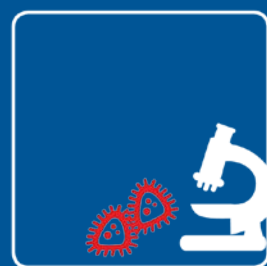


# LSI-pasteurisering af mælk og effekt på mikrobiologi, ostemodning og proteindenaturering



# Afslutningsrapport

## til Mejeribrugets ForskningsFond

### Projekttitel

LSI-pasteurisering af mælk og effekt på mikrobiologi, ostemodning og proteindenaturering

### Projektleder

Lektor Marianne Hammershøj,  
Institut for Fødevarer (FOOD),  
Faculty of Science and Technology (ST), Aarhus Universitet,  
Blichers Allé 20, 8830-Tjele  
tel. 8715 7974, fax 8715 4891, e-mail: [mah@agrsci.dk](mailto:mah@agrsci.dk)

### Projektperiode

1. Maj 2008 – 31. august 2011

### Deltagere

PhD-studerende Jonatan Ahrens Dickow, FOOD, ST, Aarhus Universitet – nuværende kontaktoplysninger:  
Hamlet Protein A/S, Saturnvej 51, 8700 Horsens, tel. 7625 5626, e-mail: [jad@hamletprotein.dk](mailto:jad@hamletprotein.dk)

Lektor Lotte Bach Larsen, FOOD, ST, Aarhus Universitet, Blichers Allé 20, 8830-Tjele, tel. 8715 8049, fax 8715 4891, e-mail: [lottebach.larsen@agrsci.dk](mailto:lottebach.larsen@agrsci.dk)

Professor Mogens Jakobsen, Institut for Fødevarevidenskab - Fødevaremikrobiologi, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet (KU-Life), Rolighedsvej 30, 1958 Frederiksberg C, tel. 3533 3216, e-mail: [moj@life.ku.dk](mailto:moj@life.ku.dk)

PhD-studerende Martin Thorup Nielsen, Institut for Fødevarevidenskab - Fødevaremikrobiologi, KU-Life, e-mail: [martinth@life.ku.dk](mailto:martinth@life.ku.dk)

Afdelingsleder Hans Henrik Holst, Arla Foods Ingredients amba, Sønderupvej 26, 6920 Videbæk, tel. 7217 7905, e-mail: [hans.henrik.holst@arlafoods.com](mailto:hans.henrik.holst@arlafoods.com)

William Gunther, Arla Foods Ingredients amba, Sønderupvej 26, 6920 Videbæk tel. 7217 7907, e-mail: [William.gunther@arlafoods.com](mailto:William.gunther@arlafoods.com)

Afdelingsleder Søren Kristian Lillevang, Arla Foods amba, Strategic Innovation Centre, Rørdrumvej 2, 8220 Brabrand, tel. 8746 6710, e-mail: [sklv@arlafoods.com](mailto:sklv@arlafoods.com)

Research manager Niels Kristian Sørensen, Arla Foods amba, Corporate Research & Innovation, Global Categories and Operations, Sønderhøj 14, 8260 Viby J, tel. 8938 1536, [nesor@arlafoods.com](mailto:nesor@arlafoods.com)

### Finansieringskilder

Mejeribrugets ForskningsFond og Fødevareforskningsprogrammet 2007, FERV

## Sammendrag (max 1 side)

Projektets hypoteser er, at direkte varmeoverførsel v.h.a. dampinjektion ved LSI-teknologien (Lenient Steam Injection) kan pasteurisere mælk på en mere skånsom måde i forhold til traditionel indirekte varmeveksling (PHE), således at der opnås et effektivt bakteriedrab, reduktion af sporedannere, mindre denatureringsgrad af valleprotein og mindre inaktivering af mælken lipoproteinlipase af betydning for blåskimmelosts modning og kvalitet og WPC's funktionelle egenskaber.

Hypoteserne blev bekræftet ved varmebehandling i UHT området d.v.s 130-140C evalueret med denatureringsgrad af beta-lactoglobulin (B-LG) som markør for varmebehandlingens skånsomhed. Resultater af plasmin aktivitetsmålinger bekræftede dette. Idet holdetiden i LSI-apparatet er variabel med varmebehandlingstemperaturen (T), var det kun muligt at detektere forskelle mellem direkte og PHE i lavpasteuriseringsområdet, d.v.s. T = 70-75C for enzymet lipoproteinlipase (LPL)'s aktivitet. Andre endogene mælkeenzymmer: lactoperoxidase, xanthin oxidase og alkalisk phosphatases aktiviteter var ikke forskelligt påvirket mellem de to varmeoverførselsteknologier. På baggrund heraf kunne der ikke indenfor samme T-område både bevares LPL aktivitet og elimineres mikroorganismer, hvorfor forsøg med blåskimmeloste måtte opgives.

Fokus blev drejet over på mælk til gul ost og effekt af varmebehandling på koaguleringssegenskaberne. LSI-behandling op til 100C viste sammenlignelige eller bedre koaguleringssegenskaber end i ubehandlet mælk. Ved LSI behandlinger over 100C forringes løbeegenskaberne med stigende temperatur. Fedtindholdet i mælken var signifikant for både B-LG's denaturering og på plasmins aktivitet i forhold til LSI-varmebehandling. I fuld mælk var B-LG's denatureringsgrad max. 30% ved 120-150C, men kun 15% i skummetmælk ved samme temperaturer. Til sammenligning betød PHE behandling højere B-LG denaturering. Plasmins aktivitet i skummetmælk var ikke signifikant påvirket af LSI-behandling op til 120C. PHE behandling ved 130C og 140C i 4 s af skummetmælk betød residual aktivitet af plasmin på kun 5-6%. I fuld mælk var plasmin aktiviteten øget med op til ~50 % ved LSI-behandlinger op til 80C, og aktiviteten faldt ved højere LSI-temperaturer. Ved 150C LSI-behandling var residual aktiviteten af plasmin ~50 % af niveauet i en ubehandlet fuld mælk. Mælken fedtkugler ødelægges ved LSI-behandling af fuld mælk. Ved LSI-temperaturer over 110-130C opnåedes en fuldstændig homogenisering.

Effekten af LSI behandlingen på det totale aerobe mesofile kimaltal (CFU), viste ved 95C en reduktion på 3 log enheder. Bakterierne der overlevede LSI behandling ved 95C viste sig at være *Bacillus* spp. *Bacillus cereus* UM277 (BcUM277) blev valgt som modelorganisme, og LSI behandling ved 115C resulterede i 1 log reduktion og ved 120C i 3 log reduktioner heraf. Varmebehandlingstiden Biological Retention Time (BRT) ved LSI behandling blev estimeret til at være 0,53s ved 100C og 0,05s ved 145C.

Projektets hovedkonklusion er, at mildheden af LSI-behandling især er udtalt ved høj T, d.v.s. i UHT-området, når det drejer sig om B-LG denaturering, plasmin aktivitet og koaguleringssegenskaber. Modsat ses i lavpasteuriseringsområdet kun meget små forskelle på mælken enzymer og valleproteiner mellem direkte varmeoverførsel ved LSI-behandling og traditionel PHE. LSI behandlet mælk ved 100C har løbeegenskaber svarende til upasteuriseret mælk samtidig med at vegetative bakterier er inaktiveret. Dette kan være et alternativ til konventionel PHE behandling af ostemælk ved 72C/15s. BRT er introduceret til at beskrive varmebehandlingstiden ved LSI behandling, og BRT falder med stigende temperatur ved LSI behandling.

## Resume in English

The project hypothesis that Lenient Steam Injection (LSI) is a gentle alternative to indirect heat treatment by plate heat exchange (PHE) was confirmed for treatments in the UHT region (130-140C) using B-LG denaturation as marker of heat severity. Plasmin activity measurements confirmed this. As the holding time in the LSI unit varies with T, detecting differences between LSI and PHE treatments at HTST temperatures (70-75C) was only possible regarding lipoprotein lipase (LPL) activity. Other indigenous milk enzymes activities were not significantly different between LSI and PHE treatments. Studies on blue cheese were cancelled as it was impossible to retain LPL activity and achieve a reduction of the aerobic mesophilic count within the same LSI processing region.

Therefore, the focus was put on milk for yellow cheese production and the renneting properties. LSI treatments up to 100C resulted in renneting properties comparable or even better than of untreated milk. At LSI treatment  $T > 100C$ , the coagulation properties were weakened with increasing T. The milk fat content was significant for both B-LG denaturation and plasmin activity upon LSI treatment. In full milk, B-LG denaturation reached max. 30 % at LSI treatment at 120-145C, whereas in skim milk the level was 15 % at similar T, and PHE treatment caused higher B-LG denaturation. Plasmin activity in skim milk was not significantly affected by LSI T up to 120C. PHE treatments of skim milk at 130-140C for 4 s resulted in only 5-6 % residual plasmin activity. In full milk, plasmin activity increased by up to ~50 % at LSI T up to 80C followed by decreased activity with increasing T. At 150C LSI treatment the residual plasmin activity was ~50 % of untreated milk. Fat globules were disrupted by LSI treatment of full milk, and at  $T > 110-130C$  a complete homogenisation was achieved.

The effect of LSI treatment on the number of aerobic mesophilic bacteria (CFU), showed a 3 log reduction at 95C. The bacteria capable of surviving at 95C and above were all *Bacillus* spp. *B. cereus* UM277 (BcUM277) was used as modelorganism, and LSI treatment at 115C resulted in 1 log reduction, and at 120C in 3 log reductions. The heat treatment time at LSI processing were estimated by the Biological Retention Time (BRT) to be 0.53s at 100C, and 0.05s at 145C. In conclusion, the leniency of LSI is very pronounced at UHT temperatures as evaluated by B-LG denaturation, plasmin activity, and coagulation properties. LSI treated milk at 100C retain renneting properties similar to that of unpasteurised milk, while the vegetative bacteria are inactivated, thereby suggesting that milk LSI treated at 100C could be an alternative to PHE 72C/15s. BRT is introduced to estimate the heat treatment time in LSI processing, and results shows that BRT decreases with increasing LSI processing temperature. At HTST temperatures very accurate measures are needed to conclude a difference between LSI and PHE treatments

## Baggrund, mål og resultater (max 5 sider)

*Baggrunden* for projektet er varmebehandling af mælk: Pasteurisering skal hindre vækst af patogener, gram-negative, psychrotrofe bakterier og inaktivere enzymer, men forårsager samtidig denaturering af en række proteiner og enzymer af betydning for mælken holdbarhed, flavour og funktionalitet. Traditionelt pasteuriseres mælk ved indirekte varmeveksling i plade- eller rørsystemer. Nye metoder, som anvender direkte opvarmning v.h.a. damp, består i at damp og produkt blandes sammen, hvorved dampen afgiver varmeenergi direkte til produktet. Dampen kan enten blæses ind i produktet, d.v.s. injektion, eller produktets overflade kan gøres så stor som mulig inden kontakt med dampen, d.v.s. infusion. Ved både injektion og infusion afkøles produktet ved en flashdestillation hvor forstøvning af det varme produkt under vacuum medfører at produktet koger kortvarigt og energi afgives ved fortætning af dampen. Ved Lenient Steam Injection (LSI) mikses små dampdråber i overskud med mælken, og både opvarmning og nedkøling sker hurtigt, hvorved holdetiden kan være  $< 0.1$  sek., og det formodes, at denne pasteuriseringsteknologi er skånsom overfor mælken proteiner.

Bakterier dræbes normalt ved pasteurisering, mens bakterie sporer kan overleve, men dog beskadiges i et omfang, der påvirker udvæksten i mælk, ost og andre mikromiljøer (Brul et al., 2002). Flere *Bacillus* spp. og *Clostridium* spp. er uønskede, idet bakterierne er sporedannere, fordærvere og er sygdomsfremkaldende. *B.*

*cereus* isoleres hyppigt fra mælk, og flere toksin producerende *Bacillus* spp. er psychrotolerante (kan vokse ved køleskabstemperatur) og forekommer i Danmark (Thorsen et al., 2006, Stenfors et al., 2002). Visse *Bacillus* arter fx *Bacillus cereus* overlever i pasteuriseret mælk og forårsager koagulering, dette normalt uden at fremkalde sygdom. Viden om LSI-pasteuriserings effekt på sporer er ukendt, dog ved direkte damp injektion overlevede *Bacillus* sporer 132°C i 4-12 sekunder, men overlevede ikke ved 134°C (Blake et al., 1995). Sporen overlever stress, fx varme behandling, ved forskellige mekanismer, der er generelle for *Bacillus* spp., mens resistens mekanismer for sporer af *Clostridium* spp. kun kendes i ringe omfang (Setlow, 2006)

I forbindelse med fremstilling af en række oste ønskes en vis lipase aktivitet, for at opnå den optimale sensoriske kvalitet. Mælkens lipoprotein lipase (LPL) er meget varmelabil og inaktiveres fuldstændig ved 78°C i 10 sek. (Driessen, 1989), eller 75°C i 15 sek. (Farkye & Imafidon, 1995). Oftest foretages en termisering af mælk f.eks. ved 63°C i 15-20 sek. til fremstilling af visse typer blåskimmelost. Herved bevares en stor del af LPL's aktivitet, og man opnår et højere niveau af frie fedtsyrer, der oxiderer til methylketoner, som er karakteristiske flavourkomponenter i disse ostetyper. LPL har stor betydning for flavour udviklingen under modningen af råmælksoste (Cinbas & Kilic, 2006).

Valleproteiner har vigtige ernæringsmæssige og funktionelle egenskaber, som gel- og skumdannelse, og anvendes i fødevarer som ingrediens. Valleproteinkoncentrat (WPC) indeholder 25-80% protein (Elofsson et al., 1997), primært  $\beta$ -lactoglobulin og  $\alpha$ -lactalbumin. Funktionaliteten afhænger bl.a. af proteinernes denatureringsgrad. Bedre geltekstur og mindre synerese af yoghurt opnås ved at varmebehandle, så valleproteinerne denaturerer (Mulvihill & Grufferty, 1995). WPC varmebehandles desuden for at sikre drab af mikroorganismer. I WPC, hvor kasein er frasepareret, er varmedenatureringen af valleproteiner meget forskellig fra den i mælk. I WPC aggregerer valleproteinerne via kovalente og ikke-kovalente interaktioner (Puyol et al., 1999), hvilket er afgørende for WPC's funktionalitet. WPC indeholder proteasen plasmin, som i mælk er associeret til kaseinmicellerne, men frigøres under produktion af WPC. Plasmins aktivitet er afgørende for proteolysegraden og ønskes inaktiveret for at sikre WPC's holdbarhed. Ved HTST behandling bevares >85% plasminaktivitet, som kan øges under lagring, idet inhibitor/aktivator systemet ændres (Farkye & Imafidon, 1995). Funktionelle effekter opnået ved LSI-pasteurisering af WPC og ændring heraf ved spraytørring til pulver ønskes undersøgt.

*Formålet* er at undersøge, hvordan pasteurisering ved Lenient Steam Injection (LSI) teknologien i forhold til traditionel High-Temperature-Short-Time (HTST) af mælk påvirker fødevarer sikkerheden ved inaktivering af mikroorganismer og fødevarer kvaliteten ved lipaseaktivitet af relevans for ostemodning og valleproteinkoncentrats (WPC) proteindenaturering og -modificering af relevans for mælkeingrediensers funktionelle egenskaber.

Projektets milepæle er angivet nedenfor med diskussion af de opnåede resultater for hver.

Indledende kørsler (*milepæl 1*) med LSI-apparatet hos Arla Foods i Nr. Vium blev gennemført som planlagt. Herved opnåedes praktisk erfaring med kørsel og gennemførelse af indledende forsøg hvor mulige temperaturer og prøveudtagninger blev fastlagt.

Holdetidsberegning (*milepæl 2*): En model for beregning af holdetid ved fysiske parametre blev forfulgt ved anvendelse af procesteknik, reaktionsteknik og computational fluid dynamics, men holdetiden kunne ikke beregnes ud fra disse målinger og er derfor opgivet. Derimod er der i projektet fundet mulighed for at estimere en biologisk baseret varmebehandlingstid (Biological Retention Time, BRT), ud fra hypotesen: LSI inaktiveringskinetik bestemt for vegetative celler og bakteriesporer følger konceptet om D- og z-værdier. Der er udført varme-inaktiverings forsøg i modelsystemer for modelorganismer valgt ud fra forskellige varmeresistenser for at opnå en robust modellering af BRT. Resultaterne viser at BRT ved 100C er 0,53s og ved 145C 0,05s. Den fulde model viser, at den totale varmebehandlingstid er faldende med stigende temperatur, hvilket stemmer overens med at dampflowet ved injektion stiger med temperaturen og varmebehandlingstiden bliver kortere.

Hurtigmetoder til bestemmelse af varmeinaktivering (*milepæl 1, 3 og 4*): Bestemmelse af vækstpotentiale af BcUM277 efter varmebehandling ud fra RNA reduktion i sporer manglede korrelation til varmebehandlingsgrad, og er opgivet. Cronobacter sakazakiis D- og z-værdier er bestemt i et modelsystem ved 52 - 60C både ved anvendelse af propidium monoazid (PMA) og kvantitativ RT-PCR. PMA har vist sig lovende som metode til beregning af CFU og til bestemmelse af inaktiveringskinetik. Resultaterne fra varmebehandling af C. sakazakii viser, at der er en log lineær reduktion af kimtallet både målt ved PMA RT-PCR og CFU. PMA RT-PCR metoden ser ud til at være en hurtig metode til at estimere levedygtige varmebehandlede celler af C. sakazakii DSM4485 (se i øvrigt pkt. 9G). Ostemælk og lipoproteinlipase aktivitet (*Milepæl 3 og 4*): LSI-behandlet mælk er analyseret for valleproteindenaturering og for enzymaktiviteter af lipoprotein lipase, plasmin, xanthine oxidase, lactoperoxidase og alkalisk fosfatase. Lipaseaktiviteten viste sig at falde kraftigt allerede ved LSI-temperaturer på 70-75C. Ved højere temperaturer er lipaseaktiviteten uden betydning for oste-modningen. Plasminaktiviteten var afhængig af fedtindhold og steg i fuld mælk ved varmebehandling ved de lavere T op til 80-100C, men faldt ved de højere T op til højeste testede T=150C. Enzymaktiviteten af alkalisk fosfatase, lactoperoxidase og xanthine oxidase kunne ikke eftervises, at LSI behandling er mere skånsom end PHE behandling i temperaturområdet under 80C. Dog kunne måling af lipaseaktivitet påvise en lille forskel til LSI'ens fordel.

*Milepæl 5 og 6*: LSI af mælk til produktion af gul ost: Den oprindelig planlagte aktivitet omkring blåskimmeloste blev opgivet, da LPL ved LSI T>75C inaktiveres til et ubetydeligt niveau. I stedet er løbeevnen ved gul ost fremstilling undersøgt. Denatureret  $\beta$ -LG i mælken steg med stigende T i LSI apparatet, men antog en denatureringsgrad ~30% protein i fuld mælk og ca. 15% denatureret protein i skummetmælk for T = 120-145C. Dette er en meget lav denatureringsgrad i forhold til PHE pasteurisering ved lignende T. Proteindenatureringen af valleproteiner havde ikke væsentlig indflydelse på løbeevnen af mælk LSI-behandlet ved 120C. Et studie af aggregeringen af valleproteiner og kappa-casein under kraftig LSI-behandling viser, at mælk som er LSI behandlet ved 140C er mere identisk med ubehandlet mælk end med UHT behandlet mælk (140C i 4s) mht. caseinmicelle-struktur og -sammensætning. Forsøg med mikrofiltreret skummetmælk viste, at for LSI-behandlet mælk op til T=100C er løbeegenskaberne bedre end i PHE 72C/15s. Ved LSI T > 100C mindskes løbeegenskaberne med stigende T (se i øvrigt pkt. 9G for uddybning).

*Milepæl 7 og 8*: LSI behandling af WPC: LSI behandling af WPC medfører øget denaturering af B-LG ved stigende T, og behandling af WPC var kun mulig op til 90C p.g.a. fouling. Denatureringen har betydning for de funktionelle egenskaber af WPC målt ved evnen til at danne gelnetværk som følge af varmeinducering. Ved stigende T i LSI observeredes stigende denatureringer af B-LG op til 30% ved 90C. Ved varmeinduceret geldannelse observeredes en øget gelstyrke som følge af mild varmebehandling, enten 68C LSI behandling eller ved spraytørring af ubehandlet WPC. Ved øget varmebehandling sås øget denaturering og aftagende gelstyrke, men uændret geleelasticitet. Ved T<90C er det ikke muligt at reducere det aerobe mesofile kimtal i WPC ved en LSI behandling til det lovmæssige krav.

*Milepæl 9*: Det er opgivet at udarbejde en anbefaling for LSI-behandling af ostemælk til fremstilling af blåskimmelsoste, qua det ikke opnåelige behandlingskombination af holdetid og T, som tilgodeser både lipaseaktivitet og sporedrab.

*Milepæl 10 og 11*: Udarbejdelse og aflevering af PhD-afhandlinger for de to phd-studerende på hhv. DJF og KU-LIFE (se punktet *Forskeruddannelse*).

***Hovedkonklusionen på projektet er, at LSI behandlingens skånsomme effekt først for alvor bliver skånsom og dermed forskellig fra traditionel indirekte varmebehandling ved temperaturer over 100-120°C. Samtidig er drabseffekten på sporer særligt interessant ved disse temperaturer. Perspektiverne for det erhvervsmæssige potentiale af resultaterne er gode indenfor fremstillingen af en mikrobiologisk sikker mælk uden nævneværdige ændringer i løbeevne, plasminaktivitet og proteindenaturering og heraf følgende ostekvalitet.***

## Publikationer og offentliggørelse

### Artikler i internationale tidsskrifter

- Dickow, J.A., Larsen, L.B., Hammershøj, M. & Wiking, L. 2011. Cooling Causes Changes in the Distribution of Lipoprotein Lipase and Milk Fat Globule Membrane Proteins Between the Skim Milk and Cream Phase. *Journal of Dairy Science*, 94, 2, 646-656.
- Dickow, J. A., Nielsen, M.T. & Hammershøj M. Lenient Steam Injection (LSI) heat treatment of bovine milk - Impact on enzymatic activities, fat globules and pH. *International Journal of Dairy Technology* (accepted with minor revisions, 11 october 2011).
- Dickow, J.A., Nielsen, S.B., Hansted, J.G., Otzen, D. & Hammershøj, M. Low level of  $\beta$ -Lactoglobulin Denaturation in Ultra High Temperature Treated Milk using Lenient Steam Injection. *Journal of Food Science* (Submitted 22 August 2011)
- Dickow, J.A., Kaufmann, N.R., Wiking, L. & Hammershøj, M. Protein denaturation and functional properties of Lenient Steam Injection heat treated whey protein concentrate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (Submitted 22 august 2011).

### Populærvidenskabelige artikler

- Dickow, J.A., Nielsen, M.T., Thorsen, L., Jakobsen, M. & Hammershøj, M. 2009. LSI-varmebehandling. Perspektiver for varmebehandling med meget kort holdetid. *Mælkeritidende*, 122, 13, 304-306.
- Dickow, J.A., Wiking, L. 2010. Nedkøling påvirker mælken. *Ny KvægForskning* Nr. 4, 8. årgang, August 2010.
- Dickow, J.A., Nielsen, M.T., Jakobsen, M. & Hammershøj, M. Alternativ varmebehandling ved LSI. Effekt på enzymer og valleproteiner. *Mælkeritidende*, 124, (indsendt 23. juni 2011).

### Studenteropgaver

Bachelor studerende Carina Svendsen har udarbejdet en rapport omhandlende *Cronobacter sakazakii*s varmeresistens i modelsystem vist ved temperaturer 52C, 55C, 58C samt 60C, hvorefter D-værdier og Z-værdi blev bestemt. Herefter blev der udført et varmeresistens studie for at vise, at propidium monoazide (PMA) RT-PCR kan benyttes til at bestemme D-værdi ved 60C. Projektet blev bedømt til karakteren 12.

### Indlæg ved faglige kongresser, symposier, etc.

- Dickow, J.A. & Hammershøj, M. 2008. LSI pasteurisation of milk and milk products. Internal Food Research Day, University of Aarhus, 9. september 2008. Poster abstract list, p. 18.
- Dickow, J.A., Gunther, W.S., Holst, H.H. & Hammershøj, M. 2009. Lenient Steam Injection (LSI) as technology for milk pasteurisation. 4th IDF Dairy Science and Technology Week, 20-24 April, Rennes. Abstracts of oral presentations and posters, p 60.
- Nielsen, M.T., Svendsen, C., Thorsen, L., Jakobsen, M. 2010. Wet Heat Treatment of *Cronobacter sakazakii* and Detection of Viable Cells Using RT-PCR and Propidium Monoazide for Distinction between Dead and Viable Cells. *FoodMicro 2010*, 30. august – 3. september. Copenhagen. Abstracts of oral presentations and posters, p 314 (PED2.50)
- Hammershøj, M. 2010 Novel heat treatments of milk by steam infusion and steam injection technologies affect the activity of indigenous enzymes. Oral presentation and abstract, IDF World Dairy Summit, 8-11 November 2010, Auckland, New Zealand, p. 1.
- Hammershøj, M. 2011. LSI-pasteurisering af mælk og effekt på mikrobiologi, ostemodning og proteindenaturering. I 'Fra mejeriforskning til anvendelse', Mejeriforskningens dag, Billund 17/3-11, p. 59-64.
- Dickow, J.A., Gunther, W., Larsen, L.B. & Hammershøj, M. Perspectives of gentle heat treatment by Lenient Steam Injection. LMC Congress Food in Front, Odense 23-24/5-11, poster og mundtlig præsentation.

## Mødeindlæg

Mundtlige indlæg ved MFF's Styregruppemøder i Mikrobiologigruppen, hvor resultater er fremlagt igennem projektperioden, d.v.s. 1. april 2008, 15. september 2008, 31. marts 2009, 29. september 2009, 20. april 2010, 26. oktober 2010, 12. april 2011, og 27. oktober 2011.

Mundtlig præsentation ved statusmøde for Fødevarforskningsprogrammet 2007 i Fødevareerhverv 17. september 2010.

## Forskeruddannelse

Projektet har haft tilknyttet uddannelse af to phd-studerende, som er ansat pr. 1. maj 2008. PhD-studerende Martin Thorup Nielsen har været ved Institut for Fødevarevidenskabs forskergruppe for Fødevaremikrobiologi på Det Biovidenskabelige Fakultet ved Københavns Universitet og indskrevet ved ph.d.-skolen FOOD med professor Mogens Jakobsen som hovedvejleder. Forventet afslutning af ph.d.-forløb er pr. ultimo 2011.

PhD-studerende Jonatan Ahrens Dickow har været ved Institut for Fødevarers forskergruppe for Mælke- og Ægkvalitet på Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet ved Århus Universitet og indskrevet ved ph.d.-skolen SAFE med lektor Marianne Hammershøj som hovedvejleder. Jonatan Ahrens Dickow har afleveret sin PhD-afhandling med titlen 'Lenient Steam Injection heat treatment of milk and whey protein concentrate. Impact on enzymatic activities, protein denaturation and functional properties' den 25. august 2011. Jonatan Ahrens Dickow forsvarede sin PhD-afhandling den 16. November 2011.

## Samarbejdsrelationer

Igennem projektperioden er der fremkommet samarbejdsrelationer til Emma Danielsson, og Eva Danielsson, Arla Foods - Stockholm omkring LSI-enheden og dens effekt på øvrige mål. Professor Gunilla Olivecrona, Umeå Universitet, Sverige, har med baggrund i sin ekspertise indenfor lipoprotein lipase aktivitet og måling heraf været vært for PhD-studerende Jonatan Dickow ved et ophold med formål at opsætte analysemetode for lipoprotein lipase aktivitet. I forbindelse med at undersøge hvordan LSI-holdetiden kan beregnes eller modelleres er der etableret kontakt til professor Harry E. A. van den Akker, Delft, Holland i kraft af ekspertise vedr. computational flow dynamics. På det mikrobiologiske område er der af PhD-studerende Martin Thorup Nielsen skabt samarbejde til Dr. Ivo Pavlic, Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic og Dr. Francesca Gaggia, Dept. of Agro-environmental Sciences and Technology, Microbiology, Bologna, Italien. PhD-studerende Jonatan Dickow har haft et eksternt ophold ved professor Daniel Otzen, Jon Gade Hansted, og Søren Bang Nielsen, Molekylærbiologisk Institut, Århus Universitet, hvor aggregeringer af valleproteiner blev studeret. PhD-studerende Martin Thorup Nielsen har samarbejdet med professor Jens Adler-Nissen, Preben Bøje Hansen, og Peter Reimer Stubbe, DTU Fødevareinstituttet omkring måling og beregning af biologisk varmebehandlingstid ud fra koncept om mikrobiologiske D- og z-værdier.

## Resultaternes praktiske og videnskabelige betydning

Ud fra projektets resultater ligger potentialet i LSI-teknologien i muligheder for videreudvikling af mælk til osteproduktion, WPC og på sigt mælk med længere holdbarhed, hvilket samfundsmæssigt kan betyde mindre madspild i forhold til lavpasteuriseret mælk. Der kan produceres en LSI behandlet ostemælk (ved 95-100C), som har bedre løbeegenskaber end lavpasteuriseret mælk og samtidig have god mikrobiologisk kvalitet. Teknologien kræver videreudvikling rent proces-teknisk idet der er en række udfordringer omkring holdetidsstyring, nøjagtig måling af tid/T, rengøringsvenlighed, d.v.s. tidsforbrug og opskalering til produktions-niveau. Der er behov for at undersøge yderligere funktionelle egenskaber for WPC som ingrediens, yoghurt området og ikke mindst det sensoriske aspekt ved anvendelse af LSI. Desuden har



resultater med PMA vist, at metoden kan over-føres til andre organismer, hvor verificering af tilstedeværelse ved anvendelse af kulturafhængige metoder tager lang tid. Estimering af BRT forventes at bidrage til forståelse af varmebehandlingsprocesser, hvor kort procestid gør bestemmelse af denne umulig ved klassisk anvendelse af fysiske parametre i f.eks. procesteknik.

### **Relationer til andre mejerirelaterede samarbejdsprojekter**

Projektet relaterer sig til et nyt samarbejde mellem AU, Arla Foods a.m.b.a og KU-Life. Forsknings- og innovationsstyrelsen har i juni 2011 bevilget et erhvervs PhD-projekt med titlen ' Effect of individual proteins and processing on the mechanism of heat inactivation of indigenous milk enzymes – study on the plasmin system for enhanced shelf life and quality of dairy products', hvor Valentin M. Rauh er ansat som PhD-studerende pr. 1. september 2011. Der tages udgangspunkt i nogle af de opnåede resultater i nærværende projekt omkring valleproteiner og plasminaktivitet.