



Førord

Denne masteroppgaven ble utført ved Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (IKBM) ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), høsten 2015. Oppgaven utgjør 30 studiepoeng.

Jeg vil først rette en stor takk til min hovedveileder, Professor Judith A. Narvhus, for engasjement, veiledning og god oppfølging under arbeidet med oppgaven.

Tusen takk til TINE for økonomisk støtte av denne oppgaven.

Jeg vil videre rette en ekstra stor takk til de ansatte på laboratoriet ved Instituttet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap for all hjelp og gode råd under arbeidet på labben, og for et hyggelig arbeidsmiljø. Jeg vil også rette en stor takk til personale i piloten for god hjelp. Takk også til Reidar Barfod Schüller for god hjelp til gjennomføring av reologien. Jeg vil også rette en stor takk til alle som har vært med å hjelpet til med de sensoriske analysene i etterkant.

Til slutt vil jeg takke min kjære samboer Kim Erik for å hjelpet meg underveis i arbeidet med oppgaven og for at du var til ekstra hjelp i hektiske perioder.

Ås, desember 2015.

Janne Kaald Husby

Sammendrag

Fokuset på utvikling av meieriprodukter med et lavt fett- eller høyt proteininnhold er stadig økende. Det er også fokus på minst mulig bruk av tilsetningsstoffer i meieriprodukter. Tjukkmjølk er et tradisjonelt surmelksprodukt fra Røros-traktene i Norge, med en karakteristisk fyldig trådtrekkende konsistens. Denne spesielle konsistensen på melka kommer av den eksopolysakkarid (EPS) produserende melkesyrebakterien *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* som er å finne kulturen til Tjukkmjølk. Bruk av EPS i meieriprodukter kan være med på å redusere bruken av tilsetningsstoffer, da EPS kan fungere som en naturlig fortykningsagent siden den produseres *in situ* av melkesyrebakterier (MSB) som er ansett som trygge.

I denne oppgaven ble det utviklet seks ulike syrnede melkeprodukter (kalt "dipp") med et lavt fett- (< 0,1 %) og høyt proteininnhold (10 %). Til fremstilling av disse produktene ble skummet melk proteinanriket med ulike fettfrie, melkeproteinpulvere (A, C, D) og podet med ulike kulturer. Den ene kulturen som ble brukt var produktet Tjukkmjølk og den andre en DL-kultur uten trådtrekkende egenskaper (CHN-11 kultur). Fokuset i denne oppgaven var å undersøke effekten av bruk av ulike proteinpulvere og kulturer, samt se om det var en forskjell mellom produkter som fersk og etter lagring i 3 uker, og mellom produkter som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Produktene ble sammenlignet med kommersielle produkter som Lettrømme og Mager Kesam, også som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. For å undersøke dette ble foretatt både målinger av pH og mikrobiologiske-, kjemiske-, sensoriske- og reologiske analyser av ferske og lagrede produkter hhv. før poding, under- og etter syrning.

På grunnlag av analysene ble det vist at det var mange signifikante forskjeller i pH utvikling, innhold (ppm) av ulike metabolitter, og sensoriske- og reologiske egenskaper mellom produkter laget med ulike proteinpulvere, kulturer, som fersk og lagret, og som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Det ble også vist signifikante forskjeller mellom proteinanrikede- og kommersielle produkter som både naturell og smaksatt med Holiday dipmix. De sensoriske vurderingene viste at de kommersielle produktene ble bedre likt enn de proteinanrikede produktene, og blant de sistnevnte kom produkter laget med pulvertype C og D, fermentert med Tjukkmjølk (CT, DT) ut som signifikant best. I tillegg ble produkter smaksatt med Holiday dipmix bedre likt enn de naturlige produktene.

Abstract

The focus on development of dairy products with low fat or high protein content is constantly increasing. Attention is also focused on the least possible use of additives in dairy products.

Tjukkmjølk is a traditional fermented milk product from Røros tracts in Norway, with a characteristic viscous and ropy consistency. This particular consistency of the milk comes from the eksopolysakkarid (EPS) producing lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* that exists in the culture of Tjukkmjølk. Use of EPS in dairy products can contribute to reducing the use of additives, since EPS can act as a natural thickening agent since it is produced *in situ* by lactic acid bacteria (LAB), which is considered safe.

In this thesis, six different fermented milk products (called "dip") with a low fat (<0.01) and high protein content (10 %) were developed. For the preparation of these products skim milk was protein enriched with different fat-free, milk protein powders (A, C, D) and inoculated with various cultures. One culture used was the product Tjukkmjølk and the other a DL-culture without ropy properties (CHN-11 culture). The focus of this thesis was to investigate the effect of using different protein powders and cultures, and see if there was a difference between products as fresh and stored for 3 weeks, and between products as natural and flavored with Holiday dipmix.

The products were compared with commercial products such as Lettrømme and Mager Kesam, also as natural and flavored with Holiday dipmix. To study this, there were performed measurements of pH and microbiology-, chemical-, sensory- and rheological analyzes of the fresh and stored products respectively before inoculation, during- and after the acidification.

On the basis of the analysis, it was shown that there were many significant differences in pH development, content (ppm) of various metabolites, and sensory- and rheological properties between products made with different protein powders, cultures, as fresh and stored, and as natural and flavored with Holiday dipmix. It was also shown significant differences between protein enriched- and commercial products both natural and flavored with Holiday dipmix. The sensory analyses showed that the commercial products was better liked than the protein enriched products, and among the latter came products made with powder type C and D, fermented with Tjukkmjølk (CT, DT) as significant best. In addition, products flavored with Holiday dipmix was better liked than those natural products.

INNHALDSFORTEGNELSE

1	INNLEDNING	1
2	LITTERATUROVERSIKT	2
2.1	TJUKKMJØLK OG HISTORIE	2
2.2	MELKESYREBAKTERIER.....	3
2.2.1	Slekten Lactococcus	3
2.2.2	Slekten Leuconostoc	4
2.2.3	Genetikk: Plasmidbundne egenskaper	4
2.2.4	Metabolisme	4
2.2.4.1	Karbohydratmetabolisme	5
2.2.4.2	Alternativ pyruvatmetabolisme.....	8
2.2.4.3	Sitratmetabolisme	9
2.2.4.4	Protein metabolisme.....	10
2.2.4.5	Produksjon av eksopolysakkarider	12
2.3	MELK OG MELKEBEHANDLING	15
2.3.1	Melkens sammensetning og påvirkning av sensoriske og reologiske egenskaper ...	15
2.3.2	Dannelse av syregeler.....	16
2.3.2.1	Betydning av høy varmebehandling	18
2.3.2.2	Andre faktorer som påvirker dannelsen av syrefelte melkegeler.....	19
2.4	PROTEINANRIKNING.....	19
2.4.1	Proteinpulvere og egenskaper.	19
2.5	REOLOGI.....	22
2.5.1	Viskoelastiske stoffer	22
2.5.2	Rotasjonstest.....	23
2.5.3	Oscillasjonstest.....	23
2.5.3.1	Amplitude sweep	24
2.6	MÅL OG PROBLEMSTILLING.....	25
3	MATERIALER OG METODER	26
3.1	FORSØKSDESIGN.....	26
3.1.1	Beregning av mengde (kg) skummet melk og proteinpulver til melkeblandingene	29

3.2	FORFORSØK.....	31
3.2.1	Forforsøk 1	31
3.2.2	Forforsøk 2	32
3.2.3	Forforsøk 3	33
3.3	HOVEDFORSØK	34
3.3.1	Tilberedning av podemateriale til produksjonene.....	34
3.3.2	Melk til produksjonene.....	34
3.3.3	Fremstilling av dipp	35
3.4	MÅLINGER OG ANALYSEMETODER	36
3.4.1	Måling av pH.....	36
3.4.2	Mikrobiologiske analyser	36
3.4.2.1	M17 agar med laktose	36
3.4.2.2	VRBA (Violet Red Bile Agar).....	37
3.4.2.3	RBCA (Rose-Bengal Chloramphenicol agar).....	37
3.4.3	Mikroskopering	38
3.4.4	Kjemiske analyser	38
3.4.4.1	Headspace Gasskromatografi (HSGC) for flyktige forbindelser.....	38
3.4.4.2	Høytrykksvæskeskromatografi (HPLC) for organiske syrer og karbohydrater ...	39
3.4.5	Reologiske analyser.....	41
3.4.5.1	Viskositetsmålinger.....	41
3.4.6	Sensoriske analyser	41
3.4.7	MilkoScan for analyse av protein og fettkonsentrasjoner.....	42
3.4.8	Kjeldahl analyse for proteinkonsentrasjon (%) i proteinpulvere	43
3.4.8.1	Tillaging av stamløsning av proteinpulvere.....	43
3.4.8.2	Prøveopparbeidelse for analyse av total nitrogen (TN)	43
3.4.8.3	Prøveopparbeidelse for analyse av ikke-protein nitrogen (IPN).....	43
3.4.8.4	Prøveopparbeidelse for analyse av ikke-kasein nitrogen (IKN)	44
3.4.8.5	Oppslutning av prøver til Kjeldahl destillasjon	44
3.4.8.6	Destillering.....	45
3.4.8.7	Beregninger	45
3.4.9	Statistiske analyser	45

4	RESULTATER	46
4.1	FORFORSØK.....	46
4.1.1	Løseligheten til proteinpulverene.....	46
4.1.2	pH utvikling.....	46
4.1.3	Bakterieantall	48
4.1.4	Etanolproduksjon	49
4.1.5	Sensoriske analyser	50
4.2	HOVEDFORSØK	51
4.2.1	pH utvikling.....	51
4.2.2	Bakterieantall	54
4.2.3	Mikroskopering	55
4.2.4	Beregnet sammensetning av protein og laktose i dipp.....	56
4.2.5	Proteinkonsentrasjon i proteinpulvere beregnet ved bruk av Kjeldahl analyse	57
4.2.6	Kjemiske analyser	59
4.2.7	Reologiske analyser.....	73
4.2.8	Sensoriske analyser	81
5	DISKUSJON.....	99
5.1	FORFORSØK.....	99
5.2	HOVEDFORSØK	101
5.2.1	Effekt på bruk av ulike proteinpulvere.....	101
5.2.1.1	Kjeldahl-analyse	101
5.2.1.2	pH og melkesyre	102
5.2.1.3	Kjemiske analyser	104
5.2.1.4	Reologiske analyser	108
5.2.1.5	Sensoriske analyser.....	110
5.2.2	Effekt på bruk av ulike kulturer	119
5.2.2.1	pH og melkesyre	119
5.2.2.2	Kjemiske analyser	119
5.2.2.3	Reologiske analyser	122
5.2.2.4	Sensoriske analyser	123
5.2.3	Vurdering av produktene.....	129

5.3	OPPSUMMERING	131
5.4	FREMTIDIG ARBEID.....	135
6	REFERANSER	137
	VEDLEGG.....	143

1 INNLEDNING

Det kommer stadig nye meieriprodukter på markedet. Det kan for eksempel være produkter med ny smak, tilsatt forskjellige kornsorter, med et lavere innhold av fett og karbohydrater, eller økt proteininnhold. Utvalget er stort. Fokuset på matvarer med lavere fettinnhold, spesielt mettet fett som det er mye av i melk, og et høyere innhold av proteiner, som er viktig for oppbygning og vedlikehold av celler i kroppen, er stadig økende (Pedersen et al. 2009). Det er også fokus på minst mulig bruk av tilsetningsstoffer i meieriprodukter. Tjukkmjølkk er et tradisjonelt surmelksprodukt fra Røros-traktene i Norge med en historie på mer enn 150 år. Det spesielle med Tjukkmjølkk er den fyldige trådtrekkende konsistensen på melka, herav navnet "tjukkmjølkk" (Rørosmeieriet 2013). Den trådtrekkende konsistensen kommer av den eksopolysakkarid (EPS) produserende melkesyrebakterien *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* som er å finne i kulturen til Tjukkmjølkk (Haug 1996). Bruk av EPS i meieriprodukter kan være med på å redusere bruken av tilsetningsstoffer, da EPS kan fungere som en naturlig fortykningsagent siden det produseres *in situ* av melkesyrebakterier (MSB) som er ansett som trygge (Ruas-Madiedo et al. 2002). Det var derfor interessant å utvikle proteinanrikede melkeprodukter med et lavt fettinnhold, og anvende Tjukkmjølkk og en annen tilsvarende kultur uten trådtrekkende egenskaper som podemateriale, og deretter å sammenligne disse produktene med hverandre.

Under denne studien ble det utviklet seks ulike fermenterte melkeprodukter, kalt "dipp". Det vil si et produkt med en konsistens som er såpass tykk at den vil dekke et potetgull eller en grønnsakskive. Produktene ble fremstilt av skummet melk som ble proteinanriket med tre forskjellige proteinpulvere, type 1, type 3 og skummetmelkpulver. Det ble brukt to forskjellige kulturer, Tjukkmjølkk (tettekultur) og CHN-11 (DVC, DL kultur). Det ble foretatt måling av pH, mikrobiologisk, kjemisk, sensoriske og reologiske analyser av ferske og lagrede prøver. Fra resultater av analysene, ble det sett på forskjeller mellom produkter fremstilt ved bruk av forskjellige proteinpulvere og kulturer, analysert som fersk og lagret i 3 uker, og som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Det ble også sett på om det var en forskjell mellom proteinanriket dipp og kommersielle produkter som Lettrømme (18 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge) og Mager Kesam (1 % fett, Tine, Oslo, Norge) som naturell og smaksatt med Holiday dipmix.

2 LITTERATUROVERSIKT

2.1 TJUKKMJØLK OG HISTORIE

I Norge er Tjukkmjølkk et tradisjonelt surmelksprodukt, med en fyldig trådtrekkende konsistens og en mild syrlig smak med liten grad av synerese. Andre lignende tradisjonelle surmelkprodukter i nordiske land med denne trådtrekkende konsistensen er Långfil (Sverige) og Viili (Finland).

Produksjon og populariteten av fermentert melk har en lang historie i de Skandinaviske landene.

Tradisjonelt ble Tjukkmjølkk produsert ved enten tilsetning av en liten mengde tette til melka, en syrekultur bestående av Tjukkmjølkk med god kvalitet som ble brukt i flere dager, eller tilsatt melken til en allerede fermentert Tjukkmjølkk. Hvis tetten ikke klarte å fermentere melken ble det etter tradisjonen innhentet en aktiv tette fra en av nabogårdene i distriktet. Var det ikke tilgang på syrekultur, ble blader av tetteplanten (*Pinguicula vulgaris*), en "kjøttetende plante" som vokser i myrområdet på fjellet i Norge, tilsatt melken og inkubert ved 17 - 20 °C inntil melken koagulerte.

Denne prosessen ble gjort mange ganger inntil en egnet fermentert melk var produsert (Abrahamsen et al. 2003; Fondén et al. 2006). Fermentering av melka ble gjort på tretønner eller andre beholdere hvor tilgangen på oksygen var begrenset, og oppbevart i en kjeller ved 17 - 20 °C. Melken koagulerte i løpet av en dag og kunne oppbevares i flere dager eller måneder.

Kontaminering av gjær førte til produksjon av etanol, karbondioksid (CO₂) og melkesyre ved fermentering av laktose i melka (Fondén et al. 2006).

Kommersiell økologisk Tjukkmjølkk har vært produsert av Rørosmeieriet AS siden 1995 (Furuset 2005), og fremstilles i dag av ikke homogenisert melk med 1,5 % fett, som pasteuriseres før den syrnes (Rørosmeieriet 2013). Tettekulturen som Rørosmeieriet bruker til syrning er fra lokale gårder i området (Abrahamsen et al. 2003). Økologisk Tjukkmjølkk fra Røros har i dag et beskyttet geografisk betegnelse-merke. Det vi si at Tjukkmjølkk må produseres i Røros kommune, og den økologiske melken som brukes skal være innenfor et avgrenset område. I tillegg skal råmelken skummes, pasteuriseres, men ikke homogeniseres før den kjøles ned. Syrning av melken skal skje ved bruk av den tradisjonelle tettekulturen (tilsettes 0,5 - 1,5 %) ved 20 - 23 °C, før tapping på kartong og skal deretter syrnes i ca. 1 døgn til ønsket konsistens, lukt, surhet, og smak er oppnådd. Etter syrning lagres Tjukkmjølken kjølig (Lovdata 2004). Kulturen i Tjukkmjølkk er en mesofil syrekultur bestående av *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* og

Leuconostoc mesenteroides subsp. *cremoris*. Av *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* stammene er det blitt funnet både en syredannende stamme og en EPS-dannende stamme (Fondén et al. 2006; Haug 1996)

2.2 MELKESYREBAKTERIER

Melkesyrebakterier (MSB) er ansvarlig for en stor variasjon i smak og tekstur til matvarer på grunn av deres fermentering av råstoff. MSB har et rykte for å være generelt trygge (GRAS; generally recognized as safe), selv om det er noen arter som er patogene. Noen MSB er også ansett som helsefremmende (probiotiske) (Narvhus & Axelsson 2003.). MSB består av en gruppe Gram-positive bakterier som skiller seg på mange områder når det gjelder morfologi, metabolisme og fysiologisk karakteristikk, men har likevel enkelte likhetstrekk. De er ikke-sporeformende, ikke-respirerende, aerotollerante staver- eller kokkeformede bakterier, som gjennom fermentering av karbohydrater, produserer melkesyre som deres hovedfermenteringsprodukt (Wright & Axelsson 2012). Som nevnt er MSB aerotollerante, men veksten foregår anaerobisk (Walstra et al. 2006b). De er svakt proteolytiske og lipolytiske, som er viktig siden nedbrytningsprodukter fra protein og fett ofte har ubehagelig lukt eller smak i høye konsentrasjoner (Narvhus & Axelsson 2003.). Det er 12 slekter av MSB, hvor 4 inneholder organismer som er benyttet til fermentering av meieriprodukter; *Lactococcus* (Lc.), *Leuconostoc* (Ln.), *Streptococcus* (S.) og *Lactobacillus* (Lb.) (Walstra et al. 2006b).

2.2.1 Slekten *Lactococcus*

Laktokokker er assosiert med meieriprodukter, men av de artene som er kjent så langt så er det spesielt en art, *Lactococcus* (*Lc.*) *lactis*, som er vanlig å bruke i meieriteknologi (Axelsson 2004). Laktokokker brukes ofte i ko-kultur med *Leuconostoc*-stammer, og *Lc. lactis* er kommersielt den mest viktigste. To underarter av *Lc. lactis* som er assosiert i syrekultur i meieriprodukter er: subsp. *lactis* og subsp. *cremoris*. Den førstnevnte har en bioavariant - *diacetylactis*, som er svært lik *Lc. lactis* subsp. *lactis*, men skiller seg ut ved å kunne metabolisere sitrat, som resulterer i produksjon av diacetyl og karbondioksid (CO₂). De to underartene skiller seg fra hverandre ved at subsp. *cremoris* er merkbart mindre reaktiv enn subsp. *lactis*, men derimot så er subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* kjent for å være en bedre smaksprodusent i fermenterte produkter, som f.eks. ost. Enkelte stammer av *cremoris* kan produsere ekstracellulære polysakkarider (EPS) (omtalt i del.2.3), som er årsaken til den trådtrekkende konsistensen i tradisjonelle produkter som

Tjukkmjøl. Felles for de overnevnte stammene er at de er alle kokkeformede, ubevegelige, homofermentative bakterier. Dvs. at de kun produserer L+ melkesyre ved karbohydratfermentering (Narvhus & Axelsson 2003.; Tamime 2002; Walstra et al. 2006b). Basert på deres krav for vekstoptimum er de mesofile bakterier, som har optimal vekst ved 20-30 °C (Tamime et al. 2006).

2.2.2 Slekten *Leuconostoc*

Slekten *Leuconostoc* (Ln.) er bestående av kun heterofermentative kokker, det produseres etanol (anaerob)/acetat (aerob), CO₂ i tillegg til D- melkesyre ved karbohydratfermentering. Slekten er relativt liten og er bestående av omtrent 12 arter. De mest vanlige artene som er assosiert med meierisyrekulturer er *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum* og i enkelt tilfeller *Ln. lactis*. Disse har evnen til å produsere D melkesyre samt aroma/smakskomponenter som f.eks. diacetyl og eddiksyre fra metabolisme av sitrat, og de reduserer aktivt acetaldehyd til etanol. I tillegg produseres CO₂ fra både citrat og fermentering av karbohydrater, noe som gir en svakt "brusning/prikking på tungen" i produkter som skummet kulturmilk (Narvhus & Axelsson 2003.; Tamime 2002). Basert på deres krav for vekstoptimum er de mesofile bakterier, som har en optimal vekst ved 20-30 °C. Generasjonstiden til *Lc. mesenteroides* subsp. *cremoris* er lang, 48 timer ved 22-30 °C (Tamime 2002; Tamime et al. 2006).

2.2.3 Genetikk: Plasmidbundne egenskaper

Mange MSB bærer noe av deres genetiske materiale på intracellulære, ekstrakromosomale DNA partikler, kalt plasmider. Hos laktokokker koder de for teknologiske viktige faktorer som bakteriofagresistens, proteinaseaktivitet, og evne til å bryte ned laktose og sitrat. Tap av plasmid kan oppstå under celledeling, og resulterer i tap av spesifikke gener og tilhørende egenskaper og kulturen blir ubrukelig. Dette kan skape hodebry ved bruk som syrekultur i meieriindustrien (Narvhus & Axelsson 2003.).

2.2.4 Metabolisme

Alle MSB krever organisk karbon som en kilde til karbon og energi, ettersom de ikke kan hente energi via respirasjon. De er derfor avhengig av reaksjoner som skjer under glykolysen for å oppnå energi i form av adenosin triphosphate (ATP). Hovedenergikilden til MSB under vekst i melk er laktose, som blir redusert til melkesyre og eventuelt andre produkter via to forskjellige metabolske veier: homofermentering eller heterofermentering. Noen MSB kan i tillegg metabolisere sitrat (sitronsyre), en komponent som er å finne i melk, til f.eks. diacetyl, som er en viktig

smakskomponent i fermenterte meieriprodukter. MSB er også tilpasset til å bruke proteiner som en kilde til nitrogen for å kunne vokse, ved å degradere proteiner til mindre komponenter som peptider og aminosyrer (Walstra et al. 2006b). Acetaldehyd er den viktigste smakskomponenten i yoghurt, og bør være til stede i konsentrasjoner rundt 23-41 mg/kg (pH 4.2 - 4.4) for å gi den typiske ønskede yoghurtsmaken, men det er ikke i alle fermenterte produkter som en ønsker denne smaken, da de kan gi en såkalt "grønn smak" (Adams & Moss 2008).

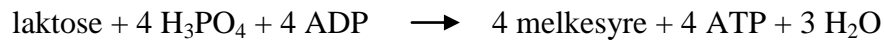
2.2.4.1 Karbohydratmetabolisme

Hovedkarbohydratet i melk er laktose, et disakkarid bestående av glukose og galaktose, og er årsaken til den søte smaken på melka. Som nevnt tidligere må MSB anskaffe energi i form av ATP gjennom reaksjoner som skjer under glykolysen. Første steget i metabolisering av laktose er å transportere laktose inn i cellen. Det er to hovedsystemer bakteriene bruker for å transportere laktose gjennom cellemembranen (Walstra et al. 2006b; Walstra et al. 2006c). Det første systemet er fosfoenyl pyruvat fosfotransferasesystemet (PEP-PTS), som er karakteristisk for laktokokker. Fosfatskilden under denne reaksjonen er det energirike intermedietet, fosfoenol-pyruvat (PEP) fra glykolysen. Laktose transporteres over membranen ved at en fosfatgruppe overføres fra PEP til laktose via fosfotransferasesystemet (PTS), og blir fosforylert. Som en konsekvens blir fosforylert laktose akkumulert intracellulært, og videre hydrolysert til glukose og galaktose-6-fosfat av fosfo- β -fosfat-galaktosidase. Glukose blir konvertert til glukose-6-fosfat, og begge sukker fosfatene blir deretter metabolisert videre (Walstra et al. 2006b). I det andre systemet blir laktose transportert inn i cellen til MSB ved hjelp av proteiner i cytoplasma (permeaser). Laktose permease-systemet er et aktivt transportsystem, hvor energi er gitt i form av proton drivkraften som utvikles som følge av hydrolyse av ATP ved hjelp av ATPase i membranen. Dette systemet er karakteristisk for andre bakterier enn laktokokker, slik som *leuconostoc*-arter. Hydrolyse av laktose til glukose og galaktose skjer ved hjelp av β -galaktosidase, før begge sukkerne blir metabolisert videre (Walstra et al. 2006b).

Homofermentativ nedbrytning av laktose

Homofermentative bakterier som laktokokker metaboliserer glukose-6-fosfat videre via glykolysen eller Emben-Meyerhof (EM) veien, og galaktose-6-fosfat via tagatose veien. Det karakteristiske ved disse veiene er tilstedeværelse av aldolase, et enzym som er nødvendig for å hydrolysere hexose difosfat til glyceraldehyd-3-P. Nesten all sukker som brukes, spesielt glukose,

transporteres til melkesyre. Den homofermentative veien inkluderer den første fasen av alle reaksjoner under glykolysen som leder til hexose til pyruvat. Den endelige elektronseptoren i denne veien er pyruvat som blir redusert til melkesyre. Under optimale forhold ved homofermentering av ett mol laktose dannes det fire mol melkesyre og fire mol ATP. Opp til ca. 95 % av laktosen blir omdannet til melkesyre (Khalid 2011; Walstra et al. 2006b).

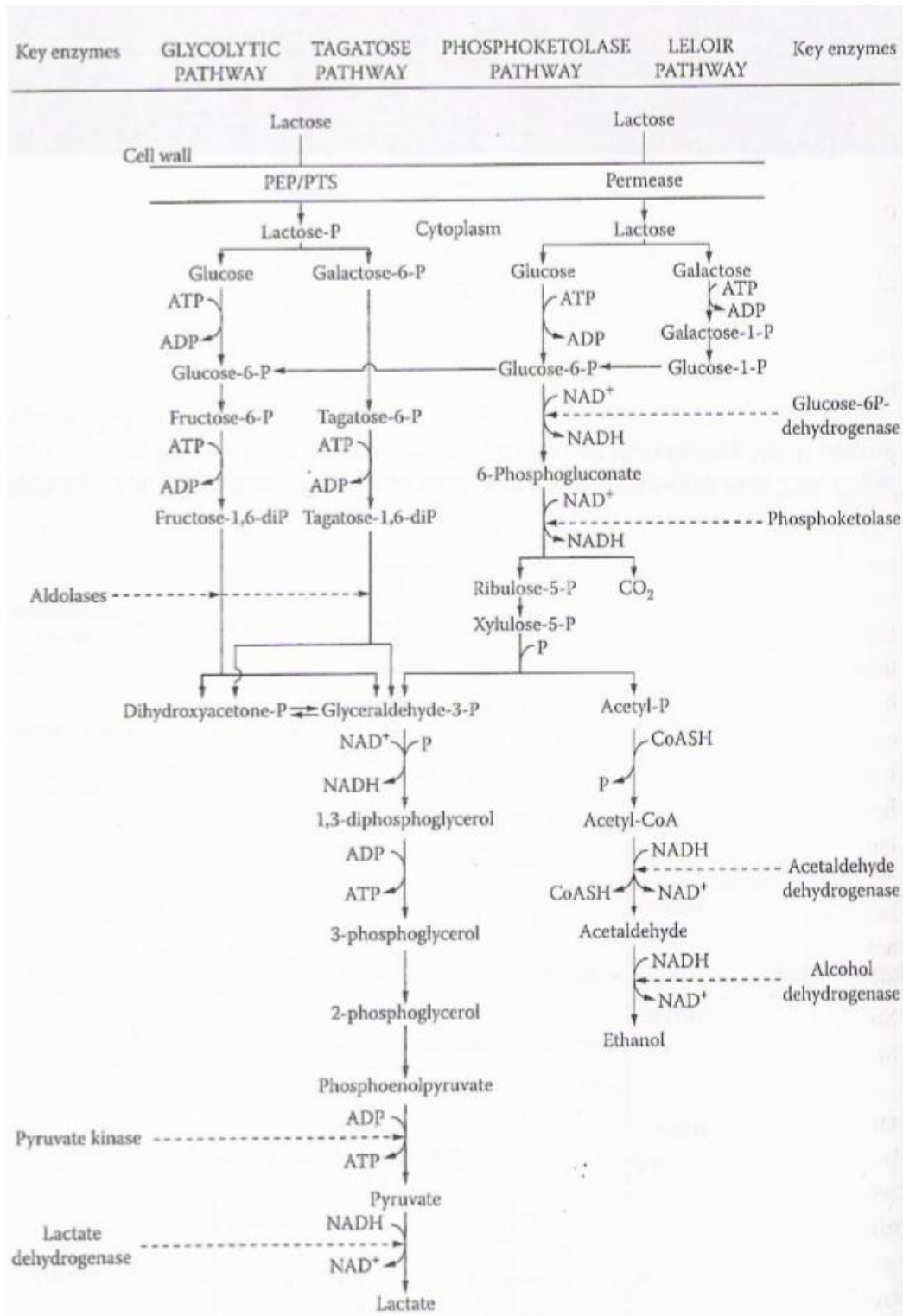


Heterofermentativ nedbryting av laktose

Heterofermentative bakterier som leuconostoc fermenterer glukose via fosfoketolase veien, og galaktose blir transformert til glukose-1-fosfat via Leloirveien, før videre nedbrytning i glykolysen til pyruvat og melkesyre. Ved hjelp av enzymene glukose-P-dehydrogenase og fosfoketolase blir glukose omdannet til pentose-5-P, som videre blir omdannet til glyceraldehyd-3-P og acetyl-P. CO₂ blir også produsert under prosessen. Glyceraldehyd-3-P reduseres videre til melkesyre via pyruvat i glykolysen, mens acetyl-P reduseres til acetaldehyd via acetyl-CoA og acetaldehyd dehydrogenase, før den reduseres videre til etanol ved hjelp av alkohol dehydrogenase. I løpet av heterofermentering (anaerob) av ett mol laktose dannes det to mol melkesyre, to mol etanol, to mol CO₂ og to mol ATP (Walstra et al. 2006b).



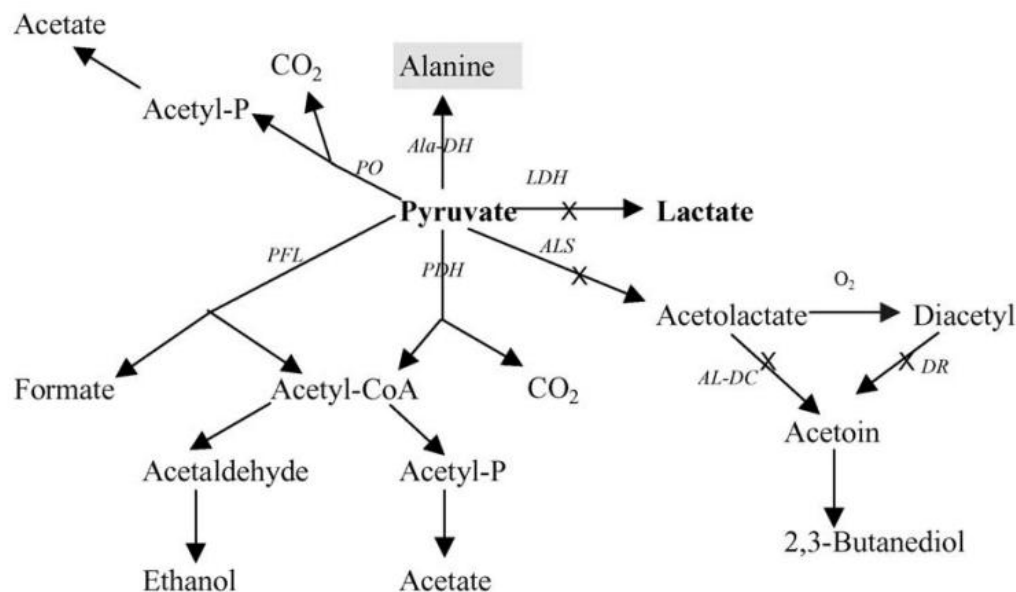
Figur 1 viser melkesyrebakterienes metabolisme av laktose ved glykolyse-, tagatose-fosfoketolase- og Leloirveien. Stiplede piler viser viktige enzymer som inngår i homofermentativ og heterofermentativ omsetning.



Figur 1. Ulike reaksjonsveier for metabolisme av laktose hos melkesyrebakterier (Cogan & Hill 1993).

2.2.4.2 Alternativ pyruvatmetabolisme

Pyruvat er et vanlig intermediat som har en sentral rolle i fermenteringsveier, som regel som en elektronakseptor for å danne melkesyre, og dermed bidra til å opprettholde oksidasjon-reduksjon reaksjoner i cellen. Likevel er melkesyre langt i fra hovedproduktet dannet fra pyruvat av MSB i fermentering som involverer høye konsentrasjoner av laktose eller glukose. Ved lave konsentrasjoner av disse sukkerne kan andre produkter slik som format, eddiksyre, etanol, og acetoin bli dannet i signifikante nivåer. Det første steget i et slikt alternativ for pyruvat metabolisme er omdannelse av pyruvat til acetyl CoA. Dette kan gjøres på to måter, hvor den ene veien fører til dannelse av format og acetyl CoA, og den andre veien gir acetyl CoA og CO₂. Acetyl CoA kan videre omdannes til enten eddiksyre via Acetyl-P, eller til etanol via acetaldehyd. Metabolisering av pyruvat kan føre til produksjon av ulike komponenter som f.eks. pyrodruesyre, melkesyre, acetaldehyd, α -acetolaktat, diacetyl, acetoin og 2,3-butandiol (Walstra et al. 2006b; Wright & Axelsson 2012). *Lc. lactis* kan omdanne pyruvat til ulike sluttprodukter som eddiksyre, etanol, diacetyl, acetoin og 2,3-butandiol. Hovedendeproduktet er likevel melkesyre, som dannes av laktat dehydrogenase reaksjonen (Kleerebezem et al. 2000). **Figur 2** viser alternative metabolske veier av pyruvat hos MSB.



Figur 2. Melkesyrebakteriers alternative metabolske veier for pyruvat. Enzymer: LDH (Laktat dehydrogenase), ALS (α -acetolaktat syntetase), AL-DC (α -acetolaktat dekarboksylase), DR (diacetyl reduktase), ALA-DH (alanin dehydrogenase), PO (pyruvat oksidase), PFL (pyruvat-format lyase), PDH (pyruvat dehydrogenase) (Liu 2002).

2.2.4.3 Sitratmetabolisme

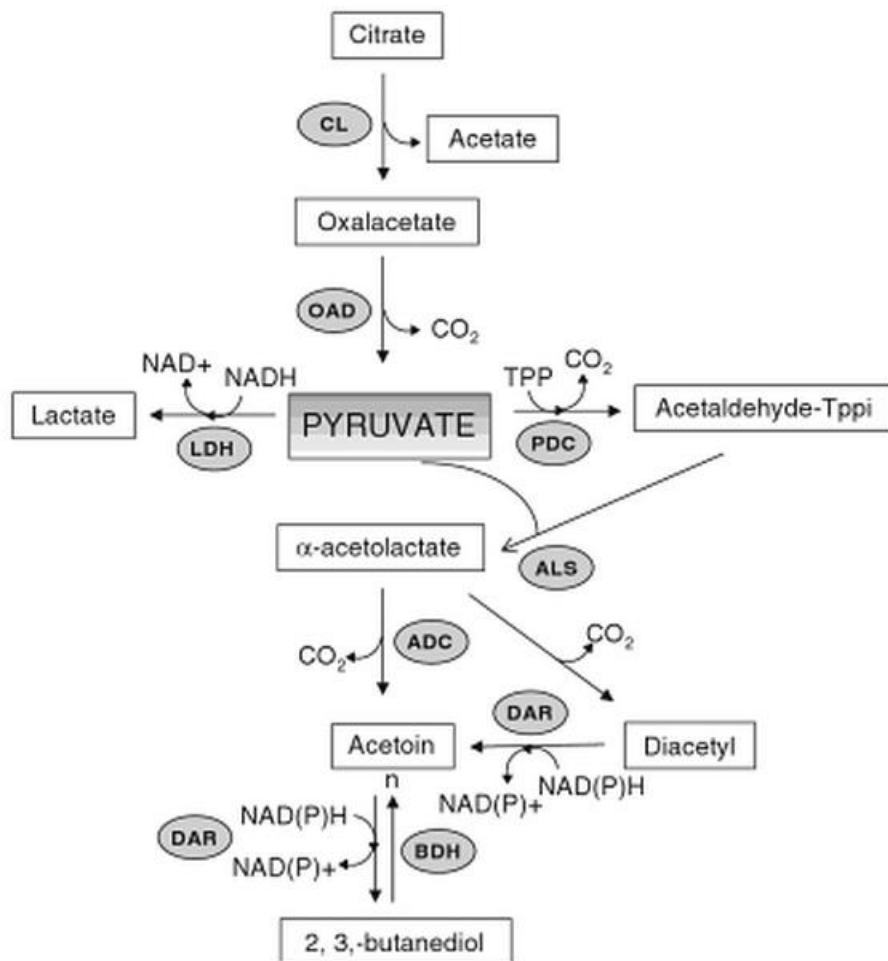
Sitrat er en komponent som er å finne i melk, og melkesyrebakterienes nedbryting av sitrat til forskjellige metabolitter er viktig for smak og aroma i fermenterte produkter. Nedbryting av sitrat kan føre til dannelse av aromakomponenter som eddiksyre, 2,3-butandiol, diacetyl og CO₂, der diacetyl er en viktig smakskomponent i mange fermenterte meieriprodukter. Sitrat brukes ikke som en energikilde, men metaboliseres ved tilstedeværelse av fermenterbare sukker som laktose. Under metabolisering av sitrat dannes det i tillegg pyruvat (Walstra et al. 2006b).

Homofermentative *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og heterofermentative *Leuconostoc*-arter, spesielt *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*, metaboliserer sitrat. Sitrat transporteres inn i cellen ved hjelp av enzymet citrat permease. Citrat hydrolyseres først til eddiksyre, CO₂ og pyruvat av citrat lysase. Dannelse av diacetyl fra pyruvat kan skje via α -acetolaktat som er dannet ved kondensering av aktivt acetaldehyd og et annet molekyl med pyruvat. Videre dekarboxyleres α -acetolaktat til acetoin (ikke en smakskomponent) eller oksidativt til diacetyl (Walstra et al. 2006b).

Under vekst av *diacetylactis* stammer i melk, øker innholdet av diacetyl og acetoin gradvis så lenge sitrat er til stedet. Sitrat undertrykker syntesen av både diacetyl og acetoin reduktaser, og ettersom sitrat blir oppbrukt, foregår reduksjon av både diacetyl og acetoin i takt med dannelse av acetoin og 2,3-butandiol. I mellomtiden har pH blitt lav og det har også aktiviteten til diacetyl acetoin reduktase enzymet som omdanner diacetyl til acetoin og acetoin til 2,3-butandiol. Det gjør at acetoin ikke blir brutt ned videre (Walstra et al. 2006b).

Leuconostoc er mer syretolerant enn laktokokker, og besitter et enzymesystem for å fermentere sitrat, men deres sitrat permease system har pH optimum ved pH 5,0 - 6,0. Permease enzymet er induserbart hos *Leuconostoc*, mens hos sitrat-fermentative-laktokokker som *Lc. lactis* subsp. *lactic* biovar. *diacetylactis* er sitrat lyase, som er det første enzymet ved nedbryting av sitrat, konstitutivt. *Leuconostoc* gir en ren diacetylsmak. Sitrat positive laktokokker produserer signifikante mengder med CO₂ (der noen stammer produserer store mengder), og relativt høye konsentrasjoner av acetaldehyd, noe som fører til en "yoghurt smak/grønn smak". *Leuconostoc* uttrykker også høy alkohol dehydrogenase aktivitet, som katalyserer reduksjon av acetaldehyd til etanol, og dermed

reduserer "grønn" smak (Tamime 2002; Walstra et al. 2006b). En oversikt over metabolisme av sitrat er vist i **Figur 3**.



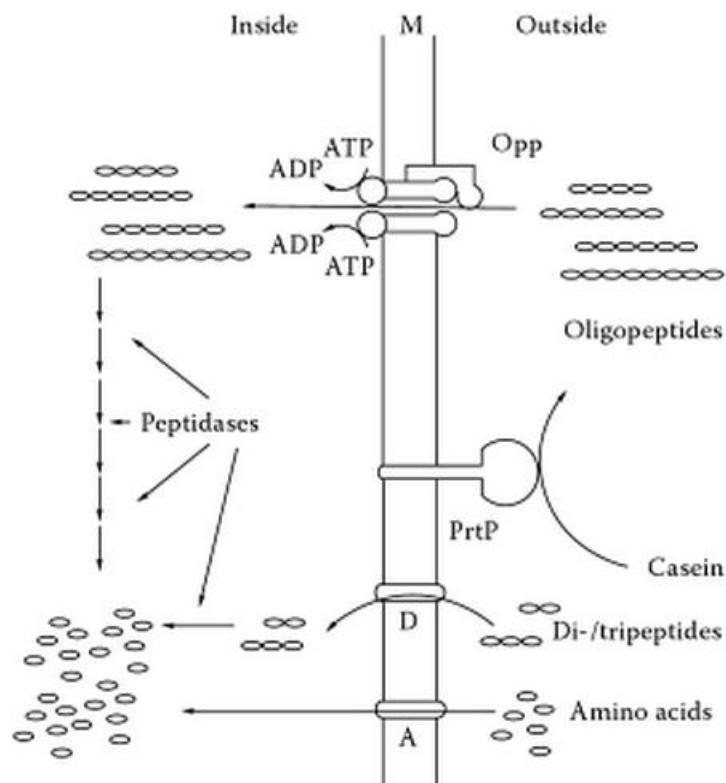
Figur 3. Sitrat metabolisme hos laktokokker og *Leuconostoc*-arter. Nøkkelenzymer involvert: CL (sitrat lyase), OAD (oxaloacetat dekarboxylase), LDH (laktat dehydrogenase), PDC (pyruvat dekarboxylase), ALS (α -acetolaktat syntase), ADC (α -acetolaktat dekarboxylase), DAR (diacetyl acetoin reduktase), BDH (2,3-butandiol dehydrogenase) og Tppi (thiamin pyrofosfatase) (Mayo et al. 2010).

2.2.4.4 Protein metabolisme

Melk er en god kilde for proteiner, og både kaseiner og myseproteiner (α -lactalbumin og β -lactoglobulin) som forekommer i melk er en god kilde til essensielle aminosyrer. Ved proteinanrikning av melk ved bruk av f.eks. skummetmelk pulver eller andre proteinpulvere, blir melken til en enda mer attraktiv kilde for tilgang til proteiner i dietten (Tamime & Robinson 1999c). MSB krever mange forskjellige næringsstoffer for å vokse og melk gir tilgang på begrensede mengder med umiddelbart tilgjengelige nitrogenforbindelser, som peptider og

aminosyrer til å opprettholde veksten av bakteriene. For at MSB skal vokse godt i melk kreves det nærvær av et proteolytisk enzym-system i bakteriecellen, som består av enzymer som er forbundet med celleveggen, men også intracellulære enzymer. Disse enzymene vil hydrolysere de store protein molekylene til mindre absorberbare komponenter som aminosyrer og peptider.

Tilstedeværelse av disse enzymene hos MSB, og deres vekst og hastighet av syreproduksjon er dermed korrelerte. Og stammer som mangler proteinaser i celleveggen (kalt Prt-) kan trolig ikke vokse i melk, men i blandede kulturer kan de vokse da de kan få nitrogenkomponenter produsert av stammer som er Prt+. **Figur 4** viser en modell av proteolyseveien til *Lc. lactis*, som inkluderer transport av di- og tripeptider og frie aminosyrer (Walstra et al. 2006b).



Figur 4. Proteolyse vei for *Lc. lactis* (Walstra et al. 2006b).

Aminosyre behovet kan variere mellom arter og stammer hos MSB. Noen stammer av *Lc. lactis* subsp. *lactis* er prototrofe for de fleste aminosyrer, mens f.eks. *Lc. lactis* subsp. *cremoris* stammer krever peptider med en viss lengde. Men alle laktokokker som brukes til syring av melk, f.eks. i osteproduksjon, har proteolytisk aktivitet (Axelsson 2004). *Leuconostoc* krever flere typer aminosyrer og vitaminer for å fermentere karbohydrater, og aminosyrebehovet varierer mellom stammene. Slik som *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* og *Ln. lactis* krever store mengder

aminosyrer, og siden det er begrenset med frie aminosyrer og peptider må disse bakteriene ha proteinaser som hydrolyserer proteinet i melka. De fleste *Leuconostoc*-artene, unntatt *Ln. lactis*, vokser dårlig i melk på grunn av at de ikke har tilstrekkelig med proteolytisk aktivitet. Som nevnt tidligere vil de kunne vokse i blandede kulturer da de kan få nitrogenkomponenter frigjort av stammer som er Prt+ (Dessart & Steenson 1995).

Proteolyse under fermentering kan være viktig i mange tilfeller, da enzymatisk hydrolyse av proteiner til peptider og frie aminosyrer muligens kan være involvert under geldannelsen og kan dermed påvirke den fysiske strukturen til produktet. Aminosyrene vil også fungere som forløpere til mange reaksjoner som produserer aromakomponenter. I fermenterte produkter som yoghurt kommer den bitre smaken av produksjon av bitre peptider som dannes fra proteolytiske reaksjoner, noe som kan skape problemer med en intens bitter smak på produktet (Tamime & Robinson 1999b). Generelt er den bitre smaken relatert til hydrofobisiteten av aminosyrene i peptidene. Hydrolyse av kasein, som er en rik kilde for hydrofobe aminosyrer, kan derfor resultere i en bitter smak som følge av proteaser (enzym) under fermentering. Myseproteiner kan være mindre hydrofobe enn kaseiner, men kan likevel gi peptider med en bitter smak (Kilara & Panyam 2003).

2.2.4.5 Produksjon av eksopolysakkarider

Under fermentering kan enkelte stammer hos MSB produsere ekstracellulære polysakkarider, såkalt eksopolysakkarider (EPS) i form av kapsler, som er nær eller løst festet til bakteriecellen, eller i form av slim. MSB som kan produsere EPS spiller en viktig rolle i meieriindustrien på grunn av deres bidrag til konsistensen og reologiske egenskaper hos fermenterte melkeprodukter. Den kjemiske sammensetningen av EPS varierer mellom stammer, og mange av dem ser ut til å inneholde galaktose, glukose og rhamnose enheter. I Tjukkmjølk er det en stamme, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, som kan produsere slimdannende heteroeksopolysakkarider (De Vuyst & Degeest 1999; De Vuyst et al. 2001; Haug 1996; Walstra et al. 2006b). EPS betraktes som å være en naturlig fortykningsagent, siden det produseres *in situ* av melkesyrebakterier som er ansett som trygge MSB (Ruas-Madiedo et al. 2002).

2.2.4.5.1 Dannelse og oppbygning

Under fermentering produseres EPS *in situ* av MSB og det kan generelt produseres to forskjellige typer EPS. Enten homopolysakkarider eller heteropolysakkarider (Tamime et al. 2006).

Homopolysakkarider består av en type monosakkarider og kan deles inn i fire undergrupper: α -D-glukaner, β -D-glukaner, fruktaner og andre lignende, slik som polyglukaner. De stammespesifikke forskjellene avhenger av forgreningsgrad og de forskjellige sidegruppene som er koblet til. Produksjon av homopolysakkarider krever tilstedeværelse av spesifikke substrater, slik som sukrose, og sammensetting av monosakkarid-enhetene foregår på utsiden av bakteriecellen (Ruas-Madiedo et al. 2002).

Heteropolysakkarider består av repeterende enheter, som varierer i størrelse fra di- til heptasakkarider som kan bestå av ikke-sukker molekyler, slik som fosfat, acetyl og glyserol. Hos mesofile MSB som produserer heteropolysakkarider kan de repeterende enhetene oftest være bestående av kombinasjoner med D-glukose, D-galaktose, L-rhamnose, og i noen tilfeller N-acetylglukosamine, N-acetylgalaktose eller glukurinsyre. Det som skiller hetero- og homopolysakkarid syntese, er at den repeterende enheten dannes intracellulært i cytoplasmaen ved hjelp av isoprenoid glykosyl lipid enheter. Etter dannelse av en heteropolysakkarid repeterende enhet, transporteres den gjennom cellemembranen og blir polymerisert til en endelig heteropolysakkarid. Disse frigjøres som kapsulære polysakkarider som er festet til overflaten av celleveggen eller som løst slim (De Vuyst et al. 2001; Degeest et al. 2001; Ruas-Madiedo et al. 2002).

Produksjon av EPS hos MSB avhenger av sammensetningen av vekstmediet (karbon og nitrogen kilder, og vekstfaktorer, osv.) og forholdene stammene vokser i (temperatur, pH, oksygen tilførsel og inkubasjonstid). Utbyttet av hetero-EPS for ulike MSB-stammer kan variere fra 0,045 - 0,350 g/L under ikke-optimale vekstforhold for bakteriekulturen, og mellom 0,150 - 0,600 g/L under optimale vekstforhold for bakteriekulturen. For å få størst utbytte av hetero-EPS kreves det optimal balanse mellom karbon og nitrogen kilder. Dette kan kanskje forklares ved at MSB avhenger av nitrogen tilførsel for cellyntesen (vekst), mens karbonkilden hovedsakelig brukes for energi generering (Degeest et al. 2001).

Genene som er involvert i transport av sukker hos mesofile MSB er organisert i genklustere eller operoner, som ofte er lokalisert på plasmider og transposoner, som også koder for

sukker-spesifikke katabolske reaksjoner. Evnen til å produsere EPS og variasjonen av polymerutbyttet er et problem i meieriindustrien (De Vuyst et al. 2001). Tap av slimproduksjon kommer av tap av plasmider som koder for EPS produksjon (De Vuyst & Degeest 1999).

2.2.4.5.2 Påvirkning på produktets reologiske og sensoriske egenskaper

Etterspørselen av naturlige meieriprodukter med en glatt og kremet tekstur, med lavt fett- og sukkerinnhold og uten tilsetningsstoffer er mer og mer etterspurt. Ved bruk av EPS-produserende MSB-stammer kan dette tilfredsstilles, og anvendelsen av EPS blir bestemt etter dets evne til å binde vann, interagere med proteiner og øke viskositeten av melkeserumfasen. Bruk av tilsetningsstoffer kan også unngås ved bruk av EPS, da den kan opptre som en tekstur forbedrer eller stabilisator. EPS produsert av MSB har ingen smak, men siden fermenterte meieriprodukter blir mer viskøse som følge av EPS, øker dette oppholdstiden av det fermenterte produktet i munnen og tiden for kontakt med ganen og smaksreseptorene øker. Dette forårsaker en økt smaksopfatning gjennom en forsterkning av smakskomponentene som er i det fermenterte produktet. Det kreves relativt lave konsentrasjoner av EPS for å oppnå disse fordelene (Duboc & Mollet 2001). Meieriprodukter fermentert ved bruk av en EPS-produserende melkesyrekultur, får gjerne en høyere viskositet og lavere grad av synerese (myse separasjon), sammenlignet med produkter fermentert uten EPS produserende melkesyrekultur. Slike produkter får også gjerne en trådtrekkende karakter, herav navnet "trådtrekkende", men trådtrekkenhet er ikke alltid korrelert med konsentrasjonen av EPS i produktet. For eksempel i et produkt hvor EPS ligger i kapsler som er festet til overflaten av bakteriecellen (kapsulære EPS) vil det være mindre trådtrekkenhet enn produkter der EPS er fordelt i hele produktet (frigjort som løst slim).

Yoghurt som inneholder EPS krever mer kraft for å penetrere gelen sammenlignet med yoghurt uten EPS. Oscillatoriske målinger av yoghurten med EPS gir også lavere verdier av lagrings- og tapsmoduler (forklares under del 2.5.3) enn yoghurt uten EPS, noe som indikerer at den begynnende gel stivheten er lavere i produkter med EPS. Denne lavere gel stivheten kommer av at protein-protein interaksjonene i gelenettverket blir forstyrret av EPS molekyler som er rundt inni dette protein nettverket (Tamime et al. 2006).

Mikrostrukturen til gelenettverk med EPS er bestående av proteinmatrikser sammensatt av kaseinmiceller i kjeder og klynger, med vedheng av denaturert β -lactoglobulin komplekser (et

myseprotein) på κ -kasein. Eventuelt fett som er i melkebasen vil være innesluttet i dette kaseinnettverket, og inni proteinmatriksen vil det også være kanaler med hulrom som inneholder trådtrekkende material som er festet til proteinnettverket. Dette trådtrekkende materiale som er i hulrommene vil være med på å hindre synerese, men også reformasjon av gelen etter omrøring (Tamime et al. 2006).

2.3 MELK OG MELKEBEHANDLING

2.3.1 Melkens sammensetning og påvirkning av sensoriske og reologiske egenskaper

Melk er en vandig væske som produseres i melkekjertlene hos pattedyr, og er sammensatt av mange forskjellige partikler i ulik størrelse og dispersjoner. Hovedkomponentene i melk, og som utgjør størst andel er vann, laktose, fett, proteiner og mineraler. Konsentrasjoner av disse i kumelk er presentert i **Tabell 1** (Walstra et al. 2006d).

Tabell 1. Hovedkomponentene i kumelk (Walstra et al. 2006d).

Komponenter	Konsentrasjon i kumelk (% w/w)*
Vann	87,1
Laktose	4,6
Fett	4,0
Protein	3,3
Kasein	2,6
Mineraler	0,7

*Gjennomsnittverdi

Laktose (melkesukkeret) er som nevnt tidligere hovedfermenteringskilden til syrekulturen under fermentering, og er et disakkarid sammensatt av glukose og galaktose. Fett foreligger i melka som fettkuler omsluttet av en membran, og er hovedsakelig bestående av triglyserider. Omtrent 80 % av totalproteinene i kumelk er kasein, som er bestående av en blanding av fire proteiner: α_{s1} -, α_{s2} -, β - og κ -kasein, mens resten av proteinene består for det meste av serumproteinene (myseproteinene), der β -lactoglobulin og α -lactalbumin utgjør mesteparten av proteinene (Tamime & Robinson 1999c; Walstra et al. 2006d). I melk foreligger nesten alle kaseinene som submiceller, bestående av vann, proteiner (kaseiner) og nanoklusterer av kalsiumfosfat (CaP). Kaseinene varierer i størrelse

fra 20 til 300 nm, og hver micelle er bestående av α_{s1} -, α_{s2} -, β - og κ -kasein. Overflaten til micellen er dekket av et "hårlag" bestående av κ -kasein, og ved hjelp av dens hydrofile ende (negativ ladet) stabiliseres micellen som følge av sterisk frastøtning, og dermed hindrer micellene å aggregere med hverandre ved melkens pH (6,7 ved romtemperatur) (Dalglish & Corredig 2012; van Vliet et al. 2004; Walstra et al. 2006d). Kaseiner er definert som proteiner som feller ut ved pH 4,6 (isoelektrisk punkt) og vil her ikke være løselige, men ikke alle kaseiner feller ut ved pH 4,6. β -kasein som forekommer mest av i melk feller ut ved pH \sim 5,2 (isoelektrisk punkt). I motsetning til å ikke være syrestabile, er kaseiner svært varmestabile på grunn liten sekundær og tertiærstruktur, opp til over 120 °C vil de forbli uløselige. Globulære proteiner som myseproteiner er svært syretolerante og vil være løselige ved alle pH. Derimot er de ikke varmestabile, og denatureres ved temperaturer over 70 °C (Anema & Li 2003; Heertje et al. 1985; Walstra et al. 2006e).

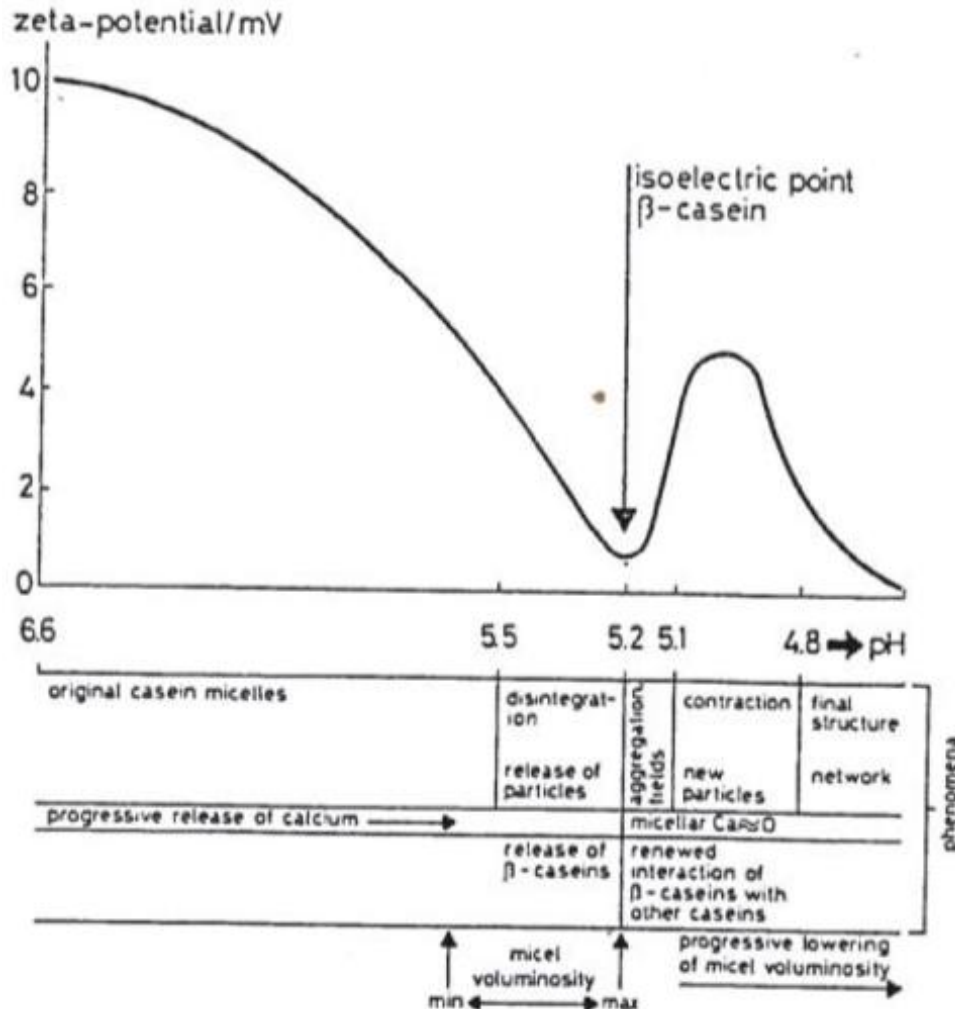
Den syrlige smaken på melk er normalt uttrykt som pH, mens den søte smaken på melka skyldes laktose (melkesukkeret) som finnes naturlig i melk. Flyktige komponenter som diacetyl og 2-metylbutanol er årsaken til den karakteristiske smaken på fersk råmelk. Skummet melk og helmelk har en veldig forskjellig smaksprofil. Fettkulene, som det er mye av i helmelk og tilnærmet ikke noe av i skummet melk, er årsaken til den kremete og "rike" smaken. Hva som eksakt forårsaker kremethet er ikke fullt forstått enda, men det er mye sannsynlig at den fysiske tilstanden til fettkulene spiller en viktig rolle fordi kremethet kan bli forsterket av andre kuleformede partikler (Walstra et al. 2006c).

2.3.2 Dannelse av syregeler

Laktose i melk er energikilden til syrekulturen, mens proteinet spiller en viktig rolle i dannelsen av koagel og dermed er konsistensen/viskositeten av produktet avhengig av proteininnholdet til stedet (Tamime & Robinson 1999a). Forholdet mellom kasein og myseprotein er av betydning for den endelige gelstrukturen, men også andre faktorer som proteinanrikning, varmebehandling, inkubasjonstemperatur og syrekultur. Dannelsen av en syregel skjer ved surgjøring av melka som følge av melkesyreproduksjon, som fører til at pH går sakte ned fra 6,7 til \pm 4,5. Hydrogenioner som dannes under melkesyreproduksjonen nøytraliserer ladningen til kaseinmicellene og fører til at micellenes zeta-potensiale (ladning) synker (Heertje et al. 1985; Robinson et al. 2006). Dette involverer reaksjoner av disaggregerende og aggregerende krefter mellom micellene, og etter hvert

vil økt antall bånd mellom proteinpartiklene øke stivheten til gelnettverket og vannbindingsevnene (Robinson et al. 2006). Mer detaljert om syregeldannelsen er beskrevet i avsnittet nedenfor.

I sterk varmebehandlet melk (f.eks. 90-95 °C/3-5 min) ved pH 6,6 – 5,5 vil det ikke forekomme noen store endringer; de individuelle kaseinmicellene vil beholde sin opprinnelige fasong og størrelse, mens Ca^{2+} frigis gradvis til serumfasen og noe β -kasein starter å dissosiere ut av micellene til serumfasen etter hvert som zeta (ζ) potensialet går ned. Maksimal kasein dissosiasjon vil skje ved pH ~5,5, noe som fører til at micellene blir mer porøse. Ved en ytterligere reduksjon av pH ned til 5,2 vil nesten all CCP (kolloidal kalsium fosfat) i micellene være oppløseliggjort. Det fører til at β -kasein går over i serum og noen kaseinmiceller mister sin opprinnelige fasong. Som en følge av dette begynner micellene å bli litt større og mindre fast. Ved pH ~5,2 er pI (isoelektrisk punkt) for β -kasein, og vil nå ha en positiv ladning, mens resten av micellene vil fremdeles være negativ ladet. Nå som micellene er negativ ladet og β -kasein positiv ladet frastøter de ikke hverandre lenger, og fører til at β -kasein tiltrekkes α_s -kasein på overflaten til micellene. Micellene har nå maksimal micellevolum og dette er starten på aggregeringsfasen. En ytterligere reduksjon i pH ned til 4,8 er det ikke noe Ca_{2+} igjen i micellene, og β -kasein som er positiv ladet vil oppføre seg som senter for aggregeringen med α_s -kasein som er negativ ladet. Dette fører til dannelse av nye partikler med ny struktur, og dette er starten på sammentrekningsfasen, der en gel blir dannet og det skjer en gradvis reduksjon av micellevolumet. Ved pH 4,5 dannes den endelige gelstrukturen. Her vil de kaseinrike områdene sammentrekkes og aggregater berøre hverandre for å danne et kort innesluttet nettverk. Etter hvert som pI oppnås, berører de hverandre og danner et tredimensjonalt gelnettverk, som mer eller mindre strekker seg kontinuerlig gjennom serumfase. Ved dannelsen av nettverket blir fett innesluttet og micellevolumet fortsetter å minke (Heertje et al. 1985; Robinson et al. 2006). Når ønsket pH er nådd (pH < 4,5) kjøles gelen. Ved nedkjøling øker fastheten til gelen som følge av svelling av kasein partiklene, ettersom deres hydrofobe interaksjoner svekkes og kontaktarealet mellompartiklene øker. Kontakten mellom partiklene gjennom dannelse av flere hydrogenbindinger, eller disulfid krysslinker mellom denaturert myseprotein og κ -kasein fører til en forbedret tekstur (Robinson et al. 2006). Sammenhengen mellom zeta-potensialet og pH i melk er vist i **Figur 5**.



Figur 5. Sammenheng mellom zeta-potensialet og pH i melk (Heertje et al. 1985).

2.3.2.1 Betydning av høy varmebehandling

Varmebehandling av melk ved 85 - 95 °C er viktig for å drepe patogene mikroorganismer i melka, og dermed bidra til et godt vekstmedium for syrekulturen, men også den bakteriologiske kvaliteten av råmelken og tørre ingredienser som er i melkebasen (Tamime & Robinson 1999a). Slik varmebehandling fører til eksponering av reaktive tiol grupper (SH) hos β -Lg som følge av komformasjonsendringer. På grunn av de reaktive SH bindingene hos β -Lg vil den reagere med mange forskjellige komponenter i melka. Den vil binde seg til andre denaturerte β -Lg til store komplekser, og denaturert α -La vil binde seg til disse kompleksene. Sammen vil de binde seg til κ -kasein på overflaten av kaseinmicellen via disulfidbindinger. Dette fører til dannelse av et tynt hårlag på kaseinmicellen bestående av myseproteiner. Noen β -Lg og α -La vil ikke være bundet til

kaseinmicellen, da de vil danne rene myseprotein aggregater (Anema & Li 2003; Vasbinder & Kruif 2003). Under syrning vil dermed myseproteinene delta i geldannelsen, og føre til at geldannelsen vil skje ved en høyere pH, og dermed vil tiden for geldannelsen blir kortere og antall kryssbindinger inne i gelen øke (Robinson et al. 2006).

2.3.2.2 Andre faktorer som påvirker dannelsen av syrefelte melkegeler

Fnokker (klumper) i produktet er ikke pent, og er noe konsumenten legger merke til. Fnokker refereres som tilstedeværelse av store synlige proteinaggregater. En vanlig årsak til dette er bruk av for høy inkubasjonstemperatur, overdreven myseprotein til kasein forhold og for høy aktivitet av syrekulturen. For høye konsentrasjoner av myseproteiner i syregeler senker brudd belastningen, slik at gelen blir mer sprø, og dermed en økning i pH ved geldannelsen. I tillegg kan også utilstrekkelig varmebehandling føre til at myseproteinene som inngår i gelen under syrning ikke blir tilstrekkelig denaturerte (Lucey 2004).

2.4 PROTEINANRIKNING

For å øke proteininnholdet i et meieriprodukt kan det tilsettes ulike proteinpulvere. Det fører ikke bare til en økning i protein, men også andre komponenter som naturlig forekommer i melka slik som laktose og mineraler. Konsentrasjonen av proteiner, laktose og mineraler avhenger av fremstillingsmetoden til de ulike proteinpulverne. Økning av proteininnhold fører også til fysiske endringer i produktet. I fermenterte produkter som yoghurt er konsistensen av koagelet svært viktig, og generelt vil en økt konsentrasjon av tørrstoff i yoghurtmiksen føre til forbedret viskositet i det endelige produktet. Økt andel protein i produktet vil også føre til endring i ulike aroma/smakskomponenter som følge av ulike metabolske reaksjoner under fermentering (omtalt i del. 2.2.4). Generelt bør proteinpulvere være i tillegg av god mikrobiologisk kvalitet og fysisk stand (Tamime & Robinson 1999a).

2.4.1 Proteinpulvere og egenskaper.

Fremstilling av proteinpulvere fra melk kan foregå på mange måter, en klassisk metode er syrekasein pulver fra skummet melk.

Egenskapen til proteinpulvere påvirkes av forbehandling av melken eller mysen. Ved varmebehandling av melken kan myseproteinene bli helt eller delvis denaturerte, avhengig av temperatur og tid kombinasjonen ved varmebehandling av melken. For å drepe uønskede bakterier

og inaktivere enzymer er det også viktig å varmebehandle melken. Hvis f.eks. skummet melk varmebehandles vil flesteparten av denaturerte myseproteiner være assosierte med kaseinene i melka. Separeringsgraden av den opprinnelige melka bestemmer fett innholdet i pulveret, men også i hvilken grad fettkulene blir dekket med proteiner på grunn av tap eller ødeleggelse av membranen, som følge av innblåsning av luft under separeringen. Det er et bredt utvalg av ulike prosesseringsmetoder for akkumulering av proteiner og videre konsentrering og tørking ved fremstilling av proteinpulvere. Noen eksempler på melkeproteinpulvere, fremstillingsmetode, hva de er isolert fra og deres omtrentlige sammensetning er vist i **Figur 6** (Walstra et al. 2006f).

Product	Method of Preparation	Isolated from	Approximate Gross Composition (%)				
			Protein	NPN ^a	Carbohydrate	'Ash'	Fat
Rennet casein	Renneting	Skim milk	83	~ 0	0.5	8	2
Acid casein	Acid	Skim milk	90	~ 0	0.5	2.5	2
Na-caseinate	Acid + NaOH	Skim milk	86	~ 0	0.5	5	2
Phosphocaseinate	MF/DF	Skim milk	83 ^b	4 ^c	1	8	1
Whey powder	Spray dry	Whey	10.5	1.5	71	9	1
WP concentrate ^d	UF	Whey	31	4	51	7	2
WP concentrate	UF	Whey	57	3	26	4	3
WP isolate	UF/DF	Whey	88	1	1	3	3
'Lactalbumin'	Heat + acid ^e	Whey	78	?	9	5	2
Coprecipitate	Heat + acid ^e	Skim milk	83	?	1	9	2

Note: Abbreviations: DF = diafiltration; MF = microfiltration; UF = ultrafiltration; WP = whey protein.

^a 6.38 × nonprotein nitrogen.
^b Casein.
^c Noncasein protein.
^d Also called skim milk replacer.
^e And/or CaCl₂

Figur 6. Eksempel på melkeproteinpulvere, inkludert deres omtrentlige sammensetning (Walstra et al. 2006f).

Et eksempel på et proteinpulver med høyt innhold av laktose, og hvor andelen av kasein er betydelig høyere enn myseproteiner er skummetmelkpulver (SMP). I tillegg til å øke andelen protein ved bruk av SMP, vil også andelen laktose og dermed også tørrstoffinnholdet i produktet øke. SMP er fremstilt av varmebehandlet skummet melk, der klassifisering av varmebehandling kan variere mellom lav varmebehandling (79 °C/< 5 s), medium varmebehandling (90 °C/30 s) og høy varmebehandling (120 °C/4 min). Varmeklassen kan fortelle noe om vannbindingsevnen til pulveret, der økende klassifiseringsgrad gir økende vannbindingsevne, som følge av økt denatureringsgrad av myseproteiner. Som produksjonsmetoder kan det. f.eks. brukes inndamping og spraytørking. Under spraytørking kan f.eks. det finpartikulerte pulveret føres tilbake til tørkeren

for agglomerering med det øvrige pulveret. Det gjøres for at de enkelte pulverpartiklene kan danne større "agglomerater", noe som gjør at pulveret støver mindre og gir bedre oppløselighet og god flyt sammenlignet med ikke agglomerert pulver. Dette kan ha en stor betydning i industrielle prosesser der pulver brukes, slik som ved fremstilling av dipp. Inndamping er en metode som brukes for å fjerne vann og dermed økes tørrstoffinnholdet i pulveret (Deeth & Hartanto 2009; Tineingrediens 2013).

Eksempler på fire forskjellige pulvere med et høyt proteininnhold er: kasein (både syre og løpe), høy-protein MPC (melkeproteinkonsentrat) slik som MPC85, høy-protein WPC (myseproteinkonsentrat) slik som WPC80 og myseprotein isolat (WPI), hvorav de følgende forkortelsene angir proteininnholdet i %. Forholdet mellom kasein og myseprotein i MPC er lik som i vanlig melk (omtrent 4:1 forhold), mens myseproteinpulverne (WPC80 og WPI) består for det meste av myseproteiner, med en liten andel kasein. Løpe kasein og syre kasein er to kasein pulverprodukter som er fremstilt ved bruk av forskjellige metoder og har forskjellig sammensetning. Løpe kasein som fremstilles ved koagulering av kasein ved hjelp av chymosin (løpe fra kalv) og består av kalsium parakaseinat-kalsium fosfat, med noen urenheter, mens syre kasein, som er produsert ved syrefelling av kasein, inneholder hele kaseinet. Noe som også betyr at tilsvarende løpe-myse og sur-myse er forskjellige, der løpe-myse inneholder vesentlige mengder av glycomakeropeptider, som ikke er til stedet i sur-myse (Deeth & Hartanto 2009; Walstra et al. 2006f).

Melk er som nevnt tidligere bestående av to typer proteiner, myseproteiner og kaseiner i form av miceller bestående av α_{S1} -, α_{S2} -, β - og κ -kasein. I tillegg er micellen bestående av kolloidal kalsiumfosfat (CCP) som hjelper å opprettholde micellens form. Ved surgjøring vil kasein nøytraliseres og kalsiumfosfat (CaP) frigjøres fra micellen, og dermed fører til at micellen er mindre holdt sammen. Derfor er det den anvendte prosesseringsmetoden som avgjør hvordan formen til kaseinene vil forekomme i pulveret. Slik som kaseiner som produseres ved surgjøring er hovedsakelig i ikke-micelle form, mens kasein i SMP eller MPC er stort sett i micelle form. Ved varmebehandling av melken vil micellenes diameter øke. I nativ form er micellene ca. 30-300 nm i diameter, og etter varmebehandling vil diameteren øke med ca. 3, 6 og 39 nm etter hhv. lav varmebehandling (79 °C/< 5 s), medium varmebehandling (90 °C/30 s) og høy varmebehandling

(120 °C/4 min) av skummet melk. Dette kommer av at denaturerte myseproteiner fester seg til micellen. Med påfølgende evaporering for å fjerne vann, fører til en enda større økning i micellevolumet, med hhv. ca. 60, 78 og 94 nm for respektive varmebehandlinger. Denne økningen kommer av påfølgende festing av denaturerte myseproteiner til micellen under evaporeringen, men også som følge av at kasein og kalsium beveger seg fra serumfasen til micellen. Ved tørking av pulveret blir størrelsen av micellen fra hhv. lav-, medium- og høy-varmebehandling noe lavere enn pulver fra konsentrert melk (evaporert melk), men betydelig større enn micellene i varmebehandlet melk. Etter oppløsning av pulveret i f.eks. melk, i løpet av 24 t, reduseres størrelsen av micellene ytterligere på grunn av langsom reekvilibrering med kasein, kalsium og denaturerte myseproteiner mellom micellene og serum (misa) (Deeth & Hartanto 2009). Det er mange andre teknologiske trinn for fremstilling av proteinpulvere enn det som er beskrevet her, som er med på å påvirke fysiologiske og funksjonelle egenskaper hos proteinpulvere.

2.5 REOLOGI

Reologi er vitenskapen som studerer flyt og deformasjon av faste stoffer og væsker under påvirkning av mekaniske krefter. For å studere reologiske egenskaper til forskjellige produkter er det nødvendig å bruke reometri, som er en måleteknologi for å fastslå reologiske data. Dermed kan både væsker og faste stoffer undersøkes ved bruk av oscillatoriske eller roterende reometere.

Rotasjonstester brukes for å karakterisere den viskøse adferden til materialet, mens for å karakterisere viskoelastisk adferd brukes oscillatoriske tester (Ibarz & Barbosa-Cánovas 2003; Mezger 2006a). Konsistensen til et materiale kan defineres som dens motstand mot permanent deformasjon, dvs. forholdet mellom kraften påført materialet og dens resulterende flyt (Walstra et al. 2006a).

2.5.1 Viskoelastiske stoffer

En gel er et viskoelastisk materiale og slike materialer viser både viskøs og elastisk adferd (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Cánovas 2005). Det er to reologiske egenskaper som kan beskrive en gel hos et fermentert meieriprodukt. Viskositeten er evnen et materiale har til å motstå deformasjon. For fermenterte meieriprodukter kan dette beskrives som væske og trådtrekkende. Mens elastisitet er evnen et material har til å gjenopprette sin opprinnelige form etter deformasjon inntraff. Denne egenskapen korresponderer til et fast stoff og gummilignende fermenterte

melkeprodukter. Begge disse reologiske egenskapene er viktige for kvaliteten til et produkt, slik som en fast gel, men også for utseende og munnfølelsen (Duboc & Mollet 2001).

2.5.2 Rotasjonstest

For å undersøke en mer kompleks flytadferd av f.eks. væsker og geler kan en rotasjonstest brukes. De fleste reometerne som brukes til dette er bestående av en del som roterer og en del som ikke roterer. Rotasjonstester kan kjøres som tester med en kontrollert skjærhastighet. I en slik test er skjærhastigheten satt under kontrollerte betingelser, og testmetoden blir vanligvis valgt hvis væsken som skal undersøkes ser ut til å ikke ha noe flytgrense (punktet der deformasjon skjer), og hvis viskositeten skal måles ved en definert skjærhastighet. Hvis forholdet mellom skjærspenning og skjærhastighet varierer med skjærhastigheten, kalles dette forholdet for tilsynelatende viskositet til den korresponderende skjærhastigheten. Viskositeten som oppnås her er tilsynelatende og representerer viskositeten ved et bestemt punkt i funksjonen bare. For å evaluere viskositetsverdiene riktig må derfor verdier av skjær forhold oppgis (Mezger 2006c).

Viskositeten til fermenterte meieriprodukter synker gjerne med økende skjærhastighet, noe som betyr at de er skjærtynnende. Det vil si at med økende omrøring, desto mer flytende blir produktet. Dette er viktig for en god munnfølelse når produktet skal inntas, siden skjærhastigheten som påføres under tygging og svelging av produktet er rundt 30-50 1/s. Tiksotropisk er en annen viktig egenskap, og er evnen til å gjenoppta sin opprinnelige form når skjærkraften opphører. For fermenterte meieriprodukter som er skjærtynnende synker viskositeten under omrøring, og øker igjen når skjærkraften opphører (Duboc & Mollet 2001).

2.5.3 Oscillasjonstest

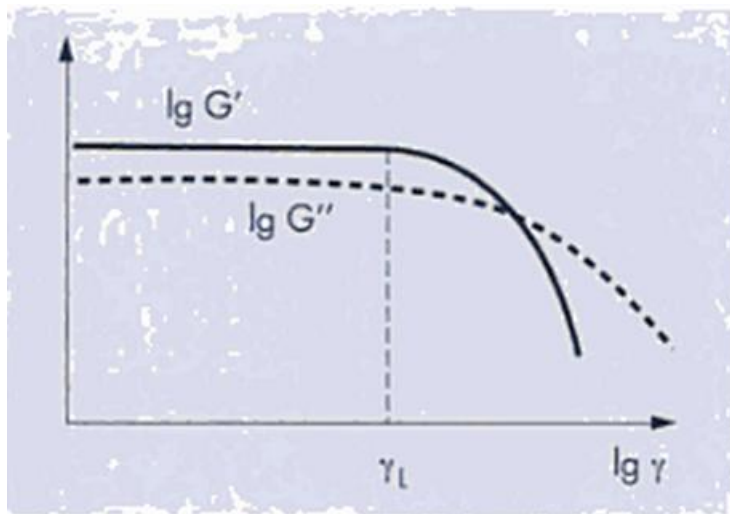
Elastisiteten til et materiale kan måles ved bruk av oscillasjonstester av prøven. Elastisiteten leder til konservasjon av energi, mens viskositeten korresponderer til tap av energi. Den dynamiske responsen til et viskoelastisk material i en oscillasjonstest kommer av to egenskaper; lagringsmodulen G' og tapsmodulen G'' , som korresponderer til hhv. elastisiteten og viskositeten av materialet (Duboc & Mollet 2001).

Verdier av G' er et mål på deformasjonsenergien som er lagret i prøven under en skjærprosess, som representerer elastisiteten til materialet. Mens verdier av G'' er et mål på deformasjonsenergien som

er brukt opp i prøven under skjærprosessen og gått tapt til prøven etterpå, dette representerer viskositeten til prøven. Materialet vil oppføre seg som et fast material hvis G' er mye større enn G'' , som betyr at deformasjonen vil være elastisk gjenvinnbar. Derimot hvis G' er mye mindre enn G'' , er energien brukt til å deformere materialet spredd viskøst og materialet vil oppføre seg som en væske (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Ca´novas 2005).

2.5.3.1 Amplitude sweep

Amplitude sweep er en oscillatorisk test som utføres ved varierende amplituder, med en fast frekvens (ω). I en amplitude sweep med tøyning som amplitude er $\log \gamma$ presentert på x-aksen og både $\log G'$ og $\log G''$ presentert på samme skala i y-aksen. Under en amplitude sweep ved lave amplitudeverdier, såkalt det lineære viskoelastiske området, viser både G' og G'' kurvene hver sine konstante verdier i form av to forskjellige kurver, men på hvert sitt nivå. **Figur 7** viser tøyning amplitude sweep av en prøve med gel karakteristikk, dvs. når $G' > G''$ i det lineære viskoelastiske (LVE) området (Mezger 2006b).



Figur 7. Amplitude sweep for tøyning av en prøve med gel karakteristikk, dvs. $G' > G''$ i LVE området. γ_L angir skillet mellom det viskoelastiske området (Mezger 2006b).

For å analysere strukturstyrken til et materiale, eller punktet hvor den interne strukturen brytes i en slik grad at materialet flyter, kan måles ved å se på flytpunktet, τ_f . Flytpunktet er punktet der $G' < G''$. Ved omrøring av fermenterte produkter som dipp kan dette være viktig, da en ønsker å kunne røre opp prøven, og gjerne mer enn en gang. Med andre ord hvis prøvematerialet røres opp til den grad at det blir flytende, vil det ikke kunne komme tilbake til sin opprinnelige form når kraften avtar, og dermed forholde seg flytende som en væske (Mezger 2006b).

2.6 MÅL OG PROBLEMSTILLING

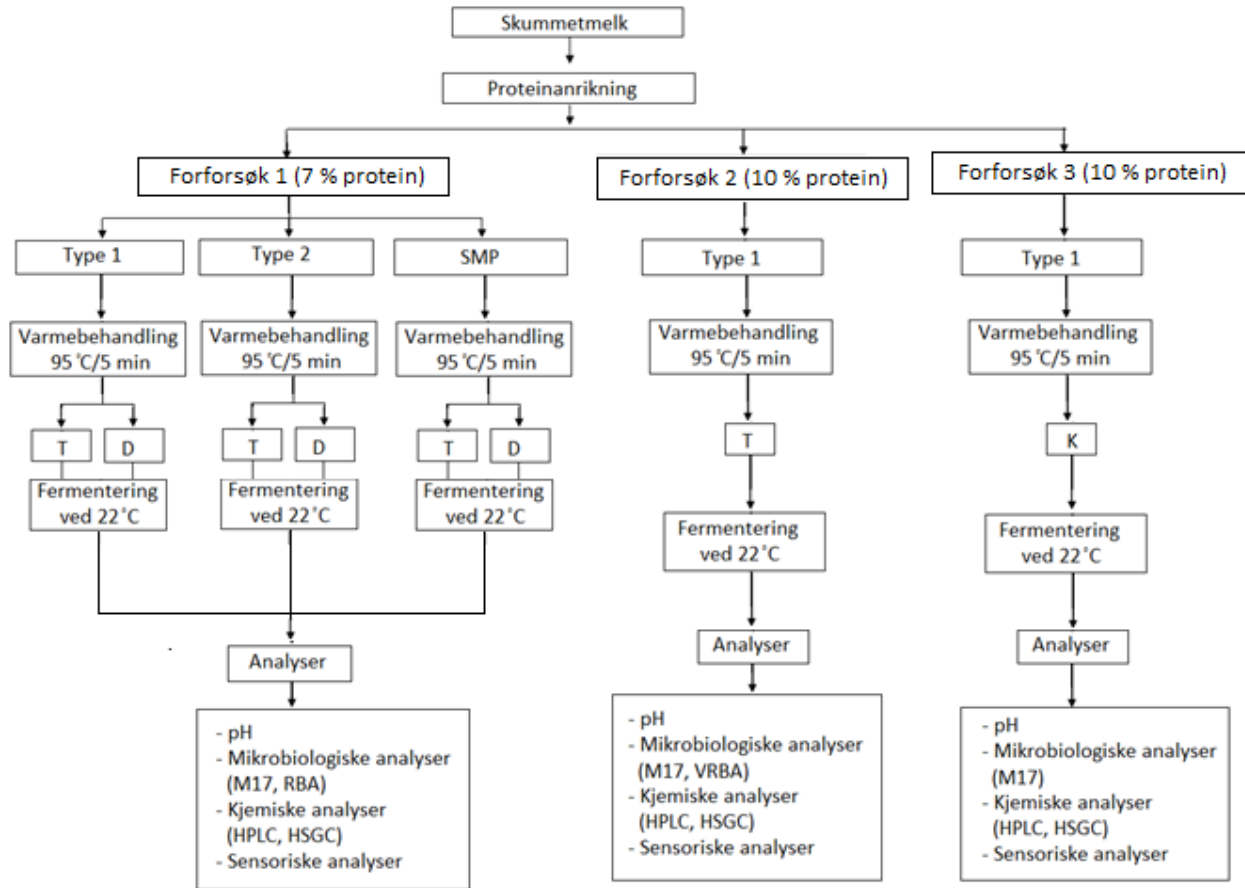
Utvikling av surmelksprodukter med et lavt fettinnhold og høyt proteininnhold er stadig i økende vekst. Formålet i oppgaven var å utvikle en dipp med et lavt fettinnhold og høyt proteininnhold ved å proteinanrike skummetmelk med bruk av ulike proteinpulvere. To kulturer, hvorav den ene kulturen var produktet Tjukkmjølke (1,5 % fett, Rørosmeieriet, AS, Røros, Norge) og den andre en DL-kultur uten trådtrekkende egenskaper ble brukt som starterkulturer. Det var her ønskelig å undersøke effekten av bruk av ulike proteinpulvere og av ulike kulturer. I tillegg å se om det var en forskjell mellom dipp analysert som fersk og etter lagring i 3 uker, samt mellom prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Det ble også sett på om det var en forskjell mellom proteinanriket dipp og kommersielle produkter som Lettrømme (18 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge) og Mager Kesam (1 % fett, Tine, Oslo, Norge) som naturell og smaksatt med Holiday dipmix (Maarud AS, Disenå).

3 MATERIALER OG METODER

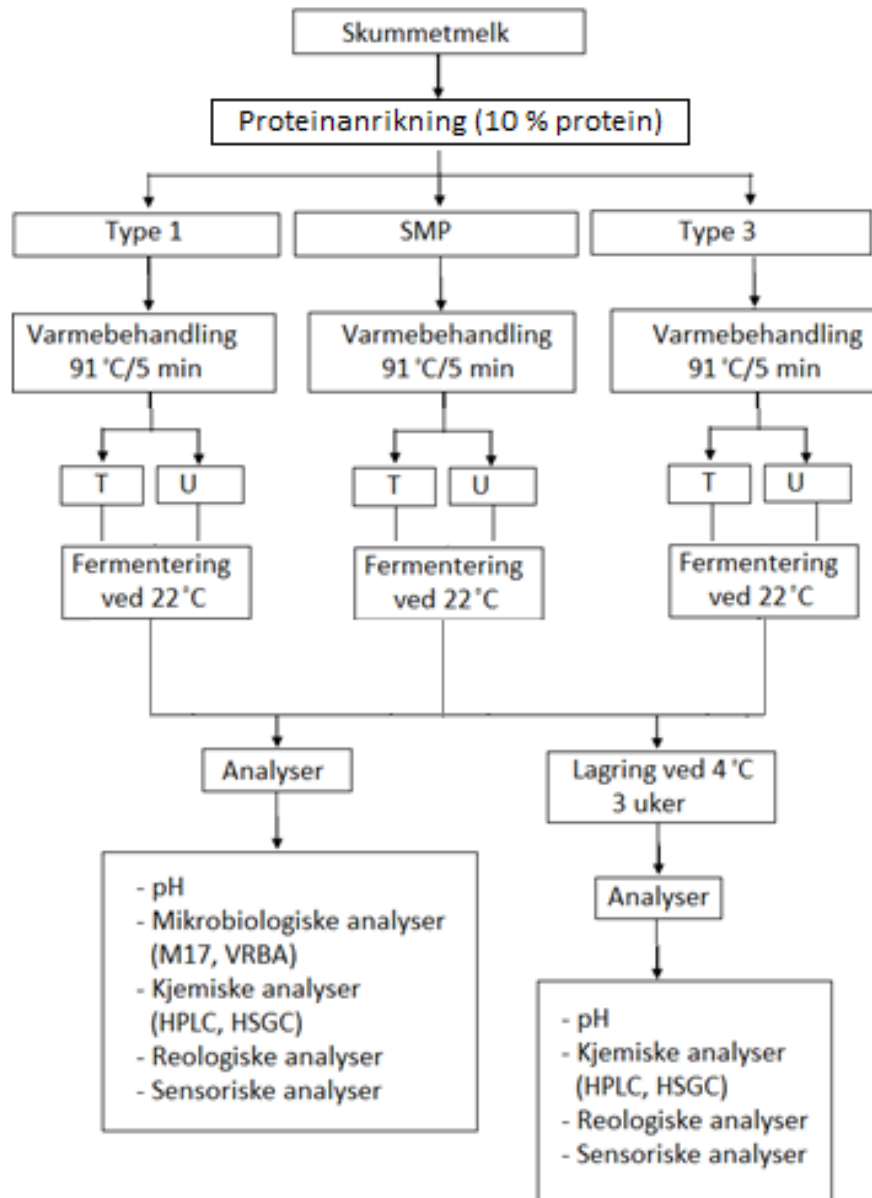
Det ble utført tre innledende forforsøk før gjennomføring av hovedforsøket. Forforsøk 1, 2 og 3 er referert som hhv. FF1, FF2, FF3. Hovedforsøket ble utført med tre produksjonsgjentak, med en uke mellom hver av de tre gjentakene. Ved hvert gjentak ble prøvene delt i to, hvor halvparten av prøvene gikk til analyse av ferske prøver den aktuelle uken og resterende halvpart ble lagret i 3 uker før de ble analysert. Gjentak 1, 2 og 3 er referert som hhv. G1, G2 og G3, og ferske og lagrede prøver hhv. F og S.

3.1 FORSØKSDESIGN

I forforsøkene og hovedforsøket ble dipp fremstilt ved tilsetning av en eller flere ulike proteinpulvere og syrekulturer. Det ble foretatt målinger av pH og mikrobiologiske-, kjemiske- og sensoriske analyser av dippen. I tillegg ble det utført reologiske målinger på dipp fremstilt i hovedforsøket. **Figur 8** viser et flytskjema for gjennomføring og analyser i forforsøkene, og **Figur 9** viser et flytskjema for gjennomføring og analyser i hovedforsøket.



Figur 8. Flytskjema for produksjon av dipp samt analyser i forforsøkene. SMP: skummet melkpulver, T: podet med Tjukkmjølk (1,5 % fett, Rørosmeieriet, AS, Røros, Norge), D: podet med XT-313 kultur (DVS, DL kultur (Christian Hansen A/S, Hoersholm, Danmark), K: podet med Skummet kulturmelk (0,4 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge), HPLC: Høytrykvsækekromatografi for organiske syrer og karbohydrater, HSGC: Headspace Gasskromatografi for flyktige forbindelser, RBA: Rose-Bengal Clormphenicol agar, VRBA: Violet Red Bile Agar.



Figur 9. Flytskjema for produksjon av dipp samt analyser i hovedforsøket. SMP: skummet melkpulver, T: podet med Tjukkmjøl, U: podet med CHN-11 kultur (DVS, DL-kultur, Chr. Hansen A/S, Hoersholm, Danmark).

3.1.1 Beregning av mengde (kg) skummet melk og proteinpulver til melkeblandingen

Beregning av mengde (kg) proteinpulver som måtte tilsettes skummet melk for å oppnå ønsket proteininnhold (%) i dipp ble gjort som følgende:

M: Ønsket mengde (kg) melkeblending (skummet melk + proteinpulver)

P: Ønsket proteininnhold i melkeblendingen (%)

X: kg skummet melk som må tilsettes blandingen

Y: Proteininnhold i skummet melk (%)

Z: Proteininnhold i proteinpulver (%)

M - X: kg proteinpulver som må tilsettes blandingen

$$X \times Y + (M - X) \times Z = M \times P$$

Løs med hensyn på X og deretter beregn M-X.

Under produksjon av dipp i forsøkene ble det anvendt forskjellige proteinpulvere for å øke proteininnholdet. Innhold (%) av total protein, kasein, myseprotein, karbohydrater og fett, og benyttet forkortelse i oppgaven og egenskaper av pulverene er vist i **Tabell 2A**. Mengde (kg) anvendt av skummet melk og proteinpulvere, og vekt av melkeblandinger (skummet melk + proteinpulver), og benyttet pulver type og proteinkonsentrasjon (%) ved fremstilling av dipp i forsøkene er vist i **Tabell 2B**. Det var ikke mulig å få mer informasjon om pulverene. Verken av hvilket firma de ble fremstilt, eller hva slags varmebehandling pulverene A, B, C og D hadde gjennomgått før tørking.

Tabell 2A. Egenskaper, benyttet forkortelse og innhold (%) av totalprotein, kasein, myseprotein, karbohydrater og fett i proteinpulver type 1, 2, 3 og SMP.

Protein pulver	Benyttet forkortelse	Egenskaper/ behandling	Total protein (%)	Kasein (%)	Myse protein (%)	Karbohydrater (%)	Fett (%)
Type 1*	A	Ikke konsistens "givende", behandling ukjent	83,00	63,91	19,09	?	?
Type 2*	B	Behandling ukjent	77,00	37,73	39,27	?	?
SMP**	C	Fremstilt av spraytørket pasteurisert (MV: middelsvarmet) skummet melk, hvor det finpartikulerte pulveret (fines) agglomereres med det øvrige pulveret under tørkingen	35,50	28,4***	7,1***	52,5	0,8
Type 3*	D	Konsistens "givende", behandling ukjent	60,00	19,20	40,80	?	?

* Oppgitt egenskaper og innhold (%) av totalprotein, kasein, myseprotein i pulvere fra Heidi Grønnevik (Tine, SA, Oslo, Norge). ** % totalprotein, % laktose og egenskaper/behandling av SMP er hentet fra produktguide 2013 fra tineingredients.no. (Tineingredients 2013). *** Kasein og myseproteininnhold er basert på et antatt 80:20 forhold av proteinene i skummet melk.

Tabell 2B. Vekt (kg) av skummet melk, pulver og melkeblandinger (skummet melk + proteinpulver), og benyttet pulver type og proteinkonsentrasjon (%) ved fremstilling av dipp i forførsøk 1, 2 og 3, og hvert av gjentakene (1 - 3) i hovedforsøket.

Forsøk	Benyttet forkortelse	Melke blanding (kg)	Skummet melk (kg)	Pulver type	Pulver (kg)	Protein konsentrasjon (%)
Forførsøk 1	FF1	4	3,814	Type 1	0,186	7
			3,800	Type 2	0,200	
			3,560	SMP	0,440	
Forførsøk 2	FF2	4	3,668	Type 1	0,332	7
Forførsøk 3	FF3	4	3,668	Type 1	0,332	7
Hovedforsøk	G1 - G3	15	13,739	Type 1	1,261	10
			11,879	SMP	3,121	
			13,228	Type 3	1,772	

3.2 FORFORSØK

Hensikten med forforsøkene var å finne optimal proteinkonsentrasjon i dipp for å oppnå en dipp med ønsket konsistens, utseende og smak. Det ble også sett på hvordan proteinpulverene løste seg opp i melken under varmebehandling, noe som er viktig for å få en mest mulig homogen prøve. I tillegg ble det vurdert syrekulturens evne til å senke pH i produktet under fermentering i forhold til forskjellig proteinpulvere og proteinkonsentrasjoner, etter som reduksjon av pH er viktig for geldannelsen og produktets holdbarhet. Det var også ønskelig å bruke en DL syrekultur uten EPS-produserende stammer for å sammenligne med dipp podet med Tjukkmjølke, som er en mesofilkultur som gir en trådtrekkende konsistens. Flytskjema for de ulike forforsøkene finnes som **Figur 8**.

3.2.1 Forforsøk 1

I forforsøk 1 ble det produsert tre forskjellige melkeblandinger bestående av skummet melk med 0,1 % fett og 3,3 % protein (Bag-in-box, Tine, SA, Oslo, Norge) tilsatt hhv. type 1 og type 2 proteinpulvere samt SMP. Mengden av hver pulvertypen ble utregnet for å gi en proteinanrikning av melka til 7 % protein. Til syring av melkeblandingen ble det anvendt hhv. Tjukkmelk (1,5 % fett, Rørosmeieriet, AS, Røros, Norge) og XT-313 kultur (DVS, DL, Chr. Hansen, A/S, Hoersholm, Danmark), som ble forkortet til T og D. Tjukkmjølken som ble benyttet hadde en gjenværende holdbarhet på 32 dager. Melk proteinanrikt med pulver type 1, type 2 og SMP ble forkortet til A, B og C. Dette ga 6 forskjellige prøvekombinasjoner.

Like før produksjon av dipp ble XT-313 kulturen, som er en DVS konsentrert frossen kultur tatt ut av fryseren og over i et sterilt glass og satt i romtemperatur ved ca. 20 °C for tining, frem til poding. Ved produksjon av dipp ble melka varmet opp til 45 °C under omrøring i to 5 liters iskremkjeler med røreverk og varming/kjøling (selvlaget ved Institutt for kjemi-, bioteknologi- og matvitenskap, NMBU, Ås, Norge). Et digital 51 II Termometer (Fluke, USA) ble brukt for måling av temperaturen og en drill med rørekrok, enten Hitachi DV 18V (Hitachi Koki, Tokyo, Japan) eller Hitachi DV 20VB2 (Hitachi Koki, Tokyo, Japan) ble brukt til omrøring av melka. Etter oppvarming av melka til 45 °C (viktig for at proteinpulveret skulle løse seg opp) ble varmen skrudd av og pulver drysset inn gradvis under omrøring. Melkeblandingen ble stående under omrøring i minst 30 minutter for at proteinet i pulveret skulle begynne å trekke til seg vann og swelle (hydratiserer). Videre ble hver melkeblending varmet opp til 95 °C/ 5 min under omrøring, før den

ble avkjølt til 20 °C og tappet over på 6 sterile syltetøyglass med lokk. Glassene ble satt til temperering i vannbad ved 22 °C i ca. 2 timer før de ble podet med hhv. 1 % (7 mL) Tjukkmjølkk og 60 µL XT-313 kultur. For regulering av temperaturen i vannbadene ble det brukt en termostat (Grant, England; Lauda, Tyskland).

Kartongen med Tjukkmjølkk ble ristet godt opp for hånd før uttak av podemateriale. Prøvene ble inkubert ved 22 °C til oppnådd pH så nær $\leq 4,5$ som mulig. Glassene ble deretter satt i isvannbad i 1 time for å avslutte syrningen, og lagret ved 4 °C frem til analyse.

Under forforsøket ble det foretatt analyser av pH, mikrobiologiske analyser (M17, RBA), kjemiske analyser (HPLC, HSGC) og sensoriske analyser. Nærmere beskrivelse om analysene er beskrevet under avsnitt 3.4 målinger og analysemetoder.

3.2.2 Forforsøk 2

Ulike funn fra Forforsøk 1, førte til nødvendige endringer i oppsett til Forforsøk 2.

- a) Som følge av feilinformasjon om andel (%) kasein og myseprotein i pulver type 2 anvendt i forforsøk 1, hvor forholdet mellom kasein og myseprotein var tilnærmet likt (hhv. 37,73 % og 39,27 %, men ble opprinnelig oppgitt verdier på hhv. 17,71 % og 59,29 %) ble pulveret ikke videre brukt.
- b) Det ble også oppdaget trådtrekkende konsistens i prøver fermentert med XT-313 kultur, noe som ikke var ønskelig, da det var ønskelig med en DL-kultur uten trådtrekkende stammer å sammenligne med prøver podet med Tjukkmjølkk. Denne kulturen ble derfor ikke videre brukt.
- c) Det ble også oppdaget konsistensproblemer i prøver fra forforsøk 1 med 7 % proteininnhold. Ved røring av prøvene med en skje dannet det seg en klump i midten av prøven, og med økende røring ble konsistensen forbedret.

Hensikten i forforsøk 2 var å undersøke om en økning i proteininnhold fra 7 til 10 % ved bruk av pulver type 1 og poding med Tjukkmjølkk ga dipp med forbedret konsistens egenskaper.

Produksjon av dipp ble utført på samme måte som i forforsøk 1, men bare med en proteinanrikning av kun type 1 pulver til 10 % totalprotein og poding med 1% (7 mL) Tjukkmjølkk. Proteininnholdet

i skummet melk (0,1 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge) var 3,4 %. Tjukkmjølken som ble anvendt som podemateriale hadde en gjenværende holdbarhet på 40 dager. Under forsøket ble det foretatt analyser pH, mikrobiologiske analyser (M17, VRBA), kjemiske analyser (HPLC, HSGC) og sensoriske analyser. Nærmere beskrivelse av dette er beskrevet under avsnitt 3.4 målinger og analysemetoder.

3.2.3 Forforsøk 3

På bakgrunn av forforsøk 1, hvor det var ønskelig å finne en DL kultur uten trådtrekkende stammer til å sammenligne med prøver podet med Tjukkmjølk, ble det i forforsøk 3 undersøkt om kulturen til Skummet kulturmilk (0,4 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge) var en trådtrekkende kultur.

Produksjon av dipp ble utført på samme måte som beskrevet i forforsøk 1 bare ved en proteinanrikning til 10 % ved bruk av type 1 pulver og poding med 1 % (7 mL) Skummet kulturmilk, med en gjenværende holdbarhetstid på 12 dager. Under forsøket ble det gjort analyser av pH, mikrobiologiske analyser (M17), kjemiske analyser (HPLC, HSGC) og sensoriske analyser. Dette er nærmere beskrevet under avsnitt 3.4 målinger og analysemetoder.

3.3 HOVEDFORSØK

På bakgrunn av resultater fra forforsøkene ble det valgt å proteinrike dipp med totalt 10 % protein ved bruk av tre ulike pulvertyper: type 1 pulver, SMP og type 3 pulver. Som podemateriale ble det brukt Tjukkmjølk og CHN-11 kultur (DL-kultur). Flytskjema for de ulike gjentakene i hovedforsøket finnes som **Figur 9**.

3.3.1 Tilberedning av podemateriale til produksjonene

Før poding ble kartongen med Tjukkmjølk ristet godt. CHN-11 er en frysetørket DVS kultur og det ble derfor laget en brukssyre av kulturen to dager før poding. 0,35 g av CHN-11 ble blandet med 300 mL UHT lettmelk (1,2 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge) i en steril flaske, og satt i romtemperatur ved ca. 22 °C i hhv. 14 t for gjentak 1 og 18 t for gjentak 2 og 3. pH i kulturen ble deretter målt og flasken med brukssyren ble satt på kjølerom ved 4 °C frem til anvendelse. **Tabell 3** viser sammensetning av stammer i Tjukkmjølk og CHN-11 kulturer, og forkortelsene benyttet i forsøket.

Tabell 3. Kulturer med fullstendig navn på stammer i kulturen og forkortelser av kulturen benyttet i forsøket.

Kultur	Benyttet forkortelse	Fullstendig navn på stammer i kulturen	Kilde
Tjukkmjølk (tettekultur)	T	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> (+ slimdannende) <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	Rørosmeieriet, AS, Røros, Norge
CHN-11	U	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> <i>Leuconostoc</i> subsp.	Chr. Hansen A/S, Hoersholm, Danmark

3.3.2 Melk til produksjonene

Skummet melk ble benyttet til alle produksjonsgjentakene av dipp. På grunn av problemer med utstyr i produksjonsanlegget ble det i gjentak 1 benyttet skummet melk (0,1 % fett, 3,3 % protein og 4,8 % laktose) fra fjøset på NMBU (Norges miljø- og biovitenskapelige universitet), mens i gjentak 2 og 3 ble det anvendt skummet melk på bag-in-box (Tine, SA, Oslo, Norge) med 0,1 % fett, 3,3 % protein og 4,8 % laktose. I gjentak 1 ble melken separert ved 58 °C ved bruk av SA1-01-175 separator (Westfalia separator AG, Tyskland) og deretter pasteurisert ved 72 °C i 15

sekunder før den ble avkjølt til ca. 20 °C, og deretter lagret på kjølerom ved 4 °C, før den ble anvendt til produksjon av dipp 2 dager senere. Fra varedeklarasjonen til skummet melk på bag-in-box som ble brukt i gjentak 2 og 3, var melken pasteurisert.

3.3.3 Fremstilling av dipp

Produksjon av dipp foregikk på samme måte som beskrevet i forforsøk 1 (avsnitt 3.2.1), bortsett fra noen endringer i utstyr for oppvarming, røring og avkjøling av melkeblandingen. Oppvarming av melken til 45 °C ble gjort i melkespann på 30 liter over et dampvannbad med varming/kjøling, før melkespannet ble tatt ut av vannbadet, og proteinpulver drysset inn under omrøring ved bruk av en rørepinne i rustfrittstål. Til gjentak 3 ble det brukt en elektrisk Hitachi 10mm drill (Hitachi Koki, Japan) med rørekrok av rustfrittstål for innblanding av pulver. Ettersom det ble for mange prøver å håndtere av gangen til hvert gjentak i hovedforsøket (60 glass) ved bruk av en temperaturbehandling, ble det av praktiske grunner kun brukt høy varmebehandling (91 °C/ 5 min) til å behandle de ulike miksene. Etter svelling i minst 30 minutter ble melkeblandingen varmet opp til 91 °C i 5 min før den ble kjølt ned til ca. 40 °C i isvannbad og helt over i mindre sterile spann av rustfrittstål og deretter helt over på 60 sterile syltetøyglass med lokk og satt til temperering ved 22 °C. Etter temperering ble prøver fra hver melkeblending podet med hhv. 1 % (6 mL) Tjukkmjølke og 1 % (6 mL) CHN-11 brukssyre. Gjenværende holdbarhetstid (dager) ved anvendelse av Tjukkmjølke for gjentak 1, 2 og 3 var hhv. 39, 38 og 45 dager. Prøvene ble inkubert ved 22 °C til oppnådd pH så nær $\leq 4,5$ som mulig. Glassene ble deretter satt i isvannbad i 1 time for å avslutte syrningen, og senere lagret ved 4 °C frem til analyse. Halvparten av prøvene ble analysert som fersk, mens resten ble lagret i 3 uker før analyse.

Under forsøket ble det foretatt analyser av pH, mikrobiologiske analyser (M17, RBA), kjemiske analyser (HPLC, HSGC) og sensoriske analyser. Nærmere beskrivelse om analysene er beskrevet under avsnitt 3.4 målinger og analysemetoder.

3.4 MÅLINGER OG ANALYSEMETODER

3.4.1 Måling av pH

Måling av pH i prøver fra forforsøkene ble foretatt under syrning og etter lagring på kjølerom ved 4 °C i ca. 20 t, mens pH i prøver fra hovedforsøket ble målt under syrning og etter lagring på kjølerom ved 4 °C i ca. 16 t (40 timer etter poding, ferske prøver) og 3 uker (lagrede prøver). Det ble også foretatt pH målinger av melkeblanding A, C og D (dvs. melkeblanding bestående av skummetmelk og proteinpulver som er varmebehandlet, men ikke podet, angitt som hhv. nullprøve A, C og D) fra gjentak 3 i hovedforsøket rett før poding (0 t).

I forforsøkene ble pH i prøvene målt ved bruk av PerHect Log R pH meter modell 320 (Orion, USA) under syrning, mens etter lagring av prøver ble det brukt et PHM210 standard pH-meter (Meter Lab, Radiometer, København, Danmark (Nerliens, Norge)) med pH C2005-8 kombinert pH elektrode (Red Rod, Epoxy body, BNC). For pH måling av prøver fra hovedforsøket under syrning og etter lagring ble det brukt samme pH meteret med kombinert pH elektrode som etter lagring av prøver fra forforsøkene. For bestemmelse av pH i prøver under syrning (ved 22 °C) ble pH meterene kalibrert ved bruk av standard bufferløsninger med pH 4 og pH 7 (Merk, Tyskland) som holdt en temperatur på ca. 22 °C. Til pH elektroden ble det brukt 3M KCl (Merk, Tyskland). Ved måling av pH i prøver etter lagring ved 4 °C ble de samme bufferløsningene brukt, bare med en temperatur på 4 °C.

3.4.2 Mikrobiologiske analyser

3.4.2.1 M17 agar med laktose

Undersøkelse for vekst av laktokokker ble gjort i prøver fra forforsøkene og hovedforsøket ved innstøpning i M17 agar. Prøver fra forforsøkene ble analysert etter lagring ved 4 °C i hhv. ca. 3 d for forforsøk 1 og etter ca. 19 t for forforsøk 2 og 3. Prøver fra hovedforsøket ble analysert etter avkjøling på isvannbad i 1 time etter endt syrning og etter lagring ved 4 °C i 8 d for prøver fra gjentak 1.

Til 1 liter destillert vann ble det veid inn 42,5 g M17 broth pulver (Merck, Tyskland) og 15 g Microbiology agar (Merck, Tyskland) i en blåtopp flaske. Blandingen ble oppvarmet til 100 °C til alt pulver var fullstendig oppløst. Deretter ble blandingen overført til 100 mL eller 200 mL flasker

og autoklavert ved 121 °C i 15 min. Etter autoklaving ble agaren avkjølt og satt på kjølerom ved 4 °C, frem til bruk.

Før prøveuttaking ble prøvene rørt opp med en 10 mL steril glasspipette, og M17 agaren ble smeltet ved 100 °C og temperert til 48 °C. Videre ble det laget fortynningsserier bestående av 1 g prøvemateriale i 9 mL Ringersløsning til oppnådd 10^{-7} fortynning. 10^{-6} og 10^{-7} fortynninger ble innstøpt (1,0 mL) i M17 agar og ble inkubert aerobt ved 30 °C i 3 d. Det ble laget to parallelle skåler av hver fortynning.

3.4.2.2 VRBA (Violet Red Bile Agar)

Undersøkelse for tilstedeværelse av koliforme organismer ble gjort i prøver fra forforsøk 2 og hovedforsøket. Til forforsøk 2 ble prøvene analysert etter lagring ved 4 °C i ca. 19 t, før vekst ble bestemt ved innstøpning i VRBA. Prøver fra gjentak 1 i hovedforsøket ble analysert for vekst på VRBA etter hhv. avkjøling av prøver på isvannbad i 1 time etter endt syring, etter lagring på kjølerom ved 4 °C i 4 d og etter 8 d. De to førstnevnte ble bestemt ved innstøpning i VRBA og den sist nevnte ved overflatespredning på VRBA. Prøver fra gjentak 2 og 3 i hovedforsøket ble analysert etter avkjøling av prøver på isvannbad i 1 t og bestemt ved innstøpning i VRBA.

Før prøveuttaking ble prøvene rørt opp på samme måte som prøver til analyse av laktokokker. Videre ble det laget fortynninger bestående av 1 g prøvemateriale og 9 mL Ringersløsning til oppnådd 10^{-1} fortynning. 10^{-1} fortynninger ble innstøpt eller overflatespredet på VRBA og inkubert ved 37 °C i 24 timer (aerobt). Det ble laget to paralleller av fortynningen.

3.4.2.3 RBCA (Rose-Bengal Chloramphenicol agar)

Undersøkelse for tilstedeværelse av mugg og gjær ble gjort i prøver fra forforsøk 1 ved utstrekning på ferdigstøpt RBCA, et selektiv medie for **bestemmelse** av mugg og gjær. Til en blanding på 500 mL destillert vann, ble det veid inn 16 g RBCA CM0549 (Oxoid, England). Blandingen ble oppvarmet ved 100 °C til alt pulver var fullstendig oppløst. Deretter ble det tilsatt en ampull med Chloramphenicol selektiv supplement SR0078 (Oxoid, England), før blandingen ble ristet forsiktig og autoklavert ved 121 °C i 15 min. Blandingen ble deretter avkjølt til ca. 48 °C, ristet forsiktig og helt over i petriskåler.

Før prøveuttaking ble prøvene rørt opp ved bruk av en 10 mL steril glasspipette, og prøver ble undersøkt ved utstrekning på fast RBCA og inkubert aerobt ved 22 °C i 5 d. Det ble laget to paralleller av hver prøve.

3.4.3 Mikroskopering

Mikroskopering ble utført av A-prøven med Tjukkmjølkk fra forforsøk 2 (AT.FF2) og av lagret D-prøve med CHN-11 kultur (U) fra gjentak 1 i hovedforsøket (DUS.G1). Før mikroskopering ble det laget et varmfiksert preparat av prøven på et objektglass, som deretter ble farget med Loeffler's metylenblå (bestående av 1 % løsning med metylenblå i etanol (95 %) som deretter blandes med en mettet løsning bestående av 1 mL 1 % vandig KOH løsning, 99 mL destillert vann og 30 mL etanolisk metylenblå). Etter 3 min ble fargen helt av og vasket forsiktig med vann. Preparatet ble mikroskopert (Leica DM750, Tyskland) og bilder av preparatet ble fotografert ved bruk av et kamera på mikroskopet (Leica ICC50 HD, Tyskland) og programvaren Leica Application Suite versjon 3.0.0.

3.4.4 Kjemiske analyser

3.4.4.1 *Headspace Gasskromatografi (HSGC) for flyktige forbindelser*

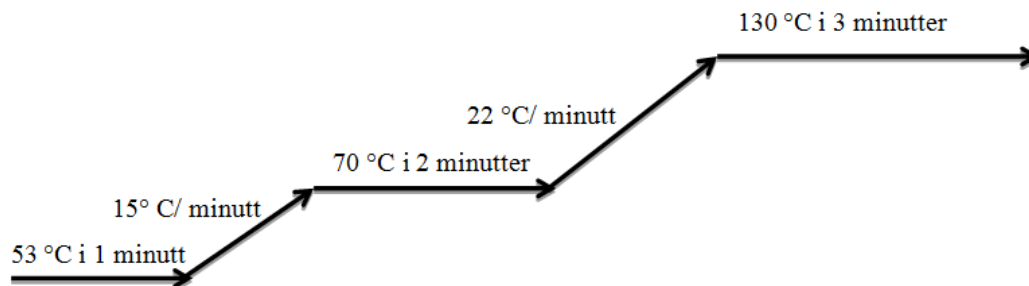
Kvantifisering av flyktige forbindelser ble gjennomført i prøver fra forforsøkene, og i ferske og lagrede prøver fra produksjonsgjentak 1, 2 og 3, og nullprøver fra gjentak 3 i hovedforsøket. Prøvene ble analysert ved bruk av headspace gas chromatography (HSGC), en metode tidligere beskrevet av Narvhus et al. (1998). Prøver til HSGC fra forforsøkene ble tatt ut etter lagring i ca. 20t ved 4 °C, og prøver fra hovedforsøket etter lagring i både ca. 16 t (40 t etter poding, ferske prøver) og 3 uker (lagrede prøver) ved 4 °C. Prøver til HSGC fra nullprøver ble tatt ut rett før poding (0 t).

Prøvene ble godt blandet før innveiling av 10,00 g i headspace-flasker (Machery Nagel, Dueren, Tyskland). Headspaceflaskene ble forseglet med teflonbelagt septa med aluminiumring (PTFA/Si septa, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA). Prøvene ble plassert i en Teledyne Tekmar HT3 automatiskheadspace sampler med et 6890 GC system (Agilent Technologies) og en flamme ioniseringsdetektor. Programvaren som ble benyttet var Open LAB EZChrom (Agilent Technologies).

Som bæregass ble det benyttet helium (Aga, Norge) med en flow på 11,1 mL/min.

Ekvilibreringsvilkårene for prøvene var 60 °C med en forvarmingstid på 30 minutter, de ble deretter mikset i 5 min ved setting fem. Headspaceflaskene ble trykksatt til 10 PSIG i 1.50 min før injeksjon og injeksjonstiden var på 1.00 min.

En CP-SIL 5CB GC kolonne (Varian, Middelburg, Nederland) ble benyttet for separering av komponentene. Kolonnen hadde en lengde på 25 m, med indre diameter på 0,53 mm og filmtykkelse på 5,0 µm. Det ble benyttet følgende temperaturprogram under analysen:



De flyktige komponentene ble separert basert på komponentenes ulike flyktighetsgrad og affinitet til kolonnens stasjonære fase. Identifisering og kvantifisering av de ulike forbindelsene ble gjennomført ved kalibrering med standardløsninger med kjent konsentrasjon av følgende komponenter: acetaldehyd, diacetyl, etylacetat, 2-butanon, 2-metyl-butanal, 2-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-propanal, 3-metyl-butanal, 3-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-propanol (Sigma-Aldrich), acetoin, aceton, etanol og 2- butanol (Merck, Tyskland).

3.4.4.2 Høytrykksvæskerkromatografi (HPLC) for organiske syrer og karbohydrater

Innhold av organiske syrer og karbohydrater ble analysert i prøver fra forforsøkene, og i ferske og lagrede prøver fra produksjonsgjentak 1, 2 og 3 i hovedforsøket. Det ble også gjort analyser av organiske syrer og karbohydrater i proteinpulver type 1, type 3 og SMP og av nullprøver fra gjentak 3 i hovedforsøket. Analysen ble gjennomført ved bruk av høytrykksvæskerkromatografi (HPLC) etter en metode av Marsili et al. (1981), som beskrevet av Narvhus et al. (1998) med noen modifikasjoner. Det ble tatt ut prøver til HPLC fra nullprøver rett før poding (0 t). Prøver til HPLC fra forforsøkene ble tatt ut etter lagring i ca. 20 t ved 4 °C, og prøver fra hovedforsøket etter lagring i ca. 16 t (40 t etter poding, ferske prøver) og 3 uker (lagrede prøver) ved 4 °C. For å ta ut prøver av pulverene til HPLC ble det laget en 1 % løsning av pulverene i destillert vann. 1 g prøvemateriale ble veid opp i et begerglass før 99 g destillert vann ble tilsatt. En magnet ble plassert i begerglasset.

Begerglasset ble videre plassert oppå en magnetrører ved lav hastighet, for omrøring av blandingen i minst 30 min for at proteinet i pulveret skulle svulle og for å få en homogen blanding som mulig.

Prøvene ble godt blandet før 1,00 g ble veid ut i syrevaskede 10 mL Belcorør. Prøvene ble tilsatt 2,5 mL ionebyttet vann, 200 µl 0,5M H₂SO₄ (Merck, Tyskland) og 8 mL acetonitril (Merck). Etter tilsetning av acetonitril ble prøvene umiddelbart ristet for hånd, deretter ble de satt i en MultiRS-60 BIOSAN vendemaskin (Montebello Diagnostics A/S, Oslo, Norge) i 30 min. Prøvene ble sentrifugert i romtemperatur i 15 min ved 3400 rpm i en Kubota 2010 sentrifuge (Kubota Corporation, Tokyo, Japan). Supernatanten ble tatt opp i en 10 mL steril sprøyte (Becton Dickinson S.A., Madrid, Spania) med en engangskanyle på 0,8 x 40 mm (Becton Dickinson S.A., Madrid, Spania) og deretter filtrert med 0,2 µm PTFE Membran (Acrodisc CR 13 mm Syringe Filter, PALL, Storbritannia) over i et HPLC-rør (Agilent Technologies, USA). Prøven ble forseglet med Chromacol 8-SV plastkork med Chromacol 8-ST101 septa. 25 µl av prøven ble injisert i HPLC-instrumentet.

Etter opparbeidelse ble prøvene analysert ved hjelp av en Aminex HPX-87H kolonne (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) oppvarmet til 32 °C. For beskyttelse av kolonnen ble prøvene først kjørt gjennom en forkolonne av typen Cation-H refill (Bio Rad Laboratories). Kolonnen var koblet til en Perkin Elmer serie 200 pumpesystem (Perkin Elmer, Waltham, MA), en Perkin Elmer Series 200 autosampler (Perkin Elmer) og en Perkin Elmer LC 101 kolonneovn (Perkin Elmer). Den mobile fasen som ble benyttet var 5 mM H₂SO₄(Merck), med en hastighet på 0.4 mL/min.

Standardløsninger for kalibrering ble preparert på samme måte som prøvene som ble analysert, og komponentene i prøvene ble identifisert og kvantifisert på bakgrunn av retensjonstid sammenlignet med standardløsningene. Karbohydrater benyttet til standardløsning var laktose, glukose og galaktose (Merck) og av organiske syrer ble sitronsyre, rotinsyre, pyrodruesyre, epleisyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre og DL-pyroglutaminsyre (Sigma-Aldrich, Kina) benyttet til standardløsninger. Karbohydratene ble detektert ved hjelp av en PerkinElmer Serie 200 RI-detektor (Perkin Elmer), mens organiske syrer ble detektert ved hjelp av en Perkin Elmer Serie 200 UV/VIS-detektor (Perkin Elmer).

3.4.5 Reologiske analyser

De ulike dipp-prøvene ble lagret ved 4 °C før det ble utført viskositetsmålinger av ferske og lagrede prøver fra hovedforsøket. Ferske prøver ble analysert etter lagring i 16 t, og lagrede prøver etter lagring i 3 uker.

3.4.5.1 Viskositetsmålinger

Viskositetsmålinger av prøver ble utført på Physica MCR 301 reometer (Anton Paar, Østerrike). På reometeret ble det brukt et plate-plate system bestående av en roterende plate som øvre del, og en ikke roterende plate som nedre del. En profilert aluminiumssylinder (Anton Paar, probe PP50/P2) utgjorde den øvre delen, og som med en hastighet (v) beveget seg nedover til en bestemt høyde ($d = 1,000$ mm) over den nedre platen (Anton Paar, TU1=P-PTD200/80). På reometeret ble det utført et opplegg på to intervaller. Intervall 1 ble utført som en rotasjonsmåling, bestående av 20 målepunkter, med en varighet på 2 sek for hvert målepunkt, hvor skjærraten (dy/dt) i intervallet økte logaritmisk fra 1-400 1/s. Intervall 2 ble utført som en oscillasjonsmåling, som i likhet med intervall 1 var bestående av 20 målepunkter, bare med en varighet på 5 sek for hvert målepunkt. Amplituden (strain, γ) i intervallet økte logaritmisk fra 0,5-200 %, med en fast frekvens (ω) på 6,28 rad/s. Til behandling av data ble det brukt Rheoplus/32 v.3.40.

Før analyse ble alle prøver rørt opp likt ved bruk av en spiseskje, og ca. en teskje av prøven ble tatt ut og over i midten av måleplaten på reometeret. Prøvene ble analysert ved en temperatur på 4 °C og en måleavstand på 1,000 mm mellom de to platene. Det ble utført tre paralleller av hver prøve, og etter analyse av en prøve ble prøvematerialet tørket av med en fuktig klut eller papir, og proben vasket, før ny prøve ble tatt over på måleflaten.

3.4.6 Sensoriske analyser

Det ble utført sensorisk analyse av prøver fra forforsøkene, hvor utseende, konsistens og smak av dipp ble vurdert. For prøver fra hovedforsøket ble det utført en mer detaljert analyse, her ble prøvene sensorisk bedømt etter utseende/konsistens (fnokker, trådtrekkende, viskositet (drypp av skje/chips), kremethet og tørrhet), smak (sur smak, fet smak, besk smak, bitter smak og prikkende (på tungen)) og helhetsinntrykket. Siden det var begrenset med prøver ble det benyttet et dommerpanel bestående av 4 menn og 5 kvinner, med noe sensorisk erfaring. Bedømmelse av dipp ble utført av ferske prøver og lagrede prøver fra gjentak 1, 2 og 3. Ferske prøver fra G1 (gjentak 1)

ble sensorisk analysert etter lagring ved 4 °C i ca. 18 t, som naturell, tilsatt gresk dressing mix (Knorr, Tyskland) og Holiday dipmix (Maarud AS, Disenå). Panelet ble servert 8 *3 prøver, hvor de første var naturlige, etterfulgt dipp tilsatt gresk dressing mix og Holiday dipmix. 6 av prøvene var fra egen produksjon, og de andre prøvene var Lettrømme (18 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge) og Mager Kesam (1,0 % fett, Tine, SA, Oslo, Norge). Alle 24 prøvene ble analysert samme dag. Etter sensorisk analyse av ferske G1 prøver ble det bestemt å fjerne prøver tilsatt gresk dressing mix siden den ikke var god, og fordi det ble også litt mange prøver for panelet å bedømme av gangen. I tillegg ble det bestemt å dele opp prøvedagen i to dager av praktiske grunner. Naturlige prøver ble bedømt på fredager etter lagring i ca. 18 t (8 prøver) og prøver med smak av Holiday dipmix på mandager etter lagring i ca. 3,5 d (8 prøver). Prøver analysert på fredager ble laget i stand samme dag de ble analysert, mens prøver analysert på mandager ble laget i stand på søndag ettermiddag/kveld dagen før analyse av prøvene. Lagrede DU prøver fra gjentak 1 ble fjernet fra analysen, på grunn av dårlig lukt. Holiday dipmix er en dipmix med en mild paprika og løksmak, og består av ingredienser som bl.a. salt, løkpulver, paprikabiter, potetstivelse, sukker, og div krydder.

Prøver ble laget i stand i små skåler med lokk, som var merket med en tresifret tallkode, og frem til bedømmelse ble prøvene lagret kaldt ved 4 °C. Ved hver bedømmelse fikk dommerne servert 8 randomiserte prøver og et skriv om hvordan de skulle utføre testen, i tillegg til at det ble gitt en muntlig gjennomgang. Her ble det gitt beskjed om å starte med dippet i øverste rad fra venstre side og gå mot høyre, og fortsett deretter på nederste rad fra venstre side og gå mot høyre. Det var ikke lov å gå tilbake til tidligere dipp, og man måtte skylle munnen godt med vann mellom hver prøve. Spyttbegere ble satt fram hvor man kunne spytte ut prøven og skyllevannet. Naturell dipp ble analysert med teskje og dipp tilsatt Holiday dipmix ble analysert med Lay's salted chips (PepsiCO, Nederland), som var et chips med mild salt smak. Det ble bedt om å rangere alle 8 prøvenumrene (3 sifret) over linjen på arket, og indikere et nummer for intensitet for hver prøve på linjen. Til dette ble det benyttet en karakterskala fra 1-7 for intensitet, hvor 1 var ingen/lav/dårlig skår og 7 var godt/høy skår verdi for den aktuelle egenskapen. For hver prøve ble det sett på 11 egenskaper.

3.4.7 MilkoScan for analyse av protein og fettkonsentrasjoner

Analyse av protein-, laktose- og kaseininnhold (%) i proteinpulvere (SMP, type 1 og type 2) brukt i forforsøkene, og protein-, fett- og laktoseinnhold (%) i skummet melk (Fjøset ved Norges miljø-

og biovitenskapelige universitet, Ås, Norge) brukt i gjentak 1 i hovedforsøket, ble foretatt ved bruk av MilkoScan FT1 (Foss, Sverige). Skummet melk ble analysert direkte på MilkoScan før bruk. For analyse av proteinpulvere ble det laget en 10 % løsning av SMP i destillert vann (10 g pulver og 90 mL destillert vann), og en 5 % løsning av type 1 og type 2 pulvere i destillert vann (5 g pulver og 95 mL destillert vann). Destillert vann og pulver ble blandet i en målekolbe, og for å få en så homogen prøve som mulig og for at pulveret skulle få tid til å løse seg godt nok opp før analyse, ble blandingen satt til svelling i minst 30 min, under omrøring ved bruk av en magnetrører. Deretter ble prøveblandingen analysert direkte på MilkoScan. Resultater fra MilkoScan ble ganget opp med fortykning av prøven.

3.4.8 Kjeldahl analyse for proteinkonsentrasjon (%) i proteinpulvere

Ved analyse av total nitrogen (TN), ikke-kasein nitrogen (IKN) og ikke-protein nitrogen (IPN) i proteinpulverene, ble det til hver av analysene laget 3 paralleller av hver av pulverene (SMP, type 1 og type 3) som ble brukt i hovedforsøket (altså 3 pulvere * 3 paralleller = 9 prøver per analyse). Ved hver destillering av en blokk bestående av 20 oppslutningsrør med prøvemateriale (maksimalt prøver i en blokk) ble det laget 2 paralleller med blanke prøver bestående av 3 mL konsentrert H_2SO_4 (Merk) og en Kjeldahl tablett AA11 (Thompson & Copper LTD, USA) bestående av 1,5 g K_2SO_4 og 0,0075g Se. Ved hver veiing til TN, IKN og IPN ble vekten notert med 3 desimaler nøyaktighet.

3.4.8.1 Tillaging av stamløsning av proteinpulvere

Ved analyse av total nitrogen (TN), ikke protein nitrogen (IPN) og ikke kasein nitrogen (IKN) i pulverene var det nødvendig å lage en 5 % stamløsning først. 5 g proteinpulver ble innveid i en 200 mL målekolbe, og vekt av pulver notert (P). Videre ble målekolben tilsatt destillert vann opp til 100 mL merket, og vekt (g) av stamløsning (S) notert. For å få en homogen prøve som mulig ble stamløsningen deretter satt til røring i 30 min ved bruk av en magnetrører.

3.4.8.2 Prøveopparbeidelse for analyse av total nitrogen (TN)

1 g stamløsningen ble veid inn i et Kjeldahl-rør og vekten notert (L).

3.4.8.3 Prøveopparbeidelse for analyse av ikke-protein nitrogen (IPN)

10 g stamløsning ble veid inn i en 100 mL titerkolbe, og vekten notert (L). Prøven ble deretter fortynnet med 10 % triklorediksyre (TCA)(Merk) opp til 50 g, og vekten notert (V). Denne

løsningsen ble deretter filtrert ved bruk av et ashless/white ribbon filter 589/2 (Whatman, Tyskland), og 5 g av filtratet ble veid inn i et Kjeldahl-rør, og vekten av filtratet notert (F). Dermed felles ut protein nitrogen, og gjør det mulig å beregne ikke-protein nitrogen innholdet i prøvene.

3.4.8.4 Prøveopparbeidelse for analyse av ikke-kasein nitrogen (IKN)

40 g stammløsning ble veid inn i en 100 mL titerkolbe, og vekten notert (L). Prøven ble deretter tilsatt 40 mL destillert vann, og varmet opp til 35 °C i et vannbad med aluminiumsfolie over titerkolben. Etter prøven var varmet opp til 35 °C, ble den tilsatt 4 mL 10 % (w/v) eddiksyre (Merk) mens prøven stod i vannbadet, og aluminiumsfolien ble satt på igjen. Etter 5-10 min henstand i vannbadet ble prøven tilsatt 4 mL 1 M Natriumacetat (Merk), og satt på is med aluminiumsfolie over titerkolben. Etter noen minutters henstand var temperaturen på prøven ca. 22 °C (romtemperatur) og pH i prøven skulle være senket til isoelektrisk punkt (pH 4,6) for kasein. Protein som ikke var løselig ved denne pH (kasein) ble dermed felt ut. Dersom prøven ikke hadde riktig pH ble den pH justert ved bruk av 10 % (w/v) eddiksyre (Merk) eller 1M Natriumacetat (Merk). Måling av pH ble utført med et PHM210 standard pH-meter (Meter Lab, Radiometer, Kjøbenhavn, Danmark (Nerliens, Norge), med kombinert pHC2005-8 kombinert pH elektrode (Red Rod, Epoxy body, BNC), og pH meteret ble kalibrert ved bruk av standard buffer løsninger med pH 4 og pH 7 (Merk), og en temperatur på ca. 22 °C. Etter at prøven holdte riktig pH ble den avkjølt, og overført til en 100 mL titerkolbe. For å få med alt prøvemateriale under overføringen, ble titerkolben skylt med litt destillert vann. Titerkolben ble deretter fylt opp med destillert vann til en vekten på 100 g, og vekten av løsningen i kolben ble notert (V). Videre ble prøveblandingen filtrert ved bruk av ashless/white ribbon filter 589/2 (Whatman) og 2 g av filtratet ble veid inn i et Kjeldahl-rør, og vekten av filtratet notert (F). Proteiner som var felt ut ble dermed værende igjen i filteret.

3.4.8.5 Oppslutning av prøver til Kjeldahl destillasjon

En Kjeldahl tablett AA11 (Thompson & Copper LTD, USA) og 3 mL konsentrert H₂SO₄ (Merk) ble tilsatt i oppslutningsrør med prøvematerialet. Stativet med oppslutningsrør ble deretter satt i oppslutningsenheten Tecador Digestor Auto 20 (Foss, Sverige) og avsuget til oppslutningsrørene ble satt på. Prøvene ble deretter satt til koking til en fikk vannklare prøver (420 °C, 1 t). Under koking ble vannstrålepumpen satt på fullt hele tiden. Når prøvene var vannklare ble de avkjølt og

satt på benken med aluminiumsfolie over, og var nå klare for destillering. Avsuget ble værende på en stund etter at rørene ble tatt av varmen.

3.4.8.6 Destillering

Oppslutningsrøret med prøvemateriale ble satt i analyseenheten Kjeltec 8400 (Foss, Sverige) for destillering. Analyseenheten var satt på automatisk, som vil si at det ble automatisk tilsatt 10 mL destillert vann og 15 mL 33 % NaOH (Merk) til oppslutningsrøret. Ved hjelp av kjøleavdelingen i destillasjonsapparatet ble destillatet kondensert ned i et forlag på 20 mL 10 % borsyre + indikator. Borsyreforlaget endrer farge fra rødt til grønt under destillasjonen. NH_3 i borsyreforlaget titreres deretter med 0,05 M HCl til fargen på prøven ble rød. Mengde titer (mL 0,01 M HCl) ble deretter lest av.

3.4.8.7 Beregninger

Ved bruk av en stammløsning er det blitt brukt følgende beregninger for beregning av % TN, % IPN, % IKN i pulverene:

- % TN i pulveret = $(\text{mL Titer} * 0,0700 * S) / (P * L)$
- % IPN i pulveret = $(\text{Titer} * 0,0700 * V * S) / (P * L * F)$
- % IKN i pulveret = $(\text{Titer} * 0,0700 * V * S) / (P * L * F)$

Beregninger bruk til analyse av % totalprotein, kasein % av totalprotein, % totalkasein, myseprotein % av totalprotein og % totalmyseprotein:

- % Totalprotein i pulveret = $(\% \text{ TN} - \% \text{ IPN}) * 6,38$
- Kasein % av totalprotein = $(\% \text{ TN} - (\% \text{ IKN} - \% \text{ IPN})) * 6,38$
- % totalkasein = $(\% \text{ Totalprotein} / 100 \%) * \text{kasein \% av totalprotein}$
- Myseprotein % av totalkasein = $(\% \text{ IKN} - \% \text{ IPN}) * 6,38$
- % totalmyseprotein = $(\% \text{ totalprotein} / 100 \%) * \text{myseprotein \% av totalprotein}$

3.4.9 Statistiske analyser

Behandling og fremstilling av resultater ble gjort ved bruk av den statistiske programvaren R-commander (RStudio) og Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA).

4 RESULTATER

4.1 FORFORSØK

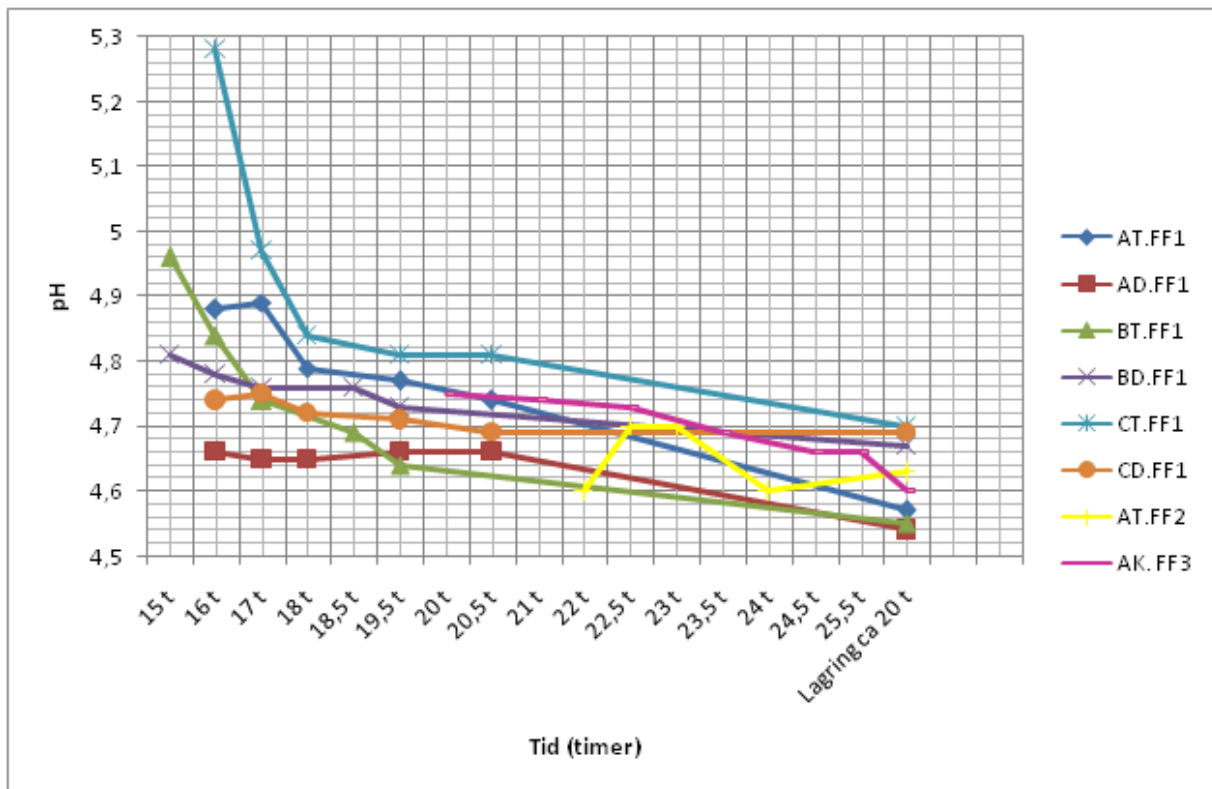
I de innledende forforsøkene ble det sett på proteinpulvernes løselighet under oppvarming, det ble undersøkt hvordan veksten av laktokokker var i de ulike dipp-prøvene fermentert med forskjellig kulturer og proteinpulver, samt ved bruk av 7 og 10 % proteininnhold. Syrekulturens evne til å senke pH i de ulike produktene ble også vurdert. Prøvene ble også undersøkt sensorisk for konsistens, smak og utseende. I tillegg ble utvalgte DL-kulturer, som ble brukt for å sammenligne med prøver podet med Tjukkmjølkk, undersøkt for å se om de ga produkter med trådtrekkende konsistens.

4.1.1 Løseligheten til proteinpulverene

I kald melk (ved 4 °C) viste alle proteinpulverene dårlig løselighet (best løselighet for skummet melkepulver), men etter svelling (hydratisering) i melk ved 45 °C viste alle pulverene god løselighet, og ytterligere forbedret løselighet etter videre oppvarming av melkeblanding til 95 °C med en holdetid på 5 min.

4.1.2 pH utvikling

For praktiske årsaker ble syrning tatt over natten, og pH målinger ble tatt først etter 15 - 16 t syrning. Målinger av pH ble foretatt både under syrning ved 22 °C og etter lagring ved 4 °C i ca. 20t av prøver fra alle tre forforsøkene (hhv. FF1, FF2 og FF3). **Figur 10** viser pH reduksjon under syrning og frem til etter lagring av prøvene.

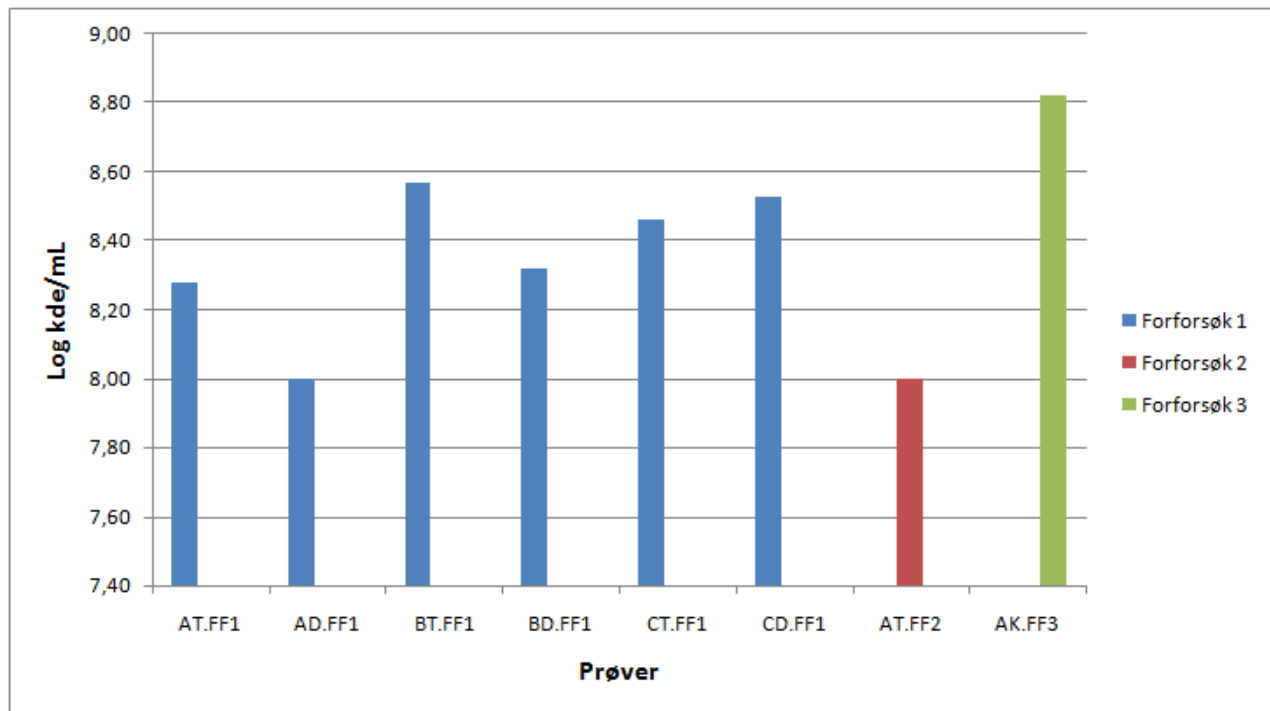


Figur 10. pH utvikling i prøver fra forforsøk 1, 2 og 3 under syring ved 22 °C og etter lagring ved 4 °C i ca. 20 timer. A: type 1 pulver, B: type 2 pulver, C: skummet melk pulver, D: podet med kultur XT-313 (DVS, DL-kultur), T: podet med Tjukkmjølk og K: podet med Skummet kulturmelk. FF1 er prøver med 7 % protein, og FF2 og FF3 er prøver med 10 % proteininnhold.

De første 15 - 18 t under syring sank pH raskt (**Figur 10**) og deretter gradvis ned frem til etter lagring, hvorav pH til prøvene endte på mellom 4,7 - 4,54. Generelt ble prøver med DL-kultur fortere ferdig syret enn prøver med Tjukkmjølk. Det ble ikke vist noen store forskjeller i pH etter lagring av A prøver med et proteininnhold på 7 % og 10 %, hvorav pH i prøver med Tjukkmjølk og DL-kultur fra forforsøk 1 (AT.FF1, AD.FF1), prøver med DL-kultur fra forforsøk 2 (AT.FF2), og prøver med Skummet kulturmelk fra forforsøk 3 (AK.FF3) var på hhv. 4.57, 4.54, 4.62 og 4.60.

4.1.3 Bakterieantall

Etter syring ble antall (Log kde/mL) laktokokker i dipp fra forforsøk 1, 2 og 3 (FF1, FF2, FF3) bestemt for vekst på M17-agar. Prøver ble analysert etter lagring ved 4 °C i hhv. ca. 3 dager for FF1 og etter ca. 19 timer for FF2 og FF3. Resultater for antall (Log kde/mL) laktokokker er vist i **Figur 11**. Det er både laktokokker og *Leuconostoc* i prøvene, og i prøver med mye etanol hadde det vært greit å antall bestemme *Leuconostoc*, men siden det er en omfattende og tidkrevende prosess ble kun antall laktokokker i prøvene bestemt.

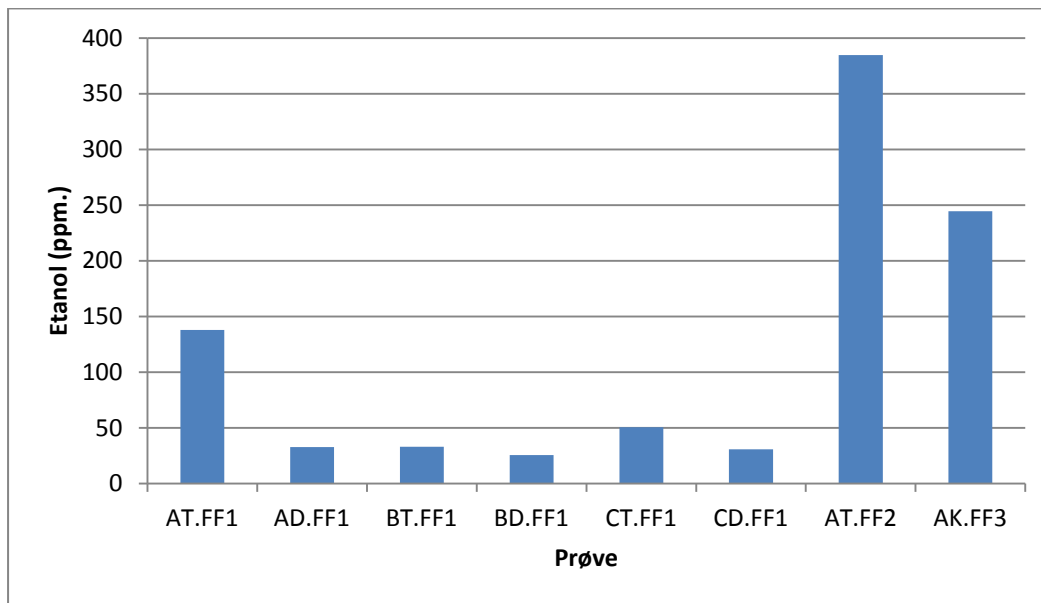


Figur 11. Antall (Log kde/mL) laktokokker i prøver fra forforsøkene (1, 2 og 3) bestemt ved innstøpning i M17-agar. A: type 1 pulver, B: type 2 pulver, C: skummet melk pulver, D: podet med kultur XT-313 (DVS, DL-kultur), T: podet med Tjukkmjølkk og K: podet med Skummet kulturmjølkk. FF1 er prøver med 7 % protein, og FF2 og FF3 er prøver med 10 % proteininnhold.

Antall laktokokker i prøver varierte fra log 8,00 til 8,82 (**Figur 11**). Prøver fra forforsøk 1 (med 7 % proteininnhold) som var podet med Tjukkmjølkk hadde generelt noe høyere antall (Log kde/mL), sammenlignet med prøver fra samme forforsøk bare med DL-kultur. I tillegg var antallet noe høyere i prøver ved B og C pulver fra forforsøk 1, enn prøver med A pulver fra samme forforsøk. Etter en økning av proteininnholdet til 10 %, som det ble brukt i forforsøk 2 og 3, ble antallet noe lavere i A prøver podet med Tjukkmjølkk fra forforsøk 2 enn i forforsøk 1 med Tjukkmjølkk. Antallet i A prøver podet med Skummet kulturmjølkk var derimot høy.

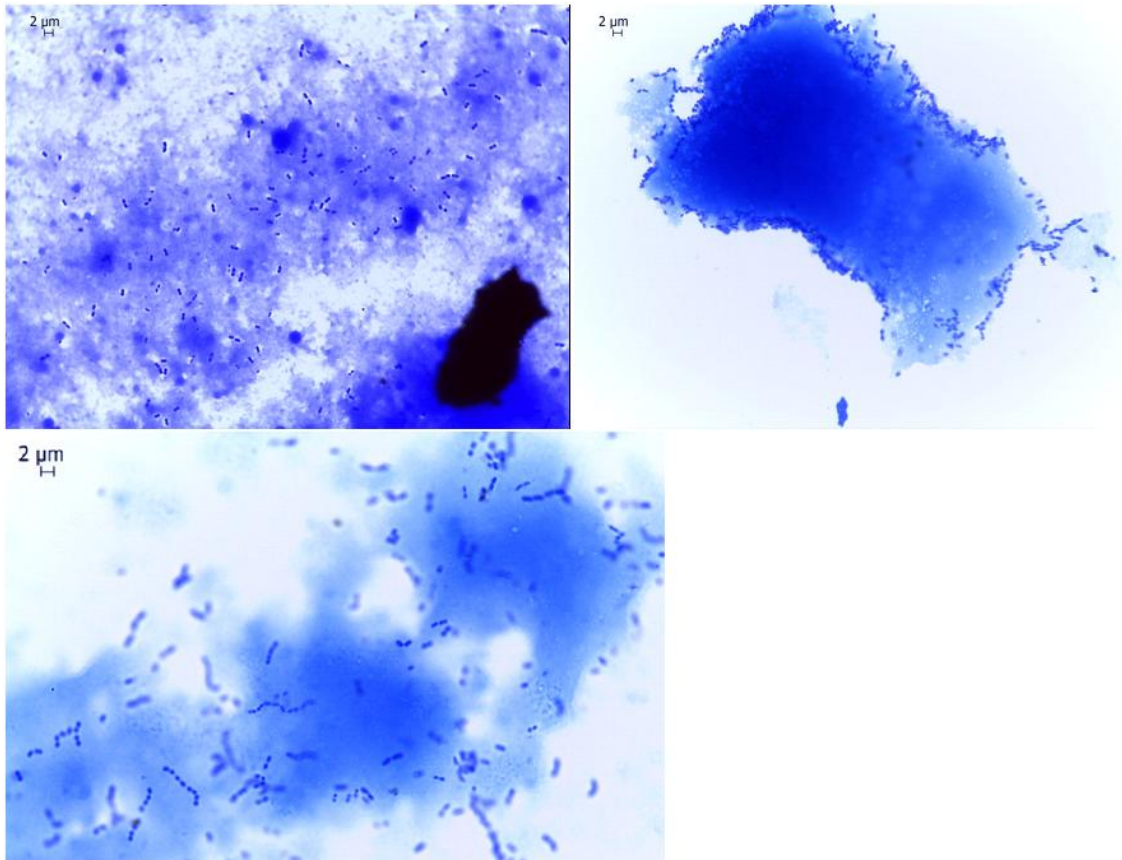
4.1.4 Etanolproduksjon

Etter lagring av prøver ved 4 °C i ca. 20 t ble det observert "lommer/hulrom" i A prøver med Tjukkmjølkk fra forforsøk 2 (AT.FF2). Dette tydet på CO₂ produksjon. For å undersøke om dette kunne skyldes vekst av koliforme organismer ble prøven undersøkt for vekst på VRBA. Etter inkubering ved 37 °C i 24 t ble det ikke påvist noe vekst. Etter lagring av prøver i forsøk 1, 2 og 3 ble konsentrasjonen av etanol (ppm.) i prøvene undersøkt ved bruk av HSGC. Resultater fra analysen er vist i **Figur 12**.



Figur 12. Konsentrasjon (ppm.) av etanol i prøver fra forforsøk 1, 2 og 3. A: type 1 pulver, B: type 2 pulver, C: skummet melk pulver, D: podet med kultur XT-313 (DVS, DL-kultur), T: podet med Tjukkmjølkk og K: podet med Skummet kulturmelk. FF1 er prøver med 7 % protein, og FF2 og FF3 er prøver med 10 % proteininnhold.

Ved sammenligning av prøver fra forforsøk 1 (**Figur 12**) var etanol konsentrasjonen mye høyere i A prøver med Tjukkmjølkk, enn resten av prøvene i forsøket, som hadde tilnærmet like konsentrasjoner av etanol uavhengig av kultur og pulver. En økning av proteininnholdet fra 7 til 10 % førte til nesten en tredobbel økning i etanol konsentrasjon i A-prøven med Tjukkmjølkk, fra hhv. 138 ppm til 381 ppm. For å undersøke om den høye etanolproduksjonen i A-prøvene i forforsøkene kunne skyldes vekst av gjær i prøvene, ble A-prøven med Tjukkmjølkk fra forforsøk 2 (AT.FF2) undersøkt ved å lage et varmefixert preparat av prøven og farget med metylenblått, og deretter sett på i mikroskopet. Mikroskopieresultat av prøven er vist i **Figur 13**.



Figur 13. Vekst av laktokokker ved mikroskopering av prøve AT.FF2 (x1000).

Mikroskopering av AT.FF2 (**Figur 13**) viste kun vekst av kokker og ikke noe antydning til gjær eller stavformede bakterier.

4.1.5 Sensoriske analyser

Sensorisk analyse av naturlige prøver i forforsøk 1 viste varierende resultater av trådtrekkende konsistens i prøver med DL-kultur og Tjukkmjølkk, hvor det noen ganger ble observert trådtrekkende konsistens i prøver med DL-kultur og ikke trådtrekkende konsistens i prøver med Tjukkmjølkk, uten noe spesielt mønster. Konsistensen til prøvene etter lagring ved 4 °C i 3 dager var også dårlig i de fleste prøvene med 7 % proteininnhold, hvor det ved start av røring av prøvene ved bruk av en skje dannet seg en klump i midten av produktet, der konsistensen ble bedre ettersom røringen fortsatte. Dette ble ikke observert i prøver med 10 % proteininnhold, herav A prøver med Tjukkmjølkk fra forforsøk 2 (AT.FF2) og med Skummet kulturmjølkk fra forforsøk 3 (AK.FF3). Prøve AK.FF3 derimot hadde en trådtrekkende konsistens og hadde ikke så god smak, mens prøve AT.FF2 hadde både god konsistens og smak, og ble derfor bedømt som den beste av prøvene i forhold til konsistensen, utseende og smak hos alle prøvene i forforsøkene.

4.2 HOVEDFORSØK

På bakgrunn av resultater fra forforsøkene ble det brukt et proteininnhold på 10 % i dipp i hovedforsøket. Det ble, imidlertid brukt en ny DL-kultur, CHN-11 (Chr. Hansen A/S), til å sammenligne med prøver bestående av Tjukkmjølke i hovedforsøket. Denne kulturen hadde ikke vært testet i tidligere forforsøk på grunn av begrenset med tid til å utføre nye forforsøk.

Proteinpulver type 2 ble ikke videre brukt (fordi det opprinnelig ble gitt feil informasjon om andelen (%) av kasein og myseprotein i pulveret, og andelen kasein og myseprotein var oppgitt til å være på hhv. 17,71 % og 59,29 % (som var ønskelig), men var faktisk på hhv. 37,73 % og 39,27 %. Dette pulveret ble derfor erstattet med et nytt proteinpulver (type 3) som ikke hadde vært utprøvd tidligere. Til å proteinrikke dipp i hovedforsøket ble det derfor brukt proteinpulver type 1, type 3 og SMP.

Melkeblandinger som ble proteinriket med pulver type 1, type 3 og SMP ble forkortet som hhv. A, C og D, og deretter podet med Tjukkmjølke eller CHN-11 kultur ble forkortet som hhv. T og U. Til sammen ga dette 6 ulike prøvekombinasjoner; AU, AT, CU, CT, DU og DT.

Variansanalyse (ANOVA) og Tukey test ble foretatt på alle variablene i datasettet til pH utvikling, mikrobiologiske-, kjemiske-, reologiske- og sensoriske analyser av prøver, for å se om det var signifikante forskjeller mellom prøver og hvor det var signifikante forskjeller mellom prøver.

4.2.1 pH utvikling

Det ble foretatt pH målinger i prøver fra gjentak 1, 2 og 3 før poding, etter fermenteringen med Tjukkmjølke og CHN-11 kultur (slutt syring), og etter lagring ved 4 °C i både ca. 16 t og 3 uker ved bruk av proteinpulver type 1, type 3 og skummetmelkpulver (SMP). pH målinger før poding er angitt som 0 t, og vil si melkeblending bestående av skummetmelk som er proteinriket og varmebehandlet (91 °C/ 5 min), men ikke podet. Resultater fra variansanalysen og Tukey testen foretatt på datasettet til pH målinger for pulverene A, C og D er vist i **Tabell 4A** og for kulturene T og U er vist i **Tabell 4B**.

Tabell 4A. Analyse av pH data for pulverene A, C og D, analysert med ANOVA og Tukey test.

Tid	Gjennomsnittlig pH			Tukey test		
	Pulver			Pulver		
	A	C	D	C-A	D-A	D-C
0 t	6,53	6,37	6,56	C < A	A = D	C < D
Slutt syrning	4,60	5,04	4,75	A < D < C		
Lagring i ca. 16 t	4,55	5,05	4,67	C > A	A = D	C > D
Lagring i 3 uker	4,43	4,73	4,57	C > A	A = D	C > D

Tabellen viser gjennomsnittlig pH for de forskjellige pulverene ved forskjellige måletider. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i pH mellom pulverene C og A, pulverene D og A og pulverene D og C. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver og D: melkeblending D med pulver type 3.

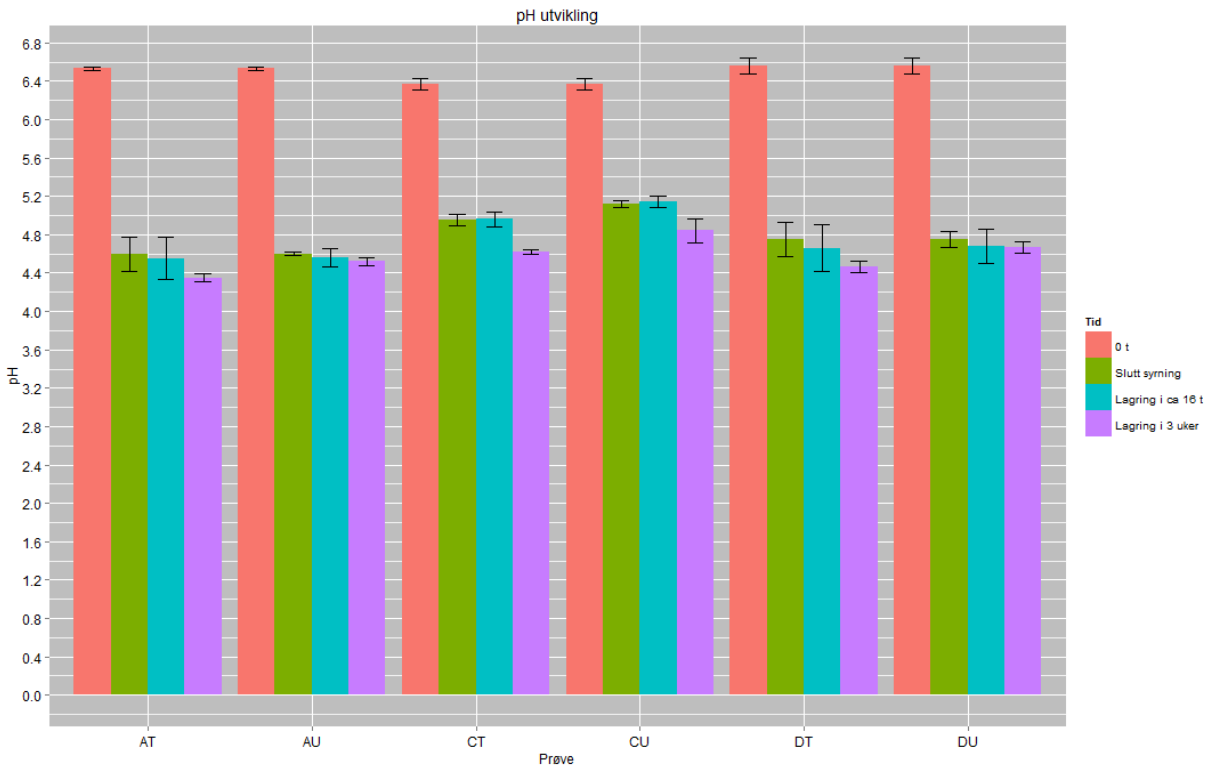
Tabell 4B. Analyse av pH data for kulturene T og U, analysert med ANOVA og Tukey test.

Tid	Gjennomsnittlig pH		Tukey test	
	Kultur		Kultur	
	T	U	T	U
0 t	6,49	6,49	T = U	
Slutt syrning	4,77	4,82	T = U	
Lagring i ca. 16 t	4,73	4,79	T = U	
Lagring i 3 uker	4,48	4,67	T < U	

Tabellen viser gjennomsnittlig pH for de forskjellige kulturene ved forskjellige måletider. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i pH mellom kulturene T og U. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. U: podet med CHN-11 kultur og T: podet med Tjukkmjølkk.

Det var mange signifikante forskjeller i pH med hensyn på pulvertypen (**Tabell 4A**), både før poding (0 t), slutt syrning, og etter lagring i både ca. 16 t og 3 uker. Prøver laget med pulver C hadde signifikant lavere pH før poding, enn prøver laget med pulver A og D. Ved slutt syrning hadde prøver laget med pulver A signifikant lavere pH enn prøver laget med pulver C og D, der C-prøver hadde høyest pH. Etter lagring i både ca. 16 t og 3 uker var pH i prøver laget med pulver A og D signifikant lavere enn for prøver laget med pulver C.

For prøver fermentert med ulike kulturer (**Tabell 4B**) var det kun påvist signifikante forskjeller mellom prøver fermentert med Tjukkmjølkk (T) og CHN-11 (U) etter lagring i 3 uker, der prøver fermentert med Tjukkmjølkk viste signifikant lavere pH enn CHN-11 prøver.

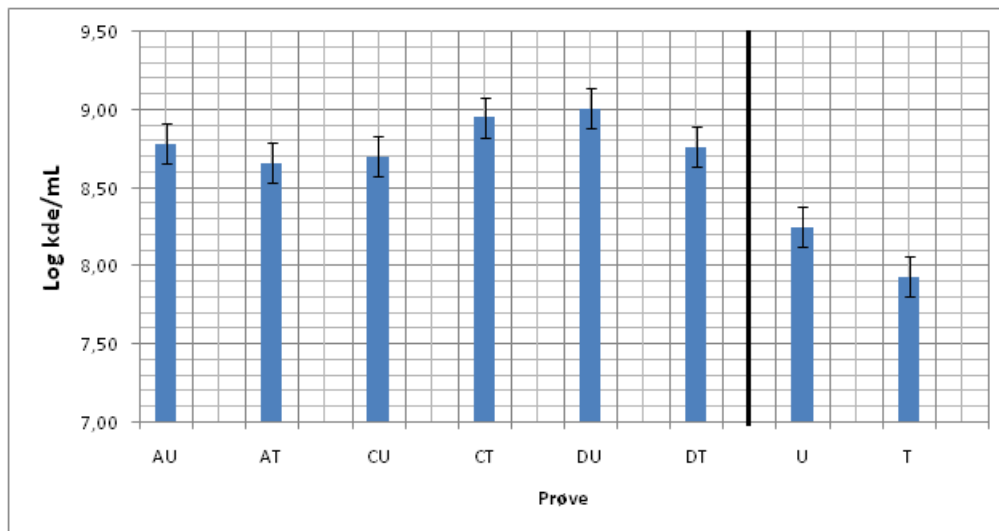


Figur 14. pH utvikling i prøver fra gjentak 1-3 før poding (0 t), ved sluttsyrning, 40 timer etter poding (lagring i ca. 16 t) og etter lagring i 3 uker. Standardavviket til prøvene er angitt med en lodrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: podet med CHN-11 kultur og T: podet med Tjukkmjølkk.

Figur 14 viser pH utviklingen til prøver før poding og frem til etter lagring. Før poding hadde prøver laget med pulver C lavere pH enn ved bruk av pulver A og D. Under syring sank pH i alle prøver laget med ulike pulvertyper, og ved endt syring hadde prøver laget med pulver A lavest pH og prøver laget med pulver C høyest pH. Etter lagring av prøver i både ca. 16 t og 3 uker hadde prøver tilsatt pulver A og D lavere pH enn prøver tilsatt pulver C. Kultur hadde kun effekt på senking av pH etter lagring i 3 uker, der prøver fermentert med Tjukkmjølkk hadde lavere pH enn CHN-11 prøver.

4.2.2 Bakterientall

Etter avkjøling av prøver på isvannbad ved endt syrning ble det utført mikrobiologiske analyser av prøver ved utsåing på M17 og VRBA. Det ble ikke påvist noe vekst av koliforme organismer på VRBA. Resultater av variansanalyse og Tukey test foretatt på datasettet til antall (Log kde/mL) laktokokker viste at hverken pulver type eller kultur type hadde en signifikant innvirkning på antall laktokokker. Gjentak viste heller ingen effekt.

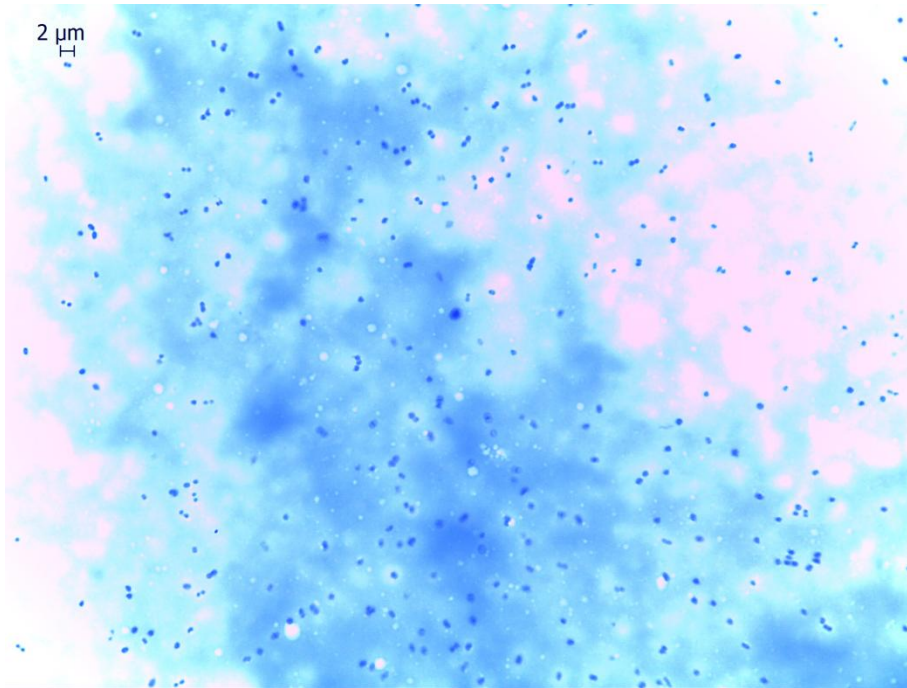


Figur 15. Antall (Log kde/mL) laktokokker i prøver fra gjentak 1 etter lagring ved 4 °C i 8 d, og i ferske prøver fra gjentak 2 og 3 etter avkjøling i 1 time etter endt syrning, og i podekulturene U og T ved samme tid, bestemt ved innstøping i M17-agar. Standardavviket til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblanding A med pulver type 1, C: melkeblanding C med skummetmelkpulver, D: melkeblanding D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur og T: Tjukkmjølkk.

Figur 15 viser antall laktokokker i prøver fra gjentak 1, 2 og 3 etter poding med Tjukkmjølkk (T) og CHN-11 (U), samt antall laktokokker i podekulturene U og T. Bruk av forskjellig pulver og kultur hadde ingen effekt på antall laktokokker i prøvene. Mellom podekulturene var antall laktokokker litt høyere for CHN-11 (Log 8,25 kde/mL) enn Tjukkmjølkk (Log 7,94 kde/mL).

4.2.3 Mikroskopering

Under sensorisk analyse av lagrede prøver fra gjentak 1 ble prøven med pulver D og podet med CHN-11 kultur (DUS.G1) fjernet fra analysen siden den luktet vondt. For å undersøke hva denne vonde lukten kunne komme av ble prøven undersøkt ved å lage et varmefiksert preparat av prøven som ble farget med metylenblått og sett på i mikroskopet.



Figur 16. Vekst av laktokokker ved mikroskopering av prøve DUS.G1 ved bruk av lysfelt (100x forstørring).

Figur 16 viser mikroskopiresultat av DUS.G1-prøven. Ved mikroskopering av DUS.G1 ble det kun påvist vekst av kokker og ikke noe antydning til gjær eller stavformede bakterier. Kjemiske analyser (HPLC og HSGC) av DUS-prøven fra gjentak 1 viste ingen avvikende resultater av organiske syrer, karbohydrater eller aromastoffer i forhold til DUS-prøver fra gjentak 2 og 3 for de samme analysene (resultater ikke presentert).

4.2.4 Beregnet sammensetning av protein og laktose i dipp

Ved bruk av HPLC ble laktoseinnholdet i proteinpulver A, C og D bestemt. Basert på konsentrasjoner av laktose og innhold (%) av total protein, total kasein og total myseprotein i proteinpulvere og skummetmelk, samt mengden (kg) pulver og skummet melk som ble brukt til å lage melkeblending A, C og D (melkeblending bestående av skummetmelk og proteinpulver A, C eller D før varmebehandling), ble innholdet av total protein, total kasein, total myseprotein og laktose i melkeblending A, C og D bestemt. Resultater for dette er vist i **Tabell 5**.

Tabell 5. Innhold (%) av total protein, total kasein, total myseprotein og laktose i melkeblending A, C og C (før varmebehandling), og mengde (kg) skummetmelk og proteinpulver i hver av melkeblendingene.

Melkeblending	Proteinpulvertype	Proteinpulver (kg)	Skummet melk (kg)	Total protein (%)	Total kasein (%)	Total myseprotein (%)	Laktose (%)
A	Type 1	1,261	13,739	10	7,79	2,21	4,84
C	SMP	3,121	11,879	10	8,00	2,00	14,94
D	Type 3	1,772	13,228	10	4,60	5,40	6,98

Totalvekt av melkeblendingene er 15 kg og innhold av laktose, protein og fett i skummet melk er hhv. 4,8, 3,3 og 0,1 %.

Laktoseinnholdet i proteinpulver A, C og D ble funnet ved bruk av HPLC og omregnet fra ppm. til % ($\% = (\text{ppm}/1\ 000\ 000) \cdot 100$).

Tabell 5 viser resultater av beregnet laktosekonsentrasjon i melkeblending A, C og D (før varmebehandling), som ble beregnet til å være på hhv. 4,84 %, 14,94 % og 6,98 %.

Laktosekonsentrasjonen i nullprøve A, C og D (melkeblending etter varmebehandling) ble målt til å være på hhv. 4,76 %, 11,17 % og 6,39 % (**Tabell 7**), som vil si at det var ingen endring (svært liten endring) i laktosekonsentrasjon etter varmebehandling av melkeblendingen. Proteinanrikning av skummetmelk til 10 % totalprotein ved bruk av proteinpulver type 1, type 3 eller SMP for å lage tre forskjellige melkeblandinger, førte til forskjellige konsentrasjoner av myseprotein, kasein og laktose i melkeblendingene. Konsentrasjonsforholdet mellom kasein og myseprotein var svært likt i melkeblendingene A (hhv. 7,79 % og 2,21 %) og C (hhv. 8 % og 2 %), der det hovedsakelig var kun konsentrasjonen av laktose som utgjorde forskjellen mellom disse melkeblendingene (hhv. 4,84 % og 14,94 %). Konsentrasjonen av total kasein og myseprotein i melkeblending D var veldig likt, hhv. på 4,6 % og 5,4 %, og konsentrasjonen av laktose var noe høyere i melkeblending D enn A, hhv. 6,98 % og 4,84 %.

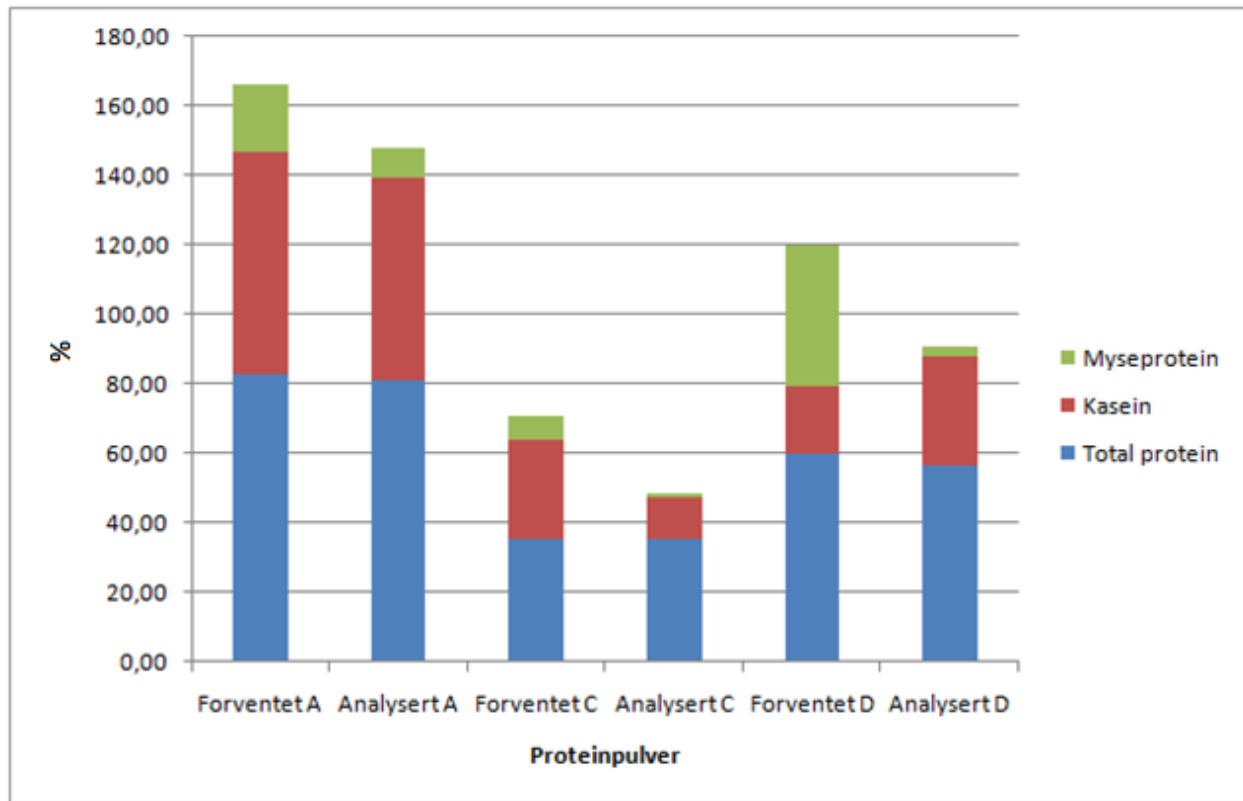
4.2.5 Proteinkonsentrasjon i proteinpulvere beregnet ved bruk av Kjeldahl analyse

Ved Kjeldahl analyse av total nitrogen (TN), ikke kasein nitrogen (IKN) og ikke protein nitrogen (IPN) av proteinpulver type 1, type 3 og SMP, ble konsentrasjonen (%) av total protein, total kasein og total myseprotein i proteinpulverne funnet. Resultater for dette er vist i **Tabell 6**.

Tabell 6. Gjennomsnittlig innhold (%) av total protein, total kasein og total myseprotein i pulvere (A, C og D), beregnet ved bruk av Kjeldahl analyse for TN, IKN og IPN.

Pulver	Benyttet forkortelse	Total protein (%)	Total kasein (%)	Total myseprotein (%)
type 1	A	80,945	58,491	8,459
SMP	C	35,382	11,896	1,271
Type 3	D	56,505	31,346	3,177

Tabell 6 viser konsentrasjon (%) av totalprotein, total kasein og total myseprotein i proteinpulver type 1, type 3 og SMP. Som det blir vist er ikke total protein (TP) summen av total kasein (TK) og total myseprotein (TMP) i dette forsøket, noe det burde vært. Det blir vist at Pulver A hadde det høyeste totalproteininnholdet, noe lavere i pulver D og lavest i pulver C. Pulvernes konsentrasjon av total protein, total kasein og total myseprotein varierte, der pulver A hadde høyeste total protein-, kasein- og myseproteinkonsentrasjon og pulver C lavest total protein-, kasein og myseproteinkonsentrasjon.



Figur 17. Forventet- og analysert innhold (%) av totalprotein, kasein og myseprotein i proteinpulver A, C og D.

Figur 17 viser forventet og analysert innhold (%) av totalprotein, kasein og myseprotein i proteinpulver A, C og D. Analysert (**Tabell 6**) innhold av total protein i proteinpulverene var tilsvarende lik som forventet (**Tabell 2A**), hhv. 80,95 og 83,00 % i pulver A, 35,38 og 35,50 % i pulver C og 56,51 og 60,00 % i pulver D. Analysert (**Tabell 6**) innhold av kasein og myseprotein i proteinpulverene var derimot lavere enn forventet (**Tabell 2A**), med unntak av kaseininnholdet i proteinpulver D som var høyere. Analysert og forventet innhold av kasein i proteinpulverene var hhv. 58,49 og 63,91 % i pulver A, 11,90 og 24,40 % i pulver C og 31,35 og 19,20 % i pulver D. Mens analysert og forventet innholdet av myseprotein i proteinpulverene var hhv. 8,46 og 19,09 % i pulver A, 1,27 og 7,10 % i pulver C og 3,18 og 40,80 % i pulver D.

4.2.6 Kjemiske analyser

Under forsøket ble konsentrasjoner (ppm.) av organiske syrer, karbohydrater og flyktige aromastoffer i prøver undersøkt. Det ble kun tatt ut nullprøver av varmebehandlede melkeblandinger (A, C og D) fra gjentak 3 før poding. Konsentrasjoner (ppm) av kjemiske stoffer i nullprøve A, C og D fra gjentak 3 er vist i **Tabell 7**.

Ferske prøver (F) ble analysert etter lagring ved 4 °C i ca. 16 timer (40 t etter poding), og lagrede prøver (S) etter lagring ved 4 °C i 3 uker.

Resultater fra variansanalysen og Tukey testen som ble foretatt på datasettet til kjemiske analyser for faktorene: pulver, kultur og lagring er vist i hhv. **Tabell 8A - C**. Under disse testene ble det vist at det var variasjon i innhold (ppm) av ulike metabolitter mellom ulike produksjonsgjentak, innad hver prøvekombinasjon bestående av forskjellige pulvertyper og kulturer. Dette ble bekreftet med ulik størrelse på deres standardavvik. Samtlige kombinasjoner hadde også variasjon i pH mellom gjentakene under syrning, men også tid ved endt syrning. Dette så ut til å kunne forklare denne variasjonen i innhold (ppm) av ulike metabolitter mellom de ulike gjentakene.

Før syrning ble det vist at det var ingen signifikant forskjell i pH mellom de ulike gjentakene innad hver prøvekombinasjon, men under syrning og lagring var det noe variasjon i tid og pH (resultater ikke vist). Etter lagring i 18 timer var det varierende pH mellom gjentakene til AT-, CU-, CT- og DT-prøver, der pH for AT- og DT-prøver var noe lavere for gjentak 1 enn gjentak 2 og 3, mens for CU- og CT-prøver var pH noe høyere for gjentak 2 enn gjentak 1 og 3.

Ved endt syrning var det variasjon i tid, men også i pH for enkelte av prøvene. For AT-prøvene var prøver fra gjentak 1 var ferdig syrnet etter 20 t, mens gjentak 2 og 3 etter hhv. 24 og 25 t. pH ved samme tid var hhv. 4,50, 4,65 og 4,65. For DT-prøvene var prøver fra gjentak 2 var ferdig syrnet etter 22 t, mens gjentak 1 og 3 etter 24 t. pH ved samme tid var hhv. 4,67, 4,84 og 4,75. For både CU-, CT- og DU-prøver var det kun variasjon i tid mellom alle gjentakene ved endt syrning, der prøver fra gjentak 1 var syrnet ferdig 2 timer før gjentak 4, og 2 timer før gjentak 3.

Etter lagring i ca. 16 t var det kun variasjon i pH mellom gjentakene for AT- og DT-prøver, der pH i prøver fra gjentak 1 var betydelig lavere enn gjentak 2 og 3. Lagring i 3 uker førte ikke til noe variasjon i pH mellom gjentakene til hver enkelt prøvekombinasjon.

Tabell 7. Konsentrasjoner (ppm) av kjemiske stoffer i nullprøve A, C og D (dvs. melkeblandinger etter varmebehandling, men før poding) fra produksjonsgjentak 3.

Prøve	Konsentrasjon (ppm) av kjemiske stoffer									
	Sitronsyre	Melkesyre	Eddiksyre	Laktose	Glukose	Galaktose	Acetaldehyd	Etanol	Diacetyl	Acetoin
Nullprøve A	2339	n.d.	61	47556	198	94	0,13	0,99	0,08	n.d.
Nullprøve C	3772	n.d.	180	111667	471	162	0,14	1,07	0,03	n.d.
Nullprøve D	2979	217	106	63881	2457	1363	0,19	1,16	0,04	n.d.

A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3. n.d.: ikke detektert.

Konsentrasjoner (ppm) av forskjellige kjemiske stoffer i nullprøver (A, C og D) ble kun målt i nullprøver fra gjentak 3 (**Tabell 7**). Det ble derfor ikke utført variansanalyse på datasettet, da det må være minst to repetisjoner for å utføre en slik test. Dette datasettet vil derfor kun bli brukt som en "pekepinn" for gjennomsnittlig konsentrasjon av kjemiske stoffer i nullprøver fra gjentak 1, 2 og 3, siden det kan forekomme variasjoner mellom gjentakene. Nullprøvene representerer forskjeller i konsentrasjon av kjemiske stoffer i prøver ved bruk av forskjellige pulvertyper (A, C og D) før prøvene podes med enten Tjukkmjølk eller CHN-11 kultur. Som det blir vist er det mange forskjeller i konsentrasjon av kjemiske stoffer i nullprøvene ved bruk av forskjellige pulvertyper (A, C og D). De kjemiske stoffene som var forskjellig var konsentrasjon av sitronsyre, eddiksyre, laktose, glukose og galaktose. Konsentrasjonen av sitronsyre, eddiksyre og laktose var betydelig høyere i nullprøve C, mens konsentrasjonen av glukose og galaktose var betydelig høyere i nullprøve D.

Tabell 8A. Analyse av kjemisk data for pulverene A, C og D, analysert med ANOVA og Tukey test.

Kjemiske stoffer	Gjennomsnittlig konsentrasjon (ppm)			Tukey test		
	Pulver			Pulver		
	A	C	D	C-A	D-A	D-C
Acetaldehyd	0,47	0,48	0,74	A = C = D		
Acetoin	16	802	375	C > A	A = D	C = D
Diacetyl	2,37	4,36	3,14	C > A	A = D	C = D
Eddiksyre	1244	2201	1272	C > A	A = D	C > D
Etanol	296	115	58	A > C, D		C = D
Galaktose	1336	788	1695	A = C	A = D	D > C
Glukose	28	137	43	C > A	A = D	C > D
Laktose	33574	108242	55572	C > D > A		
Melkesyre	13663	16724	14155	C > A	A = D	C > D
Sitronsyre	165	628	721	A = C	D > A	C = D

Tabellen viser gjennomsnittlig konsentrasjon (ppm) av kjemiske stoffer ved bruk av forskjellig pulver. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i konsentrasjon av kjemiske stoffer mellom pulverene C og A, pulverene D og A og pulverene D og C. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver og D: melkeblending D med pulver type 3.

Tabell 8B. Analyse av kjemisk data for kulturene T og U, analysert med ANOVA og Tukey test.

Kjemiske stoffer	Gjennomsnittlig konsentrasjon (ppm)		Tukey test	
	Kultur		Kultur	
	T	U	T	U
Acetaldehyd	0,35	0,77	T < U	
Acetoin	85	663	T < U	
Diacetyl	4,50	2,16	T > U	
Eddiksyre	1560	1549	T = U	
Etanol	242	67	T > U	
Galaktose	1498	1047	T > U	
Glukose	72	79	T = U	
Laktose	64118	59619	T = U	
Melkesyre	14146	15478	T = U	
Sitronsyre	771	223	T > U	

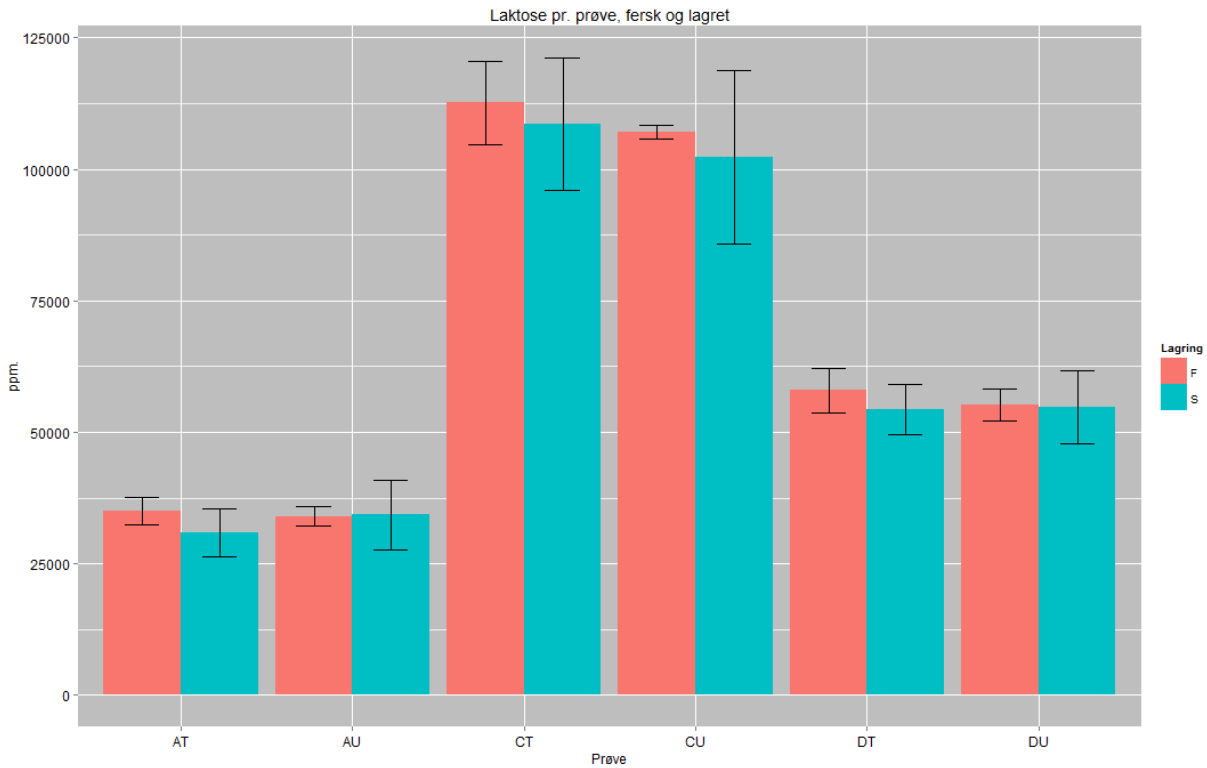
Tabellen viser gjennomsnittlig konsentrasjon (ppm) av kjemiske stoffer ved bruk av forskjellig kulturer. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i konsentrasjon av kjemiske stoffer mellom kulturene T og U. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. T: prøver podet med Tjukkmjølke og U: prøver podet med CHN-11.

Tabell 8C. Analyse av kjemisk data for ferske og lagrede prøver, analysert med ANOVA og Tukey test.

Kjemiske stoffer	Gjennomsnittlig konsentrasjon (ppm)		Tukey test	
	Lagring		Lagring	
	F	S	F	S
Acetaldehyd	0,58	0,55	F = S	
Acetoin	492	269	F = S	
Diacetyl	3,33	3,19	F = S	
Eddiksyre	1408	1692	F = S	
Etanol	111	200	F = S	
Galaktose	859	1686	F < S	
Glukose	82	69	F = S	
Laktose	64631	59074	F = S	
Melkesyre	13316	16189	F < S	
Sitronsyre	648	363	F = S	

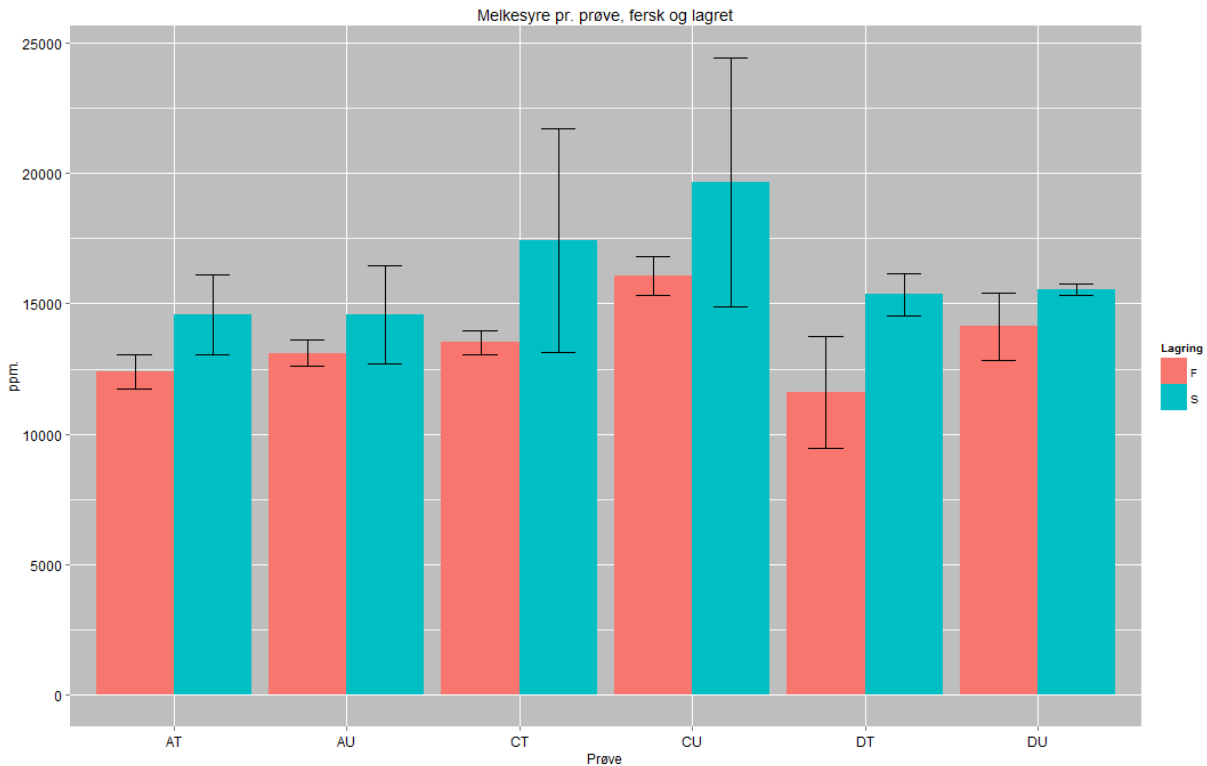
Tabellen viser gjennomsnittlig konsentrasjon (ppm) av kjemiske stoffer for ferske og lagrede prøver. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i konsentrasjon av kjemiske stoffer mellom ferske og lagrede prøver. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. F: fersk og S: lagret.

Det var mange signifikante forskjeller i konsentrasjon av kjemiske stoffer med hensyn på pulvertype (**Tabell 8A**). De variablene som viste signifikante forskjeller var konsentrasjonen av acetoin, eddiksyre, etanol, galaktose, glukose, laktose, melkesyre og sitronsyre. Mens konsentrasjoner av diacetyl viste signifikante forskjeller mellom prøver laget med ulike pulvertyper analysert med Tukey testen ($p = 0,059$), men ikke med ANOVA ($p = 0,048$). Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere konsentrasjon av acetoin og diacetyl enn prøver laget med pulver A. For konsentrasjoner av eddisyre, glukose, laktose og melkesyre inneholdt prøver laget med pulver C signifikant høyere konsentrasjon enn prøver laget med pulver A og D, der A-prøver hadde signifikant lavest laktosekonsentrasjon. Prøver laget med pulver A inneholdt signifikant høyere konsentrasjon av etanol enn prøver laget med pulver C og D. Mens prøver laget med pulver D inneholdt signifikant høyere konsentrasjon av hhv. galaktose enn C-prøver og av sitronsyre enn A-prøver. For prøver fermentert med ulike kulturer (**Tabell 8B**) var det signifikant forskjell mellom prøver fermentert med Tjukkmjølke (T) og CHN-11 (U) for konsentrasjoner av acetaldehyd, acetoin, diacetyl, etanol, galaktose og sitronsyre. Prøver fermentert med Tjukkmjølke inneholdt signifikant høyere konsentrasjon av diacetyl, etanol, galaktose og sitronsyre, og signifikant lavere konsentrasjoner av acetaldehyd og acetoin enn CHN-11 prøver. Lagring av prøver (**Tabell 8C**) viste kun signifikante forskjeller i konsentrasjon av galaktose og melkesyre mellom ferske og lagrede prøver, der lagrede prøver hadde høyest konsentrasjon.



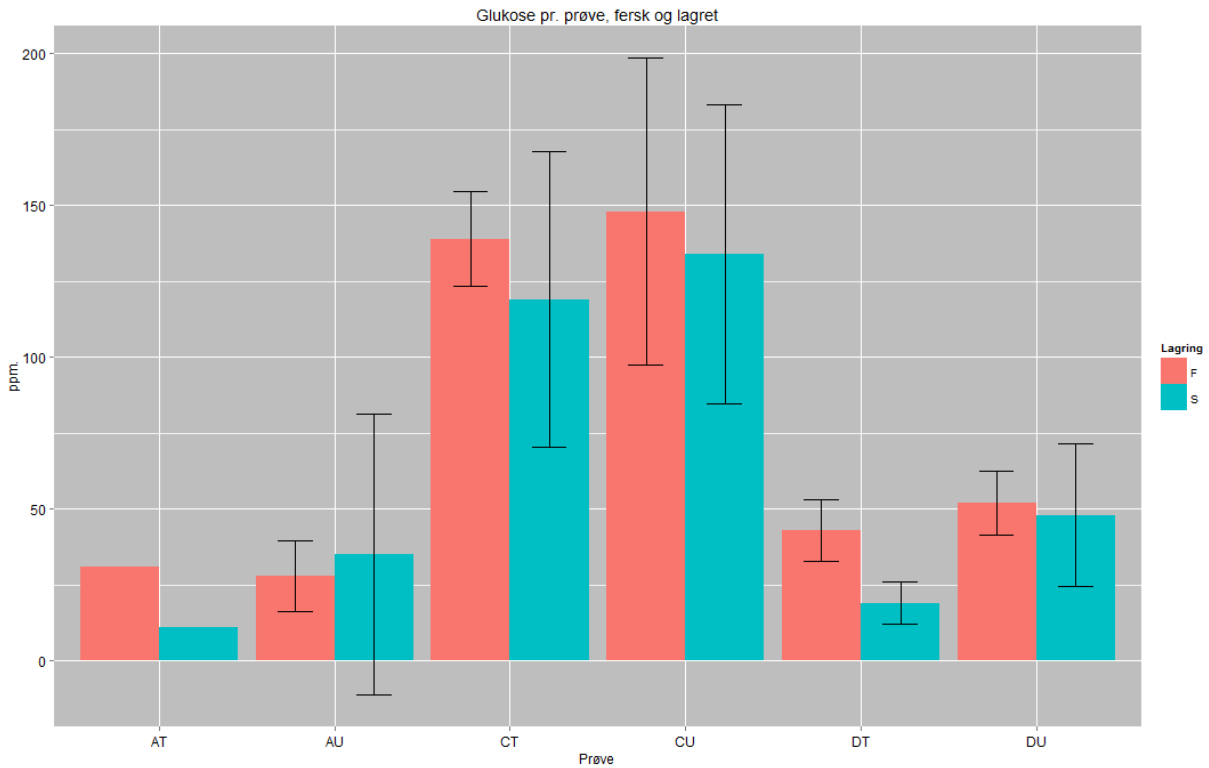
Figur 18. Konsentrasjon (ppm.) av laktose i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen for hver prøve. A: melkeblanding A med pulver type 1, C: melkeblanding C med skummetmelkpulver, D: melkeblanding D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 18 viser konsentrasjonen av laktose i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere laktosekonsentrasjon enn prøver laget med pulver A og D, der konsentrasjonen av laktose var lavest for A-prøver. Kultur og lagring hadde ingen effekt på laktosekonsentrasjonen. Før syring (nullprøver, **Tabell 7**) var laktosekonsentrasjonen på 47555, 111667 og 63880 ppm for hhv. prøver laget med pulver A, C og D, mens etter syring ble laktosekonsentrasjonen redusert til hhv. 34516, 110440 og 56574 ppm. Laktosekonsentrasjonen til nullprøve C og prøver laget med pulver C er ikke reelle på grunn av at disse prøvene ble analysert med en ufortynnet prøve, som vil si at laktosekonsentrasjonen var da såpass høy at dette ikke er nøyaktige resultater.



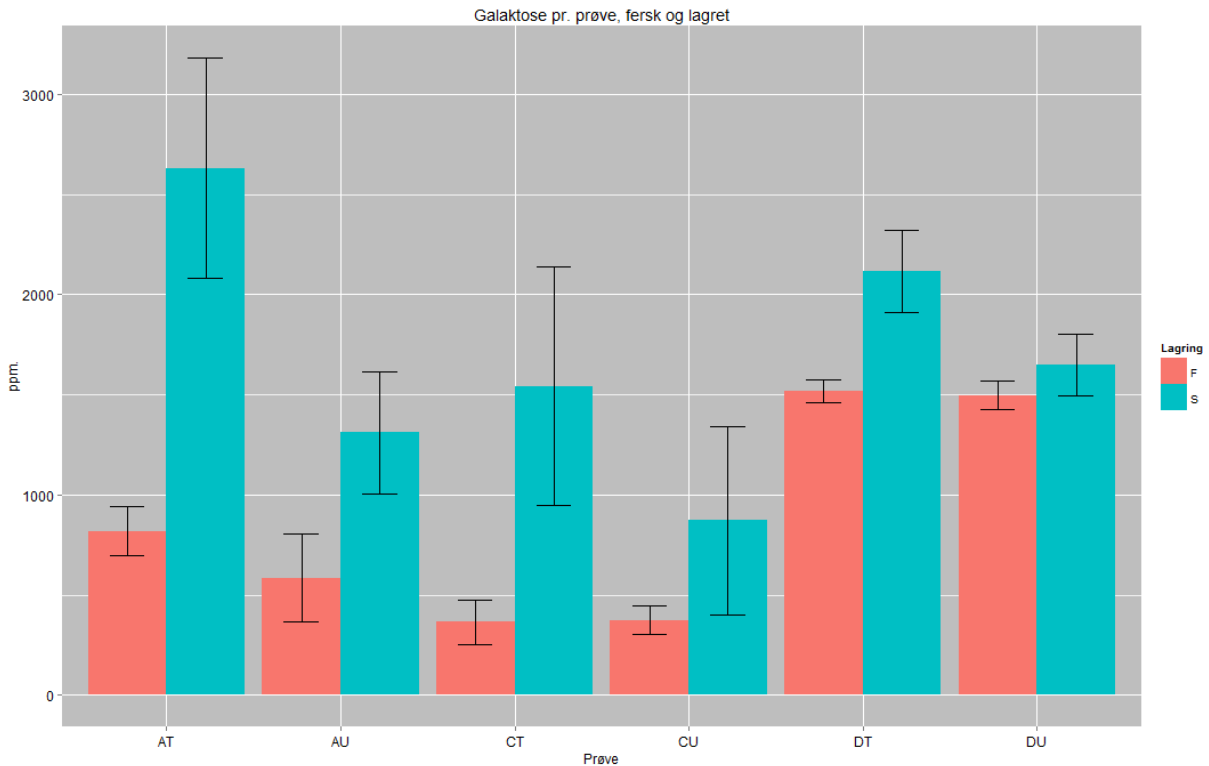
Figur 19. Konsentrasjon (ppm.) av melkesyre i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 19 viser konsentrasjonen av melkesyre i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere melkesyre konsentrasjon enn prøver laget med pulver A og D. Lagring av prøver viste økende melkesyreproduksjon for alle kombinasjoner. Kultur hadde ingen effekt på melkesyre konsentrasjonen. Før syring (nullprøver, **Tabell 7**) var det ikke funnet melkesyre i prøver laget med pulver A og C (n.d.), mens i prøver laget med pulver D var det funnet 217 ppm melkesyre. Etter syring økte melkesyre konsentrasjonen i disse prøvene til hhv. 12755, 14536 og 12860 ppm. Standardavvikene til lagrede CT- og CU-prøver var høye, noe som kommer av at gjentak 3 hadde noe lavere melkesyre konsentrasjon (hhv. 15066 og 17469 ppm) enn gjentak 1 (hhv. 19227 og 22197 ppm) og 2 (hhv. 18046 og 19276 ppm) for disse prøvene.



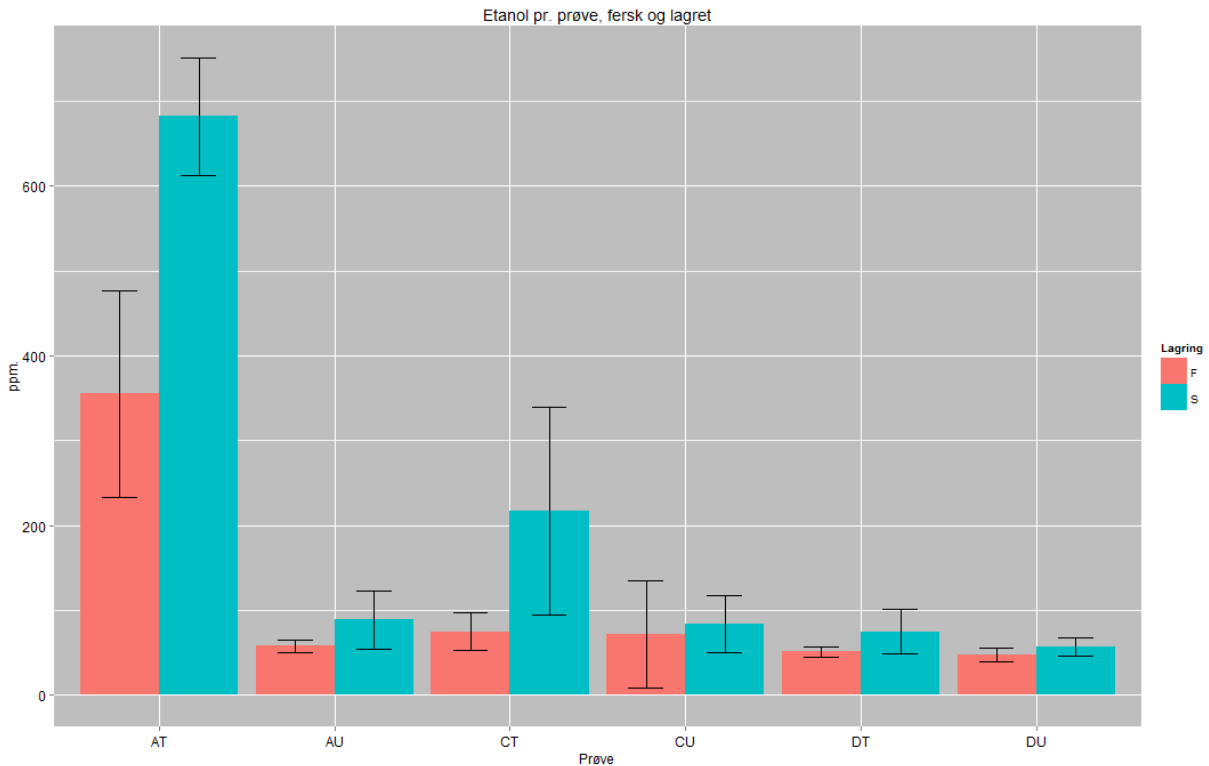
Figur 20. Konsentrasjon (ppm.) av glukose i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en lodrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 20 viser konsentrasjonen av glukose i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere glukosekonsentrasjon enn prøver laget med pulver A og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på glukosekonsentrasjonen. Før syrning (nullprøver, **Tabell 7**) var glukosekonsentrasjonen på 198, 471 og 2457 ppm for hhv. prøver laget med pulver A, C og D, mens etter syrning ble glukosekonsentrasjon redusert til hhv. 29, 144 og 48 ppm. De store standardavvikene hos ferske CU-prøver og lagrede AU-, CT-, CU- og DU-prøver kommer av variasjon i konsentrasjon av glukose mellom gjentakene. For de lagrede prøvene gjaldt dette for gjentak 1, der konsentrasjonen var noe høyere enn hos gjentak 2 og 3, mens for de ferske prøvene var det varierende konsentrasjon mellom alle gjentakene. Men generelt var denne variasjonen svært liten mellom alle gjentakene for alle prøvekombinasjoner.



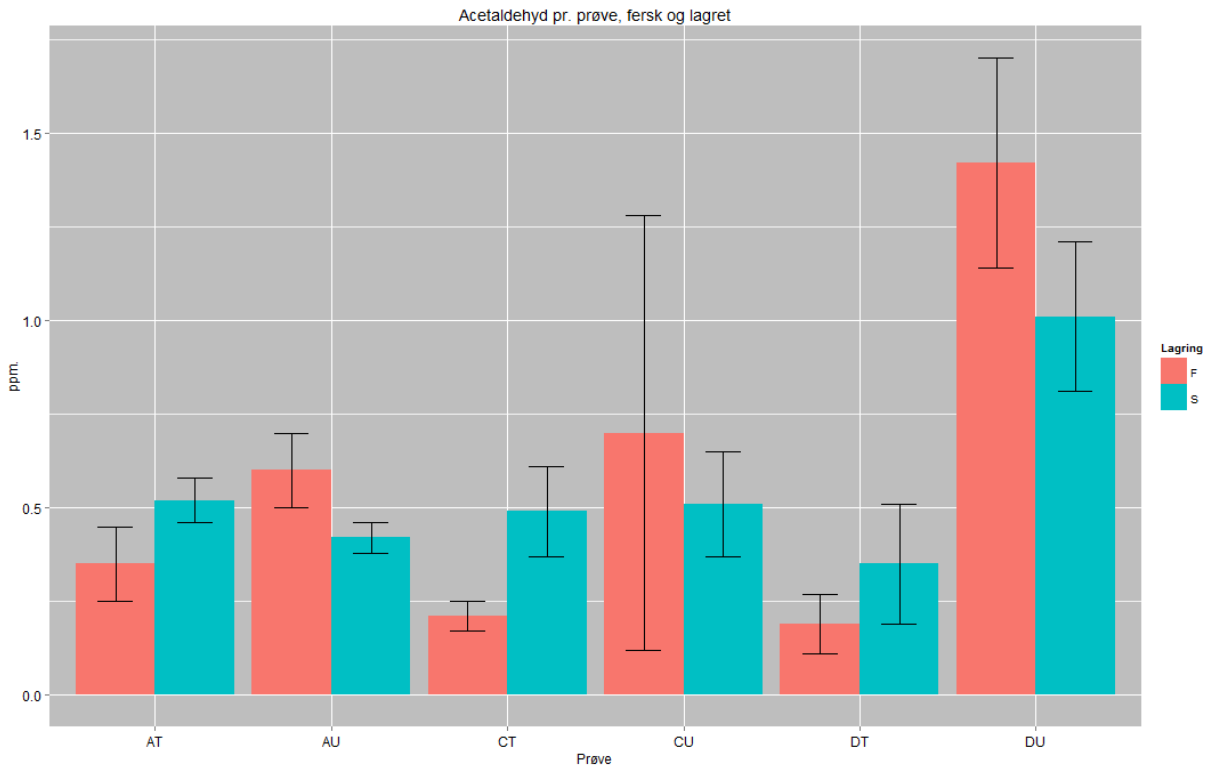
Figur 21. Konsentrasjon (ppm.) av galaktose i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 21 viser konsentrasjonen av galaktose i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver D inneholdt signifikant høyere galaktosekonsentrasjon enn prøver laget med pulver C. Prøver fermentert med Tjukkmjølk inneholdt signifikant høyere galaktosekonsentrasjon enn CHN-11 prøver. Lagring av prøver viste økende galaktoseproduksjon i alle kombinasjoner. Før syring (nullprøver, **Tabell 7**) var galaktosekonsentrasjonen på 94, 162 og 1363 ppm for hhv. prøver laget med pulver A, C og D, mens etter syring økte galaktosekonsentrasjon til hhv. 701, 370 og 1507 ppm. De store standardavvikene hos ferske AU-prøver og lagrede AT-, AU-, CT-, og CU-prøver kommer av noe variasjon i konsentrasjon av galaktose mellom gjentakene. For lagrede AT- og AU-prøver gjald dette for gjentak 1, og for lagrede CU-prøver for gjentak 3, mens for ferske AU-prøver og lagrede CT-prøver var det varierende konsentrasjon mellom alle gjentakene. Men generelt var denne variasjonen svært liten mellom alle gjentakene hos alle prøvekombinasjonene.



Figur 22. Konsentrasjon (ppm.) av etanol i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en lodrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

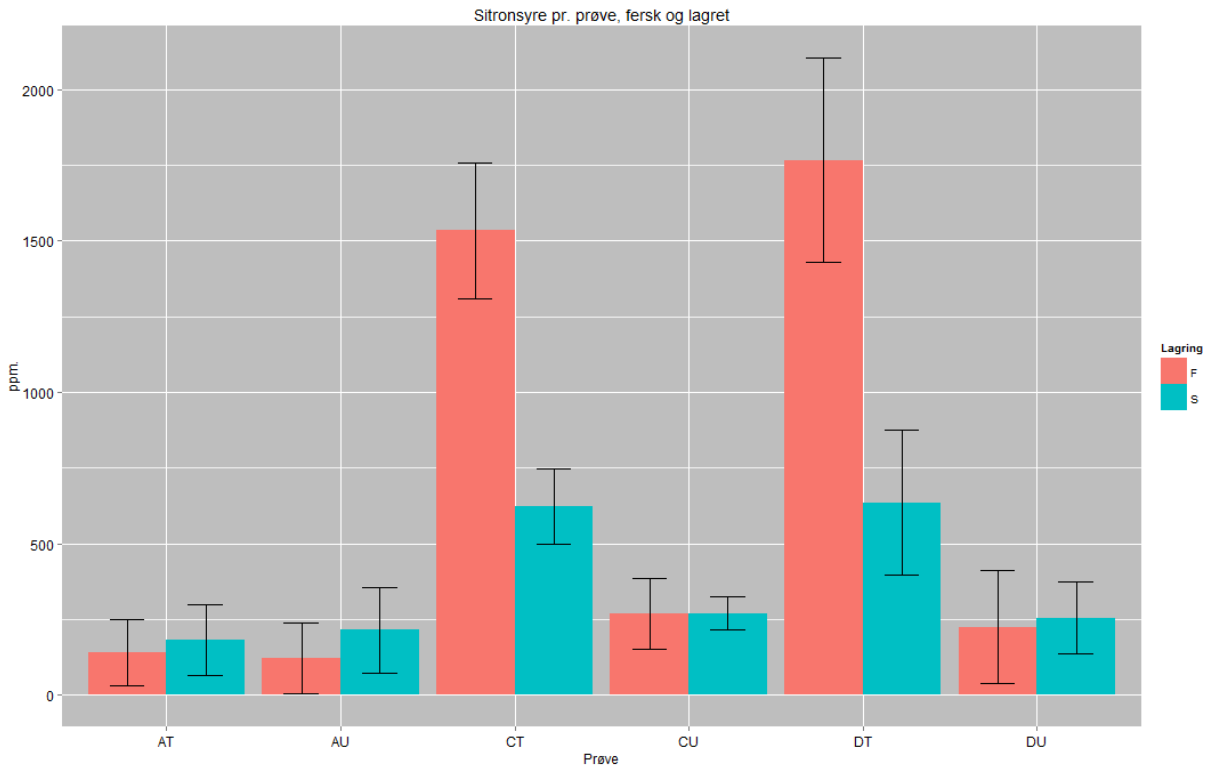
Figur 22 viser konsentrasjonen av etanol i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver A inneholdt signifikant høyere etanolkonsentrasjon enn prøver laget med pulver C og D, men dette ser man at er kun på grunn av den høye etanolkonsentrasjonen i AT-prøvene, hvorav AU-, CU- og DU-prøver er veldig like. Samtidig hadde prøver fermentert med Tjukkmjølk signifikant høyere etanolkonsentrasjon enn CHN-11 prøver. Det ble vist at lagring av prøver hadde ingen effekt på etanolkonsentrasjonen, men dette ser man er kun på grunn av overlappende standardavvik for alle ferske og lagrede prøvekombinasjoner, med unntak for AT-prøver som viste tydelig forskjell mellom ferske og lagrede prøver for konsentrasjon av etanol, hvor konsentrasjonen økte under lagring.



Figur 23. Konsentrasjon (ppm.) av acetaldehyd i ferske og lagrede prøver 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølkk, F: fersk, og S: lagret.

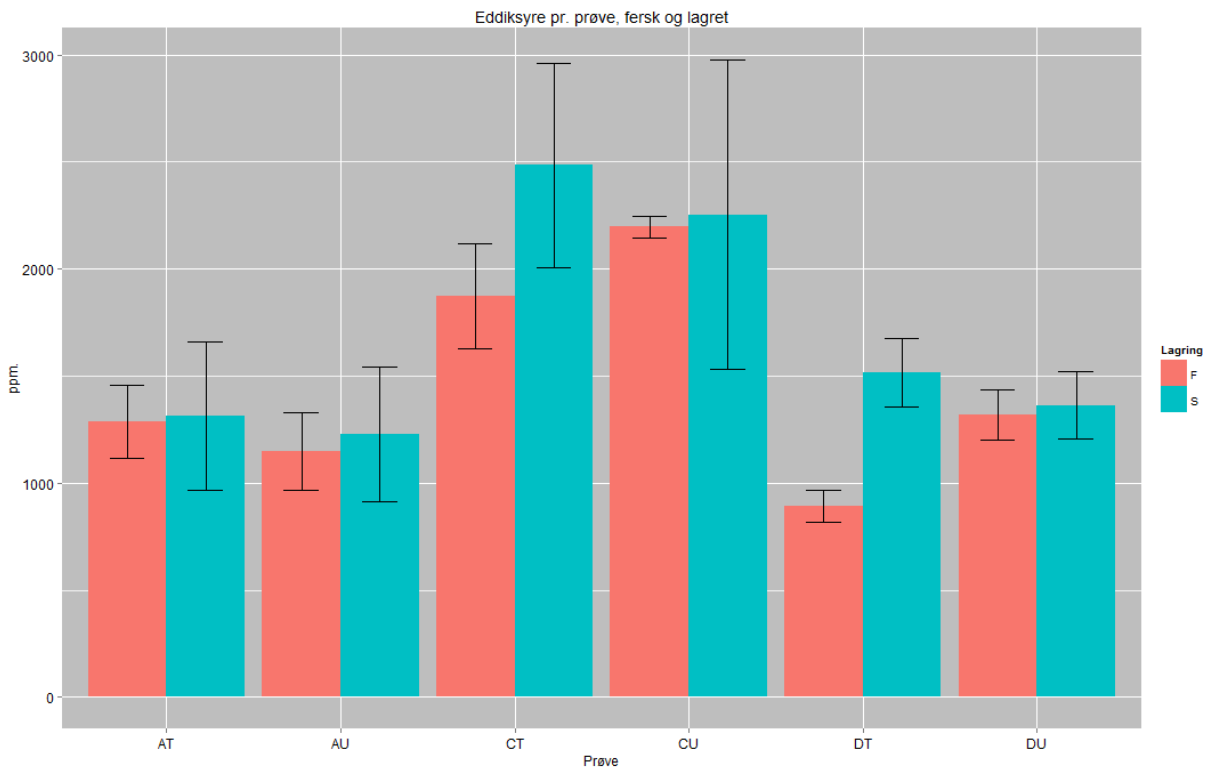
Figur 23 viser konsentrasjonen av acetaldehyd i ferske og lagrede prøver. Prøver fermentert med CHN-11 inneholdt signifikant høyere acetaldehydkonsentrasjon enn Tjukkmjølkk prøver.

Pulvertypen og lagring hadde ingen effekt på acetaldehydkonsentrasjonen. Det blir også vist en trend for at konsentrasjonen av acetaldehyd øker under lagring for kombinasjoner fermentert med Tjukkmjølkk (AT, CT, DT), mens den synker under lagring for kombinasjoner fermentert med CHN-11 (AU, CU, DU). I tillegg ser man at konsentrasjonen av acetaldehyd var betydelig høyere for DU-prøver enn de andre prøvekombinasjonene, og at konsentrasjoner av acetaldehyd for alle prøvekombinasjoner var generelt veldig små. De store standardavvikene hos ferske CU- og DU-prøver og lagrede DU-prøver kommer av noe variasjon i konsentrasjon av acetaldehyd mellom gjentakene. For de ferske prøvene gjaldt dette for gjentak 2, og for de lagrede prøver for gjentak 1.



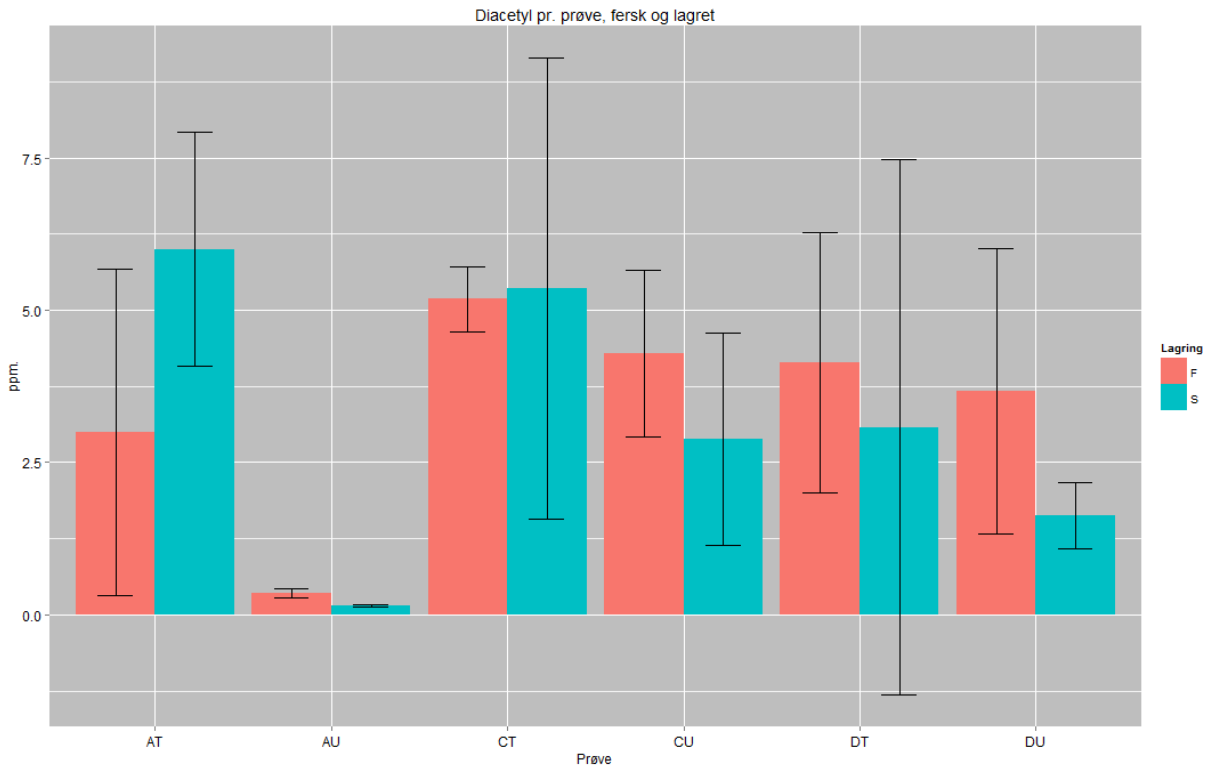
Figur 24. Konsentrasjon (ppm.) av sitronsyre i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølkk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 24 viser konsentrasjonen av sitronsyre i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver D inneholdt signifikant høyere sitronsyrekonsentrasjon enn prøver laget med pulver A. Prøver fermentert med Tjukkmjølkk inneholdt signifikant høyere sitronsyrekonsentrasjon enn CHN-11 prøver. Lagring hadde ingen effekt på sitronsyrekonsentrasjonen. Det var veldig ulike startkonsentrasjoner av sitronsyre før syrning (**Tabell 7**), hhv. på 2339, 3772 og 2979 ppm for prøver tilsatt pulver A, C og D. Ved endt syrning var det fremdeles mye sitronsyre igjen i CT- og DT-prøver, der konsentrasjonen ble ytterligere redusert under lagring. De andre prøvekombinasjonene hadde så å si ikke noe sitronsyre igjen ved endt syrning. pH til prøvene ved endt syrning var svært lik mellom prøver laget med samme pulvertypen, hhv. pH 4.56, 4.55, 5.14, 4.96, 4.68 og 4.66 for AT-, AU-, CT-, CU-, DT- og DU-prøver, der pH var signifikant høyest for C-prøver. Standardavvikene til CT- og DT-prøver var høye, og kan forklares av at disse hadde noe variasjon i sitronsyrekonsentrasjon mellom de ulike gjentakene.



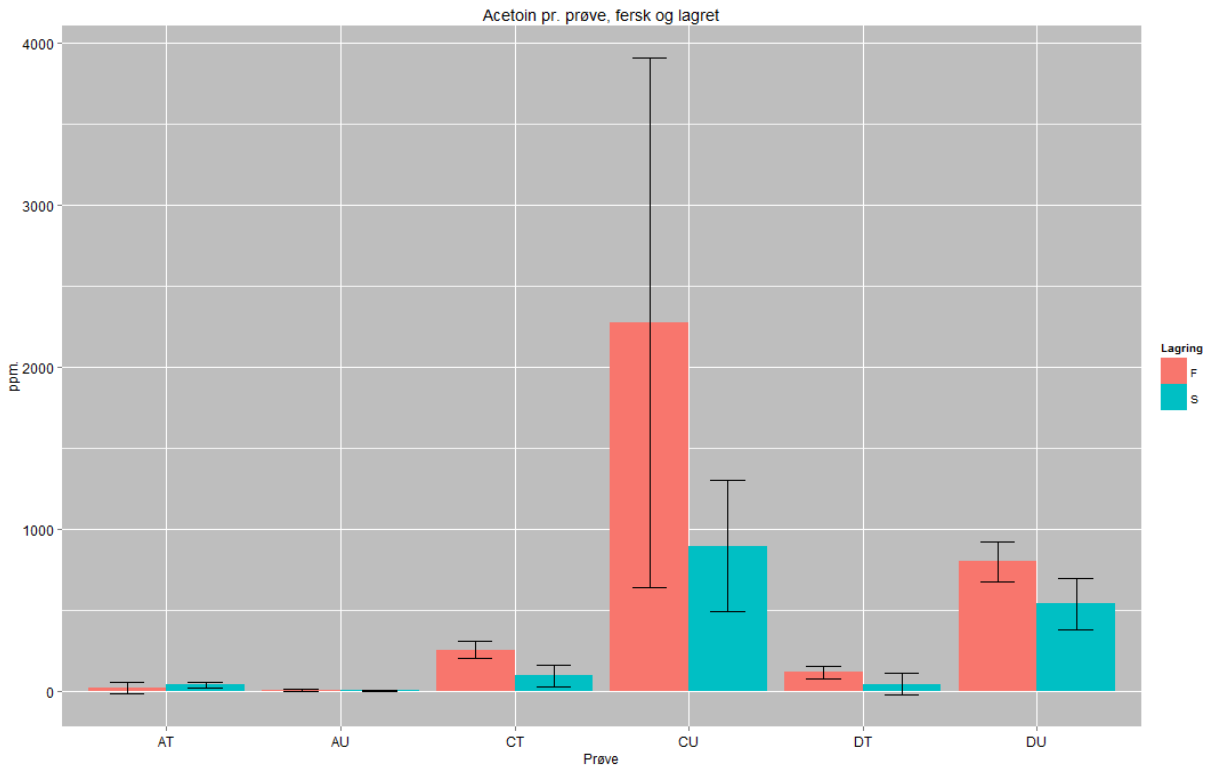
Figur 25. Konsentrasjon (ppm.) av eddiksyre i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 25 viser konsentrasjonen av eddiksyre i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere eddiksyrekonsentrasjon enn prøver laget med pulver A og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på eddiksyrekonsentrasjonen. Det blir også vist en økning i eddiksyrekonsentrasjon for CT- og DT-prøver under lagring, mens de andre forholdt seg tilnærmet stabil. Økning i eddiksyrekonsentrasjon i CT- og DT-prøver under lagring speiler at sitronsyre ikke var helt borte under fermenteringen, og at Tjukkmjølk fortsatt har sitratmetabolisme etter endt syrning. Før syrning (nullprøver, **Tabell 7**) var eddiksyrekonsentrasjonen på 61, 180 og 106 ppm for hhv. prøver laget med pulver A, C og D, mens etter syrning økte eddiksyrekonsentrasjon til hhv. 1218, 2001 og 1105 ppm. Store standardavvik hos lagrede AT-, AU-, CT- og CU-prøver kommer av noe variasjon i konsentrasjon av eddiksyre mellom gjentakene. For A-prøvene gjald dette for gjentak 1, og C-prøvene for gjentak 3.



Figur 26. Konsentrasjon (ppm.) av diacetyl i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en lodrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 26 viser konsentrasjonen av diacetyl i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere diacetylkonsentrasjon enn prøver laget med pulver A. Det blir også vist at AT-prøvene hadde betydelig høyere konsentrasjon av diacetyl enn AU-prøvene, der konsentrasjonen var svært lav. Prøver fermentert med Tjukkmjølk inneholdt signifikant høyere diacetylkonsentrasjon enn CHN-11 prøver. Lagring hadde ingen effekt på diacetylkonsentrasjonen. De store standardavviket til ferske AT-, CU-, DT- og DU-prøver og lagrede AT-, CT-, CU- og DT-prøver kommer av variasjon i konsentrasjon av diacetyl mellom en eller flere av gjentakene.



Figur 27. Konsentrasjon (ppm.) av acetoin i ferske og lagrede prøver. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en lodrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjøl, F: fersk, og S: lagret.

Figur 27 viser konsentrasjonen av acetoin i ferske og lagrede prøver. Prøver laget med pulver C inneholdt signifikant høyere acetoinkonsentrasjon enn prøver laget med pulver A. Prøver fermentert med CHN-11 inneholdt signifikant høyere acetoinkonsentrasjon enn Tjukkmjøl prøver. Lagring hadde ingen effekt på acetoinkonsentrasjonen. Standardavviket til ferske og lagrede CU-prøver er stort, og kommer av stor variasjon mellom alle gjentakene.

4.2.7 Reologiske analyser

Under forsøket ble det foretatt rotasjonsmålinger og oscillasjonsmålinger av ferske og lagrede prøver ved en temperatur på 4 °C. På grunn av mye omfattende og detaljert data fra disse analysene, måtte det bestemmes hvilken data en skulle analysere videre. Under rotasjonstesten og oscillasjonstesten av ferske og lagrede prøver ble det foretatt tre målinger bestående av 20 målepunkter ved hver av testene. Resultater fra rotasjonstesten ga en tydelig høyere viskositet for alle prøvene ved første måling (nr. 1) enn måling nr. 2 og 3, hvorav de to siste målingene (2 og 3) hadde svært lik viskositet. Den samme trenden ble også sett ved de ulike målingene fra oscillasjonstesten. For å få et sammenlignbart tallmateriale fra rotasjonstesten (intervall 1) ble det valgt å se på prøvenes viskositet (Pa*s) ved toppunktet for den siste målingen, altså måling nr. 3 i intervallet. Mens fra oscillasjonsmålingene ble det valgt å se på prøvenes tøyning (%) og skjærhastighet (Pa) ved skjæringspunktet mellom G' og G'', som representerer hhv. den elastiske og viskøse karakteren til prøven.

Resultater fra variansanalysen og Tukey testen som ble foretatt på datasettet til reologisk data for pulverene A, C og D, for kulturene T og U, og for lagring er vist i hhv. **Tabell 9A - C**.

Tabell 9A. Analyse av reologisk data for pulverene A, C og D, analysert med ANOVA og Tukey test.

	Gjennomsnittlig måleverdi			Tukey test		
	Pulver			Pulver		
Reologiske variabler	A	C	D	C-A	D-A	D-C
Viskositet (Pa*s)	85	7,9	11	A > C, D		C = D
Skjærspenning (Pa)	70	7,3	10	A > C, D		C = D
Tøyning (%)	55	76	83	A < C, D		C = D

Tabellen viser gjennomsnittlig måleverdi av reologiske variabler ved bruk av forskjellig pulver. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i måleverdi av reologiske variabler mellom pulverene C og A, pulverene D og A og pulverene D og C.

Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver og D: melkeblending D med pulver type 3.

Tabell 9B. Analyse av reologisk data for kulturene T og U, analysert med ANOVA og Tukey test.

	Gjennomsnittlig måleverdi		Tukey test	
	Kultur		Kultur	
Reologiske variabler	T	U	T	U
Viskositet (Pa*s)	36	33	T = U	
Skjærspenning (Pa)	30	26	T = U	
Tøyning (%)	87	57	T > U	

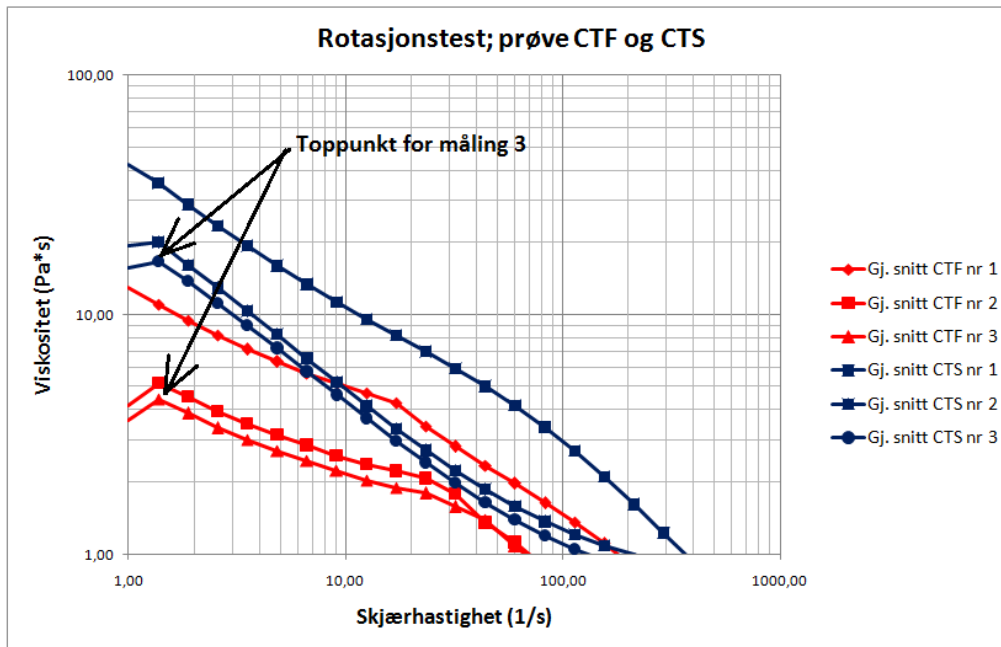
Tabellen viser gjennomsnittlig måleverdi av reologiske variabler ved bruk av forskjellig kultur. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i måleverdi av reologiske variabler mellom kulturene T og U. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. U: podet med CHN-11 kultur og T: podet med Tjukkmjolk.

Tabell 9C. Analyse av reologisk data for ferske og lagrede prøver, analysert med ANOVA.

	Gjennomsnittlig måleverdi		Tukey test	
	Lagring		Lagring	
Reologiske variabler	F	S	F	S
Viskositet (Pa*s)	31	39	F = S	
Skjærspenning (Pa)	23	33	F = S	
Tøyning (%)	71	73	F = S	

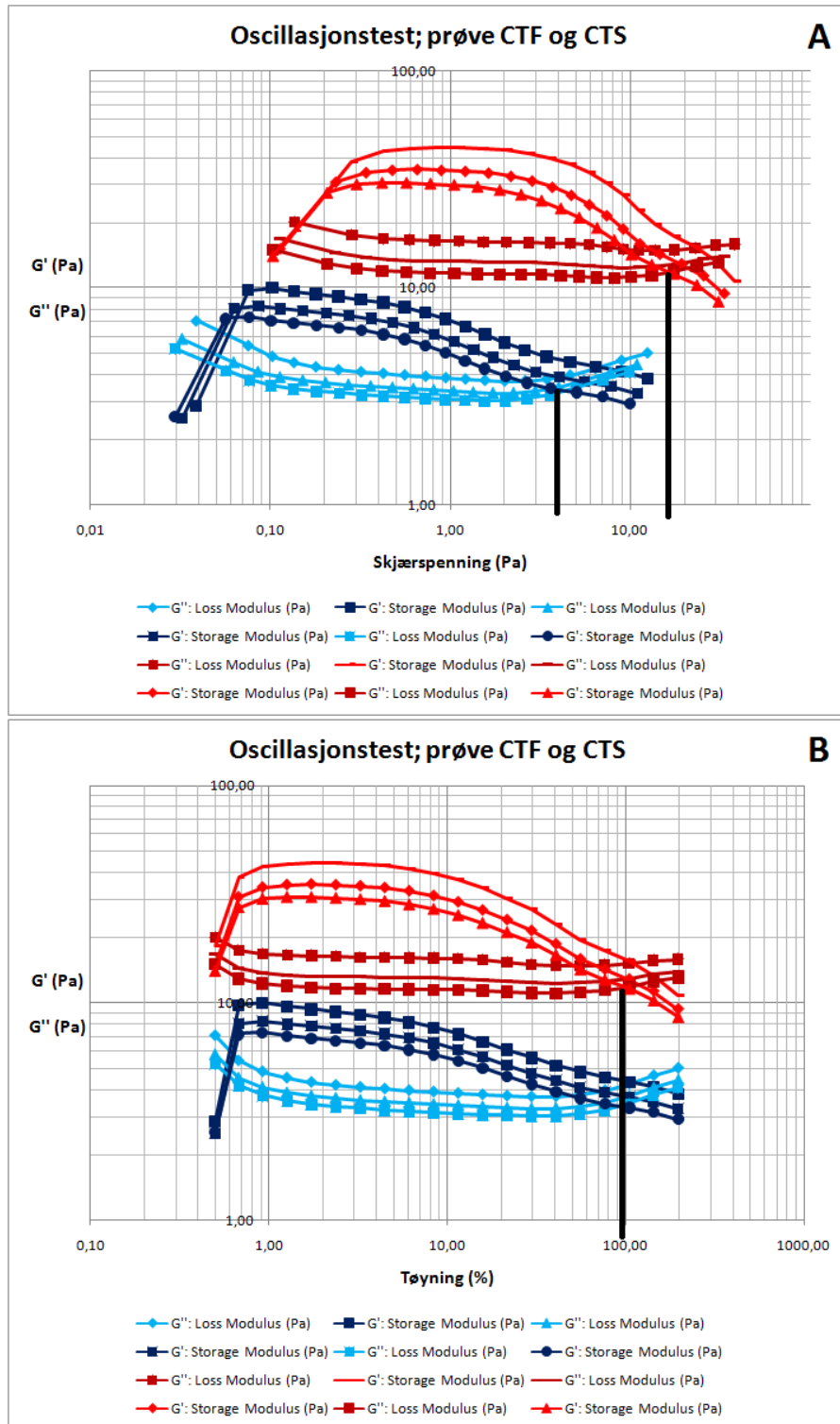
Tabellen viser gjennomsnittlig måleverdi av reologiske variabler for ferske og lagrede prøver. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i måleverdi av reologiske variabler mellom ferske og lagrede prøver. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. F: fersk, og S: lagret.

Det var signifikante forskjeller i viskositet (Pa*s), skjærspenning (Pa) og tøyning (%) med hensyn på pulvertype (**Tabell 9A**). Prøver laget med pulver A hadde signifikant høyere viskositet og skjærspenning, og signifikant lavere tøyning enn prøver med pulver C og D. Prøver fermentert med Tjukkmjolk (T) viste signifikant høyere tøyning enn CHN-11 prøver (U) (**Tabell 9B**). Lagring (**Tabell 9C**) ga ikke signifikante utslag på viskositet, skjærspenning eller tøyning.



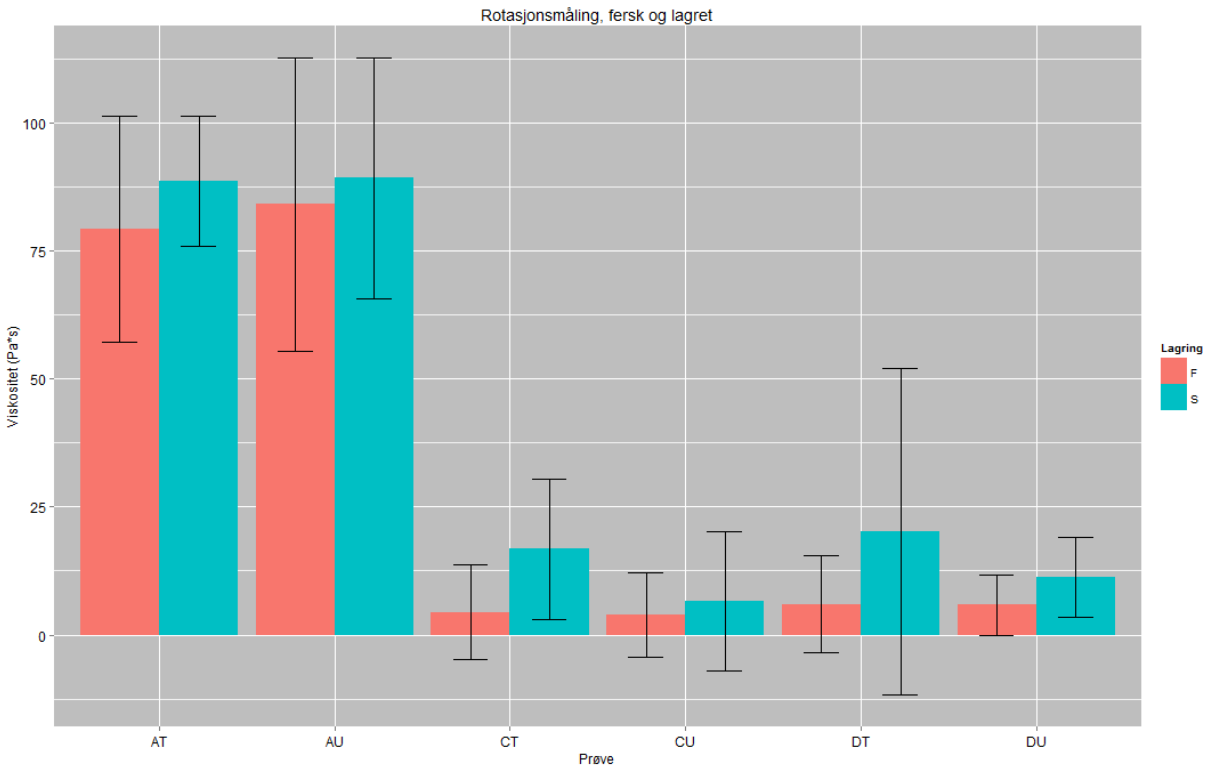
Figur 28. Rotasjonstest (intervall 1) som viser eksempel på flytkurver og et utvalgt toppunkt til ferske og lagrede C prøver podet med Tjukkmjølkk (CTF og CTS). X-aksen viser en logaritmisk økning av skjærhastigheten fra 1-400 1/s, og y-aksen angir viskositeten (Pa*s) til prøven ved en bestemt skjærhastighet. Fersk prøve er angitt med røde kurver og lagret prøve er angitt med blå kurver, hvorav det er tre kurver per prøve, angitt som hhv. måling nr. 1, 2 og 3. Det utvalgte toppunktet for måling nr. 3, for fersk og lagret prøve er angitt med en pil. C: melkeblending C med skummetmelkpulver, T: Tjukkmjølkk, F: fersk og S: lagret.

Figur 28 viser et eksempel fra rotasjonstesten (intervall 1) for det utvalgte toppunktet for måling nr. 3 og forskjellen i viskositet mellom måling nr. 1, 2 og 3 for ferske og lagrede C-prøver fermentert med Tjukkmjølkk, og at toppunktet ikke nødvendigvis er det første målepunktet i intervallet. Rotasjonstesten representerer viskositeten til prøven ved en gitt skjærhastighet (1/s). Ved økende skjærhastighet ser man at viskositeten av prøven reduseres gradvis, noe som angir at dette er en skjærtynnende prøve. Ser også at viskositeten av ferske prøver var noe lavere enn for lagrede prøver. Den samme trenden av rotasjonsmålinger som ble vist for ferske og lagrede C-prøver fermentert med Tjukkmjølkk, ble også observert for de andre ferske og lagrede prøvekombinasjonene laget med pulver A, C og D og fermentert med hhv. Tjukkmjølkk eller CHN-11 kultur (resultater ikke vist). Skjærhastigheten som påføres under tygging og svelging av teksturererte produkter ligger mellom 30-50 1/s (Duboc & Mollet 2001). Viskositeten til ferske og lagrede prøver ved en påført skjærhastighet på 30 1/s lå fra under 1 - 5 Pa*s (resultater ikke vist). A-prøvene hadde her høyest viskositet både som fersk og lagret og lå på omtrent 5 Pa*s, mens viskositeten til ferske C- og D-prøver lå på ca. 1 Pa*s og lagrede C- og D-prøver på ca. 2 Pa*s.



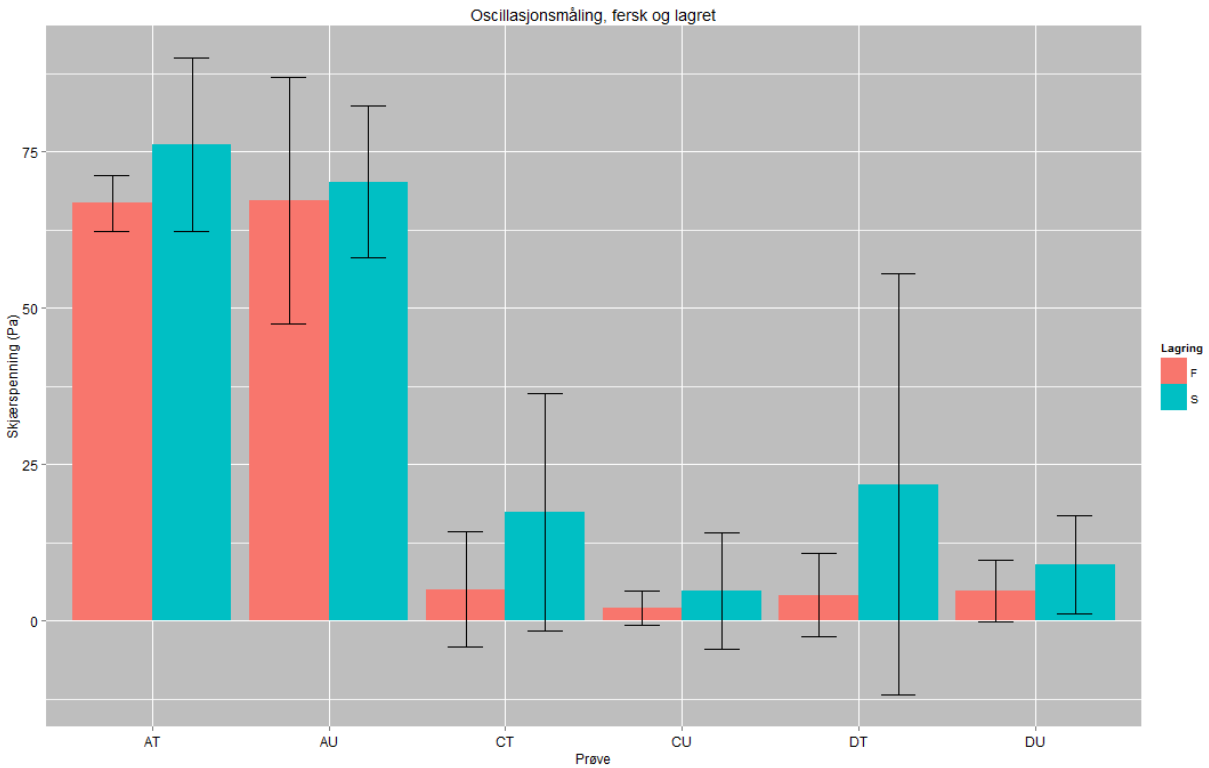
Figur 29 A-B. Oscillasjonstest (intervall 2) som viser eksempel på verdier av skjærspenning (Pa) og tøyning (%) ved skjæringspunktet mellom G' (lagringsmodulen, Pa) og G'' (tapsmodulen, Pa) i måling nr. 3 for hhv. ferske og lagrede C prøver med Tjukkmjølk. Det utvalgte skjæringspunktet er angitt med en loddrett strek. X-aksen i figuren til venstre angir verdier (Pa) av skjærspenning ved skjæringspunktet, mens x-aksen i figuren til høyre angir verdier (%) av tøyning ved skjæringspunktet. Ferske prøver er merket rød og lagrede prøver blå. C: melkeblending C med skummetmelkpulver, T: Tjukkmjølk, F: fersk og S; lagret.

Figur 29 viser et eksempel fra oscillasjonstesten (intervall 2) for skjæringspunkt mellom G' (lagringsmodul) og G'' (tapsmodul) for måling nr. 3 og verdier av skjærspenning og tøyning ved dette punktet for ferske og lagrede C-prøver podet med Tjukkmjølkk. Oscillasjonstesten representerer prøvens elastisitet (tøyning) ved en gitt skjærspenning. Tøyning og skjærspenning er korresponderende, som vil si at ved økende skjærspenning vil tøyningen av prøven øke til en hvis grad. Den lodrette streken angir skjæringspunktet, eller flytpunktet, der G' og G'' krysser hverandre for hhv. ferske og lagrede C-prøver fermentert med Tjukkmjølkk. Dette punktet er der prøven går over fra å være i fast form til flytende form. Skjærspenningen ved dette punktet angir hvilken skjærkraft som må til for å nå dette punktet, mens tøyningen angir hvor mye prøven kan strekkes før den går over fra fast til flytende form (Mezger 2006c). I dette eksemplet kan man også se at den viskoelastiske modulen (G' og G'') til ferske prøver var lavere enn for lagrede prøver. Den samme trenden av oscillasjonsmålinger som ble vist for ferske og lagrede C-prøver fermentert med Tjukkmjølkk, ble også observert for de andre ferske og lagrede prøvekombinasjonene laget med pulver A, C og D og fermentert med hhv. Tjukkmjølkk eller CHN-11 kultur. Det kan nevnes at det ble observert at verdi av G' og G'' var noe lavere for ferske og lagrede prøver fermentert med Tjukkmjølkk enn med CHN-11 kultur (resultater ikke vist).



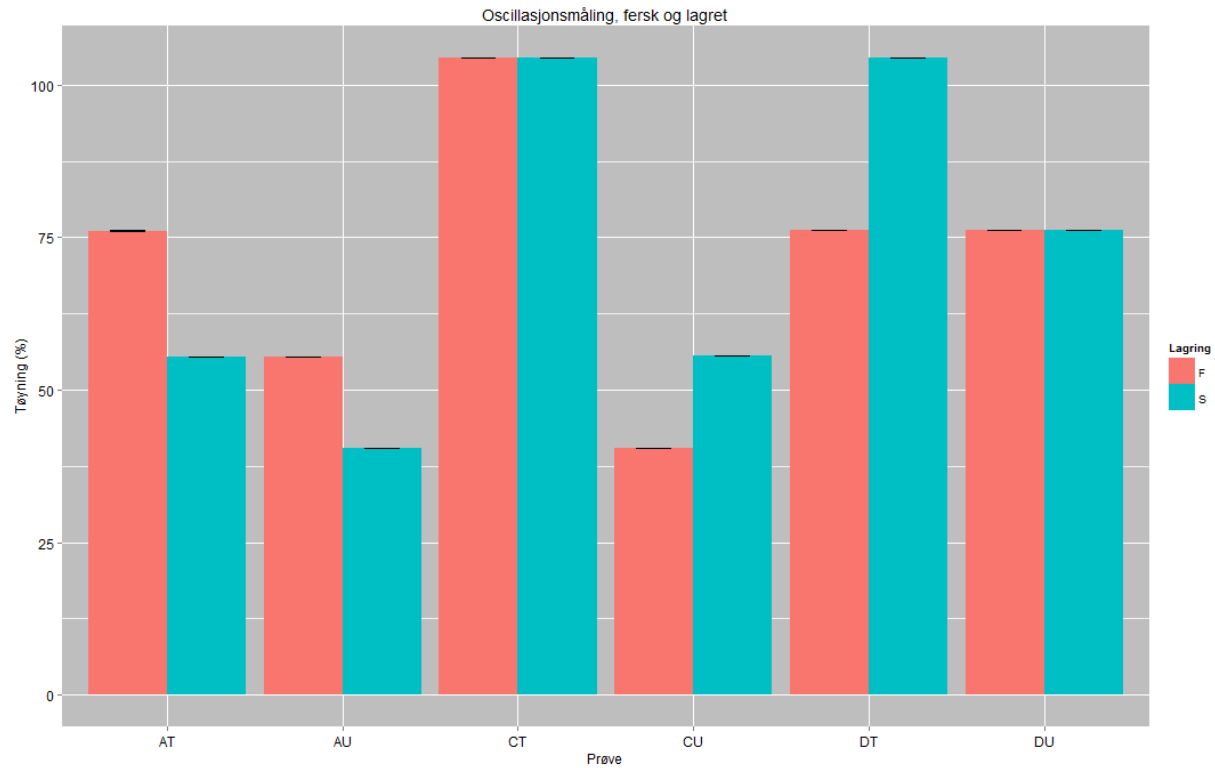
Figur 30. Rotasjonstest (intervall 1) foretatt på Physica MCR 301 reometer av ferske og lagrede prøver, som angir måleverdier av viskositet (Pa*s) til det utvalgte toppunktet til måling nr. 3, i intervallet for hver av prøvene. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjolk, F: fersk, og S: lagret.

Figur 30 viser måleverdier av viskositet ved det utvalgte toppunktet (fra måling nr. 3) til ferske og lagrede prøver fra rotasjonstesten. Prøver laget med pulver A hadde signifikant høyere viskositet enn prøver laget med pulver C og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på viskositeten. Standardavviket til alle ferske og lagrede prøvekombinasjoner var store, og kommer av variasjon i viskositet mellom hver av gjentakene til prøvene.



Figur 31. Oscillasjonsmålinger intervall 2, foretatt på Physica MCR 301 reometer av ferske og lagrede prøver, som angir måleverdier av skjærspenning (Pa) i skjæringspunktet mellom G' og G'' fra måling nr. 3 i intervallet. Ferske prøver er merket rød og lagrede prøver er merket blå. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjøl, F: fersk og S: lagret.

Figur 31 viser måleverdier av skjærspenning ved skjæringspunktet mellom G' og G'' (fra måling nr. 3) til ferske og lagrede prøver fra oscillasjonstesten. Prøver laget med pulver A hadde signifikant høyere skjærspenning enn prøver laget med pulver C og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på skjærspenning. Standardavviket til alle ferske og lagrede prøvekombinasjoner (med unntak av ferske AT-prøver) var store, og kommer av variasjon i skjærspenning mellom hver av gjentakene til prøvene.



Figur 32. Oscillasjonsmålinger (intervall 2), foretatt på Physica MCR 301 reometer av ferske og lagrede prøver, som angir måleverdier av tøyning (%) i skjæringspunktet mellom G' og G'' for måling nr. 3 i intervallet. Ferske prøver er merket rød og lagrede prøver er merket blå. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjøl, F: fersk og S: lagret.

Figur 32 viser måleverdier av tøyning ved skjæringspunktet mellom G' og G'' (fra måling nr. 3) til ferske og lagrede prøver fra oscillasjonstesten. Prøver laget med pulver A hadde signifikant lavere tøyning enn prøver laget med pulver C og D. Prøver fermentert med Tjukkmjøl hadde høyere tøyning enn CHN-11 prøver. Lagring hadde ingen effekt på tøyning.

4.2.8 Sensoriske analyser

De ferske og lagrede prøvene fra hvert av gjentakene ble vurdert både som naturell og som tilsatt Holiday dipmix, sammen med to kommersielle produkter, Lettrømme og Mager Kesam. Her ble prøvene bedømt ved bruk av en poengskala fra 1 til 7, hvor en verdi på 1 betyr ingen/lav/dårlig og en verdi på 7 betyr godt/høy score for den aktuelle egenskapen. Naturelle prøver ble bedømt ved å smake på dippen ved bruk av en teskje, og prøver tilsatt Holiday dipmix ved å dyppe chipsen (Lay's salted) godt i dippen. Prøvene ble vurdert etter viskositet, trådtrekkenhet, kremethet, fnokker, fet smak, bitter smak, besk smak, sur smak, prikkende (på tungen), tørrhet og helhetsinntrykk.

Resultater fra variansanalysen og Tukey testen som ble foretatt på datasettet til sensorisk analyse for faktorene: pulver, kultur, fersk/lagret, naturell/smaksatt, for kommersielle- og proteinanrikede prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak er vist i hhv. **Tabell 10A - F**. Som disse testene viste og som **Figur 33 - 43** viser, hadde alle ferske og lagrede prøvekombinasjoner som både naturell og tilsatt Holiday dipmix generelt store standardavvik for alle sensoriske egenskaper. Dette kommer av bedømmelse av produkter med noe ukjente egenskaper av et dommerpanel som var delvis utrenet. Dette førte dermed til variasjon i bedømmelse av sensoriske egenskaper.

Tabell 10A. Analyse av sensorisk data for pulverene A, C og D, analysert med ANOVA og Tukey test.

Sensoriske variabler	Gjennomsnittlig poengsum			Tukey test		
	Pulver			Pulver		
	A	C	D	C-A	D-A	D-C
Besk smak	2,95	2,40	2,32	A > C, D		C = D
Bitter smak	2,49	1,97	2,13	A > C, D		C = D
Fet smak	2,42	2,72	2,63	A = C = D		
Fnokker	5,17	2,27	2,75	A > D > C		
Helhetsinntrykk	2,54	3,41	3,40	A < C, D		C = D
Kremethet	3,67	3,64	3,57	A = C = D		
Prikkende (på tungen)	2,23	2,14	2,16	A = C = D		
Sur smak	4,02	2,98	3,23	A > C, D		C = D
Trådtrekkende	1,81	3,22	3,10	A < C, D		C = D
Tørrhet	3,67	2,46	3,20	A > D > C		
Viskositet	6,32	3,99	4,10	A > C, D		C = D

Tabellen viser gjennomsnittlig poengverdi av sensoriske variabler ved bruk av forskjellig pulver. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i poengverdi av sensoriske variabler mellom pulverene C-A, pulverene D-A og pulverene D-C. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver og D: melkeblending D med pulver type 3. Poengskala: 1-7.

Tabell 10B. Analyse av sensorisk data for kulturene T og U, analysert med ANOVA og Tukey test.

Sensoriske variabler	Gjennomsnittlig poengsum		Tukey test	
	Kultur		Kultur	
	T	U	T	U
Besk smak	2,68	2,44	T = U	
Bitter smak	2,29	2,10	T = U	
Fet smak	2,89	2,26	T > U	
Fnokker	3,06	3,79	T < U	
Helhetsinntrykk	3,48	2,70	T > U	
Kremethet	4,37	2,85	T > U	
Prikkende (på tungen)	2,30	2,04	T > U	
Sur smak	3,54	3,29	T = U	
Trådtrekkende	3,49	1,86	T > U	
Tørrhet	3,14	3,07	T = U	
Viskositet	5,22	4,41	T > U	

Tabellen viser gjennomsnittlig poengverdi av sensoriske variabler ved bruk av forskjellig kultur. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i poengverdi av sensoriske variabler mellom kulturene T og U. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. U: CHN-11 kultur og T: Tjukkmjølk. Poengskala: 1-7.

Tabell 10C. Analyse av sensorisk data for ferske og lagrede prøver, analysert med ANOVA og Tukey test.

Sensoriske variabler	Gjennomsnittlig poengsum		Tukey test	
	Lagring		Lagring	
	F	S	F	S
Besk smak	2,69	2,43	F > S	
Bitter smak	2,29	2,11	F = S	
Fet smak	2,77	2,39	F > S	
Fnokker	3,14	3,71	F < S	
Helhetsinntrykk	3,16	3,04	F = S	
Kremethet	3,59	3,67	F = S	
Prikkende (på tungen)	2,01	2,35	F < S	
Sur smak	3,29	3,55	F < S	
Trådtrekkende	2,79	2,61	F = S	
Tørrhet	3,02	3,19	F = S	
Viskositet	4,71	4,95	F = S	

Tabellen viser gjennomsnittlig poengverdi av sensoriske variabler som fersk og lagret. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i poengverdi av sensoriske variabler mellom ferske og lagrede prøver. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. F: fersk og S: lagret. Poengskala: 1-7.

Tabell 10D. Analyse av sensorisk data for naturlige prøver og prøver tilsatt Holiday dipmix, analysert med ANOVA og Tukey test.

	Gjennomsnittlig poengsum		Tukey test	
	Smak		Smak	
Sensoriske variabler	N	H	N	H
Besk smak	2,91	2,18	N > H	
Bitter smak	2,43	1,95	N > H	
Fet smak	2,67	2,49	N = H	
Fnokker	3,52	3,30	N = H	
Helhetsinntrykk	2,92	3,31	N < H	
Kremethet	3,78	3,46	N > H	
Prikkende (på tungen)	2,10	2,26	N = H	
Sur smak	3,61	3,21	N > H	
Trådtrekkende	3,09	2,27	N > H	
Tørrhet	3,35	2,83	N > H	
Viskositet	4,59	5,09	N < H	

Tabellen viser gjennomsnittlig poengverdi av sensoriske variabler for prøver som naturlig og tilsatt Holiday dipmix. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller i poengverdi av sensoriske variabler mellom prøver som naturlig og tilsatt Holiday dipmix. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. N: naturlig og H: tilsatt Holiday dipmix. Poengskala: 1-7.

Tabell 10E. Analyse av sensorisk data for kommersielle- og proteinanrikede prøvekombinasjoner som naturell, analysert med ANOVA og Tukey.

	Gjennomsnittlig poengsum							
	Prøvekombinasjoner som naturell							
Sensoriske variabler	AT	AU	CT	CU	DT	DU	L	M
Besk smak	3,76 ^a	3,08 ^{ab}	2,94 ^{ab}	2,62 ^{bc}	2,56 ^{bcd}	2,43 ^{bcd}	1,70 ^d	1,90 ^{cd}
Bitter smak	2,98 ^a	2,76 ^{ab}	2,30 ^{abc}	1,98 ^{bc}	2,30 ^{abc}	2,24 ^{abc}	1,68 ^c	2,24 ^{abc}
Fet smak	2,58 ^{bcd}	2,02 ^d	3,36 ^b	2,45 ^{cd}	3,14 ^{bc}	2,47 ^{bcd}	5,32 ^a	3,12 ^{bc}
Fnokker	4,48 ^b	6,42 ^a	2,26 ^{cd}	2,18 ^{cd}	2,88 ^c	2,76 ^c	1,16 ^e	1,53 ^{de}
Helhetsinntrykk	2,64 ^c	1,18 ^d	3,62 ^b	2,96 ^{bc}	3,51 ^b	3,00 ^{bc}	5,30 ^a	4,80 ^a
Kremethet	4,60 ^b	2,80 ^c	4,90 ^b	2,82 ^c	4,46 ^b	2,83 ^c	5,10 ^b	5,59 ^a
Prikkende (på tungen)	2,10 ^a	2,24 ^a	2,34 ^a	1,86 ^{ab}	2,26 ^a	1,72 ^{ab}	1,22 ^b	1,78 ^{ab}
Sur smak	4,46 ^a	4,30 ^{ab}	3,34 ^c	2,72 ^c	3,50 ^b	3,26 ^c	3,20 ^c	4,72 ^a
Trådtrekkende	2,68 ^b	1,18 ^c	4,76 ^a	2,56 ^b	4,96 ^a	2,29 ^b	2,24 ^b	1,10 ^c
Tørrhet	4,04 ^a	3,92 ^a	2,76 ^{bcd}	2,44 ^{cd}	3,38 ^{ab}	3,63 ^{abc}	1,86 ^d	3,42 ^{ab}
Viskositet	6,26 ^a	6,20 ^a	4,74 ^b	2,84 ^c	4,20 ^b	3,00 ^c	4,56 ^b	6,02 ^a

Tabellen viser gjennomsnittlig poengverdi av sensoriske variabler for kommersielle- og proteinanrikede prøver som naturell. Tukey testen viser hvor det var signifikante forskjeller ($p \leq 0,05$) i poengverdi av sensoriske variabler mellom kommersielle- og proteinanrikede prøver som naturell, disse er merket med små bokstaver. Kommerielle prøver er Lettrømme (L) og Mager Kesam (M), mens proteinanrikede prøver er prøver med forskjellig kombinasjoner av pulver og kultur (AU, AT, CU, CT, DU, DT). For tall med samme bokstav innenfor en rad er det ingen signifikant forskjell mellom. ^a angir tall med signifikant høyeste verdi. Poengskala: 1-7.

Tabell 10F. Analyse av sensorisk data for kommersielle- og proteinanrikede prøvekombinasjoner som naturell og tilsatt Holiday dipmix, analysert med ANOVA og Tukey test.

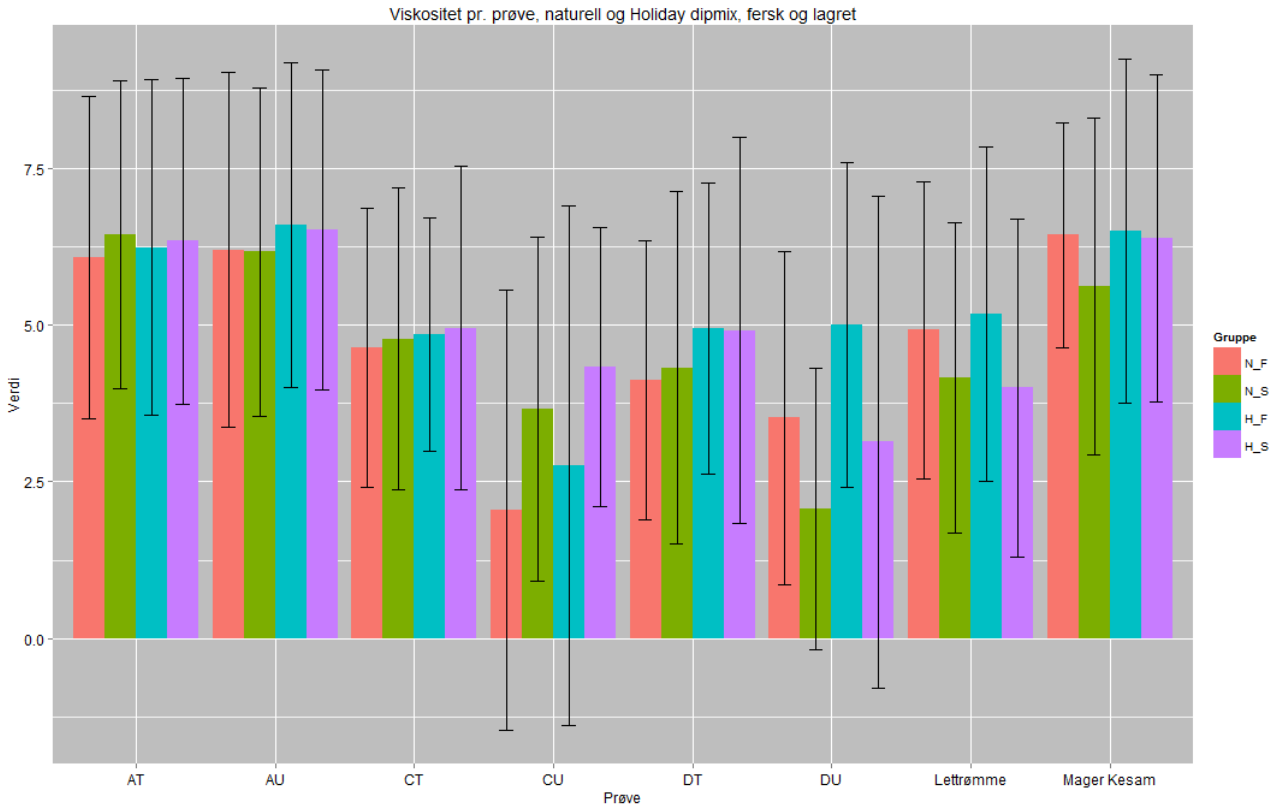
Sensoriske variabler	Gjennomsnittlig poengsum		Tukey test	
	Prøvekombinasjoner med forskjellig smak		Smak	
	N	H	N	H
Besk smak	2,63	2,12	N > H	
Bitter smak	2,31	1,89	N > H	
Fet smak	3,07	2,78	N > H	
Fnokker	2,97	3,10	N = H	
Helhetsinntrykk	3,46	3,67	N = H	
Kremethet	4,18	3,71	N > H	
Prikkende (på tungen)	1,94	2,18	N < H	
Sur smak	3,70	3,23	N > H	
Trådtrekkende	2,73	2,10	N > H	
Tørrhet	3,17	2,67	N > H	
Viskositet	4,77	5,20	N < H	

ANOVA viser gjennomsnittlig skårverdi av sensoriske variabler for kommersielle prøver og proteinanrikede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Tukey testen viser signifikante forskjeller i poengverdi av sensoriske variabler mellom kommersielle prøver og proteinanrikede som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Variabler som har signifikant effekt ($p \leq 0,05$) er merket grønn og variabler som ikke er signifikante, men med en p-verdi nær 0,05 er merket rød. N: Naturell og H: tilsatt Holiday dipmix. Poengskala: 1-7.

Det var mange signifikante forskjeller i sensoriske egenskaper ved bruk av forskjellig pulver (**Tabell 10A**). De variablene som kom ut som signifikant forskjellig var besk smak, bitter smak, fnokker, helhetsinntrykk, sur smak, trådtrekkende, tørrhet og viskositet. Prøver laget med pulver A hadde signifikant høyeste skårverdi for besk smak, bitter smak, fnokker, sur smak, tørrhet og viskositet, men laveste skårverdi for helhetsinntrykk og trådtrekkende enn prøver med pulver C og D. Prøver laget med pulver C var signifikant mindre tørr og hadde mindre mengde fnokker enn prøver laget med pulver A og D. For prøver fermentert med ulike kulturer (**Tabell 10B**) var det signifikant forskjell mellom prøver laget med Tjukkmjølke og CHN-11 for skårverdi av fet smak, fnokker, helhetsinntrykk, kremethet, prikkende (på tungen), trådtrekkende og viskositet. Av disse signifikante egenskapene hadde prøver fermentert med Tjukkmjølke høyeste skårverdien, med unntak av fnokker. Lagring (**Tabell 10C**) av prøver førte til signifikante endringer i skårverdi for fet smak, fnokker og prikkende (på tungen), der ferske prøver fikk høyest skårverdi for fet smak og lagrede prøver fikk høyest skårverdi for fnokker og prikkende (på tungen). Det kan nevnes at ferske prøver hadde noe høyere skårverdi for besk smak, mens lagrede prøver hadde noe høyere skårverdi

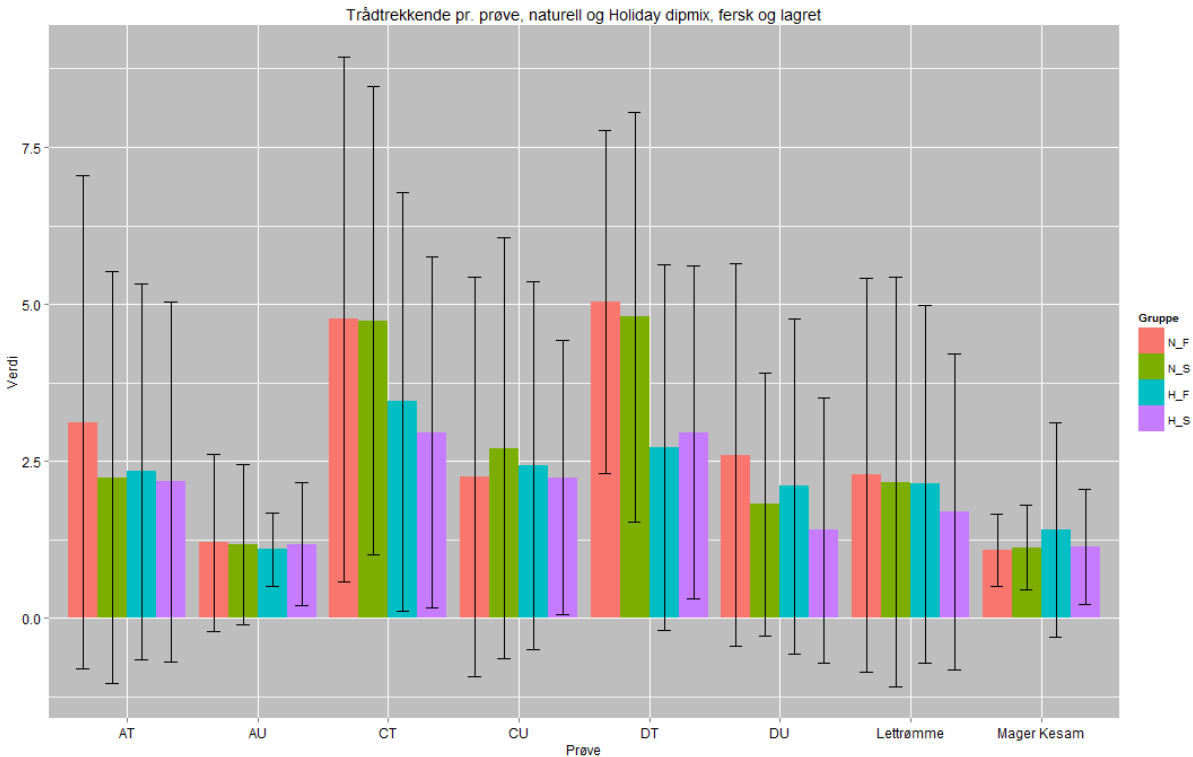
for sur smak. For prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix (**Tabell 10D**) var det signifikant forskjell for skårverdi av besk smak, bitter smak, helhetsinntrykk, kremethet, sur smak, trådtrekkende, tørrhet og viskositet. Bland disse prøvene fikk naturlige prøver den høyeste skårverdien for disse egenskapene, med unntak av helhetsinntrykk og viskositet.

For kommersielle- og proteinanrikede prøvekombinasjoner var det mange signifikante forskjeller i verdi av sensoriske egenskaper mellom naturlige prøvekombinasjoner (**Tabell 10E**), og mellom prøvekombinasjoner med forskjellig smak (**Tabell 10F**). De naturlige prøvekombinasjonene viste signifikante forskjeller for alle sensoriske egenskaper, hvorav egenskapene bitter smak og prikkende (på tungen) var kun signifikant forskjellig mellom enkelte av prøvene. Den viktigste sensoriske egenskapen var helhetsinntrykk, som var bassert på alle de andre sensoriske egenskapene. Mellom prøvekombinasjoner som naturell (**Tabell 10E**), fikk de kommersielle prøvene Lettrømme og Mager Kesam signifikant høyere helhetsinntrykk enn de proteinanrikede prøvekombinasjonene. Blandt de proteinanrikede prøvekombinasjonene fikk CT-, CU-, DT- og DU-prøver signifikant høyere helhetsinntrykk, der CT- og DT-prøvene fikk noe høyere skårverdi enn DT- og DU-prøver. AU-prøvene kom ut med signifikant dårligste helhetsinntrykk blandt disse prøvene. For prøvekombinasjoner med forskjellig smak (**Tabell 10F**) var det signifikante forskjeller i skårverdi av alle sensoriske egenskaper med unntak av fnokker og helhetsinntrykk. De naturlige prøvekombinasjonene fikk her signifikant høyeste skårverdi for alle sensoriske egenskaper med unntak av prikkende (på tungen) og viskositet der prøvekombinasjoner tilsatt Holiday dipmix fikk høyeste skårverdi.



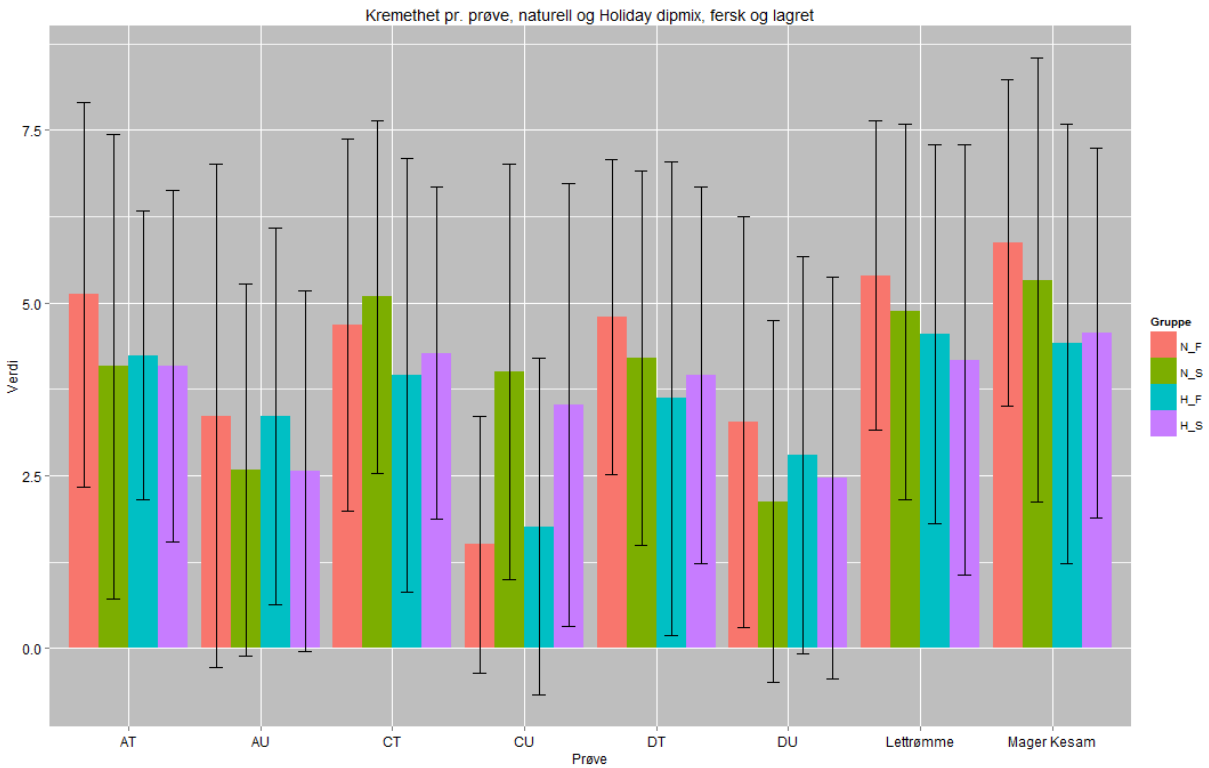
Figur 33. Sensorisk bedømmelse av viskositet (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 33 viser skårverdi for viskositet i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A hadde signifikant høyere viskositet enn prøver laget med pulver C og D. Prøver fermentert med Tjukkmjølk hadde signifikant høyere viskositet enn prøver fermentert med CHN-11. Lagring hadde ingen effekt på viskositeten. For prøver som naturell eller tilsatt Holiday dipmix hadde prøver tilsatt Holiday dipmix signifikant høyest viskositet. Viskositeten til naturlige prøvekombinasjoner var signifikant høyest for AT- og AU-prøver og Mager Kesam, mens CU- og DU-prøver hadde signifikant lavest viskositet. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant økte skårverdier for viskositet.



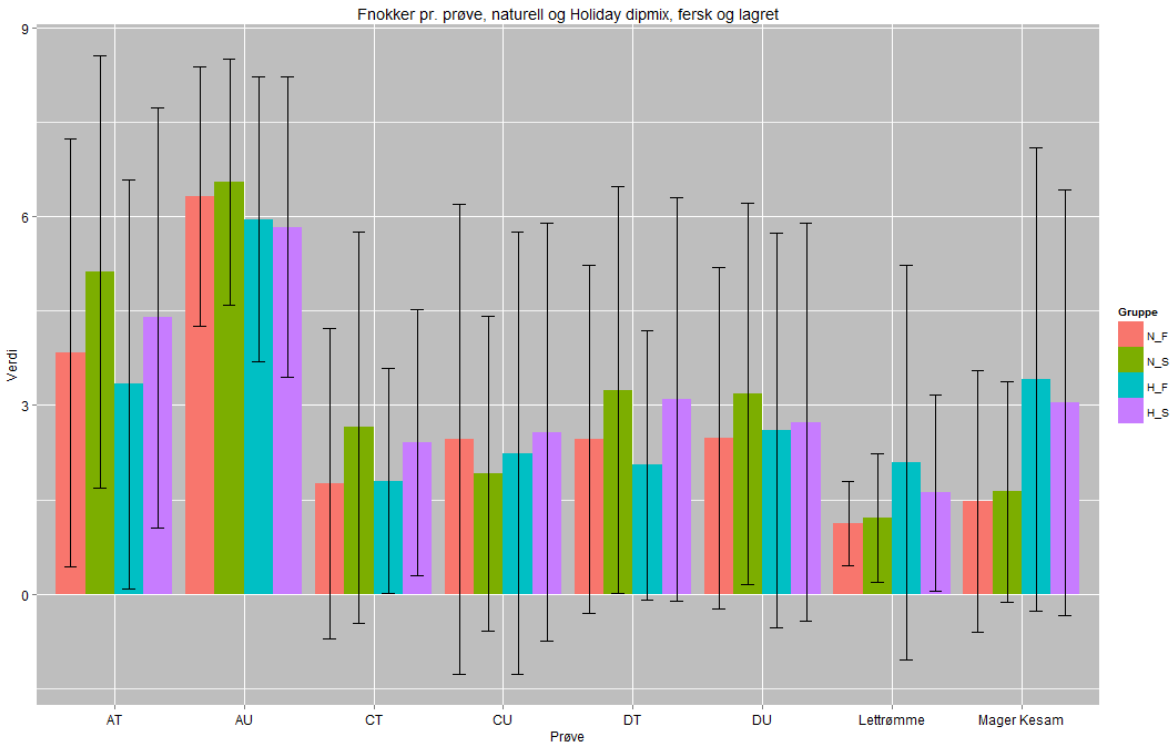
Figur 34. Sensorisk bedømmelse av trådtrekkenhet (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en lodrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjøl, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 34 viser verdi for trådtrekkenhet i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A var signifikant mindre trådtrekkende enn prøver laget med pulver C og D. Prøver fermentert med Tjukkmjøl var signifikant mer trådtrekkende enn prøver fermentert med CHN-11. Lagring hadde ingen effekt på trådtrekkenhet. For prøver som naturell eller tilsatt Holiday dipmix var naturelle prøver signifikant mest trådtrekkende. For prøvegruppen bestående av naturelle prøvekombinasjoner var C- og D-prøver fermentert med Tjukkmjøl signifikant mest trådtrekkende, mens AU-prøver og Mager Kesam signifikant minst trådtrekkende. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant reduserte skårverdier for trådtrekkenhet.



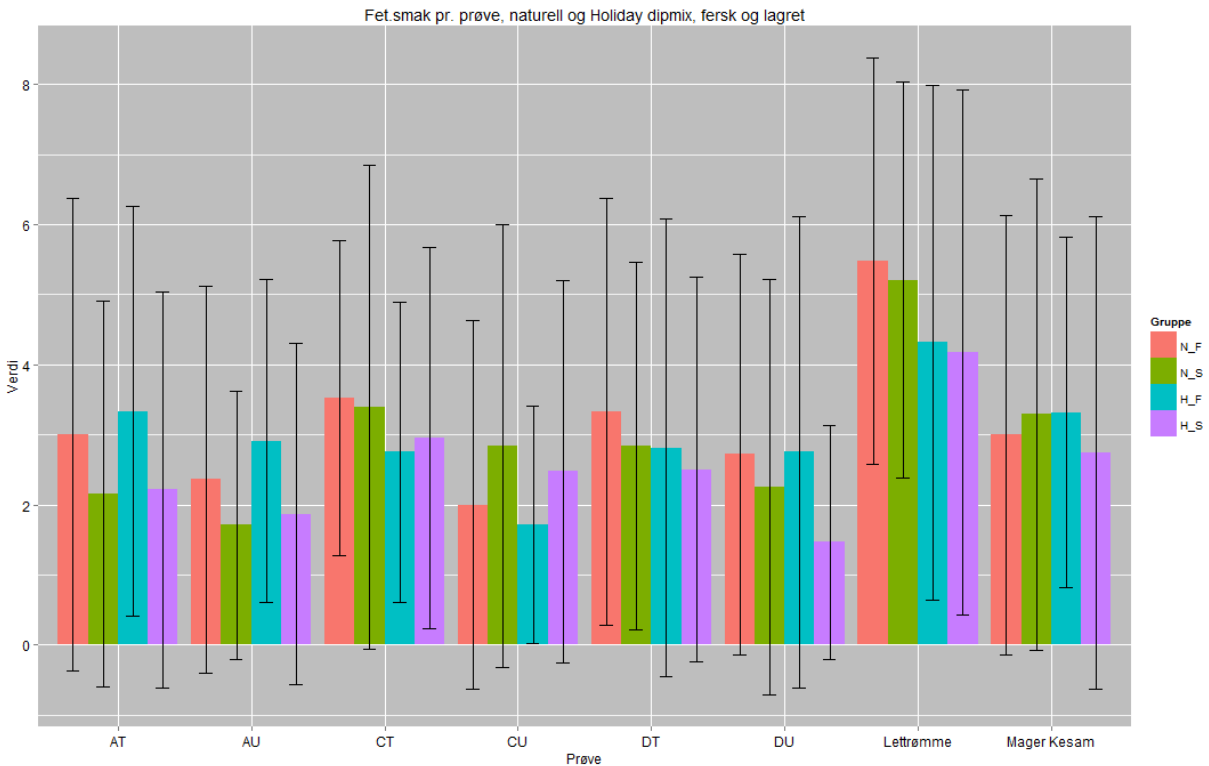
Figur 35. Sensorisk bedømmelse av kremethet (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjøl, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 35 viser verdi for kremethet i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver fermentert med Tjukkmjøl hadde signifikant høyere kremethet enn prøver fermentert med CHN-11. Pulver og lagring hadde ingen effekt på kremethet. For prøver som naturell eller tilsatt Holiday dipmix hadde naturelle prøver signifikant høyest kremethet. For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver var AT-, CT- og DT-prøver, Lettrømme og Mager Kesam signifikant mer kremet enn AU-, CU- og DU-prøver. Mager Kesam var i tillegg signifikant mer kremet enn AT- og DT-prøver. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant reduserte skårverdier for kremethet.



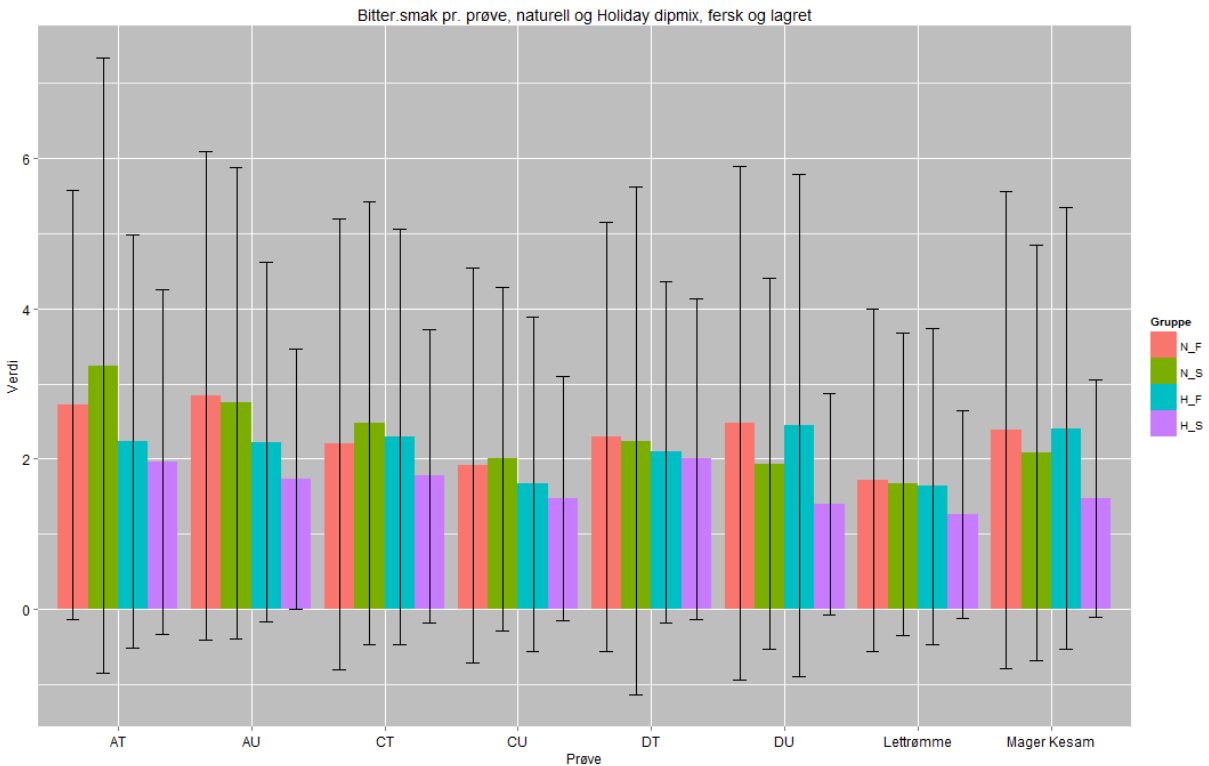
Figur 36. Sensorisk bedømmelse av fnokker (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølkk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 36 viser verdi for fnokker i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A hadde signifikant større mengde fnokker enn prøver laget med pulver C og D, der prøver med pulver C hadde minst fnokker. Prøver fermentert med CHN-11 hadde signifikant større mengde fnokker enn prøver fermentert med Tjukkmjølkk. Lagring av prøver førte til signifikant økning i mengde fnokker for lagrede prøver. Smak hadde ingen effekt på fnokker. For ulike prøvekombinasjoner med naturlige prøver var proteinanrikede prøver signifikant mer fnokkete enn Lettrømme. Blandt disse var AU-prøver signifikant mest fnokkete, etterfulgt av AT-prøver. Mager Kesam var signifikant mindre fnokkete enn AT-, AU-, DT- og DU-prøvene. Tilsetning av Holiday dipmix hadde ingen effekt på fnokker.



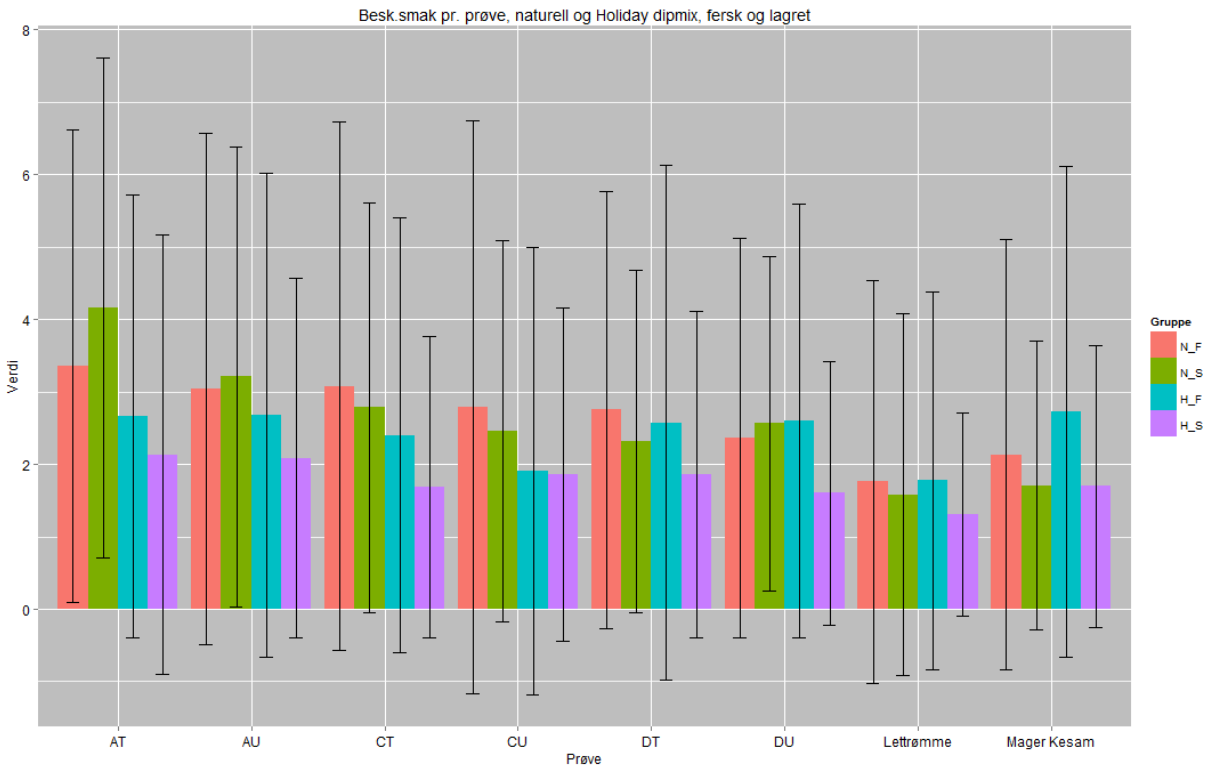
Figur 37. Sensorisk bedømmelse av fet smak (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 37 viser verdi for fet smak i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver fermentert med Tjukkmjølk hadde signifikant fetere smak enn prøver fermentert med CHN-11. For lagring av prøver hadde ferske prøver signifikant fetere smak enn lagrede prøver. Pulver og smak hadde ingen effekt på fet smak. For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver var Lettrømme signifikant fetest. Blandt disse prøvene var Mager Kesam signifikant mer fet en AU-prøver, hvorav CT-og DT-prøver hadde signifikant fetere smak enn CU-prøver (untatt DT-prøver) og AU-prøver. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant reduserte skårverdier for fet smak.



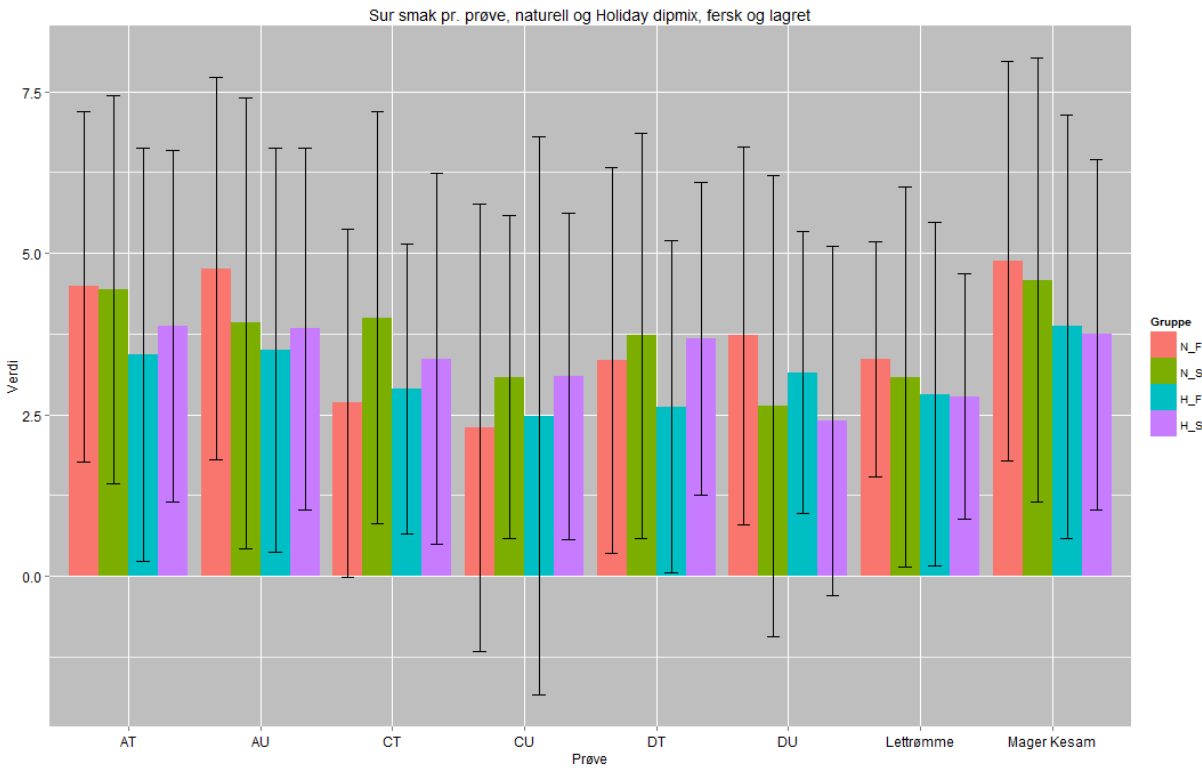
Figur 38. Sensorisk bedømmelse av bitter smak (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjøl, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 38 viser verdi for bitter smak i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A var signifikant mer bitter enn prøver laget med pulver C og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på bitter smak. For ulike prøvekomposisjoner med naturlige prøver var AT- og AU-prøver signifikant mer bitter enn Lettrømme, hvorav AT-prøvene kom ut med signifikant høyeste skårverdien for bitter smak og var i tillegg signifikant mer bitter enn CU-prøver. Tiletting av Holiday dipmix førte til signifikant reduserte verdier for bitter smak.



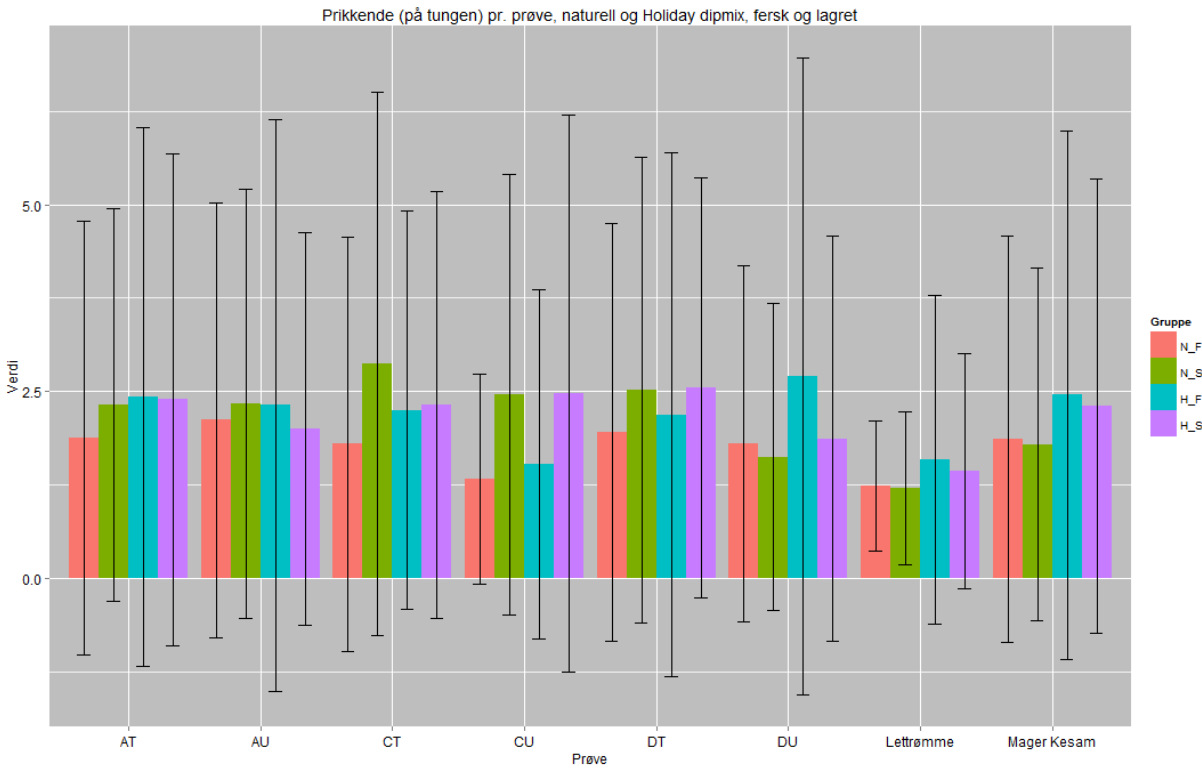
Figur 39. Sensorisk bedømmelse av besk smak (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølkk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 39 viser verdi for besk smak i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A var signifikant mer besk enn prøver laget med pulver C og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på besk smak. For prøver som naturell eller tilsatt Holiday dipmix var naturelle prøver signifikant mer besk enn prøver tilsatt Holiday dipmix. For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver var AT-, AU-, CT- og CU-prøver signifikant mer besk enn Lettrømme og Mager Kesam (untatt CU-prøver). Bland disse var AT-prøver i tillegg signifikant mer besk enn CU-, DT- og DU-prøver. Tilsetning av Holiday dipmix førte til reduserte skårverdier for besk smak.



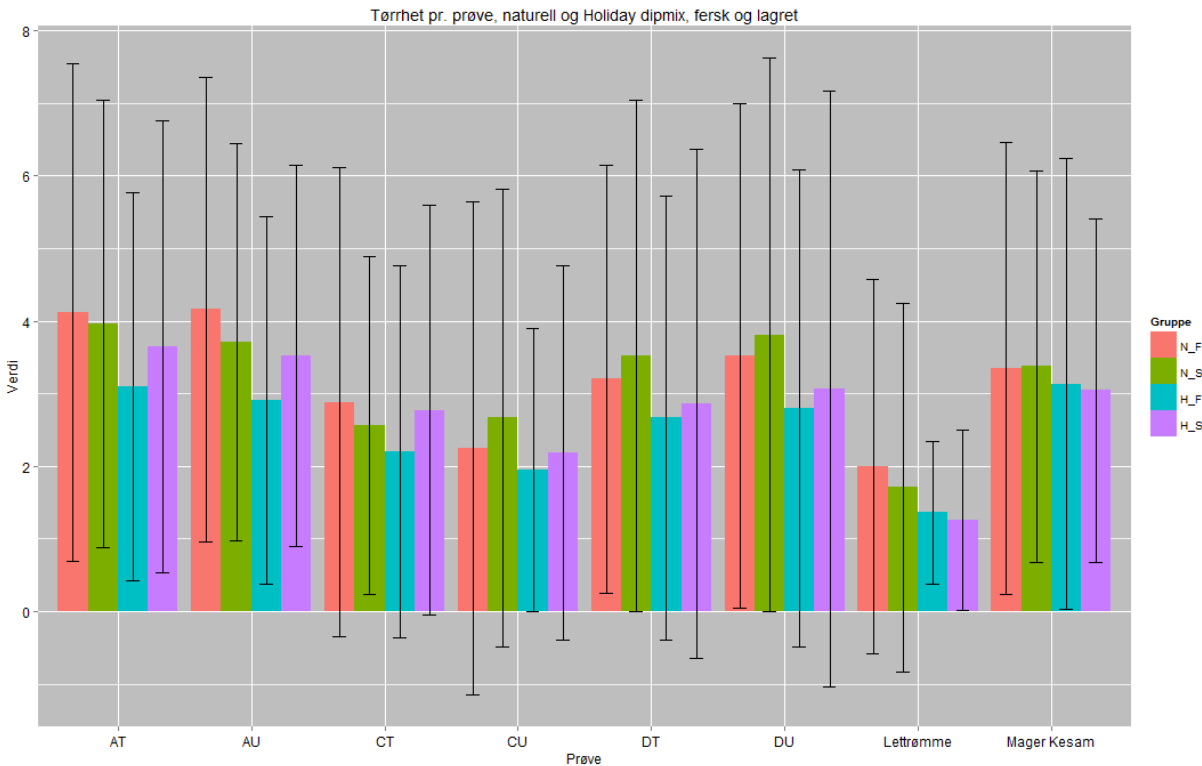
Figur 40. Sensorisk bedømmelse av sur smak (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 40 viser verdi for sur smak i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A var signifikant mer sur enn prøver laget med pulver C og D. Kultur og lagring hadde ingen effekt på sur smak. For prøver som naturell eller tilsatt Holiday dipmix hadde naturelle prøver signifikant surest smak. For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver var AT- og AU-prøver og Mager Kesam signifikant surere enn CT-, CU-, DT- (untatt AU-prøver) og DU-prøver og Lettrømme. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant reduserte verdier for sur smak.



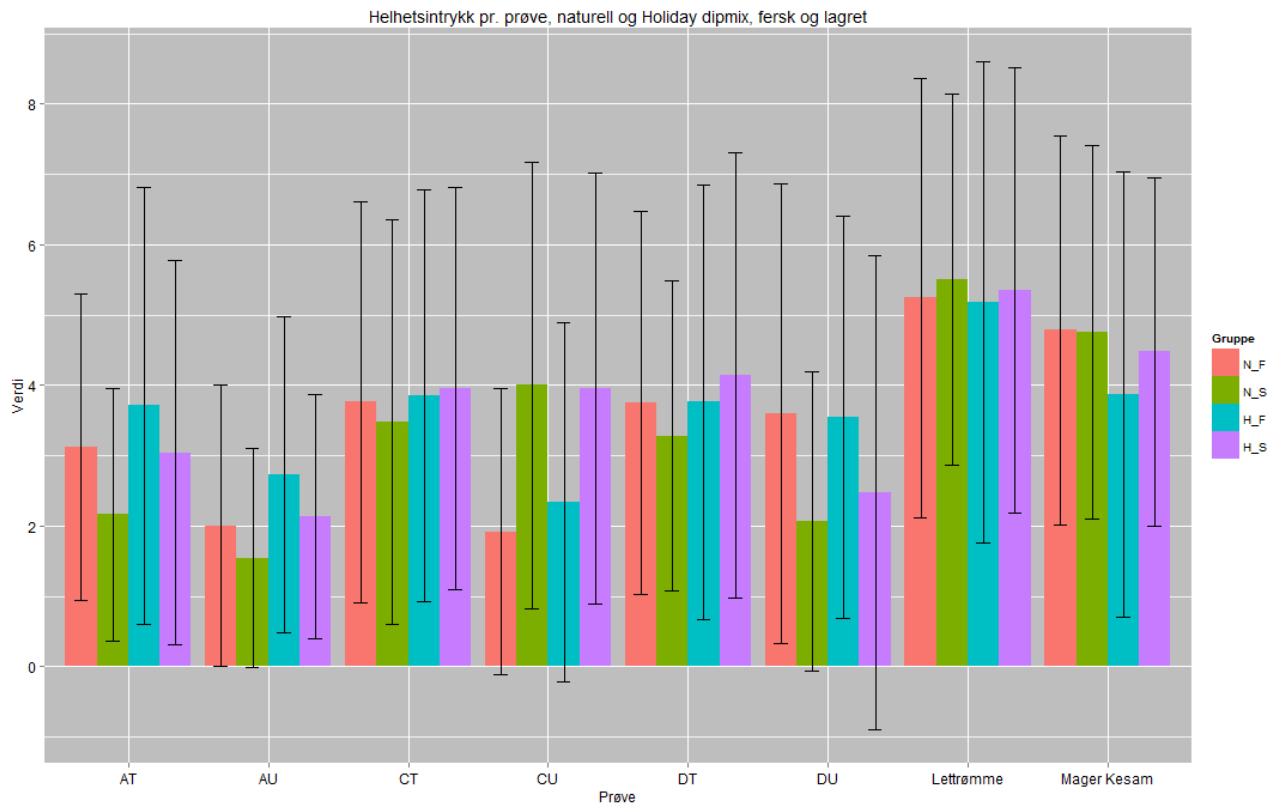
Figur 41. Sensorisk bedømmelse av prikkende på tungen (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølkk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 41 viser verdi for prikkende (på tungen) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver fermentert med Tjukkmjølkk var signifikant mer prikkende (på tungen) enn prøver laget med CHN-11. For lagring av prøver, var lagrede prøver signifikant mer prikkende (på tungen) enn fersk prøver. Pulver og smak hadde ingen effekt på prikkende (på tungen). For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver var AT-, AU- CT- og DT-prøver signifikant mer prikkende (på tungen) enn Lettrømme. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant økte verdier for prikkenhet.



Figur 42. Sensorisk bedømmelse av tørrhet (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 42 viser verdi for tørrhet i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A var signifikant mer tørr enn prøver laget med pulver C og D, der C-prøver var minst tørr. Kultur og lagring hadde ingen effekt på tørrhet. For prøver som naturell eller tilsatt Holiday dipmix var naturelle prøver signifikant mest tørr. For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver var AT-, AU- DT- og DU-prøver og Mager Kesam signifikant mer tørr enn Lettrømme og CU-prøver (untatt DU-prøver). Blandt disse var også AT- og AU-prøver signifikant mer tørr enn CT-prøver. Tilsetning av Holiday dipmix førte til signifikant reduserte verdier for tørrhet.



Figur 43. Sensorisk bedømmelse av helhetsinntrykk (poengskala 1-7) i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Naturelle prøver som er ferske og lagrede er merket hhv. rosa og grønn, angitt som N_F og N_S. Ferske og lagrede prøver som er tilsatt Holiday dipmix er merket hhv. blå og lilla, angitt som H_F og H_S. 95 % -konfidensintervall til prøvene er angitt med en loddrett strek i den aktuelle stolpen til hver prøve. A: melkeblending A med pulver type 1, C: melkeblending C med skummetmelkpulver, D: melkeblending D med pulver type 3, U: CHN-11 kultur, T: Tjukkmjølk, F: fersk, S: lagret, N: naturell og H: tilsatt Holiday dipmix.

Figur 43 viser verdi for helhetsinntrykk i ferske og lagrede prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix. Prøver laget med pulver A og prøver fermentert med CHN-11 hadde signifikant lavest helhetsinntrykk. Lagring hadde ingen effekt på helhetsinntrykket. Prøver tilsatt Holiday dipmix hadde signifikant høyere helhetsinntrykk enn naturelle prøver. For ulike prøvekombinasjoner med naturelle prøver hadde Lettrømme og Mager Kesam signifikant høyere helhetsinntrykk enn de proteinrike prøvene. Blandt disse kom AU-prøvene ut med signifikant lavest helhetsinntrykket, hvorav CT- og DT-prøver i tillegg hadde signifikant høyere helhetsinntrykk enn AT-prøver. Tilsetning av Holiday dipmix hadde ingen effekt på verdier for helhetsinntrykk.

5 DISKUSJON

Under dette forsøket ble det fremstilt seks syrnede melkeprodukter med en konsistens som ville egnet seg til en dipp. De hadde et lavt fettinnhold (< 0,1 % fett) og høyt proteininnhold (10 %). Til fremstilling av disse prøve ble skummet melk proteinanriket med forskjellige fettfrie, melkeproteinpulvere (A, C og D) og podet med enten Tjukkmjølk eller CHN-11 (DL-kultur). Det ble foretatt målinger av pH og mikrobiologiske-, kjemiske-, sensoriske- og reologiske analyser av ferske og lagrede dipp-prøver. Disse analysemetodene gjorde det mulig å undersøke effekten av å bruke de ulike proteinpulverene og ulike kulturene til fremstilling av dipp, samt å se om det var en forskjell mellom ferske og lagrede prøver, og mellom prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Produktene ble sammenlignet med kommersielle produkter som Lettrømme og Mager Kesam, også som naturell og smaksatt med Holiday dipmix.

Siden det ikke var mulig å få informasjon om hvilket firma eller hva slags varmebehandling proteinpulver A, B, C og D hadde gått igjennom før tørking, fører dette til en begrensning på diskusjon av proteinpulverene i hht. deres tidligere behandling og derav deres effekt under fremstilling av dipp-prøvene. I dette forsøket ble det valgt å bruke et signifikans nivå på $p \leq 0,05$.

5.1 FORFORSØK

Under forforsøkene ble det framstilt forskjellig dipp som inneholdte 7 og 10 % totalprotein. Dipp ble podet med tre forskjellige kulturer, XT-313 (DVS, DL), Tjukkmjølk og Skummet kulturmelk. Syrekulturens evne til å senke pH i produktet under fermentering i forhold til bruk av forskjellige proteinpulvere og proteinkonsentrasjoner er viktig, da en reduksjon av pH er viktig for geldannelsen og produktets holdbarhet (Tamime & Robinson 1999a).

Kulturene (XT-313 og Skummet kulturmelk) som ble brukt til å sammenligne med Tjukkmjølk under forsøkene, oppnådde ikke de kravene om å gi et produkt uten trådtrekkende egenskaper. Av den grunn ble disse kulturene ikke anvendt videre i hovedforsøket.

Det ble utført en økning i proteinkonsentrasjon fra 7 til 10 % ved bruk av pulver A under forforsøkene. Denne økningen i proteininnhold viste ingen forskjell i pH etter lagring i ca. 20 t, men konsistensen i dipp ble forbedret (økt viskositet) ved bruk av 10 % totalprotein. Ved 7 %

totalprotein ved bruk av pulver A og fermentering med Tjukkmjølke (AT) var det noe konsistens problemer i prøvene, der det ved start av omrøring av prøven ved bruk av en skje dannet seg en klump i midten av produktet, men ettersom røringen fortsatte ble konsistensen bedre.

Prøver med 10 % totalprotein hadde ikke dette konsistensproblemet, herav A-prøver fermentert med hhv. Tjukkmjølke (AT) og Skummet kulturmjølke (AK). AK-prøven hadde derimot en trådtrekkende konsistens som ikke var ønskelig, og en dårlig smak, mens AT-prøven hadde god smak og god konsistens som ikke var trådtrekkende. Hos AT-prøvene kommer denne trådtrekkende konsistensen av den EPS-produserende melkesyrebakterien *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* som er å finne i Tjukkmjølke (Haug 1996), mens hos AK-prøvene var det ikke ventet å finne denne egenskapen. Det viser at enkelte av stammene i kulturen til Skummet Kulturmjølke kunne produsere EPS, der produksjonen av EPS avheng av sammensetningen av vekstmiljøet (karbon og nitrogenkilder, vekstfaktorer, osv.) (Degeest et al. 2001). På grunn av dette ble AT-prøven bedømt som den beste av prøvene i forforsøkene i forhold til smak, utseende og konsistens. Dette antyder at en økning fra 7 til 10 % totalprotein hadde stor effekt på konsistensen av koagelet og dermed å gi et produkt med konsistens som var såpass tykk at den vil dekke et potetgull eller en grønnsaks-kive. Det økte innslaget av gel-dannende protein dempet muligens oppbygningen av den trådtrekkende egenskapen (Narvhus 2015a).

Økning av totalprotein fra 7 til 10 % førte også til en nesten tredobbel økning i konsentrasjon av etanol i prøver med pulver A som ble fermentert med Tjukkmjølke (AT). I tillegg førte det til dannelse av "lommer" eller "hulrom" i gelen, noe som tydet på høy CO₂ produksjon. Det ble ikke funnet verken gjær eller koliformebakterier i disse prøvene, som kunne ha forårsaket produksjon av etanol og CO₂. Det ble spekulert på om denne økningen i proteinkonsentrasjon påvirket veksten av *Leuconostoc*, som finnes i både Tjukkmjølke og DL-kulturen. Dette ble ikke undersøkt nærmere. Det tyder på en større aktivitet av *Leuconostoc*-stammene i Tjukkmjølke, som følge av høy alkohol dehydrogenase aktivitet som katalyserer reduksjon av acetaldehyd til etanol (Tamime 2002). Dette kan kanskje forklare den høye økningen av etanol i AT-prøvene ved en økning fra 7 til 10 % proteininnhold. Det spekuleres på at denne økningen fra 7 til 10 % totalprotein hemmet veksten av laktokokker siden antall laktokokker i AT-prøver med 7 % totalprotein var noe høyere enn i AT-prøver med 10 % totalprotein. Dette ble ikke undersøkt nærmere.

5.2 HOVEDFORSØK

5.2.1 Effekt på bruk av ulike proteinpulvere

5.2.1.1 Kjeldahl-analyse

Kjeldahl analyse for analyse av total nitrogen (TN), ikke kasein nitrogen (IKN) og ikke protein nitrogen (IPN) viste forventet total proteininnhold i proteinpulver A, C og D, mens andelen kasein og myseprotein var ikke som forventet. I tillegg var ikke analysert total proteininnhold i proteinpulverene summen av analysert innhold av kasein og myseprotein. Innholdet av kasein og myseprotein i pulverene ble redusert med hhv. -5 og -11 % i pulver A og -17 og -6 % i pulver C. Mens i pulver D økte innholdet av kasein mens myseproteininnholdet sank, med hhv. +12 og - 38 %. Det betyr at andelen kasein var ca. halvparten av det som var forventet i pulver C og en del høyere enn forventet i pulver D. Andelen myseprotein var ca. halvparten av det som var forventet i pulver A, mens i pulver C og D var det nesten ikke noe myseproteiner. Siden det var lavere innhold av myseproteiner enn forventet i pulver A, C og D ser det ut som melken kan ha gjennomgått en lav til høy varmebehandlingsprosess ved fremstilling av disse pulverene, slik at store deler av myseproteinene vil være assosiert med kaseinene i melka (Walstra et al. 2006f). Under filtrering ved bruk av white ribbon filter ved beregning av IKN vil dermed myseproteiner som er assosiert med kaseiner bli filtrert bort sammen med utfelt kasein, og blir dermed ikke med i beregning av andel IKN. Dette brukes videre for beregning av andel myseprotein i pulveret. Ut i fra dette ser det ut til at Kjeldahl analysen kun angir andel ikke denaturert myseprotein i pulveret.

Dersom myseproteinene allerede er denaturert vil de ikke bidra i konsistensforbedring. Det er positivt dersom det er ønskelig å bare øke proteininnholdet uten å øke viskositeten, men negativt dersom man ønsker en viskositetsøkning. Dersom myseproteinene er denaturert og deretter blandet med kasein vil dette være tilfelle. Men dersom melkebasen får en høy varmebehandling før tørking, vil myseproteinene være heftet på kasein og det vil se ut som det er mer kasein i forhold til myseprotein (Narvhus 2015a). Til bruk i fremstilling av dipp var det ønskelig å både øke proteininnholdet, men også viskositeten til melkeblanding.

5.2.1.2 *pH og melkesyre*

I syrnede melkeprodukter er senking av pH relatert til produksjon av melkesyre ved nedbrytning av laktose til melkesyre, mens mengden melkesyre som trengs for å gi en senking i pH avhenger av bufferkapasiteten til melken, som videre påvirkes hovedsakelig av melkens innhold av proteiner og salter mellom vandige og faste faser (Salaün et al. 2005; Walstra et al. 2006b). Det kan være små komponenter bestående av en eller flere syre-basegrupper, og proteiner som har flere syre-basegrupper. Derfor er bufferkapasiteten i meieriprodukter summen av bufferkapasiteten for hver enkelt syre-base gruppe, men disse bestanddelene er ikke alltid "fri" i løsningen, da det kan forekomme interaksjoner mellom komponenter (Salaün et al. 2005). De fremstilte dipp-prøvene ble i dette forsøket proteinanriket til 10 % totalprotein ved å proteinanrike skummet melk med enten proteinpulver A, C eller D, noe som gjorde at prøvenes bufferkapasitet, men også melkesyreproduksjon økte som følge av økt proteininnhold (Narvhus et al. 1998).

Prøver laget med pulver C hadde signifikant lavere pH (6,37) før syrning (0 t) enn for prøver laget med pulver A (6,53) og D (6,56). Den lave pH kan komme av at det ble tilsatt mye mer av pulver C (3,121 kg) for å oppnå et proteininnhold på 10 %, enn ved bruk av pulver A (1,261 kg) og D (1,772 kg). Denne økningen av pulver kan dermed ha ført til en økning av innhold av salter i tillegg til protein og laktose i C-prøvene, slik at pH ble lavere.

Under syrning sank pH ytterligere i alle prøvene, samtidig som det oppstod et skift i pH mellom prøvene. Ved endt syrning (slutt syrning) ble det vist at prøver laget med pulver A (4,60) hadde signifikant lavere pH enn prøver laget med pulver C (5,04) og D (4,75), der C-prøver hadde høyest pH. Som nevnt tidligere førte en økning av mengde pulver C til en økning av laktoseinnhold i melken. Siden konsentrasjonen av laktose er aldri begrenset i melk, selv i ikke-anriket melk, vil ikke en økning av laktose i melken påvirke produksjonen av melkesyre (Narvhus et al. 1998). Det hadde vært forventet at det økte innholdet av salter i C-prøvene skulle føre til økt melkesyreproduksjon under syrning som følge av økt bufferkapasitet (melkesyrekonsentrasjonen i prøvene ble ikke analysert på dette tidspunktet), men siden disse prøvene hadde så høyt tørrstoffinnhold, som følge av økt tilsatt pulver, virker det som det krevdes mer melkesyre for å senke pH. Det var ikke mulig å få ned pH til 4,5 under syrning, en mulig årsak til dette kan være at den økte produksjonen av melkesyre hemmet syrekulturen gradvis i fermentering av laktose (Narvhus et al.

1998). På grunn av noe lavere bufferkapasitet i A- og D-prøver enn i C-prøver var det forventet lavere melkesyreproduksjon under syrning. I tillegg var det forventet at A-prøver skulle ha lavere pH enn D-prøver på grunn av høyere kaseininnhold, da MSB har sterkt preferanse for kaseiner, som med sin ustrukturerte og åpne struktur gjør de mer mottakelige for hydrolyse, slik at konsentrasjonen av frie aminosyrer og peptider i melk økes. Noe som er nødvendig for vekst og syreproduksjon (Law & Haandrikman 1997).

Laktose er som nevnt tidligere hovedenergikilden til MSB under vekst i melk (Walstra et al. 2006b), men for å opprettholde denne veksten krever MSB nitrogen (Axelsson 2004). Dette kan de få gjennom degradering av proteiner til mindre peptider og frie aminosyrer ved hjelp av deres proteolytiske enzymesystem. Derfor er tilstedeværelse av disse enzymene hos MSB, og vekst og hastighet av syreproduksjon korrelerte (Walstra et al. 2006b). Etter lagring av prøver i både ca. 16 t (ferske prøver) og 3 uker (lagrede prøver) sank pH ytterligere, og var signifikant lavest for lagrede prøver. Blandt disse prøvene ble det vist signifikant lavere pH i prøver laget med pulver A (4,55 og 4,43) og D (4,67 og 4,57) enn ved bruk av pulver C (5,05 og 4,73). På samme tid, ble det vist at lagrede prøver hadde signifikant høyere melkesyre konsentrasjon enn ferske prøver (hhv. 16189 og 13316 ppm), noe som viser at melkesyreproduksjonen økte under lagring, mens pH sank. Selv om pH var lavest for A- og D-prøver ble det vist signifikant høyere melkesyre konsentrasjon i C-prøver (hhv. 13663, 14155 og 16724). Det viser at det var økt melkesyreproduksjon og senking av pH ved bruk av pulver D etter lagring i over ca. 16 t.

Under vekst av MSB i melk vil tilgangen på frie aminosyrer være viktig i tidlig vekstfase, mens deres viktighet av proteolytisk aktivitet for å øke tilgangen på nitrogen være økende ettersom veksten fortsetter (Niven et al. 1998). Utifra dette vil tilgangen på frie aminosyrer i melk vil være begrenset i starten av vekstfasen, men ettersom deres proteolytiske aktivitet fortsetter vil altså tilgangen på frie aminosyrer øke, og etterhvert være i overskudd i forhold til vekstbehovet til MSB. Det er blitt vist at under vekst av *Lc. lactis* i melk var tilgangen på frie aminosyrer under sen vekstfase (sen logaritmisk fase) større enn under tidlig vekstperiode (Niven et al. 1998). Det ser ut til at det var økt tilgangen på nitrogen under lagring, og forårsaket dermed økt melkesyreproduksjon og senking av pH i alle prøvene. Høyere pH i C-prøver kommer av at det krevdes økt melkesyreproduksjon for å oppnå en senking av pH i disse prøvene, som følge av økt

mengde tilsatt pulver. Det økte innholdet av salter i C-prøvene så også ut til å være årsaken til høyere melkesyrekonsentrasjon under lagring.

Som et resultat av variasjon i bufferkapasitet (proteiner og salter) og innhold av kasein og tørrstoff i prøvene hadde tilsetning av pulver C størst effekt på senking av pH før syrning (0 t) og økt melkesyreproduksjon etter lagring. Mens tilsetning av pulver A og D hadde størst effekt på senking av pH etter endt syrning og lagring i over ca. 16 t. I tillegg hadde lagring av prøver økende melkesyreproduksjon med påfølgende reduksjon av pH, der lagring av prøver over 3 uker hadde størst effekt.

5.2.1.3 Kjemiske analyser

I alle prøvene var økende produksjon av melkesyre sammsvarende med senking av pH, men denne reduksjonen i pH varierte med tilgang på nitrogen, variasjon i tørrstoff og bufferkapasitet i prøvene. Det ble i midlertid også observert mange signifikante forskjeller i konsentrasjoner av organiske syrer, karbohydrater og aromastoffer med hensyn på bruk av forskjellig pulver, og noen signifikante forskjeller ved lagring av prøver.

Standardavviket til flere av prøvekombinasjonene med forskjellige pulvertyper og kulturer viste at det var stor variasjon i konsentrasjon av ulike metabolitter mellom de forskjellige gjentakene. For at et produkt skal være likt fra produksjon til produksjon var det ønskelig med minst mulig variasjon mellom forskjellige gjentak fra samme prøvekombinasjon.

5.2.1.3.1 Karbohydratmetabolisme

Siden konsentrasjonen av laktose i prøver laget med pulver C ble analysert med en ufortynnet prøve, er ikke dette reelle resultater, men kan gi en indifikasjon for konsentrasjon av laktose i disse prøvene.

Under syrning og lagring var det forventet at laktosekonsentrasjonen skulle gå ned, mens konsentrasjonen av melkesyre skulle øke som følge av hydrolysering av laktose til glukose og galaktose, før videre omdannelse av disse sukkerene til melkesyre (Walstra et al. 2006b). Laktosekonsentrasjonen gikk ned for alle prøvene ved bruk av forskjellig pulvertype. Bruk av pulver C ga signifikant høyere laktosekonsentrasjon (108242 ppm) enn ved bruk av pulver A

(33574 ppm) og D (55572 ppm), der A-prøver hadde lavest konsentrasjon. Det ble også viste at nedgangen i laktosekonsentrasjon var signifikant mest i produkter laget med pulver A. Dette viste at bruk av pulver A hadde størst effekt av syrning på senking av laktosekonsentrasjonen, og at det ga produkter med laveste laktosekonsentrasjon. Den samme trenden ble sett for de andre prøvene laget med ulike pulvertyper.

Som følge av redusering av glukose og galaktose til melkesyre under syrning var det naturlig å forvente at konsentrasjonen av glukose og galaktose skulle øke i starten, før disse sukkerne ble omdannet til melkesyre. Det ble vist signifikant høyere glukosekonsentrasjon i prøver laget med pulver C (137 ppm) enn ved bruk av pulver A (28 ppm) og D (43 ppm). Mens konsentrasjonen av galaktose var kun signifikant forskjellig mellom C- og D-prøver (hhv. 788 og 1695 ppm), der D-prøver hadde høyest konsentrasjon. Det ble også vist at prøver laget med pulver C hadde den laveste effekten av syrning på senking av glukosekonsentrasjonen, mens bruk av pulver D hadde lavest effekt av syrning på øking av galaktosekonsentrasjonen, fra før poding til etter lagring. Dette viste at bruk av pulver D hadde større effekt av syrning på å gi prøver med høyest galaktosekonsentrasjon. Mens bruk av pulver C hadde størst effekt av syrning på å gi prøver med høyest glukosekonsentrasjon. Lagring av prøvene ga kun signifikant forskjell på galaktosekonsentrasjonen, der konsentrasjonen var økende for alle prøvekombinasjoner etter lagring i 3 uker (hhv. 859 og 1686 ppm i ferske og lagrede prøver). Det viste at lagring av prøver hadde en effekt på øking av galaktosekonsentrasjonen i alle prøvekombinasjoner.

5.2.1.3.2 Etanol og acetaldehyd

Konsentrasjonen av etanol økte i alle prøvene under syrning. Bruk av pulver A førte til signifikant høyere etanolkonsentrasjon (296 ppm) enn ved bruk av pulver C (115 ppm) og D (58 ppm), men dette var kun på grunn av det høye etanolkonsentrasjonen i AT-prøvene (A-prøver fermentert med Tjukkmjøl). Det viser at bruk av pulver ikke hadde effekt på etanolkonsentrasjonen, men en kombinasjon av pulver A og Tjukkmjøl hadde det.

5.2.1.3.3 Sitratmetabolisme

Sitronsyre er en komponent som er å finne i melk, og melkesyrebakterienes nedbrytning av sitronsyre til forskjellige aromakomponenter som eddiksyre, 2,3-butandiol, diacetyl og CO₂ er viktig for smak og aroma i fermenterte produkter. Sitronsyre brukes ikke som en energikilde, men

metaboliseres ved tilstedeværelse av fermenterbare sukker som laktose. Under syrning vil konsentrasjonen av sitronsyre gå ned som følge av hydrolyse av sitronsyre til eddiksyre, CO₂ og pyruvat, der det blir produsert større mengder av pyruvat enn det som er nødvendig for oksidasjon av NADH. Fra kondensering av aktivt acetaldehyd med et mol pyruvat kan α -acetolaktat dannes, som videre kan dekarboxyleres til acetoin (ikke en smakskomponent) eller oksidativt til diacetyl (viktig smakskomponent i mange fermenterte meieriprodukter). Acetoin kan også brytes videre ned til 2,3-butandiol av enkelte bakteriestammer. Eddiksyre, acetoin og diacetyl kan også dannes fra alternativ pyruvat metabolisme, og ved lave konsentrasjoner av laktose og glukose kan produkter slik som eddiksyre, etanol og acetoin bli dannet i signifikante nivåer (Walstra et al. 2006b; Wright & Axelsson 2012).

Sitronsyre var til stede i alle prøver laget med forskjellig pulvertype, men med ulik startkonsentrasjon, hvorav mengden avtok under syrning. Ved endt syrning var det fremdeles mye sitronsyre igjen i prøvekombinasjoner laget med pulver C og D fermentert med Tettemelk (CT, DT), mens det var så å si ikke noe sitronsyre igjen i de andre prøvekombinasjonene. Etter lagring ble sitronsyrekonsentrasjonen ytterligere redusert i CT- og DT-prøver. Under syrning ble det produsert signifikante mengder med eddiksyre i alle prøver laget med forskjellig pulvertype. For CT- og DT-prøver økte eddiksyrekonsentrasjonen under lagring, mens den forholdt seg tilnærmet stabil for de andre prøvekombinasjonene. Siden metabolisering av sitronsyre vil foregå så lenge fermenterbare sukker som laktose er til stedet, var det forventet at konsentrasjonen av sitronsyre skulle gå ned og konsentrasjonen av eddiksyre skulle øke. Denne økningen i eddiksyrekonsentrasjon i CT- og DT-prøver under lagring viser at det fortsatt var mye sitronsyre igjen i disse prøvene under fermentering, men også at Tjukkmjølkk fortsatt hadde sitratmetabolisme etter endt syrning. pH til prøvekombinasjoner med pulver A og D fermentert med hhv. Tjukkmjølkk og CHN-11 hadde signifikant lavere pH ved endt syrning, enn kombinasjoner laget med pulver C (hhv. pH 4.56, 4.55, 5.14, 4.96, 4.68 og 4.66 i AT-, AU-, CT-, CU- DT- og DU-prøver). Det var altså ingen sammenheng mellom noe høyere pH i CT- og DT prøver og høy sitratkonsentrasjon i disse prøvene ved endt syrning.

Konsentrasjonen av sitronsyre var kun signifikant forskjellig mellom pulverene A (165 ppm) og D (721 ppm), hvor prøver laget med pulver D ga prøver med høyest konsentrasjon. For

konsentrasjoner av eddiksyre hadde prøver laget med pulver C (2201 ppm) signifikant høyere konsentrasjon enn prøver laget med pulver A (1244 ppm) og D (1272 ppm). Alle prøver laget forskjellig pulvertype hadde en del laktose under hele syrningsforløpet. Hva som forårsaket denne forskjellen i sitronsyrekonsentrasjon mellom bruk av pulver A og D er usikkert, men viser at bruk av pulver D hadde størst effekt på å gi prøver med økt sitronsyrekonsentrasjon. Det var naturlig å forvente at økt reduksjon av sitronsyre skulle gi økt produksjon av eddiksyre under syrningsprosessen, men siden eddiksyre i tillegg kan produseres fra heterofermentativ nedbrytning av laktose er ikke dette alltid et tilfelle (Walstra et al. 2006b). Dette kan være et tilfelle for den signifikant høyere eddiksyrekonsentrasjonen i prøver laget med pulver C, noe som tyder på at bruk av pulver C hadde størst effekt på å gi prøver med økt eddiksyrekonsentrasjon.

Det var forventet å observere produksjon av diacetyl og acetoin i produkter hvor sitronsyre ble metabolisert. Konsentrasjonen av acetoin og diacetyl økte signifikant i prøvene laget med forskjellig pulvertype etter lagring, der det kun ble observert signifikante forskjeller mellom bruk av pulverene A (hhv. 2,37 og 16 ppm) og C (4,36 og 802 ppm), der prøver med pulver C hadde høyest konsentrasjon. Det viser at bruk av pulver C hadde størst effekt på å gi prøver med økt konsentrasjon av diacetyl og acetoin. I tillegg ble det vist at prøvekombinasjoner med pulver A og fermentert med Tjukkmjølke (AT) hadde mye høyere diacetylkonsentrasjon enn kombinasjoner laget med pulver A og fermentert med CHN-11 (AU). Hva dette kommer av er usikkert, men viser at AT-prøvene hadde størst effekt på å gi prøver med høyest diacetylkonsentrasjon.

5.2.1.4 *Reologiske analyser*

En gel er et viskoelelastisk materiale som viser både viskøs og elastisk adferd (Tabilo-Munizaga & Barbosa-Ca'novas 2005). Dette er to reologiske egenskaper som beskriver en gel hos et fermentert meieriprodukt, og er to egenskaper som er viktig for den sensoriske kvaliteten til et produkt og for dets tiltalende utseende og behagelig munnfølelse. Viskositet er evnen et materiale har til å motstå deformasjon, mens elastisitet (tøyning) er evnen et materiale har til å gjennomrette sin opprinnelige form etter deformasjon inntraff. Elastisiteten leder til konservering av energi, mens viskositeten leder til tap av energi (Duboc & Mollet 2001).

Prøvenes viskøse adferd ble bestemt ved bruk av en rotasjonstest, mens deres viskoelastiske adferd ble bestemt ved bruk av en oscillasjonstest. Viskositeten til fermenterte meieriprodukter synker gjerne med økende skjærhastighet, noe som betyr at de er skjærtynnende. Det vil si at med økende omrøring, desto mer flytende blir produktet (Duboc & Mollet 2001). Dette var et tilfelle for alle fremstilte dipp-prøver, der viskositeten av prøvene sank gradvis ettersom den påførte skjærhastigheten økte logaritmisk fra 1-400 1/s. Dette er viktig for en god munnfølelse når produktet inntas, siden skjærhastigheten som påføres under tygging og svelging av et teksturert produkt er rundt 30-50 1/s (Duboc & Mollet 2001). Det ble observert at viskositeten til prøvene ved en skjærhastighet på 30 1/s var høyest for prøver tilsatt pulver A (ca. 5 Pa*s), enn pulver C og D (ca. 1-2 Pa). Den samme trenden av viskositet ble vist ved prøvenes toppunktet, der viskositeten var signifikant høyere ved toppunktet for prøver tilsatt pulver A (85 Pa*s), enn C og D (hhv. 7,9 og 11 Pa*s). Dette viser at prøver laget med pulver A vil trenge en større "tyggekraft" (skjærkraft) for å bli flytende, og dermed gir en forbedret munnfølelse når produktet inntas.

Som nevnt tidligere er laktose i melka energikilden til syrekulturen, mens proteinet spiller en viktig rolle for dannelsen av koagel og dermed er konsistensen/viskositeten av produktet avhengig av proteininnholdet til stedet i melka (Tamime & Robinson 1999a). Den endelige strukturen til et fermentert melkeprodukt avhenger av forholdet mellom kasein og myseprotein, men også andre faktorer som proteinanrikning, varmebehandling, inkubasjonstemperatur og syrekultur (Heertje et al. 1985; Robinson et al. 2006). Som følge av økt proteinkonsentrasjon (10 %) og varmedenaturering av myseproteiner (91 °C, 5 min) forbedres konsistensen til prøvene, og under syrning vil dermed de denaturerte myseproteinene delta i geldannelsen (Robinson et al. 2006). Når

ønsket pH er nådd ($\text{pH} < 4,5$) kjøles gelen ned og forårsaker forbedret tekstur og økt fasthet av gelen (Heertje et al. 1985; Robinson et al. 2006). Det er usikkert hvorfor bruk av pulver A ga prøver med signifikant høyere viskositet enn ved bruk av pulver C og D, men det viser at bruk av pulver A ser ut til å ha større effekt på den viskøse adferden til produktet, og dermed også munnfølelsen når prøven inntas (Mezger 2006a). Det kan spekuleres på om det er kombinasjonen av høyere kasein til myseproteinkonsentrasjon og signifikant lavere pH ved endt syrning som førte til høyere viskositet i prøver tilsatt pulver A, enn ved tilsetning av pulver C og D. pH til A-, C- og D-prøver ved endt syrning var hhv. pH 4.60, 5.04 og 4.75. Altså var det kun A-prøver som hadde pH nær 4,5, som var ønsket pH ved endt syrning.

Under reologisk analyse av prøvene hadde prøver laget med pulver A signifikant høyere skjærspenning (70 Pa), og signifikant lavere tøyningen (55 %) enn prøver tilsatt pulver C (hhv. 7,3 Pa og 76 %) og D (hhv. 10 Pa og 83 %). Det var forventet at viskositeten til skjærtynnende meieriprodukter skulle synke under omrøring. Viskositeten til slike produkter har også evnen til å øke igjen når kraften opphører, men det avhenger av den påførte omrøringskraften. Slike produkter har noe som kalles for flytgrense, som er punktet der den interne strukturen brytes i en slik grad at materialet flyter (Mezger 2006b).

Prøver laget med pulver A som hadde signifikant høyere skjærspenning ser ut til å ha større evne til å motstå deformasjon enn ved bruk av pulver C og D, siden det kreves en større kraft for å nå dette flytpunktet. Derimot hadde prøver laget med pulver A signifikant lavere tøyning, noe som antyder at prøver med pulver A har mindre evne til å gjenopprette sin opprinnelige form etter en deformasjon, enn ved bruk av pulver C og D. Dette er to viktige egenskaper med tanke på at det er ønskelig å kunne røre opp prøvene før konsumering, ved f.eks. inblanding av ulike krydder eller urter. En ønsker da at produktet ikke skal bli for tyntflytende etter denne omrøringen. Andelen aggregerte proteiner som danner det begynnende gelnettverket ser ut til å bestemme typen gelnettverk (mikrostruktur) og permeabilitet (en funksjon av mikrostruktur og andre egenskaper) (Foegeding et al. 2002). Siden prøver laget med pulver D hadde en større andel myseproteiner til kasein i melkeblandingen, og endte opp med en høyere pH enn A-prøver, spekuleres det om dette forårsaket økt elektrostatiske frastøtning (mellom micellene og β -kasein) og økt reaktivitet av frie tiolgrupper (SH) forårsaket proteinene å folde seg ut mer ekstremt og aggregere raskere, og dermed føre til økt elastisitet i gelnettverket (Foegeding et al. 2002; Robinson et al. 2006). En mulig årsak

til høyere elastisitet i prøver laget med pulver C enn A kan være at den økte mengden tilsatt pulver i melkeblanding forstyrret geldannelsen, og sammen med en høyere pH under syrning forårsaket høyere elastisitet.

5.2.1.5 Sensoriske analyser

Til sensorisk bedømmelse av både fremstilte prøver (AT, AU, CT, CU, DT, DU) og kommersielle prøver (L, M) ble det benyttet et dommerpanel bestående av 4 menn og 5 kvinner i forskjellig alder, med noe erfaring i sensorisk bedømmelse. Prøvene ble servert til dommerpanelet og bedømt ved en temperatur på ca. 4 °C og ved bruk av en poengskala fra 1 til 7, hvor en skårverdi på 1 betydde ingen/lav/dårlig og en skårverdi på 7 betydde god/høy skår for den aktuelle egenskapen. Standardavvikene fra besvarelsene var høye, men var i tillegg generelt like brede for alle prøvekombinasjonene, noe som indikerer at det var stor variasjon i verdi av sensoriske egenskaper mellom dommerne i panelet.

Det var mange signifikant forskjeller i verdi av sensoriske egenskaper ved bruk av forskjellig pulvertype, lagring og prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, men også mellom prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak.

5.2.1.5.1 Bitter smak

Bitter smak viste signifikante forskjeller i skårverdi mellom prøver ved bruk av forskjellig pulvertype og som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak. Bitter smak kommer som følge av produksjon av bitre peptider som dannes fra proteolytiske reaksjoner, og er generelt relatert til hydrofobisiteten av aminosyrene i peptidene. Kasein, som er en rik kilde for hydrofobe aminosyrer kan derfor resultere i en bitter smak som følge av aktivitet av proteaser (enzymmer) under fermentering. Myseproteiner kan være mindre hydrofobe enn kaseiner, men kan likevel gi peptider med en bitter smak (Kilara & Panyam 2003).

Prøver tilsatt pulver A var signifikant mer bitter enn ved tilsetning av pulver C og D (hhv. verdi på 2,49, 1,97 og 2,13), men generelt var dette veldig lave skårverdier av bitter smak for alle prøvene. Siden prøver tilsatt pulver A og C hadde høyest, men også lik konsentrasjon av kasein i

melkeblandingen, var det forventet at disse prøvene skulle være mer bitter enn ved bruk av pulver D. Det som hovedsakelig var forskjellig i sammensetningen av prøver tilsatt pulver A og C ut i fra det som ble oppgitt av informasjon om proteinpulverene, var at prøver tilsatt pulver C inneholdt ca. 10 % mer laktose enn prøver tilsatt pulver A. Det ser ut til at den høye laktosekonsentrasjonen i pulver C kan ha kamuflert noe av den bitre smaken siden den hadde noe lavere skårverdi av bitter smak enn prøver tilsatt pulver A.

For prøver laget som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, var naturlige prøver signifikant mer bitter enn prøver tilsatt Holiday dipmix (hhv. verdi på 2,43 og 1,95). Det viser at Holiday dipmix kamuflerte den bitre smaken, noe som skyldes at Holiday dipmix var bestående av smaksstoffer som løk og paprika som kan være med på å kamuflere bitter smak i prøvene.

For ulike prøvekombinasjoner som naturell var prøver tilsatt pulver A og fermentert med hhv. Tjukkmjølk eller CHN-11 (AT, AU) signifikant mer bitter enn Lettrømme. Som nevnt ovenfor var prøver tilsatt pulver A og naturlige prøver signifikant mest bitter blant de proteinanrikede prøvene. Det kan også nevnes at bruk av forskjellig kultur ikke hadde effekt på bitter smak. Det var derfor ikke overraskende at naturlige prøvekombinasjoner med pulver A (AT- og AU-prøver) var signifikant forskjellig fra Lettrømme. Det høye fettinnholdet i Lettrømme (18 % fett, 2,8 % protein) kan være med på å kamuflere eventuell bitter smak i Lettrømme, og kan derfor være en mulig årsak til at naturlige prøver tilsatt pulver A (0,1 % fett) var signifikant mer bitter enn Lettrømme. Tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere verdier for bitter smak, noe som skyldes at Holiday dipmix var bestående av smaksstoffer som løk og paprika som kan være med på å kamuflere bitter smak i prøvene.

5.2.1.5.2 Besk smak

Verdier av besk smak viste signifikante forskjeller mellom prøver ved bruk av forskjellig pulvertype og som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak. Hva som forårsaker besk smak er usikkert, men det var noe som ikke var ønskelig da det kan gi en ”ubehagelig” smak.

Prøver tilsatt pulver A var signifikant mer besk enn ved tilsetning av pulver C og D (hhv. verdi på 2,95, 2,40 og 2,32), men generelt var dette veldig lave skårverdier av besk smak for alle prøvene.

Hva denne forskjellen i besk smak kommer av mellom prøver laget med ulike pulvertyper er usikkert, men det viser at bruk av pulver A hadde størst effekt på å gi prøver med mest besk smak.

For prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix var naturlige prøver signifikant mer besk enn prøver tilsatt Holiday dipmix (hhv. verdi på 2,91 og 2,18). Det viser at dipmixen kamuflerte den beske smaken som følge av de forskjellige smaksstoffene som dipmixen inneholdt, slik som løk og paprika.

For naturlige prøvekombinasjoner ble det vist at prøver tilsatt pulver A og C, og fermentert med hhv. Tjukkmjølke og CHN-11 (AT, AU, CT, CU) var signifikant mer besk enn de kommersielle produktene Mager Kesam (unntatt CU-prøver) og Lettrømme. Det viser at naturlige prøvekombinasjoner med pulverene A og C fermentert med hhv. Tjukkmjølke eller CHN-11 hadde størst effekt på å gi prøver som var signifikant mer besk enn Lettrømme og Mager Kesam. I tillegg ble det vist at AT-prøvene var signifikant mer besk enn CU-prøver og prøver tilsatt pulver D som ble fermentert med hhv. Tjukkmjølke og CHN-11 (DT, DU). Det høye laktoseinnholdet i C- og D-prøver kan ha kamuflert noe av den beske smaken i disse prøvene, og kan være årsaken til at AT-prøvene var signifikant mer besk. Det kan nevnes at bruk av forskjellig kultur ikke hadde effekt på besk smak, så hva som gjorde at CT-prøver ikke var signifikant forskjellig fra AT-prøver er usikkert. Tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere verdier for besk smak, og som tidligere nevnt kommer av ulike smaksstoffer som løk og paprika som er å finne i dipmixen.

5.2.1.5.3 Fnokker

Det var signifikante forskjeller i skårverdi av fnokker for prøver ved bruk av forskjellig pulvertype, lagring av prøver og mellom prøvekombinasjoner som naturell. Fnokker refereres som tilstedeværelse av store synlige proteinaggregater. En vanlig årsak til dette er bruk av for høy inkubasjonstemperatur, overdreven myseprotein til kasein forhold og for høy aktivitet av syrekulturen. For høye konsentrasjoner av myseproteiner i syregeler senker brudd belastningen, slik at gelen blir mer sprø, og dermed en økning i pH ved geldannelsen (Lucey 2004).

Prøver tilsatt pulver A viste signifikant høyere skårverdi av fnokker enn ved tilsetning av pulver C og D (hhv. verdi på 5,17, 2,27 og 2,75), der C-prøver hadde lavest skårverdi. Under syrning av

prøver tilsatt pulver A ble det observert at geldannelsen begynte tidligere i disse prøvene (resultater ikke vist), enn for prøver tilsatt pulver C og D. Det viser at den begynnende geldannelsen skjedde fortere ved bruk av pulver A, og kan være årsaken til dannelse av store synlige proteinaggregater i disse prøvene.

For lagring av prøver hadde lagrede prøver signifikant høyere skårverdi av fnokker enn ferske prøver (hhv. verdi på 3,71 og 3,3,14). Dette henger nok sammen med den økte melkesyreproduksjon etter lagring av prøver.

For naturlige prøvekombinasjoner ble det vist at prøver tilsatt pulver A og fermentert med hhv. Tjukkmjølke og CHN-11 (AT, AU) var signifikant mest fnokket, hvorav AU-prøver hadde signifikant høyeste skårverdi. Blant disse var prøver tilsatt pulver C eller D, og fermentert med hhv. Tjukkmjølke og CHN-11 (CT, CU, DT, DU) signifikant mer fnokket enn Mager Kesam (unntatt CT, CU-prøver) og Lettrømme. Det viser at de proteinanrikede prøvene generelt hadde størst effekt på å gi prøver som var signifikant mer fnokket, hvorav forskjellen i mengde fnokker mellom prøver laget med ulike pulvertyper var størst for prøver tilsatt pulver A og fermentert med CHN-11. Tilsetning av Holiday dipmix hadde ingen effekt på skårverdier for fnokker i prøvegruppen.

5.2.1.5.4 Sur smak

Sur smak viste signifikante forskjeller i skårverdi mellom prøver ved bruk av forskjellig pulvertyper og prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak. Den syrlige smaken på melk er normalt uttrykt som pH, og pH fall skyldes fermentering av laktose til melkesyre (Walstra et al. 2006c).

Prøver tilsatt pulver A hadde signifikant mer sur smak enn prøver laget med pulver C og D (hhv. verdi på 4,02, 2,98 og 3,23). Prøver laget med pulver A og D hadde signifikant lavere pH etter endt syrning, men derimot var det prøver laget pulver C som hadde høyest melkesyrekonsentrasjon. Hva som gjorde at prøver laget med pulver A var surere er usikkert, men det viser at bruk av pulver A hadde større effekt på å gi produkter med mer sur smak.

For prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix hadde naturelle prøver signifikant høyere skårverdi av sur smak enn prøver tilsatt Holiday dipmix (hhv. verdi på 3,61 og 3,21). Det viser at dipmixen kamuflerte den sure smaken.

Blant naturelle prøvekombinasjoner var Mager Kesam og prøver tilsatt pulver A og fermentert med hhv. Tjukkmjølkk og CHN-11 (AT, AU) signifikant surere enn Lettrømme og prøver tilsatt pulver C og D fermentert med hhv. Tjukkmjølkk og CHN-11 (CT, CU, DT (unntatt AU-prøver), DU). Det viser at prøvekombinasjoner med pulver A fermentert med hhv. Tjukkmjølkk og CHN-11, og Mager Kesam hadde størst effekt på å gi prøver som var signifikant mer surere. Tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere sur smak i prøvegruppen, noe som muligens kommer av de ulike smaksbestanddelene som er å finne i dipmixen.

5.2.1.5.5 Trådtrekkende

Det var signifikante forskjeller i skårverdi av trådtrekkende mellom prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix og mellom prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak. Trådtrekkenhet i fermenterte meieriprodukter kommer av EPS produserende MSB, og produksjon av EPS avhenger av sammensetningen av vekstmediet (karbon og nitrogenkilder) og forholdene stammene vokser i (temperatur, pH, oksygen tilførsel og inkubasjonstid). For å få størst utbytte av EPS kreves en optimal balanse mellom karbon og nitrogenkilder, noe som kan forklares ved at MSB avhenger av nitrogen tilførsel for cellyntesen (vekst), og karbonkilden hovedsakelig brukes for energi generering (Degeest et al. 2001).

For prøver med forskjellig smak hadde prøver som naturell signifikant høyere skårverdi av trådtrekkenhet enn prøver tilsatt Holiday dipmix (hhv. verdi på 3,09 og 2,27). Det viser at tilsetning av Holiday dipmix til prøver hadde effekt på å kamuflere trådtrekkenheten. Det viser at Holiday dipmix inneholdt komponenter som dempet trådtrekkenheten, og spekuleres på om dette skyldes innhold av komponenter som potetstivelse i dipmixen, som er et fortykningsmiddel som har den evnen å øke viskositeten av produktet.

Blant naturelle prøver i prøvegruppen var C- og D-prøver fermentert med Tjukkmjølkk (CT, DT) signifikant mest trådtrekkende, og A-prøver fermentert med CHN-11 (AU) og Mager Kesam signifikant minst trådtrekkende. Det viser at CT- og DT-prøvene hadde størst effekt på å øke

trådtrekkenheten i prøvene, mens Mager Kesam og AU-prøvene hadde minst effekt. Siden CT- og DT-prøver var fermentert med Tjukkmjøl som bestod av EPS-produserende melkesyrebakterier som forårsaker denne trådtrekkende konsistensen, var det forventet at disse prøvene skulle være mer trådtrekkende. Ettersom AU-prøvene som var fermentert med CHN-11, en syrekultur ikke bestående av EPS-produserende stammer, var det forventet at disse prøvene skulle være minst trådtrekkende. Tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere trådtrekkenhet i prøvegruppen, og kommer som tidligere nevnt muligens av komponenter som potetstivelse i dipmixen.

5.2.1.5.6 Tørrhet

Skårverdi av tørrhet var signifikant forskjellig mellom prøver ved bruk av forskjellig pulvertyper og som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell og med forskjellig smak. Fermenterte meieriprodukter med et lavt fett- og høyt proteininnhold har lett for å gi en tørrhet i munnen.

Prøver tilsatt pulver A viste signifikant høyere skårverdi av tørrhet enn ved tilsetning av pulver C og D (hhv. verdier på 3,67, 2,46 og 3,20), der prøver tilsatt pulver C var minst tørr. Selv om det var signifikante forskjeller i tørrhet var det ingen signifikante forskjeller i fet smak og kremethet ved bruk av forskjellig pulver. Denne forskjellen i tørrhet kan komme av ulik behandling av melken ved fremstilling av de ulike pulvertypene, men også en forskjell i innhold av kasein og myseproteiner i pulverene. På grunn av manglende informasjon om behandling av pulverene under fremstilling var det vanskelig å si noe mer om dette. Det kan i tillegg til dette spekuleres på om signifikant forskjell i viskositet mellom prøvene kan være en årsak til denne forskjellen i tørrhet, der A-prøvene som hadde signifikant høyere viskositet også var med på å øke tørrheten til prøvene. Hvordan viskositeten påvirket tørrheten er usikkert.

Prøver som naturell viste signifikant høyere skårverdi av tørrhet enn prøver tilsatt Holiday dipmix (hhv. verdi på 3,35 og 2,83). Det viser at Holiday dipmix hadde effekt på å kamuflere tørrhet og dermed føre til reduserte verdier for tørrhet i prøvene. Denne kamufleringen av tørrhet i prøvene ved bruk av Holiday dipmix kan komme av at ulike komponenter som paprika, løk og salt som sammen med smaksforsterkende komponenter som natriumglutamat som er å finne i dipmixen, kamuflerte den tørre smaken.

For naturlige prøvekombinasjoner var kombinasjoner laget med pulver A- og D fermentert med hhv. Tjukkmjølke og CHN-11 (AT, AU, DT, DU), og Mager Kesam signifikant tørrere enn Lettrømme. I tillegg var AT- og AU-prøver signifikant tørrere enn kombinasjoner med pulver C fermentert med hhv. CHN-11 og Tjukkmjølke (CU, CT), og Mager Kesam og AU-prøver signifikant tørrere enn CU-prøver. Dette henger nok sammen med at Lettrømme hadde høyere fettinnhold (18 % fett) og lavere proteininnhold (2,8 % protein) enn prøvekombinasjoner laget med forskjellig pulvertypen (< 1 % fett, 10 % protein) og Mager Kesam (1 % fett, 12 % protein). Det er vanskelig å si hva som gjorde at CU-prøver var mindre tørr enn Mager Kesam og AU-prøver, men det kan spekuleres på om signifikant høyere viskositet for AT-prøver og Mager Kesam enn CU-prøver kan være en av flere mulige årsaker til dette. Tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere skårverdier for tørrhet i prøvegruppene. Som tidligere nevnt kan denne reduserte tørrheten ved bruk av Holiday dipmix komme av komponenter som paprika, løk og salt som sammen med smaksforsterkende komponenter som natriumglutamat som er å finne i dipmixen

5.2.1.5.7 Viskositet

Det var signifikante forskjeller i viskositet for prøver laget med forskjellige pulvertypen, som naturlig og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturlig og med forskjellig smak. Som nevnt tidligere er laktose i melk energikilden til syrekulturen, mens proteinet spiller en viktig rolle i dannelsen av koagel og dermed er konsistensen/viskositeten av produktet avhengig av proteininnholdet til stedet (Tamime & Robinson 1999a). Forholdet mellom kasein og myseprotein er av betydning for den endelige gelstrukturen, men også andre faktorer som proteinanrikning, varmebehandling, inkubasjonstemperatur og syrekultur (Heertje et al. 1985; Robinson et al. 2006).

Prøver med pulver A viste signifikant høyere viskositet enn ved bruk av pulver C og D (hhv. 6,32, 3,99 og 4,10 poeng). Denne forskjellen kommer muligens på grunn av pulverens fremstillingsmetode, noe som dessverre ikke var mulig å få informasjon om, men det viser at bruk av pulver A hadde større effekt på å øke viskositeten til prøvene. Samtidig kan det nevnes at prøver laget med pulver C og D hadde signifikant høyere laktosekonsentrasjon enn ved bruk av pulver A, hvorav pulver C hadde høyest laktosekonsentrasjon. Det er kjent at laktose har en beskyttende

effekt mot denaturering (av myseproteiner), noe som dermed kan ha forårsaket at mindre grad av denaturerte myseproteiner i disse pulverene (Torres et al. 2011). Det spekuleres derfor på om dette kunne være en medvirkende årsak til lavere viskositet i prøver laget med pulver C og D. I tillegg kan det nevnes at produkter laget med pulver C hadde en høyere andel kasein enn myseproteiner. Det spekuleres derfor på om en kombinasjon av signifikant høyere pH i disse prøvene ved endt syrning (pH 5,04) forårsaket utilstrekkelig syrning, som sammen med et høyt laktoseinnhold kan være en medvirkende årsak til denne lavere viskositeten i C-prøvene.

Prøver som naturell og tilsatt Holiday dipmix viste signifikant høyere viskositet etter tilsetning av Holiday dipmix (hhv. 4,59 og 5,09 poeng). Det viser at Holiday dipmix økte viskositeten til prøvene, og spekuleres på om dette skyldes komponenter som potetstivelse i dipmixen, som er et fortykningsmiddel som har den evnen å øke viskositeten av produktet.

For naturlige prøvekombinasjoner hadde Mager Kesam og prøver tilsatt pulver A og fermentert med hhv. Tjukkmjølke og CHN-11 (AT, AU) signifikant høyeste viskositeten, mens prøver tilsatt pulver C og D og fermentert med CHN-11 (CU, DU) hadde signifikant laveste viskositet. Dette viser at en kombinasjon av både pulvertype og kultur hadde effekt på viskositeten til de ulike proteinanrikede prøvekombinasjonene, der bruk av pulver A og fermentering med CHN-11 hadde størst effekt på å øke viskositeten til prøvene. Denne forskjellen mellom de proteinanrikede prøvekombinasjonene kommer muligens på grunn av pulvernes fremstillingsmetode, noe som dessverre ikke var mulig å få informasjon om. Mager Kesam (12 %) hadde høyere proteininnhold enn prøvekombinasjoner laget med pulver C og D (10 %) og Lettrømme (2,8 %) er en mulig årsak til signifikant høyere viskositet i Mager Kesam. Denne forskjellen i viskositet mellom Lettrømme og proteinanrikede prøvekombinasjoner kommer muligens på grunn av økt proteininnhold i proteinanrikede prøver, men også en kombinasjon av kulturtype. Dette viser at AT- og AU-prøver var mest lik Mager Kesam, mens CT- og DT-prøver var mest lik Lettrømme i forhold til viskositet.

5.2.1.5.8 Helhetsinntrykk

Det var signifikante forskjeller i poengskår av helhetsinntrykk for prøver ved bruk av forskjellig pulvertype og prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell. Vurdering av helhetsinntrykk ble basert på de forskjellige sensoriske egenskapene som de forskjellige prøvene fikk. Basert på dette fikk prøver tilsatt pulver

A signifikant lavere helhetsinntrykk enn prøver tilsatt pulver C og D (hhv. 2,54, 3,41 og 3,40 poeng). Etter tilsetning av Holiday dipmix økte helhetsinntrykket til prøvene. For naturlige prøvekombinasjoner fikk Lettrømme og Mager Kesam signifikant høyest helhetsinntrykk, og var signifikant lavest for prøver tilsatt pulver A og fermentert med CHN-11 (AU). Mellom de proteinanrikede prøvekombinasjonene hadde prøver tilsatt pulver C og D signifikant høyere helhetsinntrykk, enn prøver laget med pulver A. Dette viste at de kommersielle prøvene var best likt, og at prøver laget med pulver C og D var bedre likt enn ved bruk av pulver A.

Aspekter som førte til disse forskjellene i helhetsinntrykk mellom ulike prøvekombinasjoner kan komme av at et produkt var bra på mange måter, men fikk dårlig helhetsinntrykk på grunn av f.eks. dårlig viskositet eller smak. Så da kan et produkt få dårlig helhetsinntrykk på grunn av tynn konsistens, mens et annet produkt får dårlig helhetsinntrykk på grunn av dårlig smak. Samtidig er det viktig å huske på at disse produktene ble vurdert av et delvis utrenet dommerpanel, hvor bedømmelse av produkter ble gjort med noen ukjente egenskaper.

De egenskapene hvor bruk av forskjellig pulvertype virket å ha størst innvirkning på helhetsinntrykket til prøvene var poengskår av besk smak og fnokker. Begge disse egenskapene var noe som ikke var ønskelig i produktene, og viste seg å bli dårlig likt av dommerpanelet. Dette kommer av at det var en sammenheng mellom at en økning i besk smak og mengde fnokker i prøver, ga dårligere helhetsinntrykk i alle prøvekombinasjoner. Fnokker i produktet er noe konsumenten vil legge merke til og kan være en årsak til at det ikke blir likt. Hva besk smak kommer av er usikkert, men det er noe som gir en negativ smaksopplevelse av produktet og vil derfor føre til at konsumenten ikke vil like produktet. Det ble vist at prøver laget med pulver C og D hadde signifikant mindre besk smak og færre mengde fnokker enn prøver laget med pulver A, og er trolig de viktigste årsakene til at bruk av pulver C og D var bedre enn pulver A.

5.2.2 Effekt på bruk av ulike kulturer

5.2.2.1 pH og melkesyre

Senking av pH er relatert til produksjon av melkesyre ved nedbrytning av laktose til melkesyre (Walstra et al. 2006b). Det var derfor forventet at pH skulle gå ned under syrning og lagring ettersom melkesyre ble produsert. Melkesyreproduksjonen og senking av pH under syrning og lagring avhenger bl.a. av syrekulturen som brukes. De fremstilte dipp-prøvene ble i dette forsøket podet med enten Tjukkmjølkk eller CHN-11 kultur.

Under syrning gikk pH ned i alle prøvene. Bruk av forskjellige kulturer viste signifikant innvirkning på pH etter lagring i 3 uker, hvor det ble observert signifikant lavere pH ved bruk av Tjukkmjølkk (pH 4,48) enn CHN-11 kultur (4,67). Bruk av forskjellige kulturer hadde ingen effekt på melkesyrekoncentrasjonen, men lagring av prøver i 3 uker viste signifikant høyere melkesyrekoncentrasjon enn ferske prøver. Hva denne forskjellen i pH kommer av er uklart, men det viser at produksjonen av melkesyre økte under lagring av prøver og at bruk av Tjukkmjølkk hadde signifikant større effekt av syrning på senking av pH etter lagring i 3 uker.

5.2.2.2 Kjemiske analyser

Det ble observert mange signifikante forskjeller i kjemiske sammensetning av de ulike prøvene ved bruk av forskjellige kulturer, og noen signifikante forskjeller for lagring av prøver.

5.2.2.2.1 Karbohydratmetabolisme

Under fermentering av laktose blir glukosedelen av laktose brukt fortere enn galaktosedelen av laktokokker, og ved slutten av vekstfasen blir mindre enn 5000 ppm (0,5 %) av laktose brukt av laktokokker (Mäyrä-Mäkinen & Bigret 2004). Fermentering av laktose er begrenset av melkesyreproduksjonen, som med økende hastighet hemmer syrekulturen (Narvhus et al. 1998). Prøver podet med Tjukkmjølkk hadde signifikant høyere galaktosekoncentrasjon (1498 ppm) enn CHN-11 prøver (1047 ppm). I tillegg hadde lagring av prøver signifikant høyere melkesyre- og galaktosekoncentrasjon (hhv. 16189 og 1686 ppm) enn ferske prøver (hhv. 13316 og 859 ppm), noe som viste til en fortsettelse av syrning under lagring av prøver.

I Tjukkmjølkk er det en stamme, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, som kan produsere slimdannende heteroeksopolysakkarider under fermentering av melk, og er årsaken til den

trådtrekkende konsistensen på Tjukkmjølkk (De Vuyst & Degeest 1999; Haug 1996). Bruk av EPS-produserende stammer i meieriprodukter kan være med på å redusere bruken av tilsetningsstoffer, da EPS kan fungere som en naturlig fortykningsagent siden det produseres *in situ* av MSB som er ansett som trygge MSB (Ruas-Madiedo et al. 2002). Heteropolysakkarider er bestående av repeterende enheter som varierer i størrelse fra di- til heptasakkarider, og hos mesofile MSB som produserer heteropolysakkarider kan de repeterende enhetene oftest være bestående av kombinasjoner av bl.a. D-glukose, D-galaktose og L-rhamnose (Ruas-Madiedo et al. 2002). Produksjon av EPS kan dermed være en mulig årsak til høyere galaktosekonsentrasjon i prøver podet med Tjukkmjølkk, da de repeterende enhetene i heteropolysakkaridet kan bestå av bl.a. D-galaktose. Det antyder at deler av produsert galaktose under fermentering brukes til oppbygging av de repeterende enhetene i heteropolysakkaridet, og er derfor årsaken til økt galaktosekonsentrasjon i prøver fermentert med Tjukkmjølkk.

5.2.2.2.2 Acetaldehyd og etanol

Konsentrasjon av acetaldehyd og etanol i prøver var signifikant påvirket av kulturtype. Prøver podet med Tjukkmjølkk hadde signifikant lavere acetaldehydkonsentrasjon og høyere etanolkonsentrasjon, enn CHN-11 prøver. Dette tyder på en større aktivitet av *Leuconostoc*-stammene i Tjukkmjølkk, som reduserer acetaldehyd til etanol ved hjelp av alkohol dehydrogenase (Tamime 2002). Likevel var konsentrasjonen av acetaldehyd veldig lav i alle prøver fermentert med ulike kulturer. Den lave konsentrasjonen av acetaldehyd kan tyde på at acetaldehyd produsert under fermentering er blitt redusert til etanol kontinuerlig, der aktiviteten av *Leuconostoc*-stammene i Tjukkmjølkk hadde noe større effekt på reduksjon av acetaldehyd til etanol, enn ved bruk av CHN-11 kultur. Siden konsentrasjoner av acetaldehyd for de ulike kombinasjonene var generelt veldig små, så har disse ingen sensorisk signifikans (Narvhus 2015a).

5.2.2.2.3 Sitratmetabolisme

Diacetyl og acetoin er et av flere sluttprodukter som kan dannes fra sitrat- og pyruvatmetabolisme (Walstra et al. 2006b). Det var signifikante forskjeller i konsentrasjon av sitronsyre, diacetyl og acetoin ved bruk av forskjellig kultur. Det ble vist at prøver fermentert med Tjukkmjølkk hadde signifikant høyere konsentrasjonen av sitronsyre og diacetyl, men signifikant lavere konsentrasjon av acetoin enn CHN-11 prøver. Samtidig ble det vist at prøver laget med pulver C og D fermentert med Tjukkmjølkk (CT, DT) hadde fremdeles sitronsyre igjen etter endt syring, og sank ytterligere

etter lagring i 3 uker, mens de andre prøvekombinasjonene var så å si all sitronsyre borte etter endt syrning. Økt konsentrasjon av sitronsyre etter endt syrning i prøver fermentert med Tjukkmjølkk antyder at sitratmetabolismen til *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* stammene i Tjukkmjølkk var tregere, enn de sitratmetaboliserende stammene (*Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og *Leuconostoc* ssp.) i CHN-11 kulturen (Walstra et al. 2006b). Det ble også vist økning i eddiksyrekonsentrasjon i prøver laget med pulver C og D fermentert med Tjukkmjølkk (CT, DT) etter lagring. Noe som speiler at sitronsyre fortsatt ikke var helt borte under fermentering, og at stammene i Tjukkmjølkk fortsatt hadde sitratmetabolisme etter endt syrning.

Under vekst av *diacetylactis* stammer i melk vil konsentrasjonen av både diacetyl og acetoin øke så lenge sitronsyre er til stede, siden sitronsyre undertrykker syntese av både diacetyl og acetoin reduktaser, enzymer som omdanner diacetyl til acetoin og videre til 2,3-butandiol (Walstra et al. 2006b). Det betyr at ved synkende konsentrasjon av sitronsyre vil konsentrasjonen av både diacetyl og acetoin gå ned med dannelse av hhv. acetoin og 2,3-butandiol. På samme tid vil også pH blitt lavere, noe som gjør at aktiviteten av disse enzymene også er blitt lavere. Likevel har *Leuconostoc* mye sterkere reduserende kapasitet enn *diacetylactis* stammer, der produksjonen av diacetyl og acetoin under vekst av *leuconostoc* i melk skjer kun under pH \approx 5,5 (Walstra et al. 2006b). Siden prøver podet med CHN-11 hadde signifikant lavere sitronsyrekonsentrasjon og inneholdt *diacetylactis* stammer i tillegg til *Leuconostoc* var det forventet signifikant lavere konsentrasjon av diacetyl og signifikant høyere konsentrasjon av acetoin i CHN-11 prøver enn Tjukkmjølkk prøver.

5.2.2.3 Reologiske analyser

Det var kun signifikant forskjell i måleverdi av tøyning ved bruk av forskjellig kultur, der prøver med Tjukkmjølkk fikk signifikant høyere tøyning enn prøver med CHN-11 kultur. Dette kan forklares ved at i Tjukkmjølkk er det en stamme, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, som kan produsere slimdannende eksopolysakkarider (EPS) (Haug 1996). Som det ble nevnt tidligere kan dette forklares ved at mikrostrukturen til gelnettverk med EPS er bestående av proteinmatrikser sammensatt av kaseinmiceller i kjeder og klynger, med vedheng av denaturert β -lactoglobulin komplekser (et myseprotein) på κ -kasein. Eventuelt fett som er i melkebasen vil være innesluttet i dette kaseinnettverket, og inni proteinmatriksen vil det også være kanaler med hulrom som inneholder trådtrekkende material som er festet til proteinnettverket. Dette trådtrekkende materiale som er i hulrommene vil være med på å hindre synereose, men også reformasjon av gelen etter omrøring (Tamime et al. 2006). Det ser derfor ut til at prøver med Tjukkmjølkk har større effekt på reformasjon av gelen etter en omrøring som følge av økt tøyning, enn ved bruk av CHN-11.

Under de reologiske analysene ble det også observert noe lavere verdier av lagrings- og tapsmoduler (G' og G'') i prøver med EPS produserende stammer (Tjukkmjølkk) enn i prøver uten EPS produserende stammer (CHN-11 kultur). Dette indikerer at den opprinnelige gel stivheten er lavere i prøver med Tjukkmjølkk enn med CHN-11 kultur. Det kreves derfor mer kraft for å penetrere gelen med EPS, enn en gel uten EPS. Denne lavere gel stivheten kommer av at protein-protein interaksjonene i gelnettverket blir forstyrret av EPS molekylene som er rundt inni dette protein nettverket (Tamime et al. 2006). Det indikerer at prøver med Tjukkmjølkk krever mer kraft for å penetrere gelen, og vil på grunn av økt verdi av tøyning kunne gjennomrette sin opprinnelige form i større grad enn ved bruk av CHN-11.

5.2.2.4 Sensoriske analyser

Det var mange signifikant forskjeller i poengskår av sensoriske egenskaper ved bruk av forskjellig kultur, lagring og prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, men også mellom prøvekombinasjoner som naturell og smaksatt med Holiday dipmix.

5.2.2.4.1 Fet smak og kremethet

For verdier av fet smak var det signifikante forskjeller mellom prøver ved bruk av forskjellig kultur, lagring av prøver og mellom prøvekombinasjoner som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Mens for kremethet ble det vist signifikante forskjeller ved bruk av forskjellig kultur, prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Fettkulene, som det er mye av i helmelk og tilnærmet ikke noe av i skummet melk, er årsaken til den kremete og "rike" smaken i melk. Hva som eksakt forårsaker kremethet er ikke fullt forstått enda, men det er mye sannsynlig at den fysiske tilstanden til fettkulene spiller en viktig rolle fordi kremethet kan bli forsterket av andre kuleformede partikler (Walstra et al. 2006c).

Prøver fermentert med Tjukkmjølkk hadde signifikant mer fet smak og kremethet (hhv. verdi på 2,89 og 4,37) enn ved bruk av CHN-11 (hhv. verdi på 2,26 og 2,85). EPS produsert av MSB har ingen smak, men siden fermenterte meieriprodukter blir mer viskøse som følge av EPS, øker dette oppholdstiden av det fermenterte produktet i munnen og tiden for kontakt med ganen og smaksreseptorene øker. Dette forårsaker en økt smaksoppfatning gjennom en forsterkning av smakskomponenter som er i det fermenterte produktet. Det kreves relativt lave konsentrasjoner av EPS for å oppnå disse fordelene (Duboc & Mollet 2001). Økte kremethet i prøver fermentert med Tjukkmjølkk kommer derfor av at disse prøvene inneholdt EPS-produserende stammer som forårsaker en mer trådtrekkende konsistens. Ved inntak av et slikt produkt økes dermed smaksoppfatningen som følge av økt oppholdstid i munnen, og dermed føles produktet mer kremet. Dette kan også være årsaken til økte verdier for fet smak i prøver fermentert med Tjukkmjølkk. Det viser at bruk av Tjukkmjølkk hadde effekt på å øke den fete smaken og kremetheten til produktene.

I dette tilfellet var endret munnfølelse forårsaket av polysakkarider dannet *in situ*. Det kan også nevnes at såkalte "fetterstattere" som f.eks. myseproteiner kunne være med på å forårsake økt kremethet, men også viskositet til produktene. Eksempel på slike "fetterstattere" er mikropartikkulerte myseproteiner (MPW) (Torres et al. 2011). Som nevnt tidligere gir produkter

med et høyt proteininnhold gjerne en tørr munnfølelse. Det ville da være naturlig å tro at bruk av slike "fetterstatter" som MPW og disse polysakkaridene kan være med på å dekke over tørr munnfølelse ved å øke kremetheten til produktet, selv om det ikke ble vist noe signifikant effekt av kulturtype på poengskår av tørrhet mellom produktene.

Lagring av prøver viste signifikant høyere poengskår av fet smak for ferske prøver enn lagrede prøver (hhv. verdi på 2,77 og 2,39). Hva som forårsaket reduserte fet smak under lagring er usikkert, men kan tyde på at redusert fet smak under lagring kunne være forårsaket av polysakkarider dannet *in situ* eller såkalte "fetterstatter" slik som mikropartikkulerte myseproteiner som nevnt ovenfor. Hvordan disse polysakkaridene og "fetterstatterne" fungerer i gelnettverket til produktene er uklart.

For prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix var naturelle prøver signifikant mer kremet enn prøver tilsatt Holiday dipmix (hhv. verdi på 3,78 og 3,46). Hvilke ingredienser i dipmixen som forårsaket denne reduserte kremetheten er usikkert, men viser at tilsetning av Holiday dipmix hadde effekt på å redusere kremetheten. Redusert kremethet kan være negativt hvis det er ønskelig å øke smaksopfatningen av produktet.

Mellom naturelle prøvekombinasjoner hadde Lettrømme signifikant mest fet smak. Bland disse prøvene var prøver tilsatt pulver C og D, og fermentert med Tjukkmjøl (CT, DT) og Mager Kesam signifikant mer fet smak, enn prøver tilsatt pulver C og fermentert med CHN-11 (kun CT-prøver) og prøver tilsatt pulver A og fermentert med CHN-11 (AU). Dette henger sammen med at Lettrømme hadde mye høyere fettinnhold (18 %) enn de andre prøvene (< 0,1 % fett i proteinanrikede prøver og 1 % fett i Mager Kesam). Som tidligere konstatert ser det ut til at fermentering med Tjukkmjøl hadde større effekt på å øke verdier av fet smak i prøvene, enn ved bruk av CHN-11. Det ble også vist at tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere fet smak i prøvene. Hvilke ingredienser i dipmixen som forårsaket denne redueringen av fet smak i prøvene er uklart.

Det var også signifikante forskjeller i verdi av kremethet mellom naturelle prøvekombinasjoner, der Lettrømme og prøver fermentert med Tjukkmjøl (AT, CT, DT) hadde signifikant høyere verdi

av kremethet, enn prøver fermentert med CHN-11 (AU, CU, DU). Det var forventet at Lettrømme skulle være mer kremet på grunn av det høye fettinnholdet. Høyere kremethet i Tjukkmjølkeprøver kommer av de trådtrekkende stammene som er å finne i Tjukkmjølke. Det ble også vist at Mager Kesam var signifikant mer kremet enn de proteinanrikede prøvene, med unntak av CT-prøver. Dette kan komme av at Mager Kesam hadde vært fremstilt på en annen måte enn de proteinanrikede prøvene, men hadde også noe høyere protein- (hhv. 12 og 10 %) og fettinnhold (hhv. 1,0 og < 0,1 %). Fremstilling av Mager Kesam har blitt gjort ved å syrne melken først, og deretter mysa blitt fraskilt og massen bearbeidet for å få en god konsistens, mens ved fremstilling av de proteinanrikede prøvene har tørrstoffinnholdet blitt regulert først og deretter latt syringen gått til ønsket pH ((Narvhus 2015b). Det ble også vist at tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å redusere verdier for kremethet i prøvegruppen. Som forklart tidligere er det usikkert hvilke ingredienser i dipmixen som forårsaket denne reduserte kremetheten i prøvene, men det viser at tilsetning av Holiday dipmix hadde effekt på å redusere kremetheten.

5.2.2.4.2 Fnokker

Det var signifikante forskjeller i mengde av fnokker for prøver ved bruk av forskjellig kultur. Som nevnt tidligere er fnokker referert som tilstedeværelse av store synlige proteinaggregater, og en vanlig årsak til dette kan være for høy aktivitet av syrekulturen (Lucey 2004). Prøver fermentert med CHN-11 viste signifikant høyere mengde av fnokker enn prøver fermentert med Tjukkmjølke (hhv. verdier på 3,79 og 3,06). Dette tyder på en større aktivitet av stammene i CHN-11 enn i Tjukkmjølke. Prøver fermentert med CHN-11 hadde noe raskere syring enn Tjukkmelkeprøvene kun etter lagring i 3 uker.

5.2.2.4.3 Prikkende (på tungen)

Det var signifikante forskjeller i poengskår av prikkende (på tungen) i prøver ved bruk av forskjellig kultur og lagring av prøver, og mellom prøvekombinasjoner som naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Prikkingen på tungen kommer av produksjon av CO₂ (Walstra et al. 2006b).

Prøver podet med Tjukkmjølke viste signifikant høyere verdi av prikkende enn prøver fermentert med CHN-11 (hhv. verdier på 2,30 og 2,04). Både Tjukkmjølke og CHN-11 kulturene har CO₂ produserende *Leuconostoc*-stammer, men i tillegg har CHN-11 *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* som også kan produsere CO₂ ved metabolisering av sitronsyre (Walstra et al.

2006b). Det var derfor ikke forventet at prøver med Tjukkmjølkk skulle ha større verdi av prikkende på tungen, enn prøver med CHN-11 kultur. Det tyder på en større aktivitet av CO₂ produserende stammer i prøver med Tjukkmjølkk enn CHN-11 kulturen.

Mellom ferske og lagrede prøvekombinasjoner var lagrede prøver signifikant mer prikkende enn ferske prøver (hhv. verdier på 2,35 og 2,01). Det tyder på økt CO₂ produksjon i prøver under lagring.

For naturlige prøvekombinasjoner var Lettrømme signifikant mer prikkende enn prøvekombinasjoner fermentert med Tjukkmjølkk (AT, CT, DT), og A-prøver fermentert med CHN-11 (AU). Tilsetning av Holiday dipmix hadde signifikant effekt på å øke verdier av prikkenhet i prøvene. Hvilke ingredienser i dipmixen som forårsaket denne økningen er usikkert.

5.2.2.4.4 Trådtrekkende

Det var signifikante forskjeller i poengskår av trådtrekkende i prøver ved bruk av forskjellig kultur. Det var ønskelig med ingen eller litt trådtrekkendhet i prøvene, da det kan virke uappetittlig med for mye trådtrekkenhet. Meieriprodukter fermentert ved bruk av en EPS-produserende melkesyrekultur, får gjerne en høyere viskositet og lavere grad av synerese (myse separasjon), sammenlignet med produkter fermentert uten EPS produserende melkesyrekultur. Slike produkter får også gjerne en trådtrekkende karakter, herav navnet "trådtrekkende" (Tamime et al. 2006). Prøver fermentert med Tjukkmjølkk viste signifikant høyere verdi av trådtrekkende enn prøver fermentert med CHN-11 (hhv. verdier på 3,49 og 1,86). Det var forventet med mer trådtrekkenhet i Tjukkmjølkk-prøvene enn CHN-11-prøvene siden Tjukkmjølkk har EPS-produserende stammer som er årsaken til den trådtrekkende karakteren (Tamime et al. 2006). Fermentering med Tjukkmjølkk hadde altså effekt på å gi prøver med økt verdi av trådtrekkenhet. Derimot så virker det å ikke være en sammenheng mellom høy trådtrekkende og fin munnfølelse, altså er det noe som ikke stemmer her. Dette kunne man se ut i fra resultatene til prøvekombinasjonene, hvor helhetsinntrykket ble forbedret med økende poengskår av kremethet og fet smak, og minkende trådtrekkenhet i prøvene. Det viser at høy trådtrekkendhet ikke var sammenlignbart med fin munnfølelse i dette tilfellet. Det ble også tidligere nevnt at trådtrekkenheten i prøvene kunne reduseres ved tilsetning av Holiday dipmix, men litt trådtrekkenhet i prøvene går bra.

5.2.2.4.5 Viskositet

Det var signifikante forskjeller i poengskår av viskositet for prøver ved bruk av forskjellig kultur. Prøver fermentert med Tjukkmjølkk viste signifikant høyere viskositet enn prøver fermentert med CHN-11 (hhv. verdier på 5,22 og 4,41). Dette henger nok sammen med at meieriprodukter bestående av EPS-produserende melkesyrekultur får gjerne en høyere viskositet, men også lavere grad av synerese (myse separasjon), sammenlignet med produkter fermentert uten EPS produserende melkesyrekultur (Tamime et al. 2006).

5.2.2.4.6 Helhetsinntrykk

Det var signifikante forskjeller i poengskår av helhetsinntrykk for prøver ved bruk av forskjellig kulturer og prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix, og mellom prøvekombinasjoner som naturell. Vurdering av helhetsinntrykk ble basert på de forskjellige sensoriske egenskapene som de forskjellige prøvene fikk. Basert på dette fikk prøver fermentert med Tjukkmjølkk signifikant høyere helhetsinntrykk enn prøver fermentert med CHN-11 (hhv. 3,48 og 2,70 poeng). Etter tilsetning av Holiday dipmix økte helhetsinntrykket til prøvene. For naturlige prøvekombinasjoner fikk Lettrømme og Mager Kesam signifikant høyest helhetsinntrykk, og var signifikant lavest for prøver tilsatt pulver A og fermentert med CHN-11 (AU). Mellom de proteinanrikede prøvekombinasjonene hadde prøver fermentert med Tjukkmjølkk generelt signifikant høyere helhetsinntrykk, enn prøvekombinasjoner fermentert med CHN-11. Bland disse hadde prøver laget med pulver C og D, fermentert med Tjukkmjølkk (CT, DT) signifikant høyere helhetsinntrykk enn prøver laget med pulver A og fermentert med CHN-11 (AT). Dette viser at de kommersielle prøvene var best likt, og at prøver fermentert med Tjukkmjølkk var bedre likt enn prøver fermentert med CHN-11.

De egenskapene hvor fermentering med forskjellige kulturer virket å ha størst innvirkning på helhetsinntrykket til prøvene, var poengskår av fet smak og kremethet. Dette kommer av at det var en sammenheng mellom at en økning i fet smak og kremethet førte til økt helhetsinntrykk i alle prøvekombinasjoner. Siden de fremstilte produktene i dette forsøket hadde lavt fett- og høyt proteininnhold har de lett for å få en tørr munnfølelse, noe som ikke var ønsket. Det var da interessant at produkter fermentert med en EPS-produserende kultur (Tjukkmjølkk) hadde signifikant mer fet smak og kremethet, enn produkter uten EPS-produserende stammer (CHN-11). Økt kremethet i prøver fermentert med Tjukkmjølkk kommer av at de EPS-produserende stammene

i kulturen forårsaket en mer trådtrekkende konsistens, og ved inntak av produktet forårsaket dette økt smaksoppfatning som følge av økt oppholdstid i munnen (Duboc & Mollet 2001). Dette var også trolig årsaken til fetere smak i Tjukkmjølke prøvene. Disse egenskapene er trolig den viktigste årsaken til at fermentering med Tjukkmjølke ble bedre likt enn fermentering med CHN-11. Økt poengskår av fet smak og kremethet var egenskaper som var ønskelig i produktene, da det var naturlig å tro at disse egenskapene kunne være med å dekke over den tørre munnfølelsen som man kan få ved inntak av lav fett-, høy-protein produkter. Det ble dessverre ikke vist noen signifikant forskjeller i tørrhet mellom produktene fermentert med forskjellig kultur.

5.2.3 Vurdering av produktene

De sensoriske analysene av produktene viste at produkter laget med pulver C og D, fermentert med Tjukkmjølke ble best likt (hhv. CT og DT-prøver). Det ble også vist at det var ingen signifikant forskjell mellom ferske og lagrede produkter. I tillegg ble det vist at prøvekombinasjoner smaksatt med Holiday dipmix ble bedre likt enn naturlige kombinasjoner. Dette antyder at prøvekombinasjonene CT og DT smaksatt med Holiday dipmix ble best likt av dommerpanelet. Alikevill var det ingen av produktene som viste seg å være svært lovende med tanke på ønsket smak, konsistens og utseende sammenlignet med Lettrømme og Mager Kesam. Det var alltid en eller flere egenskaper som ikke var helt som ønsket.

Det ble blant annet vist at AT-produktene hadde mye høyere viskositet en ønskelig, noe som også ble oppdaget da produktet måtte røres veldig godt opp før å få en tynn, men fortsatt fast konsistens som egnet seg til dipp. Det var også en høy mengde fnokker i dette produktet, noe som gjorde det mindre appetittlig. I tillegg ble dette produktet ansett som å ha mest besk smak, noe som gir det en uønsket smak. AU-produktene ble ansett som signifikant minst likt blant produktene, de hadde de samme negative egenskapene som ble observert for AT-produktene, bare at disse produktene i tillegg hadde betydelig høyere mengde fnokker, og ble ansett for å ha svært lav poengskår for fet smak og kremethet en ønsket.

CT- og DT-produktene ble ansett som signifikant best blant de proteinanrikede produktene. Det negative med disse produktene var at de var svært trådtrekkende, noe som ikke var ønsket. I tillegg var de noe høyere mengder fnokker enn ønsket, men det var svært liten. Det ble ikke sett noen signifikante forskjeller i sensoriske egenskaper mellom disse produktene. CU- og DU-produkter ble ansett som noe mindre likt enn CT- og DT-produktene. Disse produktene ble også ansett for å ha lavest viskositet, kremethet og fet smak, sammenlignet med Lettrømme og Mager Kesam var disse egenskapene betydelig lavere enn ønsket. Det ble heller ikke sett noen signifikante forskjeller i sensoriske egenskaper mellom disse to produktene.

De produktene som ble ansett som mest lovende var CT- og DT-produktene. Ulempen med bruk av pulver C er at det førte til produkter med signifikant høyest pH, men også laktoseinnhold. Til fordel hadde produkter laget med pulver D signifikant lavest pH, og førte til produkter med signifikant

lavere laktoseinnhold. Det ble også vist at fermentering med Tjukkmjølke senket pH i begge produktene ytterligere, men pH var fortsatt signifikant høy i produkter med pulver C enn D, både etter endt syrning (hhv. pH 4,92 og 4,71) og under lagring (hhv. pH 4,96 - 4,62 og 4,66 - 4,47). Reduksjon av pH er viktig for geldannelsen, men også for produktenes holdbarhet. Samtidig er det viktig å huske på at produktene ble vurdert av et delvis utrenet dommerpanel, hvor bedømmelse av produkter ble gjort med noe ukjente egenskaper, samt at dommerne var veldig ulike. Standardavvikene til de sensoriske resultatene var store, og bekreftet at det var stor variasjon i bedømmelse av produktene. Det var også variasjon i innhold (ppm) av ulike metabolitter mellom ulike produksjonsgjentak for hver av prøvekombinasjonene, noe som ble bekreftet med ulik størrelse på deres standardavvik. Samtlige produkter hadde også variasjon i pH mellom gjentakene under syrning, men også tid ved endt syrning. Dette så ut til å forklare denne variasjonen i innhold (ppm) av ulike metabolitter mellom de ulike gjentakene. Det spekuleres på om denne variasjonen i innhold av ulike metabolitter og pH mellom ulike produksjonsgjentak kunne forårsaket produktvariasjon mellom gjentakene, og dermed være en medvikende årsak til denne variasjonen i sensoriske egenskaper.

Bruken av dipp produkter i Norge er svært varierende. Dipp kan kjøpes ferdigprodusert med f.eks. smak av Holiday dipmix, som er en veldig tradisjonell smak. Mens andre kjøper f.eks. Tine Lettrømme 18 % og blander i ferdigprodusert dipmix krydder, eller tilsetter hjemmelaget kryddermix bestående av ulike tørkede kryddere, salt, sukker, pepper eller ferske urter, alt etter smak. Som liten husker jeg at chips / potetgull var et veldig vanlig tradisjonelt produkt som ble brukt som tilbehør til dipp, og gjerne salt chips. I senere tid har det også blitt mer vanlig å anvende ulike oppkuttete grønnsaker, som er et sunnere alternativ til chips, slik som gulrot, agurk, stangselleri, sukkererter og kålrot, valget er mangt. I stedet for Lettrømme kan det også brukes andre produkter slik som Tine Lettrømme 10 %, Tine Mager Kesam og Tine Seterrømme, utvalget er stort, og det samme gjelder innholdet av fett og protein i disse produktene. For de som ville gått for et alternativ med et lavere fettinnhold ville nok valgt produkter som Mager Kesam og Lettrømme 10 %. Lettrømme 10 % inneholder 10 % fett og kan ha konsistensproblemer, men er fortsatt et bedre alternativ enn Lettrømme 18 %. Derimot er Mager Kesam et alternativ med både lavt fett- og høyt proteininnhold (hhv. 1 og 12 %), men som kan gjerne gi en tørrmunnfølelse.

5.3 OPPSUMMERING

Gjennom dette studiet ble det vist at bruk av forskjellig proteinpulvere, kulturer og lagring av prøver, samt prøver som naturell og smaksatt med Holiday dipmix viste mange signifikante forskjeller mellom prøver med hensyn på prøvenes pH utvikling, konsentrasjon av ulike metabolitter, og prøvenes reologiske- og sensoriske egenskaper. Dette ble også vist at det var signifikante forskjeller mellom proteinanrikede prøvekombinasjoner og de kommersielle prøvene Lettrømme og Mager Kesam som naturell og tilsatt Holiday dipmix for ulike sensoriske egenskaper. Analyseresultatene viste også at det var varierende grad av signifikante forskjeller mellom prøvene.

I tillegg til de 11 sensoriske egenskapene som ble undersøkt, hadde det vært av interesse til senere tid å få med egenskapen søt smak, siden konsentrasjonen av laktose i prøvene var signifikant forskjellig på grunn av bruk av pulver med ulik sammensetning, der laktosekonsentrasjonen var høyest i prøver fremstilt med pulver C og lavest med pulvertype A. Det var derfor forventet at prøver tilsatt pulver C skulle være søttest, og prøver tilsatt pulver A minst søt.

Bortsett fra innholdet av totalprotein og andel kasein og myseprotein i pulverene var det ikke mulig å få mer informasjon om pulverene. Verken av hvilket firma de ble fremstilt, hva slags varmebehandling pulverene hadde vært utsatt for før tørking eller om de var en blanding av forskjellige pulvere. Dette begrenset diskusjonen ved bruk av de forskjellige pulverene til fremstilling av dipp. Siden det ble brukt veldig forskjellige mengder (kg) av pulverene A, C og D, hhv. 1,261 kg, 3,121 kg og 1,772 kg, var det ønskelig å beregne kostnader ved bruk av de ulike pulverene til fremstilling av dipp.

Kostnad for første stoppested levert til TINE i Norge for pulver A og D er hhv. 77,44 og 57,32 NOK/kg pulver (Grønnevik 2015), mens kostnader for pulver C (spraytørket, agglomerert og medium varmebehandlet) eller som økologisk er hhv. 44,46 og 72,19 NOK/kg pulver (Lie 2015). Her snakkes det altså om en prisforskjell fra ca. 45 - 80 kr per kg pulver. Bruk av pulver A, C, D og økologisk skummet melkpulver (SMP) til fremstilling av 15 kg dipp med et total proteininnhold på 10 % ville dermed ført til en kostnad på hhv. 98, 139, 102 og 225 NOK. Det viser at det var stor variasjon i kostnad ved bruk av de ulike pulvertypene, der bruk av pulver C vil være dyrere enn pulver A og D. Til fremstilling av dipp ville Rørosmeieriet vært interessert i økologisk SMP side

det kun produseres økologiske varer der, men bruk av økologisk SMP var derimot nesten dobbelt så dyrt som vanlig SMP (Rørosmeieriet 2015). Selv om pulver A var billigst å anvende til fremstilling av dipp i dette forsøket, så er det ikke sikkert det ga best sluttproduktet. Som de sensoriske resultatene i dette forsøket bekreftet, ble prøvekombinasjoner fremstilt ved bruk av pulver C og D ble bedre likt (bedre helhetsinntrykk), enn ved bruk av pulver A. Men man må da huske på at bedømmelse av produktene ble gjort med noe ukjente egenskaper av et delvis trent dommerpanel, noe som ble speilet med generelt store standardavvik. Samtidig kunne det være at et produkt var bra på mange måter, men får dårlig helhetsinntrykk på grunn av f.eks. dårlig viskositet eller smak. Ulempen ved bruk av pulver C enn D er at det fører til signifikant økning i laktosekonsentrasjon i produktet, noe som også ble bekreftet i dette forsøket.

På grunn av begrenset med tilgjengelig maskinelt utstyr, ble det i denne oppgaven brukt enkel teknologi til fremstilling av dipp, hvor proteininnholdet i dipp ble økt til 10 % totalprotein ved tilsetning av forskjellige proteinpulvere til skummet melk. Så hva annet kunne man gjort for å øke proteininnholdet i dipp enn det som ble gjort i denne oppgaven, og hvorfor disse metodene fungerer eller ikke fungerer.

For eksempel kunne dipp vært fremstilt på samme måte som ved fremstilling av tradisjonell Labneh (konsentrert yoghurt). Dette kunne vært gjort ved at skummet melk ble varmebehandlet og fermentert på samme måte som det ble gjort i dette forsøket, og etter syring ville den blitt avkjølt til $< 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, rørt opp, og helt over i en tøypose for drenering inntil ønsket tørrstoffinnhold var nådd. På den måten kan vann ekstraheres fra dippen til ønsket tørrstoffinnhold var nådd. Filtratet (den delen som filtreres bort) vil derfor inneholde nesten kun laktose og mineraler i tillegg til vann, mens retensjonen av fett og protein vil være høy. Labneh inneholder derfor dobbelt så mye protein og tre ganger mer fett enn yoghurt (Özer 2006). Dette kunne vært en alternativ metode for å konsentrere protein i dipp, men også redusere laktoseinnholdet. Ulempen ved bruk av denne metoden er at dreneringsprosessen er tidkrevende, samtidig som utbyttet av dipp vil gå ned som følge av klebing av produktet til tøyposen under drenering. Det er også blitt vist at bruk av trådtrekkende EPS-produserende stammer til fremstilling av tradisjonell Labneh forlenget dreneringsperioden opp til 47 t, sammenlignet med 14 t ved bruk av vanlig yoghurtkultur. Dette vil

derfor ikke være et lønnsomt alternativ for å konsentrere protein i dipp, som er fermentert med Tjukkmjøl (Özer 2006).

I stedet for den tradisjonelle sekkemetoden kunne dipp vært fremstilt på samme måte som fremstilling av kvarg (en fersk ost) ved bruk av termokvarg metoden, hvor en kvargseparator brukes for å konsentrere protein. Dette kunne vært gjort ved at skummet melk varmebehandles og fermenteres på samme måte som ble gjort i dette forsøket (Fox et al. 2004). Etter syring til $\text{pH} \leq 4,5$ vil deretter den koagulerende melka bli rørt opp, og gjennomgå en termisering- og separeringsprosess før den kjøles ned for pakking (Fox et al. 2004). Termisering vil si at det blir utført en sekundær varmebehandling av den koagulerende melka ved $\sim 60^\circ\text{C}$ i 3 min, før den kjøles ned til $34 - 40^\circ\text{C}$ for separering av mysa, dette er viktig for å sikre tilstrekkelig myse separasjon fra ostemassen (Fox et al. 2004). Dette vil være et godt alternativ å konsentrere protein i dipp, men derimot vil bruk av en kvargseparator også bli vanskelig med en EPS kultur (Tjukkmjøl) (Narvhus 2015b).

En annen metode som kunne vært gjort for å konsentrere protein på, er ultrafiltrering (UF). Dette er en metode som bruker membraner med en bestemt molekylær porestørrelse til å skille bestanddeler i melka etter størrelse. Molekyler som er større enn porestørrelsen vil holdes igjen og konsentreres (retentatet), mens små molekyler vil gå igjennom sammen med vann (permeat) (Premaratne & Cousin 1991). Dette fører til at all fett og proteiner vil holdes igjen av membranen, mens mye av laktosen vil føres igjennom sammen med vannet. Det fører også til noe tap av vannløselige mineraler slik som kalsium (Vyas & Tong 2003). Det vil si at store proteinmolekyler og fettkuler holdes igjen av membranen under filtrering (forblir i retentatet), mens komponenter som diffunderer vil være rimelig gjevt på begge sider av membranen (Narvhus 2015b).

UF kunne vært gjort før fermentering eller etter, helt ($\text{pH} 4,8 - 4,6$) eller delvis ($\text{pH} 5,7 - 5,95$) fermentering av melk. I tillegg bør melka som skal ultrafiltreres gjennomgå en høy temperaturbehandling før fermentering og UF for at myseproteinene skal denatureres og forårsake selvaggregering og interaksjon med kaseiner, og på den måten bidra i geldannelsen (Fox et al. 2004; Hinrichs 2001). Det er blitt vist at UF av varmebehandlet melk før fermentering ved fremstilling av fersk ost, bidrar til å muliggjøre integrering av alle myseproteiner i gelen (ca. 100 %), men det fører også til utvikling av bitter smak under lagring, noe som er påvirket av høy

bufferkapasitet i retentatet, økt startervekst og proteolytisk aktivitet, og høyere mengde kalsium sammenlignet med ferskoster produsert ved bruk av kvargseparator (termokvargmetoden). Dette kan unngås ved å fermentere melka før UF, da surgjøring av melka før UF muliggjør frigjøring av kasein-bundet kalsium i permeatet under UF, og dermed unngås den bitre smaken som kan oppstå under lagring (Hinrichs 2001). Fordelen ved bruk av UF i forhold til termokvarg metoden er at utbyttet er høyere ved bruk av UF, på grunn av at alle myseproteinene (~100 %) vil være integrerte i gelen (Fox et al. 2004).

Utfordringer ved bruk av UF eller kvargseparator for å konsentrere protein i melk, i forhold til bruk av sekkemetoden, er at det kreves kvalifiserte personer som kan UF- og separeringsmaskinene. Mens ved bruk av sekkemetoden kreves det ikke maskinelt bruk, annet enn separering av råmelka til fløte og skummet melk. Dermed vil også kostnadene ved innkjøp av maskinelt utstyr, kvalifiserte personer og vedlikehold av utstyr være betydelig lavere ved bruk av sekkemetoden

5.4 FREMTIDIG ARBEID

Ettersom det ikke var mulig å få noe informasjon om proteinpulverenes teknologiske behandling begrenset dette diskusjonen av de ulike pulverene, noe som til tider var en ulempe da det kunne forklart mer av de ulike forskjellene mellom produkter fremstilt med forskjellige pulvertyper. Til videre arbeid hadde det derfor vært interessant å prøve ut andre pulvertyper med kjent innhold og kjent teknologisk behandling. Eventuelt kunne det vært fremstilt egne proteinpulvere med kjent innhold og kjent teknologisk behandling.

Til fremstilling av dipp ble melkeblandingen, som var bestående av skummet melk og ulike proteinpulvere, varmet opp til 91 °C i store melkespann på 30 L over et dampvannbad med varming/kjøling, hvor omrøring av melken ble gjort for hånd ved bruk av en rørepinne av rustfrittstål. Melkeblandingen ble holdt ved denne temperaturen i 5 min før den ble avkjølt. Om denne varmebehandlingsmetoden av melkeblandingen var optimal er vanskelig å si noe om, men det kunne tenkes at det hadde vært mer optimalt at denne varmebehandlingen hadde vært gjort i en maskin med røreverk som kunne gitt en mer kontinuerlig omrøring av produktet under hele varmebehandlingen, samt at varming/kjøling foregikk i rør rundt melkeblandingen. Dette for å sikre en optimal varmegjennomgang i melkeblandingen, men også da utilstrekkelig omrøring kanskje kan tenkes å føre til at proteinpulverene som ble tilsatt melken, legger seg i bunnen av melkespannet og kanskje svir seg fast. I dette forsøket virket ikke dette å være et problem. I tillegg ville det være lettere å kontrollere temperaturen under prosessen. Det hadde i tillegg til dette vært interessant å vurdere effekten av svakere varmebehandling ved fremstilling av dipp. Dette for å se de ulike varmebehandlingsmetodene positive og negative effekt på f.eks. konsistens, men også smaken til produktene fremstilt ved bruk av forskjellige pulvertyper og kulturer.

Prøver fermentert med Tjukkmjølke viste signifikant høyere etanolkonsentrasjon, og spesielt i prøver laget med pulver A (AT). Mens prøver laget med pulver A fermentert med CHN-11 (AU) hadde signifikant mye lavere etanolkonsentrasjon. Resultatene viste at lagring av prøver ikke hadde effekt på etanolkonsentrasjonene, men det ble likevel sett en trend for at prøver fermentert med Tjukkmjølke hadde ytterligere økning i etanol under lagring, mest tydelig var dette for prøver laget med pulver A (AT). Det hadde derfor vært interessant å forske videre på kulturen til Tjukkmjølke for eventuelt å skreddersy prosessen til dens vekstkrav.

Under sensorisk analyse av produkter ble de vurdert som både naturell og smaksatt med Holiday dipmix. Det hadde vært interessant å prøve ut andre smakstilsetninger, også i forhold til deres ingredienser, fordi noen av dem kan kanskje ha hurtig-virkende stabilisatorer, men effekten deres må vurderes (Narvhus 2015b).

6 REFERANSER

- Abrahamsen, R. K., Narvhus, J. A. & Skeie, S. B. (2003). Kartlegging av alternative barrierer for produksjon av melkebaserte produkter produsert av ikke-varmebehandlet melk: en meieriteknologisk utredning. Oslo: Statens Næringsmiddeltilsyn.
- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2008). Fermented and microbial foods. I: *Food microbiology*, s. 310 - 369. Cambridge, Storbritania: The Royal Society of Chemistry.
- Anema, G. S. & Li, Y. (2003). Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. *Journal of Dairy Reaserach*, 70: 73 - 83.
- Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and physiology. I: Salminen, S., Wright, A. V. & Ouwehand, A. (red.) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Cogan, T. M. & Hill, C. (1993). Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology I: P.F.Fox (red.) *General Aspects, 1993. (Ikke sett originalt)*.
- Dalgleish, G. D. & Corredig, M. (2012). Review article: The Structure of the Casein Micelle of Milk and its Changes During Processing. *Food Science and Technology*, 3: 449 - 467.
- De Vuyst, L. & Degeest, B. (1999). Review article: Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23: 153-177.
- De Vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F. & Degeest, B. (2001). Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11: 687-707.
- Deeth, H. C. & Hartanto, J. (2009). Chemistry of Milk: Role of Constituents in evaporation and drying. I: Tamime, A. Y. (red.) *Dairy Powders and Concentrated Products*, s. 1 - 27. West Sussex, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Degeest, B., Vaningelgem, F. & L., D. V. (2001). Microbial physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11: 747 - 757.
- Dessart, S. R. & Steenson, L. R. (1995). Biotechnology of Dairy Leuconostoc. I: Hui, Y. H. & Khachatourians, G. G. (red.) *Food Biotechnology: microorganisms*. Canada, USA: Wiley-VCH, Inc.

- Duboc, P. & Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11 (9): 759-768.
- Foegeding, E. A., Davis, J. P., Doucet, D. & McGuffey, M. K. (2002). Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 13 (5): 151-159.
- Fondén, R., Leporanta, K. & Svensson, U. (2006). Nordic/Scandinavian fermented milk products. I: Tamime, A. Y. (red.) *Fermented Milks*, s. 156 - 173. Oxford: UK: Blackwell Science Ltd.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M. & Guinee, T. P. (2004). Acid- and Acid/Rennet-curd Cheeses Part A: Quark, Cream Cheese and Related Varieties. I: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, s. 301-325: Elsevier, Academic Press, London UK.
- Furuset, K. (2005). Tettegras og tettemelk. *Naturen*. 5: 206-214.
- Grønnevik, H. (2015). *Pris på pulvere (epost fra Heidi Grønnevik, leder produkt- og teknologiutvikling ved TINE FoU, TINE SA) 15.10.2015*.
- Haug, I. (1996). *Bakteriologiske og teknologiske aspekter vedrørende produksjon av tettemelk. Hovedfagsoppgave*. Institutt for næringsmiddelfag, Norges landbrukshøgskole. 83 s.
- Heertje, I., Visser, J. & Smits, P. (1985). Structure formation in acid milk gels. *Food Microstructure*. 4: 267-277.
- Hinrichs, J. (2001). Incorporation of whey proteins in cheese. *International Dairy Journal*, 11 (4-7): 495-503.
- Ibarz, A. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). Rheology of Food Products. I: *Unit Operations in Food Engineering*. London, New York, Washington D.C.: CRC Press, Boca Raton.
- Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, 1 (3): 1-13.
- Kilara, A. & Panyam, D. (2003). Peptides from milk proteins and their properties. *Critical reviews in Food science and nutrition*, 43 (6): 607 - 633.
- Kleerebezem, M., Hols, P. & Hugenholtz, J. (2000). Review article: Lactic acid bacteria as a cell factory: rerouting of carbon metabolism in *Lactococcus lactis* by metabolic engineering. *Enzyme and Microbial Technology*, 26: 840-848.
- Law, J. & Haandrikman, A. (1997). Proteolytic Enzymes of Lactic Acid Bacteria: a review. *International Dairy Journal*, 7 (1): 1-11.

- Lie, A. E. (2015). *Priser fra TINE ingrediens til næringsmiddelindustrien 1. oktober 2015 (epost fra Anne Elisabeth Lie, Commercial Director TINE Ingredients, TINE SA) 26.09.2015.*
- Liu, S.-Q. (2002). Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 83: 115 - 131.
- Lovdata. (2004). *Forskrift om beskyttelse av produktbetegnelsen Økologisk Tjukkmjølk fra Røros som Beskyttet geografisk betegnelse.* Tilgjengelig fra:
https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2004-02-10-581#KAPITTEL_1 (lest 27.04.15).
- Lucey, J. A. (2004). Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (2-3): 77 - 84.
- Marsili, R. T., Ostapenko, H., Simmons, R. E. & Green, D. E. (1981). HIGH-PERFORMANCE LIQUID-CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF ORGANIC-ACIDS IN DAIRY-PRODUCTS. *Journal of Food Science*, 46 (1): 52-57.
- Mayo, B., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez-Martín, P. & Bardowski, J. (2010). Updates in the Metabolism of Lactic Acid Bacteria. I: Mozzi, F., Raya, R. R. & Vignolo, G. M. (red.) *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria, Novel Applications*, s. 3 - 34. USA: Blackwell Publishing.
- Mezger, T. G. (2006a). Introduction. I: *The Rheology Handbook For users of rotational and oscillatory rheometers*, s. 114 - 170. Hannover, Tyskland: Vincentz Network GmbH & Co.
- Mezger, T. G. (2006b). Oscillatory tests. I: *The Rheology Handbook For users of rotational and oscillatory rheometers*, s. 114 - 170. Hannover, Tyskland: Vincentz Network GmbH & Co.
- Mezger, T. G. (2006c). Rotational tests. I: *The Rheology Handbook For users of rotational and oscillatory rheometers*, s. 114 - 170. Hannover, Tyskland: Vincentz Network GmbH & Co.
- Mäyrä-Mäkinen, A. & Bigret, M. (2004). Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. I: Salminen, S., Wright, A. V. & Ouwehand, A. (red.) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Narvhus, J. A., Osteraas, K., Mutukumira, T. & Abrahamsen, R. K. (1998). Production of fermented milk using a malty compound-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, isolated from Zimbabwean naturally fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*, 41 (1): 73-80.

- Narvhus, J. A. & Axelsson, J. A. (2003.). Lactic acid bacteria. I: Cabellero, B. (ed.). *Encyclopedia of Food Science, Technology and Nutritional*, Academic Press, Amsterdam, the Netherlands, : s. 3465 - 3472.
- Narvhus, J. A. (2015a). (epost fra professor Judith A. Narvhus, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, 1430 Ås) 02.12.2015
- Narvhus, J. A. (2015b). (epost fra professor Judith A. Narvhus, Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, 1430 Ås) 04.12.2015
- Niven, G. W., Knight, D. J. & Mulholland, F. (1998). Changes in the concentrations of free amino acids in milk during growth of *Lactococcus lactis* indicate biphasic nitrogen metabolism. *Journal of Dairy Research*, 65: 101-107.
- Pedersen, J., Hjartåker, A. & Anderssen, S. A. (2009). De energigivende næringsstoffene. I: *Grunnleggende ernæringslære.*, s. 101 - 142: Dimograf, Polen: Gyldendal Norsk Forlag AS.
- Premaratne, R. J. & Cousin, M. A. (1991). Changes in the Chemical Composition During Ultrafiltration of Skim Milk1. *Journal of Dairy Science*, 74 (3): 788-795.
- Robinson, R. K., Lucey, J. A. & Tamime, A. Y. (2006). Manufacture of yoghurt. I: Tamime, A. Y. (red.) *Fermented Milks*, s. 53 - 75. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J. & Zoon, P. (2002). Review article: An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12: 163-171.
- Rørosmeieriet. (2013). *Økologisk Tjukkmjølke fra Røros*: Rørosmeieriet AS. Tilgjengelig fra: <http://www.rorosmeieriet.no/index.php/okologiske-produkter/tjukkmjolk> (lest 27.04.2015).
- Rørosmeieriet. (2015). *Om rørosmeieriet*. Tilgjengelig fra: <http://www.rorosmeieriet.no/om-rorosmeieriet/> (lest 23.10.2015).
- Salaün, F., Mietton, B. & Gaucheron, F. (2005). Buffering capacity of dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 15 (2): 95-109.
- Tabilo-Munizaga, G. & Barbosa-Cañovas, G. V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67 (1-2): 147 - 156.

- Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (1999a). Background to manufacturing practice. I: *Yoghurt: Science and technology*. Cornwall, Storbritania: CRC Press LLC Woodhead publishing limited. 622 s.
- Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (1999b). Biochemistry of fermentation. I: *Yoghurt: Science and technology*. Cornwall, Storbritania: CRC Press LLC Woodhead publishing limited. 622 s.
- Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (1999c). Nutritional value of yoghurt. I: *Yoghurt: Science and technology*. Cornwall, Storbritania: CRC Press LLC Woodhead publishing limited. 622 s.
- Tamime, A. Y. (2002). Microbiology of starter cultures. I: Robinson, R. K. (red.) *Dairy microbiology handbook*. New York: John Wiley & Sons, Inc. 780 s.
- Tamime, A. Y., Skriver, A. & Nilsson, L.-E. (2006). Starter Cultures. I: Tamime, A. Y. (red.) *Fermented Milks*, s. 11 - 52. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Tineingrediens. (2013). *Elektronisk Produktguide 2013, Pulverprodukter*: Tine SA. Tilgjengelig fra: http://www.tineingrediens.no/_attachment/303857?amp;download=true (lest 25.04.2015).
- Torres, I. C., Janhøj, T., Mikkelsen, B. Ø. & Ipsen, R. (2011). Effect of microparticulated whey protein with varying content of denatured protein on the rheological and sensory characteristics of low-fat yoghurt. *International Dairy Journal*, 21 (9): 645-655.
- van Vliet, T., Lakemond, C. M. M. & Visschers, R. W. (2004). Review article: Rheology and structure of milk protein gels. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 9 (5): 298-30
- Vasbinder, A. J. & Kruif, G. C. (2003). Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *International Dairy Journal*, 13: 669 - 677.
- Vyas, H. K. & Tong, P. S. (2003). Process for Calcium Retention During Skim Milk Ultrafiltration. *Journal of Dairy Science*, 86 (9): 2761-2766.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006a). Cheese Ripening and Properties. I: *Dairy Science and Technology*: Boca Raton, USA: CRC Taylor & Francis Group. 782 s.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006b). Lactic Fermentations. I: *Dairy Science and Technology*, s. 357-397: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006c). Milk properties. I: *Dairy Science and Technology*, s. 357-397: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.

- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006d). Milk: Main Characteristics. I: *Dairy Science and Technology*, s. 3-16: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006e). Milk: Milk components. I: *Dairy Science and Technology*, s. 17 - 108: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006f). Milk: Protein preparations. I: *Dairy Science and Technology*, s. 537-550: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Wright, A. V. & Axelsson, L. (2012). Lactic Acid Bacteria: An Introduction. I: Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S. & Wright, A. V. (red.) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects.*: Boca Raton: Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Özer, B. (2006). Production of Concentrated Products. I: Tamime, A. Y. (red.) *Fermented Milks*, s. 128 - 155. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.

VEDLEGG

Vedlegg på CD: totalt 14 stk.

1. Produkt, proteinpulver og kulturinformasjon, og beregninger til melkeblandinger
2. Forforsøk:
 - a. Rådata til forforsøk 1, 2 og 3
 - b. Mikroskopibilder; forforsøk 2, prøve AT
3. Hovedforsøk:
 - a. Datablad CHN-11
 - b. Kjeldahl-analyse; nitrogen- og proteininnhold i proteinpulvere
 - c. pH
 - d. Mikrobiologi; M17 (laktokokker), VRBA (koliforme organismer)
 - e. Mikroskopibilder; prøver DUS.G1
 - f. Kjemiske analyser; HPLC (flyktige stoffer), HSGC (organiske syrer og karbohydrater)
 - g. Reologiske analyser; Oscillasjonsmåling (skjærspenning, tøyning), Rotasjonsmåling (Viskositet)
 - h. Sensoriske analyser
 - i. Forventet og analysert innhold (%) av totalprotein, kasein i myseprotein i proteinpulvere
 - j. All rådata til ANOVA og Tukey-tester
4. pdf. Masteroppgave



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

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