



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2024 30 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Betydning av lagring av melk på kvalitetssegenskaper til ferskost

The influence of milk storage on the quality
properties of fresh cheese

Sofie Dreyer Heimen

Matvitenskap – Produksjon og utvikling av næringsmidler

Forord

Denne oppgaven ble utført som et avsluttende arbeid i et femårig studieløp i matvitenskap og ernæring, retning produksjon og utvikling av næringsmidler ved Norges miljø- og biovitenskaplige universitet. Arbeidet ble gjennomført våren 2024, og oppgaven utgjør 30 studiepoeng.

Jeg vil først og fremst rette en stor takk til veilederne mine Siv Skeie og Anne-Grethe Johansen for all hjelp gjennom dette arbeidet. Siden start har dere vært tilgjengelige for spørsmål, delt kunnskap og konstruktive tilbakemeldinger. Jeg har alltid blitt møtt med et smil, noe jeg setter veldig pris på.

Jeg ønsker å takke alle som har hjulpet til i det praktiske arbeidet. Spesielt vil jeg takke til Ahmed Abdelghani, May Helene Aalberg og Kari Olsen for all hjelp, kunnskapsutveksling og gode diskusjoner på lab. Dere takkes også for sammen med Laila, Ann-Helen og resten av gjengen for alle samtaler og stunder, det har gjort dagene på lab ekstra fine. Det rettes også en takk til Ola Tjåland og Marius Normann for god hjelp med planlegging og utførelse av det praktiske arbeidet i piloten, selv på dager som ble ekstra lange.

Tusen takk til venner og medstudenter for fem fantastiske år på Ås. Takk for alle stunder på lesesalen, for alle litt for lange lunsjpauser, og alt annet sprell vi har funnet på sammen. Til slutt vil jeg takke mamma for oppmuntrende ord, lange telefonsamtaler og for å være min beste støttespiller.

Norges miljø- og biovitenskaplige universitet

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Ås, mai 2024

Sofie Dreyer Heimen

Sammendrag

Pseudomonas spp. er en av de mest tallrike bakterieslektene som finnes i rå melk. Dette er psykrotrofe bakterie som betyr at de kan vokse ved lave temperaturer ($<7^{\circ}$), og overlever derfor kjølelagring av melk. Disse bakteriene kan produsere termotabile ekstracellulære proteinaser. Slike enzymer kan hydrolysere proteinene i melken som kan føre til kvalitetsødeleggelse og redusert holdbarhet av melk og meieriprodukter. Det er derfor hensiktsmessig å kartlegge hvordan en slik proteolytisk aktivitet påvirker kvalitetsegenskaper til meieriprodukter.

I denne studien ble det undersøkt hvordan lagring av rå melk og vekst av psykrotrofe bakterier påvirket kvalitetsegenskaper til ferskost. Dette ble gjort ved å yste ferskost av fersk melk og av melk som var lagret i 3 dager. Det ble også ystet ferskost av melk som var tilsatt $\log 3$ kde/mL *Pseudomonas* spp. Ystemelkens bakterievekst, kjemiske sammensetning, innhold av organiske syrer og karbohydrater, og innhold av flyktige aromakomponenter ble analysert. For ferskost ble det også gjennomført mikrobiologisk analyse, samt en rekke kjemiske og reologiske analyser. Proteinsammensetningen i myse fra ferskost ble også analysert. Det ble også gjennomført en sensorisk profilering for å kartlegge smaksprofilen til ferskost. I forkant av forsøket ble det gjennomført prøveystinger for å standardisere forbehandlingen av ystemelken.

Resultatene viste at lagring av ystemelk hadde størst effekt på kvalitetsegenskapene til ferskost. Lagring av rå ystemelk kan tett knyttes til en økning av psykrotrofe bakterier og proteolytisk aktivitet. I denne studien ledet lagring til en økning fra $\sim \log 3$ kde/mL til $\sim \log 6$ kde/mL psykrotrofe bakterier i rå ystemelk, noe som hadde konsekvenser for ferskost ystet av denne melken. Ystemelkens lagringstid hadde ingen effekt på det totale proteininnholdet i ferskost, men det påvirket proteinsammensetningen. Det ble funnet en større konsentrasjon α_{s1} -kasein i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk, mens konsentrasjonen av β -kasein i ferskost ble ikke påvirket. Lagring av ystemelk førte også til et lavere innhold av laktose og glukose, samt redusert produksjon av acetaldehyd i ferskost. Sensorisk profilering av ferskost viste at lagring av ystemelken hadde ingen effekt på den sensoriske oppfatningen av produktet.

Abstract

Pseudomonas spp. is one of the most abundant genera of bacteria found in raw milk. These are psychotropic bacterium which means that they can grow at low temperatures ($<7^{\circ}$) and therefore survive cold storage of milk. These bacteria can produce thermostable extracellular proteinases. Such enzymes can hydrolyse the proteins in the milk which can lead to quality destruction and reduced shelf life of milk and dairy products. It is therefore of interest to map how such proteolytic activity affects the quality properties of dairy products.

In this study, it was investigated how the storage of raw milk, and the growth of psychotropic bacteria affected the quality properties of fresh cheese. This was done by making fresh cheese from fresh milk and from milk that had been stored for 3 days. Fresh cheese was also made from milk to which $\log 3$ kde/mL *Pseudomonas* spp had been added. The cheese milk's bacterial growth, chemical composition, content of organic acids and carbohydrates, and content of volatile aroma components were analysed. For fresh cheese, microbiological analysis was also carried out, as well as a number of chemical and rheological analyses. The protein composition in whey from fresh cheese was also analysed. Sensory profiling was also carried out to map the tasting profile of fresh cheese. Ahead of the experiment, the cheese making process was tested to standardize the pre-treatment of the cheese milk.

The results showed that the storage of cheese milk had the greatest effect on the quality properties of fresh cheese. Storage of raw cheese milk can be closely linked to an increase in psychotropic bacteria and proteolytic activity. In this study, storage led to an increase from $\sim \log 3$ kde/mL to $\sim \log 6$ kde/mL of the number of psychotropic bacteria in raw cheese milk, which had consequences for fresh cheese made from this milk. The storage time of the cheese milk had no effect on the total protein content of fresh cheese, but it did affect the protein composition. A greater concentration of α s1-casein was found in fresh cheese made from stored milk than in fresh cheese made from fresh milk, while the concentration of β -casein in fresh cheese was not affected. Storage of cheese milk also led to a lower content of lactose and glucose, as well as reduced production of acetaldehyde in fresh cheese. Sensory profiling of fresh cheese showed that storage of the cheese milk had no effect on the sensory perception of the product.

Innhold

1. Innledning	1
1.1 Hensikt	1
2. Teori.....	2
2.1 Melkens sammensetning	2
2.1.1 Kasein	3
2.1.2 Myseprotein	4
2.2 Ferskost	5
2.3 Kvarg.....	7
2.4 Konsentrert yoghurt.....	10
2.5 Syrekultur	11
2.6 Psykrotrofe bakterier i melk.....	11
2.7 Reologi	13
2.7.1 Teksturanalyse	14
2.7.2 Oscillasjonstest	15
3. Materialer og metoder.....	17
3.1 Forsøksdesign.....	17
3.2 Forforsøk og prøveysting	18
3.2.1 Analyser.....	22
3.3 Hovedforsøk	23
3.3.1 Produksjon av ferskost.....	23
3.3.2 Oppdyrking av Pseudomonas 9	23
3.3.3 Melkebehandling	24
3.3.4 Syrekultur	25
3.3.5 Løpe	26
3.3.6 Ysteprosessen	26
3.4 Hovedforsøk - Analyser	29
3.4.1 FTIR.....	29
3.4.2 pH	29
3.4.3 Mikrobiologiske analyser	30
3.4.4 Proteininnhold	31
3.4.5 Organiske syrer og karbohydrater	32
3.4.6 Flyktige aromakomponenter.....	33

3.4.7 Tørrstoffinnhold.....	34
3.4.8 Kapillær elektroforese (CE).....	34
3.4.9 Kalsiuminnhold	36
3.4.10 Teksturanalyse	37
3.4.11 Viskoelastisitet.....	38
3.4.12 Sensorisk analyse.....	39
3.5 Databehandling.....	41
4. Resultater	41
4.1 Forforsøk	41
4.1.1 Mikrobiologi.....	41
4.1.2 Proteininnhold	42
4.1.3 Tørrstoffinnhold.....	43
4.1.4 Sensorisk profilering.....	43
4.1.5 Likingstest	45
4.2 Hovedforsøk	46
4.2.1 Ystemelk.....	46
4.2.2 Ferskost.....	50
4.2.3 Myse	64
5. Diskusjon	65
5.1 Forforsøk	65
5.2 Hovedforsøk	67
Effekt av lagring av rå ystemelk.....	67
Effekt av bakterietilsetning til rå ystemelk.....	72
5.3 Oppsummering	74
6. Videre arbeid.....	75
7. Litteraturliste.....	77
8. Vedlegg.....	81

1. Innledning

Psykrotrofe bakterier finnes naturlig i melk. Dette inkluderer *Pseudomonas* spp., som er en av de mest fremtredende bakteriene i rå melk (Adams et al., 2016; Walstra et al., 2006). Typisk trives disse type bakterier best ved moderate til varme temperaturer (25-30°C), men er også stand til å overleve og vokse ved kjøligere temperaturer <7°C (Narvhus et al., 2021). I et langstrakt land som Norge kan det ta flere dager fra kua melkes til melken varmebehandles på meieriet. I løpet av denne tiden kjølelagres melken for å hindre omfattende bakterievekst, men psykrotrofe bakterier vil kunne vokse i denne perioden. De fleste psykrotrofe bakterier kan produsere termostabile proteolytiske og lipolytiske enzymer. Dette påvirker kvaliteten på melken som kan påvirke holdbarheten til meieriprodukter (Sørhaug & Stepaniak, 1997). Som et resultat av dette er økt matsvinn langs hele produksjons- og konsum, og store økonomiske tap.

I moderne meieriproduksjon er det observert en økning i etterspørsel og produksjon av magre og proteinrike meieriprodukter, dette inkluderer ferskost, yoghurt og andre lignende produkter (Landbruksdirektoratet, 2024). En forståelse over hvordan kjølelagring av rå melk påvirker ferskostkvalitet er derfor viktig for meieriindustrien for å kunne produsere ferskost av høy kvalitet.

1.1 Hensikt

Målet med denne oppgaven var å yste ferskost av melk av varierende kvalitet. Det ble fokusert på melkens lagringstid og innhold av psykrotrofe bakterier. Det var ønskelig å utforske hvordan disse variablene påvirket kvaliteten på det ferdige produktet. Det ble undersøkt om faktorene hadde effekt på det mikrobiologiske og kjemiske innholdet i ferskost, samt om dens reologiske egenskaper ble påvirket. Effekten av melkens kvalitet på ferskostens smaksprofil og sensoriske opplevelse ble også analysert.

2. Teori

Dette kapitlet beskriver melkens sammensetning, med fokus på proteinene i melken, hva en ferskost er og hvordan det fremstilles. Hva økt innhold av psykrotrofe bakterier i melken betyr, og hvordan påvirker bakteriene melkeråstoffet og det ferdige meieriproduktet. Sentrale analysemetoder brukt i denne studien er også beskrevet i dette kapitlet.

2.1 Melkens sammensetning

Melk er en væske som sekreseres fra melkekjertlene hos pattedyr med det formål å gi avkom næring til vokse. Melken vil kunne gi avkommet fullverdig næring den første tiden med sin sammensetning av vann, proteiner, fett, karbohydrater, vitaminer og mineraler (Adams et al., 2016). Innholdet av næringsstoffer i melk varierer mellom arter, i kumelk er det omtrent 87,1% vann, 3,3% proteiner og 4,0% fett (Walstra et al., 2006). En mer detaljert oversikt over de ulike komponentene og sammensetningen i kumelk er presentert i Tabell 1. Forskjeller i sammensetning skyldes i stor grad genetiske faktorer. Andre faktorer som kan ha en innvirkning på sammensetningen er blant annet laktasjonstid, årstid, fôr, helsetilstanden til melkekua og intervall mellom melkingen.

Tabell 1. Omtrentlig sammensetning av melk ifølge Walstra et al. (2006).

Komponent	Gjennomsnittlig innhold i melk (% w/w)	Variasjon* (% w/w)
Vann	87,1	85,3 – 88,7
Protein**	3,3	2,3 – 4,4
Kasein	2,6	1,7 – 3,5
Fett	4,0	2,5 – 5,5
Laktose	4,6	3,8 – 5,3
Mineraler	0,7	0,57 – 0,83
Organiske syrer	0,17	0,12 – 0,21

*Variasjon blir sjelden overskredet i melk fra (individuelle) friske kyr.

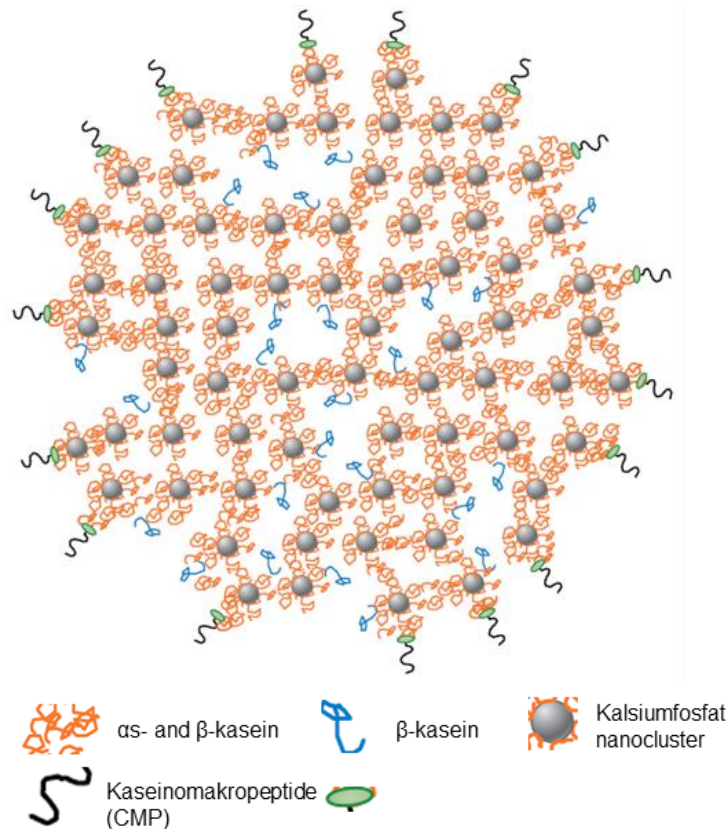
**Ikke-protein forbindelser er ikke inkludert.

2.1.1 Kasein

Proteinene i kumelk kan kategoriseres i to hovedgrupper; kaseiner og myseproteiner. I tillegg er en liten prosentandel av proteinene sporfraksjoner av glykoproteiner (Bhat et al., 2016). Kaseinene utgjør omtrent 80% av melkens totale proteininnhold og består av flere mindre komponenter. De fire viktigste kaseinfraksjonene er α_{s1} -, α_{s2} -, β - og κ -kasein (-CN) (Walstra et al., 2006). Konsentrasjonen av α_{s1} -, α_{s2} -, β - og κ -CN i kumelk er normalt henholdsvis 12-15, 3-4, 9-11 og 2-4 g/L (McSweeney & Fox, 2013). Kaseiner er fosfolipider, og varierer de også i grad av fosforylering (Fox et al., 2015). Vanligvis har α_{s1} -kasein 8 eller 9 fosforyleringer, α_{s2} -kasein mellom 10-13 fosforyleringer, β -kasein har 5 eller 4, og κ -kasein 1-2, eller i noen tilfeller 3 (Fox et al., 2015).

Kasein forekommer som kaseinmiceller i melken, dette er komplekse aggregater dannet av kaseinmolekyler og kalsiumfosfat (Walstra et al., 2006). Fosforyleringen av kaseinene er avgjørende for dannelsen av disse micellene. Den negative ladningen til fosfatgruppene trekker til seg positive kalsiumioner, som muliggjør bindingen mellom kasein og kalsium for å danne kaseinmiceller (Fox et al., 2015). Det betyr at proteinfraksjoner med få fosfatbindinger lettere brytes ned enn de med flere fordi de er svakere bundet til kaseinmicellen (Fox et al., 2015).

Kaseinmicellens oppbygning og struktur er enda et omdiskutert emne blant forskere (Walstra et al., 2006). Dalglish & Corredig (2012) sin foreslåtte kaseinmicelle-struktur er illustrert i Figur 1. Det forskere finner enighet om, er overflaten av til kaseinmicellen. κ -kaseinene opptrer som et «hårete»-ytterlag på kaseinmicellens overflate som omslutter kalsium-sensitive og hydrofobe α_{s1} -, α_{s2} - og β -kaseiner (Dalglish & Corredig, 2012; McSweeney & Fox, 2013). Den C-terminale enden av κ -kaseinet er vendt ut mot serumfasen og kalles for kaseinmakropeptider (CMP) (Dalglish & Corredig, 2012). Disse fungerer som stabilisatorer for kaseinmicellen, fordi deres negative ladning hindrer micellen fra å aggregere sammen med andre kaseinmiceller eller andre store partikler i melken (Dalglish & Corredig, 2012; McSweeney & Fox, 2013).



Figur 1. Snitt av en kaseinmicelle i løsnings, hulrommene i figuren er vannfylte. α -og β -kaseinene som er vist i oransje, er bundet til kalsiumfosfat. De blå β -kaseinene er kaseiner som kan danne hydrofobe bindinger med andre kaseiner. Ytterst på strukturen befinner κ -kasein seg bundet til kaseinmakropeptider (CMP). Det er verdt å merke at figuren ikke er illustrert i målestokk, dermed er ikke proporsjonene riktig. Dette er gjort for klarhetens skyld. Figuren er hentet fra Dalgleish & Corredig (2012).

Det isoelektriske punktet til kasein er ved pH \sim 4,6 (Walstra et al., 2006). En pH-nedgang ned til pH 4,6 vil nøytralisere CMPs negative ladning og dette vil gjøre kaseinmicellene ustabile, noe som vil igjen vil føre til aggregering mellom micellene, og kasein felles ut (Fox et al., 2015).

2.1.2 Myseprotein

Myseproteiner er serumproteiner som betyr de befinner seg i serumfasen av melken (Walstra et al., 2006). De er globulære proteiner som er kompakt foldede peptidkjeder, med en stor andel alfahelikser og betaflak (Walstra et al., 2006).

De to proteinene som utgjør den største andelen av myseprotein er β -laktoglobulin og α -laktalbumin, mens det finnes flere typer protein i mindre mengder, som for eksempel serumalbumin (BSA) og immunoglobuliner (Fox et al., 2015). β -laktoglobulin utgjør omtrent 50 % av det totale innholdet av myseproteiner i kumelk, α -laktalbumin utgjør omtrent 20 %. På grunn av den store andelen av β -laktoglobulin, vil egenskapene til myseproteinene i stor grad domineres av egenskapene til β -laktoglobulin (Walstra et al., 2006). I motsetning til kasein, vil ikke myseproteiner felles ut ved pH 4,6, men forbli løselig (Fox et al., 2015). Myseproteiner er dog mer sensitive for varme enn hva kasein er (Walstra et al., 2006).

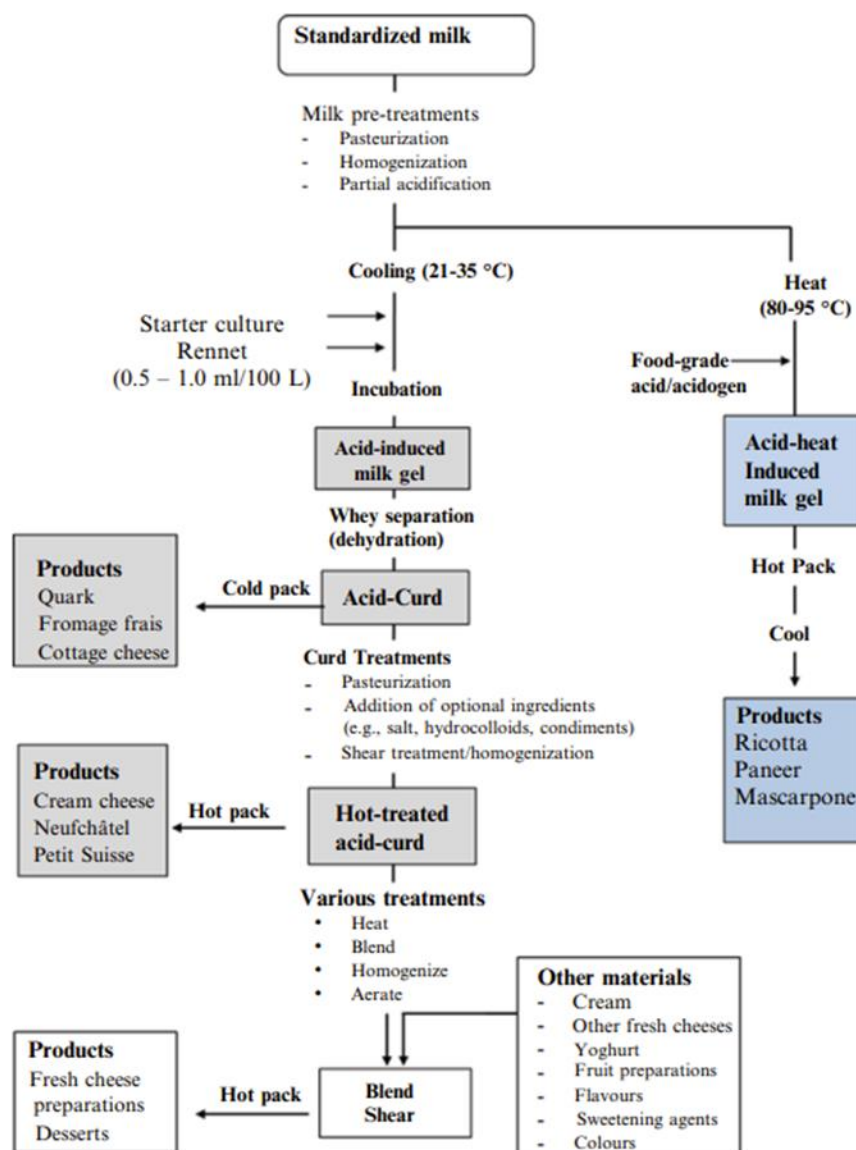
2.2 Ferskost

Ferskost beskriver ost som produseres ved syrekoagulering av melk, fløte eller myse, som er klar til bruk umiddelbart etter produksjon, uten noen form for modning (Fox et al., 2016; Walstra et al., 2006). Det finnes mange varianter av ferskost. Mengden og bruken varierer veldig mellom ulike områder i verden. Det er to metoder som hovedsakelig brukes for å syrne melken og starte koaguleringen av melkeproteinene. Det kan gjøres ved at melkesyre produseres av en tilsatt syrekultur av melkesyrebakterier, eller ved å tilsette syre direkte i melk (Abrahamsen et al., 2024). I denne studien fokuseres det på førstnevnte metode.

Syrningen kan skje i kombinasjon med en liten mengde løpe og/eller i kombinasjon med varme (Fox et al., 2016). Ved produksjon av ferskost vil koaguleringen inntreffe nært kaseins isoelektriske punkt (pH 4,6), til forskjell fra en løpefelt ost hvor koaguleringen vil skje rundt pH 6,4-6,6 (Fox et al., 2016). Koaguleringen kan inntreffe ved høyere pH verdier om andre variabler forandres, eksempelvis om fermenteringstemperaturen er høy, om det tilsettes en liten mengde løpe eller om myseproteinene er blitt denaturert under varmebehandling av melken (Fox et al., 2016). Eksempler på ferskoster hvor det tilsettes små mengder løpe i tillegg til syrekulturen er cottage cheese og kvarg, dette kan medføre en fastere gel, samtidig som det kan minimere tap av kasein til mysen under myseavrenning (Fox et al., 2016). Vanninnholdet i ferskost er høyt, det er derfor et produkt som er sårbart for mikrobiell ødeleggelse. Det gjør at holdbarheten til ferskost er begrenset i forhold til modnede oster (Abrahamsen et al., 2024).

All melk som blir brukt til produksjon av ferskost må separeres, standardiseres, pasteuriseres og homogeniseres før videre ysting. Hvilke betingelser som legges til grunn for disse behandlingene, vil avhenge av hvilket resultat og produkt som ønskes oppnådd. For eksempel

vil standardisering og homogenisering være nødvendig om ystemelken skal ha et høyere innhold av fett enn skummetmelk (Fox et al., 2016). Pasteurisering er høyst nødvendig for å drepe patogene organismer som er til stede i rå melk, for å garantere trygg mat til forbrukerne (Walstra et al., 2006). Patogener som kan være til stede i upasteurisert rå melk kan eksempelvis være *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* og *Escherichia coli* (Walstra et al., 2006). I Norge er det lovpålagt (i Melkeforskriften) at all melk til konsum skal varmebehandles og at melk som skal brukes til produksjon av meieriprodukter også må varmebehandles (Sosialdepartementet, 1995). Figur 2 viser et generelt flytskjema etter den nødvendige melkebehandlingen for å produsere ulike typer ferskoster.



Figur 2. Generell oversikt over produksjon av ferskost og andre lignende produkter. Figur fra Fox et al. (2016).

Selv om pasteurisering av melken blir gjort for å drepe uønskede organismer, kan varmebehandlingen også påvirke andre faktorer i sluttproduktet. De to typene pasteurisering som oftest gjøres på melk til konsum er høy temperatur, kort tid (HTST = «High-Temperature Short-Time») og ultrahøy temperatur (UHT = «Ultra-High Temperature»). Standard HTST-pasteurisering er gjort ved 72°C i 15 sekunder. For UHT-pasteurisering gjøres varmebehandlingen ved 125-150°C i noen sekunder (Abrahamsen & Narvhus, 2022; Walstra et al., 2006).

Varmebehandling av melk kan ha stor påvirkning på viskositeten i syrnede meieriprodukter som for eksempel yoghurt og ferskost. Hovedårsaken til dette er myseproteinenes oppførsel når de utsettes for varme (Fox et al., 2016; Narvhus & Abrahamsen, 2022b). Ved temperaturer over 65°C begynner myseproteinene å utfolde og vil kunne binde seg til kaseinmicellene (Fox et al., 2016). Denne interaksjonen vil føre til at vannbindingsevnen økes, som igjen vil føre til en økning i viskositet (Narvhus & Abrahamsen, 2022b). Desto høyere temperatur melken blir utsatt for og over lengre tid, desto større vil denatureringsgraden være, og også desto større økning i viskositet i sluttprodukt vil forekomme (Fox et al., 2016).

Ferskost er et produkt der det har vært en økning i produksjon og etterspørsel de siste årene. Landbruksdirektoratets nyeste markedsrapport (2024) sier følgende; «Det ble brukt betydelig mer melk til å produsere fersk ost, sammenlignet med 2022», og denne viser til en økning på 22,5 % fra 2022 til 2023. Ifølge rapporten fra 2023 ble 67 millioner liter melk brukt til produksjon av ferskoster distribuert gjennom dagligvare-leddet (Landbruksdirektoratet, 2024). En av årsakene til at det har blitt et populært produkt kan være at enkelte av disse ferskostene oppfattes som sunne produkter og som ideelle for muskelbygging på grunn av det høye proteininnholdet. På grunn av den myke konsistensen er ferskost også ansett som et trygt produkt for småbarn (Fox et al., 2016).

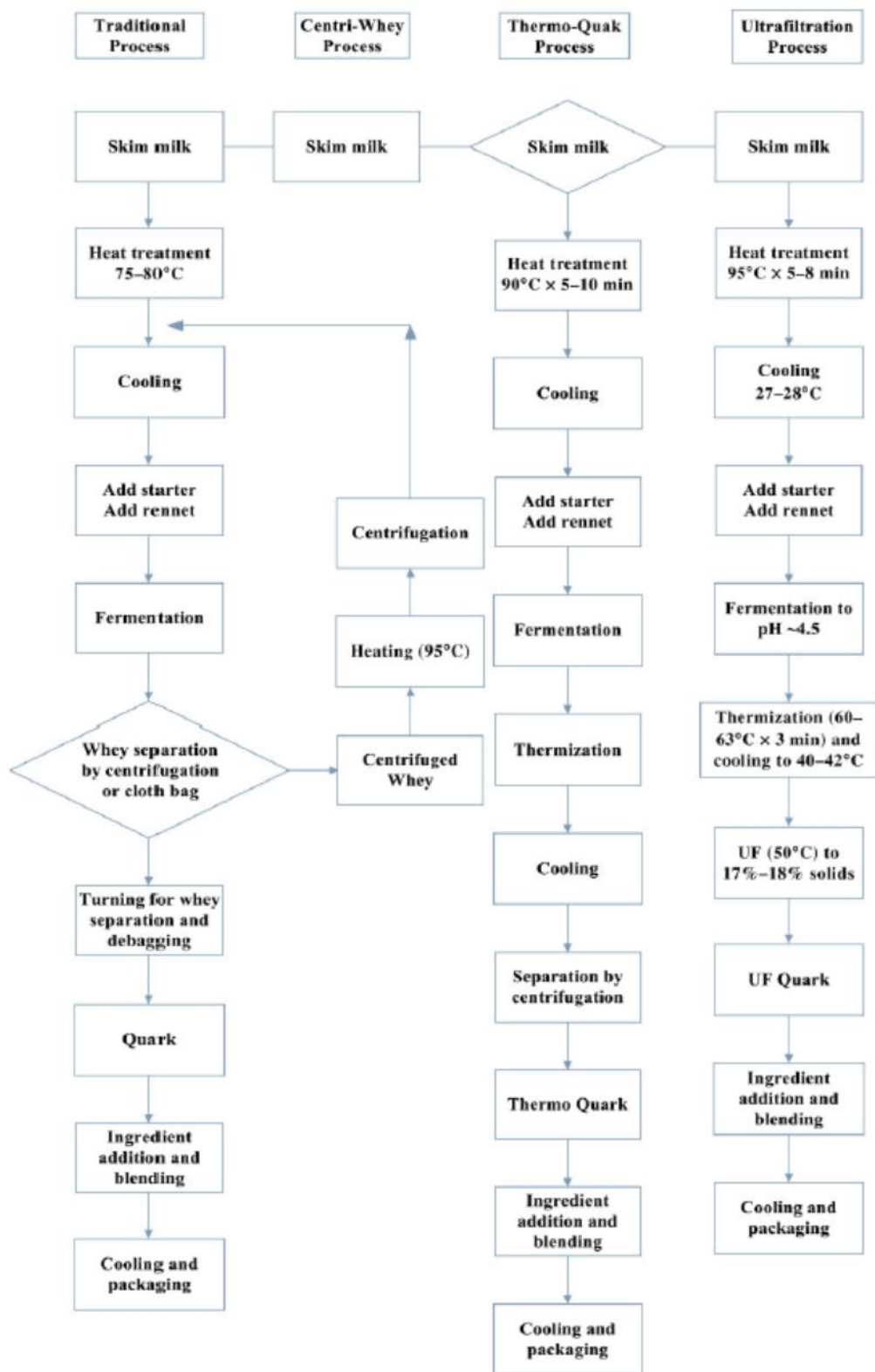
2.3 Kvarg

Kvarg er et tysk begrep som betyr «ostemasse», og kan anses som en av de eldste ostene (Abrahamsen et al., 2024). Det er en proteinrik ost med en smørbar, myk og glatt konsistens, og en mild syrlig smak. Fargen på osten kan variere etter hvilket fettinnhold den har, og hvilken type melk som blir brukt. Typisk har kvarg en melkehvit farge eller en svak gulhvitt farge (Abrahamsen et al., 2024; Chauhan et al., 2022). Kvarg har et høyt vanninnhold (70-82 %), noe som er med på å gi osten den myke konsistensen, men dette betyr også en kort

holdbarhetstid, mellom 2-3 uker (Chauhan et al., 2022; Schulz-Collins & Senge, 2004). Gjennom denne holdbarhetsperioden er det ønskelig at osten skal holde på fuktigheten og at det ikke skjer spontan synerese, samt at den ikke skal miste den glatte konsistensen og bli kornete (Chauhan et al., 2022).

Kvarg kan fremstilles ved bruk av flere metoder (som illustrert i Figur 3). Etter varmebehandling av ystemelken kjøles den ned til ønsket fermenteringstemperatur. Denne temperaturen bestemmes av hvilken syrekultur som skal brukes og ønsket fermenteringstid, lavere temperaturer vil forlenge fermenteringstiden (McSweeney et al., 2017). Hvilken syrekultur som blir brukt for å yste kvarg varierer, men typisk brukes det en mesofil blandingskultur for å yste en tradisjonell kvarg (McSweeney et al., 2017). Dette inkluderer vanligvis *Lactococcus (Lc.) cremoris* subsp. *cremoris* og *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc (Leuc.) mesenteroides* subsp. *cremoris* og den sitratpositive *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis* (Abrahamsen et al., 2024; McSweeney et al., 2017). *Lc. cremoris* subsp. *cremoris* og *Lc. lactis* subsp. *lactis* er homofermentative (inngår i O-kulturer), og metaboliserer ikke sitrat og dermed produserer ikke disse CO₂. De sitratpropositive *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* og *Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris* vil metabolisere sitrat til ulike smakskomponenter og CO₂ (inngår i DL-kulturer) (Abrahamsen et al., 2024; Walstra et al., 2006).

Mysedrenering er et sentralt trinn ved produksjon av kvarg. Dette er et trinn som kan utføres på flere måter. Figur 3 illustrerer fremstilling av kvarg ved bruk av den tradisjonelle metoden, termo-kvarg metoden og ved bruk av ultrafiltreringsmetoden (UF-metoden). I disse metodene blir mysen drenert på ulikt vis.



Figur 3. Metoder for fremstilling av kvarglignende oster. Figuren er tegnet på nytt av Farkye (2017), etter Puhan et al. (1994).

I den tradisjonelle metoden for fremstilling av kvarg, som også kan refereres til som sekkemetoden, blir det brukt ostesekker for å drenering av mysen (Abrahamsen, 1975; Abrahamsen et al., 2024). Ostemassen overføres til ostesekker som henges for at mysen skal kunne filtreres vekk. Deretter blir sekkene knytt og påført et forsiktig press. Tidligere ble dette gjort manuelt, men med tiden har det blitt utviklet egne kvargpresser som kan gjøre dette (Abrahamsen et al., 2024). Etter mysedrenering ved bruk av sekker vil ikke ostemassen være homogen, derfor er det nødvendig med en prosess for å gjøre massen homogen slik at kvargen får den ønskede glatte teksturen.

Med tiden ble egne kvargseparatorer inkorporert i ysteprosessen. Dette er en type sentrifuge som bruker sentrifugalkraften for å skille mysen fra den koagulerede ostemassen. Mysen skilles ut gjennom små åpninger i sentrifugeveggene (Walstra et al., 2006). Ved å bruke denne metoden fremfor sekkemetoden vil det være enklere å kontrollere vanninnholdet i osten ettersom hastigheten på strømmingen kan justeres. Pumpingen inn og ut av separatorene vil også bidra til at å jevne ostemassen ut til en glatt og homogen masse, derfor er det ikke nødvendig med påfølgende prosesstrinn for å gjøre dette som det er i sekkemetoden (Walstra et al., 2006). Ved bruk av UF-metoden blir ultrafiltrering benyttet for mysedreneringen. Begge disse mekaniske metodene er mer effektive enn sekkemetoden. I moderne industriell produksjon av kvarg brukes hovedsakelig kvargseparatorer eller ultrafiltrering for å skille ostemassen fra mysen, men sekkemetoden kan være en nyttig metode ved i forsøksvirksomhet eller ved produksjon av mindre volumer (Abrahamsen, 1975; Abrahamsen et al., 2024).

2.4 Konsentrert yoghurt

Det er likheter i fremstillingen av ferskost og konsentrert yoghurt, noe som gir grunnlag for å trekke paralleller mellom disse produktene. Konsentrerte yoghurter er yoghurt som har vært gjennom en prosess for å redusere vanninnholdet (McSweeney et al., 2017). Konsentrert yoghurt har et høyere protein- og tørrstoffinnhold enn normal yoghurt på grunn av en oppkonsentrering av kasein (McSweeney et al., 2017). Eksempler på slike type produkter er Skyr (TS = 20-25 %), Labneh (TS = 20-21 %) og Gresk/gresk type yoghurt (TS = 20-25 %) (Kilara & Chandan, 2013; Narvhus & Abrahamsen, 2023; Tarakci et al., 2011).

I likhet med kvarg er en sentral del av produksjon av konsentrert yoghurt drenering av myse. Dette kan også utføres ved bruk av ostesekker, mekanisk separering eller ultrafiltrering (McSweeney et al., 2017). Men, i kontrast til kvarg så synes konsentrert yoghurt tradisjonelt

ved bruk at termofil syrekultur (Abrahamsen et al., 2024; Walstra et al., 2006). Yoghurtbakteriene består av *Streptococcus (S.) thermophilus* og *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*). Metabolismen til en slik syrekultur er annerledes enn en syrekultur som normalt brukes i kvarg og den vil derfor produsere andre metabolitter og aromakomponenter (Walstra et al., 2006).

2.5 Syrekultur

I denne studien ble det brukt en enkeltstamme-syrekultur bestående av *S. thermophilus*. Dette er en termofil melkesyrebakterie som har optimal veksttemperatur mellom 37-42°C (Fuquay et al., 2011; Narvhus & Abrahamsen, 2022a). Den vil forbruke laktose i melk for å produsere melkesyre, på en homofermentativ måte. Melkesyreproduksjonen vil senke pH i melken, og når pH er mellom 4,3 – 4,5 vil veksten av *S. thermophilus* normalt stabiliseres. På dette punktet er antall streptokokker mellom log 7-8 kde/mL (Narvhus & Abrahamsen, 2022a). Ved å syrne melk med *S. thermophilus* vil smaken til produktet i stor grad være dominert av acetaldehyd, som gir den gjenkjennelige «yoghurtsmaken».

Acetaldehydproduksjon fra *S. thermophilus* kan stimuleres på flere måter. Om *S. thermophilus* brukes sammen med *Lb. bulgaricus*, stimuleres *S. thermophilus* i stor grad av små peptider og frie aminosyrer som dannes på grunn av tilstedeværelse av *Lb. bulgaricus*. I en enkeltstamme-syrekultur er det melkens naturlige enzymer som stimulerer veksten av *S. thermophilus*. Enzymet β -galaktosidase hydrolyserer laktose til glukose/galaktose, videre gjennom glykolysen omdannes glukose til pyruvat. Pyruvat dehydrogenase vil igjen omdanne pyruvat til Acetyl CoA og deretter vil aldehyd dehydrogenase konvertere Acetyl CoA videre til acetaldehyd (Chaves et al., 2002; Law, 1981). *S. thermophilus* evner ikke å metabolisere sitrat, derfor vil den heller ikke evne å produsere store mengder diacetyl eller acetoin (Walstra et al., 2006).

2.6 Psykrotrofe bakterier i melk

Kjølelagring av rå melk bidrar til å forhindre bakteriell vekst. Særlig vil det kontrollere veksten av melkesyrebakterier og andre mesofile bakterier, siden disse vokser best ved temperaturer varmere temperaturer (Walstra et al., 2006). Melkesyrebakterier og mesofile bakterier vil kunne hydrolysere laktosen i melken og danne melkesyre, noe som kan føre til en syrning av melken og denaturering av melkeproteinene (McAuley et al., 2016). Det finnes imidlertid

organismer som er kan leve og vokse ved lave temperaturer. Psykrotrofe bakterier er definert som mikroorganismer som kan vokse ved 7°C eller lavere, uavhengig av deres optimale veksttemperatur (Özer & Yaman, 2014). Psykrotrofe bakterier har optimal vekst-temperatur varierende mellom 20 – 30°C, men kan likevel enkelt vokse ved kjøligere temperaturer (1-4°C) (Walstra et al., 2006). Psykrotrofer som oftest finnes i melk er Gram-negative stavbakterier av slektene *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* og *Acinetobacter*, samt *Bacillus* som er Gram-positiv (Adams et al., 2016).

Psykrotrofe bakterier kan produsere enzymer med proteolytisk og lipolytisk effekt. Det er enzymer som kan degradere henholdsvis proteiner og fett (Walstra et al., 2006). Endringer i proteinenes og fettets struktur vil videre kunne påvirke hvordan de aggregerer og dette kan påvirke flere egenskaper, for eksempel produktets konsistens og smak (Fox et al., 2015). De aller fleste psykrotrofe bakterier vil drepes ved varmebehandling av melk, mens enzymene som produseres av bakteriene er svært varmeresistente og vil derfor kunne overleve pasteurisering, noe som vil føre til at ved høy tilstedeværelse av disse enzymene kan man få uønskede endringer i både melk og meiriprodukter (Sørhaug & Stepaniak, 1997; Walstra et al., 2006).

Pseudomonas er en av de mest tallrike bakteriene som finnes i melk (Chen et al., 2003). I en studie utført av Craven & Macauley ble mikroorganismer som er ansvarlige for ødeleggelse av melk isolert (1992). Fersk pasteurisert melk ble testet hver andre uke i 15 måneder, og resultatet viste at over 80% av isolatene var av *Pseudomonas* ssp. (Craven & Macauley, 1992). Proteinaser er en gruppe av proteolytiske enzymer som virker internt på polypeptidkjedene til proteinene (Chen et al., 2003). Basert på virkningsmekanismen av enzymene kan proteinasene deles inn i fire undergrupper; serin proteinaser, cystein proteinaser, asparginsyre proteinaser og metallo proteinaser (Chen et al., 2003). Proteinaser som produseres av *Pseudomonas* spp. er hovedsakelig metallo proteinaser, som er en type proteinaser som avhenger av metallioner for å fungere (Sørhaug & Stepaniak, 1997). De typene proteinaser som kommer fra *Pseudomonas* spp. har som oftest et sinkatom og opptil åtte kalsiumatomer per molekyl (Sørhaug & Stepaniak, 1997).

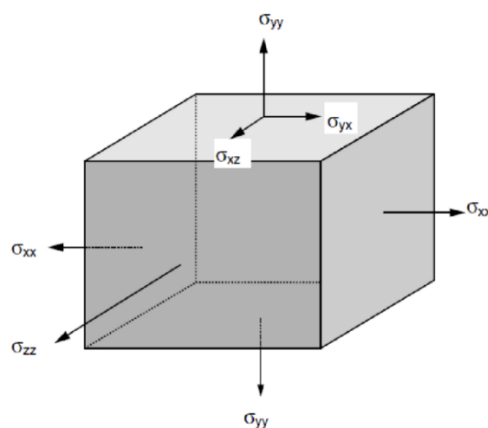
I denne studien er det brukt en *Pseudomonas*-stamme kalt *Pseudomonas* 9. Dette er en stamme isolert i forbindelse med en studie gjort av Narvhus et al. (2021) hvor de undersøkte proteolytiske og lipolytiske egenskaper i ulike isolater av *Pseudomonas*. Alle stammene som ble isolert og identifisert i studien tilhørte gruppen *Pseudomonas* (*P.*) *fluorescens* som

inneholder artene *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. fragi* og *P. psychrophilia* (Narvhus et al., 2021). I denne studien var optimal temperatur for enzymaktivitet forårsaket av *P. fluorescens* 37°C, men at den var 33% av maksimal aktivitet ved 4°C (Narvhus et al., 2021).

2.7 Reologi

Reologi er vitenskapen om hvordan væsker og faste stoffer deformeres og flyter under påvirkning av ytre krefter (Mezger, 2012). Reologiske eksperimenter undersøker hvordan ulike stoffer reagerer ved påført kraft eller stress. Dette er fundamentalt for å forstå og kontrollere oppførselen og egenskapene til næringsmidler under ulike forhold (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003). En forståelse av et produkts reologiske egenskaper kan blant annet gi en forståelse av hvordan et produkt oppfører seg under prosessering. Det kan også være et veldig nyttig bidrag til kvalitetskontroll, da endringer i reologiske egenskaper kan indikere problemer som for eksempel proteinnedbrytning (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003). Reologien av en matvare beskriver viktige momenter innen dens konsistens, tekstur, munnfølelse og flyteegenskaper, og omfatter både elastiske og viskøse egenskaper (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003).

Stress (σ) er et viktig begrep i reologien. Stress påført et stoff er definert som kraft som virker per område, og benevnes med Pascal (Pa) (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003). Hvilken form for stress et materiale utsettes for vil være avhenge av hvilken retning kraften påvirker et materiale (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003). På et legeme likt det som er vist i Figur 4, kan tre stress bli påført på hver side av legemet, ett i hver retning (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003).

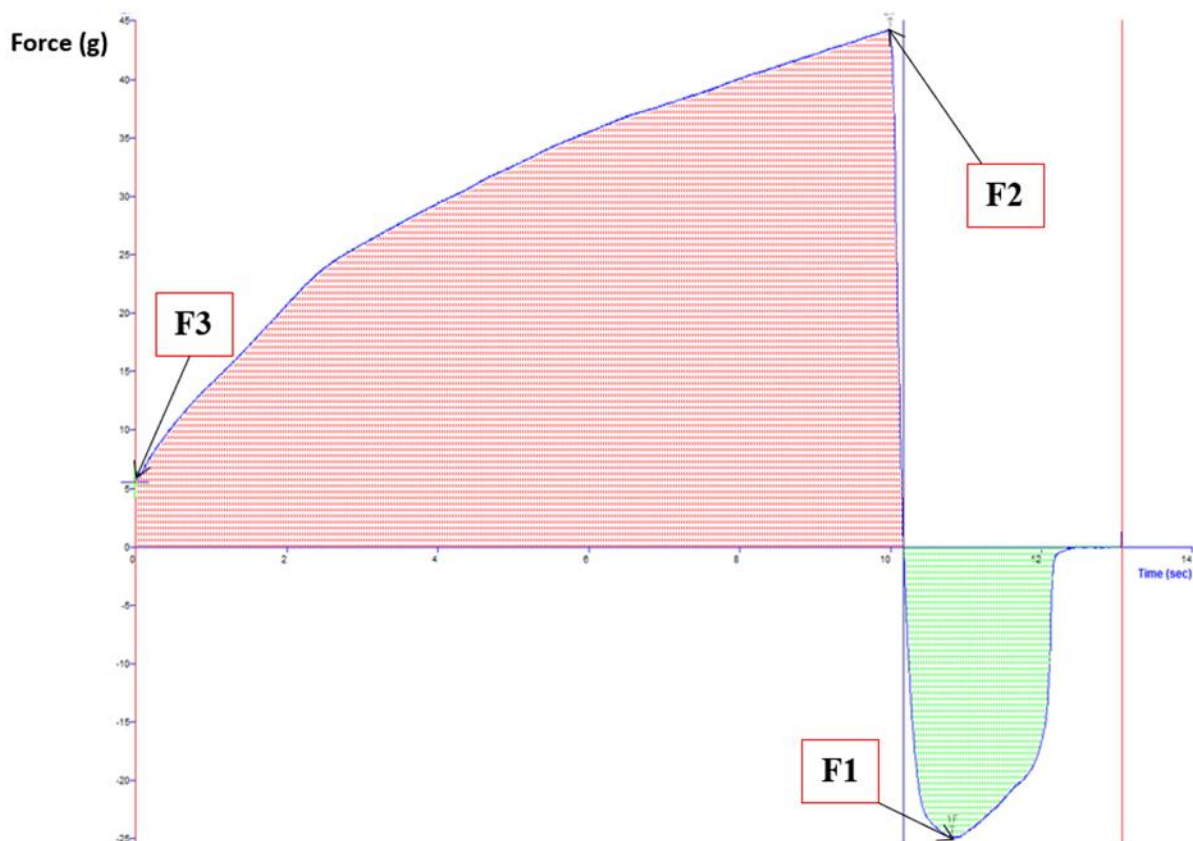


Figur 4. Stress på et legeme. Figur fra (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003).

I et newtonsk stoff vil viskositeten forbli konstant uavhengig av hvor mye stress stoffet tilføres (Mezger, 2012). De fleste matvarer er ikke-newtonske stoff, dette inkluderer ferskost også. Et ikke-newtonsk stoff betyr at viskositeten i stoffet påvirkes ved påført stress (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003; Mezger, 2012). Ferskost og andre lignende produkter har viskoelastiske egenskaper. Det betyr at det har både elastiske egenskaper (faststofflignende egenskaper) og viskøse egenskaper (væskelignende egenskaper) (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003; Mezger, 2012). For å undersøke gelens struktur i slike produkter kan man benytte ulike reologiske analyser, de reologiske analysene som er brukt i denne studien er beskrevet videre.

2.7.1 Teksturanalyse

Ved en penetreringstest i en teksturanalyse, studeres gelens fasthet ved å kjøre en probe med en bestemt kraft (g) og bestemt hastighet (mm/s) i en bestemt distanse (mm) ned i produktet. En slik test kan visualiseres som en graf lik den i Figur 5. I denne studien sammenlignes punktene F1 og F2. Punkt F2 beskriver påført nedtrykkskraft, det vil si hvor stor kraft var nødvendig for at proben skal komme ønsket distanse ned i prøven. Denne kraften sier noe om hvor fast gelen er, jo større kraft som brukes, jo fastere er gelen og produktet (Bourne, 2002). Punkt F1 beskriver vedhengskraften, det er kraften som proben må bruke for å trekkes opp og ut av prøven. Dette er en kraft som forklarer klebrigheten til gelen. En gel med større vedhengskraft vil dermed være mer klebrig enn en med lavere vedhengskraft. En gel med lav vedhengskraft vil tendere til å være mer sprø enn den med høyere vedhengskraft (Bourne, 2002). Punkt 3 var ikke en faktor som ble tatt med i denne studien, men punktet forteller om det oppstår kraftbrudd underveis i analysen.



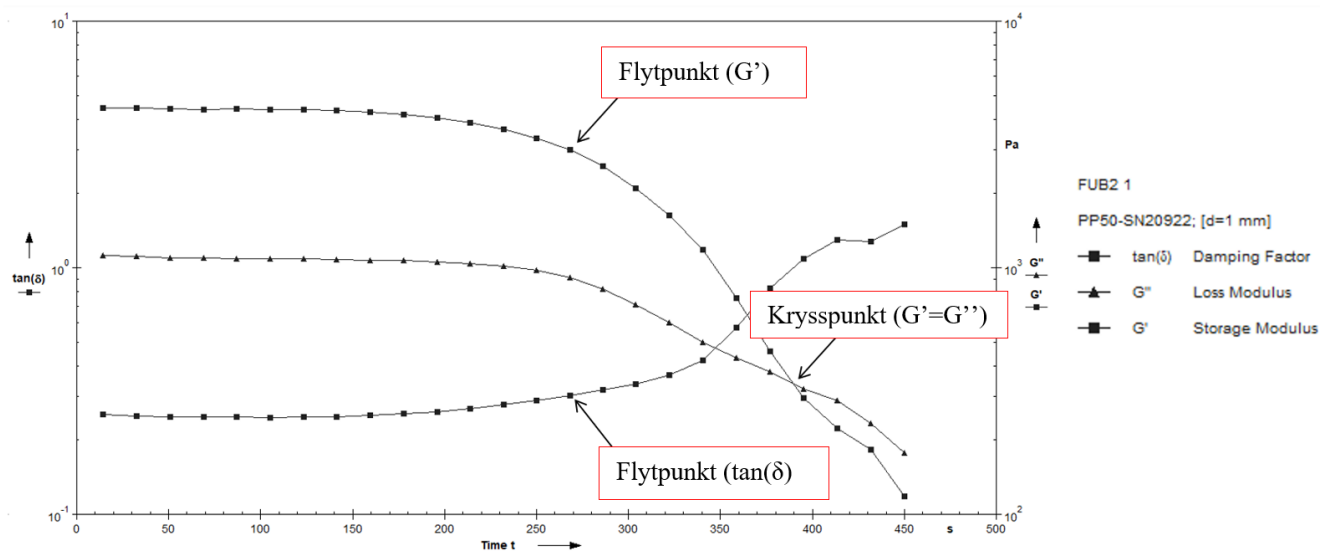
Figur 5. Eksempelgraf fra teksturanalyse av ferskost, forklaring av markerte punkter finnes i avsnittet over figuren.

2.7.2 Oscillasjonstest

For å studere de viskoelastiske egenskapene av et produkt kan det utføres oscillasjonstester (Mezger, 2012). Definisjonen av en oscillerende analyse er hvordan proben beveges frem og tilbake (Mezger, 1998). I denne studien er det utført en oscillasjonstest med plate mot plate med en bestemt distanse imellom (mm) platene, hvor den øverste platen har en oscillerende (svingende) bevegelse. Oscillasjon kan også måles ved bruk av andre prober, for eksempel med bob mot cup (Mezger, 1998). Oscillasjonstesten i denne studien ble utført med amplitudesveip.

En oscillasjonstest utføres med plate mot plate med en bestemt distanse imellom (mm) platene. Den øverste platen har en oscillerende (svingende) bevegelse. I denne studien er det utført en oscillasjonstest med amplitudesveip. Det vil si at oscilleringen utføres med en økende tøyingsamplitude, mens frekvensen holdes konstant (Mezger, 2012). En slik test vil definere det lineære viskoelastiske området (LVR = «Linear Viscoelastic Region») i et produkt. I en

slik test påføres produktet et skjærstress [Pa]. LVR til et stoff er definert som det lineære forholdet mellom kompleks stress og oscillerende tøyning påført stoffet, og strekker seg helt til flytpunktet (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003; Mezger, 1998). «Yield point» eller flytpunktet representerer terskelskjærspenningen til et fast stoff i hvile vil begynne å flyte (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2003). Flytpunktet er illustrert i Figur 6.



Figur 6. Eksempelgraf fra oscillasjonstest av ferskost. Forklaringen av markerte punkter er forklart i avsnittene over og under figuren.

G' og G'' [Pa] er også viktige parametere i en oscillasjonstest for å kartlegge en gels viskoelastiske egenskaper. Lagringsmodulen, G' , beskriver de elastiske egenskapene til et stoff. Tapsmodulen, G'' , beskriver de viskøse egenskapene til et stoff (Mezger, 2012). Tapstangenten er uttrykt som $\tan(\delta) = \frac{G''}{G'}$, og er definert som forholdet mellom de elastiske og viskøse egenskapene til en gel (Mezger, 2012). Det er interessant å se på størrelsen av denne parameteren i flytpunktet for å undersøke hvordan produktet oppleves i det det skjer et strukturbrudd. Om $\tan(\delta)$ ved flytpunktet er mindre enn 1 dominerer de elastiske egenskapene, og gelen oppfattes som mer fast.

Det punktet hvor G' og G'' krysser hverandre, markerer gelens overgang fra å ha mer elastisk oppførsel til å ha en mer viskøs oppførsel. Når lagringsmodulen er lik tapsmodulen beskrives gelens styrke og hvor mye tøyning, γ [%], den tåler før den ødelegges. En gel med større γ vil derfor være en mer stiv gel enn en med lavere γ (Mezger, 2012).

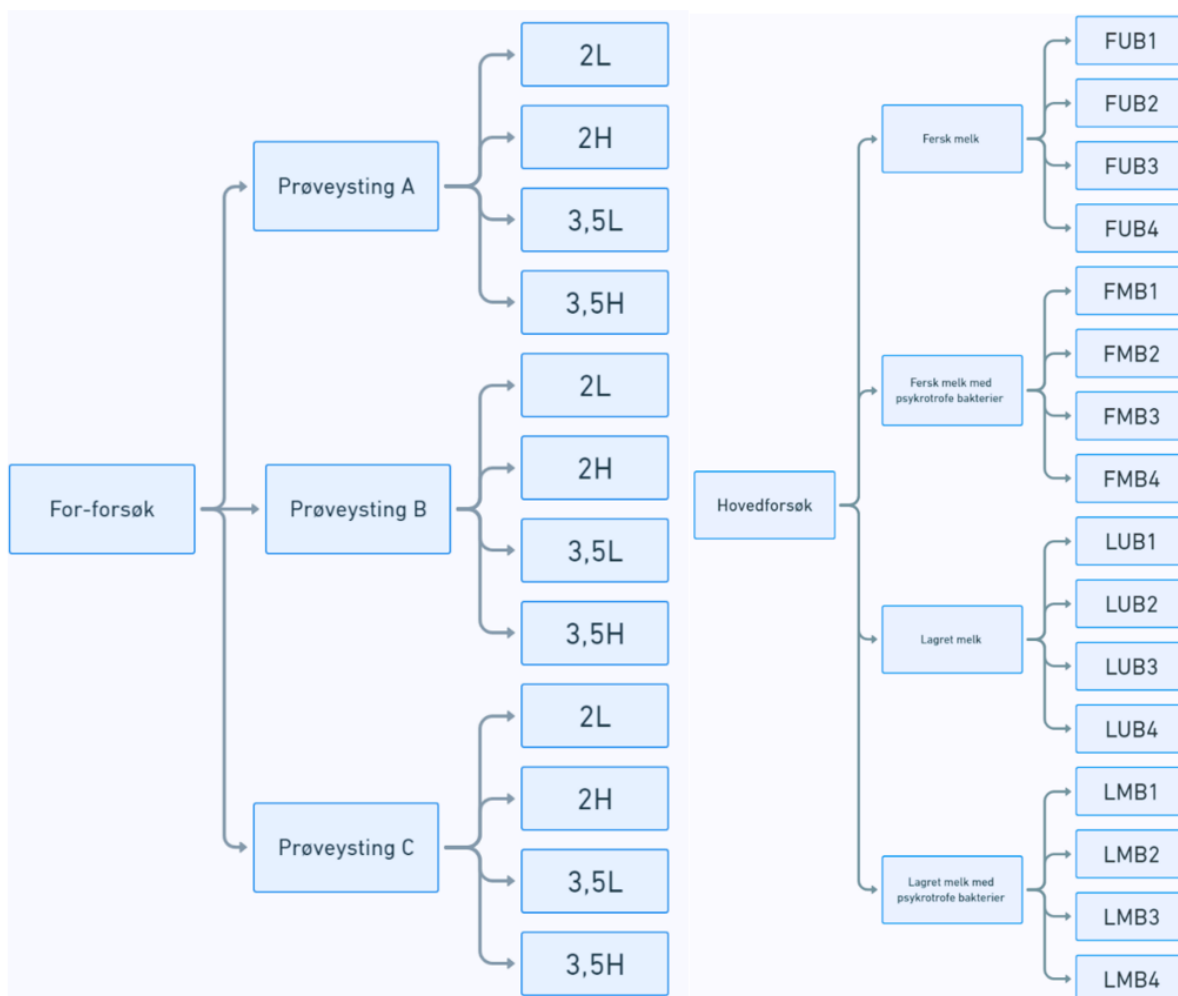
3. Materialer og metoder

3.1 Forsøksdesign

I denne studien ble det ystet ferskost av melk med ulike behandlings- og kvalitetsbetingelser. Det ble foretatt et forforsøk hvor det ble gjennomført tre prøveystinger. Forforsøket ble gjennomført for å danne et bedre grunnlag for standardisering av betingelser til hovedforsøket. I prøveystingene ble det ystet ferskost av melk med henholdsvis 2% og 3,5% fettinnhold. Det ble også brukt to ulike varmebehandlinger. En lavpasteurisering ved 72°C i 15 sekunder, og en høypasteurisering ved 85°C i 10 minutter. Disse betingelsene ble satt i kombinasjon med hverandre, dermed ble det ystet 4 ulike oster i hver prøveysting. Totalt ble det ystet 12 ulike oster i forforsøket. Kombinasjonene av betingelser og ostekodene er vist i Figur 7.

I hovedforsøket ble ystemelkens varmebehandling standardisert til 85°C i 10 minutter og fettinnholdet i ystemelken var standardisert til 2%. Det ble ystet ferskost av fersk melk og melk som hadde vært lagret i 3 dager. Det ble også ystet ferskost av fersk melk med tilsatt *Pseudomonas* spp. og av melk lagret i 3 dager med tilsatt *Pseudomonas* spp. En oversikt over betingelser og ostekoder er vist i Figur 7. Det ble ystet 4 gjentak av hver type ferskost. Totalt ble det ystet 16 oster i hovedforsøket

All ysting foregikk i pilotanlegget på KBM, NMBU, og forforsøk og hovedforsøk presenteres hver for seg.



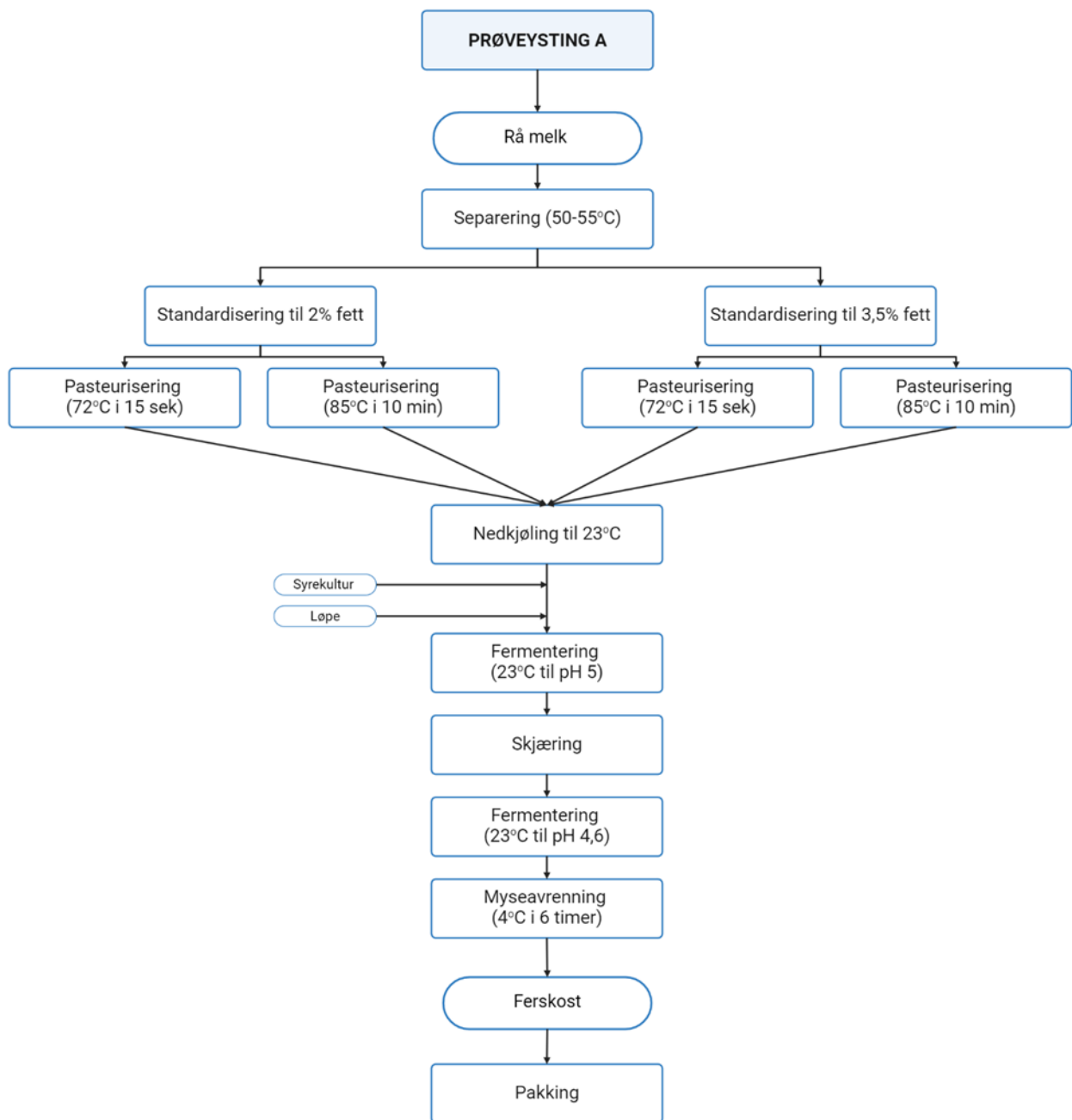
Figur 7 Forsøksoppsett over ysting av ferskost, hvor A) beskriver forforsøket og B) beskriver hovedforsøket. 2 = 2% fett i melk, 3,5 = 3,5% fett i melk, L = lavpasteurisert (72°C, 15 sekunder), H = høypasteurisert (85°C, 10 minutter), FUB = fersk melk uten bakterietilsetning, FMB = fersk melk med bakterietilsetning, LUB = lagret melk uten bakterietilsetning, LMB = lagret melk med bakterietilsetning.

3.2 Forforsøk og prøveysting

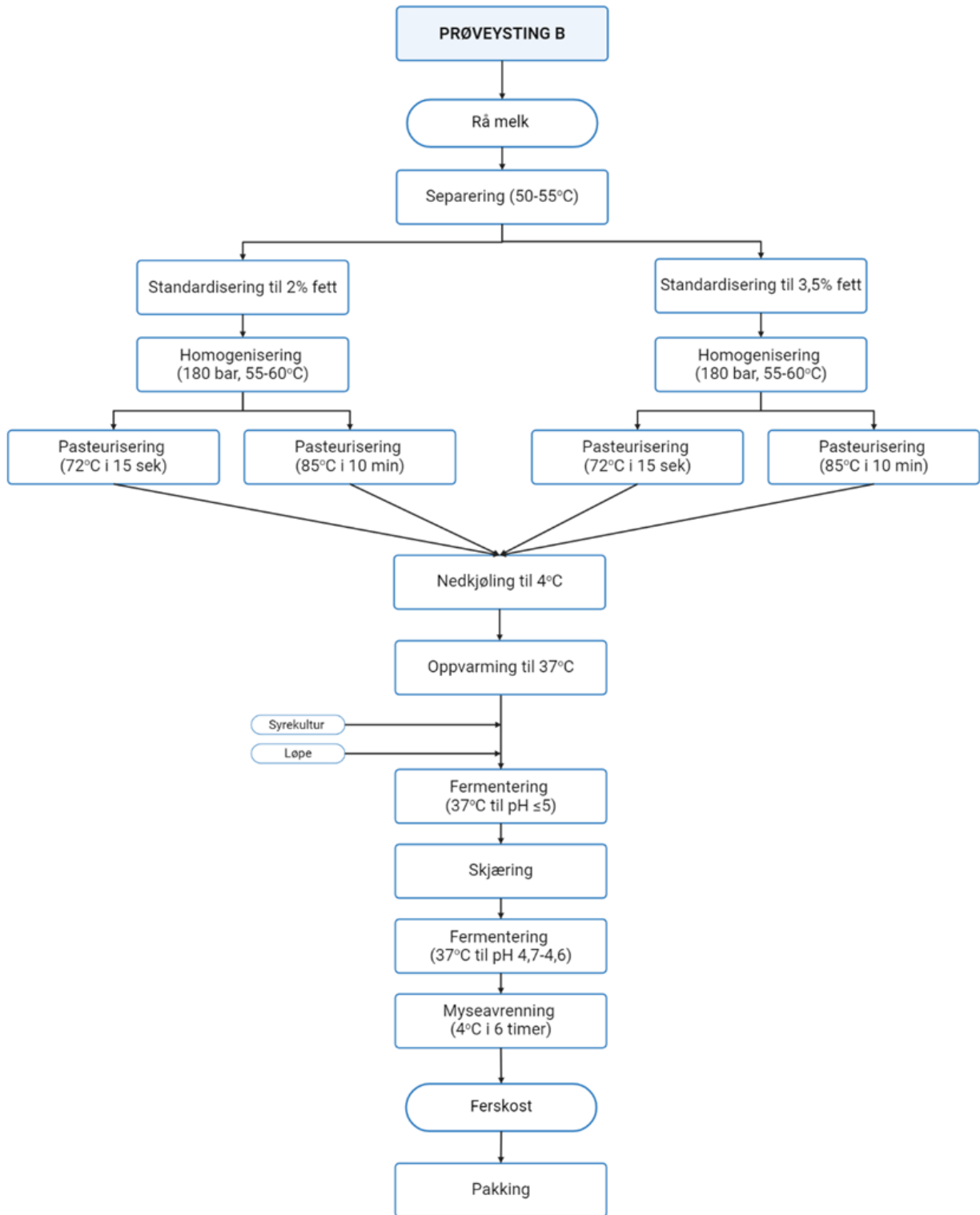
I forkant av hovedforsøket ble det gjennomført tre prøveystinger for å standardisere varmebehandling og fettinnhold i ystemelk i forforsøket.. Det ble valgt å undersøke effekt av varmebehandling ved 72°C i 15 sekunder og 85°C i 10 minutter og fettprosentene i melken var 2% og 3,5%. Disse ble kombinert slik at det dermed ble ystet ferskost i fire ystekar med 8 liter melk.

Mellom hver ysting ble det gjort små, erfaringsbaserte justeringer. Flytskjemaer over de tre prøveysting A, B og C er illustrert i henholdsvis Figur 8, Figur 9 og Figur 10. I prøveysting A

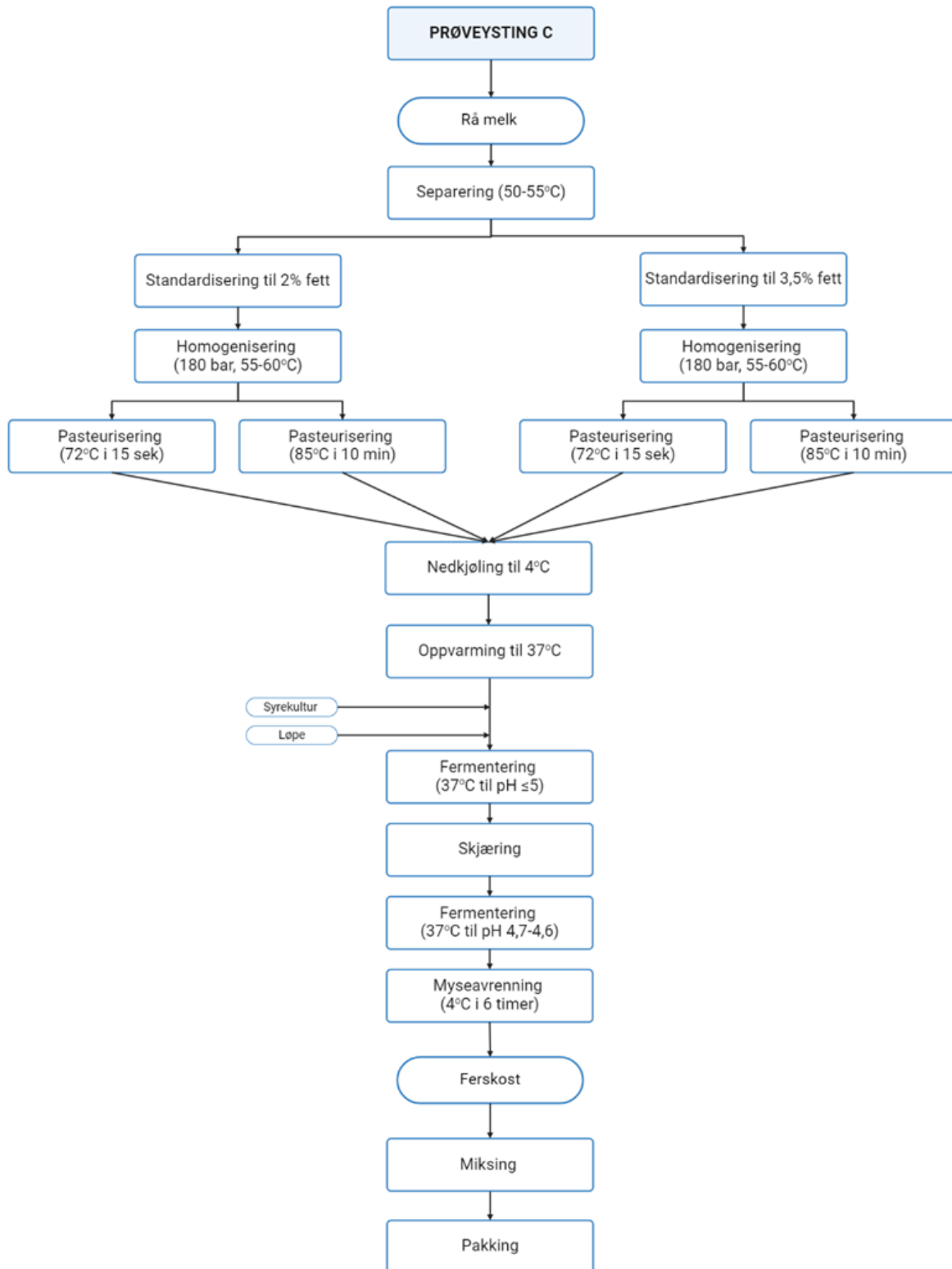
ble fermenteringen gjort ved 22°C. I prøveysting B og C ble fermenteringstemperaturen regulert til 37°C. I prøveysting A ble ikke melken homogenisert, dette ble gjort for prøveysting B og C. Denne justeringen ble gjort på grunn av oppfløting av fettene som ga et fettlag på toppen av melken i ystekaret under fermenteringen. I prøveysting B ble ferskosten pakket rett etter mysedrenering, i prøveysting C ble det lagt inn et mellomsteg som innebar emulgering i hurtighakke før pakking. Bruk av hurtighakke ble gjort for å oppnå homogen ostemasse.



Figur 8. Flytskjema for prøveysting A.



Figur 9. Flytskjema for prøveysting B.



Figur 10. Flytskjema for prøveysting C.

3.2.1 Analyser

Analysene som ble brukt forforsøket er detaljert beskrevet under hovedforsøket i neste avsnitt (3.3).

På grunn av oppfløting av fett i prøvey sting A ble det ikke gjennomført analyser av ferskostene fra denne y stingen. Det ble gjort mikrobiologiske analyser av ferskostene fra prøvey sting B, i tillegg ble tørrstoffinnholdet målt. Siden ostemassen fra prøvey sting B ble pakket direkte etter mysedrenering, var ikke massen homogen, noe som gjorde det vanskelig å gjøre andre analyser.

Prøvey sting C var den mest vellykkede av alle prøvey stingingene. Fra prøvey sting C ble det gjennomført mikrobiologiske analyser av ostene, innholdet av tørrstoff og protein, samt reologiske analyser. For å kartlegge hvordan de ulike melkebehandlingene påvirket smaksprofilen til ferskostene fra prøvey sting C, ble det gjennomført to sensoriske tester. En sensorisk profilering og en likingtest.

I profileringsanalysen ble det brukt et panel av bestående av 7 meieriteknologistudenter og hovedveileder. I forkant av vurderingen ble det gjennomført en felles kalibrering og idemyldring. Til dette ble det brukt to kommersielle produkter som referanser og en prøve av ferskostene fra prøvey sting C. De kommersielle produktene som ble brukt var TINE Kesam® Naturell og TINE Kesam® Mager Naturell, fordi dette bar produkter som var antatt å være mest like ferskostene. Panelet ble enige om at følgende attributter kunne brukes for å beskrive produktene; farge, myseutskillelse, fnokker, syrlig lukt, smørlukt, yoghurtlukt, munnfølelse, kornethet, yoghurt smak, syrlig smak og friskhet. Disse ble gjennomgått og panelet ble enige om hvor på en skala fra 1-9 prøvene befant seg. Underveis kunne også panelet komme opp med forslag til andre attributter som var passende å ha med i analysen.

Selve profileringen ble gjennomført som beskrevet i kapittel 3.4.12 under hovedforsøket. Hver av de 4 ferskostene fra prøvey sting C, samt de to kommersielle produktene skulle vurderes. Det var to replikater av hver ost, dermed fikk hver dommer utdelt 12 prøver. De 12 egenskapene som ble diskutert under kalibreringen av smakspanelet, ble brukt for å vurdere ostene. Egenskapene ble bedømt på en skala fra 1 til 9 for hver egenskap, der 1 betyr svak/lite og 9 betyr sterk/mye. Resultatene ble innhentet ved bruk av Nettskjema (Universitetet i Oslo, Oslo). På slutten av skjemaet ble dommerne spurt om hvor godt de likte prøvene, de kunne svare i tekstformat. Et utsnitt av dette skjemaet er vist i Vedlegg 1. Under sensorisk analyse i

hovedforsøket ble alle de nevnte egenskapene brukt, bortsett fra egenskapen «munnfølelse» som ble byttet ut med «konsistens».

I etterkant ble det gjort en likingtest for å få likingdata i tallformat. Testen ble utført av 12 tilfeldige deltakere som ikke var en del av den sensoriske profileringen. Hver deltaker fikk utdelt 1 prøve av hver ferskost produsert i prøveysting C og 1 prøve av hver av referanseproduktene. Smakingen forgikk hvor deltakerne befant seg da de ble spurt om å delta. I testen skulle de vurdere hvor godt de likte teksturen, smaken og hvor godt de likte prøven alt i alt. Resultatene ble innhentet med et skjema laget ved bruk av Nettskjema (Universitetet i Oslo, Oslo), et utsnitt av skjemaet finnes i Vedlegg 2. Deltakerne fikk vurdere hvor godt de likte prøvene ved bruk av en skala fra 1 til 9.

Ut ifra erfaringene fra alle prøveystingene, samt en vurdering av resultatene av analysene som ble gjort, ble det bestemt at i hovedforsøket skulle ystemelken ha 2% fett og varmebehandles ved 85°C i 10 minutter. Bakgrunnen for dette valget er diskutert under diskusjonskapittelet.

3.3 Hovedforsøk

3.3.1 Produksjon av ferskost

Det ble gjennomført to uker med produksjon. Forskjellen mellom ukene var at det var to ulike melkeleveranser, dermed var det to ulike batcher med rå melk. Fersk melk ble tatt inn på pilotanlegget på tirsdag. Melken ble fordelt på to melkespann, spann A og B, med 50 liter i hvert. Melken i ett av spannene ble inokulert med log 3 kde *Pseudomonas* 9 (Narvhus et al., 2021). Bakteriene ble dyrket opp de tre dagene i forkant av inokuleringen. Et tidsskjema over produksjonssteg gjennomført i én produksjonsuke er presentert i Tabell 2.

3.3.2 Oppdyrking av *Pseudomonas* 9

For oppdyrkingen av *Pseudomonas* 9 ble det benyttet en frosen kultur, lagret ved -80°C. Ved bruk av en steril plastpodeøse ble noe av denne frosne kulturen strøket ut på en PCA-skål, og inkubert ved 22°C i 48 timer. Etter inkuberingen ble det plukket ut kolonier som videre ble inokulert i sterilt rør med 10 mL LB buljong (Sigma-Aldrich, USA), og videre inkubert ved 22°C i 24 timer, før kulturen ble rensset. For å rense kulturen ble den sentrifugert på en Heraeus Multifuge X3R sentrifuge (Thermo Scientific, Göteborg, Sverige) ved 8000 g i 10 minutter. Supernatanten ble fjernet og pelleten ble resuspendert i 10 mL Ringer's løsning. For å kontrollere konsentrasjonen av kulturen ble det lagd en 10⁻¹-fortynning. En dråpe av denne

fortynningen ble satt på et Buerker 0,100 mm tellekammer (Marienfeld Superior, Tyskland) og deretter satt under et Leica ICC50 HD mikroskop (Leica Microsystems, Wetzlar, Tyskland). Under mikroskopet ble det telt antall celler i 4 ulike kvadrater. Mengden *Pseudomonas* 9 ble beregnet til å være log 3 når den var tilsatt i melken, etter [Formel 1] og [Formel 2].

[Formel 1]

$$\text{Gj.snitt antall celler} * 160\ 000 * \text{fortynningsfaktor} = \text{Konsentrasjon (log)}$$

[Formel 2]

$$V_1 = \frac{c_1 * V_2}{c_2} = \frac{1000 * 10000}{1000000} = 10\ \text{mL}$$

3.3.3 Melkebehandling

På tirsdagen i ystingsukene ble det tatt ut bulkotest med råmelk fra spann A og B hver. Disse ble senere brukt til mikrobiologiske analyser, for å sjekke kvaliteten på levert melk. Deretter ble halvparten av melken fra spann A og B tatt ut og behandlet. Resten ble satt til lagring ved kjøletemperatur i 3 dager til fredag. Melken fra de ulike spannene ble behandlet ved like betingelser. Kontrollmelken, hvor tilstedeværelse av psykrotrofe bakterier ikke var en faktor, ble alltid behandlet og kjørt gjennom de ulike maskinene før den inokulerte melken for å unngå kontaminering. Alle prosesseringstrinn ble gjort manuelt og i et åpent system, trinnene er gjengitt i Figur 12.

Melken ble først varmet opp i vannbad til 55°C før den ble separert ved bruk av en FJ 130 ERR fløteseparator (Milky, Tsjekkia). Etter separeringen ble det tatt ut prøver av skummetmelken og fløten for analyse ved bruk av MilkoScan™ FT1 Fourier Transform Spectroscopy (FTIR) (Foss, Hillerød, Danmark) for å finne fettinnholdet. Analysen av fløten ble gjort med fløteprogrammet, mens for skummet melk ble programmet for prosessert/rå melk brukt. Ønsket fettinnhold i ystemelken var satt til 2%, dette ble oppnådd ved å blande utregnet mengde fløte i skummetmelken. Utregningen ble gjort ved bruk av [Formel 3].

[Formel 3]

$$LF = \frac{LSM \times (FYM - FSM)}{(FF - FYM)}$$

LF = Liter fløte

LSM = Liter skummetmelk

FYM = Fettinnhold ystemelk

FSM = Fettinnhold skummetmelk

FF = Fettinnhold fløte

Etter standardisering, ble ystemelken varmet opp i vannbad til 55-60°C, og deretter homogenisert ved 180 bar i en RANNIE Lab homogenisator (Tidligere Maskinfabrikken RANNIE aktieselskab, nå SPX, København, Danmark). Etter homogeniseringen ble melken pasteurisert ved 85°C i 10 minutter i 5 liters prosesstanker. Melken ble så tappet direkte fra iskremmikserne til 20-liters melkespann, og satt ved kjøletemperatur til neste dag.

3.3.4 Syrekultur

Syrekulturen brukt i denne studien var Chr. Hansen eXact® ST-39 (Chr. Hansen A/S, Hoersholm, Danmark). Med en tilsetning av 500U syrekultur per 2500 liter melk, etter [Formel 4].

[Formel 4]

$$1U = 1g$$
$$\frac{500}{2500000} * 100 = \mathbf{0,02\%}$$

Til 8 liter melk:

$$8000mL * 0,0002 = \mathbf{1,6g}$$

I forkant av ystingene ble det veid ut riktig mengde fryst syrekultur i sterile falconrør. Disse ble oppbevart i fryseren frem til syrekultur skulle tilsettes i melken. Omtrent 15 minutter før tilsetning ble rørene med syrekultur tatt ut av fryseren og blandet ut med 50 mL kommersiell UHT-behandlet melk.

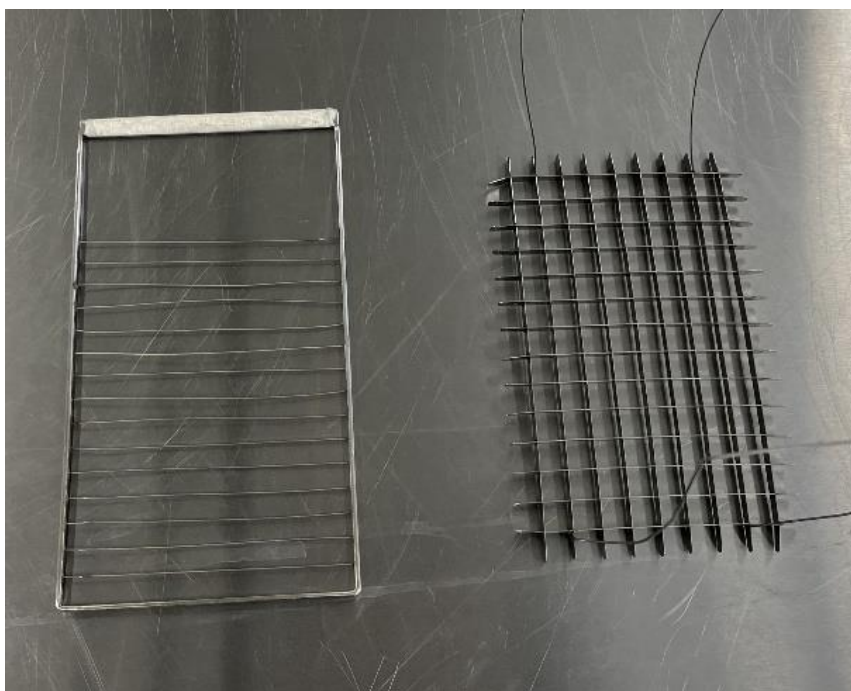
3.3.5 Løpe

Det ble brukt løpe av typen CHY-MAX® Plus (Chr. Hansen A/S, Hoersholm, Danmark), sammen med syrekulturen. Mengden løpe som ble tilsatt var 0,002% av totalvolum, til 8 liter melk tilsvarte dette 160 µl løpe.

3.3.6 Ysteprosessen

Onsdag morgen i ysteukene, ble det tatt ut prøve av melken for å måle pH med et sensION PH31 pH-meter (Hach Lange, Barcelona, Spania). Før måling ble pH-meteret kalibrert med bufferløsninger med pH 4,01 og pH 7,00 som holdt 4°C. Deretter ble ystemelken fordelt i fire ystekar. To ystekar med 8 liter med melk uten bakterietilsetning og to ystekar med 8 liter melk med bakterietilsetning, samt to mindre ystekar med henholdsvis 2 liter av hver type melk. Ystekarene ble satt i vannbad som holdt 37°C. De to mindre ystekarene ble brukt til prøveuttak for pH-målinger, gjennom ystingsforløpet. Måling av pH under syrningen ble gjort ved bruk av et sensION PH31 pH-meter, kalibrert ved 37°C. Det ble tilsatt 0,02% eXact® ST-39 og 0,002% (v/v) løpe i hvert ystekar..

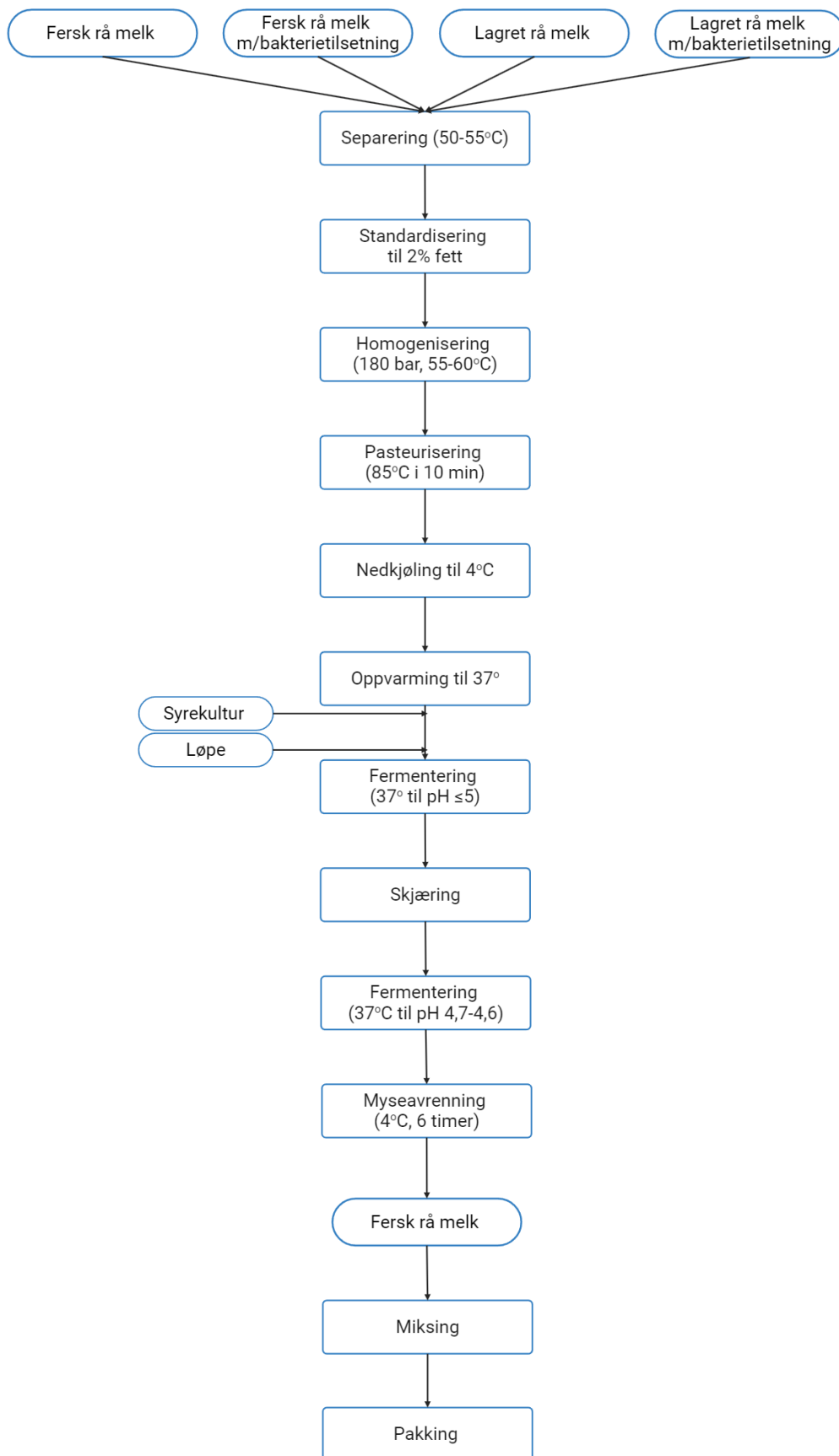
Da ostemassen hadde nådd pH ≤ 5 , ble den skjært med to ulike knivplater, vist i Figur 11. Etter skjæringen ble ostemassen videre fermentert til den hadde nådd pH 4,7-4,6. Deretter ble ystekarene tatt ut av vannbadet og innholdet i ystekarene ble overført til ostekluter og hengt over desinfiserte melkespann for drenering av myse. Disse ble satt i kjølerom for mysedrenering i 6 timer.



Figur 11. Knivene som ble brukt til å skjære osten.

Etter endt mysedrenering ble ostemassen overført til hver sin beholder og lagret ved kjøletemperatur (4°C) til neste dag. Dagen etter ble ostemassen kjørt i en MADO Garant hurtighakke (MADO GmbH, Dornhan, Tyskland) for å gjøre ostemassen homogen. Massen ble først kjørt i 30 sekunder ved hastighet 2 og deretter i 1 minutt ved hastighet 1, til slutt ble den pakket i yoghurtbeger (500 g) eller rømmebeger (300 g). Osten ble fordelt i like mengder i begerne, dette ble gjort ved øyemål. For å bli kvitt det meste av luftlommene ble begerne med innhold dunket i benken 10-15 ganger. Alle begerne ble forseglet ved å stryke på en aluminiumsøblat før det ble satt på lokk.

På fredag samme uke, ble melkebehandlingen og ystingen gjentatt med resten av melken i spann A og B som hadde stått lagret ved kjøletemperatur i tre dager. For disse, ble bruk av hurtighakke og pakking av produktene gjennomført én dag senere på grunn av at hurtighakken av sikkerhetsmessige grunner ikke kunne betjenes alene på helg. Dermed sto ostemassene i dette tilfellet i underkant av 2 døgn i ny beholder på kjølerom etter myseavrenning og før hurtighakke og pakking. Flytskjema for ysteprosessen er illustrert i Figur 12 En oversikt over hvilke produksjonstrinn som ble utført når i en produksjonsuke er vist i Tabell 2 **Tabell 2**. Det var totalt to produksjonsuker.



Figur 12. Flytskjema for ysting gjort i hovedforsøket.

Tabell 2. Produksjonstrinn gjennomført i én produksjonsuke.

	Tir	Ons	Tors	Fre	Lør	Søn	Man
Inokulering med <i>Pseudomonas 9</i>	X						
Melkebehandling (fersk melk)	X						
Tilsetning av syrekultur og løpe (fersk melk)		X					
Mysedrenering (fersk melk)		X					
Hurtighakke (fersk melk)			X				
Pakking (fersk melk)			X				
Melkebehandling (lagret melk)				X			
Tilsetning av syrekultur og løpe (lagret melk)					X		
Mysedrenering (lagret melk)					X		
Hurtighakke (lagret melk)							X
Pakking (lagret melk)							X

I løpet av to produksjonsuker ble det produsert 16 ulike ferskoster. Det ble ystet fire gjentak av hver type ferskost. Ostene som ble produsert i uke 1 er nummerert med 1 og 2, mens ostene produsert i uke 2 er nummerert med 3 og 4. En tabell som beskriver dette, er vist i Vedlegg 3.

3.4 Hovedforsøk - Analyser

3.4.1 FTIR

For å undersøke sammensetningen av ystemelken ble den analysert ved bruk av MilkoScan™ FT1 FTIR på programmet for prosessert/rå melk.

3.4.2 pH

I tillegg til pH-målinger før og under syrning, ble det målt pH i ferskostene etter 6 dagers lagring. Dette ble gjort ved bruk av et sensION PH31 pH-meter kalibrert med bufferløsninger med pH 4,01 og pH 7,00 som holdt 4°C grader.

3.4.3 Mikrobiologiske analyser

Mikrobiologiske analyser ble gjennomført for rå melk og ferskost, for å sjekke bakterieveksten i melken og de ferdige produktene. Dette innebar innstøping og platespredning på agar. Tillaging av agar ble gjort etter fremgangsmåte beskrevet på emballasjen til agar-pulverne.

Det ble tatt ut prøver med bulkotester av fersk rå melk med og uten *Pseudomonas*-inokulering, samt av lagret rå melk med og uten *Pseudomonas*-inokulering. Disse ble analysert så raskt som mulig etter uttak. Det ble lagd en fortynningsrekke som dekket 10^0 - 10^{-3} for den ferske melken. For den ferske inokulerte melken og begge typene lagret melk ble det lagd en fortynningsrekke som dekket 10^0 - 10^{-5} . Fortynningsrør med 9,0 mL Ringers løsning ble brukt.

Prøveopparbeidelsen av ferskostene ble gjort som for fast ost. Det ble veid opp 11 g ost i en steril OMNImixer homogenisator (OMNI International, Waterbury, CT, USA) før det ble tilsatt 99 mL 2% NaCitrat vann som holdt 42°C. Deretter ble prøven homogenisert i omnimikseren ved hastighet 4 i 2 minutter. Av dette ble det tillagd en fortynningsrekke som dekte 10^{-1} - 10^{-8} ved bruk av fortynningsrør med 9,0 mL Ringers løsning.

Totalt bakterietall (mesofiltall) i råmelken ble undersøkt ved innstøping av 10^0 - 10^{-3} fortynninger med Plate Count Agar (PCA) (Merck, Darmstadt, Tyskland), med to paralleller av hver fortynning. Disse ble inkubert ved 30°C i 3 døgn.

Det ble testet for koliforme bakterier i både rå melk og ferdig ost. Dette ble gjort ved at 10^0 - 10^{-1} fortynninger av rå melk ble støpt inn på petriskåler med CM0107 Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid, Hampshire, Storbritannia), med to paralleller av hver fortynning. For ost ble det brukt fortynningene 10^{-1} - 10^{-2} , med to paralleller. Disse ble inkubert ved 37°C i 24 timer.

Tilstedeværelse av psykrotrofe bakterier ble det også testet for både i rå melk og ferdig ost. For rå melk ble fortynningene 10^{-1} - 10^{-3} overflatespredd på PCA-skåler (Merck, Darmstadt, Tyskland), med to paralleller. For ost ble det brukt fortynningene 10^{-1} - 10^{-3} , med to paralleller. Dette ble inkubert ved 22°C i 25 timer.

For å sjekke tilstedeværelse av streptokokker i fersk ost ble osten analysert på M17 agar med laktose (Merck, Darmstadt, Tyskland). Det ble brukt 10^{-7} - 10^{-9} fortynninger til overflatespredning, med to paralleller av hver fortynning. Skålene ble inkubert ved 42°C i 2 døgn.

3.4.4 Proteininnhold

Proteininnholdet i ferskost ble beregnet ved analyse av totalt nitrogeninnhold (TN) ved MikroKjeldahl. Analysen ble gjort i henhold til IDF Standard 20 B (1993).

Det ble veid opp 12,5 g ost i en OMNImixer homogenisator omnimikser. Deretter ble det tilsatt 50 mL 0,5 M trinatriumcitratløsning (Merck, Darmstadt, Tyskland) og 50 mL dH₂O som begge holdt 50°C til beholderen. Blandingen ble kjørt i omnimikseren ved hastighet 4 i 30 sekunder. Kantene på omnimikseren ble så spylt med temperert dH₂O og skrapet med en gummispattel for å få ned alt av prøven. Deretter ble prøven igjen kjørt i omnimikseren ved hastighet 4 i 2 minutter. Da alt av prøven var oppløst ble kantene igjen spylt med temperert dH₂O, og skrapet med en gummispattel, for å få ned eventuelle biter med prøve.

Den ferdig homogeniserte prøven ble deretter overført til en 250mL målekolbe. Noen av prøvene dannet mye skum, til disse ble det tilsatt noen dråper isopropylalkohol for å dempe skummet. Da prøven nådde romtemperatur ble kolben fylt med dH₂O vann opp til merket. For å gjøre løsningen homogen ble kolben vendt noen ganger.

Det ble overført 50 mL av løsningen til en 100mL målekolbe ved hjelp av en 50mL pipette og kolben ble etterfylt opp til merket med dH₂O. Deretter ble 1,0 g med tre desimalers nøyaktighet av den opparbeidede løsningen overført til oppslutningsrør, tre paralleller for hver prøve.

Til hvert oppslutningsrør ble det tilsatt én Kjeldahl-tablett (Kjeltabs Auto AA11, Thompson & Capper Ltd., Cheshire, Storbritannia) og 3,0 mL konsentrert H₂SO₄ (Merck, Tyskland). For oppslutning av rørene ble det benyttet en Foss Tecator varmeblokk (Nerliens AS, Höganäs, Sverige) med avsug, prøvene ble kokt ved 420°C i 1 time og 15 minutter. Etter kokingen ble rørene satt til avkjøling før ett og ett rør ble satt manuelt inni et Kjeldtech™ 8400 destillasjonsapparat (Foss, Höganäs, Sverige). I forkant av hver serie ble det kjørt to blanke prøver og tre skummetmelk prøver. Titreringsvolumet for hver prøve ble notert ned og ved bruk av [Formel 5 ble total nitrogen (%) funnet, som videre ble beregnet til proteininnhold (%) ved bruk av [Formel 6.

[Formel 5]

$$\% \text{ Total Nitrogen} = \frac{\text{titreringsvolum (mL)} * 2,801}{\text{vekt innveid prøve (g)}}$$

[Formel 6]

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Total Nitrogen} * 6,38$$

3.4.5 Organiske syrer og karbohydrater

Det ble gjort analyse for organiske syrer og karbohydrater i både ystemelk og ferskost. Analysen ble gjennomført etter en allerede etablert metode beskrevet av Grønnevik et al. (2011), med noen modifikasjoner.

Ystemelken ble opparbeidet som melk. Prøvene ble godt ristet før det ble veid 1,00 gram prøve i et 10mL rør. Til dette ble det tilsatt 2,5 mL ionebyttet H₂O, 200 µL 0,5 M H₂SO₄ (Merck, Tyskland) og 8 mL CH₃CN (Merck). Deretter ble prøvene ristet for hånd før de ble plassert i en MultiRS-60 BIOSAN vendemaskin (Montebello Diagnostics A/S, Oslo, Norge) i 30 minutter. Prøvene ble så satt i en Kubota 2010 sentrifuge (Kubota Corporation, Tokyo, Japan) og sentrifugert ved romtemperatur ved 3400g i 15 minutter.

Ferskosten ble opparbeidet som fast ost i henhold til Skeie et al. (1997), med noen modifikasjoner. Det ble veid 2,00 gram prøve med ferskost i et 10mL rør. Deretter ble det tilsatt 5 mL dH₂O, 700µL 0,5 H₂SO₄ (Merck, Tyskland) og 20,0 mL CH₃CN (Merck, Darmstadt, Tyskland). Prøvene ble så ristet godt for hånd i 2 minutter, før de ble satt i vendemaskin. Videre ble prøvene sentrifugert ved 7000g i 5 minutter i en Gerber sentrifuge (Funke-Gerber, Tyskland).

Supernatanten opparbeidet fra sentrifugeringen ble filtret med 0,2 µm PTFE membran (Acodisc CR 13 mm Syringe Filter, PALL, Storbritannia) til et HPLC-rør. Prøvene ble analysert ved å bruk et HPLC-instrument Agilent Technologies 1260 Infinity II (Agilent Technologies, Singapore) med en pumpe (Agilent Technologies), en autosampler (Agilent Technologies), en kolonneovn (Agilent Technologies), en DAD-UV detektor (Agilent Technologies) og en RI-detektor (Agilent Technologies). OpenLab CDS (Agilent Technologies) var programvaren som ble brukt. Det ble injisert 25 µL av prøven og en

separasjon ble gjort med en Aminex HPX-87H kolonne (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Prøvene ble først kjørt gjennom en Cation-H refill forkolonne (Bio-Rad Laboratories) for å beskytte kolonnen. Temperaturen på kolonnen var 32°C. 5 mM H₂SO₄ (Merck) ble benyttet som mobil fase, hastigheten var 0,4 mL/min.

Identifisering og kvantifisering av komponentene i prøvene var basert på en sammenligning av retensjonstid med standardløsninger. Preparering av standardløsningen ble gjort på samme måte som prøvene som ble analysert. Organiske syrer som ble brukt som standardløsning var sitronsyre, orotinsyre, pyrodruesyre, ravsyre, melkesyre, maursyre, eddiksyre, urinsyre, propionsyre og pyro-glutaminsyre (Sigma-Aldrich, Kina). Karbohydrater som ble brukt som standardløsninger var fruktose, galaktose, glukose, laktose og maltose (Merck). En RI-detektor detekterte karbohydratene og eddiksyre, resten av de organiske syrene ble detektert av en DAD-UV detektor.

3.4.6 Flyktige aromakomponenter

For måling av flyktige aromakomponenter i både ystemelk og ferskost ble det benyttet headspace gas chromatography (HSGC). En metode beskrevet av Grønnevik et al. (2011), med noen modifiseringer, ble brukt.

Alle ferskostene ble godt rørt før det ble veid ut 10,00 gram prøve i headspace-flasker (Machery Nagel, Dueren, Tyskland). For å forsegle headspaceflaskene ble det brukt et teflonbelagt septa med aluminiumring (PTFA/Si septa, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA). Deretter ble prøvene plassert i en Agilent Technologies 7679A automatisk headspace sampler med et 6890 GC system (Agilent Technologies) og en flamme ioniseringsdetektor. OpenLab CDS (Agilent Technologies var programvaren som ble benyttet.

Helium (Aga, Norge) ble brukt som bæregass, med en total flow på 11,1 mL/min. Betingelsene for headspaceflaskene var 50°C med en forvarmingstid på 45 minutter, med miksing som var satt til 70 shakes/min. Før injeksjon var headspace flaskene trykksatt til 10 PSIG i 1,5 minutter. Injeksjonstiden var 30 sekunder.

For å separere komponentene ble det brukt en CP-SIL 5CB GC kolonne (Varian, Middelburg, Nederland). Lengden på kolonnen var 25 meter, den indre diameteren var 0,53 mm og den hadde en filmtykkelse på 5,0 µm. Temperaturprogrammet benyttet under analysen var 53°, 1 min; økning med 15°C min⁻¹ til 70°C, 2 min; økning med 22°C min⁻¹ til 130°C, 3 min.

Separasjonen av de flyktige komponentene var basert på komponentenes ulike flyktighetsgrad og deres affinitet til den stasjonære fasen til kolonnen. For å identifisere og kvantifisere de ulike forbindelsene ble det gjort en kalibrering med standardløsninger med kjente konsentrasjoner av: acetaldehyd, diacetyl, etylacetat, 2-butanon, 2-metyl-butanal, 2-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-propanal, 3-metyl-butanal, 3-metyl-1-butanol, 2-metyl-1-propanol (Sigma-Aldrich), acetoin, aceton, etanol, 1-butanol, 2-butanol og 2.3-pentadion (Merck, Tyskland).

3.4.7 Tørrstoffinnhold

Tørrstoffinnholdet i ferskostene ble analysert i henhold til IDF standard 21B (1987). Det ble benyttet aluminiums skåler til utveiling av prøvene. Først ble vekten til aluminiums skålen veid og notert før det ble veid ut 5 gram ferskost i skålen, vekten ble notert med 4 desimaler. Det ble laget tre paralleller av hver prøve. Prøvene ble satt ved romtemperatur og tildekket av aluminiumsfolie i 24 timer. Deretter ble de satt i tørkeskap på $102^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ i minimum 20 timer. Da prøvene ble tatt ut av tørkeskapet ble de satt i eksikkator i ca. 15 minutter for å avkjøle seg. Da de tørre prøvene hadde nådd romtemperatur ble de veid, og vekten ble notert. Utrekning av tørrstoffinnholdet ble gjort ved bruk av [Formel 7].

[Formel 7]

$$\text{Tørrstoff\%} = \frac{\text{vekt tørr prøve m. skål} - \text{vekt skål}}{\text{vekt prøve m. skål} - \text{vekt skål}} * 100$$

3.4.8 Kapillær elektroforese (CE)

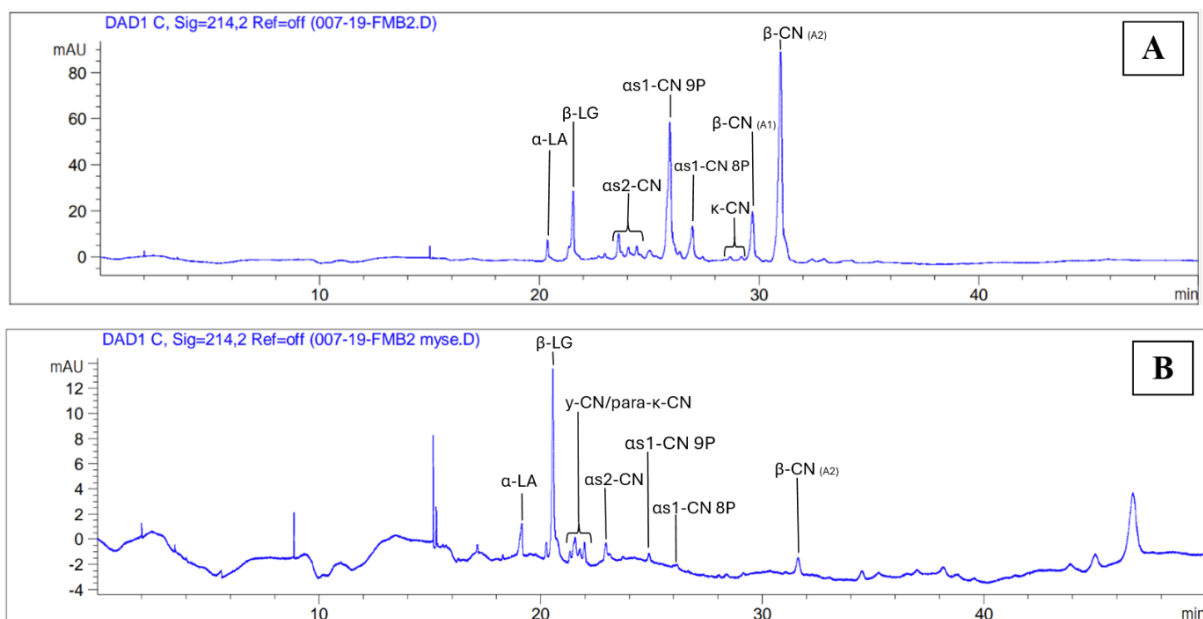
Prøveuttak av ferskost for analyse ved kapillær elektroforese (CE) ble gjort ved opparbeidelse til mikrobiologisk analyse. Fra 1:10 løsningen i omnimikseren ble det pipettert 600 μL over i et eppendorfrør. Det ble gjort prøveuttak av mysen fra melkespannet etter mysedrenering. Fra disse prøvene ble det pipettert 600 μL over i eppendorfrør. Prøvene av både ferskost og myse ble fryst ned før videre bruk.

Til eppendorfrørene med tint prøve ble det tilsatt 900 μL 13 mg/5mL Dithiothreitol (DTT) og CE prøvebuffer (167 mM Triss, 0,67 mM EDTA, 0,42 mM MOPS, 6,0 M Urea, 0,05% MHEC og 0,079g/10mL DTT (Agilent Technologies, Tyskland)). Eppendorfrørene ble ristet på en PCMT Thermoshaker (Grant Instruments, Cambridge, Storbritannia) ved 35°C i omtrent 1 time. Deretter ble eppendorfrørene sentrifugert ved 13000 g i 3 minutter i en Eppendorf 5415D mikrosentrifuge (Eppendorf, Hamburg, Tyskland). Med en plastsprøyte og nål ble

supernatanten sugd opp uten å ta med noe av fettlaget som eventuelt hadde lagt seg på toppen. Prøvene ble filtrert over i nye eppendorfrør gjennom et 0,45 µL PES filter (VWR International, Radnor, PA, USA). Videre ble 50 µL av dette overført til 250 µL prøverør med innsats (VWR International, Radnor, PA, USA). I 11 1,5 mL vials (VWR International, Radnor, PA, USA) ble det tilsatt analysebuffer (0,5883 g/100 mL 0,02 M Trinatriumsitrat dehydrat, 3,99 g/100 mL 0,19 M sitronsyre, 36,036 g/100 mL 6,0 M Urea og 0,05 g/100 mL 0,05% MHEC (Agilent Technologies, Tyskland)), 750 µL i 10 av rørene og 1,5 mL i det siste. Det ble også lagt et rør med 1,5 mL 0,1 M NaOH og et med 500 µL MilliQ-vann.

Prøvene ble analysert ved bruk av et Agilent 7100 kapillær elektroforese-system (Agilent Technologies, Tyskland), med en «HPCE standard cap 50 µm id 56 cm lgth» (Agilent Technologies, Tyskland). Toppene i elektroferogrammene ble integrert «walley to walley» ved bruk av OpenLab CDS Chemstation. Hver prøvekjøring tok 67 minutter, hvor kapillæren først ble flushet i 5 minutter med 0,1 M NaOH, pause i 2 minutter og deretter flushet med analysebuffer i 10 minutter, før prøven ble injisert ved 34,5 mbar i 20 sekunder. Etter injisering ble det satt på 25 kV positiv polaritet for separasjon av peptider og proteiner i kapillæren over en tid på 50 minutter. For deteksjon av peptider og proteiner ble det valgt UV-deteksjon ved 214 nm.

Identifisering av proteinfraksjoner ble gjort i henhold til Heck et al. (2008). **Figur 13** viser elektroferogrammer av ferskost og myse med antatt identifisering av toppene.



Figur 13. Elektroferogram fra CE-analyse som viser hvilke proteinfraksjoner de ulike toppene var antatt til å være. A = CE av ferskost, B = CE på myse.

3.4.9 Kalsiuminnhold

Bestemmelse av kalsiuminnhold ble gjort i henhold til AOACs metode 935.42 (1935). Porselendigler ble satt i muffelovn ved rundt 650-700°C i 1 time. Da diglene hadde nådd romtemperatur ble de veid, før det ble veid opp 5 gram ferskost i hver digel. Vekt på digel og vekt på prøve ble notert ned med 4 desimaler. Det ble lagd 3 paralleller av hver prøve. Diglene med prøve i ble satt i tørkeskap ved 102°C ± 1°C over natten. Deretter ble de satt inn i muffelovn ved rundt 650-700°C. Etter 1 time ble de tatt ut og det ble tilsatt noen dråper konsentrert HNO₃ (Merck, Darmstadt, Tyskland) da mye av asken fortsatt var svart. De ble så satt inn igjen i ovnen i 1 time til. Etter prøvene ble tatt ut av ovnen ble de satt på en steinplate for å avkjøle seg i 10-15 minutter før de ble satt i eksikkator i ca. 30 minutter. Etter avkjøling ble digelene med aske veid.

Digelene med aske ble sakte tilsatt 10 mL 1 M HCl (Merck, Darmstadt, Tyskland). Deretter ble løsningen overført kvantitativt til en 200mL målekolbe. Kolben ble etterfylt med dH₂O. Fra denne løsningen ble 50 mL pipettert over i en erlenmeyerkolbe. I samme erlenmeyerkolbe ble det tilsatt 20 mL NH₄Cl/NH₄OH bufferløsning (pH=10,2) og en spatelspiss Erichromesvart T. Dette ble titrert ved 30-40°C under kraftig røring mot EDTA til en stabil blåfarge oppstod. Mengde EDTA forbrukt ved fargeskifte ble notert ned. Utrekning av kalsiuminnhold ble gjort ved bruk av [Formel 8].

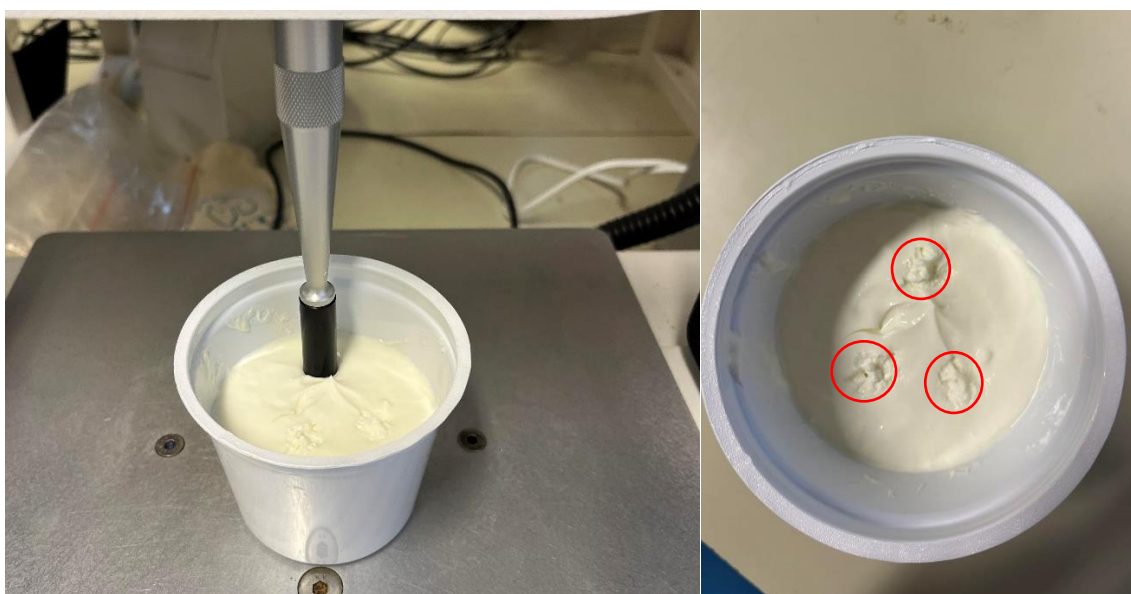
[Formel 8]

$$\% Ca = \frac{mL \text{ forbrukt EDTA} * EDTA \text{ faktor} * \text{fortynningsfaktor} * 100}{mg \text{ avveid ferskost}}$$

Denne prosedyren ble kun gjort for ferskost som var produsert den første produksjonsuken (FUB1 og 2, FMB1 og 2, LUB1 og 2, LMB1 og 2). Årsaken til at denne analysen ikke ble videreført var på grunn av unøyaktig metode og store standardavvik mellom de 3 parallellene til hver prøve, noe som antydte at optimalisering av metoden var nødvendig for disse prøvene. På grunn av tidsmangel ble dette sløyfet. Rådataene til disse målingene er vist i Vedlegg 4.

3.4.10 Teksturanalyse

For å måle gelfastheten i ferskosten ble det benyttet TA-HD plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Surrey, Storbritannia). Det ble brukt en veiecelle med 5 kg, og proben som ble brukt var en sylindrisk SMSP/0-5 (Stable Micro Systems, Surrey, Storbritannia) som vist i **Figur 14**. Prøvene var lagret ved kjøletemperatur frem til analysetidspunktet. I tillegg var alle prøvene, med unntak av FUB1 og FUB2, urørt før analysetidspunktet. Det ble gjort tre parallelle punktmålinger av hver prøve. Ved øyemål ble det forsøkt å ha jevn avstand mellom prøvepunktene, og noe lik avstand fra alle prøvepunkter til begerveggen, et bilde som viser omtrent avstand mellom prøvepunktene er vist i Figur 14. Mellom alle parallellene ble proben tørket med papir for å unngå forstyrrelser av eventuelle rester. Proben ble presset med en utøvelseskraft på 5 g, 20 mm ned i prøven med en hastighet på 2 mm/s. Deretter gikk proben tilbake til utgangsposisjon med hastighet 10 mm/s.



Figur 14. Probe (SMSP/0-5) og prøve ved teksturanalyse. De tre markerte områdene fremhever prøvepunktene.

Programvaren som ble brukt under teksturanalysen var Exponent Connect.(v.6.1.4.0) (Stable Micro Systems, Storbritannia). Resultatet av en måling ble visualisert ved en graf, som vist i Figur 5 (kap. 2.7.1). Det ble kjørt en analyse i programmet etter hver måling, for å beregne styrken på produktet.

3.4.11 Viskoelastisitet

Viskoelastisitet og kompleks viskositet til ferskosten ble målt med en oscillasjonstest ved bruk av et Physica MCR 301 rheometer (Anton Paar, Graz, Østerrike). Proben som ble benyttet var plate PP50 (Anton Paar, Graz, Østerrike) som hadde en diameter på 50 mm. Bilde av instrument og prøvemåling er vist i Figur 15.



Figur 15. Instrument med probe (PP50) og prøve under reologimålingene.

Det ble plassert en halv teskje, omtrent 5-6 gram, med ferskost på en fastsittende plate. Proben ble så kjørt ned mot platen. Ved målingene var avstanden/gap mellom proben og platen 1,000 mm. Oscillasjonstesten ble utført ved kontrollert tøyning med logaritmisk økning fra 0,0001-1,0 ved en frekvens på 1 Hz.

Alle prøvene ble oppbevart ved kjøletemperatur frem til analysetidspunkt. Analysen ble satt i gang i det den reelle temperaturen i prøven og instrumentet hadde nådd 4,00°C for å simulere temperaturen produktet normalt ville blitt inntatt ved. Det ble målt 3 parallelle prøver av hvert produkt, med 25 målepunkter for hver prøve.

Programvaren som ble brukt under reologimålingene var RheoPlus Rheometer Software. Resultatene av målingene ble illustrert i programmet med en graf, et eksempel på en sann graf er vist i Figur 6 (kap. 2.7.2). Hvert punkt illustrere hver av de 25 målingene gjort i løpet av analysen. Parametere som ble bestemt under testen var gelens styrke [Pa] ved krysningpunktet, gelens elastiske egenskaper G' [Pa], gelens viskøse egenskaper G'' [Pa] og forholdet mellom gelens elastiske og viskøse egenskaper $\tan(\delta)$ [g].

Målepunkt nummer 15 ble valgt ut som punkt for å hente ut måling av kompleks viskositet i ferskostene, da dette var nærmest flytpunktet i alle prøvene (punktet er markert i Figur 6 i kap. 2.7.2). Grunnlaget for valg av punkt 15 var at det er ved dette punktet grafen «knekker», som representerer overgangen fra viskøs til elastisk oppførsel.

3.4.12 Sensorisk analyse

I hovedforsøket ble det gjennomført en sensorisk profilering av et utvalg av ferskostene ystet av melk uten bakterietilsetning. Det ble etablert et fast panel med 6 utrente studenter ved KBM, NMBU. Dette var ikke de samme dommerne som deltok på profileringen gjort i forforsøket. Det ble gjennomført to sesjoner med profilering.

I forkant av første profilering ble det gjennomført en felles gjennomgang for å kalibrere dommerne. Her fikk dommerne servert to ulike prøver som var betraktet som ytterpunkter, dette var Synnøve Gresk yoghurt Naturell og LUB2. Dommerne fikk se, lukte og smake på prøvene for at de skulle bli enige om ytterpunktene på skalaene for egenskapene de senere skulle vurdere.

Da kalibreringen var ferdig, og alle dommerne var kjent med egenskapene ble den sensoriske profileringen gjennomført. Dette ble gjort på sensorikk-labben ved KBM, NMBU. De fikk utdelt et glass med vann for å skylle munnen mellom hver prøve og en spytebøtte om de skulle ønske å spytte ut prøvene. I hver runde av profileringen fikk dommerne servert prøver av de fire ferskostene ystet av melk uten bakterietilsetning. Synnøve Gresk yoghurt Naturell ble brukt som kommersiell sammenligning. Alle ostene ble servert som to replikater, og det var dermed

totalt 10 prøver dommerne skulle vurdere. Prøvene ble servert i petriskåler og holdt omtrent 4°C ved servering.

Alle prøvene fikk hver sin tilfeldige og unike tresifret kode. Rekkefølgen prøvene ble servert, var randomisert, men alle dommerne smakte i samme rekkefølge. Resultatene ble innhentet med et skjema laget ved bruk av Nettskjema (Universitetet i Oslo, Oslo), et utsnitt av dette finnes i Vedlegg 1. Egenskapene som skulle vurderes var likt med de som ble brukt i den sensoriske profileringen i forforsøket, med unntak av «munnfølelse» som ble byttet ut med «konsistens». Beskrivelse av egenskapene er vist i Tabell 3. Egenskapene var satt opp i den rekkefølgen dommerne skulle vurdere prøvene; først se og ta på prøven, deretter lukte, så smake for å bedømme tekstur og til slutt smake en andre gang for å bedømme smak.

Tabell 3. Egenskaper som ble brukt under sensorisk profilering med beskrivelse. Egenskapene ble vurdert med en skala fra 1-9.

	<i>Egenskap</i>	<i>Beskrivelse</i>
<i>Utseende</i>	Farge	Grad av hvitfarge. 1=Hvit, 9=Gulhvit
	Myseutskillelse	Grad av myseutskillelse. 1=Ingen, 9=Mye
	Fnokker	Mengde fnokker til stede. 1=Ingen, 9=Mye
<i>Lukt</i>	Syrlig lukt	Grad av syrlig lukt. 1=Ingen, 9=Mye'
	Smørlykt	Grad av smørlykt. 1=Ingen, 9=Mye
	Yoghurtlykt	Grad av acetaldehyd-/yoghurtlykt. 1=Ingen, 9=Mye
<i>Tekstur</i>	Konsistens	Tykkelse på konsistens. 1=Tynn, 9=Tykk
	Kornethet	Grad av kornethet. 1=Ingen, 9=Mye
<i>Smak</i>	Yoghurtsmak	Grad av acetaldehyd-/yoghurtsmak. 1=Ingen, 9=Mye
	Smørsmak	Grad av smørsmak. 1=Ingen, 9=Mye
	Syrlig smak	Grad av syrlig smak. 1=Ingen, 9=Mye
	Friskhet	Grad av friskhet. 1=Ingen, 9=Mye

Sensorisk profilering med trente dommere

Det ble gjennomført en sensorisk profilering med to trente dommere for å verifisere resultatene fra den sensoriske profileringen utført av utrente dommere. De to trente dommerne var to stipendiater som gjennomfører en industriell doktorgrad ved KBM, NMBU i samarbeid med TINE SA. Det ble bare gjort i en runde, derfor vurderte de kun ferskostene produsert i produksjonsuke 2, i tillegg til Synnøve Gresk yoghurt Naturell. Det var likt oppsett for det trente panelet som det var for den sensoriske profileringen med utrente dommere.

3.5 Databehandling

Microsoft Office Excel (2019) ble brukt for å behandle rådata ved utregning av gjennomsnitt og standardavvik, samt for å lage stople-, linje- og radardiagram. RStudio (2023) og SAS Enterprise Guide (v.8.3) ble brukt for å utføre en blandet effekt ANOVA med to faste effekter og én tilfeldig effekt. Prinsipalkomponentanalyse (PCA) ble utført ved bruk av Aspen Unscrabler (versjon 14.2). Databehandlingene i SAS ble utført ved hjelp av hovedveileder.

4. Resultater

4.1 Forforsøk

I forforsøket ble det ystet ferskost med to faste forsøksfaktorer; fettinnhold (2 og 3,5 (%)) og varmebehandling (L og H), i tillegg ble melkebatch brukt som en tilfeldig faktor. En mixed-design ANOVA ble brukt for å undersøke om forsøksfaktorene hadde en signifikant effekt på kvalitetsegenskapene til ferskost studert i forforsøket. Resultatene viste at begge forsøksfaktorene hadde en signifikant effekt ($p < 0,05$) på tørrstoffinnholdet.

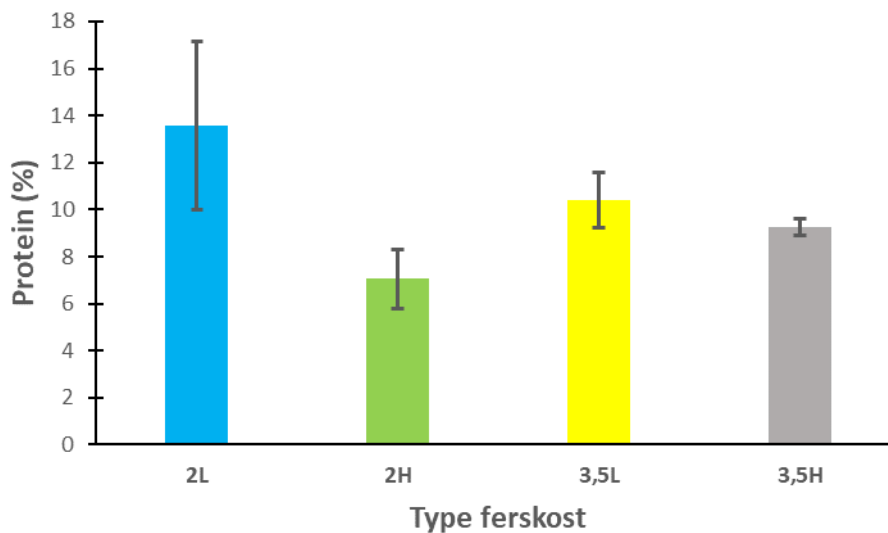
4.1.1 Mikrobiologi

Alle ferskostene ystet i prøveysting B og C ble undersøkt for antall psykrotrofe bakterier, streptokokker og koliforme bakterier. Resultatene var derfor gjennomsnittlig bakterievekst observert fra disse to ystingene, dermed er $n=2$.

For alle typene ferskost (2L, 2H, 3,5L og 3,5H,) var antallet psykrotrofe bakterier over 1 log kde/m, standardavvikene var noe høye som viser at det var betydelig variasjon mellom de to gjentakene. Antallet av streptokokker som ble funnet i alle ferskostene var over 9 log kde/mL. Antallet i 2L-ost var noe lavere, $8,62 \pm 0,08$ log kde/mL, men dette var ingen signifikant forskjell. Det var ingen observert vekst av koliforme bakterier fra noen av ferskostene.

4.1.2 Proteininnhold

Det beregnede proteininnholdet fra Kjeldahl-målingene gjort i forforsøket er vist i Figur 16. De ulike forsøksfaktorene, fettinnhold og varmebehandling, viste ingen signifikant effekt på proteininnholdet ($p > 0,05$).

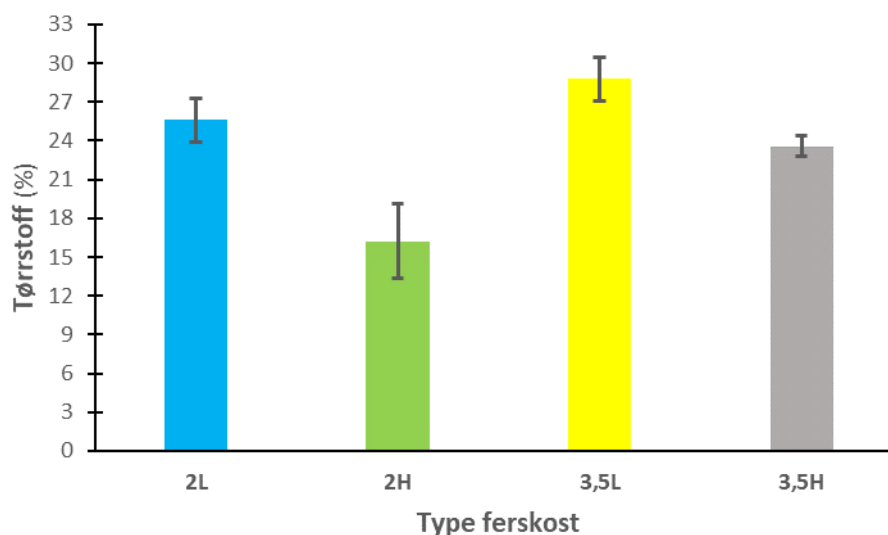


Figur 16. Proteininnhold i ferskost produsert i forforsøket. Verdiene er gjennomsnittet av prøveysting B og C, standardavvik er vist med feilfelt ($n=2$). (2 = 2% fett i ystemelk, 3,5 = 3,5% fett i ystemelk, L = Lavpasteurisert ystemelk, H = Høypasteurisert ystemelk).

Diagrammet i Figur 16 viser at det var 2L-ost som hadde det høyeste proteininnholdet, på over 13%, men diagrammet viser også store standardavvik som tilsier stor variasjon mellom de to prøveystingene. Det var ingen signifikant forskjell mellom proteininnholdet til de ulike ferskostene. Med utgangspunkt i det gjennomsnittlige proteininnholdet, viser resultatene en trend hvor ferskostene ystet av lavpasteurisert melk hadde et høyere proteininnhold enn ferskostene ystet av høypasteurisert melk.

4.1.3 Tørrstoffinnhold

I Figur 17 er tørrstoffinnholdet til ferskostene ystet i forforsøket presentert. Både fettinnhold i ystemelken og varmebehandling av ystemelken hadde signifikant effekt ($p < 0,05$) på tørrstoffinnholdet til de ulike ferskostene.



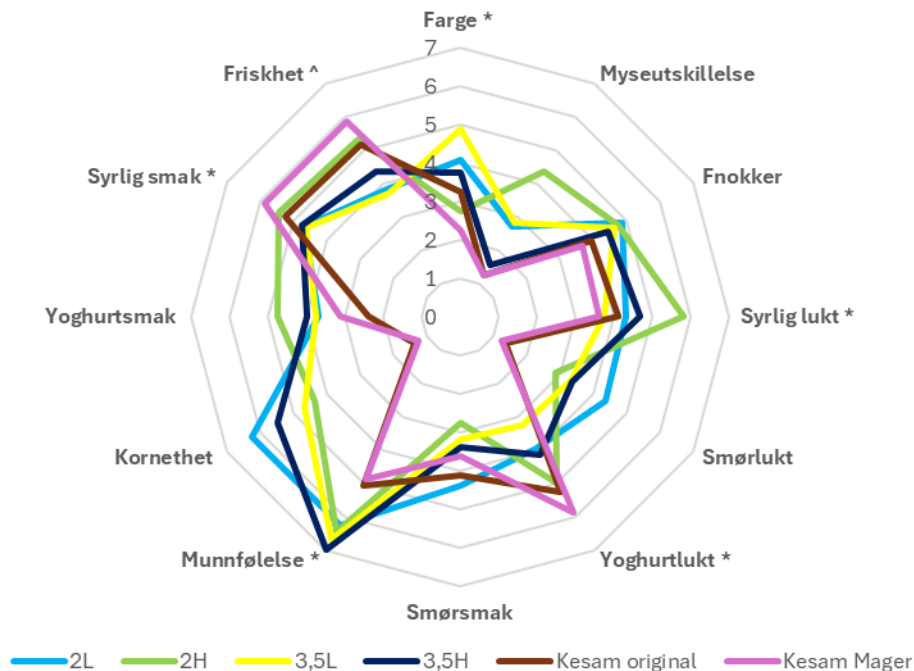
Figur 17. Tørrstoffinnholdet til ferskostene ystet i forforsøket. Verdiene er gjennomsnittet av prøveysting B og C, standardavvik er vist med feilfelt ($n=2$). (2 = 2% fett i ystemelk, 3,5 = 3,5% fett i ystemelk, L = Lavpasteurisert ystemelk, H = Høypasteurisert ystemelk).

Resultatet fra tørrstoffmålingene viste en signifikant forskjell ($p < 0,05$) mellom lav og høy varmebehandling av ystemelken. Ferskostene som var ystet av lavpasteurisert melk hadde et høyere tørrstoffinnhold enn de ferskostene som var ystet av høypasteurisert melk. Det var også en signifikant forskjell ($p < 0,05$) mellom tørrstoffinnholdet i ferskostene med hensyn til fettinnholdet i ystemelken. Ferskostene ystet av melk med 2% fett hadde et lavere tørrstoffinnhold enn ferskostene ystet av melk med 3,5% fett hadde.

4.1.4 Sensorisk profilering

Resultatene fra den sensoriske profileringen gjennomført i forforsøket er illustrert i Figur 18. Figuren viser bedømmelsen av de 4 ulike ferskostene ystet i prøveysting C, samt TINE Kesam® Naturell og TINE Kesam® Mager Naturell. Fettinnholdet i ystemelken hadde en

signifikant effekt ($p < 0,05$) på farge, yoghurtlukkt og munnfølelse. Varmebehandling hadde en signifikant effekt ($p < 0,05$) på farge, syrlig lukkt og yoghurtlukkt, samt at det var en signifikant forskjell ($p < 0,01$) på friskhet.



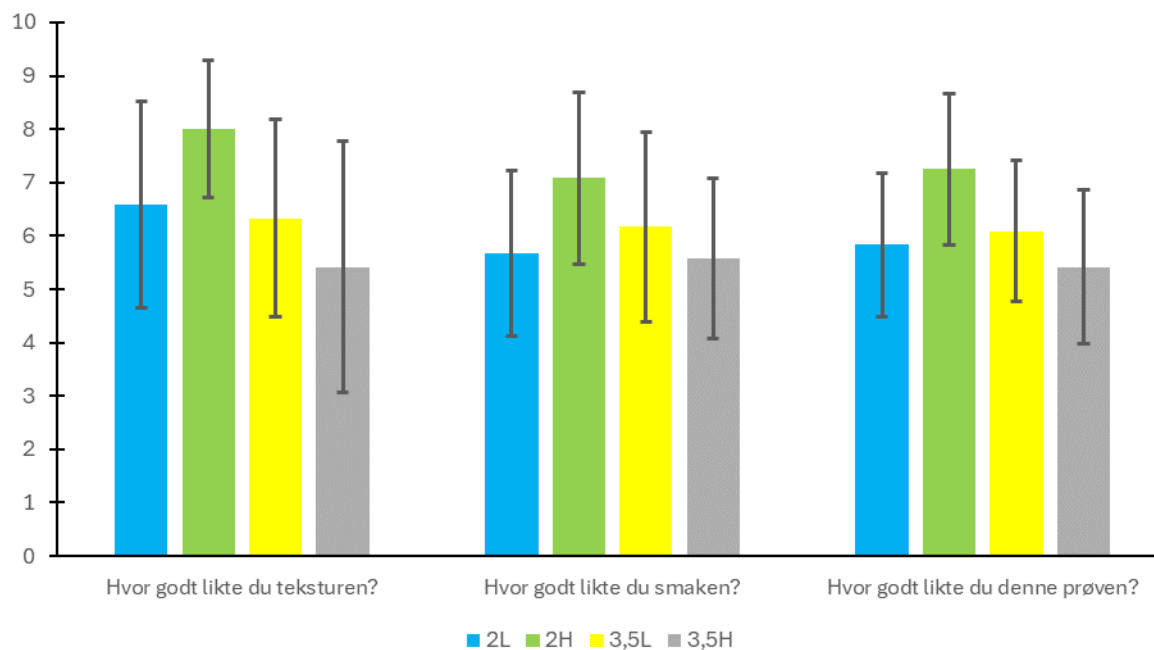
Figur 18. Spindelvevplott av sensorisk profilering av ferskost ystet i prøveysting C, samt de to kommersielle produktene. Verdiene er gjennomsnittet av to replikater av hver ferskost (n=2) og antall dommere (n=8). (* =Egenskap hvor minst én av forsøksfaktor har hatt signifikant effekt ($p < 0,05$) i forsøksostene, ^ =Egenskap hvor minst én forsøksfaktor har hatt signifikant effekt ($p < 0,01$) i forsøksostene, 2 = 2% fett i ystemelk, 3,5 = 3,5% fett i ystemelk, L = Lavpasteurisert ystemelk, H = Høypasteurisert ystemelk).

Ferskosten som hadde mest yoghurtlukkt og syrlig lukkt var ferskost 2H. Denne ferskosten var også den minst kornete av de forsøksostene. Det var ikke stor forskjell mellom forsøksostene for egenskapene fnokker og munnfølelse. Alle fikk en poengsum mellom 4 og 5 for fnokker, og >6 for munnfølelse.

Dommerne bedømte de to kommersielle produktene nokså likt. De kommersielle produktene skilte seg ut fra de andre ostene, de var mindre kornete, hadde mindre myseutskillelse og en tynnere munnfølelse.

4.1.5 Likingstest

Det ble utført en likingstest av de 4 ulike ostene produsert i prøveysting C i forforsøket. Det var 12 tilfeldige deltakere som rangerte ostene på en skala fra 1-9 på hvor godt de likte teksturen, hvor godt de likte smaken og hvor godt de samlet sett likte osten. Figur 19 viser hvordan prøvene ble rangert i likingtesten.



Figur 19. Resultater fra likingstest utført for ferskost ystet i prøveysting C. Verdiene er gjennomsnittet av rangeringen gitt av 12 deltakere, standardavvik er vist med feilfelt ($n=12$). (2 = 2% fett i ystemelk, 3,5 = 3,5% fett i ystemelk, L = Lavpasteurisert ystemelk, H = Høypasteurisert ystemelk).

Det var ingen signifikant forskjell mellom hvor godt deltakerne likte teksturen, smaken eller ferskostene samlet sett. Det var dog ferskost 2H som hadde høyest gjennomsnittlig score for liking på alle tre spørsmål.

4.2 Hovedforsøk

I hovedforsøket var lagringstid av ystemelk og bakterietilsetning til ystemelk faste forsøksfaktorer, mens melkebatch var, som i forforsøket, en tilfeldig faktor. En mixed-design ANOVA ble brukt for å undersøke om noen av forsøksfaktorene alene eller i samspill hadde en signifikant effekt ($p < 0,05$) på de målte parametrene.

4.2.1 Ystemelk

Både rå og behandlet ystemelk ble analysert. Resultatene fra disse analysene er presentert i de neste underkapitlene.

Mikrobiologi

Rå ystemelk ble undersøkt for antall koliforme og psykrotrofe bakterier, samt totalt bakterietall. Resultatene fra de mikrobiologiske undersøkelsene er vist i Tabell 4. Lagring hadde en signifikant effekt ($p < 0,05$) på antall psykrotrofe bakterier og totalt bakterietall.

Tabell 4. Observert antall bakterier i rå melk etter dyrking på VRBA (37°), PCA (22°C) og PCA (30°C). Verdiene er gjennomsnittet av to melkebatcher, standardavvik (SD) ($n=2$). (*F* = Fersk melk, *L* = Lagret melk, *UB* = Uten bakterietilsetning, *MB* = Med bakterietilsetning).

Ystemelk	VRBA 37°C (log kde/mL)		PCA 22°C (log kde/mL)		PCA 30°C (log kde/mL)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
<i>FUB</i>	1,3	±0,05	3,27	±0,002	3,91	±0,04
<i>FMB</i>	1,2	±0,02	3,23	±0,05	4,23	±0,08
<i>LUB</i>	1,54	±0,1	5,91	±0,06	5,9	±0,01
<i>LMB</i>	1,61	±0,04	6,21	±0,06	6,22	±0,18
Effekt						
<i>Lagring</i>	ns		$p < 0,05$		ns	
<i>Bakterietilsetning</i>	ns		ns		ns	

Lagret rå melk hadde høyere vekst på alle de undersøkte agarene enn fersk rå melk. Vekst på PCA inkubert ved 22°C viste at mengden av psykrotrofe bakterier i fersk rå melk med og uten bakterietilsetning var ~ log 3 kde/mL, etter lagring av antallet fordoblet (~ log 6 kde/mL). Det ble observert mer psykrotrofe bakterier i LMB-melk enn i LUB-melk. Totalt bakterietall målt ved vekst på PCA ved 30°C var bare litt høyere enn antallet psykrotrofe bakterier, og noe høyere når det var tilsatt bakterier.

Sammensetning av ystemelk

Sammensetningen av ystemelk målt med FTIR er vist i Tabell 5. Resultatene viser innholdet etter melkebehandling. Lagringstid av ystemelken hadde en signifikant effekt ($p < 0,05$) på proteininnholdet, kaseininnholdet og laktoseinnholdet i ystemelken. Bakterietilsetning hadde ingen signifikant effekt på sammensetningen av ystemelken. Fettinnholdet i ystemelken ble standardisert etter lagring og bakterietilsetning, dermed var ikke forsøksfaktorene relevant for fettinnholdet.

Tabell 5. Sammensetning av ystemelk etter melkebehandling. Verdiene er gjennomsnittet av de ulike melkebatchene, standardavvik (SD) vist ved siden av hver komponent ($n=2$). (*F* = Fersk melk, *L* = Lagret melk, *UB* = Uten bakterietilsetning, *MB* = Med bakterietilsetning).

Ystemelk	Fett (%)		Protein (%)		Kasein (%)		Laktose (%)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
<i>FUB</i>	2,11	±0,06	3,83	±0,01	4,92	±0,02	2,86	±0,01
<i>FMB</i>	2,03	±0,005	3,80	±0,02	4,90	±0,02	2,84	±0,01
<i>LUB</i>	2,13	±0,12	3,68	±0,13	4,75	±0,13	2,76	±0,08
<i>LMB</i>	2,06	±0,07	3,73	±0,08	4,83	±0,12	2,80	±0,06
Effekt								
<i>Lagring</i>	-		$p < 0,05$		$p < 0,05$		$p < 0,05$	
<i>Bakterietilsetning</i>	-		ns		ns		ns	

Ønsket fettinnhold i ystemelken var 2%, resultatene fra FTIR viste at fettinnholdet i ystemelken varierte mellom 2,0% til 2,13%. Proteininnholdet i fersk ystemelk var signifikant høyere ($p < 0,05$) enn i lagret ystemelk. Fersk ystemelk hadde også signifikant høyere ($p < 0,05$) kasein- og laktoseinnhold enn lagret ystemelk.

Organiske karbohydrater og flyktige aromakomponenter

Innholdet av organiske syrer, karbohydrater og flyktige aromakomponenter målt ved bruk av HPLC og HSGC er vist i Tabell 6 og Tabell 7. Ingen av forsøksfaktorene hadde signifikant ($p > 0,05$) effekt på innholdet av organiske syrer, karbohydrater eller flyktige aromakomponenter.

Tabell 6. Innhold av organiske syrer og karbohydrater i ystemelk. Verdiene er gjennomsnittet av 2 melkebatcher, standardavvik ($n=2$). (*F* = Fersk melk, *L* = Lagret melk, *UB* = Uten bakterietilsetning, *MB* = Med bakterietilsetning).

Ystemelk	Laktose (mmol/kg)		Sitronsyre (mmol/kg)		Orotinsyre (mmol/kg)		Urinsyre (mmol/kg)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
<i>FUB</i>	139,16	±0,61	11,20	±0,34	0,51	±0,003	0,13	±0,001
<i>FMB</i>	138,58	±2,27	9,63	±1,93	0,52	±0,003	0,13	±0,004
<i>LUB</i>	133,25	±5,15	10,68	±0,40	0,49	±0,028	0,12	±0,001
<i>LMB</i>	137,47	±1,89	11,05	±0,24	0,51	±0,001	0,13	±0,001
Effekt								
<i>Lagring</i>	ns		ns		ns		ns	
<i>Bakterietilsetning</i>	ns		ns		ns		ns	

Det var mellom 130-140 mmol/kg laktose i alle typene ystemelk og mellom 9 – 11,2 mmol/kg sitronsyre. Det ble også detektert veldig lave verdier av orotinsyre og urinsyre i ystemelken.

Tabell 7. Innhold av flyktige aromakomponenter i ystemelk. Verdiene er gjennomsnittet av 2 melkebatcher, standardavvik ($n=2$). (*F* = Fersk melk, *L* = Lagret melk, *UB* = Uten bakterietilsetning, *MB* = Med bakterietilsetning).

Ystemelk	Acetaldehyd (ppm)		Etanol (ppm)		Aceton (ppm)		2-butanon (ppm)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
<i>FUB</i>	0,06	±0,007	0,32	±0,188	1,40	±0,171	0,03	±0,003
<i>FMB</i>	0,06	±0,002	0,12	±0,003	1,52	±0,169	0,03	±0,006
<i>LUB</i>	0,05	±0,002	0,20	±0,070	1,41	±0,301	0,03	±0,003
<i>LMB</i>	0,06	±0,003	0,18	±0,056	1,69	±0,005	0,04	±0,004
Effekt								
<i>Lagring</i>	ns		ns		ns		ns	
<i>Bakterietilsetning</i>	ns		ns		ns		ns	

Det var generelt lite innhold av flyktige aromakomponenter i alle typer ystemelk.

4.2.2 Ferskost

Det ble gjort mikrobiologiske, kjemiske, reologiske og sensoriske analyser på ferskost. Resultatene fra disse analysene er presentert i de neste underkapitlene.

Mikrobiologi

Tabell 8 viser antall psykrotrofe bakterier og streptokokker i de ulike ferskostene. Lagringstid hadde signifikant effekt ($p < 0,05$) på antall psykrotrofe bakterier. Bakterietilsetning hadde ingen signifikant effekt på vekst av bakterier.

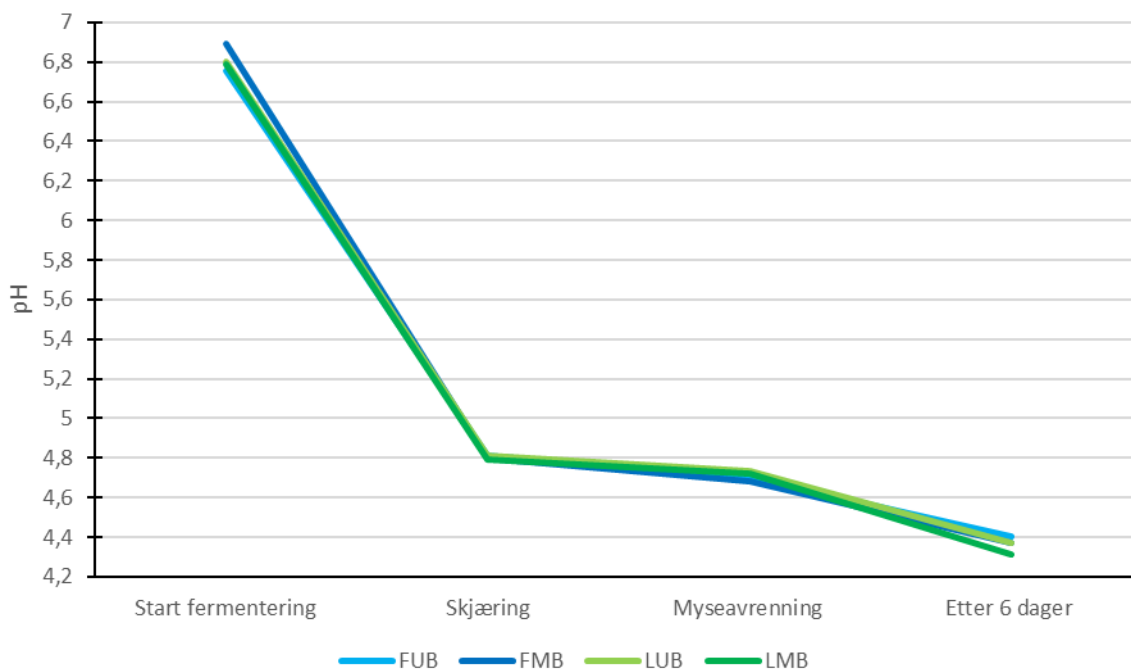
Tabell 8. Observert antall bakterier i ferskost etter dyrking på PCA (22°C) og M17 (42°C). Verdiene er gjennomsnittet av de 4 gjentakene, standardavvik (SD) ($n=4$). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning).

Ferskost	PCA (22°C) (log kde/mL)		M17 (42°C) (log kde/mL)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
<i>FUB</i>	<1	-	9,62	±0,15
<i>FMB</i>	<1	-	9,61	±0,10
<i>LUB</i>	1,87	±0,21	9,68	±0,09
<i>LMB</i>	1,99	±0,60	9,67	±0,12
Effekt				
<i>Lagring</i>	p<0,05		ns	
<i>Bakterietilsetning</i>	ns		ns	

Antall psykrotrofe bakterier, målt ved vekst på PCA ved 22°C, var signifikant ($p < 0,05$) lavere i ferskost ystet av fersk melk enn i ferskost ystet av lagret melk. Antall psykrotrofe bakterier i ferskost ystet av lagret melk var henholdsvis $1,87 \pm 0,21$ log kde/mL og $1,99 \pm 0,60$ for ferskost ystet av lagret melk. Vekst på M17 ved 42°C viste at antallet streptokokker i alle typene ferskost var $\sim 9,6$ log kde/mL. Det var ingen observert vekst av koliforme bakterier på VRBA ved 37°C i noen av ferskostene.

pH

pH ble målt gjennom hele ysteprosessen, samt etter 6 dager. Endringene i pH er illustrert i Figur 20. Lagringstid av ystemelk hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på pH i ferskost etter 6 dager.



Figur 20. pH for ystemelk og ferskost gjennom ysteprosessen. Verdiene er gjennomsnittet av de fire gjentakene ($n=4$). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning).

pH på de ulike tidspunktene i var nokså like for de ulike ferskostene. Under skjæring var pH rundt 4,8. Fermenteringen ble stoppet mellom pH 4,7 – 4,6, og dermed var dette pH ved myseavrenning. Etter 6 dager var pH mellom 4,4 – 4,3. Den gjennomsnittlige pH-verdien til ferskostene ystet av lagret melk var noe lavere enn pH til ferskostene ystet av fersk melk.

Proteininnhold

Beregnet proteininnhold fra Kjeldahl-målingene av de ulike ferskostene er vist i Tabell 9. Det var ingen signifikant effekt ($p > 0,05$) av lagringstid av ystemelk eller bakterietilsetning i ystemelk på proteininnholdet.

Tabell 9. Proteininnhold i ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik (SD) ($n=2$). (2 = 2% fett i ystemelk, 3,5 = 3,5% fett i ystemelk, L = Lavpasteurisert ystemelk, H = Høypasteurisert ystemelk).

Ferskost	Proteininnhold (%)	
	Gj. snitt	s.d.
FUB	8,77	±0,15
FMB	8,96	±0,37
LUB	9,56	±1,00
LMB	9,11	±0,41
Effekt		
Lagring	ns	
Bakterietilsetning	ns	

Alle ferskostene hadde et proteininnhold over 8,5%, men det var ingen signifikant ($p > 0,05$) forskjell mellom de ulike ferskostene. Det gjennomsnittlige proteininnholdet i ferskostene ystet av lagret melk var noe høyere enn i ferskostene ystet av fersk melk.

Tørrstoffinnhold

Tabell 10 viser tørrstoffinnholdet til de ulike typene ferskost. Ingen av forsøksfaktorene hadde en signifikant ($p > 0,05$) effekt på tørrstoffinnholdet.

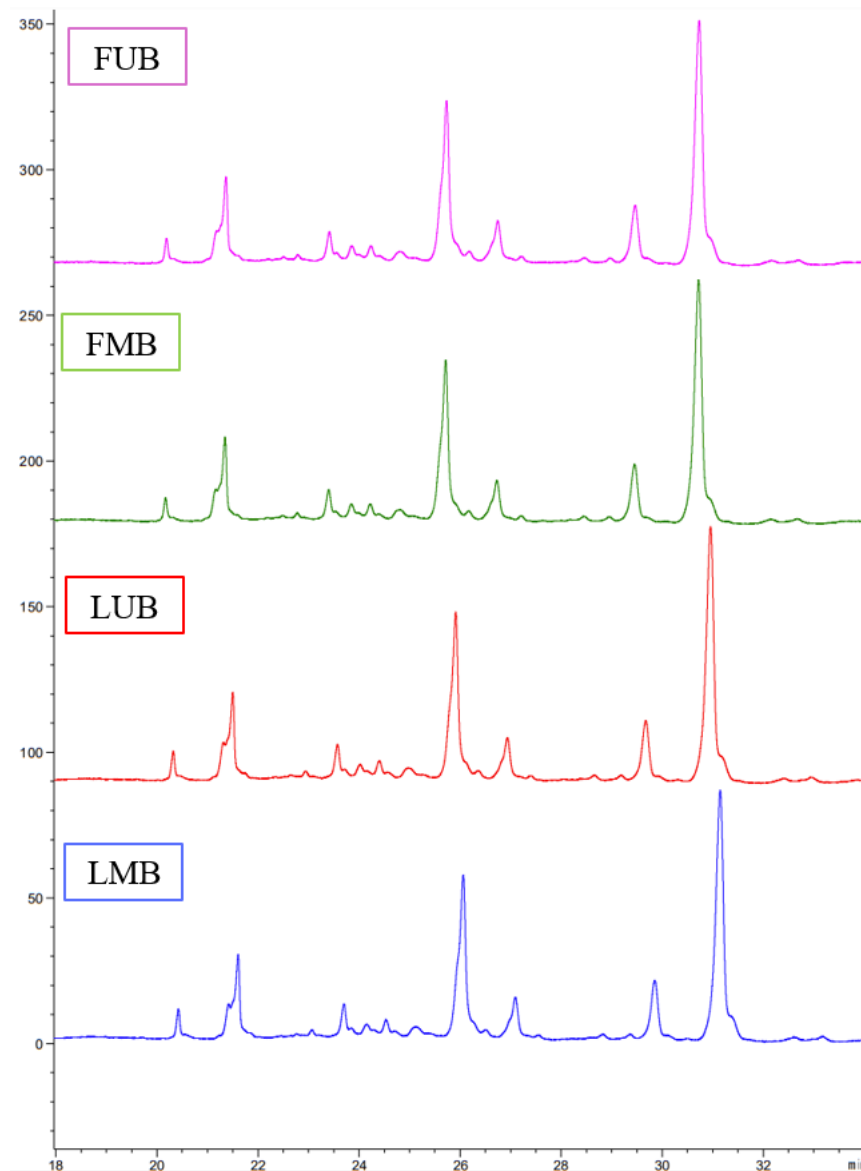
Tabell 10. Tørrstoffinnhold i ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik er vist med feilfelt ($n=2$). (*F* = Fersk melk, *L* = Lagret melk, *UB* = Uten bakterietilsetning, *MB* = Med bakterietilsetning).

Ferskost	Tørrstoffinnhold (%)	
	Gj. snitt	s.d.
<i>FUB</i>	18,03	±0,36
<i>FMB</i>	18,75	±0,21
<i>LUB</i>	19,70	±1,78
<i>LMB</i>	18,76	±0,41
Effekt		
<i>Lagring</i>	ns	
<i>Bakterietilsetning</i>	ns	

Det var ingen signifikante ($p > 0,05$) mellom tørrstoffinnholdet i de ulike ferskostene. Det gjennomsnittlige tørrstoffinnholdet i FUB-ost var noe lavere enn i FMB-ost, dette var ikke gjenspeilet for LUB- og LMB-ost.

Kapillær elektroforese

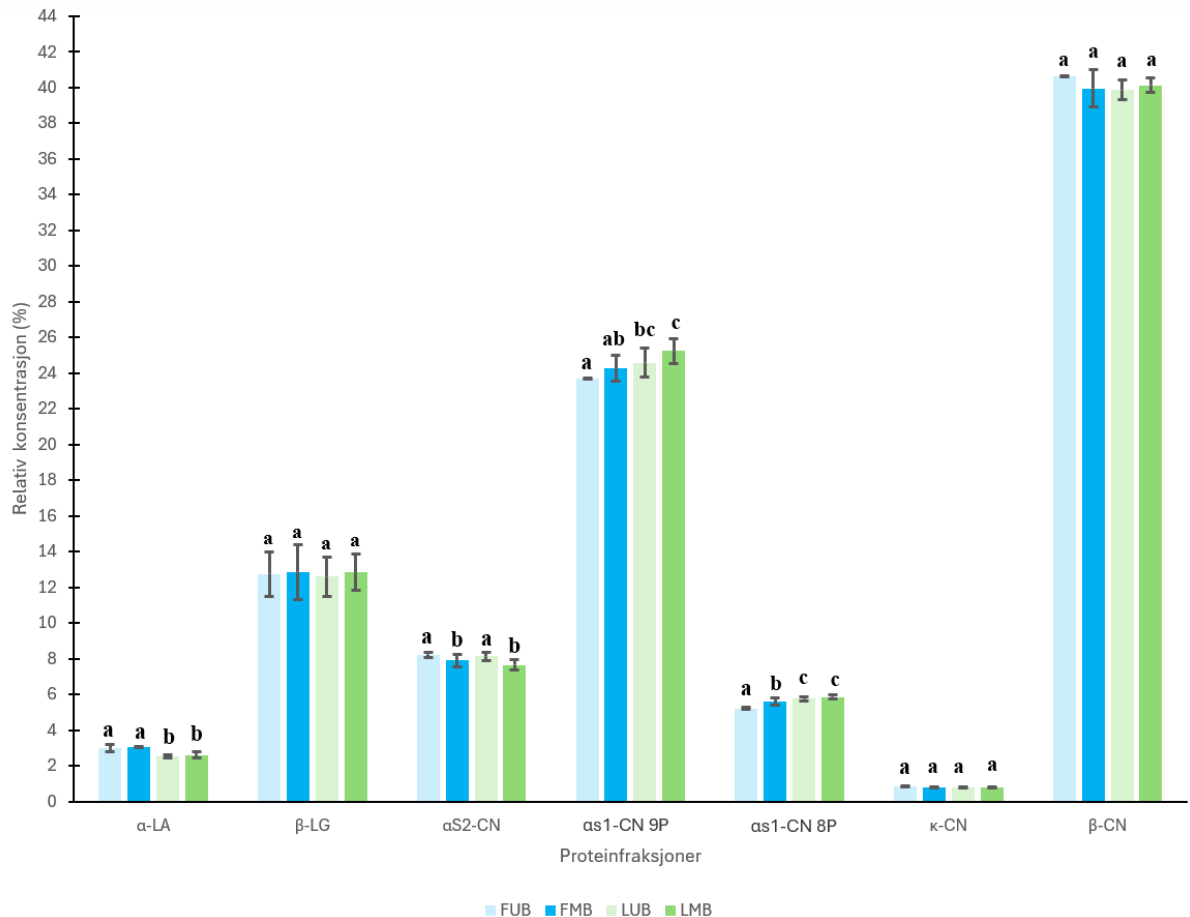
Proteinsammensetningen av ferskost ble analysert ved bruk av CE. Figur 21 viser elektroferogrammer av alle de ulike typene ferskost fra gjentak 3. Identifisering av toppen ble gjort som vist i Figur 13 (Kapillær elektroforese, kap. 4.2.2).



Figur 21. Elektroferogrammer for de ulike typene ferskost. Figuren viser målinger gjort av gjentak 3.

Med diagrammene i Figur 21 som utgangspunkt var det ikke mulig å se store forskjeller mellom proteinsammensetningen til de ulike typene ferskost.

Proteinsammensetningen som relativ konsentrasjon (%) av total mengde protein i ferskost er vist i Figur 22. Lagringstid hadde en signifikant ($p < 0,01$) effekt på konsentrasjonen av α -laktalbumin, α_{s1} -kasein 9P og α_{s1} -kasein 8P i ferskost. Bakterietilsetning hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på konsentrasjonen av α_{s1} -kasein 9P, samt en signifikant ($p < 0,01$) effekt på konsentrasjonen av α_{s2} -kasein og α_{s1} -kasein 8P.



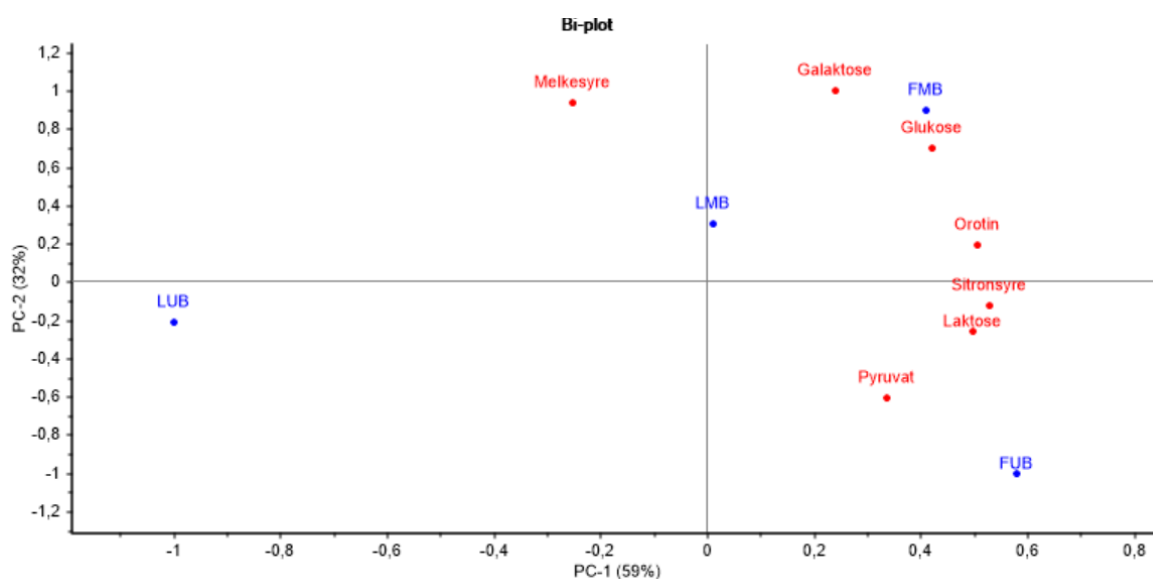
Figur 22. Proteinsammensetning i ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik er vist med feilfelt ($n=4$). (α -LA = α -laktalbumin, β -LG = β -laktoglobulin, α_{s2} -CN = α_{s2} -kasein, α_{s1} -9P-CN = α_{s1} -kasein 9P, α_{s1} -8P-CN = α_{s1} -kasein 8P, β -CN = β -kasein). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning). Ulik bokstav viser signifikant forskjell ($p < 0,05$) eller ($p < 0,01$).

Ferskost ystet av lagret melk hadde en signifikant ($p < 0,01$) lavere konsentrasjon av α -laktalbumin enn hva ferskost ystet av fersk melk hadde. Samtidig hadde ferskost ystet av lagret melk et signifikant ($p < 0,01$) høyere innhold av α_{s1} -kasein 9P og α_{s1} -kasein 8P enn ferskost ystet av fersk melk. De ferskostene som var ystet av melk tilsatt bakterier hadde en signifikant ($p < 0,05$) høyere konsentrasjon av α_{s1} -kasein 9P enn de uten bakterietilsetning, de hadde også

en signifikant ($p < 0,01$) høyere konsentrasjon av α_{s1} -kasein 8P enn de uten bakterietilsetning. Konsentrasjonene av α_{s2} -kasein var signifikant ($p < 0,01$) lavere i ferskost ystet av melk tilsatt bakterier enn den var i ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning.

Organiske syrer og karbohydrater

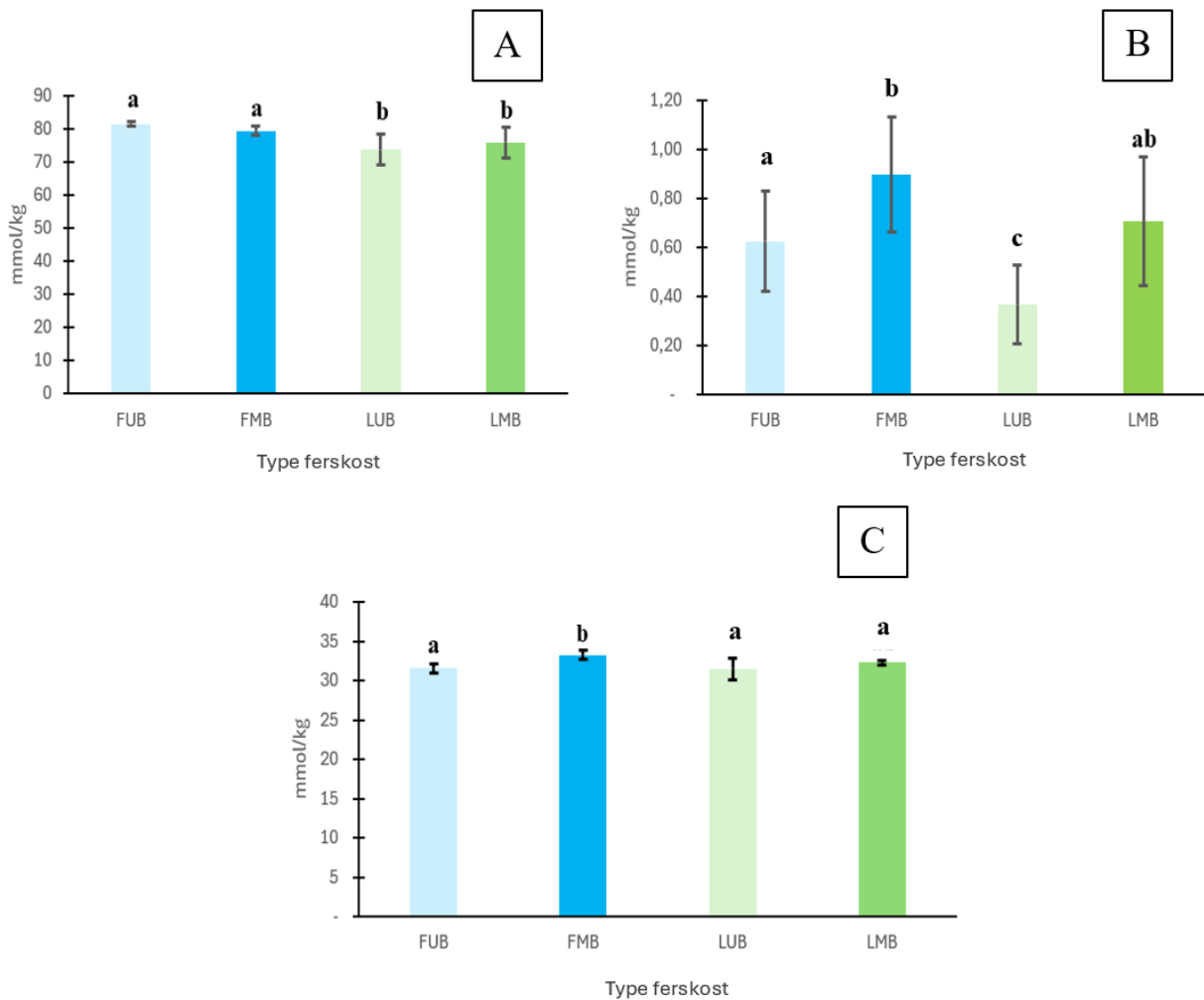
PCA-plottet i Figur 23 viser hvordan ferskostene varierte med hensyn til mengde innhold av organiske syrer og karbohydrater.



Figur 23. PCA-plott av de ulike ferskostene, med hensyn til innhold av organiske syrer og karbohydrater (melkesyre, sitronsyre, pyruvat, laktose, orotinsyre, glukose og galaktose). Ferskostene er markert i blått og organiske syrer og karbohydrater er markert i rødt. (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning).

I plottet over forklarer PC1 59% av variasjonen, og PC2 forklarer 32% av variasjonen. Plottet viser at ferskost ystet av fersk melk hadde et høyere innhold av galaktose, glukose, orotinsyre, sitronsyre, laktose og pyruvat enn ferskost ystet av lagret melk hadde. Forskjellen var dog kun signifikant ($p < 0,05$) glukose og laktose (som vist i Figur 24). Ferskostene som var ystet av melk tilsatt bakterier så ut til å ha et høyere innhold av glukose, galaktose og orotinsyre enn ferskostene som var ystet av melk uten bakterietilsetning. Men, ved å se plottet i sammenheng med resultatene presentert i Figur 24 var denne forskjellen signifikant ($p < 0,05$) kun for glukose og galaktose i ferskostene.

Lagringstid av ystemelk hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på innhold av laktose og glukose ($p < 0,01$) i ferskost. Bakterietilsetning til ystemelk hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på innhold av galaktose og glukose ($p < 0,01$) i ferskost. Diagrammer som viser innholdet av disse karbohydratene er vist i Figur 24.



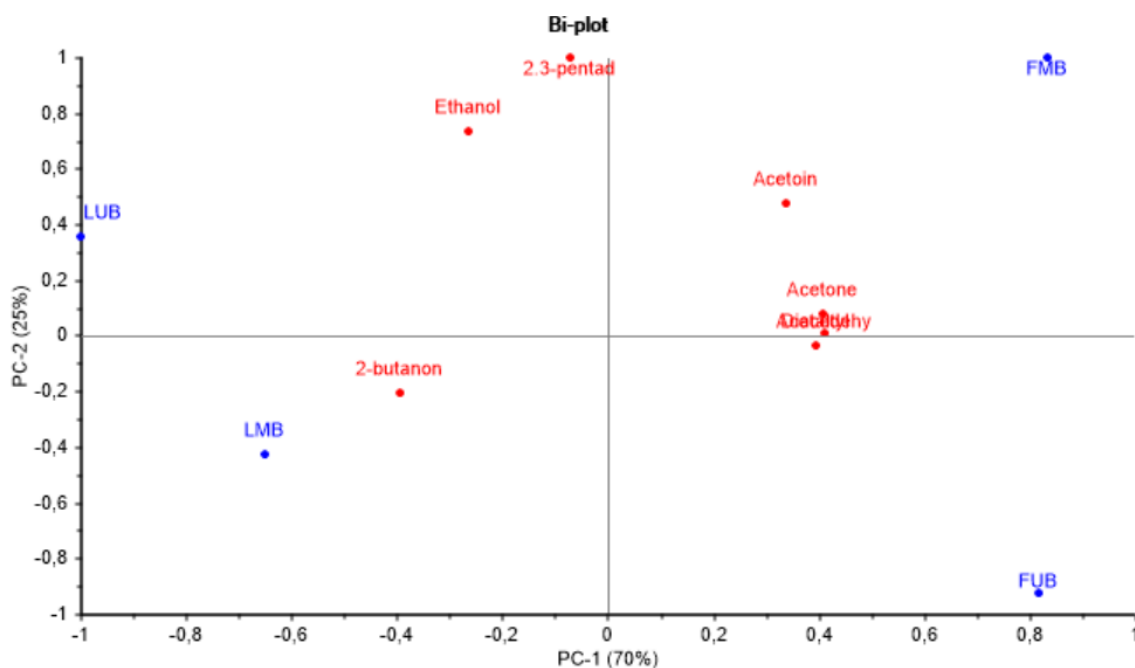
Figur 24. Innhold av laktose (A), glukose (B) og galaktose (C) i ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik er vist med feilfelt ($n=4$). Merk at y-askene i de ulike diagrammene er av ulik skala. (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning). Ulik bokstav viser signifikant forskjell ($p < 0,05$) eller ($p < 0,01$).

Innholdet av laktose var signifikant ($p < 0,05$) lavere i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk. Glukoseinnholdet var signifikant ($p < 0,01$) høyere i ferskost ystet av fersk melk enn i ferskost ystet av lagret melk. Det var også signifikant ($p < 0,01$) mer glukose i ferskostene ystet av melk tilsatt bakterier. Det var mellom 31-34 mmol/kg galaktose i alle

typene ferskost, men det var signifikant ($p < 0,05$) høyere innhold av galaktose i FMB-ost enn i de andre ferskostene.

Flyktige aromakomponenter

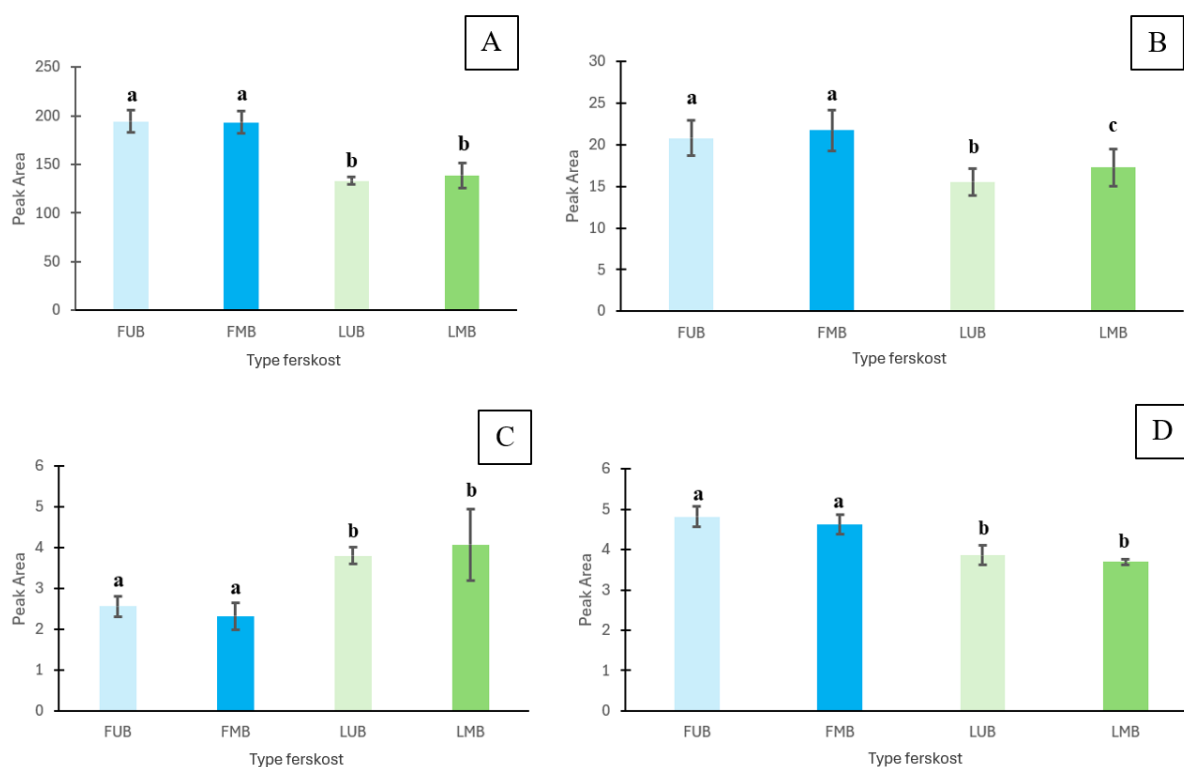
Et PCA-plott som viser forholdet mellom de ulike ferskostene med hensyn til innhold av flyktige aromakomponenter, er vist i **Figur 25**.



Figur 25. PCA-plott av de ulike ferskostene, med hensyn til innhold av flyktige aromakomponenter (etanol, 2-butanon, acetoin, aceton, acetaldehyd og diacetyl). Ferskostene er markert i blått, og de ulike aromakomponentene i rødt. (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning).

I PCA-plottet i Figur 25 er 70% av variasjonen forklart i PC1, og 25% i PC2. Plottet viser at ferskost ystet av fersk melk hadde mer acetoin, aceton, diacetyl og acetaldehyd enn ferskost ystet av lagret melk. Sett i sammenheng med resultatene presentert i Figur 26 var disse forskjellene signifikante ($p < 0,05$) for alle de nevnte aromakomponentene, med unntak av acetoin. Resultatene i plottet viser også at det var mer 2,3-pentadion, etanol og 2-butanon i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk. Forskjellene var signifikant ($p < 0,05$) for kun innhold av 2-butanon (som vist i Figur 26). Bakterietilsetning til ystemelken ser ikke ut til å hatt en systematisk påvirkning på innholdet av aromakomponenter i ferskost ut ifra resultatene vist i plottet.

Målt areal av de flyktige aromakomponentene hvor minst én av forsøksfaktorene hadde effekt er vist i Figur 26. Lagringstid av ystemelk hadde en signifikant ($p < 0,01$) effekt på mengde av acetaldehyd, aceton, 2-butanon og diacetyl i ferskost. Bakterietilsetning til ystemelk hadde en signifikant ($p < 0,01$) effekt på mengde av aceton i ferskost.



Figur 26. Målt areal av acetaldehyd (A), aceton (B), 2-butanol (C) og diacetyl (D) i ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik er vist med feilfelt ($n=4$). Merk at y-askene i de ulike diagrammene er av ulik skala. (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning). Ulik bokstav viser signifikant forskjell ($p < 0,01$).

Resultatene i Figur 26 viser at ferskost ystet av fersk melk hadde signifikant ($p < 0,01$) mye større areal av acetaldehyd enn ferskost som var ystet av lagret melk. Arealet av aceton var signifikant ($p < 0,01$) større i ferskostene ystet av fersk melk enn de som var ystet av lagret melk. For ferskostene som var ystet av lagret melk var det et signifikant ($p < 0,01$) større areal av aceton i den som var ystet av melk tilsatt bakterier. Det var signifikant ($p < 0,01$) større areal av 2-butanon i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk, mens ferskost ystet av fersk melk hadde et signifikant ($p < 0,01$) større areal av diacetyl.

Teksturanalyse

Vedhengskraften (gelklebrigheten) og nedtrykkskraften (gelfastheten) av gelen til de ulike typene ferskost er vist i Tabell 11. Bakterietilsetning til ystemelken hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på gelklebrigheten til ferskostene.

Tabell 11. Vedhengskraft (Force 1) (gelklebrigheten) og nedtrykkskraft (Force 2) (gelfastheten) for ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik (SD) ($n=4$). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning).

Ferskost	Force 1 (g)		Force 2 (g)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
FUB	-27,59	±8,66	41,85	±16,07
FMB	-45,85	±5,95	62,63	±10,27
LUB*	-37,82	±9,4	47,59	±22,66
LMB	-43,49	±11,23	57,66	±23,49
Effekt				
Lagring	ns		ns	
Bakterietilsetning	$p < 0,05$		ns	

*LUB-ost fra gjentak 2 er tatt ut av beregningen grunnet stort avvik fra de andre gjentakene, og ble betraktet som uteliggende prøve. (Rådata i Vedlegg 5).

Ved bakterietilsetning til ystemelken, skjedde det en signifikant ($p < 0,05$) økning i gelklebrigheten til ferskostene. Det var ingen signifikant ($p > 0,05$) endring i gelfastheten, men gjennomsnittsverdiene tilsier at gelen i ferskostene ystet av melk tilsatt bakterier var fastere enn gelen i ferskostene ystet av melk uten bakterietilsetning.

Oscillasjonstest

Tapstangenten (damping factor) ved flytpunkt og gelstyrke ved krysspunkt ($G'=G''$) er vist i Tabell 12. Lagringstid av ystemelk hadde signifikant effekt ($p<0,05$) på gelstyrke ved krysspunktet. Bakterietilsetning til ystemelk hadde signifikant effekt ($p<0,01$) på gelstyrke ved krysspunktet

Tabell 12. Tapstangent (Damping factor) ved flytpunkt og gelstyrke ved krysspunkt ($G'=G''$) for ferskost. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik (SD) ($n=4$). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning).

Ferskost	Damping factor (g)		$G' = G''$ (Pa)	
	Gj. snitt	s.d.	Gj. snitt	s.d.
FUB	0,31	$\pm 0,005$	335,32	$\pm 16,56$
FMB	0,31	$\pm 0,004$	597,29*	$\pm 101,39$
LUB	0,32**	$\pm 0,006$	270,35^	$\pm 10,02$
LMB	0,31	$\pm 0,009$	384,82^^	$\pm 70,80$
Effekt				
Lagring	ns		$p<0,05$	
Bakterietilsetning	ns		$p<0,01$	

* Ferskost FMB fra gjentak 2 tatt ut av beregningene her grunnet stort avvik fra resten av gjentakene.

** Ferskost LUB fra gjentak 2 tatt ut av beregningene her grunnet stort avvik fra resten av gjentakene.

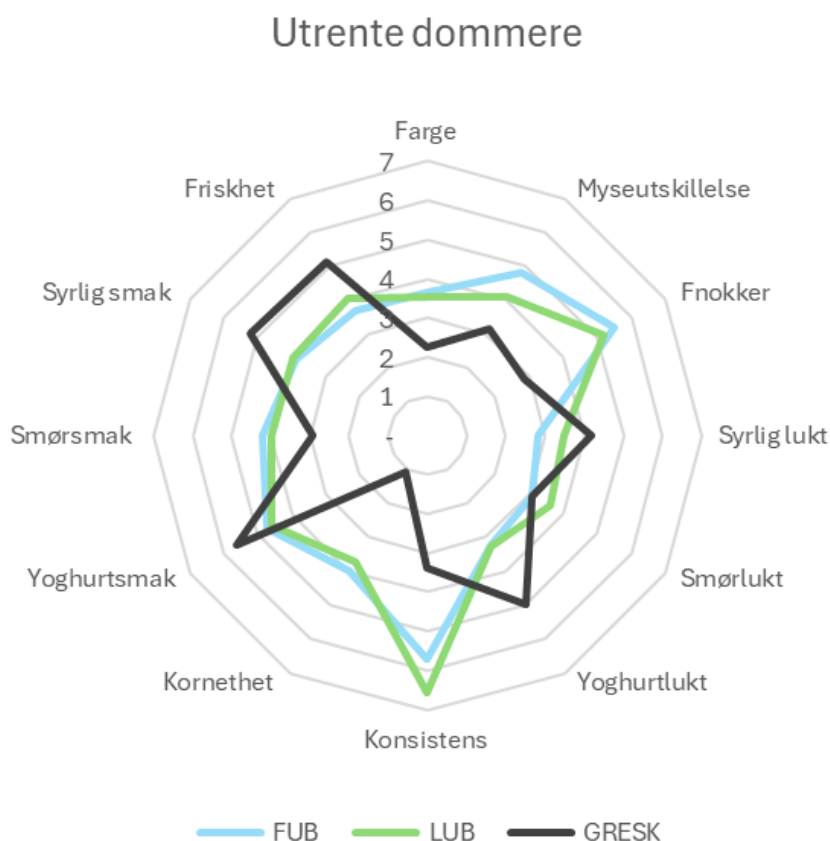
^ Ferskost LUB fra gjentak 1 og 2 tatt ut av beregningene her grunnet stort avvik fra resten av gjentakene.

^^ Ferskost LMB fra gjentak 2 tatt ut av beregningene her grunnet stort avvik fra resten av gjentakene.

Tapstangenten var omtrent like stor for alle de ulike typene ferskost. Ved krysspunktet var gelen til ferskost ystet av fersk melk sterkere enn ferskost ystet av lagret melk. Gelen til ferskost ystet av melk med bakterietilsetning var sterkere enn gelen til ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning. Å ta bort uteliggende gjentak som merket i figuren over ble disse forskjellene signifikante. Rådata fra oscillasjonstesten hvor uteliggende gjentak er inkludert er vist i Vedlegg 6, da var det ingen signifikant effekt av forsøksfaktorene.

Sensorisk profilering – utrent panel

Resultatene fra den sensoriske profileringen gjennomført av det utrente panelet er illustrert i Figur 27. Figuren viser bedømmelsen av 3 ulike ferskoster; ferskost ystet av fersk melk uten bakterietilsetning og ferskost ystet av lagret melk uten bakterietilsetning, samt Synnøve Gresk yoghurt Naturell. Lagringstid av ystemelken hadde ingen signifikant effekt ($p>0,05$) på noen av egenskapene.

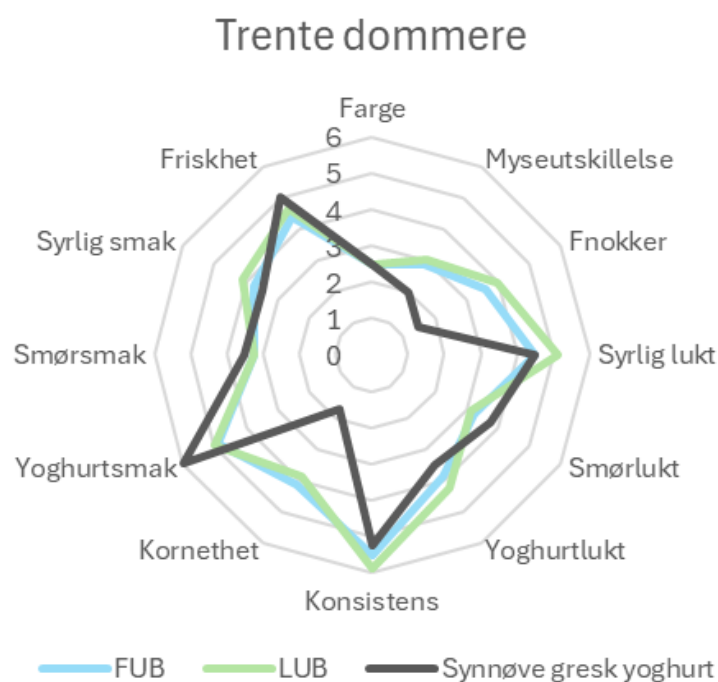


Figur 27. Spindelnevplott av sensorisk profilering av ferskost ystet av fersk melk og ferskost ystet av lagret melk og det kommersielle produktet, utført av utrente dommere. Verdiene er gjennomsnittet antall replikater av hver ferskost ($n=8$) og antall dommere ($n=6$). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, GRESK = Synnøve Gresk yoghurt Naturell).

Gjennomsnittsscoren på de fleste egenskapene for ferskost ystet av fersk melk og ferskost ystet av lagret melk ble vurdert nokså likt. Ferskost ystet av lagret melk hadde noe tykkere konsistens, og noe høyere grad av smørlukt og syrlig lukt. Sammenlignet med Synnøve Gresk yoghurt hadde de andre ferskostene mer smørlukt, mer myseutskillelse, mer fnokker og de var mer kornete. Samtidig hadde ferskostene ystet i denne studien lavere grad av yoghurtlukt, syrlig smak og friskhet enn Synnøve Gresk yoghurt.

Sensorisk profilering – trent panel

Resultatene fra den sensoriske profileringen gjennomført med det trente panelet er illustrert i Figur 28. Figuren viser bedømmelsen av 3 ulike ferskoster; ferskost ystet av fersk melk uten bakterietilsetning og ferskost ystet av lagret melk uten bakterietilsetning, samt Synnøve Gresk yoghurt Naturell.



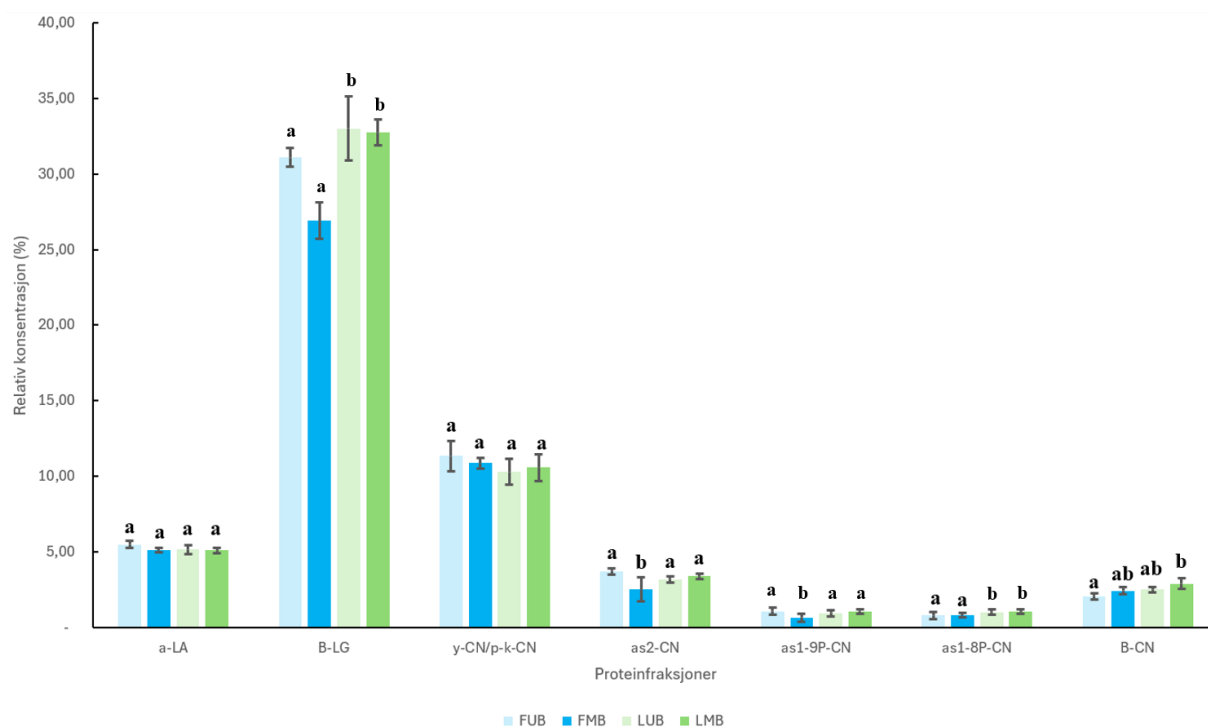
Figur 28. Spindelvevplott av sensorisk profilering av ferskost ystet av fersk melk, ferskost ystet av lagret melk og det kommersielle produktet. Verdiene er gjennomsnittet av to replikater av hver ferskost (n=2) og antall dommere (n=2). (FUB = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, GRESK = Synnøve Gresk yoghurt Naturell).

Gjennomsnittsscore for de ulike egenskapene var nokså lik blant ostene ystet i denne studien, imens gjennomsnittsscorene for Synnøve Gresk yoghurt skilte seg noe ut fra de andre. Sammenlignet med resultatene fra det utrente panelet (Figur 27), har det trente panelet vurdert ostene til å ha lavere score på myseutskillelse og fnokker. Samtidig har det trente panelet gitt en høyere gjennomsnittsscore til ostene for egenskapene friskhet, syrlig lukt yoghurtlukt og -smak.

4.2.3 Myse

Kapillær elektroforese

Diagrammet i Figur 29 viser proteinsammensetningen av mysen fra de ulike typene ferskost. Lagringstid av ystemelken hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på konsentrasjonen av β -laktoglobulin og β -kasein i myse, og en signifikant effekt ($p < 0,01$) på konsentrasjonen av α_{s1} -kasein 8P i myse. Bakterietilsetning til ystemelken hadde en signifikant ($p < 0,05$) effekt på konsentrasjonen av β -kasein i mysen. Konsentrasjonen av α_{s2} -kasein og α_{s1} -kasein 9P ble påvirket av en samspill effekt ($p < 0,05$) mellom de to forsøksfaktorene.



Figur 29. Proteinsammensetning i myse. Verdiene er gjennomsnittet av 4 gjentak, standardavvik er vist med feilfelt ($n=4$). (a-LA = α -laktalbumin, B-LG = β -laktoglobulin, y-CN/p-k-CN = γ -kasein/para- κ -kasein, as2-CN = as2-kasein, as1-9P-CN = as1-kasein 9P, as1-8P-CN = as1-kasein 8P, B-CN = β -kasein). (F = Fersk melk, L = Lagret melk, UB = Uten bakterietilsetning, MB = Med bakterietilsetning). Ulik bokstav viser signifikant forskjell ($p < 0,05$) eller ($p < 0,01$).

Konsentrasjonen av β -laktoglobulin var signifikant ($p < 0,05$) lavere i myse fra FMB-ost enn i myse fra FUB-ost, dette var ikke tilfellet for LMB- og LUB-ost. Innholdet av β -kasein i myse fra ferskost ystet av lagret melk var signifikant ($p < 0,05$) lavere enn det var i ferskost ystet av fersk melk, samtidig som det var signifikant ($p < 0,05$) høyere i myse fra ferskost ystet av melk tilsatt bakterier. Det var også et signifikant ($p < 0,01$) høyere innhold av α_{s1} -kasein 8P i myse fra ferskost ystet av lagret melk enn det var i myse fra ferskost ystet av fersk melk.

5. Diskusjon

5.1 Forforsøk

Innledningsvis i denne studien ble det gjennomført et forforsøk for å finne hvilken ysteteknikk som skulle brukes i hovedforsøket. I forforsøket ble det ystet ferskost av melk med ulikt fettinnhold, 2% og 3,5%, og som hadde gjennomgått ulik varmebehandling, 72°C i 15 sekunder og 85°C i 10 minutter.

Det var ønskelig å se om disse faktorene hadde en påvirkning på antall bakterier i ferskosten og hvordan syrekulturen hadde vokst. Det var også ønskelig å undersøke hvordan protein- og tørrstoffinnholdet ble påvirket av de ulike forbehandlingene av melken, da dette ville gi en indikasjon på næringsinnholdet og teksturen til ferskosten. En sensorisk profilering ble også utført både for å kartlegge sensoriske forskjeller de ulike forbehandlingene kunne ha medført, men også for å finne passende egenskaper til bruk i sensorisk profilering i hovedforsøket.

Antall psykrotrofe bakterier funnet i ferskost var noe overraskende, da det var forventet at slike bakterier ikke skal kunne overleve varmebehandling (Adams et al., 2016; Walstra et al., 2006). Derfor er det grunn til å tro at det har skjedd en kontaminering etter pasteurisering. De fleste psykrotrofe bakterier har evne til å feste seg til overflater og danne biofilm (Samaržija et al., 2012). Dette er biofilm som kan bygge seg opp på ulikt utstyr og i omgivelsene i produksjonsområder, og dermed kan pasteurisert melk utsettes for rekontaminering. Biofilm kan være vanskelig å fjerne, selv ved bruk av vaskemidler og antimikrobielle kjemikalier, derfor kan utstyr som er vasket fortsatt være en kilde til kontaminering av psykrotrofe bakterier (Samaržija et al., 2012; Walstra et al., 2006). I denne studien ble ystingen utført i et åpent system, pasteurisert ystemelk ble oppbevart på melkespann, fermenteringen skjedde i åpne ystekar og drenering av mysen ble også gjort ved bruk av melkespann. Alt utstyr ble vasket før bruk, men det kan være grunn til å tro at det er her rekontamineringen kan ha skjedd. De ulike forbehandlingene hadde ikke særlig innvirkning på veksten av syrekulturen.

Det var forventet at proteininnholdet skulle vært høyere i ferskost ystet av melk som hadde gjennomgått høy varmebehandling. Ved pasteurisering ved 72°C i 15 sekunder vil mesteparten av myseproteinene forbli i serumfasen av melken og dreneres bort med mysen. Ved en høy varmebehandling av melken vil myseproteinene denatureres, og peptidkjedene vil foldes ut til langstrakte kjeder slik at myseproteinene miste sin globulære struktur (Walstra et al., 2006). Når myseproteiner denatureres, kan hydrofobe deler av proteinene bli eksponert og kan danne hydrofobe interaksjoner med de hydrofobe delene av kaseinet (Fox et al., 2015). Denaturering

legger også til rette for at β -laktoglobulin kan bindes til κ -kasein ved disulfidbindinger (Fox et al., 2015). Ved en induert koagulering av melk der myseproteinene er blitt denaturert vil bindingene av myseprotein til kasein gjøre at myseproteinene blir en del av kaseingelnettverket og får en økt vannbindingsevne (Fox et al., 2015; Walstra et al., 2006).

Økt vannbindingsevne vil i stor grad påvirke viskositeten i syrefelte produkter, for eksempel brukes høy varmebehandling av melk i yoghurtproduksjon for å forbedre tekstur og øke viskositet i yoghurt (Fox et al., 2015; Narvhus & Abrahamsen, 2022b). Inkorporeringen av myseproteiner i kaseinnettverket og høyere vannbindingsevne vil føre til at mindre myseprotein vil dreneres bort ved myseavrenning, og et høyere vanninnhold i ostemassen (Walstra et al., 2006). Dette vil også kunne redusere risikoen for at gelen utsettes for synerese (Narvhus & Abrahamsen, 2022b), men dette var ikke noe som ble oppdaget i den sensoriske profileringen.

Denaturering av myseproteiner og økt vannbindingsevne er også årsaken til at det var forventet at proteininnholdet i ferskost ystet av høypasteurisert melk vil være høyere enn i ferskost ystet av lavpasteurisert melk, og at tørrstoffinnholdet skulle være lavere i de ferskostene ystet av høypasteurisert melk. Proteininnholdet i ferskost ystet av høypasteurisert melk var i denne studien lavere enn proteininnholdet i ferskost ystet av lavpasteurisert melk, noe som ikke stemmer overens med forventningene. Men, tørrstoffinnholdet var som forventet lavere i de ferskostene ystet av høypasteurisert melk. Sett i sammenheng kan dette tyde på at i ferskost ystet av høypasteurisert har større andel protein per tørrstoff enn hva ferskost ystet av lavpasteurisert melk hadde. Det er dog verdt å merke at det fettfritt tørrstoff ikke ble undersøkt, derfor er det uvisst i hvilken grad proteinenes vannbindingsevne har påvirket tørrstoffinnholdet siden fett også kan hindre mysedreneringen.

Avslutningsvis i forforsøket ble det tatt en avgjørelse om å gå videre med ferskost ystet av systemelk med 2% fett og som hadde gjennomgått høy varmebehandling (85°C i 10 minutter). Dette ble gjort på bakgrunn av at denne ferskosten hadde et proteininnhold tilnærmet likt proteininnholdet til lignende kommersielle produkter. Ifølge næringsinnholdet oppgitt på emballasjen har TINE Kesam® Naturell et proteininnhold på 6,7 gram protein per 100 gram, og Synnøve Gresk yoghurt Naturell har et proteininnhold 8,3 gram protein per 100 gram. Ferskost av typen 2H var den eneste ferskosten som hadde et proteininnhold innen dette intervallet. Det var ingen signifikant forskjell i liking av de ulike ferskostene, men det var 2H-ost som fikk gjennomsnittlig høyest score for liking. En likingtest vil kunne gjenspeile hvordan

forbrukere vil like et produkt (Sharif et al., 2017). Det var vanskelig å vurdere hvilken ysteteknikk som var mest ideell å gå videre med ut fra resultatene av de mikrobiologiske og kjemiske analysene, derfor var det resultatene fra likingtesten som ble tyngst vektet i avgjørelsen om å gå videre med 2% fett i ystemelk og høy varmebehandling.

5.2 Hovedforsøk

I hovedforsøket var det effekten av lagring av ystemelken og tilsetning av *Pseudomonas* spp. på ferskost som var fokuset. Det var forventet at forsøksfaktorene skulle ha mest innvirkning på proteinene og metabolismeproduktene i ferskost, men det var også ønskelig å se om de ville ha påvirkning på andre områder i ferskost også.

Effekt av lagring av rå ystemelk

Lagringstid av ystemelken var den forsøksfaktoren som hadde størst effekt på ferskost i den studien. Etter tre dagers lagring av rå ystemelk var det skjedd en signifikant økning av det totale bakterietallet i melken. Antallet psykrotrofe bakterier i ystemelk økte også etter lagring, det kan derfor antas med stor sannsynlighet at økningen i totalt bakterieantall var psykrotrofe bakterier. Dette bekreftet påstanden i kapittel 2.6 om at psykrotrofe bakterier kan vokse godt ved kjølig temperatur (1-4°C). Dermed er det rimelig å knytte effekten av lagringstid tett opp mot tilstedeværelsen av psykrotrofe bakterier.

Flere aspekter av ystemelk og ferskost ble påvirket av ystemelkens lagringstid, noe som gjør effekten kompleks. Det var interessant å se om og hvordan proteinene både i melken og i ferskosten ble påvirket av lagringstiden, og om dette kunne settes i sammenheng med andre egenskaper i melken og ferskosten. Proteininnhold- og sammensetning vil kunne påvirke tørrstoffinnholdet ettersom det har stor betydning for hvor mye vann som bindes og kan bli en del av ostemassen. Dette vil igjen kunne påvirke teksturen i ferskost og hvordan den oppfattes sensorisk.

Ved lagring hadde det skjedd en nedgang i proteininnholdet og kaseininnholdet (målt ved hjelp av FTIR) i ystemelken. Dette tyder på at det har vært proteolytisk aktivitet i melken under lagringen. Derfor kunne det forventes et lavere proteininnhold i ferskost ystet av lagret melk også, men dette var ikke tilfellet i denne studien. Proteininnholdet i ferskost så ut til å ikke bli påvirket av lagringstid av ystemelken, men på grunn av store standardavvik kan ikke det

konkluderes med dette. Tørrstoffinnholdet i ferskost var heller ikke påvirket av lagringstiden til ystemelken, noe som kan knyttes opp til lite endring i proteininnhold.

Ved proteolytisk aktivitet vil proteinene brytes ned til mindre peptider og frie aminosyrer, om det også er peptidaser til stede (McSweeney & Fox, 2013). I denne studien ble proteininnholdet i ferskost analysert ved bruk av Kjeldahl, som er en analyse som måler det totale innholdet av nitrogen i en løsning. Ifølge Walstra et al. (2006), er 95% av nitrogeninnholdet i melken til stede i form av proteiner, og dermed kan det målte nitrogeninnholdet multipliseres med Kjeldahl faktoren for melk, 6,38, og være et akseptert mål på proteininnholdet i melk og meieriprodukter. Det betyr at denne metoden ikke skiller mellom proteiner, peptider og frie aminosyrer, som vil si at denne typen Kjeldahl-analyse ikke er en gunstig metode for å studere proteinnedbrytning. For å bedre kunne studere en eventuell proteinnedbrytning ble ferskost og myse analysert ved bruk av kapillær elektroforese (CE) i denne studien.

Proteinaser produsert av psykrotrofe bakterier, særlig av *Pseudomonas* spp., kan bryte ned både kasein- og myseproteiner. De har større aktivitet på β -kasein enn de andre proteinene, de har også en viss affinitet til α_{s1} - og κ -kasein (Muir, 1996). Det var forventet at lagring av ystemelk ville ha en innvirkning på proteinsammensetningen i ferskost, siden antallet psykrotrofe bakterier var høyere i lagret ystemelk enn i fersk ystemelk, og dermed et større innhold av proteinaser. Det var også forventet at lagringstid og mengden proteolytiske enzymer skulle føre til økt degradering av kasein. Resultatene i denne studien viste derimot at det var en større relativ konsentrasjon av både α_{s1} -kasein 9P og α_{s1} -kasein 8P i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk, i tillegg til at det ikke var forskjell i konsentrasjonen av β -kasein. Så ut ifra dette har ser det ut til at lagring av ystemelk har ført til en økning av kasein i ferskost, grunnen til dette er uvisst. Det er verdt å merke at identifiseringen av toppene i elektroferogrammene fra CE-analysen var antagelser, noe som gjør at resultatene ikke er sikre. For eksempel så er γ -kasein er et produkt av enzymatisk hydrolysering av β -kasein (Kaminogawa & Yamauchi, 1974). Toppene for denne proteinfraksjonene kommer frem nærtliggende α_{s1} -kasein 9P (Recio et al., 1997). Derfor kan det være mulig at topper som egentlig var γ -kasein har i denne studien blitt integrert som α_{s1} -kasein, men dette er uvisst.

Resultatene fra CE av myse viste at det var mer α_{s1} -kasein 8P og β -kasein i mysen til ferskost ystet av lagret melk enn i mysen til ferskost ystet av fersk melk. Dette tyder på at de har skjedd en lekkasje av disse fra kaseinmicellen, og at de ikke har kommet tilbake til micellen under varmebehandlingen. Dette har ført til at de ikke har klart å bli en del av gelnettverket i

ferskosten og i stedet blitt drenert bort med mysen. At det ikke var forskjell mellom innholdet av γ -kasein i myse fra ferskost ystet av fersk melk og fra ferskost ystet av lagret melk var ikke som forventet, siden det var forventet at β -kasein skulle vært brutt ned, og det var derfor forventet at det skulle være en høyere konsentrasjon av γ -kasein i mysen fra ferskost ystet av lagret melk enn i mysen fra ferskost ystet av fersk melk.

Det var forventet at lagringstid av ystemelk skulle øke nedbrytningsgraden av kasein, noe som kunne ført til et svakere gelnettverk i ferskosten. Men, som beskrevet i avsnittene ovenfor så var det mer α_{s1} -kasein i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk, og uendret innhold av β -kasein. Likevel viste resultatene i denne studien at gelen til ferskost ystet av fersk melk var sterkere enn i ferskost ystet av lagret melk. Årsaken til dette er uklar i og med at dette ikke samsvarer med CE-resultatene eller resultatene fra teksturanalysen, hvor det ikke var signifikant forskjell mellom gelfastheten til ferskostene. Ved sensorisk profilering, med utrent og trent panel, var det heller ingen forskjeller mellom konsistensen. Dette antyder også at det var ingen merkbar forskjell mellom teksturen til ferskostene.

Enkelte gjentak av ferskostene ble betraktet som uteliggende prøver i oscillasjonstesten. Om de hadde blitt tatt med i beregningen hadde ikke lagringstiden hatt en signifikant forskjell på gelstyrken. Dette tyder på at det er usikkerhet i disse resultatene og at det kunne vært mer ideelt og hatt flere gjentak å teste. Gjentak 2 av ferskost LUB viket i stor grad fra de andre gjentakene av samme ferskost under teksturanalysen og ble derfor fjernet, i tillegg til at produktet hadde større partikler enn avstanden mellom platen og proben (1,000 mm) som førte til at rheometeret ikke var i stand til å måle denne prøven. Hva som gjorde at denne prøven skilte seg i så stor grad ut fra de andre prøvene er uvisst, men alle ostene ble ystet manuelt så det kan tenkes at det har oppstått feil under ysteprosessen

Veksten av syrekultur er avgjørende for flere av ferskostens egenskaper, da det er dens metabolisme som blant annet avgjør innhold av organiske syrer, karbohydrater og flyktige aromakomponenter. Dette er forbindelser som er avgjørende for smaken til er fermentert meieriprodukt (Fox et al., 2016). Antall streptokokker observert i ferskost ystet av lagret melk var ikke signifikant høyere enn i ferskost ystet av fersk melk, men det var noe høyere. Det kan tyde på at syrekulturen har hatt bedre vekstforhold i lagret melk. Dette kan også settes i sammenheng med at pH i samme ferskost etter 6 dager var signifikant lavere enn i ferskost ystet av fersk melk, selv om pH var tilnærmet lik da fermentering ble avsluttet og ferskostene ble satt kjølig for myseavrenning. En nedgang i pH fra tidspunkt for myseavrenning til 6 dager

etter fermentering er som forventet siden ostemassen ble flyttet fra 37°C vannbad og direkte inn i kjølerom (1-4°C). Dette betyr at ferskostene ble holdt ved en temperatur mellom 37°C og kjøletemperatur i en ukontrollert tid, dette betyr at syrekulturen har hatt mulighet til å fortsette metabolismen, som betyr at det kan ha skjedd en ettersyrning av ostemassen. I denne studien ble Chr. Hansen eXact® ST-39 brukt som syrekultur. Denne inneholder *Streptococcus (S.) thermophilus*, som er termofil, og vokser derfor ikke ved lave temeperaturer. Det er en termofil syrekultur, som betyr at den ikke vokser ved lave temperaturer (Walstra et al., 2006). Ifølge databladet for syrekulturen (vist i Vedlegg 9 i tilhørende dokument) er den laveste anbefalte fermenteringstemperaturen 30°C, derfor kan det ikke skjedd særlig stor ettersyrning under da ostemassen hadde nådd <30°C.

S. thermophilus er kjent som en del av yoghurtkulturen hvor den fungerer i et samspill med *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgraicus* (*Lb. bulgaricus*) (Narvhus & Abrahamsen, 2022a). *S. thermophilus* produserer CO₂ og maursyre som stimulerer veksten av *Lb. bulgaricus*. Samtidig vil proteinaser bundet til *Lb. bulgaricus* hydrolysere melkeproteiner til peptider og frie aminosyrer som vil stimulere veksten til *S. thermophilus* (Narvhus & Abrahamsen, 2022a; Walstra et al., 2006). I denne studien ble *S. thermophilus* brukt alene som syrekultur, og det kan derfor antas at den hadde bedre vekstvilkår i lagret ystemelk på grunn av proteolytisk aktivitet forårsaket av psykrotrofe bakterier. Det var dog ikke mer melkesyre i ferskost ystet av lagret melk.

Det var mindre laktose (målt ved bruk av FTIR) i ystemelk som hadde vært lagret i 3 dager enn i fersk ystemelk.. En slik nedgang i laktose kan forklares ved naturlig tilstedeværelse av laktosefermenterende bakterier i melken, eller at det har skjedd spontan hydrolyse av laktose under lagringen (Walstra et al., 2006). Spontan hydrolyse av laktose fremprovoseres av β-galaktosidase, som er et enzym som kan produseres av en rekke melkesyrebakterier og psykrotrofe bakterier (Walstra et al., 2006). Det var derimot ikke detektert melkesyre eller glukose/galaktose ved HPLC-analyse av ystemelken. Imidlertid viste innholdet av laktose i ferskost den samme tendensen som det FTIR analysen viste i ystemelken. Nedgangen av innholdet av laktose i ferskostene kan trolig også skyldes en økning i aktivitet av laktosehydrolyserende enzymer etter lagring av ystemelk. At det var mindre glukose i ferskost ystet av lagret melk enn i ferskost ystet av fersk melk tyder på at nedbrytningstakten har vært tregere i lagret ystemelk.

I tillegg til melkesyre produserer *S. thermophilus* en rekke andre metabolitter ved laktosefermentering. Dette inkluderer acetaldehyd, diacetyl, maursyre, acetoin og aceton (Huang et al., 2024; Ott et al., 2000). Arealet av acetaldehyd i ferskost ystet av fersk melk var signifikant større enn i ferskost ystet av lagret melk. Dette tyder på at syrekulturens metabolisme har blitt påvirket av lagringen. Det totale bakterietallet økte i ystemelken etter lagring. Det betyr at det har vært flere bakterier til stede som har konkurrert om tilgjengelig næring. Metabolisme ved *S. thermophilus* bryter ned laktose til glukose/galaktose og glukosen videre til andre metabolitter. Dette er forbindelser som kan andre bakterier som har vokst frem under lagring av ystemelken. Resultatene tyder på at dette også er tilfellet for arealet av aceton og 2-butanon i ferskost ystet av lagret melk. Disse bakteriene skal ikke kunne ha overlevd varmebehandlingen av melken (Walstra et al., 2006). Men, de mikrobiologiske resultatene av ferskost viste at det sannsynligvis hadde skjedd en rekontaminering av psykrotrofe bakterier etter pasteurisering av den lagrede ystemelken.

Med en økning av psykrotrofe bakterier og økt proteolytisk aktivitet kunne det antas at det ville vært flere små peptider og frie aminosyrer tilgjengelig i ystemelken. I samspill med *Lb. bulgaricus*, stimuleres *S. thermophilus* av peptidene og aminosyrene som *Lb. bulgaricus* danner (Narvhus & Abrahamsen, 2022a). Derfor kunne det vært rimelig å anta at stimuleringen av *S. thermophilus* og acetaldehydproduksjonen burde være størst i ferskost ystet av lagret melk. Dette var ikke tilfellet i resultatene fra denne studien. Hovedveien for produksjon av acetaldehyd for *S. thermophilus* i yoghurtkulturer er enzymatisk omdannelse av threonin (Narvhus & Abrahamsen, 2022a). Dette kan tyde på at ved threonin ikke er et nedbrytingsprodukt i dette tilfellet.

Acetaldehyd har en sentral rolle i den sensoriske opplevelsen av produktet, da det er ansvarlig for den typiske yoghurtsmaken som har stor påvirkning på syrligheten og friskheten til produktet (Chaves et al., 2002; Walstra et al., 2006). Derfor var det interessant at hverken det utrente eller trente sensoriske panelet klarte å plukke opp denne forskjellen, dette tyder på at nedgangen ikke har vært stor nok til at det har påvirket smaken til ferskosten. De sensoriske dommerne, både utrente og trente, klarte heller ikke å merke forskjellen i arealet av diacetyl i ferskostene ystet av melk med ulik lagringstid. Diacetyl er en smakskomponent som bidrar til smøraktig smak og lukt (Walstra et al., 2006), disse egenskapene hadde ikke ulikt utfall i noen av de sensoriske profileringene. Det vil si at de sensoriske dommerne heller ikke var i stand til å smake denne forskjellen.

For resten av egenskapene vurdert ved sensorisk profilering var det heller ingen signifikante forskjeller mellom ferskost ystet av fersk melk og ferskost ystet av lagret melk. Dette tyder på at det ikke var sensorisk merkbar forskjell mellom produktene. Det er dog en viss usikkerhet i de sensoriske resultatene da det var brukt et utrent panel. Det ble gjennomført en felles kalibrering i forkant, men ut over dette hadde de ingen erfaring med sensorisk vurdering av et slikt produkt og dermed kan det ha vært vanskelig å vurdere dem. Dette kom også frem i muntlige tilbakemeldinger fra dommerne i ettertid.

Den sensoriske profileringen utført av trent panel ble gjennomført for å sammenligne hvordan et trent panel vurderte ferskostene i forhold til det utrente panelet. Begge panelene brukte for den første halvdel av skalaen som gikk fra 1-9, med noen unntak. Dette tyder på at ingen av panelene mente at de egenskapene som ble vurdert var veldig fremtredende i noen av ferskostene. Likevel, var det noen forskjeller mellom hvordan de to panelene vurderte ferskostene. Det utrente panelet ga mellom 1 til 2 poeng høyere enn det trente for egenskapene myseutskillelse, fnokker og smørsmak. Det virker som at vært mer sensitive for lukt i og med at høyere poeng for syrlig lukt og yoghurtlukst enn det utrente panelet gjorde. En av egenskapene hvor panelene var nokså enige var konsistensen til ferskostene, her ga begge panelene rundt 6 til 7 poeng. Noe som betyr at de synes ferskostene hadde mer tykk konsistens enn tynn konsistens. Dette kan knyttes opp mot resultatene fra oscillasjonstesten siden flytpunktet for samtlige prøver ble registrert mens prøvene fortsatt hadde dominerende elastiske egenskaper, registrert som $\tan(\delta) < 1$.

Det er verdt å merke at den sensoriske analysen gjennomført i denne studien har forbedringspotensial. Analysen ligner en kvantitativ beskrivende analyse, en skaleringsmetode som er nyttig for å etablere intensitet av en egenskap til et produkt, og bør derfor være utført trente dommere (Sharif et al., 2017). Det trente panelet i denne studien besto av bare 2 dommere og de vurderte kun ferskostene fra gjentak 3 og 4, derfor er det vanskelig å konkludere hvordan lagringstid av ystemelk påvirket den sensoriske oppfatningen av ferskost.

Effekt av bakterietilsetning til rå ystemelk

Bakterietilsetning til ystemelken hadde ikke en like omfattende effekt som det lagringstid av ystemelken hadde. Melken ble tilsatt en log 3 kde/mL av *Pseudomonas* 9 for å simulere den mengden psykrotrofe bakterier som er til stede i rå melk, og som kan skape problemer ved lagring (Sørhaug & Stepaniak, 1997). Som vist i de mikrobiologiske resultatene for rå ystemelk

hadde ikke tilsetning stor effekt på antall psykrotrofe bakterier eller totalt bakterietall hverken i fersk eller lagret rå melk. I fersk rå melk uten bakterietilsetning var antall psykrotrofe bakterier omtrent 3,3 log kde/mL. Av den grunn var det ikke overraskende at antallet ikke var høyere i fersk melk med bakterietilsetning, fordi ved å tilsette 3 log kde/mL bakterier i melk hvor det allerede er 3 log kde/mL, vil ikke log-verdien øke. Det virker som den naturlige bakterieveksten har vært mer dominerende under lagring. Det kan tenkes at det hadde vært hensiktsmessig å tilsette en større mengde av *Pseudomonas* 9 for å fremkalle en effekt av denne.

Siden bakterietilsetning ikke påvirket mikrobiologien i ystemelken var det som forventet at det ikke påvirket mikrobiologien i ferskostene heller. Det var derfor grunn til å forvente at bakterietilsetningen ikke ville ha effekt på egenskapene til ferskost. Likevel ble det i denne studien oppdaget noen forskjeller mellom ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning og ferskost ystet av melk tilsatt bakterier.

Det ble målt et høyere glukose- og galaktoseinnhold i ferskost ystet av melk tilsatt bakterier enn i ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning. Ferskost ystet av melk tilsatt bakterier viste høyere nivå av glukose og galaktose enn i ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning. Dette kan mulig forklares med en antatt større proteolytisk aktivitet i ystemelken som var tilsatt bakterier, noe som kan ha økt tilgjengeligheten av threonin. Med mer tilgjengelig threonin kan det tenkes at syrekulturen i større grad ble stimulert av threonin og hadde dermed forbrukt mindre glukose. Det var et høyere nivå av aceton i ferskost ystet av melk tilsatt bakterier enn ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning, noe som tyder på at *Pseudomonas* spp. muligens kan øke produksjonen av aceton. Av praktiske hensyn ble tatt en avgjørelse om å ikke inkludere ferskostene ystet av melk tilsatt bakterier. Resultatene fra måling av flyktige aromakomponenter antyder at om disse ferskostene hadde blitt inkludert i den sensoriske profileringen er det sannsynlig at dommerne ikke ville lagt merke til forskjeller i smak basert på hvordan de vurderte ferskostene ystet av melk uten bakterietilsetning.

Tilsetning av *Pseudomonas* spp. hadde ingen innvirkning på protein- eller tørrstoffinnholdet i ferskost. Derfor var derfor ikke forventet at bakterietilsetning til ystemelk skulle ha stor effekt på ferskostens reologiske egenskaper heller. Resultatene fra teksturanalysen viste at gelen ferskost ystet av melk tilsatt bakterier var mer klebrig enn gelen til ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning. Årsaken til dette er uvisst da det ikke var forskjell i fastheten til gelene. Ved teksturanalysen ble målepunktene valgt ved øyemål. Det betyr at punktene ikke hadde nøyaktig

lik avstand mellom hverandre eller til begerveggen, som kan ha ført til unøyaktigheter i analysen. Ferskostene ble pakket på både yoghurtbegre og rømmebegre. Yoghurtbegrene var ikke like stive som rømmebegrene og kan derfor ved nedtrykk gitt mer etter, noe som også kan ha forårsaket unøyaktigheter. Det var tilfeldig hvilke ferskoster som ble pakket på yoghurtbegre og hvilke som ble pakket på rømmebegre. Sett i ettertid kunne det vært hensiktsmessig å være konsekvent med hvilke som ble pakket på hvilken emballasje slik at dette enklere kunne blitt tatt hensyn til i resultattolkningen.

Selv om proteininnholdet i ferskost ikke ble påvirket av bakterietilsetning til ystemelken, hadde det en effekt på proteinsammensetningen. Innholdet av α_{s2} -kasein i ferskost ystet av melk tilsatt bakterier var lavere enn det var i ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning. Det ble også målt et større innhold av β -kasein i mysen fra ferskost ystet av melk tilsatt bakterier enn i ferskost ystet av melk uten bakterietilsetning. Det var ikke forventet at det skulle være forskjell mellom ferskostene ystet av fersk melk med og uten bakterietilsetning siden den ferske melken ble varmebehandling nokså raskt etter bakterietilsetning. Men siden tilsatt *Pseudomonas* spp. ble dyrket opp ved optimal temperatur (22°C) over flere dager. Dette har gitt bakteriene gode vekstforhold og derfor er det rimelig å anta at de kan ha rukket og produsert proteolytiske enzymer under oppdyrkingen som kan være grunnen til forskjell i proteinnedbrytning mellom ferskost ystet av melk med og uten bakterietilsetning. Konsentrasjonene av α_{s2} -kasein og α_{s1} -kasein 9P i myse ble påvirket av et samspill av de to forsøksfaktorene, men ettersom at det var ingen av forsøksfaktorene alene hadde signifikant effekt på disse kan det antas at dette var en tilfeldighet.

5.3 Oppsummering

I forforsøket ble det testet ut ulike forbehandlinger av ystemelken for å ha klar en standardisert forbehandling for å bruke i hovedforsøket. Med størst vekt på resultatene fra likingtesten ble det avgjort at det i hovedforsøket skulle ystet ferskost av høypasteurisert (85°C i 10 minutter) melk med 2% fettinnhold.

Hovedforsøket gjennomført i denne studien utforsket hvordan lagringstid og tilsetning av *Pseudomonas* spp. til ystemelk påvirket kvalitetsegenskaper til ferskost. Resultatene fra hovedforsøket viste at lagringstid av ystemelk hadde en klart større effekt på kvalitetsegenskapene til ferskost enn hva tilsetning av *Pseudomonas* spp. hadde. Påvirkningen

av lagringstid av ystemelken kan i stor grad knyttes til en økning av psykrotrofe bakterier og proteolytisk aktivitet i ystemelken.

Proteinsammensetning og innhold av karbohydrater og flyktige aromakomponenter var egenskaper i ferskost som i stor grad ble påvirket av lagring av ystemelk. I denne studien hadde ferskost ystet av lagret melk en høyere relativ konsentrasjon α_{s1} -kasein 9P og α_{s1} -kasein 8P enn hva ferskost ystet av fersk melk hadde, noe som ikke var som forventet. Lagring av ystemelken førte til lavere innhold av laktose og glukose, samt lavere produksjon av acetaldehyd. Det var dog ikke forskjeller som ga utslag i sensorisk profilering i denne studien. Det totale proteininnholdet og tørrstoffinnholdet til ferskost ble ikke påvirket av lagring av ystemelk.

6. Videre arbeid

Denne studien undersøkte om betydningen av lagring av melk på ulike kvalitetsegenskaper. Resultatene viste at lagring av ystemelk påvirket proteinsammensetningen og syrekulturens metabolisme. I videre arbeid innen dette området kunne det derfor vært interessant vært interessant å analysere innholdet av frie aminosyrer i ferskost ystet av melk med ulik lagringstid, for å nærmere studere proteinnedbrytningens betydning for syrekulturens metabolismevei.

De reologiske analysene i denne studien bar preg av store standardavvik mellom gjentakene, derfor hadde det vært ønskelig med flere gjentak ved en eventuell videreføring av arbeidet. Dette vil gi mer statistisk sikkerhet i databehandlingen og dermed sikrere konklusjoner.

Lagring av rå melk og dermed en økning av psykrotrofe bakterier vil kunne føre til større produksjon av proteolytiske og lipolytiske enzymer (Sørhaug & Stepaniak, 1997). Denne studien studerte den proteolytiske aktiviteten. Videre ville det vært hensiktsmessig å studere den lipolytiske aktiviteten ved å måle fettinnhold og innhold av frie fettsyrer i ferskost. Dette er også viktige faktorer som kan settes i sammenheng med andre kvalitetsegenskaper.

I denne studien var fokuset på hvordan ferskost påvirkes av melkens lagringstid, men ikke hva som kan forhindre de eventuelle effektene. Resultatene viste at melkelagring påvirker ferskostens kvalitetsegenskaper, derfor ville det vært hensiktsmessig å for eksempel undersøke om det kan gjøres justeringer i verdikjeden med hensyn til håndtering og behandling av melk som kan redusere kvalitetsødeleggelse i ferskost.

7. Litteraturliste

- Abrahamsen, R. K. (1975). Meieriteknisk produksjon av fersk surmelksost: en litteraturoversikt.
- Abrahamsen, R. K., & Narvhus, J. A. (2022). Can ultrasound treatment replace conventional high temperature short time pasteurization of milk? A critical review. *International dairy journal*, 131, 105375. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105375>
- Abrahamsen, R. K., Narvhus, J. A., & Skeie, S. (2024). *Acid-curd cheeses and acid-heat coagulated cheeses*. In Press.
- Adams, M. R., Moss, M. O., & McClure, P. J. (2016). *Food microbiology* (4th ed.). Royal Society of Chemistry.
- AOAC. (1935). AOAC Official Method 935.42 Ash of Cheese Gravimetric Method. http://www.aocofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&products_id=551. AOAC
- Bhat, M. Y., Dar, T. A., & Singh, L. R. (2016). Casein proteins: structural and functional aspects. *Milk proteins-From structure to biological properties and health aspects*, 10, 64187.
- Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement*. Elsevier.
- Chauhan, A. K., Yadav, P., Singh, R. B., Singh, R. K., Singh, R. K., On-Saard, W., & On-Saard, E. (2022). Quark cheese: characteristics, preparation, and health effects as a functional food. In *Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases* (pp. 267-278). Elsevier.
- Chaves, A., Fernandez, M., Lerayer, A., Mierau, I., Kleerebezem, M., & Hugenholtz, J. (2002). Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5656-5662.
- Chen, L., Daniel, R. M., & Coolbear, T. (2003). Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International dairy journal*, 13(4), 255-275. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00171-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00171-1)
- Craven, H., & Macauley, B. (1992). Microorganisms in pasteurised milk after refrigerated storage. 1. Identification of types.
- Dalgleish, D. G., & Corredig, M. (2012). The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annual review of food science and technology*, 3, 449-467.
- Farkye, N. Y. (2017). Quark, quark-like products, and concentrated yogurts. In *Cheese* (pp. 1103-1110). Elsevier.

- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2016). *Fundamentals of Cheese Science* (2nd 2017 ed.). New York, NY: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). *Dairy Chemistry and Biochemistry* (2nd 2015 ed.). Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>
- Fuquay, J. W., McSweeney, P. L., & Fox, P. F. (2011). *Encyclopedia of dairy sciences*. Academic Press.
- Grønnevik, H., Falstad, M., & Narvhus, J. A. (2011). Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International dairy journal*, 21(9), 601-606. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.01.001>
- Heck, J., Olieman, C., Schennink, A., Van Valenberg, H., Visker, M., Meuldijk, R., & Van Hooijdonk, A. (2008). Estimation of variation in concentration, phosphorylation and genetic polymorphism of milk proteins using capillary zone electrophoresis. *International dairy journal*, 18(5), 548-555.
- Huang, Y.-Y., Lu, Y.-H., Liu, X.-T., Wu, W.-T., Li, W.-Q., Lai, S.-Q., Aadil, R. M., Riaz Rajoka, M. S., Wang, L.-H., & Zeng, X.-A. (2024). Metabolic properties, functional characteristics, and practical application of *Streptococcus thermophilus*. *Food Reviews International*, 40(2), 792-813.
- Ibarz, A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). *Unit operations in food engineering*. CRC Press.
- IDF. (1987). *Milk, Cream and Evaporated Milk: Determination of total solids content* (21B). IDF.
- IDF. (1993). *Determination of nitrogen content* (20B). IDF.
- Kaminogawa, S., & Yamauchi, K. (1974). Similarity between γ -Casein and a Product of β -Casein Hydrolysis by Milk Protease. *Agricultural and Biological Chemistry*, 38(12), 2343-2348.
- Kilara, A., & Chandan, R. C. (2013). Greek-style yogurt and related products. *Manufacturing yogurt and fermented milks*, 297-318.
- Landbruksdirektoratet. (2024). *Markedsrapport 2023*. Landbruksdirektoratet. https://www.landbruksdirektoratet.no/nb/nyhetsrom/rapporter/markedsrapport-2023/_attachment/inline/e76d4b6a-c5e6-4501-883a-7baabc38f82a:c634d86138f6a78d8e4d6fa281e7ab21fc14eef0/Markedsrapport%202023%20Rapport%202024%203.pdf
- Law, B. (1981). The formation of aroma and flavour compounds in fermented dairy products.

- McAuley, C. M., Singh, T. K., Haro-Maza, J. F., Williams, R., & Buckow, R. (2016). Microbiological and physicochemical stability of raw, pasteurised or pulsed electric field-treated milk. *Innovative food science & emerging technologies*, 38, 365-373. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.030>
- McSweeney, P. L. H., & Fox, P. F. (2013). *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th Edition* (4th 2013 ed.). New York, NY: Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4714-6>
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P., & Elsevier, S. (2017). *Cheese : chemistry, physics & microbiology* (Fourth edition. ed.). Academic Press, an imprint of Elsevier.
- Mezger, T. G. (1998). *A little course in rheology* PHYSICA Messtechnik GmbH.
- Mezger, T. G. (2012). *The rheology handbook* (Vol. 10). Vincentz Network Hannover.
- Muir, D. D. (1996). The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *International Journal of Dairy Technology*, 49(1), 24-32.
- Narvhus, J. A., & Abrahamsen, R. K. (2022a). Yogurt: role of starter culture.
- Narvhus, J. A., & Abrahamsen, R. K. (2022b). Yogurt: Types and manufacture.
- Narvhus, J. A., & Abrahamsen, R. K. (2023). Traditional and modern Nordic fermented milk products: A review. *International dairy journal*, 105641.
- Narvhus, J. A., Bækkelund, O. N., Tidemann, E. M., Østlie, H. M., & Abrahamsen, R. K. (2021). Isolates of *Pseudomonas* spp. from cold-stored raw milk show variation in proteolytic and lipolytic properties. *International dairy journal*, 123, 105049.
- Ott, A., Germond, J.-E., & Chaintreau, A. (2000). Origin of acetaldehyde during milk fermentation using ¹³C-labeled precursors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1512-1517.
- Puhan, Z., Driessen, F., Jelen, P., & Tamime, A. (1994). Fresh products-yoghurt, fermented milks, quarg and fresh cheese. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 44(4), 285-298.
- Recio, I., AMIGO, L., RAMOS, M., & LOPEZ-FANDIÑO, R. (1997). Application of capillary electrophoresis to the study of proteolysis of caseins. *Journal of dairy research*, 64(2), 221-230.
- Samaržija, D., Zamberlin, Š., & Pogačić, T. (2012). Psychrotrophic bacteria and their negative effects on milk and dairy products quality. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 62(2), 77-95.

- Schulz-Collins, D., & Senge, B. (2004). Acid-and acid/rennet-curd cheeses part A: Quark, cream cheese and related varieties. In *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (Vol. 2, pp. 301-328). Elsevier.
- Sharif, M. K., Butt, M. S., Sharif, H. R., & Nasir, M. (2017). Sensory evaluation and consumer acceptability. *Handbook of food science and technology*, 10, 361-386.
- Skeie, S., Narvhus, J. A., Ardö, Y., Thorvaldsen, K., & Abrahamsen, R. K. (1997). The effect of reduced salt content on the function of liposome-encapsulated Neutrase and heat-treated lactobacilli in rindless low-fat cheese. *Le Lait*, 77(5), 575-585. <https://doi.org/10.1051/lait:1997541>
- Forskrift om produksjon og frambud av rå melk, varmebehandlet melk og melkebaserte produkter m. v., (1995). <https://lovdata.no/dokument/LTI/forskrift/1995-06-30-636>
- Sørhaug, T., & Stepaniak, L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 8(2), 35-41.
- Tarakci, Z., Temiz, H., & Ugur, A. (2011). The effect of adding herbs to labneh on physicochemical and organoleptic quality during storage. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 108-116.
- Walstra, P., Geurts, T., & Wouters, J. T. M. (2006). *Dairy science and technology* (2nd ed.). CRC/Taylor & Francis.
- Özer, B., & Yaman, H. (2014). Milk and milk products| Microbiology of Liquid Milk.

8. Vedlegg

Vedlegg 1 – Spørreskjema for sensorisk profilering

Vedlegg 2 – Spørreskjema for likingstest

Vedlegg 3 – Ostekoder med beskrivelser

Vedlegg 4 – Rådata fra kalsiummålinger av ferskost

Vedlegg 5 – Rådata fra teksturanalyse

Vedlegg 6 – Rådata fra oscillasjonstest

Vedlegg 7 – Rådata fra HPLC av ferskost

Vedlegg 8 – Rådata fra HSGC av ferskost

Vedlegg 1

Obligatoriske felt er merket med stjerne *

Prøvenummer *

Deltakernummer *

Farge *

1=hvit, 10=gulhvitt



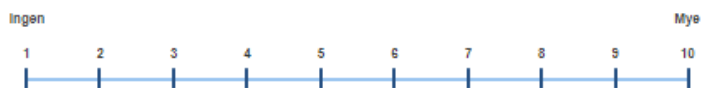
Verdi

Myseutskillelse *



Verdi

Fnokker *



Figur V 1. Utsnitt av spørreskjema som ble brukt til sensorisk beskrivende analyse i forforsøk og hovedforsøk.

Vedlegg 2

Prøvenummer *

Hvor godt likte du teksturen? *



Verdi

Hvor godt likte du smaken? *



Verdi

Hvor godt likte du denne prøven? *



Verdi

Figur V 2. Utsnitt av skjema brukt i likingtesten utført i forforsøket.

Vedlegg 3

Tabell V 1. Hvilke typer ferskost so ble produsert i hvilken uke, ostekode og beskrivelse.

	<i>Beskrivelse</i>	<i>Kode</i>
<i>Produksjonsuke 1</i>	Fersk uten bakterietilsetning	FUB1
		FUB2
	Fersk med bakterietilsetning	FMB1
		FMB2
	Lagret uten bakterietilsetning	LUB1
		LUB2
	Lagret med bakterietilsetning	LMB1
		LMB2
<i>Produksjonsuke 2</i>	Fersk uten bakterietilsetning	FUB3
		FUB4
	Fersk med bakterietilsetning	FMB3
		FMB4
	Lagret uten bakterietilsetning	LUB3
		LUB4
	Lagret med bakterietilsetning	LMB3
		LMB4

Vedlegg 4

Tabell V 2. Rådata fra kalsiummålinger for gjentak 1 og 2.

Ferskost	Kalsiuminnhold (%)
FUB1 1	0,0943
FUB1 2	0,09555
FUB1 3	0,10035
FUB2 1	0,1001
FUB2 2	0,1109
FUB2 3	0,09475
FMB1 1	0,10335
FMB1 2	0,10175
FMB1 3	0,0964
FMB2 1	0,1103
FMB2 2	0,1167
FMB2 3	0,1228
LUB1 1	0,10085
LUB1 2	0,0888
LUB1 3	0,123
LUB2 1	0,0980
LUB2 2	0,090
LUB2 3	0,05955
LMB1 1	0,1211
LMB1 2	0,1215
LMB1 3	0,10735
LMB2 1	0,09465
LMB2 2	0,09505
LMB2 3	0,12085

Vedlegg 5

Tabell V 3. Rådata fra teksturanalyse, det som ble betraktet som uteliggende prøve er markert i rødt.

Prøve	Force 1 (g)	SD Force 1	Force 2 (g)	SD Force 2
FUB1	-20,42	31,50 %	39,58	24,50 %
FUB2	-25,26	34,76 %	39,11	21,61 %
FUB3	-24,8	4,32 %	35,08	1,15 %
FUB4	-39,88	6,71 %	53,18	3,95 %
FMB1	-46,93	1,58 %	69,12	3,43 %
FMB2	-41,66	2,81 %	57,49	2,07 %
FMB3	-51,6	21,36 %	68,88	9,67 %
FMB4	-43,22	1,96 %	55,03	0,92 %
LUB1	-50,44	9,96 %	62,49	9,95 %
LUB2	-119,07	4,99 %	149,18	4,16 %
LUB3	-29,45	3,86 %	37,34	0,45 %
LUB4	-33,57	8,52 %	42,93	3,53 %
LMB1	-45,46	18,28 %	63,18	10,20 %
LMB2	-57,61	16,47 %	77,28	7,78 %
LMB3	-34,36	1,04 %	44,24	3,99 %
LMB4	-36,23	6,64 %	45,92	1,72 %

Vedlegg 6

Tabell V 4. Rådata fra oscillasjonstesten, det som ble betraktet som uteliggende prøver er markert i rødt

Ost	Damping factor (g)	G'=G'' (Pa)
FUB1	0,315	394,70
FUB2	0,307	348,90
FUB3	0,319	244,27
FUB4	0,316	353,40
FMB1	0,306	680,55
FMB2	0,315	289,17
FMB3	0,305	656,75
FMB4	0,313	454,57
LUB1	0,310	639,70
LUB2	-	-
LUB3	0,323	260,33
LUB4	0,323	280,37
LMB1	0,311	483,15
LMB2	0,301	1 264,50
LMB3	0,321	319,33
LMB4	0,322	351,97

Vedlegg 7

Tabell V 5. Rådata fra HPLC-analyse av ferskost.

Ost	Lactose mmol/kg	Citric acid mmol/kg	-ketoglutaric α mmol/kg	Glucose mmol/kg	Orotic acid mmol/kg	Pyruvic acid mmol/kg	Galactose mmol/kg	Lactic acid mmol/kg	Formic acid mmol/kg	Acetic acid (RI) mmol/kg	Uric acid mmol/kg	pyroglutamic α mmol/kg
FUB1	81,83	10,24	n.d.	0,56	0,49	n.d.	32,04	78,51	n.d.	n.d.	0,15	n.d.
FUB2	80,82	10,04	n.d.	0,32	0,48	0,47	31,54	76,26	n.d.	n.d.	0,15	n.d.
FUB3	81,23	10,48	n.d.	0,76	0,48	0,47	30,62	74,50	n.d.	n.d.	0,12	n.d.
FUB4	82,52	10,94	n.d.	0,85	0,50	0,44	32,11	78,66	n.d.	n.d.	0,14	n.d.
FMB1	77,24	9,91	n.d.	0,75	0,48	n.d.	32,87	78,32	0,60	n.d.	0,15	n.d.
FMB2	80,42	10,01	n.d.	0,59	0,49	n.d.	34,25	77,64	0,67	n.d.	0,15	n.d.
FMB3	80,31	10,77	n.d.	1,14	0,50	0,44	33,03	79,38	n.d.	n.d.	0,13	n.d.
FMB4	80,18	10,73	n.d.	1,11	0,50	0,44	32,78	79,03	n.d.	n.d.	0,13	n.d.
LUB1	79,86	10,43	n.d.	0,42	0,52	n.d.	32,56	79,74	n.d.	n.d.	0,15	n.d.
LUB2	67,36	9,49	n.d.	0,10	0,46	n.d.	32,99	84,01	n.d.	n.d.	0,15	n.d.
LUB3	75,69	10,26	n.d.	0,41	0,47	0,43	30,79	76,59	n.d.	n.d.	0,13	n.d.
LUB4	72,26	9,96	n.d.	0,53	0,46	0,38	29,66	73,69	n.d.	n.d.	0,13	n.d.
LMB1	71,43	9,50	n.d.	0,50	0,47	0,45	31,94	77,15	n.d.	n.d.	0,15	n.d.
LMB2	70,93	9,63	n.d.	0,42	0,47	n.d.	32,06	78,95	n.d.	n.d.	0,15	n.d.
LMB3	80,54	10,80	n.d.	0,82	0,50	0,42	32,38	79,31	n.d.	n.d.	0,13	n.d.
LMB4	80,89	10,92	n.d.	1,08	0,51	0,38	32,80	80,20	n.d.	n.d.	0,14	n.d.

Vedlegg 8

Tabell V 6. Rådata fra HSGC-analyse av ferskost.

Ost	Acetaldehyde	Ethanol	Acetone	Diacetyl	2-butanon	2.3-pentadione	Acetoin
	Peak Area	Peak Area	Peak Area	Peak Area	Peak Area	Peak Area	Peak Area
FUB1	207,7	5,58	23,32	4,49	2,78	2,39	7,71
FUB2	203,39	6,07	22,58	4,64	2,75	2,41	8,68
FUB3	183,43	6,55	18,58	5	2,57	3,27	8,07
FUB4	182,88	6,58	18,77	5,11	2,16	3,41	9,45
FMB1	192,32	6,48	23,12	4,36	2,26	3,06	9,14
FMB2	211,91	6,41	25,08	4,47	2,82	3,2	9,71
FMB3	184,67	7,15	19,39	4,98	1,87	3,64	8,72
FMB4	183,36	7,48	19,38	4,68	2,33	3,72	9,75
LUB1	137,58	7,79	16,85	3,45	3,63	2,56	7,24
LUB2	127,74	9,27	17,45	3,95	4	3,11	8,88
LUB3	130,86	6,21	13,61	3,93	4,03	3,68	7,48
LUB4	136,06	6,24	14,29	4,1	3,56	3,53	7,88
LMB1	159,23	6,18	20,7	3,6	3,93	2,77	7,76
LMB2	141,09	6,47	17,9	3,68	2,84	2,5	8,97
LMB3	128,99	6,6	15,16	3,76	5,27	3,44	7,9
LMB4	125,75	7,34	15,43	3,74	4,25	2,93	8,38



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway