

# CHALMERS



## Organiska syror och deras inverkan på hydrolytiskt index för surdegsbröd

- Stärkelsehydrolys i mag-tarmkanalen simulerad med en *in vitro* modell

EMELIE ANDERSSON

LINA HANSSON

JOSEFINE LUNDSTEN

HANNA BLINGE

ANDREA IVANČIĆ

JANNI SUNDÉN

Institutionen för Kemi- och bioteknik  
Avdelningen för Livsmedelsvetenskap  
CHALMERS TEKNISKA HÖGSKOLA

Göteborg, Sverige 2014

Kandidatarbete/rapport nr 2014:015

Handledare:

Marie Alminger

Cecilia Svelander

## SAMMANFATTNING

Surdegsbröd har genom historien ansetts som ett mer näringsrikt bröd än bröd bakat på bagerijäst och har även visat sig ha lägre inverkan på blodsockerhalten. Syftet med studien är att analysera förekomsten av utvalda organiska syror, syrornas eventuella påverkan på stärkelsehydrolysen och deras inverkan på hydrolytiskt index (HI) hos surdegsbröd. Surdegs-kulturer startades på enbart råg- och vetemjöl, där honung tillsatts som sockerkälla till ett fåtal av kulturerna, varefter de analyserades kvalitativt och kvantitativt med HPLC. Resultaten visade höga halter mjölksyra och ättiksyra, samt propionsyra i kulturerna. Surdegsbröd bakades på en industriellt framställd kultur med höga halter av propionsyra, samt tre egentillverkade kulturer, där en kultur var baserad helt på rågmjöl, en på vetemjöl och till sist en 50/50-kultur. Surdegsjäsningsen skedde i tre stadier i; surdegskulturen, fördegen och degen som sedan gräddades. Bröden bakades enligt samma grundrecept, baserat endast på vetemjöl. En *in vitro* modell användes för att simulera mag-tarmkanalen där nedbrytningen av stärkelse till maltos skedde. Utifrån maltoskoncentrationerna från *in vitro* försöken beräknades ett HI för respektive surdegsbröd. Som referens användes ett vitt bröd bakat med bagerijäst. Undersökningen visade enbart signifikant skillnad då 50/50-surdegsbrödet jämfördes med referensbrödet, råg- och vetesurdegsbrödet, samt att HI minskade kraftigt för surdegsbröden i jämförelse med referensbrödet. Resultatet från studien visar att bröd bakade på surdegskultur gjord av både råg- och vetemjöl ger lägre HI jämfört med bröd bakade på rågsurdegskultur.

# ABSTRACT

## Organic acids and their impact on hydrolytic index for sourdough bread

### - Starch hydrolysis in the gastrointestinal tract simulated through an *in vitro* model

In history, sourdough bread has been considered more nutritional than bread baked from conventional yeast, and has also indicated a lower impact on the blood glucose. The aim of the study is to analyse the presence of pre-defined organic acids, their possible influence on starch hydrolysis and their effect on the hydrolytic index (HI) in sourdough bread. Sourdough starters were made only of rye and wheat flour and honey was added as a sugar source in some of the starters, whereafter they were all analysed both qualitatively and quantitatively through a HPLC. The results showed high amounts of lactic, acetic and propionic acids in the starters. Sourdough breads were produced from one industrial starter with a high concentration of propionic acid, and from three of the home made sourdough starters, where one was fully based on rye flour, one consisted of wheat flour and the last one was a 50/50-starter. The fermentation was a process of three steps in; the sourdough starter, the predough and the final bread dough. All breads were made from the same recipe, with wheat flour as a base. An *in vitro* model was used for simulation of the gastrointestinal tract where the degradation of starch into maltose occurs. A value of HI for each sourdough bread was calculated from the maltose concentrations in the *in vitro* studies, where a white bread made with baker's yeast was used as a reference. The only significant difference noted in the study was when the 50/50-sourdough bread was compared to the reference together with the rye and wheat breads. It was also concluded that HI was lower in the sourdough breads compared to the reference bread. The results from this study indicate that bread made from a sourdough based on both rye and wheat flour gives a lower HI compared to a bread based on a rye sourdough. The study shows that lactic and acetic acid contribute to a lower rate of the starch hydrolysis and a lower HI when present in bread.

# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1	Inledning.....	1
1.1	Syfte.....	2
1.2	Avgränsningar .....	2
2	Teoretisk bakgrund.....	2
2.1	Surdegskultur och mikroorganismer .....	3
2.2	Stärkelsehydrolys under matspjälkningen .....	4
2.3	<i>In vitro</i> modellen .....	5
2.4	Glykemiskt och hydrolytiskt index.....	6
2.5	Frystorkning för bevaring av mikroorganismer.....	6
3	Metod .....	7
3.1	Uppstart av surdegskulturer.....	7
3.2	HPLC-analys av organiska syror .....	8
3.3	Bakning av bröd.....	8
3.4	Torrviktsbestämning .....	9
3.5	<i>In vitro</i> försök .....	9
3.5.1	Förberedelser .....	9
3.5.2	Mag-tarmsteget.....	10
3.5.3	Beräkningar av resultat.....	11
3.5.4	Statistisk analys .....	11
3.6	Hydrolytiskt index .....	11
4	Resultat.....	11
4.1	Organiska syror i surdegskulturer, degar och bröd.....	12
4.2	Torrviktsbestämning och vattenhalt .....	13
4.3	Stärkelsehydrolys i <i>in vitro</i> försöken med statistisk analys.....	14
4.4	Hydrolytiskt index och organiska syror i bröden .....	16
5	Diskussion .....	17
5.1	Från surdegskultur till bröd .....	17
5.2	Syraanalys av surdegskultur, deg och bröd .....	18
5.3	<i>In vitro</i> försök och hydrolytiskt index .....	20
5.4	Slutsats.....	22
	Referenser.....	24

# 1 INLEDNING

Intaget av socker (sackaros) och andra sockerarter, såsom glukos och fruktos, har under de senaste 50 åren ökat markant, vilket huvudsakligen anses höra samman med länders växande BNP och urbanisering (Popkin och Nielsen, 2003). En annan bidragande faktor är att både livsmedelsindustri och konsumenter gradvis förändrat sina förhållningssätt till socker. Det ökande sockerintaget har visat sig kunna leda till beroende på längre sikt (Avena *et al.*, 2005; Erlanson-Albersson, 2005). Sockerberoende uppstår bland annat eftersom intaget regleras genom positiv återkoppling i hjärnan då en sockerart finns närvarande. Detta resulterar i att sockerbehovet ökar, kroppen vill ha mer, i motsats till en negativ återkoppling då hjärnan signalerar att det tidigare intaget var tillräckligt. Frekvent intag av sockerriktiga livsmedel leder även till stora och upprepade variationer i blodsockerhalten över tid, något som utgör en stor påfrestning för kroppen (Rasmussen, 2012). Med tiden bidrar detta till fysisk ohälsa, vanligen i form av fetma och typ 2-diabetes som blir allt mer vanligt förekommande i dagens samhälle (Guh *et al.*, 2009; Norberg och Danielsson, 2012). Att hitta kostalternativ som kan motverka den negativa sjukdomstrenden och sockerberoendet är därför av hög prioritet.

En viktig del i förändringsarbetet är att minska konsumtionen av bröd som innehåller lättillgängliga sockerarter. Dessa bröd bakas idag på bagerijäst som är framtagen för att ge kort jästid vilket effektiviserar bakningen. Jäsning genererar porositet vilket ger brödet volym. Bagerijästen bidrar även till att det blir lättare att garantera ovan nämnda kvalitéer, samt samma storlek hos alla bröd som bakas (Cappelle *et al.*, 2013). Samtidigt som bagerijästen etablerade sig på marknaden fasades den tidigare konsumtionen av surdegsbröd ut i Europa. Undantag är bland annat Tyskland, Finland och Danmark som även idag använder samma naturliga surdegsteknik även industriellt (Josephsen och Jespersen, 2004). Surdegsbrödet har genom historien, bland annat av författaren Plinius den äldre, ansetts vara mer näringsrikt (Cappelle *et al.*, 2013) än bröd bakad på bagerijäst, något som även senare forskning kunnat bevisa (Corsetti och Settanni, 2007).

I jämförelse med bröd som bakats med bagerijäst medför surdegsbröd lägre inverkan på blodsockerhalten (De Angelis *et al.*, 2009). En faktor som visats bidra till lägre blodsockerpåverkan är förekomsten av organiska syror, vanligen mjölksyra och ättiksyra, som bildas naturligt vid surdegsfermentering eller tillsätts vid bakningen (Liljeberg *et al.*, 1995; Liljeberg och Björck, 1998). Ättiksyra har visat sig sänka hastigheten med vilken maten lämnar magsäcken, vilket bidrar till jämnare upptag av sockerarter från tarmen (Liljeberg och Björck, 1998). Tillsats av propionsyra har visat sig påverka matsmältningen genom samma mekanism (Liljeberg *et al.*, 1995). Förekomsten av mjölksyra i brödet har samma effekt på blodsockerhalten som ättiksyra och propionsyra. Detta anses bero på mjölksyrans inhiberande inverkan på de verksamma enzymen i stärkelsehydrolysen, vilket sänker nedbrytningshastigheten av stärkelse och därmed upptaget av glukos i blodet.

Flera tidigare studier (Jenkins *et al.*, 1986; Foster-Powel *et al.*, 2002) har även visat att produkter innehållande rågmjöl ger lägre blodsockerpåverkan än livsmedel producerade med vetemjöl. Rågbröd har dessutom visat sig vara en bättre källa till antioxidativa föreningar och B-vitaminer, där förekomsten av dessa ökar ju högre fullkornshalt mjölet har (Michalska *et al.*, 2007; Martinez-Villaluenga *et al.*, 2009).

Med alla dessa egenskaper i åtanke utgör surdegsbrödet ett hälsosammare alternativ bland de jästa bröden och kan därför spela en viktig roll för att minska intaget av lättillgängliga sockerarter.

## 1.1 Syfte

Projektet syftar till att undersöka inverkan av de organiska syrorna mjölksyra, ättiksyra och propionsyra på stärkelsehydrolysen och det hydrolytiska indexet hos surdegsbröd. Hydrolytiskt index för bröd bakade med surdegs kulturer av råg- och vetemjöl ska jämföras med varandra, samt med ett bröd bakat på vetemjöl och jäst.

## 1.2 Avgränsningar

I detta projekt består surdegs kulturerna endast av sädeslagen vete och råg och sötning av kulturerna sker enbart med honung. För att isolera den effekt surdegs kulturerna har på egenskaperna hos det färdiga brödet, bakas bröden med vetemjöl för att utesluta eventuell påverkan av de olika mjölblandningarna. Brödbakning sker endast på ett urval av de initiala surdegs kulturerna för att kunna genomföra mer utförlig fortsatt analys. Eftersom studiens fokus är att jämföra stärkelsehydrolysen av bröden, fyller analys av till exempel smak, konsistens och utseende hos bröden ingen funktion.

De faktorer som bidrar mest till egenskaperna hos surdegs kulturen är vilka mikroorganismer som finns närvarande samt hur de interagerar. Dessa två faktorer påverkar bland annat vilka organiska syror som produceras vid fermentering. Studien kommer dock inte kartlägga förekomst av, eller förhållandet mellan de involverade mikroorganismerna.

## 2 TEORETISK BAKGRUND

Surdegs kulturer görs på mjöl och vatten, där mjölksyrabakterier och jästsvampar i mjölet gör att blandningen fermenterar spontant. Surdegsjäsning sker i surdegs kulturen, fördegen och degen som används för bakning. Balansen mellan mikroorganismerna under fermenteringen är avgörande för produktionen av organiska syror, samt funktionen hos

dessa. I mjölet finns polysackarider i form av stärkelse som i kroppen bryts ned till enkla sockerarter och tas upp i blodet. Stärkelsehydrolysen sker framför allt i tarmen och kan simuleras med en *in vitro* modell. Hastigheten av stärkelsehydrolysen kan bedömmas med hydrolytiska index (HI).

## 2.1 Surdegskultur och mikroorganismer

Surdegskulturer görs vanligtvis av vete- och/eller rågmjöl och vatten, med möjlig tillsatts av till exempel honung, socker, russin eller äpple som sockerkälla (Minervini *et al.*, 2011; Johansson, 2012; Corsetti, 2013). Blandningen jäser spontant av mjölksyrabakterier (lactobaciller) och jästsvampar som finns naturligt i mjölet (Corsetti, 2013). Redan omkring år 2000 f.Kr. upptäckte egyptierna att surdegssäta bröd ökade i volym, vilket resulterade i luftiga och lätta bröd efter gräddning (Cappelle *et al.*, 2013).

Faktorer som påverkar surdegskulturens jäsningsförmåga är omgivningens temperatur, jäsningsstid, mjölsort, näringstillgång, pH-värde, vattenkoncentration samt förekomsten av antimikrobiella ämnen (Sievert *et al.*, 2007). Dessa faktorer påverkar förökningshastigheten av mjölksyrabakterier och jästsvampar, samt vilka specifika stammar som utgör surdegskulturen. Detta påverkar produktionen av koldioxid, organiska syror och andra metaboliter, vilket ger brödet bra struktur och sensoriska egenskaper samt längre hållbarhet (Corsetti, 2013).

Mjölksyrabakterier producerar organiska syror vilket sänker pH-värdet i surdegskulturen medan jäst främst svarar för jäsningen genom att frigöra koldioxid (Sievert *et al.*, 2007). Den sura miljön, där pH-värdet ligger mellan 4,0 och 4,6 (Sievert *et al.*, 2007), skyddar surdegskulturen från mögelangrepp. Mjölet fungerar som en bra buffert vilket hindrar pH-värdet från att sjunka under 3,7 då förruttelsebakterier tar över. Hittills har fler än 55 arter av mjölksyrabakterier identifierats i surdegskulturer där majoriteten är heterofermentativa (Huys *et al.*, 2013). Homofermentativa lactobaciller producerar endast en fermentationsprodukt, mjölksyra, medan heterofermentativa lactobaciller producerar ett flertal fermentationsprodukter, så som koldioxid, ättiksyra och etanol (Madigan *et al.*, 2012).

Vid tillverkning av surdegsbröd sker jäsnning i tre stadier; i surdegskulturen, fördegen och degen som sedan ska användas för bakning (Sievert *et al.*, 2007). Efter ett tag blir näringen begränsande för organismerna i kulturen, därför krävs tillförsel av nytt mjöl med jämna mellanrum. Organismerna i surdegskulturen producerar i regel mindre koldioxid än kommersiell jäst. Jäsningsstiderna vid framställning av surdegsbröd är därför ofta långa, i storleksordning av flera timmar. Ibland tillsätts även bagerijäst för att påskynda jäsningsprocessen. För närvarande finns olika kommersiella beredningar av stabiliserade surdegskulturer tillgängliga på marknaden (Corsetti, 2013).

## 2.2 Stärkelsehydrolyt under matspjälkningen

Stärkelse är en polysackarid som förkommer i nästan alla växter, särskilt i spannmål, rotfrukter och omogna frukter. Huvudfunktionen hos stärkelsen är att lagra energi i växterna i form av glukos (Mathews *et al.*, 2013). Stärkelsen lagras i cellerna i form av granuler som kan variera i storlek, form och komposition (Preiss, 2004). Polysackariderna amylos och amylopektin utgör de två huvudkomponenterna i stärkelse. Amylos och amylopektin är båda polymerer av  $\alpha$ -D-glukos men har olika typer av bindingar mellan glukosenheterna (Preiss, 2004; Mathews *et al.*, 2013). Amylos är en linjär polymer som endast innehåller  $\alpha$ -1,4-bindningar medan amylopektin är en förgrenad polymer som förutom  $\alpha$ -1,4-bindningar även innehåller  $\alpha$ -1,6-bindningar.

I kroppen påbörjas nedbrytningen av livsmedel i munnen genom mekanisk bearbetning då maten tuggas (Jackson och McLaughlin, 2009). Detta gör att matspjälkningsenzym lättare kommer åt att bryta ned maten. I saliven finns enzymet  $\alpha$ -amylas som utsöndras av spottkörtlarna.  $\alpha$ -amylas börjar bryta ned stärkelse till disackarider, trisackarider, oligosackarider samt dextriner, genom hydrolyt av  $\alpha$ -1,4-bindningarna. Endast en liten del av polysackariderna bryts dock ned av  $\alpha$ -amylas från saliven.

I magsäcken fortsätter den mekaniska nedbrytningen genom att maten knådas med hjälp av muskelsammandragningar (Jackson och McLaughlin, 2009). Salivens  $\alpha$ -amylas inaktiveras när det når den sura miljön i magsäcken (Hinsberger och Sandhu, 2004). De delvis nedbrutna polysackariderna, samt även fetter och proteiner, bildar tillsammans med magsaften en välling, kallad chymus, som successivt släpps ut i *doudenum* (tolvfingertarmen) (Jackson och McLaughlin, 2009). Där neutraliseras magsyran av natriumvätekarbonat som utsöndras av celler i kanalen till *pancreas* (bukspottkörteln) samt av körtlar i *doudenum*. De resterande polysackariderna hydrolyseras i *doudenum* av  $\alpha$ -amylas som utsöndras från *pancreas*.

Absorptionen av socker sker huvudsakligen i *jejunum* (tomtarmen) (Jackson och McLaughlin, 2009). Denna är kraftigt veckad och täckt av fingerliknande utskott kallade villi, vilka i sin tur är beklädda med utskott kallade mikrovilli. Utskotten medför att en mycket större yta blir tillgänglig för absorption av näringsämnen. För att möjliggöra upptag behöver stärkelsen brytas ned ytterligare, först till disackarider (maltos) och därefter till monosackarider (glukos). Glukos kan därefter absorberas av enterocyterna, cellerna i tarmutskottens epitel. Nedbrytningen sker med hjälp av de membranbundna enzymen sukras, isomaltas och glukoamylas som förekommer i både *doudenum* och *jejunum* (Levin, 1994; Hinsberger och Sandhu, 2004).

Glukos tas upp i cellerna genom transportproteinet natrium-glukos-transportprotein-1 (SGLT1) vilket är lokaliserat i enterocyternas apicala membran (Levin, 1994; Wood och Trayhurn, 2003; Jackson och McLaughlin, 2009). Transporten drivs av en koncentrationsgradient med natrium över plasmamembranet. Två natriumjoner transporteras in i cellen för varje glukosmolekyl. Natriumjonerna pumpas tillbaka ut ur cellerna med ATP-drivna natriumpumpar och därmed upprätthålls natriumgradienten.



Glukosmolekylerna lämnar passivt enterocyterna genom transportproteinet GLUT2 i de basala membranerna och tas upp i blodet.

### 2.3 *In vitro* modellen

Hydrolysis av stärkelse i kroppen kan studeras genom en *in vitro* modell som simulerar mag-tarmkanalen och dess funktioner. En *in vivo* studie är mer önskvärd men är både dyr och tidskrävande. En första *in vitro* modell över mag-tarmkanalen togs fram av Jenkins *et al.* 1982 och har sedan dess modifierats och anpassats beroende på vad som ska utvärderas. På senare tid har standardiserade modeller eftersträvat (Minekus *et al.*, 2014) där modellen ska kunna anpassas efter vilken typ av livsmedel och vad som utvärderas med så lite variation av modellen som möjligt. En *in vitro* modell togs fram av Brennan och Tudorica (2008) som simulerar digestionen av pasta och är den modell som används i den här studien då bröd är ett livsmedel med relativt lik stärkelsemängd som pasta.

En validering av tidigare *in vitro* modeller har gjorts för att utvärdera tillförlitligheten mellan *in vivo* och *in vitro* (Tharakan, 2010) och har används för att utvärdera modellen använd i den här studien. Modellen som används inleds med simulering av tuggning genom malning av bröden, men utan tillsats av salivamylas. Därefter simuleras mag-tarmkanalen, ett mycket komplext system, uppdelat i ett magsteg och ett tarmsteg. I magsteget tillsätts enzymet pepsin, som utsöndras i magsäcken vid förtäring, och hydrolyserar peptidbindingarna i proteinerna i födan (Jackson och McLaughlin, 2009). I mag-tarmkanalen varierar pH-värdet och modellen efterliknar dessa förändringar genom att pH justeras till 4 vid början av digestionen och till 2 efter 30 minuter genom tillsats av saltsyra.

Tarmssteget inleds efter ytterligare 30 minuter genom att pH-värdet justeras till 7 med natriumhydroxid. Pepsinet inaktiveras då, och enzymet  $\alpha$ -amylas tillsätts för fortsatt nedbrytning av stärkelse. Tunntarmen är ansvarig för i nästan allt näringsupptag och har individvarierande mått, 2,5-4 cm i bredd och ungefär 6 m i längd (Tharakan, 2010). I tarmsteget simuleras tunntarmen med hjälp av ett semi-permeabelt dialysmembran, med diametern 16 mm, vilket skapar en barriär mellan membranets innehåll och den omgivande vätskefasen. Tarmväggens komplexitet är svår att simulera då näringsupptaget inte enbart sker genom passiv diffusion. Det använda dialysmembranet efterliknar endast cellväggen men är ett relativt bra substitut, och orsakar ett liknande motstånd, vilket gör masstransporten trovärdig (Tharakan, 2010). Den mekaniska bearbetningen i tarmen simuleras i modellen av en svag, kontinuerlig skakning och tre stycken glaskulor (Brenna och Tudorica, 2008) inuti dialysmembranet som fördelar innehållet jämnt och underlättar nedbytningen.

## 2.4 Glykemiskt och hydrolytiskt index

Glykemiskt index (GI) introducerades av Jenkins *et al.* (1981) för att klassificera olika kolhydratinnehållande livsmedel utefter deras inverkan på blodsockret. Detta kan illustreras grafiskt i en blodsockerkurva som visar blodsockerhaltens utveckling över tid. Det glykemiska indexet definierades som arean under blodsockerkurvan efter intaget av ett livsmedel, som en procentandel av arean efter intag av samma mängd kolhydrater i form av en glukoslösning (Jenkins *et al.*, 1981). Kolhydraterna i ett livsmedel med ett högt GI bryts ned och absorberas snabbt vilket ger en hög blodsockernivå medan ett livsmedel med ett lågt GI har mindre inverkan på blodsockret (Foster-Powell *et al.*, 2002). Både glukoslösning och vitt bröd kan användas som referens vid bestämning av ett livsmedels GI-värde (Goñi *et al.*, 1997; Foster-Powell *et al.*, 2002). GI-värdet sätts till 100 för den produkt som används som referens.

Hydrolytiskt index beräknas genom att använda en *in vitro* metod för bedömning av hastigheten på stärkelsehydrolysen av ett livsmedel (Granfeldt *et al.*, 1994; Hettiaratchi *et al.*, 2012). En del studier har visat en signifikant korrelation mellan hydrolytiskt index och glykemiskt index (Granfeldt *et al.*, 1992; Granfeldt *et al.*, 1994; Goñi *et al.*, 1997; Hettiaratchi *et al.*, 2012). Detta innebär att det hydrolytiska indexet kan ge en bra uppskattning av det glykemiska indexet, och därmed ett livsmedels inverkan på blodsockret. HI beräknas från arean under hydrolyskurvan för ett livsmedel som en procentandel av motsvarande area för ett vitt referensbröd (Granfeldt *et al.*, 1994; Åkerberg *et al.*, 1998a). HI för det vita referensbrödet sätts därmed till 100.

## 2.5 Frystorkning för bevaring av mikroorganismer

Tillväxten av mikroorganismer kan kontrolleras genom frystorkning, vilket är den mest skonsamma torkningsmetoden (Madigan *et al.*, 2012). Vid frystorkning torkas produkten i fryst tillstånd under vakuum, genom att isen sublimerar (Hallström, 2014). Frystorkning är en av de mest framgångsrika metoderna för att bevara bakterier, jäst och sporbildande svampar (Nyanga *et al.*, 2012). Metoden nyttjas främst för lagring och frakt, samt för att hålla mikroorganismer livsdugliga under längre tidsperioder.

Under ogynnsamma förhållanden, vid till exempel extrema temperaturer, torka eller näringsbrist, bildar många prokaryoter och svampar sporer för att uthärda de ofördelaktiga tillväxtbetingelserna (Madigan *et al.*, 2012). Sporer kan ses som ett vilande stadie för en organism, vilken kan förbli inaktiv i flera år. Aktivering kan dock ske genom att sporer värms en kortare stund i en subletal temperatur, som endast i längre tidsintervall är skadligt. Vid tillsats av näringämnen börjar sporer sedan växa. När frystorkade surdegskulturer används vid bakning krävs därför återaktivering av mikroorganismerna i kulturen genom förjäsnings innan surdegskulturen kan användas (Gänzle och Gobbetti, 2013).

### 3 METOD

Sex stycken egenproducerade surdegskulturer ingick i studien. Utöver dessa analyserades även fyra stycken industriellt tillverkade surdegskulturer. Innehållet av organiska syror i kulturerna analyserades kvalitativt och kvantitativt med HPLC. Av samtliga surdegskulturer valdes fyra ut till brödbakning. En *in vitro* analys utfördes på bröden, för att undersöka stärkelsebrytning och beräkna hydrolytiska index.

#### 3.1 Uppstart av surdegskulturer

Det experimentella arbetet inleddes med att starta upp sex olika surdegskulturer. Två kulturer gjordes av respektive sammansättning, vilka var; bara vetemjöl, bara rågmjöl samt hälften vetemjöl och hälften rågmjöl (hädanefter kallad 50/50). En kultur av varje sort sötades med honung. Surdegskulturerna tillverkades med vetemjöl och finmalet rågmjöl från Kungsörnen, samt enligt samma metod men på olika platser. De olika rumstemperaturerna varierade mellan 21,5-28 °C.

Surdegskulturerna framställdes utifrån ett grundrecept av den erkända hemmabagaren Martin Johansson (2010), som släppt flertalet receptböcker och har en prisbelönt blogg. Processen startades på kvällen genom att blanda en matsked mjöl med två matskedar vatten, samt ett kryddmått honung till de sötade kulturerna. Kvällen efter rördes surdegskulturen om och stod därefter i rumstemperatur till nästföljande kväll då ytterligare en matsked mjöl tillsattes under omrörning. Morgonen därpå utfördes sista steget i processen där två matskedar mjöl och två matskedar vatten tillsattes och kulturen rördes om. Alla kulturer ansågs ha naturlig arom och konsistens samt hade förekomst av bubblor, egenskaper som kännetecknar god aktivitet. De togs därefter med till laboratoriet där de frystorkades inför HPLC-analys av organiska syror.

Utöver de egentillverkade surdegskulturerna analyserades fyra industriellt framställda surdegskulturer. Dessa var två kulturer från bagerigrossisten Kååå, varav en med hög halt propionsyra och en med höga halter av propion- och mjölksyra, samt två kulturer från Kronjäst, där en var baserad på vete- och den andra på rågmjöl. Surdegskulturerna från Kronjäst frystorkades medan kulturerna från Kååå var frystorkade sedan tidigare. I tabell 1 visas en överskådlig bild av alla kulturerna och deras innehåll.

Tabell 1. Tabell över de olika surdegskulturerna och nummer på dessa

Surdegskultur	Innehåll
Råg	Finmalt rågmjöl och vatten
Råg med sötning	Finmalt rågmjöl, vatten och honung
Vete	Vetemjöl och vatten

Vete med sötning	Vetemjöl, vatten och honung
50/50	Vetemjöl, finmalt rågmjöl och vatten
50/50 med sötning	Vetemjöl, finmalt rågmjöl, vatten och honung
Kronjäst rågsurdeg	Vatten, fermenterat rågmjöl, xantangummi och salt
Kronjäst vetesurdeg	Vatten och fermenterat vetemjöl
Kultur med höga halter mjölk- och propionsyra (Kååå PM)	Indstriell surdegskultur från Kååå
Kultur med hög halt propionsyra (Kååå P)	Indstriell surdegskultur från Kååå

### 3.2 HPLC-analys av organiska syror

De frystorkade proven maldes inför HPLC-analys, varpå 0,50-0,55 g av proven vägdes upp i Falconrör. De organiska syrorna extraherades genom tillsatts av två glaskulor och 10 ml mQ-vatten, varefter proverna blandades i en genom vertikal rotation i en head-over-heel i 45 minuter. Proverna centrifugerades i 5 minuter (5000xg) och 1 ml av supernatanten fördes över till ett Eppendorfrör. Dessa centrifugerades sedan lika länge på samma inställning, varefter de späddes 1:10 med mQ-vatten. Varje prov extraherades i duplikat.

Organiska syror i surdegskulturerna, degarna och bröden analyserades kvalitativt och kvantitativt med HPLC. De organiska syrorna separerades på en "Rezex ROA-organic acid H<sup>+</sup>"-kolonn med måtten 300x7,80 mm vid 65 °C med 8 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> som mobilfas och detekterades med en UV-visdetektor vid 210 nm. Som referens användes en lösning innehållande 100 mg/l mjölksyra, ättiksyra och propionsyra, men även citronsyra, vinsyra, äppelsyra samt bärnstenssyra som inte undersöktes. Koncentration av respektive syra i proven beräknades utifrån medelvärdet av areorna i kromatogrammet. Beräkning av areor under kurvorna gjordes med programmet Jasco Chromnav.

Utöver proven analyserades standarder på 100 mg/l mjölksyra, 100 mg/l propionsyra, och en blandning av dessa, 100 mg/l av båda, i HPLC:n. Detta för att kontrollera utrustningens och provens stabilitet under körningstiden.

Utifrån resultaten från HPLC-analysen valdes fyra av surdegskulturerna ut baserat på sammansättningen av olika organiska syror samt halter av dessa. De valda kulturerna blev de osötade kulturerna av råg, vete, 50/50 samt den industriella kulturen med hög propionsyrainhalt (hädanefter kallade råg-, vete-, 50/50- respektive Kååå P-kultur). Dessa kulturer användes sedan för bakning av bröd.

### 3.3 Bakning av bröd

Bröden bakades på de tidigare analyserade surdegskulturerna råg, vete, 50/50 samt Kååå P beskrivna i tabell 1 som startades upp igen med 10 ml 60 °C vatten och sattes därefter

in i kyl. Dagen efter tillsattes 30 g mjöl och 50 g vatten till surdegskulturerna varefter de fick stå i rumstemperatur under tio timmar och sedan sattes in i kylskåp.

Surdegskulturerna vilade tre dagar i kylskåp och arbetades därefter upp till fördeg enligt ett reviderat recept av Johansson (2012). 50 g av varje surdegskultur blandades med vatten (ca 35 °C) (200 g till råg, 150 g till vete, 176 g till 50/50 samt 150 g till Kåå P). Därefter tillsattes 120 g rågmjöl till rågkulturen, 150 g vetemjöl till vete- och Kåå P-kulturerna samt 66 g av båda mjölen till 50/50-kulturen. Alla degarna blandades om varefter de fick stå i rumstemperatur i 10 timmar.

Samtliga surdegsbröd bakades enligt samma recept, innehållande 176 g fördeg, 500 g vetemjöl, 324 g vatten (37 °C) och 12 g salt. Efter att ingredienserna blandats fick respektive deg vila i 45 minuter i rumstemperatur. Degarna veks sedan för att få in luft och fick därefter vila i 30 minuter, en procedur som upprepades ytterligare en gång. De vikta degarna formades till bröd på mjölad bänk och fick vila i 30 minuter varefter de sattes att jäsa i kylskåp under 17 timmar.

Utöver surdegsbröden bakades ett referensbröd på endast 360 g vetemjöl, 228 g vatten (ca 35 °C), 6 g salt och 22 g jäst för att användas vid beräkning av hydrolytiskt index. Innan gräddning togs prov från alla degarna inför frystorkning. Samtliga bröd gräddades i ugn tills deras mitt hade en temperatur på 98 °C vilket resulterade i olika gräddningstider. Bröden fick vila en timme efter gräddning. Därefter skars de upp och en skiva frystorkades medan resterande skivor frystes.

### **3.4 Torrviktsbestämning**

På alla frystorkade prov utfördes en torrviktsbestämning. Detta för att en jämförelse skulle kunna göras av brödets vattenhalt under *in vitro* studien samt för att beräkna koncentrationer av syror. Prov om ca 2 g vägdes upp och torkades i en ugn (100 °C) i cirka elva timmar. Efter torkning sattes proverna i två vakuummexikatorer. Proverna vägdes och den torra vikten jämfördes med vikten innan torkning.

### **3.5 *In vitro* försök**

*In vitro* försök genomfördes med de bakade bröden, referens, råg, vete och 50/50. En testkörning genomfördes för att uppnå stabilitet i efterföljande *in vitro* försök. Fem replikat av referensbrödet, sex av rågbrödet, samt tre av respektive vete- och 50/50-brödet utfördes.

#### **3.5.1 Förberedelser**

Förberedelser inför försöken innebar preparering av elektrolyt (tabell 3, bilaga 1), DNS-reagens (tabell 4, bilaga 1), samt en PBS-lösning. En förtitrering utfördes där pH-värdet

i bröden analyserades för att rätt mängder saltsyra och natriumhydroxid skulle tillsättas till respektive prov senare under *in vitro* försöken. De frysta surdegsbröden maldes med kaffekvarn och två prov ( $0,8 \pm 0,01$  g/ prov) av varje bröd vägdes upp i provrör. Därefter tillsattes 5 ml elektrolytlösning till varje provrör och vortexades. Proven placerades sedan i en skakinkubator ( $37\text{ }^\circ\text{C}$ ), 200 rpm, i cirka 30 minuter. Uppmätning av pH-värdet i ett av provrören utfördes och 1 M saltsyra tillsattes till  $\text{pH } 4 \pm 0,1$ . Den tillsatta volymen noterades och processen med pH-mätningen samt tillsättning av saltsyra upprepades för alla prov. Därefter justerades pH-värdet till  $2 \pm 0,1$  med saltsyra och 4 ml elektrolyt tillsattes alla provrör, varefter pH-värdet korrigerades till  $7,0 \pm 0,1$  med 1 M natriumhydroxid.

Ytterligare förberedelser innebar uppvägning av 0,043 g pepsin och 0,10 g  $\alpha$ -amylas i ett 50 ml, respektive ett 12 ml Falconrör. Två prov ( $0,8 \pm 0,01$  g/prov) av varje malt bröd vägdes upp. Enzymen och brödproverna placerades sedan i en frys ( $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ). Dialysmembran, 20 cm långa, 16 mm i diameter och med porstorlek 12-14 000 kDa, kokades i vatten för att möjliggöra öppning av dessa. De sköljdes därefter noggrant in- och utvändigt med mQ-vatten och knöts i ena änden. Uppvägt  $\alpha$ -amylas spädades i 10 ml elektrolyt och pepsinet löstes upp i 25 ml elektrolyt, båda enzymen placerades sedan på is inför mag-tarmsteget i *in vitro* analysen.

En standardkurva för maltos förbereddes med hjälp av en spädningsserie från 0,0 mg/ml till 2,0 mg/ml med stegintervallet 0,25 mg/ml. Därefter tillsattes 1 ml DNS till varje prov som sedan kokades i 5 minuter och fick svalna på is. Absorbansen uppmättes sedan vid 540 nm och standardkurvan plottades.

### 3.5.2 Mag-tarmsteget

I magsteget tillsattes först 4,9 ml elektrolyt och proven justerades till pH 4 med 1 M saltsyra (tabell 5, bilaga 2), för exakta mängder saltsyra se tabell 5 i bilaga 2. Därefter tillsattes 100  $\mu\text{l}$  pepsinlösning och alla prov placerades i skakinkubator i 30 minuter. Sist i magsteget justerades pH till 2 med 1 M saltsyra (tabell 5, bilaga 2) och placerades i skakinkubatorn i ytterligare 30 minuter.

Tarmsteget inleddes med att 3,9 ml elektrolyt tillsattes till proven från magsteget, pH justerades till pH 7 med 1 M natriumhydroxid (tabell 6, bilaga 2) och 0,1 ml  $\alpha$ -amylaslösning tillsattes i proven. Provrörsinnehållet överfördes till dialysmembranen, tre glaskulor tillsattes och förslöts med knutar i båda ändar. Dialysmembranen lades sedan i varsin mörk E-kolv som fyllts med 90 ml PBS. Samtliga E-kolvar inkuberades i 300 minuter i vattenbadet. Var 30:e minut togs 1 ml prov från lösningen runt membranet i E-kolven och ersattes med 1 ml PBS. Proven som togs ut tillsattes i varsitt provrör, tillsammans med 1 ml DNS och 1 ml PBS. Provrören kokades därefter i 5 minuter, för att avstanna processen, och placerades sedan på is.

Från varje provrör togs två prov, med respektive 200  $\mu\text{l}$  och överfördes till en 96-brunnsplatta. Ett 200  $\mu\text{l}$  blankprov, innehållande 2 ml PBS och 1 ml DNS, samt ett

standardprov, innehållande 1 ml PBS, 1 ml maltoslösning och 1 ml DNS, överfördes till brunnsplattan. Absorbansen för proven mättes med en spektrofotometer vid 540 nm.

### 3.5.3 Beräkningar av resultat

Mängden maltos beräknades utifrån absorbansmätningen. Medelvärdena av absorbanserna för respektive dubblett av proven beräknades och absorbansen från blankprovet subtraherades bort. Maltoskoncentrationen för respektive bröd kunde tas fram med hjälp av standardkurvan och standardavvikelse beräknades. Vid beräkningen togs hänsyn till spädning.

Koncentrationernas medelvärden plottades mot tiden och en standardavvikelse beräknades för varje punkt. Arean under graferna uppskattades med hjälp av trapetsmetoden och medelareor beräknades för varje bröd tillsammans med standardavvikelse.

### 3.5.4 Statistisk analys

Signifikanta skillnader mellan medelareorna från stärkelsehydrolysen för respektive bröd undersöktes med ANOVA följt av Tukey's post-hoc test. Skillnaderna ansågs signifikanta då  $p < 0,05$ . Den statistiska analysen utfördes i programmet SPSS version 19.0 från IBM.

## 3.6 Hydrolytiskt index

Ett HI-värde beräknades för varje surdegsbröd från arean under hydrolyskurvan (0-180 minuter) som en procentandel av motsvarande area för referensbrödet, vilket har HI 100. Brödets HI jämfördes sedan med koncentrationerna av mjölksyra och ättiksyra för att undersöka ett eventuellt samband.

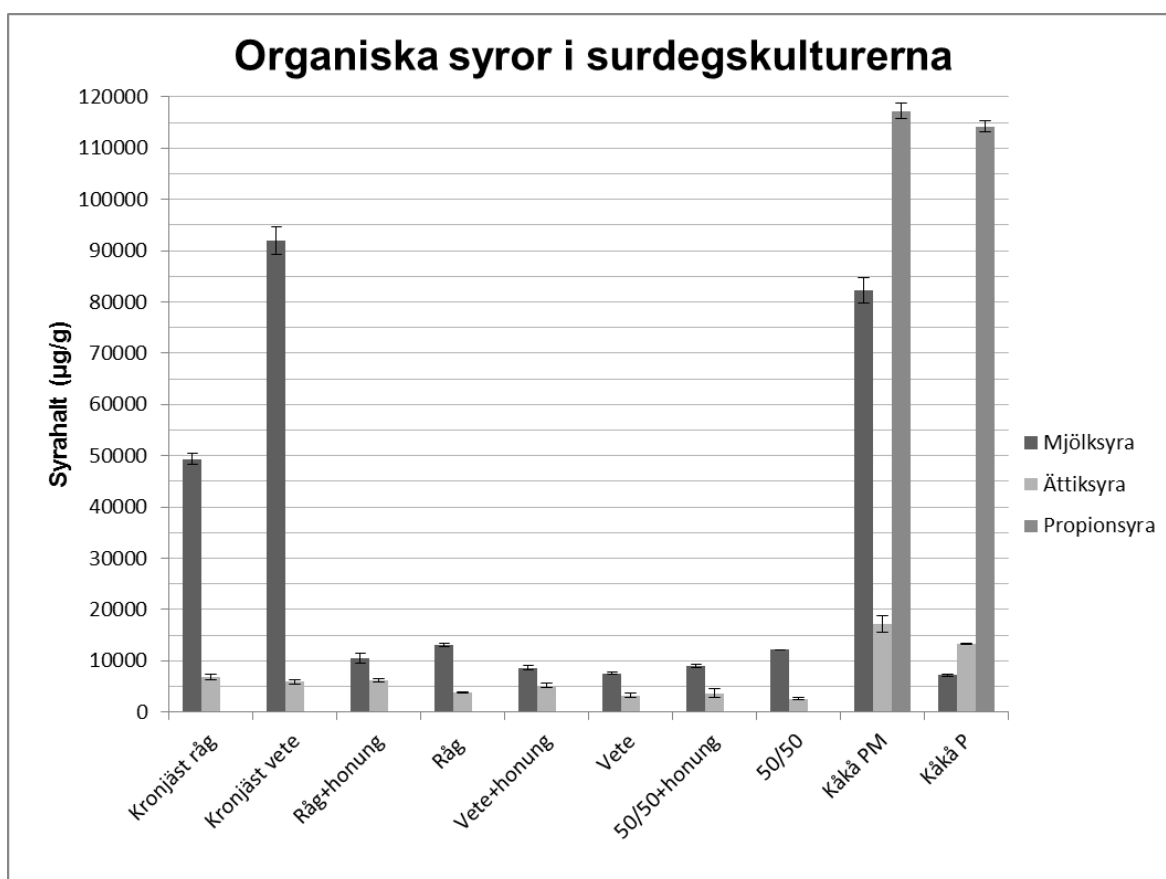
## 4 RESULTAT

Analysen av organiska syror i surdegskulturerna visade att kulturerna från Kronjäst och Kåå innehöll högre koncentrationer av mjölksyra och ättiksyra än de egentillverkade kulturerna. Propionsyra detekterades endast i kulturerna från Kåå. Koncentrationen av respektive mjölksyra och ättiksyra var likartad i råg-, vete- och 50/50-degen, samt i motsvarande bröd. Ingen mjölksyra påvisades i Kåå P-degen och brödet men däremot detekterades en hög halt av ättiksyra. Resultaten från *in vitro* analysen visade att hastigheten på stärkelsehydrolysen var lägre för surdegsbröden än för det vita referensbrödet. Rågbrödet var det surdegsbröd där stärkelsen bröts ned med högst hastighet, följt av vetebrödet och därefter 50/50-brödet. Tukey's post-hoc testet visade en

signifikant skillnad mellan referens- och 50/50-brödet. Bland surdegsbröden hade rågbrödet högst HI, följt av vetebrödet och lägst HI hade 50/50-brödet.

#### 4.1 Organiska syror i surdegskulturer, degar och bröd

Resultaten från HPLC-analysen av de organiska syrorna i suredegskulturerna, degarna och bröden presenteras i figur 1 och 2 och alla värden redovisas i bilaga 3. Alla resultat presenteras som medelvärden av de uppmätta koncentrationerna av respektive syra i surdegskulturerna, degarna och bröden. Inga syror detekterades i referensdegen och brödet. I figur 1 visas de uppmätta halterna av mjölksyra, ättiksyra och propionsyra ( $\mu\text{g/g}$ ) för respektive kultur. De högsta halterna av mjölksyra uppmättes i Kronjästkulturerna samt i Kååå PM-kulturen. Halterna av ättiksyra var lägre än halterna av mjölksyra i samtliga kulturer förutom i Kååå P-kulturen. Kulturerna från Kååå uppvisade högre halter av ättiksyra än övriga kulturer. Propionsyra uppmättes endast i de två kulturerna från Kååå.

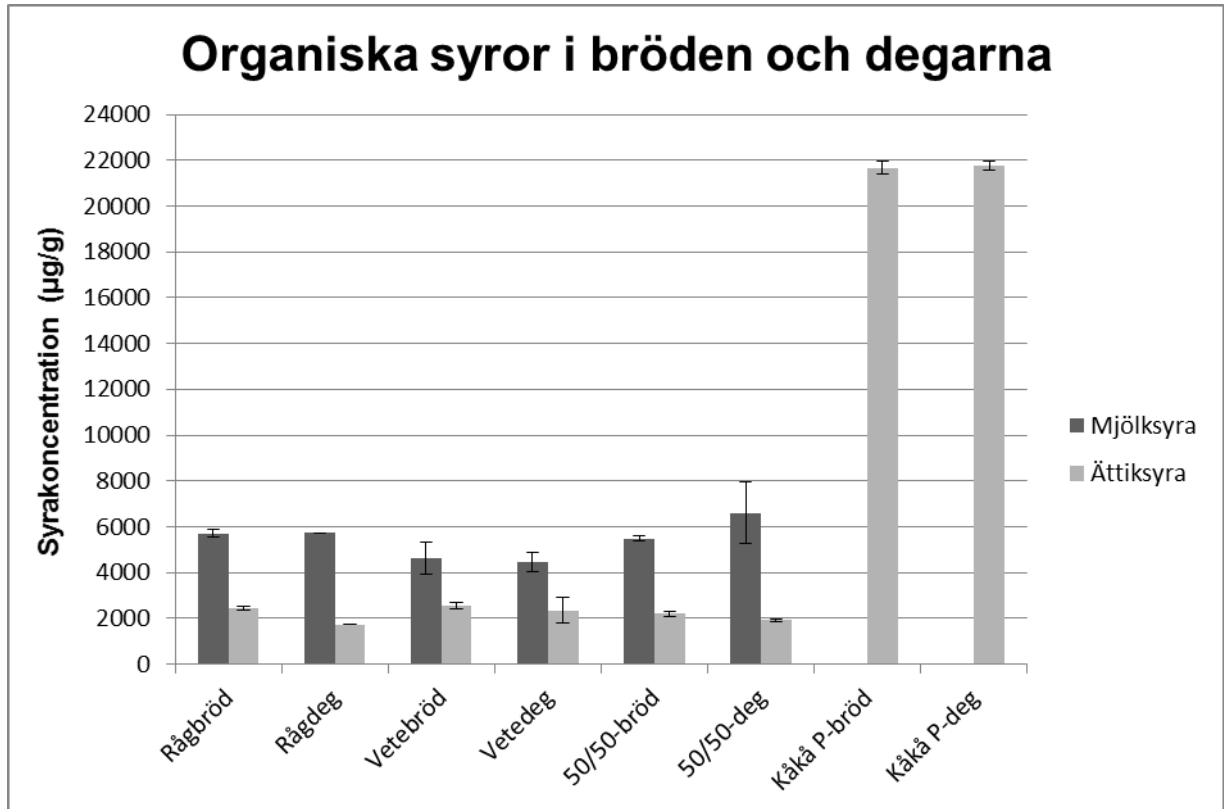


Figur 1. . Koncentrationerna av mjölksyra, ättiksyra och propionsyra i  $\mu\text{g}$  syra per g torrvekt av surdegskulturerna från Kronjäst, de egentillverkade samt kulturerna från Kååå.

I figur 2 presenteras de uppmätta halterna av mjölksyra och ättiksyra ( $\mu\text{g/g}$ ) i degarna och bröden. Koncentrationen av respektive mjölksyra och ättiksyra var snarlik i råg-, vete- och 50/50-degen och detsamma gällde för motsvarande bröd. I degen och brödet som



baserades på Kååkå P-kulturen uppmättes ingen koncentration av mjölksyra. Halterna av ättiksyra var däremot avsevärt högre i både Kååkå P-degen och brödet än i övriga degar och bröd. Det förekom endast små skillnader i syrahalter mellan degarna och deras motsvarande bröd.



Figur 2. Visar halterna av mjölksyra och ättiksyra i µg syra per g torr vikt av respektive deg och surdegsbröd grundade på råg-, vete-, 50/50- samt Kååkå P-kulturerna.

## 4.2 Torrviktsbestämning och vattenhalt

I tabell 2 presenteras vattenhalterna (vikt-%) i de frystorkade surdegskulturerna, degarna och bröden, som beräknats utifrån torrviktsbestämningen. Tabell 2 visar även de beräknade vattenhalterna (vikt-%) i de färska referens-, råg-, vete- och 50/50-bröden. Vattenhalterna i samtliga frystorkade surdegskulturerna låg under 6 % förutom vattenhalten i vetekulturen från Kronjäst, vilken var cirka 12 %. De beräknade vattenhalterna blev negativa för fyra av de frystorkade degarna, då de uppmätta vikterna var felaktiga. I de frystorkade bröden låg vattenhalten under 3 % och i de färska bröden var vattenhalten cirka 42 %.

Tabell 2. Beräknad vattenhalt (vikt-%) i de frystorkade surdegskulturerna, degarna och bröden, samt i de färska bröden.

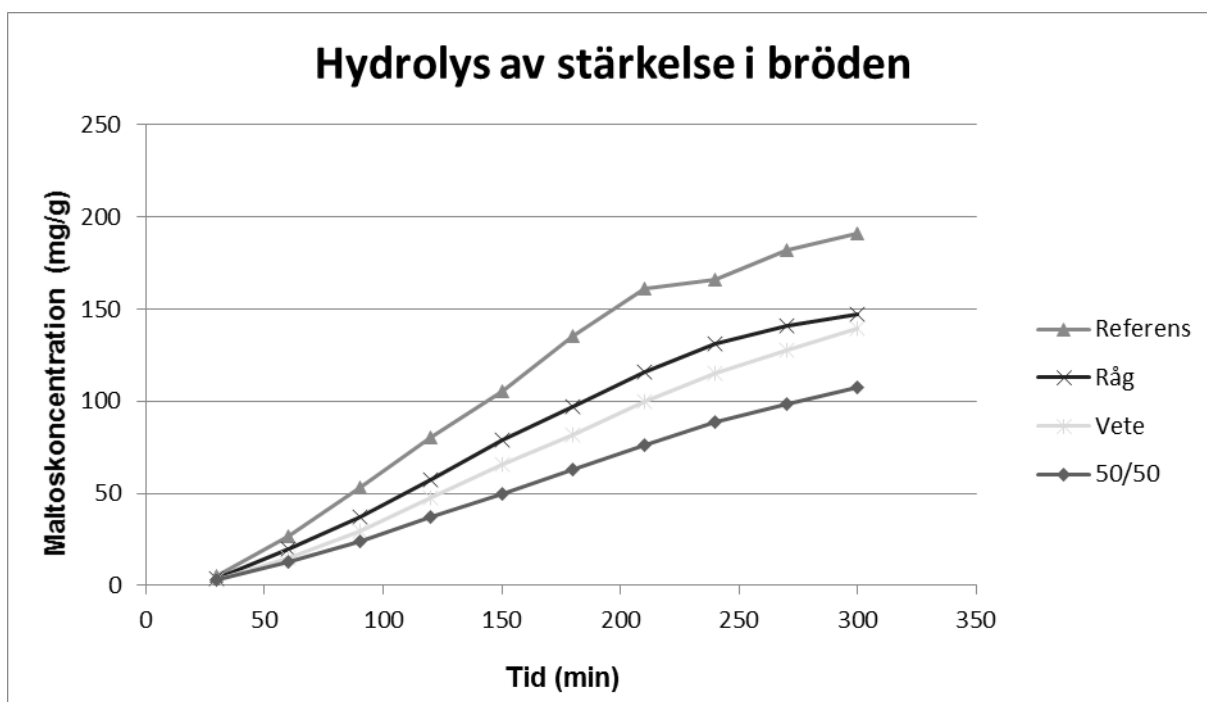
Frystorkade surdegskultur	Vattenhalt [vikt-%]
Kronjäst råg	4,98

Kronjäst vete	12,43
Råg	3,58
Råg med honung	3,34
Vete	2,45
Vete med honung	4,12
Vete med honung	3,44
50/50	2,66
50/50 med honung	3,46
50/50 med honung	3,34
Kååå PM	5,56
Kååå P	4,62
<b>Frystorkade degar</b>	<b>Vattenhalt [vikt-%]</b>
Referens	-0,24
Råg	-0,23
Vete	-0,52
50/50	1,57
Kååå P	-0,51
<b>Frystorkade bröd</b>	<b>Vattenhalt [vikt-%]</b>
Referens	0,36
Råg	0,24
Vete	1,07
50/50	0,99
Kååå P	2,05
<b>Färska bröd</b>	<b>Vattenhalt [vikt-%]</b>
<b>Referens</b>	41,36
<b>Råg</b>	41,57
<b>Vete</b>	42,08
<b>50/50</b>	41,40

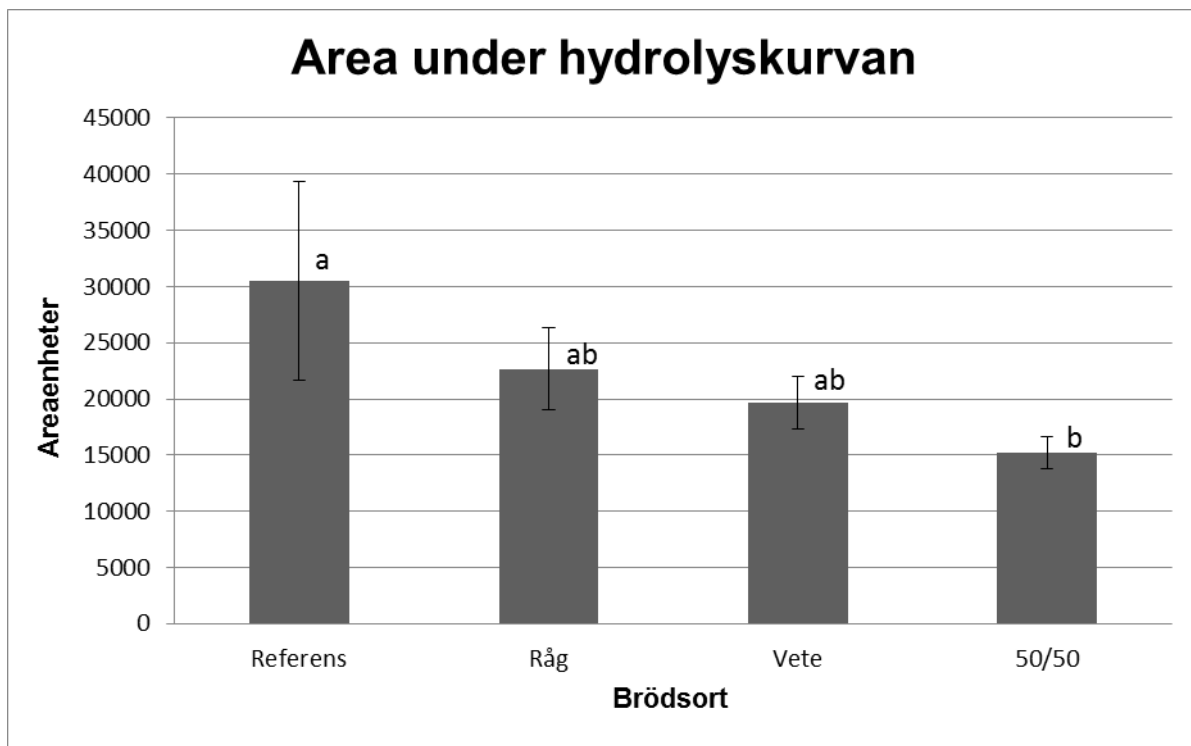
### 4.3 Stärkelsehydrolys i *in vitro* försöken med statistisk analys

Resultat över tillsatta mängder saltsyra och natriumhydroxid från förtitreringen som användes för pH-justering i *in vitro* försöken återfinns i tabell 5 och 6 i bilaga 2. Frisläppningen av maltos under 300 minuter av digestionen av bröden beräknades med hjälp av standardkurvan (figur 6, bilaga 4) och de uppmätta absorbanserna i *in vitro* försöken. Absorbanserna och maltoskoncentrationerna från varje *in vitro* försök återfinns i tabell 11-14 i bilaga 5. *In vitro* resultaten för respektive bröd presenteras i figur 7-10 i bilaga 5. En av de beräknade maltoskoncentrationerna, för ett av *in vitro* försöken med referensbrödet, var avvikande på grund av att absorbansen uppmätts på fel prov (figur 7, bilaga 5). Detta värde bortsågs från vid sammanställningen av resultaten.

De sammanställda resultaten av stärkelsehydrolysen i *in vitro* försöken presenteras i figur 3 och 4. Nedan visas maltoskoncentrationerna (mg/g) för var 30:e minut under tiden 0-300 minuter för referens-, råg-, vete- och 50/50-brödet (figur 3). Hastigheten på stärkelsehydrolysen var lägre för surdegsbröden än för det vita referensbrödet. Rågbrödet var det surdegsbröd där stärkelsen bröts ned med högst hastighet, följt av vetebrödet och därefter 50/50-brödet. Arean under hydrolyskurvan i figur 3 med tillhörande standardavvikelse för respektive bröd visas i figur 4. Referensbrödet hade störst area under hydrolyskurvan, följt av rågbrödet, vetebrödet och därefter 50/50-brödet. Alla resultat presenteras som medelvärden av de olika *in vitro* försöken för respektive bröd. Den statistiska analysen vilken genomfördes med Tukey's post-hoc test, visade endast en signifikant skillnad mellan referens- och 50/50-brödet (figur 4). Dock fanns en trend mot signifikant skillnad mellan referens- och vetebrödet. Se bilaga 6 för detaljerad analys.



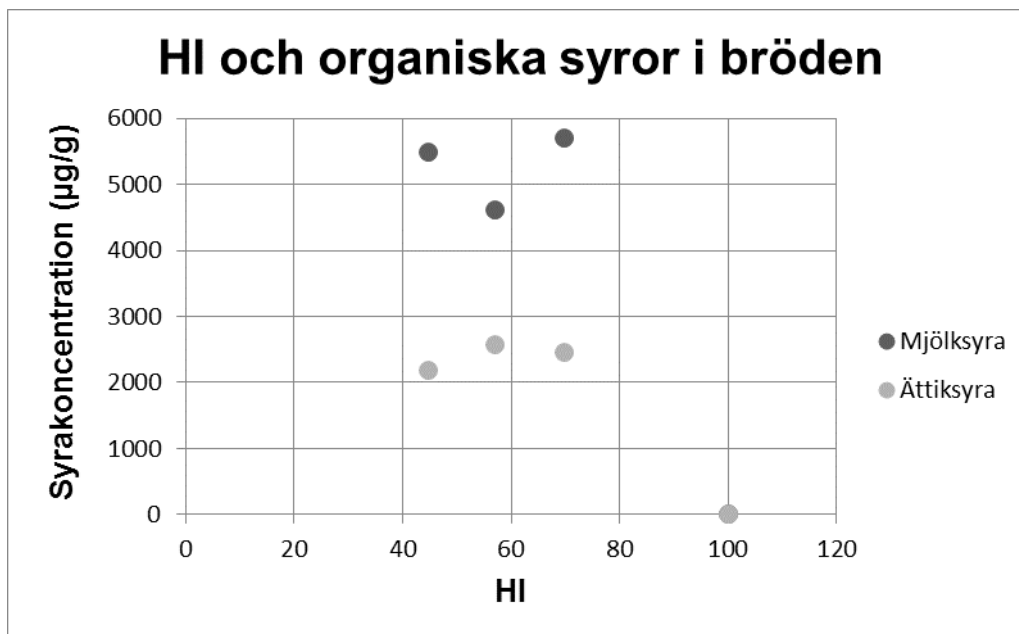
Figur 3. Mängden utsöndrad maltos i mg per g bröd som uppmätts var 30:e minut under tiden 0-300 minuter för referens-, råg-, vete- och 50/50-brödet. Felstaplar presenteras som standardavvikelser för maltoskoncentrationerna som uppmätts var 30:e minut.



Figur 4. Areal under hydrolyskurvan för referens-, råg-, vete- och 50/50-bröden med felstaplar presenterade som standardavvikelser. Bröd med olika bokstäver är signifikant olika enligt Tukey's post-hoc testet.

#### 4.4 Hydrolytiskt index och organiska syror i bröden

HI-värdet beräknades till 69,7 för rågbrödet, 57,0 för vetebrödet och 44,8 för 50/50-brödet med hjälp av arean under hydrolyskurvan för respektive bröd (figur 3). Referensbrödets HI var satt till 100. Förhållandet mellan de beräknade HI-värdena och koncentrationen av mjölksyra och ättiksyra i referens-, råg-, vete- och 50/50-brödet presenteras i figur 5. Endast en liten skillnad förekom mellan syrahalterna i surdegsbröden medan HI-värdena uppvisade en större variation. I referensbrödet, som hade högst HI, förekom varken mjölksyra eller ättiksyra.



Figur 5. Koncentrationen av mjölksyra och ättiksyra i förhållande till HI-värdet för respektive bröd, där vertikalt linjerade punkter tillhör samma bröd. Från vänster på x-axeln: 50/50-, vete-, råg- och referensbrödet. Varken mjölksyra eller ättiksyra förekom i referensbrödet.

## 5 DISKUSSION

Av de tio startade surdegskulturerna valdes fyra ut baserat på förekomsten av olika organiska syror, samt halterna av dessa. Därmed valdes råg-, vete-, 50/50- samt Kåkå P-kulturerna för vidare analys. Resultatet från *in vitro* försöken stämde inte överens med tidigare studier. Jämförelser mellan beräknade HI och halter av de organiska syror visade ingen korrelation, vilket troligtvis orsakats av felkällor under försöken.

### 5.1 Från surdegskultur till bröd

Då de egenproducerade surdegskulturerna utsatts för olika miljöer under uppstartsfasen, skulle detta kunna medföra variation i egenskaper. Temperaturen är en faktor som varierat för de olika kulturerna, vilket troligtvis påverkat aktiviteten hos mikroorganismerna och därmed produktionen av organiska syror. Bortsett från de olika uppstartsmiljöerna, kan eventuell artdiversitet bero på att de inhandlade mjölen troligtvis baserats på spannmål som odlats på olika platser.

En annan faktor som troligen varierar mellan de egentillverkade kulturerna är mängderna som tillsatts under uppstartsfasen, då dessa mättes med mått istället för att vägas. Detta skulle kunna innebära skillnad i förutsättningar för kulturerna och därmed påverka aktiviteten. Strukturella skillnader mellan rågmjöl och vetemjöl gör att de olika surdegskulturerna kräver olika mängd vatten per gram mjöl för att resultera i likartad

konsistens. Vid uppstarten av kulturerna användes dock samma vattenmängd till alla kulturer, vilket resulterade i att vetekulturerna fick en mer lättflytande konsistens. Då alla kulturer ansågs vara aktiva efter uppstartsfasen bör dock skillnaden i konsistens mellan kulturerna inte haft en negativ påverkan.

Vattentillsatsen vid blötläggningen hade en hög temperatur om 60 °C, vilket kan vara skadligt för mikroorganismerna under längre tid, men krävs för att aktivera de sporer mikroorganismerna bildat för att överleva frystorkningen (Madigan *et al.*, 2012). De egentillverkade surdegskulturerna återfick efter hand god aktivitet, vilket tyder på att vattentemperaturen och frystorkningen inte påverkat kulturen negativt. Hur Kååå P-kulturen klarat dessa påfrestningar var svårare att avgöra då egenskaper som lukt och konsistens tycktes skilja sig markant från de egentillverkade.

Fördegarna framställdes med samma mjölsort som i kulturen, för att om möjligt förstärka effekten av de ursprungliga sammansättningarna senare i bröden. Kååå P-fördegen förbereddes med vetemjöl då ingen information om ursprungsinnehåll fanns tillgänglig. Detta kan ha medfört en utspädning av Kååå P-kulturens egenskaper, vilket gör det svårare att avgöra hur kulturens sammansättning faktiskt påverkat brödet. Fördegarna utgjorde endast en mindre del i brödegarna och därmed även i det slutliga bröden. Detta medför att effekten av kulturen i sig blivit förminskad och därför inte givit ett lika tydligt resultat som om hela bröden istället bakats med samma mjöl som kulturen.

Brödreceptet (Johansson, 2012) reviderades utefter en tillsats av 500 g vetemjöl per deg, för att ge ett bröd istället för två. För att spara tid, togs en vikning av degen bort och jästiden förkortades med en timme. Detta kan ha medfört att fermenteringen av degen inte fått pågå tillräckligt länge i rumstemperatur och har i så fall resulterat i lägre halter av organiska syror. Jästiden i kylskåp förlängdes med 5 timmar utifrån grundreceptet, vilket till viss del kan ha vägt upp för den kortare jäsningen i rumstemperatur. Att gräddningstiden varierade mellan bröden beror antagligen på att jäsningförmågan skiljt sig mellan bröden, vilket gjorde dem olika kompakta. Gräddningstiden anses inte ha påverkat resultatet eftersom alla bröden nådde samma innertemperatur.

Slutligen bör nämnas att studiens tillförlitlighet inte är optimal eftersom endast ett bröd bakats från varje surdegskultur. Detta innebär att skillnader i brödegenskaper är svåra att säkerställa eftersom det enbart finns ett bröd av varje sort. I en studie med mer resurser och tid skulle det därför vara passande att utöka antalet bröd per kultur, och kanske även antalet kulturer.

## **5.2 Syraanalys av surdegskultur, deg och bröd**

Analysen av organiska syror i surdegskulturerna utfördes för att kunna selektera ut kulturer med varierande halter av ättiksyra, mjölksyra och propionsyra. Detta resulterade i de fyra valda kulturerna, råg, vete, 50/50 och Kååå P, vars syrahalter presenteras i figur 1. Vetekulturen hade låga halter av mjölksyra och ättiksyra, vilket ansågs vara

representativt för att ge ett bröd med låg syrahalt. 50/50-kulturen uppvisade låg halt av ättiksyra och hög halt av mjölksyra, samt var den kultur som visade störst skillnad mellan syrahalterna. Detta ansågs vara ett bra underlag för fortsatta studier. Rågkulturen uppvisade också stor skillnad mellan halterna av mjölksyra och ättiksyra, där mjölksyrhalten var den högst uppmätta bland de egentillverkade kulturerna. Den höga mjölksyrhaltenens möjliga inverkan på stärkelsehydrolysen ansågs relevant att undersöka. De sötade surdegskulturerna uppvisade högre halter av ättiksyra, men ansågs inte ha tillräckligt utmärkande halter av syror i jämförelse med de osötade och valdes därför successivt bort under beslutsprocessen.

De två kulturerna från Kåå var de enda som innehöll halter av propionsyra. Eftersom Kåå PM-kulturen även hade en hög mjölksyrhalt, valdes istället Kåå P-kulturen för att kunna isolera effekten av enbart propionsyra. Kronjästkulturerna hade troligen stått tillslutna i butik en längre tid innan förekomsten av syror analyserades. Mjölksyrabakterierna i kulturerna hade därför troligtvis tagit överhanden, vilket resulterade i att kulturerna uppvisade väldigt höga mjölksyrhalter i jämförelse med de egenproducerade. Mikroorganismerna i Kronjästkulturerna skulle även kunna vara modifierade eller odlats under väldigt specifika förhållanden, vilket också kan ha påverkat resultatet. Då dessa kulturer troligtvis hade utmärkande lågt pH valdes de därför bort, då de skulle kräva extra tid för att startas upp och återhämta sig innan de skulle gå att baka på.

I resultatet från syraanalysen av degarna och bröden, vars resultat finns i figur 2, framgår att syrahalterna i bröd och degar från egentillverkade kulturer innehåller likartade halter av syror. Detta kan vara en effekt av att varje fördeg endast är en mindre del av degen och brödet, vilket minskar skillnaderna mellan bröden. Från figur 2 framgår även att en del syrahalter ökat något i bröden jämfört med respektive deg. Detta kan bero på att de brödskivor som frystorkats till syraanalysen kom från mitten av varje bröd, där den önskade temperaturen (98 °C) uppnås sist i hela brödet. Enligt Thomas Andlid har mikroorganismerna därmed överlevt längre och kunnat fortsätta fermenteringen tills den letala temperaturen uppnåtts även i brödets mitt. Att varken degen eller brödet av Kåå P innehöll propionsyra kan bero på att de varit frysta för länge eller frystorkades på ett sådant sätt att mikroorganismerna i kulturen ej överlevt. En annan teori är att Kåå P-kulturen måste hållas under specifika förhållanden för att produktion av propionsyra överhuvudtaget ska ske. När kulturen startades upp och hölls under de förhållanden som den här studien kunde erbjuda resulterade troligtvis produktionen istället i ättiksyra. Eftersom Kåå P-brödet inte längre innehöll propionsyra beslutades att inte utföra *in vitro* försök på detta bröd.

Resultatet från torrviktsbestämningen i tabell 2 visade att vattenhalten i surdegskulturerna var under 6 %, vilket ansågs lågt och påverkan på syraanalysen är därmed inte trolig. Vetekulturen från Kronjäst hade en vattenhalt på 12 %, vilket var ytterligare en anledning till att den inte valdes ut för vidare analys. De frystorkade degarna uppvisade i fyra av

fem fall negativa vattenhalter, eftersom de vägde mer efter torkningen. Denna felkälla skulle kunna bero antingen på den använda vågen, vakuumsäckatorerna, eller sannolikt båda. Vågen har varit en faktor som övergripande påverkat det slutliga resultatet, samt medfört osäkerhet då små skillnader i vikt skulle mätas upp. En av de två exsäckatorerna klarade inte att upprätthålla lågt tryck, vilket troligen medfört att proven absorberat fukt från omgivningen och följaktligen ökat i vikt efter torkningen. Vattenhalterna för alla analyserade prov ansågs låga, varför inga korrigeringar av syrakoncentrationerna behövde göras.

### 5.3 *In vitro* försök och hydrolytiskt index

*In vitro* metoden användes för att undersöka och jämföra stärkelsehydrolysen av de färska surdegsbröden, råg, vete och 50/50, samt ett vitt referensbröd. Figur 3 visar att stärkelsehydrolysen var långsammare i surdegsbröden än i det vita referensbrödet, i enlighet med tidigare studier (Jenkins et al, 1986; De Angelis, 2009). Tidigare studier har även visat att stärkelsen i rågbröd bryts ned långsammare än stärkelsen i vetebröd (Jenkins et al., 1986; Foster-Powell et al., 2002). Dock stämde detta inte överens med resultaten i den här studien där istället stärkelsen i rågbrödet bröts ned snabbare än stärkelsen i vetebrödet (figur 3). Hastigheten på stärkelsehydrolysen i rågbröd kan bero på andelen rågmjöl i de analyserade bröden. I den här studien används endast en liten andel rågmjöl i surdegsbröden, medan en större andel används i de tidigare studierna.

Tuggningen simulerades genom malning med kaffekvarn, men ingen standardisering av partikelstorlek gjorde. Detta kan ha medfört att stärkelsen inte kunde brytas ned av  $\alpha$ -amylas med samma hastighet i alla bröd, på grund av att stärkelsen inte var lika tillgänglig. I kroppen initieras nedbrytning av stärkelse av  $\alpha$ -amylas från saliven. En del *in vitro* modeller som använts i tidigare studier inkluderar tuggning av testprodukterna innan inkubation med pepsin och  $\alpha$ -amylas från pancreas (Granfeldt, et al., 1992; Åkerberg, et al., 1998b). Dock simulerades ej den initiala stärkelsenedbrytningen i den *in vitro* modell som användes i den här studien. Hastigheten på stärkelsehydrolysen hade därmed varit något högre om tuggning hade används för att efterlikna matspjälkningen i kroppen. Då endast en liten del av stärkelsen bryts ned i munsteget (Jackson och McLaughlin, 2009) borde dock inte resultaten påverkats avsevärt.

I *in vitro* modellen simuleras varje del av mag-tarmkanalen under en bestämd tid. Därmed tar inte *in vitro* modellen hänsyn till att hastigheten på magtömningen kan variera i kroppen, vilket medför att resultaten från stärkelsehydrolysen inte speglar den faktiska nedbrytningen. Torrviksanalysen visade att vattenhalten i samtliga bröd var cirka 42 %, varför inga korrigeringar av *in vitro* beräkningarna behövde göras. *In vitro* modellen kan endast undersöka hur stärkelsehydrolysen påverkas då bröden inkuberas vid bestämda pH-förhållanden, samt närvaro av enzymen pepsin och  $\alpha$ -amylas. Ingen hänsyn tas därmed till bland annat fysiologiska effekter, så som hormonpåverkan.



Som tidigare diskuterats stämmer inte resultaten från stärkelsehydrolysen i den här studien med tidigare studier. Detta kan bero på felaktigt tillsatta mängder saltsyra och natriumhydroxid under *in vitro* analysen av referens-, råg-, vete- och 50/50-brödet, på grund av flertalet beräkningsfel vid förtitreringen. Resultaten från stärkelsehydrolysen kan dock ha påverkats olika mycket, då beräkningsfelen skiljde sig åt mellan alla bröd. De felaktiga tillsatserna kan ha bidragit till nedsatt enzymaktivitet, då optimalt pH eventuellt inte uppnåts. Detta kan ha medfört långsammare nedbrytning av stärkelsen. Troligvis var felet större för vete- och 50/50-brödet eftersom stärkelsen i dessa bröd, enligt Foster-Powell *et al.* (2002) och Jenkins *et al.* (1986), borde ha brutits ned snabbare än stärkelsen i rågbrödet.

Referens-, råg-, vete- och 50/50-brödet analyserades olika antal gånger med *in vitro* metoden (tabell 11-14, bilaga 5). Fem och ett halvt replikat av referensbrödet (då ett prov spilldes ut), sex av rågbrödet och tre replikat vardera av vete- och 50/50-brödet analyserades. Då vete- och 50/50-brödet analyserades ett färre antal gånger än referens- och rågbrödet är resultaten från *in vitro* analysen av dessa mindre tillförlitliga. Dock var standardavvikelsen liten för de tre replikaten av både vete- och 50/50-brödet i *in vitro* analysen, vilket tyder på att resultaten är mer trovärdiga. Fler antal replikationer utfördes av referens- och rågbrödet, på grund av att standardavvikelsen var mycket större i jämförelse med resultaten från vete- och 50/50-brödens *in vitro* analys.

Standardavvikelseerna för areorna under respektive bröds hydrolyskurva (figur 4), visade en signifikant skillnad då 50/50-brödet jämfördes med referens-, råg- och vetebrödet. Inga andra signifikanta skillnader fanns mellan bröden. Den statistiska analysen, vilken gjordes med ett post-hoc test, visade endast en signifikant skillnad mellan referensbrödet och 50/50-brödet (figur 4). Dock förekom en trend mot signifikant skillnad mellan referensbrödet och vetebrödet (tabell 16, bilaga 6). Då hastigheten på stärkelsehydrolysen var avsevärt högre för referensbrödet jämfört med hastigheten för respektive surdegsbröd, borde en signifikant skillnad förekommit mellan dessa. Detta påvisades inte eftersom standardavvikelsen för referensbrödet var mycket stor som tidigare nämnts.

HI-värdena för bröden bygger på arean under hydrolyskurvan för respektive surdegsbröd samt arean för referensbrödet (figur 4). De beräknade HI-värdena var markant lägre för surdegsbröden än för det vita referensbrödet (HI 100), vilket överensstämmer med tidigare studier (De Angelis, 2009). Arean under hydrolyskurvan och HI-värdet (44,8) var lägst för 50/50-brödet. Rågbrödet var det surdegsbröd som hade störst area under hydrolyskurvan vilket resulterade i HI-värdet 69,7. Vetebrödet hamnade mellan 50/50-brödet och rågbrödet, med HI-värdet 57,0. Detta indikerar att stärkelsen i rågbrödet har brutits ned snabbare än stärkelsen i vetebrödet, samt att den långsammaste nedbrytningen skett i 50/50-brödet. Som tidigare diskuterats har Foster-Powell *et al.* (2002) och Jenkins *et al.* (1986) påvisat att nedbrytningen av stärkelse i rågbröd sker långsammare än i vetebröd. I den här studien borde därmed arean under hydrolyskurvan varit störst för

vetebrödet, följt av 50/50-brödet och till sist rågrödet. Vetebrödet skulle därmed få högst HI och rågrödet lägst.

För att korrelera halterna av mjölksyra och ättiksyra i de bakade bröden med hastigheten av stärkelsehydrolysen från *in vitro* analysen, plottades syrahalterna i varje bröd mot brödets HI-värden (figur 5). Referensbrödet innehöll varken mjölksyra eller ättiksyra och hade avsevärt högre HI än surdegsbröden, vilket tyder på att syrorna medför ett lägre HI. Surdegsbrödets HI-värden uppvisade stor variation, trots att syrahalterna var likartade. Det är därför svårt att avgöra hurvida syrorna påverkar stärkelsehydrolysen och därmed HI.

Inget tydligt samband går att se mellan koncentrationen av mjölksyra och HI för respektive bröd (figur 5). Det framkommer inte heller något samband mellan halterna av ättiksyra och HI. Att inga tydliga samband finns, kan bero på att surdegsbrödets HI troligtvis inte var korrekta. En koppling går däremot att se mellan halterna av mjölksyra och tidigare resultat från Foster-Powell (2002), vilka tyder på att vetebrödet borde ha det högsta HI-värdet bland surdegsbröden, följt av 50/50- och rågrödet. I den här studien hade vetebrödet den lägsta uppmätta halten av mjölksyra, rågrödet den högsta halten och 50/50-brödet låg däremellan. Dessa resultat indikerar att mjölksyran bidrar till att sänka hastigheten på stärkelsehydrolysen, vilket även visats av Liljeberg *et al.* (1995), och anses bero på att mjölksyran har en inhiberande inverkan på de enzymer som deltar i stärkelsehydrolysen. Ättiksyra har visat sig ge en lägre hastighet på magtömningen, vilket bidrar till en jämnare nedbrytning av stärkelse i tarmen (Liljeberg och Björck, 1998). Att inget samband förekommer mellan koncentrationerna av ättiksyra och HI-värdena, kan därför bero på att magtömningen inte simuleras i *in vitro* försöken.

Ett livsmedels hydrolytiska index ger en bra uppskattning av det glykemiska indexet, då det finns en signifikant korrelation mellan HI och GI (Granfeldt *et al.*, 1992; Granfeldt *et al.*, 1994; Goñi *et al.*, 1997; Hettiaratchi *et al.*, 2012). Då HI för surdegsbröden var lägre än HI för referensbrödet, borde även GI vara lägre för surdegsbröden än GI för referensbrödet. Resultaten från den här studien indikerar därmed att surdegsbröd har en lägre inverkan på blodsockret, än vitt bröd bakat på vetemjöl och jäst. Detta innebär att surdegsbröd är ett hälsosammare kostalternativ än vitt bröd, vilket skulle kunna bidra till att förebygga fysisk ohälsa i dagens samhälle genom ett minskat intag av lättillgängliga sockerarter.

## 5.4 Slutsats

Studien visar att förekomsten av mjölksyra och ättiksyra i bröd bidrar till minskad hastighet på stärkelsehydrolysen och ett lägre HI. Därmed medför surdegsbröd lägre HI än bröd bakat på vetemjöl och bagerijäst. Studien visar att rågsurdegsbröd ger ett högre HI än vetesurdegsbröd och bröd bakat på 50/50-kultur, vilket går emot resultat i tidigare studier. En korrelation mellan mjölksyrahalterna i de analyserade bröden och HI från

tidigare studier kan utläsas, där en hög koncentration av mjölksyra bidrar till ett lågt HI. Eftersom ingen propionsyra förekom i något utav bröden kunde syrans inverkan på HI inte undersökas.

## REFERENSER

- Avena, N. M., Long, K. A. och Hoebel, B. G. (2005) Sugar-dependent rats show enhanced responding for sugar after abstinence: Evidence of sugar deprivation effect. *Physiology & Behavior*, vol. 84, ss. 359-362
- Brennan, C. och Tudorica, C. (2008) Evaluation of potential mechanisms by which dietary fibre additions reduce the predicted glycaemic index of fresh pastas. *International journal of food science & technology*, vol. 43, nr 12, ss. 2151-2162.
- Cappelle, S. *et al.* (2013) History and Social Aspects of Sourdough. I *Handbook on Sourdough Biotechnology*, red. M. Gobbetti, M. Gänzle, ss. 1-10. New York: Springer
- Corsetti, A. (2013) Technology of Sourdough Fermentation and Sourdough Applications. I *Handbook on Sourdough Biotechnology*, red. M. Gobbetti, M. Gänzle, ss. 85-103. New York: Springer
- Corsetti, A. och Settanni, L. (2007) Lactobacilli in Sourdough Fermentation. *Food Research International*, vol. 40, ss. 539-558.
- De Angelis, M., *et al.* (2009) Sourdough fermentation as a tool for the manufacture of low glycemic index white wheat bread enriched in dietary fibre. *European Food Research and Technology*, vol. 229, nr 4, ss. 599-600.
- Erlanson-Albertsson, C. (2005) Socker trigger våra belöningssystem, *Läkartidningen*, vol. 102, nr. 21, ss. 1620-1627.
- Foster-Powell, K., Holt, S. H. A. och Brand-Miller, J. C. (2002) International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 76, nr 1, ss. 5-56.
- Goñi, I., Garcia-Alonso, A. och Saura-Calixto, F. (1997) A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, vol. 17, nr 3, ss. 427-437.
- Granfeldt, Y., *et al.* (1992) An *in vitro* procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legumeproducts. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 46, nr 9, ss. 649-660.
- Granfeldt, Y., *et al.* (1994) Glucose and insulin responses to barley products: influence of food structure and amylose-amylopectin ratio. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 59, nr 5, ss. 1075-1082.
- Guh, D. P., *et al.* (2009) The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*, vol. 9, nr 88.
- Gänzle, M., Gobbetti, M. (2013) Perspectives. I *Handbook on Sourdough Biotechnology*, red. M. Gobbetti, M. Gänzle, ss. 279-285. New York: Springer
- Hallström, B. (2014) Frystorkning. I *Nationalencyklopedin*. <http://www.ne.se/lang/frystorkning> (2014-04-15)

- Hettiaratchi, U. P. K, Ekanayake, S. och Welihinda, J. (2012) Prediction of glycaemic indices (GI) of meals by starch hydrolysis indices. *International Food Research Journal*, vol. 19, nr 3, ss. 1153-1159.
- Hinsberger, A. och Sandhu, B. K. (2004) Digestion and absorption. *Current Paediatrics*, vol. 14, nr 7, ss. 605-611.
- Huys, G., Daniel, H.M. och Vuyst, L.D. (2013) Taxonomy and Biodiversity of Sourdough Yeast and Lactic Acid Bacteria. I *Handbook on Sourdough Biotechnology*, red. M. Gobbetti, M. Gänzle, ss. 105-154. New York: Springer
- Jackson, A. D. och McLaughlin, J. (2009) Digestion and absorption. *Surgery*, vol. 27, nr 6, ss. 231-236.
- Jenkins, D. J. A., *et al.* (1981) Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 34, nr 3, ss. 362-366.
- Jenkins, D. J. A., *et al.* (1982). Relationship between rate of digestion of foods and post-prandial glycaemia. *Diabetologia*, 22(6), pp.450--455.
- Jenkins, D. J. A., *et al.* (1986). Low Glycemic Response to Traditionally Processed Wheat and Rye Products: Bulgur and Pumpernickel Bread. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 43, nr 4, ss. 516-520.
- Johansson, M. (2010) Lilla surdegsskolan. *Pain de Martin*, <http://paindemartin.blogspot.se/2010/12/lilla-surdegsskolan-borjar-nu.html>, (2014-02-04).
- Johansson, M. (2012) *Bröd och Pizza*. Stockholm: Natur och Kultur
- Josephsen, J. och Jespersen, L. (2004) Starter Cultures and Fermented Products. I *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, red. Y. H. Hui, *et al.*, Chapter 3. Danvers: CRC Press
- Levin, R. J. (1994) Digestion and absorption of carbohydrates – from molecules and membranes to humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 59, nr 3, ss. 690-698.
- Liljeberg, H., Björck, I. (1998). Delayed Gastric Emptying Rate may Explain Improved Glycaemia in Healthy Subjects to a Starchy Meal with Added Vinegar. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 52, nr 5, ss. 368-371.
- Liljeberg, H., Lönner, C. H. och Björck, I. (1995). Sourdough Fermentation or Addition of Organic Acids or Corresponding Salts to Bread Improves Nutritional Properties of Starch in Healthy Humans. *Journal of Nutrition*, vol. 125, nr 6, ss. 1503-1511.
- Madigan, M. *et al.* (2012) *Brock Biology of Microorganisms*. Thirteenth Edition. San Francisco: Pearson Education.
- Martinez-Villaluenga, C., *et al.* (2009) Effect of flour extraction rate and baking on thiamine and riboflavin content and antioxidant capacity of traditional rye bread. *Journal of Food Science*, vol. 74, nr 1, ss. 49-55.
- Mathews, C. K., *et al.* (2013) *Biochemistry*. 4. uppl. Don Mills: Pearson.

Michalska, A., *et al.* (2007). Antioxidant Contents and Antioxidative Properties of Traditional Rye Breads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, nr 3, ss. 734-740.

Minekus, M., *et al.* (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food--an international consensus. *Food & function*. 7 april. <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2014/FO/c3fo60702j#!divAbstract> (2014-05-19) DOI: 10.1039/c3fo60702j

Minervini, F. *et al.* (2011) Scouting the application of sourdough to frozen dough bread technology. *Journal of Cereal Science*, vol 54, nr 3, ss. 296-304.

Norberg, M. och Danielsson, M. (2012) Overweight, cardiovascular diseases and diabetes: Health in Sweden: The National Public Health Report 2012. Chapter 7. *Scandinavian Journal of Public Health*, vol. 40, nr 9, ss. 135-163.

Nyanga, L.K. *et al.* (2012) Yeast preservation: alternatives for lyophilisation. *World Journal of Microbiology and biotechnology*, vol.28, nr 11, ss. 3239-3244. DOI: 10.1007/s11274-012-1118-y

Popkin, B. M. och Nielsen, S. J. (2003) The Sweetening of the World's Diet. *Obesity Research*, vol. 11, nr. 11, ss. 1325-1332.

Preiss, J. (2004) Plant starch synthesis. I *Starch in Food: Structure, Function and Applications*, red. Eliasson, A-C, ss. 3-49. Cambridge: Woodhead Publishing.

Rasmussen, T. (2012) Viewpoint: Sugar Stress: How Our Diet Impacts Vision and Development. *Journal of Behavioral Optometry*, vol. 23, nr 5-6, ss. 156-159.

Sievert, D., Hosoney, R. C. och Delcour, J. A. (2007) Bread and Other Baked Products. I *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. [http://www.lib.chalmers.se/en/get-it/?ctx\\_ver=Z39.88-](http://www.lib.chalmers.se/en/get-it/?ctx_ver=Z39.88-)

2004&ctx\_enc=info%253Aofi%252Fenc%253AUTF8&rft\_id=info:sid/summon.serialssolutions.com&rft\_val\_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:book&rft.genre=book%2520item&rft.title=Ullmann%2527s+Encyclopedia+of+Industrial+Chemistry&rft.atitle=Sour+Dough&rft.date=2003-01-01&rft.pub=John+Harper+Publishing&rft.isbn=9783527303854&rft.volume=5&rft.spage=556&rft.epage=557&rft.externalDocID=2847100708¶mdict=en-US (2014-05-10)

Tharakan, A., *et al.* (2010) Mass transfer and nutrient absorption in a simulated model of small intestine. *Journal of Food Science*, vol. 75, nr 6, ss. 339-346.

Wood, I. S. och Trayhurn, P. (2003) Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *British Journal of Nutrition*, vol. 89, nr 1, ss. 3-9.

Åkerberg, A., Liljeberg, H. och Björck, I. (1998a) Effects of Amylose/Amylopectin Ratio and Baking Conditions on Resistant Starch Formation and Glycaemic Indices. *Journal of Cereal Science*, vol. 28, nr 1, ss. 71-80.

Åkerberg, A., *et al.* (1998b) An *in vitro* method, based on chewing, to predict resistant starch content in foods allows parallel determination of potentially available starch and dietary fiber. *The Journal of Nutrition*, vol, 128, nr 3, ss. 651-660.

## 8 BILAGA 1

Tabell 3. Elektrolyt tillredes av natriumklorid(NaCl), kaliumklorid(KCl), kalciumklorid(CaCl<sub>2</sub>), Kaliumdihydrofosfat(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) och Magnesiumklorid hexahydrat(MgCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O) späddes i 1000 ml mQ-vatten.

Ämne	Vikt (g)
NaCl	3,000
KCl	1,0623
CaCl <sub>2</sub>	1,468
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4699
MgCl <sub>2</sub> •6H <sub>2</sub> O	0,7406

Tabell 4. DNS-lösning tillredd på natriumhydroxid, dinitrisalicylicsyra, natriumkaliumtartrat och mQ-vatten.

Ämne	Vikt (g)
NaOH	4,033
Dinitrisalicylicsyra	2,5007
Natriumkaliumtartrat	75,0383
mQ-vatten	150

## 9 BILAGA 2

Tabell 5. Uppmätning av pH i respektive bröd, referens, råg, vete, 50/50 och Kåå P i duplikat. Justering av pH gjordes för att uppnå pH  $4\pm 0,1$  och sedan till  $2\pm 0,1$  genom tillsatt av 1M HCl ( $\mu\text{l}$ ).

Prov	pH start	Tillsatt mängd HCl ( $\mu\text{l}$ )	pH	Tillsatt mängd HCl ( $\mu\text{l}$ )	pH
Referens 1	5,57	28	4,02	65	2,10
Referens 2	5,56	28	4,06	60	2,07
Råg 1	4,28	4	4,09	77	2,08
Råg 2	-	5	4,04	80	2,10
Vete 1	4,51	7	4,10	70	2,06
Vete 2	-	7	4,08	72	2,08
50/50 1	4,28	4	4,07	79	2,08
50/50 2	-	4	4,09	82	2,10
Kåå P 1	5,76	26	4,08	80	1,86
Kåå P 2	-	28	4,09	70	1,96

Tabell 6. pH-justering från pH  $2\pm 0,1$  till pH  $7.0\pm 0.1$  med 1 M natriumhydroxid ( $\mu\text{l}$ ) till samtliga bröd, referens, råg, vete, 50/50 och Kåå P

Prov	pH före	Tillsatt mängd NaOH ( $\mu\text{l}$ )	pH efter
Referens 1	2,37	130	6,95
Referens 2	2,35	-	-
Vete 1	2,35	130	7,00
Vete 2	2,35	120	7,02
Råg 1	2,40	100	-
Råg 2	2,43	135	6,90
50/50 1	2,46	136	6,92
50/50 2	-	-	-
Kåå P 1	-	-	-
Kåå P 2	2,33	118	6,92

Tabell 7. Tillsatta mängder saltsyra (1 M) och natriumhydroxid (1 M) vid pH-justering i in vitro försöken.

Prov	Tillsatt mängd HCl för pH 4 ( $\mu\text{l}$ )	Tillsatt mängd HCl för pH 2 ( $\mu\text{l}$ )	Tillsatt mängd NaOH för pH7 ( $\mu\text{l}$ )
Referens	28	65	130
Råg	5	78	130
Vete	7	72	130
50/50	5	82	134





## 10 BILAGA 3

Tabell 8. Koncentrationerna av mjölksyra, ättiksyra och propionsyra från HPLC-analysen presenterade i µg syra per g torrsvikt av respektive surdegskultur.

Surdegskultur	Sötning	Provrnr.	Mjölksyra (µl/g)	Ättiksyra (µl/g)	Propionsyra (µl/g)
Kronjäst Råg	Ingen	1.1	50100	7157	-
		1.2	48680	6412	-
Kronjäst Vete	Ingen	2.1	90032	5569	-
		2.2	93802	6165	-
Råg	Honung	3.1	9760	6010	-
		3.2	11119	6370	-
	Ingen	4.1	12867	3979	-
		4.2	13336	3830	-
Vete	Honung	5.1	9012	5481	-
		5.2	8826	5579	-
	Honung	6.1	8089	4477	-
		6.2	8341	5166	-
	Ingen	7.1	7754	3492	-
		7.2	7389	2913	-
50/50	Honung	8.1	9152	2690	-
		8.2	8494	4809	-
	Honung	9.1	9003	3463	-
		9.2	9072	3829	-
	Ingen	10.1	12211	2707	-
		10.2	12182	2438	-
Kååå PM	Ingen	11.1	83938	16046	118393
		11.2	80565	18248	116136
Kååå P	Ingen	12.1	7339	13187	115017
		12.2	7060	13314	113441

Tabell 9. Resultat av mängd mjölksyra och ättiksyra från syraanalysen, i deg och bröd på respektive surdegskultur, råg, vete, 50/50 och Kåå P ( $\mu\text{g/g}$ ).

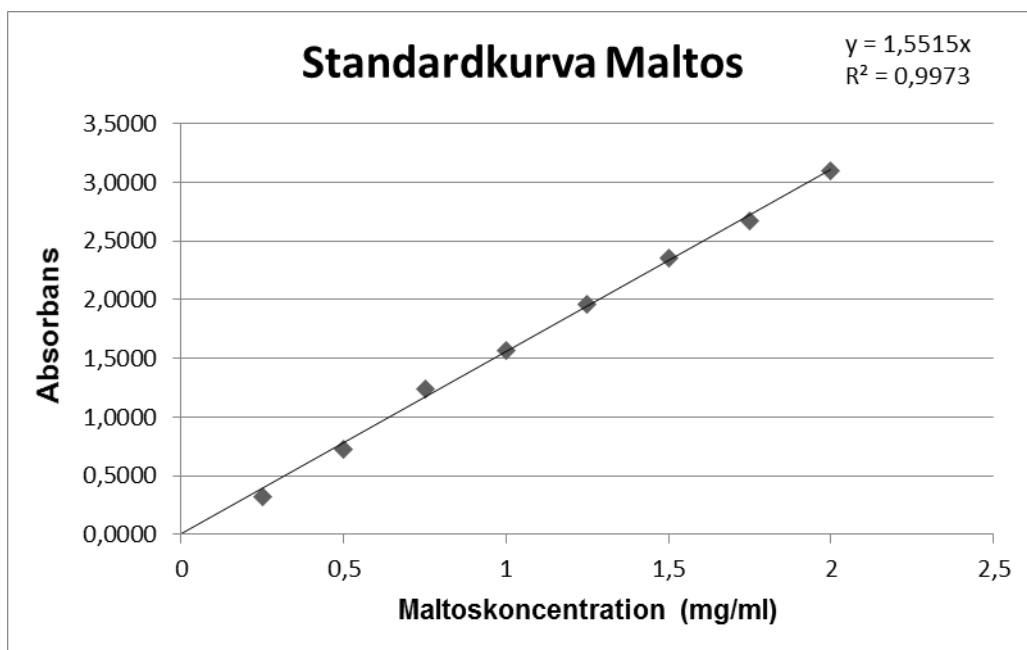
Surdegskultur	Prov	Provnr.	Mjölksyra ( $\mu\text{g/g}$ )	Ättiksyra ( $\mu\text{g/g}$ )
<b>Råg</b>	Bröd	1.1	5815	2405
		1.2	5587	2524
	Deg	2.1	5740	1714
		2.2	5734	1712
<b>Vete</b>	Bröd	3.1	5128	2660
		3.2	4106	2474
	Deg	4.1	4145	1946
		4.2	4765	2757
<b>50/50</b>	Bröd	5.1	5391	2108
		5.2	5582	2271
	Deg	6.1	7554	1948
		6.2	5664	1875
<b>Kåå P</b>	Bröd	7.1	-	21881
		7.2	-	21468
	Deg	8.1	-	21911
		8.2	-	21618

## 10.1

## 11 BILAGA 4

Tabell 10. Uppmätt absorbans i förberedda maltoslösningar (mg/ml).

Maltoskoncentration (mg/ml)	Absorbans
0,25	0,3169
0,5	0,7226
0,75	1,2405
1	1,5701
1,25	1,9571
1,5	2,3535
1,75	2,6677
2	3,0975



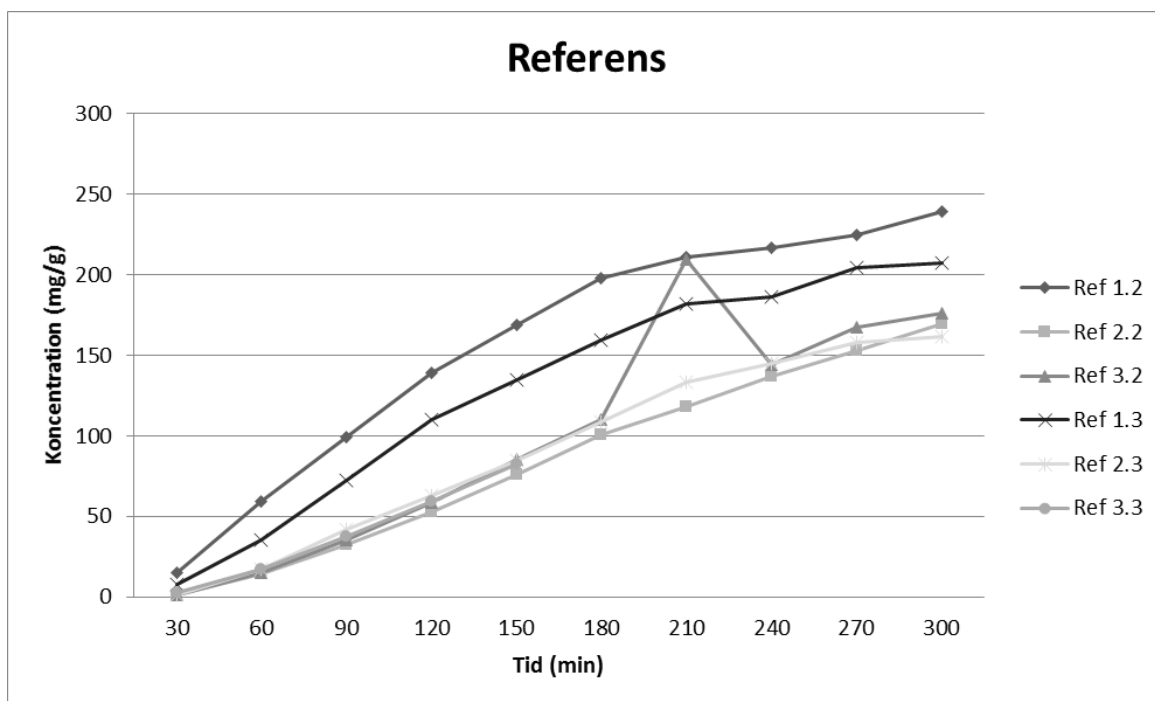
Figur 6. Standardkurva över uppmätt absorbans relaterat till koncentrationen maltos i förberedda lösningar (mg/ml).

## 12 BILAGA 5

Tabell 11. Absorbansresultat från in vitro modellen för referensbrödet där proverna är tagna vid angiven tid mellan 0-300 minuter var 30:e minut. Absorbansen analyserades två gånger per prov och koncentrationen (mg/ml) maltos i varje prov räknades om till mg maltos per g bröd. Medelvärde och standardavvikelse beräknades för varje prov och tid.

Tid	Prov	Abs A	Abs B	Koncentration (mg/ml)	Koncentration (mg/g)	Totalt medelvärde	Total standardavvikelse
30	Ref 1.2	0,10	0,10	0,13	15,1	5,04	5,53
30	Ref 2.2	0,01	0,01	0,01	1,30		
30	Ref 3.2	0,01	0,01	0,01	1,31		
30	Ref 1.3	0,05	0,06	0,07	7,95		
30	Ref 2.3	0,01	0,01	0,01	1,61		
30	Ref 3.3	0,02	0,02	0,03	2,98		
60	Ref 1.2	0,41	0,40	0,53	59,0	26,4	17,7
60	Ref 2.2	0,10	0,10	0,13	14,5		
60	Ref 3.2	0,11	0,10	0,13	15,1		
60	Ref 1.3	0,24	0,24	0,31	35,2		
60	Ref 2.3	0,12	0,12	0,16	17,5		
60	Ref 3.3	0,12	0,12	0,16	17,3		
90	Ref 1.2	0,68	0,69	0,88	99,3	53,2	26,9
90	Ref 2.2	0,22	0,23	0,29	32,5		
90	Ref 3.2	0,24	0,24	0,31	35,3		
90	Ref 1.3	0,50	0,5	0,65	72,6		
90	Ref 2.3	0,29	0,29	0,37	41,6		
90	Ref 3.3	0,26	0,26	0,34	37,7		
120	Ref 1.2	0,97	0,95	1,24	138	80,5	35,4
120	Ref 2.2	0,37	0,37	0,47	52,9		
120	Ref 3.2	0,41	0,40	0,52	58,4		
120	Ref 1.3	0,77	0,75	0,98	110		
120	Ref 2.3	0,44	0,44	0,57	63,1		
120	Ref 3.3	0,42	0,40	0,53	59,4		
150	Ref 1.2	1,18	1,15	1,50	169	105	37,8
150	Ref 2.2	0,53	0,53	0,68	75,8		
150	Ref 3.2	0,59	0,58	0,76	85,1		
150	Ref 1.3	0,95	0,91	1,20	135		
150	Ref 2.3	0,60	0,58	0,76	84,4		
150	Ref 3.3	0,58	0,57	0,74	82,2		
180	Ref 1.2	1,39	1,34	1,76	198	135,28	42,03

180	Ref 2.2	0,69	0,70	0,90	100		
180	Ref 3.2	0,76	0,76	0,98	110		
180	Ref 1.3	1,12	1,08	1,42	159		
180	Ref 2.3	0,76	0,75	0,97	108		
180	Ref 3.3	-	-	-	-	-	-
210	Ref 1.2	1,48	1,44	1,88	211		
210	Ref 2.2	0,82	0,81	1,05	118		
210	Ref 3.2	1,47	1,43	(1,86)	(209)	161	43,1
210	Ref 1.3	1,28	1,23	1,62	182		
210	Ref 2.3	0,94	0,91	1,20	133		
210	Ref 3.3	-	-	-	-	-	-
240	Ref 1.2	1,53	1,46	1,93	217		
240	Ref 2.2	0,97	0,93	1,22	137		
240	Ref 3.2	1,01	0,98	1,28	144	166	34,6
240	Ref 1.3	1,32	1,25	1,65	186		
240	Ref 2.3	1,03	0,98	1,30	145		
240	Ref 3.3	-	-	-	-	-	-
270	Ref 1.2	1,59	1,52	2,00	225		
270	Ref 2.2	1,08	1,04	1,37	153		
270	Ref 3.2	1,17	1,13	1,49	167	181	31,4
270	Ref 1.3	1,43	1,38	1,81	204		
270	Ref 2.3	1,14	1,06	1,42	158		
270	Ref 3.3	-	-	-	-	-	-
300	Ref 1.2	1,69	1,62	2,13	239		
300	Ref 2.2	1,19	1,16	1,51	169		
300	Ref 3.2	1,22	1,21	1,57	176	191	32,0
300	Ref 1.3	1,47	1,39	1,84	207		
300	Ref 2.3	1,20	1,06	1,46	162		
300	Ref 3.3	-	-	-	-	-	-



Figur 7. Diagram över maltoskoncentrationen (mg/g) i referensbrödet för tidsintervallet 0-300 minuter för respektive prov.

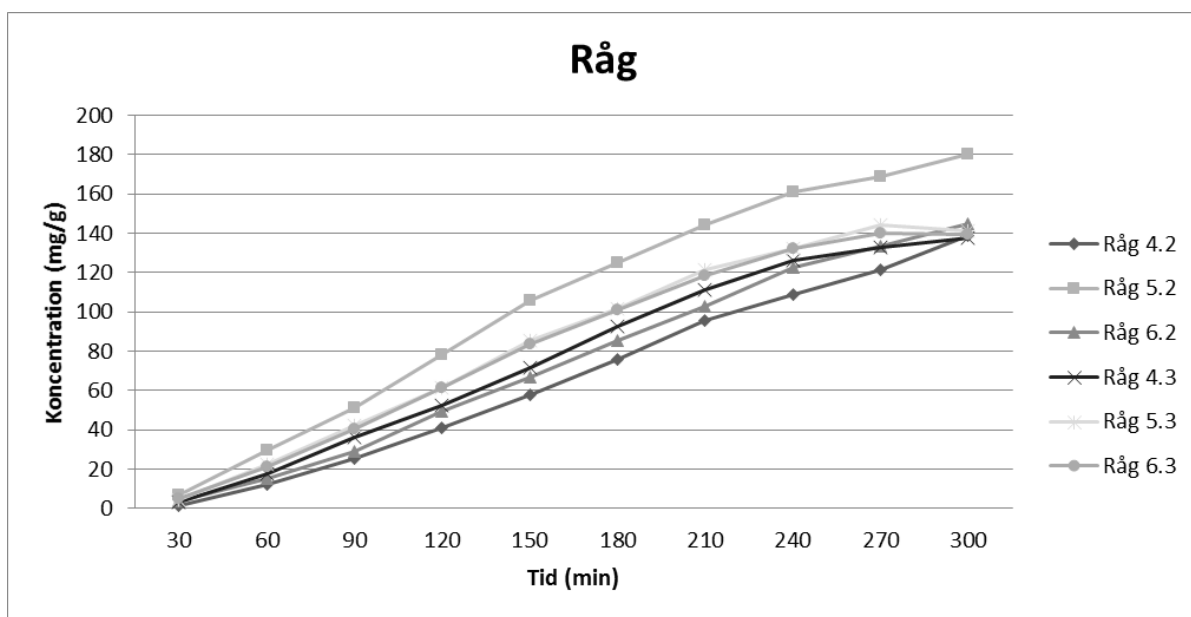
Tabell 12. Absorbansresultat från in vitro modellen för rågbrödet där proverna är tagna vid angiven tid mellan 0-300 minuter var 30:e minut. Absorbansen analyserades två gånger per prov och koncentrationen (mg/ml) maltos i varje prov räknades om till mg maltos per g bröd. Medelvärde och standardavvikelse beräknades för varje prov och tid.

Tid	Prov	Abs A	Abs B	Koncentration (mg/ml)	Koncentration (mg/g)	Totalt medelvärde	Total standardavvikelse
30	Råg 4,2	0,01	0,01	0,01	1,52	4,00	1,74
30	Råg 5,2	0,05	0,05	0,06	6,64		
30	Råg 6,2	0,02	0,03	0,03	3,64		
30	Råg 4,3	0,02	0,02	0,03	2,95		
30	Råg 5,3	0,03	0,03	0,04	4,43		
30	Råg 6,3	0,03	0,03	0,04	4,80		
60	Råg 4,2	0,08	0,08	0,11	12,0	19,5	6,21
60	Råg 5,2	0,21	0,20	0,26	29,5		
60	Råg 6,2	0,11	0,10	0,13	15,0		
60	Råg 4,3	0,12	0,12	0,15	17,3		
60	Råg 5,3	0,16	0,16	0,20	22,4		
60	Råg 6,3	0,15	0,14	0,19	21,0		
90	Råg 4,2	0,17	0,18	0,23	25,3	37,4	9,28
90	Råg 5,2	0,36	0,35	0,46	51,1		
90	Råg 6,2	0,20	0,20	0,26	29,2		

90	Råg 4,3	0,25	0,25	0,33	36,4		
90	Råg 5,3	0,29	0,29	0,38	42,0		
90	Råg 6,3	0,28	0,28	0,36	40,1		
120	Råg 4,2	0,28	0,28	0,36	40,8	57,2	13,0
120	Råg 5,2	0,55	0,54	0,70	78,4		
120	Råg 6,2	0,34	0,34	0,44	49,1		
120	Råg 4,3	0,36	0,36	0,47	52,3		
120	Råg 5,3	0,43	0,42	0,55	61,1		
120	Råg 6,3	0,44	0,41	0,55	61,3	78,6	16,9
150	Råg 4,2	0,40	0,40	0,51	57,8		
150	Råg 5,2	0,74	0,74	0,95	106		
150	Råg 6,2	0,47	0,46	0,60	66,8		
150	Ref 4,3	0,50	0,49	0,64	71,9		
150	Råg 5,3	0,60	0,59	0,77	85,6		
150	Råg 6,3	0,59	0,57	0,75	83,6	97,0	16,9
180	Råg 4,2	0,52	0,52	0,67	75,7		
180	Råg 5,2	0,86	0,88	1,12	125		
180	Råg 6,2	0,60	0,59	0,77	85,7		
180	Råg 4,3	0,66	0,63	0,83	92,9		
180	Råg 5,3	0,71	0,70	0,91	101	116	17,0
180	Råg 6,3	0,71	0,69	0,90	101		
210	Råg 4,2	0,67	0,66	0,85	95,8		
210	Råg 5,2	1,02	0,98	1,29	144		
210	Råg 6,2	0,72	0,70	0,92	103		
210	Råg 4,3	0,77	0,77	1,00	111		
210	Råg 5,3	0,85	0,84	1,09	121	130	17,3
210	Råg 6,3	0,83	0,81	1,06	118		
240	Råg 4,2	0,76	0,74	0,97	109		
240	Råg 5,2	1,14	1,10	1,44	161		
240	Råg 6,2	0,86	0,84	1,10	122		
240	Råg 4,3	0,89	0,86	1,13	126	140	16,1
240	Råg 5,3	0,95	0,90	1,19	132		
240	Råg 6,3	0,94	0,89	1,18	132		
270	Råg 4,2	0,86	0,82	1,08	122		
270	Råg 5,2	1,20	1,16	1,51	169		
270	Råg 6,2	0,94	0,91	1,19	133	147	16,4
270	Råg 4,3	0,94	0,90	1,19	133		
270	Råg 5,3	1,03	0,98	1,30	144		
270	Råg 6,3	1,00	0,94	1,25	140		
300	Råg 4,2	0,98	0,93	1,23	137		
300	Råg 5,2	1,27	1,23	1,61	180		



300	Råg 6,2	1,02	0,99	1,30	145		
300	Råg 4,3	0,98	0,93	1,23	138		
300	Råg 5,3	1,01	0,97	1,27	141		
300	Råg 6,3	0,99	0,94	1,24	139		

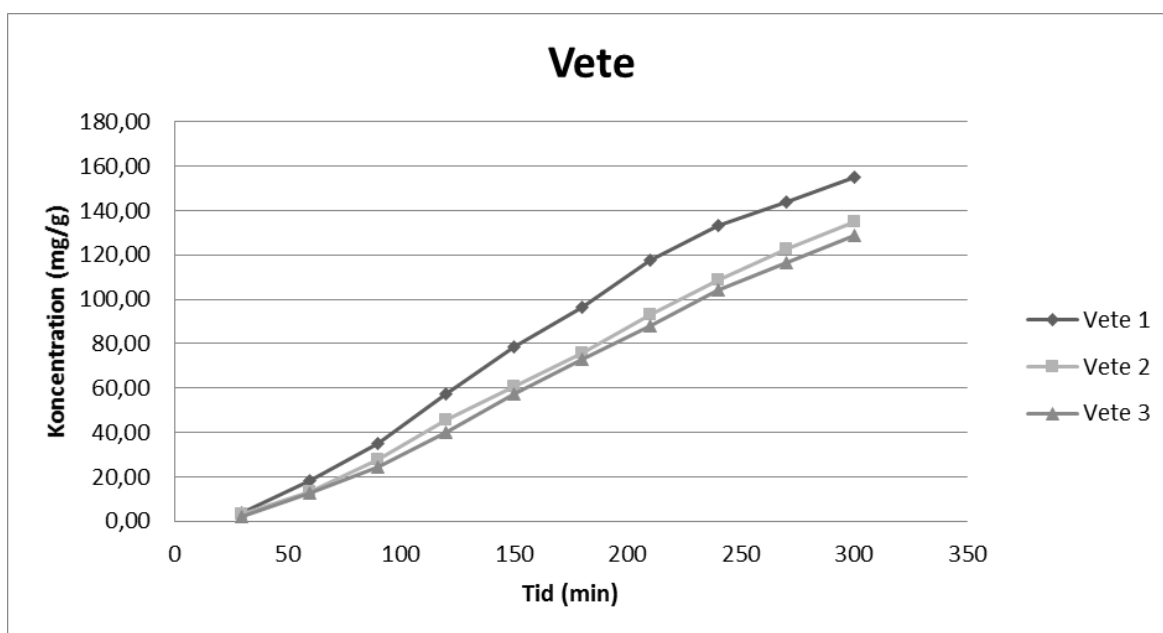


Figur 8. Diagram över maltoskoncentrationen (mg/g) i rågbrödet för tidsintervallet 0-300 minuter för respektive prov.

Tabell 13. Absorbansresultat från in vitro modellen för vetebrödet där proverna är tagna vid angiven tid mellan 0-300 minuter var 30:e minut. Koncentrationen (mg/ml) maltos i varje prov är omräknat till mg maltos per g bröd. Medelvärde och standardavvikelse beräknades för varje prov och tid.

Tid	Prov	Abs A	Abs B	Koncentration (mg/ml)	Koncentration (mg/g)	Totalt Medelvärde	Total Standardavvikelse
30	Vete 1	0,03	0,03	0,04	3,99	3,11	0,97
30	Vete 2	0,02	0,02	0,03	3,28		
30	Vete 3	0,01	0,01	0,02	2,07		
60	Vete 1	0,13	0,12	0,16	18,1	14,6	3,10
60	Vete 2	0,09	0,09	0,12	13,0		
60	Vete 3	0,09	0,09	0,11	12,6		
90	Vete 1	0,25	0,24	0,31	35,1	29,2	5,37
90	Vete 2	0,20	0,19	0,25	27,9		
90	Vete 3	0,18	0,17	0,22	24,6		
120	Vete 1	0,40	0,39	0,51	57,3	47,6	8,87
120	Vete 2	0,32	0,32	0,41	45,8		

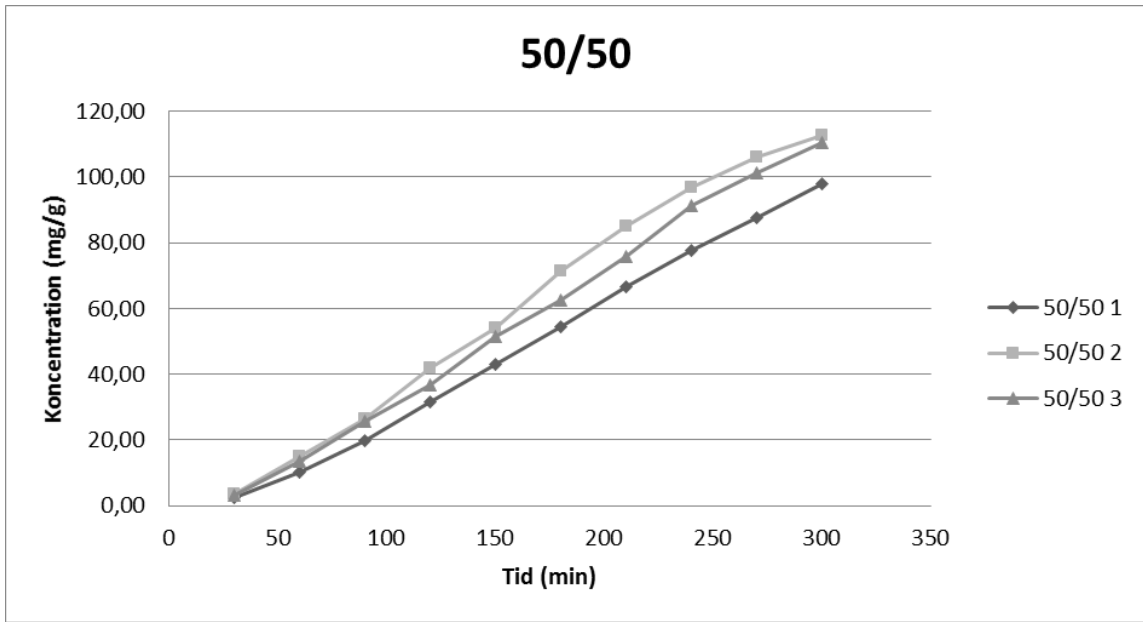
120	Vete 3	0,28	0,28	0,36	39,9		
150	Vete 1	0,56	0,53	0,70	78,6	65,5	11,4
150	Vete 2	0,42	0,42	0,54	60,7		
150	Vete 3	0,40	0,39	0,51	57,3		
180	Vete 1	0,69	0,65	0,86	96,5	81,7	12,9
180	Vete 2	0,53	0,52	0,67	75,5		
180	Vete 3	0,51	0,50	0,65	73,0		
210	Vete 1	0,84	0,80	1,06	118	99,7	15,9
210	Vete 2	0,66	0,63	0,83	93,0		
210	Vete 3	0,63	0,60	0,79	88,2		
240	Vete 1	0,94	0,91	1,19	133	115	15,6
240	Vete 2	0,76	0,74	0,97	109		
240	Vete 3	0,74	0,71	0,93	104		
270	Vete 1	1,01	0,99	1,29	144	128	14,6
270	Vete 2	0,86	0,84	1,10	123		
270	Vete 3	0,82	0,80	1,04	116		
300	Vete 1	1,11	1,04	1,39	155	140	13,6
300	Vete 2	0,95	0,92	1,20	135		
300	Vete 3	0,91	0,89	1,16	129		



Figur 9. Diagram över maltoskoncentrationen (mg/g) i vetebrödet för respektive prov under tidsintervallet 0-300 minuter.

Tabell 14. Absorbansresultat från in vitro modellen för 50/50-brödet där proverna är tagna vid angiven tid mellan 0-300 minuter var 30:e minut. Koncentrationen (mg/ml) maltos i varje prov är omräknat till mg maltos per g bröd. Medelvärde och standardavvikelse beräknades för varje prov och tid.

<b>Tid</b>	<b>Prov</b>	<b>Abs A</b>	<b>Abs B</b>	<b>Koncentration (mg/ml)</b>	<b>Koncentration (mg/g)</b>	<b>Totalt Medel- värde</b>	<b>Total Standard- avvikelse</b>
30	50/50 4	0,02	0,02	0,02	2,42	3,12	0,65
30	50/50 5	0,03	0,02	0,03	3,69		
30	50/50 6	0,02	0,02	0,03	3,23		
60	50/50 4	0,07	0,07	0,09	10,2	12,9	2,42
60	50/50 5	0,10	0,10	0,13	14,8		
60	50/50 6	0,10	0,09	0,12	13,6		
90	50/50 4	0,14	0,13	0,18	19,7	24,0	3,69
90	50/50 5	0,19	0,18	0,23	26,4		
90	50/50 6	0,18	0,18	0,23	25,9		
120	50/50 4	0,23	0,21	0,28	31,8	36,9	5,15
120	50/50 5	0,29	0,29	0,37	42,1		
120	50/50 6	0,26	0,25	0,33	36,9		
150	50/50 4	0,30	0,30	0,38	43,2	49,7	5,77
150	50/50 5	0,37	0,38	0,48	54,2		
150	50/50 6	0,36	0,35	0,46	51,6		
180	50/50 4	0,38	0,38	0,49	54,5	62,8	8,43
180	50/50 5	0,50	0,48	0,63	71,4		
180	50/50 6	0,44	0,42	0,56	62,4		
210	50/50 4	0,46	0,46	0,59	66,6	75,9	9,28
210	50/50 5	0,59	0,58	0,76	85,2		
210	50/50 6	0,53	0,52	0,68	76,0		
240	50/50 4	0,55	0,53	0,69	77,8	88,7	9,86
240	50/50 5	0,68	0,66	0,86	97,0		
240	50/50 6	0,64	0,62	0,81	91,3		
270	50/50 4	0,62	0,59	0,78	87,8	98,4	9,53
270	50/50 5	0,75	0,71	0,94	106		
270	50/50 6	0,72	0,68	0,90	101		
300	50/50 4	0,69	0,66	0,87	98,1	107	7,91
300	50/50 5	0,79	0,76	1,00	113		
300	50/50 6	0,77	0,76	0,99	111		



Figur 10. Diagram över maltoskoncentrationen (mg/g) i 50/50-brödet för tidsintervallet 0-300 minuter för respektive prov.

## 13 BILAGA 6

Tabell 15. Ett ANOVA-test utfördes på provresultaten och visar om de är signifikanta ( $p < 0,05$ ) eller ej. Siffran 0.012 visar att det är signifikanta skillnader mellan minst två av bröden. Att detta är signifikant innebär att man kan gå vidare med ett så kallat post-hoc test och jämföra de olika bröden inbördes.

ANOVA					
AUC					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5,016E8	3	1,672E8	5,443	,012
Within Groups	3,994E8	13	3,072E7		
Total	9,010E8	16			

Tabell 16. Det här är resultaten från Tukeys post-hoc test. Det är bara två bröd där medelvärdena är signifikant ( $p < 0,05$ ) skilda, nämligen Referens och 50/50. Det finns dock även en trend mot signifikant skillnad mellan Referens och Vete, där  $p = 0,076$ .

Multiple Comparisons						
AUC						
Tukey HSD						
(I) Bröd	(J) Bröd	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ref	Råg	7859	3356	0,139	-1990	17710
	50/50	15350*	4048	0,011	3472	27230
	Vete	10900	4048	0,076	-977	22780
Råg	Ref	-7840	3356	0,139	-17710	1991
	50/50	7493	3919	0,270	-4010	19000
	Vete	3044	3919	0,864	-8459	14550
50/50	Ref	-15350*	4048	0,011	-27230	-3472
	Råg	-7493	3919	0,270	-19000	4010
	Vete	-4449	4526	0,761	-17730	8834
Vete	Ref	-10900	4048	0,076	-22780	976,7
	Råg	-30440	3919	0,864	-14540	8459
	50/50	4449	4525	0,761	-8834	17730

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabell 17. Här är en sammanställning av post-hoc testet ovan, det visar medelvärdet för alla bröd och de bröd som är i olika kolumner (1 resp. 2) är signifikant olika. Här ses även hur många areor som ingick för varje test (N-kolumnen).

<b>AUC</b>			
<b>Tukey HSD<sup>a,b</sup></b>			
Bröd	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50/50	3	15180	
Vete	3	19630	19630
Råg	6	22670	22670
Ref	5		30530
Sig.		0,283	0,071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,871.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.