

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne erfaringsbaserte masteroppgaven på 60 studiepoeng ble påbegynt høsten 2009 og avsluttet høsten 2011. Jeg ønsket å gjennomføre en oppgave som kunne være til nytte for TINE. I perioden 1989 – 2008 arbeidet jeg ved TINE Midt-Norge Kolvereid hvor jeg hadde ulike funksjoner innenfor hvitostproduksjon. Hvitost er et svært spennende og interessant fagfelt, jeg ønsket derfor å arbeide med en oppgave knyttet til produksjon av hvitost. Valg av oppgave er gjort i samråd med Rolf Heskestad, faglig leder hvitost i TINE FoU.

Den praktiske delen av oppgaven, med forsøksystemer og analyser, er gjennomført ved Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB), Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (IKBM). Sensorisk profilering er gjennomført ved TINE FoU, Måltidets Hus av TINE's egne autoriserte produktdommere.

Under hele arbeidet med masteroppgaven har jeg i tillegg vært i full jobb i TINE SA ved TINE Meieriet Høgset i stilling som kvalitetsleder.

Veiledere for oppgaven har vært professor Roger K. Abrahamsen og professor Siv Skeie. Jeg vil rette er stor takk til dem begge, for meierifaglig veiledning og konstruktive tilbakemeldinger i arbeidet med oppgaven.

Jeg vil også takke Anne Grethe Johansen, forsker i TINE FoU for gode råd, faglige innspill og god veiledning særlig knyttet til nedsmeltingsanalysene.

Takk til dyktige medarbeidere ved laboratoriet på IKBM, for god veiledning og hjelp til gjennomføringen av mikrobiologiske og kjemiske analyser av osten.

Takk til TINE Meieriet Tolga for levering av kjernemelk, og til TINE Meieriet Verdal for levering av mikropartikulert myseprotein for bruk i forsøksystemene.

Takk rettes også til TINE FoU for økonomisk dekning av kostnader til råstoff og frakt av dette til UMB, til Norske Meierifolks Landsforening for tildeling av utdanningsstipend, og til TINE Midt-Norge for velvilje til at jeg kunne jobbe en del med oppgaven i den ordinære arbeidstiden min.

Kleive, 14.12.2011

Gerd Marit Alseth

Sammendrag

Forbrukere er ofte misfornøyde med kvaliteten på mager ost, da mager ost ofte er kort, tørr og fast i konsistensen, og smaken er langt dårligere enn i helfet ost. De siste 20 årene har det vært mye forskning på å forbedre kvaliteten på mager ost, uten at man har lyktes helt med det så langt.

Hensikten med oppgaven var å studere effektene av tilsetning av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein (MMP) og Laktobasiller (LAB) isolert fra ost, på konsistens- og smaksutvikling i mager ost av Norvegia-typen.

Forsøket ble delt i to trinn. Første trinn (forsøk 2) hadde fokus på forbedring av konsistens ved hjelp av tilsetning av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein til ystemelka. Målet var å finne den optimale faktorkombinasjonen av disse to faktorene, som gav ønsket konsistens. Andre trinn (forsøk 3) hadde fokus på forbedring av smaken i osten ved å tilsette to ulike stammer av Laktobasiller isolert fra ost. Ost som ble tilsatt LAB ble ystet med den faktorkombinasjonen fra forsøk 2 som gav ønsket konsistens, tilsetning av 15 % kjernemelk og 3 % MMP. De to stammene av *Lb.plantarum* og *Lb.casei/paracasei* ble tilsatt i hver sine oster i forsøket.

Resultatene viste at ost tilsatt LAB ikke bare fikk en bedre smaksutvikling, men det ble i tillegg oppnådd en forbedret konsistens i forhold til kontroll-ost.

Abstract

Consumers often regard cheese with reduced fat content to have unsatisfactory quality. The cheese often obtains a texture that is too elastic and cohesive, and it often obtains a deficient flavor. Many researchers during the last 20 years have been focused on improvement of the quality of low fat cheese, however fat reduced cheese is still regarded as having inferior quality.

In this experiment an improved cheese texture was focused on first by using microparticulated whey proteins and buttermilk. Secondly the flavour of the cheese was improved by using selected *Lactobacillus casei/paracasei*- and *Lactobacillus plantarum* strains isolated from good quality cheese.

In the first experiment a Dutch type cheese with 10% fat was produced, to find the optimal mixture of microparticulated whey proteins and buttermilk. It was found that the optimal mixture was 3 % microparticulated whey and 15 % buttermilk to obtain a texture which could be compared to a full fat cheese.

In the next experiment optimal cheese texture make receipt was used and different *Lactobacillus casei/paracasei*- and *Lactobacillus plantarum* strains was added, some of these strains were able to produce a cheese flavour which could be compared to full fat cheese. In addition the *Lactobacillus casei/paracasei*- and *Lactobacillus plantarum* strains also influenced the texture of the cheese.

Innhold

Innledning.....	6
1.1 Valg av emne	6
1.2 Problemstilling.....	7
2. Teori.....	7
2.1 Mager ost, noen utfordringer	7
2.1.1 Smak i mager ost	7
2.1.2 Tekstur i mager ost.....	8
2.1.3 Funksjonalitet til mager ost.....	8
2.2 Modning av mager ost.....	9
2.2.1 Glykolysen (laktoseomsetningen)	9
2.2.2 Proteolysen.....	10
.....	10
2.2.3 Lipolysen	12
2.2.4 Sitratomsetningen	14
2.3 Melkefettet.....	14
2.3.1 Fettets betydning for smak i ost.....	14
2.3.2 Fettkulemembranen (MFGM)	15
2.4 Melkens proteiner	15
2.4.1 Melkens proteiner	15
2.4.2 Mikropartikulert myseprotein (MMP).....	16
2.5 Kjernemelk.....	18
2.6 NSLAB (Non-starter-lactic-acid-bacteria)	18
2.6.1 Hva er NSLAB?	18
2.6.2 Forsøk med tilsetning av LAB i TINE FoU.....	20
2.6.3 Prosjekt identifisering og anvendelse av NSLAB i ost.....	20
3. Materialer og metoder.....	20
3.1 Forsøksdesign	20
3.2 Produksjon av ost	25
3.2.1 Råstoff og melkebehandling.....	25
3.2.2 Ysteteknikk	29
3.2.3 Salting og lagerbehandling	32
3.3 Analyser	34

3.3.1 Prøveuttak av ost.....	34
3.3.2 Mikrobiologiske analyser.....	34
3.3.3 Kjemiske analyser	36
3.3.3.1 pH	37
3.3.3.2 Tørrstoff.....	38
3.3.3.3 Fett i ost.....	38
3.3.3.4 Salt i ost	38
3.3.3.5 Aktivitetsprøve av brukssyre	39
3.3.3.6 Flyktige aromakomponenter.....	39
3.3.3.7 Organiske syrer.....	39
3.3.4 Tekstur (Rheologi)	40
3.3.5 Smeltingsegenskaper	41
3.3.6 Sensorikk	41
4. Resultater	42
4.1 Forsøk 1	42
4.1.1 pH	42
4.1.2 Tørrstoff.....	43
4.2 Forsøk 2	44
4.2.1 Statistisk behandling	44
4.2.2 Mikrobiologiske resultater	46
4.2.3 Kjemiske resultater.....	49
4.2.4 Rheologi – tekstur	57
4.2.5 Nedsmelting	60
4.2.6 Sensorikk	64
4.3 Forsøk 3	68
4.3.1 Statistisk behandling	68
4.3.2 Mikrobiologiske resultater	70
4.3 Kjemiske resultater.....	75
4.3.1 Aktivitetsprøve og pH i brukssyre	75
4.3.2 Løpningsegenskaper i formagraf.....	76
4.3.3 pH	77
4.3.2 Tørrstoff.....	78
4.3.4 Fett	79

4.3.5 Salt.....	80
4.3.6 Biokjemiske resultater.....	81
4.3.7 Rheologi – tekstur	96
4.3.8 Sensorikk	98
5. Diskusjon	101
5.1 Mikrobiologiske resultater	101
5.1.1 Totaltall bakterier	101
5.1.2 Koliforme bakterier	101
5.1.3 Enterokokker	102
5.1.4 Laktokokker	102
5.1.5 Laktobasiller	103
5.2 Kjemiske resultater.....	103
5.2.1 Aktivitetsprøve i ystemelk og standardmelk.....	103
5.2.2 pH	103
5.2.3 Tørrstoff.....	104
5.2.4 Protein	104
5.2.5 Fett	104
5.2.6 Salt.....	105
5.3 Biokjemiske resultater.....	105
5.3.1 Flyktige komponenter	105
5.3.2 Organiske syrer.....	108
5.4 Rheologi – tekstur	110
5.5 Nedsmelting	110
5.6 Sensorikk	110
5.8 Endring av ysteteknikk under forsøkene.....	112
5.9 Oppsummering.....	112
6. Konklusjon	113
7. Litteraturliste.....	114

Innledning

1.1 Valg av emne

Helt siden jeg tok beslutningen om å gjennomføre en erfaringsbasert mastergrad har jeg vært fast bestemt på å arbeide med en oppgave som ville være til nytte for TINE SA. Det ble tatt kontakt med faglig leder hvitost, Rolf Heskestad i TINE FoU for å få innspill og råd til valg av oppgave.

Gjennom over 20 års ansettelse i TINE har jeg arbeidet med hvitostproduksjon ved TINE Midt-Norge Kolvereid fram til anlegget ble nedlagt i 2008. Jeg hadde dermed ett klart ønske om å gjøre en oppgave innenfor hvitostproduksjon.

I mange forbrukergrupper er det en trend med stor fokus på kosthold og helse, hvor magre produkter spiller en vesentlig rolle. TINE SA har i sitt produktsortiment flere magre ostetyper, men det er en stor utfordring å produsere en mager hvitost med ønsket konsistens og smak. Over flere år er det kjørt ulike forsøk i regi av TINE FoU for å bedre konsistens og smak i de magre ostetyper som TINE produserer, uten at man har lyktes helt.

Ved kjerning av smør får man store mengder av biproduktet kjernemelk. Tradisjonelt har kjernemelka blitt benyttet fortrinnsvis til dyrefôr i Norge, som ingrediens i produksjon av Brelett, samt en liten andel til baking og konsum (Johansen, Vogt, Selmer-Olsen & Abrahamsen, 2005a; Johansen et.al., 2005b). Kjernemelk er en rimelig råvare, som har vist seg å ha gode emulgerende egenskaper. Det er gjennomført mange forsøk med tilsetning av kjernemelk til ystemelka, hvor det er vist at kjernemelk-tilsetning gav positive effekter på egenskapene til magre ostetyper (Bjørke, 2004; Rabben, 2005).

De siste årene er det arbeidet mye med mikropartikulert myseprotein i TINE, det spesielle med mikropartikulert myseprotein er at det vil gå inn som en fetterstatter i magre produkter. I regi av FoU er det gjennomført ystingsforsøk av mager ost med tilsetning av mikropartikulert myseprotein med lovende resultater i forhold til bedring av konsistens.

Det er kjent at enkelte stammer av NSLAB (non-starter-lactic-bacteria), spesielt heterofermentative laktobasiller kan ha positive effekter og medvirke til ønsket aroma og smak i ost. Mange forskningsmiljøer arbeider med NSLAB, og bruk av tilsetningskulturer bestående av heterofermentative laktobasiller er helt i startfasen (Skeie, 2007a).

Tidligere forsøk som er gjennomført er basert på tilsetning av enten kjernemelk eller mikropartikulert myseprotein (MMP) eller NSLAB (non-starter-lactic-bacteria) til ystemelka. Effekter av ulike kombinasjoner av disse forsøksfaktorene er tidligere ikke undersøkt, og jeg valgte derfor å arbeide med å kombinere disse forsøksfaktorene for å se på effekten av disse tre faktorene i kombinasjon.

1.2 Problemstilling

Produksjon av mager hvitost med ønsket konsistens og smak er en utfordring. Det er gjennomført mye forskning og forsøksarbeid innen området, uten at man har lykkes helt i forhold til ønskede resultater så langt.

Tilsetning av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein til mager ost har vist positive effekter på konsistens når de tilsettes hver for seg. Det kunne være interessant å studere hvilke effekter ulike kombinasjoner av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein ville gi.

Det er kjent at NSLAB er en viktig bidragsyter til smaksutviklingen i ost. Isolering av NSLAB fra ost med «god» smak, for deretter å tilsette renkultur av disse i ost er ett spennende område, hvor arbeidet er helt i startfasen. Det kunne være interessant å studere effekten på smaksutvikling av slike stammer i en mager ost.

Er det mulig å oppnå er forbedret konsistens- og smaksutvikling i mager ost ved kombinasjon av tilsetning av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein og LAB isolert fra god ost? Denne problemstillingen ble funnet så interessant at jeg valgte å jobbe med den i min masteroppgave.

2. Teori

2.1 Mager ost, noen utfordringer

Den store utfordringen ved produksjon av magre oster er å oppnå ønsket konsistens og smak. Forbrukeren ønsker en mager ost med tilsvarende egenskaper som en fet ost. Magre oster får lett teksturfeil, har ofte lite smak og viskølæraktig konsistens.

Årsaker til disse feilene er:

- Lite fett i tørrstoffet. Ostemassen inneholder < 30 % fett i tørrstoffet, og den inneholder mer protein og vann. Det økte vanninnholdet medfører i tillegg mindre salt i ostens vann.
- Lavere fettinnhold betyr at det er mindre fett som kan "forstyrre" protein-nettverket.
- Lavere fettinnhold gir mindre grenseflate mellom fett og protein i ostemassen. I denne grenseflaten dannes det et væskesjikt mellom fett og proteinmatriksen. Elektronmikroskopi har vist at bakteriene i osten vil etablere seg og vokse i kolonier i væskefasen på overflaten av fettkulene (Abrahamsen & Sætre, 2001.; Tammam, Williams, Banks, Cowie & Lloyd, 2001)

2.1.1 Smak i mager ost

I 2003 framsatte Johnson følgende teorier om mager ost og smaksutvikling (Roginski, Fuguay & Fox 2003):

- Det kjemiske miljøet i magre oster er ikke tjenlig for dannelse av ønskelige smakskomponenter, eller balansen mellom de ønskelige smakskomponentene endres på grunn av miljøet i osten. Veksten av de forskjellige stammene av mikroorganismer i osten, og

disse mikroorganismenes metabolisme, endres som en følge av miljøet.

- Oppfatningen av smaken i ost kan påvirkes av fordelingen av smakskomponenter mellom serumfasen og fettfasen. Redusert fettinnhold og økt vanninnhold i mager ost fører til bevegelse av noe fett og av vannløselige komponenter til vannfasen. Dette påvirker f.eks vår oppfatning av «bitter» og «harsk».
 - Bitter og harsk er en typisk forekommende smaksfeil i mager ost, som er sjelden i fet ost .
 - Vår smaksterskel i vannfasen er lavere enn i fettfasen, konsekvensen er at smaksfeil kjennes lettere i mager ost.
 - Ved produksjon av mager ost er det viktig å velge en syrekultur som har liten evne til dannelse av bitre peptider.
- Noen av de ønskelige smakskomponentene som er dannet i mager ost kan ikke smakes fordi de vanskelig frigjøres fra den tette ostematriksen, som er vanskelig å tygge og er gummiaktig, spesielt når osten spises kald.
- Egentlig er det nok substrat av forskjellig type i mager ost til at det kan dannes tilstrekkelig høye konsentrasjoner av de ønskede smakskomponentene til at smaken skulle kunne sammenliknes med smaken i fet ost. Når dette ikke er tilfellet, må det skyldes manglende enzymatisk og mikrobiell aktivitet for at slike komponenter skal dannes i tilstrekkelige mengder.

Bitter smak kan utvikles tidlig i modningsprosessen, og er en vanlig smaksfeil i ost med lavt fettinnhold, dette skyldes ofte lavt saltinnhold og høyt tørrstoffinnhold i den magre osten. Hydrofobe forbindelser som er produsert via proteolysen vil smake mer bittert i magre ostetyper enn i helfete ostetyper da disse forbindelsene vil absorberes av fett. Melkefettet inneholder kortkjedete fettsyrer som når de frigis vil bidra til ostens smak. I ostetyper med redusert fettinnhold vil mengden av disse fettsyrene også reduseres, og osten vil kunne oppleves som om den har lite smak og mangler vesentlige smakskomponenter (Mistry, 2001).

2.1.2 Tekstur i mager ost

Utvikling av konsistens og tekstur i ost er avhengig av nedbrytningen av α_{s1} -kasein under modningen. Videre vil melkefettet gi en smidig konsistens i og med at fett finnes jevnt fordelt i kaseinmatriksen i osten. Når mye av fett fjernes i de magre ostene vil kasein spille en mye større rolle i teksturutviklingen i osten. Magre oster har ofte ufullstendig nedbryting av kasein, og dermed vil osten få en fastere og mindre elastisk, mer gummiaktig konsistens. Under ystingsprosessen av magre oster er det ofte høyere pH ved myseavtapp og det benyttes ofte lavere ettervarmingstemperaturer enn ved ysting av helfet ost. Dette medfører lavere innhold av chymosin i den magre osten og lavere plasminaktivitet, dette medvirker til at proteinnedbrytningen blir dårligere under modningen av osten. De nevnte ystingsbetingelsene med høyere pH og lavere ettervarmingstemperatur bidrar til ett høyere innhold av kalsium i osten, som også vil gi en fastere ost (Mistry, 2001).

2.1.3 Funksjonalitet til mager ost

Ostens funksjonalitet er viktig dersom osten skal brukes som ingrediens i andre næringsmidler. Funksjonelle egenskaper som smeltings-egenskaper, fett-/oljeutskillelse, rivings-egenskaper og

utseende påvirkes av ostens mikroflora og graden av proteolyse under ostens modning. Ostens utseende blir gjerne matt og gjennomskinnelig, dette kan forklares med fettrelaterte forandringer i lysspredning i de magre ostene (Mistry, 2001).

Mager ost har ofte dårlige smeltingsegenskaper, med begrenset dannelse av fritt fett som flyter ut ved smelting, dermed vil det lett dannes en uønsket hinne på overflaten under smelting (i helfet ost vil fritt fett danne ett lag på overflaten som hindrer fordamping), og i tillegg skjer det en kraftigere bruningsreaksjon ved smelting (Mistry, 2001).

2.2 Modning av mager ost

Ostens modning er de biokjemiske prosessene som foregår i osten, og som fører til omdannelse av fersk ostemasse til moden ost med en bestemt smak, tekstur og aroma. Innholdet av enzymer og ostens mikroflora, surhetsgrad, saltinnhold, vannaktivitet og temperatur er grunnleggende faktorer for ostens modning (Skeie, 2007).

Det er fire hovedreaksjoner som er involvert i modningen:

- Glykolysen, laktoseomsetningen/melkesyreforgjæringen hvor laktose -> laktat (melkesyre)
- Proteolysen, proteinnedbrytingen, hvor proteiner -> peptider -> aminosyrer
- Lipolysen, fettnedbrytningen, hvor fett -> frie fettsyrer
- Sitratomsetningen, dannelse av aroma og hullsetting, hvor sitrat -> acetat, diacetyl, acetoin og CO₂.

Hovedagenter som deltar i ostens modninger er:

- Rester av løpeenzym
- Bakterier fra brukssyren og deres enzymer
- NSLAB-bakterier og deres enzymer
- Melkens "opprinnelige" enzymer, spesielt proteinaser, blant annet plasmin.
- Tilsetningskulturer og deres enzymer, som for eksempel propionsyrebakterier

2.2.1 Glykolysen (laktoseomsetningen)

Laktoseomsetningen eller melkesyreforgjæringen sørger for omdannelse av laktose (melkesukker) til laktat (melkesyre). Melkesyrebakteriene fra brukssyrekulturen produserer melkesyre svært raskt, og vil senke pH til < 5,3 i løpet av 6 timer ved 30-37 °C (Skeie, 2007). Denne pH-senkningen er vesentlig for å konservere osten, og den vil hindre at uønskede mikroorganismer får mulighet til å vokse fram. Mesteparten av laktosen forsvinner fra ostemassen og ut i mysa under ysteprosessen, og restlaktosen som blir igjen i ostemassen bør forgjæres i løpet av de første 24 timene etter syring (Fox, McSweeney, Cogan, Guinee, 2004).

Laktoseomsetningen kan gå to veier:

- Homofermentativ laktoseforgjæring, hvor 1 mol laktose -> 4 mol laktat. Denne forgjæringen

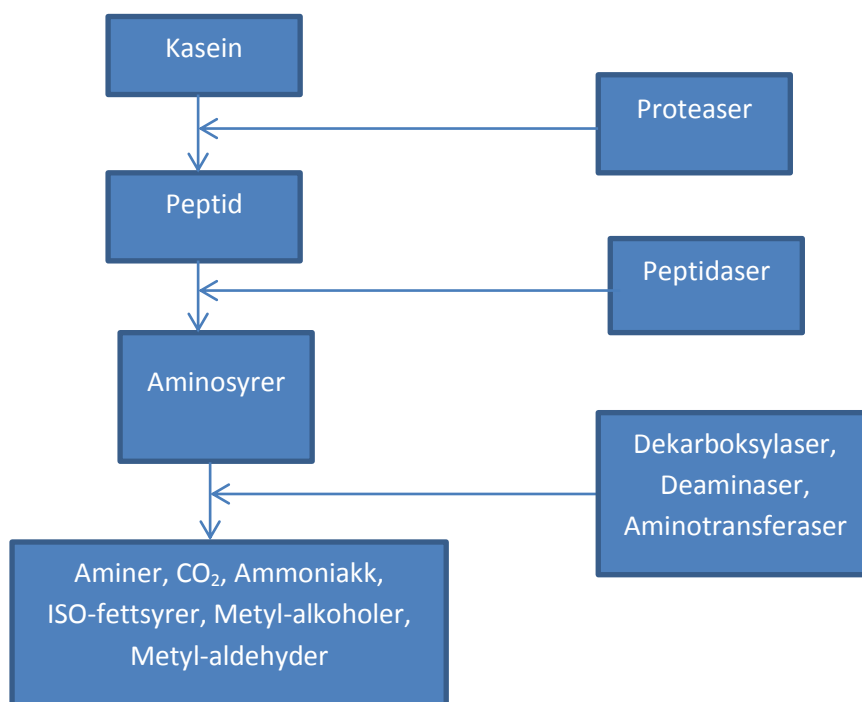
utføres av *Lactococcus*-stammene i brukssyre kulturen.

- Heterofermentativ laktoseforgjæring, hvor 1 mol laktose \rightarrow 2 mol laktat + 2 mol etanol + 2 mol CO₂ + 1 mol eddiksyre. Denne forgjæringen utføres av *Leuconostoc (Leuc.) mesenteroides* subsp. *cremoris* i brukssyre kulturen.

2.2.2 Proteolysen

Proteolysen er nedbrytning av proteiner som innebærer omdannelse av kaseinet i osten, og proteolysen gir viktige smakskomponenter i osten. I magre oster er det registrert mindre proteolyse enn i helfete oster.

Proteolysen kan framstilles som vist i figur 2.1:



Figur 2.1: Skjematisk framstilling av proteolysen under modning av ost.

Det er enzymer fra løpe og melkens egne proteaser, spesielt plasmin, samt enzymer fra melkesyrebakteriene som sørger for proteinnedbrytningen i osten (Walstra, Wouters & Geurts, 2005).

Proteolysen som skjer utover i modningen av osten vil medføre endringer i tekstur, lukt og smak (Skeie, 2007a):

- pH i osten øker siden det dannes ammoniakk under proteolysen.
- Osten vil få høyere vannaktivitet og bli tørrere utover i modningen, da proteolysen gir høyere vannbinding, på grunn av at peptidene, aminosyrene og karbonylforbindelsene binder vann.

- Endring av lukt og smak i form av egensmak fra aminosyrer og peptid, og i tillegg vil disse være substrat for katabolske reaksjoner som gir ulike smaksstoffer som for eksempler metyl keton.
- Frigjøring av smaksstoffer som har vært bundet til proteinet.

Løpens bidrag til proteolysen (Fox, McSweeney, Cogan & Guinee,2005):

- Løpe-enzymet har sin viktigste rolle i nedbrytning av kaseinet til peptider.
- Løpe-enzymet angriper K-kaseinet og utfører en spesifikk spaltning mellom aminosyre nr. 105 (fenyl-alanin) og nr. 106 (methionin). Denne spaltningen gir para-kappa-kasein og glyco-makro-peptid (GMP). Para-kappa-kasein er nøytralt, det består av aminosyrekjeden fra nr.1-105, og vil felles ut under løpningsprosessen. Glyco-makro-peptid (GMP) er negativt ladet, det består av aminosyrekjeden fra nr. 106-169, det er vannløselig og vil følge med mysa under syneresen under skjæring av ostekoagelet etter løpningsprosessen.
- Løpe-enzymet hydrolyserer α -s₁ kaseinet til α -s₁-I, som er viktig for at osten skal få elastisitet. α -s₁ kaseinet nedbrytes forholdsvis hurtig, innen 2 måneders lagring er 70-80 % hydrolysert.
- Omkring 7 % av løpen som tilsettes i ystemelka går over til osten hvor den absorberes av proteinet. Mengde restløpe i osten er pH-avhengig, jo lavere pH i osten – desto mer løpe i osten. Mye restløpe i osten vil medføre en kraftigere hydrolyse av α -s₁ kaseinet, dette vil gi en mer elastisk og smidig ost.
- Løpe-enzymet vil bli inaktivert ved høye temperaturer (> 50°C) under ettervarming.

Plasminets bidrag til proteolysen (Fox, McSweeney, Cogan & Guinee,2005):

- I likhet med løpe-enzymet har plasmin en viktig rolle i prosessen som medfører nedbrytning av kasein til peptider.
- Plasmin er en av de originære proteasene i melk. Ved overføring av plasmin-systemet fra melka til osten er plasmin, plasminogen og plasminogen aktivatorer assosiert til kaseinet. Derimot er hemmere av plasmin og plasmin aktivatorer assosiert til mysa, det medfører at det finnes lite igjen av disse i osten. Jo lavere pH ved myseavtapp, desto mindre av hemmerne blir med over i osten.
- Plasminogen aktiveres når temperaturen øker, det medfører at høyere ettervarmingstemperatur vil aktivere plasmin under modningen.
- Plasmin er mest aktivt ved nedbrytning av α -s₂ kasein til små peptider og nedbrytning av β -kasein til β -I, II, III-kasein.

Melkesyrebakterienes bidrag til proteolysen(Fox, McSweeney, Cogan & Guinee,2005):

- Melkesyrebakteriene har sin viktigste rolle i nedbrytningen av store peptider til små peptider.
- Melkesyrebakteriene enzymer er peptidaser som bidrar til modningen lengre ut i

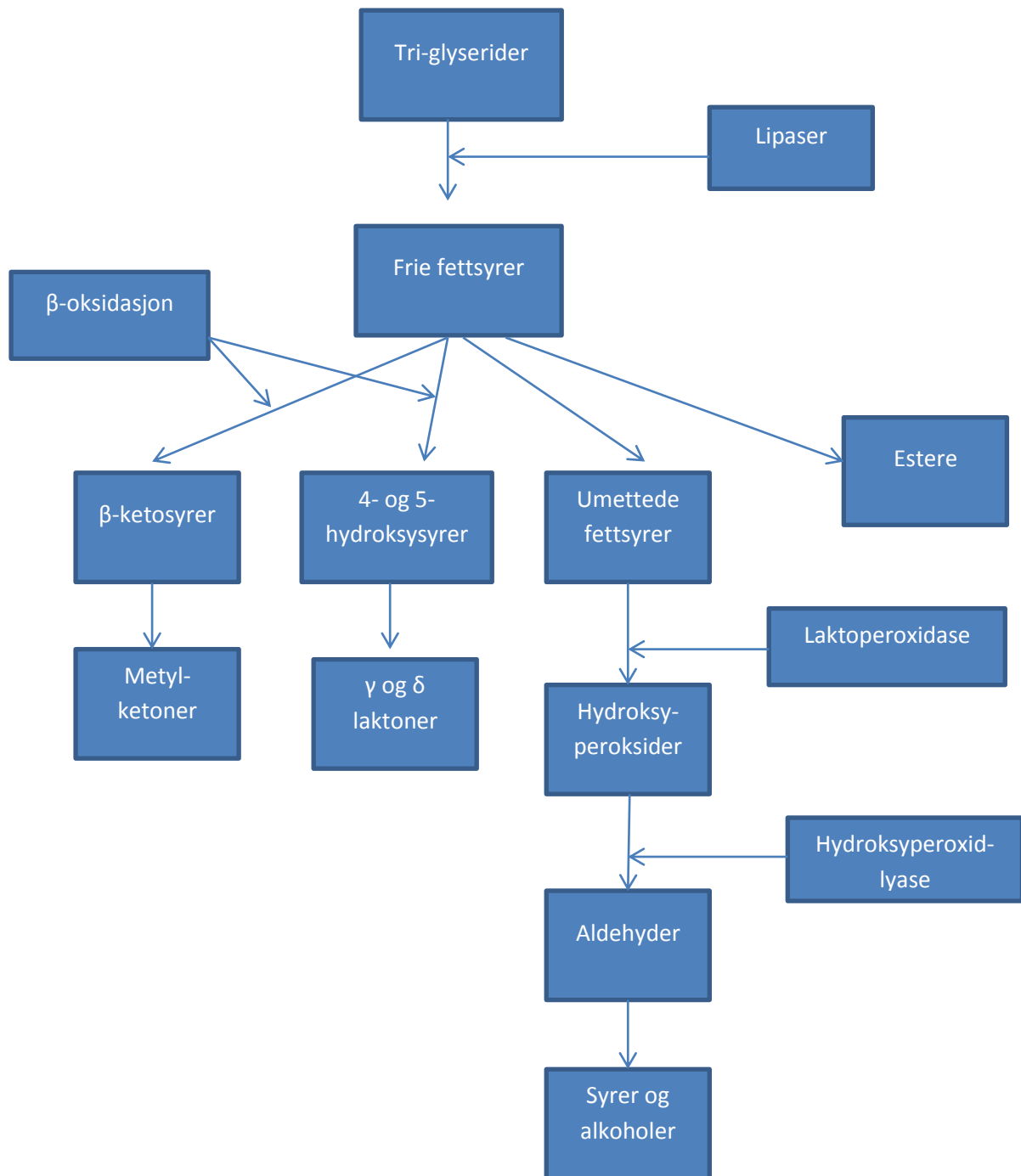
lagringstiden sammenliknet med løpen og plasminets bidrag. Det er enzymene fra døde melkesyrebakterier som er viktigst i modningsprosessen. Det er viktig at bakteriene går i oppløsning (autolyse) så fort de er døde, slik at enzymene frigjøres og kan starte «jobben» sin under modningen av osten.

- Melkesyrebakteriene er dårlige til å bryte ned α -s₁ kaseinet til α -s₁-I-kasein helt i starten av modningen. Men de kommer på banene etter hvert og bidrar i nedbrytning av α -s₁-I-kasein til små peptider, sammen med løpe og plasmin litt lengre ut i modningstiden.
- De bidrar i tillegg i nedbrytningen av β -kasein til β -I, II, III-kasein sammen med plasmin og løpe. Melkesyrebakteriene er imidlertid svært viktige i den videre nedbrytningen av β -I, II, III-kasein til små β -fragmenter.
- Enzymer fra NSLAB-floraen (non-starter-lactic-acid-bacteria) i osten er hovedsakelig proteolytiske og vil også bidra til proteolysen i tillegg til melkesyrebakteriene fra syrekulturen.

2.2.3 Lipolysen

Enzymatisk hydrolyse (lipolyse) av tri-glyserider til frie fettsyrer, glyserol-, mono- eller di-glyserider er svært viktig for utvikling av smaken i ost. Frie fettsyrer er en viktig indikator for dannelse av mange flyktige aromakomponenter som bidrar til smaken i osten. (McSweeney & Sousa, 2000). Lipolyse er en viktig biokjemisk reaksjon under ostemodningen som har vært mye studert i blant annet muggost, imidlertid er lipolysen lite studert i Gouda-typer oster hvor nivået av lipolyse er relativt lavt under modningen.

Lipolysen som skjer under modning av ost (Walstra et al., 2005) er skjematisk framstilt i figur 2.2.



Figur 2.2: Skjematisk framstilling av lipolysen under modning av ost.

Noe lipolyse er ønskelig under ostemodningen, men dersom lipolysen blir for kraftig kan osten få smaksfeil. Det er flere kilder til lipasene som finnes i osten, de viktigste er imidlertid originære lipaser som finnes i melka, lipaser fra brukssyreulturen, lipaser fra tilsetningskulturer og lipaser fra NSLAB.

2.2.4 Sitratomsetningen

Omsetningen av sitrat er viktig i ostetyper hvor man ønsker hullsetting, som for eksempel i Norvegia og Jarlsberg. Under sitratomsetningen produseres det CO₂, og denne gassproduksjonen er viktig for hullsettingen i osten.

Det er de aromaproduserende bakteriene i brukssyre-kulturen som sørger for omsetning av sitrat i osten. Det er den homofermentative *Lactococcus (Lc.) lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og den heterofermentative *Leuconostoc (Leuc.) mesenteroides* subsp. *cremoris* som har evne til å omsette sitrat. Sitrat brukes ikke som energikilde, og det dannes kun ved tilstedeværelse av sukkerarter som kan forgjæres, som for eksempel laktose (Walstra, Wouters & Geurts, 2005).

Omsetning av sitrat går via pyruvat, og kan skisseres som følger:

Sitrat → eddiksyre + CO₂ + diacetyl + acetoin + 2,3 butandiol

Diacetyl har stor betydning for ostens aroma, og diacetyl kan reagere videre med andre forbindelser. 2,3 butandiol er ett smakløst nedbrytningsprodukt fra diacetyl, men det kan omdannes videre til negative smakskomponenter.

2.3 Melkefettet

Melkefettet består hovedsakelig av triglycider (~98%), glycerolmolekyler med tre fettsyrer med kjeder i varierende lengde av karbon- og hydrogenmolekyler, som er samlet i små fettkuler. Melk er således en olje-i-vann emulsjon. Fettsyrene i melk består av korte og middels lange fettsyrer. Disse opptrer hver for seg i melk i konsentrasjoner lavere enn smaksterskelen, og de fungerer i synergi hvor de gir en ønsket og typisk smak i melk.

Det finnes svært mange fettsyrer med ulike egenskaper i melkefettet, disse egenskapene bestemmes av (Walstra et.al., 2005):

- Lengden på fettsyre-kjeden, de fleste inneholder fra 4 til 18 karbonatomer.
- Antallet dobbelt- bindinger, det vil si om melkefettet er mettet eller umettet fett, graden av umettethet har mye å si for kjemiske reaktivitet og autooksidasjon.
- Plasseringen av de doble bindingene, konjugert eller ikke konjugert fett.
- Konfigureringen av den doble bindingen, er den i cis- (begge hydrogenmolekyler på samme side av dobbeltbindingen) eller trans-form (ett hydrogen på hver side av dobbeltbindingen)
- Forgreining av karbon-kjeden. De aller fleste har ikke forgreininger.
- Noen fettsyrer inneholder en keto-gruppe (- (C=O)-) eller en hydrokso-gruppe (- (HCOH)-).

2.3.1 Fettets betydning for smak i ost

Melkefettet påvirker ostens tekstur positivt, og ostens smak og aroma har nær sammenheng med ostens tekstur. Melkefettet har i tillegg en egensmak som gjenspeiles i produktene avhengig av fettinnhold. Melkefettet kan under ostemodningen omdannes til komponenter som vil bidra positivt til ostens smak og aroma, men i for store konsentrasjoner kan det gi en negativ konsekvens, for

eksempel harskning av osten.

Den viktigste egenskapen til melkefettet er imidlertid at det vil fungere som løsningsmiddel for fettløselige smakskomponenter som er blitt dannet under ostens modning. I de magre ostetyperne vil det finnes lite fett som er fordelt rundt i ostemassen, konsekvensen av dette blir at det ikke finnes nok løsningsmiddel i de magre ostetyperne.

Fettets fordeling i osten (Abrahamsen, 2007a):

- Fettkulene i osten har varierende størrelse.
- I magre oster vil fettkulene være mindre og flere. Mange og små fettkuler fordelt utover i osten gir større overflate, og mer fettkulemembran.
- I en helfet ost vil fettkulene smelte sammen og danne store usymmetriske områder med fett i osten. I magre oster vil fettkulene ligge adskilt i kaseinmatriksen, og det vil ikke være noen sammenklumping av fettkulene.
- Det dannes væskesjikt/væskefase mellom fett og proteinmatriksen. Det er grunn til å tro at melkesyrebakteriene lever i denne grenseflata mellom fett og resten av ostematriksen.

2.3.2 Fettkulemembranen (MFGM)

Fettkulene i melk varierer i størrelse fra 0,1-15µm. Omkring ¾ av fettkulene er mindre enn 1µm. Hver fettkule er omgitt av en membran. Fettkulemembranen beskytter fettkulene mot ytre påvirkning. Sammensetningen av fettkulemembranen er totalt forskjellig fra både melkefettet og melkeplasmaet, og den er svært lik sammensetningen til cellemembranen. Alle komponentene i fettkulemembranen kommer fra den melkeproduserende cella. Omkring 70 % av membranmaterialet er proteiner, de resterende 25% er i hovedsak fosfolipider. Membranproteinene utgjør ca.1 % av alle proteinene i melka, og disse proteinene finnes kun i fettkulemembranen. Flere av membranproteinene er enzymer, blant annet alkaline fosfatase og xantin oxidase. Omkring 50 % av lipidene i fettkulemembranen er fosfolipider, av disse kan det nevnes sphingomyelin, lecitin (fosfatidyl choline) og fosfatidyl etanolamin (Walstra, Wouters & Geurts, 2005).

Det er grunn til å tro at melkesyrebakteriene bruker komponenter fra fettkulemembranen for å overleve i en tidlig fase av ostemodningen.

2.4 Melkens proteiner

2.4.1 Melkens proteiner

Proteinene i melk er helt unike, de har spesielle egenskaper som er svært interessante både ut fra ett teknologisk og ernæringsmessig synspunkt. Melk inneholder 3,2 % proteiner, og kumelk er en viktig ernæringsmessig kilde for essensielle aminosyrer (de aminosyrene kroppen vår ikke er i stand til å syntetisere selv).

Det finnes to “historiske grupper” av melkeproteiner, det er:

- Kasein, disse vil utfelles ved pH 4,6 og 20°C. Kaseinet benevnes ofte som ostestoffet i melka, og de utgjør 80 % av proteinet i melka. Det er størst andel av α_{s1} - og β -kasein.
- Myseprotein, disse er løselige ved pH 4,6, og de utgjør 20 % av proteinet i melka. Det er størst andel av β -lactoglobulin.

Proteinene består av lange kjeder med aminosyrer, nærmere bestemt L- α -aminokarboksyl-syrer. Ved en bestemt pH er aminosyrene er såkalte zwitter-ioner, som er både sure og basiske på samme tid. Amino-gruppen og karboksyl-gruppen kan reagere med hverandre og danne en peptidbinding med frigjøring av ett H₂O-molekyl. Det er spesielt 3 aminosyrer i proteinene som er vesentlige for melkeproteinenes struktur og oppbygning, det er prolin, cystein og serinfosfat. I kaseinet finnes mye prolin og serinfosfat. Serinfosfat binder kalsium som er av stor betydning for kaseinets evne til å danne miceller. Myseprotein inneholder mye cystein, som har høy løselighet i vann, dette medfører at myseproteiner er lett løselige i vann.

2.4.2 Mikropartikulert myseprotein (MMP)

Mikropartikulert myseprotein, forkortet til MMP i resten av oppgaven, er myseproteiner som har vært utsatt for en prosess hvor det foregår en kontrollert denaturering av myseproteinene. I prosessen benyttes ulike temperaturer som fører til denaturering. Ved oppvarming under bestemte kombinasjoner av tid og temperatur vil det globulære myseproteinet foldes ut, denatureres og aggregeres. I prinsippet vil proteinene da danne en gel, ved å denaturere og aggregere proteinene under påvirkning av skjærkrefter forstyrres geldannelsen, og proteinaggregatene danner partikler i stedet. Ved å styre denatureringsgraden, skjærkreftene og sammensetningen av råstoffet, kan partiklene skreddersys med hensyn på vannbindingsevne, størrelse og sensorisk kvalitet (munnfølelse).

Johansen & Skeie (2004) beskriver to ulike framstillingsprosesser for MMP som er utprøvd ved TINE FoU.

- Framstilling av MMP fra myse med lav proteinkonsentrasjon justert til 1,1-1,2 %. Myse behandles i en plate- eller rørvarmeveksler ved høy temperatur (100-115°C) og riktig holdetid (1-7 minutter). Varmebehandling etterfølges av ultrafiltrering og spraytørking. I denne prosessen er det registrert en uønsket pH-senkning, som blant annet medførte en kraftig påbrenning i varmeveksler.
- Framstilling av MMP fra myseproteinkonsentrat med høy proteinkonsentrasjon ~ 10 %, ved hjelp av 1-2 trinns skrapevarmeveksler, temperatur mellom 80-100°C, holdetid 1-2 minutter, etterfulgt av spraytørking. Det kreves spesialdesignete skrapevarmevekslere som har kraftige skjærkrefter for å forebygge uønsket aggregatdannelse av proteiner.

Det er flere faktorer som er avgjørende for å oppnå ønsket sluttprodukt, med aggregerte proteiner med jevn form og størrelse under mikropartikulering av myseproteiner. Det kan nevnes pH, ionestyrke, type ioner som er tilstede, tilstedeværelse av lavmolekylære substanser, tid, temperatur og skjærkrefter (Sanchez & Paquin, 1997).

Mikropartiklernes funksjonelle egenskaper er annerledes, og ofte bedre enn de native proteinene produktet stammer fra. Mikropartikulerte produkter kan brukes som fetterstattere, teksturdanner, emulgatorer og som mikrokapsler innen kosmetisk, farmasøytisk eller medisinsk industri (Renard, Lavenant, Sanchez, Hamar & Horne, 2002)

Siden mikropartikulerte produkter har evne til å simulere fett, er de aktuelle som ingredienser i fettreduerte produkter. Å erstatte fett i et produkt er svært vanskelig, det innebærer at fettets egenskaper, som påvirker blant annet produktenes smak, lukt og tekstur må erstattes.

Mikropartikulert myseprotein vil i større eller mindre grad binde og holde på vannet i produktet der det anvendes som ingrediens. Dette vil kunne gi en økt viskositet av vannfasen og det kan dannes en løs gel. Produkter som inneholder mikropartikler vil oppleves som om de inneholder mer fett på grunn av den økte vannbindingen. Først og fremst vil mikropartikulære produkter erstatte fettets egenskap relatert til tekstur (Johansen & Skeie, 2004).

Ifølge Johansen & Skeie (2004) påvirkes de funksjonelle egenskaper hos MMP av:

- Proteinenes denatureringsgrad. Skal proteinene kunne aggregere og danne partikler må de først foldes ut/denaturere, jo høyere grad av denaturering, jo større er muligheten for partikkeldannelse. I de fleste tilfeller ønskes en denatureringsgrad på over 90 %, men ved framstilling av MMP fra myseproteinkonsentrat for anvendelse i lavfett ost er det ønskelig med så lite som 50 % denaturering. Denatureringsgraden kan måles via kromatografiske metoder.
- Riktig partikkelstørrelse er helt avgjørende for den sensoriske opplevelsen av produktet. Det er ønskelig å produsere partikler med en størrelse så nær 1µm som mulig. Er partiklene over 10 µm vil de gi en sandet eller melen munnfølelse, mens partikler mye mindre enn 1 µm kan oppleves som "tomme". Partikkelstørrelse kan blant annet måles ved lysmikroskopi, eller i en partikkelmåler som for eksempel Mastersizer som finnes hos TINE FoU.
- Vannbindingsevnen til MMP. Det er utviklet sentrifugeringsmetoder som karakteriserer hydreringsgraden (Spiegel, 1999).
- Sensorisk bedømmelse av produktet etter partikulering for å karakterisere produktet i forhold til munnfølelse og tekstur. Vurdering av glatt, kremet, melen, kornet eller sandet munnfølelse, og vandig, flyktig, tyktflytende, pastalikhende eller klebrig tekstur.
- De funksjonelle egenskapene til produkter som inneholder MMP vil også påvirkes av varming og andre prosessbetingelser, effektene av disse må vurderes opp imot ønsket egenskap i sluttproduktet.
- Vannbindingsevnen og de sensoriske endringene som oppleves i produktet er de viktigste funksjonelle egenskapene til MMP.

Bruk av mikropartikulerte myseproteinpartikler i osteproduksjon betinger at partiklene er så små at de ikke forstyrrer nettverksdannelsen, samt at de er så store at de ikke forsvinner med mysa under myseavtapping. Partiklene vil da holdes tilbake i ostematriks etter at kaseingelen er dannet. Siden partiklene har økt vannbindingsevne, og vil binde mere vann i tørrstoffet, medfører tilsetning av MMP at ostens tekstur blir mykere. Sensorisk vil denne osten oppleves som fetere eller mer kremaktig enn oster uten tilsatt MMP (Steffl, Schreiber, Hafenmair & Kessler, 1999)

Forsøk gjennomført ved TINE FoU viser at MMP har potensiale i lavfettoster av Norvegia-typen, men for å oppnå optimal kvalitet kreves en del ystingstekniske endringer (Johansen & Skeie, 2004).

2.5 Kjernemelk

Kjernemelk er et verdifullt biprodukt fra produksjon av smør. Utseende og sammensetning av kjernemelk minner om skummet melk. Corredig & Daglish (1997) hevdet at det ville være særlig interessant å studere proteiner isolert fra fettkulemembranen fra industriell kjernemelk, med bakgrunn i disse proteinenes funksjonelle egenskaper. Bruk av kjernemelk som ingrediens i andre produkter for om mulig å bedre de emulgerende egenskapene er interessant (Abrahamsen, 2007b).

Varmebehandling av kjernefløte/-melk

Normal pasteuriseringstemperatur for kjernefløte har vært 85-95 °C i 15 sek (høypasteurisering). Ved så høye temperaturer vil det oppstå høy grad av denaturering av myseproteinene under varmebehandlingen. Dette har konsekvenser for kjernemelkas fysiske egenskaper. Bjørke (2004) viste at ost produsert med tilsetning av kjernemelk fra lavpasteurisert fløte (72-73 °C i 15 sek) hadde bedre kvalitet enn ost produsert av kjernemelk fra høypasteurisert fløte. Smaksfeil som «harsk» og «sur» var mer framtrødende i ost produsert av kjernemelk fra høypasteurisert fløte. Konsistens i mager ost tilsatt kjernemelk fra lavpasteurisert fløte var mindre gummiaktig enn ost tilsatt kjernemelk fra høypasteurisert fløte.

2.6 NSLAB (Non-starter-lactic-acid-bacteria)

2.6.1 Hva er NSLAB?

Non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) er en samlebetegnelse for alle ekstra melkesyrebakterier (sekundærflora) utenom syrekulturen som finnes i osten. NSLAB kan vokse til 10^6 - 10^8 cfu/g ost tidlig i ostens modning. Tidligere var det mest fokus på at tilstedeværelse av NSLAB kunne medføre kvalitetsproblemer som sprekker og uønsket hulldannelse, men fra omkring 1995 ble fokus dreid over mot at enkelte typer og stammer av NSLAB kunne ha positive effekter og medvirket til ønsket aroma og god smak i osten. Til tross for at det er nærmere 40 år siden første gang det ble registrert NSLAB i ost, er fremdeles rollen til de heterofermentative lactobasillene i tilknytning til dannelse av aroma og smak i osten noe uavklart. Det er flere forskningsmiljøer som arbeider med NSLAB. Bruk av heterofermentative lactobasiller som en tilsetningskultur er fremdeles helt i startfasen (Skeie, 2007b).

NSLAB er i all hovedsak heterofermentative *Lactobacillus*. Ifølge Jordan & Cogan (1993) og Lindberg, Christiansson, Rukke, Eklund & Molin (1996) er det artene *Lactobacillus(Lb.) paracasei* subsp. *paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum* og *Lb. curvatus* som det er mest vanlig å finne i ost.

NSLAB kan ha sin opprinnelse i melken som brukes til ysting, de kan finnes i råmelka ved innveing på meieriet, de kan komme til via forurensing fra meieriutstyr før pasteurisering eller ved reinfeksjon etter pasteurisering. Omgivelsene og miljøet på meieriet, saltlaken, samt tilstedeværelse av biofilm er andre viktige kilder.

I ost av Norvegia-typen vil laktose være oppbrukt av syrekulturen, NSLAB må derfor være gode til å utnytte en alternativ energikilde. Williams, Withers & Banks (2000) fant at NSLAB kan utnytte mange sukkerarter som laktose, glukose, galaktose, fruktose og spesielt ribose, og gi dannelse av L- eller DL-laktat, men uten CO₂-produksjon. Noen stammer kan i tillegg utnytte laktat, sitrat, aminosyrer og glycolipider. NSLAB kan vokse ved lav pH (~5,0), de aksepterer saltinnhold fra ~ 1-6 % i vannfasen, og kan leve i anaerobe miljø. De er gram positive, katalase-negative, ikke bevegelige, korte staver som kan vokse ved 15 °C. *Lb. paracasei* subsp.*paracasei* og *Lb. rhamnosus* kan til og med vokse ved temperaturer opptil 45 °C, men det kan ikke *Lb. plantarum*. *Lb. paracasei* og *Lb. rhamnosus* kan overleve pasteurisering ved 72-75°C i 15 sekunder (Jordan & Cogan,1999).

De ulike stammene av heterofermentative lactobasiller har svært ulike egenskaper og påvirker ostens kvalitet helt forskjellig, alt fra negative effekter via ingen effekt til positive effekter.

Proteinase aktiviteten hos heterofermentative lactobasiller synes å være lavere enn hos homofermentative lactobasiller. Men peptidase aktiviteten hos noen heterofermentative stammer av lactobasiller medvirker i stor grad til hydrolyse av bitre peptider til ikke-bitre peptider med frigjøring av frie amino syrer (Gagnaire, Thierry & Leonil, 2001). Blant annet har *Lb. casei* subsp. *casei* LLG en aktiv aminopeptidase og en prolin-spesifikk peptidase som motvirker bitter smak (Park, Gibs & Lee, 1995)

Aminosyre-forgjæringen og produksjon av aromaforbindelser, spesielt glutamat-dehydrogenase-aktiviteten (GDH-aktivitet) hos heterofermentative lactobasiller synes å være en av de viktigste egenskapene i forhold til bruk av disse lactobasillene som tilsetningskultur i tillegg til syrekulturen i osteproduksjon. GDH-aktiviteten sørger for tilgjengelig α -ketoglutarat for transaminering til andre aminosyrer og aromaforbindelser (Rijnen, Courtin, Gripon & Yvon, 2000). GDH-aktiviteten er avhengig av stamme det er av bakterien, omkring halvparten av *Lb.plantarum* og *Lb.paracasei* har GDH-aktivitet (Tanous, Kecronczyk, Helinck, Chambellon & Yvon, 2002).

Antimikrobielle aktiviteter hos Laktobasiller har vært kjent i mange år. Mange heterofermentative Laktobasiller, blant annet *Lb.plantarum*, *Lb.rhamnosus* og *Lb.curvatus* produserer bacteriociner. Disse kan hemme veksten av flere typer gram positive bakterier som enterokokker, clostridier, *Staphylococcus aureus* og *Listeria* ssp., men øvrige melkesyrebakterier vil også bli hemmet (Klaenhammer, Fremaux & Hechard, 1994; Malik, Kumar, Nageswara & Matur, 1994).

I perioden 1998-2003 ble det gjennomført ett prosjekt som omhandlet modning av ost, studier av mikroorganismer og metabolitter i norsk og svensk ost, i regi av Norges Forskningsråd og meieriindustrien. Målet med prosjektet var å undersøke om det var forskjeller på mikrofloraen ved ulike meierier, og om sammensetningen av NSLAB endret seg over tid. Det ble hentet inn Norvegia-ost fra 3 meierier i Norge (TINE) og Präst-ost fra 3 meierier i Sverige (ARLA), totalt 7 ystinger fra hvert meieri i 1999. Osten ble analysert etter 30, 90, 180 og 270 dagers modning. Fra ett av uttakene ble det gjennomført NSLAB isolering, totalt ble det isolert 135 isolater fra Norvegia og 140 isolater fra Präst. Det ble funnet stor variasjon i mikrofloraen i osten gjennom modningen, både i forhold til hvilket meieri som hadde produsert osten og modningstid. NSLAB floraen var dominert av *Lb.paracasei*. Konklusjonen på prosjektet var at egenskapene til NSLAB isolat behøver videre identifisering og karakterisering, spesielt i forhold til utvikling av smak og aroma i ost. Samt at det bør utføres flere ystingsforsøk for å se på effekt av tilsatt NSLAB stamme/stammer både i mager og

helfet ost (Østlie, Eliassen, Florvaag & Skeie, 2004; Østlie, Eliassen, Florvaag & Skeie, 2005).

2.6.2 Forsøk med tilsetning av LAB i TINE FoU

I 2006 og 2007 ble det gjennomført to ystingsforsøk med tilsetning av Choozit Flavogard, en frysetørket renkultur av *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* for å redusere besk/bitter smak i Norvegia 16 %. Denne kulturen har høy aminopeptidase-aktivitet, og er forventet å kunne redusere/forhindre bitter smak i osten og i tillegg ha en positiv effekt på ostens konsistens (Heiberg, 2006; Heiberg, 2007).

I det første forsøket ble det tilsatt 1 og 2 enheter Flavogard, og i det andre forsøket ble mengden økt til 2 og 6 enheter.

Resultatene fra disse to forsøkene viste at:

- Tilsetning av Flavogard reduserte ikke besk/bitter smak i Norvegia 16 %.
- Ost tilsatt 6 enheter Flavogard hadde høyere pH etter 16 ukers modning, dette kan indikere at det har skjedd en dypere modning i denne osten.
- Tilsetning av Flavogard hadde større effekt på konsistensegenskaper enn på lukt/smak.

2.6.3 Prosjekt identifisering og anvendelse av NSLAB i ost.

TINE FoU-prosjektet "Identifisering og anvendelse av NSLAB i ost" har som hovedmål å styrke, utvikle og stabilisere smak og konsistens i TINE's hvitoster, vellagrede oster og nye spesialoster, ved å bruke NSLAB-isolater fra oster med høy sensorisk kvalitet (Øyaas, 2008).

Prosjektet er ett samarbeid mellom TINE FoU-Senter, IKBM og SINTEF. Oppstart var i 2009 og prosjektet er planlagt avsluttet i 2013.

Ett av delmålene for prosjektet var å isolere NSLAB fra Norvegia og Jarlsberg, som hadde høy sensorisk kvalitet under modning av osten. Deretter analysere, karakterisere og velge ut potensielle isolat av NSLAB for utprøving i osteproduksjon. Hypotesen bak dette var at om man isolerer NSLAB fra gode TINE oster (god smak/aroma og konsistens/tekstur), så kan man dyrke fram disse som spesialkulturer som kan tilsettes for å gi ønskede egenskaper i Norvegia, Jarlsberg og nye spesialoster. Det er spesielt interessant å prøve ut isolater av NSLAB i Norvegia og Jarlsberg med redusert fettinnhold for å bedre kvaliteten i disse ostene.

I arbeidet med forsøk 3 i min masteroppgave fikk jeg mulighet til å prøve ut to av disse spesialkulturene som var isolert fra god ost.

3. Materialer og metoder

3.1 Forsøksdesign

I denne oppgaven ble det produsert en fast hvitost av Norvegia-typen med ca. 10 % fett. Valg av fettinnhold ble styrt av at TINE SA har en ost i markedet med ca. 16 % fett, for en tid tilbake ble det

lansert en ost med ca.4 % fett, som nå er trukket fra markedet. I samråd med fagleder hvitost i TINE FoU, Rolf Heskestad ble det besluttet å produsere en ost med ca. 10 % fett. Argumentene for dette valget var at dersom en klarte å finne en faktorkombinasjon som fungerte på en 10 % ost så ville det i alle fall fungere på en 16 % ost.

For lettere å holde oversikten over effektene av de ulike forsøksfaktorene ble det ble valgt å kjøre forsøkene i to trinn:

- I trinn 1 var målet å finne fram til den optimale kombinasjonen av tilsetning av kjernemelk og MMP i ystemelka, som gav forbedret konsistens i osten.
- I trinn 2 ble det gått videre med den optimale kombinasjonen av kjernemelk og MMP, denne ble tilsatt to ulike stammer av LAB isolert fra god ost, for å se om tilsetning av LAB kunne gi forbedret smak i mager ost.

Det ble gjennomført 3 omganger med forsøksystinger:

1. Forsøk 1, gjennomført 06.10. 2009. Ysting av kontrollkar, 4 ystinger (dagnr. 279) med varierende etterrøringsstid.
2. Forsøk 2, gjennomført uke 45-46-47 i 2009. Faktorforsøk med tilsetning av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein, 20 ystinger (dagnr. 307, 309, 314, 316, 321)
3. Forsøk 3, gjennomført uke 45 i 2010. Faktorforsøk med tilsetning av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein og LAB, 6 ystinger (dagnr. 313, 315).

Forsøk 1

Forsøksoppsett for forsøk 1 med bruk av varierende etterrøringsstid er vist i tabell 3.1

Tabell 3.1: Forsøksoppsett for ystingsforsøk med ulik etterrøringsstid, F1.

Blokk	Dag	Kar	Ettorrøringsstid
1	279	1	25 min
1	279	2	30 min
1	279	3	35 min
1	279	4	40 min

Hovedformålet med forsøk 1 var å finne fram til den optimale ystingsteknikken som gav ønsket tørrstoffinnhold i osten, uten tilsetning av verken kjernemelk, mikropartikulert myseprotein eller LAB, ved hjelp av variasjon i etterrøringsstiden.

Forsøk 2

Forsøk 2 var satt opp som ett faktorforsøk med ulike nivåer og kombinasjoner av tilsetning av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein i ystemelka. Ulike nivåer av tilsetningene ble beregnet i forhold til total mengde ystemelk i ystekaret på 350 liter. Det ble benyttet ett nivå på 15 % kjernemelk, dette tilsvarte 52,5 liter kjernemelk av total mengde på 350 liter i ystekaret. Av myseprotein ble det benyttet to nivåer på 3 % og 6 % tilsetning, dette tilsvarte henholdsvis 10,5 liter og 21 liter mikropartikulert myseprotein av total mengde på 350 liter i ystekaret.

Forsøksoppsett for forsøk 2 med tilsetning av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein er vist i tabell 3.2.

Tabell 3.2: Forsøksoppsett for ystingsforsøk med tilsetning av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein i ulike nivåer, F2

Blokk	Dag	Kar	Kjernemelk	Mikropartikulert myseprotein
1	307	1	Uten	Uten
1	307	2	Uten	Med 3 %
1	307	3	Uten	Med 6 %
1	307	4	Med 15 %	Uten
1	309	1	Med 15 %	Med 3 %
1	309	2	Med 15 %	Med 6 %
2	309	3	Uten	Uten
2	309	4	Uten	Med 3 %
2	314	1	Uten	Med 6 %
2	314	2	Med 15 %	Uten
2	314	3	Med 15 %	Med 3 %
2 blokkkontroll	314	4	Uten	Med 6 %
2	321	1	Med 15 %	Med 6 %
3	321	2	Uten	Uten
3	321	3	Uten	Med 3 %
3	321	4	Uten	Med 6 %
3 blokkkontroll	316	1	Uten	Uten
3	316	2	Med 15 %	Uten
3	316	3	Med 15 %	Med 3 %
3	316	4	Med 15 %	Med 6 %

Hovedformålet med forsøk 2 var å finne fram til den optimale tilsetningsmengden av mikropartikulert myseprotein i kombinasjon med tilsetning av kjernemelk, for å oppnå ønsket konsistens og smak. Forsøk 2 var på totalt 20 ystinger. Forsøket var inndelt i 3 blokker med 6 ystinger i hver blokk, totalt 18 ystinger. I tillegg ble det lagt inn 2 kar som blokkkontroll som medførte totalt 20 kar i forsøket. I utgangspunktet ble det ble ystet i randomisert rekkefølge i 5 dager med 4 kar hver dag. Men på grunn av at det ble levert fersk kjernemelk kun 2 ganger i løpet av forsøket (til dag 304 og dag 314) ble det valgt å bytte om rekkefølgen på dag 316 og 321, siden det var 3 ystinger med kjernemelk-tilsetning planlagt til dag 321 og kun 1 ysting med tilsatt kjernemelk planlagt til dag 316 (dette kommer fram i tabell 3.2).

Resultater fra forsøket ble behandlet statistisk ved hjelp av programmet Minitab. Det ble utført variansanalyse med General Linear Model (GLM), med Dag, Kjernemelk, og ulike nivåer av MMP som forsøksfaktor. Det ble benyttet Tuckeys «last significant difference test» i Minitab for å finne forskjeller mellom de tre nivåene av MMP.

Forsøk 3

Forsøk 3 var satt opp som faktorforsøk med tilsetning av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein og to ulike stammer av LAB (lactic-acid-bacteria).

I tabell 3.3 presenteres de ulike faktorkombinasjonene som ble benyttet i forsøk 3.

Tabell 3.3: Forsøksoppsett for ystingsforsøk med tilsetning av LAB, F3

Blokk	Dag	Kar	Kjernemelk	Mikropartikulert myseprotein	LAB
1	313	1	15 %	3 %	Ingen
1	313	2	15 %	3 %	LAB 18
1	313	3	15 %	3 %	LAB 36
2	315	1	15 %	3 %	Ingen
2	315	2	15 %	3 %	LAB 18
2	315	3	15 %	3 %	LAB 36

I forsøk 3 ble det gått videre med den mest lovende kombinasjonen av kjernemelk og mikropartikulert myseprotein, og det ble i tillegg tilsatt to ulike typer av LAB som var isolert fra «god ost» gjennom FoU- prosjektet «Identifisering og anvendelse av NSLAB i ost». Bare én stamme ble benyttet i hvert ystekar tilsatt LAB. De to isolerte stammene ble dyrket opp i MRS-buljong (Laktobazillen-MRS-bouillon, levert av Difco) med 1 % poding i buljongen. Tilsetning i ystekaret var på 400 ml, som tilsvarer 0,11 % poding av total mengde ystemelk i karet.

De to LAB-stammene som ble benyttet var:

- LAB 18, *Lb. plantarum*, isolert fra 16 % Norvegia fra TINE Meieriet Voll ved 32 ukers alder.
- LAB 36, *Lb. casei/Lb. paracasei*, isolert fra 27 % Norvegia fra TINE Meieriet Nærbø ved 24 ukers alder.

Tallene som er angitt i tabellene over under kolonnene dag og kar beskriver dagnummer og karnummer på hver ysting. Ysting 279-1 er således ost som er ystet på dagnummer 279 (av 365 dager i ett år) og karnummer 1 denne dagen. I løpet av en ystingsdag ble det produsert maksimalt 4 kar.

Alle ystinger ble gjennomført i Pilotanlegget ved Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap i Ås.

Resultater fra forsøket ble behandlet statistisk ved hjelp av programmet Minitab. Det ble utført variansanalyse med General Linear Model (GLM), med Dag og LAB som forsøksfaktor. Det ble benyttet Tuckeys «last significant difference test» i Minitab for å finne forskjeller mellom de tre nivåene av LAB.

3.2 Produksjon av ost

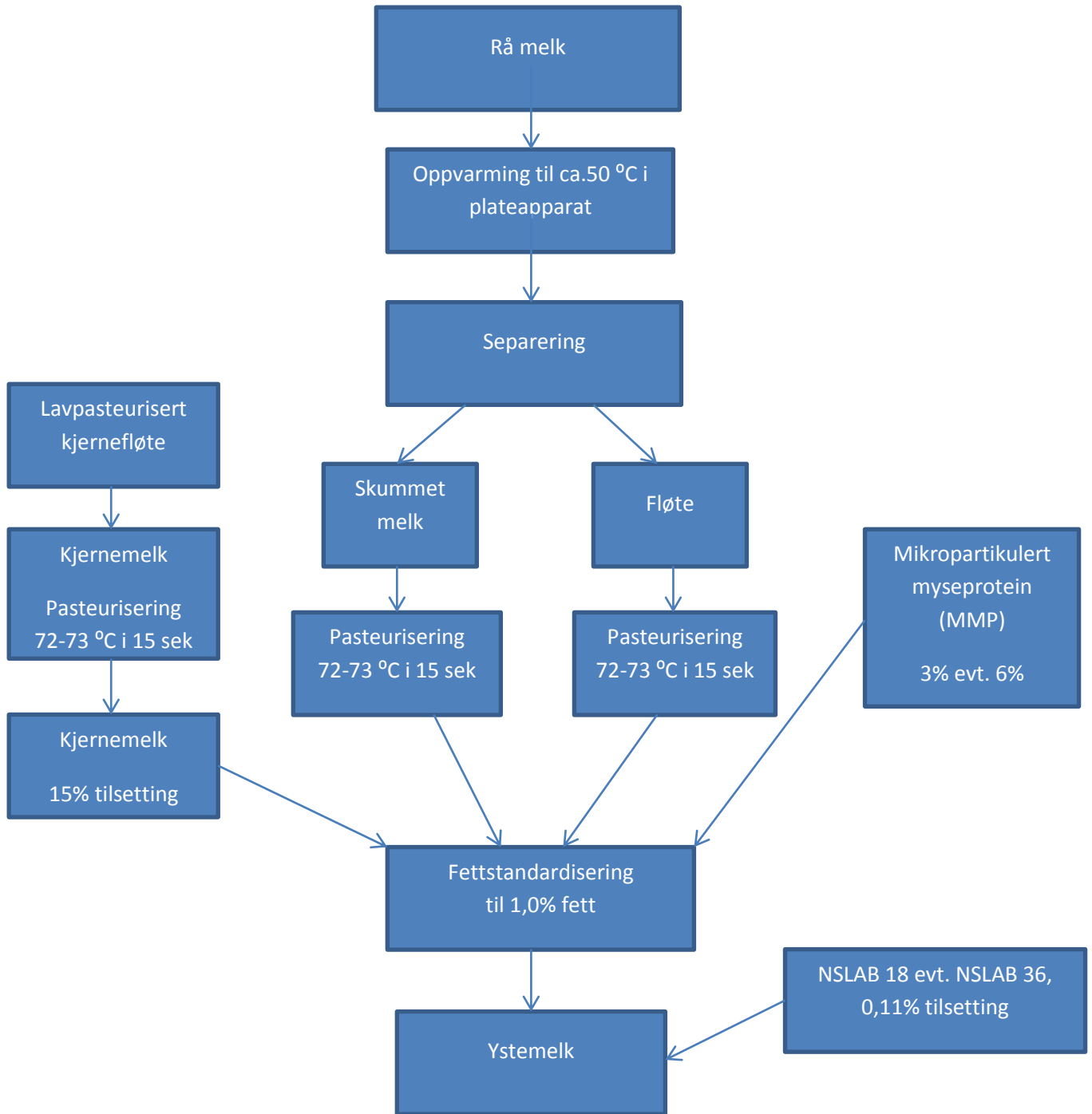
3.2.1 Råstoff og melkebehandling

Melka som ble benyttet til ysting ble levert med tankbil fra TINE SA, hoveddelen av melka stammet fra fjøset ved UMB. Melka ankom forsøksmeieriet dagen før ysting var planlagt, den ble pumpet over på en gårdstank og oppbevart ved temperatur <4 °C natta over.

Kjernemelka ble levert på 200 liters containere fra TINE Meieriet Tolga. Kjernemelka ble oppbevart i kjølerom ved temperatur <4 °C fram til ystingsdagen. Kjernemelkas alder ved ysting varierte mellom 1 og 3 dager, med unntak av en ysting i F2, 321-1, hvor kjernemelka var 8 dager ved ysting (denne kjernemelka var pasteurisert 5 dager før ysting, oppbevart på kjølerom, deretter varmet i vannbad til 60 °C og avkjølt til 32 °C før tilsetting i ystekaret).

Mikropartikulert myseprotein ble levert av TINE Meieriet Verdal. Ved TINE Meieriet Verdal er det montert ett pilotanlegg for produksjon av MMP, dette pilotanlegget benyttes til forsøksproduksjon av MMP i TINE. Den første leveransen ble levert i 200 liters container, men senere ble det levert på 25 liters plastkanner på grunn av utfordringer knyttet til fylling av containere på Verdal, samt utfordringer knyttet til mikrobiologisk holdbarhet på produktet ved lang kjølelagring før bruk. Dette medførte flere leveranser enn opprinnelig planlagt i løpet av forsøk 2.

I figur 3.1 presenteres et flytskjema over råstoff- og melkebehandling i forsøkene.



Figur 3.1 Flytskjema over råstoff- og melkebehandling

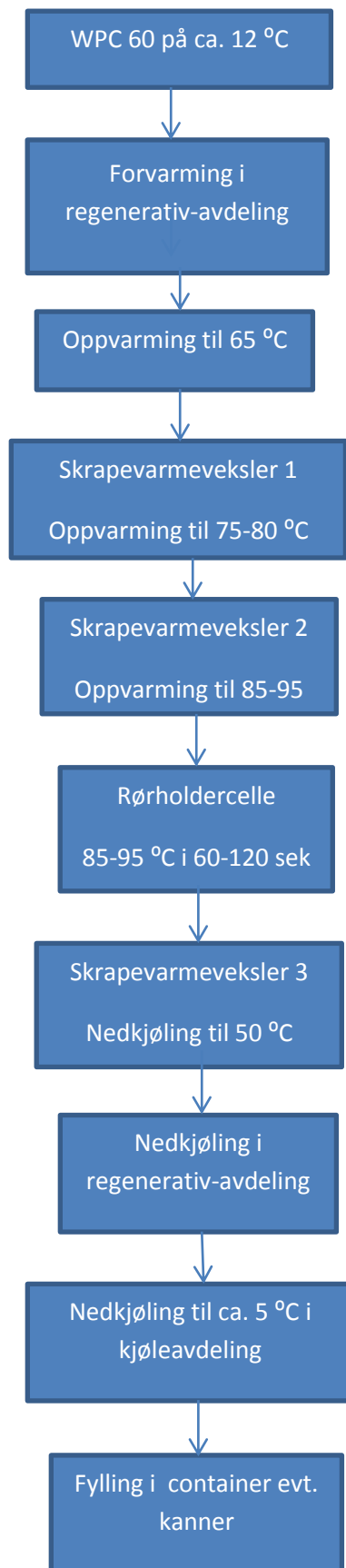
Kjernemelka ble varmebehandlet i 3 omganger:

1. Ordinær pasteurisering av rå melk ved levering på TINE Tolga ved 72-73 °C i 15 sek
2. Pasteurisering av kjernefløte etter separering på TINE Tolga ved 72-73 °C i 15 sek
3. Pasteurisering av kjernemelka før ysting ved forsøksmeieriet ved UMB, 72-73 °C i 15 sek

Ved produksjon av ystemelk ble tilsetning av fløte og kjernemelk til skummet melken beregnet ut fra kjent fettinnhold i fløte og kjernemelk i forhold til ønsket fettinnhold på ca. 1,0 % i ystemelka.

Mikropartikulert myseprotein var produsert med utgangspunkt i myseproteinkonsentrat med 60 % protein (WPC 60). Som nevnt i kapittel 3.2.1 oppstod en utfordring når det gjaldt den mikrobiologiske kvaliteten på det mikropartikulerte myseproteinet. Ifølge J.O. Sætre ved TINE Meieriet Verdal (2009) var det ikke utført holdbarhetsanalyser av det mikropartikulerte myseproteinet som ble produsert i Verdal, men han var av den formening at så lenge produktet ikke ble rekontaminert så burde det holde akseptabel kvalitet over en 2-ukers periode, forutsatt oppbevaring på kjølerom. Imidlertid viste det seg utover i forsøk 2 at den mikrobielle kvaliteten ble vesentlig forringet. Det ble benyttet mikropartikulert myseprotein fra samme leveranse til de fire første ystingsdagene (dagnr.307-309-314-316) i forsøk 2. Dette medførte at alderen på mikropartikulert myseprotein varierte fra 4 dager (på dag 307) til 13 dager (på dag 316). På dagnr. 314 ble det påvist vesentlig høyere totaltall bakterier i ystemelka hvor det var tilsatt mikropartikulert myseprotein, dette gav en sterk mistanke om at den mikrobielle kvaliteten i det mikropartikulerte myseproteinet ikke var så bra som ønsket. Ved ysting på dagnr. 316 ble det påvist høye verdier av psykrotrofe bakterier og *Bacillus cereus* i det mikropartikulerte myseproteinet. Det ble derfor besluttet å få tilsendt en ny leveranse til den siste ystingsdagen i forsøk 2. Til ysting på dag 321 ble det således benyttet en ny leveranse av mikropartikulert myseprotein hvor alder på ystingstidspunktet var 4 dager.

I figur 3.2 presenteres et flytskjema som viser produksjonsprosessen for mikropartikulert myseprotein fra WPC60.

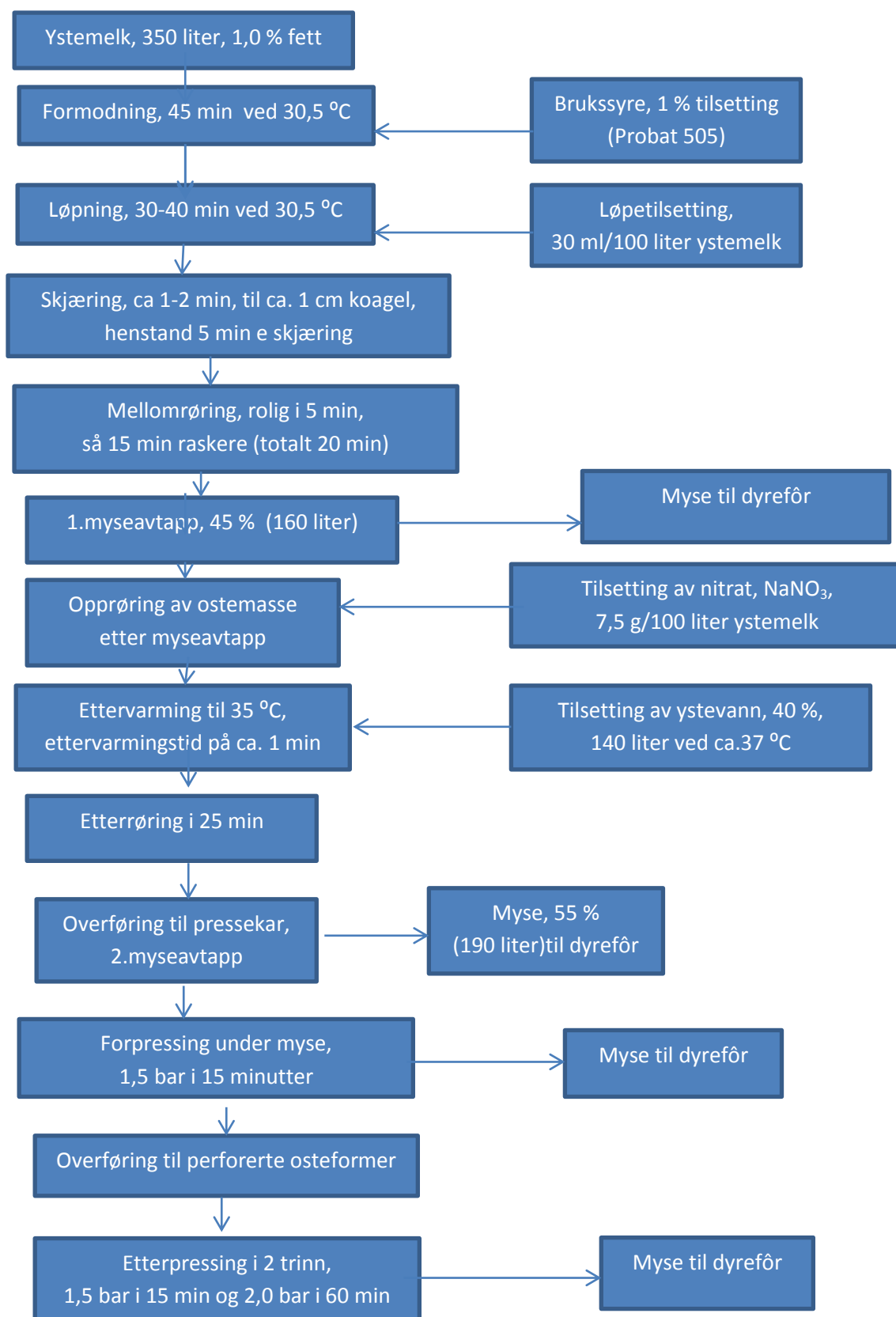


Figur 3.2 Produksjon av mikropartikulert myseprotein fra WPC60.

3.2.2 Ysteteknikk

Ystingsteknikk for forsøkene ble satt opp i samråd med faglig leder hvitost i TINE SA, Rolf Heskestad. Det ble tatt utgangspunkt i produksjonsanvisningen som TINE SA benytter i sin produksjon av TINE lettere Norvegia med 16 % fett. Det ble gjort noen tilpasninger i forhold til valg av syrekultur og i forhold til type ystekar og pressekar i Pilotanlegget ved IKBM, samt lagringsbetingelser for osten utover i modningen.

I figur 3.3 vises et flytskjema for produksjonsprosessen av mager Norvegia-type ost.



Figur 3.3 Flytskjema for produksjon av mager Norvegia-type ost.

Før ysting ble alt utstyr som skulle benyttes desinfisert. Ystekar og pressekar ble varmet med fuktig steam. Løst utstyr som skjæregrinder og delestyr ble steamet i lukket steamkasse før bruk. Alt utstyr som kom i direkte berøring med ostemasse eller myse ble oppbevart i 0,015-0,020 % klorvann når det ikke var i bruk. Til tross for denne behandlingen var det noen ystinger i løpet forsøkene som ble reinfisert med koliforme bakterier. Osteformene ble lagt i såpevann etter bruk, deretter vasket og lagt i klorvann over natta før bruk.

Rå melk ble separert ved ca. 50 °C, deretter ble skummet melk pasteurisert i melkepasteur ved 72-73 °C i 15 sekunder, og fløte pasteurisert i fløtepasteur ved 72 °C i 15 sekunder. Skummet melk ble overført direkte fra pasteur til steambehandlede ystekar. Etter at fettinnhold var analysert ved Gerber-metoden (TINE SA, 2010) ble fløte og kjernemelk tilsatt i riktige mengder for å oppnå ønsket fett % på ca. 1,0 % i ystemelka. Det ble ystet med totalt 350 liter melk hver gang i ystekaret.

Ystemelka ble syrnet med en brukssyre-kultur som var produsert av Probat 505 (Visbyvac, Danmark). Under planlegging av forsøkene ble det vurdert hvilken type syrekultur som skulle benyttes. R.Heskestad i TINE FoU anbefalte at det ble benyttet Probat 505 evt. 606, dette med bakgrunn i erfaringer fra TINE SA om at syrekulturer levert av Christian Hansen AS (som CH-N-01) lett gir lite aroma og besk/bitter smak i mager ost.

Probat 505 er en DL-kultur som består av følgende syre- og aromadannende bakterier: *Lactococcus (Lc.) lactis* subsp. *lactis*, *Lc.lactis* subsp. *cremoris*, *Lc.lactis* subsp. *lactis biovar diacetyllactis* og *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*.

Brukssyra ble produsert av 10% rekonstituert skummet melk (350 g skummet melk pulver i 3,5 liter vann i en «syre-så»). Brukssyremelka ble pasteurisert ved 90°C i 30 minutter, deretter nedkjølt til 21°C. Noen «korn» kultur ble podet i den varmebehandlede og tempererte melka, og brukssyra ble inkubert ved 21°C i 19 timer.

Ystemelka ble tilsatt løpe av typen Naturen Premium 225 (Christian Hansen AS, Danmark). Ved endt løpningstid ble gelfastheten til koagelet vurdert av yster, og skjæring ble gjennomført på det tidspunktet som yster bedømte til det riktige ut ifra koagelets fasthet. Skjæring ble utført etter 30-40 minutter løpningstid. Etter skjæring ble det tappet av 45 % myse og tilsatt 30-40 % vann. I forsøk 1 ble det tilsatt 20 % vann, dette ble økt til 30 % vann i forsøk 2. Underveis i forsøk 2 (fra og med dag 314) ble vanntilsetning økt ytterligere til 40 %, dette på grunn av kraftig syrning og problemer med at osten ble hengende i formene. Før ettervarming ble ostemassen tilsatt 7,5 g /100 liter ystemelk med NaNO₃. Ettervarmingstemperatur var på 35-36°C. Ved endt etterøring ble ostemasse og myse overført til forpressekar, og ostemassen presset under myse. Etter forpressing ble osteblokka delt opp i seks stykker mindre osteblokker. Disse ostene ble overført til perforerte, runde plastformer, deretter ble lokk satt på og hver enkelt ost ble etterpresset i to trinn. Den ferdig pressete osten veide ca. 4 kg, hadde en diameter på ca. 23 cm og en høyde på ca. 11-12 cm. Etter endt pressing ble ostene lagt i kaldt vann for avkjøling i minimum 4-5 timer, før de ble overført til saltlaken. Hensikten med avkjøling i vann var å styre pH-senkingen til ønsket nivå før salting.

3.2.3 Salting og lagerbehandling

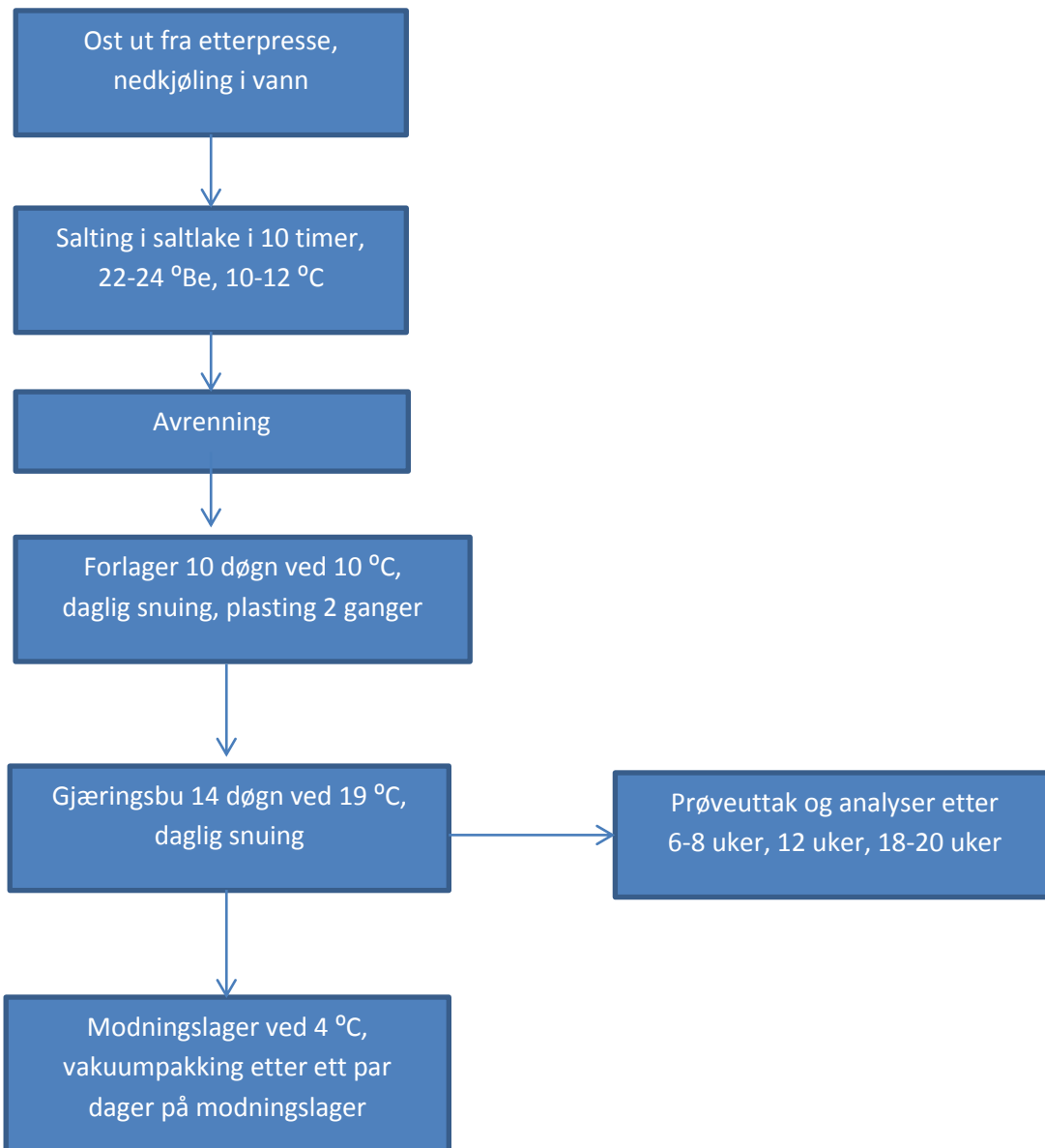
Osten ble saltet i mettet saltlake i 10 timer. Saltlaken hadde en temperatur på ca. 11 °C, konsentrasjon på 22-24 °Be og pH på 5,0-5,3. Etter salting ble ostene tatt opp av laken og lagt til avrenning en kort stund før overføring til reoler på forlager. Osten ble oppbevart på forlager i 10 døgn ved 10 °C, i løpet av denne perioden ble osten snudd hver dag og plastet med to lag Ceska-wl 500 plastemulsjon.

Deretter ble ostene overført til gjæringsbu og oppbevart der i 14 døgn ved 19 °C. Under oppholdet på gjæringsbu ble ostene snudd hver dag.

Når ostene ble tatt ut av gjæringsbu ble de overført til modningslager hvor temperaturen var på 4 °C. Etter noen dager på modningslager ble ostene vakuumpakket. Pakking ble gjennomført i en vakuumpakkemaskin av typen Henkelman 300 (Tyskland). Makinen var innstilt på program 9, med 99% vakuum (full vakuum). Posene som ble benyttet hadde 44 µ tykkelse, størrelse 350 mm* 600 mm, og var av typen Cryovac OSB™ 3000 (Cryovac, Norderstedt, Tyskland).

Etter pakking fortsatte lagring på modningslager med snuing en gang i uka fram til prøveuttak. Prøveuttak og analyser ble foretatt etter 6-8 uker, 12 uker og 18-20 ukers modning.

I figur 3.4 vises flytskjema for salting og lagerbehandling av osten.



Figur 3.4 Flytskjema for salting og lagerbehandling av osten

3.3 Analyser

Det ble tatt ut prøver og foretatt analyser av råstoff (rå melk, kjernemelk, mikropartikulert myseprotein, brukssyre, NSLAB-kulturer), ystemelk, myse, ystevann, ferskost (4 og 24 timer etter ysting) og modenost (etter 6-8, 12, 18-20 ukers lagring).

3.3.1 Prøveuttak av ost

3.3.1.1 Uttak for mikrobiologiske analyser

Uttak for mikrobiologiske analyser ble gjennomført i henhold til beskrivelse i øvingsdelen i osteteknologi for MVI 383 C ved UMB av Skeie (2009), samt i metodebeskrivelsen i Meierienes analysebok, metode MA 480 (Prøveuttak av ost for kjemisk og mikrobiologisk analyse, deling ved bedømmelse, 2011). For de mikrobiologiske analysene ble prøveuttaket tillempet for aseptisk arbeid. Utstyr som ble benyttet ved prøveuttaket (kniver og ostesøker) ble dyppet i 96 % alkohol og deretter flambert. Ostens skorpe ble fjernet med en steril kniv. En steril ostesøker ble ført inn i osten og en sylinder med ost tatt ut, de ytterste 2 cm av ostesynderen ble fjernet. Deretter ble 11 g ost veid inn i en steril Omnimixer-beholder, og det ble tilsatt 99 ml sterilt 2 % NaCitrat-vann med en temperatur på ca. 45 °C. Prøven ble deretter homogenisert i en Omnimixer i 2 minutter ved hastighet 4. Dette gav en fortykning på 10^{-1} . Videre fortykninger ble laget ved å overføre 1 ml av denne blandingen til sterile rør med 9 ml Ringers løsning ved romtemperatur. Dette ble gjentatt inntil ønsket fortykningsgrad var oppnådd. Det var til tider en utfordring å oppnå tilstrekkelig homogenisering av prøvene på grunn av at «gjengene» på lokket som ble festet i Omnimixeren var svært utslitt på enkelte lokk, dette medførte «sliring» under homogenisering.

3.3.1.2 Uttak for kjemiske analyser

Som for uttaket av prøver til de mikrobiologiske analysene ble uttak for kjemiske analyser gjennomført i henhold til beskrivelse i øvingsdelen i osteteknologi for MVI 383 C ved UMB av Skeie (2009), samt metodebeskrivelsen i Meierienes analysebok, metode MA 480 (Prøveuttak av ost for kjemisk og mikrobiologisk analyse, deling ved bedømmelse, 2011). Til kjemiske analyser av runde oster tas det ut en sektor av osten. Ikke spiselig skorpe ble skåret bort før sektoren ble delt opp i mindre biter. Bitene ble revet på en kjøkkenmaskin av typen Dito elektrolux. Den revne osten ble samlet opp i plastposer som ble lukket så raskt som mulig etter fylling for å hindre fordamping. Reven ost som ikke ble benyttet til kjemiske analyser på uttaksdagen ble fylt i 200 ml «osteglass» som ble fylt opp med nitrogengass over osten før lokk ble skrudd på og nedfrysing ved -18 °C for eventuell seinere bruk.

I forsøk 3 ble det analysert flyktige aromakomponenter og organiske syrer i osten ved ulik alder. For bruk til analyse av flyktige aromakomponenter (HSCG-headspace gasskromatografi) ble 10,00 g revet ost veid inn og «stappet» ned i en spesiell «headspace»-flaske. Flasken ble fylt med nitrogengass før forsegling med teflonbelagt septum og aluminiumsring. Alle prøvene av ost ved ulik alder ble frosset ned ved -18 °C inntil analysetidspunkt for flyktige aromakomponenter.

Alle frosne prøver ble tinet natten over i kjøleskap ved 4 °C før aktuelle analyser.

3.3.2 Mikrobiologiske analyser

Det ble tatt mikrobiologiske analyser av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein, brukssyre, ystemelk, første myseavtapp, andre myseavtapp, ystevann og ost. Av osten ble det tatt

mikrobiologiske analyser av ferskost (24 timer etter ysting), 6-8 ukers, 12 ukers og 18-20 ukers ost.

Prøver ble sådd ut på petriskåler (platespredning) for analyse av:

- totaltall bakterier, på PCA, Plate Count Agar, inkubert i 3 døgn ved 30 °C.
- koliforme bakterier, på VRBA, Violet Red Bile Agar, inkubert i 1 døgn ved 37 °C.
- enterokokker, på S&B, Slanetz & Bartley Agar, inkubert i 2 døgn ved 42 °C.
- laktokokker, på M17 agar, inkubert i 2 døgn ved 30 °C.
- laktobasiller, på LBS, Lactobacillus Selektiv Agar, inkubert i 4 døgn ved 30 °C, anaerobt.
- psykrotrofe bakterier, på PCA, Plate Count Agar, inkubert i 1 døgn ved 21 °C, samt på selektiv Pseudomonas agar i 3 døgn ved 21 °C.
- Bacillus cereus, på PCA/BHI-agar, inkubert i 1-2 døgn ved 30 °C.
- anaerobe sporedannere, Weinzirls prøve, inkubert i 3 døgn ved 37 °C.
- heterotroft kimtall, på pepton-gjærekstrakt aga, inkubert i 2 døgn ved 21 °C.
- mugg & gjær, på Rose Bengal Chloramphenical, inkubert i 5 døgn ved 25 °C.

I tabell 3.4 vises en oversikt over mikrobiologiske analyser som ble utført under forsøkene.

Tabell 3.4: Mikrobiologiske analyser under forsøksperioden.

Prøveuttak	Koliforme bakterier	Entero-kokker	Totaltall bakterier	Lakto-kokker	Lakto-basiller	Psykrotrofe bakterier	Bacillus cereus	Mugg & gjær	Anaer. spored
Kjernemelk	x								x
MMP	x	x	x	x	x	X	x		
Brukssyre	x							x	
NSLAB-kultur					x				
Ystemelk	x		x						x
1.myseavt.	x								
2.myseavt.	x								
Ystevann	x		x *						
Ferskost 24t	x	x		x	x				
Ost 6-8 uker	x	x		x	x				
Ost 12 uker	x	x		x	x				
Ost 18-20 uker	x	x		x	x				

*Totaltall i ystevann ble analysert som heterotroft kimtall.

Ystinger hvor det var påvist koliforme bakterier eller enterokokker ble fulgt opp med videre analyser av modenosten utover i lagringsperioden. Det var kun oster fra forsøk 3 som ble analysert for laktokokker og laktobasiller utover i lagringsperioden.

3.3.3 Kjemiske analyser

Det ble tatt kjemiske analyser under ysting, av ferskost (4 og 24 timer), og av osten underveis i modningen.

I tabell 3.5 under vises en oversikt over de kjemiske analysene som ble gjennomført under forsøkene.

Tabell 3.5: Kjemiske analyser under forsøksperioden

Prøveuttak	pH	Tørrstoff	Fett	Protein	Salt	Aktivitetsprøve *	Organiske syrer **	Flyktige ** aroma- komponenter
Rå melk	x							
Kjernemelk	x	x	x	x				
MMP	x	x		x				
Brukssyre	x					X		
Ystemelk	x ***	x	x	x				
1.myseavt.	x							
2.myseavt.	x							
Ystevann	x							
4t ost	x							
Ferskost 24t	x	x			x		x	x
Ost 6-8 uker	x	x	x				x	x
Ost 12 uker	x	x					x	x
Ost 18-20 uker	x	x					x	x

* Aktivitetsprøve i ystemelk og i standardmelk av brukssyra i henhold til MA 408, Aktivitetsprøve for syrekulturer.

** Organiske syrer og flyktige aromakomponenter ble analysert kun i ost fra forsøk 3

*** pH i ystemelk ble målt ved syrning og ved løpning.

3.3.3.1 pH

Det ble tatt pH-målinger i råstoff, brukssyre, ystemelk, myse og i ost etter 4 timers syrning.

Målingene ble utført i Pilotanlegget og det ble brukt et pH-meter av typen: Orion PerpHect LogR meter model 320, med elektrode av typen Orion PerpHect comb pH 9202 electrode (Orion Research, Inc. USA).

pH-måling i ystemelka ble gjennomført etter at skummet melk, fløte, samt evt. kjernemelk og MMP

var blandet, før syring. I tillegg ble det målt pH i ystemelka ved løpelegging.

pH-måling i 24 timers ferskost og i ost under modning ble utført på teknologisk laboratorium ved IKBM. Det ble brukt et pH-meter av typen pHM 210 Standard pH-meter (Radiometer, Danmark). For analyse av pH i ost ble ca. 25 gram revet ost fylt i ett OLA-LT-beger, deretter ble det tilsatt 10 ml destillert vann, og prøven ble stående i romtemperatur i 30 minutter for ekvilibrerings før pH-måling. pH-elektroden ble stukket ned i «osteslurryen», og pH-verdi ble avleste når elektroden hadde stabilisert seg. Det ble gjennomført 2 parallelle målinger, og beregnet gjennomsnitt av disse.

Begge pH-metrene ble kalibrert før bruk i henhold til brukerveiledningene for hvert pH-meter. I tillegg ble pH-meteret i Pilotanlegget temperatorkalibrert ved 20 °C og 40 °C en gang i uken.

3.3.3.2 Tørrstoff

Tørrstoffinnholdet ble analysert i ystemelk, ferskost, og i ost som var lagret i 6-8, 16 og 28 uker. Kun ost fra forsøk 3 ble analysert etter 16 og 28 uker. Målingene ble gjennomført i henhold til metode nr.702 (MA702) i Meierienes Analysebok. Metoden har referanse til IDF Standard 4A – 1982 (cheese and processed cheese, determination of the total solids content). I henhold til standarden skulle det tilsettes sand til prøvene, dette ble ikke gjennomført.

Det ble kjørt tre parallelle prøver, og beregnet gjennomsnitt.

3.3.3.3 Fett i ost

Analyse av fettinnholdet i ost ble gjennomført på 6 ukers ost fra forsøk 2, og på 16 ukers ost fra forsøk 3. Alle analysene av fettinnhold i ost ble utført ved TINE Meieriet Høgset. Analysene ble gjennomført i henhold til metode nr. 706 (MA 706) i Meierienes Analysebok. Denne metoden har referanse til IDF Standard 5B 1986 – Cheese and processed cheese products. Determination of fat content. Gravimetric method (reference method).

For å finne fettinnholdet i osten ble ca. 3,5 gram revet hvitost innveid i ett Gerber melkebutyrometer, deretter ble det tilsatt en blanding av svovelsyre, vann og amyalkohol. Når osten var blitt oppløst ble butyrometeret sentrifugert, og fettprosenten avlest på butyrometerets skala. Ved hjelp av en empirisk faktor ble ostens fettprosent beregnet.

3.3.3.4 Salt i ost

Bestemmelse av saltinnholdet i ost ble utført på 6 ukers ost. Analysen ble gjennomført ved hjelp av en saltanalysator av typen Modell 926 klorid analysator (Sherwood Scientific Ltd., Cambridge, England). Metoden er basert på automatisk titrering av klorid-ioner, ved at disse passerer en standardløsning som befinner seg mellom to sølv elektroder som sørger for en konstant tilførsel av sølv-ioner. Prøven som skal måles tilsettes i denne standardløsningen. Sølv-ionene reagerer med klorid-ionene og danner sølvklorid. Når all klorid i prøven er omdannet til sølvklorid, oppstår igjen frie sølv ioner som endrer løsningsens konduktivitet, denne endringen måles av elektrodene og målingen stoppes. Apparatet måtte kalibreres på nytt for hver 3.-4.prøve.

Det ble innveid 5,0 g ($\pm 0,005$ g) oppmalt ost i Omnimixer, deretter ble det tilsatt romtemperert destillert vann opp til 100,00 g. Omnimixer ble så plassert i vannbad ved 5°C i 30 min. Deretter homogenisering i Omnimixer i 2 min på hastighet 4. Prøven ble så filtrert med sortbåndsfiler (det første filtratet ble filtrert på nytt). Uttak av 100 μ l prøve som ble tilsatt i standardløsningen og titrert. Det ble kjørt parallelle prøver inntil en fikk samme resultat. Saltinnhold i % kunne avleses direkte på apparatet.

3.3.3.5 Aktivitetsprøve av brukssyre

Det ble målt aktivitet i brukssyre i ystemelk og i standard-medium. Analysene ble foretatt i alle ystinger i henhold til beskrivelse i metode nr.408 (MA 408) Aktivitetsprøve for syrekulturer i Meierienes Analysebok, TINE SA (2008).

Metoden baserer seg på å måle den mengde syre som kulturen produserer i henholdsvis standardisert rekombinert skummet melk og i ystemelk. Aktiviteten i henholdsvis standard-melk og ystemelk er definert som den reduksjonen en får i pH når melka podes med 3 % brukssyre og inkuberes ved 30 °C i fire timer.

3.3.3.6 Flyktige aromakomponenter

Flyktige aromakomponenter ble analysert i ost fra forsøk 3 hvor det var tilsatt NSLAB. Det ble analysert i ferskost, og ost under modning ved 8, 16 og 28 uker. Prøvene var tatt ut som beskrevet i pkt.3.3.1.2 Uttak for kjemiske analyser, og frosset ned inntil tidspunkt for analyse. Det ble analysert ved hjelp av headspace gasskromatografi (HSCG).

Det ble benyttet følgende utstyr til analysen: Gasskromatograf av typen 6890 series GC Systems fra Agilent , Headspace sampler HP 7694 fra Hewlett Packard og en flammeionisasjonsdetektor (FID). Analysen ble utført i henhold til beskrivelse av Narvhus, Østerås, Mutukumira & Arbrahamsen (1998).

Det ble analysert for følgende 19 ulike aromakomponenter: acetaldehyd, etanol, aceton, 2-propanol, n-pentan, dimetylsulfid, 2-metyl-propanal, 1-propanol, diacetyl, 2-butanon, 2-butanol, etylacetat, 2-metyl-1-propanol, 3-metyl-butanal, 2-metyl-butanal, 1-butanol, 2-pentanon, 2.3-pentadione og acetoin.

3.3.3.7 Organiske syrer

Organiske syrer ble analysert i ost fra forsøk 3 hvor det var tilsatt NSLAB. Det ble analysert i ferskost, og i ost under modning ved 8, 16 og 28 uker. Det ble analysert ved hjelp av høytrykks væskechromatografi (HPLC).

Det ble benyttet følgende utstyr til analysen: HPLC-apparatur av typen Perkin Elmer series 410 LC Pump, injektor fra Perkin Elmer series 200 autoinjektor, en sterk kationbytterkolonne av typen Aminex HPX 87H, 300*7,8mm fra Bio Rad, UV-detektor av typen Perkin Elmer, Applied biosystems 759A absorbance detector, RI-detektor fra Perkin Elmer, series 200 og en integrator av typen Turbochrom fra Perkin Elmer. Analysen ble utført i henhold til beskrivelse av Marsili, Ostapenko, Simmons & Green (1981).

Prøveopparbeidelse før analyse var som følger: Det ble veid inn 2,00 g revet ost i ett 50 ml fettrør (Pyrex). I røret ble det deretter tilsatt 5,0 ml ionebyttet H₂O, 0,700 ml 0,5 M H₂SO₄ (svovelsyre) og 20 ml CH₃CN (acetonitril). Røret ble så ristet for hånd i 2 minutter før vending i en Multifix vendemaskin i 20 min. Deretter sentrifugering i en Gerber sentrifuge ved 7000 rpm (omdreininger i minuttet) i 15 minutter. Etter sentrifugering ble supernatanten trukket opp med en sprøyte og filtrert ned i HPLC-prøveglasset før glasset ble lukket med kork.

Under kjøring i kromatografen ble UV-detektoren innstilt på en bølgelengde på 210 nm, kolonnetemperatur var på 32°C, flow på 0,4 ml/min, mobilfasen benyttet 5 mM H₂SO₄. Det ble injisert 25µl av opparbeidet prøve under HPLC-analysen.

Det ble analysert for følgende 11 ulike organiske syrer: sitronsyre, α-ketoglutarsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre og DL-pyrogluminsyre.

3.3.4 Tekstur (Rheologi)

Teksturanalysen ble gjennomført på ost fra forsøk 2 ved 6 og 12 ukers alder, og på ost fra forsøk 3 ved 16 ukers alder. Analysene ble utført på en Texture Profiling Analyzer TA.XT2i (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England, 1998) ved hjelp av programmet Texture Expert Exceed. Det ble benyttet en kraftcelle på 25 kg og en stålsylinder probe av typen SMS P/45. Utstyret ble kalibrert i henhold til beskrivelse i brukermanualen hver analysedag. Proben ble innstilt til å gå 11,2 mm (75%) ned i prøven med en hastighet på 1,00 m/s.

Hver ost ble først delt på midten i to halve deler, deretter ble det delt av en skive på 4-5 cm tykkelse av den ene halvdel. Prøveuttak fra denne tykke osteskiven ble foretatt med en spesiell utstikker med diameter på 23 mm som ble trykket ned i osteskiven og en sylinder ble stukket ut. Det ble stukket ut to rekker på 6 sylindre, totalt 12 sylindre i hver osteskive. Hver sylinder ble overført til et delebrett og videre delt opp med ostestreg i biter med prøvehøyde på 15 mm. Det var flere utfordringer knyttet til selve prøveuttaket, noen oster var svært klebrige og mye i konsistens, det førte ofte til at utstikker ble sittende fast i osten, og måtte vris løs. I tillegg var det vanskelig å få delt opp like store, jevne biter med tilgjengelig delestyr. Bitene fra hver ysting ble lagt inntil hverandre og pakket inn i aluminiumsfolie, deretter ble folierullene med ost lagt i plastpose, og plassert i varmeskap på ca. 15 °C inntil analyse. Det ble analysert 6 parallelle prøver av hver ysting, og temperatur ble registrert i hver ysting. Temperatur på analysetidspunktet varierte noe mellom prøvene, men i gjennomsnitt lå temperaturen mellom 16-19 °C. Prøvene ble plassert likt på stålplata under proben hver gang, ved hjelp av avmerkete ringer i stålplaten. Under selve analysen ble proben trykket ned mot ostebiten 2 ganger og kraften hver gang ble registrert.

3.3.5 Smeltingsegenskaper

Det ble utført analyse av smeltingsegenskaper på ost fra forsøk 2 ved 28 ukers alder. Metoden som ble benyttet var en modifisert utgave av metoden som er utviklet av Anne-Grethe Johansen i TINE FoU (2006). Metoden er fremdeles under utvikling og så langt ikke publisert.

Prøveuttak ble gjennomført som følger: En osteskive med tykkelse 3 mm ble skåret av osten med en ostehøvel med ostestremg, deretter ble det benyttet en rund utstikker og stukket ut runde «ostedisker» med diameter 36 mm. Prøvene fra hver ysting ble pakket inn i plastfolie, og oppbevart i kjølerom ved 4°C fram til analysetidspunkt.

Til selve nedsmeltingen ble det benyttet en ombygd ovn fra en kromatograf fra 1980-tallet, av typen HRGC 530/MFC 500, ovnen var tilpasset til nedsmeltingsanalyser av Arnold Olsen i pilotanlegget ved UMB. Som lyskilde over ovnen var det montert to skrivebordslamper på utsiden av glasset i ovnen, lyset skinte ned på to speil som gav lyset en bestemt vinkel for å belyse overflaten av osteprøvene. Lyskvaliteten som ble benyttet var «kald hvit». Inne i ovnen blåste det varmluft, og det ble under analysene forsøkt å simulere steiking av pizza. «Ostediskene» ble lagt på små svarte glassplater («stekeplater») med størrelse 100*100 mm og diagonal på 140 mm.

Til fotografering under smelting ble det benyttet digitalt speilreflekskamera av typen Nikon D200. Hver osteprøve ble smeltet i 12 minutter ved 195-196°C. Det ble benyttet stoppeklokke og tatt bilder ved innsetting i ovn (etter 15 sekunder), videre etter 1 min, etter 2 min, etter 3 min, etter 4 min, etter 6 min, etter 8 min, etter 10 min og etter 12 min. Totalt ble det tatt 9 stk bilder av hver osteprøve som ble smeltet. Det ble gjennomført fire gjentak av hver ysting under analyse av smeltingsegenskaper.

Ved innsetting av prøven i ovnen for smelting sank temperaturen i ovnen ned mot 185°C, og det tok 7-9 sek før temperaturen var oppe på 195-196°C etter at prøve var satt inn.

3.3.6 Sensorikk

Sensoriske analyser ble gjennomført både ved UMB og i TINE FoU. Flere ganger i løpet av modningsforløpet til osten fra de tre forsøkene, ble osten bedømt ved UMB. Denne kvalitetsbedømmelsen ble gjennomført av student Gerd Marit Alseth (som er godkjent ostedommer i TINE) og veiledere for oppgaven, Siv Skeie og Roger Abrahamsen.

Sensorisk profilering og egenskapsbedømmelse av ostene ble gjennomført ved Måltidets Hus av TINE's egen godkjente ostedommere som er ansatt i TINE FoU. Ost fra forsøk 2 og forsøk 3 ble bedømt i 2 omganger.

- Forsøk 2, sensorisk profilering ved 13- og 20 ukers alder.
- Forsøk 3, sensorisk profilering ved 20- og 26 ukers alder.

Ved den sensoriske profileringen ble ostene bedømt etter en skala fra 1-9, og karakterisert i forhold til 20 ulike fysiske og smaksmessige egenskaper. Det deltok fra 5-7 dommere i profileringen. I forkant av den sensoriske profileringen bedømte dommerne først en referanseost, og dommerne ble i fellesskap enige om denne ostens profileringsegenskaper på profileringsskalaen. Referanseosten som ble benyttet var en Norvegia med 27 % fett.

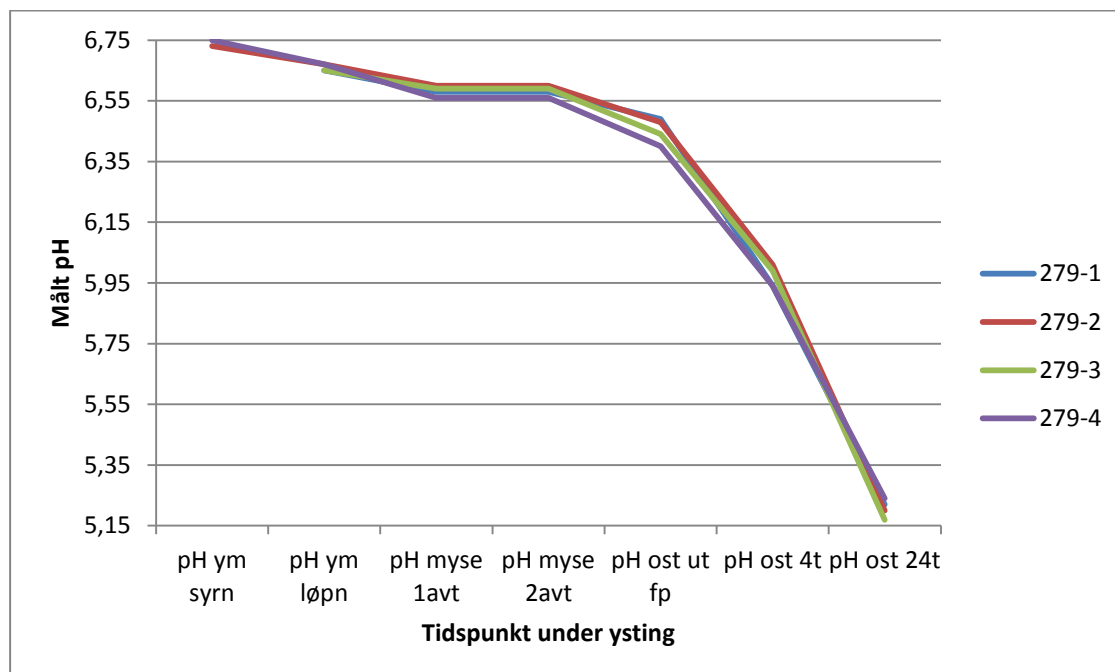
Det var kun resultatene fra den sensoriske profileringen og egenskapsbedømmelsen gjennomført ved TINE FoU, Måltidets Hus som ble behandlet statistisk.

4. Resultater

4.1 Forsøk 1

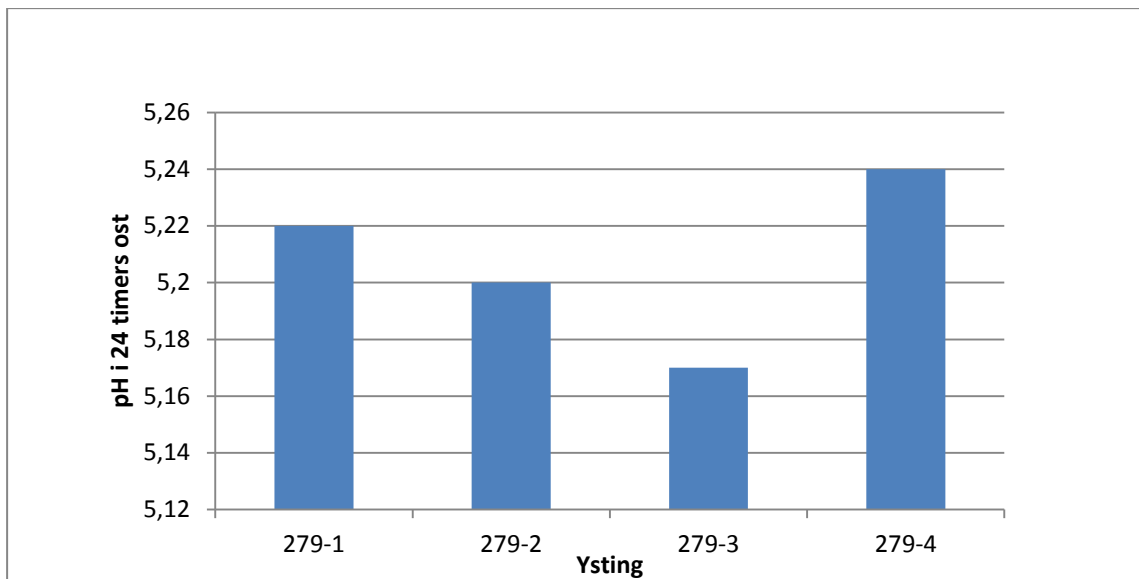
4.1.1 pH

Figur 4.1 viser pH-utvikling under ysting av kontroll-ost i forsøk 1, hvor det ble ystet med ulik etterrøringstid for å oppnå ønsket tørrstoffinnhold.



Figur 4.1: pH-utvikling under ysting av kontroll-ost i F1

pH-senkningen under ysting var relativt lik for de 4 ystingene. Det ble noen registrert forskjeller mellom ystingene i 24 timers pH, se figur 4.2.

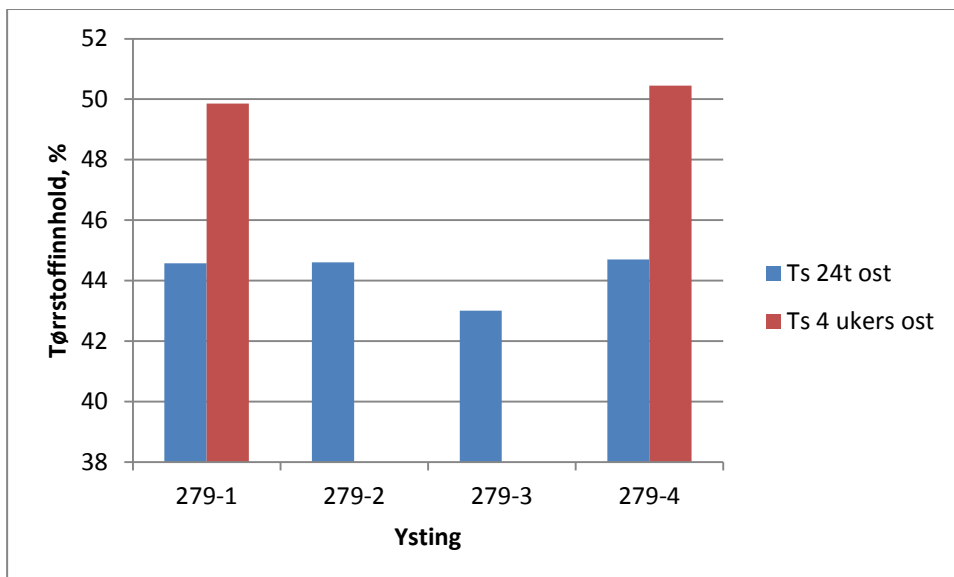


Figur 4.2: pH i 24 timers ost i F1

Ysting 279-4 hadde høyest 24 timers pH, ysting 279-3 hadde lavest 24 timers pH.

4.1.2 Tørrstoff

Figur 4.3 viser tørrstoffinnholdet i de 4 ystingene fra forsøk 1 i 24 timers ost og 4 ukers ost (kun 2 av ystingene ble analysert etter 4 uker).



Figur 4.3: Tørrstoffinnhold i ost fra forsøk 1.

Tørrstoffinnholdet var høyest i ysting 279-4 og lavest i 279-3 i 24 timers osten. Det var forventet at tørrstoffet ville øke noe under lagring, 2 av ystingene ble derfor analysert på nytt etter 4 ukers lagring. Tørrstoffinnholdet hadde nå økt med gjennomsnittlig 5,5 %.

4.2 Forsøk 2

4.2.1 Statistisk behandling

Det ble utført variansanalyse i Minitab for å undersøke hvilke effekter tilsetning av kjernemelk, ulike nivåer av MMP og de to stammene av NSLAB hadde på resultatene som ble oppnådd. Til variansanalysen ble det benyttet General Linear Model (GLM).

Tabell 4.1: Statistiske resultater fra kjemiske, mikrobiologiske og sensoriske analyser av forsøk 2. Tabellen viser signifikante effekter av ystingsdag, tilsatt kjernemelk (KM) og tilsatt mikropartikulert myseprotein (MMP) (MMP 0 = ingen tilsetning, MMP 3 = tilsatt 3 % MMP og MMP 6 = tilsatt 6 % MMP). NS = ikke signifikant. De signifikante effektene er oppgitt som: + = $p \leq 0,05$, ++ = $p \leq 0,01$ og +++ = $p \leq 0,001$. Ulike bokstaver angir signifikante forskjeller mellom responsvariablene (A angir høyeste verdi og C laveste verdi).

Analyser	Ystingsdag	Tilsatt KM	Tilsatt MMP				
	Signifikans	Signifikans	Signifikans	R ² -verdi (%)	MMP 0	MMP 3	MMP 6
Kjemisk							
pH ym syrning	++	NS	NS				
pH ym løpning	++	NS	NS				
pH myse 1.avt	++	++	++	90,42	B	AB	A
pH myse 2.avt	++	++	+++	93,34	B	A	A
pH ost ut fp	+	NS	+++	90,20	C	B	A
pH ost 4 t	NS	++	+++	90,53	B	B	A
pH ost 24 t	NS	NS	++	81,23	B	AB	A
pH ost 6 uker	+	NS	++	86,76	B	AB	A
Tørrstoff ym	+++	+++	+++	96,76	C	B	A
Tørrstoff ost 24 timer	NS	+++	+++	94,84	B	A	A
Tørrstoff Ost 6 uker	+++	+++	+++	96,72	C	B	A

Fett i ost	NS	NS	NS				
Mikrobiologisk							
Totaltall	NS	NS	NS				
Sensorisk 12 ukers ost							
Hovedpoeng	NS	NS	NS				
Indre	NS	NS	NS				
Konsistens	NS	NS	+	79,98	AB	B	A
Lukt og smak	NS	+	NS				

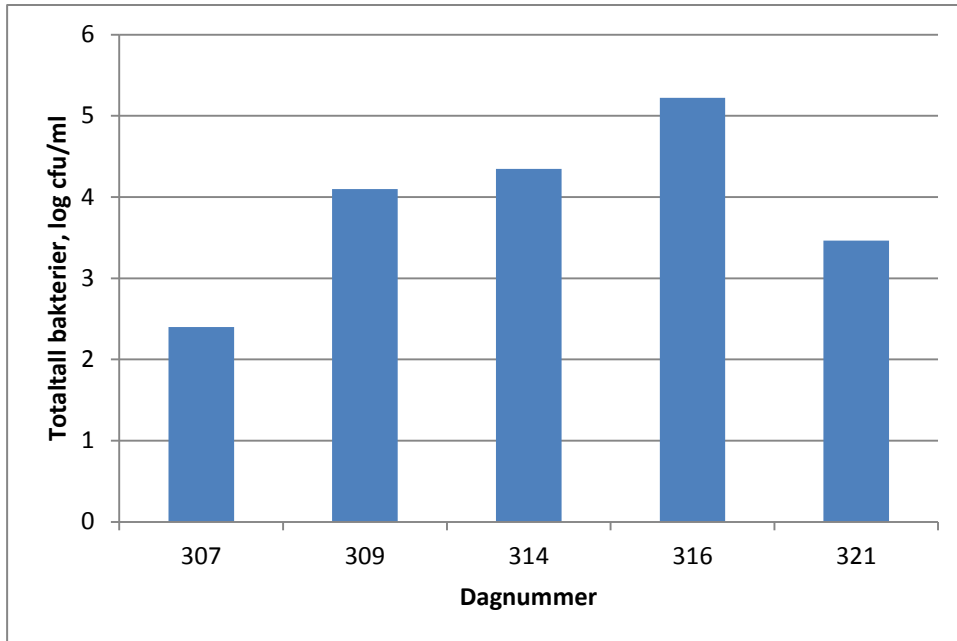
Av de kjemiske analysene i forsøk 2 var pH under ysting, pH i osten og tørrstoffinnhold signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene.

Egenskapsbedømmelse av osten etter 12 ukers lagring viste at konsistens samt lukt og smak var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene. Men R-verdi er noe lavere enn ønskelig, dermed er det noe usikkerhet knyttet til dette resultatet, siden den statistiske modellen som var brukt ikke forklarer hele variasjonen for de sensoriske egenskapene.

4.2.2 Mikrobiologiske resultater

4.2.2.1 Totaltall bakterier

Innholdet av totaltall bakterier i gjennomsnitt i ystemelka for hver ystingsdag i forsøk 2 er skjematisk framstilt i figur 4.4.



Figur 4.1: Totaltall bakterier i ystemelk for hver ystingsdag i gjennomsnitt i F 2.

Det var høyest nivå av totaltall bakterier i ystemelka på ystingsdag 316. Lavest nivå var på ystingsdag 307. Ystinger som var tilsatt 6 % MMP og kjernemelk hadde de høyeste verdiene av totaltall bakterier.

4.2.2.2 Mikrobiologiske prøver av MMP

Tabellen nedenfor viser mikrobiologiske resultater på tilsatt MMP i forsøk 2

Tabell 4.2 Oversikt over mikrobiologiske resultater av MMP i F2.

Dagnr.	307	309	314	316	321
Alder MMP i antall dager	4	6	11	13	4
Koliforme bakterier	0	0	0	0	0
Anaerobe sporedannere	Ikke analysert	Ikke analysert	0	0	0
Laktobasiller (LBS)	Ikke analysert	0		195	0
Laktokokker (M17)	Ikke analysert	0	20	301000	
Totaltall bakterier	Ikke analysert	80	301000		0
Bacillus cereus (BHI)			15	20	1
Bacillus cereus (PCA)			25	10	0
Pseudomonas				301000	0

MMP på dag 314 og 316 viste bekymringsfullt mye vekst av totaltall, Bacillus cereus, laktokokker og Pseudomonas.

4.2.2.3 Anaerobe sporedannere

Tabellen nedenfor viser resultater på anaerobe sporedannere i ystemelk og kjernemelk i forsøk 2.

Tabell 4.3 Anaerobe sporedannere pr. 100 ml i ystemelk og kjernemelk i F2.

Dagnr.	307	309	314	316	321
Ystemelk fra kontrollkar	0	4	0	9	0
Kjernemelk	45	*	95	25	15

* Ikke analysert pga kjernemelk fra samme batch som ble brukt på dag 307.

Ystemelka inneholdt svært lite sporer, kjernemelka inneholdt en langt større andel anaerobe sporedannere.

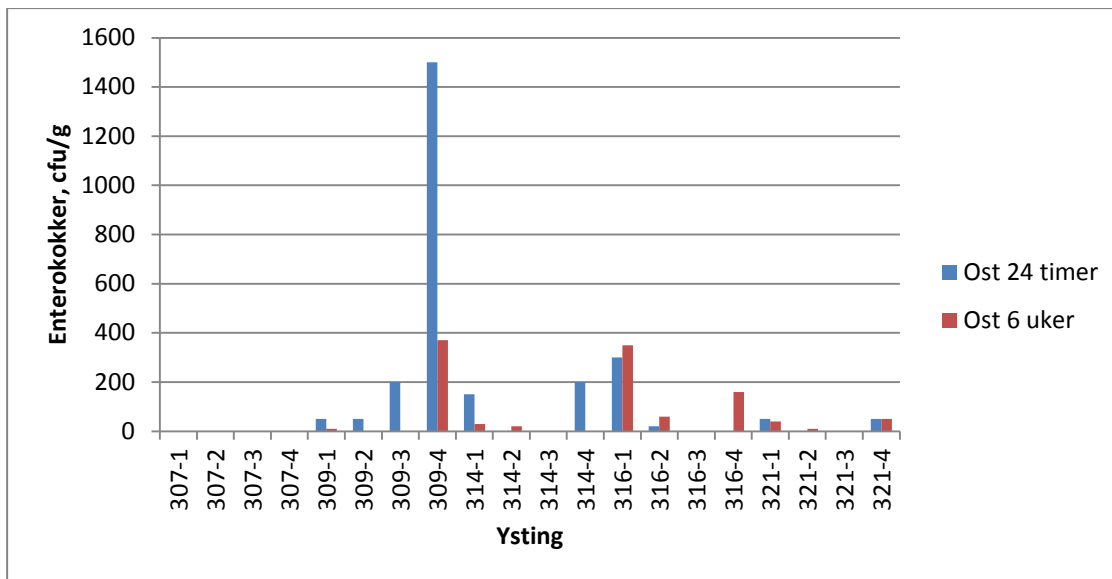
4.2.2.4 Koliforme bakterier

Alle ystingene i forsøk 2 var uten påvisninger av koliforme bakterier i ystemelk , 1.avtapp myse og 2.avtapp mye, bortsett fra 2.myseavtapp i pressekaret i kar 3 og 4 på dag 316, med henholdsvis 2 og 10 cfu/ml myse.

Alle analysene av ferskost og 6 ukers ost var uten påvisning av koliforme bakterier, bortsett fra ferskost fra kar 3 og 4 på dag 309, med henholdsvis 10 og 50 cfu/g ost.

4.2.2.5 Enterokokker

I figur 4.4 vises en grafisk framstilling av innholdet av enterokokker i ferskost og 6 ukers ost fra forsøk 2.



Figur 4.4: Innhold av enterokokker i ost fra F2 utover i lagringstiden.

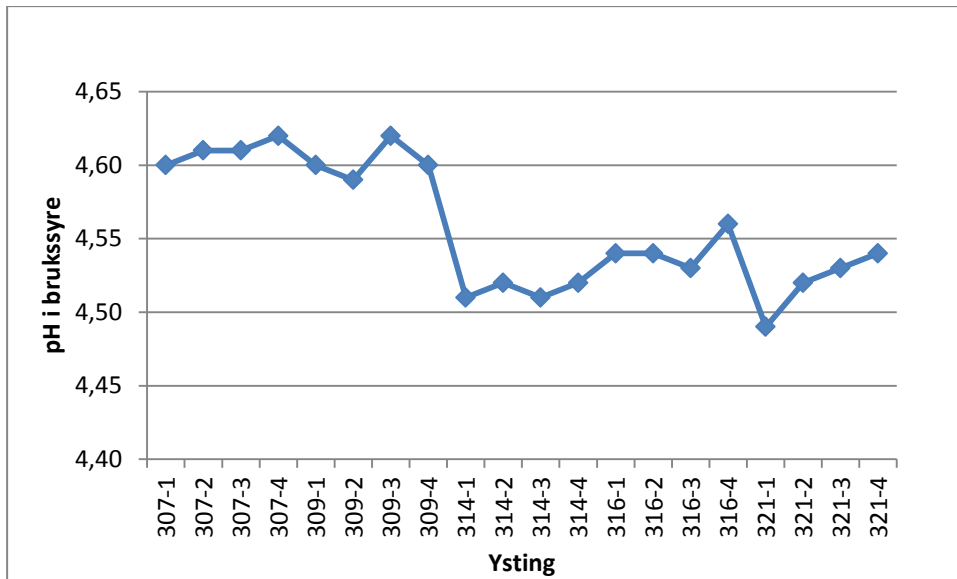
Det ble ikke påvist enterokokker i osten produsert på dagnummer 307. På de øvrige dagnummer i forsøk 2 (309, 314, 316 og 321) ble det påvist enterokokker i flere av ystingene hver dag. Dagnummer 309 hadde enterokokker i alle ystinger. Dagnummer 314, 316 og 321 hadde enterokokker i 3 av 4 ystinger, disse dagene ble det ikke påvist enterokokker i ystekar 3.

I alle ystinger, bortsett fra ysting 316-1 gikk antallet enterokokker pr. g ost ned fra ferskost til 6 ukers ost.

4.2.3 Kjemiske resultater

4.2.3.1 Aktivitetsprøve og pH i brukssyre

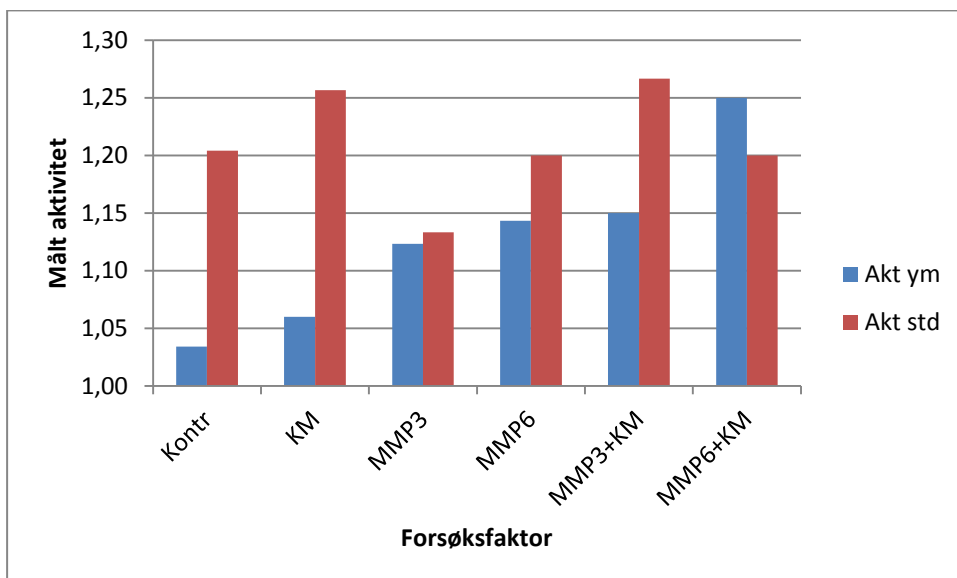
Det ble målt pH og aktivitet i brukssyre som ble tilsatt til ystemelka. Figur 4.5 viser resultatene på pH i brukssyra som ble tilsatt til ystemelka i forsøk 2.



Figur 4.5 pH i brukssyre i F2

De to første ystingsdagene lå pH noe høyere enn i de tre siste ystingsdagene.

Aktivitetsprøven er ett mål på hvor godt syrekulturen trives og utvikler seg i ystemelk og standardmelk. Figur 4.6 viser resultater for aktivitetsprøven målt i ystemelk og i standardmelk for hver forsøksfaktor i F2.



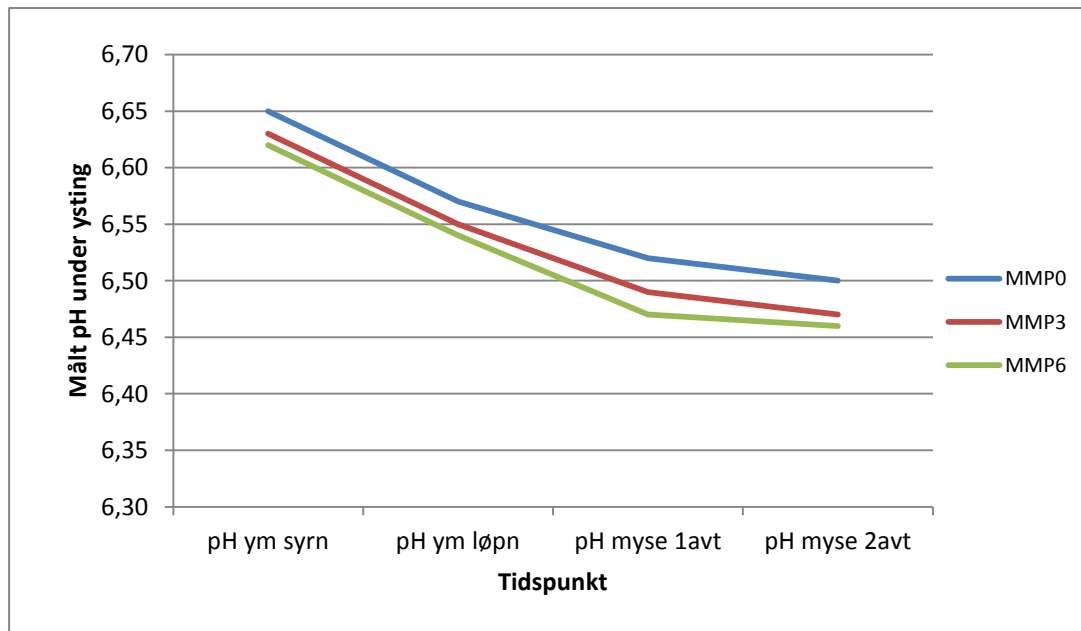
Figur 4.6: Resultater aktivitet i brukssyre målt i ystemelk og standard-melk

I ystemelk uten noen tilsetninger (kontroll) er det relativt stor forskjell mellom aktiviteten i brukssyra målt i ystemelk og i standard. Det samme er tilfelle i ystemelk som er tilsatt kjernemelk. Ystemelk tilsatt myseprotein hadde liten forskjell mellom aktivitet i ystemelk og i standard. Ystemelk tilsatt både MMP og kjernemelk viste mindre forskjell mellom aktivitet i ystemelk og i standard, enn det som var tilfelle i kontroll og i ystemelk tilsatt kjernemelk.

4.2.3.2 pH under ysting og modning av ost

pH-utvikling under ysting og i osten utover i modningen av ost tilsatt ulike mengder MMP i forsøk 2 er grafisk framstilt i figuren nedenfor. MMP0 er det samme som kontroll-ost, MMP3 er ost tilsatt 3 % mikropartikulert myseprotein, MMP6 er ost tilsatt 6 % mikropartikulert myseprotein.

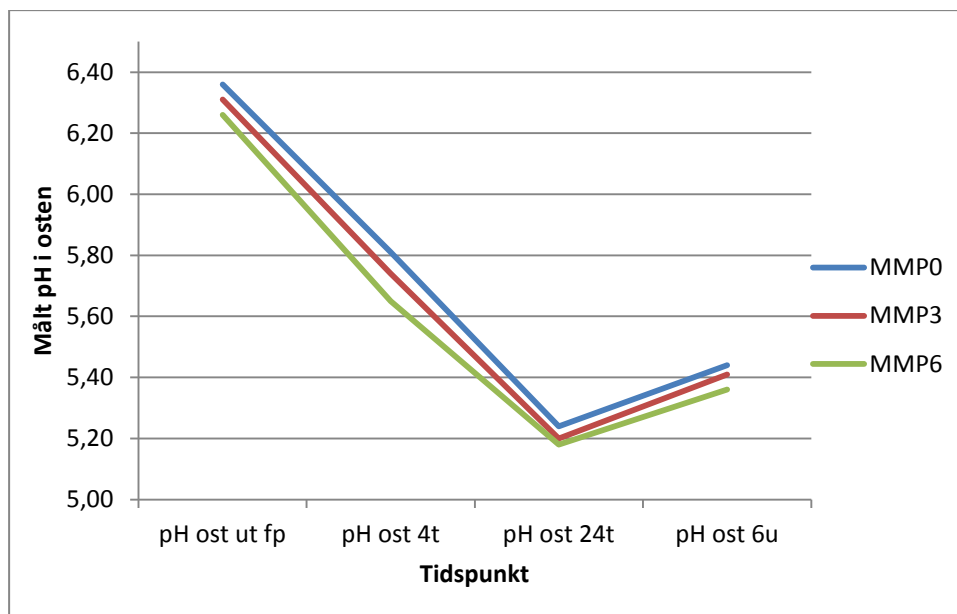
Figur 4.7 viser pH-utviklingen under ysting av ost tilsatt forskjellig mengde mikropartikulert myseprotein i F2.



Figur 4.7 pH-utvikling under ysting i F2. Forklaring på forkortelser: pH ym syrn= målt pH-verdi ved syrning, pH ym løpn = målt pH-verdi ved løpning, pH myse 1 avt= målt pH-verdi i 1. myseavtapp, pH myse 2 avt= målt pH-verdi i myse 2. avtapp.

pH under ysting av ost tilsatt MMP lå lavere enn i kontroll-osten gjennom i hele forløpet. Tilsetning av MMP hadde signifikant effekt på pH i myse 1. avtapp og pH i myse 2. avtapp.

Figur 4.8 viser pH-utviklingen under pressing og modning av ost tilsatt forskjellig mengde mikropartikulert myseprotein i F2.



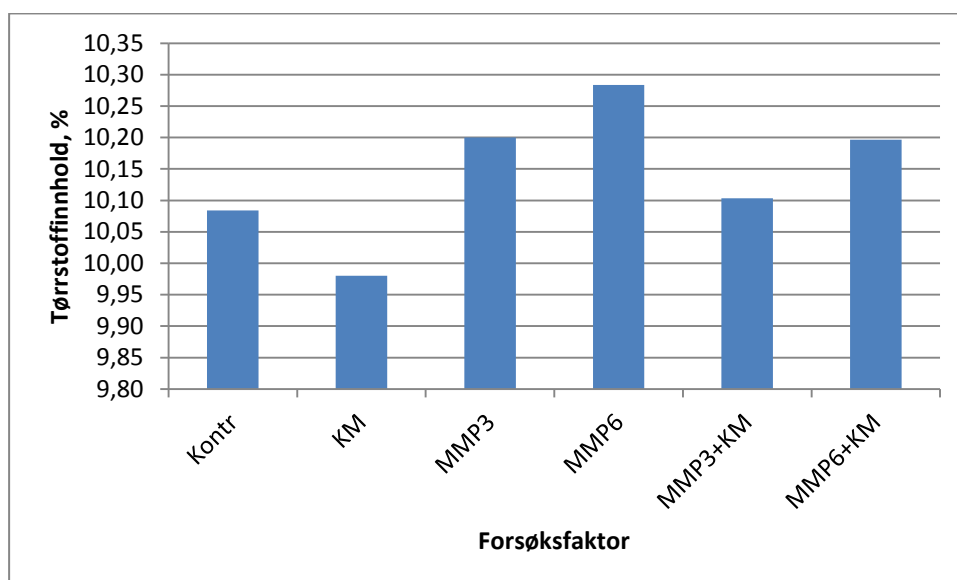
Figur 4.8 pH-utvikling i osten under pressing og modning i F2.

pH i ost tilsatt MMP lå lavere enn kontroll-osten gjennom hele forløpet. Tilsetting av MMP hadde signifikant effekt på pH i osten under pressing og lagring.

4.2.3.3 Tørrstoff

Ystemelk:

Figur 4.9 viser gjennomsnittlig tørrstoffinnhold i ystemelka sett i forhold til tilsetningene kjernemelk og mikropartikulert myseprotein.

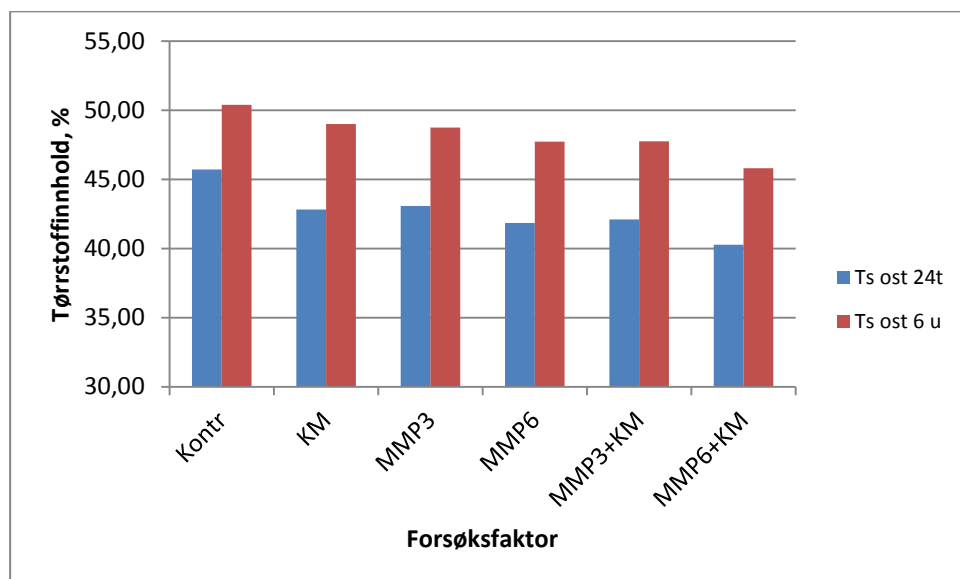


Figur 4.9: Tørrstoffinnhold i % i ystemelk i forsøk 2.

Ystemelk tilsatt kjernemelk hadde lavest tørrstoffinnhold. Ystemelk tilsatt MMP hadde høyest tørrstoffinnhold. Tørrstoffinnholdet i ystemelk var signifikant ($p \leq 0,001$) påvirket av forsøksfaktorene. Kontrollkarene hadde tørrstoffinnhold som lå mellom kjernemelk- og MMP-kar.

Ost:

Figur 4.10 viser målt tørrstoff i 24t og 6 ukers ost i de ulike faktorkombinasjonene.

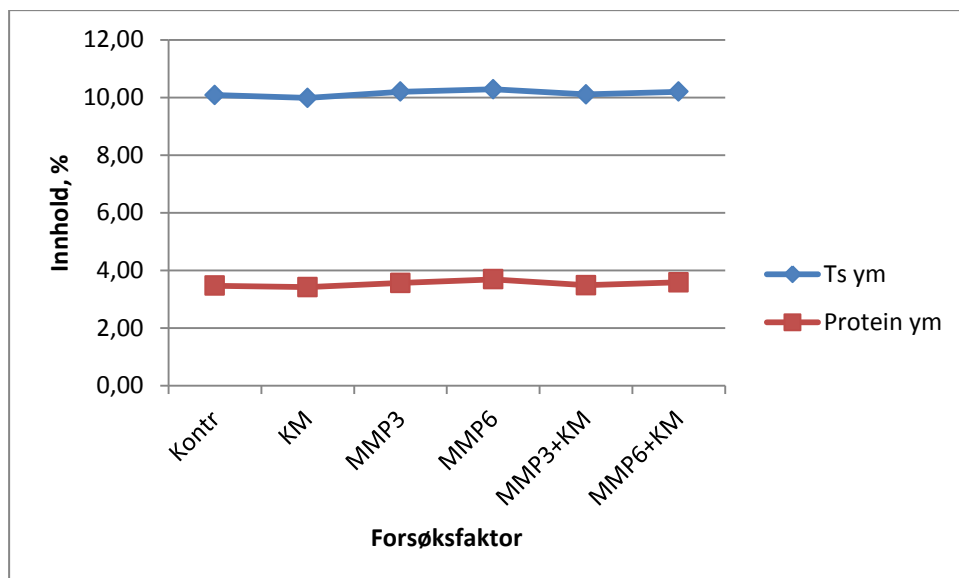


Figur 4.10 Tørrstoffinnhold i % i ost under modning fra forsøk 2

Kontroll-ost hadde høyest i tørrstoffinnhold, deretter synker det gradvis etter hvert som tilsetning av myseprotein øker. Tørrstoffinnholdet i osten var signifikant ($p \leq 0,001$) påvirket av forsøksfaktorene.

4.2.3.4 Protein i ystemelk

Det ble målt proteininnhold i ystemelk i F2, i figur 4.11 er resultatene presentert sammen med tørrstoffet i ystemelka.



Figur 4.11 Tørrstoff- og proteininnhold i ystemelk i forsøk 2

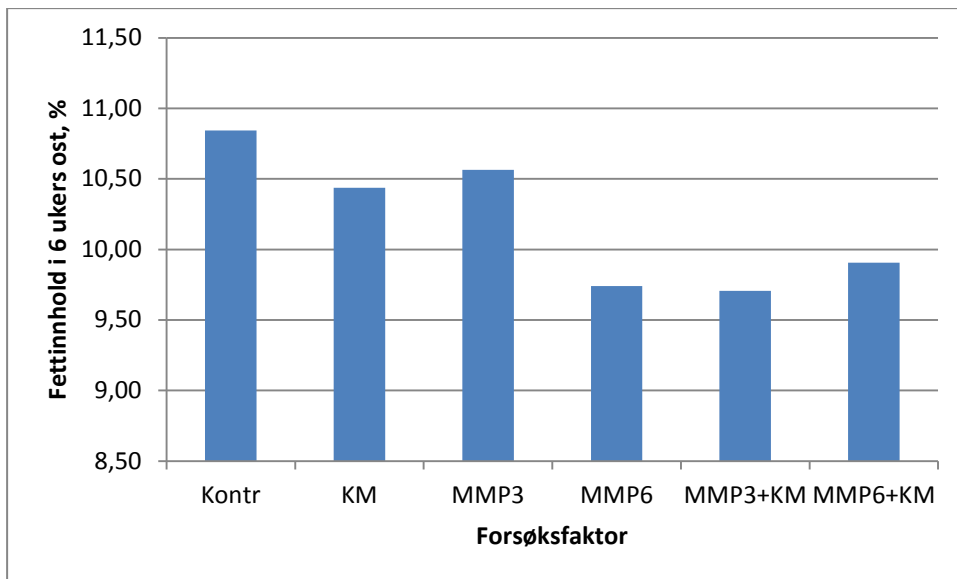
Ystemelk tilsatt MMP hadde høyere tørrstoffinnhold enn kontroll. Ystemelk tilsatt både kjernemelk og MMP hadde lavere proteininnhold enn ystemelk kun tilsatt MMP. Ystemelk tilsatt kun kjernemelk hadde lavere proteininnhold enn kontroll.

Innholdet av protein varierte i samsvar med tørrstoffinnholdet.

MMP hadde gjennomsnittlig proteininnhold på 7,38 %, kjernemelk hadde gjennomsnittlig proteininnhold på 3,04 % i forsøket.

4.2.3.5 Fettinnhold i ost

Fettinnholdet ble målt i 6 ukers ost, figur 4.12 viser fettinnholdet i % i ost fra forsøk 2.

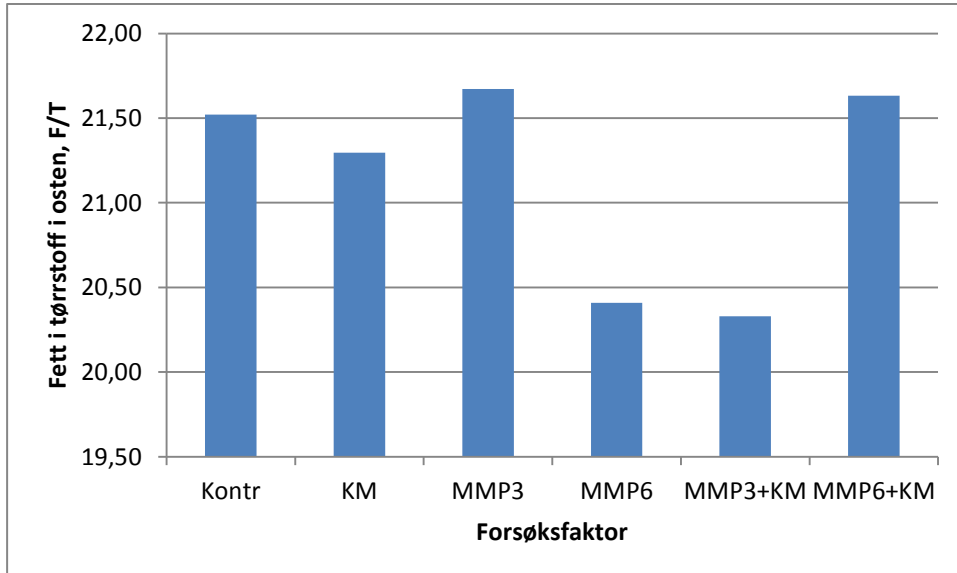


Figur 4.12 Fettinnhold i % i 6 ukers ost fra forsøk 2

Resultatene viser at fettinnholdet ligger høyest i kontroll-ost og lavest i ystingene som er tilsatt 3 % MMP og 15 % kjernemelk.

4.2.3.5 Fett i tørrstoff

Fett i tørrstoff er en beregnet verdi som sier noe om forholdet mellom fett og tørrstoff i osten, figur 4.13 viser resultater av disse beregningene for F2.

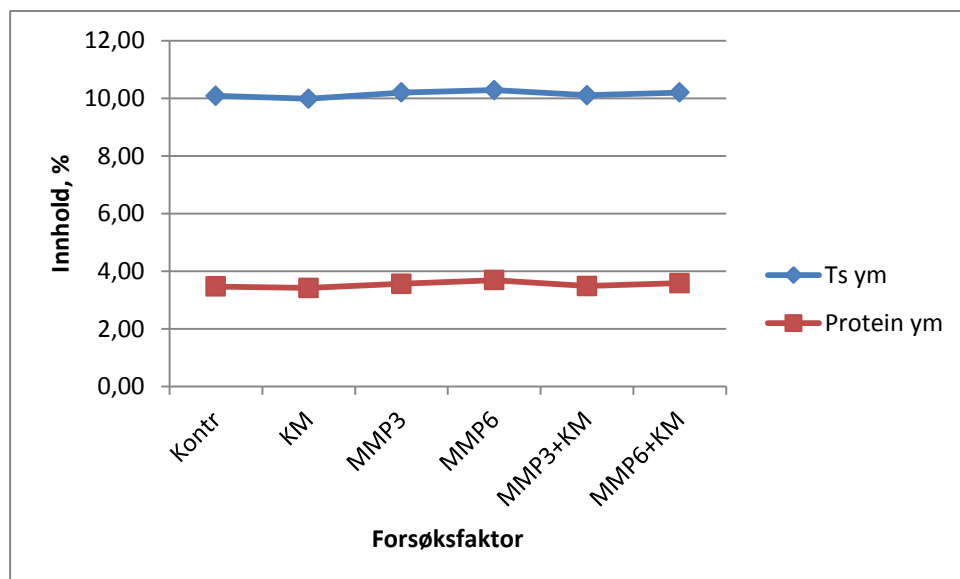


Figur 4.13 Fett i tørrstoff i 6 ukers ost fra forsøk 2

Fett i tørrstoff var høyest i kontroll-oster, i ost tilsatt MMP3 og i ost tilsatt kombinasjonen av MMP6 + kjernemelk.

4.2.3.6 Protein i ystemelk

Det ble målt proteininnhold i ystemelk, i figur 4.14 er resultatene presentert sammen med tørrstoffet i ystemelka.



Figur 4.14 Tørrstoff- og proteininnhold i ystemelk i forsøk 2

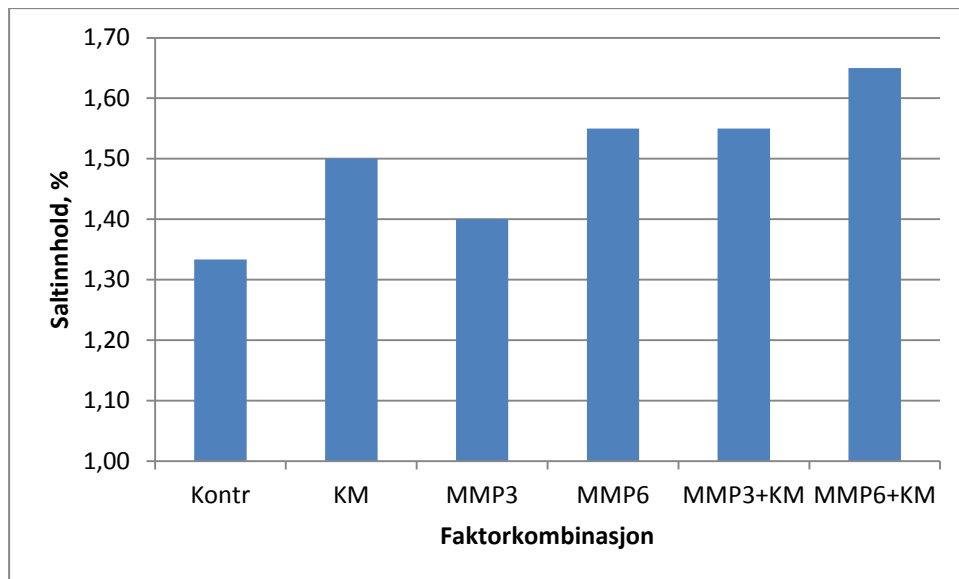
Ystemelk tilsatt MMP hadde høyere tørrstoffinnhold enn kontroll. Ystemelk tilsatt både kjernemelk og MMP hadde lavere proteininnhold enn ystemelk kun tilsatt MMP. Ystemelk tilsatt kun kjernemelk hadde lavere proteininnhold enn kontroll.

Innholdet av protein varierte i samsvar med tørrstoffinnholdet.

4.2.3.7 Salt

Ifølge TINE Produktspesifikasjon for Lettere Norvegia, 16 % er norm for saltinnhold 1,1 %, med en angitt minimumsgrense på 0,8 % og maksimumsgrense på 1,4 % (TINE SA, 2011a).

Figur 4.15 viser saltinnholdet målt i osten i forsøk 2.



Figur 4.15 Saltinnhold i % i ost fra forsøk 2

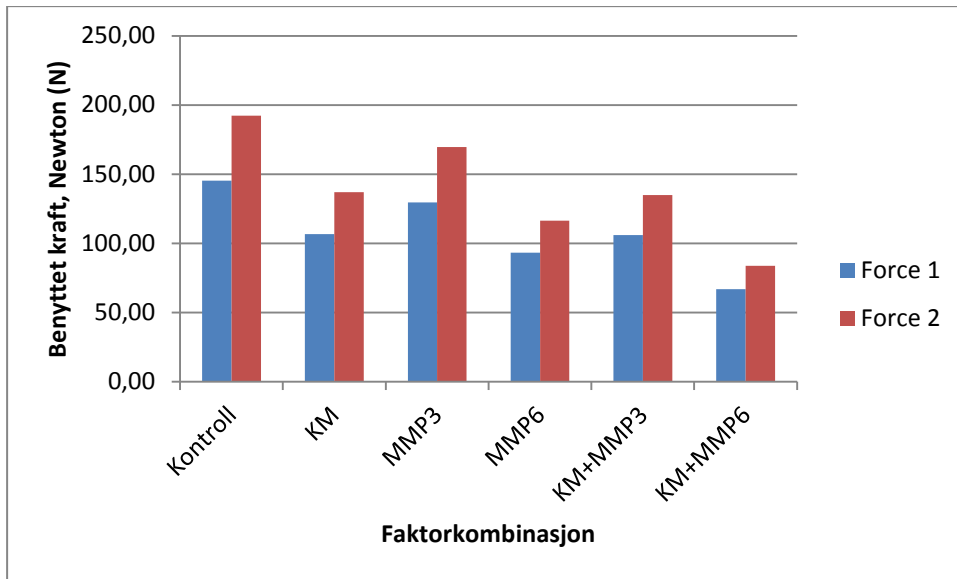
Saltinnholdet var høyest i ost tilsatt kjernemelk og 6 % MMP. Saltinnholdet var lavest i kontroll-ost. Det var kun kontroll-ost som lå innenfor spesifikasjonene som gjelder i TINE, alle andre oster hadde for høyt saltinnhold.

4.2.4 Rheologi – tekstur

Force 1 og force 2

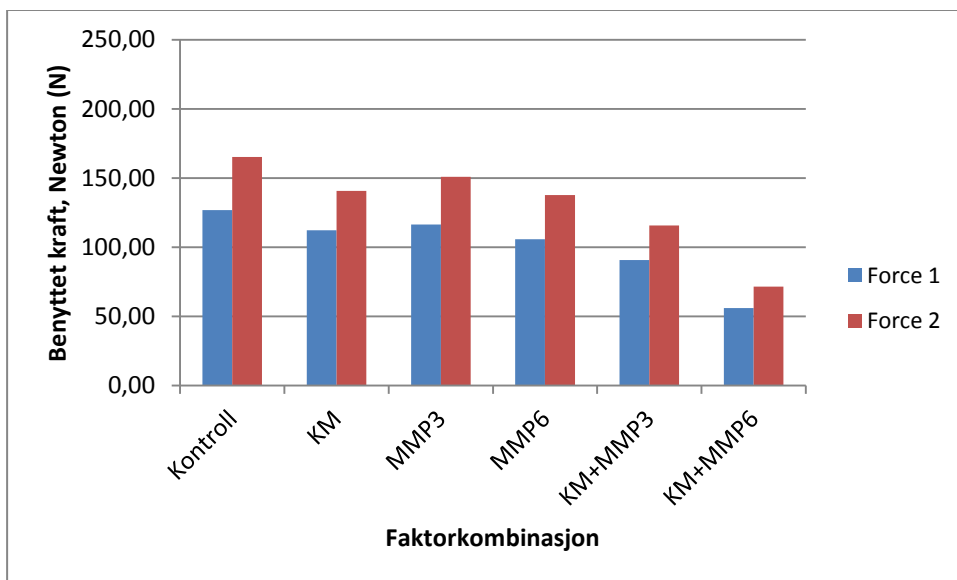
Under teksturanalysen ble en probe trykket ned mot ostebiten to ganger, dette skulle simulere det som skjer ved tygging i munnen. Force 1 angir kraften som ble benyttet ved første gangs pressing, og force 2 angir kraften som ble benyttet andre gangs pressing.

Figur 4.16 og 4.17 viser en grafisk framstilling av gjennomsnittlig kraft i Newton som ble målt i Texture Analyzer på ost fra forsøk 2 ved 6- og 12-ukers alder.



Figur 4.16 Målt kraft i Newton i Texture Analyser på 6 ukers ost fra F2. De ulike faktorkombinasjonene forkortet som følger: KM =tilsatt 15 % kjernemelk, MMP3=tilsatt 3 % MMP, MMP6=tilsatt 6 % MMP, KM+MMP3=tilsatt 15 % kjernemelk + 3 % MMP, KM+MMP6=tilsatt 15 % kjernemelk + 6 % MMP.

Det ble benyttet størst kraft på kontroll-ostene. Det ble benyttet lavere kraft på alle øvrige oster, og lavest kraft på osten med faktorkombinasjonen 15 % kjernemelk og 6 % MMP. Dette indikerer at kontroll-osten var fastere i konsistensen enn de øvrige ostene.



Figur 4.17 Målt kraft i Newton i Texture Analyser på 12 ukers ost fra F2. De ulike faktorkombinasjonene forkortet som følger: KM =tilsatt 15 % kjernemelk, MMP3=tilsatt 3 % MMP, MMP6=tilsatt 6 % MMP, KM+MMP3=tilsatt 15 % kjernemelk + 3 % MMP, KM+MMP6=tilsatt 15 % kjernemelk + 6 % MMP.

I likhet med analysen på 6 ukers ost ble det benyttet størst kraft på kontroll-ostene, og lavest kraft på ost tilsatt 15 % KM og 6 % MMP.

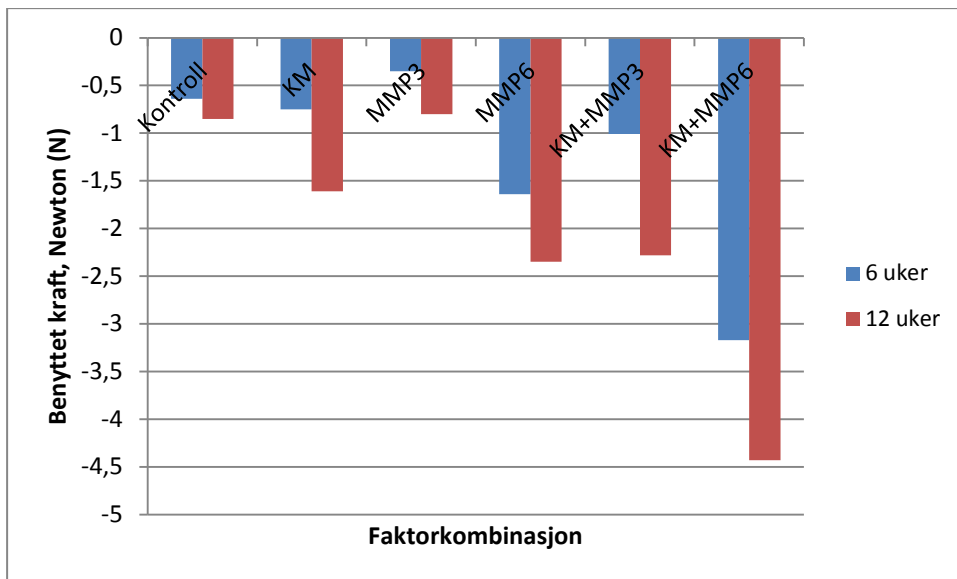
Men størrelsen på kraften som krevdes var forskjellig fra 6 ukers til 12 ukers ost. I ost tilsatt KM og ost tilsatt MMP6 krevdes det større krefter (både Force 1 og Force 2) på 12 ukers ost enn på 6 ukers ost. I de øvrige faktorkombinasjonene og kontroll-ost krevdes det mindre kraft. At kraften som krevdes var forskjellig er vist i tabell 4.4.

Tabell 4.4: Forskjeller mellom Force 1 og Force 2 i 6 ukers og 12 ukers ost.

Faktorkombinasjon	Force 1 (N)	Force 1 (N)	Differanse	Force 2 (N)	Force 2 (N)	Differanse
	6 ukers ost	12 ukers ost		6 ukers ost	12 ukers ost	
Kontroll	145,31	129,89	-18,42	192,3	165,19	-27,11
KM	106,74	112,21	5,47	136,96	140,68	3,72
MMP3	129,56	116,42	- 13,14	169,71	150,91	-18,8
MMP6	93,24	105,64	12,4	116,43	137,57	21,14
KM+MMP3	106,03	90,65	-15,38	134,92	115,57	-19,35
KM+MMP6	66,85	55,99	-10,86	83,69	71,41	-12,28

Adhesivness

I Texture Analyzer ble det også målt adhesivness, som vil være ett mål på ostens klebrighet. Forskjell i adhesivness (gjennomsnittsverdier) mellom 6 ukers og 12 ukers ost fra F2 er vist i figur 4.18.



Figur 4.18 Målt kraft i Newton i Texture Analyser på adhesivness i ost fra F2. De ulike faktorkombinasjonene forkortet som følger: KM =tilsatt 15 % kjernemelk, MMP3=tilsatt 3 % MMP, MMP6=tilsatt 6 % MMP, KM+MMP3=tilsatt 15 % kjernemelk + 3 % MMP, KM+MMP6=tilsatt 15 % kjernemelk + 6 % MMP.

Alle ystingene i F2 hadde blitt mer klebrig fra 6 ukers til 12 uker. Ost tilsatt faktorkombinasjonen kjernemelk og MMP hadde størst økning i adhesivness fra 6 til 8 uker, kontroll-ost hadde minst økning.

4.2.5 Nedsmelting

Under nedsmeltingen av oste-prøvene ble følgende prosess registrert ved hjelp av fotografering:

1. «Ostedisken» varmes opp.
2. Det dannes ei hinne på overflaten av «ostedisken», under hinna begynner osten å koke/smelte fra ytterkanten og innover mot midten.
3. Det dannes åpninger under hinna langs stekeplata hvor flytende ost renner ut.
4. Flytende ost stivner og bruner.

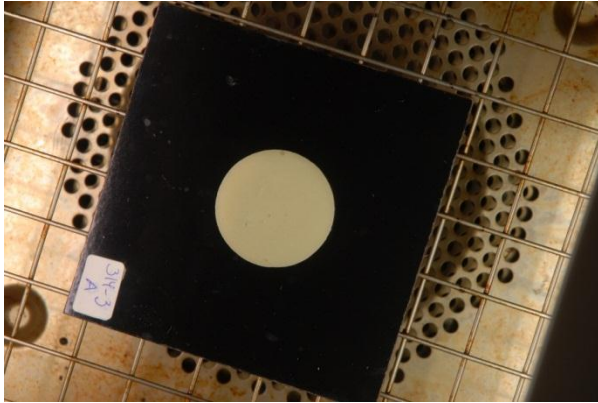
Idéen var at bilder tatt på samme tidspunkt ville gi ett grunnlag for å si noe om forskjeller i nedsmeltingsegenskapene til osten, basert på sammensetning av forsøksfaktorene (effekt av kjernemelk og MMP). Dette innebærer at bildene blir gjort om til tallmateriale som kan behandles statistisk.

Metoden forutsetter at:

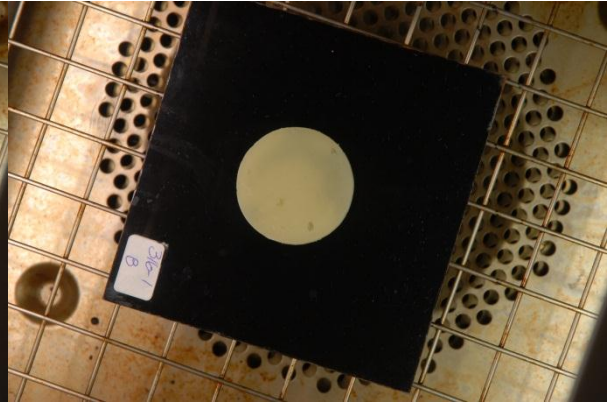
1. Alle ostene har likt utgangspunkt (form, størrelse)
2. Uforanderlig bakgrunn, som ikke forstyrrer bildekvaliteten
3. At like oster oppfører seg likt under smelting (samme utflytingsgrad, fettutskilling og bruning)

I figurene 4.19 – 4.27 presenteres en bildeserie tatt av ysting 314-3 og 316-1 for å vise hvordan

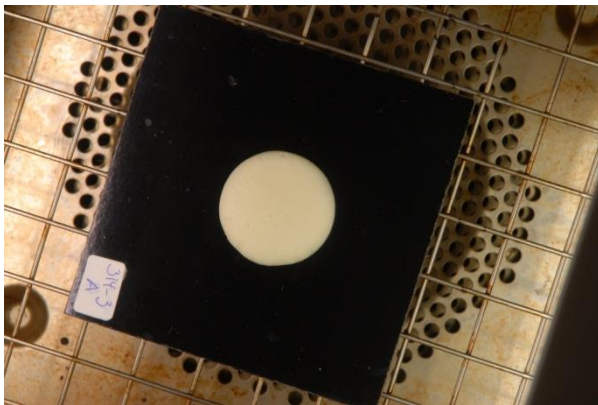
nedsmeltingen skjer, og forskjeller mellom ost tilsatt kjernemelk og MMP og kontroll-ost. Kar 314-3 er en ysting fra forsøk 2 som er tilsatt 15 % kjernemelk og 3 % MMP, dette var de to forsøksfaktorene som det ble valgt å gå videre med i forsøk 3. Kar 316-1 er kontroll-ost uten tilsetning av verken kjernemelk eller MMP.



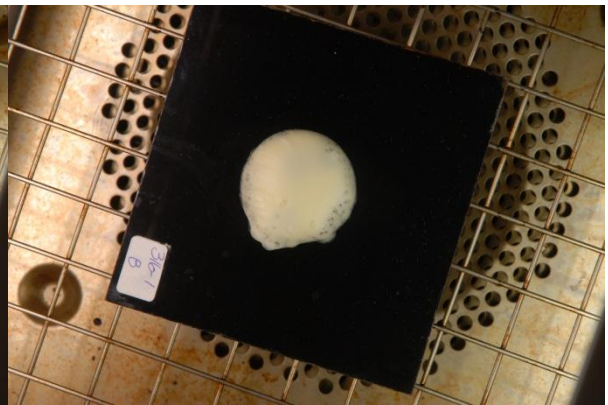
Figur 4.19a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3) bilde nr. 1 ved innsetting i ovn.



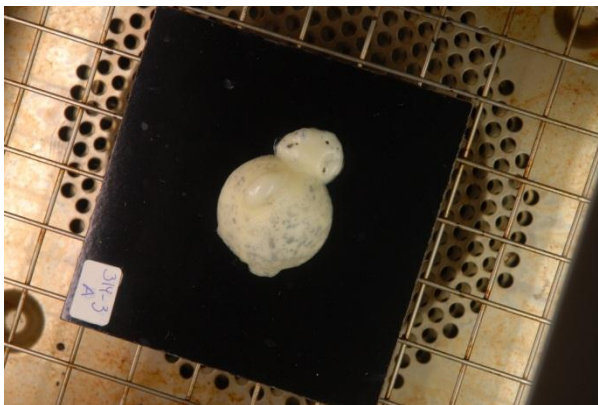
Figur 4.19b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr) Bilde nr.1 ved innsetting i ovn.



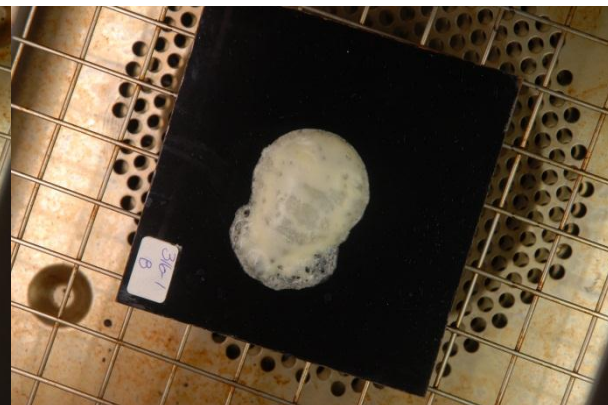
Figur 4.20a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 2 etter 1 min henstand i ovn.



Figur 4.20b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr) bilde nr. 2 etter 1 min henstand i ovn.



Figur 4.21a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 3 etter 2 min henstand i ovn.



Figur 4.21b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 3 etter 2 min henstand i ovn.



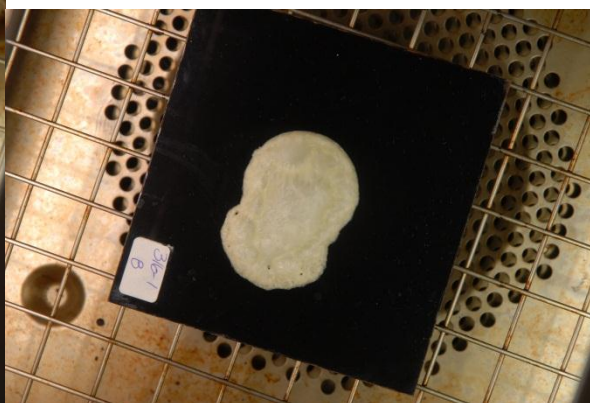
Figur 4.22a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 4 etter 3 min henstand i ovn.



Figur 4.22b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 4 etter 3 min henstand i ovn.



Figur 4.23a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 5 etter 4 min henstand i ovn.



Figur 4.23b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 5 etter 4 min henstand i ovn.



Figur 4.24a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 6 etter 6 min henstand i ovn.



Figur 4.24b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 6 etter 6 min henstand i ovn.



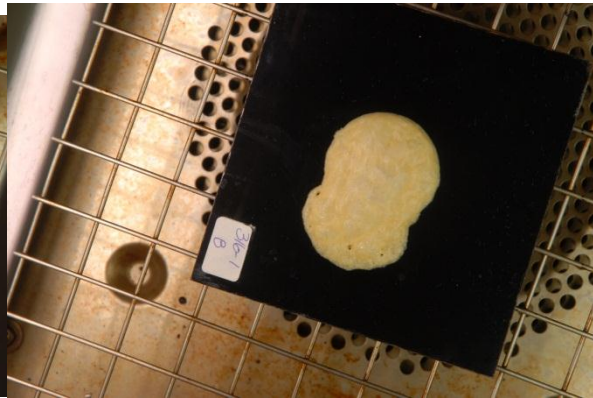
Figur 4.25a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 7 etter 8 min henstand i ovn.



Figur 4.25b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 7 etter 8 min henstand i ovn.



Figur 4.26a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 8 etter 10 min henstand i ovn.



Figur 4.26b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 8 etter 10 min henstand i ovn.



Figur 4.27a: Nedsmelting av ost 314-3 (KM+MMP3), bilde nr. 9 etter 12 min henstand i ovn.



Figur 4.27b: Nedsmelting av ost 316-1 (kontr), bilde nr. 9 etter 12 min henstand i ovn.

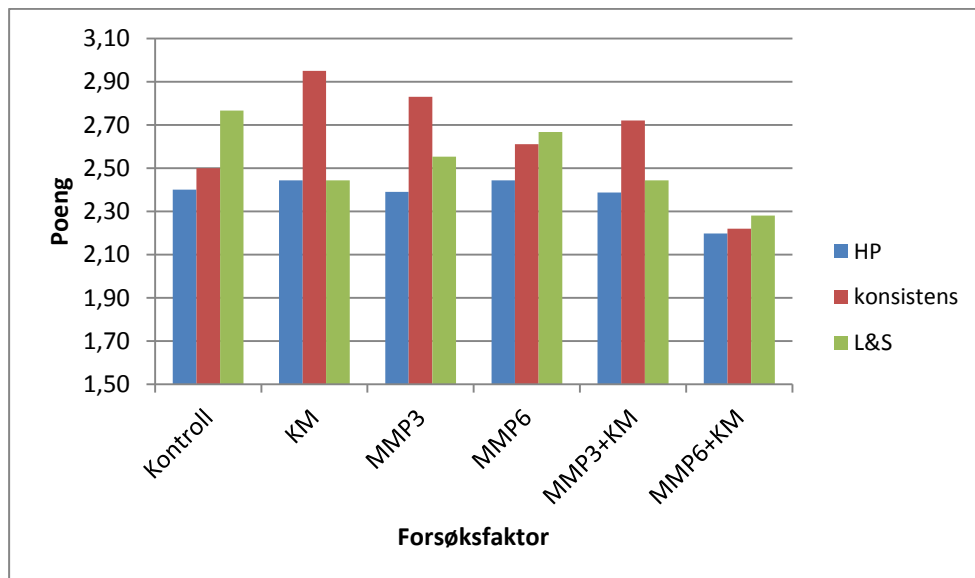
Under gjennomføringen av nedsmeltingsanalysene ble det observert at kontroll-oster og ost kun tilsatt kjernemelk fløt mere utover under smelting enn ost tilsatt MMP, dette kommer tydelig fram i bildeserien over.

Målet med nedsmeltingsanalysene var å kunne gjennomføre en avansert billedanalyse i samarbeid med Institutt for matematiske realfag og teknologi (IMT) ved UMB. I billedanalysen skulle det blant annet beregnes areal av osten før og etter smelting som kunne tas ut som diagrammer. Endringen i areal ville si noe om smeltingsegenskapene til osten. Bildene ble oversendt til IMT, men etter en tid ble det beklageligvis gitt tilbakemelding om at bildene ikke egnert seg annet enn som dokumentasjon (Kvaal, 2011).

4.2.6 Sensorikk

Egenskapsbedømmelse

Figur 4.28 viser resultater fra egenskapsbedømmelse utført på 12 ukers ost tilsatt kjernemelk og MMP i forsøk 2. Figuren viser resultater for hovedpoeng (HP), konsistens, lukt og smak (L&S). Egenskapsbedømmelsen ble gjennomført av 3 dommere ved TINE FoU i Måltidets Hus i Stavanger.



Figur 4.28 Resultater fra egenskapsbedømmelse av 12 ukers ost fra F2.

Ost tilsatt 3 % MMP (MMP3) og ost tilsatt 6 % MMP (MMP6) var begge bedre enn kontroll-ost på konsistens. I kombinasjon med kjernemelk var KM+MMP3 bedre enn kontroll-ost, men KM+MMP6 hadde mye dårligere konsistens.

Tilsetting av MMP hadde signifikant ($p \leq 0,05$) påvirkning på konsistens i osten, den signifikante påvirkningen var størst i ost tilsatt 6 % MMP. Tilsetting av kjernemelk hadde signifikant påvirkning på

lukt & smak i osten.

Fordeling av anmerkinger gitt på egenskapsbedømmelse av 12 ukers ost. Det var 3 dommere som gjennomførte bedømmelsen. Tabell 4.5 viser hvor mange ganger dommerne har gitt gjeldende anmerking for gjeldende prøve.

Tabell 4.5: Oversikt over anmerkinger gitt ved egenskapsbedømmelse av 12 ukers ost fra F2.

Anmerking	Kontroll	KM	MMP3	MMP6	KM+MMP3	KM+MMP6
Antall bedømte kar	5	3	3	3	3	3
62-uttørret	6	1	1	3	3	0
123-pipet parti	0	0	0	1	0	0
124-pipet	12	8	9	9	9	8
125-uren hullsetting	1	0	0	0	0	0
127-sprekker	4	4	3	1	1	2
145-lys	0	0	0	3	0	2
208-grynet	8	2	3	0	2	0
210-melen	1	0	0	1	1	1
212-løs	0	1	1	3	5	8
214-deiget	0	0	3	4	2	9
218-tungtløselig	3	5	6	5	3	0
219-ujevn konsistens	1	3	1	0	1	0
222-fast	10	2	1	0	0	0
224-tørr	8	1	1	2	0	0
300-sur	4	3	3	3	3	4
303-besk	5	4	5	6	4	5
304-bitter	8	5	6	4	6	4
305-uren	0	1	0	0	0	1
331-lite smak	1	0	0	0	0	0

Anmerkinger på konsistens:

Ost tilsatt KM + MMP6 hadde fått flest anmerkinger på løs og deiget. Kontroll-ost og ost tilsatt KM hadde flest anmerkinger for sprekker. Kontroll-ost hadde flest anmerkinger for fast og tørr ost.

Anmerkinger på lukt og smak:

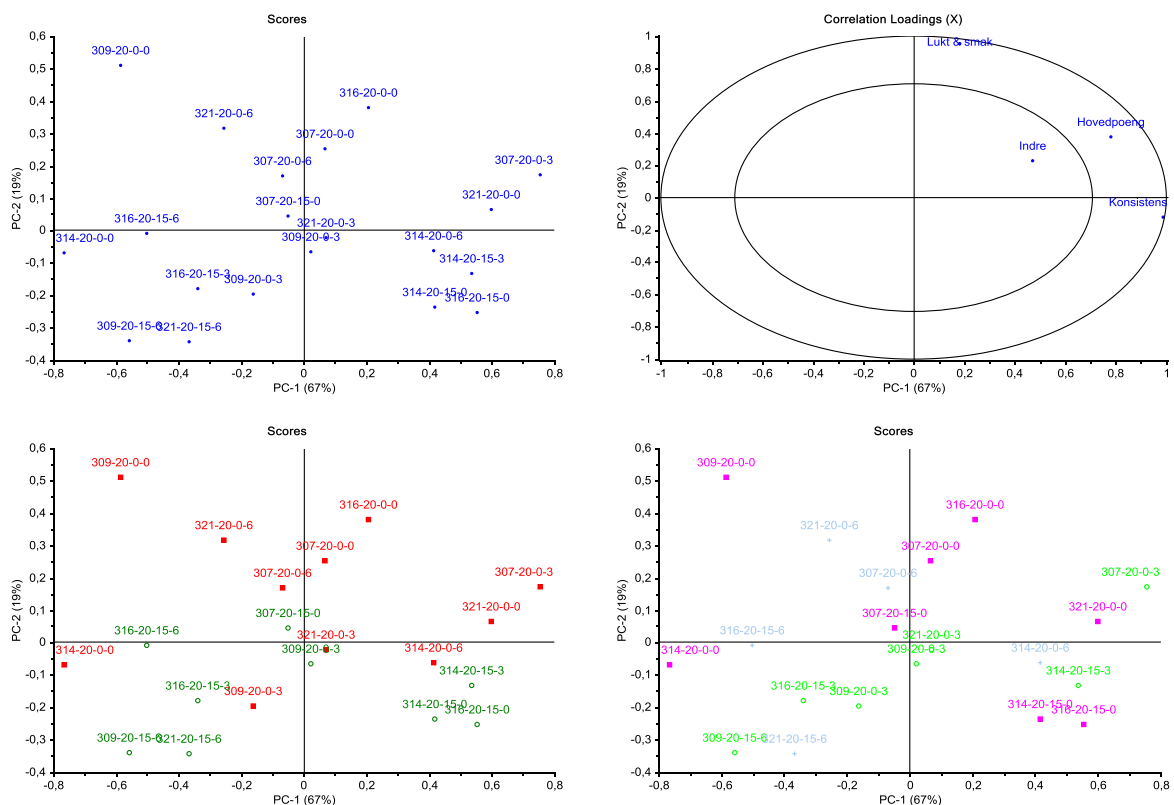
Forekomst av besk og bitter smak var relativt likt i alle ostene uavhengig av forsøksfaktor.

Andre anmerkinger:

Ost tilsatt 6 % MMP ble gitt anmerking for lys farge.

PCA-plott (Principal component analyse) er en grafisk framstilling for å vise effekter av forsøksfaktorene. Desto lengre ut fra origo i PCA-plottet ystingen ligger desto større sannsynlighet er det for at effekten kan forklares av forsøksfaktorene. Jo nærmere origo, jo mindre forskjeller er funnet og lite av effekten kan forklares av forsøksfaktorene.

I figur 4.29 vises en grafisk framstilling (PCA-plott) hvor resultatet fra egenbedømmelsen er sortert på forsøksfaktor i 20 ukers ost fra forsøk 2. PCA-plottet nederst til venstre viser effekter av tilsetning av kjernemelk, og PCA-plottet nederst til høyre viser effekter av tilsatt MMP.

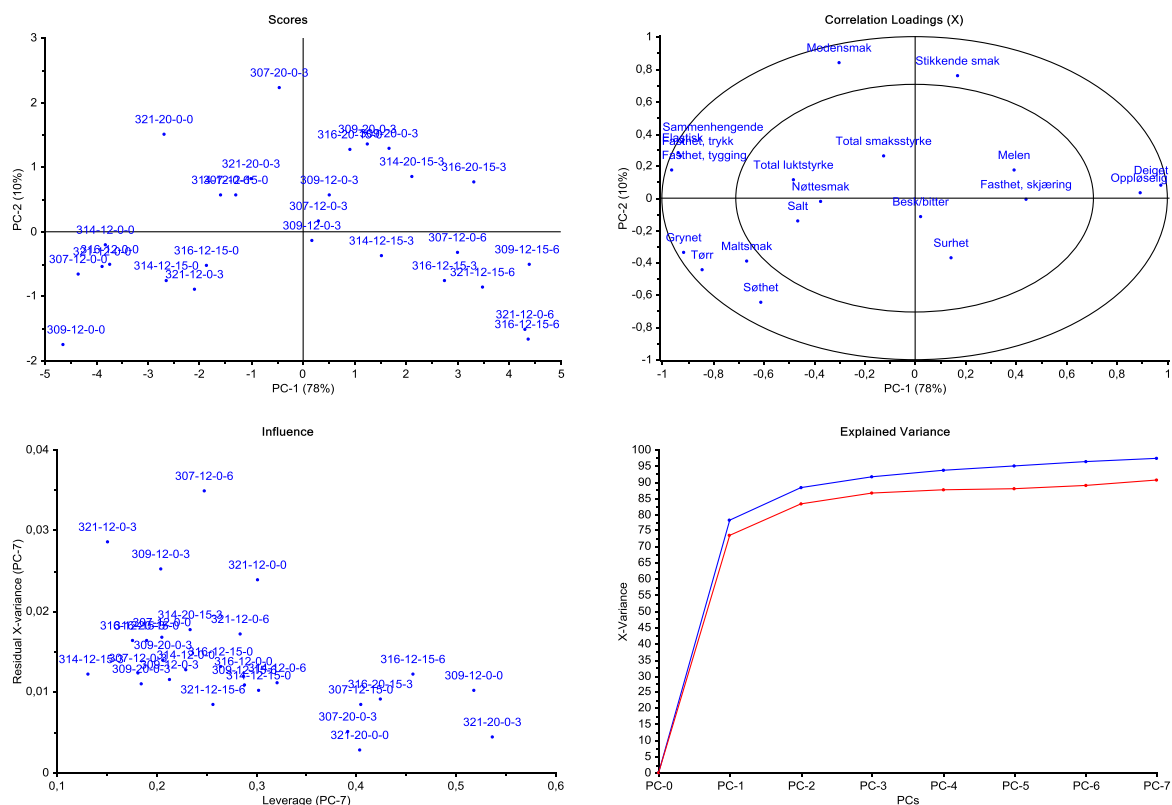


Figur 4.29: PCA-plott med resultater fra egenskapsbedømmelse sortert i forhold til forsøksfaktor. Fargekodene er forklart slik; Rød=ikke tilsatt kjernemelk, Grønn= tilsatt 15 % kjernemelk, Rosa= ikke tilsatt MMP, Lyse grønn= tilsatt 3 % MMP, Lyse blå= tilsatt 6 % MMP.

PCA-plottet viser at lukt og smak ble lite påvirket av forsøksfaktorene, men konsistens ble kraftig påvirket av forsøksfaktorene.

Sensorisk profilering

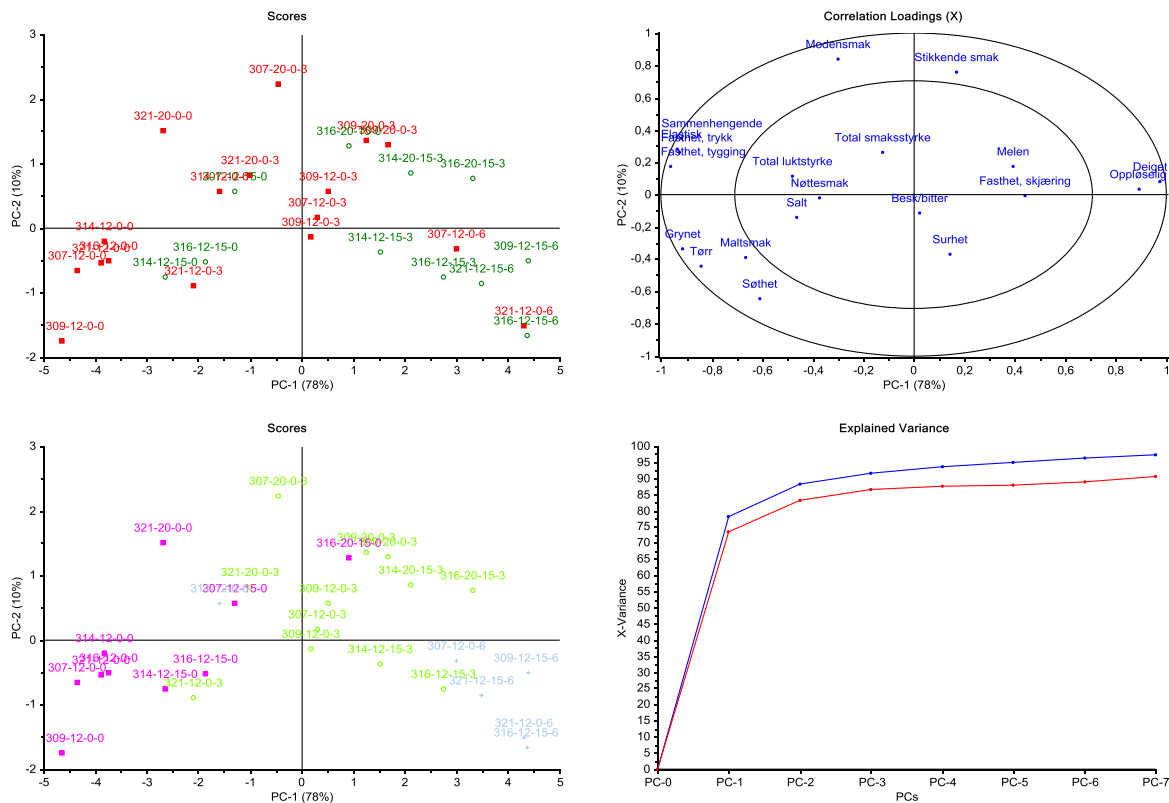
Sensorisk profilering i Unscrambler (PCA-plott) av 12 og 20 ukers ost fra F2 er vist i figur 4.30.



Figur 4.30: PCA-plott over sensorisk profilering av F2.

Profileringen viser at egenskaper knyttet til konsistens ble påvirket av forsøksfaktorene, mens egenskaper knyttet til lukt og smak ikke hadde så stor påvirkning av forsøksfaktorene.

Sensorisk profilering i Unscrambler (PCA-plott) av 12 og 20 ukers ost fra F2, sortert i forhold til forsøksfaktor er vist i figur 4.31.



Figur 4.31: PCA-plott over sensorisk profilering med resultater sortert i forhold til forsøksfaktor. Fargekodene er forklart slik; Rød=ikke tilsatt kjernemelk, Grønn= tilsatt 15 % kjernemelk, Rosa= ikke tilsatt MMP, Lyse grønn= tilsatt 3 % MMP, Lyse blå= tilsatt 3 % MMP.

Den sensoriske profileringen viste samme tendens som egenskapsbedømmelsen. PCA-plottet viser at lukt og smak ble lite påvirket av forsøksfaktorene, men konsistens ble kraftig påvirket av forsøksfaktorene.

4.3 Forsøk 3

4.3.1 Statistisk behandling

Det ble utført variansanalyse i Minitab for å undersøke hvilke effekter tilsetning av de to LAB-stammene hadde på resultatene som ble oppnådd. Til variansanalysen ble det benyttet General Linear Model (GLM).

Tabell 4.6: Statistiske resultater fra kjemiske og mikrobiologiske analyser av forsøk 3. Tabellen viser signifikante effekter av ystingsdag og tilsatt LAB-kultur (LAB 0 = ingen tilsetning, LAB 18 = tilsatt *Lb.plantarum* og LAB36 = tilsatt *Lb.casei/paracasei*). NS = ikke signifikant. De signifikante effektene er oppgitt som: + = $p \leq 0,05$, ++ = $p \leq 0,01$ og +++ = $p \leq 0,001$. Ulike bokstaver angir signifikante forskjeller mellom responsvariablene (A angir høyeste verdi og C laveste verdi).

Analyser	Ystingsdag	Tilsatt LAB				
	Signifikans	Signifikans	R ² -verdi (%)	LAB 0	LAB 18	LAB 36
Kjemisk						
pH	NS	NS				
Tørrstoff ost	NS	NS				
Fett i ost	NS	NS				
Mikrobiologisk						
Totaltall	NS	NS				
Laktokokker	NS	NS				
Laktobasiller ym	NS	NS				
Laktobasiller 24 timer	NS	NS				
Laktobasiller 8 uker	NS	+	97,23	B	A	AB
Laktobasiller 16 uker	NS	+	96,42	B	A	AB
Laktobasiller 28 uker	NS	+	98,15	B	A	B
Sensorisk						
Hovedpoeng	NS	NS				
Konsistens	NS	NS				
Lukt og smak	NS	NS				

I forsøk 3 var det kun innholdet av laktobasiller som var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene.

4.3.2 Mikrobiologiske resultater

4.3.2.1 Totaltall bakterier i ystemelk i F3

Innholdet av totaltall bakterier i ystemelka i forsøk 3 er framstilt i tabell 4.7

Tabell 4.7: Totaltall bakterier i ystemelk i forsøk 3.

Ysting	Totaltall i ystemelk, cfu/ml
313-1	< 1000
313-2	< 1000
313-3	1000
315-1	< 1000
315-2	1000
315-3	1000

Alle analyseresultater på ystemelk fra forsøk 3 var lave og i henhold til gjeldende norm i TINE's Interne Kvalitative driftskontroll-hvitost (2011).

4.3.2.2 Mikrobiologiske prøver av MMP

Tabell 4.8 viser mikrobiologiske resultater på tilsatt MMP i forsøk 3.

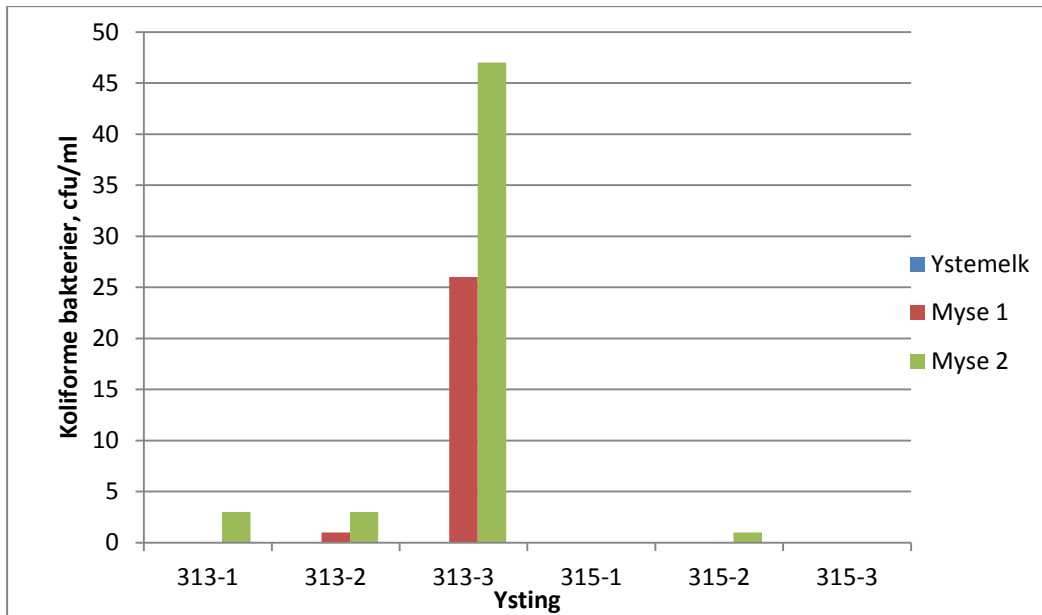
Tabell 4.8 Oversikt over mikrobiologiske resultater av MMP i F3.

Dagnr.	Enhet	313	315
Alder MMP	døgn	5	7
Koliforme bakterier	cfu/ml	0	0
Anaerobe sporedannere	ant/100 ml	0	
Laktobasiller (LBS)		Ikke analysert	0
Laktokokker (M17)		Ikke analysert	0
Totaltall bakterier		Ikke analysert	80
Pseudomonas	cfu/ml	175.000	

Alle resultater var innenfor gjeldende krav.

4.3.2.3 Koliforme bakterier i forsøk 3

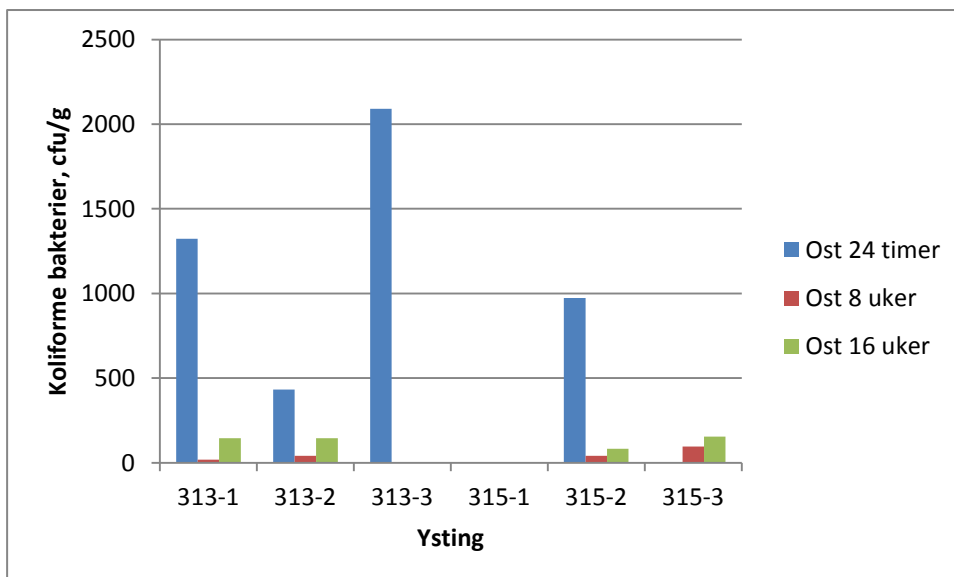
I figur 4.32 vises en grafisk framstilling av innholdet av koliforme bakterier i ystemelk og myse i ystingene som tilhørte forsøk 3.



Figur 4.32: Innhold av koliforme bakterier i ystemelk og myse fra F3. Myse 1 er prøveuttak fra 1.myseavtapp i ystekaret. Myse 2 er prøveuttak fra 2.myseavtapp i pressekaret.

Det ble ikke påvist koliforme bakterier i ystemelk i noen av ystingene. Det påvist koliforme bakterier i myse fra 1.myseavtapp i ystekaret i ysting 313-2 og 313-3. Det ble påvist koliforme bakterier i myse fra 2.myseavtapp i pressekaret i ysting 313-1, 313-2, 313-3 og 315-2.

I figur 4.33 vises en grafisk framstilling av innholdet av koliforme bakterier i ferskost, 8 ukers ost og 16 ukers ost fra forsøk 3.



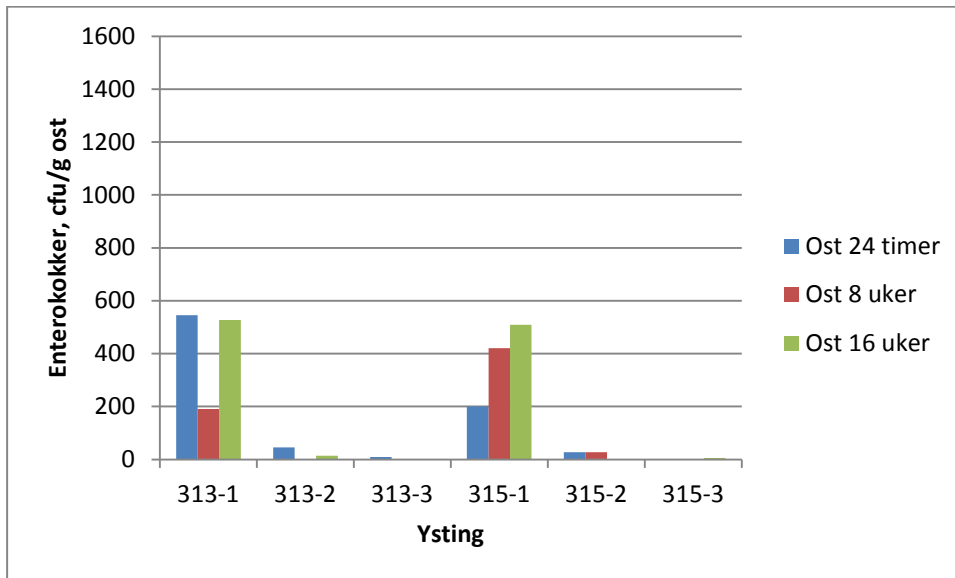
Figur 4.33: Innhold av koliforme bakterier i ost fra F3 utover i lagringstiden.

Det ble påvist koliforme bakterier i ferskost fra ysting 313-3, 313-2, 313-3 og 315-2. Høyeste verdi ble påvist i ysting 313-3. Innholdet av koliforme bakterier gikk ned utover i lagringstiden, men selv

etter 16 ukers lagring ble det påvist noe koliforme bakterier.

4.3.2.4 Enterokokker i forsøk 3

I figur 4.34 vises en grafisk framstilling av innholdet av enterokokker i ferskost og 6 ukers ost fra forsøk 3.

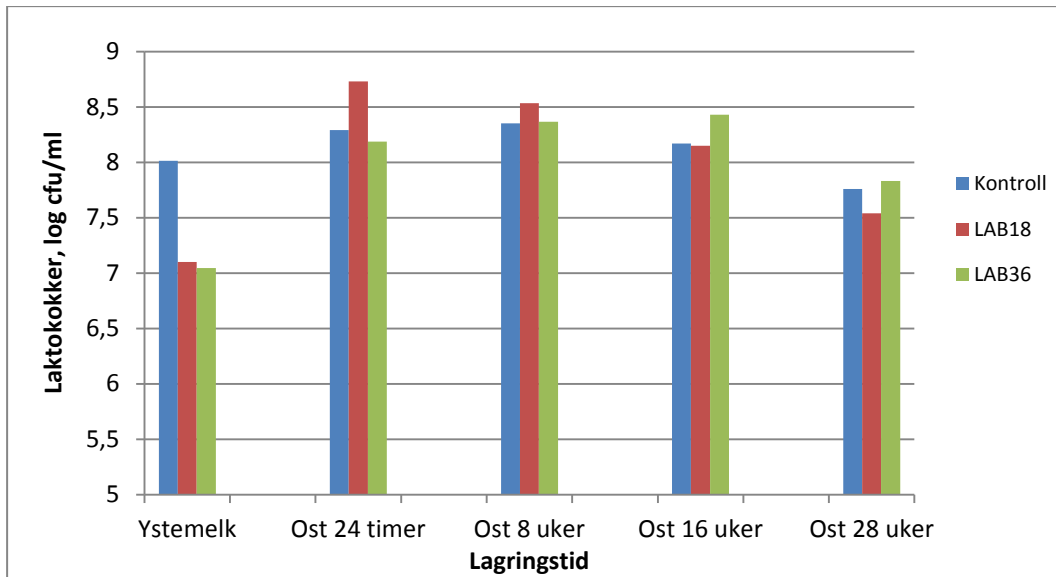


Figur 4.34: Innhold av enterokokker i ost fra F3 utover i lagringstiden.

I forsøk 3 ble det påvist enterokokker i varierende mengder alle ystinger. Det høyeste antallet pr. g ost ble påvist i det første karet begge ystingsdagene. Utover i modningstiden endret antallet seg, i ysting 313-1 gikk antallet noe ned fra ferskost til 8 ukers ost, for så å øke igjen i 16 ukers ost. I ysting 315-1 økte antallet fra ferskost til 8 ukers ost, og videre økning i 16 ukers osten.

4.3.2.5 Laktokokker

Figur 4.35 viser en grafisk framstilling av innholdet av laktokokker i osten i forsøk 3 utover i modningstiden.

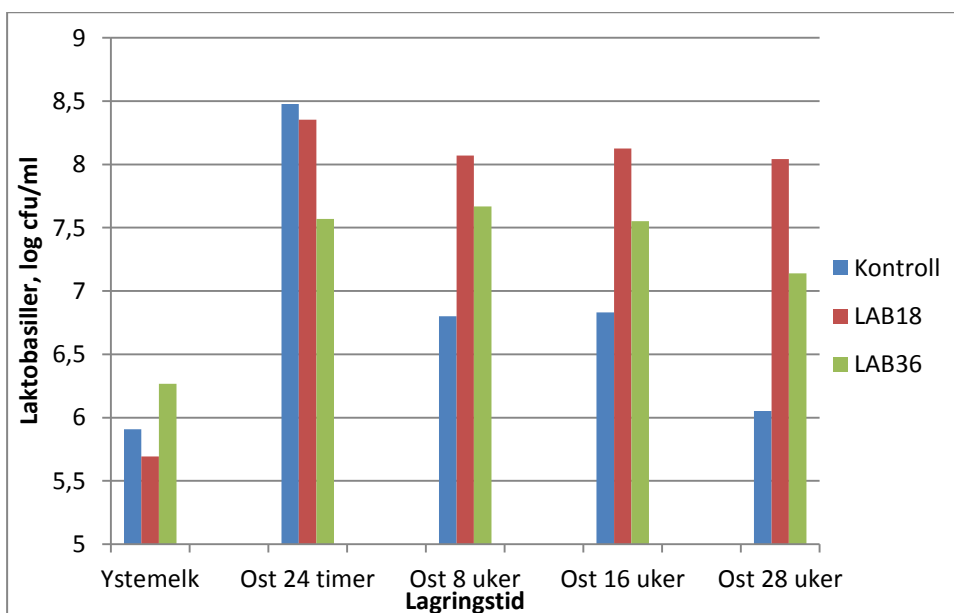


Figur 4.35: Innhold av laktokokker i F3 utover i modningen

Innholdet av laktokokker var som forventet lavt i ystemelka. I forsøks-ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) var innholdet av laktokokker høyest i 24 timers ost, deretter gikk innholdet ned videre utover i modningen. I forsøks-ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) var innholdet av laktokokker lavt i ferskost for deretter å øke utover i modningstiden fram til 28 uker hvor det gikk ned.

4.3.2.6 Laktobasiller (LAB)

Innholdet av tilsatte laktobasiller (LAB) i osten i forsøk 3 utover i modningen er grafisk framstilt i figuren 4.36.



Figur 4.36 Innhold av LAB utover i modningen.

I kontroll-ost uten tilsetning av LAB-kultur var det høyt innhold av laktobasiller etter 24 timer, men disse laktobasillene fantes ikke igjen i osten i noen særlig grad utover i modningen. Alt etter 8 uker var innholdet av laktobasiller mye høyere i oster tilsatt LAB 18 enn i kontroll-ost.

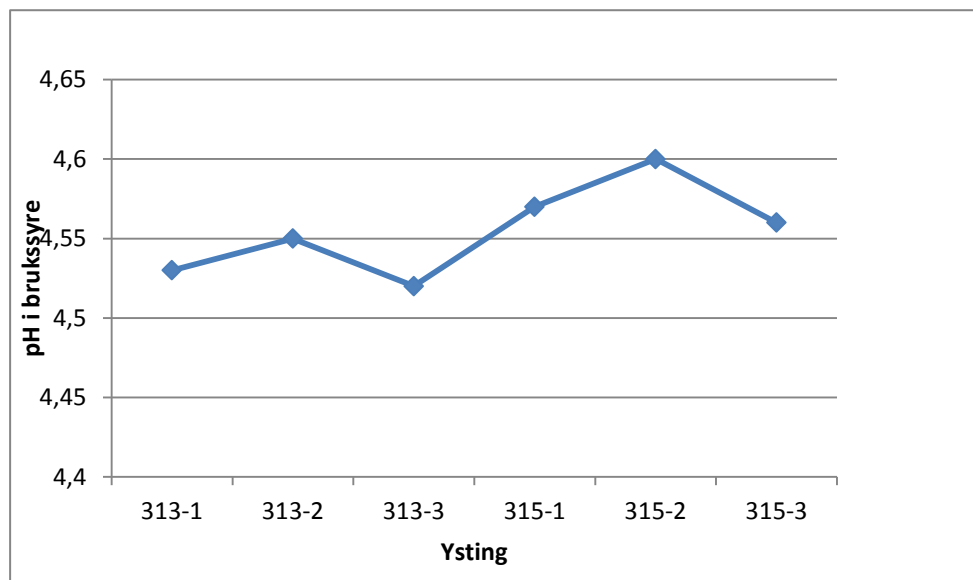
LAB18 gav signifikant høyere innhold av laktobasiller enn kontroll-osten både ved 8 uker og ved 16 uker. LAB18 gav signifikant høyere innhold av laktobasiller enn LAB36 først etter 28 uker. Innholdet av laktobasiller i LAB36-osten var ikke signifikant høyere i forhold til kontroll-osten etter 28 ukers lagring.

4.3 Kjemiske resultater

4.3.1 Aktivitetsprøve og pH i brukssyre

Det ble målt pH og aktivitet i brukssyre som ble tilsatt til ystemelka.

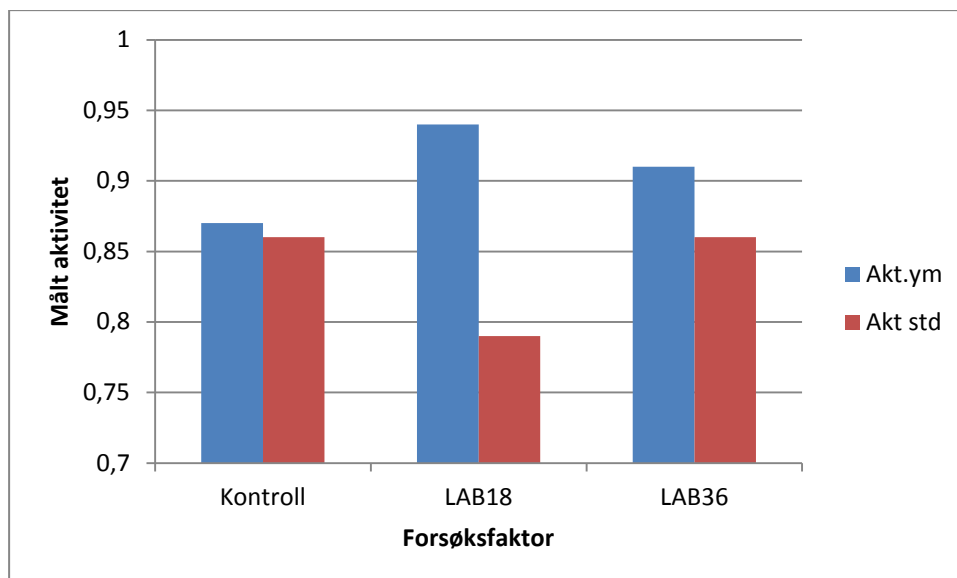
Figur 4.37 viser resultatene på pH i brukssyra som ble tilsatt til ystemelka i forsøk 3.



Figur 4.37: pH i brukssyre i forsøk 3.

pH i brukssyra lå litt lavere på dag 313 enn på dag 315.

Aktivitetsprøven er ett mål på hvor godt syrekulturen trives og utvikler seg i ystemelk og standardmelk. Figur 4.38 viser resultater for aktivitetsprøven målt i ystemelk og i standardmelk for hver forsøksfaktor i F3.



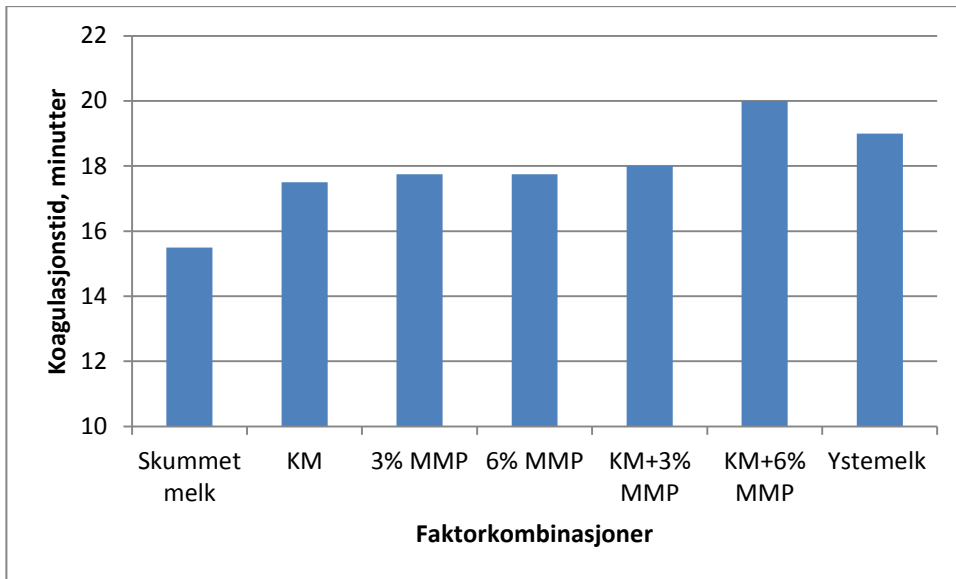
Figur 4.38: Aktivitet av brukssyre i ystemelk og standardmelk i forsøk 3.

I ystemelk uten tilsetning av LAB (kontroll) var det liten forskjell mellom aktiviteten i brukssyra målt i ystemelk og i standard. I ystemelk tilsatt LAB 18 var aktiviteten mye høyere enn i standard. Ystemelk tilsatt LAB 36 hadde også høyere aktivitet i ystemelk enn i standard, men forskjellen var mindre enn ved tilsetning av LAB 18.

4.3.2 Løpningsegenskaper i formagraf

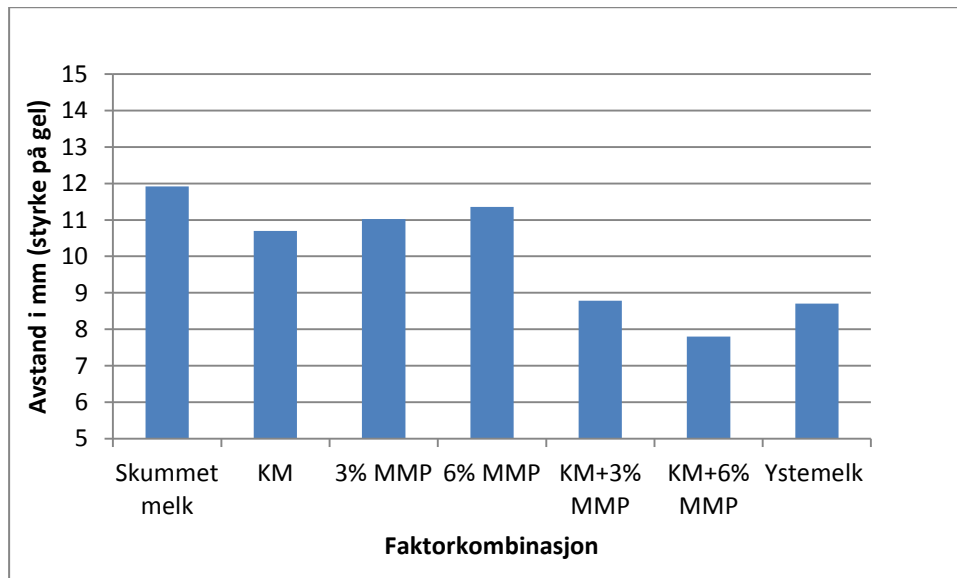
Det ble gjennomført to forsøk med analyse av løpningsegenskaper i formagraf. Det første forsøket gav helt usannsynlige resultater, på grunn av at prøvene hadde vært frosset ned. Det ble derfor valgt ikke å ta med disse resultatene i presentasjonen.

Det andre forsøket ble gjennomført med melk fra ystingsdag 313. Dette ble vellykket, og resultatene presenteres i figur 4.39 og 4.40.



Figur 4.39: Koagulasjonstid i minutter i formagraf (RCT-tid)

Prøven med skummet melk hadde kortest koagulasjonstid (tid før prøven begynte å koagulere, RCT-tid), og prøven som var tilsatt 15% kjernemelk og 6% MMP hadde lengst koagulasjonstid.



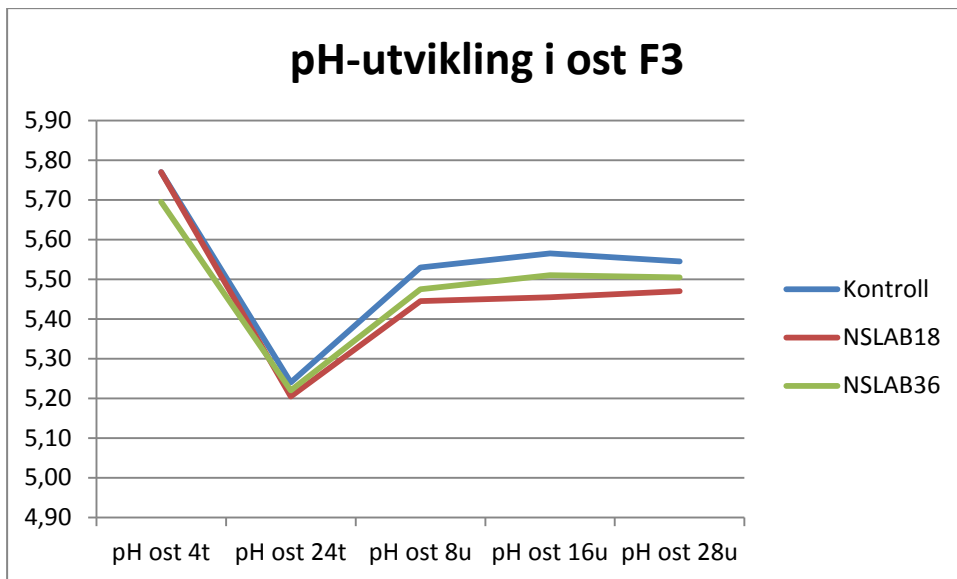
Figur 4.40: Styrke på gel (A30) for ulike faktorkombinasjoner

Prøvene med tilsetning av både kjernemelk og MMP viste lavest styrke (A30) på gel.

4.3.3 pH

4.3.1.2 Forsøk 3

pH-utvikling i osten i forsøk 3 er grafisk framstilt i figur 4.41.



Figur 4.41 pH-utviklingen i osten utover i modningen i osten tilsatt LAB (F3).

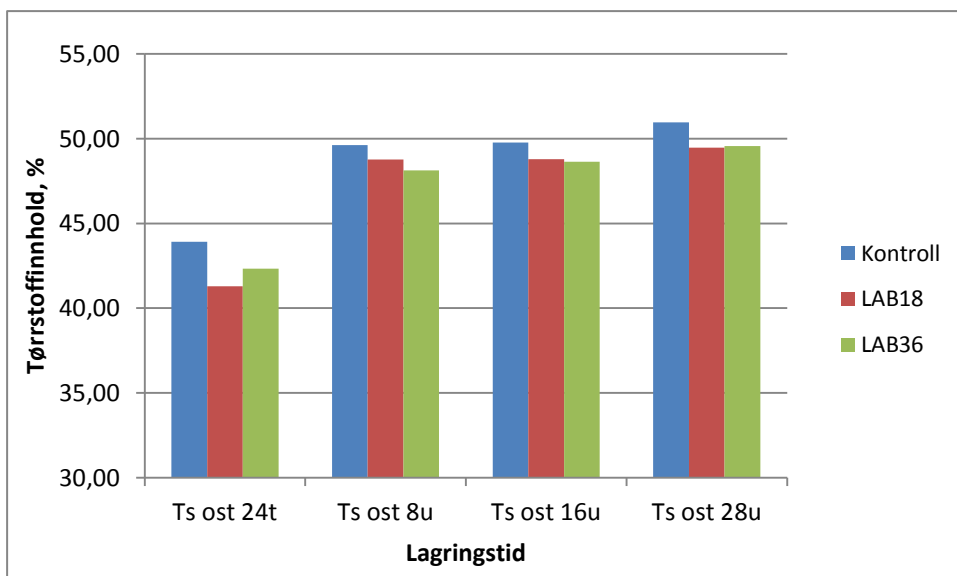
Ystinger tilsatt LAB18 lå lavest i pH under modningsforløpet. Kontroll-ost lå høyest i pH. Ved 8 ukers alder lå ost tilsatt NSLAB godt under pH i kontroll-ost.

Tilsetning av LAB hadde imidlertid ikke statistisk signifikant påvirkning på pH under modningen av osten.

4.3.2 Tørrstoff

4.3.2.3 Tørrstoffmålinger i forsøk 3

Tørrstoffinnholdet i osten utover i modningsforløpet i forsøk 3 er framstilt grafisk i figur 4.42.



Figur 4.42 Tørrstoff innhold i ost utover i modningen (F3).

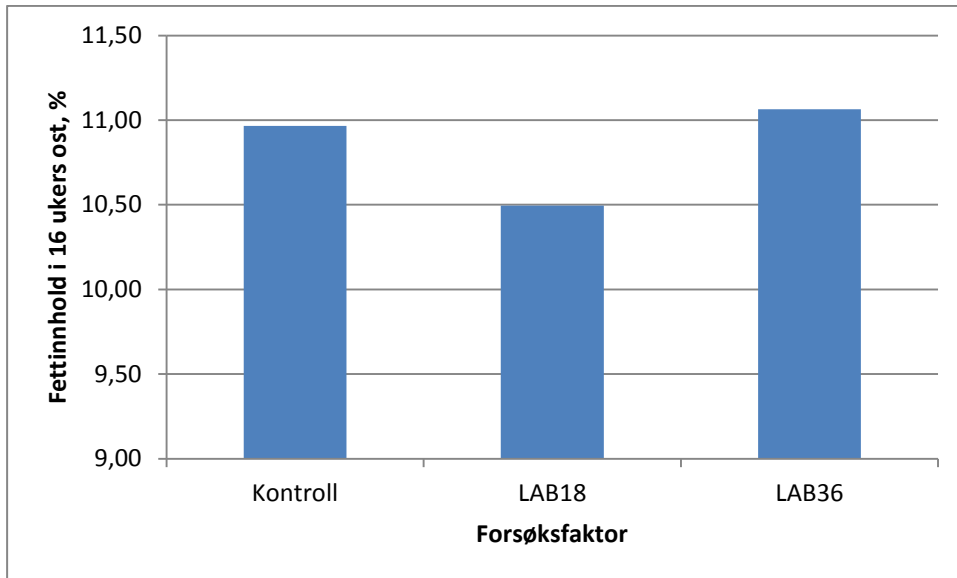
Kontroll-osten hadde høyest tørrstoffinnhold. Ost tilsatt LAB lå lavere i tørrstoff enn kontroll-osten,

men også nærmere ønsket norm på 48 %. Forsøksfaktorene gav imidlertid ikke signifikant effekt på tørrstoffinnholdet.

4.3.4 Fett

4.3.4.1 Fettinnhold i ost i forsøk 3

I figur 4.43 presenteres fettinnhold i ost fra forsøk 3.

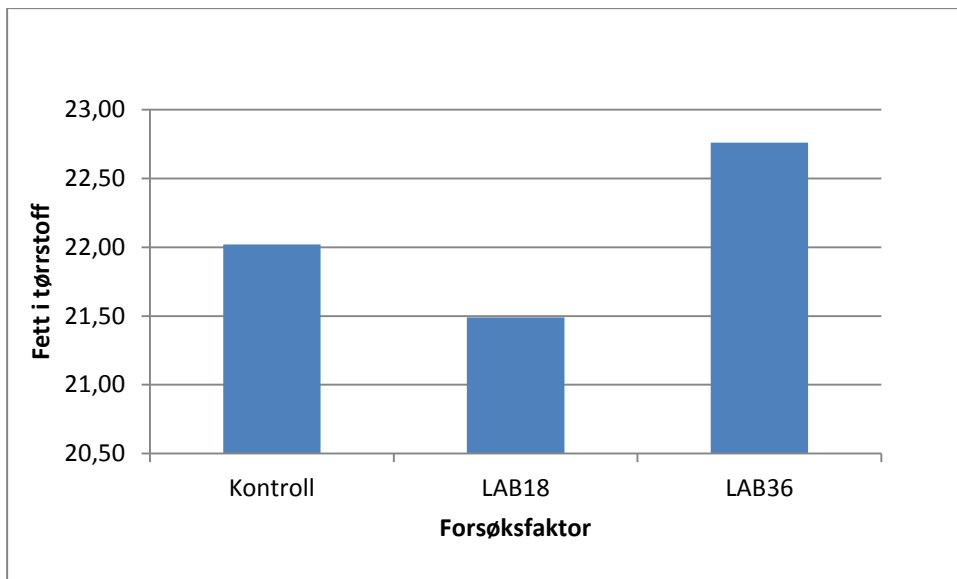


Figur 4.43 Fettinnhold i % i ost fra forsøk 3

Fettinnholdet var lavest i ost tilsatt LAB 18, kontroll og ost tilsatt LAB 36 lå relativt likt og litt høyere enn ost tilsatt LAB 18.

4.3.4.2 Fett i tørrstoff

Figur 4.44 viser forholdet mellom fett og tørrstoff i forsøk 3.



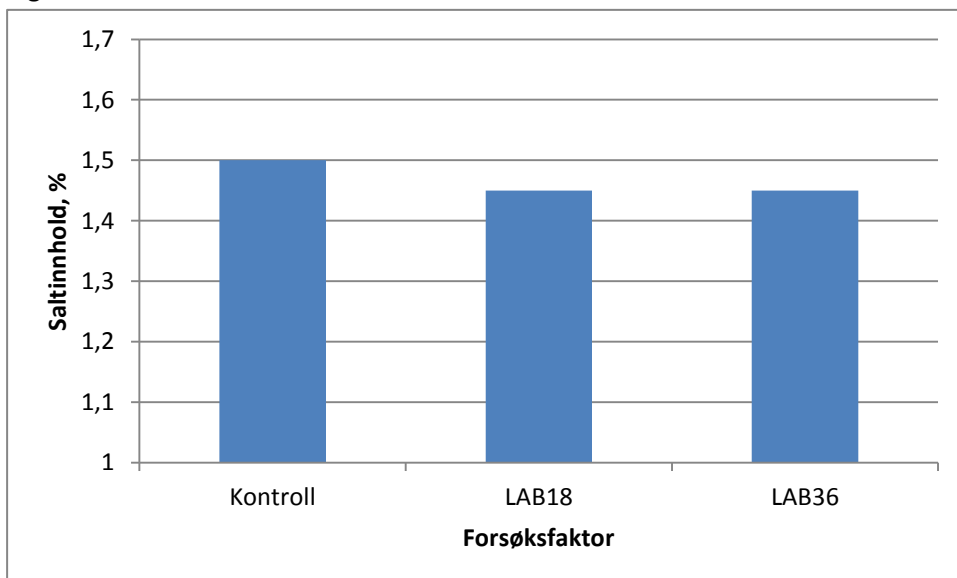
Figur 4.44 Fett i tørrstoff i ost fra forsøk 3

Fett i tørrstoff var høyest i ost tilsatt LAB 36.

4.3.5 Salt

Ifølge TINE Produktspesifikasjon for Lettere Norvegia, 16 % er norm for saltinnhold 1,1 %, med en angitt minimumsgrense på 0,8 % og maksimumsgrense på 1,4 % (TINE SA, 2011a).

Figur 4.45 viser målt saltinnhold i ost i forsøk 3.



Figur 4.45 Saltinnhold i % i ost fra forsøk 3

Det var liten forskjell i saltinnhold mellom kontroll-ost og ost tilsatt LAB. Alle resultatene lå litt i overkant av øvre grense på 1,4 % som gjelder i TINE.

4.3.6 Biokjemiske resultater

I løpet av modningen foregår det biokjemiske reaksjoner i osten, som endrer innholdet av aromastoffer og organiske syrer. I forsøk 3, med tilsetning av LAB ble det gjennomført analyser av innholdet av aromastoffer og organiske syrer etter 24 timer, 8 uker, 16 uker og 28 ukers alder. Resultater fra analysene i forhold til signifikante effekter i 24 timers, 8 ukers, 16 ukers og 28 ukers ost er vist i tabell 4.3-4.6. Tabellene viser signifikante effekter av ystingsdag og tilsatt LAB-kultur (LAB 0 = ingen tilsetning, LAB 18 = tilsatt *Lb.plantarum* og LAB36 = tilsatt *Lb.casei/paracasei*)

Tabell 4.9: Statistiske resultater fra biokjemiske analyser av ost tilsatt LAB i 24 timers ost. Tabellen viser signifikante effekter av ystingsdag og tilsatt LAB-kultur (LAB 0 = ingen tilsetning, LAB 18 = tilsatt *Lb.plantarum* og LAB36 = tilsatt *Lb.casei/paracasei*). NS = ikke signifikant. De signifikante effektene er oppgitt som: + = $p \leq 0,05$, ++ = $p \leq 0,01$ og +++ = $p \leq 0,001$. Ulike bokstaver angir signifikante forskjeller mellom responsvariablene (A angir høyeste verdi og C laveste verdi).

Analyser	Ystingsdag		Tilsatt LAB				
24 timers ost	Signifikans	R-verdi (%)	Signifikans	R-verdi(%)	LAB 0	LAB 18	LAB 36
Aromastoffer:							
Acetaldehyd	NS		NS				
Etanol	NS		NS				
Aceton	NS		NS				
2-propanol	NS		NS				
2-metyl-propanal	NS		NS				
1-propanol	NS		NS				
Diacetyl	NS		NS				
2-butanon	++	96,96	NS				
Etylacetat	NS		NS				
2-metyl-1-propanol	NS		NS				
3-metyl-butanal	NS		NS				
1-butanol	NS		+	97,59	A	B	B
2-pentanon	NS		NS				
Acetoin	NS		NS				
Organiske syrer:							
Sitronsyre	NS		NS				

α -ketoglutarsyre	NS		NS				
Orotinsyre	NS		NS				
Pyrodruesyre	++	98,64	NS				
Ravsyre	NS		NS				
Melkesyre	NS		NS				
Maurusyre	NS		NS				
Eddiksyre	NS		NS				
Urinsyre	NS		+	96,58	B	AB	A
DL-pyrogglutaminsyre	NS		NS				

Ved 24 timers alder på osten var det kun 2-butanon og 1-butanol som var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene. Av de organiske syrene var det kun pyrodruesyre og urinsyre som var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene.

Tabell 4.10: Statistiske resultater fra biokjemiske analyser av ost tilsatt LAB i 8 ukers ost. Tabellen viser signifikante effekter av ystingsdag og tilsatt LAB-kultur (LAB 0 = ingen tilsetning, LAB 18 = tilsatt *Lb.plantarum* og LAB36 = tilsatt *Lb.casei/paracasei*). NS = ikke signifikant. De signifikante effektene er oppgitt som: + = $p \leq 0,05$, ++ = $p \leq 0,01$ og +++ = $p \leq 0,001$. Ulike bokstaver angir signifikante forskjeller mellom responsvariablene (A angir høyeste verdi og C laveste verdi).

Analyser	Ystingsdag		Tilsatt LAB				
8 ukers ost	Signifikans	R-verdi (%)	Signifikans	R-verdi (%)	LAB 0	LAB 18	LAB 36
Aromastoffer:							
Acetaldehyd	NS		+++	99,89	C	B	A
Etanol	+	98,84	+	98,84	A	B	B
Aceton	NS		NS				
2-propanol	NS		NS				
n-pentan	NS		NS				
Dimetylsulfid	NS		NS				
2-metyl-propanal	+	97,33	NS				
1-propanol	NS		+	98,32	B	A	B
Diacetyl	NS		+	98,21	B	A	A
2-butanon	NS		NS				
2-butanol	NS		NS				
Etylacetat	NS		NS				
2-metyl-1-propanol	NS		NS				
3-metyl-butanal	+	96,62	NS				
2-metyl-butanal	NS		NS				
1-butanol	NS		NS				
2-pentanon	NS		+++	99,91	B	A	A
Acetoin	+	99,98	+++	99,98	C	A	B

Organiske syrer:							
Orotinsyre	NS		NS				
Pyrodruesyre	NS		+	96,37	B	A	AB
Ravsyre	NS		+	96,76	A	A	B
Melkesyre	NS		NS				
Maursyre	NS		+	96,72	B	A	AB
Eddiksyre	NS		++	99,40	B	A	B
DL- pyroglutaminsyre	NS		NS				

Ved analyse av aromastoffer ved 8 ukers alder på osten ble det funnet at acetaldehyd, etanol, 1-propanol, diacetyl, 1-butanol og acetoin var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene. Ved analyse av organiske syrer i ost ble det funnet at pyrodruesyre, ravsyre, maursyre og eddiksyre var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene.

Tabell 4.11: Statistiske resultater fra biokjemiske analyser av ost tilsatt LAB i 16 ukers ost. Tabellen viser signifikante effekter av ystingsdag og tilsatt LAB-kultur (LAB 0 = ingen tilsetning, LAB 18 = tilsatt *Lb.plantarum* og LAB36 = tilsatt *Lb.casei/paracasei*). NS = ikke signifikant. De signifikante effektene er oppgitt som: + = $p \leq 0,05$, ++ = $p \leq 0,01$ og +++ = $p \leq 0,001$. Ulike bokstaver angir signifikante forskjeller mellom responsvariablene (A angir høyeste verdi og C laveste verdi).

Analyser	Ystingsdag		Tilsatt LAB				
16 ukers ost	Signifikans	R-verdi (%)	Signifikans	R-verdi (%)	LAB 0	LAB 18	LAB 36
Aromastoffer:							
Acetaldehyd	NS		+	96,73	AB	B	A
Etanol	NS		+	95,55	A	AB	B
Aceton	NS		NS				
2-propanol	NS		NS				
n-pentan	NS		NS				
Dimetylsulfid	NS		NS				
2-metyl-propanal	NS		NS				
1-propanol	NS		+	96,82	B	A	B
Diacetyl	NS		+	98,14	B	AB	A
2-butanon	NS		NS				
2-butanol	NS		NS				
Etylacetat	NS		NS				
2-metyl-1-propanol	NS		NS				
3-metyl-butanal	NS		NS				
2-metyl-butanal	NS		NS				
1-butanol	NS		NS				
2-pentanon	NS		NS				
Acetoin	NS		NS				

Organiske syrer:							
Orotinsyre	NS		NS				
Pyrodruesyre	NS		++	99,39	B	A	B
Ravsyre	NS		NS				
Melkesyre	NS		NS				
Maursyre	NS		+	95,04	B	A	B
Eddiksyre	NS		+	96,61	B	A	AB
DL- pyroglutaminsyre	NS		NS				

Ved analyse av aromastoffer ved 16 ukers alder på osten ble det funnet at acetaldehyd, etanol, 1-propanol og diacetyl var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene. Ved analyse av organiske syrer i ost ble det funnet at pyrodruesyre, maursyre og eddiksyre var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene.

Tabell 4.12: Statistiske resultater fra biokjemiske analyser av ost tilsatt LAB i 28 ukers ost. Tabellen viser signifikante effekter av ystingsdag og tilsatt LAB-kultur (LAB 0 = ingen tilsetning, LAB 18 = tilsatt *Lb.plantarum* og LAB36 = tilsatt *Lb.casei/paracasei*). NS = ikke signifikant. De signifikante effektene er oppgitt som: + = $p \leq 0,05$, ++ = $p \leq 0,01$ og +++ = $p \leq 0,001$. Ulike bokstaver angir signifikante forskjeller mellom responsvariablene (A angir høyeste verdi og C laveste verdi).

Analyser	Ystingsdag		Tilsatt LAB				
28 ukers ost	Signifikans	R-verdi (%)	Signifikans	R-verdi (%)	LAB 0	LAB 18	LAB 36
Aromastoffer:							
Acetaldehyd	NS		NS				
Etanol	NS		NS				
Aceton	NS		NS				
2-propanol	NS		+	99,62	*	B	A
n-pentan	NS		NS				
Dimetylsulfid	NS		NS				
2-metyl-propanal	NS		NS				
1-propanol	NS		NS				
Diacetyl	NS		NS				
2-butanon	NS		NS				
2-butanol	NS		NS				
Etylacetat	NS		NS				
2-metyl-1-propanol	NS		NS				
3-metyl-butanal	NS		NS				
2-metyl-butanal	+	99,93	NS				
1-butanol	NS		NS				
2-pentanon	NS		NS				
Acetoin	NS		NS				

Organiske syrer:							
α -ketoglutarsyre	NS		++	99,33	B	A	B
Orotinsyre	NS		NS				
Pyrodruesyre	NS		+	95,57	AB	A	B
Ravsyre	NS		+	98,94	C	B	A
Melkesyre	NS		NS				
Maursyre	NS		NS				
Eddiksyre	NS		NS				
Urinsyre	NS		NS				
DL-pyroglutaminsyre	NS		NS				

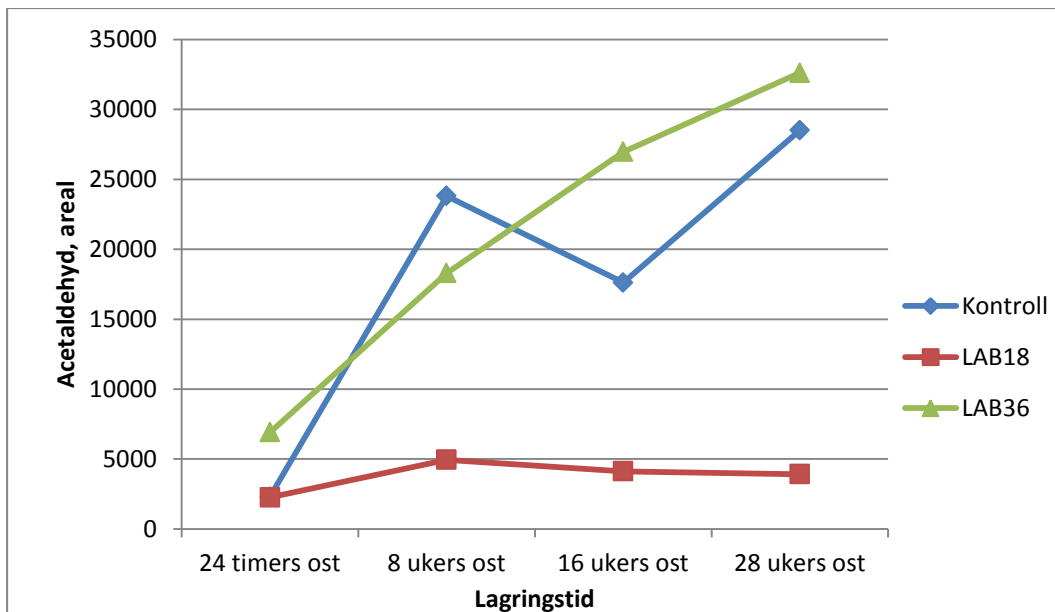
*På grunn av unormale resultater ble ett av gjentakene på kontroll-ost (LAB0) tatt ut av den statistiske behandlingen, det medførte for få gjentak til at det kunne beregnes Tuckeys least significant difference for å rangere resultatet mot kontroll-ost.

Ved analyse av aromastoffer ved 28 ukers alder på osten ble det funnet at 2-propanol og 2-metylbutanal var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene. Ved analyse av organiske syrer i ost ble det funnet at α -ketoglutarsyre, pyrodruesyre og ravsyre var signifikant ($p \leq 0,05$) påvirket av forsøksfaktorene.

4.3.6.1 Flyktige komponenter (aromastoffer)

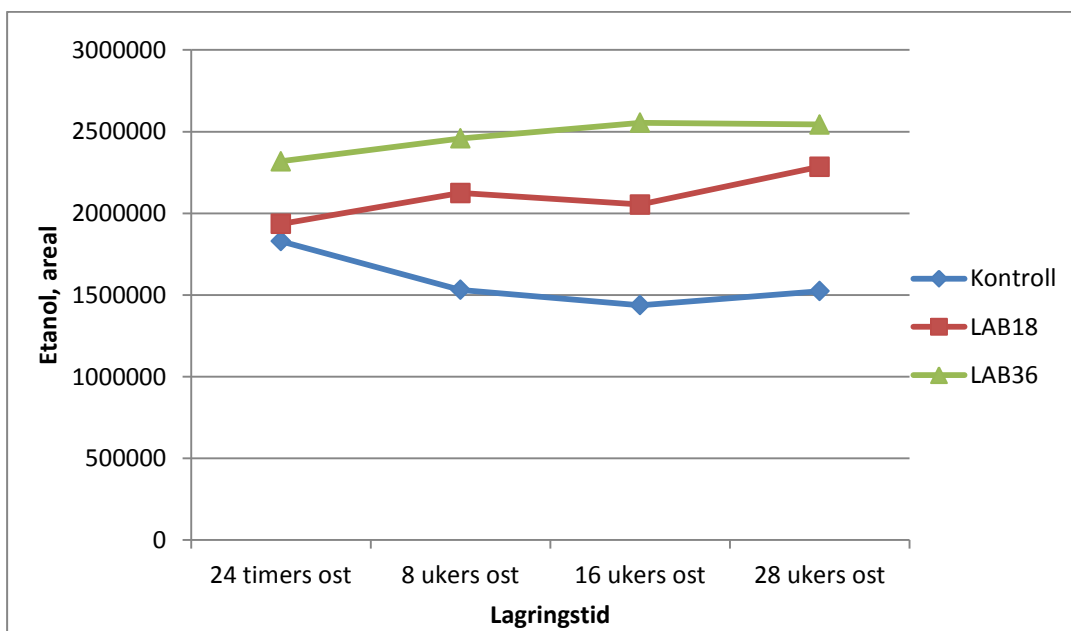
En eller flere av forsøksfaktorene gav signifikant effekt på innholdet av følgende flyktige aromakomponenter (aromastoffer): acetaldehyd, etanol, 2-metylpropanal, 1-propanol, diacetyl, 2-metyl-1-propanol, 2-butanon, 2-metylbutanal, 1-butanol, 2-butanol, 2-pentanon og acetoin. Tilsetning av LAB gav større effekt enn ystingsdag.

Figur 4.46-4.53 viser en grafisk framstilling av utviklingen av de aromastoffer som ble signifikant påvirket av forsøksfaktorene.



Figur 4.46: Innhold og utvikling av acetaldehyd i ostene gjennom modningen.

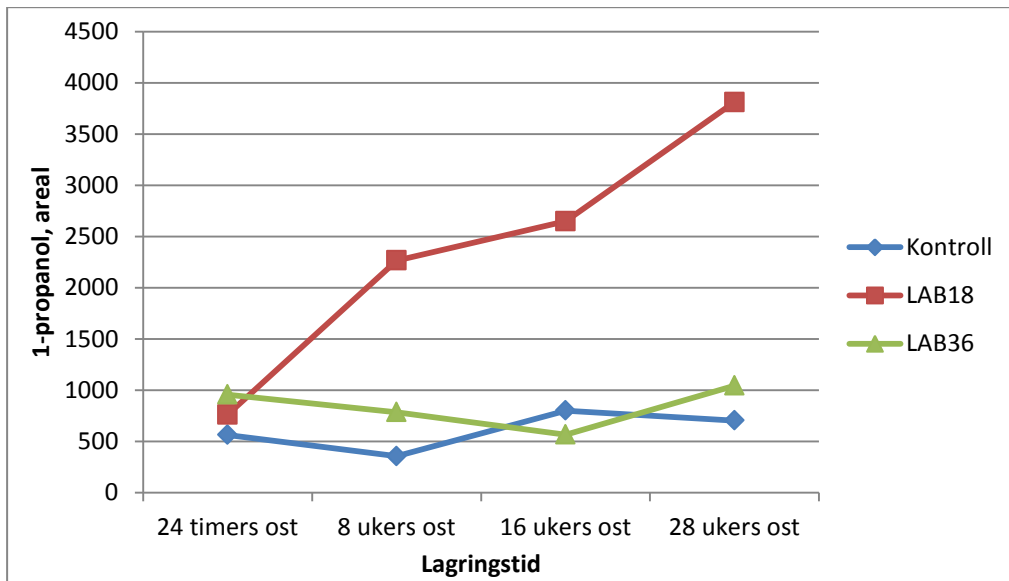
Kontroll-ost og ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) hadde størst økning i innholdet av acetaldehyd utover i modningen. Ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) hadde lavest innhold av acetaldehyd utover i modningen. Tilsetning av LAB gav signifikant effekt på innholdet av acetaldehyd etter 8- og 16-ukers lagring av osten, der ost med LAB 18 hadde signifikant lavere innhold av acetaldehyd enn kontroll-ost og ost med LAB 36.



Figur 4.47 Innhold og utvikling av etanol i ostene gjennom modningen.

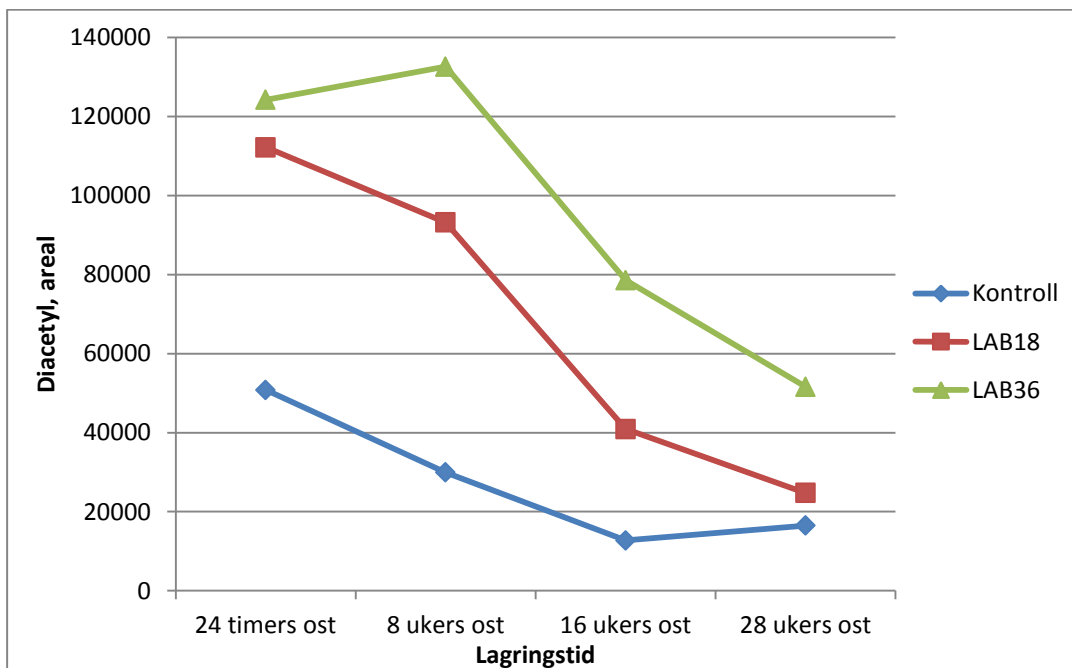
Ostene som ble tilsatt LAB hadde signifikant høyere innhold av etanol utover i modningen enn kontroll-osten. Både tilsetning av LAB og ystingsdag gav signifikant effekt på innholdet av etanol i 8-

ukers ost, men i 16- og 28 ukers ost gav kun tilsetning av LAB signifikant effekt. Ost tilsatt LAB 36 hadde signifikant lavere nivå av etanol enn kontroll-osten.



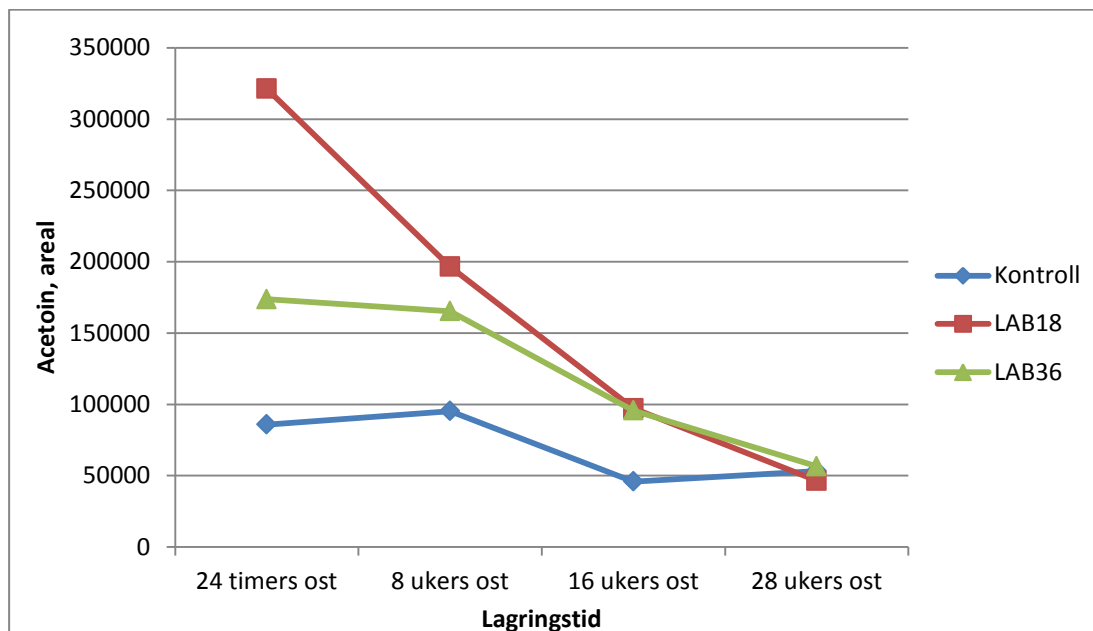
Figur 4.48 Innhold og utvikling av 1-propanol i osten gjennom modningen.

Ost tilsatt LAB 18, *Lb.plantarum* hadde størst økning i innholdet av 1-propanol utover i modningen. Kontroll-ost og ost tilsatt LAB 36, *Lb.casei/paracasei* hadde lik utvikling. Tilsetning av LAB 18 gav signifikant effekt på innholdet av 1-propanol i osten ved 8- og 16-ukers alder. Ost tilsatt LAB 18 hadde signifikant høyere innhold av 1-propanol enn ost tilsatt LAB 36.



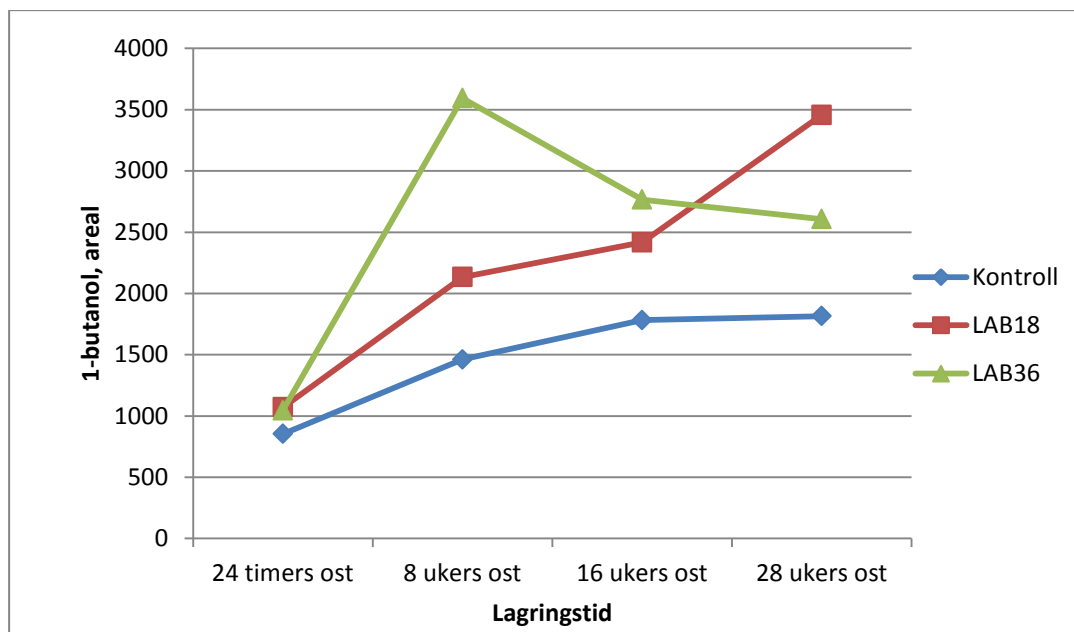
Figur 4.49 Innhold og utvikling av diacetyl i osten gjennom modningen.

Innholdet av diacetyl var høyest i ostene som var tilsatt LAB, osten som var tilsatt LAB 36, *Lb.casei/paracasei* hadde høyere innhold enn osten som var tilsatt *Lb.plantarum*. Innholdet av diacetyl gikk ned utover i modningen. Tilsetning av LAB gav signifikant effekt på innholdet av diacetyl i osten ved 8- og 16 ukers alder. Ost tilsatt LAB 36 eller LAB 18 hadde signifikant høyere innhold av diacetyl enn kontroll-ost.



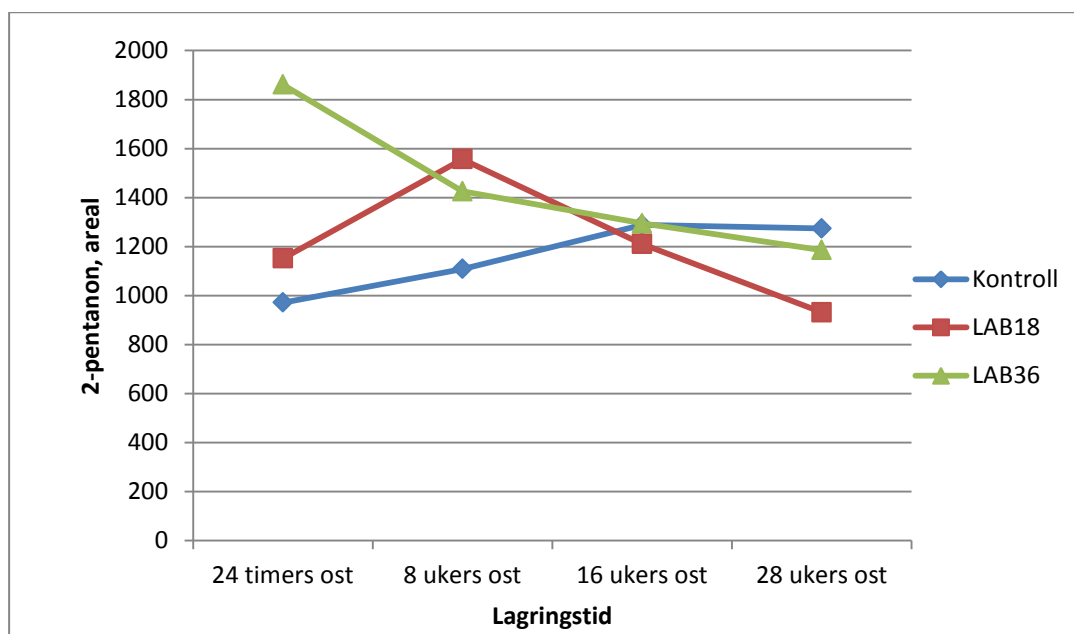
Figur 4.50 Innhold og utvikling av acetoin i osten gjennom modningen.

Både ystingsdag og tilsetning av LAB gav signifikant effekt på innholdet av acetoin i 8-ukers ost, der ost tilsatt LAB 18 var signifikant høyere enn ost tilsatt LAB 36, og denne var signifikant høyere enn kontroll-osten. Innholdet av acetoin gikk ned utover i modningen.



Figur 4.51 Innhold og utvikling av 1-butanol i osten gjennom modningen.

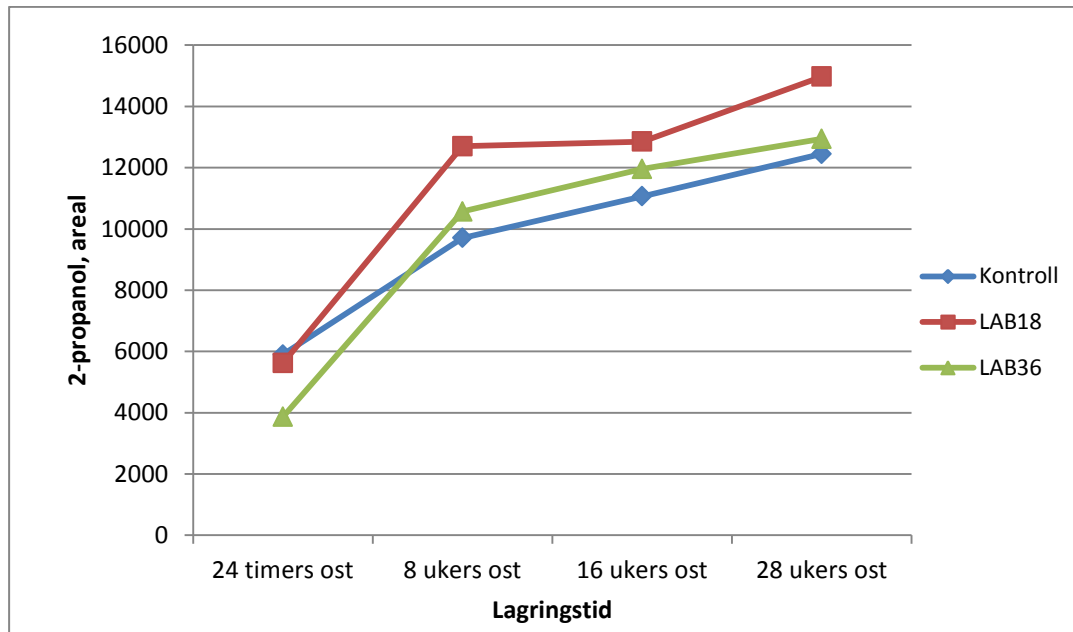
Innholdet av 1-butanol lå høyere i ost tilsatt LAB enn i kontroll-ost. Tilsetning av LAB gav signifikant høyere innhold av 1-butanol enn kontroll-ost i 24 timers ost.



Figur 4.52 Innhold og utvikling av 2-pentanone i osten gjennom modningen.

Innholdet av 2-pentanone var høyest i ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) og lavest i kontroll-ost ved 24 timers alder på osten. Utover i modningen gikk innholdet av 2-pentanone i ost med tilsatt LAB ned, men derimot i kontroll-osten økte innholdet utover i modningen. Tilsetning av LAB hadde

signifikant effekt på innholdet av 2-pentanon i 8 ukers ost.



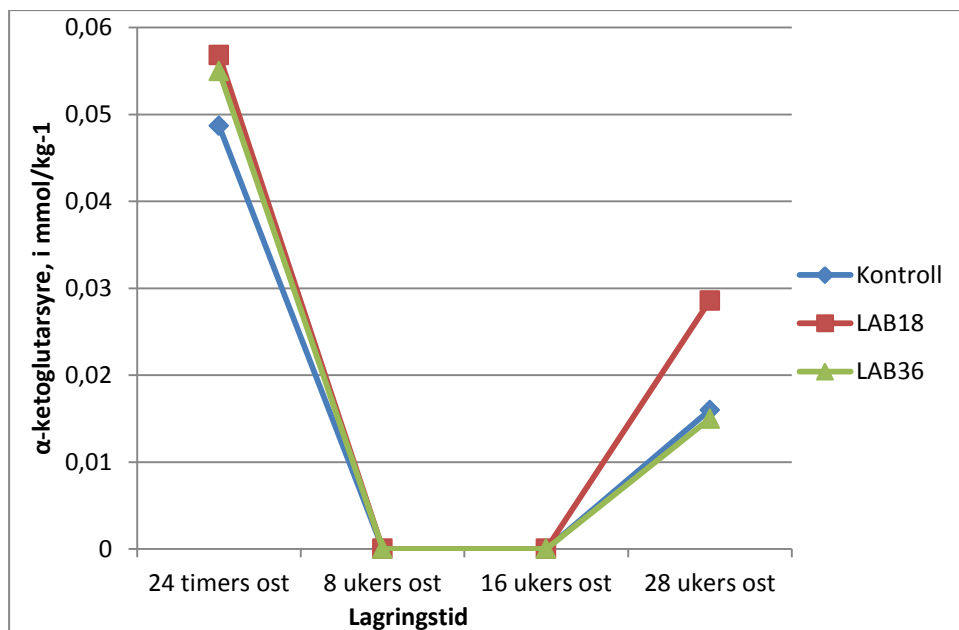
Figur 4.53 Innhold og utvikling av 2-propanol i osten gjennom modningen.

Innholdet av 2-propanol øker utover i modningen. Ost tilsatt LAB hadde høyere innhold av 2-propanol enn kontroll-ost fra 8 ukers alder. Tilsetting av LAB hadde signifikant effekt på innholdet av 2-propanol i 28 ukers ost.

4.3.6.2 Organiske syrer

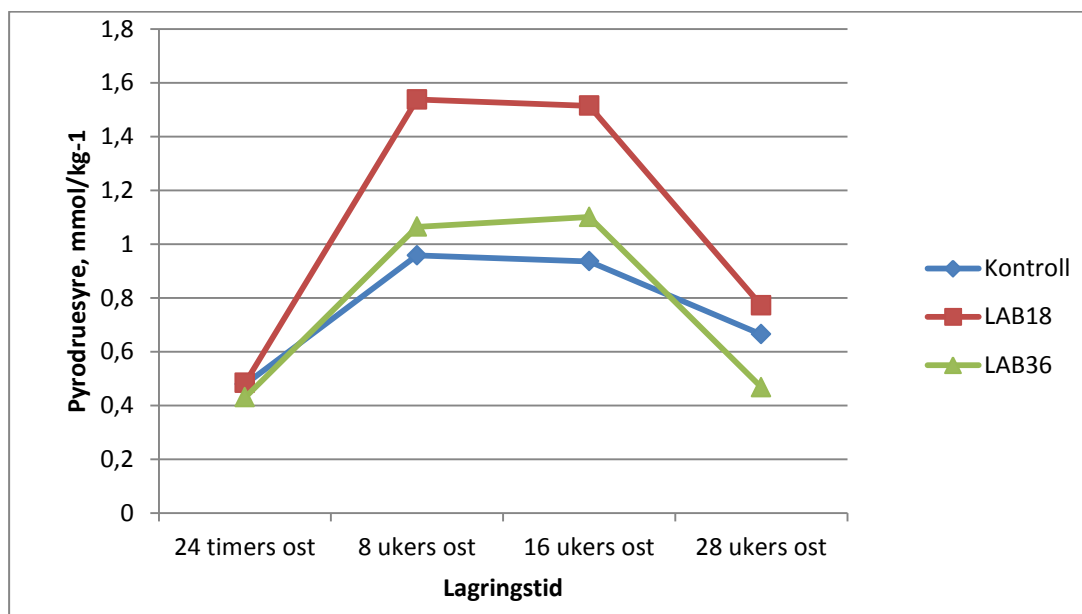
En eller flere av forsøksfaktorene gav signifikant effekt på innholdet av følgende organiske syrer: α -ketoglutarsyre, pyrodruesyre, urinsyre, ravsyre, maursyre og eddiksyre. Tilsetting av LAB gav større effekt enn ystingsdag.

Figurene 4.54-4.58 viser en grafisk framstilling av resultatene på aromastoffer som gav signifikante effekter.



Figur 4.54 Innhold og utvikling av α -ketoglutarsyre i osten gjennom modningen.

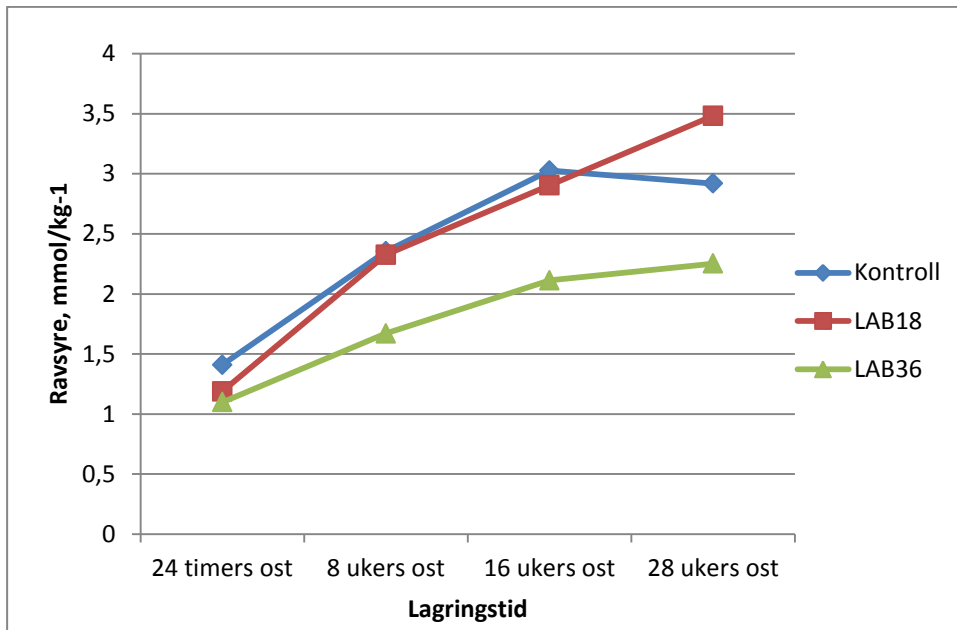
Innholdet av α -ketoglutarsyre var høyest i 24 timers ost, før det sank ned til null i 8- og 16-ukers ost, for så å øke igjen i 28 ukers ost. I 28 ukers ost var innholdet av α -ketoglutarsyre i osten tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) signifikant høyere enn innholdet i ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) og i kontroll-ost.



Figur 4.55 Innhold og utvikling av pyrodruesyre i osten gjennom modningen.

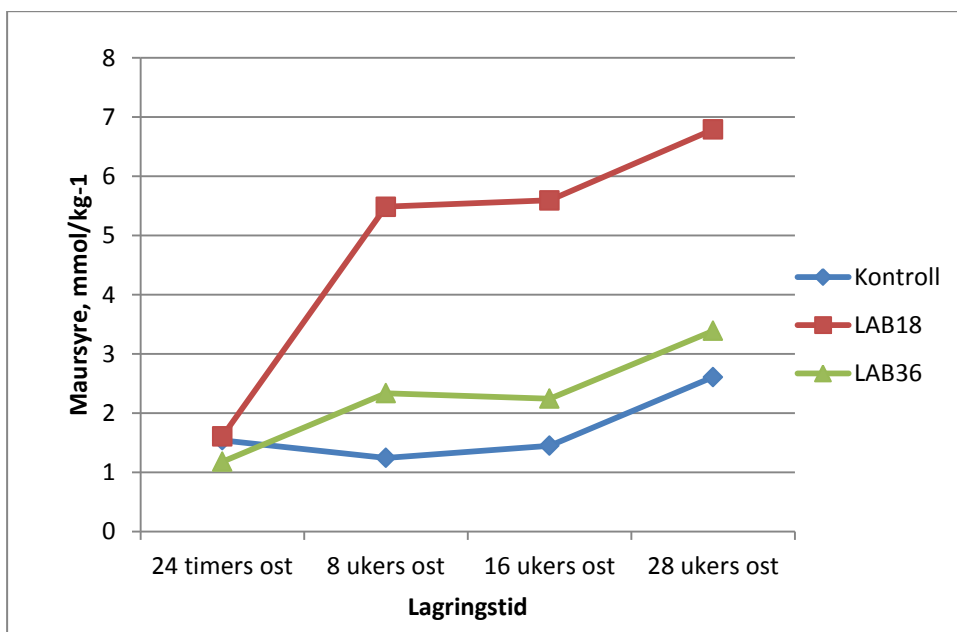
Innholdet av pyrodruesyre lå høyest i ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*). Ystingsdag viste signifikant effekt på innholdet av pyrodruesyre i 24 timers ost. Ost tilsatt LAB hadde signifikant høyere innhold

av pyrodruesyre ved 8-, 16- og 28-ukers lagring.



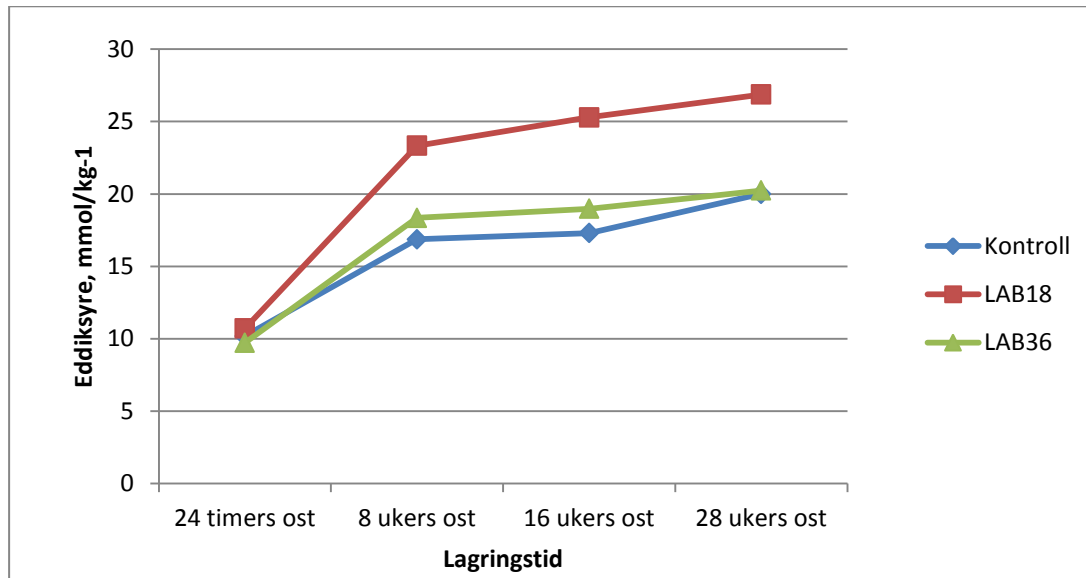
Figur 4.56 Innhold og utvikling av ravsyre i osten gjennom modningen.

Innholdet av ravsyre økte utover i lagringstiden. Ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) hadde lavest innhold av ravsyre gjennom hele modningen. Tilsetning av LAB 36 gav signifikant lavere innhold av ravsyre i 8 ukers- og 28 ukers ost.



Figur 4.57 Innhold og utvikling av maursyre i osten gjennom modningen.

Innholdet av maursyre økte utover i modningstiden. Økningen var størst i ost som var tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*), og lavest i kontroll-ost. Tilsetning av LAB 18 hadde signifikant effekt på innholdet av maursyre i osten ved 8- og 16 ukers alder.

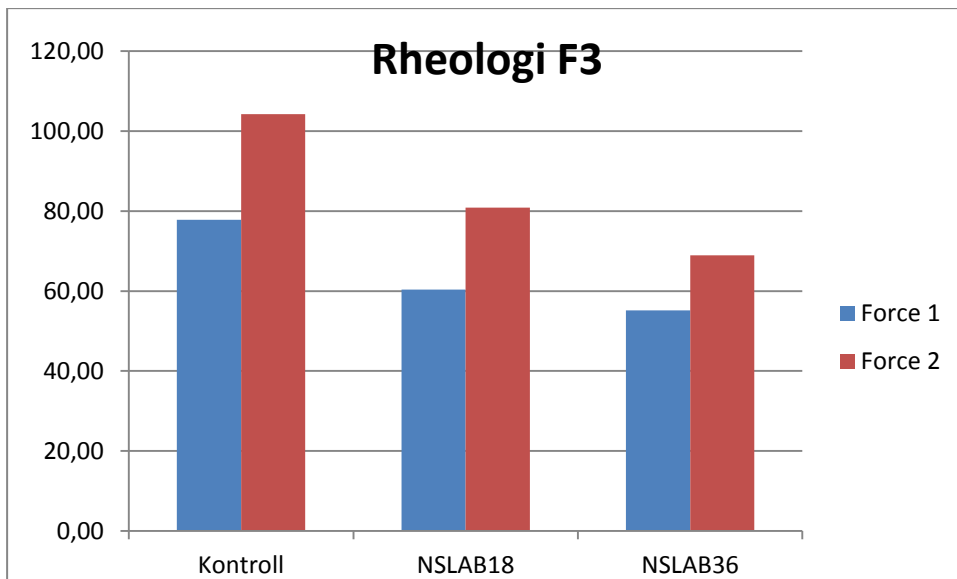


Figur 4.58 Innhold og utvikling av eddiksyre i osten gjennom modningen.

Innholdet av eddiksyre i osten øker utover i modningstiden. Økningen er signifikant høyere for ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*). Utviklingen i kontroll-ost og ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) var relativt lik.

4.3.7 Rheologi - tekstur

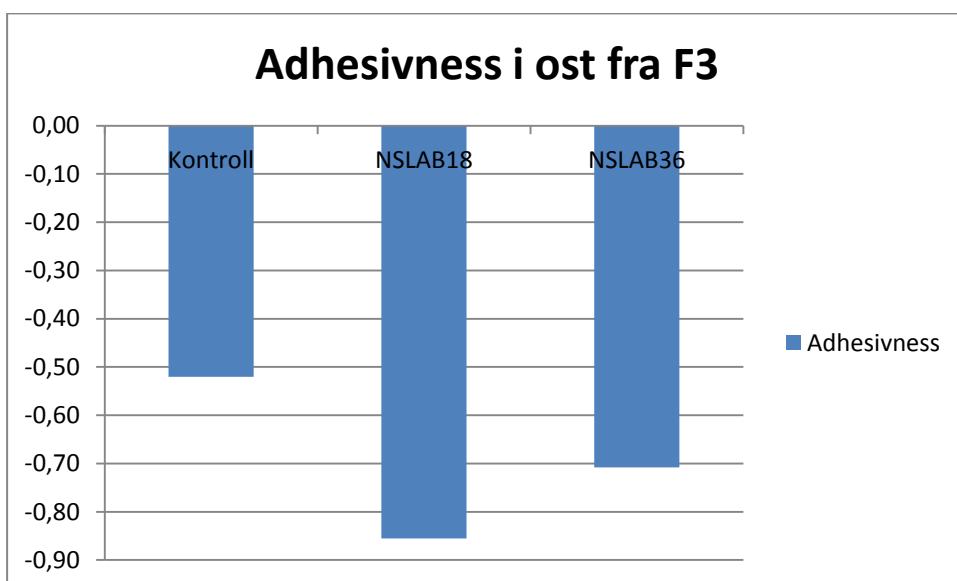
Figur 4.59 viser en grafisk framstilling av gjennomsnittlig kraft i Newton som ble målt i Texture Analyser på ost tilsatt LAB ved 16 ukers alder.



Figur 4.59 Målt kraft i Newton i Texture Analyser på ost fra forsøk 3 ved 16 ukers alder.

Det måtte benyttes en større kraft på kontroll-osten enn på ost tilsatt LAB. Dette indikerer at kontroll-osten var fastere i konsistensen enn ost tilsatt LAB.

Målingene fra Texture Analyser viser også graden av adhesivness eller klebrighet på osten. Figuren 4.60 viser graden av klebrighet i ost fra forsøk 3.

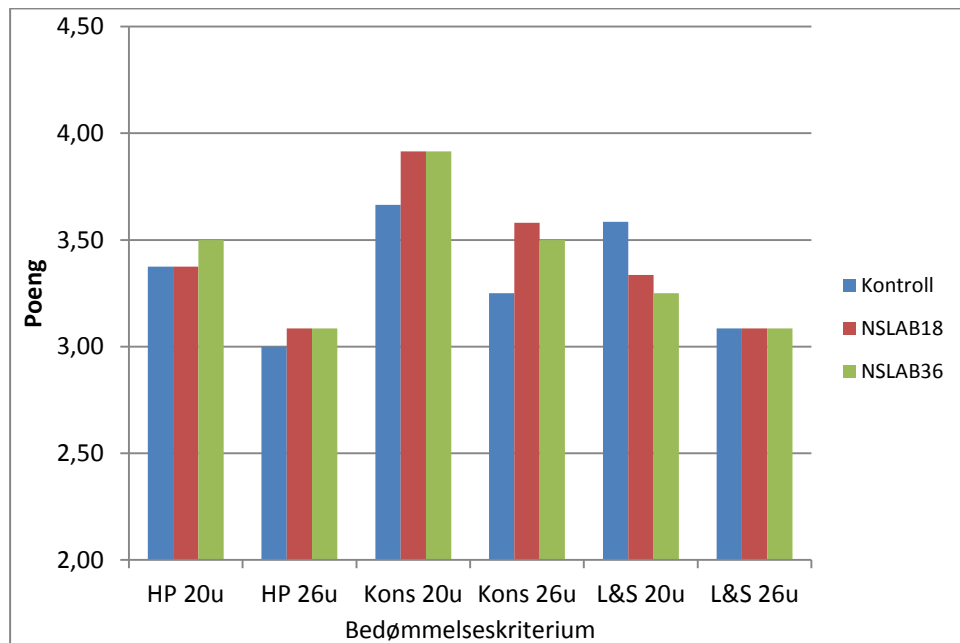


Figur 4.60 Grad av adhesivness (klebrighet) i ost fra forsøk 3.

Ost tilsatt LAB 18 var mest klebrig, deretter kom ost tilsatt LAB 36, kontroll-ost var minst klebrig.

4.3.8 Sensorikk

Figur 4.61 viser resultater fra egenskapsbedømmelse utført på 20- og 26-ukers ost fra forsøk 3.



Figur 4.61 Resultater fra egenskapsbedømmelse i 20 og 26 ukers ost tilsatt LAB (F3). Forkortelsene betyr: HP 20u=hovedpoeng ved alder 20 uker, Kons 20u= Konsistens ved alder 20 uker, L&S 20u= lukt og smak ved alder 20 uker.

Ved 26 ukers alder oppnådde oster tilsatt LAB høyest i hovedpoeng.

Både ved 20 og 26 ukers alder hadde ost tilsatt NSLAB høyest poeng for konsistens. Etter 20 uker fikk ost tilsatt LAB 18 og LAB 36 like poeng for konsistens. Etter 26 uker var ost tilsatt LAB 18 bedre enn LAB 36, begge to var for øvrig bedre enn kontroll-ost.

Kontroll-ost ble gitt høyest poeng for lukt og smak ved 20 uker, men ved 26 uker ble ost tilsatt LAB og kontroll-ost gitt like poeng. Forskjellene var imidlertid ikke signifikante.

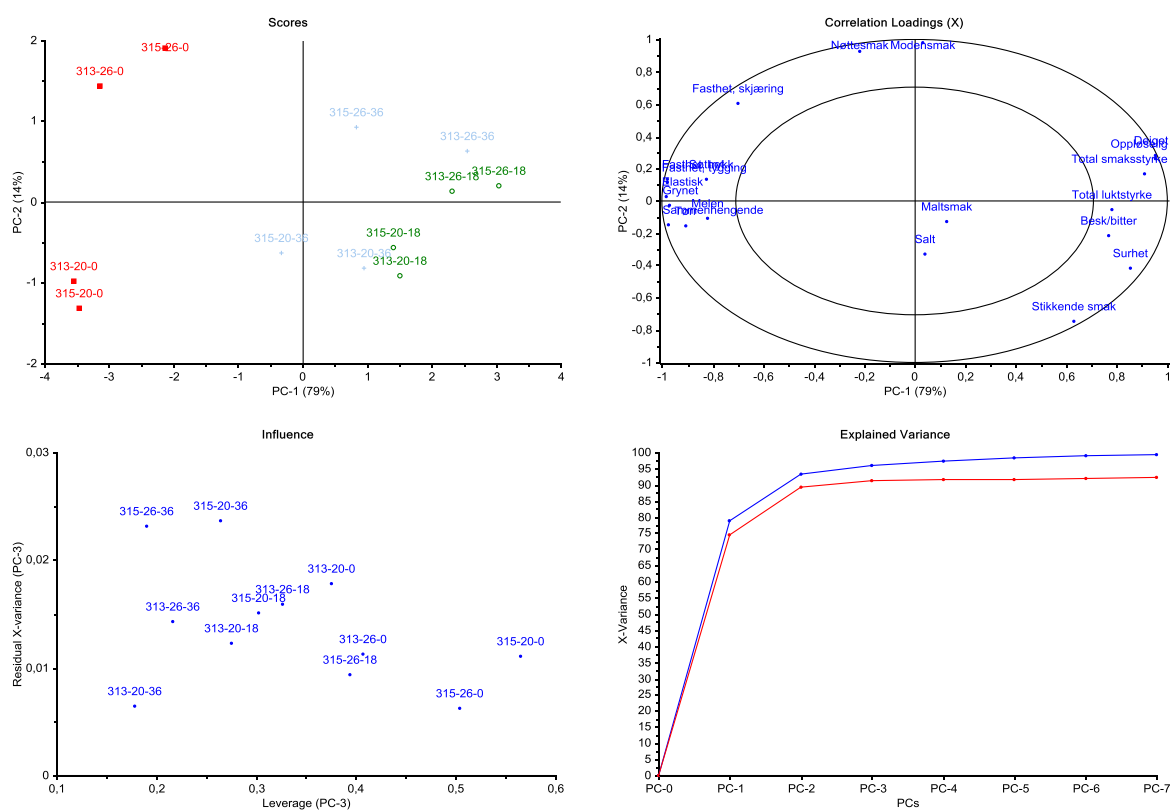
Fordelingen av anmerkinger ved egenbedømmelsen av 20 ukers og 26 ukers ost er presentert i tabell 4.13

Tabell 4.13: Oversikt over anmerkinger gitt ved egenskapsbedømmelse av 20 og 26 ukers ost fra F3

Anmerking	Kontroll	Kontroll	LAB 18	LAB 18	LAB 36	LAB 36
Antall bedømte kar	2	2	2	2	2	2
Alder på ost i uker	20	26	20	26	20	26
208-grynet	2	4	0	1	0	0
210-melen	2	0	0	2	1	2
212-løs	0	0	0	1	0	1
214-deiget	1	0	0	0	0	1
217-seig	0	2	1	2	0	1
218-tungtløselig	2	4	0	2	1	3
222-fast	1	0	0	0	0	0
224-tørr	1	0	0	0	0	0
300-sur	1	2	0	0	2	3
303-besk	2	6	3	3	4	6
304-bitter	0	0	0	0	0	1
305-uren	0	1	1	2	0	0
308-brent smak	0	0	1	0	0	0
310-bismak	0	0	0	2	0	0
314-fruktig	1	0	0	0	0	0
325-salt	1	1	0	0	1	0
329-utypisk smak	0	0	2	0	0	0
330-kraftig smak	0	0	2	2	0	0
331-lite smak	1	1	0	0	2	0

Kontroll- ost har fått flest anmerkninger på grynet konsistens, ost tilsatt LAB har kun en anmerking for grynet. Ost tilsatt LAB fått flest anmerkninger på melen og løs etter 26 uker. Både kontroll-ost og ost tilsatt LAB er anmerket som tungtløselig både ved 20 og 26 ukers alder, ost tilsatt LAB 18 har fått færrest anmerkninger for tungtløselig. Ost tilsatt LAB 36 har fått flest anmerkninger for sur og besk både ved 20 og 26 uker, men var også anmerket for lite smak etter 20 uker. Ost tilsatt LAB 18 er anmerket for kraftig smak.

Sensorisk profilering, PCA-plott av 20 og 26 ukers ost i F3 presenteres i figur 4.62



Figur 4.62: Sensorisk profilering av ost ved 20 og 26 ukers alder fra F3.

Smaksegenskaper i osten som nøttesmak, moden smak, malt smak og salt var lite påvirket av forsøksfaktorene. Derimot var smaksegenskaper som besk, bitter, stikkende smak og total lukt- og smaksstyrke kraftig påvirket av forsøksfaktorene.

Alle konsistensegenskaper lå samlet langt fra origo, dette viste at egenskaper knyttet til konsistens i osten ble kraftig påvirket av forsøksfaktorene (tilsetning av LAB).

5. Diskusjon

5.1 Mikrobiologiske resultater

Det må nevnes at de mikrobiologiske prøvene av 8 ukers ost fra forsøk 3, og analysert med hensyn på Koliforme, Enterokokker, Laktokokker og Laktobasiller ble tatt ut av ost som hadde vært nedfrosset i 6 uker før analyse. Det kan dermed være noe usikkerhet knyttet til om resultatet kan ha blitt for lavt dersom noen av bakteriene ikke har overlevd nedfrysingen.

5.1.1 Totaltall bakterier

Det ble registrert en gradvis økning fra den første ystingsdagen (307) til den fjerde ystingsdagen (316) i forsøk 2. På dag 314 ble det registrert ett vesentlig høyere totaltall i ystemelk hvor det var tilsatt mikropartikulert myseprotein (MMP), henholdsvis 50.000 cfu/ml ystemelk i ystingen tilsatt 6% MMP (ysting 314-1) og 33.000 cfu/ml ystemelk i ystingen tilsatt 3% MMP (ysting 314-3). I ystemelk fra ysting 314-4 (kontroll) ble det funnet 1000 cfu/ml ystemelk. Innholdet av totaltall bakterier i ystemelka var i gjennomsnitt på 166.000 cfu/ml ystemelk på dag 316 i forsøk 2. Dermed ble denne utviklingen raskt knyttet opp imot den mikrobiologiske kvaliteten på MMP som ble benyttet. Det ble igangsatt ekstra prøveuttak og analysering av MMP, resultatene av disse analysene bekreftet at det var MMP som var årsaken til økningen i totaltall.

Disse resultatene tyder på at lagringstiden for MMP ved 0-4°C ikke bør overstige 10 dager. MMP som ble benyttet på dag 314 hadde 11 dagers alder, og på dag 316 var alder på MMP blitt 13 dager siden produksjon. Det var praktiske årsaker i forhold til produksjon og fylling av en såpass liten mengde MMP ved TINE Meieriet Verdal, og transportmuligheter til UMB som var bakgrunnen for at det var ønskelig å benytte MMP fra samme produksjonsbatch i hele forsøk 2. På grunn av utviklingen i den mikrobiologiske kvaliteten underveis ble imidlertid denne beslutningen endret og det ble skaffet nytt MMP til den siste ystingsdagen (321) i forsøk 2.

5.1.2 Koliforme bakterier

I forsøk 2 ble det påvist to tilfeller med lave verdier på koliforme bakterier i myse fra 2.avtapp i pressekaret på dag 316, samt to tilfeller med lave verdier i ferskost på dag 309.

I henhold til TINE produktspesifikasjon for lettere Norvegia (TINE, 2011 a) og TINE Driftskontroll-hvitost (TINE, 2011b) er det følgende grenseverdier:

- For ystemelk og myse er normen på <1 cfu/ml, øvre tiltaksgrense på 50 cfu/ml, men hvis det påvises 2 av 5 fortløpende prøver mellom 10 cfu/ml og 50 cfu/ml skal tiltak iverksettes.
- For ost er normen på <100 cfu/g, øvre tiltaksgrense på 1000 cfu/g, men hvis det påvises 2 av 5 fortløpende prøver mellom 100 og 1000 cfu/ml skal tiltak iverksettes.

Alle tilfellene var fra ystinger som var gjennomført på torsdager, to tilfeller fra fysisk ystekar 3 og to tilfeller fra fysisk ystekar 4. Ingen av tilfellene oversteg gjeldende grenseverdier beskrevet over. Det var ikke registrert noen avvik i ystingsjournal som skulle tilsi reinfeksjon med koliforme bakterier, det er derfor vanskelig å si noe om årsaken til at det ble påvist koliforme bakterier.

I forsøk 3 ble det påvist vesentlig høyere verdier av koliforme bakterier enn i forsøk 2. I ysting 313-1

oppstod det problemer med å få koplet på lufttrykk på pressekaret under pressing, dette medførte at det måtte brukes 25 liters kanner fylt med sand, som ble satt opp på presseplate over osten for å oppnå tilstrekkelig pressetrykk. Kannene ble vasket og desinfisert i klorløsning før de ble satt opp på presseplata, men dette viste seg beklageligvis ikke å være tilstrekkelig og det ble påvist koliforme bakterier i 2.myseavtapp fra ysting 313-1. Det ble tatt ut en prøve av 2.myseavtapp i pressekaret både før og etter at kannene ble passert på presseplate, som bekreftet at årsaken til reinfeksjon var kannene.

Det ble også påvist koliforme bakterier i 1.myseavtapp fra ysting 313-2. Årsaken til dette var at det ble benyttet samme myseavtappings-slange både i ystekar og i pressekar. På det tidspunktet hvor det ble gjennomført 1.myseavtapp i ysting 313-2 hadde slangen allerede vært brukt til 2.myseavtapp i ysting 313-1, og blitt infisert med koliforme bakterier fra kannene som ble brukt til pressing.

Samme dagen ble det påvist svært høye verdier av koliforme bakterier i ysting 313-3. Det ble benyttet samme pressekar til ysting 313-1 og 313-3. Pressekaret ble ikke vasket mellom hver gang det ble brukt, kun spylet rent for osterester og myse med varmt vann. Det har derfor blitt en reinfeksjon av ysting 313-3 både via den felles myseavtappings-slangen som ble benyttet på alle ystingene og via pressekaret som først var benyttet til ysting 313-1.

I ost fra ysting 313-1 og 313-3 ble det påvist koliforme bakterier over øvre tiltaksgrense i ferskost, utover i modningstiden gikk antallet ned og nærmet seg gjeldende norm.

I ysting 315-2 ble det påvist koliforme bakterier i 2.myseavtapp fra pressekar. Det var ikke registrert noe i ystingsjournal som skulle tilsi reinfeksjon med koliforme bakterier, men det er trolig at reinfeksjonen kom fra selve presseutstyret.

5.1.3 Enterokokker

I forsøk 2 ble det påvist til dels høye verdier av enterokokker i mange av ystingene, det var kun den første produksjonsdagen som var helt uten påvisninger av enterokokker. Det er grunn til å tro at enterokokker finnes naturlig i produksjonsmiljøet og at de finner gode vekstbetingelser i ost. Enterokokker er relativt varmeresistente, og kan i noen tilfeller overleve pasteurisering (TINE SA, 2008). Funn av Enterokokker tyder på dårlig produksjonshygiene, for lav temperatur ved varmebehandling eller reinfeksjon etter varmebehandling. Ysteriutstyret i Pilotanlegget var av noen års alder, med åpne ystekar og resultatene kan tyde på at påvisning av Enterokokker er knyttet til utfordringer rundt hygiene og renhold av ystekarene. Dette ble også bekreftet av A. Olsen i Pilotanlegget.

5.1.4 Laktokokker

Laktokokkene ble tilsatt i ystemelka i form av brukssyre-kulturen. Denne kulturen er en DL-kultur og består av en blanding av *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. Lactis* subsp. *cremoris*, *Lc.lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og *Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris*.

I ystemelk var innholdet av laktokokker lavere i ystemelk tilsatt LAB enn i kontroll. Det kan tyde på at

tilsatt LAB i ystemelka hemmer laktokokkene tidlig i ystingsprosessen på noe vis.

I 24 timers ost viste ost tilsatt *Lb.plantarum* det høyeste innholdet av laktokokker. Det kan tyde på at *Lb.plantarum* produserer noe som gjør at laktokokkene vokser godt sammen med *Lb.plantarum*, eller at laktokokkene produserer noe som *Lb.plantarum* kan nyttiggjøre seg i starten av modningen. Den samme tendensen kommer igjen i 8 ukers ost.

Derimot i 16 ukers og 28 ukers ost så er det ost tilsatt *Lb.casei/paracasei* som har det høyeste innholdet av laktokokker. Denne observasjonen kan tyde på at *Lb.casei/paracasei* på noe vis hemmer laktokokkene i starten av modningen, men lengre uti modningstiden er forholdene bedre tilpasset vekst av laktokokkene igjen.

5.1.5 Laktobasiller

Tilsatte Laktobasiller dominerer i osten utover i modningen, ordinære NSLAB var det mye av i 24 timers kontroll-ost, men disse finnes ikke igjen i osten utover i modningen. Tilsetting av LAB 18 gav det høyeste innholdet av Laktobasiller utover i modningen. Det tyder på at forholdene i den magre osten er bedre tilpasset veksten av LAB 18 (*Lc.plantarum*) enn av LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*).

5.2 Kjemiske resultater

5.2.1 Aktivitetsprøve i ystemelk og standardmelk

Ystemelk tilsatt MMP viste mindre forskjell i aktivitet til brukssyra målt i ystemelk og standard sammenliknet med kontroll. Denne observasjonen tyder på at tilsetting av MMP til ystemelka forbedrer vekstforholdene for brukssyre kulturen. Dette er forventet sett i lys av at MMP inneholder mye proteiner som gir mer næring til brukssyre kulturen. Tilsetting av kjernemelk til ystemelka synes å gi noe dårligere vekstforhold for syrekulturen.

Aktiviteten i ystemelk tilsatt LAB var høyere enn aktiviteten i kontroll, spesielt LAB 18 så ut til å innvirke svært positivt på aktiviteten til brukssyra, da det ble registrert større forskjell mellom aktivitet i ystemelk og i standard i ystemelk tilsatt LAB 18 enn i ystemelk tilsatt LAB 36. Denne observasjonen tyder på at LAB 18 forgjærer laktat raskere enn LAB 36, og i fellesskap med Laktokokkene i brukssyra senker disse pH raskt i ystemelka.

5.2.2 pH

Måling av 24 timers pH i de 4 kontroll-ystingene i forsøk 1 viste noen forskjeller mellom ystingene som det ble tatt hensyn til i de videre forsøkene.

Ved ysting av ost er det viktig å unngå at osten blir for sur, osten blir da lett «hengende» i formene og får ofte en kort og grynet konsistens.

Det ble registrert at ysting 279-1 og 279-4 i forsøk 1 lå noe høyere i 24 timers pH enn ysting 279-2 og 279-3. Ved vurdering av ysteteknikken som var benyttet ble det registrert at ysting 279-1 og 279-4

hadde den høyeste ettervarmingstemperaturen. Ut i fra disse resultatene og vurderingene, samt vurdering av tørrstoffinnholdet som var oppnådd ble det besluttet å gå videre i forsøk 2 med ettervarmingstemperatur på 35°C og etterrøringstid på 25 minutter.

5.2.3 Tørrstoff

Det var ønskelig å oppnå ett tørrstoffinnhold på ca. 48 % i osten, dette i henhold til avtale med fagleder hvitost i TINE FoU, Rolf Heskestad.

Resultatene fra de fire ystingene i forsøk 1 viste at tørrstoffet i gjennomsnitt var på 44,22 %, dette var noe lavere enn ønskelig og det ble vurdert mulig tiltak for å øke tørrstoffinnholdet i neste forsøk. Imidlertid ble det tatt nye tørrstoffprøver av to av ystingene etter 4 ukers lagring, tørrstoffet var da økt til 50,16 % i gjennomsnitt, det vil si en økning på 5,52 % i gjennomsnitt på de to ystingene som ble analysert etter 4 ukers lagring. Denne økningen under lagringen medførte at tørrstoffnivået kom opp i overkant av ønsket nivå, dette ble vurdert opp imot 24 timers pH, og det ble besluttet ikke å gjøre noen større endringer i ysteteknikken i neste forsøk.

I forsøk 2 var tørrstoff nær 48 % etter 6 ukers modning i faktorkombinasjonen kjernemelk og 3 % MMP. Kombinasjonen av kjernemelk og 6 % MMP gav omkring 2 % lavere tørrstoff enn kombinasjonen av kjernemelk og 3 % MMP. Samme tendens ble observert i tørrstoffinnholdet i ystemelka. Det tyder på at det kan være en interaksjon mellom kjernemelk og MMP som påvirker tørrstoffinnholdet, og denne slår kraftig ut når tilsetningen av MMP øker fra 3 til 6 %. I forhold til å oppnå ønske tørrstoffinnhold var faktorkombinasjonen av kjernemelk og 3 % MMP best egnet.

Tørrstoffinnholdet i forsøk 3 var litt høyere enn ønsket i kontroll-ost, men i ost tilsatt LAB var tørrstoffinnholdet som ønsket. Det er mest trolig at forskjellene mellom tørrstoff i kontroll-ost og ost tilsatt LAB har sin årsak i ystetekniske forskjeller og ikke er knyttet til forsøksfaktor.

5.2.4 Protein

Måling av proteininnhold i ystemelka i F2 viste at tilsetning av kun MMP økt proteininnholdet i ystemelka, dette var forventet da MMP er en proteintilsetning.

Tilsetning av både kjernemelk og MMP til ystemelka gav nedgang i proteininnhold sammenliknet med kun tilsetning av MMP. Kjernemelka hadde lavest proteininnhold, og siden den ble tilsatt i forholdsvis stor mengde var det forventet at den ville redusere proteininnholdet i ystemelka, noe forsøket viste var riktig.

Proteininnholdet utgjør en stor del av tørrstoffinnholdet i ystemelka, og forsøket viste godt samsvar mellom tørrstoff- og proteininnhold i ystemelka.

5.2.5 Fett

Fettinnholdet i kontroll-ost er høyest i F2, ost som ble tilsatt 6 % MMP eller kombinasjonen av kjernemelk og MMP hadde lavest fettinnhold.

Resultatene kan tyde på at fettovergangen til osten blir påvirket av tilsatt MMP og kjernemelk. Det

ble ikke målt fett % i myse i dette forsøket, dermed lar det seg ikke gjøre å beregne fettovergangstall.

5.2.6 Salt

Saltopptaket i osten synes å være høyere i ost tilsatt kjernemelk og MMP enn kontroll-ost, ut fra resultatene i forsøk 2. Det kan ha sin årsak i forskjellene i konsistens som ble registrert, da saltopptaket vil være større i en løsere ost enn en fast ost.

Saltingstiden kunne nok ha vært redusert en del for å oppnå ett saltinnhold innenfor gjeldende normer. Dette ble imidlertid ikke gjort, først og fremst av at det var vanskelig å få til av praktiske årsaker.

5.3 Biokjemiske resultater

5.3.1 Flyktige komponenter

Både ystingsdag og tilsetning av LAB 18 (*Lb.plantarum*) og LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) hadde signifikante effekter på innholdet og utviklingen av flere av de flyktige komponentene (aromastoffene) som det ble analysert for. Tilsetning av LAB gav større signifikant effekt enn ystingsdag.

Resultatene på aromakomponenter i 28 ukers ost viste unormale verdier for ett av kontroll-karene (313-3) ved statistisk behandling, det ble da valgt å utelate denne ystingen. Det burde ha vært tatt nye analyser på aromakomponenter i 28 ukers ost, men tiden tillot ikke det i forhold til innleveringsfristen på oppgaven.

5.3.1.1 Acetaldehyd

Mengde acetaldehyd i osten øker under modningen i kontroll-ost og ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*). Innholdet av acetaldehyd var signifikant påvirket av forsøksfaktorene i 8- og 16-ukers ost, men ikke i 28 ukers ost. Det kan skyldes at resultatene fra ost tilsatt LAB 18 ved 28 ukers alder hadde stort standardavvik, og forsøket hadde kun 2 gjentak.

Laktose som energikilde vil brukes opp tidlig i modningsprosessen, *Lb.casei/paracasei* har tilpasset seg til omgivelsene under modningen, og kan ha heterofermentativ omsetning av andre sukkerarter til acetaldehyd, dette er trolig forklaringen til den store økningen i innhold av acetaldehyd i ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*). Eller at denne produserer acetaldehyd fra nedbrytning av aminosyrer? (Skeie, 2011).

Ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) viste liten økning i innhold av acetaldehyd utover i modningen. *Lb.plantarum* har trolig ingen metabolisme som gir økning av acetaldehyd i osten.

Acetaldehyd kan også dannes av heterofermentative melkesyrebakterier som mangler enzymet alkohol dehydrogenase. Disse kan tilføres osten gjennom NSLAB-floraen, eller ved tilsetning av LAB, og om slike finnes i osten kan disse bidra til produksjon av acetaldehyd under modningen av osten (Walstra, Wouters, Geurts, 2005).

5.3.1.2 Etanol

Gjennom den heterofermentative melkesyreforgjæringen vil det dannes etanol. En av de aromaproduserende bakteriene i brukssyrekulturen, *Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris* har enzymet alkohol dehydrogenase og kan redusere acetaldehyd til etanol. I kontroll-osten går omdanningen til etanol raskest i starten av modningen fram til 8 ukers alder, deretter reduseres omdanningen noe fram til 28 ukers alder på osten.

I osten tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) og LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) øker produksjonen av etanol utover i modningstiden. Dette skyldes trolig at noen laktobasiller har enzymet fruktose-1,6-diphosfate aldolase, disse kan under normale betingelser forgjære laktose til melkesyre, men under karbohydrat-begrensede betingelser vil laktose forgjæres til melkesyre, eddiksyre, etanol og maursyre (Walstra, Wouters, Geurts, 2005).

Etanol kan også dannes ved nedbrytning av sitrat (sitronsyre). Noen stammer av fakultativt heterofermentative laktobasiller kan produsere sitrat. Innholdet av citronsyre i 24 timers ost var høyere i ost tilsatt *Lb.casei/paracasei* enn i kontroll-ost, dette kan tyde på at det har foregått produksjon av sitrat, som kan ha medvirket til høyere innhold av etanol i osten tilsatt *Lb.casei/paracasei* enn både kontroll-ost og ost tilsatt *Lb.plantarum*.

Det er vist at tilsetning av *Lb.plantarum* til ystemelka øker sitratmengden i osten (Fox, McSweeney, Coogan, Guinee, 2004). Økning i sitratmengden vil dermed kunne gi større produksjon av etanol, dette kan ha medvirket til at produksjonen av etanol er høyere i forsøks-ost tilsatt LAB18 (*Lb.plantarum*) sammenliknet med kontroll-ost.

I kontroll-ost reduseres mengde etanol i osten utover i modningstiden. Dette kan skyldes en nedbrytning i kontroll-ost som ikke skjer i ostene som er tilsatt LAB, der det er en produksjon av etanol utover i modningen (Skeie, 2011).

5.3.1.4 1-propanol

Ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) hadde høyere produksjon av 1-propanol under modningen enn kontroll-ost og ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*).

1-propanol er en alkohol som også kan være dannet som et produkt fra α -ketosyre, som er ett resultat fra transaminering av aminosyrer. Laktokokker og laktobasiller som inneholder enzymet aminotransferase kan bidra til at denne reaksjonen finner sted (Yvon & Rijnen, 2001).

Innholdet av komponenter dannet fra aminosyrer i osten forventes å øke utover i lagringstiden, siden nedbrytning av proteiner til aminosyrer og mindre komponenter er en av de biokjemiske reaksjonene som foregår under ostens modning.

Resultatene fra forsøket er som forventet i ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*), men for kontroll-ost og ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) viste forsøket kun en liten økning utover i modningstiden. Det kan tyde på at *Lb.plantarum* er dyktigere på omsetning av aminosyrer til 1-propanol enn *Lb.casei/paracasei*. *Lb.plantarum* har GDH-aktivitet og evne til å omdanne glutamat til α -ketosyre, som videre kan omdannes til 1-propanol (Yvon & Rijnen, 2001). Dette er trolig forklaringen på at ost

tilsatt *Lb.plantarum* viste en økning i innholdet av 1-propanol utover i modningen.

5.3.1.5 2-propanol

Tilstedeværelse av 2-propanol kan ha sin opprinnelse i nedbrytning av proteiner til aminosyrer og andre mindre komponenter. Reaksjonen krever tilstedeværelse av enzymet aminotransferase, dette enzymet finnes i laktobasiller (Yvon & Rijnen, 2001).

Under modningen av osten forventes det at innholdet av 2-propanol skal øke (Fox et al., 2004). Forsøket viste at dette var tilfelle både for kontroll-ost og oster tilsatt LAB, økningen var imidlertid størst i oster tilsatt LAB.

5.3.1.6 Diacetyl

Ostene tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) eller LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) hadde høyere innhold av diacetyl under hele modningstiden enn kontroll-osten. Som forventet inneholdt 24 timers ost de høyeste mengdene av diacetyl, deretter ble det en gradvis reduksjon av diacetyl utover i modningen. Det er kjent at osten inneholder enzymer som vil redusere innholdet av diacetyl under modningen, når sitrat ikke lenger er tilstede vil blant annet enzymet diacetyl reduktase kunne redusere diacetyl til 2,3 butandiol.

Diacetyl dannes ved nedbrytning av sitrat. I brukssyre-kulturen er det de sitratproduserende bakteriene *Lc.lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylacis* og *Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris* som har denne egenskapen. Sitratmetabolismen til disse er avhengig av at det samtidig er tilstedeværelse av sukkerarter som kan forgjæres, som for eksempel laktose (Walstra et.al, 2005).

Noen stammer av fakultativt heterofermentative laktobasiller kan forgjære sitrat til acetoin, acetat og muligens diacetyl (Palles, Beresford, Condon & Cogan, 1998). Thomas (1997) viste at innholdet av sitrat i cheddar-ost minket sakte mot null i løpet av 6 måneders modning, trolig på grunn av forgjæring av sitrat utført av Laktobasiller som det var flest av i NSLAB-floraen. Thomas (1997) viste også at tilsetning av *Lb.plantarum* til ystemelka økte hastigheten på nedbrytningen av sitrat i osten. Resultatene fra forsøk 3 kan tyde på at *Lb.casei/paracasei* også har denne egenskapen. Dette kan være medvirkende forklaring til at innholdet av diacetyl reduseres raskere utover i modningen i ost tilsatt LAB enn i kontroll-ost.

Innholdet av diacetyl er mye høyere i 24 timers ost som er tilsatt LAB enn i kontroll-ost. Det kan skyldes mindre omdanning til acetoin og 2,3-butandiol i ost tilsatt LAB (Skeie, 2011).

Diacetyl kan også dannes ved nedbrytning av aspartat (Skeie, Kieronczyk, Næss & Østlie, 2008). I denne studien ble det vist at mesofile laktobasiller, som kan finnes i osten som NSLAB eller fra tilsatte kulturer med laktobasiller, kan produsere diacetyl og acetoin ved nedbrytning av aspartat. Det ble vist at en bestemt stamme av *Lb.plantarum*, INF 15D hadde svært stor evne til å gjennomføre denne omdanningen.

5.3.1.7 Acetoin

Innholdet av acetoin i 24 timers ost var høyest i ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*), noe lavere i ost tilsatt LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*), og lavest i kontroll-ost. Innholdet av acetoin ble deretter gradvis redusert utover i modningsprosessen, og ved 28 ukers alder lå innholdet av acetoin relativt likt i både

kontroll-ost og ost tilsatt LAB.

I likhet med diacetyl dannes acetoin gjennom sitratomsetningen i osten. Som beskrevet under punkt 5.3.1.6 kan tilsetning av *Lb.plantarum* i ystemelka øke hastigheten på sitratforgjæringen i osten. Innholdet av acetoin var vesentlig høyere i ost tilsatt LAB i 24 timers ost. Resultatene viste at etter 28 uker var innholdet av acetoin likt i ost tilsatt LAB og kontroll-ost. Omsetting av sitrat til acetoin må derfor ha gått raskere i ost tilsatt LAB enn i kontroll-ost.

Acetoin og diacetyl kan også dannes ved nedbrytning av aspartat (Skeie, Kieronczyk, Næss & Østlie, 2008). I denne studien ble det vist at mesofile laktobasiller, som kan finnes i osten som NSLAB eller fra tilsatte kulturer med laktobasiller, kan produsere acetoin og diacetyl ved nedbrytning av aspartat.

5.3.2 Organiske syrer

5.3.2.1 Sitronsyre

Som forventet ble det påvist sitronsyre i 24 timers ost, ost tilsatt LAB 36 hadde høyere innhold av sitronsyre enn ost tilsatt LAB 18 og kontroll-ost, men forskjellen i innhold av sitronsyre var ikke signifikant påvirket av tilsetning av LAB. I 8 ukers, 16 ukers og 28 ukers ost var det ikke forventet å finne sitronsyre, da sitronsyren vanligvis brukes opp i løpet av de første 24 timene etter syrning. Imidlertid ble det påvist små mengder sitronsyre i 28 ukers ost. Dette vurderes til å skyldes en analysefeil, og disse resultatene er derfor utelatt fra den statistiske behandlingen.

5.3.2.2 α -ketoglutarsyre

α -ketoglutarsyre dannes fra glutamat og NAD⁺ (Rijnen, Courtin, Gripon & Yvon, 2000). Innholdet av α -ketoglutarsyre var signifikant høyere i ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*) ved 28 ukers alder. Det er påvist glutamat-dehydrogenase-aktivitet (GDH-aktivitet) i *Lb.plantarum* (Skeie et al., 2008), dette kan forklare at innholdet var høyest i ost tilsatt *Lb.plantarum*.

5.3.2.3 Pyrodruesyre

Det finnes små mengder av pyrodruesyre i melka. Under modningen av osten vil det produseres pyrodruesyre som følge av den mikrobiologiske aktiviteten som foregår. Melkesyrebakteriene kan redusere pyruvat til melkesyre ved hjelp av enzymet laktat-dehydrogenase (Walstra et.al, 2005). Dette kan forklare at mengde pyrodruesyre blir vesentlig lavere i 28 ukers ost i dette forsøket.

Pyruvat er en mellom-metabolitt for alle omdannelsene som foregår i osten, det er således mange kilder som kan forklare innholdet av pyrodruesyre i osten. Forsøket viste at innholdet av pyrodruesyre var tilnærmet likt i 8- og 16-ukers ost, mens innholdet gikk vesentlig ned i 28 ukers ost. Det kan tyde på at omsetningen av pyrodruesyre har stoppet opp mellom 8- og 16-ukers modning, for senere å komme i gang igjen fra 16-ukers til 28-ukers ost.

5.3.2.5 Ravsyre

Innholdet av ravsyre økte utover i modningstiden både i ost tilsatt LAB og i kontroll-ost. Det er kjent at laktobasiller kan omsette sitrat til ravsyre, det gjelder blant annet *Lb.plantarum* (Skeie, 2008). Det er trolig at tilsatte LAB 18 og LAB 36 i forsøks-ost, samt ordinære NSLAB i kontroll-ost har medvirket

til produksjon av ravsyre utover i modningen av osten.

5.3.2.6 Maursyre

Innholdet av maursyre økte utover i modningstiden, økningen var størst i forsøks-ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*).

Det er vist at laktobasiller kan danne maursyre fra sitronsyre via pyrodruesyre (Fryer, 1970). I 24 timers ost ble det funnet sitronsyre, og i 8- og 16-ukers ost ble det funnet en opphopning av pyrodruesyre. Det kan tyde på at bakteriene har omdannet sitronsyre til pyrodruesyre.

Resultater fra forsøket viste at ost tilsatt *Lb.plantarum* hadde større produksjon av maursyre under modningen enn ost tilsatt *Lb.casei/paracasei*. Dette kan forklares ved at *Lb.plantarum* kan benytte serin som energikilde for å produsere maursyre og eddiksyre (Skeie, 2008). *Lb.casei/paracasei* kan trolig ikke utnytte alternative energikilder på samme måte, og har behov for sitronsyre via pyrodruesyre for å kunne produsere maursyre, siden det aller meste av sitronsyra er brukt opp i løpet av de første 24 timene etter syring vil produksjonen av maursyre fra *Lb.casei/paracasei* bli vesentlig lavere enn fra *Lb.plantarum*.

Det kan også være slik at *Lb.casei/paracasei* kommer seinere i gang med å utnytte alternative energikilder, og da har andre tilstedeværende bakterier som for eksempel ordinære NSLAB brukt opp det meste av det som var tilgjengelig av alternative energikilder.

Maursyre kan også være et biprodukt fra nedbrytning av andre aminosyrer enn serin (Skeie, 2011).

5.3.2.7 Eddiksyre

Innholdet av eddiksyre økte utover i modningstiden, i likhet med maursyre var økningen størst i ost tilsatt LAB 18 (*Lb.plantarum*).

Eddiksyre kan dannes fra omsetning av sitrat og fra heterofermentativ omsetning av laktose. I brukssyre-kulturen (DL-kultur) finnes det to bakterier som kan produsere eddiksyre, det er *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og *Leuc.mesenteriodes* subsp. *cremoris*.

Resultater fra forsøket viste at ost tilsatt *Lb.plantarum* hadde større produksjon av eddiksyre under modningen enn ost tilsatt *Lb.casei/paracasei*. Dette kan forklares ved at *Lb.plantarum* kan benytte serin som energikilde for å produsere maursyre og eddiksyre (Skeie, 2008). *Lb.casei/paracasei* kan trolig ikke utnytte alternative energikilder på samme måte, og har behov for sitrat eller laktat for å kunne produsere eddiksyre, siden det aller meste av sitronsyra er brukt opp i løpet av de første 24 timene etter syring vil produksjonen av eddiksyre fra *Lb.casei/paracasei* bli vesentlig lavere enn fra *Lb.plantarum*. Det kan også være slik at *Lb.casei/paracasei* kommer seinere i gang med å utnytte alternative energikilder, og da har andre tilstedeværende bakterier som for eksempel ordinære NSLAB alt brukt opp det meste av det som var tilgjengelig.

Eddiksyre kan også være et biprodukt fra nedbrytning av andre aminosyrer enn serin (Skeie, 2011).

5.4 Rheologi – tekstur

Sammenlikning av resultater fra Texture Analyser på ost i forsøk 2, ystet med faktorkombinasjonen kjernemelk og 3 % MMP og resultater fra forsøk 3, hvor samme faktorkombinasjon ble benyttet, og i tillegg ble det tilsatt to ulike LAB-kulturer er interessant. Resultatene viser at det ble benyttet lavere kraft ved analyse av ost tilsatt LAB i forsøk 3 enn kontroll-ost. Disse resultatene ble ikke statistisk behandlet i forsøket, men det tyder på at konsistens i ost tilsatt LAB er mykere enn i kontroll, dette er i overensstemmelse med resultater fra sensoriske bedømmelsene som ble gjennomført på ost tilsatt LAB.

5.5 Nedsmelting

Ved gjennomføring av nedsmeltingsanalysen ble det visuelt registrert at ystinger som var tilsatt MMP syntes å ha en tendens til å flyte mindre utover enn øvrige ystinger. Denne observasjonen kan tyde på at tilsetning av MMP har en effekt som på en måte stabiliserer osten ved smelting. Beklageligvis lot det seg ikke gjøre å gjennomføre selve bildeanalysen for å beregne areal, som ville ha bekreftet eller eventuelt avkreftet denne observasjonen.

Begrunnelsen for at bildene ikke var egnet annet enn som dokumentasjon var ifølge Knut Kvaal ved IMT (2011): «Det var ikke slik at kvaliteten i bildene var dårlige, men vi fant nok at det var en del variasjon som kunne skyldes ulike lysforhold og fokusavstand. Det var tidligere gjort bildeopptak på nedsmelting av ost hvor man ikke fant statistisk sammenheng i gjentak. Bildene som ble tatt i den siste omgangen ga heller ingen statistisk sammenheng. På bakgrunn av dette ble det konkludert med at bildene kunne anvendes i masteroppgaven som en bildeillustrasjon.»

Under nedsmelting ble det observert at oster fra samme ysting ikke alltid oppførte seg likt under selve nedsmeltingen. Dette har trolig sin årsak i at konsistens og tekstur varierte en del i hver ost. Prøvene ble tatt ut fra ett fast område i osten, men det var en utfordring å få til 6 prøveuttak fra akkurat samme område i hver ost.

Det ble også observert at det skjedde store endringer i osten de første 2 minuttene av smeltingsprosessen. I løpet av de første 2 minuttene ble det tatt 3 stk bilder, det første ved innsetting i ovn, det neste etter 1 minutt og det siste etter 2 minutter. For å få ett riktigere bilde av starten på nedsmeltingen burde det trolig ha vært tatt bilder med 30 sekunders mellomrom de første 2 minuttene av smeltingsprosessen.

5.6 Sensorikk

Ved gjennomføringen av den første sensoriske profilering av 13 ukers ost fra forsøk 2 ble det gitt tydelig tilbakemelding fra dommerne ved TINE FoU at de syntes det generelt var ost av svært dårlig kvalitet de hadde fått tilsendt for bedømmelse. Antallet ost til bedømmelse ved 20 ukers alder fra forsøk 2 ble derfor betraktelig redusert i forhold til opprinnelig planlagt.

Som referanse-ost ved de sensoriske profileringene ble det benyttet en Norvegia med 27 % fett. Det burde ha vært benyttet en referanse-ost som hadde fettinnhold tilnærmet lik det som ble brukt i

forsøket, f.eks Norvegia med 16 % fett. Dette ble diskutert med dommerne i TINE FoU, men de var helt tydelige på at forsøks-ost skulle sammenliknes med en ordinær Norvegia med 27 % fett, siden målet med forsøket var å produsere en mager ost med egenskaper tilnærmet en helfet ost. Om det hadde blitt benyttet en referanse-ost på 16 % fett er det trolig at det ville blitt registrert en økning i effektene av forsøksfaktorene.

Vurdering av konsistens:

Egenskapsbedømmelsen på 12 ukers ost fra forsøk 2 viste at anmerking for løs og deiget ost var størst i ost tilsatt kombinasjonen kjernemelk og 6 % MMP, og konsistens var gitt lavere poeng enn i kontroll-ost. Ost med kun tilsetning av enten kjernemelk, MMP3 eller MMP 6 hadde høyere poeng for konsistens enn kontroll-ost. Dette tyder på at tilsetning av kun kjernemelk eller MMP3 eller MMP6 forbedrer konsistensen, men kombinasjonen av kjernemelk og MMP6 blir for mye, og osten blir for løs og deiget.

Egenskapsbedømmelse av 20 og 26 ukers ost tilsatt LAB i forsøk 3 viste at konsistens var bedre i ost tilsatt LAB enn i kontroll-ost. Etter 20 uker fikk ost tilsatt LAB 18 og LAB 36 like poeng for konsistens. Etter 26 uker var ost tilsatt LAB 18 bedre enn LAB 36, begge to var for øvrig bedre enn kontroll-ost. Dette var ett overraskende resultat, da det ikke var forventet effekt på konsistens ved tilsetning av LAB, målet var å få positive effekter på lukt og smak. Til sammenlikning kan det nevnes at det beskrevne forsøk med tilsetning av renkultur med Laktokokker (Flavogard) i regi av FoU viste at tilsetning av Flavogard hadde større effekt på konsistensegenskaper enn lukt/smak. Denne observasjonen og resultatet fra forsøk 3 kan tyde på at bruk av tilsetningskulturer i ost har større effekt på konsistens enn det man har kjent til så langt.

Vurdering av smak:

Målet med tilsetning av LAB i forsøk 3 var å oppnå forbedret lukt og smak i mager ost. Egenskapsbedømmelsen etter 20 uker viste at på dette tidspunktet var kontroll-ost gitt høyere poeng enn ost tilsatt LAB. Ved bedømmelsen etter 26 uker var kontroll-ost og ost tilsatt LAB gitt like poeng, men nedgangen var langt større for kontroll-ost enn for ost tilsatt LAB. Denne observasjonen kan tyde på at tilsetning av LAB forbedrer lagringsegenskapene i forhold til lukt og smak i osten. Ost tilsatt LAB 36 har imidlertid fått langt flere anmerkninger for sur og besk smak enn ost tilsatt LAB 18.

Vurdering av utseende:

De aller fleste ostene i alle de tre forsøkene som ble gjennomført hadde pipete tekstur, denne egenskapen ble ikke vektlagt i dette forsøket.

Det kan imidlertid nevnes at TINE produserer en mager nøkkelost, dette er en pipete ost og den magre nøkkelosten har langt bedre konsistens enn øvrige magre ostetyper. Dette kan ha flere årsaker, men det er nærliggende å tro at ystingsteknikk for pipet ost synes å gi forbedring i konsistens på en ordinær mager ost.

5.8 Endring av ysteteknikk under forsøkene

Det var utfordringer knyttet til at osten ble for sur, hang igjen i osteformene og for fast i begynnelsen av forsøk 2, derfor ble det besluttet å endre fortynningsgraden i ystemassen underveis i forsøket. Vanntilsettingen etter myseavtapp ble økt fra 30 % til 40 % fra og med dag 314. I forsøk 3 ble det også benyttet 40 % myseavtapp.

Denne endringen har trolig påvirket konsistensen i osten i forhold til at det ved å øke vanntilsettingen ble en fortykning av mengde kalsium i osten.

Formodningstiden var på 45 minutter i alle forsøk, ved vurdering av erfaringene i etterkant av forsøkene kunne det vært en fordel om denne var blitt redusert til 30 minutter. Dette sett i forhold til at osten i mange tilfeller var for sur, og de store problemene det til tider var med at osten hang fast i formene etter pressing. Ved å redusere formodningstiden ville man ha oppnådd å forskyve syrningskurven noe, og likevel oppnå samme slutt pH.

5.9 Oppsummering

Ved å dele forsøket opp i to trinn oppnådde man først å optimalisere konsistens i osten, før man i neste trinn gikk videre med den optimale faktorkombinasjonen for konsistens, og forsøkte å forbedre lukt og smaks-egenskaper i osten. Siden det var mange forsøksfaktorer ble det enklere å holde oversikten over hva som påvirket hva ved å gjøre denne oppdelingen. Det mest overraskende var at det ble oppnådd en positiv effekt på konsistens i det forsøket som hadde som mål å forbedre lukt og smak.

Tilsetting av 6 % MMP i ystemelka ble for stor mengde, det oppstod mange negative effekter i osten, spesielt i forhold til tørrstoff og konsistens, da osten fikk lavere tørrstoff og konsistensen ble løs og deiget. Osten som var tilsatt 6 % MMP fikk i tillegg en avvikende lys og hvitaktig farge.

Tilsetting av LAB gav positiv effekt både på konsistens og på lukt og smak utover i lagringstiden.

Bildene som ble tatt under nedsmelting av ostene fra forsøk 2 tyder på at mager ost tilsatt MMP har annerledes smeltingsegenskaper enn ost uten MMP, da MMP trolig stabiliserer mot utflyting under smelting. Det var derfor svært beklagelig at bildene ikke var gode nok til at IMT kunne foreta den avanserte billedanalysen.

Totalt sett synes LAB 18 (*Lb.plantarum*) å gi de tydeligste effektene på ulike resultater gjennom forsøket, det kan ha sammenheng med at den stammen som ble benyttet av *Lb.plantarum* var isolert fra 16 % Norge, og da var nok alt denne stammen tilpasset et liv i mager ost før forsøkene. LAB 36 (*Lb.casei/paracasei*) var isolert fra 27 % Norge, og selv om det også ble registrert effekter av denne, er det trolig at denne stammen hadde noen utfordringer med å tilpasse seg livet i en mager ost. Det er mulig at resultatene ville ha blitt annerledes om også *Lb.casei/paracasei* stammen som ble benyttet hadde vært isolert fra Norge 16 %.

Forsøket har vist at det er fullt mulig å forbedre konsistens og smak i mager hvitost ved tilsetting av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein og Laktobasiller isolert fra ost.

6. Konklusjon

Hensikten med denne masteroppgaven var å se på om det var mulig å forbedre konsistens og smak i mager hvitost ved å tilsette kjernemelk, mikropartikulert myseprotein og Laktobasiller isolert fra ost.

De gjennomførte forsøkene har vist at det er fullt mulig å forbedre konsistens og smak i mager hvitost ved tilsetning av kjernemelk, mikropartikulert myseprotein og Laktobasiller isolert fra ost.

Tilsetning av 15 % kjernemelk og 3 % MMP til ystemelka synes å gi en mager ost som har forbedret konsistens (mindre fast og mer smidig) enn kontroll-ost.

De benyttede tilsetningskulturene av *Lb.plantarum* og *Lb.casei/paracasei* gav ulike effekter på osten under modning, både relatert til smak og tekstur.

Tilsetning av LAB ser ut til å innvirke positivt på ostens konsistens utover i modningen, og tilsetning av LAB 18 gav større effekt enn tilsetning av LAB 36.

Ost tilsatt LAB ved 20 ukers alder ligger litt lavere enn kontroll-ost på lukt og smak ved egenskapsbedømmelse. Men ved 26 ukers alder ligger den likt med kontroll-ost. Denne observasjonen kan tyde på at tilsatt LAB forbedrer lagringsstabiliteten til osten.

7. Litteraturliste

Abrahamsen, R. (2011). Muntlig meddelelse. Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås

Abrahamsen, R. (2007a). Fettets betydning for smak i ost. Forelesning i kurset «Moderne melkeforedling». Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap.

Abrahamsen, R. (2007b). Kjernemelk. Forelesning i kurset «Moderne melkeforedling». Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap. Universitet for miljø- og biovitenskap, Ås

Abrahamsen, I. & Sætre, J. O. (2001). Mager og helfet Norvegia tilsatt LActobasiller: undersøkelse av bakteriers lokalisering og mikrobiologisk og biokjemisk utvikling. Hovedoppgave ved Institutt for Næringsmiddelfag, Norge Landbrukshøgskole, Ås

Bjørke, M. O. (2004). Fersk kjernemelk som ingrediens i mager gouda-type ost. Mastergradsoppgave ved Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Norges Landbrukshøgskole, Ås.

Coredig, M. & Dagleish, D. G. (1997). «Studies on the susceptibility of membrane-derived proteins to proteolysis as related to changes in their emulsifying properties». *Food Research International*, 30, 689-697

Fryer, T.F (1970). Utilisation of citrate by lactobacilli isolated from dairy products. *Journal of Dairy Research*, 37: 9-15.

Heskestad, R. Muntlig og skriftlig meddelelse i mail. TINE SA, FoU avd. Utvikling faste produkter

Johansen, A.G. & Skeie, S. (2004). Mikropartikulering av myseproteiner - En samlet rapport for Neptun og bruk av myseproteiner i melkebaserte produkter. Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Norges Landbrukshøgskole, Ås

Johansen, A.G. (2006). Skriftlig meddelelse på mail. Notat med beskrivelse av metode for nedsmelting av ost.

Lindberg, A. M., Christiansson, A., Rukke, E. O., Eklund, T. & Molin, G. (1996). Bacterial flora of Norwegian and Swedish semi-hard cheese after ripening, with special reference to *Lactobacillus*. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 50, 563-572.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M. & Guinee, T. P. (2004). Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Third Edition, Volume 1, General Aspects. *Elsevier Academic Press, London, England*.

Gagnaire, V., Thierry, A. & Leonil, J. (2001). Propionibacteria and facultatively heterofermentative lactobacilli weakly contribute to secondary proteolysis of Emmental cheese. *Lait* 61, 339-353.

Heiberg, R. (2006). Forsøksrapport 1 «Ystingsforsøk av Norvegia 16 % fett skorpefri med tilsetning av Choozit Flavogard fra Danisco». *TINE SA, FoU*, Intern rapport.

Heiberg, R. (2007). Forsøksrapport 2 «Ystingsforsøk av Norvegia 16 % fett skorpefri med tilsetning av

Choozit Flavogard fra Danisco». *TINE SA, FoU*, Intern rapport.

IDF-standard 4A (1982). Cheese and processed cheese, determination of the total solids content.

IDF Standard 5B (1986). Cheese and processed cheese products. Determination of fat content. Gravimetric method (Reference method).

Johansen, A.G., Vogt, G., Selmer-Olsen, E. & Abrahamsen, R.K. (2005a). Mulig utnyttelse av kjernemelk. Et litteraturstudium. Del I: Variasjoner i kjernemelkas sammensetning. *Meieriposten*, **1**, 5-14.

Johansen, A.G., Vogt, G., Selmer-Olsen, E. & Abrahamsen, R.K. (2005b). Mulig utnyttelse av kjernemelk. Et litteraturstudium. Del II: Anvendelse av kjernemelk. *Meieriposten*, **2**, 36-46.

Johnson, M. E. (2003). Low fat cheese. I: Roginski, H., Fuguay, J. W. & Fox, P. F., *Encyclopedia of Dairy Science*, Academic Press, London, England, s. 438-444.

Jordan, K. N. & Cogan, T. M. (1993). Identification and growth of non-starter lactic acid bacteria in Irish Cheddar cheese. *Irish Journal of Agriculture and Food Research*. **32**, 47-55.

Jordan, K. N. & Cogan, T. M. (1999). Heat resistance of *Lactobacillus* spp. isolated from Cheddar cheese. *Letter of Applied Microbiol.* **29**, 136-140.

Klaenhammer, T.R., Fremaux, C. & Hechard, Y. (1994). Activité antimicrobienne des bactéries lactiques, in *Bactéries Lactiques*, Vol. 1, H. de Roissart and F.M. Luquet, eds, Loriga, Uriage, France, pp. 353-366.

Kvaal, K. (2011). Bildeanalyse av nedsmelting av ost. Skriftlig meddelse pr.mail. Institutt for matematiske realfag og teknologi (IMT). Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås

Malik, R.K., Kumar, N., Nageswara Rao, K. & Matur, D.K. (1994). Bacteriocins-antibacterial proteins of lactic acid bacteria: a review. *Microbiol. Aliment. Nutr.* **12**, 117-132.

Marsili, R.T, Ostapenko, H., Simmons, R.E. & Green, D.E (1981). High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. *Journal of Food Science*, **46**, 52-57.

McSweeney, P.L.H & Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. *Lait*. **80**, 293-324.

Mistry, V. V (2001). Low fat cheese technology. *International Dairy Journal* , **11**, 413-422.

Narvhus, J. A., Østerås, 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*, **14**: 73-80.

Palles, T., Beresford, T., Condon, S. & Cogan, T.M. (1998) Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, **85**, 147-154.

- Park, S.Y., Gibbs, B.F. & Lee, B.H (1995). Effects of crude enzyme of *Lactobacillus casei* LLG on water-soluble peptides of enzyme-modified cheese. *Food Res. Int.* 28, 43-49.
- Rabben, C. (2005). Fersk kjernemelk som ingrediens i mager Gouda-type ost – Ystingsoptimalisering. Mastergradsoppgave ved Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås.
- Renard, D., Lavenant, L., Sanchez, C., Hemar, Y. & Horne, D. (2002). Heat-induced flocculation of microparticulated whey proteins (MWP); consequences for mixed gels made of MWP and β -lactoglobulin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 24 (1), 73-85.
- Rijnen, L., Courtin, P., Gripon, J.C. & Yvon, M. (2000). Expression of a heterologous glutamate dehydrogenase gene in *Lactococcus lactis* highly improves the conversion of amino acids to aroma compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 : 1354-1359.
- Sanchez, C. & Paquin, P. (1997). Protein and protein-polysaccharide microparticles in Damodaran, S. & Paraf, A. (Eds.), *Food proteins and their applications* (pp.503-528). New York: Marcel Dekker Inc.
- Skeie, S.B. (2011). Personlig meddelelse. Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås
- Skeie, S.B. (2009). MVI 383 C, Øvingsdel i osteteknologi, øvingsforskrifter og analyseforskrifter. Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitets for miljø- og biovitenskap.
- Skeie, S.B. (2006). Magre oster, generelle tiltak for kvalitet. Forelesning i kurset «Moderne melkeforedling». Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap.
- Skeie, S.B. (2007a). Ostemodning. Forelesning i kurset «Moderne melkeforedling». Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap.
- Skeie, S.B. (2007b). Ikke tilsatte melkesyrebakterier, Non –starter lactic acid bacteria NSLAB. Forelesning i kurset “Moderne melkeforedling”. Institutt for kjemi, bioteknologi og matvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap.
- Skeie, S., Kieronczyk, A., Næss, M.N. & Østlie, H. (2008). *Lactobacillus* adjunks in cheese: Their influence on the degradation of citrate and serine during ripening of a washed curd cheese. *International Dairy Journal*, **18**, 158-168.
- Spiegel, T. (1999). Thermische Denaturierung und Aggregation von Molken Proteinen in Ultrafiltrationsmolkenkonzentraten – Reaktionskinetik und Patikulieren im Schrabewärmetauscher. Unpublished PhD, Technischen Universität München, München.
- Steffl, A., Schreiber, R., Hafenmair, M. & Kessler, H.G. (1999). Influence of whey protein aggregates on the renneting properties of milk. *International Dairy Journal*, 9 (3-6), 403-404.
- Sætre, J.O. (2009). Om mikropartikulering av myseprotein. Skriftlig meddelelse pr.mail. TINE Meieriet Verdal.

- Tamman, J. D., Williams, A. G., Banks, J., Cowie, G. & Lloyd, D (2001). Membrane inlet mass spectrometric measurement of O₂ and CO₂ gradient in culture of *Lactobacillus paracasei* and a developing Cheddar cheese ecosystem. *International Journal of Microbiology*, 65, 11-12.
- Tanous, C., Kecronczyk, A., Helinck, S., Chambellon, E. & Yvon, M. (2002). Glutamate dehydrogenase activity: major criterion for the selection of flavor-producing lactic acid bacteria strains. *Antonie Von Leeuwenhoek*, 82, 271-278.
- Thomas, T.D (1987). Acetate production from lactate and citrate by non-starter bacteria in Cheddar cheese. *NZJ of Dairy Sciences technology*, 22, 25-38.
- TINE SA (2008). Metode nr. 408 Aktivitetsprøve for syrekulturer (pH-meter), ref.nr.11279, utgave 1, TINE Styringsdokumenter (Meierienes Analysebok). *Intern TINE database*.
- TINE SA (2011a). Produktspesifikasjon Lettere Norvegia, nr.P1083, utgave 8, TINE Kvalitetssikring, produktspesifikasjoner. *Intern TINE database*.
- TINE SA (2011b). TINE Driftskontroll – hvitost, ref.nr.7430, utgave 7, TINE Styringsdokumenter. *Intern TINE database*.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M & Geurts, T. J.(2005). *Dairy Science and Technology, second edition*, Taylor & Francis Group, London, England
- Williams, A. G., Withers, S. E. & Banks, J. M. (2000). Energy sources of non-starter lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 10, 17-23.
- Yvon, M. & Rijnen, L. (2001). Cheese flavor formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal* 11, 185-201.
- Østlie, H.M., Eliassen, L., Florvaag, A. & Skeie, S, (2004). Phenotypic and PCR-based characterization of the microflora in Norvegia cheese during ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 287-299.
- Østlie, H.M., Eliassen, L., Florvaag, A. & Skeie, S, (2005). Phenotypic and PCR-based characterization of the microflora in Präst cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15, 911-920.
- Øyaas, J. (2008). Prosjektbeskrivelse «Identifisering og anvendelse av NSLAB i ost». Internt dokument i TINE SA.

