

Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved Institutt for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap (IKBM) ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), våren 2016. Oppgaven utgjør 30 studiepoeng.

Jeg vil først rette en stor takk til min hovedveileder, professor Siv Skeie, samt biveileder Judith A. Narvhus, for all veiledning og god oppfølging under arbeidet med oppgaven.

En stor 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, og til Isaya Appelesy Ketto for uvurderlig hjelp med de statistiske analysene. Jeg vil også rette en stor takk til alle som har stilt som dommere i de sensoriske analysene.

Sist men ikke minst vil jeg gjerne takke venner og familie for all støtte og tålmodighet, spesielt min mor, Maren Irene Breivik, for all støtte, inspirasjon og motivasjon de siste seks årene.

Ås, juli 2016

Odd Eirik Breivik

Sammendrag

Meieriprodukter er avhengige av en god kontroll på mange hygieniske og teknologiske aspekter, fra jord til bord. Et område som er relativt nytt med tanke på produktkvalitet er de iboende genetiske forskjellene mellom dyrene. Det har blitt funnet at β -laktoglobulin (β -LGB) genetisk variant homolog for allele B (β -LGB BB) har vært forbundet med økt viskositet, gel-styrke og lagringsmodul (G') i syrefelte produkter. Effekt av genetiske varianter av κ -kasein (κ -CN) på de reologiske kvalitetene til disse produktene har vært vanskeligere å fastslå.

Målet med denne oppgaven har vært å undersøke effekten av forskjellige genetiske varianter av β -LGB og κ -CN i skummet kulturmilk, i fersk og lagret tilstand. Det har også blitt forøkt å teste om forsøksdag (antall dager mellom melking og produksjon) har hatt innvirkning på det syrnede produktets kvalitet.

Det har i dette forsøket blitt produsert skummet kulturmilk av melk med ulike genetiske varianter av κ -CN og β -LGB. Analysene gjort i dette forsøket viste at β -LGB hadde en signifikant effekt på alle de tre målte reologiske faktorene, elastisitetsmodul G' , viskositet og gel-styrke i skummet kulturmilk. Det ble videre funnet at den genetiske varianten BB av β -LGB gav en signifikant økt viskositet, gel-styrke og G' i kulturmilk, sammenlignet med β -LGB AB. Sammenlignet med genetisk variant av β -LGB AA, gav β -LGB BB en økt viskositet i skummet kulturmilk.

På kort sikt vil det være mest økonomisk fordelaktig å avle på kyr med høyest mulig melkeytelse, innhold av fett og protein, men det kan tenkes at meieriindustrien i det lange løp vil ende opp med enkelte bestander, spesialisert etter type produkt. Dette er en av grunnen til at det er interessant i dag å finne om det noen genetiske proteinvarianter er mer egnet til f.eks. syre-geler som yoghurt, mens andre kanskje er mer gunstig i osteproduksjon. Selv om det i dette forsøket var vanskelig å tilegne effekten på de reologiske egenskapene til den genetiske faktoren alene, og ikke proteinkonsentrasjonen, vil det fortsatt være interessant både fra et forsknings-standpunkt men også i et langsiktig produksjonsøkonomisk synspunkt å fortsette forskningen på området.

Abstract

Dairy products rely on a good control of many hygienic and technological aspects, from farm to fork. One area that is relatively new in terms of product quality is the inherent genetic differences between animals. It has previously been found that β -lactoglobulin (β -LGB) genetic variant BB (β -LGB BB) has been associated with an increased viscosity, gel strength and storage modulus (G') in acid precipitated products. The effect of different genetic variants of κ -casein (κ -CN) on the rheological properties of these products has been more difficult to determine.

The aim of this study was to investigate the effect of different genetic variants of β -LGB and κ -CN in buttermilk, in fresh and stored condition. It has also been enhanced to test if the experiment (number of days between milking and production) has had impact on the fermented product quality.

It has in this experiment been produced buttermilk from milk with different genetic variants of κ -CN and β -LGB. The analysis made in this experiment showed that β -LGB had a significant effect on all three measured rheological factors, elasticity modulus G' , viscosity and gel strength in the buttermilk. It was further found that the genetic variant B of β -LGB gave a significantly increased viscosity, gel strength and G' in buttermilk, compared with β -LGB AB. Compared with the genetic variant of β -LGB AA, gave β -LGB BB an increased viscosity in the buttermilk.

In the short term it might be most economically advantageous to breed cows with the highest yield, content of fat and protein, but it is conceivable that the dairy industry in the long run will end up certain stocks, specialized by type of product. This is one of the reason why it is interesting today to find if there any genetic protein variants are more suitable for acid gel products such as yogurt, while others may be more suitable for cheese production. The variation in total protein concentration made it difficult to claim the genetic protein variants as the main cause for variation in the rheological properties of the products. It would, however, still be interesting both from a research point of view but also in a long term production economical point to continue research in this area, in order to better understand the effects of the genetic protein variants on the different milk products.

Innholdsfortegnelse

Forord.....	II
Sammendrag	III
Abstract.....	IV
Innholdsfortegnelse.....	V
1. Innledning	1
2. Teori.....	2
2.1 Melkens sammensetning	2
2.1.1 Melkeproteiner.....	2
2.1.2 Fett	10
2.1.3 Tørrstoff	10
2.2 Kulturmilk	11
2.3 Melkebehandling i fremstilling av skummet kulturmilk	13
2.3.1 Separering	13
2.3.2 Homogenisering.....	14
2.3.3 Varmebehandling	14
2.3.4 Poding og syrning av en DL-kultur	15
2.4 Reologi.....	21
2.4.1 Gel-styrke.....	23
2.4.2 Tilsynelatende viskositet, η (apparent viscosity).....	26
2.4.3 Lagringsmodul, G'	27
3. Materialer og metoder.....	29
3.1 Forsøksoppsett.....	29
3.1.1 Utvalgelse av kyr	29
3.1.2 Innsamling av prøver	30
3.1.3 Brukssyre	32
3.1.4 Melkebehandling.....	32
3.1.5 Syrning.....	32
3.1.6 Koding av prøver	34
3.1.7 Analyser	34
3.2 Analyser	35
3.2.1 FTIR.....	35
3.2.2 Reologi.....	35
3.2.3 pH.....	38
3.2.4 Organiske syrer og flyktige aromakomponenter.....	38
3.2.5 Sensorikk.....	39

3.2.6	Myseutskillelse	41
4.	Resultater	42
4.1	Kjemisk sammensetning	42
4.1.1	pH.....	42
4.1.2	Karbohydratmetabolisme	43
4.1.3	Sitratmetabolisme	45
4.2	Reologi	48
4.2.1	Elastisitetsmodul, G'	49
4.2.2	Viskositet	51
4.2.3	Gel-styrke.....	54
4.2.4	PCA.....	58
4.3	Sensorikk.....	63
4.4	Myseutskillelse.....	70
5.	Diskusjon	71
6.	Oppsummering.....	82
7.	Kilder	83
Vedlegg A	Startkultur	i
Vedlegg B	pH-verdier – ved sensorisk analyse rådata.....	ii
Vedlegg C	Kjemiske analyser - rådata.....	iii
Vedlegg D	Svarskjema - sensorikk	v
	Skummet kulturmilk - Rangeringstest	v
8.	Cultured buttermilk – Ranking test.....	v
Vedlegg E	Dommerskår - Sensorisk analyse.....	viii
Vedlegg F	Sensorisk analyse - statistiske beregninger; rådata.....	xvi
Vedlegg G	Reologiske målinger	xx
Vedlegg H	Korrelasjon mellom koeffisienter	xxii
Vedlegg I	Karbohydrater og organiske syrer, metodikk.....	xxiii
Vedlegg I.1	Karbohydrater og organiske syrer i lagrede produkter, fra to produksjonsdager (A og B) fra blokk 2, målt med HPLC.	xxv
Vedlegg J	Flyktige forbindelser, metodikk.....	xxvi
Vedlegg J.1	Flyktige komponenter, målt i lagrede prøver fra blokk 2	xxviii

1. Innledning

Genetiske proteinvarianter har de siste årene blitt undersøkt som mulige variabler en kan utnytte i produksjonssammenheng av meieriprodukter. Det var Aschaffenburg og Drewry (1955) som først oppdaget at det kunne skilles mellom to ulike varianter av β -laktoglobulin (Aschaffenburg & Drewry 1955; Aschaffenburg & Drewry 1957). Dette utgjorde starten på en rekke studier blant annet innen fordeling av genetisk varianter innen ulike ku-raser (Aschaffenburg 1968; Baker & Manwell 1980), innvirkning på ernæring (Caroli et al. 2009), men mest arbeid er gjort (av økonomiske årsaker) på genetiske proteinvarianters innvirkning på melkens sammensetning, utbytte og teknologiske aspekter (Martin et al. 2013). I en studie på syrefelt gel ble det funnet at melk inneholdende β -laktoglobulin (β -LGB) homozygot for genetisk variant B gav en signifikant fastere gel sammenlignet med melk inneholdende LGB variant AB og AA. Derimot kunne ingen signifikante effekter på viskositet påvises i noen av de genetiske proteinvariantene i dette forsøket (Allmere et al. 1998).

I denne oppgaven har det blitt produsert skummet kulturmelk av melk med genetiske varianter av κ -kasein (BB, AB og AA) og β -laktoglobulin (AB og BB) som variabler. Det har også blitt sett på kjølelagringsfaktor, hvor rå melk har stått på kjøll i henholdsvis ett og to døgn før produksjon, samt lagring av ferdig syrnede produkter (1 og 14 dager). Forsøket er gjort i to blokker. Alle prosess-variabler, lagring og håndtering generelt har vært forsøkt holde så like som mulig. Melken ble skummet, homogenisert og pasteurisert, før den ble podet med en mesofil DL-kultur (CHN-19). Melken ble satt til syring i et temperert vannbad til $\text{pH} \leq 4,5$, og deretter kjølelagret ved 4°C . Melkens kjemiske sammensetning ble fastslått før syring. Reologiske analyser (G' , viskositet og gel-styrke) ble utført på ferske og lagrede prøver. Sensorikk ble utført etter ca 14 dagers lagring, sammen med en pH-måling. Det ble også utført analyser av organiske syrer og flyktige komponenter på lagrede melkeprøver i forsøkets andre sett.

I denne oppgave er det forsøkt å oppnå et sammenligningsgrunnlag for de reologiske kvalitetene til de ulike prøvene ved å utføre analyser på prøvenes *viskositet*, gelens *elastisitet* og gelens *hardhet*. Sensoriske egenskaper har også blitt vurdert, og metabolske produkter ble analysert i forsøkets andre blokk.

2. Teori

2.1 Melkens sammensetning

Melk er definert som den væsken som skilles ut fra melkekjertlene hos pattedyr, og er den primære naturlige kilden til næring til deres avkom. Dens næringsmessige verdi ligger i den totale sammensetning av proteiner, fett, vitaminer, karbohydrater og mineraler. Melk fra kyr har et gjennomsnittlig innhold på 4,0% fett, 8,9% fettfritt tørrstoff (SNF), 4,6% laktose, 3,3% protein, hvorav 2,6% er kasein. Resterende er mineraler/sporstoffer, organiske syrer og øvrige komponenter (Walstra et al. 2006c).

Melkens totale sammensetning varierer etter en rekke faktorer, deriblant laktasjon, årstid, fôr, helse (Auldist & Hubble 1998; Palmquist et al. 1993; Walker et al. 2004). Kunnskap om hvordan ulike faktorer innvirker på sammensetningen av melken gjør at en kan sette inn tiltak for å optimalisere de teknologiske, ernæringsmessige og sensoriske kvalitetene til produktet.

2.1.1 Melkeproteiner

Primærstrukturen til proteinene er definert som rekkefølgen av aminosyrer i peptidkjeden, denne rekkefølgen er individuell for hvert enkelt protein. De spesifikke egenskapene til et protein defineres derfor av de aminosyrenes R-sidegrupper (Walstra et al. 2006d). De dominerende melkeproteinene opptrer i forskjellige genetiske varianter, og videreføres gjennom Mendelsk arv uten dominans (Allmere et al. 1997a; Aschaffenburg 1968).

Forskjellen mellom de genetiske variantene ligger i substitusjon eller sletting av aminosyrer i polypeptidkjeden, hvilket resulterer i en endring i molekylets nettoladning, og dermed også påvirke de fysiokjemiske egenskapene til proteinet (Allmere et al. 1997b; Walstra et al. 2006g).

De fleste proteiner opptrer i to eller flere genetiske varianter av en primærstruktur, disse variantene skilles fra hverandre i litteraturen ved å tilføre benevningen A, B, C, osv., til proteinets navn. Hvis et individ er homozygot for variant A, vil dens genotype bli AA, og den produserer dermed proteiner av variant AA. Et heterozygot individ (genotype AB) vil derimot gi proteiner av både variant A og B, i et noenlunde jevnbyrdig forhold. To varianter skilles ofte kun ved én enkelt aminosyre, dette vil i utgangspunktet ikke gi noen teknologiske endringer, med mindre det fører til en endring i proteinets ladning. En økning eller reduksjon i et proteins totale ladning vil resultere i endringer i dets løselighet, strukturelle konformasjon og/eller stabilitet. (Walstra et al. 2006g).

Melkeproteinene kan deles inn i de to gruppene kasein og myseprotein. Kasein utgjør om lag 80% av den totale proteinfraksjonen, mens myseprotein utgjør cirka 20%. Kasein deles videre inn i hovedtypene α_{s1} , α_{s2} , β - og κ -kasein. Myseproteinene består hovedsakelig av β -laktoglobulin (B-LGB) og α -laktalbumin (ALA). Melken inneholder ellers mindre andeler av serum albumin, immunoglobulin og proteosepter, peptoner, laktoferrin, og laktoperoksidase (Farrell et al. 2004; Martin et al. 2013; Walstra et al. 2006d).

Kaseinene ble tidligere differensiert på bakgrunn av deres elektroforetiske mobilitet i alkalisk polyakrylamid eller stivelsesbasert gelé, men i dag skilles etter deres primærstruktur; altså sammensetningen av aminosyrer. Med bakgrunn i denne metoden kunne det da identifiseres fire genprodukter; α_{s1} -kasein, α_{s2} -kasein, β -kasein og κ -kasein, med typiske konsentrasjoner på henholdsvis 12-15, 3-4, 9-11 og 2-4gL⁻¹ (Eigel et al. 1984; Farrell et al. 2004; Huppertz 2013). α -s og β -kaseinene er kalsium-sensitive, de felles ut i løsninger med opp til <0,1 mM Ca²⁺, mens κ -kasein er Ca-stabil, og kan i enkelte forhold bidra til å øke stabiliteten til α -s og β -kaseinene (De Kruif & Holt 2003).

α_{s1} -kasein:

α_{s1} kasein deles inn i ulike genetiske varianter (noteres A-G, hvor A og B er vanligst), samt antall fosforyleringer (8-13). Proteiner av familien α_{s1} utgjør ca 40% av den totale kaseinfraksjonen i kumelk, hvor α_{s1} B-8P er den hyppigst forekomne i raser av arten *Bos Taurus*, slik som Norsk Rødt Fe (NRF) (Huppertz 2013). Denne varianten av proteinet består av 199 aminosyrer med 8 av 16 fosforylerte Serin-aminosyrer (Ser), mens α_{s1} B-9P følgelig har én ekstra fosforylert Ser. Plasseringen av disse fosforylerte aminosyrene har stor betydning for proteinets egenskaper, α_{s1} B-9P har to «klynger» med fosforylerte Ser, hvilket gjør at proteinet lettere kan stabilisere (Huppertz 2013).

α_{s2} -kasein:

α_{s2} -kasein utgjør opp til 10% av den totale proteinkonsentrasjonen, opptrer i tre genetiske varianter (A, B og C), hvor variant A er mest vanlig i vestlige raser, og har en svært varierende grad av fosforylering. Den store variasjonen i fosforylering gjør at molekylvekten varierer mellom ca 24-25 kDa. α_{s2} -kasein regnes som det mest hydrofile kaseinet grunnet sine mange og sterkt ladde aminosyrer (Huppertz 2013).

β-kasein:

Den nest største kaseinfraksjonen utgjør β-kasein, med 30-35% av total kaseinmengde. Dette er enkle polypeptidkjeder bestående av 209 aminosyrer, og med en molekylvekt på 2400 Da. Proteinenes fem fosfoseryl-rester er samlet i klynger nær det N-terminale segmentet (aminosyrer 1-43), mens det C-terminale området (136-209) er svært hydrofobt. Denne oppsamlingen av hydrofile og hydrofobe områder i de terminale endene gjør at β-CN er mer overflateaktive enn α-CN. β-CN assosierer med lavere hastighet enn α-CN, og de skilles ikke like raskt ut ved tilstedeværelse av kalsium sammenlignet med α-CN. (Wong 1989)

κ-kasein:

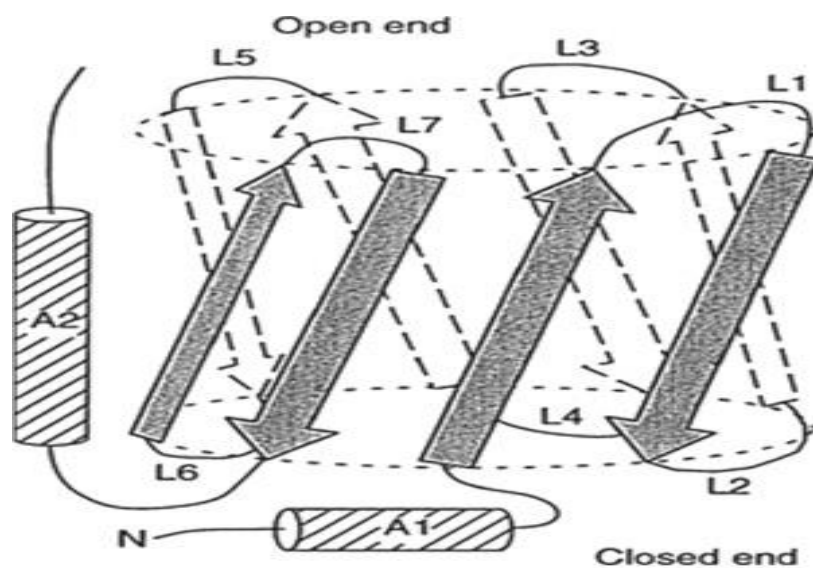
κ-kasein er det minste av kaseinene, det har en liten grad av fosforylering, har en lav kalsium-sensitivitet, og er det eneste proteinet som opptrer i glykosylert form. Det er funnet at κ-kasein er ~40% ikke-glykosylert, og resten er glykosylert med 1-6 polysakkarider, som konsekvent bindes til Thr. κ-kasein B har som regel en høyere grad, og mer kompleks og variabel glykosylerings-struktur (Huppertz 2013). Den tredje største kaseinfraksjonen, κ-CN, er den eneste av de største fragmentene som inneholder aminosyren cystein. Molekylvekten til κ-CN er ~1900, og de danner polymere, via disulfid-bindinger, med en molekylvekt på 60.000-600.000 Dalton. Monomeret av κ-CN har kun en fosfatrest, men har 0-5 karbohydratkjeder (tri-sakkarider). Monomeret inneholder 169 aminosyreester med hydrofobt N-terminal område (1-105) og hydrofilt C-terminalt område (106-169), bedre kjent som para-κ-CN og makropeptid. Alle karbohydrater i monomer og den ene fosfatgruppen er lokalisert i makropeptidet. Denne ujevne fordelingen i kombinasjon med et høyt innhold av asparaginsyre og glutaminsyre gir en sur og lettløselig C-terminal ende hos monomeret av κ-CN. κ-CN er derfor minst sensitiv overfor utfelling på grunn av kalsium-ioner i kaseinmicellen. (Wong 1989)

I vestlige ku-raser, som *bos taurus* (Norsk Rødt Fe) er det den genetiske varianten A av κ-kasein som er dominant, ellers er B også vanlig forekommende. κ-kasein B skilles fra variant A ved substitusjon i posisjon 136, hvor Ile er byttet ut med Thr, og i posisjon 148, hvor Ala er byttet ut med Asp (Huppertz 2013).

Myse-/serumprotein:

Mesteparten av serumproteinene er globulære proteiner med en relativt høy hydrofobisitet. I hovedsak utgjør disse β -laktoglobulin og α -laktalbumin, men også serum albumin, immunoglobulin og proteose-peptoner (Sawyer 2003; Walstra et al. 2006d).

β -laktoglobulin (β -LGB) utgjør den største andelen av serumproteiner ($\sim 3\text{g/l}$) og er et relativt lite protein med 162 aminosyrer og en molekylvekt på 18-20 kDa (Creamer & Sawyer 2003; Sawyer 2003). β -laktoglobulin er et protein av lipocalin-familien, som er en familie med stor sekvensiell variasjon, med $<25\%$ sekvens-identitet.



Figur 2-1 Lipocalin struktur. A1 og A2 utgjør N- og C-terminale ender, L=loops (Ofte dal 2013a)

Familien har en særegen tertiærstruktur, vist i figur 2-1, den er kompakt brettet og inkluderer en åtte-trådet antiparallell « β -tønne»-fasong (β -barrel). Strukturen er sammenkoblet med løkker (loops) og en α -heliks i både N-terminal og C-terminal ende (Ofte dal 2013c; Sawyer 2003). « β -tønne»-fasongen er åpen i den ene enden, og har en innelukket bindings-lomme «binding pocket» (Ofte dal 2013c).

```

1                               10                               20
H-Leu-Ile-Val-Thr-Gln-Thr-Met-Lys-Gly-Leu-Asp-Ile-Gln-Lys-Val-Ala-Gly-Thr-Trp-Tyr-
21                               30                               40
----- β-A ---->| |<-helical->|
Ser-Leu-Ala-Met-Ala-Ala-Ser-Asp-Ile-Ser-Leu-Leu-Asp-Ala-Gln-Ser-Ala-Pro-Leu-Arg-
41                               50                               60
|<----- β-B ----->| |<----- β-C ----->|
Val-Tyr-Val-Glu-Glu-Leu-Lys-Pro-Thr-Pro-Glu-Gly-Asp-Leu-Glu-Ile-Leu-Leu-Gln-Lys-
61                               70                               80
β-C-->| |<----- β-D ----->|
Trp-Glu-Asn-Gly-Glu-Cys-Ala-Gln-Lys-Lys-Ile-Ile-Ala-Glu-Lys-Thr-Lys-Ile-Pro-Ala-
81                               90                               100
|<----- β-E ---->| |<----- β-F ---->|
Val-Phe-Lys-Ile-Asp-Ala-Leu-Asn-Glu-Asn-Lys-Val-Leu-Val-Leu-Asp-Thr-Asp-Tyr-Lys-
101                              110                              120
|<----- β-G ----->| |<-helical->| |<----- β-H --
Lys-Tyr-Leu-Leu-Phe-Cys-Met-Glu-Asn-Ser-Ala-Glu-Pro-Glu-Gln-Ser-Leu-Ala-Cys-Gln-
121                              130                              140
--- β-H -->| |<----- α-helix ----->|
Cys-Leu-Val-Arg-Thr-Pro-Glu-Val-Asp-Asp-Glu-Ala-Leu-Glu-Lys-Phe-Asp-Lys-Ala-Leu-
141                              150                              160
|<----- β-I ---->| |<---helical--->|
Lys-Ala-Leu-Pro-Met-His-Ile-Arg-Leu-Ser-Phe-Asn-Pro-Thr-Gln-Leu-Glu-Glu-Gln-Cys-
162
His-Ile-OH

```

Figur 2-2 Primærstruktur til β -laktoglobulin, variant B. Røde sirkler indikerer hvilke aminosyrer som skiller den fra variant A (variant A har Asp 64 & Val 118) (Farrell et al. 2004)

Det er funnet flere genetiske varianter av β -LGB, hvor A og B er de to vanligste, variant A skiller seg fra B ved to single nukleotide-substitusjoner hvor Gly(64) er byttet ut med Asp, og Ala(118) er byttet ut med Val (Aschaffenburg & Drewry 1957; Farrell et al. 2004; Sawyer 2003), som illustrert i figur 2-2. Proteinet β -LGB opptrer predominant som dimere i fysiologisk tilstand, men kan danne oligomerer, fra dimerer til oktamere. (Ofte dal 2013c). Ved pH <3,5 og pH >7 disosierer β -LGB til monomere, ved pH-intervall [5,5 , 7,5] opptrer de som dimerer, mens mellom [3,5 , 5,2], og spesielt rundt pH ~4,6 danner de oktamere med en molkeylvekt på ~144kDa (Ofte dal 2013b).

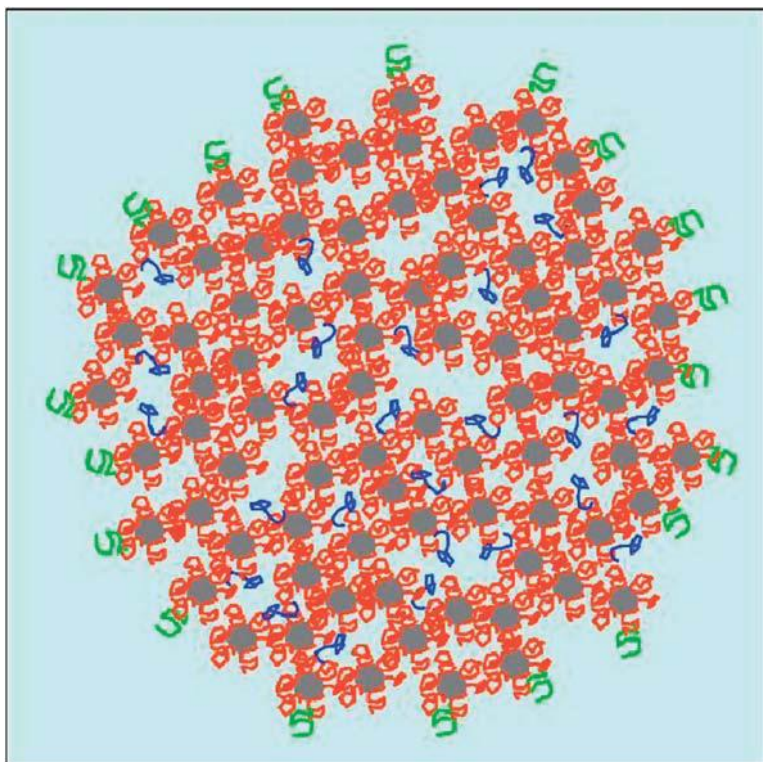
Varmestabiliteten til β -LGB A er funnet å være noe lavere (72°C for komplett denaturering) sammenlignet med variant B (77°C) (Keppler et al. 2014), mens β -LGB B har blitt funnet å utvise en høyere aggregerings-rate mot CSN-3 ved varmebehandling, sammenlignet med variant A.

En del forskning har allerede blitt gjort på effekt av β -LGB-varianter, men resultatene er tidvis tvetydige (Allmere et al. 1997b; Hallén et al. 2008) Det har blitt funnet at kyr med genotype β -LGB AA gav melk med kortere koagulerings-tid, og økt gel-styrke i syrefelt melkegel. Det ble også funnet at β -LGB AA var korrelert med høyere konsentrasjon av totalt

β -LGB-innhold. Ved like konsentrasjoner av β -LGB gav genotype BB den fasteste gelen (Bobe et al. 1999; Hallén et al. 2008; Ng-Kwai-Hang et al. 1984).

Kaseinmicellene

Flere forskjellige modeller har tidligere blitt postulert til kaseinmicellenes struktur (De Kruijff & Holt 2003; Holt & Horne 1996; Horne 2006; Walstra 1999; Walstra et al. 2006b), men den rådende teorien i dag ble forslått av Dalgleish (2011) stort sett enighet i dag om modellen hvilke komponenter den består av, og at micellene er fundamentale elementer i melkens gelddanning. Micellene er beskrevet som sfæriske makromolekyler på 40-300nm i diameter, sammensatt av α_s -kasein og κ -kasein, stabilisert av β -kasein (CSN-2) og et kalsiumfosfat- og sitrat-kompleks.



Figur 2-3 Skjematisk fremstilling av kaseinmicellen, CaP nanoklynger (grå) er innkorporert i micellen, med kasein (rød) og CSN-3. Mobilt CSN-2 (blå) befinner seg i "vannkanalene" på innsiden av micellen (Dalgleish 2011)

Micellene opptrer som separate elementer i

melken, mer voluminøse, og holder mer

vann enn tørrstoff, og de er negativ ladd. (Dalgleish 2011; Heertje et al. 1985; Walstra et al. 2006a). Den negative ladningen kommer av det hårete κ -kasein-laget, som har en utadvent C-terminal ende. De negativt ladde κ -kasein-hårene er micellenes eneste kilde til bevegelse, som da utgjøres av Brownske krefter (Walstra et al. 2006a). Innholdet av kalsium er kritisk for stabiliteten av micellen, fjerning av kalsiumet fører til oppløsning av kaseinmicellen (Heertje et al. 1985)

Strukturen beskrevet av Dalglish (2011) er illustrert i figur 2-3. Her vises kaseinmicellen med innkorporerte kalsiumfosfat nanoklynger innkorporert i micellen, med tilkoblede kasein (rød) og CSN-3 (grønn) plassert på overflaten. I denne modellen er vann en viktigere del av den interne strukturen enn i forhold til tidligere modeller, her er micellen vist med en porøs struktur med kanaler fylt med vann. "Hydrofobisk bundet" mobilt β -kasein (blå) befinner seg i disse "kanalene" hvor deres amfifilske natur gjør dem overflateaktive, og de kan derfor interagere med vannet og bidra til å stabilisere micellen. En porøs struktur med kanaler skal være forklaringene på hvordan bl.a. CSN-2 kan bevege seg inn og ut av micellen ved temperaturendringer (Dalglish 2011).

2.1.2 *Fett*

Fettinnhold kan i mange produkter ofte være forbundet med sensoriske egenskaper, som viskositet. Lucey et al. (1998a) viste at ved produksjon av syrefelte gel var fettkulene inkorporerte i gel-matriksen, noe som tyder på at de har en positiv interaksjon med gel-nettverket. Det ble videre funnet en økning i lagringsmodul. G' , samt en tydelig teksturforandring i prøver med fettinnhold på henholdsvis 3,5%, 1,5% samt skummet melk, analysert med konfokal mikroskopi. Cho (1997) postulerte to muligheter for fettkulenes opptreden i en syrefetl gel; enten kan de opptre som interagerende partikler og integreres i matriksen, og dermed bidra til rigiditet i den kasein-baserte matriksen, eller de kan opptre som ikke-interagerende partikler, hvor de lukkes inn i nettverkets porer, uten å danne bindinger.

2.1.3 *Tørrstoff*

Et lavt innhold av tørrstoff er ofte forbundet med myseutskillelse, myse vil da presses ut av gelen under lagring og legge seg på overflaten. (Robinson & Tamime 1993) For yoghurtproduksjon anbefales det å ha et tørrstoffinnhold (SNF) på ~12% for å sikre en tilstrekkelig fast gel, med minimal synerese (Robinson & Tamime 1993), derfor blir yoghurt ofte tilsatt ekstra tørrstoff. For kulturmilk, som skal være et lettdrikkelig produkt, vil det naturligvis ikke være nødvendig med en så høy andel SNF, men naturlige variasjoner i SNF vil kunne forventes å skape forskjeller i gel-styrke og/eller viskositet i det endelige produktet.

2.2 Kulturmilk

Kulturmilk, tradisjonelt omtalt som «surmilk» (Tamime 2006), er et begrep som kan benyttes på to forskjellige produkter.

Den opprinnelige, «tradisjonelle» kulturmilken, er kjernemilk, og er det som på engelsk kalles *buttermilk*, og er som navnet antyder et biprodukt av smørproduksjon. Kjernemilken har lenge vært brukt til drikke og som ingrediens i matlaging og bakst. Kjerningen av fløte eller rømme til smør fører til at fettkulemembranen brytes, og fosfolipider lekker ut av fettfasen. Dette gjør at kjernemilka får en relativt høy andel fri fosfolipider, disse er spesielt utsatt for autooksidasjon, grunnet den høye andelen flerumettede fettsyrerester. Kjernemilken har derfor en svært kort holdbarhet, (ca 2 dager) og egner seg derfor ikke i salg som et ferskt produkt. (Tine u.å.; Walstra et al. 2006d)

Moderne kulturmilk, tradisjonelt kalt «surmilk», (på engelsk; *cultured buttermilk*) selges i Norge som hel- (3,5% fett) eller skummet milk (0,4% fett) (Tine u.å.). Produksjonen foregår ved at melka standardiseres til ønsket fettprosent, før den blir homogenisert ved 20MPa, pasteurisert ved ca. 95°C i 5 min, og så avkjølt til ca. 18-22°C. Melka syrnes deretter ved tilsats av en mesofil syrekultur, som i løpet av 16-20 timer produserer nok syre til at pH synker til 4,5. Melka røres da opp, avkjøles til 4-9°C og pakkes (Fernandes 2009; Fondén et al. 2008; Robinson 2005). I resten av oppgaven vil begrepet «kulturmilk» referere til denne varianten av produktet.

Når fermentert milk skal produseres er det kritisk at melken blir behandlet på en slik måte at syrekulturen får optimale vekstforhold. Dette oppnås hovedsakelig ved å varmebehandle melken tilstrekkelig slik at konkurrerende mikroorganismer blir eliminert/hemmet i størst mulig grad. I tillegg må melken tempereres til syrekulturens optimale vekstområde til podingen, slik at kulturen vokser seg i ønsket hastighet og sammensetning. (Bylund 2015)

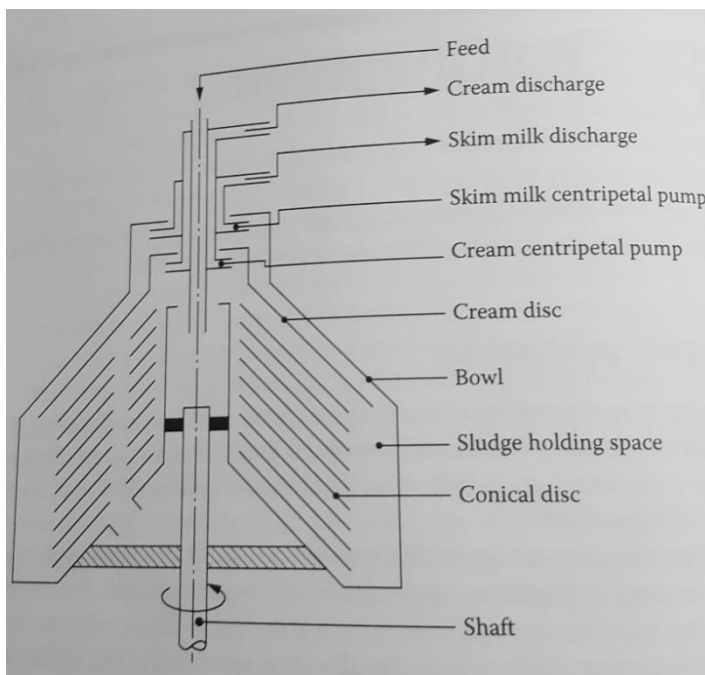
Den kraftige varmebehandlingen har også stor betydning for det syrnede produktets viskositet. Mens kasein er svært varmestabile, vil varmebehandlingen «brette ut» de globulære myseproteinene, hvor de reaktive thiol-gruppene eksponeres, med påfølgende irreversibel denaturering og aggregering. De eksponerte sulfidgruppene til myseproteinene er da fri, og kan binde seg til κ -kasein på kasein-micellene, enten via disulfid-bindinger med κ -kaseinets cysteinyl-grupper, eller via hydrofobe interaksjoner. Denatureringen fører til at myseproteinene får et økt volum og vannbindingsevne, og samtidig en redusert løselighet. (Fuquay et al. 2011b; Tamime & Robinson 1999). Cysteinyl-grupper finnes også på α_{s2} -

kasein, men ettersom α_{s2} -kaseinene hovedsakelig finnes på innsiden av kasein-micellen, er de lite reaktive (Fuquay et al. 2011b).

2.3 Melkebehandling i fremstilling av skummet kulturmilk

2.3.1 Separering

Sentrifugal-separering er den prosessen som vanligvis benyttes for å separere ut enten fysiske partikler, eller melkens fettkuler, da i form av fløte, fra den resulterende skummede melken. Prinsippet går ut på at melk føres inn i toppen («Feed») av separatoren langs den midtre akse, som illustrert i figur 2-4, hvorpå melken flyter inn i den roterende skålen og fordeles i de separate diskene («Conical disk»).



Figur 2-4 Forenklet illustrasjon av en topp-matet "semi-åpen" fløteseparator, med roterende skål (bowl), drevet av en motorisert aksel (shaft), som sender melken gjennom perforerte diskene (flere enn illustrert i figuren) (Walstra et al. 2006h)

Sentrifugalkraften maskinen utøver på melka presser fettkulene ned mot ytterkantene av diskene, hvorpå fettkulene, i form av fløte, flyter opp og inn mot midtpartiet. Den gjenværende skummede melken, «melkeplasmaen», som fortsatt inneholder en mindre andel små fettkuler, blir ført ut mot sidene, og føres opp og ut i et separat utløp. (Walstra et al. 2006d)

Ved å temperere melka til 55-60°C gis det en økt forskjell i tetthet mellom skummetmelka og fløten, og dermed en økt separeringseffekt, fettkrystallene vil smelte, størrelsen på fettkulene vil øke, og viskositeten til den skummede melken vil synke, noe som kan gi en skummet melk med en fettprosent fra 0,01% (Partridge 2015).

2.3.2 Homogenisering

Fettinnholdet i melkeprodukter tilfører en kremete konsistens, og gir en forbedret munnfølelse (Tamime & Robinson 1999). Homogenisering av melkeprodukter blir utført for å hindre at fett skilles ut fra produktet under lagring, gi økt stabilitet mot sammenvoksing av fettkuler, gi en forbedret konsistens (jevnere og mer viskøs), øke hvitheten og hindre myseutskillelse (Tamime & Robinson 1999; Walstra et al. 2006d).

Homogenisering av fett vil gi en økt total overflate av fettkulene, som fører til at en større andel myseproteiner kan assosiere med fettkulemembranen, og dermed gi en bedre finfordeling i produktet. Resultatet av homogenisering påvirkes av faktorer som homogeniseringstemperatur, forvarming og kaseinmicelle-størrelse (Walstra et al. 2006d).

2.3.3 Varmebehandling

Pasteurisering av melk til syrnede produkter er viktig for å tilrettelegge for gode teknologiske og mikrobiologiske forhold, (Bylund 2015), det har blitt vist av blant andre Tamime og Robinson (1999) og Lucey et al. (1998a) at varmebehandling av melken har en mye større effekt på økning i viskositet enn det homogenisering og fettinnhold. Ved tilstrekkelig varmebehandling vil myseproteinet BLG (β -laktoglobulin) denatureres, og, grunnet endring i den strukturelle konformasjonen, eksponere den reaktive thiol-gruppen. Denne gruppen kan interagere med andre molekyler ved bl.a. å danne disulfidbindinger med andre molekyler med en reaktiv thiol-gruppe (Vasbinder & de Kruif 2003).

Denne økningen i viskositet skyldes at myseproteiner denatureres ved varmebehandlingen, graden av denaturering avhenger av temperatur og holdetid. «Vanlig» pasteurisering gir svært liten denaturering av myseproteinene, i syrnede produkter ønskes en høy grad av denaturering derfor benyttes høypasteurisering; en behandling med høyere «varmebelastning». Syrefelt melke-gel behandlet med temperatur på $\geq 80^{\circ}\text{C}$ i 15 minutter er vist å gi en økt lagringsmodul (G'), en økt pH for gel-dannelse, en fremskyndet gel-danning (kortere tid), samt en mer forgreinet gel-struktur sammenlignet med mildere eller ingen varmebehandling (Lucey et al. 1997; Lucey et al. 1998c; Lucey et al. 1999). Optimal varmebehandling er videre funnet å være ved en temperatur på $90-95^{\circ}\text{C}$ og en holdetid rundt 5 minutter, som denaturerer 70-80% av den totale myseproteinfraksjonen, og 99% av den spesifikke β -laktoglobulin-fraksjonen (Bylund 2015).

En høyere denatureringsgrad er gunstig i syrnede produkter som yoghurt og kulturmilk, da det gjør at proteinene eksponerer de ladde gruppene, og dermed kan interagere i større grad med væskefasen; m.a.o. binde vannet bedre og gi en fastere og mer stabil gel, med redusert synerese (myseutskillelse). κ -kaseinet vil også denaturere og feste seg til kasein-micellene (Bylund 2015). Myseutskillelse er korrelert med et ustabil gel-nettverk, hvor sammentrekninger av nettverket presser ut væskefasen, som ender opp på overflaten av gelen. Denne ustabiliteten kan skyldes en økt grad av rearrangement av gel-matriksen eller det kan skyldes en påført «skade» på nettverket, i form av f.eks. vibrasjoner eller andre fysiske påkjenninger. Spontan myseutskillelse skjer ved «naturlige» sammentrekninger av gel-nettverket, hvor da ingen ekstern kraft er skyld i denne. (Lucey et al. 1998b).

Varmebehandlet melk inneholder en blanding av kaseinmiceller dekket av myseproteiner og løselige myseproteinaggregater. Forskjellen i gatering mellom varmebehandlet og ikke-varmebehandlet melk ligger i skift i gelerings-pH, sterkere gel, og en endret gel-mikrostruktur. En gel med høy gel-styrke oppnås mest effektivt når alle denaturerte myseproteinene opptrer er tilstede som myseprotein-aggregater (Vasbinder et al. 2004).

Corredig og Dalgleish (1999) fant at ved varmebehandling interagerer β -LGB med kaseinmicellen, ved å binde seg til κ -kasein, hvor graden av interaksjonene til β -LGB var begrenset i forhold til antallet tilgjengelige bindingssteder. Videre fant de at også α -la indirekte interagerer med kaseinmicellen, hvor α -la sammen med β -LGB danner mellomliggende produkt mens de fortsatt var i løsning, før interaksjon med kaseinmicellen. Grad av interaksjon for α -la var derfor begrenset etter mengde tilgjengelig β -lg, men også etter konsentrasjon av α -la i melken. Polymerene som β -LGB danner ved oppvarming ($> 60^{\circ}\text{C}$) bindes grunnet de nativt skjulte thiol-gruppene som blir eksponert når proteinet denatureres (Panick et al. 1999).

I tillegg til assosiasjon via disulfid-bindinger har Galani (1999) foreslått en hypotese hvor også temperaturavhengige, ikke-kovalente assosiasjoner opptrer mellom aggregatene (Galani 1999).

2.3.4 Poding og syrning av en DL-kultur

Kvalitetene til den ferdige melka er i stor grad avhengig av sammensetningen av syrekulturen, da det er disse som produserer melkesyre, aromastoffer, CO_2 osv.

Melkesyrebakteriene er mesofile, og faller under familiene *Lactococcus*, *Leuconostoc* og

Pediococcus, disse har et optimalt vekstområde mellom 25-30°C. Tradisjonell kulturmelk/syrnet kjernemelk ble syrnert av de bakteriene som naturlig forekom i melka, ofte var dette en blanding av *Lactococcus* spp. (melkesyre-produsentene *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, og *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* biovar *diacetylactis*, kjent for produksjon av diacetyl-smak) og *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (ansvarlig for produksjon av aromakomponenter) (Robinson 2005).

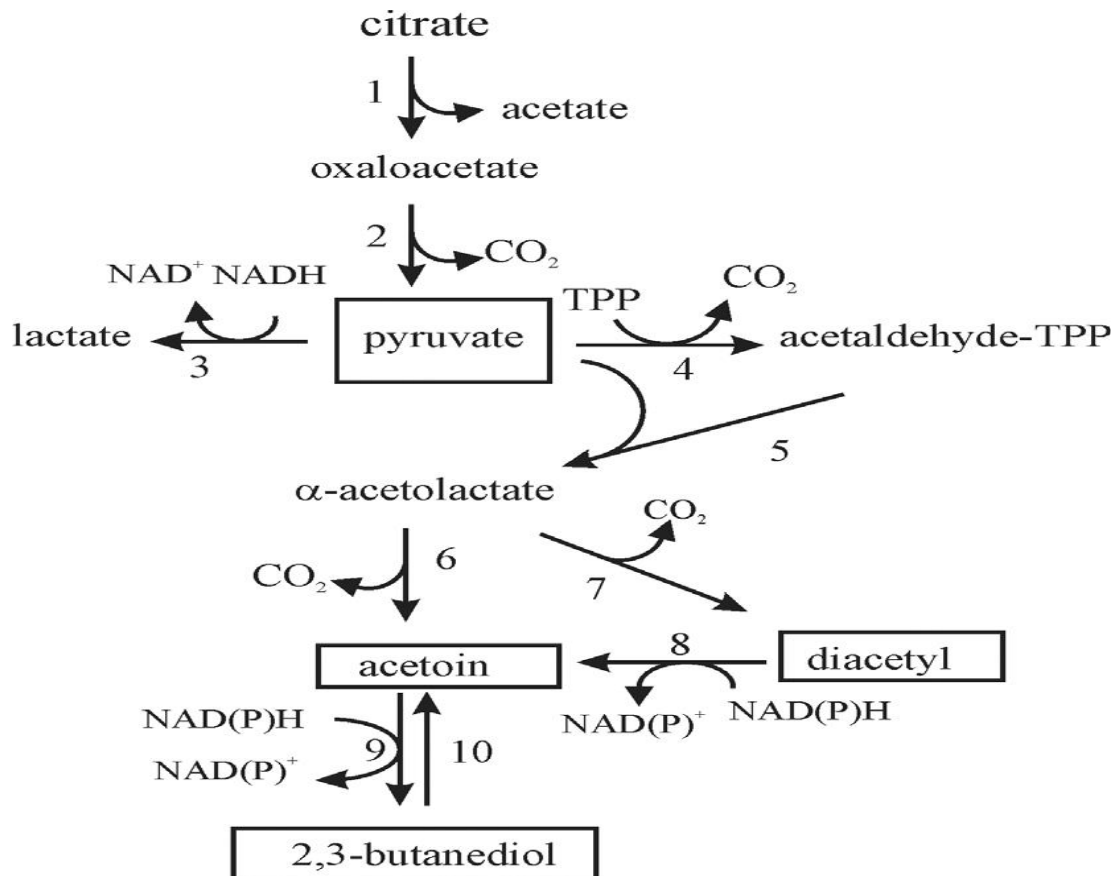
Den moderne kulturmelken benytter seg av en mesofil DL-kultur, også bestående av laktokokker og leuconostoc. Bokstavene D og L indikerer at kulturen inneholder både *L. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* (D) og *Leuconostoc* (L). Dette er en udefinert kultur, som er sammensatt med utgangspunkt i den tradisjonelle kulturen, men som inneholder et bredere utvalg nært beslektede stammer (Abrahamsen et al. 2003). Sammensetningen i en slik udefinert kultur er basert på det dynamiske samarbeidet mellom de ulike bakteriene, og sammensetningen kan variere med bruk (Walstra et al. 2006d).

Tabell 2-1 Karakteristika av melkesyrebakterier i en DL-kultur (Abrahamsen et al. 2003; Walstra et al. 2006f)

Slekt	Art	Optimal veksttemperatur	Laktose fermentasjon	Sitrat-metabolisme	Diacetyl-produksjon	EPS-produksjon
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	8-32°C	Homoferm.	-	-	+/-
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	8-32°C	Homoferm.	+	+	-
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	8-32°C	Homoferm.	-	-	+/-
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leu. mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	8-32°C	Heteroferm.	+	+	+/-

Av tabell 2-1 er det indikert at det er *Leu. mesenteroides* og *L. diacetylactis* som er ansvarlige for produksjonen av aromakomponenter, mens *L. lactis* og *L. cremoris* hovedsakelig produserer syre i form av melkesyre i sitrat-metabolismen. Balansen mellom aromaprodusenter og syreprodusenter i syrekulturen er svært viktig for å oppnå et godt

resultat. Fermenteringen av kulturmilk skjer som regel ved 20-22°C, dette er for å sikre en jevn vekst av både aroma- og syre-produserende bakterier (Walstra et al. 2006d).



Figur 2-5 Produksjon av 4-karbon-forbindelser gjennom ulike metabolismer hos melkesyrebakterier av slektene *Lactococcus* og *Leuconostoc* (Quintans et al. 2008)

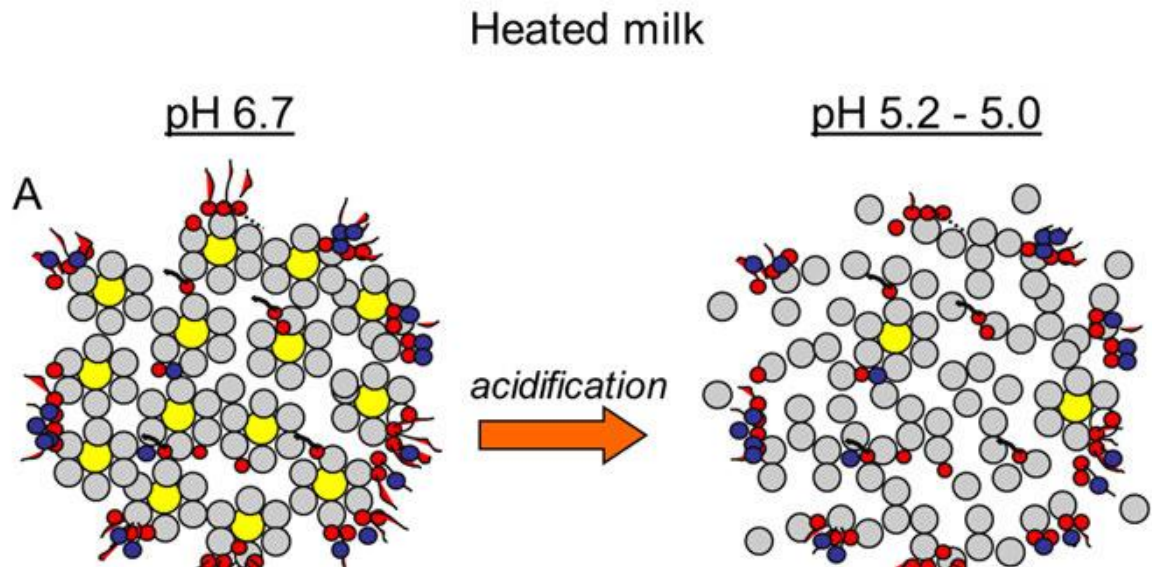
Melkesyrebakteriene fermenterer først og fremst laktose, som er lettest tilgjengelig, men også deres sitrat-metabolisme, vist i figur 2-5, er vel så viktig for å oppnå et godt sensorisk resultat i syrnede melkeprodukter (Hutkins 2001). Sitrat finnes naturlig i melken, og kan nedbrytes av melkesyrebakteriene gjennom sitrat-metabolismen til 4-karbon-komponenter, hovedsakelig de aromatiske komponentene diacetyl, acetoin og butandiol, hvor spesielt diacetyl utgjør en viktig smakskomponent i fermenterte melkeprodukter (Hutkins 2001; Quintans et al. 2008; Walstra et al. 2006f).

Defekter i kulturmilk er ofte knyttet opp mot syrekulturen og håndtering av denne.

Aromaprodusentene har en optimal vekst og produksjon rundt pH~5, og avhenger derfor av aktiviteten til de melkesyre-produserende bakteriene. Aromaprodusentene er også temperatursensitive, og vil ikke produsere tilstrekkelig diacetyl hvis temperaturen er for høy,

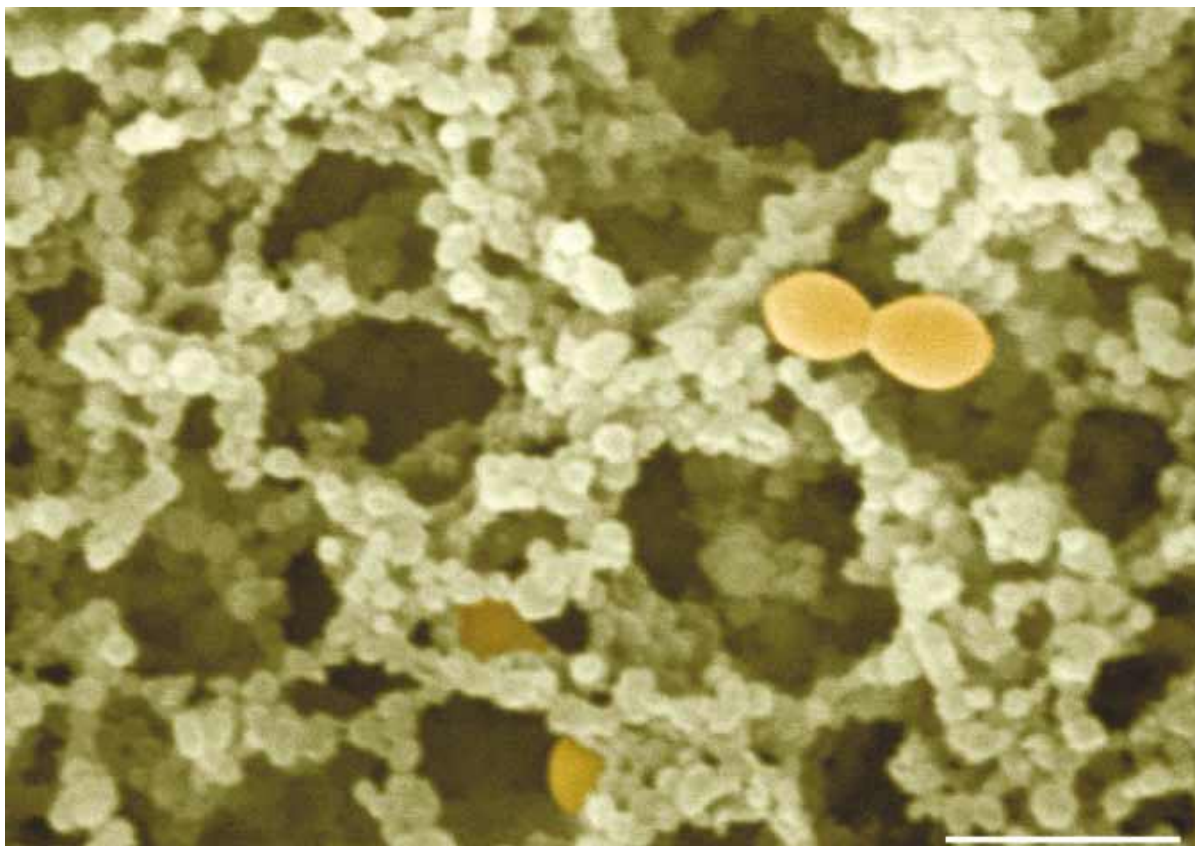
noe som resulterer i et produkt med en «flat smak». Ved endt syrning er det viktig å avkjøle produktet raskt etter opprøring for å unngå tap av flyktige komponenter, som diacetyl. Et produkt med en generelt lav aktivitet, eller som avkjøles før syrning er fullendt vil gi et for lite viskøst resultat (Mistry 2001).

Startkulturens syreproduksjon, som følge av dens metabolisme, vil gi en reduksjon i pH som vil gi signifikante endringer i melkens strukturelle kvaliteter. Kaseinmicellenes overflate er i en viss grad dekket av κ -kasein, som gir micellen en kråkebolle-lignende overflate, hvor κ -kasein er de utstikkende protein-kjedene. De utadvendte endene på κ -kaseinkjedene er hydrofile, disse negativt ladde endene har en viktig funksjon i at de i en viss grad bidrar med sterisk stabilitet til micellene, og dermed hindrer assosiasjon av micellene under fysiologiske forhold. Fallet i pH ved fermentering vil føre til en nøytralisering av disse ladde gruppene, og micellene vil assosiere og danne et nettverk (Dalglish 2007; De Kruif & Holt 2003; Hyslop 2013). Etter hvert som pH faller, vil det kolloidale kalsium-fosfatet i økende grad løses opp i væskefasen, helt til, ved pH \sim 4,6, så å si all kalsium og uorganisk fosfat er funnet i den løselige fasen (Dalglish & Law 1989). Forsøk med bl.a. løpebehandlet melk har vist at kaseinmicellene på et vis er «over-stabiliserte» i den forstand at det er mulig å fjerne en betydelig andel av micellenes κ -kasein uten at melken koagulerer (Dalglish 2007). Dette kan tyde på at det også er andre komponenter, som f.eks. β -laktoglobulin, som bidrar til sterisk stabilitet av micellene. Lucey et al. (1997) har blant annet funnet at varmebehandlet melk starter gel-danning ved pH \sim 5,3 og dermed foreslått at det foreligger en direkte sammenheng mellom gelering og β -laktoglobulins (pI \sim 5,3) dannelse av varme-indusert myseprotein/ κ -kasein kompleks samt deres egenskaper, ettersom kaseinmicellen selv har en pI på \sim 4,8. Denne antagelsen har blitt støttet av Alting et al. (2002) som viste at endring i pI til β -LGB påvirket tidspunkt for gelering i syrefelt gel av myse-isolat.



Figur 2-6 Syrningen av melk fører til at de intra-micellære interaksjonene løsner opp grunnet oppløsning av CCP. Fargekoder; Rød:κ-kasein; Blå:Myseproteiner; Grå:α,- og β-kasein; Gul:CCP (Ercili-Cura 2012)

Melkesyren produsert av bakteriekulturen fører til en reduksjon i pH som løser opp kalsiumfosfat-gruppene, markert med gult i Figur 2-6, i kasein-micellene. Dette gjør at protein-micellene får en åpnere struktur, og dermed evner gel-danning ved å binde væskefasen i melken.



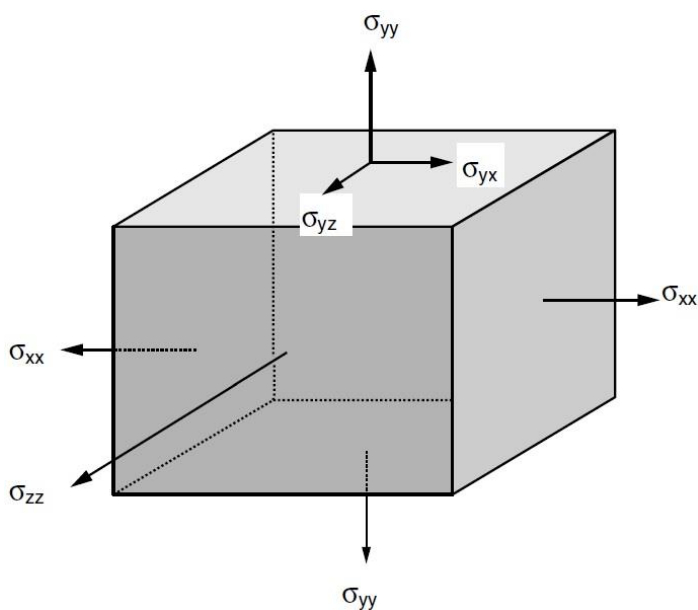
Figur 2-7 Elektronmikroskop-foto av protein-nettverk i yoghurt (Kalab 2010)

Figur 2-7 viser proteinstrukturen i en syrefelt gel, fotografert med et elektron-mikroskop. Kaseinmiceller sammenkoblet med κ -kasein- β -laktoglobulin komplekser vises her, hvor de danner et tredimensjonalt gel-nettverket som fanger væskefasen i porer. Oppe til høyre i figuren sees to kokker av syrekulturen. «Målebåndet» nede til høyre representerer 2 μm .

2.4 Reologi

Reologi er vitenskapen som benyttes for å forklare hvordan væsker flyter, og solide stoffer deformeres, ved påført stress/kraft. Til dette benyttes reometrisk måleteknologi for å analysere og vurdere et produkts reologiske kvaliteter (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002a; Mezger 2006b). I denne oppgave er det forsøkt å oppnå et sammenligningsgrunnlag for de reologiske kvalitetene til de ulike prøvene ved å utføre reometriske analyser på prøvenes *viskositet*, gelens *elastisitet* og gelens *hardhet*.

Stress (σ) påført et objekt er definert som en kraft (F) utøvd over et areal (A). Denne kraften kan være *normal* eller *tangential*. I figur 2-8 er disse angitt ved sub-indeks på σ . Det første symbolet indikerer posisjon på objektet hvor kraften starter, mens den andre indikerer kraftens retning. Stress kan da påføres på tre forskjellige steder, i , som igjen kan følge tre ulike retninger, j .



Figur 2-8 Stresspåkjenninger (σ) i forhold til materiale. Sub-indeks indikere retning. σ_{ii} og σ_{ij} indikerer normal stress, σ_{ij} indikerer tangentialt stress (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002b).

$$\sigma_{ij} = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix}$$

Figur 2-8 Stress-vektorer, lik sub-indeks (σ_{ii}) indikerer normalkraft. Vektorene er symmetriske, hvilket gir at $\sigma_{ij} = \sigma_{ji}$ (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002b)

En normalkraft vil være påført direkte i horisontal eller vertikal retning (90° vinkel), indikert i figur 2-8 ved σ_{xx} og σ_{yy} (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002b). En slik kraft benyttes ved kompresjons-tester, slik som ved test av gel-styrke.

En tangential kraft har i figur 2-8 notasjon ved ulike sub-indekser, σ_{ij} (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002b). En slik oppstår når produktet utsettes for en skjærkraft, hvor et skjær, i direkte kontakt med produktets overflate, «drar» produktet via overflaten i en gitt retning. En slik skjærkraft utøves når en væske i en kopp utsettes for kraft fra en spindel som roterer rundt. Materialet kan inneha elastiske og viskøse egenskaper, hvor de fleste næringsmidler har en kombinasjon av disse.



Figur 2-9 Illustrasjon av en elastisk model (Hooke's lov) til venstre, og en viskøs model (Newtons lov) til høyre

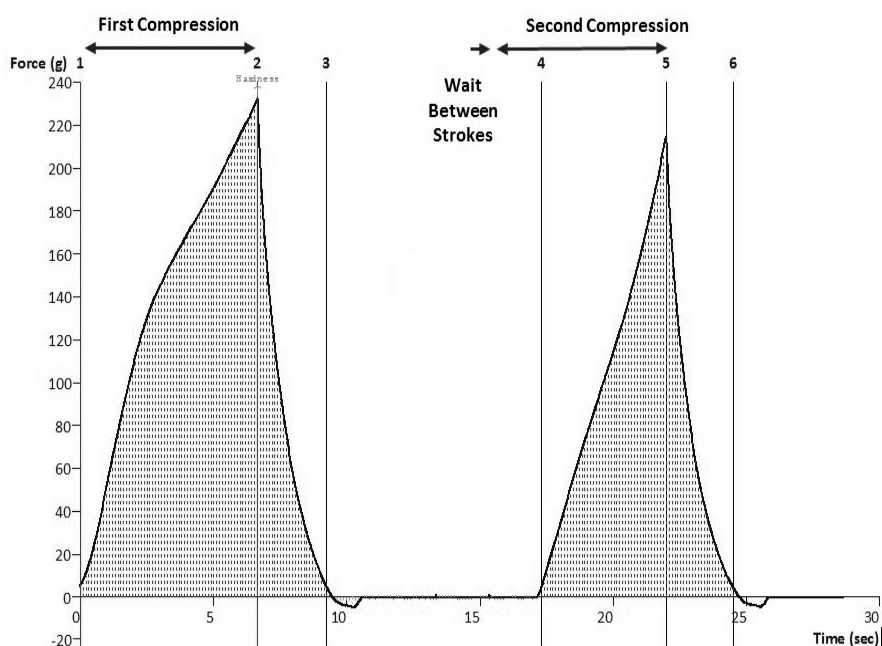
Fullstendig elastiske materialer følger Hooke's lov, som illustrert i springfjær-modellen i figur 2-9. Prinsippet til Hooke's lov går ut på at den kraften (F) en trenger for å strekke fjæren (produktet) i en avstand (X) er direkte proporsjonal med avstanden [$F = kX$], hvor k er en konstant tilhørende fjæren (Vincent 2012).

Fullstendig viskøse materialer kalles Newtonske væsker, og er illustrert i figur 2-9 som et stempel i en beholder med en væske. Materialet (væsken) flyter, og vil ikke «skades» av kraften påført fra stempellet. Mesteparten av næringsmidler, kulturmelk inkludert, utviser både elastiske og viskøse kvaliteter, og modellene som benyttes for å beskrive dem tar derfor i bruk en kombinasjon av disse prinsippene (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002c; Vincent 2012). Materialets mikrostruktur kan ha stor innflytelse på de reologiske kvalitetene, i en syrefelt melke-gel vil spesielt gel-nettverkets grovhet være avgjørende. (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002c; Walstra et al. 2006b). Den fysiske strukturen til en syrefelte gel utgjøres som nevnt av

at kaseinmiceller aggregerer som følge av tapte ladning ved pH-reduksjon. Ved aggregering av kaseinmiceller oppnås et tredimensjonalt nettverk, hvor fett og melkeserum er fordelt i «lommene» til nettverket (Walstra et al. 2006b).

2.4.1 Gel-styrke

Mange proteiner har gel-dannende egenskaper, hvor gelen kan binde vann og andre komponenter, som fett. Ved å måle styrken på uforstyrret gel er det mulig å få et bedre bilde av i hvor stor grad proteinene har aggreget i melken. Som nevnt tidligere er varmebehandlingen en viktig bidragsyter til myseproteinenes evne til å aggregerer med seg selv, og kaseinet, via disulfid-broer resulterende i en gel-struktur. Ved å teste gel-styrke i en uforstyrret gel vil en få et bredere bilde av de reologiske egenskapene til prøvene ved at ingen av bindingene dannet er brutt ved opprøring av gel. Om yoghurt skriver Walstra et al. (2006i) at et kontinuerlig nettverk som dannes i slike syrnede produkter er en indikasjon på en viskoelastisk gel, som regel med en forholdsvis lav flyt-grense (yield stress) på rundt 100 Pa*s. Ved opprøring av gelen vil en oppnå en noe viskøs, ikke-newtonsk væske, som er sterkt skjæretynnende. Lignende egenskaper man kan forvente i kulturmelk også. Ved opprøring av gelen brytes mange av bindingene mellom micellene, men disse kan i noen grad re-assosieres ved henstand (Walstra et al. 2006b). Gelstyrken er definert som den maksimale motstandskraften ytt mot proben, ved første kompresjon. Et *Texture Profile Analysis* (TPA)-system opererer med to kompresjoner, simulerende en tyggende deformasjon, hvor den resulterende motstandskraften gis i gram. Et eksempel på utskrift av TPA-plot er illustrert i figur 2-10.



Figur 2-10 TPA plot, toppen av første kompresjon indikere maksimal gel-styrke, hvor målepunktene benyttet er hentet (Stable Micro Systems)

Toppen av første kompresjon (punkt 2 i figur 2-10) markerer maksimal gel-styrke («peak hardness») ved denne første kompresjonen, og er den verdien benyttet i dette forsøket. Det negative arealet som i denne grafen vises etter 10 sekunder illustrer de klebrige egenskapene (adhesiveness) til produktet. Disse verdiene har ikke blitt vurdert i dette forsøket. (Steffe 1996a; Tunick 2000; Walstra et al. 2006b; Walstra et al. 2006i).

Små-amplitude svingnings-skjær (Small-Amplitude Oscillatory Shear – SAOR)

Komplekse væsker, suspensjoner og geler kan analyseres med stor nøyaktighet ved å benytte rotasjonstester (Ibarz & Barbosa-Canovas 2002c; Mezger 2006a). En gel kan karakteriseres ved forskjellige strukturelle egenskaper, som «grovhet», hvor porestørrelsen avgjør hvor fin eller grov strukturen er. En av de vanligste metodene benyttet for å analysere de strukturelle egenskapene til en melke-gel er ved SAOR. Her måles forholdet mellom grad av *skjærekraft påført* over den resulterende *belastningen* på gel-strukturen. Denne analysen benytter svært lav skjærekraft, og kan benyttes til å måle kvaliteter som elastisitets-modul og tilsynelatende viskositet (Mezger 2006a; Walstra et al. 2006b).

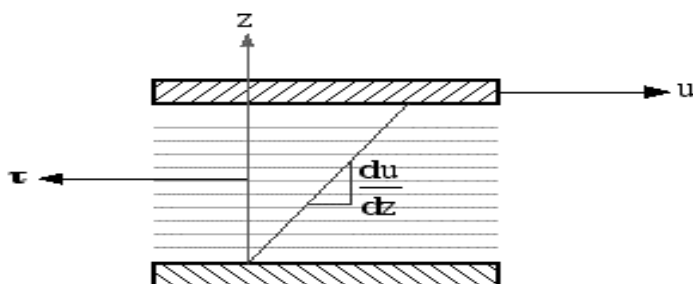
Skjærspenning, τ (shear stress)

Ved roterende målinger utøves en skjærspenning, τ , (motstand mot flyt/deformasjon) utøvd fra prøvematerialet mot veggen til koppen, definert som $\tau \text{ [Pa]} = \frac{\text{Force [N]}}{\text{Area [cm}^2\text{]}}$.

Skjærhastighet, $\dot{\gamma}$ (shear rate) defineres som den økende graden av påført skjær-deformasjon på et prøvemateriale plassert mellom en stasjonær og en bevegende plate, og kan uttrykkes med formelen: $\dot{\gamma} = \frac{v}{h}$

I formelen er v (gitt ved $\frac{\text{cm}}{\text{s}}$) hastigheten på den bevegende platen/spindelen, mens h (gitt ved m) er avstanden mellom platene, eller kopp og spindel. Formelen $\dot{\gamma} = \frac{v}{h}$ kan dermed uttrykkes:

$$\dot{\gamma} = \frac{\text{cm}}{\text{s} \cdot \text{cm}} = \frac{1}{\text{s}} = \text{s}^{-1}$$



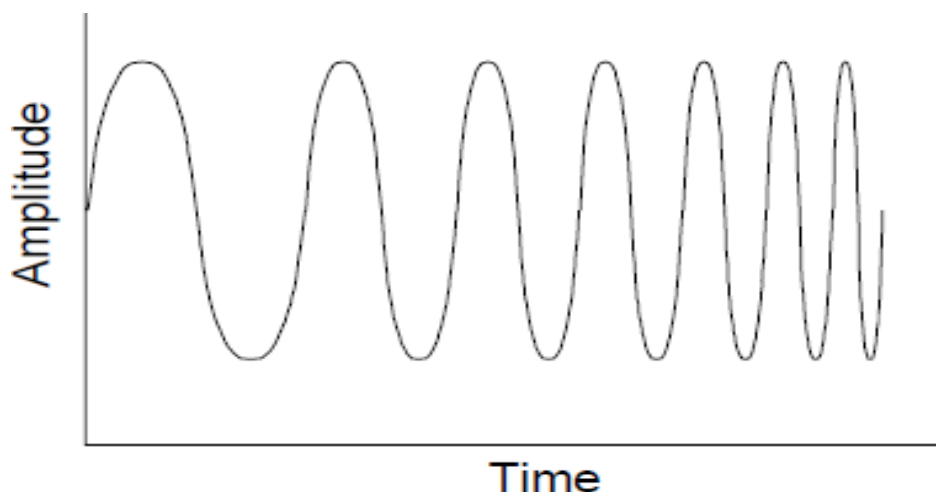
Figur 2-11 Hastighetsgradient, hvor hastighet til målespindel er illustrert med dens endring i lengde pr tid relativt til koppen. Modifisert versjon fra ohi.edu (Urieli u.å.)

Prøvematerialet (her; kulturmilk) er analysert i et spindel- og kopp (bob&cup) -system med en roterende «målespindel», hvor væsken da er avgrenset i det sirkelformede tomrommet mellom målespindel og kopp. Siden avstanden mellom målespindel og kopp er svært liten, er væskens flyt tilnærmet en skjær-drevet strømning, eller en «Couette-strømning». Når en

væske er avgrenset mellom veggene i målespindel & kopp-systemet, vil rotasjon av målespindel skape en hastighets-gradient, som illustrert i figur 2-11, mellom målespindel og vegg til koppen. Denne gradienten er skjærhastighet, og blir definert som endring i lineær hastighet (cm/sekund) mellom to flytende elementer dividert på deres avstand i cm. Skjærhastighet blir derfor uttrykt i resiproke sekunder (s^{-1}) (Mezger 2006b; Steffe 1996d; Triantafillopoulos 1988).

2.4.2 Tilsynelatende viskositet, η (apparent viscosity)

«Tilsynelatende viskositet» er forholdet mellom skjærstress og skjærhastighet, og gis dermed ved formelen $\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$. I en ren Newtonsk væske (tilsvarende den for rent vann) er dette forholdstallet likt, uavhengig av skjærhastighet, mens for de aller fleste væsker er ikke dette tilfellet. I disse væskene vil forholdstallet (viskositeten) være avhengig av hvilken skjærkraft som benyttes. En tilsynelatende viskositet indikerer denne avhengigheten, og krever derfor at forholdene målingen er gjort ved oppgis for å kunne evaluere viskositets-verdien oppgitt.



Figur 2-12 Illustrasjon av sinusoidale svingninger i en «frekvens-sveip» ved viskositetsmåling. Figuren viser en fullstendig og kontinuerlig rotasjon av målespindel, med jevn amplitude og en økende hastighet (frekvens) (Steffe 1996c)

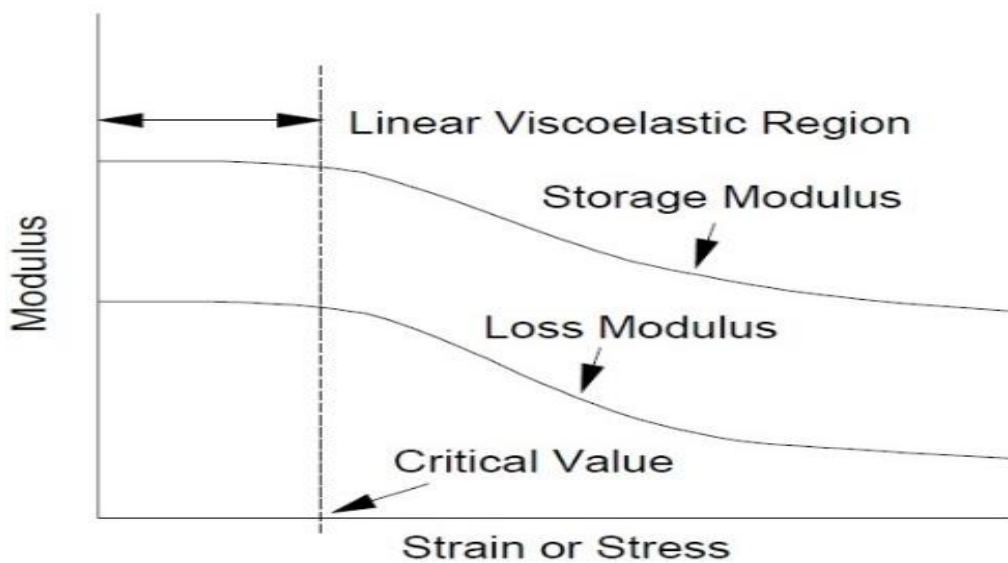
I en Newtonsk væske (tilnærmet egenskapene til vann) er den målte viskositeten direkte proporsjonal med den påførte skjærkraften, mens i en ikke-Newtonsk væske, som kulturmilk, vil viskositeten være avhengig av den aktuelle skjærhastigheten benyttet i det punktet målingen er hentet fra.

Figur 2-12 illustrerer en økende frekvens og konstant amplitude i svingninger til målespindel under måling av viskositet.

2.4.3 Lagringsmodul, G'

Lineært viskoelastisk område (LVE)

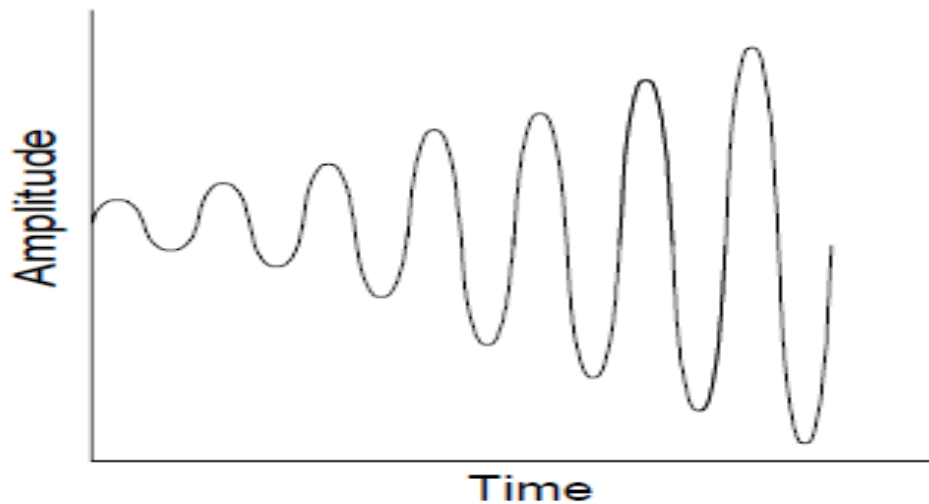
Den elastiske skjæringsmodulen (shear modulus, stiffness) er forholdstallet mellom skjærespenningen utøvd over den resulterende tøyning (strain), også kalt relativ deformasjon. Dette parameteret måles med svært små, ikke-destruktive, tøyninger (oscillasjoner), ettersom ved større tøyninger vil proporsjonaliteten mellom tøyning og spenning mistes (Walstra et al. 2006b). Målespindelen vil dermed rotere i en stadig økende grad, og dermed også tøye gelstrukturen i økende grad.



Figur 2-13 Lineært viskoelastisk område i tøynings- eller spennings- sweep. Lagringsmodul (G') er illustrert som den øverste grafen (Steffe 1996b)

Ved de minste amplitudene vil produktet oppføre seg som en gel, ettersom de små bevegelsene til målespindelen ikke påfører nok kraft til at det flyter, og produktet utviser kun elastiske egenskaper. På dette stadiet befinner produktet seg innenfor det lineære viskoelastiske området, LVE (Linear viscoelastic range), illustrert i figur 2-13. Så lenge produktet befinner deg i dette stadiet vil ikke påkjenning være destruktiv ovenfor gelstrukturen. En sterk gel befinner seg som regel lengre i LVE enn en svakere gel (Mezger 2006a; Steffe 1996d).

Den elastiske proporsjonen av gelen gis ved lagringsmodulen G' . Når prøven utsettes for stress av små-amplitude svingninger (small amplitude oscillatory stress) vil en påføre stress i så små mengder at strukturen ikke brytes, men forsiktig dras fra side til side, i økende grad. Figur 2-14 illustrerer svingningene til målespindel ved måling av elastisitetsmodulen.



Figur 2-14 Illustrasjon av sinusoidale svingninger, benyttet ved testing av elastisitetsmodul (G').Svingningene har en økende amplitude, men jevn frekvens. (Steffe 1996c)

I starten beveger målespindelen seg med svært små svingninger, som gradvis øker i amplitude, mens frekvensen er jevn gjennom hele målingen. Den målte G' -verdien blir da et mål på den deformasjonsenergien prøven lagrer (energi som ikke går tapt i form av varme el.l.) under påført skjærestress. Når man fjerner skjærestresset på materialet vil denne energien være tilgjengelig for prøven til å gjendanne sin opprinnelige form (Mezger 2006a). Dette målet for elastisitet representerer et uttrykk for de solide egenskapene til produktet.

3. Materialer og metoder

3.1 Forsøksoppsett

3.1.1 Utvelgelse av kyr

Tabell 3-1 Oversikt ku-ID, kalving, melking og genetisk variant. Skraverte ruter indikerer individer utelatt fra deler av forsøket grunnet at kyrne ble tatt inn i andre forsøk.

Ku-ID	Kalving	Blokk 1		Blokk 2		Genetisk varians			
		1-1 (Melkes 29.2)	1-2 (Melkes 7.3)	2-1 (Melkes 4.4)	2-2 (Melkes 11.4)	CSN1	CSN2	CSN3	β-LGB
A (5862)	15.10.15	X			X	BB	A2A2	BB	AB
B (5979)	12.10.15	X			X	BB	A2A2	BB	BB
C (6186)	09.01.16	X		X		BB	A2A2	AA	AB
D (5989)	29.11.15	X			X	BB	A2A2	BB	AB
E (5857)	20.10.15	X		X		BB	A2A2	AB	AB
F (5925)	01.10.15	X		X		BB	A2A2	AA	BB
G (6043)	18.11.15	X			X	BB	A2A2	BB	BB
H (6114)	10.11.15		X	X		BB	A2A2	AA	AB
I (5704)	16.12.15		X	X		BB	A2A2	BB	AB
J (6169)	12.11.15		X	X		BB	A2A2	AA	AB
K (6170)	12.10.15		X		X	BB	A2A2	AA	AA
L (5616)	17.11.15		X	X		BB	A2A2	BB	AB
M (6156)	05.12.15		X		X	BB	A2A2	AA	AB
N (6025)	19.09.15		X		X	BB	A2A2	BB	BB

Det ble benyttet melk fra 14 kyr fra fjøset ved NMBU (Norges miljø- og biovitenskapelige universitet), som vist i Tabell 3-1 produserte alle kyrne melk med genetisk variant BB av α_{s1} -kasein (CSN1) og variant A2A2 av β -kasein (CSN2). Kyrne var derimot differensiert på bakgrunn av forskjell i de genetiske variantene av κ -kasein (CSN3) med variantene AA, AB og BB, samt β -laktoglobulin (β LGB) med variantene AA, AB og BB. Kyrne hadde alle kalvet i løpet av en tre måneders periode, med minst en måneds mellomrom mellom kalving og prøveuttak. Alle kyrne var vurdert til å være friske og ellers være i god helsemessig stand.

De strukturelle kvalitetene til syrekoagulerende melkegeler, som den til kulturmelk, styres hovedsakelig av innhold og sammensetning av protein, fett og tørrstoff. Flere andre faktorer, deriblant temperatur, innhold, saltsammensetning og fordeling (micellært og oppløst) av salter, pH og bakteriekultur har også stor betydning for gel-strukturen (Heertje et al. 1985).

3.1.2 Innsamling av prøver

Forsøket kan deles opp i to runder, eller blokker. Det ble innhentet melk til produksjon fra alle 14 kyrne, en gang, i hver blokk. Melk fra hvert individ ble lagret i henholdsvis ett og to døgn før produksjon. På denne måten ble det oppnådd to gjentak fra hvert individ, i hver av de to rundene.

I forsøkets andre runde var tre av kyrne («A», «B» og «M», merket rødt i tabell 3-1) tatt ut for å delta i et annet forsøk og kunne derfor ikke melkes individuelt, det mangler derfor resultater fra disse individene.

All melk ble behandlet så likt som mulig for å minimere innvirkning av andre faktorer, spesielt med tanke på tid og temperatur i hvert ledd. Melken ble oppbevart på kjølerom som holdt $\sim 4^{\circ}\text{C}$ fra melking, og ble kun tatt ut ved prøveopparbeidelse.

Ved å produsere syret melk fra samme batch, ved to forskjellige dager, kunne en vurdere om lagringsfaktoren var forbundet med uønskede effekter på tekstur og/eller aroma.

		Uke 1							Uke 2							Uke 3							Uke 4			
Gr.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Blokk 1	1	M	P	K	R											S	R									
			P	K	R													R	S							
	2								M	P	K	R											S	R		
											P	K	R												R	S

Figur 3-1 Forsøksoppsett: Gruppe 1 og 2 (indikert til venstre) utgjør hver sin halvdel (7 individ) av kyrne i dette forsøket, M=Melking av kyr, P=Produksjon, K= syrning avsluttet R=Reologiske analyser, S=Sensorisk analyse

Figur 3-1 viser oppsett for første halvdel/blokk av det praktiske arbeidet.

Dag 1 og dag 8, merket **M**, indikerer dagene hvor de to gruppene ble *melket*, **P** viser *produksjonsdag* melken ble behandlet og satt til syrning, **K** indikerer endt syrning, og prøver satt til *kjølelagring*, **R** indikerer dag hvor *reologiske* analyser ble utført, mens **S** viser dag *sensorisk* panel ble benyttet.

Av hver ku ble det innhentet i underkant av 10 liter fersk melk, av denne mengden ble det produsert kulturmilk i løpet av to dager, halve mengden etter 1 dags kjølelagring og den resterende halvpart etter to dagers kjølelagring. På hver av disse to dagene ble det da benyttet 4,5 liter fra hvert individ til produksjon av kulturmilk. Den podede melken ble fylt på 7 syltetøyglass, med et volum på ~7 dl, hvor hvert glass ble fylt opp til glassets skulder, ca 6 dl. Av disse ble 1 glass benyttet til pH-måling, to glass til reologiske analyser i uke 1 (reologi + gel-styrke), to glass til reologiske analyser i uke 3, ett glass til sensorisk analyse, og ett glass til vurdering av myseutskillelse.

3.1.3 Brukssyre

Brukskultur var fremdyrket i langtidsholdbar (UHT) lettmelk (TINE ASA), dagen før hver produksjon. En kartong UHT-melk (å 1 liter) ble inokulert med 0,01g frysetørket kultur, og så inkubert i et varmeskap ved 22°C i ca 22 timer. Det ble benyttet en frysetørket, mesofil og aromatisk DL-kultur, «CHN-19 Redi-Set» (Chr.Hansen A/S).

3.1.4 Melkebehandling

Fra hvert individ som ble melket ble det innhentet et representativt uttak på i underkant av 10 liter. Ved første produksjonsdag ble denne melken rørt opp med rolig men bestemt omrøring i ca 1 minutt med en rørepinne for melkespann. Dette ble gjort for å sikre en jevn fordeling av tørrstoff i begge produksjoner. Halvparten av melken (ca 4,5 liter) ble så målt opp til produksjon.

Melken ble temperert i et vannbad, under omrøring, til oppnådd 55°C. Den ble så separert i en «*Milky FJ 125 EAR Cream Separator, 230V*» (Franz Janschitz Ges.), til en fettprosent på ca 0,1%. Det ble på dette tidspunkt tatt ut prøve til FTIR fra hver produksjon for å kontrollere kjemisk sammensetning samt effekt av separering. Den skummede melken ble videre homogenisert ved 200 bar, med en «RANNIE APV» homogenisator, og deretter pasteurisert ved 95°C i 5 minutter. Melken ble pasteurisert i en 5-liters tank med steam-kappe. Melken ble holdt i sirkulasjon med en «Hitachi Concrete» 230V drill, påmontert rørepinne med skjæreblad. Etter fem minutters holdetid ble melken kjølt ned til 22°C, ved å føre kaldt vann igjennom kappen, med fortsatt omrøring, og overført til sterile 5-liters melkespann.

3.1.5 Syrning

En «bulk-starter» brukssyre ble produsert dagen i forveien av den mesofile, aromatiske DL-kulturen CHN-19. Den inneholder ifølge produsenten (Chr. Hansen, Hoersholm, Danmark) en DL blandingskultur («multiple mixed strain culture») bestående av bl.a. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* og *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. Brukssyren ble fremstilt ved å pode en kartong med 1 liter ultrahomogenisert, langtidsholdbar lettmelk (Tine ASA) med 0,010%. Etter tilsats ble melken blandet ved å forsiktig vende kartongen flere ganger i løpet av et par timer (ved ca 22°C), før den ble satt til inkubering i ca 22 timer i et varmeskap som holdt 22°C.

Etter melkebehandling ble melken podet med brukssyren til 1% (45 ml brukssyre tilsatt) av melkemengden i hvert spann á 4,5 liter. Melken ble så fordelt i sterile syltetøyglass (600 ml) med ca 500 ml av podet melk i hvert glass, og lukket med tilhørende metall-lokk for å unngå

uttørking og kontaminasjon; glass og lokk var sterilisert i forkant. Glassene ble etter fylling satt til syrning i et vannbad som holdt 22°C. Syrningen ble avbrutt etter ca. 20 timer, når prøvene hadde oppnådd en pH på 4,5. Glassene ble deretter forsiktig plassert på et kjølerom som holdt 4°C, hvor de ble oppbevart frem til hver analyse.

3.1.6 Koding av prøver

Det ble opprettet et kodesystem for å skille alle prøvene fra hverandre. Kode-oppsettet baserer seg på fem parametere, representert med et tall eller en bokstav illustrert under;

[A1aR1, B1aR1, ... ,N1aR1] [A1aV1, B1aV1,... ,N1aV1]

A: Individ. Hver ku er identifisert med en bokstav, fra A-N, kommersiell referanseprøve: T.

I: Indikerer hvilken av de to rundene prøven tilhører.

a: Produksjonsdag a eller b, hvor melk har blitt kjølelagret i henholdsvis ett og to døgn før produksjon

R: Indikerer analyse på reometer (viskositet og G')

V: Indikerer analyse av gel-styrke med probe på *Texture analyser*

I: Lagringsfaktor, 1=fersk prøve, en dags kjølelagring etter produksjon, 2=lagret prøve, 14 dager kjølelagring etter produksjonsdag.

3.1.7 Analyser

Det ble utført analyser ved to forskjellige tidspunkt etter produksjon; første analyse ble utført etter 1 dags lagring etter endt syring, og den andre etter ca. 14 dagers lagring. På disse to dagene, ble det utført reologiske analyser (gel-styrke, elastisitet og viskositet) og måling av pH. Sensoriske analyser med sensorisk panel, samt måling av myse-utskillelse ble utført etter 14 dagers lagring. I tillegg ble det utført analyse av fett- og protein-innhold, flyktige komponenter (HSGC) og organiske syrer (HPLC) for det siste settet, disse ble utført etter ca 2 ukers lagring. En butikk-kjøpt variant av skummet kulturmilk (Tine ASA) ble benyttet for referanse i reologisk analyse (elastisitet og viskositet), sensorisk analyse, pH samt kjemiske (HPLC og HSGC) analyser.

3.2 Analyser

3.2.1 FTIR

Melkens innhold av fett, proteiner, tørrstoff osv. ble analysert ved FTIR i et Milkoscan™ (FOSS, Hillerød, Danmark) analysesystem. FTIR-analyse ble utført etter skumming og varmebehandling av melken, men før podingen av melken.

3.2.2 Reologi

Måling av viskositet og gel-styrke ble utført på både ferske og lagrede produkter, analysene ble utført henholdsvis én dag, og to uker etter endt syring. Prøvene ble oppbevart ved 4°C frem til utførelse av analysene.

Rheometer

Viskositet ble målt ved hjelp av et Physica MCR 301 reometer (Anton Paar, Østerrike). Det ble benyttet et målespindel -kopp system (bob-cup) bestående av en konsentrisk sylinder (CC27, nr 78234, 26.660 mm dia) og en prøve-kopp i titan. Apparatets kopp-holder var utstyrt med en vannbåren temperatur-regulering, denne var innstilt på å opprettholde en konstant analysetemperatur på 4,00°C. Denne temperaturen ble valgt for å tilstrebe kjøleskaps-temperatur, tilsvarende temperatur har også blitt benyttet av andre (Butler & McNulty 1995; Fuquay et al. 2011a). Prøvene ble rørt opp i glasset med en *håndmikser (Bosch 350W, Gerlingen, Tyskland) på trinn 2 (av 5) i 30 sekunder, til en homogen masse var oppnådd. En standardisert mengde (~15ml) ble målt opp i prøvekoppen, før proben ble senket ned i koppen. Prøven ble stående i apparatet med nedsenket probe til prøven var kalibrert i «koppen» til 4,00°C.

**I første blokk ble prøvene rørt opp for hånd med en spiseskje (lett røring i ca 5 sekunder). For å standardisere metodikken ble det i andre blokk valgt å benytte en elektrisk mikser. Det ble da først undersøkt om det gav forskjell i målt resultat, ved å analysere melk fra to forskjellige glass fra samme produksjon (samme individ og dag), hvor et glass var rørt opp med spiseskje, og det andre med håndmikser, slik beskrevet ovenfor. Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller, og det ble derfor valgt å benytte elektrisk håndmikser i det resterende arbeidet, og behandle tidligere resultater som sammenlignbare.*

Den første analysen som ble utført etter kalibrering av prøvemateriale var viskositetsmåling. Reometer ble programmert til å analysere 21 målepunkter ved rotasjon i 5 sekunder på hvert punkt, med en skjær-rate ($d\gamma/dt$) som trinnvis økte fra 0,077 omdreininger/min til oppnådd 155 omdreininger/min og en skjær-rate, $\dot{\gamma} = 200 \frac{1}{s}$. Det ble hentet ut verdier fra målepunkt 18, på dette nivået var alle prøvene tilstrekkelig bearbeidd til at motstandskraften utøvd på proben kunne regnes for å være tilsynelatende viskositet (apparent viscosity, η). I målepunktet valgt her hadde målespindelen en skjær-rate, $\dot{\gamma}, = 64 \frac{1}{s}$.

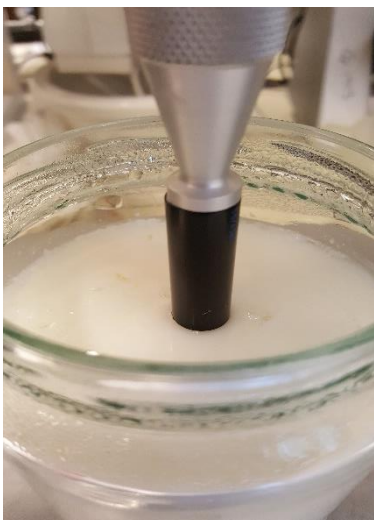
Ved endt viskositetsmåling ble det så målt elastisitetsmodul (G') av prøven. Denne ble målt i samme prøve som viskositetsmåling, med det samme viskositetsmåling var fullført. Ettersom den roterende analysen for viskositet er i mye større grad destruktiv ovenfor gelens struktur, ville en da kunne «nullstille» strukturen i lik grad for alle målinger av G' . Det ble her benyttet oscillerende målinger med en logaritmisk økende amplitude (strain, γ) fra 0,01 til 100%, med en frekvens, ω , på 6 målepunkter pr desimal økning i amplitude

. Det ble utført tre gjentak av hver analyse på alle prøvene. Mellom hver prøve ble prøvekoppen og målespindelen vasket og tørket med papir.

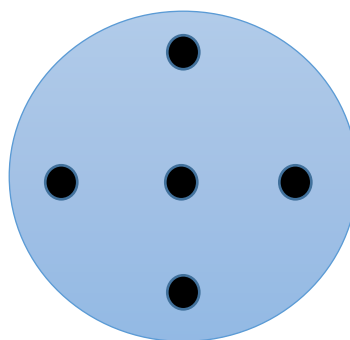
Alle data fra reometer ble behandlet med tilhørende programvare, Rheoplus 32 v.3.40.

Texture Profile Analyser

Gelstyrke ble vurdert ved måling med en sylinderformet, flatbunnet, probe med en diameter på 10 mm og 40 mm lang, samt en vektmodul kalibrert for 5 kg. Analysen ble utført på uforstyrret melke-gel i prøveglass, prøvene var oppbevart ved 4°C frem til analysen, analysen ble utført i et temperert rom, på ca 22°C.



Figur 3-3 Måling av gelstyrke med Texture Profile Analyser (Foto: privat)



Figur 3-2 Illustrasjon av valgte målepunkter (sett ovenfra) benyttet for måling av gel-styrke med Texture Profile Analyser.

Proben, vist i figur 3-3, ble senket 10,0 mm ned i gelen, med en hastighet på 5,0 mm/s. hvor den målte gel-styrke utvist fra gelen mot proben. Det ble gjort fem gjentak på forskjellige punkter av produktets overflate, som illustrert i figur 3-2, for hver prøve; én måling ble gjort i sentrum av glasset og fire målinger rundt denne, ca en cm fra glassets ytterkant.

Målepunktene benyttet i dette forsøket ble tatt fra toppen av første kompresjon (peak hardness), som illustrert i figur 2-10. Målingene ble utført i paralleller på punktene i ytterkantene (f.eks. topp – bunn, høyre - venstre), og målingen i sentrum til sist.

Det ble utført statistiske analyser på resultatene fra de reologiske målingene. Disse ble utført i SAS (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA), hvor det ble benyttet en «mixed model». Kovarianter benyttet var κ -CN (tre nivåer; AA, AB og BB), β -LGB (tre nivåer; AA, AB og BB), lagringsfaktor (to nivåer 1 dag (fersk kulturmelk) og 14 dager (lagret kulturmelk)) og blokkfaktor (to nivåer, blokk 1 og blokk 2), hvor REML (Restricted Maximum Likelihood) ble benyttet for å beregne korrelasjon mellom kovariantene. Det ble også gjort en analyse hvor produksjonsdag (behandlet statistisk som gjentak) ble inkludert som kovariant, hvor produksjonsdag gav signifikant effekt kun på gel-styrke ($p = 0,0067$,

estimat = -0,7). Ettersom man kun fikk effekt på gel-styrke men ikke på viskositet, som antas å være av størst verdi for forbruker, ble denne kovarianten utelatt fra videre analyser, og er derfor ikke inkludert i de videre statistiske beregningene.

For å se på sammenhengen mellom prøvenes sammensetning (fett og proteiner) og de reologiske resultatene ble en Principle Component Analysis (PCA) gjennomført i Unscrambler® X 10.3 (CAMO Software A/S, Oslo, Norge). Alle verdier ble vektet (1/SD) før beregning av PCA ble utført.

3.2.3 pH

Det ble benyttet et pH-meter av modellen Thermo Scientific Orion Star A211 (USA). Det ble utført kalibrering av pH-meter med standardiserte bufferløsninger på pH 4 og pH 7.

Det ble utført kontrollmålinger av pH i slutten av syrningsforløpet (fra ca 20 timer etter påbegynt syring) til pH var $\leq 4,5$. Målinger av pH under syrningsforløpet ble utført i et separat prøveglass (tilberedt likt som alle andre) forbeholdt kun pH-måling.

Ved senere analyser ble pH målt i den resterende prøvemengden fra glassene benyttet til reologiske og sensoriske analyser.

3.2.4 Organiske syrer og flyktige aromakomponenter

Organiske syrer

Det ble her benyttet *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) for å analysere melkens sammensetning av organiske syrer, etter en modifisert versjon av Marsili et al. (1981), beskrevet av Jørgensen et al. (2016). Analysen var kalibrert for DL-pyroglutaminsyre, urinsyre, melkesyre, pyrodruesyre, melkesyre, ravsyre, orotinsyre, α -ketoglutarsyre, sitronsyre og orotinsyre; konsentrasjonene ble utregnet i parts per million (ppm).

Metoden er ytterligere beskrevet i Vedlegg I.

Flyktige aromakomponenter

Flyktige aromakomponenter ble analysert ved *Head Space Gas Chromatography*, etter en modifisert metode tidligere beskrevet av Narvhus et al. (1998). Analysen var kalibrert for acetaldehyd, acetoin, aceton, diacetyl og etanol, metoden er ytterligere beskrevet i Vedlegg J.

3.2.5 Sensorikk

Produktene ble analysert av et sensorisk panel på 4-6 dommere. Panelet bestod av studenter og ansatte ved NMBU, noen hadde tidligere opplæring og erfaring innen sensorisk bedømming, mens andre ikke hadde det.

Det ble valgt å teste først og fremst for viskositet, ettersom det er her det ble forventet å se forskjellene tydeligst. Dommerne vurderte også prøvene etter fnokker og friskhet.

Det ble i første sensoriske runde (blokk 1, produksjonsdag 1) ikke testet for fnokker. I første runde mangler også et av settene (Vedlegg D), dette skyldes at en av dommerne ikke fikk vurdert en av prøvene, noe som resulterte i et dommerantall for lavt til at prøvene i det settet kunne vurderes statistisk. Prøvene «E», «F» og «G» er av samme grunn ikke med her.

I en rangeringstest er det ikke anbefalt å servere mer enn 3-6 prøver i gangen (Lawless & Heymann 2010; Meilgaard et al. 2006) Ettersom det ble produsert syv (av totalt 14) prøver i gangen ble prøvene delt opp og servert i to sett á 5 prøver. Hvert sett bestod av 4 av de produserte prøvene og en referanseprøve (skummet kulturmilk, TINE). En av prøvene (fra forsøket) ble servert i begge settene, dette ble gjort for å få et likt antall prøver i begge settene, men også for å få et større sammenligningsgrunnlag.

Kulturmilken var oppbevart på kjølerom ved 4°C frem til prøvetidspunkt, hvor den ble porsjonert og servert i to sett. Prøvene ble vurdert i gjennomsiktige plastbeger, med engangsteskje i hvit plast.

Grunnet vanskeligheter med å bedømme fnokker ble det i deler av blokk 2 gjort forsøk med å benytte sølv-fargede plastskjeer til å teste fnokker med, i motsetning til de standard hvite. Det ble funnet av flere av dommerne å gjøre identifisering og kvantifisering av fnokker mye lettere. Dette ble ikke gjort konsekvent gjennom hele blokk 2, for alle dommerne, resultatet kan derfor bare ansees som veiledende. Det bør nevnes at det kun ble funnet signifikante forskjeller i forekomst av fnokker i blokk 2, hvor fargede teskjeer ble benyttet.

Det ble benyttet en ikke-parametrisk rangeringstest, med tvunget valg. Hovedfordelen med en slik type test er at modellen gjør færre/mindre antagelser på bakgrunn av de kvantitative målingene, ettersom den ikke tar utgangspunkt i f.eks. en normalfordeling. Ettersom det muligens kan tenkes at det vil være liten forskjell mellom prøvene, er det i første runde tilstrekkelig å få et bredt innblikk i hvordan melk med de ulike proteinene opptrer. Siden det ikke så kritisk å vite om en prøve er to eller fem ganger så viskøs som en annen prøve kan en da benytte en ren rangeringstest og, hvilket innebærer at dommerne bare trenger rangere prøvene fra mest til minst i hver kvalitet. En står da også friere til å velge panel-deltagere, ettersom et trent panel ikke kreves.

På samme måte blir ulempen med denne type test at man ikke får noe informasjon om hvor stor forskjellen er mellom prøvene, vi får bare vite rekkefølgen prøvene er rangert i. Denne oppnås i stedet ved de reologiske analysene med reometer og Texture Analyser.

Statistiske analyser av resultatene ble utført med en Kruskal-Wallis ikke-parametrisk test med Steel-Dwass-Critchlow-Fligner Multiple Comparison, i programmet XLstat (Coakley 2000).

$$W_{ij} - \frac{n_i(n_i + n_j + 1)}{2} \Bigg/ \frac{n_i n_j}{24} \left[n_i + n_j + 1 - \frac{\sum_{b=1}^{E_{ij}} (t_b - 1)t_b(t_b + 1)}{(n_i + n_j)(n_i + n_j - 1)} \right] > q_{\alpha, k}, \text{ for } 1 \leq i \leq j \leq k$$

Figur 3-4 Multiple comparison test formel ved Steel-Dwass-Critchlow-Fligner (Coakley 2000)

Formelen benyttet (figur 3-4) forsøker å skille prøvene fra hverandre med statistisk sannsynlighet, med bakgrunn i antall observasjoner (her; antall dommer-svar) og størrelsen på gruppen. Formelen sammenligner to og to prøver.

W_{ij} representerer her rangsum for gruppe/prøve nr. i , hvor observasjoner fra begge prøvene har blitt rangert likt.

n_i er størrelsen på gruppe nr. i , n_j er størrelsen på gruppe nr. j og t_b er antall bånd ved rang b (Coakley 2000).

3.2.6 *Myseutskillelse*

Mengde utskilt myse ble målt ved å fylle 500g podet melk i et 700ml syltetøyglass, og sette det til syring. Etter tre ukers kjølelagring ble mengde spontan myseutskillelse pipetert opp fra gelens overflate med en engangspipette og målt i en målesylinder. Mengde utskilt myse ble definert som antall ml myse/prøveglass (500g melk).

4. Resultater

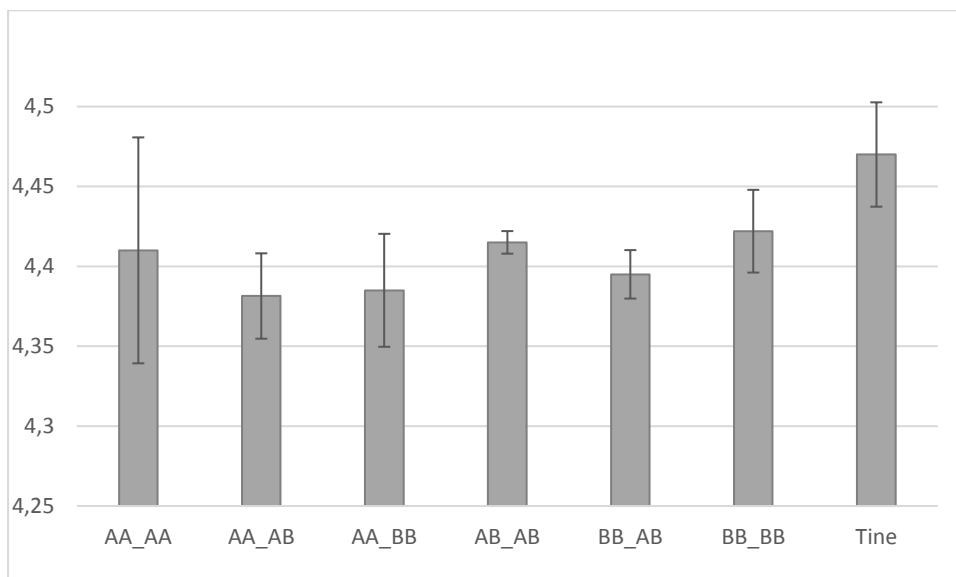
4.1 Kjemisk sammensetning

Kjemisk sammensetning av prøver ble bestemt ved FTIR (Milkoscan), HSGC og HPLC.

Innhold av karbohydrater og organiske syrer i enkeltprøver er listet i Vedlegg C, Vedlegg I.1 og Vedlegg J.1.

4.1.1 pH

Figur 4-1 viser gjennomsnittlige pH-verdier i lagrede prøver, målt i forbindelse med sensorisk analyse og reologi, etter 14 dagers kjølelagring.

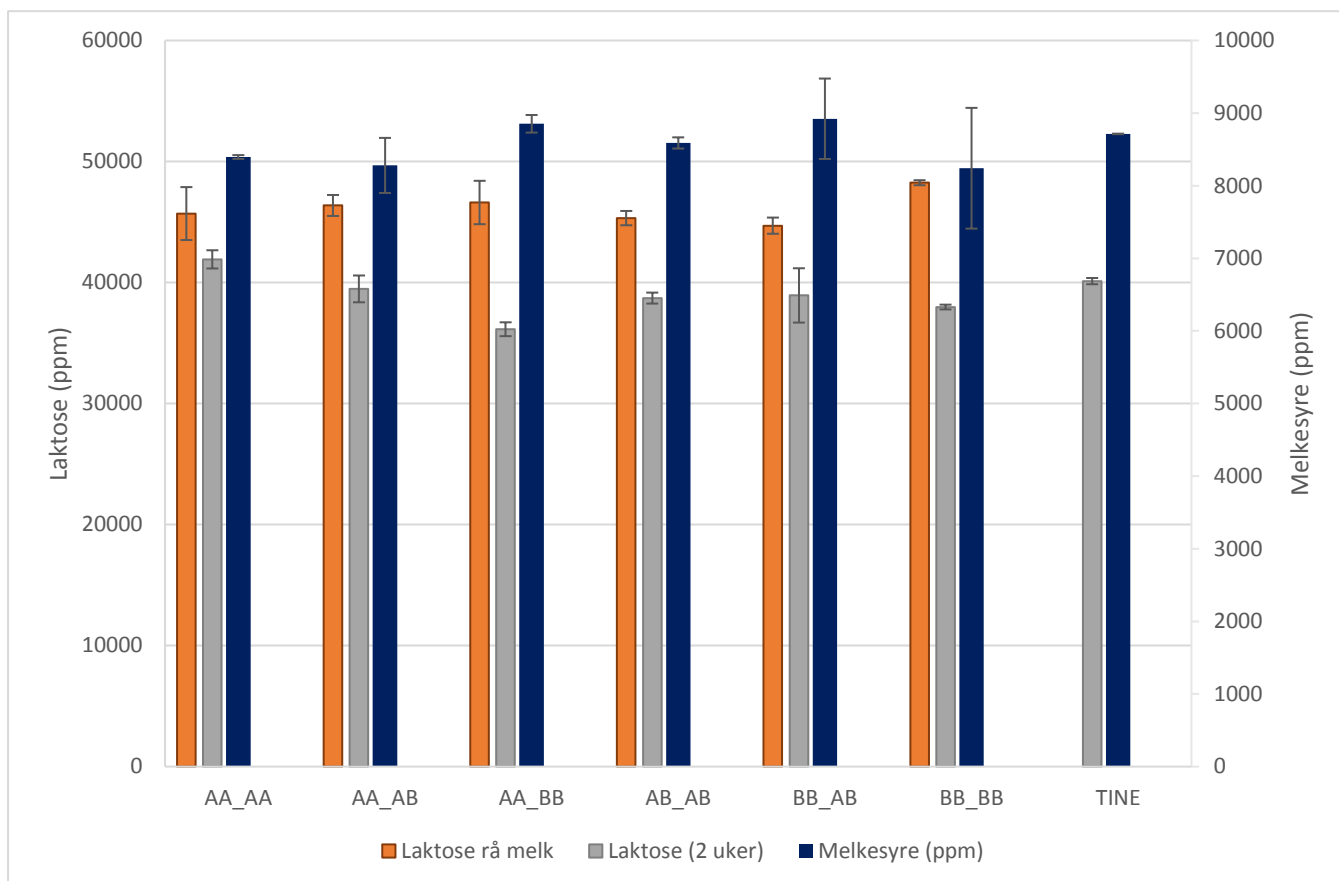


Figur 4-1 Gjennomsnittlige pH-verdier i syrnet kulturmilk, etter genetisk varians av κ -kasein (de to første bokstavene) og β -laktoglobulin (de to siste bokstavene), målt etter 14 dagers lagring.

Etter to ukers kjølelagring hadde de fleste prøvene en pH mellom 4,35 – 4,45. Skummet kulturmilk laget på melk med genetisk variant av κ -kasein og β -laktoglobulin AA_AA (individ K) hadde en lavere pH i første blokk, i tillegg var det bare et eneste individ i denne gruppen, hvilket forklarer det store standardavviket. Figur 4-1 viser at pH-nivået ellers har vært forholdsvis stabilt, men er lavere sammenlignet med referansen, som var skummet kulturmilk fra TINE.

I skummet kulturmilk laget med genetisk variant BB_AB er det utelatt én enkeltmåling (pH 3,42), som kan betraktes som et avvik, fullstendig liste over pH-resultater finnes i Vedlegg B.

4.1.2 Karbohydratmetabolisme



Figur 4-2 Gjennomsnittlige konsentrasjoner (ppm) av laktose (målt i rå melk og i syrnet melk, etter 2 ukers lagring) og melkesyre (høyre akse) produsert i syrnet produkt etter 2 ukers lagring. Laktoseverdier fra fersk melk av referanseprøven var ikke tilgjengelig, men kan antas å være ca 4600ppm (Walstra et al. 2006c). Laktosekonsentrasjon i rå melk var målt med Milkoscan FTIR (originalt oppgitt i prosentverdier), mens laktose- og melkesyreverdier i lagret prøve var målt med HPLC. (oppgitt i ppm)

Figur 4-2 viser forbruk av laktose samt produksjon av melkesyre i kulturmilk, lagret i 2 uker. Det var bare blokk 2 som ble analysert for laktose og organiske syrer, derfor er resultatene i figuren kun basert på analyser av lagrede prøver fra *blokk 2* (produksjonsdag 1 og 2. Mengde melkesyre produsert stemmer derfor ikke overens med pH-verdiene i Figur 4-1, hvor verdier er gjennomsnitt målt av begge blokkene. Konsentrasjoner av melkesukker i rå melk ble målt på Milkoscan FTIR, mens i syrnet melk ble det benyttet HPLC. Verdier fra analyser med Milkoscan FTIR oppgis i prosentandel, og kan derfor være noe mindre nøyaktige enn verdier fra HPLC. Mengden syre produsert i et slikt produkt skal være mellom 0,8-0,85% (8000-8500 ppm) og skal gjenspeile mengde laktose metabolisert. Laktosekonsentrasjon i melk

benyttet til referanseprøven (skummet kulutrmelk fra TINE) er ukjent, men teoretisk innhold av laktose i rå melk er 46000 ppm (Walstra et al. 2006c).

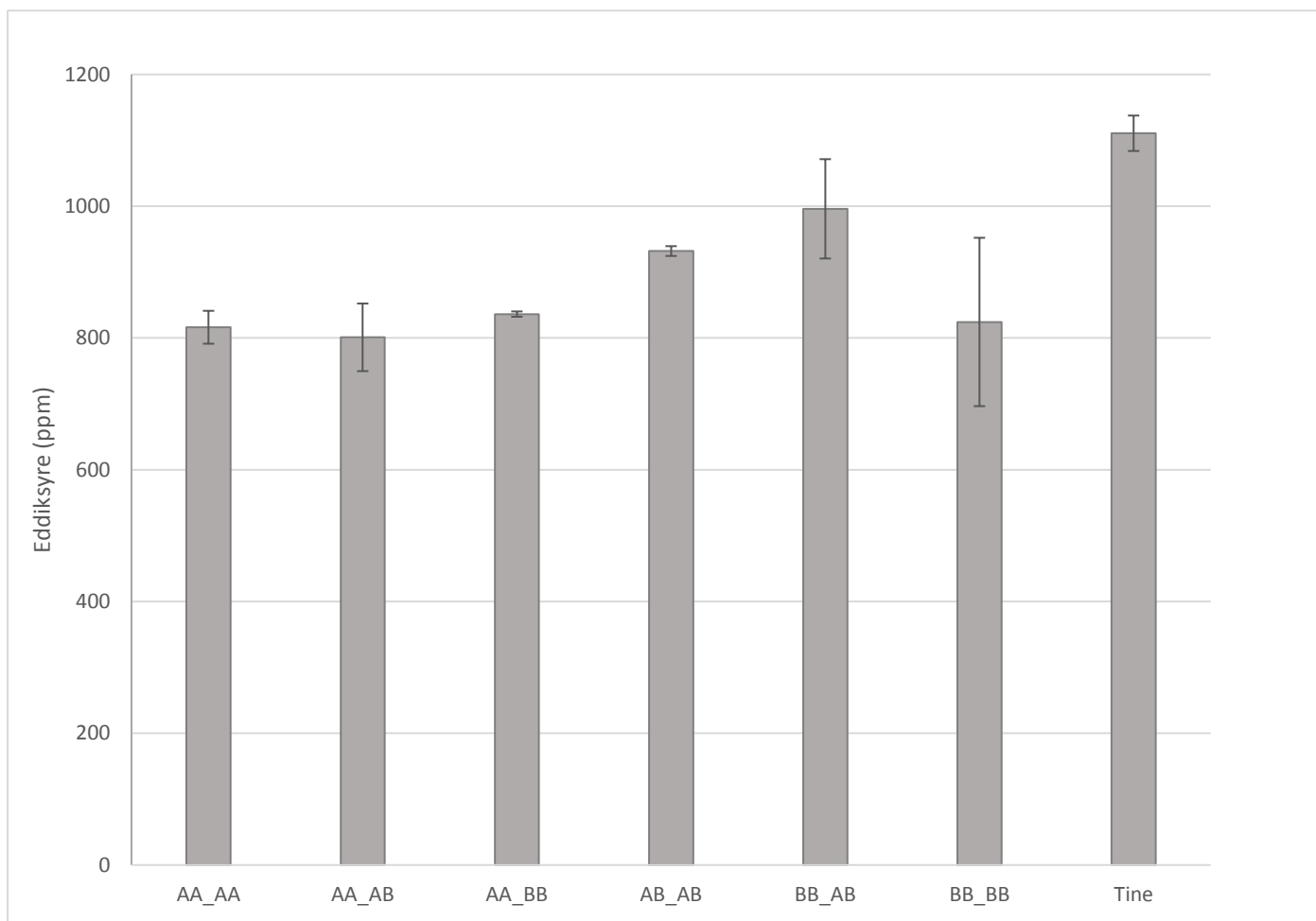
De målte konsentrasjonene av melkesyre, illustrert i figur 4-2, var stabile i alle lagrede produkter på ca 8500 ppm. Et stort standardavvik i melk med genetisk variant BB_BB ble observert, dette var grunnet ulik mengde melkesyre produsert i melk fra de to individene som utgjør denne gruppen.

Det kan videre i figur 4-2 observeres en større reduksjon av melkesukker i gruppene med de genetiske variantene (κ -CSN $_{\beta}$ -LGB) AA_BB og BB_BB, hvor ca 10.000ppm har blitt forbrukt, mens de resterende har hatt et gjennomsnittlig forbruk på 4.000 - 7.000ppm.

Videre kan det også observeres et forholdsvis lavt standardavvik på laktose-verdier. Dette gjelder både for analyser av rå melk (FTIR) og i lagret kulutrmelk-prøver (HPLC), tross variasjoner mellom gruppene.

4.1.3 Sitratmetabolisme

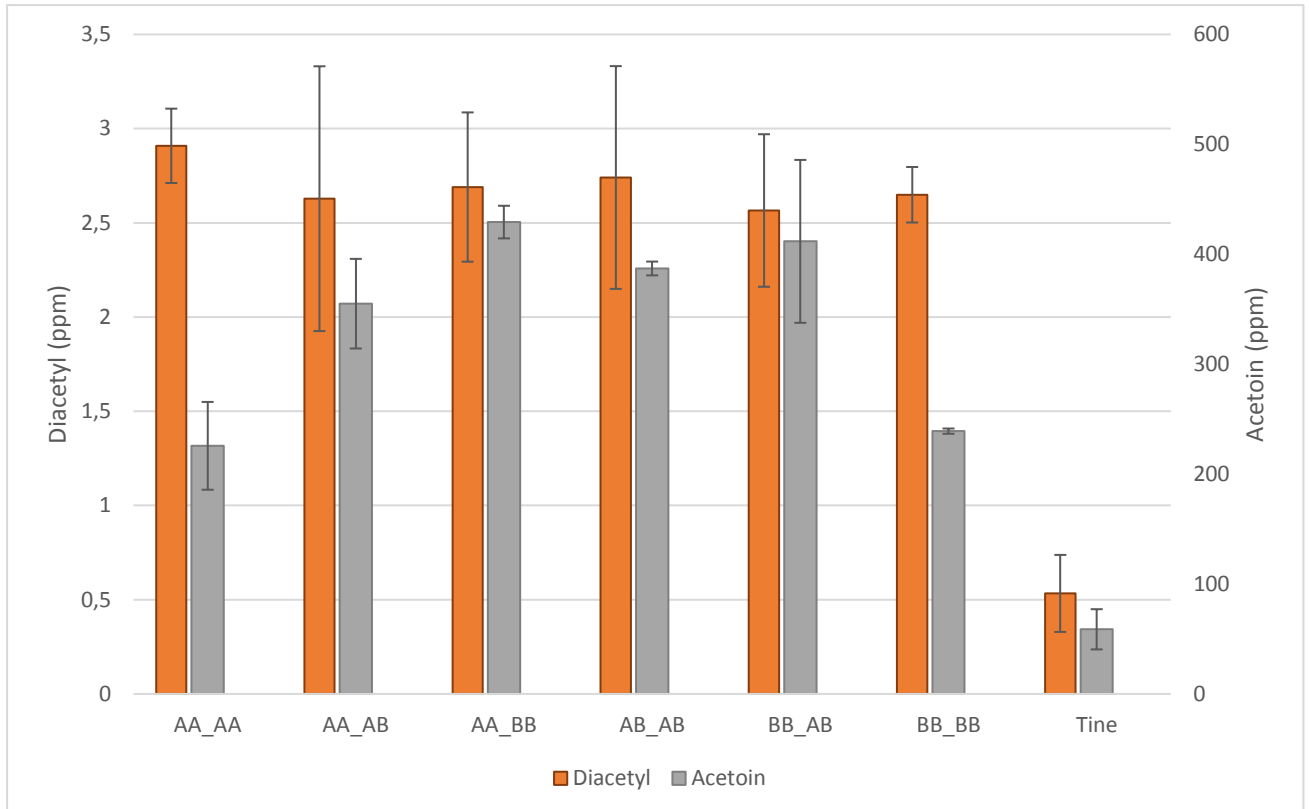
Walstra et al. (2006f) trekker frem de homofermentative *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og de heterofermentative variantene av *Leuconostoc*, da spesielt *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*, som eksempler på sitrat-fermenterende bakterier. Disse benytter ikke sitrat som energikilde, men sitrat metaboliseres i nærvær av fermenterbare sukker som laktose, og danner pyruvat i overskudd. Pyruvat kan så videre omdannes til produkter som eddiksyre, diacetyl og CO₂.



Figur 4-3 Gjennomsnittlige konsentrasjoner av eddiksyre målt i syrnet melk etter 2 ukers lagring

Innhold av eddiksyre lå på ca. 800-1000ppm for de fleste gruppene, melk med de genetiske variantene (κ -CN_ β -LGB) AB_AB og BB_AB hadde de høyeste verdiene, mens TINE skummet kulturmilk hadde et tydelig høyere innhold av eddiksyre, noe som fremhever forskjellen i syrekultur benyttet. Gjennomsnittsverdier for sitronsyre var mellom 90-100 ppm for alle prøvene, bortsett fra i melk med genetisk variant av κ -CN_ β -LGB BB_BB, hvor den var rundt 150 ppm.

Figur 4-4 viser gjennomsnittlige konsentrasjoner av diacetyl og acetoin, hvor det i prøvene ble funnet stabile nivåer av diacetyl på ca 2-3 ppm, mens TINE skummet kulturmilk hadde ca 0,5 ppm. Innholdet av acetoin i den skummede kulturmilken hadde noe varierende verdier, fra ca 200-500ppm. Skummet kulturmilk fra TINE hadde et tydelig lavere innhold med ~59 ppm acetoin.

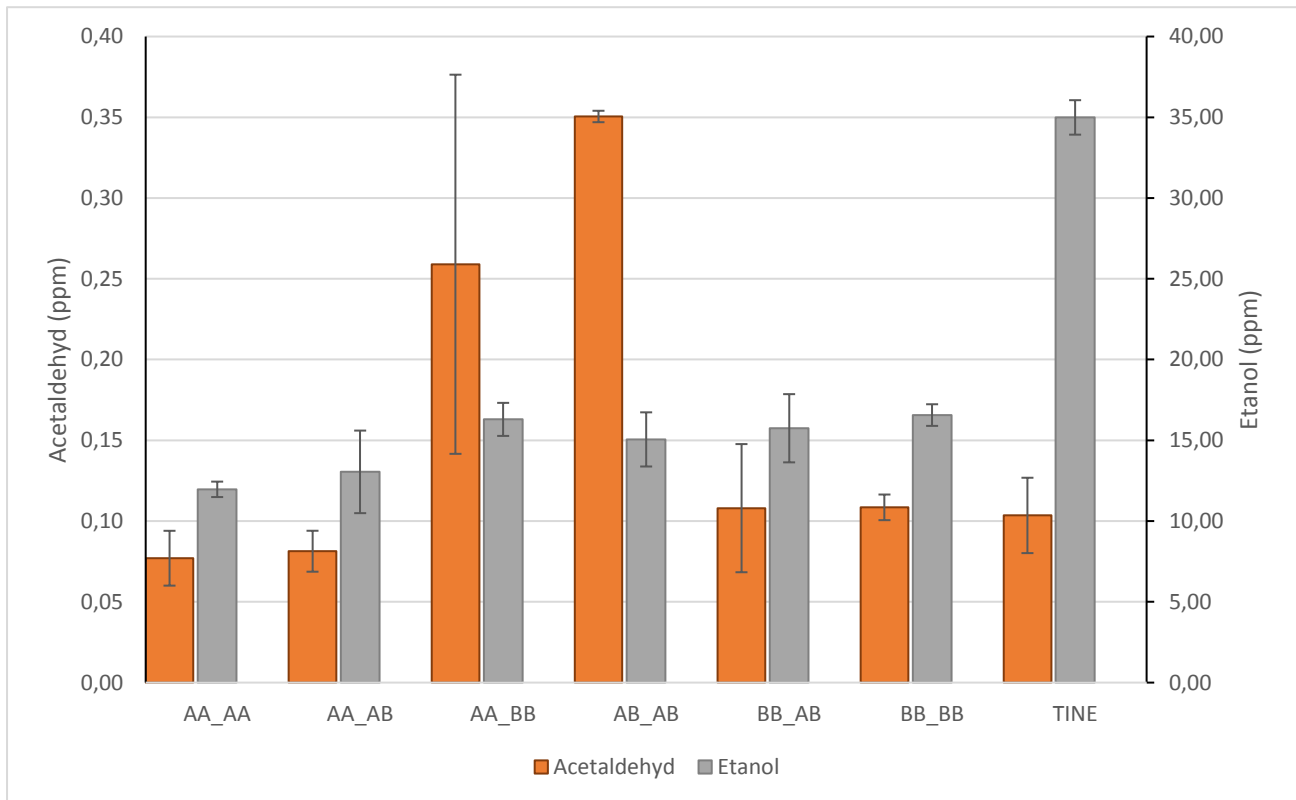


Figur 4-4 Konsentrasjoner (i ppm) av diacetyl (venstre akse) og acetoin (høyre akse) i syrnet, lagret (14d.), kulturmilk fra blokk 2, gjennomsnittlige verdier etter gruppe genetisk variant.

I Vedlegg J.1 vises den totale oversikten av resultater fra analyse av karbohydrater og organiske syrer.

Innholdet av aceton i de produserte prøvene var forholdsvis stabilt (ca 2 ppm), bortsett fra et par lavere verdier (~0,6ppm), mens innholdet av aceton var tydelig høyere i TINE skummet kulturmilk (4ppm).

Innholdet av acetaldehyd og etanol ble også målt i lagrede prøver (2 uker), resultatene er presentert i figur 4-5.



Figur 4-5 Gjennomsnittlige konsentrasjoner av etanol og acetaldehyd (ppm) i lagrede kulturmilkprøver, gruppert etter genetisk variant (κ -CSN β -LGB)

Acetaldehyd ble her funnet i konsentrasjoner på 0,1-0,3ppm. Det ble målt verdier av etanol mellom ca 12-16 ppm i de produserte prøvene, mens i referanseprøven fra TINE ble det målt etanolkonsentrasjoner på ca 35 ppm.

4.2 Reologi

Det ble gjort reologiske målinger på ferske (1 dag) og lagrede (14 dager) produkter, ved en temperatur på 4°C. Målinger av produktenes viskøse og elastiske egenskaper ble gjort i tre gjentak på hvert produkt, et gjennomsnitt av resultatene fra de individuelle produktene ble benyttet videre i analysene. Måling av tekstur ble utført med fem gjentak av målinger, hvor et gjennomsnitt av de fem målingene ble benyttet videre.

Det ble målt tydelige variasjoner mellom produktene i de reologiske analysene. Gelstyrken, analysert med Texture Analyser, ble målt mellom 4 og 22 gram, mens viskositeten, målt med et Physica MCR 301 reometer, ble målt fra 0,15 til 0,52 Pa*s. Elastisitetsmodul G' , ble målt til verdier fra ca 15-128 Pa.

4.2.1 Elastisitetsmodul, G'

Tabellene under viser statistisk analyse for effekt av forsøksfaktorene (genetisk variant av κ -CN og β -LGB, lagring og blokk) på elastisitetsmodul. I tabell 4-1 ble det ikke funnet noen signifikant effekt av faktorene på G' , men i tabell 4-2 har derimot Tukey-test funnet at β -LGB variant BB gav en signifikant økning i G' i forhold til variant AB. Dette er ikke vanlig, da Tukey er en strengere statistisk test enn ANOVA.

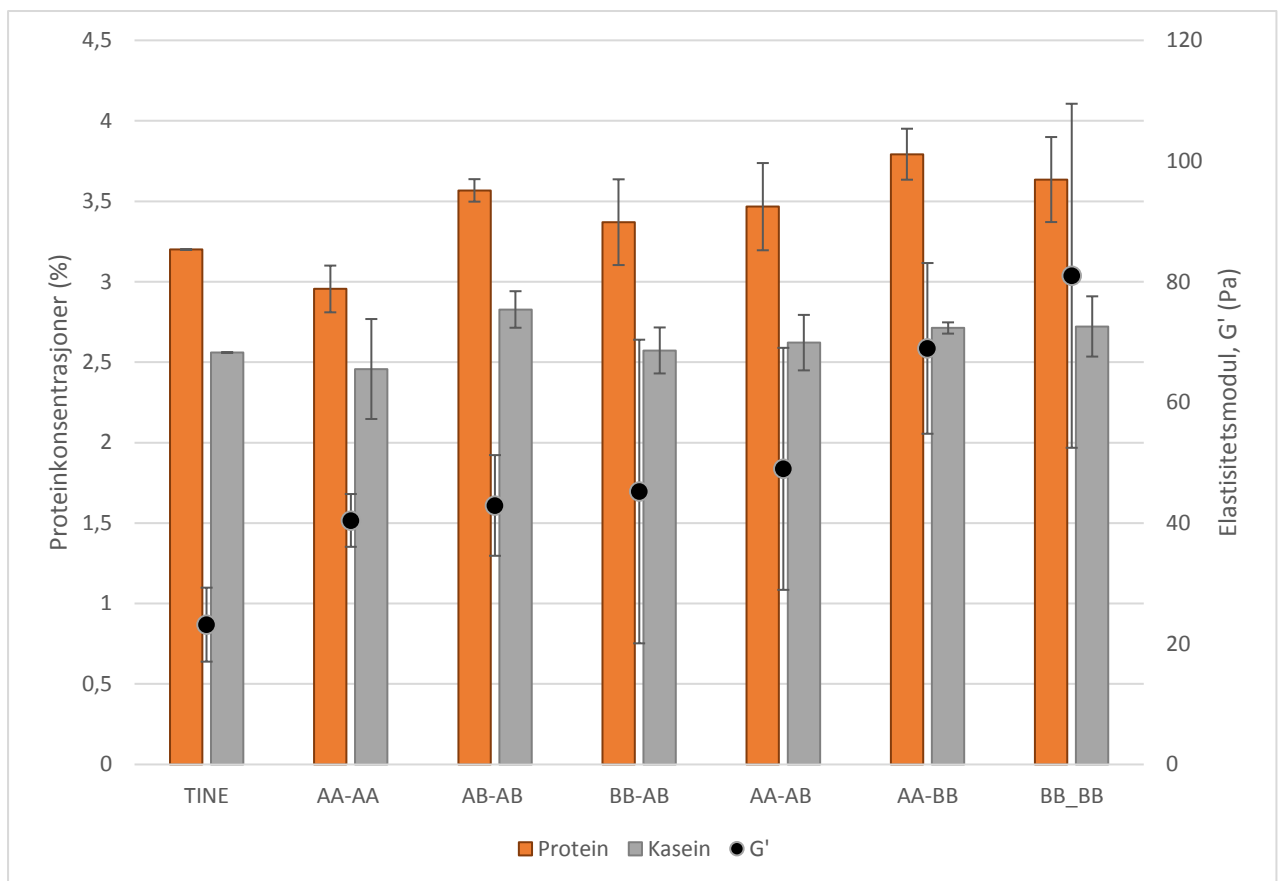
Type 3 Tests of Fixed Effects				
Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
CSN3	2	84	0.41	0.6669
BLG	2	84	2.68	0.0745
LAGRING	1	84	0.47	0.4952
BLOCK	1	84	1.83	0.1792

Tabell 4-1 Variansanalyse for effekt av forsøksfaktorene (genetisk variant av κ -CN og β -LGB, lagring og blokk) på elastisitetsmodulen. En p -verdi $\leq 0,05$ angir signifikant effekt på G' . Ingen av parameterne ble her funnet signifikante.

Differences of Least Squares Means										
Effect	CSN3	BLG	LAGRING	BLOCK	CSN3	BLG	LAGRING	BLOCK	Estimate	Pr > t
CSN3	AA				AB				6.4901	0.8069
CSN3	AA				BB				13.0914	0.3694
CSN3	AB				BB				6.6013	0.8036
BLG		AA				AB			-16.2080	0.5419
BLG		AA				BB			-48.7865	0.0956
BLG		AB				BB			-32.5785	0.0347
LAGRING			1				14		-1.6462	0.4952
BLOCK				1				2	-3.4591	0.1792

Tabell 4-2 Parvis sammenligning (LS means) av signifikans for effekt av faktor-nivå på elastisitetsmodulen, beregnet med Tukey's test i SAS. En p -verdi $\leq 0,05$ angir signifikant forskjell

Tabell 4-2 viser resultat av Tukey's test, hvor det ble funnet signifikante forskjeller mellom de genetiske variantene β -LGB AB og BB. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom de genetiske variantene β -LGB AA og β -LGB AB, og heller ikke mellom β -LGB AA og β -LGB BB. Forskjell innen genetiske varianter av κ -CN, lagringstid og blokk, ble heller ikke funnet å ha en signifikant effekt på elastisitetsmodulen.



Figur 4-6 Gjennomsnittlig verdier av G' , total proteinkonsentrasjon og kasein, i grupper med forskjellige genetiske proteinvarianter. Resultater er et gjennomsnitt av fersk og lagret melk, fra begge blokker og begge produksjonsdager.

Figur 4-6 viser at prøver av skummet kulturmilk med genetisk variant av κ -CN_ β -LGB BB_BB hadde en høyere verdi av G' i forhold til tilsvarende verdi hos prøver av melk med genetisk variant av κ -CN_ β -LGB AA_AA, med tilsvarende proteininnhold.

Denne effekten er derimot ikke synlig mellom de genetiske variantene av κ -CN_ β -LGB BB_AB og AA_AB. Figur 4-6 viser at de genetiske variantene av κ -CN_ β -LGB AA_AA og AB_AB hadde de laveste verdiene her.

I figur 4-6 vises og videre en tilsvarende G' for skummet kulturmilk med genetiske varianter κ -CN_ β -LGB BB_AB, AA_AB og AB_AB.

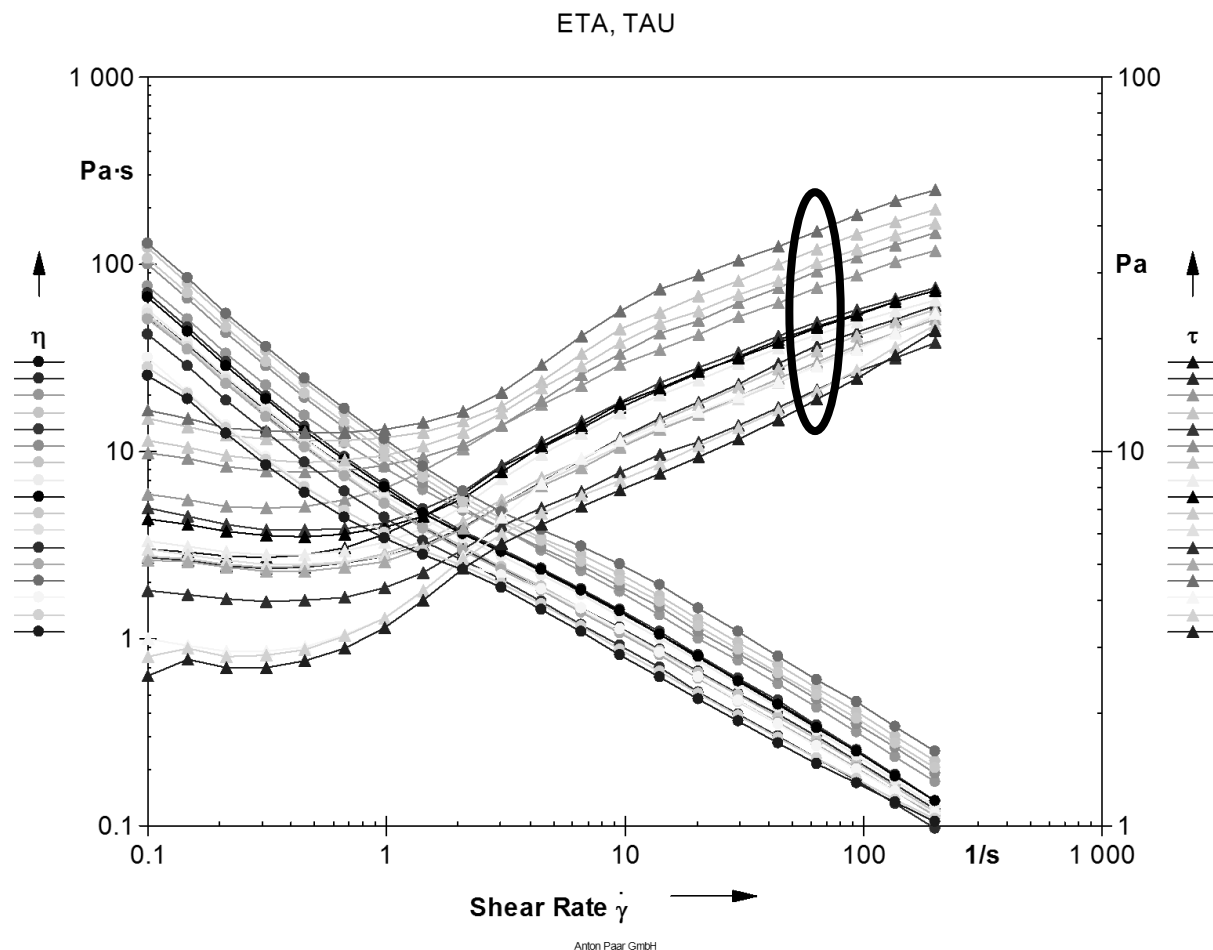
Melk med genetisk variant av κ -CN_ β -LGB BB_BB hadde et veldig stort standardavvik, noe som skyldes variasjoner mellom de tre individene fra denne gruppen, verdiene i melk fra denne «gruppen» lå på henholdsvis ca 30, 80 og 115 Pa.

G' -verdier for TINE skummet kulturmilk er et gjennomsnitt av målinger av skummetmelk-prøver fra fire separate melkekartonger, analysert parallelt med sensorisk analyse.

Proteinkonsentrasjonen indikert er referanseverdier fra produsenten, kaseinkonsentrasjonen er her antatt å utgjøre 80% av totalt protein-innhold.

4.2.2 Viskositet

For å oppnå et sammenligningsgrunnlag ble det hentet ut verdier for viskositet (η) fra et fastsatt punkt i hver måling, hvilket ble satt til å være målepunkt nummer 18. På dette målepunktet roterte målespindelen med en hastighet på 49,4 o/min og en skjærate $\dot{\gamma} = 64\text{s}^{-1}$



Figur 4-7 Illustrasjon av flytkurver fra viskositetsmålinger utført på reometer, Physica MCR 301. Målepunkt hvor verdier er hentet fra (punkt 18) er markert med en ellipse.

Figur 4-7 viser et representativt utvalg av flytkurvene oppnådd ved måling av viskositet med målespindel-kopp-systemet. Målepunktene (punkt 18, merket med sirkel) ble benyttet til analysene, hvor et gjennomsnitt av tre gjentak ble benyttet.

Prøvene utviser alle skjæretynnende egenskaper, noe som er konsistent med denne type produkter (Fuquay et al. 2011a).

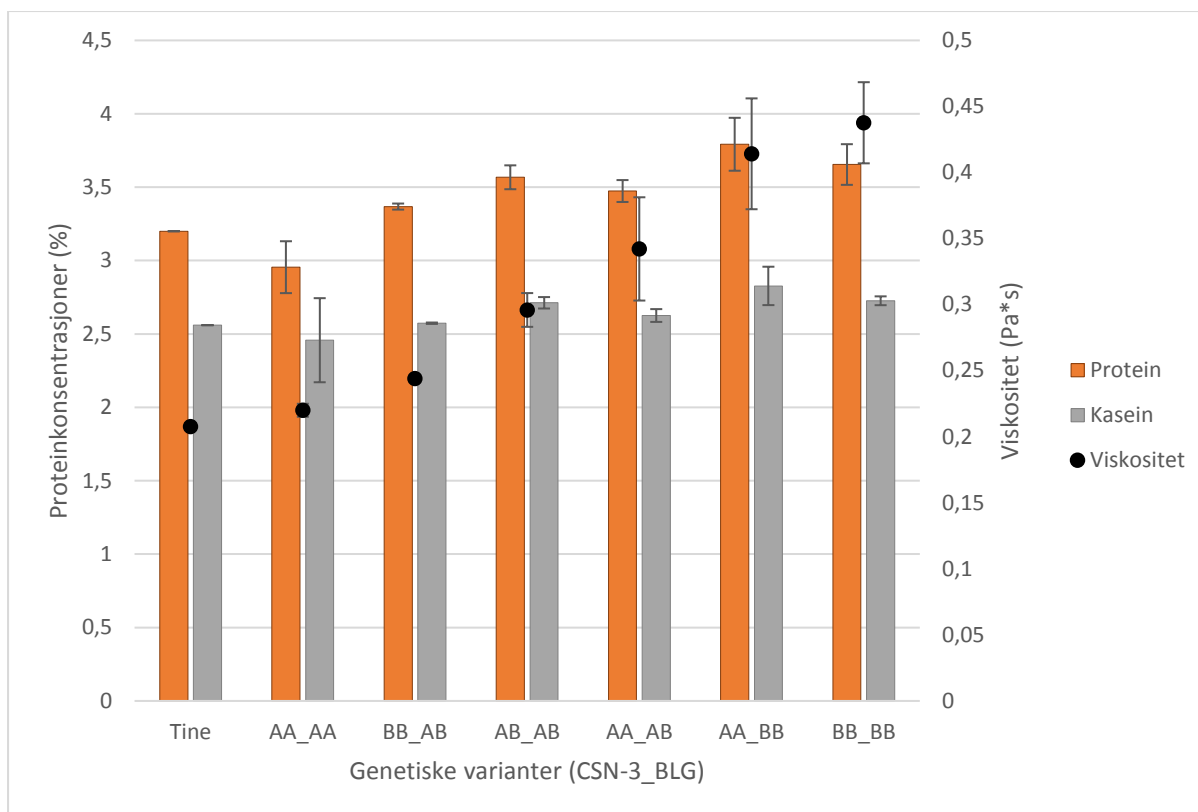
Som vist i Tabell 4-3 ble både lagringsfaktoren og β -LGB funnet å ha signifikant effekt på viskositeten til produktet. Det ble ikke funnet noen signifikant effekt mellom β -LGB AA og BB, eller av blokk i dette forsøket.

Tabell 4-3 Variansanalyse for effekt av forsøksfaktorene (genetisk variant av K-CN og BLG, lagring og blokk) på viskositeten. En p -verdi $\leq 0,05$ angir signifikant effekt på viskositet.

Type 3 Tests of Fixed Effects				
Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
CSN3	2	84	0.65	0.5264
BLG	2	84	4.05	0.0210
LAGRING	1	84	6.09	0.0156
BLOCK	1	84	2.30	0.1334

Tabell 4-4 Parvis sammenligning (LS means) av signifikans for effekt av faktor-nivå på viskositet, beregnet med Tukey's test i SAS. En p -verdi $\leq 0,05$ angir signifikant forskjell.

Differences of Least Squares Means										
Effect	CSN3	BLG	LAGRING	BLOCK	CSN3	BLG	LAGRING	BLOCK	Estimate	Pr > t
CSN3	AA				AB				0.02039	0.8289
CSN3	AA				BB				0.05835	0.2604
CSN3	AB				BB				0.03796	0.6876
BLG		AA				AB			-0.09631	0.3088
BLG		AA				BB			-0.2320	0.0267
BLG		AB				BB			-0.1357	0.0136
LAGRING			1				14		-0.01333	0.0156
BLOCK				1				2	-0.00872	0.1334



Figur 4-8 Gjennomsnittlige verdier for total protein, kasein og viskositet, for prøver med ulik genetisk protein-variant

Figur 4-8 viser gjennomsnittlig viskositet i alle prøvene, fra henholdsvis runde én og to, satt i forhold til de gjennomsnittlige konsentrasjonene av protein og kasein. Figuren viser at de genetiske variantene (CSN-3_β-LGB) AA_AA, AB_AB og BB_AB i snitt gav melk med lavest viskositet, mens AA_BB og BB_BB gav melk med høyest viskositet. Som Tabell 4-4 viser, er β-LGB variant BB forbundet med en økt viskositet sammenlignet med β-LGB AB. Det ble også funnet signifikant forskjell mellom β-LGB BB og β-LGB AA, dette kommer også tydelig frem i figur 4-8, hvor melk med de genetiske variantene av β-LGB BB er funnet å være de prøvene med høyest viskositet.

Figur 4-8 viser videre at de genetiske variantene AA_BB og BB_BB er de prøvene med gjennomsnittlig høyest total proteinkonsentrasjon.

Viskositets-verdier for TINE skummet kulturmilk er et gjennomsnitt av målinger av prøver fra fire separate kartonger, analysert parallelt med sensorisk analyse. Proteinkonsentrasjonen indikert er referanseverdier fra produsenten, kaseinkonsentrasjonen er her antatt å utgjøre 80% av totalt protein-innhold.

4.2.3 Gel-styrke

For å måle forskjeller i gel-styrke på en syrnnet melke-gel ble det benyttet en penetrasjonstest, resultatene fra målingene er oppsummert i figur 4-9. Gelens maksimale motstandskraft ved første kompresjon ble notert, og benyttet som sammenligningsgrunnlag. Det ble gjort fem gjentak på hver prøve, som vist i figur 3-3, hvorpå en gjennomsnittlig verdi ble beregnet.

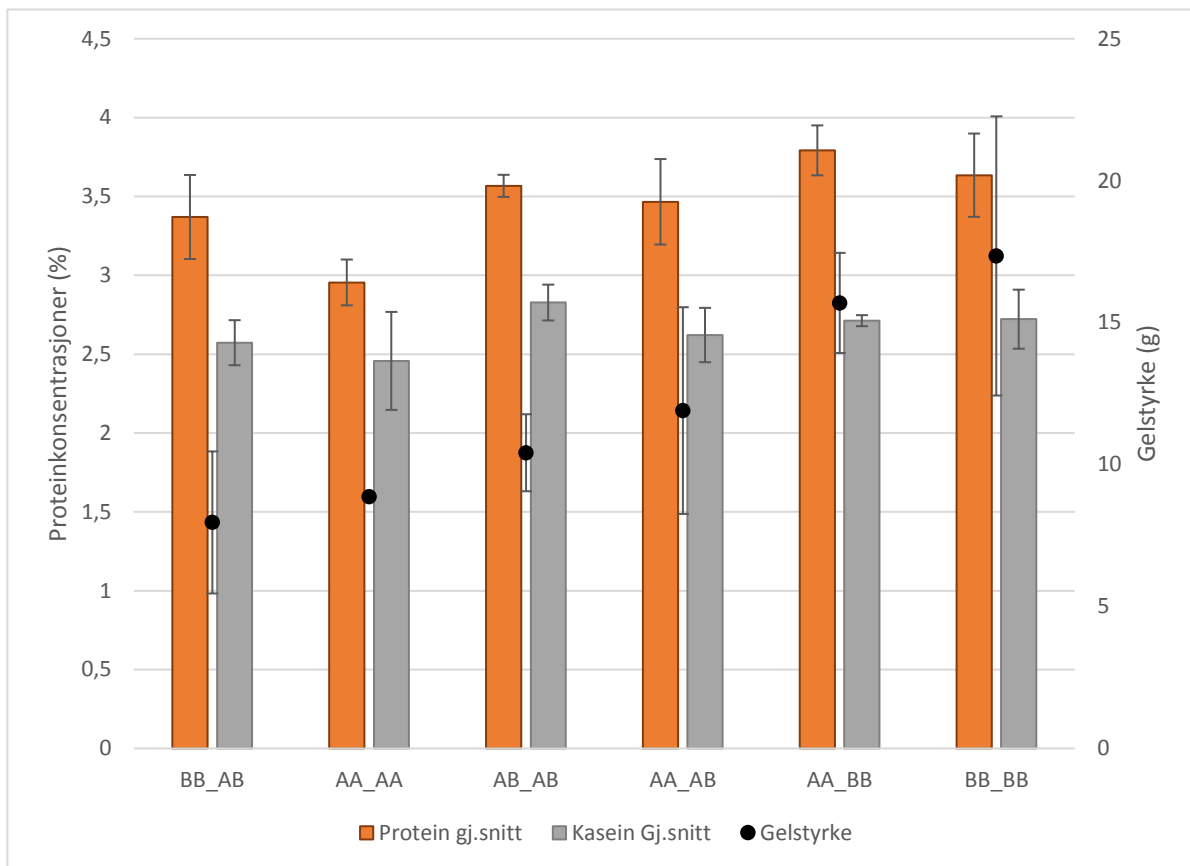
Statistiske analyser (Tabell 4-5 og Tabell 4-6) viser at β -LGB, lagring og blokk-faktor har hatt signifikant innvirkning på gelstyrken. Det er blitt vist at lav-fett yoghurt oppnår en økning i gel-styrke ved lagring (Salvador & Fiszman 2004), selv om denne melken ikke er tørrstoffberiket, er det rimelig å forvente en tilsvarende effekt i skummet kulturmilk-gel.

Tabell 4-5 Type 3 test: Test av signifikans for «fastsatte faktore». En p-verdi $\leq 0,05$ angir signifikant effekt på gelstyrke

Type 3 Tests of Fixed Effects				
Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
CSN3	2	84	0.64	0.5291
BLG	2	84	4.40	0.0152
LAGRING	1	84	9.94	0.0022
BLOCK	1	84	13.03	0.0005

Tabell 4-6 Parvis sammenligning (LS means) av signifikans for effekt av faktor-nivå på viskositet, beregnet med Tukey's test i SAS. En p-verdi $\leq 0,05$ angir signifikant forskjell

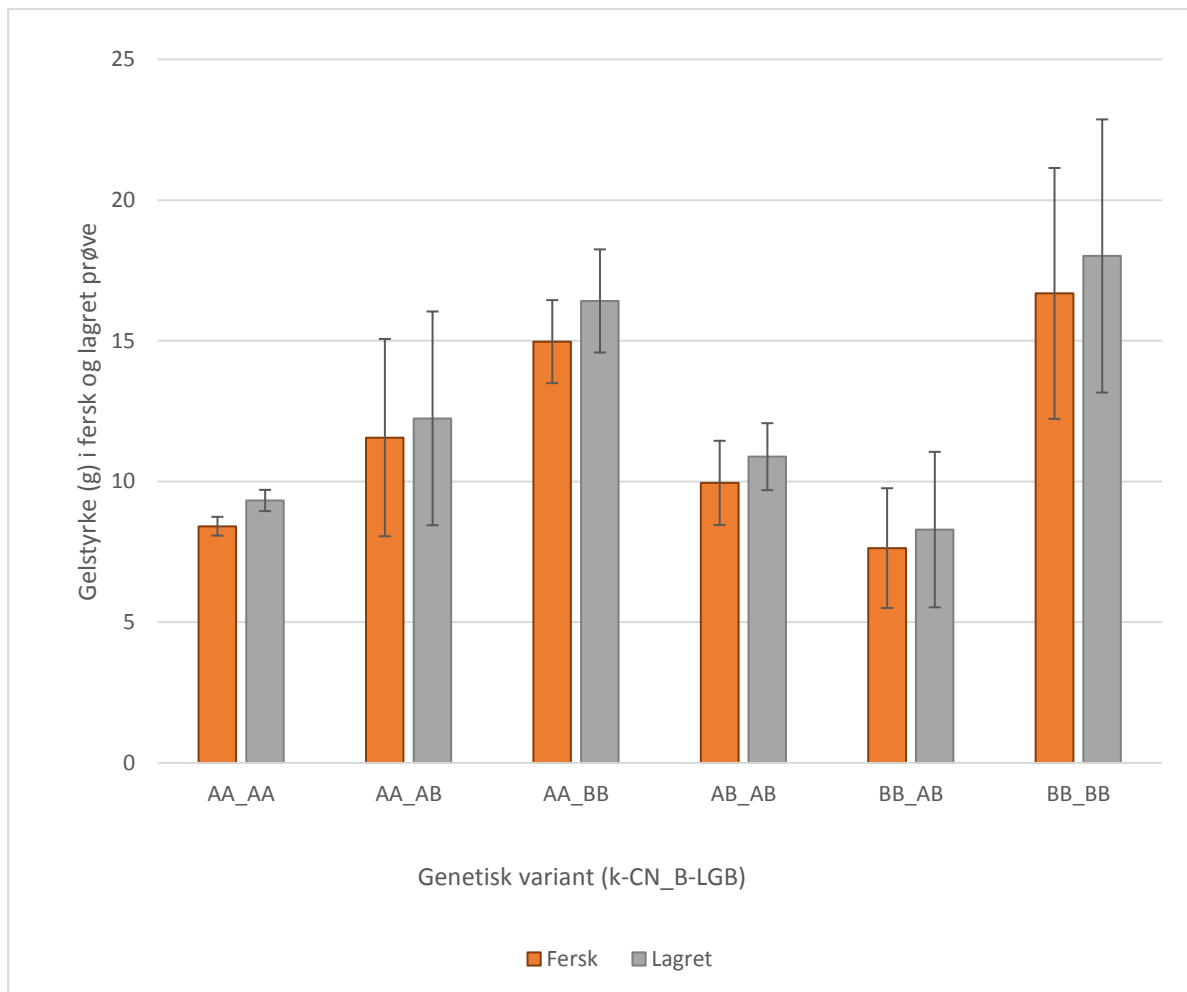
Differences of Least Squares Means										
Effect	CSN3	BLG	LAGRING	BLOCK	CSN3	BLG	LAGRING	BLOCK	Estimate	Pr > t
CSN3	AA				AB				0.6873	0.8710
CSN3	AA				BB				2.5929	0.2648
CSN3	AB				BB				1.9056	0.6526
BLG		AA				AB			-2.2358	0.5975
BLG		AA				BB			-9.0935	0.0520
BLG		AB				BB			-6.8576	0.0057
LAGRING			1				14		-0.8326	0.0022
BLOCK				1				2	-1.0149	0.0005



Figur 4-9 Gjennomsnittlige verdier av total proteinkonsentrasjon, kasein og maksimal gel-styrke (g) målt i første kompresjon ved penetrasjonstest på texture analyzer.

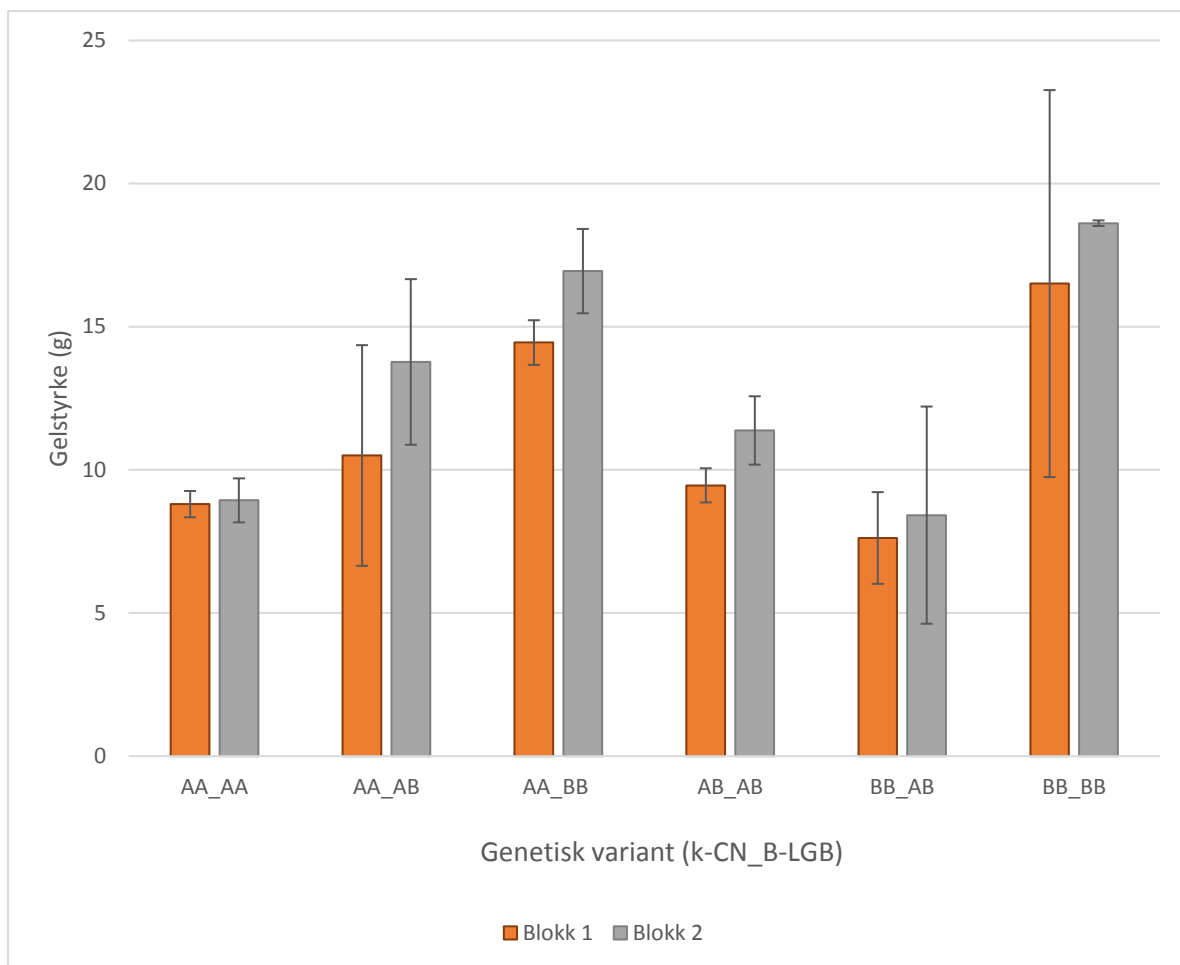
Figur 4-9 viser gjennomsnittlig gel-styrke til de ulike genetiske variantene av CSN-3_β-LGB i løpet av de to blokkene. Figur 4-9 viser at prøver av genetisk variant (CSN-3_β-LGB) BB_BB og AA_BB hadde en gjennomsnittlig høyere gel-styrke, på henholdsvis ca 17 g. og 15 g, i forhold til de øvrige, som hadde verdier i området ca 8-11 g, dette gjenspeiles i parvis gjennomsnittlig sammenligning av LS means, vist i tabell 4-6, hvor β-LGB variant BB ble funnet å gi signifikant høyere gel-styrke, sammenlignet med β-LGB AB. Resultatet illustrert i Figur 4-9 gjenspeiler målinger også gjort av viskositet

Prøver med genetisk variant (CSN-3_β-LGB) AA_AB hadde også en høyere gel-styrke, på rundt 15g har tilsvarende innhold av protein og kasein som BB_BB, men BB_BB er noe mer viskøs.



Figur 4-10 Gel-styrke i skummet kulturmilk av forskjellig genetisk variant, og lagringstid (fersk prøve = 1 dags kjølelagring etter endt syrning, lagret prøve = 14 dagers kjølelagring etter endt syrning)

Figur 4-10 viser forskjell i gjennomsnittlig gel-styrke i prøver av ulik genetisk variant, hvor lagringsfaktor er inkludert. Figur 4-10 viser her forholdsvis jevne resultater, med tanke på gjennomsnittlig verdi for den enkelte genetiske variant, samt tilhørende standardavvik. Alle de genetiske variantene har her en noe høyere gjennomsnittlig gel-styrke i de lagrede prøvene i forhold til de tilsvarende ferske prøvene.



Figur 4-11 Gel-styrke i skummet kulturmilk av forskjellig genetisk variant, og blokk/rundenummer

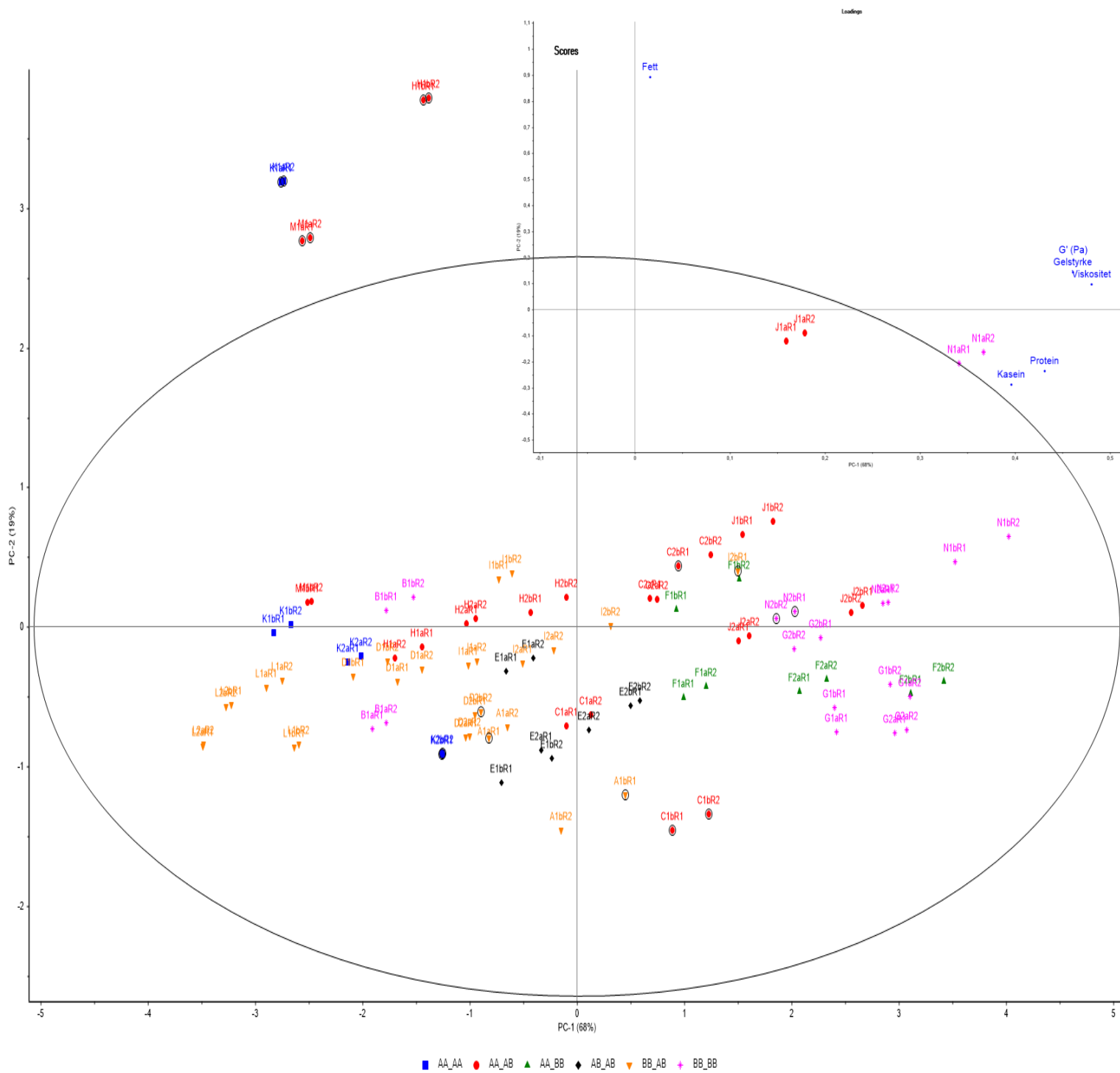
Figur 4-11 viser forskjell i gjennomsnittlig gel-styrke i prøver av ulike genetiske varianter, hvor blokk-faktor er inkludert. Prøver av alle de genetiske variantene viser her en noe høyere gel-styrke i blokk 2 i forhold til blokk 1. Melk med genetisk variant BB_BB har i blokk 2 et minimalt standardavvik, mens i blokk 1 er det svært stort. Dette kommer av at et av individene (individ «B») med genetisk variant BB_BB ikke var deltakende i andre blokk. Dette individet skilte seg sterkt ut fra de to andre i denne gruppen, noe som gav overnevnte resultat.

4.2.4 PCA

Et PCA (Principle Component Analysis) -plott, viser hvordan ulike faktorer er korrelert med kulturmelkens reologiske (viskositet, gel-styrke og elastisitet) egenskaper. Dataene benyttet i plottet var fett, protein, kasein, gel-styrke, viskositet og G' .

PCA-plottene presentert her er fremstilt med et støtte-bilde i form av et loadings-plott, i øvre høyre hjørne. Her vises de aktuelle komponentene langs X- og Y-aksen. Komponentene plassert lengre ut på aksene, har større innvirkning i den aktuelle retningen.

Score-plottet i figur 4-12 viser kun prøvene, fargekodet etter genetisk variant. Loadings-figur er presentert i et eget plot i score-plottets øvre høyre hjørne, hvor de ulike komponentene benyttet er plassert. Komponentene (fett, protein, gel-styrke osv.) er korrelert til hverandre og de individuelle prøvene i høyere grad dess nærmere hverandre de er plassert.



Figur 4-12 PCA-plot av elastisitetsmodul G' , viskositet, gel-styrke, protein og kasein mot høyre langs X-aksen, samt fett oppover langs Y-aksen. Prøver fargekodet etter genetisk variant (CSN-3_BLG) Blå: AA_AA; Rød: AA_AB; Grønn: AA_BB; Orange: BB_AB; Rosa: BB_BB.

Loadings-plottet er plassert i øvre høyre hjørne, og indikerer hvilke komponenter som påvirker prøvene langs X- og Y-aksene. Loadingsplottet er ikke skaler, og er her bare ment for å illustrere relasjonen mellom de reologiske komponentene og prøvene.

Langs X-aksen, PC1, er 68% av variasjonen forklart, mens Y-aksen, PC2 forklarer 19% av variasjonen.

Figur 4-12 viser at totalt kan 87% av variasjonen i plottet kan forklares ved hjelp av de valgte variablene, hvor komponentene langs Y-aksen forklarer 19% av prøvenes variasjon, mens komponentene langs X-aksen forklarer 68%. Dette stemmer godt med prøvenes fordeling langs aksene, hvor de hovedsakelig er fordelt langs X-aksen, med noe variasjon i Y-retning.

Det kan her sees at komponenten «Fett» er plassert høyt oppe ved Y-aksen. Dette indikerer variasjon i fettprosenten i prøvene, og prøver med økende fettinnhold «dras» oppover langs Y-aksen. Siden fett er plassert nesten rett på Y-aksen, indikerer det at endring i fettinnhold vil kun gi utslag i Y-retning på PCA-plottet. Siden proteinene er plassert ytterst til høyre langs X-aksen drar de prøvene lengre mot høyre dess høyere proteininnholdet er.

Elastisitetsmodul G' , viskositet og gel-styrke er også plassert ytterst til høyre i loadings-plottet, men de er i tillegg løftet noe opp fra X-aksen. Dette indikerer at fettinnholdet, i tillegg til proteininnholdet påvirker disse verdiene. Prøver hvor punktet er merket med en sirkel rundt, indikerer prøver hvis varians *ikke* kan forklares med gjeldende «oppsett».

Øverst til venstre er det posisjonert tre paralleller av ferske og lagrede prøver, henholdsvis K1aR1 og -R2, M1aR1 og -R2 og H1bR1 og -R2. Disse er merket som utliggere, men er også utenfor *Hotelling's T^2 ellipse*, som angir 95% konfidensområde for dette oppsettet. Det betyr samlet at disse prøvene har unormale verdier, og faller utenfor den forklarende modellen. J1aR1 og -R2 og N1aR1 og -R2 (ytterkant i øvre høyre kvadrant), har også en tydelig lengre avstand fra X-aksen (grunnet nevnt fettinnhold), men er ikke merket som utliggere. Alle disse prøvene hadde avvik i (økt) fettinnhold. Det ble gjort forsøk på å kutte ut prøvene fra denne analysen, men det resulterte i nye utliggere i motsatt ende (under X-aksen).

Genetiske varianter

De genetiske variantene har i figur 4-12 tydelige tegn til grupperinger. Prøver med genetisk variant av κ -kasein- β -LGB BB_BB (rosa) og AA_BB (grønn) i figur 4 12 ser ut til å stort sett dras mot høyre, mot økt innhold av protein og kasein, og økt G' . Prøvene N1aR1 og -R2 (BB_BB) kan sees oppe i høyre hjørne av sirkelen, men plassert like langt horisontalt som tilsvarende prøver. Prøvene av individ B er plassert til venstre for origo, i motsetning til resten av prøvene av genetisk variant BB_BB. Prøvene fra dag 1 (B1aR1 og -R2) ligger her langs X-aksene, mens prøvene fra dag to (B1bR1 og -R2) er plassert under X-aksen.

Prøvene fra variant av κ -kasein- β -LGB AA_AB var spredt ut over mesteparten av lengden til X-aksen. Kulturmelk av genetisk variant BB_AB (oransje) er stort sett plassert langs venstre halvdel av x-aksen, med en hovedvekt nærmere origo. Genetisk variant AA_AB er spredt fra

midtre del av x-aksen på venstre side av origo, og tilsvarende langt ut i høyre retning. Genetisk variant AB_AB er sentrert rundt (nedenfor) origo. Prøver med genetisk varianter AA_BB og BB_BB har de tydeligste grupperingene, hvor de er plassert på midten av høyre x-akse. Prøver av melk med genetisk variant BB_BB har de mest ekstreme prøvene i høyre retning, men har også et sett avvikende prøver, alle fra samme individ («B»), som er plassert midt på venstre x-akse.

På innsiden av ellipsen sees prøvene K2bR1 og -R2 samt N2bR1 og -R2, markert som utliggere i dette oppsettet, hvor variasjonen ikke passer med dette oppsettet.

Fersk/lagret kulturmilk

I figur 4-12 finnes alle reologiske resultater av de produserte kulturmilk-prøvene, altså er det «paralleller» i produksjonsdag (a og b) og fersk/lagret prøve (R1 og R2). Ferske og lagrede prøver er produsert på samme melk, og har derfor samme sammensetning av fett og protein. Eventuell variasjon mellom disse vil derfor komme som resultat av endring i de reologiske kvalitetene som følge av lagringen.

Figur 4-12 viser at parallellene R1/R2 (fersk/lagret prøve) generelt dras mot høyre ved lagring, noe som indikerer at de reologiske parameterne øker under lagring. Ettersom parameterne er plassert så nærme hverandre i plottet, indikerer det en sterk korrelasjon, det er derfor rimelig å anta at effekten er tilsvarende for alle disse. En slik økning vil videre kunne peke mot at proteinene fortsetter å danne bindinger, og dermed styrker strukturen, også etter 24 timer. I noen av prøvene var motsatt tilfelle, dette kan dreie seg om en overbelastning som fører til sammentrekning av gelen. Dette gjør at bindinger brytes, og strukturen svekkes.

De fleste prøvene med genetisk variant BB_BB (bortsett fra «G2b» og «N2b»), dras mot høyre under lagring. Dette kan være et eksempel på at strukturen i enkelte prøver har begynt å falle sammen. Siden det kun er gjort to «øyeblikks-målinger» av de reologiske parameterne, og ikke kontinuerlige målinger (f.eks. daglige målinger) kan man ikke si noe nøyaktig om hvordan prøvene har oppført seg under lagring, men bare vurdere de faktiske endringene i plassering i plottet.

I tilfellet med A1bR1 og A1bR2 (plassert i sentrum nederst) dreier det seg nok om en feilmåling i A1bR1, som har en dobbelt så høy G' (~73 Pa.) som øvrige målinger (~30 Pa.) av samme melk. Dette kan muligens også stemme for prøven I2bR1 (øvre høyre kvadrant).

Den vises i figur 4-12 unormalt langt til høyre i plottet i forhold til lagret prøve, I2bR2, som er plassert rett til høyre for origo. Lagringseffekten har ikke hatt så stor innvirkning på de andre prøvene, denne plasseringen kan derfor sannsynligvis skyldes en feilmåling. I2bR1 har blitt målt (Vedlegg G) til å ha en dobbelt så høy G' , samt også en noe økt viskositet sammenlignet med de øvrige målingene av denne melken, heller ikke i tilsvarende lagret prøve (I2bR2) ble det sett tilsvarende verdier.

Blokk-faktor

I et slikt forsøk hvor det er gjort gjentak av uttak, og av forsøksoppsett, er det ønskelig med mest mulig entydige resultater, slik at variasjonen blir tydeligst mulig og en kan knytte disse opp imot de aktuelle faktorene en undersøker. En blokk-faktor burde da i utgangspunktet ha lite å si, men det er ventet å se noen variasjoner i melkens sammensetning.

Genetisk variant av κ -CN $_{\beta}$ -LGB AB_AB (fra individ «E») virker å være noe mer sentrert nærme origo, med en draging mot høyre i blokk/runde to. I blokk nummer to hadde denne prøven et høyere innhold av proteiner, og det ble målt høyere verdier av alle reologiske parametere.

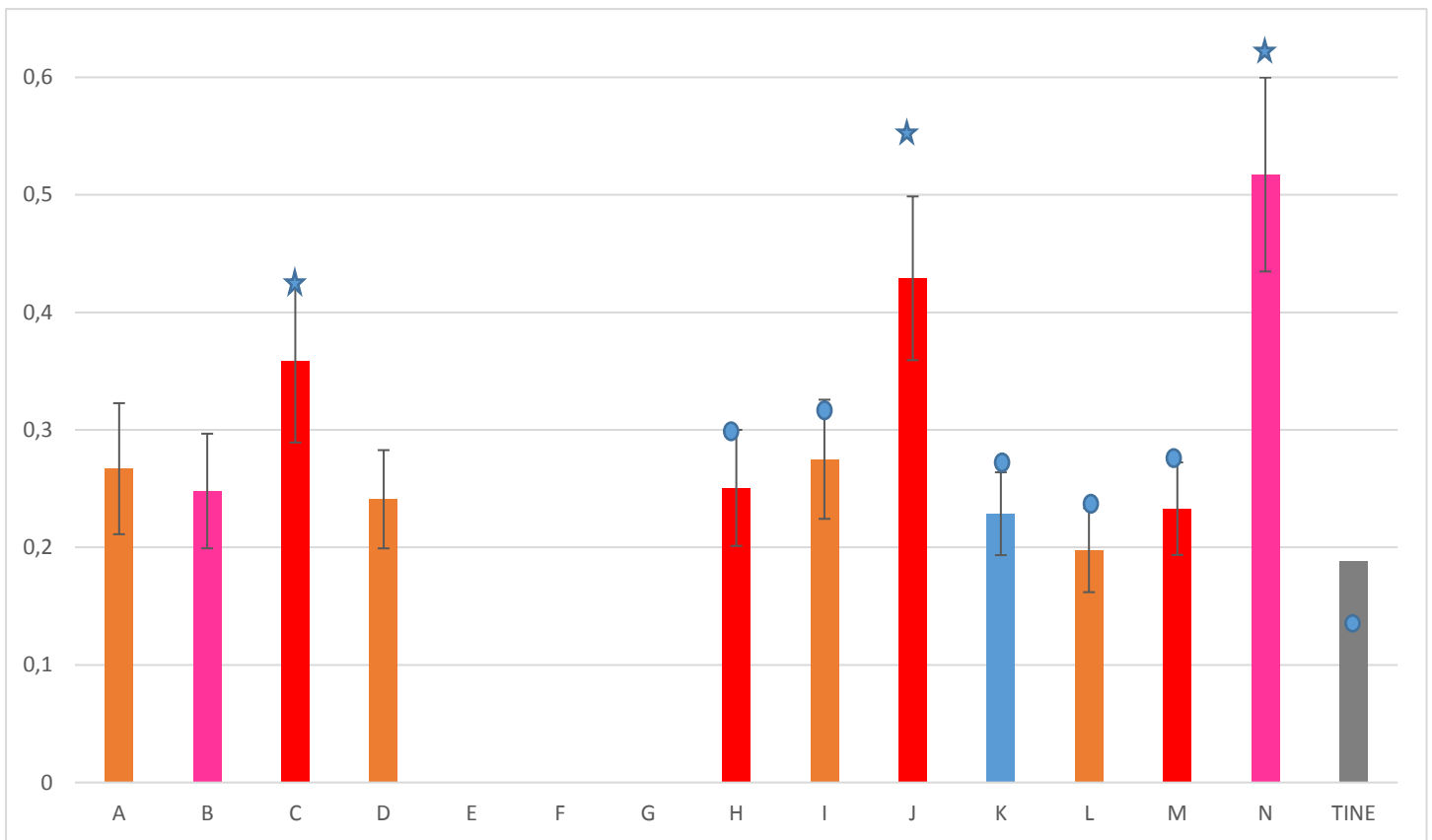
Melk med genetisk variant av κ -CN $_{\beta}$ -LGB AA_BB kan sees fordelt i to klynger, hvor de er fordelt blokk-vis. Prøver i blokk 2 har lagt seg lengst mot høyre, og da spesielt melk fra andre produksjonsdag. Dette tyder på en kombinasjon av varierende innhold i melk mellom melkingene, og for lite omrøring av melk før første uttak, slik at innholdet på dag 1 og dag 2 ble ulikt.

4.3 Sensorikk

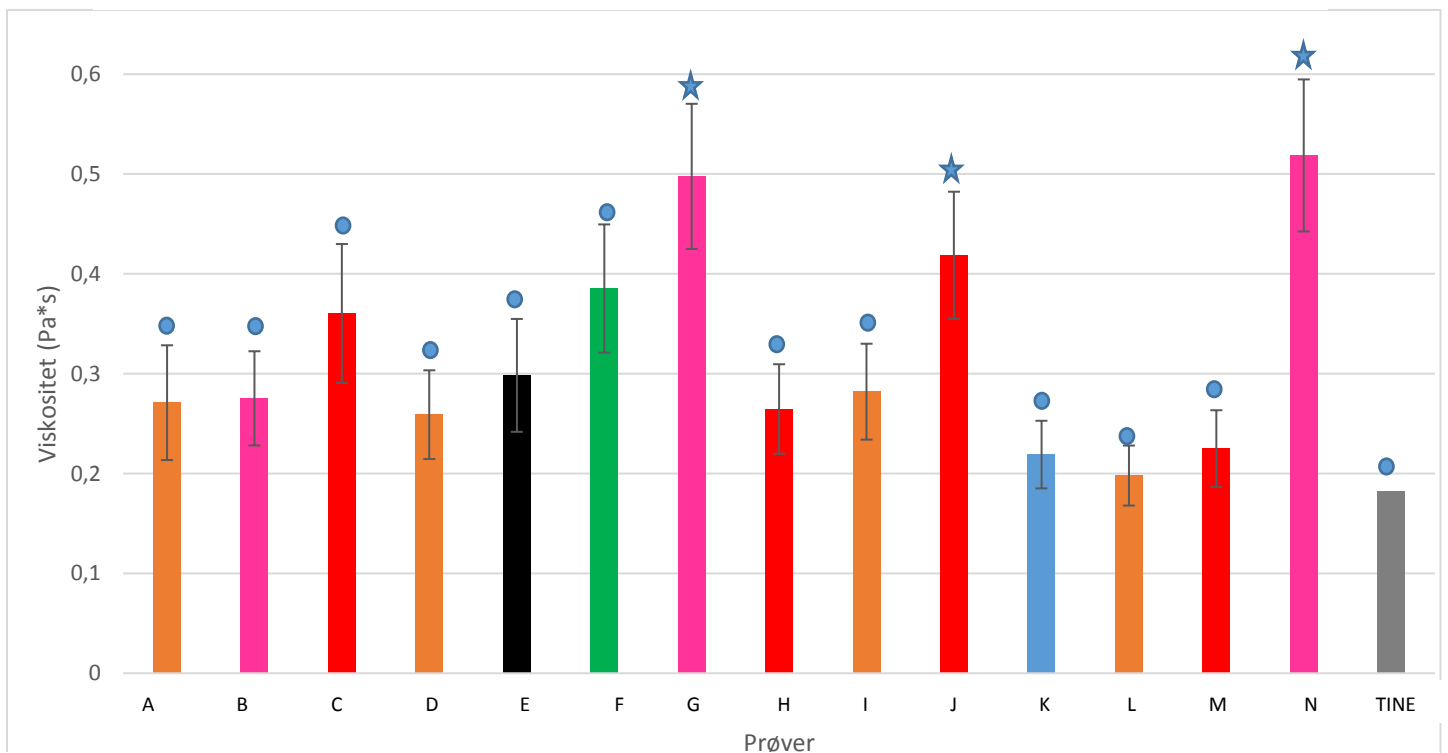
På grunn det store antallet prøver ble det kun utført sensorisk analyse av prøvene i lagret (14 dager kjølelagring etter endt syrning) tilstand. For å kunne få et best mulig sammenligningsgrunnlag ble de sensoriske prøvene korrespondert med de reologiske analysene, hvor de ulike analysene ble utført med én dags forskjell.

Figurene fra hver blokk, 14 prøver fra første produksjonsdag (én dag gammel melk) og 14 prøver fra andre produksjonsdag (to dager gammel melk), presenteres først, med beskrivende tekst for den enkelte etterpå.

Resultatene er illustrert på graf av reologiske målinger, gjort på samme tidspunkt. Prøver funnet signifikant *mer viskøs* enn de resterende fire fra hvert prøvesettet er markert med en *stjerne* over prøvens søyle, mens prøver funnet signifikant *mindre viskøs* er merket med en sirkel.



Figur 4-14 Resultat fra viskositetsmålinger av kulturmilk på reometer og ved sensorisk rangering (Blokk 1 prod.dag 1). Prøvene er fargekodet etter genetisk variant; Blå=AA_AA; Rød=AA_AB; Grønn=AA_BB; Sort=AB_AB; Orange=BB_AB; Rosa=BB_BB. Prøver funnet signifikant mer viskøs ved sensorisk rangering er markert med en stjerne over søylen, prøver funnet signifikant mindre viskøs ved sensorisk rangering er merket med en sirkel over søylen. Prøvene E, F og G ble i denne runden ikke vurdert statistisk, og er derfor utelatt.



Figur 4-135 Resultat fra viskositetsmålinger av kulturmilk på reometer og ved sensorisk rangering (Blokk 1 prod.dag 2). Prøvene er fargekodet etter genetisk variant; Blå=AA_AA; Rød=AA_AB; Grønn=AA_BB; Sort=AB_AB; Orange=BB_AB; Rosa=BB_BB. Prøver funnet signifikant mer viskøs ved sensorisk rangering er markert med en stjerne over søylen, prøver funnet signifikant mindre viskøs ved sensorisk rangering er merket med en sirkel over søylen.

Resultater av sensorisk testing fra blokk 1, produksjonsdag 1 er illustrert i figur 4-14. Første prøvesett bestod av prøvene A, B, C, D og T. Her har dommerne klart å plassere referanseprøven (Tine) som den minst viskøse, og tilsvarende C (genetisk variant av CSN-3 β -LGB AA_AB) som den med høyest viskositet.

I de to andre settene til figur 4-14 var det kun én prøve i hvert enkelt sett som kunne skilles signifikant fra resten, henholdsvis J (AA_AB) og N (BB_BB).

Sett 1: T^a, B^b, A^{b,c}, D^{b,c}, C^c

Sett 2: *Rangering mangler (rådata i Vedlegg D)*

Sett 3: L^a, T^a, H^a, I^a, J^b

Sett 4: L^a, T^a, M^a, K^a, N^b

Det kunne ikke skilles på friskhetsgrad eller forekomst av fnokker mellom prøvene i disse settene.

Resultater fra blokk 1 produksjonsdag 2 er illustrert i Figur 4-1. Det var her totalt fire prøver som lot seg statistisk skille fra de resterende prøvene.

I de to første settene ble kun prøve G (BB_BB) funnet signifikant forskjellig, mens i de to andre ble henholdsvis N (BB_BB), J (AA_AB) og N (BB_BB) funnet signifikant mer viskøs. I siste sett ble det også funnet signifikant forskjell mellom J og N. I sett fire ble referansen funnet å være mest frisk på smak.

Sett 1: T^a, E^a, C^a, F^a, G^b

Sett 2: B^a, D^a, T^a, A^a, G^b

Sett 3: M^a, H^a, T^a, I^a, N^b

Sett 4: L^a, T^a, K^a, J^b, N^c

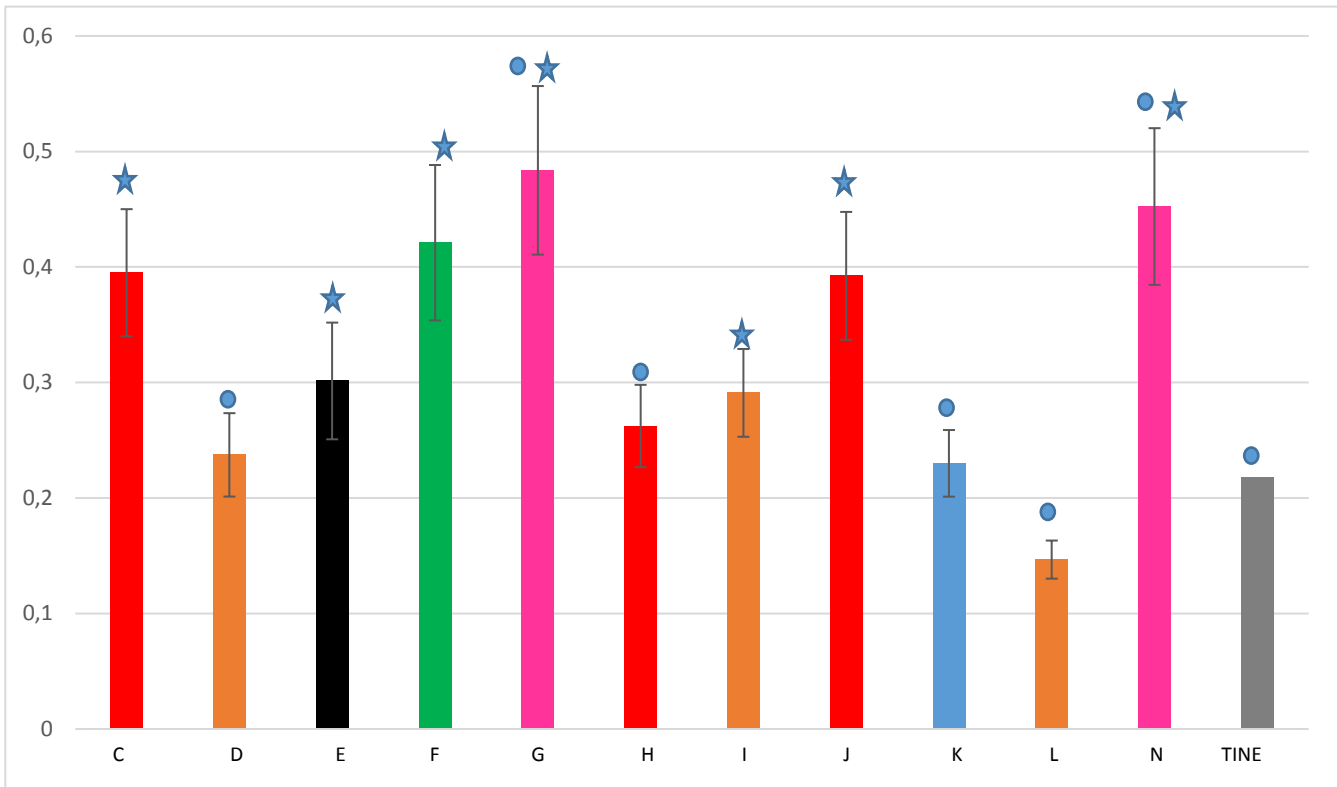
Dommer-kommentarer

I sett 1 (blokk 1 produksjonsdag 1) kommenterte tre av dommerne at mengde fnokker i prøvene var vanskelig å skille.

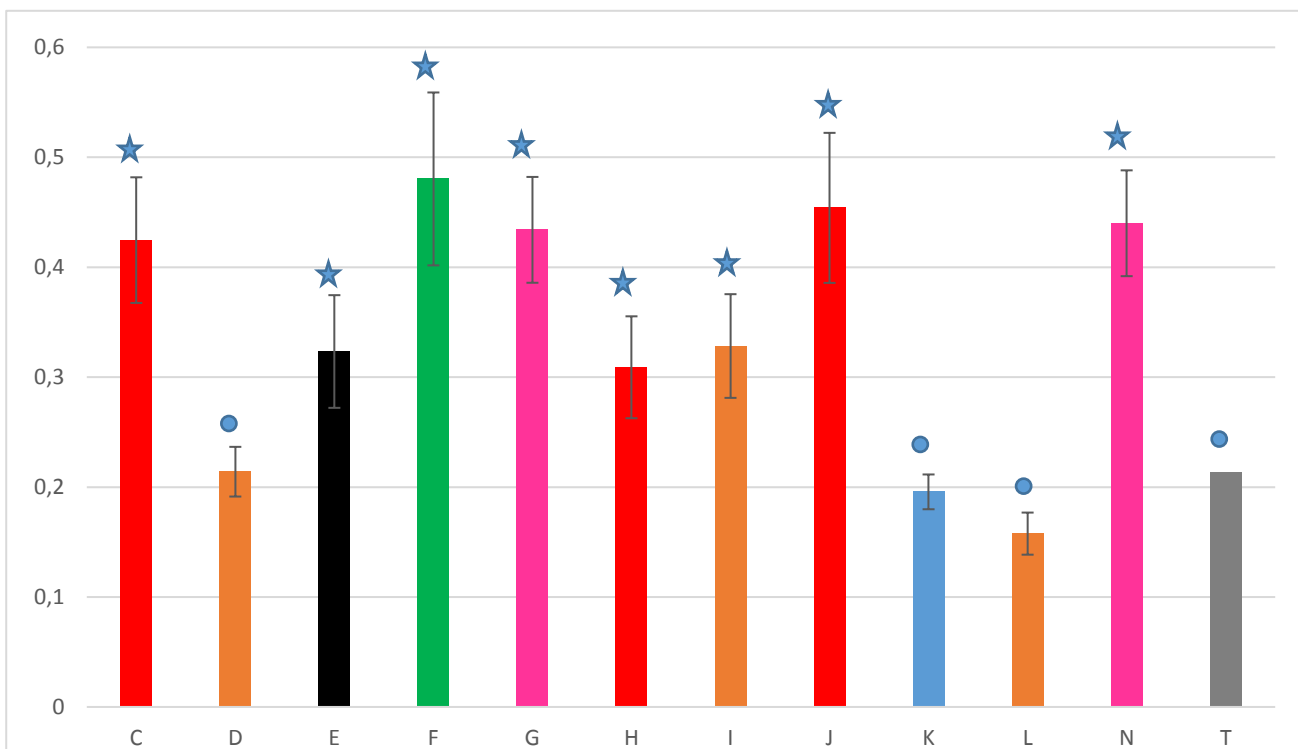
I sett 2 ble det også kommentert på vansker med å skille mengde fnokker. To av dommerne noterte at det var vanskelig å skille på viskositet, men spesifikke prøver ble ikke nevnt

I sett 3 fikk prøvene M, H og N kommentar på «bismak», av én dommer hver.

I sett 4 fikk prøvene L og K kommentar på bismak av henholdsvis én og to dommere.



Figur 4-16 Resultat fra viskositetsmålinger av kulturmilk på reometer og ved sensorisk rangering (Blokk 2 produksjonsdag 1). Prøvene er fargekodet etter genetisk variant; Blå=AA_AA; Rød=AA_AB; Grønn=AA_BB; Sort=AB_AB; Orange=BB_AB; Rosa=BB_BB. Prøver funnet signifikant mer viskøs ved sensorisk rangering er markert med en stjerne over søylen, prøver funnet signifikant mindre viskøs ved sensorisk rangering er merket med en sirkel over søylen.



Figur 4-157 Resultat fra viskositetsmålinger av kulturmilk på reometer og ved sensorisk rangering (Blokk 2 produksjonsdag 2). Prøvene er fargekodet etter genetisk variant; Blå=AA_AA; Rød=AA_AB; Grønn=AA_BB; Sort=AB_AB; Orange=BB_AB; Rosa=BB_BB. Prøver funnet signifikant mer viskøs ved sensorisk rangering er markert med en stjerne over søylen, prøver funnet signifikant mindre viskøs ved sensorisk rangering er merket med en sirkel over søylen.

I forsøkets siste halvdel var tre av kyrne (A, B og M) ikke tilgjengelig, og mangler derfor her

I det første settet av blokk 2, produksjonsdag 1, ble referanseprøven igjen funnet signifikant minst viskøs, hvor «E», «I», «C» og «J» også ble gruppert sammen med denne. I sett to ble «L», «T» og «H» funnet signifikant minst viskøs, mens «J» ble funnet signifikant mer viskøs enn disse. «F» havnet alene i gruppe «C», som aller mest viskøs i dette settet.

Ingen av prøvene ble funnet signifikant forskjellig i det tredje settet, til tross for at prøver rangert tidligere i forskjellig ende av skalaen var representert.

I det siste settet ble det derimot funnet at «N» og «G» var signifikant mer viskøs enn de resterende, «T» og «D» var signifikant mindre viskøs, mens «N» falt under begge gruppene.

Sett 1: T^a, E^b, I^b, C^c, J^c

Sett 2: L^a, T^a, H^a, J^b, F^c

Sett 3: T^a, K^a, D^a, N^a, G^a

Sett 4: T^a, D^a, K^{ab}, N^b, G^b

I andre blokk, produksjonsdag «D», «L» og T» funnet å være signifikant mindre viskøs enn de resterende.

I tredje sett ble referansen funnet signifikant mindre viskøs enn «E», «I», «H» og «C», mens i siste sett ble det ikke funnet noen signifikante forskjeller.

Sett 1: T^a, E^b, I^b, H^b, C^b

Sett 2: L^a, T^b, C^c, J^c, F^c

Sett 3: T^a, D^a, K^a, N^b, G^b

Sett 4: T^a, D^b, K^b, N^c, G^c

I sett tre ble prøve «N» ble funnet å ha signifikant mer fnokker enn prøvene «D», «T» og «K», mens prøve «G» hadde signifikant mer fnokker enn «N».

I sett fire var fnokker signifikant mer forekommende i prøvene «N» og «G», prøve «D» hadde signifikant minst fnokker, mens «T» og «K» havnet i en gruppe midt i mellom.

Dommer-kommentarer

I prøver fra blokk 2, produksjonsdag 1 (utrent panel) ble det ikke notert noen kommentarer.

Av prøvene i sett 1 (blokk2 produksjonsdag 2) fikk prøvene E og C kommentar på «bismak», av én dommer hver. To dommere noterte vanskeligheter med å skille fnokker.

I sett 2 fikk prøvene L, J og C kommentar på bismak av henholdsvis én og to dommere.

I sett 3 fikk prøve T (referanseprøve, TINE skummet kulturmilk) kommentar på «sitronsmak», mens K N og G alle fikk kommentar på bismak.

Fra sett 4 ble det gitt kommentar av tre dommere på generelt vanskeligheter med å skille prøvene, med tanke fnokker og syrlighet.

4.4 Myseutskillelse

Det ble gjort forsøk på å måle myseutskillelse ved å sette melk til syrning i målesylindere og målekolber (100ml), for så å avlese utskilt myse etter syrning. Da det ble sett at målesylindrene ikke gav noe lesbart resultat, grunnet svært lite/ingen synerese, ble det valgt å heller måle den mysemengden som forekom på overflaten av prøveglassene.

Lucey et al. (1998c) fant også at sprekker i gel forekom i større grad i produkt fermentert i større beholdere, noe som igjen vil føre til en økt myseutskillelse. Det ble her antatt at vekten av gelen kan ha påført stress på det nydannede gel-nettverket. Dette virker som en plausibel forklaring, med tanke på den økte omkretsen og volum på prøve-glass i forhold til målesylindere.

Uttak av utskilt myse fra prøve-glassene ble gjort ved å pipettere ut mest mulig av den utskilte væsken, uten å få med noe av gelen, for så å måle mengden utskilt myse i en målesylinder.

Det ble i gjennomsnitt målt ca 3 ml utskilt myse i prøvene, mengden ble ansett som uvesentlig, og det har ikke blitt gått videre med analyser eller vurderinger av disse verdiene.

5. Diskusjon

Variansanalyse (ANOVA) av de reologiske resultatene viste i dette forsøket at de genetiske variantene av β -LGB hadde en signifikant effekt på de reologiske faktorene viskositet og gelstyrke i skummet kulturmilk, det kunne derimot ikke fastslås en signifikant effekt av β -LGB på elastisitetsmodulen G' .

Det ble videre funnet at den genetiske varianten BB av β -LGB gav en signifikant økt viskositet, gelstyrke og G' i kulturmilk, sammenlignet med β -LGB AB. Sammenlignet med genetisk variant av β -LGB AA, gav β -LGB BB en økt viskositet i skummet kulturmilk.

Viskositeten i prøvene med genetisk variant av κ -CN_ β -LGB, BB_BB og AA_BB var tydelig høyere enn prøver med tilsvarende proteinkonsentrasjoner, dette indikerer at det er andre faktorer som spiller inn enn bare proteinkonsentrasjonen. Ettersom variant av κ -CN var AA i den ene prøven og BB i den andre virker det lite trolig at det er denne som har spilt inn. Genet som kodet for β -LGB var homologt for B i begge prøvene, og indikerer derfor at dette kan ha vært en faktor av betydning.

Gruppen med kombinasjon av genetisk variant κ -CN_ β -LGB BB_BB bestod i dette forsøket av tre ulike individer («B», «G» og «N»), hvor melk fra to av de tre individene («G» og «N») fra denne gruppen ble funnet å være signifikant mer viskøs ut i fra de sensoriske testene. Det tredje individet (individ «B») hadde motsatte reologiske egenskaper, men denne hadde også en lavere protein-konsentrasjon. Ettersom styrken på gel-strukturen avhenger av i hvilken grad β -LGB binder seg til κ -kasein på kaseinmicellen er det naturlig å vurdere dens evne til å reagere ved varmebehandling. Forskning av Allmere et al. (1997b); Allmere et al. (1998) har vist at reaksjonshastigheten (mellom κ -CN og β -LGB) ved varmebehandling er større for β -LGB AA i forhold til BB, mens variant AB har vært funnet å ha lavest reaksjonshastighet. Denne forskjellen er derimot ikke ventet å ha noen større innvirkning i dette forsøket, ettersom det er blitt benyttet en kraftig varmebehandling (95°C i 5 min), noe som vil ha denaturert >90% av tilgjengelig β -LGB (Dannenberg & Kessler 1988).

Det er i dette forsøket ikke gjort kvantitative målinger av de ulike genetiske variantene, siden de nøyaktige konsentrasjonen av de ulike genetiske variantene av β -laktoglobulin og κ -kasein ikke foreligger, er det derfor vanskelig å si med sikkerhet i hvilken grad effekten observert i dette forsøket skyldes den genetiske varianten av proteinet i seg selv, eller konsentrasjonen av

selve proteinet. Hallén et al. (2008) fant at syrefelt melk med β -LGB variant BB gav en fastere gel sammenlignet med variantene AA og AB, men bare når β -LGB forekom i tilsvarende konsentrasjoner i de ulike prøvene. Variantene AA og AB var generelt assosiert med høyere konsentrasjoner av β -LGB, noe som ble pekt på som en mulig årsak til høyere gel-styrke i AA og AB når konsentrasjonen av β -LGB var økt i disse, i forhold til BB. Det kan derfor tenkes at variasjonen sett i gruppen med genetiske varianter av κ -CN_ β -LGB BB_BB skyldes en lavere konsentrasjon av β -LGB i individ «B» i forhold til «G» og «N», hvor de to siste ble funnet å produsere melk med høyere verdier av de reologiske kvalitetene målt i dette forsøket. Det ble observert en forskjell i proteinkonsentrasjoner mellom disse individene, men det er uvisst om forskjellene var tilstrekkelig til de store forskjellene målt her.

Kulturmilk produsert av melk med β -LGB variant BB var signifikant forskjellig fra β -LGB AB i Tukey's test, noe som er et uventet resultat. Her ville det vært forventet å sett signifikante forskjeller først i, ettersom det er en mindre «streng» statistisk test enn det Tukey er.

Guyomarc'h et al. (2003) fant at melk med større mengder myseproteiner i forhold til tilgjengelig κ -kasein (et høyere forholdstall mellom myseprotein og kasein) gav større protein-aggregater. Dette ble også funnet av Hallén et al. (2009), hvor dette ble sett på i sammenheng med økt elastisitetsmodul (G'). Disse resultatene stemmer dermed overens med funnene gjort i gjeldende forsøk, hvor det i figur 4-6 kunne observeres at de genetiske variantene AA_BB og BB_BB i tillegg til å ha høyest G' -verdi også hadde de laveste konsentrasjonene av kasein i forhold til totalprotein, noe som indikerer et økt forholdstall av myseprotein i forhold til kasein.

Det har tidligere blitt gjort forsøk på syrefelt gel hvor melken har først blitt utarmet for myseproteiner, og deretter tilført myseproteiner av forskjellige genetiske varianter av β -LGB (Bikker et al. 2000; Graveland-Bikker & Anema 2003). Det ble her funnet at syrefelt melk beriket med myseproteiner av β -LGB variant A og AB gav en høy økning i G' ved tilsatt i små konsentrasjoner, etter henholdsvis 0,9% og 0,7% (v/v) avtok effekten. Når myseprotein med genetisk variant B av β -LGB ble tilsatt ble det derimot funnet en lineær stigning i G' med mengde myseprotein tilsatt. Disse resultatene gjør det interessant å undersøke konsentrasjonene av β -LGB i de ulike prøvene i fremtidige forsøk. Allmere et al. (1998) fant tilsvarende resultater, hvor melk med genetisk variant BB av β -LGB hadde en 30% høyere G'

i LVE enn tilsvarende melk av variant AA eller AB (κ -CN varianter var også her A og B-varianter). Hallén et al. (2009) kunne også se en positiv effekt på G' av økte laktosekonsentrasjoner i melk med lave konsentrasjoner av β -LGB. Dette er også et element det kunne vært interessant å tatt med i videre forsøk.

Det kunne ikke fastslås noen signifikant effekt mellom de ulike genetiske variantene av κ -kasein (AA, BB eller AB) på noen av de reologiske parameterne, dette stemmer overens med tidligere resultater av Allmere et al. (1998) Mindre forskning er gjort på effekt av genetisk variant E av κ -CN Det er funnet at konsentrasjonen av κ -CN avhenger av de spesifikke genetiske varianter av κ -CN, mens *total proteinkonsentrasjon* påvirkes ikke av type genetisk variant av κ -CN, og dermed er det ikke ventet at forskjell i genotype av κ -kasein skal ha noen innvirkning på syrekoagulering (Allmere et al. 1998; Hallén et al. 2008; Hallén et al. 2009). Det kunne likevel være av interesse å ta med κ -CN variant E for å undersøke om det faktisk forelå noen forskjell mellom κ -CN A/B og E.

Det ble observert noen tydelige avvik i de reologiske målingene. En mulig årsak kan være forekomst av klumper, disse vil gi et stort utslag på en såpass sensitiv metode som reologi med små-amplitude svingninger (*small amplitude oscillatory rheometry*) er. I industrien vil det som regel benyttes en deaerator før varmebehandling til å fjerne uønsket luft i melken, denne vil også minimere forekomst av klumper og granuler i melkegelen (Tamime & Robinson 2007), dette er sannsynligvis årsaken til mer stabile resultater i melk fra TINE, sammen med det faktum at melk fra et større utvalg individer minimerer forskjellene.

I blokk 2 ble det observert en kollaps av gel-strukturen til kulturmelken i prøveglasset den ble syrnet i, i kulturmelk produser av melk fra individ «L» (genetisk variant av κ -CN β -LGB BB_AB) ved endt syring. Dette ble observert i både fersk og lagret prøve. Dette skjedde kun i disse to prøvene i denne blokken, noe som peker på at årsaken ligger i det spesifikke melkeuttaket eller melkebehandling av disse parallellene. I disse prøvene ble det også funnet signifikant lavere viskositet ved de reologiske analysene. Ettersom en kollaps av gel-struktur skjer når bindinger mellom proteinene brytes, er det også naturlig at den målte viskositeten skulle synke.

Det var synlig at økt konsentrasjon av protein, kasein og tørrstoff var forbundet med økt G' , viskositet og gel-styrke, hvilket var et forventet resultat. Når prøvene ble fargekodet i PCA kunne det se ut som noen av de genetiske variantene grupperte seg i en grad, mens andre var mer spredt. Melk av BB_AB (CSN-3 β -LGB), farget oransje i PCA, hadde prøver vidt spredt

langs x-aksen, noe som indikerte prøver av varierende grad av gel-styrke, samt innhold av protein, tørrstoff, glukose og galaktose.

Prøver fra melk med sammensetningen AB_AB, representert av individ «E», var samlet mot midten. Dette indikerer at de faktorene benyttet i PCA-plottet generelt har hatt liten innvirkning på kulturmelken produsert av denne melken.

Kulturmelk produsert av melk med genetisk varians BB_BB så ut til å ha en økt gel-styrke og viskositet, men melken fra individ B er plassert i motsatt ende av skalaen. Denne var funnet å ha en lavere total proteinkonsentrasjon og kaseinkonsentrasjon. Den lave verdien av G' stammer sannsynligvis fra den totale proteinkonsentrasjonen, som trolig også trekker ned konsentrasjon av myse, i form av β -LGB-BB, i forhold til de øvrige kyrne med variant BB_BB.

Prøvene H1b, M1a og K1a kan sees øverst i PCA-plottene, og er følgelig de prøvene med høyest målt fettinnhold. Det høye fettinnholdet i disse enkeltprøvene skyldes en manuell justering av separator underveis i produksjonen, noe som forårsaket denne uønskede variasjonen. Prøvene kan sees tilnærmet like langt til høyre på x-aksen som sine «motparter» (K1a vs K1b, M1a vs M1b), noe som indikerer at denne variasjonen ikke har hatt så mye å si for viskositet eller gel-styrke. Spesielt siden resten av prøvene har et forholdsvis jevnt fettinnhold.

Prøvene av individ K (genetisk variant AA_AA) var plassert på tre forskjellige punkter langs X-aksene i alle score-plottene. Dette kan forklares med en økende total protein-konsentrasjon (2,8-3,0%) og kasein (2,2-2,9%).

Melk av individ «F», genetisk variant AA_BB var plassert langt ut mot høyre, runde 1 hadde et høyere innhold av protein og kasein i forhold til runde 1, men også høyere G'. Begge deler har sannsynligvis gitt utslag i plasseringen, hvor der er nærmest tre klynger. Den ytterste grupperingen (F2b) har høyest innhold av totalt protein og κ -kasein, i tillegg til høyest G'. κ -kasein AA er funnet å være forbundet med økt gel-styrke, viskositet og G' (Heck et al. 2009), noe som støttes av den store effekten forskjell i proteinkonsentrasjoner har her.

De enkelte individene virker å være tilnærmet likt plassert langs X-aksen, siden Y-aksen representerer en tilfeldig faktor (ujevn grad av separering) indikerer det at det er individuelle forskjeller. G' variert hos «F» fra ca 64,6 - 93,6 Pa, den høyeste verdien på linje med de høyeste målingene til «G» og «N», også plassert ytterst til høyre.

Genetisk varians

PCA-plottet i figur 4-12 indikerer at prøver med genetisk variant av κ -kasein- β -LGB BB_BB (rosa) og AA_BB (grønn) er forbundet med et økt innhold av protein og kasein, og økt G'. Prøvene fra variant av κ -kasein- β -LGB AA_AB var spredt ut over mesteparten av lengden til X-aksen, og indikerer, som øvrige resultater også viste, en variasjon i proteinkonsentrasjon og de reologiske kvalitetene (viskositet, gel-styrke og G').

Det ble observert en draging mot høyre i en del av prøvene mellom runde 1 og runde 2. Denne variasjonen kommer mest sannsynlig av at prøver fra runde 1 (som sett hos prøve C1) hadde høyere innhold av protein (~3,6% og 3,9%) og kasein (2,6% og 2,9%) i forhold til runde 2, hvor det i C2 ble målt jevnt 3,5% protein og 2,6% kasein.

Den store variasjonen som kan sees i Y-retning er hovedsakelig resultat av variasjon i fettinnhold. Det ble utført justeringer på separatoren underveis i produksjonen, dette førte til et uønsket høyt fettinnhold i noen av prøvene (K1a, M1a, J1a og N1a). PCA-plottene viser disse forskjellene tydelig ved at disse prøvene er plassert vertikalt direkte ovenfor sine motparter fra «dag b»).

Enkelte av prøvene viste tegn til økende elastisitet ved lagring, mens andre viste tegn til redusert viskositet.

I2bR1 var plassert uvanlig langt unna tilhørende lagret prøve, I2bR2, årsaken til dette er at elastisitetsmodulen var målt til det dobbelte (~120 Pa) sammenlignet med lagret prøve (~56 Pa). Dette er sannsynligvis en feilkilde, da de resterende målingene til denne prøven («I») var konsistent rundt 60 Pa i begge rundene.

Melk fra individ B (genetisk variant av κ -CN- β -LGB BB_BB) havnet på motsatt side av PCA-plottet i forhold til prøvene av melk fra de to andre individene med samme genetisk variant. Årsaken til dette skyldes sannsynligvis i hovedsak en forskjell i den totale proteinkonsentrasjonen.

Prøver fra melk av genetisk variant AA_BB (grønn, individ F) var plassert i tre grupperinger, som skyldes variasjoner i proteinkonsentrasjon, i runde 1 var den på ~3,7, mens i runde 2 var den på 3,9. Det kan sees en forskjell mellom F2a og F2b, hvor F2b er plassert lengre til høyre

på X-aksen, grunnet økt proteinkonsentrasjon. Siden melken kommer fra samme batch, skyldes dette trolig for lite blanding av melken før produksjon, og tørrstoff har ikke blitt jevnt blandet før uttak. Samme type forskyvning kan observeres mellom prøver som L1a og L1b (BB_AB) samt J2a og J2b (AA_AB).

Gel-styrke og viskositet ble funnet å være signifikant påvirket av lagrings-faktor. Viskositet har også av andre (Martin et al. 1999) blitt funnet å øke signifikant ved lagring, hvor viskositeten i hovedsak øker den første uken av lagringsperioden.

Resultatene fra de sensoriske analysene stemte godt overens med de reologiske målingene, det ble i de fleste settene funnet signifikante forskjeller i prøvene viskositet, som korresponderte med de reologiske målingene. I sensorisk analyse av prøver fra blokk to, produksjonsdag 1, ble de i sett nr tre ikke funnet signifikante forskjeller, til tross for at settet inneholdt prøver (prøve «N») som tidligere var funnet å være signifikant mer viskøse. Det ble i denne runden benyttet et utrent panel, grunnet avvikling av påskeferie, et utrent panel kan ha større utfordringer ved å definere de aktuelle kvalitetene, og dermed gi sprikende svar. Dette er muligens en årsak til at det ikke kunne fastslås signifikante forskjeller.

I den siste runden ble det funnet signifikante mengder fnokker i alle de produserte prøvene bortsett fra et av settene, hvor prøvene «G» og «N» ofte ble funnet å ha signifikante mengder fnokker. Fnokker er beskrevet som utfelte proteinaggregater, i størrelser på 1-5 mm (Lucey 2004). Det har blitt nevnt at mulige årsaker til forekomst av fnokker i syrnede produkter kan være faktorer som høy inkuberings-temperatur, forhøyet innhold av myseproteiner i forhold til kasein og enkelte typer startkulturer (Lucey 2004; Weeragul 2008). Inkuberings-temperatur og syrekultur har i dette forsøket vært likt for alle prøvene, og skal i utgangspunktet ikke ha noe å si på dette punktet, ettersom alle prøvene er behandlet under samme forhold. Videre kunne det ikke sees noen umiddelbar forskjell i forholdet mellom myseprotein og kasein i prøvene. Felles for prøvene med fnokker var genetisk variant, høy proteinkonsentrasjon og høy viskositet. Det kan derfor se ut til at det er en sammenheng med proteinkonsentrasjon og fnokker, årsaken til at det ikke ble funnet signifikante forskjeller i blokk 1 kan være forskjell i teskjeene benyttet (sølv-fargede teskjeer ble benyttet i settene hvor signifikant forskjell kunne fastslås, mens hvite teskjeer ble benyttet i øvrige sett). Løseligheten til de ulike genetiske variantene er funnet av Treece et al. (1964) å være høyest for β -LGB B, sammenlignet med A og AB, dette til tross for β -LGB A har en ekstra ladning, sammenlignet med B (Asp₆₄ byttet med Gly₆₄) (Sawyer 2003).

I svarskjema benyttet av dommerne under de sensoriske analysene var det satt av et eget felt for dommerens egne notater. Her ble det innimellom kommentert på oppfattet smaksdefekt, og andre ganger på vanskeligheter med å tyde forskjell. I en runde fikk referanseprøven kommentar på «sitron-smak». Dette kan ligge i at smaken på de produserte prøvene var oppfattet som tam/flau i smak, og sammenlignet med disse smakte referansen særlig friskt/syrlig.

I sensorisk test av produkter fra blokk 2, produksjonsdag 1, fikk prøvene A (genetisk variant av κ -CN $_{\beta}$ -LGB BB_AB), B (BB_BB), C(AA_AB), D (BB_AB), F (AA_BB) og T minst én kommentar hver på at de hadde en bismak. Prøvene C, E og F ble spesielt kommentert å ha en bismak. I runde 2 kommenterte tre av dommerne at prøvene var vanskelige å skille fra hverandre på friskhet. Av disse resultatene var det ingen spesiell genetisk variant som pekte seg ut i forhold til bismak, flau smak eller lignende, men det er vanskelig å utelukke en innvirkning. Det finnes flere andre mulige årsaker for bismak i fermenterte produkter, Walstra (2013) peker først og fremst på ettersyrning som et vanlig problem, hvor produktet fortsetter syrningsprosessen lengre enn ønsket, og dermed gir et for surt produkt. Videre nevnes proteolyse som en årsak til smaks-defekt, hvor det hovedsakelig resulteres i en bitter smak. En tredje årsak, som også kan være aktuell, er kontaminasjon av andre organismer som gjær og mugg. Deler av produksjonsanlegget har i dette forsøket også vært benyttet til fremstilling av blant annet øl. Selv om det har vært forsøkt å holde produktet i lukkede beholdere, er det fortsatt en mulighet for at det har vært gjærsporer i luften som har forurenset produktet. Ettersom det ikke har blitt gjort noen mikrobiologiske analyser vil dette naturligvis bare bli spekulasjoner.

I dette forsøket ble det benyttet et sensorisk panel på 4-6 dommere, et høyere dommerantall kunne generelt sett ha gjort det enda enklere å skille mellom prøvene. Ved å benytte en deskriptiv metode ville det også vært lettere å finne forskjeller mellom prøvene, samt at en da i tillegg kunne funnet i hvor stor grad prøvene var forskjellige. Årsaken til at dette ikke ble benyttet her var en kombinasjon av et stort antall prøver, og prøverunder samt begrenset tilgang på trent panel, noe som kreves i en deskriptiv test (Lawless & Heymann 2010).

Det ble i dette forsøket også vurdert synerese i form av myseutskillelse av lagrede syrnede produkter, både ved visuelle observasjoner, og ved fysisk oppmåling av spontan synerese. Fysiske målinger, ved pipettering av utskilt myse, ble kun utført på det siste settet i runden hvor synerese ble målt i svært små mengder.

I forøkets første blokk ble det forøkt å måle synerese av melk syrnet i målekolber og målesylindre, men det gav ingen synlig synerese etter 14 dagers lagring. Ettersom synerese kunne observeres, om enn i liten grad, i syltetøyglass er det nærliggende å tenke at omkrets og overflate-areal til beholder benyttet i et slikt forsøk har betydning for resultatet. Synerese av melk syrnet i målekolbe har derimot av andre (Lucey et al. 1998b) blitt vurdert til å være en tilfredsstillende empirisk metode for et slikt forsøk. Ettersom det i dette forsøket har blitt benyttet lik behandling på alle prøver, og synerese har vært stort sett fraværende, er det ikke grunn til å vurdere noen sammenheng mellom synerese og genetisk proteinvarians.

Resultater av pH-målinger i lagrede prøver viste et forholdsvis jevnt pH-nivå i syrnet melk produsert av melk av de ulike genetiske variantene. De genetiske variantene AA_AB, AA_BB og BB_AB hadde et noe lavere gjennomsnittlig pH-nivå sammenlignet med de øvrige (AA_AA, AB_AB og BB_BB), men dette ble ikke vurdert statistisk.

Det var ikke ventet å finne signifikante variasjoner i syrningsforløp som følge av genetiske proteinvarianter, det er derfor sannsynlig at forskjeller observert her kommer av variasjoner i produksjon- og lagringsforhold.

Syrningsforløpet til syrekulturen i kulturmilk produsert av melk med de ulike genetiske variantene hadde noen synlige variasjoner, innen bl.a. innhold av eddiksyre, som varierte fra ca 600-1100 ppm. Laktose var ikke funnet å være en begrensende faktor i noen av prøvene i forhold til mikrobiologisk aktivitet. Det ble observert en større reduksjon av laktose i melk med genetisk variant AA_BB og BB_BB (10.000ppm) i forhold til de resterende variantene (4-7.000 ppm).

Variasjoner mellom kommersiell referanseprøve (TINE skummet kulturmilk) og produsert kulturmilk var forventet på bakgrunn av forskjeller innen benyttet syrekultur og fremstillingsprosess. Melk ble i dette forsøket lagret i en intakt gel-tilstand, mens i kommersiell produksjon røres melka opp etter endt syrning, før tapping og kjølelagring. En opprøring umiddelbart etter endt syrning vil sørge for at massen blir homogen, og kulturen fordeles jevnt. Laktose er ikke ventet å være en begrensende faktor i et slikt produkt, det ble også observert betydelige mengder laktose i lagret kulturmilk, både i prøvene produsert i forsøket og i referanseprøven, skummet kulturmilk fra TINE.

Ettersyrning som følge av treig avkjøling er et av momentene man vil unngå, men som kan ha skjedd i dette tilfellet. Det ble observert en lavere pH i de produserte prøvene enn det ble i referanseprøven. Dette kan skyldes at de kulturmelken produsert i dette forsøket har vært produsert på et tidligere tidspunkt enn referanseprøven, og dermed har melkesyrebakteriene produsert noe mer melkesyre under lagringen sammenlignet med skummet kulturmelk fra TINE. En annen mulig faktor er overnevnte ettersyrning, hvor det antas at avkjølingen av produkt i industriell produksjon er mye mer effektiv enn det den har vært her.

Den karakteristiske aromatiske smaken til kulturmelk kommer fra blant annet fra diacetyl, som produseres av aromaproducentene *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* og *L. mesenteroides* subsp. *cremoris*. For å oppnå den karakteristiske kulturmelk-aromaen, er det i litteraturen oppgitt å skulle være en konsentrasjon på mellom 2-5 ppm diacetyl i den fermenterte melken, hvor 5 ppm diacetyl er gitt som en øvre grenseverdi (Niamsiri & Batt 2000; Oberman & Libudzisz 1998; Walstra et al. 2006e). Diacetyl ble i den produserte kulturmelken målt i verdier på rundt 2-3ppm, hvilket er innenfor den anbefalte øvre grensen på ~5 ppm. Referanseprøven, skummet kulturmelk fra TINE, hadde nivåer på ca 0,5ppm diacetyl.

En annen viktig komponent som fyller ut smaksbildet i fermentert melk er acetaldehyd. Produksjonen av acetaldehyd kan skje ved nedbrytning av pyrodruesyre, og acetaldehyd kan videre reduseres til etanol. Acetaldehyd akkumuleres hovedsakelig av melkesyrebakterier som ikke har alkohol-dehydrogenase-enzymet, og derfor ikke kan redusere acetaldehyd (Walstra et al. 2006f).

I kulturmelk er det ikke ønsket like store konsentrasjoner acetaldehyd som det man vil ha i yoghurt, og relativt små mengder (under 1 ppm) er tilstrekkelig for en balansert smak (Walstra et al. 2006e).

Et forhold mellom diacetyl til acetaldehyd på 4:1 har vært funnet å være ideelt i syrnede produkter som kulturmelk, men kommersielle varianter med et forhold på 8:1 og større har fått høye (positive) skår i sensoriske tester. Acetaldehyd er, i for store mengder, forbundet med en uønsket «grønn», yoghurt-smak, et innhold på under 1 ppm er tilstrekkelig. (Lees & Jago 1978; Libudzisz & Stepaniak 2011; Lindsay et al. 1965). Acetaldehyd ble målt i konsentrasjoner på ca 0,1 -0,3 ppm og var dermed godt innenfor den akseptable grensen. Forhold mellom diacetyl til acetaldehyd var i snitt på ca 20:1 (spenn fra 8:1 - 51:1), mens den kommersielle referansen lå nærmere dette optimumet (ca 3:1 og 8:1). Forholdet mellom

acetaldehyd og diacetyl er ifølge teorien ikke helt optimalt for de ekstreme prøvene, H2a og N2b (AA_AB og BB_BB). Optimums-forholdet var ikke vurdert med bakgrunn i en nordisk smaks-preferanse og kan tenkes å være noe avvikende, men vil trolig ligge i samme området.

Hvis starterkulturen er for sterkt reduserende, vil dette føre til et uønsket tap av diacetyl som reduseres til acetoin og 2,3-butandiol (Keenan & Bills 1968; Tamime 2006; Walstra et al. 2006d). Disse komponentene fungerer derfor som en indikator på kulturens reduserende egenskaper. Det ble her observert varierende verdier av acetoin i de produserte prøven (ca 200-500 ppm), men det kunne ikke sees en åpenbar sammenheng med reduksjon av diacetyl, ettersom disse verdiene så ut til å variere mellom 2-3 ppm, uavhengig innholdet av acetoin. 2,3-butandiol ble ikke målt i dette forsøket, og det kan med bakgrunn av de eksisterende tallene tenkes at det diacetyl har blitt redusert videre til dette. Det kan nevnes at prøvene fra dette forsøket sannsynligvis var produsert tidligere enn referanseprøven «T», det er derfor naturlig at denne ligger nærmere det optimale forholdet, men mengden diacetyl i de produserte prøvene kunne vært forventet å være noe mer reduserte etter lagringen. Mengde aceton lå på ca 2ppm, med K2a og K2b (AA_AA) (~0,6 ppm) og referanseprøven, T, (~4 ppm) i ytterendene av skalaen. Forskjellene er nok her også stort sett grunnet forskjellig syrekultur mellom prøvene fra kulturmelk-produksjonen i dette forsøket og referanseprøven fra TINE. Mengden melkesyre så ikke ut til å være påvirket av forskjell i proteinkonsentrasjonene, i den grad det kan oppleves i tørrmelks-berikede produkter, med hensyn til økt bufferkapasitet.

Mengden sitronsyre i de ulike prøvene var forholdsvis like, med nivåer mellom ca 50-150ppm. Det er også her vanskelig å skulle peke på en årsak til at variasjonene. Det kan tenkes at aktiviteten til *Leuconostoc* har vært høyere i de prøvene med minst sitronsyre, ettersom denne er særlig kjent for å metabolisere sitronsyre (Walstra et al. 2006f) og anta at forholdene har vært noe mer gunstig i en type melk enn en annen. En eventuell årsak til dette er derimot ukjent, og vil bare resultere i spekulasjoner.

Proteolytisk aktivitet er en forutsetning for vekst av melkesyrebakterier i syrnede melkeprodukter, ettersom de er avhengige av en nitrogenkilde for å vokse optimalt. Melkesyrebakteriene kan ved hjelp av proteolytiske enzymer benytte kaseinet som nitrogenkilde (Walstra et al. 2006f). Det er ikke gjort analyser for proteolytisk aktivitet i dette forsøket, det kunne vært interessant å ha gjort.

Det kunne i de fleste verdiene i de kjemiske analysene observeres et noe større standardavvik innad i gruppen BB_BB. Dette skyldtes et enkelt-individ (B) som skilte seg ut, fra de andre to. Etersom denne gruppen var forholdsvis liten, med bare tre individer, vil også denne forskjellen gi et større utslag.

Det ble målt noen avvikende fettprosjenter (opp mot 0,3%), noe som skyltes en justering på separator under en produksjon. Dette avviket ser ikke ut til å ha påvirket prøvene i noen større grad, og det er derfor ikke gjort noen statistiske beregninger eller forsøk på å korrigere for dette avviket.

Det må til slutt nevnes at resultatene i dette forsøket er basert på tester utført i pilot-anlegg, en industriell produksjon vil bidra med andre betingelser og faktorer som vil kunne påvirke de kvalitetene vurdert her.

6. Oppsummering

Det har i dette forsøket blitt produsert skummet kulturmilk av melk av 14 kyr med varierende genetiske varianter av κ -CN og β -LGB. 14 prøver med skummet kulturmilk ble produsert av melk med totalt 6 ulike kombinasjoner av de genetiske variantene av κ -kasein og β -laktoglobulin. Kyrne har blitt utvalgt på bakgrunn av disse genetiske variasjonene for å vurdere deres effekt på kulturmilkenes reologiske og sensoriske kvaliteter. Felles for alle kyrne var deres genetiske varianter av α_s -kasein (BB) og β -kasein (A2A2). Alle prøver ble behandlet så likt som mulig, og ble separert, homogenisert og pasteurisert før syring. Reologiske målinger ble utført etter henholdsvis én og 14 dagers lagring på kjøll. Det ble også utført sensoriske analyse, samt pH-målinger, etter 14 dagers lagring. Kort vei mellom fjøs og pilot-anlegg gjorde det mulig å produsere kulturmilk på en relativt fersk (én dag gammel) melk. For å undersøke om det forekom noen observerbare endringer i kulturmilkenes kvalitet, ble det derfor produsert melk i to gjentak, hvor halvparten ble produsert etter én dags kjølelagring, og andre halvpart etter to dagers kjølelagring.

Melk med β -LGB variant BB ga i dette forsøket melk med signifikant økt gel-styrke og viskositet. Ettersom tidligere forsøk har funnet at β -LGB variant B er assosiert med en høyere gel-styrke og viskositet enn β -LGB variant A kun når konsentrasjonen av β -LGB har vært lik i begge, er det plausibelt å anta at det har vært tilfellet her. I gruppen av genetisk variant (κ -CN_ β -LGB) BB_BB (totalt tre individer) ble det observert et «avvikende» individ, hvor gel-styrke, viskositet og G' var tydelig lavere enn de to andre. Det kan i dette tilfellet dreie seg om en forskjell i β -LGB-konsentrasjon, hvor den har vært lavere i denne en i de to andre.

Det kunne ikke fastslås noen signifikant effekt av κ -kasein-variantene κ -CN A og κ -CN B, på de reologiske kvalitetene til skummet kulturmilk. Det kan i fremtidige forsøk være relevant å undersøke effekt av genetisk variant E av κ -CN.

Lagrede prøver gav en svak økning i gel-styrke, og viskositet men ingen signifikant forskjell ble funnet på G'.

I fremtidige forsøk kan det også være fordelaktig å standardisere proteinkonsentrasjonene i alle prøvene, slik at en eventuell effekt kan tydeliggjøres. Det må da tas i betraktning om forskjellen i proteinkonsentrasjon er konstant for den enkelte genetiske varianten.

7. Kilder

- Abrahamsen, R. K., Narvhus, J. A. & Skeie, S. B. (2003). Kartlegging av alternative barrierer for produksjon av melkebaserte produkter produsert av ikke-varmebehandlet melk, ISSN 1503 - 2345: Statens Næringsmiddeltilsyn (SNT).
- Allmere, T., Andrén, A. & Björck, L. (1997a). Interactions between different genetic variants of B-lactoglobulin and K-casein A during heating of skim milk. *Journal of Agricultural Chemistry*, 45: 1564-1569.
- Allmere, T., Andrén, A. & Björck, L. (1997b). Interactions between different genetic variants of β -lactoglobulin and κ -casein A during heating of skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (5): 1564-1569.
- Allmere, T., Andrén, A., Lindersson, M. & Björck, L. (1998). Studies on Rheological Properties of Stirred Milk Gels Made From Milk with Defined Genetic Variants of k-casein and b-Lactoglobulin. *International Dairy Journal*, 8: 899-905.
- Alting, A. C., de Jongh, H. H., Visschers, R. W. & Simons, J.-W. F. (2002). Physical and chemical interactions in cold gelation of food proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (16): 4682-4689.
- Aschaffenburg, R. & Drewry, J. (1955). Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk.
- Aschaffenburg, R. & Drewry, J. (1957). Genetics of the β -Lactoglobulins of Cow's Milk. *Nature*, 180 (4582): 376-378.
- Aschaffenburg, R. (1968). Section G. Genetics. Genetic variants of milk proteins: their breed distribution. *Journal of Dairy Research*, 35 (03): 447-460.
- Auldish, M. & Hubble, I. (1998). Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53 (1): 28.
- Baker, C. & Manwell, C. (1980). Chemical classification of cattle. 1. Breed groups. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 11 (2): 127-150.
- Bikker, J. F., Anema, S. G., Li, Y. & Hill, J. P. (2000). Rheological properties of acid gels prepared from heated milk fortified with whey protein mixtures containing the A, B and C variants of β -lactoglobulin. *International Dairy Journal*, 10 (10): 723-732.
- Bobe, G., Beitz, D., Freeman, A. & Lindberg, G. (1999). Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *Journal of Dairy Science*, 82 (12): 2797-2804.
- Butler, F. & McNulty, P. (1995). Time dependent rheological characterisation of buttermilk at 5 °C. *Journal of Food Engineering*, 25 (4): 569-580.
- Bylund, G. (2015). *Dairy Processing Handbook*. Fermented Milks.

- Caroli, A., Chessa, S. & Erhardt, G. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of dairy science*, 92 (11): 5335-5352.
- Cho, Y.-H. (1997). *Rheology and microstructure of acid milk gels: the role of fat globule membrane: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Technology in Food Technology at Massey University*. The Author.
- Coakley, C. W. (2000). Practical Nonparametric Statistics. *Journal of the American Statistical Association*, 95 (449): 332-332.
- Corredig, M. & Dalgleish, D. G. (1999). The mechanisms of the heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk. *International Dairy Journal*, 9 (3): 233-236.
- Creamer, L. K. & Sawyer, L. (2003). Beta-Lactoglobulin. I: *Encyclopedia of dairy sciences*, s. 1932-1938: Academic press.
- Dalgleish, D. G. & Law, A. J. (1989). pH-induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *Journal of Dairy Research*, 56 (05): 727-735.
- Dalgleish, D. G. (2007). The casein micelle and its reactivity. *Le Lait*, 87 (4-5): 385-387.
- Dalgleish, D. G. (2011). On the structural models of bovine casein micelles—review and possible improvements. *Soft Matter*, 7 (6): 2265-2272.
- Dannenbergh, F. & Kessler, H. (1988). Effect of denaturation of β -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yoghurt. 2. Firmness and flow properties. *Milchwissenschaft*, 43 (11): 700-704.
- De Kruif, C. G. & Holt, C. (2003). Casein micelle structure, functions and interactions. I: Fox, P. F. & McSweeney, P. L. H. (red.) *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1: Proteins, Parts A&B: Protein*, s. 233-270: Kluwer Academic/Plenum.
- Eigel, W., Butler, J., Ernstrom, C., Farrell, H., Harwalkar, V., Jenness, R. & Whitney, R. M. (1984). Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. *Journal of Dairy Science*, 67 (8): 1599-1631.
- Ercili-Cura, D. (2012). *Structure modification of milk protein gels by enzymatic cross-linking*. Esbo, Finland: University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry.
- Farrell, H. M. J., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E., Creamer, L. K., Hicks, C. L., Hollar, C. M., Ng-Kwai-Hang, K. F. & Swaisgood, H. E. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*, 87 (6): 1641-1674.

- Fernandes, R. (2009). *Microbiology Handbook Dairy Products*: Leatherhead Publishing.
- Fondén, R., Leporanta, K. & Svensson, U. (2008). *Fermented milks*. Nordic/Scandinavian Fermented Milk Products: John Wiley & Sons.
- Fuquay, J. W., Fox, P. F. & McSweeney, P. L. (2011a). Cultured Buttermilk. I: *Encyclopedia of Dairy Sciences 2nd Edition*: Academic Press.
- Fuquay, J. W., Fox, P. F. & McSweeney, P. L. (2011b). Heat treatment. I: *Encyclopedia of Dairy Sciences 2nd Edition, Four-Volume set*: Academic Press.
- Galani, D. (1999). Heat - induced denaturation and aggregation of β - Lactoglobulin: kinetics of formation of hydrophobic and disulphide - linked aggregates. *International journal of food science & technology*, 34 (5 - 6): 467-476.
- Graveland-Bikker, J. F. & Anema, S. G. (2003). Effect of individual whey proteins on the rheological properties of acid gels prepared from heated skim milk. *International dairy journal*, 13 (5): 401-408.
- Guyomarc'h, F., Queguiner, C., Law, A. J., Horne, D. S. & Dalgleish, D. G. (2003). Role of the soluble and micelle-bound heat-induced protein aggregates on network formation in acid skim milk gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (26): 7743-7750.
- Hallén, E., Wedholm, A., Andrén, A. & Lundén, A. (2008). Effect of β - casein, κ - casein and β - lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *Journal of Animal Breeding and genetics*, 125 (2): 119-129.
- Hallén, E., Allmere, T., Lundén, A. & Andrén, A. (2009). Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of acid-induced milk gels. *International dairy journal*, 19 (6): 399-404.
- Heck, J., Schennink, A., Van Valenberg, H., Bovenhuis, H., Visker, M., Van Arendonk, J. & Van Hooijdonk, A. (2009). Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *Journal of dairy science*, 92 (3): 1192-1202.
- Heertje, I., Visser, J. & Smits, P. (1985). Structure Formation in Acid Milk Gels. *Food Structure*, 4 (2): 267-277.
- Holt, C. & Horne, D. S. (1996). The hairy casein micelle: Evolution of the concept and its implications for dairy technology. *Netherlands Milk & Dairy Journal*, 50: 85-111.
- Horne, D. S. (2006). Casein micelle structure: models and muddles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11 (2): 148-153.

- Huppertz, T. (2013). Chemistry of the Caseins. I: *Advanced dairy chemistry*, s. 135-160: Springer.
- Hutkins, R. W. (2001). Metabolism of Starter Culture. I: Marth, E. H. & Steele, J. L. (red.) *Applied Dairy Microbiology*, s. 207-236. New York, USA: Marcel Dekker Inc.
- Hyslop, D. B. (2013). Casein Stability. I: McSweeney, P. L. H. & Fox, P. F. (red.) *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins; Basic Aspects*, s. 855-857. New York, USA: Springer Science.
- Ibarz, A. & Barbosa-Canovas, G. V. (2002a). Rheology of foods - Introduction. I: *Unit operations in food engineering*, s. 89: Crc Press.
- Ibarz, A. & Barbosa-Canovas, G. V. (2002b). Rheology of foods - Stress and Deformation. I: *Unit operations in food engineering*, s. 90-92: Crc Press.
- Ibarz, A. & Barbosa-Canovas, G. V. (2002c). Rheology of foods - Viscoelasticity. I: *Unit operations in food engineering*, s. 107-113: Crc Press.
- Jørgensen, C. E., Abrahamsen, R. K., Rukke, E.-O., Johansen, A.-G., Schüller, R. B. & Skeie, S. B. (2016). Optimization of protein fractionation by skim milk microfiltration: Choice of ceramic membrane pore size and filtration temperature. *Journal of dairy science*.
- Kalab, M. (2010). The beauty of milk at high magnification. *Infocus Magazine* (18): 5-17.
- Keenan, T. & Bills, D. (1968). Metabolism of volatile compounds by lactic starter culture microorganisms. A review. *Journal of dairy science*, 51 (10): 1561-1567.
- Keppler, J. K., Sönnichsen, F. D., Lorenzen, P.-C. & Schwarz, K. (2014). Differences in heat stability and ligand binding among β -lactoglobulin genetic variants A, B and C using ^1H NMR and fluorescence quenching. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1844 (6): 1083-1093.
- Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*: Springer Science & Business Media.
- Lees, G. & Jago, G. (1978). Role of acetaldehyde in metabolism: A review 2. The metabolism of acetaldehyde in cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 61 (9): 1216-1224.
- Libudzisz, Z. & Stepaniak, L. (2011). Fermented milks, buttermilk. I: Fuquay, J. W., Fox, P. F. & McSweeney, P. L. (red.) *Encyclopedia of Dairy Sciences 2nd Edition*. Fermented Milks. Buttermilk: Academic Press.
- Lindsay, R., Day, E. & Sandine, W. (1965). Green Flavor Defect in Lactic Starter Cultures 1, 2. *Journal of dairy science*, 48 (7): 863-869.

- Lucey, J., Teo, C., Munro, P. & Singh, H. (1997). Rheological properties at small (dynamic) and large (yield) deformations of acid gels made from heated milk. *Journal of Dairy Research*, 64 (04): 591-600.
- Lucey, J., Munro, P. & Singh, H. (1998a). Rheological properties and microstructure of acid milk gels as affected by fat content and heat treatment. *Journal of Food Science*, 63 (4): 660-664.
- Lucey, J., Munro, P. & Singh, H. (1998b). Whey separation in acid skim milk gels made with glucono - δ - lactone: Effects of heat treatment and gelation temperature *Journal of Texture Studies*, 29 (4): 413-426.
- Lucey, J., Teo, C. T., Munro, P. A. & Singh, H. (1998c). Microstructure, permeability and appearance of acid gels made from heated skim milk. *Food Hydrocolloids*, 12 (2): 159-165.
- Lucey, J., Munro, P. & Singh, H. (1999). Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. *International Dairy Journal*, 9 (3): 275-279.
- 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., 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.
- Martin, N., Skokanova, J., Latrille, E., Beal, C. & Corrieu, G. (1999). Influence of fermentation and storage conditions on the sensory properties of plain low fat stirred yogurts. *Journal of Sensory Studies*, 14 (2): 139-160.
- Martin, P., Bianchi, L., Cebo, C. & Miranda, G. (2013). Genetic Polymorphism of Milk Proteins. I: McSweeney, P. L. H. & Fox, P. F. (red.) *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins; Basic Aspects*, s. 464-514. New York, USA: Springer Science.
- Meilgaard, M. C., Carr, B. T. & Civille, G. V. (2006). Guidelines for choice of technique. I: *Sensory evaluation techniques*: CRC press.
- Mezger, T. G. (2006a). Oscillatory tests. I: *The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers*, s. 114-169: Vincentz Network GmbH & Co KG.
- Mezger, T. G. (2006b). *The rheology handbook: for users of rotational and oscillatory rheometers*: Vincentz Network GmbH & Co KG.
- Mistry, V. V. (2001). Fermented milks and cream. I: Marth, E. H. & Steele, J. L. (red.) *Applied Dairy Microbiology*, s. 311-314. New York, USA: Marcel Dekker Inc.
- 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.
- Ng-Kwai-Hang, K., Hayes, J., Moxley, J. & Monardes, H. (1984). Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat, and protein production by dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 67 (4): 835-840.
- Niamsiri, N. & Batt, C. A. (2000). Applied Microbiology: Agro/Food - Dairy products. I: Lederberg, J., Alexander, M., Bloom, B. R., Hopwood, D. A., Hull, R., Iglewski, B. H., Laskin, A. I., Oliver, S. G., Schaechter, M. & Summers, W. C. (red.) *Encyclopedia of Microbiology Volume I*: Academic Press.
- Oberman, H. & Libudzisz, Z. (1998). Fermented milks. I: *Microbiology of fermented foods*, s. 308-350: Springer.
- Oftedal, O. T. (2013a). *Lipocalin structure*: Springer.
- Oftedal, O. T. (2013b). *Milk Proteins: Introduction and Historical Aspects*. Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects: Springer.
- Oftedal, O. T. (2013c). Origin and Evolution of the Major Constituents of Milk. I: McSweeney, P. & Fox, P. (red.) *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects*, s. 1-42: Springer.
- Palmquist, D., Beaulieu, A. D. & Barbano, D. (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of dairy science*, 76 (6): 1753-1771.
- Panick, G., Malessa, R. & Winter, R. (1999). Differences between the pressure-and temperature-induced denaturation and aggregation of β -lactoglobulin A, B, and AB monitored by FT-IR spectroscopy and small-angle X-ray scattering. *Biochemistry*, 38 (20): 6512-6519.
- Partridge, J. (2015). Fluid Milk Products. I: Chandan, R. C., Kilara, A. & Shah, N. P. (red.) *Dairy Processing and Quality Assurance*, s. 224: Wiley Blackwell.
- Quintans, N. G., Blancato, V., Repizo, G., Magni, C. & López, P. (2008). *Citrate metabolism and aroma compound production in lactic acid bacteria*. Molecular Aspects of Lactic Acid Bacteria for Traditional and New Applications. Kerala, India: Research Signpost. 65-88 s.
- Robinson, R. K. & Tamime, A. Y. (1993). Manufacture of yoghurt and other fermented milks. I: *Modern Dairy Technology*: Springer.
- Robinson, R. K. (2005). *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*: John Wiley & Sons.
- Salvador, A. & Fiszman, S. (2004). Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. *Journal of Dairy Science*, 87 (12): 4033-4041.
- Sawyer, L. (2003). β -Lactoglobulin. I: Fox, P. F. & McSweeney, P. L. H. (red.) b. 1 *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1: Proteins, Parts A&B: Protein*

s. 211-259: Kluwer Academic/Plenum.

Stable Micro Systems. *An Overview of Texture Profile Analysis (TPA)*: Texture Technologies Corp.

Steffe, J. F. (1996a). Introduction to Rheology. I: *Rheological methods in food process engineering*, s. 63-76. East Lansing, Michigan, USA: Freeman Press.

Steffe, J. F. (1996b). *Linear viscoelastic region*. Rheological methods in food process engineering: Freeman Press.

Steffe, J. F. (1996c). Oscillatory Testing. I: *Rheological methods in food process engineering*, s. 312-323. East Lansing, Michigan, USA: Freeman Press.

Steffe, J. F. (1996d). *Rheological methods in food process engineering*. 2 utg. East Lansing, Michigan, USA: Freeman Press.

Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (1999). *Yoghurt: science and technology*. Woodhead Publishing.

Tamime, A. Y. (2006). *Fermented Milks*: Blackwell Publishing.

Tamime, A. Y. & Robinson, R. K. (2007). *Handbook of Food Products Manufacturing; Milk and Milk Products*, b. 2.

Tine. (u.å.). *Kulturmilk eller kulturmjølke - hva er det?* Tilgjengelig fra: <http://www.tine.no/merkevarer/tine-kulturmj%C3%B8lk/artikler/kulturmilk-hva-er-det> (lest 12.02).

Treece, J., Sheinson, R. & McMeekin, T. (1964). The solubilities of β -lactoglobulins A, B, and AB. *Archives of biochemistry and biophysics*, 108 (1): 99-108.

Triantafillopoulos, N. (1988). Measurement of fluid rheology and interpretation of rheograms. *Manual (second edition)*, Kaltec Scientific, Inc: 21-22.

Tunick, M. (2000). Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. *Journal of Dairy Science*, 83 (8): 1892-1898.

Urieli, I. (u.å.). *Velocity gradient*. Ohio.edu: Ohio University.

Vasbinder, A. J. & de Kruif, C. G. (2003). Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *International Dairy Journal*, 13 (8): 669-677.

Vasbinder, A. J., van de Velde, F. & de Kruif, C. G. (2004). Gelation of casein-whey protein mixtures. *Journal of dairy science*, 87 (5): 1167-1176.

Vincent, J. F. (2012). Basic Elasticity and Viscoelasticity. I: *Structural biomaterials*, s. 1-28: Princeton University Press.

Walker, G., Dunshea, F. & Doyle, P. (2004). Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: a review. *Crop and Pasture Science*, 55 (10): 1009-1028.

- Walstra, P. (1999). Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*, 9 (3): 189-192.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006a). Casein Micelles. I: *Dairy science and technology*, s. 140-157: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006b). Casein Micelles: Gel Formation and Properties. I: *Dairy science and technology*: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006c). Composition and structure. I: *Dairy science and technology*, s. 3-4: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006d). *Dairy science and technology*: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006e). Fermented milks. I: *Dairy science and technology*, s. 551-573: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006f). Lactic fermentations. I: *Dairy Science and Technology*, s. 357-396: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006g). *Proteins*: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006h). *Separator*. Dairy Science and Technology: CRC press.
- Walstra, P., Wouters, J. T. & Geurts, T. J. (2006i). *Yoghurt - physical properties*: CRC press.
- Walstra, P. (2013). *Dairy technology: principles of milk properties and processes*: CRC Press.
- Weeragul, K. (2008). Effect of manufacturing factors on stirred yogurt properties.
- Wong, D. W. S. (1989). *Mechanism and theory in food chemistry*. New York: Van Nostrand Reinhold.

CHR. HANSEN

FD-DVS CHN-19

Product Information

- Description** Mesophilic Aromatic Culture, type LD. Multiple mixed strain culture containing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. The culture produces flavor and CO₂.
CHN-19 is packed in a convenient freeze-dried form.
- Application** The culture is primarily used in the manufacture of Continental cheese types (Gouda, Edam, Leerdam, Samsøe).
- Packing**
- | Packing size | Item number |
|--------------|-------------|
| 10 x 50U | 100100 |
| 25 x 200U | 100127 |
| 20 x 500U | 100161 |
- Availability** In addition to CHN-19, other cultures in this series include CHN-11, CHN-120, FLORA-DANICA and B-11.
- Storage and shelf life** Freeze-dried cultures should be stored at -18°C (0°F) or below. If the cultures are stored at -18°C (0°F) or below, the shelf life is at least 24 months. At +5°C (41°F) the shelf life is at least 6 weeks.
- Instructions for use** Remove the cultures from the freezer just prior to use. **DO NOT THAW THESE CULTURES.** Sanitize the top of the pouch with chlorine. Open the pouch and pour the freeze-dried granules directly into the pasteurized product using slow agitation. Agitate the mixture for 10-15 minutes to distribute the culture evenly.
- Dosage** Recommended dosage of freeze-dried DVS cultures in units to liters:

DVS inoculation percentage	Amount of milk to be inoculated			
	1,000 l	5,000 l	10,000 l	15,000 l
1000U/5000 l	200U	1000U	2000U	3000U
500U/5000 l	100U	500U	1000U	1500U
250U/5000 l	50U	125U	500U	750U

ABr/CHN-19-FD-PI/olt 2001/1:3

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

Vedlegg B pH-verdier ved sensorisk analyse, rådata

Tabell 7-1 pH-verdier i kulturmilk-prøver, lagret i 14 dager. Skraverte ruter indikerer manglende målinger. Rute med ramme rundt indikerer verdi betraktet som avvik, og er utelatt fra forsøket.

Prøve (κ-CSN_B_LGB)	Blokk 1		Blokk 2	
	Prod.dag 1	Prod.dag 2	Prod.dag 1	Prod.dag 2
A (BB_AB)	4,38	4,41		
B (BB_BB)	4,42	4,37		
C (AA_AB)	4,43	4,39	4,43	4,41
D (BB_AB)	4,35	3,42	4,43	4,35
E (AB_AB)	4,43	4,41	4,43	4,39
F (AA_BB)	4,42	4,40	4,35	4,36
G (BB_BB)	4,43	4,42	4,47	4,43
H (AA_AB)	4,39	4,37	4,31	4,44
I (BB_AB)	4,36	4,37	4,39	4,42
J (AA_AB)	4,35	4,32	4,36	4,37
K (AA_AA)	4,37	4,34	4,47	4,44
L (BB_AB)	4,42	4,36	4,37	4,44
M (AA_AB)	4,38	4,35		
N (BB_BB)	4,43	4,34	4,46	4,41
TINE	4,48	4,46	4,50	4,51
TINE	4,46	4,40	4,48	4,46

Vedlegg C Kjemiske analyser - rådata

Tabell 7-2 Kjemisk sammensetning av rå melk, fra blokk 1, produksjonsdag 1

Prøve-Id	Fett	Protein	Laktose	SNF	Kasein	Galaktose	Glukose
A1a	0,1	3,79	4,3	9	2,65	0,11	0,1
B1a	0,06	3,2	4,75	8,71	2,51	0,14	0,2
C1a	0,08	3,65	4,34	9,15	2,64	0,08	0,04
D1a	0,9	3,31	4,51	8,63	2,55	0,12	0,1
E1a	0,11	3,5	4,54	9,12	2,7	0,12	0,11
F1a	0,08	3,65	4,5	9	2,71	0,12	0,12
G1a	0,06	3,75	4,51	9,21	2,82	0,09	0,11
H1a	0,09	3,25	4,89	9,03	2,51	0,11	0,22
I1a	0,09	3,36	4,83	9,11	2,57	0,15	0,18
J1a	0,22	3,64	4,67	9,21	2,74	0,09	-0,02
K1a	0,25	2,81	4,8	8,56	2,24	0,11	0,2
L1a	0,07	3,05	4,43	8,4	2,4	0,18	0,25
M1a	0,25	3,01	4,82	8,73	2,34	0,11	0,12
N1a	0,2	3,76	4,66	9,33	2,82	0,08	0,01

Tabell 7-3 Kjemisk sammensetning av rå melk, fra blokk 1, produksjonsdag 2

Prøve-ID	Fett	Protein	Laktose	SNF	Kasein	Galaktose	Glukose
A1b	0,08	3,82	4,31	9,05	2,89	0,12	0,12
B1b	0,1	3,15	4,76	8,77	2,46	0,16	0,26
C1b	0,08	3,94	4,28	9,15	2,96	0,11	0,09
D1b	0,08	3,2	4,45	8,5	2,46	0,12	0,17
E1b	0,06	3,52	4,45	8,98	2,67	0,14	0,13
F1b	0,13	3,68	4,51	9,12	2,76	0,11	0,1
G1b	0,06	3,69	4,7	9,37	2,77	0,09	-0,03
H1b	0,33	3,25	4,87	8,99	2,5	0,12	0,23
I1b	0,13	3,42	4,9	9,28	2,59	0,14	0,17
J1b	0,14	3,61	4,55	9,01	2,73	0,08	-0,01
K1b	0,06	2,85	4,85	8,65	2,27	0,13	0,2
L1b	0,05	3,11	4,48	8,55	2,45	0,18	0,24
M1b	0,09	3,02	4,82	8,74	2,34	0,11	0,12
N1b	0,12	3,79	4,69	9,41	2,85	0,08	0

Sample Id	Fett	Protein	Laktose	SNF	Kasein	Galaktose	Glukose
C2a	0,1	3,5	4,68	9,13	2,59	0,07	0,06
D2a	0,08	3,48	4,55	8,99	2,66	0,12	0,16
E2a	0,08	3,6	4,55	9,09	2,73	0,1	0,13
F2a	0,1	3,85	4,37	9,1	2,88	0,11	0,12
G2a	0,06	3,85	4,59	9,37	2,85	0,08	-0,03
H2a	0,11	3,35	4,66	8,81	2,58	0,12	0,21
I2a	0,1	3,44	4,8	9,15	2,66	0,14	0,18
J2a	0,1	3,66	4,59	9,14	2,75	0,08	0
K2a	0,07	3,08	4,83	8,69	2,41	0,1	0,14
L2a	0,05	3,01	4,36	8,37	2,38	0,2	0,3
N2a	0,12	3,82	4,58	9,28	2,88	0,1	0,08

Sample Id	Fett	Protein	Laktose	SNF	Kasein	Galaktose	Glukose
C2b	0,11	3,5	4,69	9,19	2,59	0,05	0,01
D2b	0,1	3,64	4,77	9,35	2,66	0,13	0,17
E2b	0,09	3,65	4,59	9,23	2,75	0,1	0,12
F2b	0,1	3,99	4,5	9,43	2,96	0,09	0,09
G2b	0,09	3,49	4,55	9	2,86	0,07	-0,03
H2b	0,11	3,39	4,72	8,93	2,61	0,11	0,2
I2b	0,11	3,5	4,88	9,33	2,69	0,13	0,16
J2b	0,11	3,76	4,68	9,37	2,82	0,07	-0,03
K2b	0,08	3,08	4,82	8,68	2,91	0,09	0,07
L2b	0,07	3,05	4,41	8,47	2,41	0,19	0,3
N2b	0,07	3,85	4,58	9,35	2,4	0,1	0,13

Vedlegg D Svarskjema - sensorikk

Skummet kulturmilk - Rangeringstest

26.03.16

Cultured buttermilk – Ranking test

Navn/name:

5 varianter av kulturmilk skal rangeres etter intensitet, fra 1 til 5, hvor 1 er lavest/minst og 5 er høyest/mest.

Ingen to prøver (i samme sett) kan gis samme score. Prøvene rangeres med tvunget valg, det betyr hvis det ikke er noen merkbar forskjell, skal prøvene rangeres tilfeldig.

Vennligst benytt prøvens tresifrede kode til å indikere rangering i tabellen.

5 variants of cultured buttermilk are to be ranked according to intensity, from 1 to 5, where 1 is least/lowest amount and 5 is most/highest amount.

Two samples within the same set may not be given the same score. The samples are ranked using forced choice, i.e. if there is no noticeable difference, the samples are to be ranked randomly.

Please use the samples three-digit code to indicate the ranking in the table.

Sett A: 873 – 304 – 152 – 427 – 936

Lavest intensitet

Høyest intensitet

Lowest intensity

Highest intensity

	1	2	3	4	5
Viskositet Viscosity	Minst tyktflytende				Mest tyktflytende
Fnokkete Graininess	Minst fnokker				Mest fnokker
Friskhet <i>Emmen.....Frisk</i> Freshness <i>«Bland/rank»....Fresh</i>	Minst frisk				Mest frisk

Evtnt kommentarer/Comments:

Sett B: 642 – 703 – 375 – 297 – 581

Lavest intensitet

Høyest intensitet

Lowest intensity

Highest intensity

	1	2	3	4	5
Viskositet Viscosity	Minst tykttflytende				Mest tykttflytende
Fnokkete Graininess	Minst fnokker				Mest fnokker
Friskhet <i>Emmen.....Frisk</i> Freshness <i>«Bland/rank»....Fresh</i>	Minst frisk				Mest frisk

Evtnt kommentarer/Comments:

Vedlegg E Dommerskår - Sensorisk analyse

Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 1, sett A						Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	A	B	T	C	D	Dommer	E	F	G	C	T
1	2	3	1	5	4	1	3	5	4	2	1
2	4	2	1	5	3	2	4	5	2	3	1
3	4	3	1	5	2	3	5	3	1	4	2
4	3	2	1	4	5	4	3	2	4		1
5	4	2	1	5	3	5	4	2	5	3	1

Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 1, sett A						Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	A	B	T	C	D	Dommer	E	F	G	C	T
1	2	3	1	4	5	1	4	5	3	2	1
2	1	3	2	4	5	2	4	5	2	3	1
3	2	1	5	4	3	3	2	3	1	4	5
4	2	3	1	5	4	4	1	3	2		4
5	3	5	3	1	4	5	3	1	2	4	5

*Prøve «C» ble ikke vurdert av dommer nummer 4, og er derfor skravert i tabellene ovenfor.

Parameter «Friskhet» ble ikke vurdert i dette settet.

Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 1, sett A					
	Prøve				
Dommer	H	I	J	L	T
1	2	4	5	3	1
2	4	3	5	1	2
3	4	3	5	1	2
4	3	4	5	1	2
5	3	4	5	2	1

Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve				
Dommer	K	L	T	M	N
1	4	3	1	2	5
2	4	1	2	3	5
3	3	1	2	4	5
4	2	3	4	1	5
5	4	1	2	3	5

Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 1, sett A					
	Prøve				
Dommer	H	I	J	L	T
1	3	4	2	5	1
2	2	1	3	5	4
3	2	5	4	3	1
4	3	4	5	2	1
5	3	5	2	4	1

Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve				
Dommer	K	L	T	M	N
1	4	3	1	2	5
2	4	1	2	3	5
3	3	1	2	4	5
4	2	3	4	1	5
5	4	1	2	3	5

Friskhet Blokk 1, produksjonsdag 1, sett A					
	Prøve				
Dommer	H	I	J	L	T
1	3	5	1	2	4
2	2	1	3	4	5
3	3	5	1	4	2
4	5	2	1	4	3
5	4	2	1	5	3

Friskhet Blokk 1, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve				
Dommer	K	L	T	M	N
1	1	5	4	2	3
2	3	4	2	1	5
3	2	4	5	3	1
4	1	4	3	5	2
5	2	4	5	3	1

Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett A					
	Prøve				
Dommer	C	E	F	G	T
1	3	2	4	5	1
2	1	2	3	5	4
3	1	2	3	5	4
4	3	2	4	5	1
5	4	2	3	5	1
6	2	3	4	5	1

Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve				
Dommer	D	G	T	B	A
1	1	5	4	2	3
2	2	5	3	1	4
3	1	5	2	3	4
4	4	5	1	2	3
5	3	5	4	2	1
6	3	5	1	2	4

Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 2, sett A					
	Prøve				
Dommer	C	E	F	G	T
1	4	5	1	2	3
2	5	3	4	2	1
3	4	5	3	2	1
4	2	1	3	5	4
5	4	5	2	3	1
6	2	1	5	4	3

Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve				
Dommer	D	G	T	B	A
1	4	3	5	2	1
2	4	2	1	3	5
3	3	1	4	5	2
4	4	5	3	1	2
5	5	2	3	1	4
6	2	3	4	1	5

Friskhet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett A					
	Prøve				
Dommer	C	E	F	G	T
1	2	3	1	5	4
2	1	4	3	2	5
3	5	3	2	4	1
4	1	4	3	5	2
5	1	2	3	5	4
6	1	3	4	5	2

Friskhet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve				
Dommer	D	G	T	B	A
1	2	5	4	1	3
2	4	2	5	3	1
3	3	4	1	5	2
4	3	5	4	1	2
5	3	1	5	2	4
6	2	4	5	3	1

Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett A						Viskositet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	H	T	M	N	I	Dommer	K	J	T	L	N
1	3	4	1	5	2	1	1	4	2	3	5
2	2	4	1	5	3	2	3	4	2	1	5
3	3	1	2	5	4	3	3	4	2	1	5
4	1	2	3	5	4	4	3	4	1	2	5
5	2	1	3	5	4	5	2	4	3	1	5

Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 2, sett A						Fnokker Blokk 1, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	H	T	M	N	I	Dommer	K	J	T	L	N
1	5	4	1	2	3	1	1	2	5	4	3
2	4	3	1	5	2	2	1	3	5	2	4
3	5	2	4	3	1	3	1	4	5	2	3
4	5	4	3	1	2	4	2	3	5	4	1
5	3	5	2	1	4	5	3	5	1	4	2

Friskhet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett A						Friskhet Blokk 1, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	H	T	M	N	I	Dommer	K	J	T	L	N
1	2	5	3	1	4	1	3	2	5	4	1
2	3	5	1	4	2	2	2	4	5	1	3
3	2	5	3	1	4	3	4	3	5	1	2
4	4	5	1	2	3	4	4	1	5	2	3
5	2	4	3	1	5	5	3	4	5	2	1

Viskositet Blokk 2, produksjonsdag 1, sett A						Viskositet Blokk 2, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	J	E	T	C	I	Dommer	H	T	L	F	J
1	5	2	1	4	3	1	2	3	1	5	4
2	5	3	1	4	2	2	3	2	1	5	4
3	5	2	1	4	3	3	3	2	1	5	4
4	5	3	1	4	2	4	1	3	2	5	4
5	4	2	1	5	3	5	3	1	2	5	4

Fнокker Blokk 2, produksjonsdag 1, sett A						Fнокker Blokk 2, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	J	E	T	C	I	Dommer	H	T	L	F	J
1	5	2	1	3	4	1	3	2	1	5	4
2	5	4	1	2	3	2	1	2	3	4	5
3	5	3	1	4	2	3	3	2	1	5	4
4	5	3	1	4	2	4	1	3	2	4	5
5	4	2	1	5	3	5	3	1	2	4	5

Friskhet Blokk 2, produksjonsdag 1, sett A						Friskhet Blokk 2, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	J	E	T	C	I	Dommer	H	T	L	F	J
1	1	3	5	2	4	1	3	4	5	2	1
2	2	1	3	4	5	2	1	4	3	2	5
3	3	1	5	2	4	3	3	4	5	1	2
4	1	4	5	2	3	4	1	5	4	2	3
5	1	2	5	4	3	5	4	5	1	3	2

Viskositet Blokk 2, produksjonsdag, 1 del 1 sett A						Viskositet Blokk 2, produksjonsdag, 1 sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	K	T	G	D	N	Dommer	D	N	K	G	T
1	1	3	5	2	4	1	1	4	2	5	3
2	3	2	5	1	4	2	2	4	3	5	1
3	2	1	4	3	5	3	2	4	3	5	1
4	3	1	4	2	5	4	3	4	2	5	1
5	2	1	5	3	4	5	2	5	1	4	3

Fnokker Blokk 2, produksjonsdag 1, sett A						Fnokker Blokk 2, produksjonsdag 1, sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	K	T	G	D	N	Dommer	D	N	K	G	T
1	2	4	3	1	5	1	1	4	2	5	3
2	2	4	5	1	3	2	3	5	2	4	1
3						3					
4	2	3	5	1	4	4	2	3	1	4	5
5	1	3	4	2	5	5	1	4	2	5	3

*Dommer 3 merket alle prøvene med «ikke synlige fnokker i noen av prøvene» og unnlot å rangere disse. Gjeldende prøver er derfor her skravert.

Friskhet Blokk 2, produksjonsdag, 1 sett A						Friskhet Blokk 2, produksjonsdag, 1 sett B					
	Prøve						Prøve				
Dommer	K	T	G	D	N	Dommer	D	N	K	G	T
1	2	5	3	1	4	1	1	3	2	4	5
2	1	2	3	5	4	2	5	3	1	2	4
3	2	5	4	3	1	3	4	5	1	3	2
4	5	1	3	4	2	4	5	3	1	2	4
5	2	5	3	4	1	5	2	1	3	4	5

Viskositet Blokk 2, produksjonsdag, 2 sett A					
	Prøve				
Dommer	I	C	H	E	T
1	4	5	2	3	1
2	4	3	2	5	1
3	3	5	4	2	1
4	2	5	4	3	1
5	3	4	5	2	1

Viskositet Blokk 2, produksjonsdag, 2 sett B					
	Prøve				
Dommer	T	F	C	L	J
1	2	5	3	1	4
2	2	5	3	1	4
3	2	4	5	1	3
4	2	5	3	1	4
5	2	4	3	1	5

Fnokker Blokk 2, produksjonsdag 2, sett A					
	Prøve				
Dommer	I	C	H	E	T
1	2	5	3	1	4
2	3	4	2	5	1
3	3	5	2	4	1
4	3	4	5	2	1
5	2	3	4	5	1

Fnokker Blokk 2, produksjonsdag 2 sett B					
	Prøve				
Dommer	T	F	C	L	J
1	1	4	5	2	3
2	1	5	4	2	3
3	1	5	2	3	4
4	1	4	3	2	5
5	1	4	3	2	5

Friskhet Blokk 2, produksjonsdag 2, sett A					
	Prøve				
Dommer	I	C	H	E	T
1	5	1	2	4	3
2	5	2	1	3	4
3	4	2	1	5	3
4	4	3	5	2	1
5	3	2	1	4	5

Friskhet Blokk 2, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve				
Dommer	T	F	C	L	J
1	5	3	1	2	4
2	5	2	4	1	3
3	1	3	5	4	2
4	2	3	4	1	5
5	1	4	3	2	5

Viskositet Blokk 2, produksjonsdag 2, Sett A					
	Prøve				
Dommer	D	T	K	N	G
1	1	2	3	4	5
2	1	2	3	5	4
3	3	1	2	4	5
4	3	1	2	4	5
5	2	1	3	4	5
6	2	1	3	4	5

Viskositet Blokk 2, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve				
Dommer	K	G	D	T	N
1	3	5	2	1	4
2	3	4	2	1	5
3	2	5	3	1	4
4	3	5	2	1	4
5	3	5	2	1	4
6	3	4	2	1	5

Fнокker Blokk 2, produksjonsdag 2 sett A					
	Prøve				
Dommer	D	T	K	N	G
1	1	2	3	4	5
2	1	3	2	4	5
3	1	2	3	4	5
4	2	1	3	4	5
5	2	3	1	4	5
6	1	2	3	4	5

Fнокker Blokk 2, produksjonsdag 2, sett B					
	Prøve				
Dommer	K	G	D	T	N
1	3	5	1	2	4
2	3	4	1	2	5
3	3	5	1	2	4
4	1	5	2	3	4
5	3	5	1	2	4
6	3	4	1	2	5

Friskhet Blokk 2, produksjonsdag 2 sett A					
	Prøve				
Dommer	D	T	K	N	G
1	1	2	3	4	5
2	3	2	5	1	4
3	3	5	1	2	4
4	5	3	2	4	1
5	2	4	3	1	5
6	4	2	1	3	5

Friskhet Blokk 2 prod 2 sett B					
	Prøve				
Dommer	K	G	D	T	N
1	5	4	1	2	3
2	1	2	4	5	3
3	1	2	5	4	3
4	1	4	3	5	2
5	1	4	2	5	3
6	2	5	3	4	1

Vedlegg F Sensorisk analyse - statistiske beregninger; rådata

Tabell F-1 Statistisk analyse av rangeringssum fra sensorisk bedømming av viskositet i kulturmilk, syrnet på én dag gammel melk, fra blokk 1 (1aR2). Signifikant forskjellige prøver skiller ved forskjellig gruppering. Prøver ikke signifikant forskjellig deler én eller flere grupper

Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	5	15,000	3,000	A		
B	5	50,000	10,000		B	
A	5	75,000	15,000		B	C
D	5	75,000	15,000		B	C
C	5	110,000	22,000			C
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
L	5	30,000	6,000	A		
T	5	30,000	6,000	A		
H	5	70,000	14,000	A		
I	5	80,000	16,000	A		
J	5	115,000	23,000		B	
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
L	5	35,000	7,000	A		
T	5	45,000	9,000	A		
M	5	55,000	11,000	A		
K	5	75,000	15,000	A		
N	5	115,000	23,000		B	

Tabell F-2 Statistisk analyse av rangeringssum fra sensorisk bedømming av viskositet i kulturmilk, syrnet på to dager gammel melk, fra blokk 1 (1bR2). Signifikant forskjellige prøver skilles ved forskjellig gruppering. Prøver ikke signifikant forskjellig deler én eller flere grupper

Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups	
T	6	57,000	9,500	A	
E	6	63,000	10,500	A	
C	6	69,000	11,500	A	
F	6	111,000	18,500	A	
G	6	165,000	27,500		B
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups	
B	6	57,000	9,500	A	
D	6	69,000	11,500	A	
T	6	75,000	12,500	A	
A	6	99,000	16,500	A	
G	6	165,000	27,500		B
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups	
M	5	40,000	8,000	A	
H	5	45,000	9,000	A	
T	5	50,000	10,000	A	
I	5	75,000	15,000	A	
N	5	115,000	23,000		B
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups	
L	5	30,000	6,000	A	
T	5	40,000	8,000	A	
K	5	50,000	10,000	A	
J	5	90,000	18,000		B
N	5	115,000	23,000		C

Tabell D-2 Statistisk analyse av rangeringssum fra sensorisk bedømming av viskositet i kulturmilk, syrnet på to dager gammel melk, fra blokk 1 (2aR2). Signifikant forskjellige prøver skiller ved forskjellig gruppering. Prøver ikke signifikant forskjellig deler én eller flere grupper

Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	5	15,000	3,000	A		
E	5	50,000	10,000		B	
I	5	55,000	11,000		B	
C	5	95,000	19,000			C
J	5	110,000	22,000			C
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
L	5	25,000	5,000	A		
T	5	45,000	9,000	A		
H	5	50,000	10,000	A		
J	5	90,000	18,000		B	
F	5	115,000	23,000			C
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	5	30,000	6,000	A		
K	5	45,000	9,000	A		
D	5	45,000	9,000	A		
N	5	100,000	20,000	A		
G	5	105,000	21,000	A		
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	5	35,000	7,000	A		
D	5	40,000	8,000	A		
K	5	45,000	9,000	A	B	
N	5	95,000	19,000		B	
G	5	110,000	22,000		B	

Tabell D-3 Statistisk analyse av rangeringssum fra sensorisk bedømming av fnokker i kulturmilk, fra blokk 2, første produksjonsdag (2aR2). Signifikant forskjellige prøver skiller ved forskjellig gruppering. Prøver ikke signifikant forskjellig deler én eller flere grupper

Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	5	15,000	3,000	A		
E	5	60,000	12,000			B
I	5	60,000	12,000			B
C	5	80,000	16,000			B
J	5	110,000	22,000			B

Tabell D-4 Statistisk analyse av rangeringssum fra sensorisk bedømming av viskositet i kulturmilk, syrnet på to dager gammel melk, fra blokk 1 (2bR2). Signifikant forskjellige prøver skilles ved forskjellig gruppering. Prøver ikke signifikant forskjellig deler én eller flere grupper

Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	5	15,000	3,000	A		
E	5	65,000	13,000		B	
I	5	70,000	14,000		B	
H	5	75,000	15,000		B	
C	5	100,000	20,000		B	
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
L	5	15,000	3,000	A		
T	5	40,000	8,000		B	
C	5	75,000	15,000			C
J	5	90,000	18,000			C
F	5	105,000	21,000			C
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	6	33,000	5,500	A		
D	6	57,000	9,500	A		
K	6	81,000	13,500	A		
N	6	135,000	22,500		B	
G	6	159,000	26,500		B	
Sample	Frequency	Sum of ranks	Mean of ranks	Groups		
T	6	21,000	3,500	A		
D	6	63,000	10,500		B	
K	6	87,000	14,500		B	
N	6	141,000	23,500			C
G	6	153,000	25,500			C

Vedlegg G Reologiske målinger

Tabell G-1 Reologiske verdier for ferske og lagrede kulturmilk-prøver fra blokk 1 og blokk 2

Prøve	G' (Pa)	Gel-styrke (g)	Viskositet (Pa*s)
A1aR1	25,323	6,862	0,273
A1aR2	36,930	6,955	0,267
A1bR1	72,850	6,556	0,266
A1bR2	34,537	6,699	0,271
B1aR1	31,623	7,889	0,243
B1aR2	34,277	8,474	0,248
B1bR1	33,850	9,076	0,272
B1bR2	44,090	9,789	0,275
C1aR1	44,710	9,469	0,351
C1aR2	53,670	9,935	0,358
C1bR1	41,850	9,296	0,343
C1bR2	54,660	9,745	0,360
C2aR1	83,020	13,029	0,373
C2aR2	75,923	13,835	0,395
C2bR1	92,993	11,481	0,425
C2bR2	84,133	16,107	0,425
D1aR1	32,980	7,706	0,238
D1aR2	42,193	8,355	0,241
D1bR1	26,900	8,216	0,235
D1bR2	39,940	8,138	0,259
D2aR1	38,640	8,476	0,238
D2aR2	36,707	9,163	0,237
D2bR1	36,633	7,732	0,229
D2bR2	35,200	9,227	0,214
E1aR1	40,050	8,896	0,277
E1aR2	48,900	9,672	0,283
E1bR1	36,100	9,065	0,289
E1bR2	54,997	10,200	0,298
E2aR1	43,703	9,713	0,275
E2aR2	53,550	11,316	0,301
E2bR1	59,403	12,132	0,320
E2bR2	62,687	12,342	0,323
F1aR1	64,597	13,819	0,391
F1aR2	73,697	14,737	0,384
F1bR1	54,300	13,812	0,378
F1bR2	77,950	15,417	0,385
F2aR1	74,720	15,353	0,414
F2aR2	80,500	16,607	0,421
F2bR1	92,427	16,899	0,460
F2bR2	93,627	18,909	0,480
G1aR1	83,677	18,205	0,455
G1aR2	113,867	19,495	0,467
G1bR1	85,100	18,970	0,472
G1bR2	100,560	20,313	0,498
G2aR1	98,937	17,781	0,481
G2aR2	92,827	19,843	0,484
G2bR1	90,993	17,979	0,461
G2bR2	77,250	19,139	0,434

Tabell G-2 Reologiske verdier for ferske og lagrede kulturmelm-prøver fra blokk 1 og blokk 2, forts.

Prøve	G' (Pa)	Gel-styrke (g)	Viskositet
H1aR1	46,015	8,517	0,259
H1aR2	43,340	6,841	0,251
H1bR1	44,627	8,412	0,259
H1bR2	43,170	8,859	0,265
H2aR1	43,617	9,768	0,267
H2aR2	47,643	10,188	0,262
H2bR1	55,420	11,207	0,296
H2bR2	63,183	12,675	0,309
I1aR1	49,343	8,839	0,272
I1aR2	51,487	9,204	0,275
I1bR1	49,860	9,878	0,280
I1bR2	52,367	10,599	0,282
I2aR1	48,647	10,321	0,287
I2aR2	52,137	12,463	0,291
I2bR1	106,017	11,611	0,449
I2bR2	55,503	13,970	0,328
J1aR1	96,685	15,908	0,417
J1aR2	100,867	16,370	0,429
J1bR1	80,297	15,865	0,408
J1bR2	90,160	16,584	0,419
J2aR1	82,187	14,397	0,402
J2aR2	83,100	15,746	0,392
J2bR1	98,240	18,804	0,437
J2bR2	91,557	18,004	0,454
K1aR1	45,620	8,487	0,226
K1aR2	44,367	8,841	0,229
K1bR1	39,827	8,444	0,220
K1bR2	43,847	9,439	0,219
K2aR1	39,053	8,757	0,230
K2aR2	40,823	9,748	0,230
K2bR1	38,110	7,955	0,211
K2bR2	35,100	9,277	0,196
L1aR1	25,960	5,836	0,190
L1aR2	30,077	6,295	0,198
L1bR1	28,560	5,973	0,194
L1bR2	30,973	5,812	0,198
L2aR1	14,743	4,437	0,156
L2aR2	16,693	4,571	0,147
L2bR1	18,903	4,423	0,171
L2bR2	18,210	4,628	0,158
M1aR1	32,347	7,718	0,226
M1aR2	34,540	7,770	0,233
M1bR1	35,370	7,978	0,228
M1bR2	33,643	8,761	0,225
N1aR1	117,900	20,514	0,516
N1aR2	121,333	22,210	0,517
N1bR1	112,233	20,553	0,510
N1bR2	128,000	22,583	0,519
N2aR1	99,530	17,536	0,453
N2aR2	95,417	18,806	0,452
N2bR1	100,007	18,347	0,470
N2bR2	91,533	19,498	0,440

Vedlegg H Korrelasjon mellom koeffisienter

Tabell H-1 Korrelasjon mellom signifikante faktorer ($p=95\%$) er skravert

Korrelasjon	Viskositet	G' (Pa)	Gel-styrke (g)	CSN-3 AA	CSN-3 AB	CSN-3 BB	B-LGB AA	B-LGB AB	B-LGB BB	Protein	SNF	Kasein
Viskositet	1											
G' (Pa)	0,951	1										
Gel-styrke (g)	0,946	0,931	1									
CSN-3 AA	0,079	0,074	0,035a	1								
CSN-3 AB	-0,082	-0,105	-0,089	-0,251	1							
CSN-3 BB	-0,034	-0,016	0,014	-0,851	-0,295	1						
B-LGB AA	-0,28	-0,242	-0,21	0,122	-0,098	-0,067	1					
B-LGB AB	-0,436	-0,405	-0,522	0,047	0,221	-0,167	-0,444	1				
B-LGB BB	0,669	0,609	0,715	-0,135	-0,175	0,228	-0,198	-0,79	1			
Protein	0,776	0,676	0,671	-0,043	0,098	-0,011	-0,494	-0,122	0,471	1		
SNF	0,791	0,746	0,728	-0,032	0,103	-0,024	-0,378	-0,146	0,418	0,846	1	
Kasein	0,655	0,585	0,591	-0,089	0,117	0,025	-0,467	-0,066	0,392	0,825	0,684	1
Fett	0,073	0,137	0,084	0,355	-0,111	-0,291	0,016	0,059	-0,076	-0,102	0,086	-0,111

Vedlegg I Karbohydrater og organiske syrer, metodikk

Innhold av organiske syrer og karbohydrater ble analysert gjennomført på kulturmelk lagret kjølig (4°C) i 14 dager fra produksjonsdato. Prøvene ble rørt opp med en håndmixer (Bosch 350W) på trinn 2/5 i 10 sekunder, til melken fremstod som en homogen masse. Analysen ble gjennomført ved bruk av high pressure liquid chromatography (HPLC) etter en metode av Marsili et al. (1981), som beskrevet av Narvhus et al. (1998) med noen modifikasjoner.

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 0,5 M 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 minutter ved 1470 x g (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 0,8x40mm (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 for-kolonne 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, orotinsyre, pyrodruesyre, epletsyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre og pyro-glutaminsyre (Sigma-Aldrich, Kina) benyttet til standardløsninger. Karbohydratene ble detektert ved hjelp av en Perkin Elmer Serie 200 RI-

detektor (Perkin Elmer), mens organiske syrer ble detektert ved hjelp av en Perkin Elmer Serie 200 UV/VIS-detektor (Perkin Elmer).

Vedlegg I.1 Karbohydrater og organiske syrer i lagrede produkter, fra to produksjonsdager (A og B) fra blokk 2, målt med HPLC.

Tabell 0-1 Innhold av karbohydrater og organiske syrer i syrnet kulturmilk, kjølelagret i 14 dager. Bokstav indikerer prøve, tall indikerer produksjonsdag. (X1 = fersk melk av prøve X, kjølelagret i ett døgn før produksjon, X2 = fersk melk av prøve X kjølelagret i to døgn før produksjon. Alle verdier er i parts per million (ppm) Celler merket «n.d.» indikerer ikke målbare mengder (not detectable).

Prøve	Sitronsyre	a-keto-glutar syre	Orotin syre	Pyrodruesyre	Ravsyre	Melkesyre	Maur-syre	Urin syre	DL-Pyro-glutamin-syre	Eddiksyre	Laktose	Galaktose
C1	45	20,55	98,36	7,78	190,3	8099,52	24,61	26,29	4,17	865,75	38628,17	337,37
C2	57,46	22,9	96,5	7,83	235,81	8409,22	33,41	27,09	4,83	866,1	38642,54	351,5
D1	77,05	37,33	59,1	6,05	179,05	8468,73	22,63	25,39	4,46	1034,52	38949,06	319,33
D2	77,23	39,8	57,63	7,58	140,53	8345,99	21,92	25,68	4,35	937,17	38321,78	341,93
E1	74,73	29,78	29,3	10,43	194,72	8767,15	28,46	21,84	7,8	937,16	39034,67	415,36
E2	80,1	31,77	28,04	8,4	165,3	8938,58	30,31	21,8	7,69	926,62	38394,2	420,09
F1	92,08	54,01	54,17	10,2	174,51	8534,7	32,18	21,74	3,9	839,06	36546,65	313,02
F2	89,86	51,19	52,29	11,27	217,9	8643,59	29,84	21,75	4,53	833,34	35737,33	332,25
G1	173,02	23,58	90,14	6,34	173,55	8946,14	34,76	32	5,11	897,96	37730,58	386,02
G2	175,61	26,52	90,44	7,17	183,17	8969,62	26,46	32,51	5,03	960,63	37967,63	354,64
H1	100,18	32,4	48,71	8,52	179,15	7750,25	22,41	29,15	2,87	776,26	40931,57	270,4
H2	103,6	32,04	48,22	8,25	173,07	8118,84	21,45	29,72	2,16	780,98	40826,09	312,11
I1	84,11	31,4	54,82	9,27	166,05	8559,35	25,18	26,36	3,95	922,15	41440,23	345,41
I2	84,36	30,8	54,76	8,47	186,02	9068,89	24,2	26,53	3,74	931,01	41695,59	399,31
J1	108,17	26,7	74,44	8,18	190,67	8441,05	21,68	26,57	4,03	764,26	39177,88	330,48
J2	108,29	25,97	73,56	8,53	193,66	8860,15	23,33	26,89	3,66	752,2	38648,04	369,68
K1	108,02	31,13	37,76	8,6	140,82	8377,45	21,94	21,6	6,04	833,87	37992,89	389,18
K2	126,77	23,26	59,09	4,58	147,4	7614,75	20,63	24,98	4,04	757,28	42447,52	341,5
L1	104,22	19,75	36,72	8,28	123,72	9367,87	25,78	15,23	8,5	1051,82	36416,86	413,15
L2	107,9	20,49	37,4	7,84	138,39	9724,24	24,11	15,21	8,6	1099,33	36794,14	462,24
N1	121,13	20,14	58,32	6,37	138,71	7432,8	18,45	23,73	4,18	681,16	41382,63	305,16
N2	110,61	35,48	37,18	10,09	132,24	8414,02	23,39	22,38	4,92	798,53	38213,83	352,69
T1	108,76	22,03	56,79	12,3	n.d.	8716,36	27,02	23,6	4,78	1091,67	39936,14	410,3
T2	108,55	27,98	57,57	11,89	n.d.	8711,22	36,14	24,01	4,83	1129,69	40300,56	394,17

Vedlegg J Flyktige forbindelser, metodikk

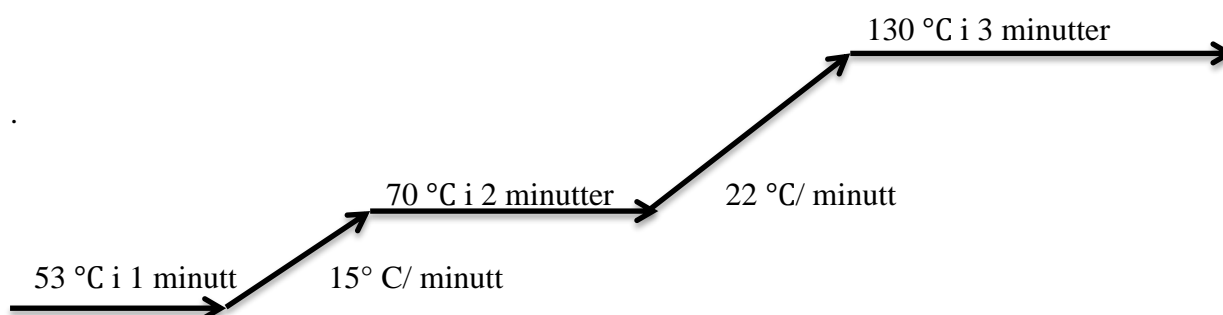
Kvantifisering av flyktige forbindelser ble analysert gjennomført på kulturmelk lagret kjølig (4°C) i 14 dager fra produksjonsdato. Prøvene ble rørt opp med en håndmixer (Bosch 350W) på trinn 2/5 i 10 sekunder, til melken fremstod som en homogen masse.

Prøvene ble analysert ved bruk av headspace gas chromatography (HSGC), en metode tidligere beskrevet av Narvhus et al. (1998).

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 Agilent Technologies 7679A automatisk headspace 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 total flow på 11,1 ml/min. Vilkårene for headspaceflaskene var 60 °C med en forvarmingstid på 30 minutter, de ble deretter mikset i 5 minutter ved setting fem. Headspaceflaskene var trykksatt til 10 PSIG i 1.50 minutter før injeksjon, og injeksjonstiden var på 1.00 minutt.

En CP-SIL 5CB GC kolonne (Varian, Middelburg, Nederland) ble benyttet for separering av komponentene. Kolonnen hadde en lengde på 25 meter, 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-heksanol, 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, 1-butanol, 1-propanol, 2-butanol og 2.3-pentadion (Merck, Tyskland).

Vedlegg J.1 Flyktige komponenter, målt i lagrede prøver fra blokk 2

Tabell J.1 Flyktige komponenter målt med Head Space Gas-Chromatograph på syrnet kulturmilk, kjølelagret i 14 dager. Bokstav indikerer prøve, tall indikerer produksjonsdag. (X1 = fersk melk av prøve X, kjølelagret i ett døgn før produksjon, X2 = fersk melk kjølelagret i to døgn før produksjon. Alle verdier er i parts per million (ppm))

Prøve	Acetaldehyd (ppm)	Etanol (ppm)	Aceton (ppm)	Diacetyl (ppm)	Acetoin (ppm)
C1	0,07	12,13	2,29	2,52	383,32
C2	0,07	14,92	2,36	2,14	402
D1	0,09	13,39	1,68	2,69	369,16
D2	0,09	15,56	1,78	3,04	315,12
E1	0,35	13,87	1,46	3,07	382,61
E2	0,35	16,24	1,38	2,23	391,48
F1	0,18	15,57	2,25	2,97	418,78
F2	0,34	17,02	2,43	2,41	439,74
G1	0,11	15,75	1,73	2,59	239,96
G2	0,12	17,23	1,72	2,64	238,7
H1	0,07	9,61	1,65	3,72	364,42
H2	0,09	11,09	1,54	2,35	368,28
I1	0,08	14,51	2,44	2,95	388,91
I2	0,07	17,5	2,25	2,34	397,14
J1	0,1	14,06	1,56	3,2	294,86
J2	0,09	16,47	1,51	1,84	317,31
K1	0,1	16,29	0,65	2,71	253,93
K2	0,07	12,3	1,16	2,83	197,46
L1	0,17	14,51	1,18	2,89	500,26
L2	0,15	19,01	1,27	3,56	499,69
N1	0,09	11,63	1,21	2,9	236,01
N2	0,11	16,98	0,59	2,43	241,68
T1	0,12	35,75	4,08	0,39	45,87
T2	0,09	34,24	4,24	0,68	71,74



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2016

30 stp

Institutt for kjemi bioteknologi og matvitenskap

Betydning av genetiske varianter av κ -kasein og β -laktoglobulin for kvaliteten på fermentert melk

Importance of genetic variants of κ -casein and β -
lactoglobulin on the quality of fermented milk

Odd Eirik Breivik
Matvitenskap



Norges miljø- og biovitenskapelig universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway