



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

## **Masteroppgave 2023 30 stp**

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Tove G. Devold

# **Kjemiske og fysiske endringer i UHT-drikke lagret ved ulike temperaturer**

Chemical and physical changes in UHT beverages over storage at different temperatures

Stine Mari Johansen

Matvitenskap og ernæring

## Forord

Denne oppgaven ble skrevet som avsluttende arbeid i forbindelse med mastergradstudiet i Matvitenskap og ernæring, retning produksjon og utvikling av næringsmidler ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet. Oppgaven er gitt av Kirsti Wettre Brønner ved TINE SA, og er utført i samarbeid med TINE SA. Laboratoriearbeid forbundet med oppgaven ble utført ved Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap våren 2023.

Først og fremst ønsker jeg å takke hovedveileder Tove G. Devold og biveiledere Anne-Grethe Johansen og Catrin Tyl. Takk for at dere alltid har stilt opp med gode råd, faglige diskusjoner og konstruktive tilbakemeldinger. Deres hjelp denne våren har vært uvurderlig. Jeg ønsker også å takke May Helene Aalberg, Kari Olsen, Ahmed Abdelghani og Irene Comi på laben som har vært behjelpelig med både store og små spørsmål, og ikke minst gode samtaler over en kopp kaffe.

Jeg ønsker også å rette en takk til mine medstudenter. Takk for at dere alltid hører på store og små problemer, og alltid stiller opp på en kaffepause når det trengs. Uten dere hadde dørstokkmila vært ekstra lang. Jeg ønsker også å takke familie og venner for oppmuntrende ord i løpet av hele studieperioden. Det har betydd mye.

Til slutt ønsker jeg å takke TINE SA for økonomisk bidrag til oppgaven, og en ekstra takk til Elin Simonstad Valle og det sensoriske panelet ved Tine Kalbakken for utførelse av beskrivende analyse.

Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Ås, mai 2023

*Stine Mari Johansen*

---

Stine Mari Johansen



## Sammendrag

Melk er en viktig del av menneskets kosthold, og Norge er et av landene med høyest melkekonsum per innbygger på verdensbasis. Men store mengder melk kastes hvert år, og en måte å bidra i kampen mot matsvinn på er å øke melkas holdbarhet ved det som kalles ultrapasteurisering (UHT). UHT-behandling dreper alle bakterier, som gjør slike produkter mikrobiologisk trygg for konsum i 6-9 måneder. Men denne kraftige varmebehandlingen kan også føre med seg kjemiske, fysiske og sensoriske endringer som kan være negativt for melkas kvalitet. Derfor var hensikten med denne oppgaven å undersøke kvalitet ved ulike lagringstemperaturer for å dokumentere endringer i utvalgte kjemiske, fysiske og sensoriske egenskaper i ulike UHT-drikker. For å undersøke effekt av laktose, ble langtidsholdbar lettmelk og langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk valgt. Med tanke på at det foregår et skifte i samfunnet som har ført til at flere og flere velger bort melk til fordel for plantebaserte alternativer, er havredrikk inkludert i denne studien.

Det ble gjennomført et lagringsforsøk hvor prøvene ble lagret ved 4 °C, 20 °C og 30 °C over en periode på 90 dager. Ved dag 0, 30, 60 og 90 ble prøvene analysert for å undersøke endringer underveis i lagringsperioden.

Resultatene viste at det var flere endringer under lagring. Proteinanalyser viste en reduksjon i totalt proteininnhold og kasein, samt en økning i ikke-kasein nitrogen ved lagring i 30 dager. Partikkelstørrelse var signifikant høyere i havredrikk sammenlignet med melk, og sedimentering inntraff innen 14 dager i havredrikke. Laktulosekonsentrasjonen økte ved økende lagringstid og lagringstemperatur i langtidsholdbar lettmelk. Beskrivende analyse viste at «søt smak» var signifikant høyere i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. Spektrofotometriske målinger viste at lagring ved 30 °C ga signifikant endring i farge allerede etter 30 dager for langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. I tillegg viste beskrivende analyse for havredrikk en signifikant fargeendring etter 90 dagers lagring ved 4 °C, 20 °C og 30 °C. Lagringstemperatur viste seg å være en faktor med stor effekt på fargeendring og dermed kvalitet, spesielt i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. Derfor er lagringstemperatur en viktig faktor å ha høy kontroll over under hele lagringsperioden for å sikre god kvalitet i produktet.

## Abstract

Milk is an important part of the human diet, and Norway is one of the countries with the highest milk consumption per capita in the world. However, large amounts of milk are wasted every year, and one way to take part in the fight against food waste is to increase the shelf life of the product through a process called ultra-high temperature (UHT) treatment. UHT treatment kills all bacteria, making the product microbiologically safe for consumption for 6-9 months. However, this powerful heat treatment can also lead to chemical, physical, and sensory changes that can negatively impact the quality of the milk. Therefore, the purpose of this study was to examine the quality of different UHT beverages to document changes in selected chemical, physical, and sensory properties. To investigate the effect of lactose, long-life semi-skimmed milk and long-life lactose-reduced semi-skimmed milk were selected. Considering that there is a change in society where more and more people are choosing plant-based alternatives to milk, oat drink was also included in this study.

A storage experiment was conducted where samples were stored at 4 °C, 20 °C, and 30 °C over a period of 90 days. The samples were analyzed on day 0, 30, 60, and 90 to examine changes occurring during the time in storage.

The results showed that there were changes during storage. Protein analysis showed a reduction in total protein content and casein, as well as an increase in non-casein nitrogen after 30 days of storage. Particle size was significantly higher in oat milk compared to milk, and sedimentation occurred within 14 days in oat milk. Lactulose concentration increased with increasing storage time and temperature in long-life semi-skimmed milk. Descriptive analysis showed that "sweet taste" was significantly higher in long-life lactose-reduced semi-skimmed milk. Spectrophotometric measurements showed that storage at 30 °C resulted in a significant color change already after 30 days for long-life lactose-reduced semi-skimmed milk. In addition, descriptive analysis for oat milk showed a significant color change after 90 days of storage at 4 °C, 20 °C, and 30 °C. Storage temperature was found to be a factor with a significant effect on color change and thus quality, especially in long-life lactose-reduced semi-skimmed milk. Therefore, storage temperature is an important factor to have control over throughout the entire storage period to ensure good quality of the product.

# Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b> .....	<b>I</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>III</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>IV</b>
<b>Forkortelser</b> .....	<b>VII</b>
<b>1.0 Innledning</b> .....	<b>2</b>
<b>2.0 Litteraturoversikt</b> .....	<b>4</b>
2.1 Melk.....	4
2.1.1 Melkeproteiner .....	4
2.1.2 Melkefett .....	5
2.1.3 Melkesukker.....	6
2.2 Havredrikk .....	7
2.3 Varmebehandling.....	9
2.3.1 Pasteurisering .....	9
2.3.2 Ultrapasteurisering .....	9
2.2.1 Varmebehandlingseffekt på proteiner.....	10
2.3.2 Endring i smak under oppvarming .....	10
2.3.3 Isomerisering av laktose.....	11
2.3.4 Maillard reaksjon.....	11
2.4 Faktorer som bestemmer holdbarhet i UHT-behandlet drikke .....	12
2.4.1 Fysisk destabilisering .....	12
2.4.2 Geldannelse under lagring.....	13
2.4.3 Lipidoksidasjon .....	14
2.4.4 Lipolyse.....	15
<b>3.0 Materialer og metoder</b> .....	<b>16</b>
3.1 Produkter benyttet i oppgaven.....	16
3.2 Forsøksdesign .....	17
3.3 Analyser.....	17
3.3.1 Kjemiske- og fysiske analyser.....	17

3.3.2	Sensoriske analyser .....	24
3.4	Databehandling .....	26
<b>4.0</b>	<b>Resultater .....</b>	<b>28</b>
4.1	Kjemiske- og fysiske analyser .....	28
4.1.1	pH .....	28
4.1.2	Tørrestoffanalyser .....	29
4.1.3	Fargeendring målt med spektrofotometri .....	30
4.1.4	Proteininnhold .....	30
4.1.5	Totalt kalsium .....	32
4.1.6	Kalsiumioneaktivitet .....	33
4.1.7	Partikkelstørrelse .....	34
4.1.8	Laktulose .....	35
4.1.9	Fysisk separering .....	36
4.2	Sensoriske analyser .....	37
4.2.1	Tetrad-test .....	37
4.2.2	Beskrivende analyse .....	38
<b>5.0</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>43</b>
5.1	Kjemiske endringer og proteininnhold .....	43
5.2	Fysiske endringer og partikkelstørrelse .....	45
5.3	Effekt av varmebehandling .....	48
5.4	Sensorikk .....	50
5.5	Oppsummering og konklusjon .....	53
<b>6.0</b>	<b>Til ettertanke og videre forskning .....</b>	<b>54</b>
<b>7.0</b>	<b>Litteraturliste .....</b>	<b>55</b>
<b>Vedlegg</b>	<b>.....</b>	<b>i</b>

## Forkortelser

CIE	Commission Internationale de l'Eclairage
EDTA	Etylendiamintetradeddiksyre
UHT	Ultrahøy temperatur
HTST	Høy temperatur-kort tid
Rpm	Runder per minutt
K	Kasein
IPN	Ikke-protein nitrogen
IKN	Ikke-kasein nitrogen
CMP	Kaseinmakropeptid
AGE	Avanserte glykerte endreprodukter
t.v.	Til venstre
t.h.	Til høyre
SH	Disulfidbinding
ISA	Ionic Strength Adjuster
CCP	Kolloidal kalsiumfosfat
ANOVA	Variansanalyse
Ca <sup>2+</sup>	Kalsiumion





## 1.0 Innledning

Mennesket har i tusenvis av år hatt melk som en del av sitt daglige kosthold, og melk inneholder næringsstoffer som inkluderer proteiner, karbohydrater, fett, vitaminer og mineraler. I snitt konsumerte hver nordmann 75 liter melk i 2022 (Steen, 2023), noe som gjør Norge til ett av landene med høyest melkekonsum per innbygger på verdensbasis (Sawe, 2018). Men det kastes også store mengder melk hvert år.

Ifølge Opplysningskontoret for Meieriprodukter kastes det årlig ca. 100 millioner liter melk (Opplysningskontoret for Meieriprodukter, 2023), noe som signaliserer et stort forbedringspotensial når det gjelder matsvinn. En måte å minske matsvinnet på er å øke melkas holdbarhet og gjøre den egnet for lagring i romtemperatur. Dette kan gjøres ved ultrapasteurisering. Lagring i romtemperatur er i tillegg økonomisk gunstig for industrien, da hylleplassavgifter er lavere i romtemperatur sammenlignet med kjøledisk.

Ultrapasteurisering er en måte å ultrahøy temperatur (UHT) behandle produkter, hvor en temperatur-tid kombinasjon på 130-140 °C i 3-5 sekunder er vanlig å benytte (Fox et al., 1998a). En kraftig varmebehandling som denne dreper alle bakterier, noe som gjør slike produkter mikrobiologisk trygg for lagring i romtemperatur i opptil 6-9 måneder selv om svært varmestabile sporer og enzymer vil kunne overleve (Perkins et al., 2005).

Plantebaserte alternativer til melk har eksistert i lang tid, men i de senere årene har den økte etterspørselen ført til at plantebaserte alternativer til melk er det mest rasktvoksende segmentet innen kategorier av funksjonelle- eller spesialdrikker verden over (Sethi et al., 2016). Av den grunn inkluderes en plantedrikke i denne oppgaven. En plantedrikke som er å finne i det norske markedet er havredrikk. Havredrikk er i likhet med langtidsholdbar melk UHT-behandlet og mikrobiologisk trygg for lagring i lengre tid. Men hva er det da som bestemmer holdbarheten til UHT-produkter når det mikrobielle er tatt hånd om?

I følge Rauh & Xiao (2022) er holdbarheten til et produkt definert som den perioden produktet kan lagres uten å bli uegnet for konsum, som for meieriprodukter betyr at produktet ikke har fysiske eller sensoriske defekter, samt at produktet holder en viss ernæringsmessig kvalitet. Hvorvidt disse punktene oppfylles er avhengig av utvikling av fysiske, kjemiske og biokjemiske endringer som skjer etter prosessering (Badings, 1991).

Til tross for den økonomiske betydningen av UHT-behandlede drikker, er det begrenset informasjon i den vitenskapelige litteraturen som beskriver endringer som skjer under lagring og hvordan lagringsforhold påvirker kvaliteten av drikkene. Derfor er hensikten med denne oppgaven å undersøke og dokumentere utvalgte kjemiske, fysiske og sensoriske endringer til UHT-melkeprodukter og havredrikke under lagring.

## 2.0 Litteraturoversikt

### 2.1 Melk

Melk er et komplekst produkt som stammer fra pattedyr etter de har produsert avkom, hvor hensikten er å gi avkommet en best mulig start på livet. Derav er melk full av næringsstoffer som skal sikre nettopp dette. Melk fra ku benyttes hyppig til menneskelig føde i vår del av verden, og derfor er melk en viktig kilde for å dekke menneskets daglige behov av næringsstoffer. Videre menes kumelk når det refereres til melk.

#### 2.1.1 Melkeproteiner

Melk inneholder ca. 3.5 % protein, hvor proteinene skilles mellom de som er løselig ved pH 4.6 og de som feller ved samme pH. Proteinene som feller kalles kasein og utgjør 80 % av melkeproteinene, og de resterende 20 % som er løselig kalles myseproteiner (Fox et al., 1998b).

##### 2.1.1.1 Kaseiner

Kasein er hydrofobe molekyler som deles inn i hovedgruppene  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ - og  $\kappa$ -kasein, hvor disse undergruppene utgjør henholdsvis 38, 10, 34 og 15 % av totalt kasein (Fox et al., 2017). Mange av kaseinets hydrofobe grupper er eksponert, og danner derfor lett hydrofobe bindinger (Walstra et al., 2006d). Kaseiner har åpen og fleksibel struktur med lite sekundær- og tertierstruktur som gjør kaseiner svært varmemestabile (Walstra et al., 2006d). I melk opptrer ca. 95 % av kasein som store kolloidale partikler som kalles kaseinmiceller (Fox et al., 1998b).

##### 2.1.1.2 Kaseinmicellen

Kaseinets sensitivitet til kalsiumioner legger grunnlaget for oppbygningen av kaseinmicellen.  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  og  $\beta$ -kasein inneholder respektive 8-9, 10-13 og 4-5 fosfatgrupper (Fox et al., 1998b), og feller ved en konsentrasjon av kalsiumioner høyere enn 6 mM (Fox et al., 2017).  $\kappa$ -kasein som vanligvis inneholder en fosfatgruppe vil ikke felle ved  $\text{Ca}^{2+} > 6 \text{ mM}$ , og derfor er  $\kappa$ -kasein plassert på micellens overflate hvor den beskytter de kalsium-sensitive undergruppene som befinner seg inni micellen (Fox et al., 1998b).

Micellens oppbygning er til den dag i dag fortsatt omdiskutert blant forskere (Fox et al., 2017), men det rår enighet om at overflaten til micellen hovedsakelig består av  $\kappa$ -kasein hvor den negativt ladet hydrofile enden (C-terminal) kjent som kasein-makropeptid (CMP) er vendt ut mot serumfasen (Fox et al., 1998b). Den negative ladde overflaten er tett nok til å hindre aggregering av kaseinmiceller, men ikke tett nok til å hindre denaturert  $\beta$ -laktoglobulin å trenge

gjennom CMP for så å danne disulfidbindinger med den indre delen av  $\kappa$ -kasein som kalles para-k-kasein (Anema & Li, 2003).

Micellens indre består hovedsakelig av kalsiumsensitive kaseinene og kalsiumfosfat. Hovedandelen av fosfat og kalsium opptrer som små klynger av kolloidal kalsiumfosfat (CCP) inni micellen. Disse klyngene omtales som nanoclusters på engelsk. CCP har en viktig stabiliserende rolle for micellen ved at de danner interaksjoner med serinfosfat på kasein (Fox et al., 1998c). I tillegg danner proteiner hydrofobe interaksjoner med hverandre som også bidrar til stabilitet i micellen (Fox et al., 1998b).

Kalsium i micellen foreligger enten bundet som CCP eller direkte bundet til kasein via serinfosfat (Bauland et al., 2020). Dersom pH synker vil økningen i  $H^+$ -ioner redusere de negative ladningene på  $\kappa$ -kasein som fører til at kalsiumionene blir frigjort og dermed vandrer ut i serumfasen (Fox et al., 1998a).

### 2.1.1.3 Myseprotein

$\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, blodserum albumin og immunglobulin er myseproteinene i høyest konsentrasjon i melk, hvor de utgjør henholdsvis ca. 50 %, 20 % og 10 % for de to sistnevnte. I kontrast til kaseiner har myseproteiner generelt mye sekundær-, tertiær- og kvartærstruktur, og er svært varmelabile globulære proteiner som oppnår komplett denaturering ved 90 °C i 10 minutter (Fox et al., 1998a). Myseproteiner er ikke sensitiv til kalsiumioner, og alle myseproteiner inneholder intramolekulære disulfidbindinger som stabiliserer strukturen til proteinene.  $\beta$ -laktoglobulin inneholder en sulphhydryl-gruppe (thiolgruppe) som under oppvarming ved temperaturer >75 °C i 15 sekunder danner sulphhydryl-disulfidbindinger med blant annet  $\kappa$ -kasein (Fox et al., 2017).

### 2.1.2 Melkefett

Melkefettet foreligger som mange små fettkuler (1-10  $\mu$ m) finfordelt i melkas væskefase, som er årsaken til at melk klassifiseres som en olje-i-vann emulsjon (Walstra et al., 2006a). Triacylglyserol, generelt kalt triglyserider, utgjør over 98 % av lipidene i melk, andre lipider til stede i melk er fosfolipider, kolesterol, frie fettsyrer, monoglyserider og diglyserider (Walstra et al., 2006d).

Triglyserider består av glyserol og tre fettsyrer bundet sammen. Fettsyrer klassifiseres som mettede fettsyrer eller umettede fettsyrer. I mettede fettsyrer er karbonatomene bundet sammen med enkeltbindinger, mens i umettede fettsyrer bindes karbonatomene sammen med en eller

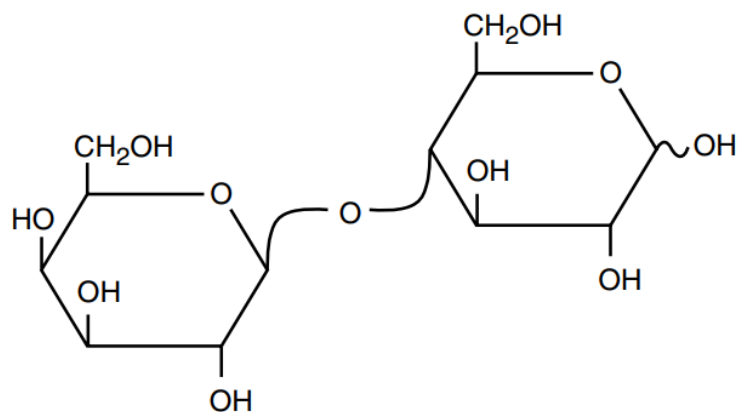
flere dobbeltbindinger. Dobbeltbindingene gjør at fettsyren er mer utsatt for lipidoksidasjon (Walstra et al., 2006d). Denne mekanismen kalles også for autooksidasjon. I melk er ca. 64 % mettede fettsyrer, 30 % enumettende fettsyrer og 3 % flerumettede fettsyrer. Oljesyre utgjør ca. 70 % av de umettede fettsyrene, og en stor andel av lipidoksidering i melk kan tilskrives denne fettsyren (Walstra et al., 2006d).

### 2.1.3 Melkesukker

Karbohydratet som finnes i høyest konsentrasjon i melk er melkesukkeret laktose. Laktose er et disakkarid bygd opp av monomerene galaktose og glukose som vist i figur 1, og er et reduserende sukker. Et reduserende sukker inneholder en fri aldehydgruppe (-CHO) som kan oksideres til en karboksylgruppe (-COOH) (Huber & BeMiller, 2017).

Enzymet laktase finnes naturlig i tynntarmen hos mennesket, men produksjonen av dette enzymet avtar for mange fra tre-femårsalderen og frem mot voksen alder (Lyngra & Gøttum, 2016). Dette gir nedsatt evne til å spalte laktose og dermed en laktoseintoleranse, som ofte gir ubehag som luftsmerte og løs avføring. Kvalme og oppkast kan også forekomme (Lyngra & Gøttum, 2016). Laktoseintoleranse varierer ut fra hvor i verden du befinner deg. I sørøst Asia har 98-100 % av voksne redusert evne til å spalte laktose (Dekker et al., 2019), mens kun 2-3 % av etniske nordmenn har laktoseintoleranse (Lyngra & Gøttum, 2016). Totalt sett bidrar disse tallene til at markedet for laktosefrie-produkter er det mest raskt voksende segmentet i meieriindustrien (Dekker et al., 2019).

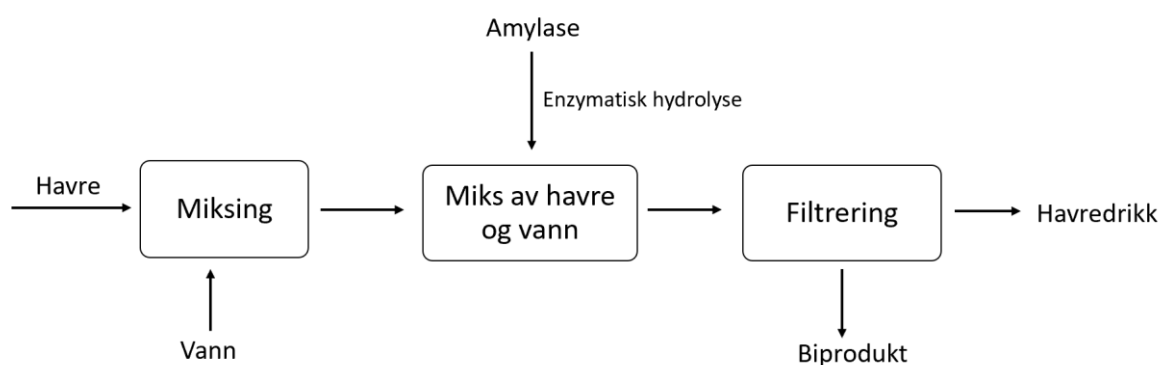
Laktose kan fjernes på to måter; laktosehydrolyse eller filtrering. Filtrering gir en fysisk fjerning av laktose. Laktosehydrolyse går ut på å tilsette enzymet laktase, som spalter bindingen mellom glukose og galaktose slik at disakkaridet laktose foreligger som monomerene glukose og galaktose (Dekker et al., 2019). Resultatet av laktosehydrolyse er laktosereduserte produkter som blant annet har svært lav konsentrasjon av laktose, og høyere grad av søthet da både glukose og galaktose er søtere enn laktose (Huber & BeMiller, 2017). Glukose og galaktose er begge reduserende sukker, som følgelig gir laktosehydrolyserte produkter økt innhold av reduserende sukker (Fox et al., 1998a).



**Figur 1.** Laktosemolekyl bestående av galaktose (t.v.) og glukose (t.h.) bundet sammen med  $\beta$ -1-4 glykosidbinding. Hentet fra Huber, K. C. & BeMiller, J. N. (2017). *Carbohydrates*. In Damodaran, S. & Parkin, K. L. (eds) *Fennema's Food Chemistry* pp. 92-169. CRC press: Taylor & Francis Group, Boca Raton, US.

## 2.2 Havredrikk

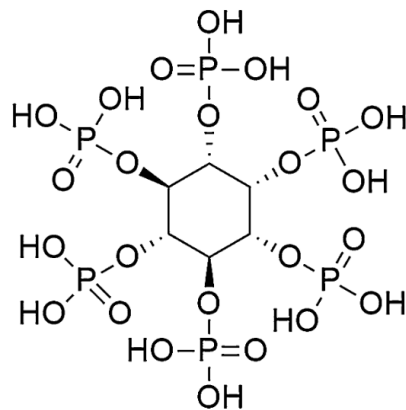
Bruk av plantebaserte alternativer til melk har blitt rapportert om hele 2000 år tilbake i tid (Sethi et al., 2016). Av ulike grunner bytter flere og flere ut melka med andre alternativer, noe som har ført til en enorm vekst når det gjelder konsum av plantedrikker (Sethi et al., 2016). Økt etterspørsel fra kundene har økt sortimentet av plantedrikker, og en av disse som har fått fotfeste er havredrikke. Havre er utgangspunktet for en slik drikk, og havre inneholder 15-20 % protein, 6-7 % fett hvorav 80 % er umettede fettsyrer, løselig kostfiber (hovedsakelig  $\beta$ -glukan), fytokjemikalier og litt over 50 % stivelse (Deswal et al., 2014). Proteininnholdet i havre kan deles inn i fire kategorier; albumin, globulin, prolamin og glutelin (Runyon et al., 2015). Varmerbehandling har vist seg å redusere løseligheten til proteinene med hele 50 %, som trolig skyldes denaturering (Runyon et al., 2015). Både havre og havredrikk er naturlig laktosefri. Produksjon av havredrikke er forklart i figur 2.



**Figur 2.** Flytskjema som viser eksempel på produksjon av havredrikke. Flytskjema er basert på informasjon fra Deswal, A., Deora, N. S. & Mishra, H. N. (2014). *Optimization of Enzymatic Production Process of Oat Milk Using Response Surface Methodology*. *Food and Bioprocess Technology*, 7 (2): 610-618. doi: 10.1007/s11947-013-1144-2.

Stivelse danner gel i temperaturintervallet 44.7-73.7 °C (Tester & Karkalas, 1996), og på grunn av det høye innholdet av stivelse hydrolyseres blandingen bestående av vann og havre for å opprettholde flytbarhet i produktet under varmebehandling og lagring (Sethi et al., 2016).

Havre inneholder antinæringsstoffet fytinsyre. Fytinsyre er en myo-inositol haksafosforsyre (InsP<sub>6</sub>) hvor hver av de seks hydroksylgruppene er bundet til fosfat og er derfor den viktigste komponenten som lagrer fosfor i de fleste frø og korn (Zhou & Erdman, 1995; Multari et al., 2015). Kjemisk struktur av fytinsyre er vist i figur 3.



*Figur 3. Kjemisk struktur av fytinsyre. Hentet fra Pyarasani, R. D., Jayaramudu, T. & John, A. (2019). Polyaniline-based conducting hydrogels. Journal of Materials Science, 54 (2): 974-996. doi: 10.1007/s10853-018-2977-x.*

Fytinsyre har evne til å binde mineraler, proteiner og stivelse og videre danne uløselige komplekser som reduserer biotilgjengeligheten av næringsstoffene. Derfor anses fytinsyre å være et antinæringsstoff (Multari et al., 2015).

Fytinsyre har en pKa verdi som strekker seg fra 1.1-12 (Saïed & Aïder, 2014). Fytinsyre vil derfor være negativt ladet over et stort pH intervall, og har følgelig et stort potensial til å binde positivt ladet ioner slik som kalsiumion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) (Somasundar et al., 2005) .

Havredrikk inneholder generelt en høyere andel fett sammenlignet med melk. I tillegg til å inneholde naturlig fett fra havre, tilsettes ofte vegetabilsk olje for å gi økt forbrukeraksept (Laitila et al., 2022). En høy andel umettet fett gjør at havredrikk er utsatt for lipidoksidering, samtidig som tilstedeværende fytokjemikalier bidrar til å motvirke dette (Moretto et al., 2021b). Lipidene i havredrikk har vanligvis en partikkelstørrelse som strekker seg fra 0.8-2.1  $\mu\text{m}$  (McClements et al., 2019).



## 2.3 Varmerbehandling

Varmerbehandling er en av de mest essensielle og viktigste prosesseringsteknologiene som benyttes i meieriindustrien (Rauh & Xiao, 2022). Varmerbehandling skal sikre at produktet er trygt å konsumere, i tillegg til at det øker holdbarheten ved å drepe patogene bakterier og kvalitetsforringende mikroorganismer (Rauh & Xiao, 2022). To måter å varmerbehandle melk på er pasteurisering og ultrapasteurisering.

### 2.3.1 Pasteurisering

Pasteurisering kan gjøres ved lav temperatur (lavpasteurisering) eller høy temperatur (høypasteurisering) (Walstra et al., 2006e), hvor typisk temperaturbehandling er følgende 72 °C i 15 sekunder og 87 °C i 15 sekunder (Walstra et al., 2006e). Lavpasteurisering er den vanligste metoden å varmerbehandle konsummelk på, og temperatur-tid kombinasjonen nevnt ovenfor kalles gjerne høy temperatur-kort tid (HTST) pasteurisering (Fox et al., 1998a). En slik varmerbehandling skal gi produkter minimal endring i smak og næringsverdi (Walstra et al., 2006e). Som kjent er myseproteinene varmelabile. Rynne et al. (2004) fant at 2.8 % av myseproteinene denaturerte ved en temperatur på 72 °C. Verdt å merke er at holdetiden i dette forsøket var 26 sekunder, sammenlignet med vanlige 15 sekunder for HTST melk (Rynne et al., 2004).

Pasteurisering har til hensikt å gjøre produktet trygg for konsum, i tillegg til at holdbarheten skal være minimum en uke gitt at produktet lagres kjølig (Walstra et al., 2006e). Patogene bakterier inaktiveres, mens varmeresistente bakterier og sporer vil kunne overleve. Ved å oppbevare produkter kjølig vil holdbarhet opprettholdes ved å hindre vekst av mesofile og termofile sporer (Rauh & Xiao, 2022). Psykotrofe sporer vil kunne germinere i kjøleskapstemperatur, men vil ikke nå grensen for kvalitetsforringelse før etter utløpt holdbarhetstid (Rauh & Xiao, 2022).

### 2.3.2 Ultrapasteurisering

Ultrapasteurisering (UHT) benytter en temperatur-tid kombinasjon på 130-140 °C i 3-5 sekunder, som gir produkter forlenget holdbarhet ved at alle bakterier drepes (Fox et al., 1998a). Dermed vil ikke mikrobiologisk bakterievekst være den begrensende faktoren. Derfor kalles UHT-behandling også ofte for en kommersiell sterilisering. Likevel vil varmerstabile sporer og enzymer kunne overleve denne varmerbehandlingen (Fox et al., 1998a).

UHT-behandling kan gjennomføres på to ulike måter, direkte UHT og indirekte UHT. I direkte UHT mikses melk med varm damp (injeksjon eller infusjon), slik at varmeutvekslingen skjer direkte og svært hurtig. På bare 0.1 sekunder kan melka gå fra 80 °C til 145 °C (Walstra et al., 2006c). Ved indirekte UHT er ikke melken i direkte kontakt med varmemediet da det benyttes en platevarmeveksel (Walstra et al., 2006c), og denne metoden bruker lengre tid på å oppnå samme resultat som ved direkte UHT. Dermed blir den totale varmebelastningen større ved indirekte UHT-behandling (Datta et al., 2002). UHT-behandling fører også med seg uønskede endringer i produktets matriks og ulike komponenter. Proteinene blir spesielt påvirket av varmebehandlingen.

### 2.2.1 Varmebehandlingseffekt på proteiner

Som tidligere nevnt denaturerer myseproteinene under UHT-behandling. Hovedreaksjonen som skjer under varmebehandling av melk som inneholder  $\beta$ -laktoglobulin og  $\kappa$ -kasein er en interaksjon mellom denaturert myseprotein og  $\kappa$ -kasein (Anema & Li, 2003). Denaturert myseprotein, spesielt  $\beta$ -laktoglobulin, inneholder en fri thiolgruppe. Disse gruppene kan danne interaksjoner med andre frie thiolgrupper og danne disulfid-bindinger på samme molekyl eller på andre molekyler, hvor det følgelig dannes små løselige aggregater eller større uløselige aggregater dersom videre aggregering fortsetter (Walstra et al., 2006c). I tillegg vil  $\beta$ -laktoglobulin danne interaksjoner med  $\kappa$ -kasein,  $\alpha_{S1}$ -kasein og eventuelt andre proteiner fra fettkulemembranen (Anema & Li, 2003; Walstra et al., 2006c).  $\beta$ -laktoglobulins interaksjon med  $\kappa$ -kasein som følge av varmebehandling danner  $\beta$ -laktoglobulin- $\kappa$ -kasein kompenser som kan dissosiere fra kaseinmicellen, aggregere og sedimentere (McMahon, 1995). Kombinasjonen av at  $\kappa$ -kasein er lokalisert på micellens overflate og at  $\kappa$ -kasein dissosierer ut av micellen ved temperaturer  $> 120$  °C gjør at interaksjoner mellom  $\beta$ -laktoglobulin og  $\kappa$ -kasein skjer i større grad i UHT-melk sammenlignet med HTST melk (Horne, 1998; Walstra et al., 2006c).

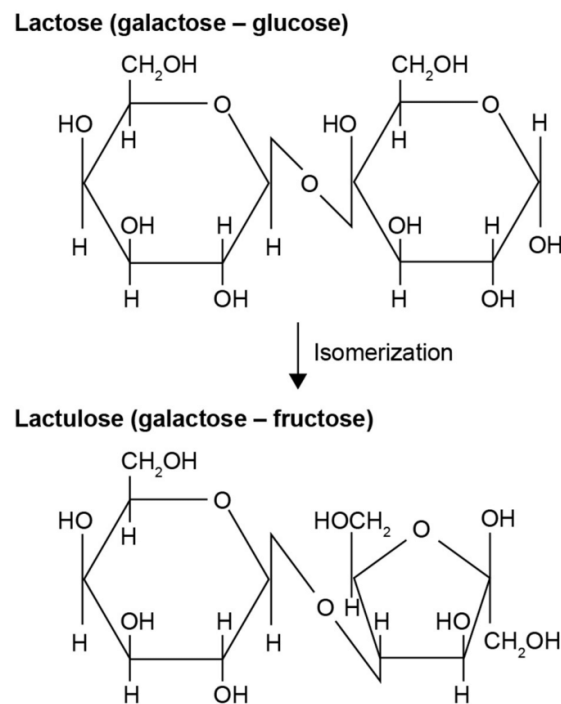
### 2.3.2 Endring i smak under oppvarming

Karakteristisk for UHT-behandlet melk rett etter prosessering er en sterk kål- eller svovelaktig bismak, bedre kjent som kokt smak (Datta et al., 2002). En tidligere studie (Hutton & Patton, 1952) fant at kokt smak i melk i all hovedsak skyldes dannelsen av flyktige svovelholdige komponenter og frie thiolgrupper. Disse komponentene er intens like etter prosessering, men under lagring vil flyktige svovelholdige komponenter oksidere til komponenter med høyere sensorisk terskel (Hansen et al., 1974). En del av membranproteinene i fettkulemembranen er

10 ganger mer reaktive enn  $\beta$ -laktoglobulin, derfor vil kokt smak være et større problem i produkter som inneholder en høyere andel fett (Walstra et al., 2006c).

### 2.3.3 Isomerisering av laktose

Under UHT-behandling kan det i et basisk miljø skje en isomerisering av laktose til laktulose. Isomerisering katalyseres av melkekomponenter tilstede, men det er fortsatt ikke helt forstått hvilke melkekomponenter som er involvert (Walstra et al., 2006d). Kjemisk struktur og dannelse av laktulose er vist i figur 4.



*Figur 4. Kjemisk struktur og dannelse av laktulose. Hentet fra Karakan, T., Tuohy, K. & van Solingen, G. (2021). Low-Dose Lactulose as a Prebiotic for Improved Gut Health and Enhanced Mineral Absorption. Frontiers in Nutrition, 8: 672925. doi: 10.3389/fnut.2021.672925.*

Innholdet av laktulose kan brukes som en parameter for å klassifisere grad av varmebehandling. Ifølge «E.U Expert Group on Dairy Products» skal ikke betydelige mengder laktulose dannes i høypasteurisert melk. I UHT-melk kan det forventes et laktuloseinnhold på  $< 0.6$  g/L. Sterilisert melk inneholder  $> 0.6$  g/L laktulose (De Block et al., 1996).

### 2.3.4 Maillard reaksjon

En av de aller viktigste reaksjonene som skjer med proteiner og reducerende sukker under varmebehandling av melk er Maillard-reaksjonen. Maillard-reaksjonen er en kompleks kjedereaksjon som foregår hyppig ved temperaturer høyere enn  $100$  °C (Rauh & Xiao, 2022). Reaksjonen utløses av et reducerende sukker og en aminogruppe.

Maillard-reaksjonen kan deles inn i tre stadier: innledende-, intermediær- og endelig Maillard-reaksjon. I innledende Maillard-reaksjon foregår det en kondensasjonsreaksjon mellom karbonylgruppen på et reduserende sukker og primært aminogruppene på sidekjedene til lysin og arginin i tillegg til N-terminale aminogrupper på alle proteiner og peptider. Det dannes en Schiff's base som undergår en rearrangering og danner Amadori eller Heyns produkt. I den intermediære fasen brytes Amadori-produktene ned, noe som frigjør sukkerfragmenter som inkluderer svært reaktive  $\alpha$ -dikarbonyl komponenter. Det endelig steget innebærer en rekke kondensasjon-, dehydrering-, fragmentering- og polymeriseringsreaksjoner som gir opphavet til avansert glykerte endeprodukter (AGE) og til slutt melanoider som er store polymeriserte komponenter som bidrar til bruning og fargeendring i produkter (Rauh & Xiao, 2022). En slik fargeendring anses som en kvalitetsdefekt i produkter (Rauh & Xiao, 2022).

Utvikling av Maillard-reaksjonen bestemmes i stor grad av sammensetningen til produkter, varmebehandling og lagring (Rauh & Xiao, 2022). Kraftig varmebehandling medfører at intermediære- og endeprodukter raskt dannes under lagring. I tillegg spiller lagringstemperatur en viktig rolle. Ved romtemperatur og opp mot 50 °C vil hastigheten til Maillard-reaksjonen være betraktelig lavere enn ved 100 °C, og ved kjøleskaptemperatur vil hastigheten til reaksjonen være svært lav (Rauh & Xiao, 2022).

## 2.4 Faktorer som bestemmer holdbarhet i UHT-behandlet drikke

Når det mikrobiologiske aspektet ved holdbarhet er tatt hånd om av UHT-varmebehandling, bestemmes holdbarheten i produktene av fysiske, kjemiske og biokjemiske endringer som skjer etter prosessering.

### 2.4.1 Fysisk destabilisering

#### 2.4.1.1 *Sedimentering*

Sedimentering er en mekanisme som stort sett kun forekommer i UHT-produkter som et resultat av at det dannes aggregater (Rauh & Xiao, 2022). Sedimentering kan beskrives som et lag av melkekomponenter som samler seg i bunnen av kartongen. Årsaken til at partikler sedimenteres kan forklares ved Stoke's lov (Dalglish, 1992). Partikler som har høyere tetthet enn den kontinuerlige væskefasen rundt, faller til bunnen på grunn av tyngdekraften. Hvor raskt sedimentering skjer er avhengig av partiklenes størrelse og tetthet, i tillegg til viskositeten til den kontinuerlige væskefasen. Sedimentering øker under lagring og ved økende lagringstemperatur (Hawran et al., 1985). Denne mekanismen blir ikke klassifisert som en kvalitetsdefekt før laget ikke er i stand til å re-suspenderes ved risting (Badings, 1991).

#### 2.4.1.2 Koalesens

Koalesens er det motsatte av sedimentering. Partikler med lavere tetthet enn den kontinuerlige fasen flyter til overflaten i stedet for å falle til bunnen (Dalglish, 1992). Dette gjelder i all hovedsak fettkulene, og da er naturlig nok grad av koalesens avhengig av produktets fettinnhold. I tillegg påvirkes koalesens av viskositeten til den kontinuerlige fasen og størrelsen på fettpartiklene (Rauh & Xiao, 2022).

Den vanligste måten å hindre koalesens på er homogenisering. Meieriprodukter som inneholder fett er som hovedregel homogenisering, og alle UHT-produkter må homogeniseres for å hindre dannelse av en fettpropp under lagring (Early, 1998). En homogenisator knuser fettkulene slik at de går fra å ha en diameter på 1-10  $\mu\text{m}$  til  $<1 \mu\text{m}$  (Rauh & Xiao, 2022). På denne måten holder fettkulene seg finfordelt i melka lengre. Likevel er ikke koalesens til å unngå i langtidsholdbare produkter som inneholder fett, og lagring ved høyere temperaturer vil øke hastigheten av koalesens (Rauh & Xiao, 2022). Koalesens blir identifisert som en holdbarhetsbegrensende faktor når laget ikke lengre er i stand til å enkelt re-suspenderes ved risting (Rauh & Xiao, 2022).

#### 2.4.2 Geldannelse under lagring

Geldannelse under lagring, som på engelsk kalles «age gelation», er et fenomen hvor det dannes et irreversibelt tre-dimensjonalt proteinnettverk som sedimenterer. Det dannes et svakt, men irreversibelt, lag på bunnen av kartongen som gradvis tar opp et større volum. Varmebelastning spiller en viktig rolle når det gjelder dannelse av gel under lagring (Datta & Deeth, 2001). For eksempel har det vist seg at sterilisert melk vanligvis ikke danner gel under lagring, mens direkte UHT raskere danner gel enn indirekte UHT (Datta & Deeth, 2001). Det vil si at økt varmelastning kan redusere dannelse av gel under lagring. Geldannelse ansees å være kvalitetsforringende, som medfører at holdbarheten til produkter opphører dersom fenomenet inntreffer (Anema, 2019).

Geldanning under lagring kan forekomme på minst to måter (Datta & Deeth, 2001). Den første mekanismen involverer enzymatisk degradering, mens den andre er ikke-enzymatisk og gir ingen proteindegradering (Datta & Deeth, 2001). Det er kun den første mekanismen som gir geldanning innenfor melkas holdbarhetstid, og derfor er det kun den første mekanismen som er relevant for denne oppgaven (Datta & Deeth, 2001).

Den første mekanismen er protolytisk degradering av proteiner. Varmestabile proteaser som overlever UHT-behandling kan under lagring hydrolysere melkeproteiner, som fører til dannelse av peptider. Dette fører til destabilisering av proteinsystemet som til slutt kan danne gel. Denne mekanismen inntreffer vanligvis innen noen måneder etter prosessering.

Proteasene som er ansvarlig for degradering kan enten være naturlig tilstede i melka (plasmin) eller skilles ut fra bakterier (enzymet fra noen psykotrofe bakterier) (Anema, 2017). Plasminsystemet består av plasmin, plasminogen, plasmin-inhibitor og plasmin-aktivator. Noe plasmin, plasminogen og plasminogen-aktivator vil kunne overleve varmebehandling, og vil kunne degradere proteinene som på sikt kan gi gel (Datta & Deeth, 2001). Plasmin hydrolyserer  $\beta$ -kasein først, etterfulgt av  $\alpha$ 1- og  $\alpha$ 2-kasein.  $\kappa$ -kasein har høyest resistens mot hydrolyse forårsaket av plasmin (Datta & Deeth, 2001). Psykotrofe bakterier kan produsere proteaser før bakteriene selv inaktiveres ved varmebehandling, og noen av disse proteasene er svært varmemestabile. Den vanligste måten slike proteaser danner gel er ved spaltning av  $\kappa$ -kasein på lignende måte som løpe gjør. Dette gir dannelse av «para- $\kappa$ -kasein» lignende micelle og «glyko-makro-peptid» lignende biprodukt. Resultatet av dette er en svært ustabil kaseinmicelle, som på sikt vil kunne aggregere og danne gel (Datta & Deeth, 2001; Anema, 2017).

### 2.4.3 Lipidoksidasjon

Lipidoksidering er en viktig årsak til kvalitetsforringelse i melk (Fox et al., 1998c). Når dobbeltbindingene i umettede fettsyrer utsettes for oksidering dannes peroksider, og nedbrytingen bidrar til et tap i næringsverdi i tillegg til mulig endring i smaksprofilen (Vercellotti et al., 1992). Hydrogenperoksid er det primære oksidasjonsproduktet som dannes (Fox et al., 1998c). Hydrogenperoksid er en smaksløs forbindelse, men den kan videre brytes ned til sekundære oksidasjonsprodukter som kan ha lav sensorisk terskel. Umettede karbonylforbindelser er det sekundære oksidasjonsproduktet som er hovedårsaken til bismaker forbundet med lipidoksidering. Slike forbindelser er mer reaktive og danner andre produkter med lav smaksterskel (Fox et al., 1998c).

Selv om svært lite vitenskapelig litteratur er tilgjengelig om plantedrikker, inneholder de ofte planteoljer med høy andel flerumettede fettsyrer som kan gjøre de mer utsatt for oksidering sammenlignet med melk (Matthäus, 2010).

#### 2.4.4 Lipolyse

Noen psykotrofe bakterier danner varmestabile lipaser som kan overleve UHT-behandling. *Pseudomonas* spp. er et eksempel på slike bakterier (Griffiths et al., 1981). Tidligere studie (Andersson et al., 1981) viste at tilsetning av *Pseudomonas* lipase i melk før UHT-behandling ga en rask økning i frie fettsyrer under lagring. Tidlig i lagringsperioden ble det ikke detektert noen sensoriske forskjeller, men etter 5-10 og 12-14 dager for henholdsvis høyt innhold og lavt innhold av lipase ble sensoriske forskjeller detektert av dommerpanelet. Årsaken til at det dannes bismaker er at lipaser hydrolyserer triglyserider, og dermed øker andelen frie fettsyrer.

Havre inneholder enzymer som lipase og lipoksygenase som kan gi lipolytisk degradering i havredrikke (Moretto et al., 2021a). Men varmebehandling har vist seg å være et nyttig verktøy for å inaktivere disse enzymene og dermed hindre dannelse av blant annet harsk smak (Ames et al., 2013).

### 3.0 Materialer og metoder

Hensikten med denne studien var å undersøke og dokumentere spesifikke kjemiske, fysiske og sensoriske endringer som oppstår i langtidsholdbar lettmeik, langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik og havredrikke under lagring ved ulike temperaturer. Dette ble gjort ved å gjennomføre et 90-dagers lagringsforsøk, hvor prøvene ble analysert dag 0, 30 60 og 90.

#### 3.1 Produkter benyttet i oppgaven

I denne oppgaven har det blitt benyttet produkter som er UHT-behandlet, og derav langtidsholdbare. Meieriproduktene er produsert av produsent A og er direkte UHT behandlet, mens havredrikke er produsert av produsent B. Spesifikke detaljer om produksjon av havredrikk er ikke tilgjengelig. Langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik er i tillegg laktosehydrolysert. HTST lettmeik med ca. 13 dagers holdbarhet ble også analysert med hensikt å sammenligne effekten av varmebehandling. Oversikt over produktene benyttet i oppgaven og næringsinnhold oppgitt fra produsent er presentert i tabell 1.

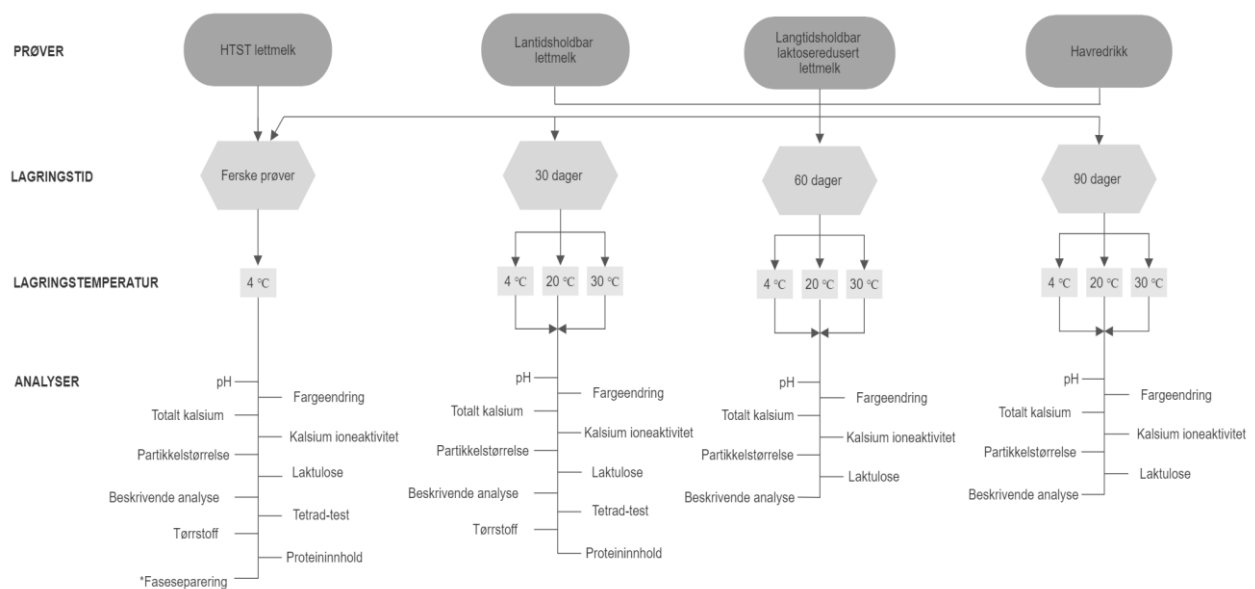
*Tabell 1. Oversikt over analyserte produkter og næringsinnhold. Næringsinnholdet er oppgitt pr.100 g. \*I havredrikke er kalsium tilsatt i form av kalsiumkarbonat og jod er tilsatt i form av kalsiumjodid. HTST lettmeik = høy temperatur-kort tid lettmeik.*

<b>Produkt</b>	<b>Fett (g)</b>	<b>Protein (g)</b>	<b>Karbohydrat (g)</b>	<b>Laktose (g)</b>	<b>Kalsium (mg)</b>	<b>Jod (µg)</b>
<b>HTST lettmeik</b>	1.0	3.5	4.5	4.5	130	16
<b>Langtidsholdbar lettmeik</b>	1.2	3.5	4.5	4.5	130	16
<b>Langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik</b>	1.0	3.5	4.5	< 0.3	130	16
<b>Havredrikke</b>	1.5	0.8	7.5	-	120*	16*



## 3.2 Forsøksdesign

Alle prøvene stammer fra samme produksjons-batch, tappet på 1 liters kartonger. Etter produksjon ble alle prøvene lagret ved 4 °C, frem til henting og videre lagring ved gitte temperaturer. Alle prøvene ble lagret i original, uåpnet emballasje frem til analysetidspunkt, og alle kartongene ble vendt nøyaktig 10 ganger i forkant av analyse. Prøvene ble analysert før lagring som ferske produkter, ved 30 dagers lagring, 60 dagers lagring og 90 dagers lagring. Forsøksdesignet er presentert i figur 5.



**Figur 5.** Flytskjema som viser de ulike prøvene, lagringstid, lagringstemperatur og hvilke analyser som ble gjennomført for de ulike forsøksfaktorene. \*Faseseparering ble undersøkt i langtidsholdbar lettmeik, langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik og havredrikk ved lagring i 4, 20 og 30 °C og det ble tatt fotografi av prøvene hver 14. dag. HTST lettmeik = høy temperatur-kort tids varmebehandlet lettmeik.

## 3.3 Analyser

### 3.3.1 Kjemiske- og fysiske analyser

#### 3.3.1.1 pH

pH ble målt i alle prøvene ved bruk av et kalibrert pH-meter (PHM 92 LAB pH meter METERLab™, Radiometer Analytical S.A, Lyon, Frankrike), og målingene ble utført på romtempererte prøver. Alle prøvene ble målt i triplikater.

#### 3.3.1.2 Tørrstoffanalyser

Analyser av tørrstoff ble utført i henhold til IDF standard 21B (IDF, 1987), med noen modifikasjoner. Det ble veid ut tilnærmet 5,0 g prøve i et aluminiumsbeger, hvor det for nullprøvene ble benyttet en lukket Mettler vekt med nøyaktighet på tre desimaler (PM480 DeltaRange, Greifensee, Sveits) og en lukket Sartorius vekt med nøyaktighet på fire desimaler

(Entris224-1S, Sartorius AG, Tyskland) ble benyttet for de resterende prøvene. Prøvene ble tørket i VENTI-Line varmeskap på 102 °C i 24 timer, videre ble prøvene avkjølt i DURAN eksikator før de ble avlest. Alle prøvene ble målt i triplikater.

Estimering av tørrstoffinnhold (%) ble gjort ved bruk av følgende formel:

$$\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

(1)

Hvor  $m_2$  = vekt av skål og tørket prøve (g),  $m_0$  = vekt av skål (g) og  $m_1$  = vekt av skål og prøve (g). Differansen mellom parallellene skal ikke overskride 0,5 %.

### 3.3.1.3 Fargeendring målt ved spektrofotometri

Farge av prøvene ble bestemt ved bruk av spektrofotometeret CM-700d (Konica Minolta). Fargerommet CIELAB ble bestemt ved bruk av fargedata programmet CM-S100w SpectraMagic™ NX. I forkant av hvert prøvetakingstidspunkt ble spektrofotometeret kalibrert, og en pappeske ble benyttet som bakgrunn ved utførte målinger. Alle prøvene ble målt i triplikater, og prøvene ble målt i gjennomsiktige plastbeger med konstant volum under alle målingene slik som figur 6 viser.



Figur 6. Illustrasjonsbilde som viser begrene som ble benyttet under fargemåling.

$\Delta E$  benyttes for å kvantifisere ulikheter mellom to farger. Om fargeendring er synlig for det blotte øyet eller ikke bestemmes ved følgende formel:

$$\Delta E^*_{ab} = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$$

(2)

Dersom  $\Delta E^*_{ab}$  er høyere enn 1 er endringer synlig for det blotte øyet (Fullerton et al., 1996).

### 3.3.1.3 Proteininnhold

Proteinbestemmelse av prøvene ble gjort ved bruk av MikroKjeldahl, ved analyse av total nitrogen (TN) i henhold til IDF 20-5:2001 (IDF, 2001b), ikke-protein nitrogen (IPN) i henhold til IDF 20-4:2001 (IDF, 2001a) og ikke-kasein nitrogen (IKN) i henhold til IDF 29-2:2004 (IDF, 2004) med følgende modifikasjoner. Det ble i stedet for sentrifugering i prosedyren for IPN og IKN, benyttet filtrering ved bruk av White Ribbon filter (Whatman™ 10300112 Ashless Grade 589/2 Quantitative Filter Paper, 4-12 µm porestørrelse). Før hver serie ble to blanke prøver og tre standarder med skummet melk analysert som kontroll. For alle prøver ble det analysert tre paralleller.

Innveier til oppslutningsrør ble gjort ved bruk av en Mettler vekt med nøyaktighet på tre desimaler (PM480 DeltaRange, Greifensee, Sveits) og en eppendorf Varispenser® plus ble benyttet ved tilsetning av svovelsyre. Tecator™ Digestor oppslutningsblokk (Foss Analytical AB, Högganäs, Sverige) med avsug (Teactor™ Line Scrubber 2501, Foss Analytical AB, Högganäs, Sverige) ble benyttet. Videre ble prøvene destillert i en Kjeltec™ 8400 (Foss, Hillerød, Danmark). Apparatet ga resultatet i mL titer, korrigert fra blank prøve.

Kjeldahl-faktor baserer seg på mengde nitrogen i protein, og for meieriproduktene og havredrikke ble henholdsvis 6.38 og 5.83 benyttet (Fox et al., 1998b; Mariotti et al., 2008).

% TN estimeres ved følgende formel:

$$\frac{\text{Titer (mL)} \cdot 0.07}{L} = \% \text{ TN} \quad (3)$$

Hvor L = vekt av original prøve (g).

% IPN og % IKN estimeres ved følgende formel:

$$\frac{\text{Titer (mL)} \cdot 0.07 \cdot V}{L \cdot F} = \% \text{ IPN eller } \% \text{ IKN} \quad (4)$$

Hvor V = vekt fortynnet prøve (g), L = vekt original prøve (g) og F = vekt filtrat (g).

Total protein (TP) estimeres ved å trekke IPN fra TN før multiplisering med proteinfaktor, slik at TP ikke inneholder ikke-proteinkomponenter:

$$(\text{TN} - \text{IPN}) \cdot \text{Proteinfaktor} = (\text{TP}) \quad (5)$$

Kasein (K) estimeres ved å trekke IKN fra TN før multiplisering med proteinfaktoren, slik at K inneholder protein-nitrogen fra kasein. K vil i tillegg inneholde protein-nitrogen fra denaturert myseprotein som ikke kan holdes i løsningen ved pH-senkning på grunn av at de er i en denaturert form.

$$(TN-IKN) \cdot \text{Proteinfaktor} = (K)$$

(6)

### 3.3.1.4 Kalsium

#### 3.3.1.4.1 Innledende forsøk for havredrikke

Før kalsiumtitrering ble det gjennomført et innledende forsøk for å kartlegge effekt av pH på tilgjengeligheten av kalsium i havredrikk. Innledende målinger av havredrikk ga ikke varig fargeomslag ved titrering. Saltsyre ble benyttet for å justere pH, og pH-verdiene som ble undersøkt var pH 7.0, 5.0, 4.0, 3.5, 3.0, 2.8, 2.6, 2.4, 2.2, 2.0 og 1.5. Den høyeste pH-verdien som ga varig fargeomslag ble benyttet videre til bestemmelse av totalt kalsium med kompleksimetrisk titrering.

#### 3.3.1.4.2 Totalt kalsium

Totalt kalsium ble bestemt for alle prøvene med kompleksimetrisk titrering i henhold til prosedyre beskrevet i tidligere studie (Visser, 1977), med modifikasjoner. 2 mL prøve ble tilsatt 40 mL dH<sub>2</sub>O og 10 mL bufferløsning. Eriokromsvart T ble tilsatt slik at en fiolett farge oppsto, og løsningen ble varmet i varmt vann i ca. 2 minutter. pH-justering av havredrikk medførte en fortykning av prøven. Dette er ikke tatt høyde for i utregningene.

Det ble benyttet 876 Dosimat plus dispenseringsenhet (Metrohm, Herisau, Sveits) for manuell titrering. Alle prøvene ble målt i triplikater, og apparatet gav resultatet i mL titer. 1 mL titer løsning EDTA korresponderer til 0,4 mg Ca<sup>2+</sup>. Titreringen var fullstendig ved endelig fargeomslag til blått, hvor fargeutviklingen fra før titrering til etter fullstendig titrering er illustrert i figur 7.



*Figur 7. Illustrasjonsbilde som viser fiolett/rosa farge før titrering (t.v.), fiolett/blå farge underveis i titrering og blå farge ved endelig fargeomslag (t.h.).*

Bufferløsning ble lagd av en del 1 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland) og fem deler 1 M  $\text{NH}_4\text{OH}$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland).  $\text{Ca}^{2+}$ -standard løsning ble lagd ved at 1,000 g  $\text{CaCO}_3$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland) ble løst i minimalt med  $\text{HCl}$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland) og nøytralisert ved å tilsette  $\text{NH}_4\text{OH}$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland) til en noe basisk reaksjon med lakmus. Løsningen skal bli ca. 1000 mL. EDTA-løsning ble laget ved å løse 4,00 g dinatriumhydrogensalt av etylendiamintetraeddiksyre (EDTA) (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland) i destillert vann (ca. 3-400 mL) med 0,5 g løst  $\text{NaOH}$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland). Videre ble 0,1 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (EMSURE<sup>®</sup>, Tyskland) løst i destillert vann tilsatt løsningen. Løsningen skal bli ca. 1000 mL. 1 mL EDTA løsning skal tilsvare 1 mL  $\text{Ca}^{2+}$ -standardløsning.

### 3.3.1.5 Kalsiumioneaktivitet

Kalsiumioneaktivitet ble estimert ved bruk av en kalsiumsensitiv elektrode (Orion 97-20 ionplus Calcium Electrode, Thermo Electron Corp., Beverly, MA), og analysen ble gjort i henhold til metoden beskrevet i User Guide – Calcium Ion Selective Electrode (ThermoScientific, 2008).

Standardkurve ble laget for hvert uttak under lagringstiden ved bruk av  $10^{-2}$  M  $\text{Ca}^{2+}$  standard,  $10^{-3}$  M  $\text{Ca}^{2+}$  standard og  $10^{-4}$  M  $\text{Ca}^{2+}$  standard. Standarden ble videre behandlet likt som prøvene. Alle standardene ble analysert i tre paralleller av hver konsentrasjon, og målingene av standardene ble gjort både før og etter målingene av prøvene. Gjennomsnittet av disse ble benyttet for å lage standardkurvene som er å finne i vedlegg 1.

Prøveopparbeidelsen besto av å tilsette 0.45 mL Ionic Strength Adjuster (ISA) til 22.5 mL prøve. Videre ble godt blandede prøver varmet i varmebad på 32 °C i 20-30 minutter. Prøvene ble ikke sentrifugert i forkant av prøveopparbeidelsen, og alle resultatene er et gjennomsnitt av

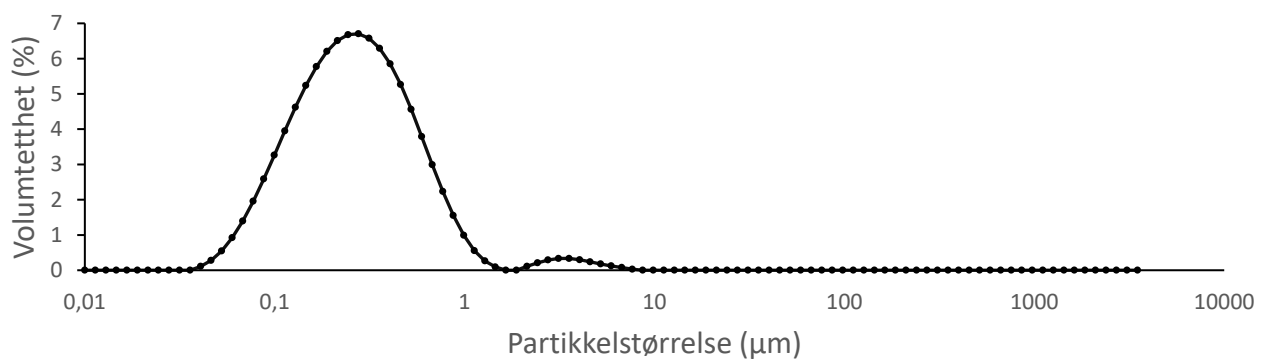
to paralleller. Videre ble ligning fra standardkurvene benyttet for å estimere kalsiumioneaktivitet.

### 3.3.1.6 Partikkelstørrelse

Bestemmelse av partikkelstørrelse ble gjort ved bruk av Malvern Mastersizer 3000, med Hydro LV dispenser for våt prøve. Programvaren benyttet var Mastersizersoftware versjon 3.10, med følgende forutsetninger: Partikkelbrytningsindeks ble satt til 1.46, dispersant brytningsindeks til 1.33 og sfæriske partikler ble antatt (Ransmark et al., 2019). Adsorpsjon ble satt til 0.005, hastigheten på rotoren ble satt til 1500 rpm. og prøve ble tilført dispenserens med luftfritt dH<sub>2</sub>O frem til et obskureringsintervall ~5% var oppnådd. Instrumentet målte fem paralleller av hver prøve. Mellom hver prøve ble dispenserens tømt og skylt med destillert vann med maksimal sirkulering (3000 rpm.) i to omganger.

Obskureringsintervall bestemmes av hvor mye prøve som skal tilsettes dispenserens, og er et mål for hvor mye energi fra laser som måles etter gjennomlysning av optisk celle. For lite prøvemateriale vil gi høyere grad av bakgrunnsstøy, mens for mye prøvemateriale kan gi multipl spredning av lys fra laserens og dermed underestimering av partikkelstørrelse (Ransmark et al., 2019).

Mastersizer fremstiller resultatet grafisk med en kurve som viser størrelsesfordeling plottet mot volumandelen av partikkelstørrelsen i prøvene. Et slikt eksempel er illustrert i figur 8.



Figur 8. Illustrasjonsbilde som viser grafisk størrelsesfordeling ved bruk av Mastersizer.

I tillegg gir programvaren det som kalles D<sub>v</sub> (10), D<sub>v</sub> (50) og D<sub>v</sub> (90) som henholdsvis representerer partikkelstørrelse (målt i µm) hvor 10 %, 50 % og 90 % av partiklene i prøven er mindre enn gitt størrelse.

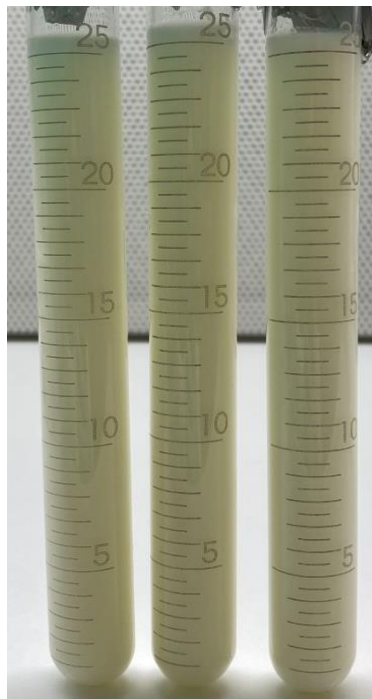
### 3.3.1.7 Analyse av laktuloseinnhold

Innholdet av laktulose ble bestemt ved bruk av Lactulose (Rapid/Sensitive) Assay Kit fra Megazyme (Bray, Irland). Forberedelse av reagensløsninger, prøveopparbeidelse og enzymatisk bestemmelsesreaksjon ble gjort i henhold til protokollen (Megazyme, 2021). Det ble i stedet for 1-oktanol (~99%) i prøveopparbeidelsen benyttet 2-oktanol (>96%).

Absorbans ble målt ved bruk av spektrofotometer (GENESYS 50, UV-Visible Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, USA) i polystyren kvytter (Semi-micro cuvette, 1,5 mL, Brand GMBH + CO KG, Tyskland). I forkant av analysen ble standardprøven som fulgte med kittet testet for å sikre korrekt utførelse av analysen. Det ble kun analysert for laktulose i melkeprøvene, og alle analysene ble gjort på tinte prøver som hadde vært fryst ned ved -20 °C én gang. Alle prøvene ble målt i triplikater.

### 3.3.1.8 Faseseparering

Faseseparering i de langtidsholdbare prøvene ble undersøkt under lagring ved 4 °C, 20 °C og 30 °C. 0.04% natriumazid ble tilsatt 25 mL ferske prøver i autoklaverte graderte glassrør, og autoklavert aluminiumsfolie ble benyttet for å lukke rørene. Figur 9 illustrerer glassrør til observasjon.

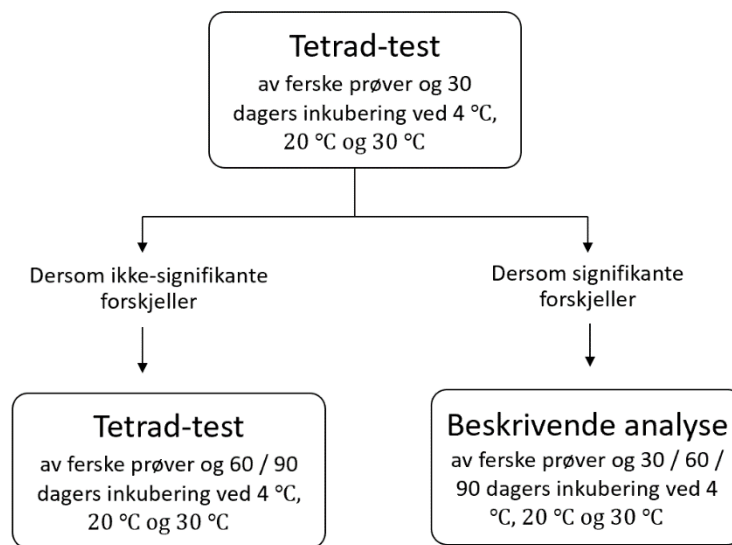


*Figur 9. Foto som illustrerer glassrørene som ble inkubert for å observere fysisk separering i prøvene.*

Rørene ble fotografert ved dag 0 og hver andre uke under en lagringsperiode på 74 dager, med hensikt å observere eventuell fase-separering under lagringsperioden. Det ble benyttet en kamerabil for fotografering (iPhone 11, 12 megapiksel kamera).

### 3.3.2 Sensoriske analyser

Det ble utført sensorisk analyse av ferske prøver og lagrede prøver. Tetrad-test ble utført som en innledende analyse for å kartlegge behovet for videre sensorisk analyse av prøvene. Figur 10 viser et flytskjema som illustrerer tankeprosessen bak valg av videre sensoriske analyser basert på første innledende tetrad-test.



Figur 10. Flytskjema som viser de to mulige utfallene av tetrad-test på ferske prøver og tilsvarende prøver lagret i 30 dager.

Slik som figur 10 viser, skulle videre sensorikk basere seg på ny tetrad-test ved oppnådd 60 dagers inkubasjon og 90 dagers inkubasjon, dersom tetrad-test av prøver inkubert i 30 dager ikke var signifikant forskjellig fra ferske prøver. Ved signifikant utslag, derimot, skulle det utføres en beskrivende analyse av ferske prøver, prøver inkubert i 30 dager, 60 dager og 90 dager. Det var ikke nok prøvemateriale til å gjennomføre både tetrad-test og beskrivende sensorisk analyse under hele lagringsforsøket.

#### 3.3.2.1 Tetrad-test

Tetrad-test ble gjennomført for å kartlegge om forbrukere var i stand til å detektere forskjeller mellom ferske prøver og tilsvarende prøver lagret ved ulike temperaturer i 30 dager. 25 testpersoner ble rekruttert ved NMBU, hvor de fikk utlevert prøver hvor fire og fire prøver ble sammenlignet. To og to av disse prøvene var like, og testpersonene fikk beskjed om å finne de



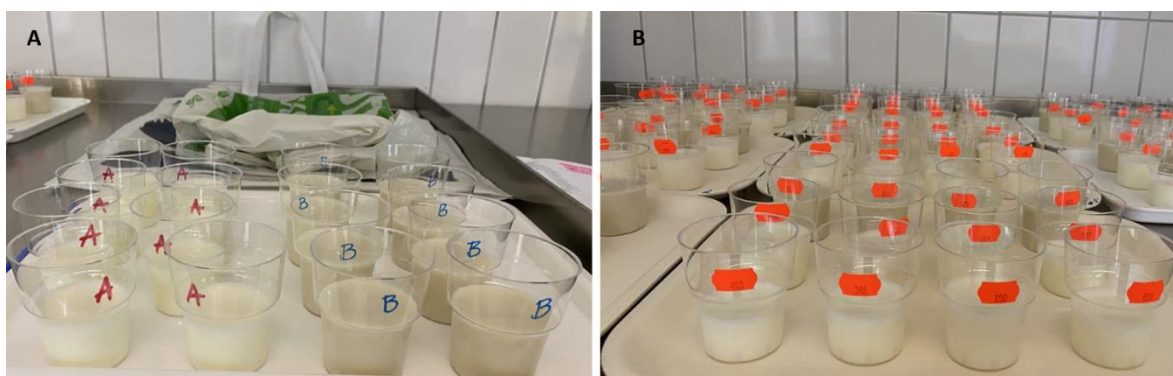
to like parene. Romtempererte prøver ble servert i like, gjennomsiktige medisinglass, kodet med en unik og tilfeldig tresifret kode.

Det ble servert lunket vann, med oppfordring om å skylle mellom hver prøve. Tetrad-test ble utført på sensorisk rom på KBM, NMBU, hvor hver deltager ble plassert i egen bås. Det ble benyttet elektronisk spørre- og svarskjema levert fra Nettskjema.no (Universitetet i Oslo).

### 3.3.2.2 Beskrivende analyse

Beskrivende analyse av prøvene ble utført for å bestemme intensiteten til ulike attributter i langtidsholdbare prøver. Alle prøvene ble analysert ved oppnådd inkubering (dvs. tre ulike runder med beskrivende analyse) av et trent dommerpanel hos TINE SA. Ferske prøver ble kjøpt inn fra dagligvarebutikk i forkant av beskrivende analyse. Panelet har lang erfaring med beskrivende analyse av UHT-melkeprøver, men noe mindre erfaring med havredrikk. Antall dommere og fordeling mellom kjønn for hver runde beskrivende analyse er oppgitt i vedlegg 2.

Beskrivende analyse ble utført på et egnet sensorikk-rom, hvor hver deltaker ble plassert i egen bås. Romtempererte prøver ble servert i like, gjennomsiktige plastglass, kodet med en unik og tilfeldig tresifret kode. Det ble servert vann med oppfordring om å skylle mellom hver prøve. I forkant av beskrivende analyse ble dommerne «kalibrert» ved bruk av langtidsholdbar lettmelk og havredrikk. Kalibreringen gikk ut på at dommerne rangerte attributtene som de ville gjort for beskrivende analyse, men svarene ble gjennomgått i fellesskap med panelleder for å sikre at dommerne har lik forståelse av attributtene og at skalaen brukes likt. Figur 11 viser hvordan prøvene ble servert til dommerne.



*Figur 11. Illustrasjonsbilde som viser A) oppsett til kalibrering av dommerpanel, og B) oppsett til beskrivende analyse av prøvene.*

Prøvene ble randomisert og det ble benyttet et elektronisk spørre- og svarskjema fra EyeQuestion® Software V5.4 (Elst, Nederland). Attributtene til prøvene ble rangert på en skala fra 1-9, hvor 1 er minimum og 9 maksimum. Attributtene som ble benyttet til kalibrering var

de samme som ble rangert under beskrivende analyse. Tabell 2 viser attributtene som ble benyttet under kalibrering og beskrivende analyse, som er standard attributter som det trente panelet vanligvis beskriver for lignende prøver. I tillegg ble havresmak lagt til for å kunne beskrive havredrikkens smaksprofil bedre. Kort forklaring av bruk av attributtene og skala er å finne i vedlegg 3.

*Tabell 2. Smak-, lukt- og teksturegenskaper benyttet ved beskrivende analyse av ferske og lagrede prøver. \*Havresmak ble kun bedømt i havredrikk.*

<b>Smak</b>	<b>Utseende</b>	<b>Tekstur</b>
Søt smak	Fargestyrke	Fnokker
Syrlig smak		Konsistens
Køkt smak		Fethet
Brent smak		
Besk smak		
Oksidert smak		
Bismak		
Havresmak*		

### 3.4 Databehandling

Data ble behandlet ved bruk av Microsoft Excel versjon 2208, og R versjon 4.2.2. Alle statistiske analyser ble utført i Rstudio med et konfidensintervall på 95 %. Tukey`s test ble benyttet for å analysere signifikans mellom ulike prøver og prøver under lagring. Toveis og treveis variansanalyse (ANOVA) ble benyttet for å avdekke hvilke faktorer som har hatt signifikant effekt på resultatet, i tillegg til å avdekke eventuelle samspill mellom de ulike faktorene. Analyse av korrelasjon mellom pH og kalsium ioneaktivitet ble også undersøkt i Rstudio.

Data fra beskrivende sensorisk analyse ble bearbeidet i programmet EyeQuestion® Software V5.4 (Elst, Nederland). I tillegg ble data fra beskrivende analyse analysert ved bruk av Tukey`s test for parvis sammenligning under hele lagringsperioden.



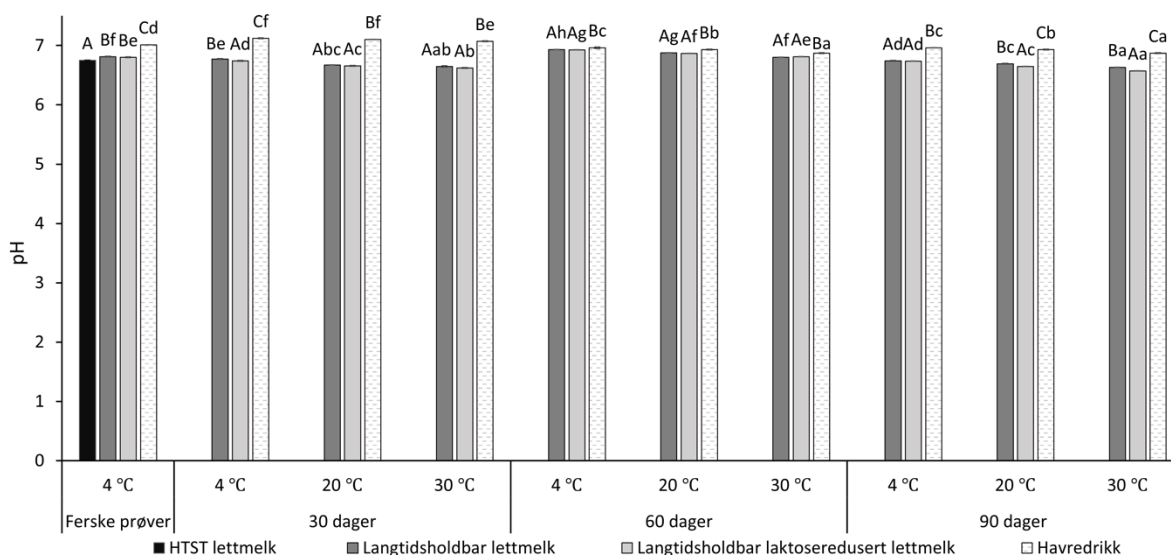
## 4.0 Resultater

I dette kapittelet presenteres analyseresultatene av langtidsholdbar lettmeik, langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik og havredrikk lagret ved tre forskjellige temperaturer (4 °C, 20 °C og 30 °C) i en periode på 90 dager. Resultatene er delt inn i to hoveddeler. I første del presenteres resultatene fra kjemiske og fysiske analyser, og i andre del presenteres resultatene fra sensoriske analyser.

### 4.1 Kjemiske- og fysiske analyser

#### 4.1.1 pH

Alle prøvene ble romtemperert før måling av pH, for å undersøke eventuelle endringer under lagring (dag 0, dag 30, dag 60 og dag 90) ved ulike lagringstemperaturer (4 °C, 20 °C og 30 °C). Resultatene er grafisk fremstilt i figur 12.



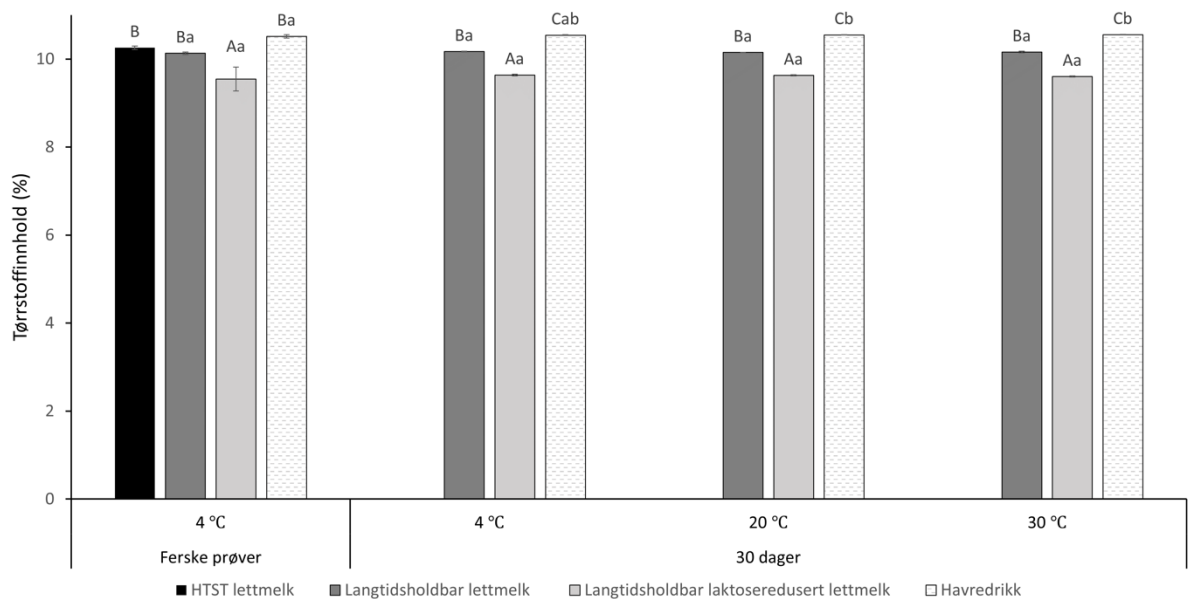
**Figur 12.** Gjennomsnittlig pH målt i fersk prøve og prøver lagret i 30, 60 og 90 dager ved gitte lagringstemperaturer. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfeltet ( $n=3$ ). Stor bokstav (A-C) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-h) representerer signifikans for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søylor som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P<0.05$ ). HTST lettmeik = høy temperatur-kort tids varmebehandlet lettmeik.

Figur 12 viser at det ved alle lagringstidene og lagringstemperaturene var signifikante forskjeller i pH mellom melkeprøvene og havredrikk, hvor pH i havredrikk var høyere enn i melkeprøvene. Ved starten av forsøket var pH i HTST lettmeik signifikant lavere enn i alle de andre prøvene.

Lagringstid og lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på pH i både melkeprøver og havredrikk, der gjennomsnittlig pH generelt ble lavere med økende lagringstid og økende lagringstemperatur. Treveis ANOVA bekrefter at alle de tre forsøksfaktorene (prøve, lagringstid og lagringstemperatur) har hatt signifikant effekt på pH.

#### 4.1.2 Tørrstoffanalyser

Tørrstoff ble analysert for å undersøke eventuelle endringer under lagring de første 30 dagene av perioden. Resultatet fra målingene gjort i ferske prøver og prøver lagret i 30 dager er fremstilt grafisk i figur 13.

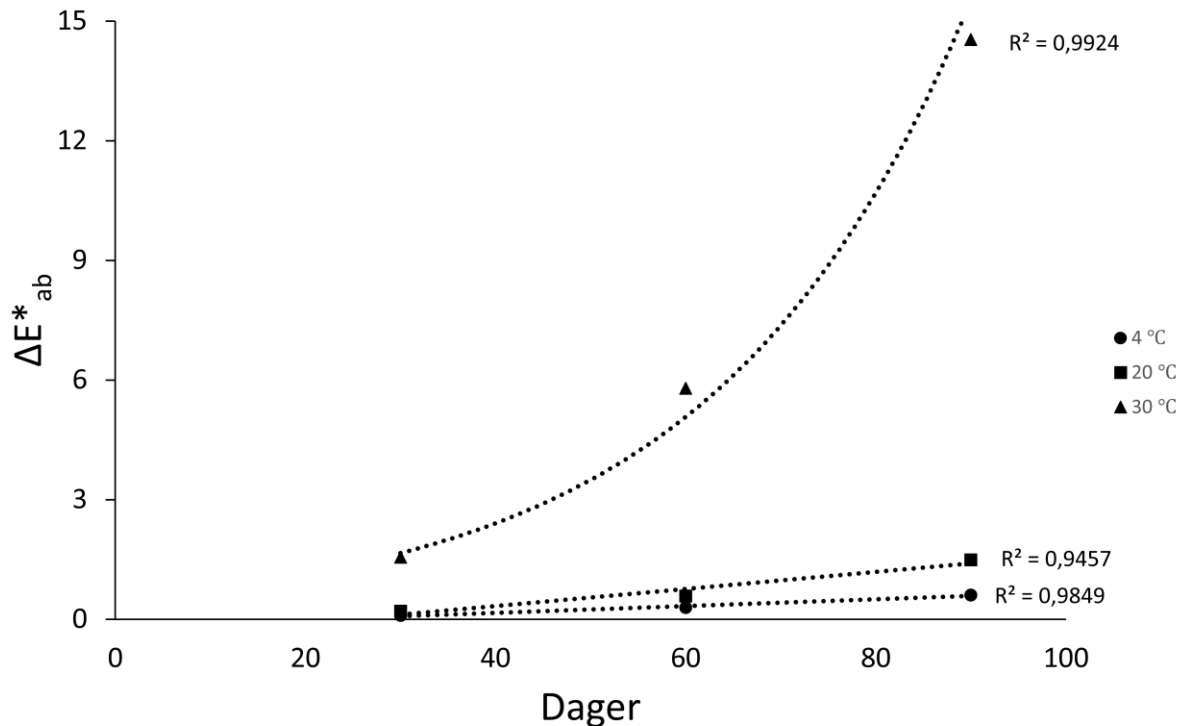


**Figur 13.** Gjennomsnittlig tørrstoffinnhold (%) i ferske prøver og prøver lagret i 30 dager ved gitte temperaturer. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfeltet ( $n=3$ ). Stor bokstav (A-C) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-b) representerer signifikans for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søylor som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P<0.05$ ). HTST lettmeik = høy temperatur-kort tids varmebehandlet lettmeik.

Figur 13 viser ingen signifikante forskjeller mellom ferske prøver, unntaket var langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik som hadde noe lavere tørrstoffinnhold enn de andre prøvene. Hverken lagringstid eller lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på innholdet av tørrstoff under lagring. Unntaket var havredrikk etter 30 dager på 20 °C og 30 °C som viste en signifikant økning i tørrstoff, sammenlignet med fersk prøve. Likevel viser treveis ANOVA at prøve var eneste faktor med signifikant effekt på tørrstoffinnhold.

### 4.1.3 Fargeendring målt med spektrofotometri

Farge av prøvene ble bestemt ved spektrofotometri, med hensikt å undersøke mulige fargeendringer under lagring ved ulike temperaturer. Synlig fargeendring målt ved denne metoden, ble kun påvist for langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. Alle verdiene for  $\Delta E$  i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk er presentert i figur 14. Data for øvrige prøver er ikke vist, men rådata for alle prøvene ligger i vedlegg 4.

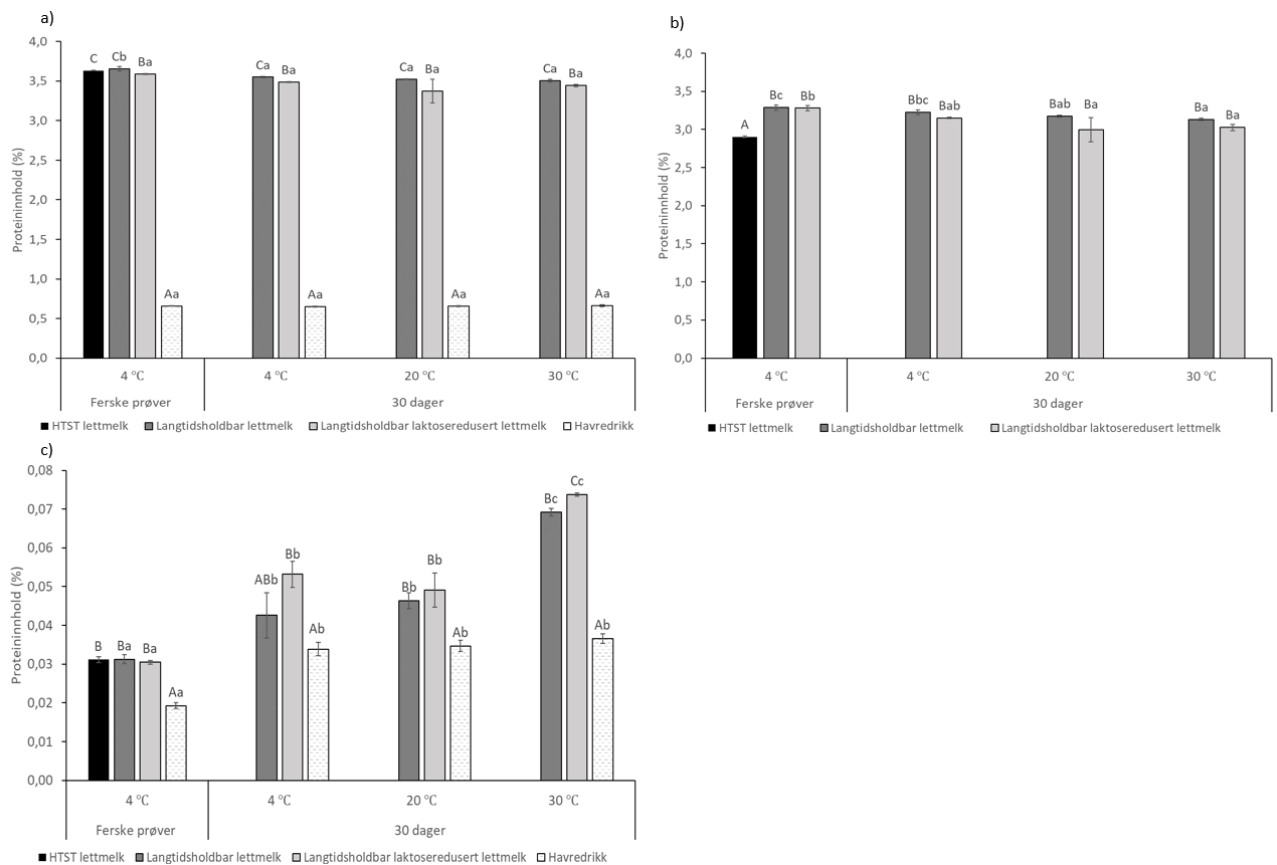


**Figur 14.** Gjennomsnittlig fargeutvikling i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk synlig for menneskeøyet ( $\Delta E^*_{ab} > 1$ ) hvor lagrede prøver er sammenlignet med nullprøver.

Figur 14 viser at lagringstemperatur hadde stor effekt på fargeendring i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk, gjennom hele perioden på 90 dager. Ikke bare var  $\Delta E$  høyere i prøver lagret på 30 °C, men økningen i  $\Delta E$  som effekt av lagringstid var også høyere på 30 °C enn på 4 °C og 20 °C. Synlig fargeendring fant også sted etter 90 dager på 20 °C.

### 4.1.4 Proteininnhold

Proteinanalyse ble gjort for å bestemme prøvenes proteininnhold, samt å undersøke eventuelle endringer under lagring de første 30 dagene. Resultatene fra proteinanalysen er grafisk fremstilt i figur 15.



**Figur 15.** Gjennomsnittlig innhold av a) totalt protein, b) kasein og c) ikke-protein nitrogen i ferske prøver og ved lagring i 30 dager ved gitte temperaturer. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfeltet ( $n=3$ ). Stor bokstav (A-C) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-c) representerer signifikans for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søylor som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P<0.05$ ). HTST lettmeik = høy temperatur-kort tid varmebehandlet lettmeik.

Figur 15a viser at totalt proteininnhold i havredrikk var signifikant lavere enn alle melkeprøvene ved alle lagringsbetingelser. Gjennomsnittlig totalt proteininnhold ble noe redusert under lagring, men lagringstid hadde kun signifikant effekt på totalt proteininnhold i langtidsholdbar lettmeik. Treveis ANOVA bekrefter at faktorene prøve og lagringstid har hatt signifikant effekt på totalt proteininnhold. I tillegg viste treveis ANOVA en signifikant samspillseffekt mellom prøve og lagringstid.

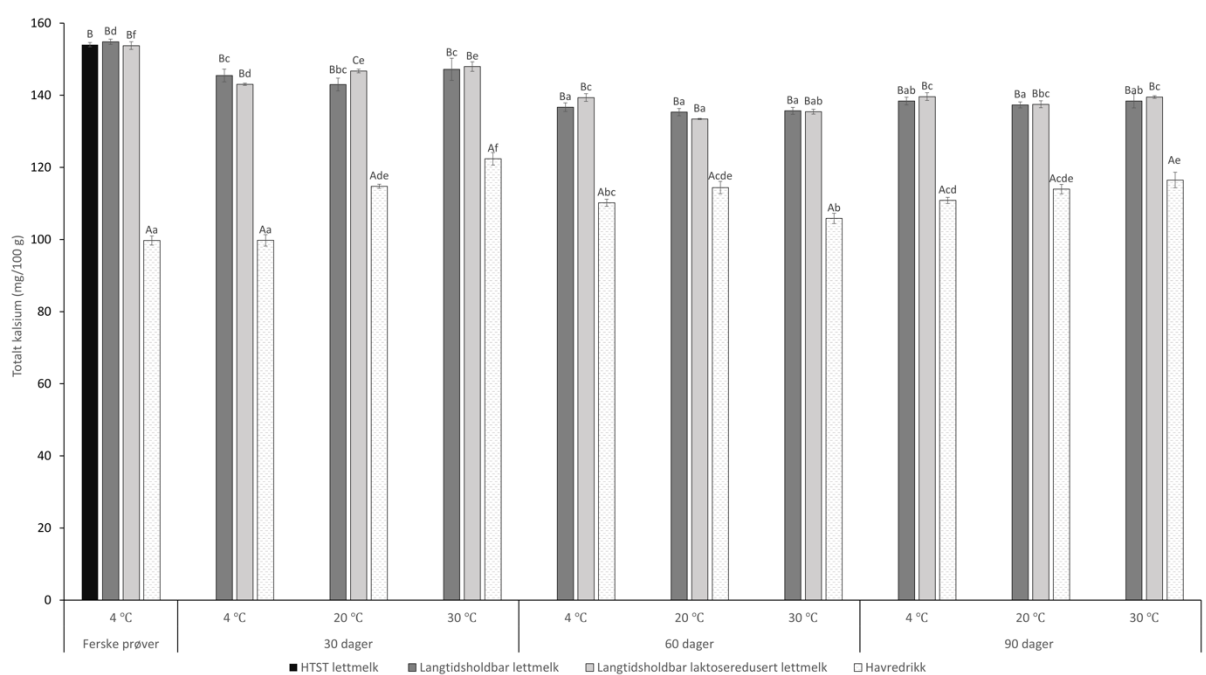
Figur 15b viser at kasein i HTST lettmeik var signifikant lavere enn de andre melkeprøvene. Innholdet av kasein i melk sank under lagring, og nedgangen var signifikant ved høyere lagringstemperaturer (20 °C og 30 °C). Treveis ANOVA bekrefter at faktorene prøve, lagringstid og lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på kaseininnhold.

Figur 15c viser at ikke-protein nitrogen var signifikant lavere i havredrikk enn i melkeprøvene, i tillegg var ikke-protein nitrogen i lagret langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik signifikant høyere enn langtidsholdbar lettmeik på 4 °C og 30 °C. Under lagring var det en signifikant økning i ikke-protein nitrogen for alle prøvene som effekt av lagringstid, i tillegg til en

signifikant økning i ikke-protein nitrogen som effekt av høy lagringstemperatur (30 °C) i melkeprøvene. Treveis ANOVA bekrefter at prøve, lagringstid og lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på økt ikke-protein nitrogen, i tillegg til at det var en samspillseffekt mellom prøve og lagringstemperatur.

#### 4.1.5 Totalt kalsium

Totalt kalsium ble bestemt med kompleksimetriisk titrering, og resultatene er fremstilt i figur 16.



**Figur 16.** Gjennomsnittlig innhold av totalt kalsium i ferske prøver og prøver lagret i 30, 60 og 90 dager ved gitte temperaturer. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfeltet ( $n=3$ ). Stor bokstav (A-C) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-f) representerer signifikans for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søyler som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P<0.05$ ). HTST lettmeik = høy temperatur-kort tid varmebehandlet lettmeik.

Figur 16 viser at totalt kalsium i melkeprøvene var signifikant høyere enn i havredrikke uavhengig av lagringstid eller lagringstemperatur. Det var ingen lagringsbetingelser, med unntak av 30 dager på 20 °C, som ga signifikante forskjeller mellom melkeprøvene.

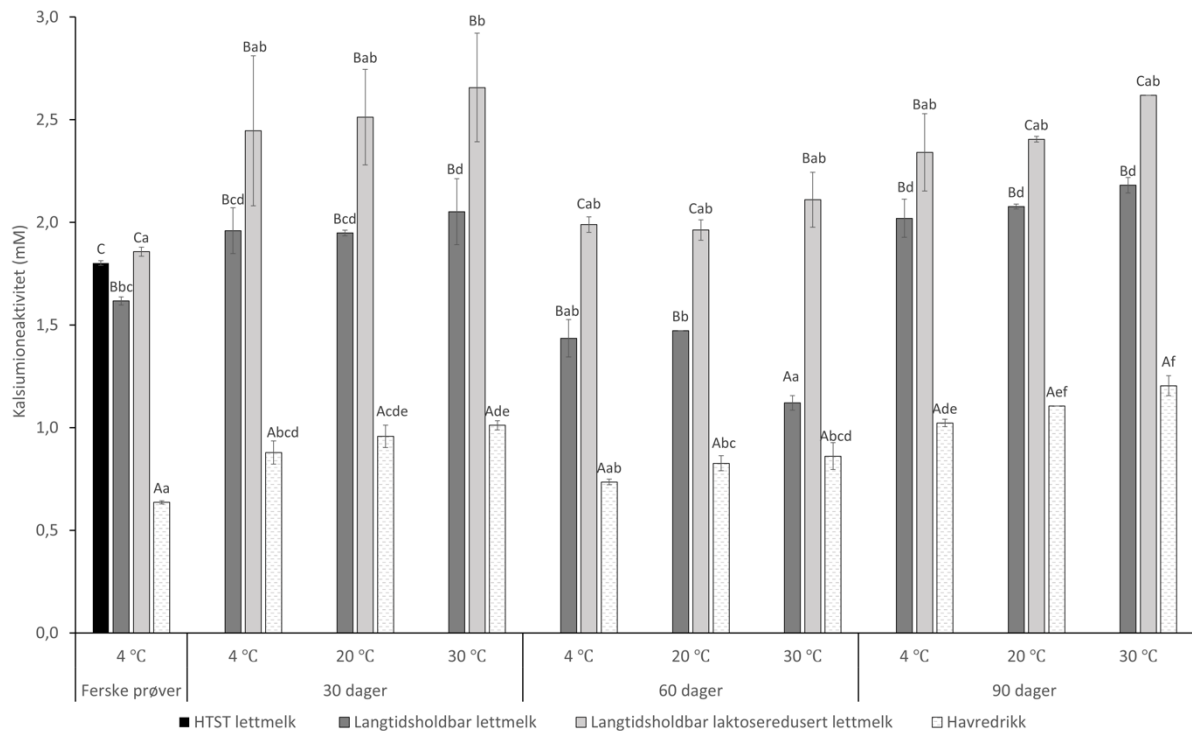
For melkeprøvene var innholdet av totalt kalsium signifikant høyest i ferske prøver, sammenliknet med lagrede prøver. Ut fra resultatene i figuren kan det se ut som det er en signifikant nedgang i kalsium etter 30 dagers lagring. Deretter ser det ut til at innholdet av kalsium stabiliserer seg under videre lagring. For havredrikk var innholdet av totalt kalsium signifikant høyest etter 30 dagers lagring ved alle temperaturer i dette forsøket, bortsett fra 4 °C. Deretter kan det se ut som innholdet av totalt kalsium stabiliserer seg under videre lagring.



Treveis ANOVA viser at prøve, lagringstid og lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på innholdet av totalt kalsium. I tillegg har det vært et signifikant samspill mellom prøve og lagringstid, prøve og lagringstemperatur og mellom prøve, lagringstid og lagringstemperatur.

#### 4.1.6 Kalsiumioneaktivitet

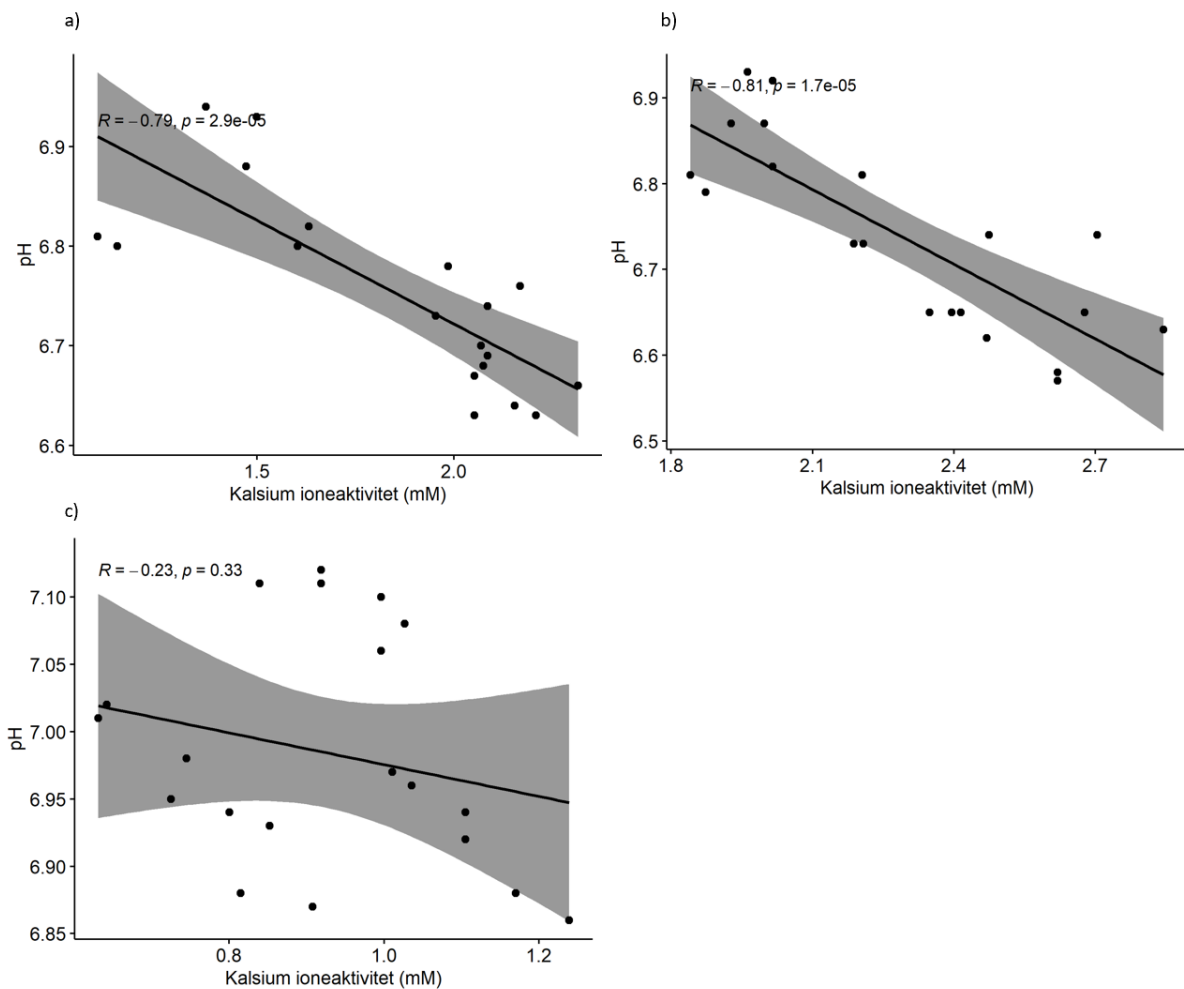
Kalsiumioneaktivitet ble målt ved bruk av kalsiumelektrode for å undersøke mulige endringer under lagring, og resultatene er grafisk fremstilt i figur 17.



**Figur 17.** Gjennomsnittlig kalsium ioneaktivitet i ferske prøver og prøver lagret i 30 dager, 60 dager og 90 dager. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfeltet (n=2). Stor bokstav (A-C) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-f) representerer signifikans for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søylor som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P < 0.05$ ). HTST lettmeik = høyt temperatur-kort tid varmebehandlet lettmeik.

Figur 17 viser en gruppering hvor kalsiumioneaktivitet var signifikant høyere i melkeprøvene enn i havredrikk. Figuren viser at kalsiumioneaktivitet var noe lavere i langtidsholdbar lettmeik enn i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik. Ut fra figuren er det en signifikant økning i kalsiumioneaktivitet etter 30 dagers lagring for alle prøvene. Deretter kan det se ut som kalsium ioneaktivitet stabiliserer seg ved videre lagring. Treveis ANOVA bekrefter at prøve og lagringstid har hatt signifikant effekt på kalsium ioneaktivitet.

Korrelasjon mellom kalsium ioneaktivitet og pH i de ulike prøvene er fremstilt grafisk i et korrelasjonsplott i figur 18.

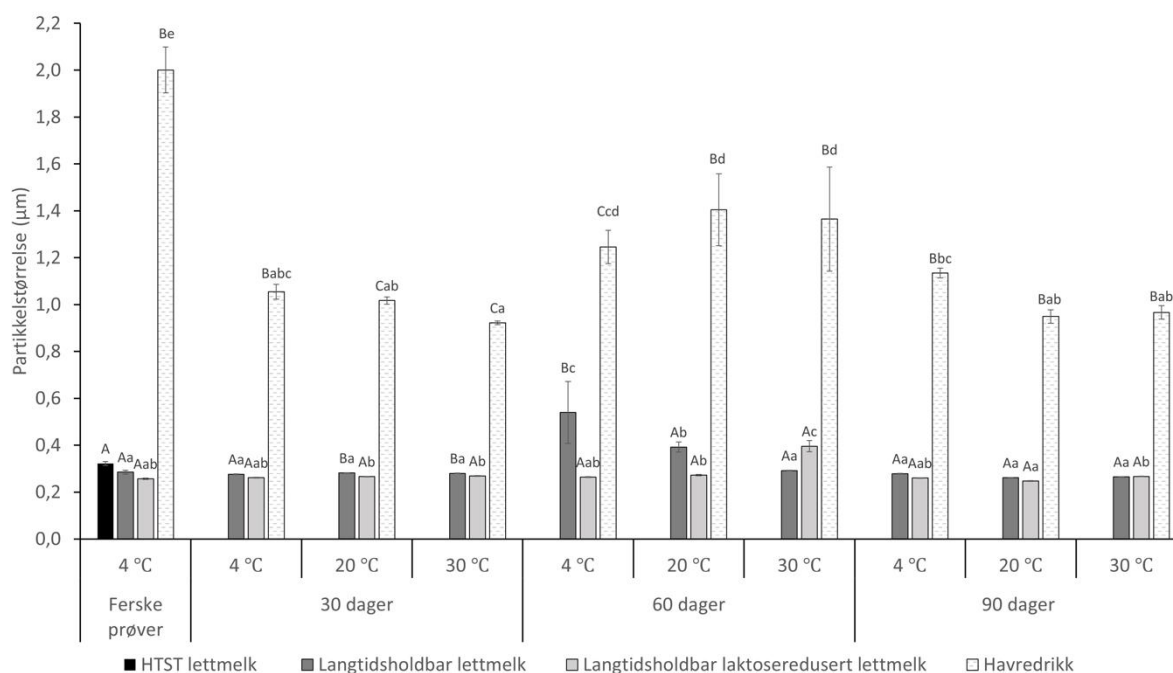


**Figur 18.** Kalsiumioneaktivitet og pH plottet i et korrelasjonsplott. Korrelasjonskoeffisient  $R$  og  $p$ -verdier er illustrert i figurene.  $R$ -verdier nærme null indikerer lite korrelasjon, og  $p$ -verdier  $< 0.05$  indikere signifikant korrelasjon mellom kalsiumioneaktivitet og pH. Figur 18a viser korrelasjonsplott for langtidsholdbar lettmelk, Figur 18b viser korrelasjonsplott for langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk og Figur 18c viser korrelasjonsplott for havredrikk.

Figur 18a og figur 18b viser en signifikant negativ korrelasjon mellom kalsiumioneaktivitet og pH i både langtidsholdbar lettmelk og langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. Figur 18c viser ingen signifikant korrelasjon mellom kalsiumioneaktivitet og pH i havredrikk.

#### 4.1.7 Partikkelstørrelse

Partikkelstørrelse for alle prøvene ble bestemt ved laserdiffraksjon, med hensikt å undersøke forskjeller i partikkelstørrelse mellom prøvene og utvikling under lagring. Gjennomsnittlig verdier for  $D_v(50)$  er grafisk fremstilt i figur 19.



**Figur 19.** Gjennomsnittlig partikkelstørrelse  $D_v(50)$  for ferske prøve og ved lagring i 30 dager, 60 dager og 90 dager ved gitte temperaturer. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfeltet ( $n=5$ ). Stor bokstav (A-C) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-d) representerer signifikans for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søyler som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P<0.05$ ). HTST lettmeik = høy temperatur-kort tids varmebehandlet lettmeik.

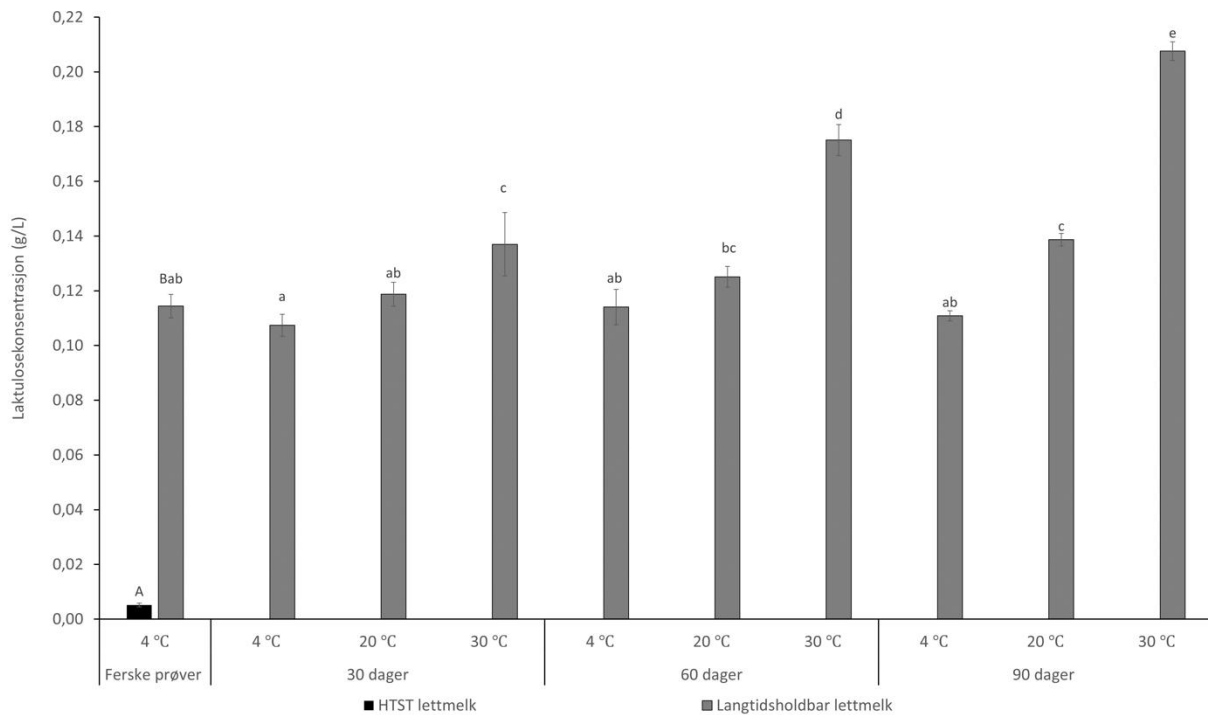
Figur 19 viser at havredrikk hadde signifikant større partikler enn melkeprøvene, uavhengig av lagringstid og lagringstemperatur. Hverken lagringstid eller lagringstemperatur hadde signifikant effekt på partikkelstørrelse mellom melkeprøvene, med unntak av 30 dager på 20 °C og 30 °C og etter 60 dager på 4 °C.

Hverken lagringstid eller lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på partikkelstørrelse i melkeprøvene. Unntakene var partikkelstørrelse i langtidsholdbar lettmeik etter 60 dager på 4 °C og 20 °C, og partikkelstørrelse i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik etter 60 dager på 30 °C. Ut fra resultatene i figuren har lagringstid hatt signifikant effekt på partikkelstørrelse i havredrikk, hvor en reduksjon kan observeres i figuren. Lagringstemperatur ser ikke ut til å ha hatt signifikant effekt på partikkelstørrelse. Likevel viser treveis ANOVA at alle forsøksfaktorene (prøve, lagringstid og lagringstemperatur) har hatt signifikant effekt på partikkelstørrelse. Det har i tillegg vært signifikant toveis og treveis samspill mellom alle forsøksfaktorene.

#### 4.1.8 Laktulose

Innholdet av laktulose i langtidsholdbar lettmeik og langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik under lagring ble bestemt med enzymatisk metode. Gjennomsnittlig laktulosekonsentrasjon er

grafisk fremstilt i figur 20. Langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik er ikke inkludert i figuren da laktulosekonsentrasjon var lavere enn nedre grense for deteksjon.

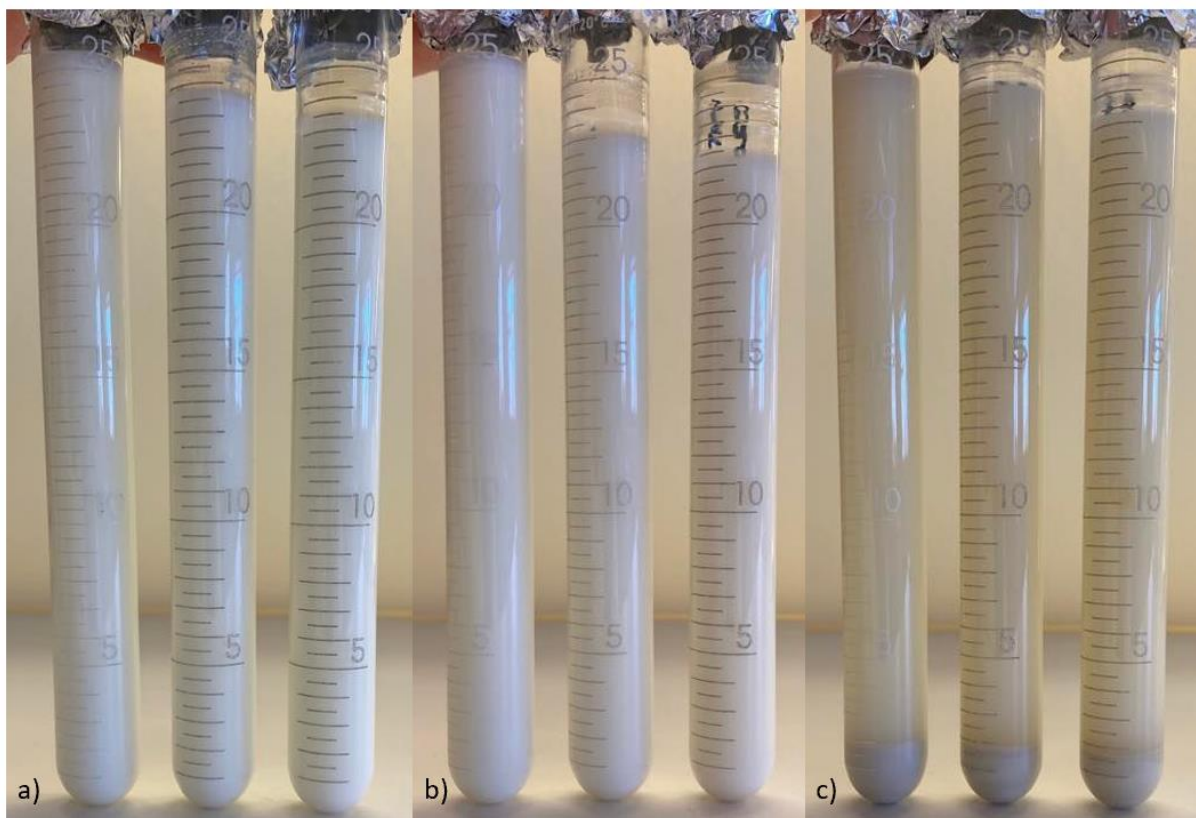


**Figur 20.** Gjennomsnittlig laktulosekonsentrasjon i fersk HTST lettmeik og langtidsholdbar lettmeik ved dag 0, dag 30, dag 60 og dag 90 ved gitte temperaturer. Langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik er ikke inkludert i figuren. Standardavviket for hver prøve er illustrert i feilfelte ( $n=3$ ). Stor bokstav (A-B) representerer signifikans mellom ulike prøver ved samme lagringstid og temperatur, mens liten bokstav (a-e) representerer signifikansgrupper for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Søyler som ikke deler samme bokstav, er signifikant forskjellig ( $P<0.05$ ). HTST lettmeik = høyt temperatur-kort tid varmebehandlet lettmeik.

Figur 20 viser at laktulosekonsentrasjonen var signifikant høyere i fersk langtidsholdbar lettmeik sammenlignet med HTST lettmeik. Laktulosekonsentrasjonen hadde en signifikant økning ved økende lagringstid og økende lagringstemperatur (20 °C og 30 °C). Toveis ANOVA bekrefter at lagringstid og lagringstemperatur har hatt signifikant effekt på laktulosekonsentrasjonen, i tillegg var det en signifikant samspillseffekt mellom lagringstid og lagringstemperatur.

#### 4.1.9 Fysisk separering

Fysisk separering av langtidsholdbar lettmeik, langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik og havredrikke ble undersøkt ved observasjon av prøvene i graderte glassrør under lagring ved gitte temperaturer. Observasjonsfoto av de ulike prøvene ved ulike lagringstemperaturer er presentert i figur 21.



**Figur 21.** Observasjonsfoto tatt etter endt lagring av a) langtidsholdbar lettmelk lagret ved 4 °C (t.v.), 20 °C og 30 °C (t.h.), b) langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk lagret ved 4 °C (t.v.), 20 °C og 30 °C (t.h.) og havredrikk lagret ved 4 °C (t.v.), 20 °C og 30 °C (t.h.). Observasjonsfoto i figuren er tatt 74 dager etter rørene ble satt til lagring. I figuren har alle rørene en avstand på 27 cm til bakgrunnen.

Figur 21 viser at det ikke ble dannet bunnfall i langtidsholdbar lettmelk og langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk ved noen av lagringstemperaturene gjennom hele lagringsperioden. I havredrikk ble det derimot observert bunnfall ved alle lagringstemperaturene innen 14 dager etter lagring, og laget med bunnfall har tilsynelatende holdt seg konstant under hele lagringsperioden.

## 4.2 Sensoriske analyser

### 4.2.1 Tetrad-test

Diskriminerings testing av ferske prøver og prøver lagret i 30 dager ble utført ved bruk av tetrad-test. Resultatene ble samlet inn som antall riktige svar og antall feil svar, og ved bruk av disse svarene, ble minimum antall riktige svar som ga signifikante forskjeller mellom fersk prøve og lagrede prøver ved et 95 % konfidensintervall, kalkulert. Resultatene er vist i tabell 3. Utregning er vist i vedlegg 5.

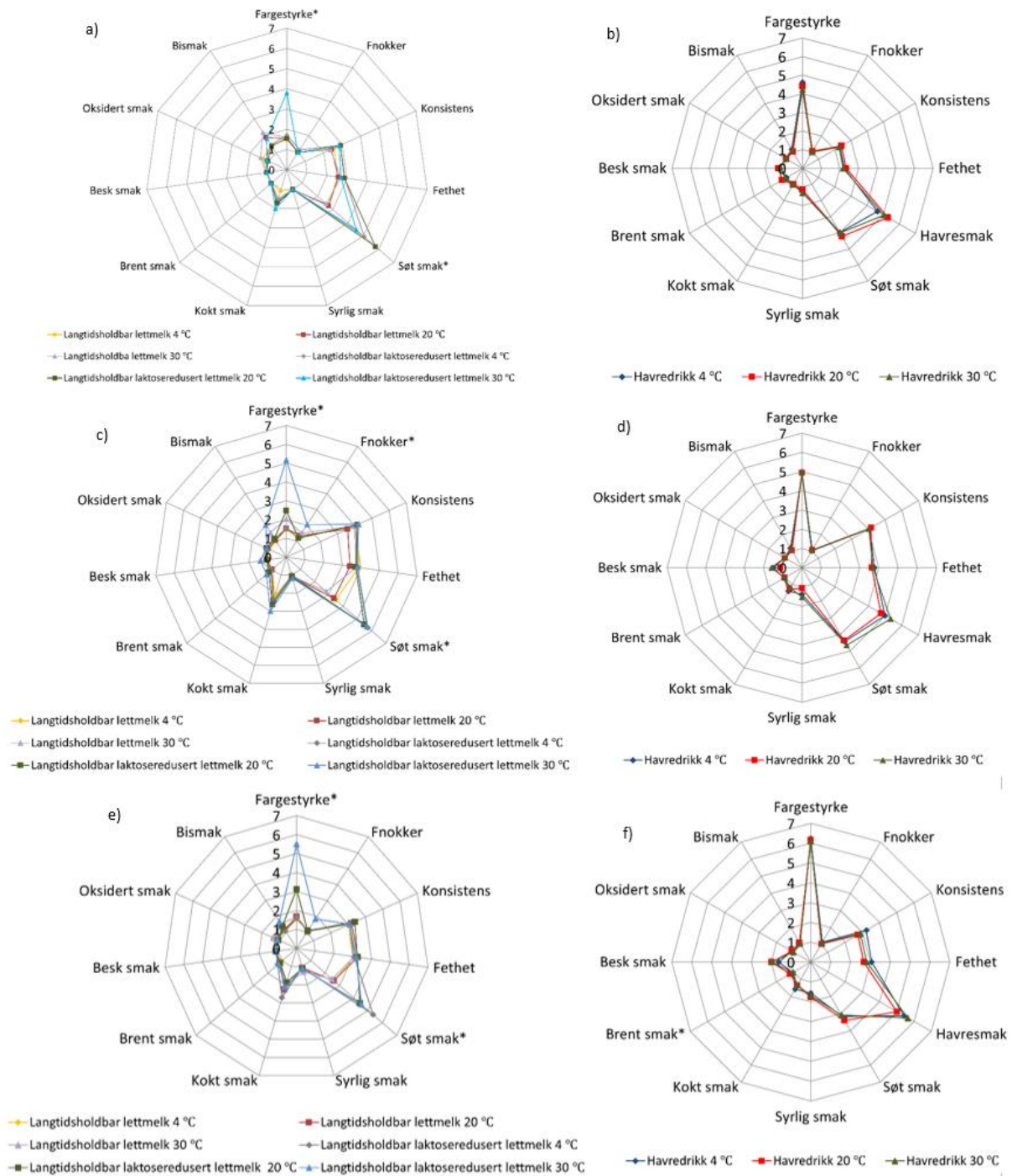
**Tabell 3.** Signifikansnivåer i langtidsholdbar lettmeik, langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik og havredrikk lagret i 30 dager sammenlignet med fersk prøve. Prøve som ikke deler samme bokstav er signifikant ulike ( $P < 0.05$ ).

<b>Prøve</b>	<b>Lagringstid (dager)</b>	<b>Lagrings- temperatur (°C)</b>	<b>Riktig svar</b>	<b>Feil svar</b>	<b>P &lt; 0.05</b>
	0				A
<i>Langtidsholdbar lettmeik</i>	30	4	5	20	A
	30	20	10	15	A
	30	30	17	8	B
	0				A
<i>Langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik</i>	30	4	14	11	B
	30	20	13	12	B
	30	30	18	7	B
	0				A
<i>Havredrikk</i>	30	4	9	16	A
	30	20	13	12	B
	30	30	10	15	A

Tabell 3 viser at forbrukere var i stand til å avdekke forskjeller mellom langtidsholdbar lettmeik lagret i 30 dager på 30 °C og fersk prøve. For langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik kunne forbrukerne merke forskjeller mellom prøver lagret i 30 dager ved alle lagringstemperaturene og fersk prøve. For havredrikk kunne forbrukerne kjenne forskjell mellom prøve lagret i 30 dager på 20 °C og fersk prøve. Disse forskjellene var statistisk signifikante.

#### 4.2.2 Beskrivende analyse

Beskrivende analyse ble utført fortløpende etter hvert som lagringstiden på 30, 60 og 90 dager ble oppnådd. I tillegg ble ferske prøver kjøpt inn og analysert som referanse. Resultatene fra hvert analysetidspunkt, dvs. 30 dager, 60 dager og 90 dager, er presentert som en radardiagram i figur 22.



**Figur 22.** Gjennomsnittlige verdier fra beskrivende analyse av de ulike attributtene i prøver lagret i a) melkeprøver lagret i 30 dager, b) havredrikke lagret i 30 dager, c) melkeprøver lagret i 60 dager, d) havredrikke lagret i 60 dager, e) melkeprøver lagret i 90 dager og f) havredrikke lagret i 90 dager. Attributter merket med \* representerer signifikante ulikheter.

Figur 22 viser kun en sammenligning mellom melkeprøver ved samme lagringstid, i tillegg til havredrikk i eget plott. Melkeprøvene ved 30 dager og 90 dager var signifikant ulike med hensyn på «søt smak» og «fargestyrke». Det var i tillegg til disse signifikante forskjeller i «fnokker» ved 60 dager. For havredrikke var det kun signifikant forskjell i «brent smak» ved lagring i 90 dager.

Fargestyrke var signifikant høyere i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk ved alle lagringstidene på 30 °C sammenlignet med de andre melkeprøvene, i tillegg var fargestyrke i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk lagret i 90 dager ved 20 °C signifikant høyere enn langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk og langtidsholdbar lettmelk ved 4 °C.

«Søthet» var signifikant høyere i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk sammenlignet med langtidsholdbar lettmelk uavhengig av lagringstemperatur ved både 30, 60 og 90 dagers lagring. «Fnokker» i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk lagret ved 30 °C var signifikant høyere sammenlignet med langtidsholdbar lettmelk lagret ved 4 °C. Lagring ved 90 dager ga havredrikk signifikant høyere intensitet av brent smak ved 20 °C, selv om intensiteten var svært lav ved alle lagringstemperaturene.



Det ble i tillegg undersøkt hvilke attributter som hadde signifikante endringer over hele lagringsperioden for hvert produkt, og attributtene som viste signifikante endringer er presentert i tabell 4. Attributtene som ikke hadde signifikante endringer er å finne i vedlegg 6.

**Tabell 4.** Gjennomsnittlige verdier for attributter som viste signifikante endringer over tid. Stor bokstav (A-C) representerer signifikans for samme attributt for samme prøve under lagring ved ulike temperaturer. Prøver som ikke deler samme bokstav er signifikant forskjellig ( $P < 0.05$ ). Attributter som ikke viser signifikant endring ved noen lagringstider eller lagringstidspunkter er ikke inkludert i tabellen.

Prøve	Attributt	Fersk prøve	30 dager				60 dager			90 dager		
		4 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C	
<b>Langtidsholdbar lettmelk</b>	<i>Konsistens</i>	2.30 <sup>A</sup>	2.56 <sup>AB</sup>	2.41 <sup>A</sup>	2.37 <sup>A</sup>	4.17 <sup>B</sup>	3.58 <sup>AB</sup>	3.97 <sup>AB</sup>	3.00 <sup>AB</sup>	3.18 <sup>AB</sup>	3.12 <sup>AB</sup>	
	<i>Brent smak</i>	1.01 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.02 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.18 <sup>B</sup>	1.12 <sup>AB</sup>	
<b>Langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk</b>	<i>Fargestyrke</i>	1.53 <sup>A</sup>	1.71 <sup>A</sup>	1.56 <sup>A</sup>	3.80 <sup>BC</sup>	1.53 <sup>A</sup>	2.48 <sup>AB</sup>	5.17 <sup>C</sup>	1.58 <sup>A</sup>	3.12 <sup>AB</sup>	5.50 <sup>C</sup>	
	<i>Fnokker</i>	1.03 <sup>A</sup>	1.16 <sup>AB</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.23 <sup>AB</sup>	1.20 <sup>AB</sup>	2.05 <sup>B</sup>	1.12 <sup>AB</sup>	1.08 <sup>AB</sup>	1.84 <sup>AB</sup>	
	<i>Konsistens</i>	2.97 <sup>AB</sup>	2.90 <sup>A</sup>	2.90 <sup>A</sup>	2.83 <sup>A</sup>	4.12 <sup>BC</sup>	4.13 <sup>BC</sup>	4.22 <sup>C</sup>	3.08 <sup>ABC</sup>	3.38 <sup>ABC</sup>	3.06 <sup>ABC</sup>	
<b>Havredrikk</b>	<i>Fargestyrke</i>	4.54 <sup>A</sup>	4.61 <sup>A</sup>	4.40 <sup>A</sup>	4.23 <sup>A</sup>	4.90 <sup>AB</sup>	4.93 <sup>AB</sup>	5.00 <sup>AB</sup>	6.24 <sup>B</sup>	6.16 <sup>B</sup>	6.10 <sup>B</sup>	
	<i>Konsistens</i>	2.57 <sup>ABC</sup>	2.30 <sup>A</sup>	2.41 <sup>AB</sup>	2.27 <sup>A</sup>	4.08 <sup>C</sup>	4.15 <sup>C</sup>	4.02 <sup>BC</sup>	3.22 <sup>ABC</sup>	2.74 <sup>ABC</sup>	2.88 <sup>ABC</sup>	
	<i>Fethet</i>	2.39 <sup>ABC</sup>	2.24 <sup>AB</sup>	2.34 <sup>ABC</sup>	2.17 <sup>A</sup>	3.77 <sup>C</sup>	3.63 <sup>ABC</sup>	3.70 <sup>BC</sup>	3.06 <sup>ABC</sup>	2.66 <sup>ABC</sup>	2.82 <sup>ABC</sup>	

Tabell 4 viser at «konsistens» og «brent smak» var de eneste attributtene for langtidsholdbar lettmelk som hadde en signifikant endring under lagring. For konsistens var det ingen entydig trend, men høyest konsistens var ved lagring i 60 dager på 4 °C. Brent smak var signifikant høyere ved 90 dager på 20 °C og 30°C sammenlignet med de andre lagringsbetingelsene, selv om brent smak var svært lav for alle prøvene.

Langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk hadde signifikante endring i attributtene «fargestyrke», «fnokker» og «konsistens». Det var kun lagring ved 30 °C som ga signifikant økning i fargestyrke ved alle lagringstidene. I tillegg økte gjennomsnittlig fargestyrke gjennom lagringsperioden og økende lagringstemperatur, selv om dette ikke er signifikant. Innholdet av fnokker var lav for alle prøvene, men høyest etter 60 dagers lagring på 30 °C. Konsistens hadde ingen tydelig trend, men konsistens var høyest ved alle temperaturene ved 60 dagers lagring.

Havredrikke hadde signifikante endringer i attributtene «fargestyrke», «konsistens» og «fethet». Fargestyrke var signifikant høyere for alle lagringstemperaturene etter 90 dager, sammenliknet med fersk prøve og lagring i 30 dager. Likevel var det ingen signifikante forskjeller mellom fargestyrke for prøver lagret i 60 og 90 dager. For konsistens var det ingen tydelig trend i datamaterialet, selv om konsistens ble vurdert høyest etter 60 dagers lagring på 4 °C og 20 °C, sammenliknet med de andre lagringsbetingelsene. Det var heller ingen tydelig trend for «fethet», men høyest verdi var under lagring i 60 dager på 4 °C.

## 5.0 Diskusjon

I denne oppgaven ble det gjennomført et lagringsforsøk for å undersøke mulige endringer i kvaliteten til langtidsholdbar lettmelk, langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk og havredrikk. Produktene ble lagret i 30, 60 og 90 dager ved 4 °C, 20 °C og 30 °C. Hensikten var å undersøke og dokumentere utvalgte kjemiske, fysiske og sensoriske endringer i tre forskjellige UHT-produkter for å kunne si noe om kvaliteten til de ulike produktene ved ulike lagringsbetingelser. På grunn av stor datamengde vil fokuset for diskusjonen være resultater som viser store signifikante endringer og dermed trolig har påvirket resultatet. Produktene som er undersøkt er forskjellige. Melkeprøvene er like, bortsett fra at laktose er hydrolysert i langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. Havredrikk er et helt annet type produkt og består av helt andre ingredienser. Dette vil sannsynligvis gjenspeile seg i flere av analysene, og det har trolig påvirket hvordan produktene har oppført seg under lagringsforsøket.

### 5.1 Kjemiske endringer og proteininnhold

pH-målingene viste en liten nedgang i gjennomsnittlig pH for alle prøvene. Det er flere faktorer som kan gi reduksjon i pH, slik som økning i andel kolloidalt kalsiumfosfat, utvikling i Maillard-reaksjon og isomerisering av laktose til laktulose i langtidsholdbar lettmelk (Chaplin & Lyster, 1988; Fox et al., 1998c; Walstra et al., 2006b). Samtidig er endringene i pH så små, at det kan tenkes at forskjellene skyldes dag til dag variasjoner som følge av ulik kalibrering av pH-meteret. På en annen side, ble det funnet en signifikant negativ korrelasjon mellom pH og kalsiumioneaktivitet. Reduksjon i pH vil redusere de negative ladningene på  $\kappa$ -kasein som fører til en frigjørelse av kalsiumioner (Fox et al., 1998a). Dette kan forklare den negative korrelasjonen i melkeprøvene.

Melkeprøvene og havredrikke er to svært ulike produkter, og derfor kan forskjell i proteininnhold forventes. I havredrikk er havre den eneste kilden til protein, noe som gir havredrikk et lavt proteininnhold. Det lave proteininnholdet er også en av utfordringene med slike produkter sammenlignet med melk (Spaen & Silva, 2021). I vår studie var proteininnholdet i melkeproduktene ~ 3.6 %, mot havredrikkens proteininnhold på ~ 0.7 %. Dette er som forventet basert på både litteratur og produktenes varedeklarasjon.

Ved HTST pasteurisering denaturerer ca. 2.8 % av myseproteinene (Rynne et al., 2004), sammenlignet med UHT-behandling hvor en tidligere studie (Labropoulos et al., 1981) fant at hele 70 % av myseproteinene var denaturert etter varmebehandling av melk ved 149 °C i 3.3

sekunder. Dette fører til at denaturerte myseproteiner mister sin løselighet (Fox et al., 1998a), og vil derfor felles ut med kasein-fraksjonen under proteinanalysen. Følgelig vil det bidra til at estimert kaseininnhold er tilsynelatende høyere i UHT-behandlede prøver sammenlignet med HTST pasteurisering. Av den grunn var det forventet at kaseininnholdet i denne studien var høyere i de langtidsholdbare prøvene sammenlignet med HTST lettmeik. Dette stemmer godt overens med oppnådde resultater.

Plasmin er proteasen i høyest konsentrasjon i melk, og denne proteasen er i stand til å spalte peptidbindinger i proteiner som gir mindre proteinkjeder eller frie aminosyrer (Rauh & Xiao, 2022). Det har blitt bevist at noen proteiner i UHT-melk brytes ned til små peptider under lagring, som bidrar til økning i ikke-protein nitrogen (Samel et al., 1971). I og med at plasmin, plasminogen og plasminogen-aktivatorer i plasmin-systemet kan overleve direkte UHT (Rauh et al., 2014), kan plasmin hydrolysere proteiner i UHT-produkter. Plasmin har temperaturoptimum på 37 °C (Walstra et al., 2006d; Rauh & Xiao, 2022), og favoriserer hydrolyse av  $\beta$ -kasein etterfulgt av  $\alpha_1$ - og  $\alpha_2$ -kasein (Rauh et al., 2014).  $\kappa$ -kasein og myseprotein er mer resistente mot hydrolyse (Rauh & Xiao, 2022). Under lagring vil plasminogen, som er forløperen til plasmin, kunne konverteres til plasmin av plasminogen-aktivatorer som dermed kan bidra til økt plasminaktivitet under lagring (Datta & Deeth, 2001). Dette indikerer at det kan være proteolytisk aktivitet under lagring, og det kan forklare hvorfor innholdet av ikke-protein nitrogen øker når lagringstemperaturen nærmer seg optimumstemperaturen til plasmin. Det er i tillegg kjent at laktase som benyttes til hydrolyse av laktose i melk har proteolytisk effekt (Troise et al., 2016). Dette kan bidra til økning i ikke-protein nitrogen i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik dersom disse proteasene ikke inaktiveres under UHT-behandling. Da plasmin favoriserer hydrolyse av kasein, kan det forklare hvorfor vår studie fant størst reduksjon av kasein. I tillegg viser resultatene at total proteininnhold kun var signifikant lavere i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik, som sannsynligvis henger sammen med proteolytiske aktivitet i laktasepreparatet.

Samel et al. (1971) undersøkte endringer som fant sted under lagring av UHT-prosessert melk ved 4 °C, 20 °C, 30 °C og 37 °C over en periode på 13 måneder. Den samme studien rapporterte blant annet en lineær økning i ikke-protein nitrogen under hele lagringsperioden. Resultatene i vår studie følger tilsynelatende samme trend med nedgang i total proteininnhold og kasein, som gjenspeiler økning i ikke-protein nitrogen, ved økende lagringstemperatur. Dette kan indikere at det i vår studie har vært en lineær økning i ikke-protein nitrogen under hele lagringsperioden selv om proteinanalysene ble avvirket etter 30 dager. Samel et al. (1971) fant også at

konsentrasjonen av myseproteiner økte under lagring. Det ble argumentert for at denne økningen sannsynligvis skyldes degradering av kasein da det er høyst usannsynlig at økningen i mysefraksjon kan tilskrives at denaturert myse går tilbake til nativ form. Dette styrker antagelsen om at plasminaktivitet har ført til degradering av spesielt kaseinene. Plasminaktivitet danner peptider som kan gi uønskede bismaker, som bitterhet og snerpete smak, til produktet (Nielsen et al., 2017). Smaksutvikling diskuteres litt senere i oppgaven.

Når det gjelder proteolytisk aktivitet i havredrikk, og generelt dens stabilitet, er den vitenskapelige litteraturen begrenset (Patra et al., 2021). En tidligere studie (Mikola et al., 2001) undersøkte det proteolytiske systemet i havre som er viktig for germinering av frø, og konkluderte med at ulike enzymer er ansvarlig for ulike deler av germineringen. Dette indikerer at havre inneholder flere enzymer med proteolytisk effekt, men hvorvidt disse enzymene overlever varmebehandlingen er det lite litteratur på. Resultatene funnet i vår studie viste at havredrikk hadde en signifikant økning i ikke-protein nitrogen etter 30 dager, som muligens kan tyde på at noen av disse enzymene kan være varmestabile og kan ha bidratt med proteolytisk aktivitet i havredrikk.

## 5.2 Fysiske endringer og partikkelstørrelse

Plasminaktivitet kan også på sikt føre til dannelse av gel, på engelsk kalt «age gelation», og geldanning under lagring er ofte assosiert med plasminaktivitet (Datta & Deeth, 2001). Som tidligere nevnt hydrolyserer plasmin  $\beta$ -kasein etterfulgt av  $\alpha_1$ - og  $\alpha_2$ -kasein, før plasmin trenger inn i kaseinmicellen og hydrolyserer områder i micellens indre som er viktig for stabilitet (Anema, 2019). Dersom denne hydrolysen fortsetter, vil til slutt fragmenter av kasein danne aggregater med amfifile polypeptider som via hydrofobe interaksjoner og kalsiumbroer danner gel (Anema, 2019). Dannelse av gel kan også skyldes bakterielle proteaser som overlever varmebehandlingen (Datta & Deeth, 2001). Psykotrofe bakterier drepes ved varmebehandling, men dersom de har dannet proteaser vil disse kunne overleve (Datta & Deeth, 2001). Slike proteaser vil kunne bryte ned  $\kappa$ -kasein til para- $\kappa$ -kasein på en måte som kan ligne løpekoagulering. Proteasene er mindre spesifikk når det gjelder hvor de spalter  $\kappa$ -kasein (Datta & Deeth, 2001). I tillegg vil proteasene hydrolysere 5-10 % av  $\kappa$ -kasein, sammenlignet med løpe som hydrolyserer 80-90 % av  $\kappa$ -kaseinene. En slik gel vil i tillegg bruke lengre tid på å dannes sammenlignet med løpekoagulering (Datta & Deeth, 2001). Samel et al. (1971) undersøkte også geldanning under lagring, og rapporterte at dannelse av gel inntraff etter lagring i 13 måneder for prøver lagret ved 4 °C, 20 °C og 30 °C. På bakgrunn av dette kan det ikke utelukkes at dannelse av gel kan inntreffe etter at lagringsperioden i vår studie ble avsluttet.

Det vil likevel trolig ikke være av betydning da det eventuelt vil skje etter utløpt holdbarhetsdato.

Melkeprøvene og havredrikk er først og fremst to vidt forskjellige produkter, som gjør at ulik partikkelstørrelse kan forventes. Kaseiner har en gjennomsnittlig diameter på 0.2  $\mu\text{m}$ , selv om stor variasjon kan forventes (Horne, 2017). Homogenisering reduserer vanligvis størrelsen på fettkulene til  $< 1 \mu\text{m}$ . Da havredrikk produseres ved å oppløse plantemateriale, vil partikkelstørrelse avhenge av plantematerialet, i tillegg til at partikkelstørrelsen ikke vil være like homogen som i melk (Durand et al., 2003). Durand et al. (2003) undersøkte også partikkelstørrelse i både UHT- melk og havredrikk, og fant at partikler  $< 3 \mu\text{m}$  hovedsakelig besto av fett eller oljedråper, mens partikler  $> 3 \mu\text{m}$  hovedsakelig var fettfritt tørrstoff. Dette skaper en forventning om at partikkelstørrelse i havredrikk vil ha større variasjoner enn i melk. I vår studie var partikkelstørrelse i havredrikk signifikant høyere enn i melkeprøvene. Sett i sammenheng med at partikler  $> 3 \mu\text{m}$  trolig ikke er fett eller oljedråper, indikerer dette at plantematerialet som benyttes for å lage havredrikke har en tørrstoff-fraksjon med høyere andel større partikler. Studien vår viste også en signifikant nedgang i partikkelstørrelse etter 30 dagers lagring i havredrikk, i tillegg var det variasjoner i partikkelstørrelse under hele lagringsperioden. Som nevnt tidligere vil ikke havredrikk være like homogen som melk, og det kan tenkes at denne nedgangen er et resultat av dette. En tidligere studie (Zhou et al., 2023) så på partikkelstørrelse i ulike typer havredrikke, og fant at ulike sorter havre ga ulik partikkelstørrelse. Zhou et al. (2023) fant også at det kun var kommersiell havredrikke som hadde høyere partikkelstørrelse enn melk, sammenlignet med havredrikk lagd på spesifikke sorter havre. Dette støtter antagelsen om at utgangsmaterialet, i dette tilfelle havretype, har stor betydning for partikkelstørrelse.

For UHT-behandlet melk er det vanlig at fase-separering finner sted, og at grad av separering øker ved lagring og lagringstemperatur (Rauh & Xiao, 2022).  $\beta$ -laktoglobulin- $\kappa$ -kasein komplekser som dannes ved varmebehandling vil kunne dissosiere fra kaseinmicellen, aggregere og videre sedimentere (McMahon, 1995). I tillegg kan små endringer i både pH og kalsiumioneaktivitet være nok til å gi omfattende sedimentering, sannsynligvis på grunn av at det vil gi økt destabilisering av kaseinmicellen som promoterer aggregering via kalsiumbroer (García-Risco et al., 1999). I en tidligere studie (Durand et al., 2003) ble stabiliteten til UHT-behandlet melk og plantedrikke undersøkt, hvor blant annet sammenhengen mellom partikkelstørrelse og fase-separering ble studert. Studien av Durand et al. (2003) rapporterte at havrebasert plantedrikke hadde en signifikant høyere andel av partikler med høy tetthet  $\geq 3 \mu\text{m}$

som bidro til høy grad av sedimentering. Melk på sin side hadde en lav andel partikler med høy tetthet  $\geq 3 \mu\text{m}$ , og hadde ikke signifikant økning i sedimentering under lagring. Samme studie observerte også at koalesens i melk kun fant sted ved lengre lagring, og det ble argumentert for at årsaken var liten størrelse på fettkulene. Basert på dette konkluderte Durand et al. (2003) med at melk hadde høyest motstand mot fase-separering på grunn av melkas lave andel store partikler med høy tetthet og dens innhold av små fettkuler. Basert på denne informasjonen var det forventet at både partikkelstørrelse og grad av destabilisering var høyest i havredrikk. Funnene i vår studie bekrefter denne forventingen. Ikke bare hadde havredrikk signifikant større partikler, men synlig sedimentering fant kun sted i havredrikke.

Som tidligere nevnt er ikke sedimentering en kvalitetsdefekt før selve sedimentet ikke lengre er i stand til å re-suspenderes ved risting (Badings, 1991). En av hensiktene med å analysere for tørrstoff og totalt kalsium var å bruke disse analysene som indikatorer på om/når partikler ikke lenger kunne re-suspenderes ved risting. Nedgang i tørrstoff og totalt kalsium kan derfor brukes som en indikator på sedimentering, da faktisk innhold av tørrstoff eller totalt kalsium ikke kan forsvinne fra et lukket system. For melkeprøvene var det ingen signifikante endringer i tørrstoffinnhold under lagring, mens innholdet av totalt kalsium hadde en signifikant nedgang etter 30 dager. Ved videre lagring så det ut til at totalt kalsium stabiliserte seg da det ikke var en entydig trend. Denne nedgangen kan indikere at noe kalsium har sedimentert etter 30 dager, selv om synlig sedimentering ikke var å observere.

Selv om tørrstoff i havredrikk hadde en signifikant økning etter 30 dager ved 20 °C og 30 °C, viste treveis ANOVA at prøve var eneste faktor med signifikant effekt. Dette sett i sammenheng med sedimentering, kan indikere at sedimentet kan re-suspenderes ved risting. På den andre siden viste analyse av totalt kalsium en signifikant økning etter 30 dager ved 20 og 30 °C. Som tidligere nevnt er trolig havredrikk mindre homogen enn melk, som kan være en mulig forklaring på økt kalsiuminnhold.

Justering av pH i havredrikk i forkant av kalsiumanalyse var nødvendig, da innledende forsøk ikke hadde varig fargeomslag. Dette skapte en forventning om at det er noe i plantedrikk som binder kalsium og gjør den vanskelig å titrere. Som tidligere nevnt inneholder havredrikke fytinsyre, og det er kjent at fytinsyre binder kalsiumioner over et bredt pH-spekter. Ved titrering av havredrikke som var justert til pH 2, ble varig fargeomslag oppnådd. Dette kan indikere at fytinsyre har redusert evne til å binde kalsiumioner ved lav pH, og dermed er kalsium mulig å titrere.

### 5.3 Effekt av varmebehandling

I denne studien har innholdet av laktose vist seg å spille en viktig rolle på utviklingen av flere prosesser. Da laktulose er et resultat av isomerisering av laktose under høy varme (Fox et al., 1998b), er det gitt at laktose må være til stede for at laktulose skal dannes. I denne studien ble laktulose kun funnet i HTST lettmeik og langtidsholdbar lettmeik, noe som er å forvente da disse to produktene inneholder betydelige mengder laktose. For langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik ga analysemetoden negative verdier for laktulosekonsentrasjon, noe som trolig henger sammen med det lave innholdet av laktose og analysemetodens nedre deteksjonsgrense. Produsent oppgir at langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik har et laktoseinnhold på  $< 0.3$  g/100 g, og da nedre deteksjonsgrense for analysemetoden er 0.0046 g/L indikerer det at laktuloseinnholdet i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik er så lavt at analysemetoden ikke er i stand til å detektere det. Laktuloseinnholdet i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik er derfor  $< 0.0046$  g/L. Da laktose er et melkesukker er det heller ikke til stede i havredrikk, og dermed kan ikke laktulose dannes i dette produktet.

HTST lettmeik hadde en laktulosekonsentrasjon på 0.005 g/L, som er signifikant lavere laktulosekonsentrasjonen for fersk langtidsholdbar lettmeik som var 0.114 g/L. Dannelse av laktulose skjer i basiske løsninger ved temperatur over 70 °C (Gänzle, 2011), gjerne opp mot temperaturbetingelser for sterilisering (Fox et al., 1998b). Dette betyr at temperatur spiller en viktig rolle, og dermed kan høyere laktulosekonsentrasjon forventes i langtidsholdbar lettmeik sammenlignet med HTST lettmeik. I langtidsholdbar lettmeik ved 4 °C var mengden laktulose så godt som konstant, ved 20 °C økte laktuloseinnholdet noe, mens økning var høyest ved 30 °C. Dette kan forklare samspillseffekten mellom lagringstemperatur og lagringstid.

Som tidligere nevnt er optimumsforholdene for isomerisering av laktose til laktulose basiske løsninger, men pH i melk er godt under dette ( $\sim 6.7$ ). Likevel kan det forventes at 0.5-3.5 % av laktose danner laktulose under UHT-behandling (Gänzle, 2011).

Melkeprodukter er spesielt sensitive for Maillard-reaksjon på grunn av deres høye innhold av reduserende sukker og proteiner med et høyt innhold av lysin (Singh et al., 2021). I melk er laktose det reduserende sukkeret i høyest konsentrasjon, mens både glukose og galaktose er reduserende sukker i laktosehydrolyserte produkter. Mengden reduserende sukker har vist seg å påvirke hastigheten på Maillard-reaksjoner (Kato et al., 1986), og følgelig er laktosehydrolyserte produkter mer utsatt for slike reaksjoner. Dessuten er reaktiviteten til spesielt galaktose høyere enn reaktiviteten til laktose (Kato et al., 1986; Naranjo et al., 2013).



Furosin kan brukes som en pålitelig markør for varmebehandling (Erbersdobler & Somoza, 2007). Furosin dannes fra Amadori-produkter med et utbytte på 30-40%, og kan benyttes som en indikator for det innledende steget i Maillard-reaksjonen (Erbersdobler & Somoza, 2007). I tidligere studie (Messia et al., 2007) ble innholdet av furosin i melk undersøkt, hvor det ble funnet høyere konsentrasjoner av furosin i laktosehydrolysert melk sammenlignet med vanlig melk (16.0 mg/100 g vs. 8.1mg/100g). På bakgrunn av dette kan flere Maillard-reaksjonsprodukter forventes i laktoseredusert lettmeik. Melanoider er et Maillard-reaksjonsprodukt som gir bruning og fargeendring til produktet (Rauh & Xiao, 2022). I denne studien viste spektrofotometriske målinger at synlig fargeendring ( $\Delta E > 1$ ) kun fant sted i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik. Dette indikerer en høyere andel Maillard-reaksjonsprodukter i laktosehydrolysert melk, som videre indikerer at Maillard-reaksjonen foregår hurtigere i laktosehydrolyserte produkter. Dette er som forventet.

Det er en forventning om at hastigheten til Maillard-reaksjonen øker ved økende temperatur (Rauh & Xiao, 2022). Ifølge Rauh & Xiao (2022) vil lagring ved kjøleskapstemperatur ikke gi signifikante endringer som følge av Maillard-reaksjon, lagring i romtemperatur gir betraktelig lavere hastighet sammenlignet med lagring ved 100 °C. Dette er sammenlignbart med resultatene fra vår studie. Lagring ved 4 °C ga ingen synlige endring ved noen av lagringstidspunktene, mens det ved 30 °C var synlige endringer ved alle lagringstidene. Etter 90 dager var det også synlig endring ved 20 °C, noe som indikerer at lagringstid og lagringstemperatur spiller en avgjørende rolle når det gjelder fargeendringer.

Selv om forventningene fra Rauh & Xiao (2022) stemmer med resultatene i vår studie, er det viktig å poengtere at de kjemiske endringene som finner sted er ulike ved ulike temperaturer. En tidligere studie (Benzing-Purdie et al., 1985) undersøkte effekten av temperatur på Maillard-reaksjonsprodukter, og fant at strukturen til melanoider dannet ved 22 °C var svært ulik strukturen til melanoider dannet ved høyere temperaturer. En annen studie (Nangpal et al., 1990) undersøkte dannelse av furosin ved UHT-behandling av melk, og fant at dannelse av furosin ikke var lineær ved økende varmebelastning og at et platå etter hvert ble nådd. I tillegg sank innholdet av furosin i svært varmebehandlede prøver, som ble koblet opp mot dannelsen av intermediære- og endeprodukter fra Maillard-reaksjonen. Disse studiene indikerer igjen at lagringstemperatur er svært viktig for å opprettholde god kontroll i produktene.

Selv om ingen generell konklusjon kan trekkes med kun tre datapunkt, foreslår figuren for  $\Delta E$  at fargeendring ikke er lineær i langtidsholdbar laktoseredusert lettmeik på 30 °C. Likevel vil flere eksperimenter være nødvendig for å bekrefte at den følger første ordens kinetikk. En annen

studie (Chen et al., 2012) undersøkte effekten av sukkerinnhold og lagringstemperatur (75-95 °C) på fargeutvikling. Selv om lagringstemperaturene avviker fra vår studie fant Chen et al. (2012) at bruning fulgte første orden kinetikk ved 75 og 85 °C, mens det ved 95 °C var en logaritmisk orden. Dette indikerer at kinetikken som passer datasettet kan endres avhengig av temperatur.

Da farge er den første synlige egenskapen til mat som påvirker forbrukernes aksept (Demir et al., 2021), er det ekstra viktig å lagre ved riktig temperatur for å hindre redusert kvalitet som følge av feil temperatur. Norsk standard når det gjelder innetemperatur er for vinterhalvåret 20-24 °C, mens sommerhalvåret har et anbefalt temperaturkrav på 23-26 °C (Folkehelseinstituttet, 2012). Dette indikerer at innetemperaturen trolig ofte er < 30 °C, men det betyr ikke at innetemperatur, spesielt på sommeren, aldri nærmer seg 30 °C. Som vist i vår studie økte hastigheten på fargeendring svært hurtig ved endring fra 20 til 30 °C, som kan indikere at selv små endringer i lagringstemperatur vil kunne påvirke produktets kvalitet. I tillegg vil produkter utsettes for ulike temperaturer under lagring, slik som kjølelagring etterfulgt av transport ved romtemperatur. En tidligere studie (Sunds et al., 2018) undersøkte Maillard-reaksjonen i UHT-melk under lagring ved ulike temperaturer og temperatursykluser, og fant at slike temperatursykluser påvirker stabilitet og holdbarhet i produktene som følge av Maillard-reaksjonen. Sunds et al. (2018) understrekte viktigheten av høy kontroll av temperatur under både transport og lagring. En annen studie (Aalaei et al., 2018) undersøkte blokkering av lysin som en indikator på tidlig Maillard-reaksjon i skummet melkepulver lagret ved 30 °C, 32.5 °C og 35 °C ved 30 dager. Aalaei et al. (2018) fant blant annet at en temperaturendring på bare 2.5°C ga signifikant økning i reaksjonshastighetskonstanten. Selv om denne studien undersøkte pulver, indikerer det likevel at selv små endringer i temperatur kan ha stor effekt på reaksjonshastigheten til Maillard-reaksjoner. I likhet med andre studier (Naranjo et al., 2013), foreslår vår studie at temperatur er det viktigste aspektet å kontrollere ved lagring av UHT-drikke, spesielt viktig for laktosehydrolysert melk.

#### 5.4 Sensorikk

Eksposering av thiolgrupper på myseprotein kan også påvirke melkas sensoriske profil. Thiolgruppene inneholder svovelkomponenter som ved kraftig varmebehandling kan brytes ned og danne H<sub>2</sub>S som er hovedårsaken til typisk «køkt smak» i melk (Fox et al., 1998a). På den andre siden er denne forbindelsen ustabil, og vil forsvinne innen de to første ukene etter prosessering (Fox et al., 1998a). Dette kan forklare hvorfor det i denne studien var små verdier for kjøkt smak. Dette tyder også på at ferske prøver benyttet i denne oppgaven var produsert for

minimum et par uker siden, som trolig stemmer da de var kjøpt i dagligvarebutikk og ikke direkte hos produsent.

Søthet uttrykkes normalt som relativ søthet i forhold til sukrose (Shah & Nickerson, 1978). Dersom sukrose har en søthet på 1, har laktose en søthet på 0.2-0.4, mens glukose og galaktose har en søthet på henholdsvis 0.6-0.75 og 0.32 (Tiefenbacher, 2017; Qi & Tester, 2019). Dette indikerer at søthet i laktosehydrolysert melk er høyere enn i vanlig melk. Beskrivende analyse viste at det var signifikante forskjeller i attributten «søt smak» mellom langtidsholdbar lettmelk og langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk ved alle lagringstidene og lagringstemperaturene. Basert på det som tidligere er nevnt om søthet er dette å forvente.

Som diskutert tidligere kan det ha vært plasminaktivitet i prøvene, og det kan bidra til uønskede bismaker i produktet. En tidligere studie (Nielsen et al., 2017) utførte beskrivende analyse av laktosehydrolysert melk lagret ved 22 °C over en periode på 206 dager. Studien av Nielsen et al. (2017) fant en signifikant økning i bitterhet fra dag 66 til dag 116, og økning i bitterhet ble relatert til dannelsen av peptider som følge av laktaseproduktets proteolytisk sideaktivitet. Dannelsen av bitre peptider var i studien av Nielsen et al. (2017) den største forskjellen mellom laktosehydrolysert melk og vanlig UHT-melk. Resultatene i vår studie viste ingen signifikante forskjeller mellom bitterhet, kalt «besk smak» i vår studie, i langtidsholdbar lettmelk og langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk. Det kan tenkes at en forskjell ville ha oppstått ved videre lagring, i tillegg er det sannsynlig at prøvene i vår studie sammenlignet med prøvene i Nielsen et al. (2017) har hatt ulik enzymatisk behandling og ulike betingelser for hydrolyse.

Rangering av farge under beskrivende analyse av prøver basere seg på det øyet kan observere, og derfor kan det forventes samsvar mellom fargebestemmelse gjort av det sensoriske panelet og  $\Delta E$  fra objektiv fargeanalyse.  $\Delta E$  var ved 30 °C 1.55, 5.79 og 14.54 for henholdsvis 30 dager, 60 dager og 90 dagers lagring. Det var altså stor økning i  $\Delta E$  ved økende lagringstid. Beskrivende analyse viste på sin side kun signifikant fargeendring ved 30 °C ved alle lagringstidspunkt, og det var ikke signifikante endringer ved økende lagringstid.

Beskrivende analyse viste i tillegg at havredrikk hadde en signifikant økning i fargestyrke, hvor alle lagringstemperaturene ved 90 dagers lagring var signifikant høyere enn fersk prøve og lagring i 30 dager. En studie gjort av Tian et al. (2010) undersøkte blant annet innholdet av fritt sukker i havre, og det ble rapportert at 5.23 % av tørrstoff var fritt sukker (Tian et al., 2010). Sukkerartene i havre har blitt undersøkt i et annet studie (MacArthur & D'apponia, 1979),

hvor det ble funnet at fritt sukker hovedsakelig besto av sukrose, raffinose, maltose, stachyose, verbascose, fruktose og glukose i rekkefølge fra høyest til lavest konsentrasjon. Maltose, fruktose og glukose er reduserende sukker (Huber & BeMiller, 2017), og disse vil kunne delta i Maillard-reaksjon. Sukrose, som er sukkerarten med høyst konsentrasjon i havre, er et ikke-reduserende sukker (Huber & BeMiller, 2017) og vil kun delta i Maillard-reaksjonen dersom sukrose hydrolyseres til glukose og fruktose. I vår studie ble det i langtidsholdbar lettmeik detektert laktulose, noe som indikerer at UHT behandling kan utløse slike endringer i karbohydrater og dermed kan det være mulig at hydrolyse av sukrose har funnet sted. Dessuten er det ifølge Deswal et al. (2014) vanlig å benytte enzymet amylase for å hydrolysere stivelse i havre under prosessering, som også vil gi økt innhold av reduserende sukker (Huber & BeMiller, 2017). Dette betyr at Maillard-reaksjonen kan være en mulig årsak til den observerte fargeendringen under lagring.

$\Delta E$  og beskrivende analyse skal i teorien samsvare, men denne studien viste at det var noen ulikheter.  $\Delta E$  plukket ikke opp synlig fargeendring i havredrikk, mens det for beskrivende analyse var signifikant endring ved 90 dager. Dette kan tyde på at en analyse som spektrofotometri kan ha vanskeligheter med å fange opp alle aspektene ved farge slik som mennesket er i stand til. Det kan diskuteres hvilken av disse metodene som er best å benytte når det gjelder bestemmelse av farge. Spektrofotometri vil gi samme resultat hver gang, mens beskrivende analyse vil påvirkes av mennesket som utfører analysen selv om det er et trent panel. Til syvende og sist handler fargeendring om hva forbrukeren kan se, og derfor kan det tenkes at beskrivende analyse er mer i tråd med det forbrukeren faktisk opplever.

## 5.5 Oppsummering og konklusjon

I denne studien har et lagringsforsøk blitt utført for å undersøke effekt av lagringstid og lagringstemperatur på tre forskjellige UHT-produkter. UHT-behandling gir produktene forlenget holdbarhet og mulighet for å lagre i romtemperatur, men som konsekvens av kraftig varmebehandling kan produktene endre seg under lagring. Resultatene av proteinanalyser indikerte en reduksjon i totalt proteininnhold og i kasein, og en økning i ikke-protein nitrogen, noe som kan tyde på proteolytisk aktivitet i produktene. Partikkelstørrelse var signifikant høyere i havredrikk, og sedimentering inntraff i havredrikk innen 14 dager ved alle lagringstemperaturene. Likevel indikerte tørrstoffanalyser og kalsiuminnhold at sedimentet ble re-suspendert ved vending av kartongen. Laktulosekonsentrasjonen økte med økende lagringstid og lagringstemperatur i langtidsholdbar lettmelk, noe som indikerer utvikling i Maillard-reaksjonen.

I denne studien var endringer i farge som følge av Maillard-reaksjonen den viktigste årsaken til endringer i kvalitet, spesielt for laktosehydrolysert melk, som etter bare 30 dager ved 30 °C viste en signifikant fargeendring. Endringer i farge ble også observert i havredrikke etter 90 dager ved 4 °C, 20 °C og 30 °C. Selv små endringer i lagringstemperatur kan ha stor effekt på utviklingen av Maillard-reaksjonen, og dette indikerer at det ikke er likegyldig hvordan kartongene blir lagret, både på lager og under transport. Ved å opprettholde streng kontroll over lagringstemperatur, kan utviklingen av Maillard-reaksjonen i større grad kontrolleres. I butikk oppbevares vanligvis melkeprøver i kjøledisk, mens havredrikk står i tørrvarehylle. Funnene i denne studien indikerer at kjølelagring er hensiktsmessig, og derfor burde muligens hylleplassering for havredrikk revurderes.

## 6.0 Til ettertanke og videre forskning

Proteinanalyse ble avvirket etter 30 dager da forventningene var at det ikke ville være endringer i proteininnhold, og derfor ble andre analyser prioritert. Dette kan ha vært en feilvurdering med tanke på at resultatene viste signifikante endringer i proteininnhold allerede etter 30 dagers lagring. I fremtidige lagringsforsøk kan med fordel proteinanalyser ta større plass. Det kunne i tillegg være av interesse å kartlegge hvilke peptider som er å finne i fraksjonen av ikke-protein nitrogen.

Justering av pH i havredrikk førte til en fortykning av prøven som ikke ble tatt høyde for i utregningene. Optimalt sett skulle justering av pH blitt gjort i et kjent volum av prøve. Dette har ført til en underestimert av totalt kalsium i havredrikke.

Generelt anbefales det 8-12 dommere i et trent panel som utfører beskrivende analyse (Lawless & Heymann, 2010), og i vår studie var det ved dag 30, 60 og 90 henholdsvis 7, 6 og 5 dommere. Et lavt antall dommere tilegner hver dommer stor vekt, som kan påvirke resultatene.

Forutsetningene som ble benyttet for måling av partikkelstørrelse var forutsetningene som er egnet for melkeprodukter. Det kan tenkes at havredrikk med fordel kunne hatt andre forutsetninger. Metodeutvikling av analyse av partikkelstørrelse kan være av interesse i videre studier. I tillegg kunne det vært interessant og undersøkt hva de store partiklene i havredrikk består av. En mulighet kan være å isolere ulike fraksjoner ved sentrifugering, for så å analysere bestemte fraksjoner.

Som nevnt i oppgaven er furososin en indikator på innledende Maillard-reaksjon, og det hadde vært interessant å kartlegge denne komponenten under lagring. Dette kan for eksempel gjøres ved væskrokromatografi.

## 7.0 Litteraturliste

- Ames, N., Rhymer, C. & Storsley, J. (2013). Food oat quality throughout the value chain. *Oats nutrition and technology*: 33-70.
- Andersson, R. E., Danielsson, G., Hedlund, C. B. & Svensson, S. G. (1981). Effect of a Heat-Resistant Microbial Lipase on Flavor of Ultra-High-Temperature Sterilized Milk. *Journal of Dairy Science*, 64 (3): 375-379. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82581-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82581-7).
- Anema, S. G. & Li, Y. (2003). Effect of pH on the Association of Denatured Whey Proteins with Casein Micelles in Heated Reconstituted Skim Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (6): 1640-1646. doi: 10.1021/jf025673a.
- Anema, S. G. (2017). Storage stability and age gelation of reconstituted ultra-high temperature skim milk. *International Dairy Journal*, 75: 56-67. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.06.006>.
- Anema, S. G. (2019). Age Gelation, Sedimentation, and Creaming in UHT Milk: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18 (1): 140-166. doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12407>.
- Badings, H. (1991). Milk: volatile compounds in foods and beverages. *H. Maarse, ed.*
- Bauland, J., Famelart, M. H., Bouhallab, S., Jeantet, R., Roustel, S., Faiveley, M. & Croguennec, T. (2020). Addition of calcium and magnesium chlorides as simple means of varying bound and precipitated minerals in casein micelle: Effect on enzymatic coagulation. *Journal of Dairy Science*, 103 (11): 9923-9935. doi: 10.3168/jds.2020-18749.
- Benzing-Purdie, L. M., Ripmeester, J. A. & Ratcliffe, C. I. (1985). Effects of temperature on Maillard reaction products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33 (1): 31-33. doi: 10.1021/jf00061a009.
- Chaplin, L. G. & Lyster, R. L. J. (1988). Effect of temperature on the pH of skim milk. *Journal of Dairy Research*, 55 (2): 277-280. doi: 10.1017/S0022029900026108.
- Chen, M.-L., Chen, H.-Y. & Liu\*, S.-C. (2012). Effects of Temperature and Sugar Concentration on the Colour Development, 5-hydroxymethoxylfurfural Production, and Antioxidative Activity Development in the Caramelisation of Acidic Glucose Solution. *International Journal of Food Engineering*, 8 (2). doi: doi:10.1515/1556-3758.2565.
- Dagleish, D. G. (1992). Sedimentation of Casein Micelles During the Storage of Ultra-High Temperature Milk Products—a Calculation. *Journal of Dairy Science*, 75 (2): 371-379. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77771-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77771-6).
- Datta, N. & Deeth, H. C. (2001). Age Gelation of UHT Milk—A Review. *Food and Bioproducts Processing*, 79 (4): 197-210. doi: <https://doi.org/10.1205/096030801753252261>.
- Datta, N., Elliott, A., Perkins, M. & Deeth, H. (2002). Ultra-high-temperature (UHT) treatment of milk: Comparison of direct and indirect modes of heating. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57.
- De Block, J., Merchiers, M., Van Renterghem, R. & Moermans, R. (1996). Evaluation of two methods for the determination of lactulose in milk. *International Dairy Journal*, 6 (2): 217-222. doi: [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00006-2](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00006-2).
- Dekker, P., Koenders, D. & Bruins, M. (2019). Lactose-Free Dairy Products: Market Developments, Production, Nutrition and Health Benefits. *Nutrients*, 11 (3): 551. doi: 10.3390/nu11030551.
- Demir, H., Simsek, M. & Yıldırım, G. (2021). Effect of oat milk pasteurization type on the characteristics of yogurt. *LWT*, 135: 110271. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110271>.

- Deswal, A., Deora, N. S. & Mishra, H. N. (2014). Optimization of Enzymatic Production Process of Oat Milk Using Response Surface Methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 7 (2): 610-618. doi: 10.1007/s11947-013-1144-2.
- Durand, A., Franks, G. V. & Hosken, R. W. (2003). Particle sizes and stability of UHT bovine, cereal and grain milks. *Food Hydrocolloids*, 17 (5): 671-678. doi: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(03\)00012-2](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00012-2).
- Early, R. (1998). Liquid milk and cream. In *Technology of dairy products*, pp. 1-: Springer Science & Business Media.
- Erbersdobler, H. F. & Somoza, V. (2007). Forty years of furosine—Forty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods. *Molecular nutrition & food research*, 51 (4): 423-430.
- Folkehelseinstituttet. (2012). *Temperatur, fukt og trekk er viktig for kroppens varmebalanse*. fhi.no: Folkehelseinstituttet. Available at: <https://www.fhi.no/ml/miljo/inneklima/artikler-inneklima-og-helseplager/temperatur-fukt-og-trekk-er-viktig-/> (accessed: 11.05).
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. & Paul, L. (1998b). Milk Proteins In *Dairy chemistry and biochemistry*, pp. 145-238: Springer.
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. & O`Mahony, J. A. (1998a). Heat-Induced Changes in Milk. In *Dairy chemistry and biochemistry*, pp. 345-375: Springer.
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. & O`Mahony, J. A. (1998b). Lactose. In *Dairy chemistry and biochemistry*, pp. 21-68: Springer.
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. & O`Mahony, J. A. (1998c). Milk Lipids. In *Dairy chemistry and biochemistry*, pp. 69-143: Springer.
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., Mcsweeney, P. L. H. & O`Mahony, J. A. (1998c). Salts of Milk. In *Dairy chemistry and biochemistry*, pp. 241-269.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2017). Chemistry of Milk Constituents. In *Fundamentals of Cheese Science*, pp. 71-104: Springer US.
- Fullerton, A., Fischer, T., Lahti, A., Wilhelm, K. P., Takiwaki, H. & Serup, J. (1996). Guidelines for measurement skin colour and erythema A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis \*. *Contact Dermatitis*, 35 (1): 1-10. doi: 10.1111/j.1600-0536.1996.tb02258.x.
- García-Risco, M. R., Ramos, M. & López-Fandiño, R. (1999). Proteolysis, protein distribution and stability of UHT milk during storage at room temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79 (9): 1171-1178. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(19990701)79:9<1171::AID-JSFA344>3.0.CO;2-0.
- Griffiths, M. W., Phillips, J. D. & Muir, D. D. (1981). Thermostability of proteases and lipases from a number of species of psychrotrophic bacteria of dairy origin. *J Appl Bacteriol*, 50 (2): 289-303. doi: 10.1111/j.1365-2672.1981.tb00894.x.
- Gänzle, M. G. (2011). Lactose and Oligosaccharides | Lactose: Derivatives. In Fuquay, J. W. (ed.) *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, pp. 202-208. San Diego: Academic Press.
- Hansen, A. P., Turner, L. G. & Jones, V. A. (1974). Effect of Ultra-high Temperature Steam Injection on Flavor Acceptability of Whole and Fortified Skim Milks. *Journal of Dairy Science*, 57 (3): 280-284. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(74)84877-0.
- Hawran, L., Jones, V. & Swartzel, K. (1985). Sediment formation in aseptically processed and packaged milk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 9 (3): 189-207.



- Horne, D. S. (1998). Casein Interactions: Casting Light on the Black Boxes, the Structure in Dairy Products. *International Dairy Journal*, 8 (3): 171-177. doi: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00040-5).
- Horne, D. S. (2017). Characteristics of milk. In Damodaran, S. & Parkin, K. L. (eds) vol. Fifth edition *Fennema's Food Chemistry*, pp. 907-953: CRC Press.
- Huber, K. C. & BeMiller, J. N. (2017). Carbohydrates. In Damodaran, S. & Parkin, K. L. (eds) *Fennema's Food Chemistry* pp. 92-169. CRC press: Taylor & Francis Group, Boca Raton, US.
- Hutton, J. T. & Patton, S. (1952). The Origin of Sulfhydryl Groups in Milk Proteins and their Contributions to "Cooked" Flavor1. *Journal of Dairy Science*, 35 (8): 699-705. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(52\)91658-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(52)91658-5).
- IDF. (1987). International IDF Standard 21B:1987: Milk, C. a. E. M. D. O. T. S. C. R. M. (ed.): IDF.
- IDF. (2001a). *Determination of nitrogen content* Part 4: Determination of non-protein-nitrogen content International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.
- IDF. (2001b). *Determination of nitrogen content* Part 5: Determination of protein-nitrogen content: International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.
- IDF. (2004). *Determination of casein-nitrogen content* Part 2: Direct method: International Dairy Federation, Brüssel, Belgia.
- Kato, Y., Matsuda, T., Kato, N., Watanabe, K. & Nakamura, R. (1986). Browning and insolubilization of ovalbumin by the Maillard reaction with some aldohexoses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34 (2): 351-355. doi: 10.1021/jf00068a050.
- Labropoulos, A., Palmer, J. & Lopez, A. (1981). Whey protein denaturation of UHT processed milk and its effect on rheology of yogurt. *Journal of Texture Studies*, 12: 365-374. doi: 10.1111/j.1745-4603.1981.tb00545.x.
- Laitila, T., Kumpulainen, J., Ojala, M., Haapala, L., Alarinta, J. & Wirtanen, G. (2022). *The process of making plant-based milk alternative* Croatian Society of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionists, Zagreb, Croatia.
- Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). Descriptive analysis. In *Sensory Evaluation of Food: Principles and practices*, pp. 227-257.
- Lyngra, R. & Gøttum, H. (2016). *Laktoseintoleranse* LHL Astma og allergi. Available at: <https://www.lhl.no/lhl-astma-og-allergi/allergi/laktoseintoleranse/>.
- MacArthur, L. & D'apponia, B. (1979). Comparison of oat and wheat carbohydrates. I. Sugars. In *Cereal chemistry*, pp. 455-457.
- Mariotti, F., Tomé, D. & Mirand, P. P. (2008). Converting Nitrogen into Protein—Beyond 6.25 and Jones' Factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48 (2): 177-184. doi: 10.1080/10408390701279749.
- Matthäus, B. (2010). 6 - Oxidation of edible oils. In Decker, E. A., Elias, R. J. & Julian McClements, D. (eds) *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*, pp. 183-238: Woodhead Publishing.
- McClements, D. J., Newman, E. & McClements, I. F. (2019). Plant-based Milks: A Review of the Science Underpinning Their Design, Fabrication, and Performance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18 (6): 2047-2067. doi: 10.1111/1541-4337.12505.
- McMahon, D. J. (1995). Age gelation of UHT milk: Changes that occur during storage, their effect on shelflife and the mechanism by which age gelation occurs. *Heat treatments and alternative methods*: 315.

- Megazyme. (2021). *LACTULOSE*. (RAPID/SENSITIVE): Megazyme, Bray, Ireland
- Messia, M. C., Candigliota, T. & Marconi, E. (2007). Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. *Food Chemistry*, 104 (3): 910-917. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.045>.
- Mikola, M., Brinck, O. & Jones, B. L. (2001). Characterization of Oat Endoproteinases that Hydrolyze Oat Avenins. *Cereal Chemistry Journal*, 78 (1): 55-58. doi: 10.1094/cchem.2001.78.1.55.
- Moretto, L., Tonolo, F., Folda, A., Scalcon, V., Bindoli, A., Bellamio, M., Feller, E. & Rigobello, M. P. (2021a). Comparative analysis of the antioxidant capacity and lipid and protein oxidation of soy and oats beverages. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3 (1): 1. doi: 10.1186/s43014-020-00046-6.
- Moretto, L., Tonolo, F., Folda, A., Scalcon, V., Bindoli, A., Bellamio, M., Feller, E. & Rigobello, M. P. (2021b). Comparative analysis of the antioxidant capacity and lipid and protein oxidation of soy and oats beverages. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3 (1). doi: 10.1186/s43014-020-00046-6.
- Multari, S., Stewart, D. & Russell, W. R. (2015). Potential of Fava Bean as Future Protein Supply to Partially Replace Meat Intake in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14 (5): 511-522. doi: 10.1111/1541-4337.12146.
- Nangpal, A., Reuter, H., Dehn-Mueller, B. & Erbersdobler, H. F. (1990). Formation of furosine during UHT treatment of milk - comparison between direct and indirect heating. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 42: 31-41.
- Naranjo, G. B., Pereyra Gonzales, A. S., Leiva, G. E. & Malec, L. S. (2013). The kinetics of Maillard reaction in lactose-hydrolysed milk powder and related systems containing carbohydrate mixtures. *Food Chemistry*, 141 (4): 3790-3795. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.093>.
- Nielsen, S. D., Jansson, T., Le, T. T., Jensen, S., Eggert, N., Rauh, V., Sundekilde, U. K., Sørensen, J., Andersen, H. J., Bertram, H. C., et al. (2017). Correlation between sensory properties and peptides derived from hydrolysed-lactose UHT milk during storage. *International Dairy Journal*, 68: 23-31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.013>.
- Opplysningskontoret for Meieriprodukter. (2023). *Matsvinn*. melk.no: Opplysningskontorer for Meieriprodukter. Available at: <https://www.melk.no/Melkekilden/Kosthold/Matsvinn/Hvor-mye-mat-kaster-nordmenn-hvert-aar> (accessed: 27. november).
- Patra, T., Rinnan, Å. & Olsen, K. (2021). The physical stability of plant-based drinks and the analysis methods thereof. *Food Hydrocolloids*, 118: 106770. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106770>.
- Perkins, M. L., D'Arcy, B. R., Lisle, A. T. & Deeth, H. C. (2005). Solid phase microextraction of stale flavour volatiles from the headspace of UHT milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (14): 2421-2428.
- Qi, X. & Tester, R. F. (2019). Fructose, galactose and glucose – In health and disease. *Clinical Nutrition ESPEN*, 33: 18-28. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.07.004>.
- Ransmark, E., Svensson, B., Svedberg, I., Göransson, A. & Skoglund, T. (2019). Measurement of homogenisation efficiency of milk by laser diffraction and centrifugation. *International Dairy Journal*, 96: 93-97. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.04.011>.
- Rauh, V. & Xiao, Y. (2022). The shelf life of heat-treated dairy products. *International Dairy Journal*, 125: 105235. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105235>.

- Rauh, V. M., Sundgren, A., Bakman, M., Ipsen, R., Paulsson, M., Larsen, L. B. & Hammershøj, M. (2014). Plasmin activity as a possible cause for age gelation in UHT milk produced by direct steam infusion. *International Dairy Journal*, 38 (2): 199-207. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.12.007>.
- Runyon, J. R., Sunilkumar, B. A., Nilsson, L., Rascon, A. & Bergenståhl, B. (2015). The effect of heat treatment on the soluble protein content of oats. *Journal of Cereal Science*, 65: 119-124. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.008>.
- Rynne, N., Beresford, T., Kelly, A. & Guinee, T. (2004). Effect of milk pasteurization temperature and in situ whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 14: 989-1001. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.03.010.
- Saïed, N. & Aïder, M. (2014). Zeta potential and turbidimetry analyzes for the evaluation of chitosan/phytic acid complex formation. *Journal of food research*, 3 (2): 71.
- Samel, R., Weaver, R. W. V. & Gammack, D. B. (1971). Changes on storage in milk processed by ultra-high-temperature sterilization. *Journal of Dairy Research*, 38 (3): 323-332. doi: 10.1017/S0022029900019452.
- Sawe, B. E. (2018). *Countries Who Drink The Most Milk*. WorldAtlas: World Facts.
- Sethi, S., Tyagi, S. K. & Anurag, R. K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (9): 3408-3423. doi: 10.1007/s13197-016-2328-3.
- Shah, N. & Nickerson, T. (1978). Functional properties of hydrolyzed lactose: Relative sweetness. *Journal of Food Science*, 43: 1575-1576. doi: 10.1111/j.1365-2621.1978.tb02546.x.
- Singh, P., Rao, P. S., Sharma, V. & Arora, S. (2021). Physico-chemical aspects of lactose hydrolysed milk system along with detection and mitigation of maillard reaction products. *Trends in Food Science & Technology*, 107: 57-67. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.030>.
- Somasundar, P., Riggs, D. R., Jackson, B. J., Cunningham, C., Vona-Davis, L. & McFadden, D. W. (2005). Inositol hexaphosphate (IP6): a novel treatment for pancreatic cancer. *The Journal of surgical research*, 126 (2): 199-203. doi: 10.1016/j.jss.2005.01.022.
- Spaen, J. & Silva, J. V. C. (2021). Oat proteins: Review of extraction methods and techno-functionality for liquid and semi-solid applications. *LWT*, 147: 111478. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111478>.
- Steen, L. K. (2023). *Normenns melkeforbruk har gått ned 6 prosent siste året - og 30 prosent på 20 år*. Nationen.no: Nationen. Available at: <https://www.nationen.no/naering/nordmenns-melkeforbruk-har-gatt-ned-seks-prosent-siste-aret-og-30-prosent-pa-20-ar/> (accessed: 09.02).
- Sunds, A. V., Rauh, V. M., Sørensen, J. & Larsen, L. B. (2018). Maillard reaction progress in UHT milk during storage at different temperature levels and cycles. *International Dairy Journal*, 77: 56-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.08.008>.
- Tester, R. F. & Karkalas, J. (1996). Swelling and Gelatinization of Oat Starches. *Cereal Chemistry*, 73: 271-277.
- ThermoScientific. (2008). *User Guide*. Calcium Ion Selective Electrode: Thermo Fisher Scientific Inc. .
- Tian, B., Xie, B., Shi, J., Wu, J., Cai, Y., Xu, T., Xue, S. & Deng, Q. (2010). Physicochemical changes of oat seeds during germination. *Food Chemistry*, 119 (3): 1195-1200. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.035>.

- Tiefenbacher, K. F. (2017). Chapter Three - Technology of Main Ingredients—Sweeteners and Lipids. In Tiefenbacher, K. F. (ed.) *Wafer and Waffle*, pp. 123-225: Academic Press.
- Troise, A. D., Bandini, E., De Donno, R., Meijer, G., Trezzi, M. & Fogliano, V. (2016). The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process. *Food Research International*, 89: 514-525. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.021>.
- Vercellotti, J. R., Angelo, A. J. S. & Spanier, A. M. (1992). *Lipid Oxidation in Foods, an overview*: Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Southern Regional Research Center, 1100 Robert E. Lee. Boulevard, New Orleans, LA 70124.
- Visser, F. (1977). Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 1. Description of cheese and aseptic cheesemaking techniques. *Neth. Milk Dairy J*, 31: 120-133.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006a). Colloidal Particles of Milk. In *Dairy Science and Technology*, pp. 109-157: Taylor & Francis Group, LLC.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006b). Heat Treatment In *Dairy science and technology*, pp. 225-271: Taylor & Francis Group, LLC.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006c). Heat Treatment In *Dairy Science and Technology*, pp. 225-272: Taylor & Francis Group, LLC.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006d). Milk Components. In *Dairy Science and Technology*, pp. 17-108: Taylor & Francis Group, LLC.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M. & Geurts, T. J. (2006e). Milk for Liquid Consumption. In *Dairy Science and Technology*, pp. 421-444: Taylor & Francis Group, LLC.
- Zhou, J. R. & Erdman, J. W., Jr. (1995). Phytic acid in health and disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 35 (6): 495-508. doi: 10.1080/10408399509527712.
- Zhou, S., Jia, Q., Cui, L., Dai, Y., Li, R., Tang, J. & Lu, J. (2023). Physical&ndash;Chemical and Sensory Quality of Oat Milk Produced Using Different Cultivars. *Foods*, 12 (6): 1165.
- Aalaei, K., Rayner, M. & Sjöholm, I. (2018). Kinetics of available lysine in stored commercial skim milk powder at moderate temperatures. *International Journal of Food Science & Technology*, 53. doi: 10.1111/ijfs.13803.

# Vedlegg

Oversikt over vedlegg:

Vedlegg 1: Standardkurver for kalsium ioneaktivitet

Vedlegg 2: Oversikt over antall dommerne ved beskrivende analyse

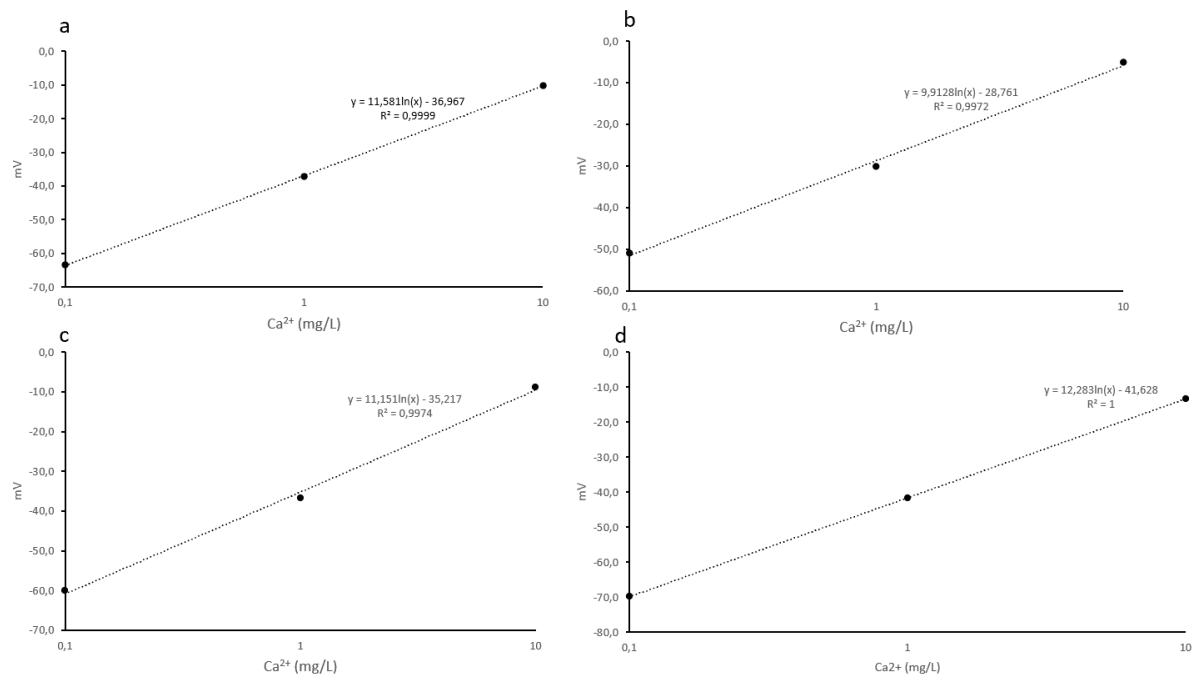
Vedlegg 3: Forklaring av bruk av attributter

Vedlegg 4: Rådata for fargeendring målt ved  $\Delta E$  for alle prøvene

Vedlegg 5: Utregning av signifikansnivåer fra tetrad-test

Vedlegg 6: Resultatene fra beskrivende analyse av prøvene under lagring

## Vedlegg 1 - Standardkurver kalsium ioneaktivitet



**Figur A.** Standardkurve som viser forholdet mellom mV og mg/L kalsium ioneaktivitet i a) nullprøver, b) 30 dager lagring, c) 60 dager lagring og d) 90 dager lagring. Regresjonslinjen er oppgitt i figuren.

## Vedlegg 2 – Antall dommere og fordeling mellom kjønn ved de ulike tidspunktene for beskrivende analyse

*Tabell B. Oversikt over antall dommere og deres kjønn ved tidspunktet for beskrivende analyse.*

<b>Dommere</b>	<b>30 dager</b>	<b>30 dage</b>	<b>90 dager</b>
<b>Kvinner</b>	5	5	4
<b>Menn</b>	2	1	1
<b>Total</b>	7	6	5

### Vedlegg 3 - Forklaring av bruk av attributter.

*Tabell C. Oversikt over attributtene som ble bruk under beskrivende analyse, og kort beskrivelse hvordan bruke skalaen.*

<b>Attributter</b>	<b>1 poeng</b>	<b>9 poeng</b>
Fargestyrke	Lys (hvit)	Mørk (brun/grå)
Fnokker	Ingen synlige	Svært mange
Konsistens	Svært tynn	Svært tykk
Fethet	Svært vassen	Svært fet/kremet
Søt smak	Ingen	Intens
Syrlig smak	Ingen	Intens
Kokt smak	Ingen	Intens
Brent smak	Ingen	Intens
Besk smak	Ingen	Intens
Oksidert smak	Ingen	Intens
Bismak	Ingen	Intens
Havresmak	Ingen	Intens



## Vedlegg 4 – Rådata for fargeendring målt ved $\Delta E$

*Tabell D.  $\Delta E$  for alle prøvene ved alle lagringstidene og lagringstidspunktene. De ulike lagringsbetingelsene er sammenlignet med nullprøve.*

	Nullprøve - 30 dager 4 °C	Nullprøve - 30 dager 20 °C	Nullprøve - 30 dager 30 °C	Nullprøve - 60 dager 4 °C	Nullprøve - 60 dager 20 °C	Nullprøve - 60 dager 30 °C	Nullprøver - 90 dager 4 °C	Nullprøver - 90 dager 20 °C	Nullprøver - 90 dager 30 °C
Langtidsholdbar lettmelk	0.006	0.309	0.626	0.039	0.499	0.437	0.090	0.190	0.142
Langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk	0.098	0.204	1.554	0.298	0.581	5.791	0.607	1.491	14.538
Havredrikk	0.019	0.024	0.058	0.004	0.012	0.091	0.015	0.111	0.368

## Vedlegg 5 - Utregning av signifikansnivåer fra tetrad-test

Formel:

$$X = 0.4714 * Z * \sqrt{n} + \frac{(2 * n + 3)}{6},$$

Hvor X er minimum antall korrekte svar for å få signifikant forskjell mellom to prøver, Z = 1.645 når p=0.05 og n = antall dommere.

Da får vi:

$$X = 0.4714 * 1.645 * \sqrt{25} + \frac{(2 * (25) + 3)}{6} = 12.7$$

X ≈ 13 riktige svar for signifikant forskjell mellom to prøver

## Vedlegg 6 - Resultatene fra beskrivende analyse av prøvene under lagring

Tabell F. Rangering av attributtene fra beskrivende analyse av langtidsholdbar lettmeik.

	Fersk prøve	30 dager			60 dager			90 dager		
		4 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C
<b>Fargestyrke</b>	1.51 <sup>A</sup>	1.50 <sup>A</sup>	1.53 <sup>A</sup>	1.59 <sup>A</sup>	1.48 <sup>A</sup>	1.52 <sup>A</sup>	2.02 <sup>A</sup>	1.54 <sup>A</sup>	1.66 <sup>A</sup>	1.64 <sup>A</sup>
<b>Fnokker</b>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.18 <sup>A</sup>	1.35 <sup>A</sup>	1.52 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>
<b>Konsistens</b>	2.30 <sup>A</sup>	2.56 <sup>AB</sup>	2.41 <sup>A</sup>	2.37 <sup>A</sup>	4.17 <sup>B</sup>	3.58 <sup>AB</sup>	3.97 <sup>AB</sup>	3.00 <sup>AB</sup>	3.18 <sup>AB</sup>	3.12 <sup>AB</sup>
<b>Fethet</b>	2.46 <sup>A</sup>	2.54 <sup>A</sup>	2.57 <sup>A</sup>	2.70 <sup>A</sup>	3.88 <sup>A</sup>	3.42 <sup>A</sup>	3.77 <sup>A</sup>	3.08 <sup>A</sup>	3.26 <sup>A</sup>	3.08 <sup>A</sup>
<b>Søt smak</b>	2.49 <sup>A</sup>	2.67 <sup>A</sup>	2.73 <sup>A</sup>	2.57 <sup>A</sup>	3.48 <sup>A</sup>	3.35 <sup>A</sup>	2.80 <sup>A</sup>	2.62 <sup>A</sup>	2.60 <sup>A</sup>	2.48 <sup>A</sup>
<b>Syrlig smak</b>	1.03 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.07 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.06 <sup>A</sup>	1.08 <sup>A</sup>	1.28 <sup>A</sup>
<b>Kokt smak</b>	1.13 <sup>A</sup>	1.11 <sup>A</sup>	1.67 <sup>A</sup>	1.73 <sup>A</sup>	2.15 <sup>A</sup>	2.40 <sup>A</sup>	2.53 <sup>A</sup>	2.28 <sup>A</sup>	2.26 <sup>A</sup>	2.08 <sup>A</sup>
<b>Brent smak</b>	1.01 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.02 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.18 <sup>B</sup>	1.12 <sup>AB</sup>
<b>Besk smak</b>	1.03 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.40 <sup>A</sup>	1.16 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>
<b>Oksidert smak</b>	1.03 <sup>A</sup>	1.31 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.43 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.08 <sup>A</sup>	1.17 <sup>A</sup>	1.34 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.34 <sup>A</sup>
<b>Bismak</b>	1.24 <sup>A</sup>	1.43 <sup>A</sup>	1.89 <sup>A</sup>	2.19 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.07 <sup>A</sup>	1.55 <sup>A</sup>	1.08 <sup>A</sup>	1.16 <sup>A</sup>	1.54 <sup>A</sup>

Tabell F. Rangering av attributtene fra beskrivende analyse av langtidsholdbar laktoseredusert lettmelk.

	Fersk prøve	30 dager			60 dager			90 dager		
	4 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C
<b>Fargestyrke</b>	1.53 <sup>A</sup>	1.71 <sup>A</sup>	1.56 <sup>A</sup>	3.80 <sup>BC</sup>	1.53 <sup>A</sup>	2.48 <sup>AB</sup>	5.17 <sup>C</sup>	1.58 <sup>A</sup>	3.12 <sup>AB</sup>	5.50 <sup>C</sup>
<b>Fnokker</b>	1.03 <sup>A</sup>	1.16 <sup>AB</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.23 <sup>AB</sup>	1.20 <sup>AB</sup>	2.05 <sup>B</sup>	1.12 <sup>AB</sup>	1.08 <sup>AB</sup>	1.84 <sup>AB</sup>
<b>Konsistens</b>	2.97 <sup>AB</sup>	2.90 <sup>A</sup>	2.90 <sup>A</sup>	2.83 <sup>A</sup>	4.12 <sup>BC</sup>	4.13 <sup>BC</sup>	4.22 <sup>C</sup>	3.08 <sup>ABC</sup>	3.38 <sup>ABC</sup>	3.06 <sup>ABC</sup>
<b>Fethet</b>	2.71 <sup>A</sup>	2.89 <sup>A</sup>	2.87 <sup>A</sup>	2.69 <sup>A</sup>	3.82 <sup>A</sup>	3.72 <sup>A</sup>	3.80 <sup>A</sup>	3.08 <sup>A</sup>	3.24 <sup>A</sup>	3.18 <sup>A</sup>
<b>Søt smak</b>	5.29 <sup>A</sup>	5.06 <sup>A</sup>	5.79 <sup>A</sup>	4.53 <sup>A</sup>	5.73 <sup>A</sup>	5.48 <sup>A</sup>	5.65 <sup>A</sup>	5.34 <sup>A</sup>	4.42 <sup>A</sup>	4.52 <sup>A</sup>
<b>Syrlig smak</b>	1.01 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.18 <sup>A</sup>	1.06 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>
<b>Kokt smak</b>	1.43 <sup>A</sup>	1.51 <sup>A</sup>	1.73 <sup>A</sup>	2.01 <sup>A</sup>	2.40 <sup>A</sup>	2.63 <sup>A</sup>	3.00 <sup>A</sup>	2.72 <sup>A</sup>	1.86 <sup>A</sup>	2.14 <sup>A</sup>
<b>Brent smak</b>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.23 <sup>A</sup>	1.40 <sup>A</sup>	1.30 <sup>A</sup>	1.16 <sup>A</sup>	1.26 <sup>A</sup>
<b>Besk smak</b>	1.01 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.07 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.37 <sup>A</sup>	1.08 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>
<b>Oksidert smak</b>	1.04 <sup>A</sup>	1.13 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.18 <sup>A</sup>	1.15 <sup>A</sup>	1.13 <sup>A</sup>	1.14 <sup>A</sup>	1.06 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>
<b>Bismak</b>	1.74 <sup>A</sup>	1.46 <sup>A</sup>	1.39 <sup>A</sup>	1.84 <sup>A</sup>	1.15 <sup>A</sup>	1.17 <sup>A</sup>	2.02 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.38 <sup>A</sup>	1.68 <sup>A</sup>

Tabell G. Rangering av attributtene fra beskrivende analyse av havredrikk.

	Fersk prøve	30 dager			60 dager			90 dager		
	4 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C	4 °C	20 °C	30 °C
<b>Fargestyrke</b>	4,540 <sup>A</sup>	4,610 <sup>A</sup>	4.40 <sup>A</sup>	4.23 <sup>A</sup>	4.90 <sup>AB</sup>	4.93 <sup>AB</sup>	5.00 <sup>AB</sup>	6.24 <sup>B</sup>	6.16 <sup>B</sup>	6.10 <sup>B</sup>
<b>Fnokker</b>	1,030 <sup>A</sup>	1,010 <sup>A</sup>	1.06 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.02 <sup>A</sup>	1.07 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.16 <sup>A</sup>	1.06 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>
<b>Konsistens</b>	2,570 <sup>ABC</sup>	2,300 <sup>A</sup>	2.41 <sup>AB</sup>	2.27 <sup>A</sup>	4.08 <sup>C</sup>	4.15 <sup>C</sup>	4.02 <sup>BC</sup>	3.22 <sup>ABC</sup>	2.74 <sup>ABC</sup>	2.88 <sup>ABC</sup>
<b>Fethet</b>	2,390 <sup>ABC</sup>	2,240 <sup>AB</sup>	2.34 <sup>ABC</sup>	2.17 <sup>A</sup>	3.77 <sup>C</sup>	3.63 <sup>ABC</sup>	3.70 <sup>BC</sup>	3.06 <sup>ABC</sup>	2.66 <sup>ABC</sup>	2.82 <sup>ABC</sup>
<b>Havresmak</b>	5.84 <sup>A</sup>	4,640 <sup>A</sup>	5.29 <sup>A</sup>	5.03 <sup>A</sup>	4.98 <sup>A</sup>	4.75 <sup>A</sup>	5.32 <sup>A</sup>	5.42 <sup>A</sup>	5.00 <sup>A</sup>	5.64 <sup>A</sup>
<b>Søt smak</b>	4.67 <sup>A</sup>	3,990 <sup>A</sup>	4.23 <sup>A</sup>	4.01 <sup>A</sup>	4.43 <sup>A</sup>	4.37 <sup>A</sup>	4.65 <sup>A</sup>	3.16 <sup>A</sup>	3.40 <sup>A</sup>	3.08 <sup>A</sup>
<b>Syrlig smak</b>	1,430 <sup>A</sup>	1,200 <sup>A</sup>	1.16 <sup>A</sup>	1.33 <sup>A</sup>	1.38 <sup>A</sup>	1.07 <sup>A</sup>	1.53 <sup>A</sup>	1.56 <sup>A</sup>	1.76 <sup>A</sup>	1.70 <sup>A</sup>
<b>Kokt smak</b>	1,000 <sup>A</sup>	1,010 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.40 <sup>A</sup>	1.28 <sup>A</sup>	1.20 <sup>A</sup>	1.58 <sup>A</sup>	1.36 <sup>A</sup>	1.34 <sup>A</sup>
<b>Brent smak</b>	1,010 <sup>A</sup>	1,000 <sup>A</sup>	1.26 <sup>A</sup>	1.06 <sup>A</sup>	1.07 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.20 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>
<b>Besk smak</b>	1,300 <sup>A</sup>	1,200 <sup>A</sup>	1.29 <sup>A</sup>	1.20 <sup>A</sup>	1.48 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>	1.58 <sup>A</sup>	1.62 <sup>A</sup>	1.98 <sup>A</sup>	1.96 <sup>A</sup>
<b>Oksidert smak</b>	1,010 <sup>A</sup>	1,030 <sup>A</sup>	1.01 <sup>A</sup>	1.04 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.02 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.02 <sup>A</sup>
<b>Bismak</b>	1,310 <sup>A</sup>	1,170 <sup>A</sup>	1.03 <sup>A</sup>	1.14 <sup>A</sup>	1.18 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>	1.10 <sup>A</sup>	1.14 <sup>A</sup>	1.08 <sup>A</sup>



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

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway