien uniformitet. Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer proteinkilde og batch. Uniformitet er en respons uten enhet. Høy responsverdi er assosiert med dårlig uniformitet.



Figur 5.38 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig uniformitet for seks ulike geltyper: Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) og batch (a og b) er inkludert

Figur 5.38 illustrerer at gjennomsnittsverdi for uniformitet hos proteinkilde MF er høyere enn hos proteinkilde NF, som igjen viser høyere gjennomsnittsverdi enn hos proteinkilde MS med bakgrunn fra Tukeygrupper. Batch 1. viser høyere gjennomsnittsverdi enn batch 2.

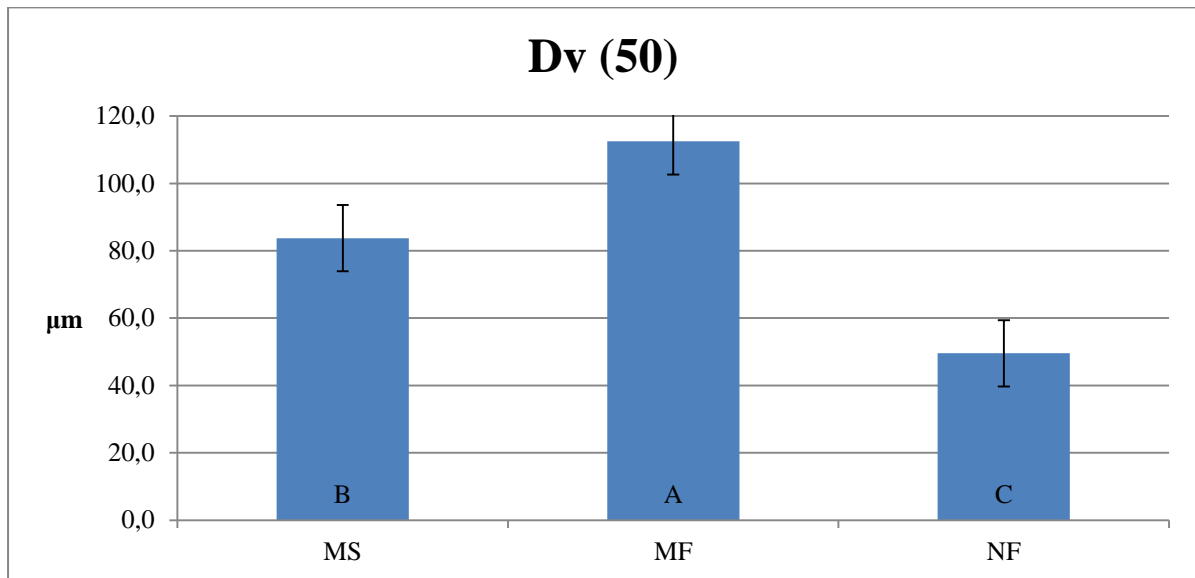
Figur 5.39 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for Dv (10) i enheten μm . Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer proteinkilde og batch.



Figur 5.39 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig Dv (10) for seks ulike geltyper: Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) og batch (a og b) er inkludert

Figur 5.39 illustrerer at gjennomsnittsverdi for Dv (10) hos proteinkilde MS er høyere enn hos proteinkilde MF, som igjen viser høyere gjennomsnittsverdi enn hos proteinkilde NF med bakgrunn fra Tukeygrupper. Batch 2. viser høyere gjennomsnittsverdi enn batch 1.

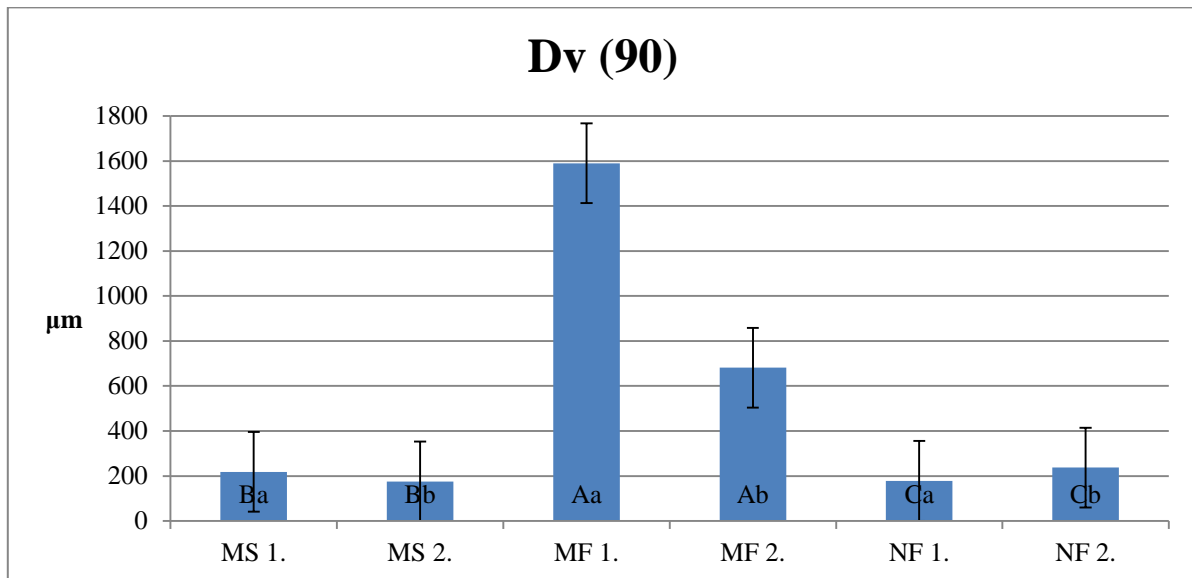
Figur 5.40 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for Dv (50) i enheten μm . Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra tre ulike grupper basert på forsøksfaktor for proteinkilde. Batch viste ikke signifikant effekt på denne responsverdien.



Figur 5.40 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig Dv (50) for tre ulike geltyper: Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A og B) er inkludert

Figur 5.40 illustrerer at gjennomsnittsverdi for Dv (50) hos proteinkilde MF er høyere enn hos proteinkilde MS, som igjen viser høyere gjennomsnittsverdi enn hos proteinkilde NF med bakgrunn fra Tukeygrupper og standardavvik

Figur 5.41 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for Dv (90) i enheten μm . Diagrammet presenterer gjennomsnittsverdier fra seks ulike grupper basert på faktorer proteinkilde og batch.



Figur 5.41 Stolpediagram som illustrerer gjennomsnittlig Dv (90) for seks ulike geltyper: Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.). Tukeygrupper for proteinkilde (A, B og C) og batch (a og b) er inkludert

Figur 5.41 illustrerer at gjennomsnittsverdi for Dv (90) hos proteinkilde MF er høyere enn hos proteinkilde MS, som igjen viser høyere gjennomsnittsverdi enn hos proteinkilde NF med bakgrunn fra Tukeygrupper. Batch 1. viser høyere gjennomsnittsverdi enn batch 2. Legg merke til at MF 1. skiller seg fra MF 2. med hensyn til gjennomsnittlig Dv (90)

5.6.3 Faktorinteraksjoner: Proteinkilde og batch

For å vurdere om faktorinteraksjoner hadde signifikant effekt på pulver analysert med Malvern Mastersizer ble faktorinteraksjon mellom proteinkilde og batch inkludert i modellen for Anova General Linear Model (GLM). Det ble også laget interaksjonsplot for å vurdere sammenhengene. Resultatene viste at faktorinteraksjon mellom proteinkilde og batch var signifikant ($P = <0.05$) for alle fire responser.

5.7 Uløselighetsindeks i mysepulver

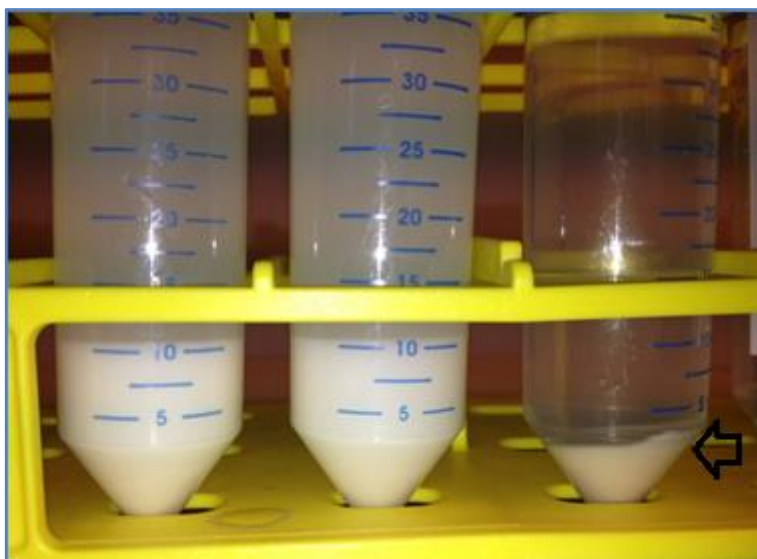
Resultatene for uløselighetsindeks presenterer forskjeller mellom løselighet i seks ulike pulvere med og uten justering av pH. Faktorer var proteinkilde og batch.

5.7.1 Analyse av uløselighetsindeks som beskrevet i IDF 129

Alle analyserte pulvere er løselige med et sediment <5 mL (24 °C). Sedimentlaget for pulvere av typen MS 1., MS 2., MF 1. og MF 2. estimeres til å ha ~1 mm høyde. Lagring av rørene uten forstyrrelse i tre dager ved 4 °C gav en liten økning i sedimentmengde for disse pulvere. Pulvere av typen NF 1. og NF 2. gav ikke sediment i rørene, selv etter lagring ved 4 °C i tre dager. Forsøket ble gjennomført to ganger med samme resultat for hvert gjentak.

5.7.2 Analyse av uløselighetsindeks med pH-justering til pH 6.4

Alle analyserte pulvere har økt grad av sedimentering etter pH-justering. Sedimentlaget for pulvere av typen MS 1., MS 2., MF 1. og MF 2. gav alle samme resultat: 10 mL (24 °C). Pulvere av typen NF 1. og NF 2. gav fremdeles resultatet <5 mL (24 °C) men hadde et sediment med en høyde som steg høyere enn halvveis opp til målelinje for 5 mL (Bilde 5.42, indikert med pil). Forsøket ble gjennomført to ganger med samme resultat for hvert gjentak.

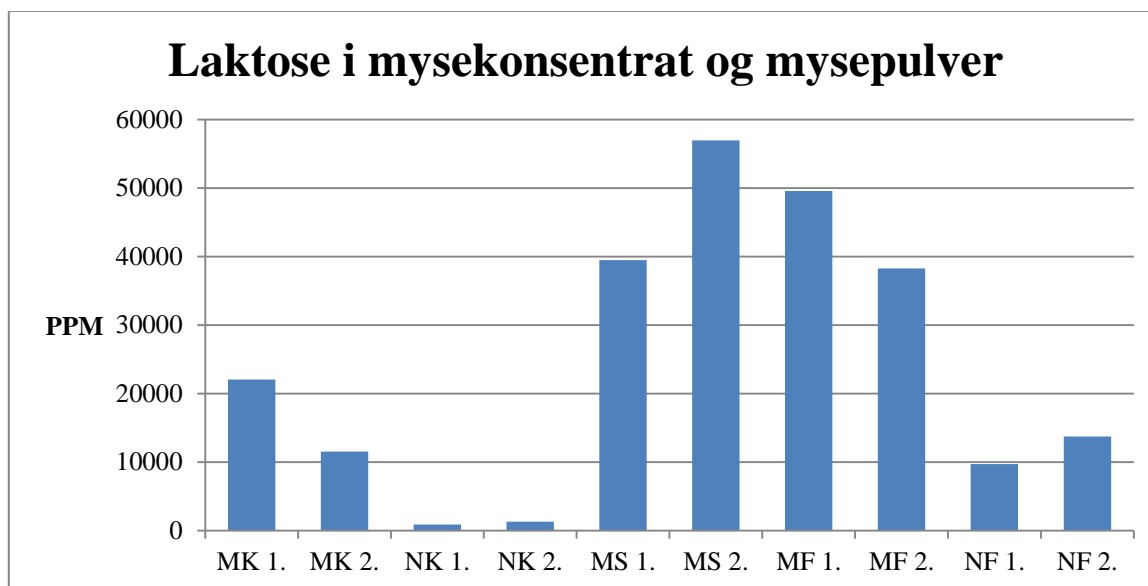


Bilde 5.42 Fra venstre mot høyre: Løsning pH 6.40 for MS 1., MF 1. og NF 1. etter sentrifugering (Even Gausemel)
De to røret til venstre er ostemysebaserte pulvere. Røret til høyre med lavere sedimentlag er jomfrumysepulver

Bilde 5.42 illustrerer forskjell i uløselighetsindeks for spraytørket/frysetørket ostemysekonsentrat (venstre) og frysetørket jomfrumysepulver (høyre) ved pH-justering til pH 6.4.

5.8 HPLC-analyse av laktose i mysekonsentrat og -pulver

HPLC ble brukt som støtteanalyse i dette studiet for å kvantifisere innhold av laktose i konsentrat og pulver. HPLC analysen ble i tillegg brukt sammen med mikrobiologi for å kvalitetskontrollere konsentrater før frysetørking. I tillegg til laktose ble også innhold av organiske syrer analysert. Det avviste konsentratet var det eneste analyserte produktet som hadde betydelige mengder organiske syrer. Resultatene for organiske syrer er derfor ikke tatt med her.

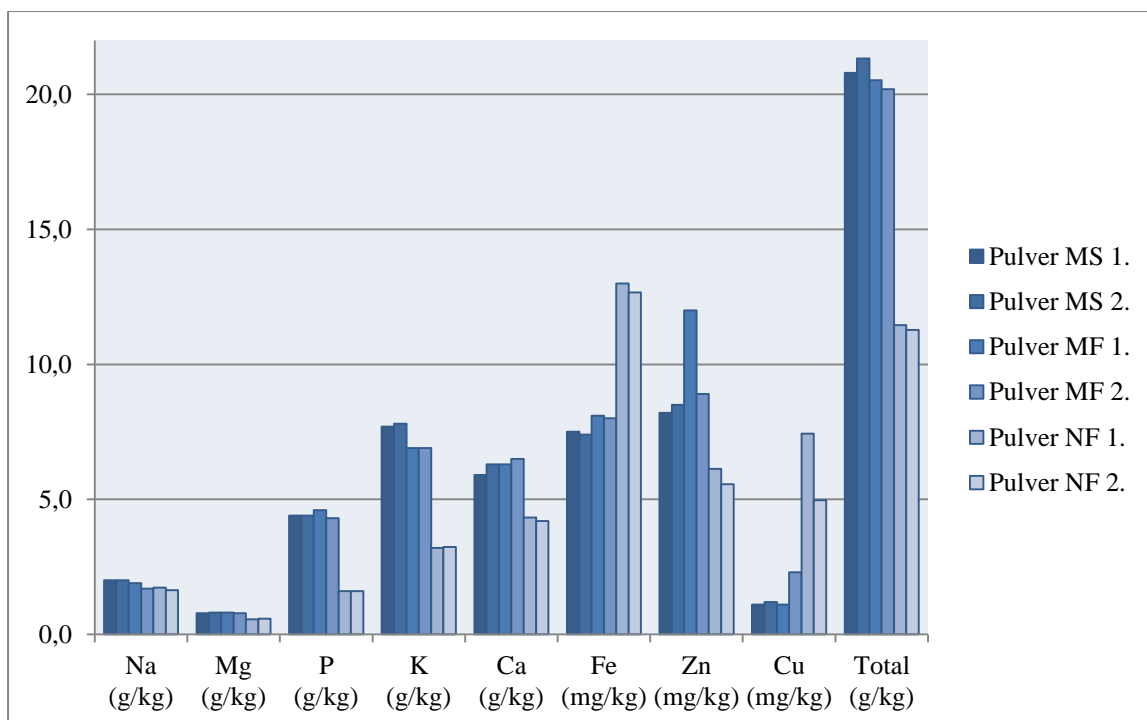


Figur 5.43 Laktoseinnhold i mysekonsentrater og -pulver målt i Parts Per Million (PPM). Verdier for Myse Konsentrat (MK), Nativt Konsentrat (NK), Mysekonsentrat Spraytørket (MS), Mysekonsentrat Frysetørket (MF) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF)

Figur 5.43 illustrerer at konsentrat av typen MK hadde et høyere innhold av laktose enn konsentrat av typen NK hvor dette innholdet var lavt. Mysepulver av typene MS og MF har høyere verdier for laktose enn mysepulver av typen NF.

5.9 Mineralanalyse av mysepulver

Mineralanalysen ble gjennomført en gang for hvert pulver, med unntak for pulver av proteinkilde Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF) hvor resultatet er et gjennomsnitt av tre responsverdier. Diagram i figur 5.44 presenterer gjennomsnittsverdier for alle faktorkombinasjoner i enhet mg/kg eller g/kg avhengig av mineral. Total innhold viser summert innhold av de analyserte mineralene og ekskluderer andre mineraler.

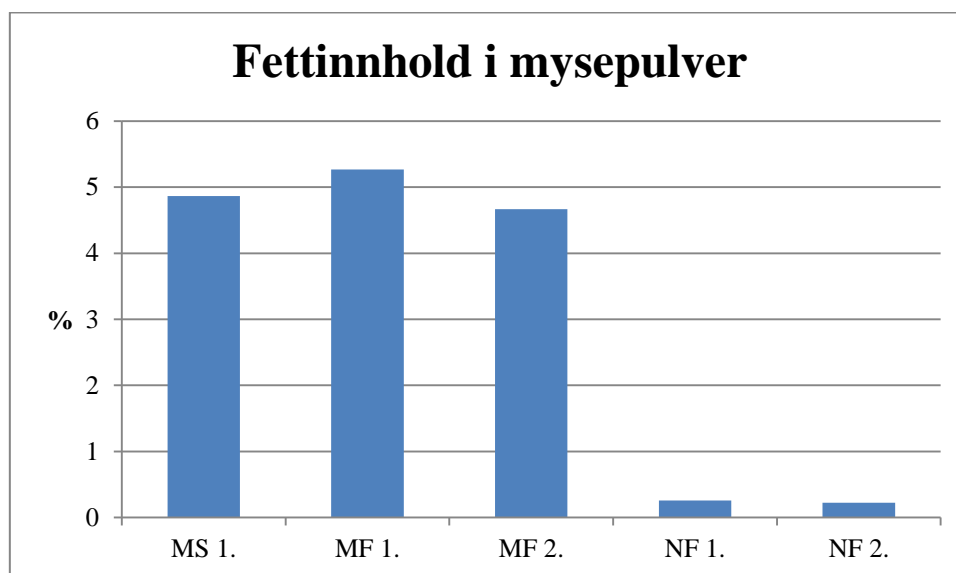


Figur 5.44. Stolpediagram som illustrerer mineralinnhold for alle mysepulver samlet med verdier i g/kg eller mg/kg. Verdier for Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1. og MS 2.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.)

Figur 5.44 indikerer at innhold av mineraler er relativt likt for mineralene: Natrium (Na) og magnesium (Mg). Diagrammet indikerer at pulver med proteinkilde NF har lavere innhold enn øvrige pulver for mineralene: Fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca) og zink (Zn). Proteinkilde NF har høyere innhold enn øvrige pulver for mineralene: Jern (Fe) og kobber (Cu). Pulver av proteinkilde MS og MF er mindre ulike. Til høyre i diagrammet vises summert mengde mineraler samlet for de åtte mineralene. Disse summerte verdiene er betydelig høyere for proteinkilde MS og MF.

5.10 Schmidt-Bondzynski-Ratzlaff (SBR) analyse av fettinnhold i mysepulver

Analyse av fettinnhold i mysepulver ble gjennomført to ganger for hvert pulver. I Figur 5.45 presenteres et diagram med gjennomsnittsverdier for fem mysepulver. Fettinnhold i MS 2. ble ikke analysert. Variasjon i fettinnhold antas å være lavere enn for variasjon i proteininnhold, som var lav for kommersielt WPC-80 pulver.

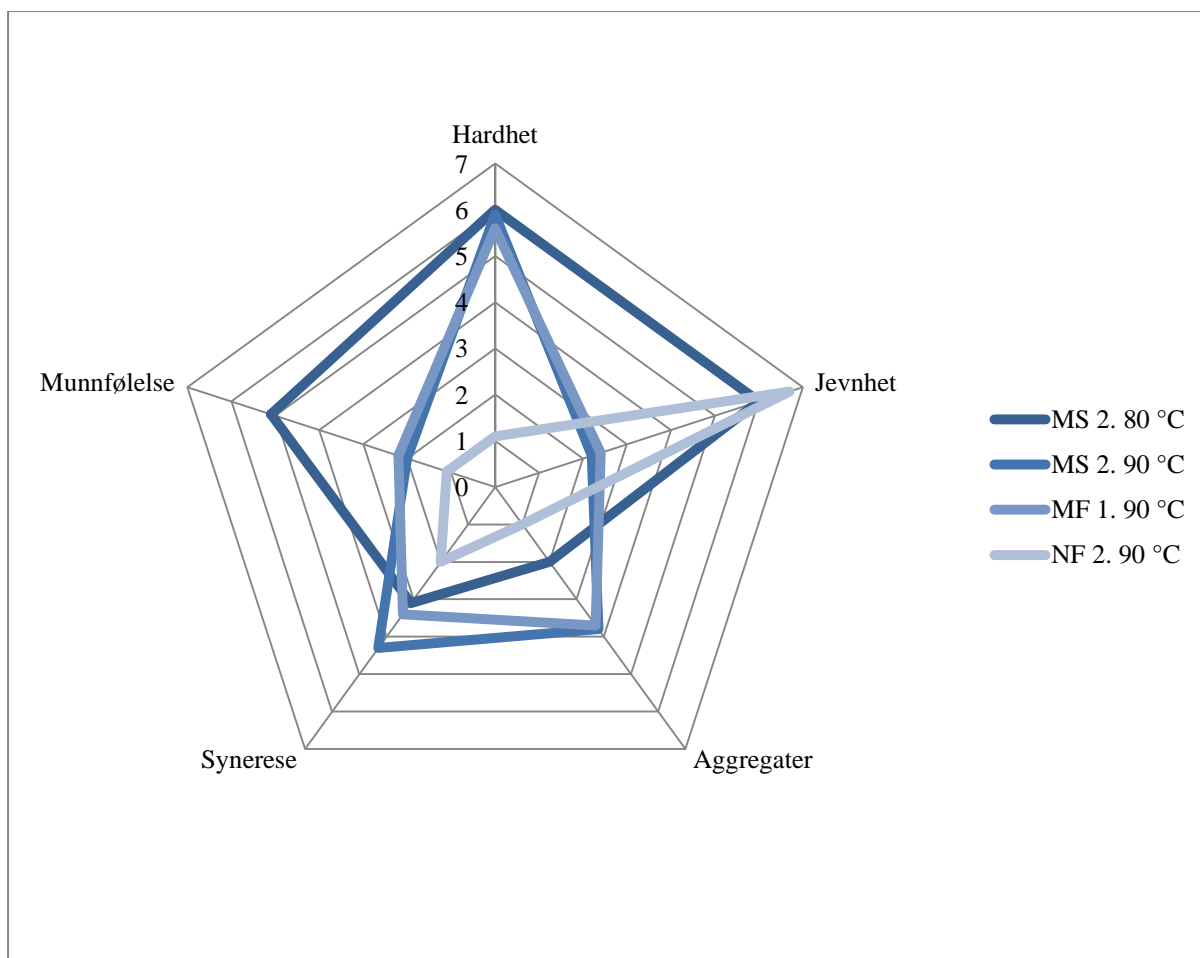


Figur 5.45 Stolpediagram som illustrerer vektprosent fettinnhold for Mysekonsentrat Spraytørket (MS 1.), Mysekonsentrat Frysetørket (MF 1. og MF 2.) og Nativ jomfrumyse Frysetørket (NF 1. og NF 2.)

Figur 5.45 illustrerer at mysepulver av typene MS og MF har høyere verdier for fettinnhold enn mysepulver av typen NF. Fettinnholdet i pulver NF 1. og NF 2. er lavt.

5.11 Sensorisk vurdering av aggregert gel med sukrose

Faktorkombinasjon 10 % NF 2. 80 °C i 10 min ble ikke vurdert. Dette fordi denne faktorkombinasjonen ikke gav en aggregert gel som holdt sin egen form etter avkjøling. Faktorkombinasjon 10 % NF 2. 90 °C i 20 min ble vurdert, men hadde lignende egenskaper. Denne gelen holdt formen minimalt og kan beskrives som meget viskøs masse heller enn som gel. Faktorkombinasjon 10 % MF 1. 80 °C i 10 ble valgt bort fordi den var meget lik 10 % MS 2. 80 °C i 10, og fordi det var uønsket å ha mer enn fire prøver for en slik vurdering. Dette er fordi man ved sensorisk bedømmelse vil få redusert evne til å skille prøver ved gjentatt bedømmelse over tid (Lawless and Heymann, 2010). Figur 5.46 presenterer gjennomsnittlige responsverdier for de fire vurderte gelene, vurdert av et utrent panel med 10 respondenter. De fire gelene ble vurdert for fem karakteristika: Hardhet (meget lav - meget høy), jevnhet (meget lav - meget høy), aggregater (meget lite - meget mye), synerese (meget lite - meget mye) og munnfølelse (meget dårlig - meget god).



Figur 5.46 Polardiagram som viser fem gjennomsnittlige responsverdier for fire ulike geler: Myse Spraytørket 80°, 10 min.; Myse Spraytørket 90°, 20 min.; Myse Frysetørket 90°, 20 min. og Nativ jomfrumyse Frysetørket Myse 90°, 20 min. Verdi 0 er ikke en oppnåelig verdi i dette diagrammet, hvor 1-7 indikerer henholdsvis lave og høye skalaverdier fra sensorisk skjema

Figur 5.46 viser at NF 2. 90 °C i 20 min. har lave verdier for alle responser foruten jevnhet, hvor karakter er gitt for meget jevn struktur. MS 2. 80 °C i 10 min. skiller fra øvrige geler ved at den har høye verdier for munnfølelse og jevnhet men lavere verdier for aggregater. MF 1. 90 °C i 20 min. er lik MS 2. 90 °C i 20 min. med omtrent samme verdi for alle fem karakteristika. Disse to gelene har høyere verdier for aggregater enn øvrige geler. Polardiagrammet gir en god indikasjon på forskjeller mellom de vurderte gelene.

Tabeller for resultat fra støtteanalyser av mineraler, fett og laktose, samt gjennomsnittlige responsverdier for sensorisk vurdering er gitt i vedlegg 10.

6 Diskusjon

Diskusjonsdelen tar utgangspunkt i problemstillingen beskrevet i kapittel 2. Første del av problemstillingen omhandler bruk av kjemiske, reologiske og fysiske metoder for å påvise signifikante forskjeller. Signifikante forskjeller mellom myseingredienser er påvist for resultater fra rheometermålinger, Texture Profile Analysis (TPA), proteinanalyser, tørrstoffanalyser og partikkelstørrelsesmålinger. Forskjellene bekreftet i stor grad forventninger med bakgrunn fra litteratursøk. I diskusjonen fokuseres det først på forskjeller med bakgrunn fra ulik prosessering av pulveringredienser. Deretter tar diskusjonen for seg sammenheng mellom forsøksfaktorer og forskjeller ved aggregering av gel. Til slutt beskrives analyseusikkerhet ved benyttede metoder.

6.1 Forskjeller forårsaket av ulik prosessering av myseingredienser

Punkt 2. i problemstillingen omhandler sammenligning av: a.) Kommersielt spraytørket WPC-80 b.) Frysetørket ostemysekonsentrat og c.) Frysetørket nativt jomfrumysekonsentrat. Dette kapitlet beskriver sammenhengen mellom produksjon av de tre myseingrediensene og de to forsøksfaktorene proteinkilde og batch. Proteinkilde som forsøksfaktor beskriver både ulikheter mellom henholdsvis konsentrert jomfrumyse og konsentrert ostemyse, og mellom frysetørkede og spraytørkede ingredienser.

6.1.1 Verdier for pH. Effekt av prosessering på proteinkilde

Gjennomsnittlige pH-verdier i løsning av pulver og konsentrat er høyere for nativ jomfrumyse enn for ostemyse. Dette er som forventet da mikrofiltreringsprosessen gir et lavt innhold av melkesyre i jomfrumyse. Dette sammenfaller med observasjoner gjort av Heino et al. (2009). Ved å tilsette buffer før måling av funksjonelle egenskaper i varmeindustriert gel fjernes forsøksvariabel for ulik pH ved aggregering. Dette gir standardiserte aggregeringsforhold for referanse og kjent pH relativt til isoelektrisk punkt i proteiner. Det er fordelaktig å ta hensyn til at pH er lavere fordi lavere pH påvirker protein-protein interaksjon som beskrevet i kapittel 3.3.5 Protein-protein interaksjon.

6.1.2 Tørrstoff, Laktose, mineraler og fett. Effekt av prosessering på proteinkilde

Innhold av tørrstoff er signifikant høyere for ostemysebaserte prøver. Støtteanalyser viser at frysetørket jomfrumysepulver inneholder mindre laktose, fett og mineraler relativt til ostemysebaserte prøver. Differanse i tørrstoff forventes å være økt av ulikt innhold ikke-protein tørrstoff. Litteraturbakgrunn beskriver at mikrofiltrering gir lavt fettinnhold (Heino, 2009). Totalt innhold av mineraler og laktose vil reduseres i ultrafiltrerings-retentat under

diafiltrering (Huppertz, 2014). Ulikheten er derfor som forventet og bakgrunn for denne forskjellen beskrives i kapitlene 3.2.4 Melkemineraler og ionestyrke, 3.2.5 Lipider og 3.2.6 Laktose. Det er forventet å finne lavere total mineralinnhold (summert fra analyserte mineraler) i jomfrumyse relativt til ostemyse fordi kalium, natrium, magnesium, kalsium og fosfat er assosiert til kaseinmiceller som skilles fra jomfrumyse ved mikrofiltrering (Walstra et al., 2006, Heino, 2009). Ostemysebaserte myseingredienser hadde et høyere innhold av de samme mineralene. Innhold av laktose, fett og total mineral i pulver er likt for ostemysebaserte pulver. Dette er forventet fordi sammensetning bestemmes ved konsentratprosessering. Innhold av tørrstoff er likt for ostemysebasert pulver fordi innhold av fritt vann som kan tørkes bestemmes under konsentratprosessering. Tørrstoff i 10 % løsning bestemmes av hvor mye pulver som må tilsettes for å oppnå ønsket proteininnhold. Ulikt tørrstoff i 10 % løsning ostemysepulver er ikke et resultat av ulikt ikke-protein-tørrstoff.

6.1.3 Tørrstoff, med påvirkning fra diafiltrering. Effekt av prosessering på batch

Batch 1. og 2. kan skilles signifikant med hensyn til tørrstoff i konsentrat. Det native jomfrumysekonsentratet ble diafiltrert i flere omganger i batch 2. enn i batch 1. og dette gir høyere tørrstoff i batch 2. Total protein (TP) og nativt myseprotein (NWP) i pulver er gjennomsnittlig høyere for batch 2. enn for batch 1. Økt innhold av protein hever gjennomsnittlig tørrstoff i batch 2 og forskjell i tørrstoff er derfor forventet. Dette bekrefter praktisk anvendelse av diafiltrering for å redusere ikke-protein tørrstoff samtidig som protein-tørrstoff økes (Heino, 2009, Huppertz, 2014). Protein-protein interaksjon påvirkes av proteinkonsentrasjon relativt til ikke-protein tørrstoff konsentrasjon samt av mineralinnhold. Grad av diafiltrering er derfor en viktig variabel for myseingrediens-egenskaper, hvor redusert ikke-protein tørrstoff er assosiert med fordeler for protein-funksjonalitet (Garrett et al., 1988, Spiegel, 1999, Havea et al., 2009, Riou et al., 2011).

6.1.4 Proteinsammensetning. Effekt av prosessering på proteinkilde

Reduksjon av andel ikke-protein tørrstoff i jomfrumysekonsentrat hever andel av total protein (TP) i tørrstoff fordi andel av nitrogenholdige komponenter øker (IDF, 2001b, a). Høy andel protein i tørrstoff gir signifikant høyere responsverdier for total protein, nativt myseprotein (NWP) og kasein (K) i frysetørket jomfrumysekonsentrat relativt til ostemysebaserte ingredienser. Innhold av kasein i ostemysebasert ingredienser blir redusert med et separatorsteg som ikke nyttes for jomfrumyse produsert ved NMBU (TINE, 2013a). Høyere responsverdier for protein i jomfrumysekonsentrat er forventet med bakgrunn fra innsikt i konsentratprosessering fra kapittel 3.4 Prosessering av mysekonsentrat. Denne informasjonen

kan nyttes for å velge mellom ostemysebasert ingrediens og frysetørket jomfrumyse med hensyn til ønsket proteininnhold. Høyt proteininnhold er fordelaktig for geldannelse.

Gjennomsnittsverdier for proteininnhold i frysetørket og spraytørket ostemyse forventes ikke å avvike vesentlig fra hverandre, men det er noe høyere innhold av nativt myseprotein (NWP) i frysetørket ostemysekonsentrat og noe høyere innhold av kasein (K) i spraytørket ostemyse. Total varmebehandling vil være noe lavere for frysetørket pulver enn for spraytørket pulver på grunn av økt total varmebehandling og økt grad av varmebehandling > 70 °C som her er et resultat av forvarming og spraytørking (Fellows, 2009). Kasein (K) inkluderer denaturert myseprotein ved bruk av Kjeldahls metode (IDF, 2004c). Disse resultatene indikerer altså noe lavere denatureringsgrad for frysetørket ostemyse, med følgende økt protein-reaktivitet.

6.1.5 Total varmebehandling og aggregatdannelse. Effekt av prosessering på proteinkilde

Ulikheten mellom frysetørket jomfrumyse og ostemysebasert ingredienser kan forklares ved effekt av total varmebehandling i prosessering som er beskrevet i kapittel 3.4 Prosessering av mysekonsentrat. Ved prosessering av ostemysekonsentrat forekommer varmebehandling < 70 °C i fluidstrøm (TINE, 2013a, 2013b). Litteraturen beskriver at myseproteiner kan danne små aggregater, spesielt ved varmebehandling under bevegelse ved delvis denaturering av myseproteiner (Purwanti et al., 2011, Riou et al., 2011, Erabit et al., 2013). Økt aggregatdannelse gir forventet økt utfelling ved varmebehandling og kan øke differansen mellom innhold nativ myseprotein i ostemysekonsentrat relativt til jomfrumysekonsentrat uten å øke innhold av denaturert myse i konsentratet. Dette bidrar til lavere innhold av total protein (TP) i ostemysebaserte prøver relativt til resultater for jomfrumyse. Samtidig vil aggregater som ikke felles ut endre reaktiviteten til proteinene i konsentratet (Dissanayake et al., 2012, Dissanayake et al., 2013b). Ufordelaktig tap av myseproteiner ved prosessering av ostemysekonsentrat kan reduseres ved å unngå lavpasteurisering. Lavpasteurisering nyttes for mikrobiologisk kvalitetssikring. Ved bruk av andre metoder for fjerning av mikroorganismer, eksempelvis mikrofiltrering, kunne man med fordel redusere total varmebehandling.

6.1.6 Uløselighetsindeks og partikkelstørrelse. Effekt av prosessering på proteinkilde

Ostemysebaserte pulver viser som forventet høyere verdier for uløselighetsindeks. Reduksjon av løselighet i spraytørket ostemysekonsentrat knyttes av Heino et al. (2007) opp mot total varmebehandling. Ostemysekonsentrat som mottas fra TINE Meieri Verdal er opakt og viskøst. Pulverets uløselighetsindeks, viskositet og opasitet vil øke ved økt innhold av små aggregater (Dissanayake et al., 2013a, Dissanayake et al., 2013b). Ostemysepulver i studiet

inneholder ~6 g/kg kalsium mot ~4 i jomfrumysepulver. Høyere kalsiuminnhold, temperatur ~70 °C og mye bevegelse under varmebehandling er forklaringsvariabler som forklarer ulik uløselighetsindeks på grunn av økt dannelse av aggregater (Riou et al., 2011, Erabit et al., 2013). i ostemysebaserte ingredienser: 10 mL (24 °C, pH 6.4) relativt til frysetørket jomfrumyse: <5 mL (24 °C, pH 6.4). Lavere uløselighetsindeks er fordelaktig fordi protein-funksjonalitet er avhengig av at proteinene er løselige.

Økt partikkelstørrelser er en viktig forklaringsvariabel for økt uløselighetsindeks. Signifikant ulik partikkelstørrelse mellom alle proteinkilder kobles til ulikhet i tørkemetode og hvordan konsentrater har ulike egenskaper ved frysetørking (Fellows, 2009). Ostemysebasert pulver hadde høyere gjennomsnittlig partikkelstørrelse relativt til jomfrumysepulver. Dersom 500 µm defineres som store partikler (Erabit et al., 2013) inneholder alle pulver en liten andel store partikler som vises i grafisk fremstilling av partikkelstørrelser. Frysetørket ostemysepulver hadde signifikant større median partikkelstørrelse: Dv (50) ~110 µm og spesielt høy responsverdi for Dv (90): ~1600 µm (MF 1.) og ~650 (MF 2.) som viser stor variasjon. Disse verdiene er høye relativt til frysetørket jomfrumysekonsentrat som hadde minst median partikkelstørrelse: Dv (50) ~50 µm. Dette resultatet bekrefter at ~50 % av pulveret forekommer som fint pulver (<50 µm) som gjør pulveret flyktig (Fellows, 2009). Spraytørket ostemyse hadde moderat partikkelstørrelse Dv (50) ~80 µm og best uniformitet. Uniformitet er forventet på grunn av kommersiell produksjon i store volum med sikting. Forskjellen i partikkelstørrelse mellom MF 1. og MF2. kan forklares ved høyere innhold av laktose i pulver MF 1. Høyere innhold av laktose kan gi mer store laktosekrystaller, og økt effekt av eventuell dannelse av hygroskopisk α -hydrat laktosekrystall som gir økt klebrighet og økt dannelse av store partikler (Thompson et al., 2009). Dette er ufordelaktig.

Prosesslitteratur om frysetørking beskriver at innhold av vann under frysetørking bestemmer porositet. Porositet innvirker på løselighet ved å bestemme grad av inntrenging av vann i partikkel. Jomfrumysepulver hadde lavere uløselighetsindeks som kan relateres til høyere vanninnhold i konsentrat. Høyt vanninnhold gir høy porositet og flak som kan lettere knuses til små partikler (Barbosa-Canovas and Ibarz, 2003, Fellows, 2009). Lavere laktoseinnhold i jomfrumyse forventes å gi mindre innhold av laktosekrystaller relativt til frysetørket ostemyse, som hadde mindre porøs struktur og høyere innhold laktose. Dette gir forventet økt innhold av store partikler (>500 µm) (Fellows, 2009, Thompson et al., 2009).

Praktisk betydning er at jomfrumysekonsentrat med 7-10 % tørrstoff er bedre egnet for frysetørking relativt til ostemysekonsentrat med 28-30 tørrstoff og høyere laktoseinnhold.

6.1.7 Partikkelstørrelse. Effekt av prosessering på batch

Batch er en viktig forklaringsvariabel for partikkelstørrelser hos frysetørkede pulver. Ulik porositet og innhold av laktose i frysetørkede flak gav ulikt behov for prosessering (Fellows, 2009). Frysetørket ostemyse var klebrig, noe som førte til at pulverpartikler festet seg i mikseren. Klebrigheten kan være et resultat av at pulveret er hygroskopisk og trekker til seg fuktighet fra luften. Ved økt fuktighet i pulver kan hygroskopisk egenskap også forklare økt innhold av større partikler (Thompson et al., 2009). Batch 1. og 2. av frysetørket pulver hadde ulikt behov for pulverbehandling og dette førte til varierende uniformitet og varierende fordeling av partikkelstørrelsesfordeling. Praktisk betydning er at frysetørket ostemyse krever utvikling av en metode som reduserer fukt og hever uniformitet. Dersom det var tilgjengelig en pulvermølle ville det være enklere å standardisere grad av pulverbehandling fordi maling kan gjennomføres ved jevn mating av materialet. Dette ville gi lik behandling per batch relativt til prosessering hvor materialet i en batch må mates og behandles i flere steg. Hygroskopisk frysetørket ostemyse med høyt laktoseinnhold vil kreve mer prosessutvikling relativt til frysetørking av jomfrumysekonsentrat, med fokus på krystallisering av laktose.

6.2 Forsøksfaktorer ved aggregering av gel

Punkt 2. og 3. i problemstillingen fokuserer på sammenligning av myseingredienser med vurdering av forsøksfaktorer. Dette kapitlet beskriver fem forsøksfaktorer: 1.) Proteinkilde. 2.) Batch. 3.) Proteinkonsentrasjon. 4.) Varmebehandlingstid. 5.) Varmebehandlingstemperatur. I dette kapitlet omtales forskjeller mellom myseingredienser som er assosiert med proteinløsning og varmeindusert aggregering av gel.

6.2.1 Effekt av løsning av mysepulver på proteinkilde

Løsninger av frysetørket jomfrumysepulver inneholder høyere andel kasein (K) enn løsninger av ostemysebaserte myseingredienser. Dette er forventet fordi total protein (TP) i løsning justeres til et gitt nivå, enten 10 eller 12 %. Dette medfører at andel nativt myseprotein (NWP) er lavere for løsning av frysetørket jomfrumysepulver enn for ostemysebasert pulver med lavere kaseininnhold. Dersom man ønsket å sammenligne funksjonelle egenskaper fra ikke-denaturert myseprotein og glykomakropeptid alene, kunne man justert innholdet til henholdsvis 10 og 12 % (NWP). I industrien er det mer vanlig å beregne innhold protein tilsatt med hensyn til total protein (TP). Høyere andel kasein (K) er ufordelaktig for mysegel.

6.2.2 Rheometermåling. Effekt av varmeindusert aggregering på proteinkilde

Varmeindusert gel som ble aggregert i rheometer var konsekvent opak, partikulert gel. Dette er forventet fordi oppvarmingen er rask (~ 10 °C / minutt) og dermed uorganisert (Damodaran and Paraf, 1997). Det er forventet at disse gelene er dominert av svake interaksjoner, med varierende grad av kovalente disulfidbindinger som forventes å være høyere i gel av jomfrumyse på grunn av høyere innhold av små cysteinholdige molekyler (Damodaran and Paraf, 1997, Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2013b). Oscillerende amplitudesveip viste at gel av frysetørket jomfrumysepulver gav signifikant høyere LVE-range målepunkt for tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' for gel av jomfrumysepulver til tross for at løsning av jomfrumysepulver hadde lavere innhold av nativt myseprotein (NWP) relativt til ostemysebasert løsning. Dette indikerer at resultater er sterkt påvirket av proteinsammensetning i nativt myseprotein (NWP), den dominerende proteinfraksjonen. Litteratursøk gir bakgrunn for å forklare variasjon basert på proteinkilde.

Høyere målepunkt for tøyning (γ) i jomfrumysebasert gel er forventet på grunn av høyere innhold nativt β -laktoglobulin og høyere innhold intermolekulære disulfidbindinger relativt til ostemysebasert gel (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2013b). Ved aggregering vil β -laktoglobulin danne økt antall intermolekulære kovalente sammenbindingspunkter mellom thiolgrupper i løsningen (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012). Dette gir en gel som har polymerstruktur som tåler høy tøyning før brudd. Resulterende gel blir mindre skjør.

Høyere målepunkt for elastisk modulus G' er forventet på grunn av høyere antall intermolekulære, ikke-kovalente og kovalente protein-protein interaksjoner. Signifikant høyere elastisk modulus i jomfrumysebasert gel er et resultat av høyere innhold kontinuerlig proteinnettverk relativt til ostemysebaserte geler. Siden de native proteinene i jomfrumyse i mindre grad forekommer i aggregatform er de mer reaktive ved initial denaturering. De danner derfor høyere grad av kontinuerlig nettverk ved pH 6.2. Nettverket som dannes inhiberes av et lavere innhold ikke-protein tørrstoff. Disulfidbindinger immobiliserer strukturen og forhindrer dannelse av isolerte aggregater ved hydrofob fortetting i strukturen (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012). Dette er en viktig observasjon fordi økt elastisk modulus er en viktig funksjonell egenskap for at spisejel skal bevare sin form

Høyere målepunkt for skjærspenning har parallell utvikling med elastisk modulus og påvirkes av samme forsøksfaktorer og faktorerinteraksjoner. Motstand mot skjærspenning heves altså for jomfrumysebasert gel på grunn av økt innhold av inter-molekulær protein-protein

interaksjon som danner kontinuerlig nettverk. Både elastisk modulus og skjærspenning moduleres av proteinsammensetning og ulik grad av aggregatformasjon i myseingredienser (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012).

Ostemysebasert gel gav signifikant lavere LVE-range målepunkt for tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . Dette var forventet fordi ostemyse har et høyere innhold av glykomakropeptid (GMP) og ikke-protein tørrstoff relativt til jomfrumyse (Heino et al., 2007). Omlag 20-25 % av total protein i ostemysebasert WPC er GMP (Neelima et al., 2013). GMP er assosiert med høyere andel isolerte aggregater omgitt av vann, som ikke inngår i kontinuerlig nettverk. Mindre kontinuerlig nettverk er assosiert med lavere elastisk modulus G' og skjærspenning (τ) (Havea et al., 2009, Purwanti et al., 2011, Neelima et al., 2013). Dersom ostemyseingredienser inneholder små aggregater fra tidligere varmebehandling vil dette gi økt dannelse av store aggregater under varmeindusert aggregering. Hydrofob sammentrekking av struktur til isolert aggregatstruktur økes av høyere innhold glykomakropeptid og kalsium i ostemysebaserte ingredienser. Samtidig gir mindre andel små cysteinholdige molekyler færre disulfidbindinger og mindre kovalent immobilisering av struktur som er assosiert med økt hydrofob interaksjon (Heino et al., 2007, Havea et al., 2009, Riou et al., 2011, Dissanayake et al., 2012). Færre disulfidbindinger gir lavere responsverdi for tøyning (γ) (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012). Dette er fordelaktig dersom man ønsker å oppnå skjør gel med kort struktur.

Geler med ostemysebasert proteinkilde inneholder mer ikke-protein tørrstoff som kan inhibere protein-protein interaksjon. Høyere innhold av ikke-protein tørrstoff som lipider og laktose øker avstanden mellom sammenbindingspunkter i proteinnettverket. Dette forventes å påvirke reologiske egenskaper ved å redusere antall kovalente og ikke-kovalente interaksjoner i mikrostrukturen. Høyere innhold ikke-protein tørrstoff reduserer tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' (Garrett et al., 1988, Damodaran and Paraf, 1997, Spiegel, 1999, Walstra et al., 2006). Det er forventet høyere innhold av glykomakropeptid i spraytørket pulver enn i frysetørket pulver (Heino et al., 2007). Dette kan bidra til at frysetørket ostemysekonsentrat har høyere responsverdi for elastisk modulus G' relativt til spraytørket ostemysekonsentrat på grunn av mindre grad av isolerte aggregater. Sammenheng mellom rheologiske resultater og varmeindusert aggregering i litteratur beskrives i kapittel 3.5.2 Rheologiske metoder i litteratur. Litteraturen beskriver observasjoner som blir bekreftet og sammenlignet med TPA i dette forsøket.

6.2.3 Texture Profile Analysis (TPA). Effekt av forsøksfaktorer aggregering og pulver

Resultater fra Texture Profile Analysis (TPA) kan til dels sammenlignes med resultater fra rheometer fordi de påvirkes av lignende variabler. Det er likevel viktig å huske på at metodene er ulike med hensyn til sensitivitet og geometri. TPA måler kraft i én retning mot gelens overflate og anses som en mindre presis analyse relativ til rheometermålinger. Analyserte pulver var MS 2., MF 1. og NF 2. Disse pulver hadde lignende resultater som henholdsvis MS 1., MF 2. og NF 1. i øvrige analyser og regnes derfor som representative for pulvertype. Gel av frysetørket jomfrumysepulver (NF 2.) har signifikant høyere hardhet relativt til gel av ostemysebasert pulver (MS 1., MF 2.). Dette er forventet fordi hardheten til gelen vil være avhengig av interaksjon i kontinuerlig proteinnettverk i likhet med resultater for elastisk modulus G' . Geler av ostemysepulver kunne skilles med høyere hardhet for frysetørket ostemyse relativt til spraytørket ostemyse. I likhet med for spraytørket og frysetørket ostemyse i rheologiske målinger kan dette kobles til høyere innhold glykomakropeptid i spraytørket ostemyse (Pons and Fiszman, 1996, Heino et al., 2007). Økt hardhet i gel av frysetørket ostemyse og jomfrumyse er fordelaktig for gelenes stabilitet.

Gel av frysetørket jomfrumysepulver (NF 2.) har signifikant høyere gummiaktighet. Dette er forventet fordi gummiaktighet er avhengig av antall inter-molekylære disulfidbindinger i gelen, i likhet med respons for tøyning (γ). Høy gummiaktighet gir stabile geler, men for høy gummiaktighet kan gi ubehagelig munnfølelse. Det er derfor nødvendig å begrense gummiaktighet til et egnet nivå for spisejel (Pons and Fiszman, 1996). Lavere antall disulfidbindinger gir mindre gummiaktighet i ostemysebaserte geler. Lavere gummiaktighet i ostemysebasert gel er assosiert med høyere innhold av kalsium og glykomakropeptid med følgende økt hydrofob interaksjon (Riou et al., 2011). Høyere innhold av kalsium er også assosiert med høyere adhesjon (Ju et al., 1999) som blir bekreftet i analyseresultatene. Gel med mindre sammenhengende struktur som er dominert av hydrofob interaksjon forventes å adherere i større grad. De representative gelene ble utsatt for to ekstremer av forsøksfaktorer ved følgende aggregeringsforhold: 12 %, 90 °C i 20 minutter og 10 %, 80 °C i 10 minutter. Som forventet viste aggregeringsforhold: 12 %, 90 °C i 20 minutter høyest responsverdi for både hardhet og gummiaktighet på grunn av høyere dannelse av ikke-kovalente og kovalente interaksjoner. Disse resultatene bekrefter reologiske resultater hvor proteinkonsentrasjon varmebehandlingstemperatur og varmebehandlingstid ble analysert som separate faktorer. Lik utvikling for henholdsvis elastisk modulus G' / hardhet og tøyning (γ) / gummiaktighet

viser at forskjellene er målbare med begge metodene. TPA viser forskjeller som påvirkes av egenskapene til gelens overflate, men reologisk metode er mer sensitiv og gir flere responser.

6.2.4 Rheometermåling. Effekt av varmebehandlingstid og -temperatur

Ved analyser i rheometer viser faktoren varmebehandlingstid signifikant innvirkning på skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . Gjennomsnittsverdiene øker når varmebehandlingstid øker fra 10 minutter til 20 minutter. Dette er som forventet fordi økt varmebehandlingstid gir tid til å danne et høyere antall protein-protein interaksjoner. Protein krever tid og mobilitet for å danne både kovalente og ikke-kovalente bindinger. Varmebehandlingstemperatur viser signifikant innvirkning på tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . I likhet med forsøksfaktor varmebehandlingstid gir økt varmebehandlingstemperatur økt responsverdi for skjærspenning og elastisk modulus G' . Økt temperatur gir økt denaturering og utfolding av proteiner med økt grad av protein-protein interaksjon (Havea et al., 2009). Et forsøk med mer enn to nivåer ville gi mer informasjon.

Økt varmebehandlingstemperatur fra 80 °C til 90 °C senkes respons for tøyning (γ). Økt varmebehandlingstemperatur gir økt denaturering og utfolding som eksponerer hydrofobe grupper. Økt andel hydrofob interaksjon gir en mer rigid og skjør struktur hvor svake interaksjoner dominerer over disulfidbindinger. Færre disulfidbindinger og høy termiske energi gir høy mobilitet for etablering av hydrofob interaksjon over tid (Havea et al., 2009, Dissanayake et al., 2012). Resulterende mikrostruktur vil bryte ved lavere tøyning. Faktorinteraksjonen mellom temperatur og tid er signifikant for skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' . Faktorinteraksjonen er et resultat av at både økt temperatur og økt tid gir høyere antall svake interaksjoner (Havea et al., 2009). 90 °C i 20 minutter gir økt utfolding av protein og økt protein-protein interaksjon (Havea et al., 2009). Hvor mye utfolding og protein-protein interaksjon som er ønskelig for gel er avhengig av type applikasjon.

6.2.5 Rheometermåling. Effekt av proteinkonsentrasjon

Ved måling i rheometer viser proteinkonsentrasjon signifikant innvirkning på tøyning (γ), skjærspenning (τ) og G' elastisk modulus. Dette er forventet fordi proteinkonsentrasjon modulerer protein-protein interaksjon i løsning. Som for varmebehandlingstid viser økning av proteinkonsentrasjon redusert tøyning (γ) samtidig som skjærspenning (τ) og elastisk modulus G' øker. Igjen er dette et resultat av økt hydrofob interaksjon relativt til disulfidbindinger (Havea et al., 2009). Litteraturen beskriver 8-12 % som et område egnet for aggregering av myseprotein (Purwanti et al., 2011, Dissanayake et al., 2013a). Purwanti et al

(2011) påpeker at dersom proteinkonsentrasjon er for høy kan dette føre til økt dannelse av isolerte aggregater. Dette ville ført til redusert elastisk modulus ved økt proteinkonsentrasjon. Dette er ikke observert i disse forsøkene. General Linear Model påviser faktorinteraksjon mellom proteininteraksjon og henholdsvis -proteinkilde og -batch. Effekt av proteinkonsentrasjon er avhengig av effekt som er assosiert med tilsatt pulver. Faktorinteraksjoner for de fem forsøksfaktorene er kompleks for reologiske resultater.

6.2.6 Sensorisk vurdering

Sensorisk vurdering er ikke nevnt i problemstilling. Likevel var det verdt å gjennomføre vurderingen fordi prøveopparbeidelsen gav informasjon om aggregering av gel med høyt innhold disakkarider som ikke var forventet ved planlegging av forsøket. Sensorisk vurdering av fire ulike faktorkombinasjoner indikerte at ostemysebaserte geler varmebehandlet ved 90 °C i 20 minutter var nesten helt like. Denne analysen gav ikke noe god vurdering av jomfrumysebasert løsning fordi denne løsningen ikke dannet stabil gelstruktur etter 90 °C i 20 minutt med 16.7 % sukrose. Dette er høyt innhold karbohydrat relativt til <1.5 % laktose i 10 % løsning NF 2. uten tilsatt sukrose. Laktose øker totalt innhold disakkarider ytterligere. Høyt innhold disakkarider gir inhibering av myseproteinenes utfolding og interaksjon ved denaturering, slik det beskrives av Spiegel et al. (1999) og Garret et al. (1988). Dette vil ha en høyere påvirkning på jomfrumysebasert gel fordi β -laktoglobulin er spesielt sensitiv for denne inhiberingen. 10 % løsning av frysetørket jomfrumyse har en pH som er 6.8 ± 0.03 . Dette er en pH hvor β -laktoglobulin forventes å ha løselig dimer form på samme måte som ved pH 6.2. pH ~ 7 er assosiert med gode forhold for dannelse av myseproteingel og høyere pH relativt til pH 6.2 antas ikke å være en faktor som gir mindre kontinuerlig nettverk. (Dissanayake et al., 2012, Dissanayake et al., 2013a, Dissanayake et al., 2013b).

Effekten av disakkarider på varmeindusert aggregering av jomfrumysebasert ingrediens er en interessant problemstilling for videre forskning fordi sukrose tilsettes en rekke produkter som kan være aktuelle kandidater for applikasjon. Gel av spraytørket ostemyse varmebehandlet ved 80 °C i 10 minutter hadde bedre munnfølelse og jevnere struktur med mindre aggregater relativt til samme pulver varmebehandlet ved 90 °C i 10 minutter. Dette indikerer at 80 °C i 10 minutter er bedre egnet aggregering av 10 % løsning av spraytørket ostemysekonsentrat. Samtidig indikerer det at temperatur ved 90 °C i 10 minutter gir betydelig høyere dannelse av aggregater relativt til varmebehandling ved 80 °C i 10. Geler av ostemysebasert pulver ble gitt høy karakter for hardhet.

6.3 Analyseusikkerhet

6.3.1 Modifisert Kjeldahl metode ved analyse av proteinsammensetning

Det er mulig at metoden som ble benyttet for proteinanalyse ikke er optimal for beregning av kasein (K) og nativt myseprotein (NWP) for myseproteiner. Den potensielle usikkerheten er at verdien for ikke-kasein nitrogen (IKN) blir for høy. Indikatorer på forhøyet nitrogeninnhold er blakket filtrat ved IKN prøveopparbeidelse selv etter to filtreringssteg. I valgt metode nyttes filtrering, men ikke sentrifuge, for å skille løselige og uløselige komponenter. Dette skiller den benyttede metoden fra IDF-standarden hvor sentrifuge (10 000 rpm, 15 minutt) nyttes i tillegg til filtrering (Lynch et al., 1998, IDF, 2004c).

Små nitrogenholdige komponenter som urea, aminosyrer og små peptider kan trekke gjennom filteret som har en 4-12 μm porestørrelse. Små nitrogenkomponenter som vandrer gjennom filteret vil ikke bli sedimentert i sentrifuge, noe som ville redusere nitrogenholdige komponenter i supernatant. Dette kan føre til at en økt mengde nitrogenholdige komponenter kommer med i oppslutning for ikke-kasein nitrogen (IKN). Nativt myseprotein (NWP) inkluderer glykomakropeptid (GMP) ved bruk av denne metoden for ostemysebaserte prøver. Glykomakropeptid er små komponenter med en monomer molekylvekt mellom 7-10 kDa avhengig av hvor glykosylert molekylet er, det vil si hvor mye masse som gis av tilknyttede polysakkarider (Neelima et al., 2013). Monomerer av glykomakropeptid danner aggregater, spesielt ved $\text{pH} > 4$. Ved filtrering av prøvemateriale for ikke-kasein nitrogen (IKN) er pH i løsning alltid 4.6, men siden porestørrelsen er stor (4-12 μm) kan glykomakropeptid trekke gjennom filteret. Høyere innhold av nitrogen i filtrat bidrar til forhøyet responsverdi for ikke-kasein nitrogen (IKN) og dermed også nativt myseprotein (NWP) i ostemysebaserte myseingredienser. Samtidig reduseres verdi for kasein og denaturert protein (K) (Lynch et al., 1998, IDF, 2001c, 2004c).

Det kan være utfordrende å finne litteratur spesifikt om filtrering av myse ved prøveopparbeidelse for Kjeldahls metode (Professor Emeritus Abrahamsen, R. K., NMBU, 2014, pers med.). Metode for kalkulering av ikke-kasein nitrogen (IKN) er dokumentert, men i dette litteraturstudiet ble det ikke funnet litteratur om hvilke komponenter som forekommer i filtrat ved filtrering av nativ myse og ostemyse ved prøveopparbeidelse for Kjeldahls metode. Hypotese om at verdien for Ikke-kasein nitrogen (IKN) er for høy er dermed vanskelig å bekrefte.

7 Konklusjon

Studiet viste at frysetørket jomfrumyse er godt egnet for geldannelse og at gel av jomfrumyse har hardere og mer gummiaktig tekstur med høyere elastisitet og tøyelighet. Ostemysebaserte geler har lavere responsverdier fordi prosessering og kjemisk sammensetning resulterer i mindre kontinuerlig proteinnettverk med færre kovalente og ikke-kovalente interaksjoner. Høyere innhold av laktose, fett og kalsium assosieres med utfordringer for aggregering av gel. Økt kunnskap om sammenheng mellom prosessering, proteinsammensetning og funksjonelle egenskaper er nødvendig for skreddersøm av nye native myseingredienser og for forbedring av eksisterende myseingredienser. Innsikt i hvilke forsøksfaktorer som påvirker varmeindusert aggregering gir potensiale for å optimalisere prosess og dermed endre gelens funksjonelle egenskaper. Innsikt i hvordan prosessering av konsentrat påvirker pulver vil kunne gi prosessutbedring.

- Kjemiske analyser:
 - Frysetørket pulver av frysetørket jomfrumyse har høyere innhold av nativt myseprotein (NWP), total protein (TP), kasein (K) samt lavere tørrstoff enn ostemysebaserte pulver på grunn av lavere laktose-, fett- og mineralinnhold
- Partikkelmålinger:
 - Frysetørket pulver av frysetørket jomfrumyse har mindre median partikkelstørrelse og lavere uløselighetsindeks enn ostemysebaserte pulver
- Reologiske analyser og Texture Profile Analysis (TPA):
 - Geler tilsatt frysetørket jomfrumysepulver hadde høyere LVE-range målepunkt for tøyning (γ), skjærspenning (τ) og elastisk modulus G'
 - Geler tilsatt frysetørket jomfrumysepulver hadde høyere hardhet og gummiaktighet relativt til geler tilsatt ostemysebaserte pulver
 - Geler tilsatt frysetørket ostemyse har noe økt hardhet og elastisk modulus G' relativt til geler tilsatt spraytørket ostemyse
- Myseingrediensenes egenskaper påvirkes signifikant av forsøksfaktorer:
 - Proteinkilde påvirker alle analyser. Batch viser variasjon fra pulverproduksjon
 - Proteinkonsentrasjon, varmebehandlingstemperatur og varmebehandlingstid påvirker aggregerte geler og er preget av komplekst samspill

8 Forslag til videre arbeid

Disse forslagene er basert på observasjoner gjort under arbeid med produksjon og forsøk, sammenlignet med bakgrunn fra litteratursøk.

- Utvikling av metode for prøveopparbeidelse for ikke-kasein nitrogen (IKN), spesifikt for analyse av proteinsammensetning i ostemyse og jomfrumyse
- Måling av reologiske responsverdier i gel med kjent innhold av glykomakropeptid og β -laktoglobulin. Utredning av betydning av hydrofob interaksjon for mysebasert gel
- Måling av aggregatstørrelser i lavpasteurisert ostemyse før og etter aggregering av gel. Sammenligning med ikke-pasteurisert ostemyse og jomfrumyse
- Applikasjonsforsøk
 - Effekt av høyt og lavt innhold sukrose og laktose på varmeindusert mysegel
 - Effekt av høyt og lavt innhold glykomakropeptid på varmeindusert mysegel
 - Effekt av høyt og lavt innhold α -laktalbumin og serum albumin på varmeindusert aggregering av jomfrumysebasert gel
 - Optimaliseringsforsøk for forsøksfaktorene: Varmebehandlingstemperatur, varmebehandlingstid, pH og proteinkonsentrasjon med flere nivåer
 - Applikasjon burde følges av mikroskopmetode for vurdering av mikrostruktur
- Prosessutvikling
 - Sensitiv forvarming og spraytørking for nativt jomfrumysekonsentrat
 - Sensitiv forvarming og spraytørking for ostemyse WPC til gel-applikasjon

9 Begrepsforklaringer

Adhesjon	Definert TPA-respons, negativ kraft for opptrekk av probe fra prøve
Amfifil	Har både hydrofile og hydrofobe grupper i sin struktur
Brix	Mål for estimert innhold løselig tørrstoff. Måles i ° Bx, grader brix
Cutoff	Grenseverdi for molekylær masse (Da) som holdes tilbake av membran
Chymosin	Løpeenzym som spalter κ -kasein mellom aminosyre 105 og 106
Dalton (Da)	Atommasseenhet som brukes for å beskrive molekylær masse
Diafiltrering	Filtrering i flere sykluser med tilsetning av vann mellom sykluser
Dv (10)	Partikkelstørrelse hvor 10 % av målte partikler er mindre enn gitt verdi
Dv (50)	Partikkelstørrelse hvor 50 % av målte partikler er mindre enn gitt verdi
Dv (90)	Partikkelstørrelse hvor 90 % av målte partikler er mindre enn gitt verdi
Gamma (γ)	Respons for tøyning i form av relativ lengdedeformering i prosent (%)
Gelstyrke	Kraft (N) som kreves for å bryte overflate gelstruktur
GLM	General Linear Model. Analysemetode egnet for ubalanserte datasett
GMP	Glykomakropeptid. C-terminal ende som spaltes fra κ -kasein av løpe
Gummiaktighet	Definert TPA-respons, multiplisert hardhet og kohesjon -verdier
Elastisk modulus G'	Respons for elastisk modulus målt med rheometer. Måles i Newton (N)
Fuktighetsinnhold	Innhold av fritt vann i et produkt. Måles i %.
Funksjonalitet	Egenskaper som er assosiert med funksjon. Eksempelvis geldannelse
Hardhet	Definert TPA-respons, kraft målt i Newton for første målekompresjon
Hydrofob	Ikke-polare komponenter som avstøtes av vann
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography. Måler laktoseinnhold (PPM)
Interaksjon	Målbare effekter som har målbar innvirkning på hverandre
Intermolekylært	Mellom punkter i ulike molekyler
Intramolekylært	Mellom punkter innad i molekylærstrukturen i et molekyl
IKN	Ikke-kasein nitrogen. Nitrogenkilder som ikke felles ut ved pH 4.6
IPN	Ikke-protein nitrogen. Nitrogenkilder som ikke felles ut i TCA
Isoelektrisk punkt (pI)	Verdi pH hvor et molekyl har nøytral ladning
Jomfrumyse	Nativt myseproteinpermeat, også kalt ideell myse eller nativ myse
K	Kasein, inkluderer også denaturert myseprotein
Kohesjon	Definert TPA-respons, ratio mellom kraft i første og andre kompresjon
LVE-range	Linear ViscoElastic range. Spesifikt lineært måleområde for reologi
Maillard reaksjon	Reaksjon mellom reduserende sukker og aminosyre. Gir farge og smak

MK	Forkorting for Myse Konsentrat
MS	Forkorting for Mysekonsentrat Spraytørket
MF	Forkorting for Mysekonsentrat Frysetørket
Mikrostruktur	Struktur slik den observeres i mikroskop. Her: Struktur på polymernivå
Nativ	Tilstand slik den forekommer i naturen. Brukes om pH og struktur
Nativt protein	Protein som har samme tilstand som i rå melk. Ikke-denaturert protein
Newton (N)	SI-enhet for måling av kraft
NF	Forkorting for Nativ jomfrumyse Frysetørket
NK	Forkorting for Nativt jomfrumyse Konsentrat
NWP	Native WheyProtein. Nativt myseprotein uten ikke-protein nitrogen
Omregningsfaktor	Faktor for omregning fra nitrogen til protein. 6.38 for melkeprotein
Permeat	Komponenter som strømmer gjennom filter eller membran
P-verdi	Signifikanssannsynlighet. Minste valg av α som leder til forkastet H_0
Refraktometer	Instrument som måler refraktiv indeks og/eller ° Bx, grader Brix
Retentat	Det som holdes tilbake av filter eller semipermeabel membran
rpm	Revolutions per minute. Rotasjonsfrekvens. Mål for sentrifugering
R^2 for modell	R^2 beskriver forklart variasjon mot total variasjon
Sublimering	Faseovergang fra fast stoff til gass uten mellomsteg som væske
Tau (τ)	Respons for skjærspenning målt med rheometer. Måles i Newton (N)
Thiolgruppe	SH-gruppe som er bundet til karbon. Også kjent som sulhydrylgruppe
TPA	Texture Profile Analysis. Analyse av kraft/tid målt ved kompresjon
TP	Total protein. Totalt innhold protein uten ikke-protein nitrogen
TN	Total nitrogen. Alle kilder for Organisk nitrogen inkludert ikke-protein
Tukey sammenligning	Brukt i Anova for å finne signifikant ulike ved et gitt signifikansnivå
Two-bite	Texture Profile Analysis med to kompresjoner for samme målepunkt
Uløselighetsindeks	Standardisert løselighetsmål for melke- og mysepulver
TCA	Trikloreddiksyre
Uniformitet	Mål for variasjon i partikkelstørrelse enten for en eller flere prøver
Vannbindingskapasitet	Egenskap til å binde vann ved molekylær assosiasjon og struktur
Viskoelastisk	Material som ved deformering viser både viskøs og elastisk egenskap
WPC	Whey Protein Concentrate. Vidt brukt engelsk forkortelse
WPC-80	Whey Protein Concentrate med 80 % proteininnhold

10 Referanser

Referanser er gitt etter stil for International Journal of Dairy Science

Barbosa-Canovas, G. and A. Ibarz. 2003. Unit operations in food engineering. CRC Press LLC, New York, USA.

Belitz, H. D., W. Grosch, and P. Schieberle. 2009. Food Chemistry. 4th. extended version ed. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin.

Bourne, M. and A. S. Szczesniak. 1998. issues pertaining to the texture profile analysis. Journal of Texture Studies 29(4):vii-viii.

Brans, G., C. G. P. H. Schroën, R. G. M. van der Sman, and R. M. Boom. 2004. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. Journal of Membrane Science 243(1–2):263-272.

Bryant, C. M. and D. J. McClements. 1998. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. Trends in Food Science & Technology 9(4):143-151.

Damodaran, S. and A. Paraf. 1997. Food proteins and their application. Marcel Dekker Inc., New York, USA.

de la Fuente, M. A., B. Carazo, and M. Juarez. 1997. Determination of major minerals in dairy products digested in closed vessels using microwave heating. Journal of Dairy Science 80(5):806-811.

de la Fuente, M. A., Y. Hemar, M. Tamehana, P. A. Munro, and H. Singh. 2002. Process-induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein concentrates. International Dairy Journal 12(4):361-369.

de Wit, J. N. 2009. Thermal behaviour of bovine β -lactoglobulin at temperatures up to 150 °C. A review. Trends in Food Science & Technology 20(1):27-34.

Dissanayake, M., S. Liyanaarachchi, and T. Vasiljevic. 2012. Functional properties of whey proteins microparticulated at low pH. *Journal of Dairy Science* 95(4):1667-1679.

Dissanayake, M., L. Ramchandran, O. N. Donkor, and T. Vasiljevic. 2013a. Denaturation of whey proteins as a function of heat, pH and protein concentration. *International Dairy Journal* 31(2):93-99.

Dissanayake, M., L. Ramchandran, C. Piyadasa, and T. Vasiljevic. 2013b. Influence of heat and pH on structure and conformation of whey proteins. *International Dairy Journal* 28(2):56-61.

Eissa, A. S., D. M. Mohamed, K. S. Uoness, M. M. Azab, N. S. Abed, and D. Abu El-Aish. 2014. Characterisation of Rheological and Molecular Properties of Whey Protein Thickeners. *International Journal of Food Properties* 17(3):570-586.

Erabit, N., D. Flick, and G. Alvarez. 2013. Effect of calcium chloride and moderate shear on β -lactoglobulin aggregation in processing-like conditions. *Journal of Food Engineering* 115(1):63-72.

Fellows, P. J. 2009. *Food Processing Technology*. 3rd. ed. Woodhouse Publishing Ltd. CRC Press LCC, Boca Raton, Florida, USA.

Foegeding, E. A., J. P. Davis, D. Doucet, and M. K. McGuffey. 2002. Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in Food Science & Technology* 13(5):151-159.

Fox, P. F. and P. L. H. McSweeney. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & professional, London, University College, Cork, Ireland.

Garrett, J. M., R. A. Stairs, and R. G. Annett. 1988. Thermal Denaturation and Coagulation of Whey Proteins: Effect of Sugars. *Journal of Dairy Science* 71(1):10-16.

Havea, P., P. Watkinson, and B. Kuhn-Sherlock. 2009. Heat-Induced Whey Protein Gels: Protein-Protein Interactions and Functional Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(4):1506-1512.

Heino, A. T. 2009. Microfiltration in cheese and whey processing. in Faculty of Agriculture and Forestry. Vol. Ph.D. University of Helsinki.

Heino, A. T., J. O. Uusi-Rauva, P. R. Rantamaki, and O. Tossavainen. 2007. Functional properties of native and cheese whey protein concentrate powders. *International Journal of Dairy Technology* 60(4):277-285.

Hoffmann, T., inventor. 2011. Patent: Membrane filtration and membrane filtration assembly.

Huppertz, T. G., I.; Crowley, S.; Kelly, A.; O'Mahony, S. 2014. Minerals in milk protein concentrates: Physical equilibria and effects on physiochemical and functional properties. in *Second international symposium on minerals and dairy products*. Nizo Food Research, Netherlands; University College Cork, Ireland, Auckland, New Zealand.

IDF. 1987a. Determination of fat content (Röse Gottlieb reference method). in 16C:1987. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 1987b. Milk, cream and evaporated milk. Determination of total solid contents. in 21B:1987. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2001a. 20-5 Milk - Determination of nitrogen content - Part 5: Determination of protein-nitrogen content. in 20-5: 2005. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2001b. Determination of nitrogen content Part 1: Kjeldahl method. in 20-1: Milk: 2001. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2001c. Determination of nitrogen content Part 4: Determination of non-protein nitrogen content. in 20-4: Milk: 2001. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2004a. Cheese and processed cheese products - Determination of fat content. Gravimetric method (Reference method). in 5:2004. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2004b. Dried milk - Determination of moisture content (Reference method). in 26:2004. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2004c. Milk - Determination of casein-nitrogen content. Part 1: Indirect method. in 29-1: 2004. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2005a. Dried milk and dried milk products - Determination of insolubility index. in 129:2005. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2005b. Milk products and milk-based foods - Determination of fat content. in 124:2005. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

IDF. 2006. Milk and milk products - Specification of Mojonnier-type fat extraction flasks. in 219:2006. International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.

Jara, F. L., C. C. Sanchez, J. M. R. Patino, and A. M. R. Pilosof. 2014. Competitive adsorption behavior of beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin, bovin serum albumin in presence of hydroxypropylmethylcellulose. Influence of pH. *Food Hydrocolloids* 35:189-197.

Ju, Z. Y., N. Hettiarachchy, and A. Kilara. 1999. Thermal Properties of Whey Protein Aggregates. *Journal of Dairy Science* 82(9):1882-1889.

Krzeminski, A., K. A. Prell, J. Weiss, and J. Hinrichs. 2014. Environmental response of pectin-stabilized whey protein aggregates. *Food Hydrocolloids* 35(0):332-340.

Kulozik, U., A. Tolkach, S. Bulca, and J. Hinrichs. 2003. The role of processing and matrix design in development and control of microstructures in dairy food production - a survey. *International Dairy Journal* 13(8):621-630.

Langton, M. and A.-M. Hermansson. 1992. Fine-stranded and particulate gels of β -lactoglobulin and whey protein at varying pH. *Food Hydrocolloids* 5(6):523-539.

Lawless, H. T. and H. Heymann. 2010. *Sensory evaluation of food*. 2nd. edition ed. Springer publishing, New York, USA.

Lynch, J. M., D. M. Barbano, and J. R. Fleming. 1998. Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: Collaborative study. *Journal of Aoac International* 81(4):763-774.

Marsili, R. T., H. Ostapenko, R. E. Simmons, and D. E. Green. 1981. High Performance Liquid-Chromatographic Determination of Organic-Acids in Dairy-Products. *Journal of Food Science* 46(1):52-57.

Mezger, T. 1998. A little course in rheology Part 1: Viscous flow behaviour, rotational tests, measuring systems. *Physica (R) Messtechnik GmgH*, Stuttgart, Tyskland.

Mezger, T. 1999. A little course in rheology Part 3: Viscoelastic deformation behaviour, Oscillatory tests. *Physica (R) Messtechnik GmgH*, Stuttgart, Tyskland.

Moe, K. M., D. Porcellato, and S. Skeie. 2013. Metabolism of milk fat globule membrane components by nonstarter lactic acid bacteria isolated from cheese. *Journal of Dairy Science* 96(2):727-739.

Montgomery, D. C. 2013. Design and Analysis of Experiments. 8th edition International student version ed. John Wiley & Sons, Inc., Singapore.

Mudgal, P., C. R. Daubert, and E. A. Foegeding. 2011. Kinetic study of β -lactoglobulin thermal aggregation at low pH. *Journal of Food Engineering* 106(2):159-165.

Neelima, R. Sharma, Y. S. Rajput, and B. Mann. 2013. Chemical and functional properties of glycomacropeptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review. *Dairy science & technology* 93(1):21-43.

Norske meierier, T. 1991. Tørrstoff i melkepulver. in metode nr. 902. TINE SA, Oslo, Norge.

Phan-Xuan, T., D. Durand, T. Nicolai, L. Donato, C. Schmitt, and L. Bovetto. 2014. Heat induced formation of beta-lactoglobulin microgels driven by addition of calcium ions. *Food Hydrocolloids* 34(0):227-235.

Pons, M. and S. M. Fiszman. 1996. Instrumental Texture Profile Analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of Texture Studies* 27(6):597-624.

Purwanti, N., M. Smiddy, A. Jan van der Goot, R. de Vries, A. Alting, and R. Boom. 2011. Modulation of rheological properties by heat-induced aggregation of whey protein solution. *Food Hydrocolloids* 25(6):1482-1489.

Riou, E., P. Havea, O. McCarthy, P. Watkinson, and H. Singh. 2011. Behavior of Protein in the Presence of Calcium during Heating of Whey Protein Concentrate Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(24):13156-13164.

Spiegel, T. 1999. Whey protein aggregation under shear conditions – effects of lactose and heating temperature on aggregate size and structure. *International Journal of Food Science & Technology* 34(5-6):523-531.

Steffe, J. F. 1996. *Rheological methods in food process engineering*. 2nd. ed. Freeman Press, East Lansing, Michigan, USA.

Surroca, Y., J. Haverkamp, and A. J. R. Heck. 2002. Towards the understanding of molecular mechanisms in the early stages of heat-induced aggregation of β -lactoglobulin AB. *Journal of Chromatography A* 970(1–2):275-285.

Svanborg, S., A.-G. Johansen, R. K. Abrahamsen, and S. B. Skeie. 2014. Initial pasteurisation effects on the protein fractionation of skimmed milk by microfiltration. *International Dairy Journal* 37(1):26-30.

Thompson, A., M. Boland, and H. Singh. 2009. *Milk proteins: from expression to food*. Academic Press/Elsevier, Amsterdam, Nederland.

Thomson, A., M. Boland, and H. Singh. 2009. *Milk Proteins From Expression to Food*. Food Science and technology, International Series. Elsevier, Academic Press, San Diego, USA.

TINE. 2013a. J: Varmebehandling og membranfiltrering myseforedling. Vol. REF 16998 utg. 2. Brede, M. E. & Bjørgum J., TINE SA, Oslo, Norge.

TINE. 2013b. M: Tørking av WPC. Vol. REF 16998 utg. 2. Brede, M. E. & Bjørgum J., TINE SA, Oslo, Norge.

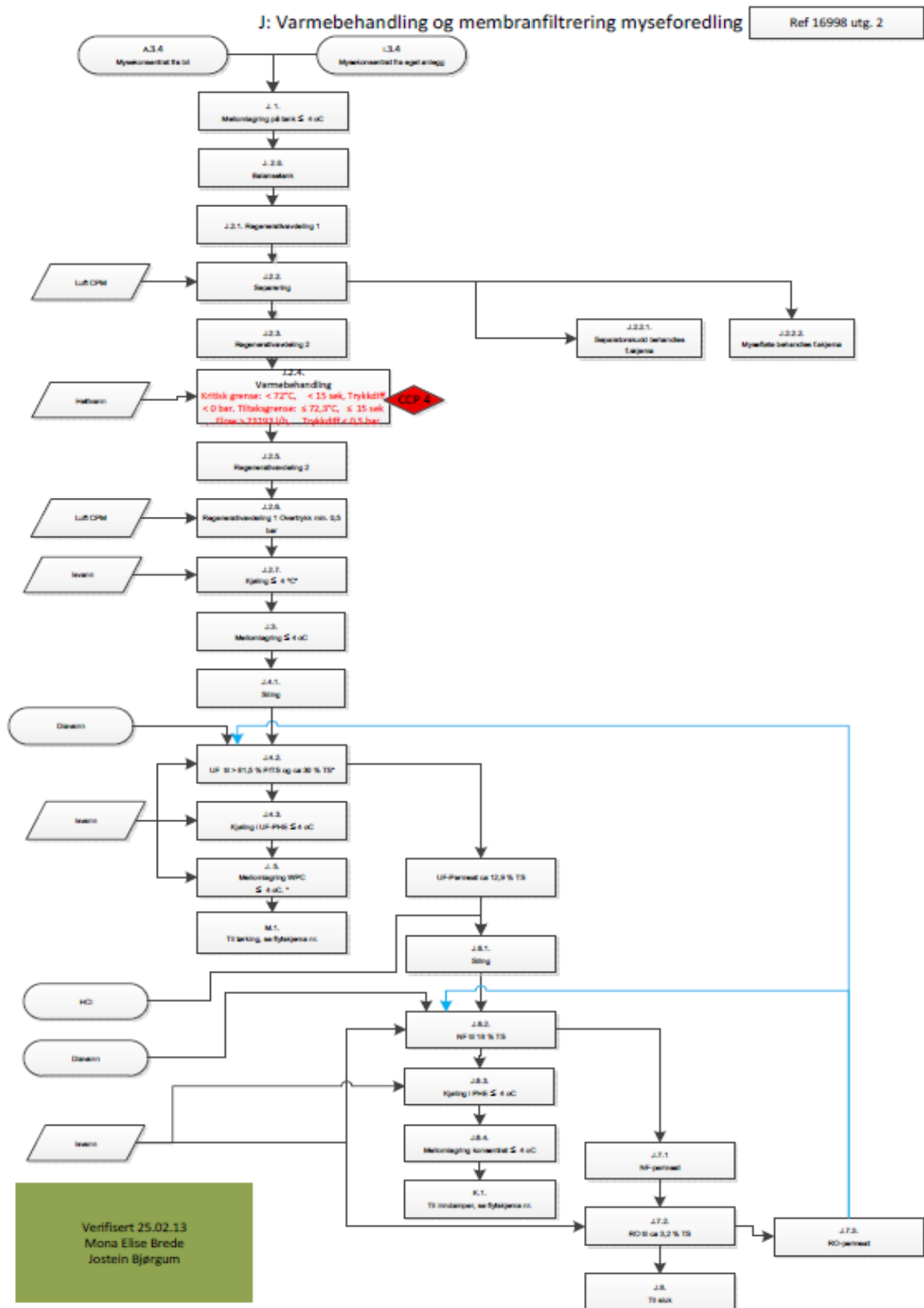
van Vliet, T., C. M. M. Lakemond, and R. W. Visschers. 2004. Rheology and structure of milk protein gels. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 9(5):298-304.

Vardhanabhuti, B., E. A. Foegeding, M. K. McGuffey, C. R. Daubert, and H. E. Swaisgood. 2001. Gelation properties of dispersions containing polymerized and native whey protein isolate. *Food Hydrocolloids* 15(2):165-175.

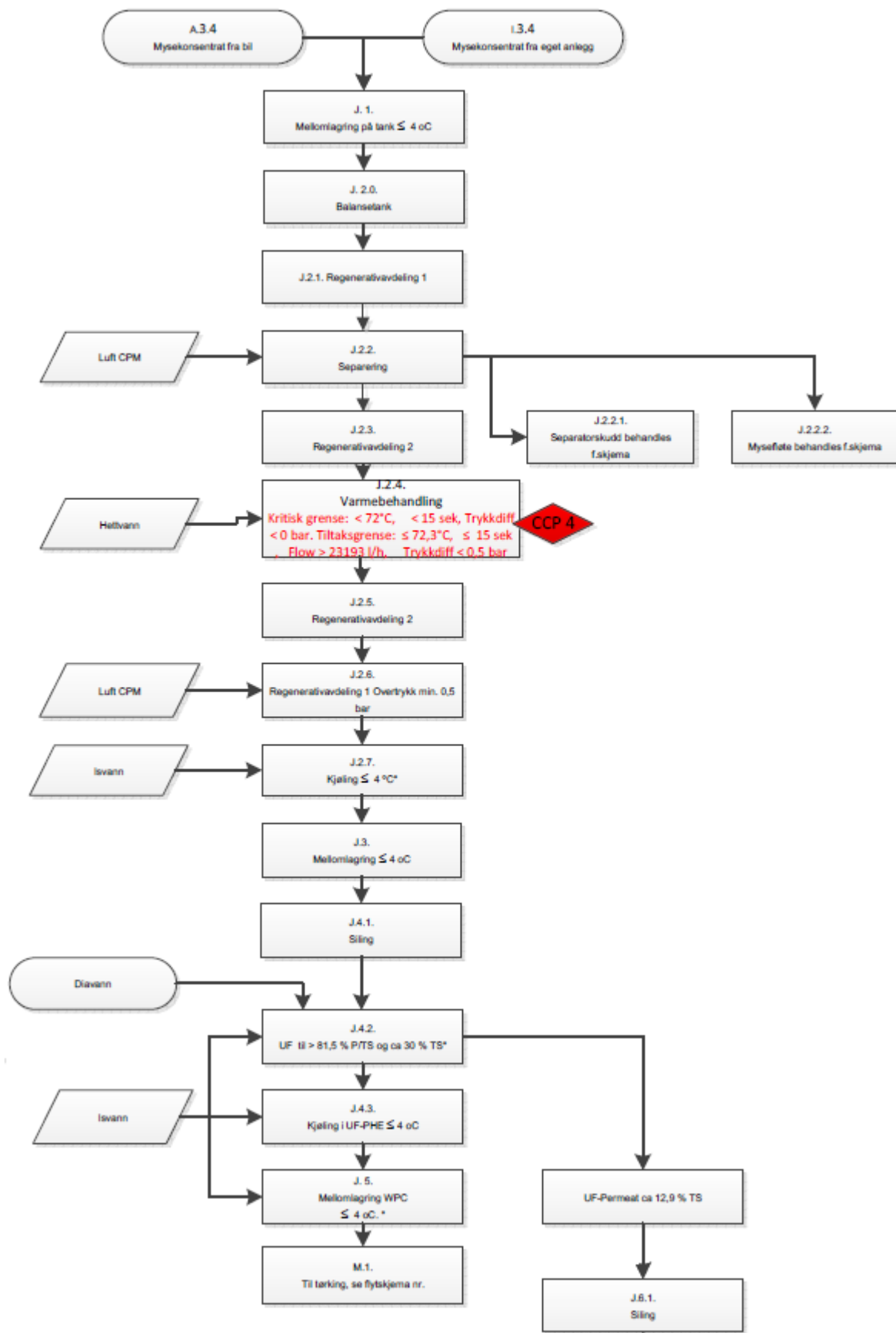
Walstra, P., J. T. M. Wouters, and T. J. Geurts. 2006. Dairy science and technology. CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, Florida, USA.

Wijayanti, H. B., H. E. Oh, R. Sharma, and H. C. Deeth. 2013. Reduction of aggregation of beta-lactoglobulin during heating by dihydrolipoic acid. *Journal of Dairy Research* 80(4):383-389.

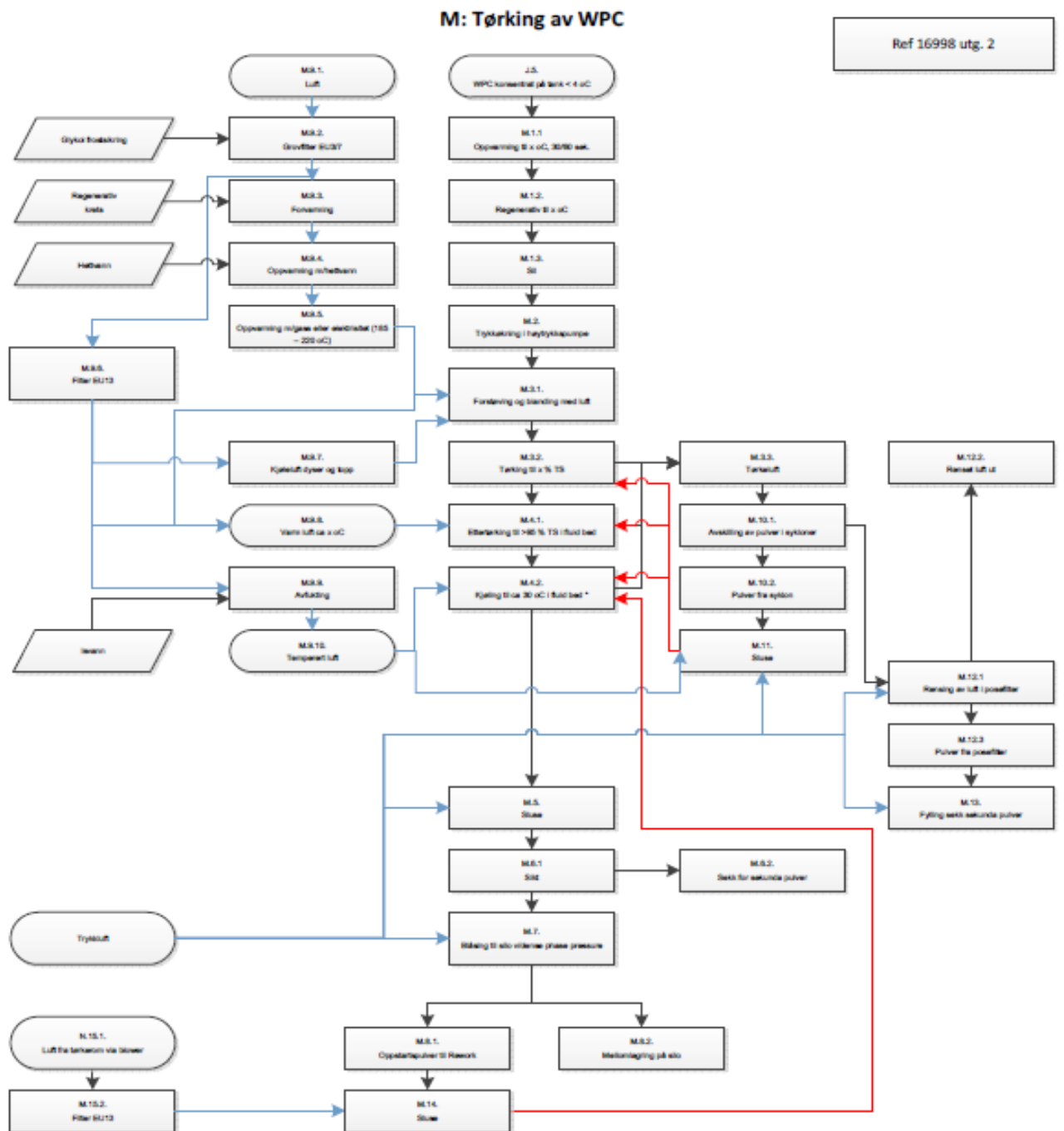
Vedlegg 1.1 Internt datablad, TINE SA. Varmebehandling og membranfiltrering



Vedlegg 1.2 Modifisert utsnitt av internt datablad

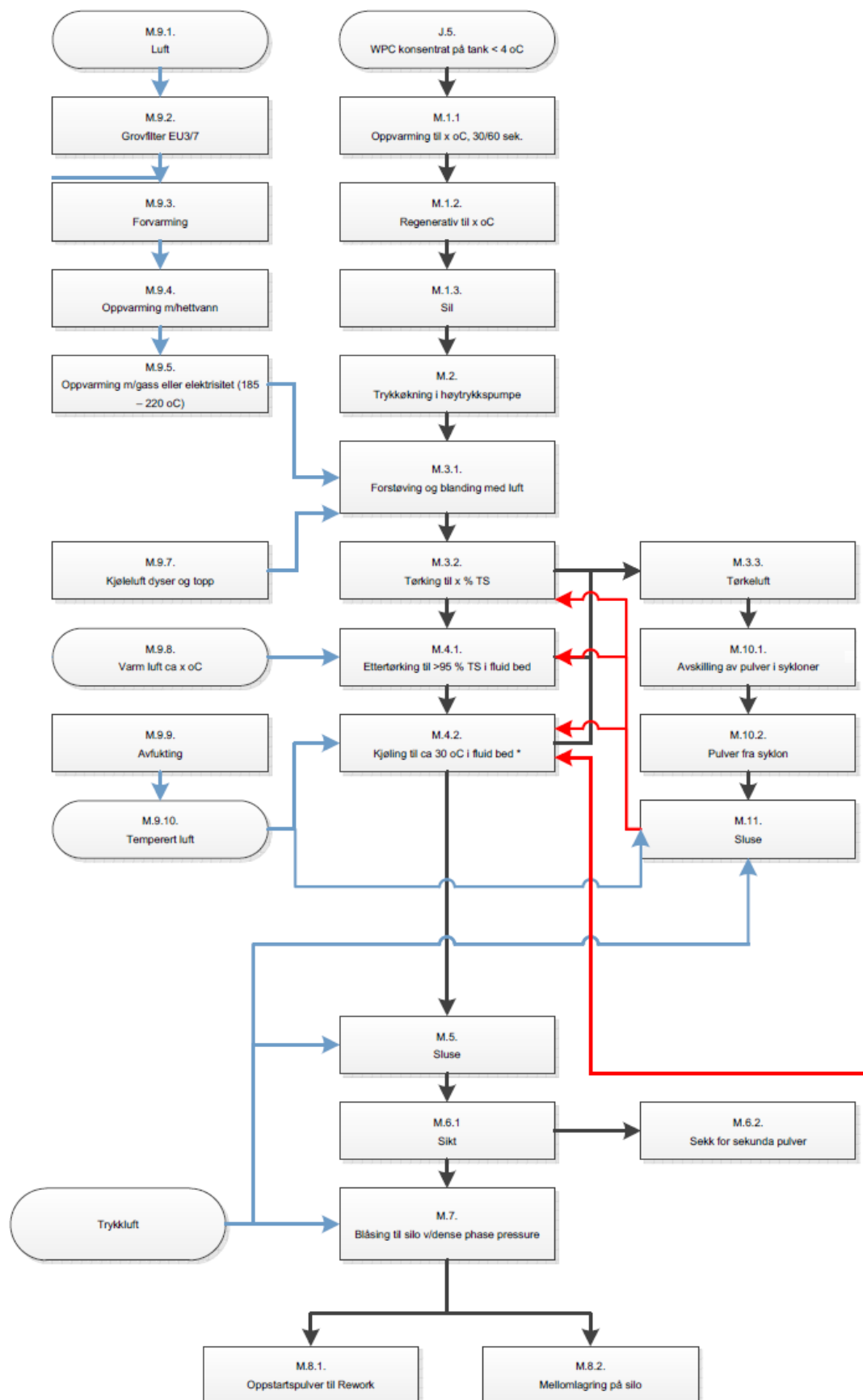


Vedlegg 2.1 Internt datablad, TINE SA. Tørking av WPC.



Verifisert 25.02.13
Mona Elise Brede
Jostein Bjørgum

Vedlegg 2.2 Modifisert utsnitt av internt datablad



Vedlegg 3.1 Minitab tabell for reologiske analyser

Gamma (%)	Tau (Pa)	G (Pa)	Kilde	Parti	Konsentrasjon	Temperatur	Tid
1,289	35,6	2715	1	1	1	1	1
1,100	30,8	2765	1	1	1	1	1
1,338	81,1	5897	1	2	1	1	2
1,355	80,6	5829	1	2	1	1	2
0,935	84,8	9120	1	2	1	2	1
0,834	73,5	8556	1	2	1	2	1
1,065	87,9	7978	1	2	2	1	1
0,965	82,3	8373	1	2	2	1	1
1,001	125,5	12250	1	1	1	2	2
1,024	127,3	12040	1	1	1	2	2
1,166	167,7	14310	1	1	2	1	2
1,133	166,2	14390	1	1	2	1	2
1,036	179,3	17470	1	1	2	2	1
0,923	165,9	17920	1	1	2	2	1
0,740	162,5	22480	1	2	2	2	2
0,973	174,4	17960	1	2	2	2	2
1,300	88,5	6637	2	2	1	1	1
1,245	80,7	6436	2	2	1	1	1
1,138	110,2	9539	2	1	1	1	2
1,104	101,7	9282	2	1	1	1	2
1,018	100,9	10050	2	1	1	2	1
0,971	75,4	7645	2	1	1	2	1
1,198	148,7	11810	2	1	2	1	1

Vedlegg 3.2 Minitab tabell for reologiske analyser

Gamma (%)	Tau (Pa)	G (Pa)	Kilde	Parti	Konsentrasjon	Temperatur	Tid
1,275	114,9	8776	2	1	2	1	1
1,129	165,7	14740	2	2	1	2	2
1,323	174,6	12940	2	2	1	2	2
1,118	232,0	20400	2	2	2	1	2
1,034	229,7	21810	2	2	2	1	2
1,116	265,2	23590	2	2	2	2	1
1,097	246,3	22270	2	2	2	2	1
0,945	243,7	25520	2	1	2	2	2
1,060	217,7	20570	2	1	2	2	2
3,393	140,4	4105	3	1	1	1	1
2,696	115,7	4187	3	1	1	1	1
3,780	420,7	10900	3	2	1	1	2
3,560	405,5	11090	3	2	1	1	2
3,081	499,0	15960	3	2	1	2	1
2,484	474,8	19700	3	2	1	2	1
1,140	135,2	11500	3	2	2	1	1
0,912	146,8	16490	3	2	2	1	1
2,406	605,3	24580	3	1	1	2	2
2,124	581,0	27430	3	1	1	2	2
1,493	454,6	30330	3	1	2	1	2
1,804	550,6	30010	3	1	2	1	2
1,773	687,3	37550	3	1	2	2	1
1,411	566,2	39200	3	1	2	2	1
0,992	220,0	21770	3	2	2	2	2
0,887	277,0	31360	3	2	2	2	2

Vedlegg 3.3 Minitab tabell for reologiske analyser

Minitab G'				
Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
		Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
Kilde	0,000	C	B	A
Parti	0,047	A	B	
Konsentrasjon	0,000	B	A	
Temperatur	0,000	B	A	
Tid	0,000	B	A	
Kilde*Parti	0,000			
Kilde*Temp.	0,003			
Temp*Tid	0,000			

Minitab Gamma				
Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
		Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
Kilde	0,000	B	B	A
Parti	0,963	A	A	
Konsentrasjon	0,000	A	B	
Temperatur	0,001	A	B	
Tid	0,826	A	A	
Kilde*Konsentrasjon	0,000			
Parti*Konsentrasjon	0,001			
Parti*Tid	0,031			

Minitab Tau				
Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
		Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
Kilde	0,000	B	B	A
Parti	0,094	A	A	
Konsentrasjon	0,040	B	A	
Temperatur	0,000	B	A	
Tid	0,011	B	A	
Kilde*Parti	0,006			
Kilde*Temp.	0,015			
Parti*Konsentrasjon	0,027			
Temp*Tid	0,005			

Vedlegg 4.1 Minitab tabell for Texture Profile Analysis

Hardhet	Kohesjon	Gummiaktighet	Adhesjon	Løsning	Aggregering
1,840	0,443	0,814	-1,030	1	1
1,970	0,447	0,880	-1,190	1	1
1,890	0,460	0,869	-1,080	1	1
1,930	0,467	0,901	-0,670	1	1
1,930	0,453	0,874	-1,090	1	1
1,710	0,428	0,732	-1,400	1	1
0,770	0,961	0,740	-1,400	1	2
0,730	0,896	0,654	-1,120	1	2
0,670	0,937	0,627	-0,910	1	2
0,770	0,914	0,703	-1,120	1	2
0,840	0,884	0,743	-1,070	1	2
0,770	0,955	0,735	-1,140	1	2
2,510	0,447	1,122	-0,490	2	1
2,370	0,438	1,037	-0,750	2	1
2,550	0,459	1,170	-1,290	2	1
2,660	0,454	1,208	-0,660	2	1
2,510	0,459	1,151	-1,250	2	1
2,630	0,471	1,238	-0,780	2	1
1,380	0,468	0,646	-1,990	2	2
1,410	0,469	0,661	-1,050	2	2
1,370	0,471	0,646	-0,820	2	2
1,330	0,453	0,603	-0,680	2	2
1,300	0,485	0,631	-0,300	2	2
1,320	0,464	0,612	-0,900	2	2
12,230	0,537	6,573	-0,140	3	1
12,750	0,576	7,344	-0,070	3	1
12,260	0,517	6,342	-0,200	3	1
13,690	0,533	7,294	-0,170	3	1
12,910	0,573	7,402	-0,060	3	1
12,810	0,561	7,183	-0,190	3	1
6,340	0,515	3,264	-0,220	3	2
6,130	0,608	3,728	-0,100	3	2
6,340	0,560	3,548	-0,200	3	2
6,400	0,597	3,820	-0,120	3	2
6,130	0,581	3,562	-0,070	3	2
6,520	0,549	3,579	-0,140	3	2

Vedlegg 4.2 Minitab tabell for Texture Profile Analysis

Minitab TPA					
Respons	Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
			Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
Hardhet	Pulver	0,000	C	B	A
	Aggregering	0,000	B	A	
	Pulv*Aggr	0,000			
Adhesjon	Pulver	0,000	B	B	A
	Aggregering	0,637	A	A	
	Pulv*Aggr	0,941			
Kohesjon	Pulver	0,000	A	C	B
	Aggregering	0,000	A	B	
	Pulv*Aggr	0,000			
Gummiaktighet	Pulver	0,000	B	B	A
	Aggregering	0,000	B	A	
	Pulv*Aggr	0,000			

Vedlegg 5. Minitab tabell for konsentrat

K	NWP	TP	Kilde	Parti
0,25	20,88	21,13	1	1
0,12	20,73	20,85	1	1
-0,01	20,50	20,50	1	2
0,08	20,58	20,67	1	2
0,44	6,57	7,01	2	1
0,47	6,57	7,03	2	1
0,68	8,41	9,09	2	2
0,59	8,52	9,11	2	2

Minitab Kjeldahls analyse av konsentrat					
Respons	Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
			Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
K	Kilde	0,001		B	A
	Parti	0,721	A	A	
	Kilde*Parti	0,026			
NWP	Kilde	0,000		A	B
	Parti	0,000	B	A	
	Kilde*Parti	0,000			
TP	Kilde	0,000		A	B
	Parti	0,001	B	A	
	Kilde*Parti	0,000			

Vedlegg 6. Minitab tabell for pulver

K	NWP	TP	Kilde	Parti
2,30	66,77	69,07	1	1
1,81	67,01	68,82	1	1
2,14	66,85	68,98	1	2
2,00	66,86	68,87	1	2
0,08	66,91	66,99	2	1
0,30	66,83	67,14	2	1
1,50	68,20	69,70	2	2
1,16	68,57	69,72	2	2
5,62	82,19	87,81	3	1
5,71	82,32	88,03	3	1
5,57	82,21	87,79	3	2
5,04	83,27	88,31	3	2

Minitab Kjeldahls analyse av pulver					
Respons	Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
			Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
K	Kilde	0,000	B	C	A
	Parti	0,108	A	A	
	Kilde*Parti	0,012			
NWP	Kilde	0,000	C	B	A
	Parti	0,014	B	A	
	Kilde*Parti	0,042			
TP	Kilde	0,000	B	C	A
	Parti	0,000	B	A	
	Kilde*Parti	0,000			

Vedlegg 7. Minitab tabell for løøsning

Kasein/D.M.	NWP	TP	Kilde	Parti
-0,02	9,76	9,74	1	1
0,07	9,81	9,88	1	1
0,07	9,80	9,87	1	2
0,00	9,77	9,77	1	2
-0,01	10,51	10,50	2	1
0,11	10,51	10,62	2	1
0,03	9,91	9,94	2	2
0,12	9,99	10,11	2	2
0,59	9,44	10,03	3	1
0,55	9,50	10,05	3	1
0,76	9,29	10,05	3	2
0,72	9,32	10,04	3	2

Minitab Kjeldahls analyse av løøsning					
Respons	Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
			Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
K	Kilde	0,000	B	B	A
	Parti	0,091	A	A	
	Kilde*Parti	0,172			
NWP	Kilde	0,000	B	A	C
	Parti	0,000	A	B	
	Kilde*Parti	0,000			
TP	Kilde	0,000	C	A	B
	Parti	0,009	A	B	
	Kilde*Parti	0,004			

Vedlegg 8.1 Minitab tabell for tørrstoff

	Konsentrat	
Tørrstoff	Kilde	Parti
29,855	2	1
29,832	2	1
29,760	2	1
28,029	2	2
28,022	2	2
27,975	2	2
7,584	3	1
7,580	3	1
7,581	3	1
9,782	3	2
9,781	3	2
9,787	3	2

	Pulver	
Tørrstoff	Kilde	Parti
97,382	1	1
97,371	1	1
97,393	1	1
97,377	1	2
97,349	1	2
97,323	1	2
97,631	2	1
97,785	2	1
97,529	2	1
97,919	2	2
96,786	2	2
97,157	2	2
95,954	3	1
95,700	3	1
95,453	3	1
95,558	3	2
96,405	3	2
96,498	3	2

Vedlegg 8.2 Minitab tabell for tørrstoff

	Løsning	
Tørrstoff	Kilde	Parti
15,322	1	1
15,330	1	1
15,383	1	1
15,384	1	2
15,400	1	2
15,397	1	2
16,214	2	1
16,482	2	1
16,198	2	1
14,779	2	2
14,751	2	2
14,768	2	2
11,815	3	1
11,822	3	1
11,832	3	1
12,025	3	2
12,043	3	2
12,049	3	2

Minitab Tørrstoff					
Tilstand	Faktor	P-verdi	Tukeygrupper		
			Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
Konsentrat	Kilde	0,000		A	B
	Parti	0,000	B	A	
	Kilde*Parti	0,000			
Pulver	Kilde	0,000	A	A	B
	Parti	0,905	A	A	
	Kilde*Parti	0,154			
Løsning	Kilde	0,000	B	A	C
	Parti	0,000	A	B	
	Kilde*Parti	0,000			

Vedlegg 9.1 Minitab tabell for Mastersizer-analyse

Responser				Faktorer	
Uniformitet	Dv (10)	Dv (50)	Dv (90)	Kilde	Parti
1,815	26,6	85,6	218	1	1
1,991	27,1	86,7	235	1	1
1,966	27	86,4	230	1	1
2,146	27,4	87,4	258	1	1
0,537	25,8	79,9	166	1	1
0,534	25,7	79,9	165	1	1
0,529	26	80,3	165	1	1
0,509	26	79,2	158	1	1
0,837	25,8	81,9	175	1	2
0,783	26,1	81,7	174	1	2
0,537	25,9	80,8	168	1	2
0,897	26,2	82,1	176	1	2
0,539	25,9	81,7	170	1	2
0,53	25,6	81,1	166	1	2
0,354	25,8	80,5	167	1	2
0,534	25,9	80,7	167	1	2
3,497	13,2	127	1640	2	1
3,284	13,6	145	1670	2	1
3,54	13,2	124	1610	2	1
3,581	13,5	138	1780	2	1
3,429	13,9	157	1860	2	1
3,646	13	115	1590	2	1
3,444	12,7	105	1370	2	1
3,287	12,5	98	1220	2	1

Vedlegg 9.2 Minitab tabell for Mastersizer-analyse

Responser				Faktorer	
Uniformitet	Dv (10)	Dv (50)	Dv (90)	Kilde	Parti
1,941	11,2	110	681	2	2
1,985	11	102	653	2	2
1,978	11	109	690	2	2
1,968	11,3	119	730	2	2
1,901	11	112	679	2	2
1,93	11,4	119	716	2	2
1,938	11,4	115	708	2	2
1,924	11	111	679	2	2
2,134	8,3	36,7	179	3	1
1,353	8,1	35,2	149	3	1
1,271	8,1	35,2	143	3	1
1,191	8,2	35,8	145	3	1
1,307	7,9	34	138	3	1
1,37	7,6	33,1	144	3	1
1,208	7,6	32,8	132	3	1
1,257	7,5	32,7	142	3	1
2,256	14,7	62,4	237	3	2
2,044	13,9	58,6	208	3	2
1,502	13,5	56,4	180	3	2
1,95	13,5	57	197	3	2
2,109	13,5	57,3	205	3	2
2,037	13,4	56,7	200	3	2
2,085	13,1	55,3	189	3	2
1,265	12,9	53,6	167	3	2

Vedlegg 9.3 Minitab tabell for Mastersizer-analyse

Minitab Mastersizer					
Respons	Faktor	P-verdi	Tukey Grupper		
			Nivå 1	Nivå 2	Nivå 3
Uniformitet	Kilde	0,000	C	A	B
	Parti	0,000	A	B	
	Kilde*Parti	0,000			
Dv (10)	Kilde	0,000	A	B	C
	Parti	0,000	B	A	
	Kilde*Parti	0,000			
Dv (50)	Kilde	0,000	B	A	C
	Parti	0,369	A	A	
	Kilde*Parti	0,000			
Dv (90)	Kilde	0,000	B	A	C
	Parti	0,000	A	B	
	Kilde*Parti	0,000			

Vedlegg 10. Støtteanalyser og sensorisk vurdering

Laktose (ppm)	Kilde	Parti
22072	2	1
11557	2	2
883	3	1
1316	3	2
39494	1	1
56991	1	2
49590	2	1
38260	2	2
9722	3	1
13739	3	2

Mineralanalyse (Gjennomsnittsverdier)										
Na (g/kg)	Mg (g/kg)	P (g/kg)	K (g/kg)	Ca (g/kg)	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Total (g/kg)	Kilde	Parti
2,0	0,8	4,4	7,7	5,9	7,5	8,2	1,1	20,8	1	1
2,0	0,8	4,4	7,8	6,3	7,4	8,5	1,2	21,3	1	2
1,90	0,80	4,60	6,90	6,30	8,10	12,00	1,10	20,5	2	1
1,70	0,78	4,30	6,90	6,50	8,00	8,90	2,30	20,2	2	2
1,73	0,56	1,60	3,20	4,33	13,00	6,13	7,43	11,4	3	1
1,6	0,6	1,6	3,2	4,2	12,7	5,6	5,0	11,3	3	2

Fettinnhold (%)	Kilde	Parti
4,87	1	1
5,27	2	1
4,67	2	2
0,26	3	1
0,23	3	2

Sensorisk vurdering (Gjennomsnittsverdier for 10 besvarelser)							
Gelhardhet	Geljevnhet	Aggregater	Synerese	Munnfølelse	Kilde	Batch	Temp.
6	6	2	3,1	5,1	1	2	1
5,9	2,2	3,8	4,3	2	1	2	2
5,6	2,4	3,7	3,4	2,2	2	1	2
1,1	6,7	1	2	1,1	3	2	2



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no